



TURKISH

JOURNAL OF AQUATIC SCIENCES

RESEARCH ARTICLE/ARAŞTIRMA MAKALESİ

ISSN: 2149-9659

E-ISSN: 2528-9462



***Oreochromis niloticus*'TA CIVANIN BİYOKİMYASAL TOKSİSİTESİ VE BU TOKSİSİTE ÜZERİNE ZEOLİTİN KORUYUCU ETKİSİ**

Özgür FIRAT, Arzu ŞAHİN İNANDI

Adıyaman Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adıyaman, TÜRKİYE

ARTICLE INFO

Received: 10/04/2016

Accepted: 10/10/2016

Published online: 04/12/2016

Firat and Şahin İnandı 31(2): 86-95 (2016)

doi: 10.18864/TJAS201610

Corresponding author: Özgür FIRAT
Adıyaman Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adıyaman, TÜRKİYE

E-mail: ofirat@adiyaman.edu.tr

Anahtar Kelimeler:

Oreochromis niloticus

Cıva

Zeolit

Serum enzimleri

Keywords:

Oreochromis niloticus

Mercury

Zeolite

Serum enzymes

Öz

Bu çalışmada Nil Tilapia'sı *Oreochromis niloticus*'ta serum enzim aktiviteleri kullanılarak cıva (Hg) toksisitesi ve zeolit koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla balıklar 0,01 ve 0,05 mg/L Hg ile 0,01 mg/L Hg+0,01 g/L Zeolit ve 0,05 mg/L Hg+0,05 g/L Zeolit karışımlarının etkisine 4 ve 21 günlük sürelerle bırakılmış ve kan serumunda alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP) ve laktat dehidrojenaz (LDH) enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Doğrudan cıva ve cıva+zeolit karışımlarının etkisinde incelenen serum enzim aktivitelerinde ortam derişimine ve etki süresine bağlı olarak önemli değişiklikler saptanmıştır. ALT, AST ve ALP aktivitelerinde cıvanın her iki ortam derişiminin etkisinde 4 ve 21 günlük süreler; cıva+zeolit karışımının ise yüksek ortam derişiminde ve 21 günlük etki süresi sonunda anlamlı bir artış belirlenmiştir (P<0,05). LDH aktivitesi ise cıvanın tek başına ve zeolitle birlikte etkisinde her iki ortam derişimlerinde hem 4 hem de 21 günlük süreler sonunda önemli bir artış göstermiştir (P<0,05). Sunulan çalışmada *O. niloticus*'un serum enzim aktivitelerindeki artışların cıva+zeolit karışımına oranla cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar ortamda zeolit bulunduğu cıva toksisitesinin kısmen ya da tamamen düzeldiğini göstermektedir.

Abstract

BIOCHEMICAL TOXICITY OF MERCURY AND PROTECTIVE EFFECT OF ZEOLITE ON THIS TOXICITY IN *Oreochromis niloticus*

In this study, it was investigated mercury (Hg) toxicity and protective effect of zeolite by using serum enzymes activities of *Oreochromis niloticus*. For this purpose fish were exposed to 0.01 and 0.05 mg/L Hg and 0.01 mg/L Hg+0.01 g/L Zeolite and 0.05 mg/L Hg+0.05 g/L Zeolite for 4 and 21 days and alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and lactate dehydrogenase (LDH) activities were measured in blood serum. In the exposures of mercury alone and mercury+zeolite mixtures, significant changes were determined in all enzymes activities due to medium concentration and exposure period. ALT, AST, and ALP activities significantly increased at 4 and 21 days in both exposure concentrations of mercury and at 21 days in higher concentration of mercury+zeolite mixture (P<0.05). LDH activity elevated all tested concentrations of mercury and mercury+zeolite mixtures after the both exposure periods (P<0.05). In the present research it was determined increases in activities of serum enzymes of *O. niloticus* were higher in the mercury alone than mercury+zeolite mixture and zeolite partially or totally played a protective role against the toxic effect of Hg.

GİRİŞ

Balıklar en duyarlı akuatik organizmalar olup yaşadıkları ortamlardaki en düşük düzeyli değişimlere bile yanıtlar oluşturabilirler (Jee vd., 2005). Doğal ortamlarındaki herhangi bir değişiklik balıklarda çeşitli fizyolojik ya da biyokimyasal yanıtlar oluşturabilmektedir. Metaller, ekosistemin önemli bir ögesi olan ve besin kaynağı olarak tüketilen balıklarda biyokimyasal, fizyolojik, metabolik ve histopatolojik değişikliklere neden olarak (Firat ve Kargın 2010a,b) bu canlıların iç dinamiklerinde ve hücresel mekanizmalarında önemli değişikliklere neden olmaktadır (Basha ve Rani, 2003).

