



## Oreochromis niloticus'un Kas ve Karaciğer Dokularında Kurşun Toksikitesi Üzerine Nitritotriasetik Asitin Etkisi

Tüzün AYTEKİN

Çukurova Üniversitesi İmamoğlu Meslek Yüksekokulu, Adana, Türkiye

Geliş/Received: 19.01.2022

Kabul/Accepted: 08.02.2022

Yayın/Published: 31.03.2022

Atf yapmak için: **Aytekin, T. (2022)**. *Oreochromis niloticus*'un Kas ve Karaciğer Dokularında Kurşun Toksikitesi Üzerine Nitritotriasetik Asitin Etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 7(1), 33-38.

How to cite: **Aytekin, T. (2022)**. Protective Effect of Nitritotriacetic Acid on Lead Toxicity in Muscle and Liver Tissues of *Oreochromis niloticus*. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 7(1), 33-38.

\* <https://orcid.org/0000-0003-2666-0798>

\*Corresponding author:  
Tüzün AYTEKİN  
Çukurova Üniversitesi İmamoğlu Meslek  
Yüksekokulu, Adana, Türkiye  
✉: [tuzunay@cu.edu.tr](mailto:tuzunay@cu.edu.tr)

**Öz:** Bu çalışmada Kurşun (Pb)'un sublethal derişimlerinin ve Pb + NTA (Nitritotriasetik asit) karışımının, 7 ve 21 gün süreyle, etkisine bırakılan tatlısu balığı *O. niloticus*'un kas ve karaciğer dokularındaki bazı enzim aktiviteleri ve oksidatif stres düzeyi incelenmiştir. Parametreler, otoanalizatör cihazlarla ölçülmüştür. Elde edilen veriler neticesinde; karaciğer dokusunda total oksidan (TOS), oksidatif indeksi (OSİ) düzeyleri ile alanin transaminaz (ALT),  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT), alkalın fosfataz (ALP) ve laktat dehidrojenaz (LDH) enzim aktivitelerinde artış, total antioksidan (TAS) düzeyinde azalış gözlenmiştir. Kas dokusunda ise TOS, OSİ düzeyleri ile ALT enzim aktivitesinde artış gözlenirken TAS düzeyi ile GGT ve ALP enzim aktivitelerinin kontrol seviyesinde olduğu saptanmıştır. NTA'nın varlığında bazı parametreler görülen azalma veya artmaların daha hafif olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak Pb'nin balığın fizyolojisinde değişikliklere neden olduğu, NTA'nın bu değişiklikleri kısmen de olsa azalttığı söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Biyokimyasal parametreler, lead, nitritotriasetik asit, *Oreochromis niloticus*, total antioksidan, total oksidan.

## Protective Effect of Nitritotriacetic Acid on Lead Toxicity in Muscle and Liver Tissues of *Oreochromis niloticus*

\*Sorumlu yazar:  
Tüzün AYTEKİN  
Çukurova University, İmamoğlu Vocational  
School, Adana, Turkey  
✉: [tuzunay@cu.edu.tr](mailto:tuzunay@cu.edu.tr)

**Abstract:** In this study, some enzyme activities and oxidative stress levels in the muscle and liver tissues of freshwater fish *O. niloticus*, which were exposed to the sublethal concentrations of Lead (Pb) and a mixture of Pb+NTA (Nitritotriacetic acid) for 7 and 21 days were investigated. Parameters were measured with autoanalyzer devices. As a result of the data obtained; increase in total oxidant (TOS), oxidative index (OSI) levels and alanine transaminase (ALT),  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) enzyme activities in liver tissue, total antioxidant (TAS) level decrease was observed. In muscle tissue, an increase was observed in TOS, OSI levels and ALT enzyme activity, while TAS level and GGT, ALP enzyme activities were found to be at kontrol levels. In the presence of NTA, it was observed that the decreases or increases in some parameters were milder. As a result, we can say that Pb causes changes in the physiology of fish, and NTA partially reduces these changes.

**Keywords:** Biochemical parameters, lead, nitritotriacetic acid, *Oreochromis niloticus*, total antioxidant, total oxidant.

### GİRİŞ

Hızlı nüfus artışı, şehirleşme, endüstrileşme ve tarımsal faaliyetler gibi antropojenik aktivitelerin sonucunda çevre kirliliği kaçınılmaz bir durumdur. Ağır metaller çevre

kirliliğine neden olan en önemli etmenlerdendir. Kurşun (Pb), antik çağlardan beri bilinen ve yaygın olarak kullanılan bir metaldir. Fizikokimyasal özellikleri, düşük maliyetle elde edilebilmesi ve kolay işlenebilirliği nedeniyle; akümülatör, boya, cam, tarım ilacı, plastik, kozmetik üretimi gibi birçok

alandaki kullanılmaktadır. Pb biyolojik bir aktiviteye katılmadığı gibi ortamda varlığı oksidatif stresi uyaran biyolojik mekanizmaların bütünlüğüne zarar veren önemli bir su kirleticisidir (Dündar & Aslan, 2005). Pb'nin oluşturduğu oksidatif stresin azaltılmasında antioksidanlar tek başlarına ya da şelatör maddelerle birlikte kullanılabilirler (Çaylak, 2010).