Nil tilipiası *Oreochromis niloticus*, dünyada geniş çapta kültürü yapılan tatlı su balığıdır. Omnivor, eurihalin ve sıcak su balığı olan bu tür yeryüzündeki birçok su ortamlarına tanıtılmıştır. Güçlü bir immün yapısı ve kirleticilere karşı oldukça dirençli olması nedeniyle günümüzde birçok ekotoksikolojik araştırmalarda önemli bir model organizma olarak kullanılmaktadır. Birçok araştırmacı akuatik ekosistemlerdeki ağır metaller, pestisitler ve diğer kirleticilerin etkilerinin değerlendirilmesinde bu türü yaygın bir şekilde kullanmaktadır (Ishikawa vd., 2007; Firat vd., 2011; Çoğun vd., 2012)

Cıva biyolojik fonksiyonlar için gerekli olmayan ve çok düşük düzeyler de bile oldukça toksik olabilen bir ağır metaldir. Cıva, Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS) tarafından çevredeki en tehlikeli kimyasallardan biri olarak listelenmiştir (Gilbert ve Grant-Webster, 1995). Bu ağır metal nörotoksik, embriyotoksik ve sitotoksik gibi toksikolojik etkileri ile çevredeki geniş yayımları ve kalıcılıklarıyla en tehlikeli ksenobiyotik sınıfa da dahil edilmektedir (Gundacker vd., 2006). Balıklar için yüksek konsantrasyonları öldürücü etkiye sahip olan cıvanın subletal konsantrasyonları ise morfolojilerinde, davranışlarında, biyokimyasal ve fizyolojik parametrelerinde önemli değişikliklere neden olmaktadır (Çoğun vd., 2012).

Zeolitler yeryüzünde oldukça bol bulunan ve doğal süreçler sonucunda oluşan minerallerdir. Zeolitler alkali (sodyum, potasyum) ve toprak alkali (kalsiyum, magnezyum) elementlerinin sulu alüminosilikatlarından oluşan ve oksijen atomlarını paylaşarak birbirlerine bağlanabilen $(SiO_4)^{4-}$ ve $(AlO_5)^{5-}$ 'in sınırsız uzayabilen üç boyutlu yapıyla karakteristiktirler (Çolpan vd., 1995). Zeolitler üç boyutlu yapısı, geniş gözenek hacimli ve

birbiriyle bağlantılı kanallarıyla ağ şeklindeki kristal kafes yapısı ile geniş bir iç alana sahiptir. Bu sayede başta ağır metaller olmak üzere radyoaktif elementleri ve çeşitli gazları kolayca bünyesinde tutabilmektedir (Mumpton, 2006). Zeolitler yapısında bulunan K^+ , Na^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi metaller sayesinde iki değerlikli kanyonlarla (cıva, kadmiyum, çinko, kurşun gibi) yer değiştirebilmektedirler (Taş vd., 2007). Zeolitlerin bu önemli özelliği çevresel çalışmalarda en sık kullanılma nedenini de oluşturmaktadır. Zeolitler ağır metallerle karşı yüksek ilgileri ve yüksek kanyon değiştirme kapasiteleriyle uygun materyal olarak hayvanlardaki ağır metal toksisitesinin önlenmesinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Papaioannou vd., 2005).

Balıklar çevreleriyle çok yakın ilişki halinde olduklarından sudaki fiziksel ve kimyasal değişikliklerden hemen etkilenebilmektedir. Kan dokusu iç ve dış ortam arasındaki bütünselliği temsil etmektedir ve ağır metalleri içeren çevresel ajanlar balıkların kan biyokimyasında değişikliğe neden olarak balıklarda stres oluşturabilmektedirler. Balık kan parametreleri toksikantların varlığında oluşan fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerin belirlenmesinde yararlı belirteçler olarak kullanılmaktadır (Oliverira Ribeiro vd., 2006). Balıklarda metallerin toksik etkilerinin belirlenmesinde yaygın bir şekilde serum enzim aktiviteleri kullanılmaktadır (Firat vd., 2011). ALT, AST, ALP ve LDH gibi çeşitli serum enzimlerinin metallerin biyokimyasal belirteçleri olarak sucül ortamlardaki kirleticilerin varlığı ve toksisiteyi hakkında yararlı bilgiler sumaktadır (Hamed vd., 2003).