Nitriilotriasetik asit (NTA), iki değerlikli ve üç değerlikli metal katyonları ile kompleksler oluşturan bir aminotrikarboksil asittir. Biyolojik olarak parçalanabilen NTA, şelatlama kabiliyetinden dolayı birçok endüstriyel alanda kullanılmaktadır. Yaygın olarak deterjan üretiminde, mineral tortu birikimini önlemek için kazan suyunun arıtılmasında kullanılmakla birlikte tekstil imalatı, kağıt üretimi, metal kaplama ve temizleme işlerinde de kullanılmaktadır. (Anderson vd, 1985; Zhang et. al., 2017; Hong & Pintauro, 1996)

Sucul besin zincirinin en tepesinde yer alan balıklar, çevre sağlığının izlenmesi için yaygın olarak kullanılan biyoindekslerdir (Firidin, 2019). Balık eti (kas), düşük yağ içeriği ve yüksek protein ve mineral madde içeriğinin yanı sıra kalp koruyucu etkisi ile doymamış yağ asitlerinin optimal oranı nedeniyle insan beslenmesinde çok önemli bir besindir ve bu nedenle birçok izleme ve risk değerlendirme programında yer almaktadır (Yancheva et. al., 2015).

Karaciğer, organizmada metallerin birikiminden, dağılımından, detoksifikasyonundan ve transformasyonundan büyük ölçüde sorumlu olmakla birlikte birçok işlevi vardır. (Aytekin, 2011). Dolayısıyla sudaki kirleticilerden en çok etkilenen organlardan biri olduğu için ksenobiyotiklerin sucul hayvanlar üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılır. (Ismail et. al., 2017).

Transaminazlar (AST ve ALT),  $\gamma$ -glutamyl transferase (GGT), laktat dehidrojenaz (LDH) ve alkalik fosfatlar (ALP) gibi bazı enzimler, suda yaşayan organizmada kimyasal kirliliğin gözlenmesinde kullanılan biyobelirteçlerdir. Transaminazlar, aminoasitlerle ketoasitlerin birbirine dönüşümünü katalizleyen ve özellikle karaciğer hasarını belirlemek için sıklıkla kullanılan hücre içi enzimlerdir. GGT, glutatyonun indirgenmesinde katalizör görevi görür. Hemen her hücrede bulunan LDH, laktat ve piruvatın birbirine dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. Özellikle hücre zarında bulunan ALP, alkali pH'ta transfosforilaz görevi görür. ALT, GGT, LDH, ALP enzimleri doku ve organlarda oluşan hasarları tespit etmek amacıyla kullanılmaktadırlar. (Altunkaş vd., 2014; Fırat vd., 2011; Fırat & Kargın 2010; Tulgar 2014).

Ağır metaller gibi çevresel kirleticilerin etkisiyle hücresel düzeyde ciddi miktarda üretilen serbest oksijen radikallerinin yol açtığı oksidatif hasar, vücuttaki antioksidan savunma sistemiyle yok edilmeye çalışılır. Oksidatif hasarın en aza inebilmesi için oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir denge sağlanmalıdır. Antioksidan

savunmanın yetersiz kaldığı durumlarda ortaya çıkan oksidatif stres, yüksek miktarda yağ asitleri ihtiva ettikleri için balıkların doku ve hücreleri zarar görür (Kovacik vd., 2019; Yagcı vd., 2007;).

Total antioksidan seviyesi (TAS) organizmadaki tüm antioksidanların toplam etkisini gösterir ve total oksidan status (TOS) ise tüm oksidantların toplam etkisini gösterir (Erel, 2004; Erel, 2005). TAS ve TOS, ksenobiyotiklerin moleküler seviyede sucul organizmalar üzerine olumsuz etkilerinin belirlenmesine ve su sistemlerinin izlenmesine yardımcı olan biyobelirteçlerdir (Can vd., 2017). OSİ, oksidatif stres derecesinin bir göstergesidir ve antioksidan ve oksidan redoks dengesini gösterir. (Demirpençe vd., 2014).

Bu çalışmada, dünya çapında en çok yetiştiriciliği yapılan ikinci balık türü olan, tatlı su balığı *O. niloticus*'un karaciğer ve kas dokularında, kurşun toksisitesi üzerine NTA'nın koruyucu rolünün açığa çıkartılması amaçlanmaktadır. Bu amaçla balık yetiştirme çiftliğinden alınan balıklar laboratuvar koşullarında hem Pb'nin tek başına hem de Pb+NTA karışımlarının etkisine bırakılmış ve bu balıklardan karaciğer ve kas doku örnekleri alınarak, bu dokulardaki çeşitli biyokimyasal toksisite belirteçleri incelenmiştir.

## MATERYAL VE METOT

Araştırma materyali olarak kullanılacak olan tatlı su balığı *O. niloticus* örnekleri Çukurova Üniversitesi (Ç.Ü) Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınarak ve Ç.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Ekofizyolojisi laboratuvarında, 40x120x40 cm. boyutlarındaki akvaryumlarda 25±1 °C'de laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır.

Deneylerde beş akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumlardan ilk ikisine 0,1 mg/L Pb ve 1,0 mg/L Pb; üçüncü ve dördüncü akvaryumlara 0,1 mg/L Pb + 0,3 mg/L NTA ve 1,0 mg/L Pb + 3,0 mg/L NTA derişimleri uygulanmış, son akvaryum ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Balıklar kurşun ve Pb+NTA'nın belirlenen bu derişimlerinin etkisine 7 ve 21 gün sürelerle bırakılmıştır. Deney sırasında akvaryumların cam yüzeylerine tutunma, akvaryum suyunun buharlaşması gibi nedenlerle akvaryumlardaki metal derişimleri değişeceğinden akvaryum suları, iki güne bir, taze hazırlanan stok çözeltilerden yapılan seyreltmelerle değiştirilmiş ve kimyasalların balık yemine yapışmasını önlemek amacıyla su derişiminden 1 saat kadar önce yem verilmiştir.

Belirtilen 7 ve 21 günlük süreler sonunda kontrol ve kimyasalların bulunduğu deney akvaryumlardan alınan balıklar MS-222 anestetik maddesi ile bayıldıktan sonra disekte edilerek karaciğer ve kas doku örnekleri alınmıştır. Karaciğer ve kas dokuları % 0,59'luk NaCl damlatıldıktan sonra -80°C'lik derin dondurucuya konulmuştur. Analizleri

yapılmak üzere derin dondurucudan çıkarılan dokular 1/10 oranında 0,25 M sükröz (pH: 7,4) eklenerek buz içerisinde, ultra-turrax homojenizatörde 3 dakika homojenize edildikten sonra +4 °C'de 10000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar ile ticari kitler kullanılarak, spektrofotometrik yöntemlerle TAS, TOS, ALT, GGT, LDH, ALP ve Total protein ölçümleri yapılmıştır.

Elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS 21 bilgisayar paket programı kullanılarak One Way-ANOVA'yı ve Student–Newman Keul's (SNK) Testi uygulanarak yapılmıştır.

Bu çalışmanın Deney Hayvanları Etiği açısından uygun olduğu Ç.Ü.Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu (Tarih:04.07.2018; Karar no:16) tarafından onaylanmıştır.

## BULGULAR

Çalışmamızda deneyler süresince mortalite gözlenmemiştir. Pb ve Pb+NTA karışımlarının, 7 ve 21 gün süreyle, etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer ve kas dokularındaki TAS, TOS ve OSİ seviyeleri Tablo 1 ve Tablo 2 de verilmiştir. Karaciğerde TAS seviyesi, yüksek derişimin etkisinde, azalırken ( $P<0,05$ ), kasta kontrol seviyesinde ( $P>0,05$ ) olduğu saptanmıştır. TOS ve OSİ seviyelerinin ise hem karaciğer hem de kas dokusunda derişime ve süreye bağlı olarak arttığı ancak bu artışların NTA etkisinde daha az olduğu, yani Pb+NTA uygulanan grupların bir kısmında TOS ve OSİ seviyelerinin, kontrol ve Pb grubu arasında olduğu belirlenmiştir.

Yapılan birçok çalışmada, metallere maruz kalmanın oksidatif hasara neden olabilen reaktif oksijen (ROS) oluşumunu artırarak oksidatif stresi indüklediği bildirilmiştir (Franco vd., 2016). Eksojen ve endojen kaynaklı oluşan oksidan molekülleri, antioksidan mekanizmayla vücuttan uzaklaştırılır. Oksidan seviyesi, antioksidan sistemin kapasitesini aşarsa oksidatif stres oluşur. TOS'un TAS'a oranı oksidatif stres indeksi olarak ifade edilmektedir.

Sudaki kurşun düzeyinin artması bazı su canlılarında olumsuz etkilere neden olabilmekte, balıklarda ve diğer hayvanlarda, çeşitli parametrelerde değişikliklere neden olabilmektedir. (Elbesthi vd., 2018).

*Capoeta capoeta*'nın karaciğer, solungaç, bağırsak ve böbrek dokularında kurşun toksisitesine karşı L-karnitin (LK) koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; TAS seviyesinde değişiklik gözlenmezken, Pb uygulanan grubun TOS düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek, Pb+LK verilen grubun TOS düzeyinin ise kontrol ile Pb verilen grubun arasında olduğu belirlenmiştir. (Yılmaz vd., 2016).

Atatürk baraj gölünde çevre kirliliği parametrelerinin incelendiği bir çalışmada Pb seviyesinin yüksek olduğu bölgeden alınan balık karaciğer TOS ve OSİ

seviyeleri yüksek, TAS düzeyi düşük bulunmuştur (Alkan-Uçkun & Uçkun, 2021).

**Tablo 1.** Pb ve Pb+NTA karışımının etkisinde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda TAS, TOS ve OSİ seviyeleri.