Omurgalılarda transaminazlar hem mitokondrial hem de sitozolik enzimler olup aminoasit katabolizmasına ve α -keto ya da diğer organik asitlerin transfer işlemlerinde rol oynamaktadırlar (Stanic vd., 2006). ALT ve AST önemli aminotransferaz enzimler olup balıklarda karaciğer, solungaç ve kas gibi çeşitli dokularda kirleticilerin indüklediği hasarın belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadırlar (De la Tore vd., 2000). Ekstraselüler sıvı ya da plazmada bu enzim düzeylerindeki artışlar düşük düzeydeki hücresel hasarın bile duyarlı indikatörü olarak atfedilmektedir; çünkü hücre içindeki düzeyleri ekstraselüler sıvıdakine oranla üç kattan daha fazladır (Moss vd., 1986). Serum ALP ve LDH aktiviteleri de hayvanların sağlık durumlarının değerlendirilmesinde oldukça sık kullanılan biyobelirteçlerdir. Önceki çalışmalarda ağır metallerin balıkların dokularındaki ALT, AST, ALP gibi çeşitli enzim aktivitelerini etkilendiği ancak

ortamda zeolit bulunduğunda ise bu etkilerin engellendiğı gösterilmiştir (Balasubramanian ve Kumar, 2013; oğun ve Şahin, 2013).

Yeryüzündeki en toksik metallere biri olan cıvanın, sucul ekosistemin ve besin zincirinin önemli bir ögesi olan ve insanların birinci dereceden besinini oluşturan balıklar üzerine toksik etkilerini ve bu toksisite üzerine koruyucu mekanizmaları çalışmak hem bu akuatik canlıların hem de insanların sağlığı açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada serum enzim aktiviteleri ile cıvanın balıklarda neden olduğu biyokimyasal toksisitenin belirlenmesi ve iyon değıştirme yetenekleri ile ağır metal toksisitesini baskıladığı bilinen zeolit cıva toksisitesi üzerine koruyucu etkisinin değıerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için *O. niloticus* cıvanın tek başına ve zeolitle birlikte etkisine bırakılarak serum ALT, AST, ALP ve LDH aktiviteleri ölçülmüştür.

MATERYAL ve METOT

Sunulan çalışma için gerekli Etik Kurul onayı Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar No:4, Tarih: 29.09.2014). Çalışmamızda araştırma materyali olarak *Oreochromis niloticus* kullanılmıştır. Balıklar, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi bünyesindeki balık yetiştirme havuzlarından alınmış ve laboratuvara getirilerek içerisinde 120 L bekletilmiş çeşme suyu bulunan 40x140x40 cm ebatlarındaki 14 stok cam akvaryumda ortam koşullarına uyumları için üç ay süre ile bırakılmışlardır. Bu süre içerisinde balıklar 12,18 ± 0,64 cm boy ve 30,28 ± 0,51 g ağırlığa ulaşmıştır. Deneyler 25±1 °C'de yürütülmüş, günde sekiz saat aydınlanma periyodu uygulanmıştır. Merkezi havalandırma sistemiyle akvaryumların havalandırılması sağlanmıştır. Laboratuvar koşullarına uyumları sırasında balıklar, hazır balık yemi kullanılarak (Pınar Balık Yemi, Türkiye) beslenmiştir. Denemelerden 48 saat öncesinde yem kesilmiş ve denemeler boyunca günde iki defa olmak üzere vücut ağırlıklarının %2'si kadar yem ile balıklar beslenmiştir. Deney suyunun kimyasal özellikleri; toplam sertlik 325±7 mg/L CaCO₃, çözünmüş oksijen 7,07±0,06 mg/L, pH 7,78±0,05, akvaryum suyunun sıcaklığı 21,13±0,42 °C olarak ölçülmüştür.

Deneyler cıva ve cıva + zeolit karışımları dikkate alınarak iki grup olacak şekilde yürütülmüştür. Birinci gruptaki balıklar cıvanın 0,01 ve 0,05 mg/L; ikinci gruptakiler ise cıva + zeolit 0,01 mg/L cıva + 0,01 g/L zeolit ve 0,05 mg/L cıva + 0,05

g/L zeolit derişimlerinin etkisine 4 ve 21 gün sürelerle bırakılmıştır. *O. niloticus* için Hg'nin 96 saat-LC₅₀ değıeri 0,2 mg/L olarak saptanmıştır (Is hikawa vd., 2007). Çalışmamızda test edilen cıvanın 0,01 ve 0,05 mg/L derişimleri, bu LC₅₀ değıerinin sırasıyla 1/20 ve 1/4'ü baz alınarak subletal konsantrasyonlar olarak seçilmiştir. Deneylerde her birinin içerisinde 12 adet balık bulunan 120 L hacminde 5 adet akvaryum kullanılmıştır. Deneylerde birinci seride beş akvaryumun ilk ikisine cıva çözeltileri; ikinci seride üçüncü ve dördüncü akvaryumlara cıva + zeolit çözeltilerinden 120'şer litre ve son akvaryum ise kontrol grubu olarak kullanılarak içerisinde aynı hacimde (120 L) dinlendirilmiş çeşme suyu konmuştur. Deney akvaryumlarında kullanılan kimyasalların derişimlerinde zamana bağılı olarak değışim olabileceğı dikkate alınarak çözeltiler her gün yeni hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değıştirilmiştir. Deneyler altı tekrarlı olarak yürütülerek her tekrarda bir balık kullanılmıştır.