**Table 1.** TAS, TOS and OSI levels in liver tissue of *O. niloticus* under the influence of Pb and Pb+NTA mixture.

Parametreler	7. gün	21. gün
<b>TAS (mmol/L)</b>		
Kontrol	0,80±0,06 a	0,77±0,03 a
0,1 ppm Pb	0,67±0,03 a	0,73±0,03 a
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	0,67±0,07 a	0,77±0,03 a
Kontrol	0,80±0,06 a	0,77±0,03 a
1,0 ppm Pb	0,57±0,03 b	0,57±0,03 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	0,50±0,06 b	0,53±0,03 b
<b>TOS (µmol/L)</b>		
Kontrol	23,0±1,9 a	25,1±1,4 a
0,1 ppm Pb	25,6±0,9 a	31,0±0,8 b
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	23,5±1,6 a	31,9±1,8 b
Kontrol	23,0±1,9 a	25,1±1,4 a
1,0 ppm Pb	28,6±0,7 b	31,3±1,9 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	25,8±0,7 b	30,9±1,1 b
<b>OSİ (AU)</b>		
Kontrol	3,01±0,2 a	3,28±0,1 a
0,1 ppm Pb	3,84±0,1 b	4,26±0,3 b
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	3,54±0,1 ab	4,17±0,2 b
Kontrol	3,01±0,2 a	3,28±0,1 a
1,0 ppm Pb	5,01±0,2 b	5,60±0,6 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	4,85±0,3 ab	5,85±0,4 b

Değerler aritmetik ortalama±standart hata (N=6) olarak verilmiştir. a ve b harfleri aynı sürede derişimler arasında farklı belirtmek üzere kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler  $P<0,05$  düzeyinde anlamlıdır.

**Tablo 2.** Pb ve Pb+NTA karışımının etkisinde *O. niloticus*'un kas dokusunda TAS, TOS ve OSİ seviyeleri.

**Table 2.** TAS, TOS and OSI levels in muscle tissue of *O. niloticus* under the influence of Pb and Pb+NTA mixture.

Parametreler	7. gün	21.gün
<b>TAS (mmol/L)</b>		
Kontrol	0,60±0,06 a	0,53±0,03 a
0,1 ppm Pb	0,50±0,06 a	0,53±0,03 a
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	0,60±0,06 a	0,50±0,06 a
Kontrol	0,60±0,06 a	0,53±0,03 a
1,0 ppm Pb	0,53±0,03 b	0,57±0,07 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	0,67±0,03 b	0,53±0,03 b
<b>TOS (µmol/L)</b>		
Kontrol	1,03±0,12 a	1,13±0,15 a
0,1 ppm Pb	1,60±0,12 a	1,63±0,09 b
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	1,00±0,12 a	1,33±0,09 ab
Kontrol	1,03±0,12 a	1,13±0,15 a
1,0 ppm Pb	1,67±0,15 b	2,03±0,12 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	1,47±0,13 ab	1,30±0,12 a
<b>OSİ (AU)</b>		
Kontrol	0,17±0,01 a	0,21±0,02 a
0,1 ppm Pb	0,32±0,01 b	0,31±0,01 b
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	0,17±0,01 a	0,27±0,03 ab
Kontrol	0,17±0,01 a	0,21±0,02 a
1,0 ppm Pb	0,32±0,02 b	0,36±0,03 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	0,22±0,01 ab	0,24±0,01 a

Değerler aritmetik ortalama±standart hata (N=6) olarak verilmiştir. a ve b harfleri aynı sürede derişimler arasında farklı belirtmek üzere kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler  $P<0,05$  düzeyinde anlamlıdır

TOS düzeylerinde meydana gelen artma ve TAS düzeylerinde meydana gelen azalmaların, antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması ve oksidatif strese bağlı

olabileceği anlamına gelebilir (Kaya vd., 2014). Yapılan bu çalışmada, OSİ değerlerindeki artış da bu görüşü destekler niteliktedir. NTA varlığında OSİ değerindeki artışın, Pb'nin tek başına etkisine oranla daha az olması NTA'nın koruyucu etkisinden kaynaklanabilir.

Bu çalışmada, 7 ve 21 gün süreyle, Pb ve Pb+NTA karışımlarının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un karaciğer ve kas dokularındaki ALT, GGT, LDH, ALP aktiviteleri ve total protein düzeyleri Tablo 3 ve Tablo 4'de verilmiştir.

**Tablo 3.** Pb ve Pb+NTA karışımının etkisinde *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda enzim aktiviteleri ve total protein miktarı.

**Table 3.** Enzyme activities and total protein levels in liver tissue of *O. niloticus* under the influence of Pb and Pb+NTA mixture.