Denenen etki süreleri sonunda deney akvaryumlarından rastgele balıklar alınmıştır. Balıkların kan alma sırasında strese girmesini ve böylelikle incelenecek kan parametrelerinde meydana gelebilecek olası değışiklikleri önlemek için balıklara anestezi madde uygulanmıştır. Akvaryumlardan alınan balıklar 75 mg/L derişimindeki MS222 (etil p-amino benzoat metan sülfanat veya trikain metan sülfanat) anestezi maddesi ile bayıltılmıştır. Bayıltılan balıkların boy ve ağırlıkları alındıktan sonra zaman kaybetmeksizin kaudal pedinkülün vertikal kesilmesi yoluyla kan örnekleri alınmıştır. Kan örnekleri içinde her hangi bir antikoagülan madde bulunmayan tüplere alınarak 10 dakika süre ile 3000 rpm'de santrifüj edilerek serumlar elde edilmiştir. Serum örneklerindeki alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalin fosfat (ALP) ve laktat dehidrojenaz (LDH) enzim analizleri, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarındaki Beckman Coulter DXC 800 otoanalizatör cihazında yürütülmüştür. Enzim aktivitelerinin belirlenmesinde ALT ve AST için Bergmeyer vd. (1985); ALP için Empfehlungen (1972), LDH için ise Wacker vd. (1956)'nin önerdikleri yöntemlere göre yapılmıştır.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics 21.0 paket programı kullanılmıştır. Veriler tabloda aritmetik ortalama±standart hata şeklinde sunulmuştur. Tabloda enzim aktivitelerinde belirli bir etki süresinde derişimler arasındaki ayırımı göstermek için One Way-ANOVA'yı takiben Student Newman Keul's

(SNK) testi ve aynı derişimde süreler arasındaki ayrımı göstermek için ise Student *t* test uygulanmıştır (Sokal ve Rohfl, 1969).

BULGULAR ve TARTIŞMA

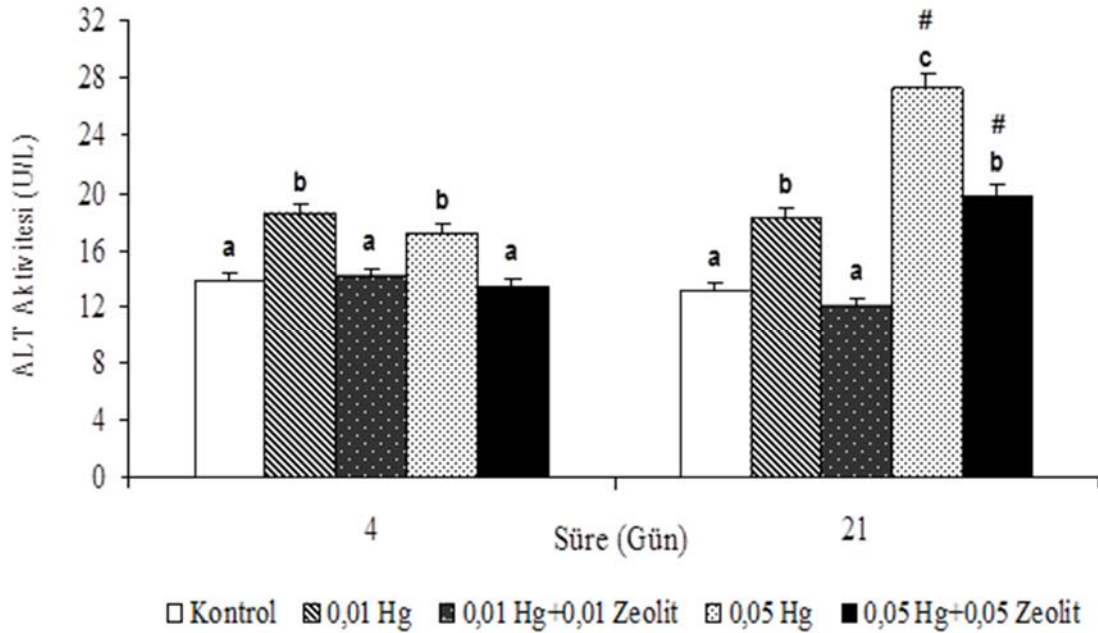
Deneyler süresince ve cıva derişimlerinin etkisinde balıklarda mortalite gözlenmemekle birlikte solunumun artması, kontrolsüz yüzme, iştahsızlık, renklerinde koyulaşma gibi morfolojilerinde ve davranışlarında ve analizler sonucunda da kan biyokimyasal parametrelerinde önemli değişiklikler gözlenmiştir.