Parametreler	7.gün	21. gün
<b>ALT (U/L)</b>		
Kontrol	1250,7±75,1 a	1191,7±62,9 a
0,1 ppm Pb	2383,0±117,5 b	2021,3±108,6 b
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	2596,7±109,5 b	1303,7±129,8 a
Kontrol	1250,7±75,1 a	1191,7±62,9 a
1,0 ppm Pb	2269,7±143,7 b	2286,7±147,2 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	2425,0±131,4 b	1495,0±73,4 a
<b>GGT (U/L)</b>		
Kontrol	9,67±0,88 a	10,33±0,88 a
0,1 ppm Pb	11,33±0,88 a	11,00±1,16 a
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	12,00±0,57 a	10,67±0,88 a
Kontrol	9,67±0,88 a	10,33±0,88 a
1,0 ppm Pb	14,67±0,67 b	15,33±1,67 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	11,33±0,67 a	11,00±0,58 a
<b>LDH (U/L)</b>		
Kontrol	1487,7±144,6 a	1502,5±103,5 a
0,1 ppm Pb	1584,7±91,5 a	1754,0±74,5 b
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	1268,3±72,9 a	1844,7±56,6 b
Kontrol	1487,7±144,6 a	1502,5±59,8 a
1,0 ppm Pb	1251,0±20,7 a	1853,3±100,8 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	1275,0±28,8 a	1830,0±59,2 b
<b>ALP (U/L)</b>		
Kontrol	1249,0±86,5 a	1318,3±68,7 a
0,1 ppm Pb	1276,7±64,7 a	1793,0±90,8 b
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	1231,3±54,1 a	1770,7±104,2 b
Kontrol	1249,0±86,5 a	1318,3±68,7 a
1,0 ppm Pb	1288,3±36,6 a	1535,7±66,1 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	1197,3±81,2 a	1614,3±36,3 b
<b>Total Protein (g/dL)</b>		
Kontrol	1,32±0,05 a	1,45±0,11 a
0,1 ppm Pb	1,50±0,04 a	1,76±0,10 a
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	1,48±0,04 a	1,67±0,09 a
Kontrol	1,32±0,05 a	1,45±0,11 a
1,0 ppm Pb	1,52±0,02 a	1,68±0,11 a
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	1,41±0,07 a	1,69±0,08 a

Değerler aritmetik ortalama±standart hata (N=6) olarak verilmiştir. a ve b harfleri aynı sürede derişimler arasında farklı belirtmek üzere kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler P<0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Karaciğer ALT, GGT, ALP, LDH aktivitelerinde genel olarak artış gözlenmiştir. 7. günde ALT, tüm derişimlerde artış gösterirken 21. günde NTA'nın varlığında kontrol seviyesinde olduğu gözlenmiştir. GGT aktivitesi yüksek derişimlerdeki Pb'nin etkisinde artış gösterirken NTA'nın varlığında kontrol düzeyinde belirlenmiştir. LDH ve ALP enzim aktiviteleri 21. günde tüm derişimlerde artış göstermiştir.

Kas ALT aktivitesi 21. günde 1ppm Pb derişiminin etkisinde artarken, NTA varlığında kontrol seviyesinde bulunmuştur. GGT ve ALP aktiviteleri tüm derişim ve sürelerde kontrol seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Total protein düzeylerinin ise hem karaciğer hem de kas dokusunda kontrol seviyesinde olduğu saptanmıştır.

**Tablo 4.** Pb ve Pb+NTA karışımının etkisinde *O. niloticus*'un kas dokusunda enzim aktiviteleri ve total protein miktarı.

**Table 4.** Enzyme activities and total protein levels in muscle tissue of *O. niloticus* under the influence of Pb and Pb+NTA mixture.

Parametreler	7. gün	21. gün
<b>ALT (U/L)</b>		
Kontrol	154,3±9,6 a	144,0±6,8 a
0,1 ppm Pb	151,3±8,4 a	157,7±10,5 a
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	149,3±14,3 a	149,3±6,9 a
Kontrol	154,3±9,6 a	144,0±6,8 a
1,0 ppm Pb	145,3±5,5 a	242,0±15,0 b
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	153,0±11,2 a	166,7±15,8 a
<b>GGT (U/L)</b>		
Kontrol	2,00±0,58 a	2,00±0,00 a
0,1 ppm Pb	2,33±0,33 a	1,67±0,33 a
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	2,00±0,00 a	1,67±0,33 a
Kontrol	2,00±0,58 a	2,00±0,00 a
1,0 ppm Pb	2,67±0,33 a	2,33±0,33 a
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	2,33±0,33 a	1,67±0,33 a
<b>ALP (U/L)</b>		
Kontrol	8,33±0,33 a	7,67±0,33 a
0,1 ppm Pb	8,67±0,88 a	8,67±0,88 a
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	6,67±0,33 a	7,33±0,33 a
Kontrol	8,33±0,33 a	7,67±0,33 a
1,0 ppm Pb	7,67±0,33 a	8,33±0,88 a
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	6,67±0,33 a	6,67±0,88 a
<b>Total Protein (g/dL)</b>		
Kontrol	0,54±0,03 a	0,52±0,05 a
0,1 ppm Pb	0,64±0,02 a	0,57±0,05 a
0,1+0,3 ppm Pb+NTA	0,50±0,03 a	0,51±0,04 a
Kontrol	0,54±0,03 a	0,52±0,05 a
1,0 ppm Pb	0,59±0,03 a	0,60±0,05 a
1,0+3,0 ppm Pb+NTA	0,56±0,03 a	0,56±0,05 a