Cıva ve cıva + zeolit karışımlarının belirli bir ortam derişiminde ve denenen etki sürelerinde *O. niloticus*'un serum ALT, AST, ALP ve LDH aktiviteleri sırasıyla Şekil 1, 2, 3 ve 4'te verilmiştir.

Belirli bir etki süresinde ALT aktivitesi cıvanın doğrudan etkisinde her iki ortam derişiminde 4 ve 21 günlük süreler sonunda; cıva+zeolit karışımının etkisinde ise 21 günlük süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde anlamlı bir artış göstermiştir ($P<0,05$). 21 günlük etki süresi sonunda yüksek

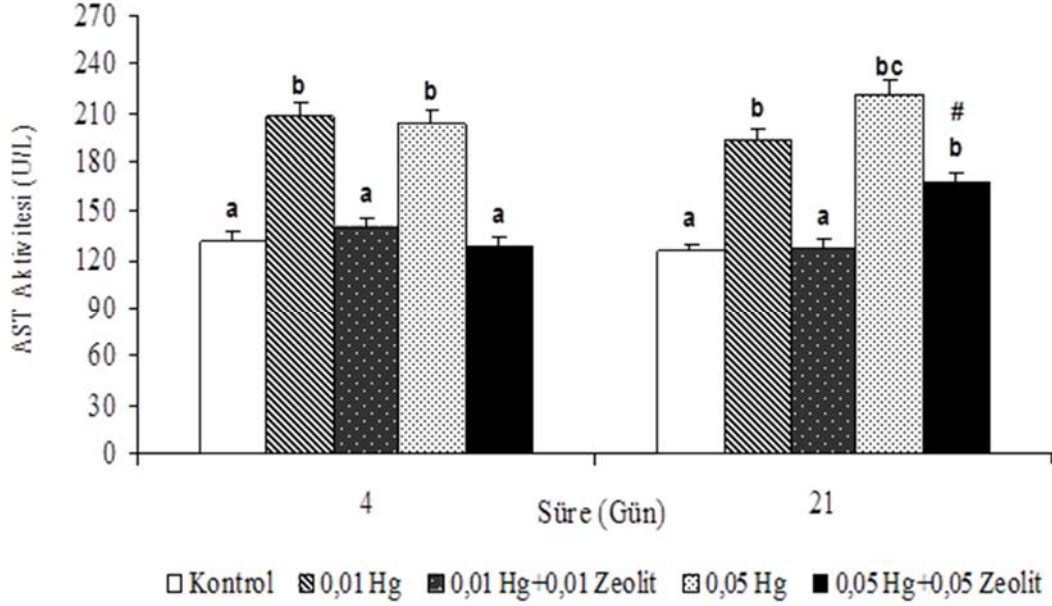
cıva ve cıva+zeolit karışımının etkisinde ALT aktivitesinin sırasıyla %109 ve %52 düzeyinde arttığı saptanmıştır. Etki süresine bağlı olarak ALT aktivitesi ise cıva ve cıva+zeolit karışımının yüksek ortam derişiminde anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($P<0,05$).

İlk etki süresi sonunda cıva+zeolit karışımlarının etkisinde anlamlı bir değişim göstermeyen ($P>0,05$) AST aktivitesi, 0,01 ve 0,05 mg/L cıva etkisinde anlamlı bir artış göstermiştir ($P<0,05$). 21 günlük süre sonunda ise cıvanın her iki ortam derişimlerinde ve cıva+zeolit karışımının da yüksek ortam derişiminde enzim aktivitesinde önemli bir artış belirlenmiştir ($P<0,05$). Son etkileşim süresi sonunda AST aktivitesinde yüksek cıva ve cıva+zeolit karışımının etkisinde sırasıyla; %77 ve %34 düzeyinde bir artış saptanmıştır. Belirli bir ortam derişimi dikkate alındığında AST aktivitesi süreye bağlı olarak cıva+zeolit karışımının yüksek ortam derişiminde anlamlı bir artış göstermiştir ($P<0,05$).



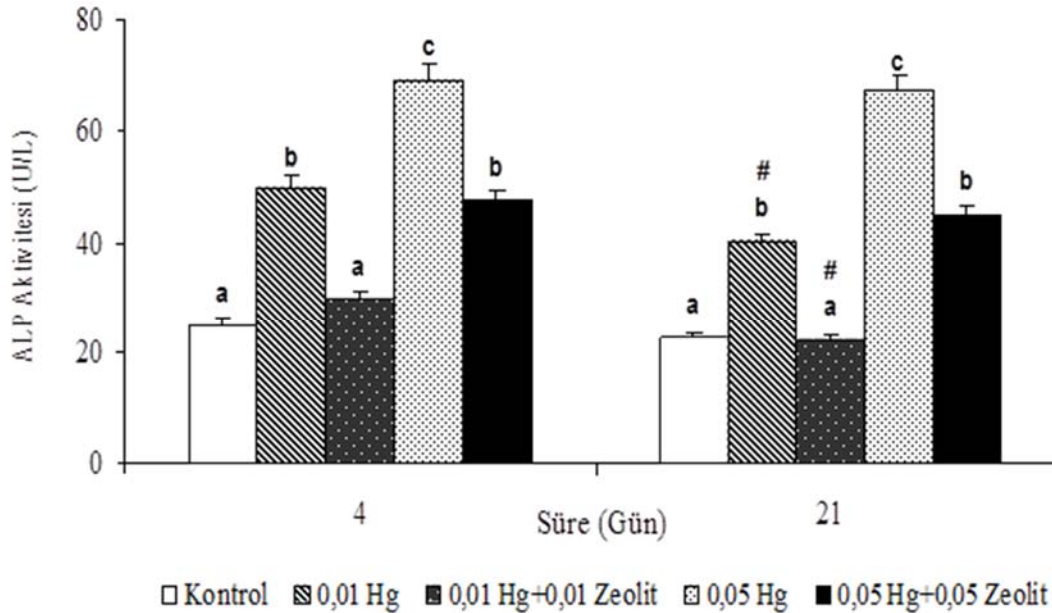
Şekil 1. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımlarının etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta serum ALT aktivitesi. "a, b ve c" harfleri aynı etkileşim süresinde derişimler arasındaki, "#" işareti ise aynı derişimde süreler arasındaki enzim aktivitesinde saptanan istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0,05$).

Figure 1. Serum ALT activity of *O. niloticus* exposed to mercury (mg/L) and mercury (mg/L) + zeolite (g/L) mixtures. Letters a, b and c indicate significant differences among groups at the same time ($P<0,05$). # shows significant differences between time for the same exposure group ($P<0,05$).



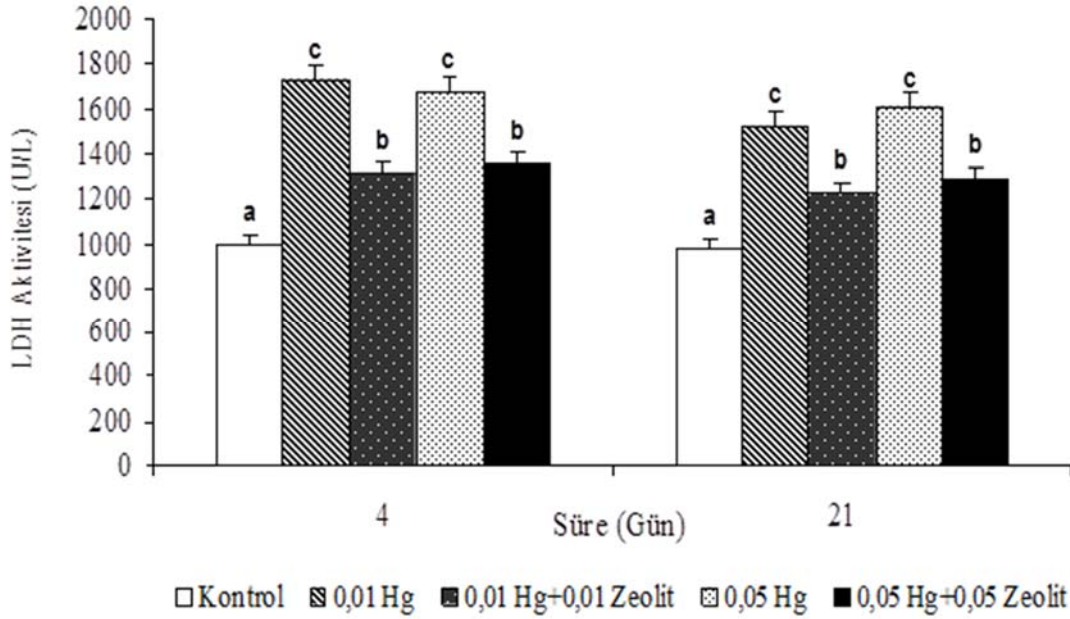
Şekil 2. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımlarının etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta serum AST aktivitesi. "a, b ve c" harfleri aynı etkileşim süresinde derişimler arasındaki, "#" işareti ise aynı derişimde süreler arasındaki enzim aktivitesinde saptanan istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0,05).

Figure 2. Serum AST activity of *O. niloticus* exposed to mercury (mg/L) and mercury (mg/L) + zeolite (g/L) mixtures. Letters a, b and c indicate significant differences among groups at the same time (P<0.05). # shows significant differences between time for the same exposure group (P<0.05).



Şekil 3. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımlarının etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta serum ALP aktivitesi. "a, b ve c" harfleri aynı etkileşim süresinde derişimler arasındaki, "#" işareti ise aynı derişimde süreler arasındaki enzim aktivitesinde saptanan istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05).