Değerler aritmetik ortalama±standart hata (N=6) olarak verilmiştir. a ve b harfleri aynı sürede derişimler arasında farklı belirtmek üzere kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler P<0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Transaminazlar sadece protein ve karbonhidrat metabolizmada görev alan enzimler değil, aynı zamanda stresin balık dokularındaki zararını kanıtlamak için kullanılan indikatörlerdir (Asztalos & Nemcsok, 1985). Pb'nin doku ve organlardaki ALT aktivitesini değiştiren hücreler arası iletişimi de etkilediği gösterilmiştir (Çoğun & Şahin, 2012). GGT, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda görev alır (Adeyemi vd., 2014). Önemli bir glikolitik enzim olan LDH, karbonhidrat metabolizmasında yer alır ve kimyasal strese maruz kalmanın belirleyici bir kriteri olarak kullanılır. (Kumari vd., 2011). Hücre zarında aktif taşınma sürecinde görev alan ALP, karbonhidrat metabolizmasında, büyümede, hücre farklılaşmasında, protein sentezinde ve belirli tipteki enzimlerin üretilmesinde ve salınmasında rolü vardır. Balıklar strese veya yaralanmaya maruz kaldıklarında, hücre yenilenmesi ve yara iyileşmesi sürecinde, bu enzimde bir artış gözlenmektedir (Al-Khshali & Al-Hilali, 2019). Kısaca; ALT, GGT, LDH, ALP enzimleri stres indikatörleri olup, sucul organizmalarda metal toksisitesinin değerlendirilmesinde ve doku hasarının

belirlenmesinde kullanılan önemli parametrelerdir (Akbari vd., 2018; Fırat & Şahin-İnandı, 2016; Kim vd., 2021; Rao, 2006).

Kurşun birikiminin karaciğer dokusuna göre kas dokusunda daha az olduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. (Çoğun & Şahin, 2012; Li vd., 2021). Bu çalışmada da karaciğer dokusunun Pb toksisitesinden kas dokusuna göre daha fazla etkilendiği gözlenmiştir. Pb ve krom (Cr) etkisinde kalan balıkların karaciğer ALT ve ALP aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Ale vd., 2016). Pb'yi de içeren metal kirliliğinin yoğun olduğu bölgeden alınan balıkların karaciğer ALT, ALP ve LDH aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Fitori vd., 2020). 7 ve 15 gün süreyle metal etkisine bırakılan *O. niloticus*'un ALT, ALP ve LDH aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Tunçsoy & Erdem 2021). *O. mossambicus*'un karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokularında toksisiteye karşı ALT, ALP, LDH aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Kavitha vd., 2011). Helal, (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, Pb'nin yüksek düzeyde olduğu gölden toplanan *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda ALT ve GGT aktivitelerinin yüksek olduğu saptanmıştır. *Cyprinus carpio*'nun bazı dokularında Pb kaynaklı değişiklikler üzerine askorbik asit ve tiamin'in koruyucu etkisinin incelendiği çalışmada, Pb etkisinde karaciğer ALT, LDH ve ALP aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Mirmazloomi vd., 2015) Bu sonuçlar bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

## SONUÇ

Bu çalışmada, *O. niloticus*'un karaciğer ve kas dokularında incelenen parametrelerde (TAS, TOS, OSİ, ALT, GGT, LDH, ALP) gözlenen değişiklikler kurşunun toksik etkisi sonucu oksidatif stresin ortaya çıktığını ve doku hasarına neden olduğunun göstergesidir. NTA varlığında ise anılan parametrelerin bir kısmında, görülen değişikliklerin ortadan kalktığı veya azaldığı gözlenmiştir. Bu durum kurşunun toksik etkisine karşı NTA'nın şelatlama özelliğinden dolayı balıkları kısmen de olsa toksisiteden koruduğu kanısına varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: FBA-2018-10696).

## KAYNAKLAR

- Adeyemi, J.A., Adewale, O.O. & Oguma, A.Y. (2014).** Mortality, oxidative stress and hepatotoxicity in juvenile african catfish, clarias *Gariépinus burchell*, exposed to lead and cypermethrin. *Bull Environ Contam Toxicol.*, **92**, 529-533. DOI: [0.1007/S00128-013-1169-2](https://doi.org/10.1007/S00128-013-1169-2)
- Akbary P., Yarahmadi, S.S. & Jahanbakhshi, A. (2018).** Hematological, hepatic enzymes' activity and oxidative stress responses of gray mullet (*Mugil cephalus*) after sub-acute exposure to copper oxide.

*Environ Sci Pollut Res.*, **25**, 1800-1808. DOI: [10.1007/S11356-017-0582-1](https://doi.org/10.1007/S11356-017-0582-1)

- Ale, A., Bacchetta, C. & Cazenave, J. (2016).** Responses of multiple biomarkers in the fish *Hoplosternum littorale* after exposure to chromium and lead. *Fresenius Environmental Bulletin*, **25**(10), 4052-4059.
- Alkan-Uçkun, A. & Uçkun, M. (2021).** Evaluation of some biomarkers in carp (*Cyprinus carpio* linnaeus, 1758) depending on water and sediment pollution of Atatürk dam lake. *Beü Fen Bilimleri Dergisi*, **10** (3), 744-753.
- Al-Khshali, M.S & Al-Hilali, H.A. (2019).** Some physiological changes (ALP, AST and ALT) of common carp (*Cyprinus carpio*) caused by high salinity. *Biochem. Cell. Arch.*, **19**(2), 4605-4610. DOI: [10.35124/Bca.2019.19.2.4605](https://doi.org/10.35124/Bca.2019.19.2.4605)
- Altunkaş, F., Karaman, K., Şahin, Ş., Celik, A. & Koc, F. (2014).** Gamma-glutamyl transferaz aktivitesi ve kardiyovasküler hastalıklar. *Mn Kardiyoloji*, **21**,1, 56-59.
- Anderson, R.L., Bishop, W.E. & Campbell, R.L. (1985).** A review of the environmental and mammalian toxicology of nitrotriacetic acid. *Critical Reviews In Toxicology*, **15**(1), 1-10. DOI: [10.3109/10408448509023766](https://doi.org/10.3109/10408448509023766).
- Asztalos, B. & Nemcsok, J. (1985).** Effect of pesticides on the LDH Activity and isoenzyme pattern of carp, *Cyprinus carpio* (L.), sera. *Comparative Biochemistry And Physiology* **82**(1), 214-219. DOI: [10.1016/0742-8413\(85\)90233-6](https://doi.org/10.1016/0742-8413(85)90233-6)
- Aytekin Yüzereroğlu, T. (2011).** *Oreochromis niloticus*'da bakır, kadmiyum ve bakır-kadmiyum etkileşiminde metallerin doku ve organlarda birikimi, eliminasyonu ve antioksidant enzim aktivitelerine etkileri. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana, Türkiye, 169s.
- Can, E., Cıkcıkoğlu-Yıldırım, N. & Erdogan, D. (2017).** Seasonal changes in antioxidant defence system on brown trout (*salmo* sp.) in Munzur stream. *Fresenius Environmental Bulletin*. **26**(10) 5936-5941.
- Çaylak, E. (2010).** Çocuklarda kurşun zehirlenmesi, oksidatif stres ve tiyol bileşiklerin antioksidan etkisi. *Çocuk Dergisi*, **10**(1),13-23. DOI: [10.5222/J.Child.2010.01](https://doi.org/10.5222/J.Child.2010.01)
- Çoğun H.Y. & Şahin, M.(2012).** Nil Tilapia (*Oreochromis Niloticus* Linnaeus, 1758)'da kurşun toksisitesinin azaltılmasında zeolitin etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* **18**(1), 135-140. DOI: [10.9775/Kvfd.2011.5170](https://doi.org/10.9775/Kvfd.2011.5170)
- Demirpençe, Ö., Sevim, B., Yıldırım, M., Ayan Nurlu, N., Mert, D. & Evliyaoglu, O. (2014).** Serum paraoxonase, Tas, Tos and ceruloplasmin in brucellosis. *Int J Clin Exp Med.*, **7**(6), 1592-1597.
- Dündar, Y. & Aslan, Y. (2005).** Yaşamı kuşatan ağır metal kurşunun etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi*, **6**, 1-5.
- Elbeshtı, R.T.A., Elderwish, N.M., Abdelah, K.M. & Taştan, Y. (2018).** Effects of heavy metals on fish. *Menba Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **4**(1), 36-47.
- Erel, O. (2004).** A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable abts radical cation. *Clinical Biochemistry*, **37**, 277-285.
- Erel, O. (2005).** A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **38**, 1103-1111.
- Fırat, Ö. & Kargın, F. (2010).** Individual And Combined Effects Of Heavy Metals On Serum Biochemistry Of Nile Tilapia *Oreochromis Niloticus*. *Arch Environ*