Figure 3. Serum ALP activity of *O. niloticus* exposed to mercury (mg/L) and mercury (mg/L) + zeolite (g/L) mixtures. Letters a, b and c indicate significant differences among groups at the same time (P<0.05). # shows significant differences between time for the same exposure group (P<0.05).



Şekil 4. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımlarının etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta serum LDH aktivitesi. "a, b ve c" harfleri aynı etkileşim süresinde derişimler arasındaki, "#" işareti ise aynı derişimde süreler arasındaki enzim aktivitesinde saptanan istatistiksel ayrımı göstermektedir ($P<0.05$).

Figure 4. Serum LDH activity of *O. niloticus* exposed to mercury (mg/L) and mercury (mg/L) + zeolite (g/L) mixtures. Letters a, b and c indicate significant differences among groups at the same time ($P<0.05$). # shows significant differences between time for the same exposure group ($P<0.05$).

ALP aktivitesi her iki etkileşim süresi sonunda cıvanın her iki ortam derişimlerinde ve cıva+zeolit karışımının ise yüksek ortam derişiminde anlamlı bir artış göstermiştir ($P<0,05$). 21 günlük etki süresi sonunda yüksek cıva ve cıva+zeolit karışımının etkisinde ALP aktivitesinde sırasıyla %193 ve %97 düzeylerinde bir artış saptanmıştır. Etki süresine bağlı olarak ise ALP aktivitesi cıva ve cıva+zeolit karışımının düşük ortam derişiminde anlamlı bir azalış göstermiştir ($P<0,05$).

LDH aktivitesi cıva ve cıva+zeolit karışımlarının her iki ortam derişimlerinin etkisinde hem 4 hem de 21 günlük süreler sonunda önemli bir artış göstermiştir ($P<0,05$). İlk etki süresi sonunda yüksek cıva ve cıva+zeolit karışımının etkisinde LDH aktivitesinde sırasıyla, %68 ve %36 düzeyinde bir artış saptanmıştır. Süreye bağlı olarak LDH aktivitesi test edilen kimyasalların ortam derişimlerinde önemli bir değişim göstermemiştir ($P>0,05$).

Kan tüm vücudun patofizyolojik göstergesi olduğundan kan biyokimyasal parametreleri kirleticilerin etkisindeki balıklardaki yapısal ve fonksiyonel bozuklukların belirlenmesinde önemlidir (Adhikari vd., 2004). Biyokimyasal kan parametrelerindeki değişimler çeşitli toksikantların etkisi sonucu oluşan biyokimyasal ve metabolik proseslerdeki değişimleri gösterdiğinden bu toksikantların toksisitesinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Luskova vd., 2002).

Biyobelirteçler klinik açıdan herhangi bir hastalık oluşmadan önce hayvanlarda ağır metallerin toksik etkilerinin önceden belirlenmesinde önemlidir. Balıklardaki biyokimyasal parametreler metal stresinde balık metabolizmasındaki değişiklikleri değerlendirmek için duyarlı belirteçlerdir. Çevresel (sıcaklık, ışık, yoğunluk, tuzluluk), fizyolojik (yaş, beslenme, cinsiyet) faktörler ve toksik maddeler (pestisit ve ağır metaller gibi) balık kan parametrelerini etkilemektedir (Chen vd., 2003; Fırat vd., 2011). Sunulan araştırmada da cıvanın *O. niloticus*'un kan serumundaki enzim (ALT, AST, ALP ve LDH) aktivitelerini ortam derişimine ve etkisi süresine bağlı olarak etkilediği belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda da balık kan dokusundaki ALT ve AST enzim aktivitelerinde ağır metallerin etkisinde çalışılan balık türüne, ortam derişimine

ve etki süresine bağlı olarak önemli değişikliklerin olduğu belirlenmiştir (Fırat vd., 2011; Gharaei vd., 2011; çoğun vd., 2012).

Hücreler çeşitli fonksiyonlarını yerine getirmek için birçok enzim içermektedirler. Bu hücre içi enzimler membran bütünlüğünün bozulması sonucunda plazma/seruma sızıntı halinde geçebilmekte ve kan dokusunda bu enzimlerin düzeyleri bu nedenle hücre bütünlüğün duyarlı belirteçleri olarak ölçülmektedir (Coppo vd., 2002). Balık kanı kirleticilerin indüklediği strese duyarlı olup bazı serum parametreleri doku hasarının belirlenmesinde kullanılmaktadır (Patil ve Kulkarni, 1993). Karaciğer hasarı serum ALT ve AST aktivitesinin ölçülmesiyle değerlendirilmektedir. ALT ve AST aktiviteleri protein ve karbonhidrat metabolizması arasındaki stratejik bir ilişkiyi gösterir ve çeşitli fizyolojik ya da patolojik durumlarda düzeyleri değişebilmektedir (Shivakumar, 2005). Sunulan araştırmada *O. niloticus*'ta serum ALT ve AST aktivitelerinde doğrudan cıvanın etkisinde her iki ortam derişimininde ve her iki etkileşim süreleri sonunda; cıva+zeolit karışımlarının ise yüksek ortam derişiminde ve 21 günlük süre sonunda önemli bir artış saptanmıştır. Bu enzimlerin aktivitelerindeki artışlar cıvanın tek başına etkisinde zeolitle birlikte etkisine oranla daha fazla olmuştur.