- Contam Toxicol.*, **58**, 151-157. DOI: [10.1007/S00244-009-9344-5](https://doi.org/10.1007/S00244-009-9344-5)
- Fırat Ö. & Şahin-İnandı, A. (2016).** *Oreochromis niloticus*'ta bazı serum biyokimyasal parametreleri kullanılarak civa toksisitesi üzerine zeolitin birlikte etkisinin araştırılması. *Su Ürünleri Dergisi*, **33**(3), 251-257. DOI: [10.12714/egejfas.2016.33.3.09](https://doi.org/10.12714/egejfas.2016.33.3.09)
- Fırat, Ö., Cogun, H.Y., Yüzereroğlu, T.A., Gök, G., Fırat, Ö., Kargın, F. & Kötemen, Y. (2011).** A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology And Biochemistry*, **37**, 657-666. DOI: [10.1007/S10695-011-9466-3](https://doi.org/10.1007/S10695-011-9466-3)
- Firidin, G. (2019).** Effects of lead and its selenium mixtures on biochemical parameters of *Oreochromis niloticus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, **28**(1), 383-390.
- Fitori, A., Abdalnabi, B.M., Ali, R.A.S. & Ali, S.M. (2020).** Effects of some heavy metal pollutants on liver and kidney performance of mullet captured from Tubruk harbor comparing to Umm Hufayan lagoon. *DYSONA-Life Science*, **1**, 83-90.
- Franco A.L., Romero A.D., García-Navarro, A.J., Teles, B.M. & Tvarijonaviciute, A. (2016).** Esterase activity (ea), total oxidant status (tos) and total antioxidant capacity (tac) in gills of *Mytilus galloprovincialis* exposed to pollutants: analytical validation and effects evaluation by single and mixed heavy metal exposure. *Marine Pollution Bulletin*, **102**, 30-35.
- Helal, E.G.E., El-Atti, M. S.A. & Ekraim, Y.M (2018).** Harmful effects of water pollution on some physiological responses of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in both Qarun and Burullus lakes. *The Egyptian Journal Of Hospital Medicine*, **72**(2), 4021-4025.
- Hong, J. & Pintauro, P.N. (1996).** Selective removal of heavy metals from contaminated kaolin by chelators. *Water, Air, And Soil Pollution*, **87**, 73-91.
- Ismail, N.M., Ali, S.E & Mohamed, I.K. (2017).** Biochemical and histological biomarker approaches in the assessment of the water pollution in some lined and unlined watercourses of Egypt. *International Journal Of Fisheries And Aquatic Studies*, **5**(3), 288-296.
- Kavitha, P., Ramesh, R., Bupesh, G., Stalin, A., & Subramanian, P. (2011).** Hepatoprotective activity of *Tribulus terrestris* extract against acetaminophen-induced toxicity in a freshwater fish (*Oreochromis mossambicus*). *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Animal* **47**, 698-706. DOI: [10.1007/S11626-011-9457-9](https://doi.org/10.1007/S11626-011-9457-9)
- Kaya, İ., Yılmaz, M., Koç, E., Deveci H.A., Ersan Y. & Karapehlivan, M. (2014).** Tebukonazol (fungisit) uygulanan *Cyprinus carpio* (l. 1758)'da serum total antioksidan, oksidan ve sialik asit düzeylerinin incelenmesi. *Journal of Fisheries sciences*, **8**(3), 214-219.
- Kim, D.W., Ock, J., Moon, K.W. & Choong-Hee Park, C.H. (2021).** Association between Pb, Cd, and Hg exposure and liver injury among Korean adults. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **18**, 67-83. DOI: [10.3390/Ijerp18136783](https://doi.org/10.3390/Ijerp18136783)
- Kovacic, A., Tvrda, E., Miskeje M., Arvay, J., Tomka, M., Zbýnovska, K., Andreji, J., Hleba, L., Kovacikova, E., Fik, M., Cupka P., Nahacky, J. & Massanyi, P. (2019).** Trace metals in the freshwater fish *Cyprinus carpio*: effect to serum biochemistry and oxidative status markers. *Biological Trace Element Research*, **188**, 494-507 DOI: [10.1007/S12011-018-1415-X](https://doi.org/10.1007/S12011-018-1415-X)
- Kumari, K., Ranjan, N. & Sinha, R.C. (2011).** Multiple Biomarker Response In The Fish, *Labeo Rohita* Due To Hexavalent Chromium. *2nd International Conference On Biotechnology And Food Science*. 155-158.
- Li, M., Kong, Y., Wu, X., Yin, Z., Niu, X. & Wang, G. (2021).** Dietary  $\alpha$ -lipoic acid can alleviate the bioaccumulation, oxidative stress, cell apoptosis, and inflammation induced by lead (Pb) in *Channa argus*. *Fish And Shellfish Immunology*, **119**, 249-261.
- Mirmazloomi, S., Shahsavani, D. & Baghshani, H. (2015).** Studies on the protective effects of ascorbic acid and thiamine on lead-induced lipid and protein oxidation as well as enzymatic alterations in some tissues of *Cyprinus carpio*. *Comp Clin Pathol.*, **24**, 1231-1236. DOI: [10.1007/s00580-015-2065-4](https://doi.org/10.1007/s00580-015-2065-4)
- Rao J.V. (2006).** Biochemical alterations in euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus* exposed to sub-lethal concentrations of an organophosphorus insecticide, monocrotophos. *Chemosphere*, **65**, 1814-1820.
- Tulgar, A. (2014).** *Propargite (Akarisit)'Nin Sublethal Dozlarının Sazan Balığı (Cyprinus Carpio, Linnaeus, 1758)'nda Kan Parametrelerine Etkisi Ve Kas Dokusundaki Birikimi*. Doktora Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Çanakkale, Türkiye 118s.
- Tunçsoy, M. & Erdem, E. (2021).** Comparison to toxic effects of copper oxide nanoparticles and copper sulphate on some serum parameters and enzyme activities of *Oreochromis niloticus*. *Journal Of Anatolian Environmental And Animal Sciences*, **6**(4), 514-521. DOI: [10.35229/Jaes.987548](https://doi.org/10.35229/Jaes.987548)
- Yağcı, R., Özyurt, H., Akbaş, A., Aydın, B., Özlük, E., Ekşiöğlü, M. & Totan, Y. (2007).** Behçet hastalığında toplam antioksidan kapasite, toplam oksidan durum ve dehidroepiandrosteron sülfat düzeyleri. *Ret-Vit.*, **15**, 263-266.
- Yancheva, V., Velcheva, I., Stoyanova, S. & Georgieva, E. (2015).** Fish in ecotoxicological studies. *Ecologia Balkanica*, **7**(1), 149-169.
- Yılmaz, M., Koç, E., Atakışı, O., Harmankaya, A., Ersan, Y., Karaman, M. & Çitil, M. (2016).** The protective effects of L-carnitine against lead (II) acetate toxicity in *Capoeta capoeta* (guldenscheidt 1773). *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **22**(4), 511-518. DOI: [10.9775/Kvfd.2015.14942](https://doi.org/10.9775/Kvfd.2015.14942)
- Zhang, Y., Klammerth, N., Chelme-Ayala, P. & Gamal El-Din, M. (2017).** Comparison of classical fenton, nitritotriacetic acid (nta)-fenton, uv-fenton, uv photolysis of Fe-nta, uv-nta-fenton, and UV-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for the degradation of cyclohexanoic acid. *Chemosphere*, **175**, 178-185.