Serum ALT ve AST aktivitelerinin cıvanın toksik etkisinin bir sonucu olarak karaciğer dokusunun hasar görmesine bağlı olarak arttığı düşünölmektedir. Serum ALT ve AST enzimlerinin kaynağı karaciğer dokusu olup bunlar hücre içi enzimlerdir. Normal koşullarda bu enzimlerin aktiviteleri serumda düşük düzeydedir. Ancak karaciğer dokusunun herhangi bir nedenle örneğin kimyasal ajanların varlığında hasar görmesi ve bunun sonucunda da hücre membran bütünlüğünün bozulmasıyla bu enzimler sitozolden hücreler arası sıvıya oradan da kana sızıntı halinde geçebilmektedir. Bu durumda da serumdaki aktiviteleri artış gösterebilmektedir. Çalışmamızla benzer olarak Fırat ve Kargin (2010a) de 5 ppm Zn, 1 ppm Cd ve 5+1 ppm Zn+Cd etkisine 14 günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'un kan serumunda ALT ve AST enzim aktivitelerinde anlamlı artışlar belirlemişlerdir. Araştırmacılar artan serum ALT ve AST aktivitelerinin metallerin etkisinde karaciğer dokusunun hasar görmesine bağlı olarak meydana geldiğini vurgulamışlardır. De la Tore vd. (2000) kirleticilerin karaciğer, solungaç ve kas dokuları üzerine olan zararlı etkilerinin sonucu olarak plazma ALT ve AST aktivitelerinin arttığını ve bu enzim akti-

vitelerinin bu nedenle de doku hasarlarının teşhisinde önemli olduğunu belirtmişlerdir. Genel olarak kan dokusunda ya da hücreler arası sıvıdaki bu enzim aktivitelerinde gözlenen artışların çok düşük hücre hasarının bile saptanmasında yararlı olduğu ifade edilmektedir (Palanivelu vd., 2005).

Fosfataz ve dehidrojenaz enzimlerinin hücre fonksiyonlarında önemli olduğu ve hücre için gerekli moleküllerin sentezinde ve metabolizmasında kritik roller oynadığı belirtilmektedir (Yousef vd., 2007). Genel olarak karaciğer dokusu hasarına bağlı olarak serumda bu enzimlerin aktivitesinde artışlar belirlenmektedir (Kalender vd., 2005). Sunulan bu çalışmada da serum ALP ve LDH aktivitelerinin cıvanın tek başına ve zeolitle birlikte etkisinde arttığı ancak bu artışların cıvanın doğrudan etkisinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Artan serum ALP ve LDH aktiviteleri cıvanın hepatotoksik etkilerinin bir sonucu olduğu düşünölmektedir. Fırat ve Kargin (2010b) de yaptıkları çalışmalarında çinko, kadmiyum ve her ikisinin birlikte etkisinde *O. niloticus*'ta serum ALP ve LDH aktivitelerinde önemli artışlar saptamışlardır. Araştırmacılar metallerin neden olduğu karaciğer hasarına bağlı olarak bu serum enzim aktivitelerinin arttığını vurgulamışlardır. Bakır etkileşimini takiben *Cyprinus carpio*'da artan serum ALP aktivitesinin hücre membran bütünlüğünün bozulmasına ve artan hücreler arası metabolizmaya bağlı olarak gerçekleştiği rapor edilmiştir (Karan vd., 1998). Dreiem vd. (2005) de toksikantların neden olduğu hücre hasarına bağlı olarak serum LDH aktivitesinde artışlar belirlemişlerdir.

Sunulan araştırmada *O. niloticus*'un serum ALT, AST, ALP ve LDH enzim aktivitelerindeki artışların zeolitle birlikte etkisine oranla cıvanın tek başına etkisinde daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar cıvanın biyokimyasal parametreler üzerine olan toksik etkilerinin zeolit varlığında ya kısmen ya da tamamen düzeldiğini göstermektedir. Bu mineral cıva toksisitesini azaltmış ya da büyük bir oranda önlemiştir. Önceki çalışmalarda da farklı balık türlerinde zeolitin cıvayı da içeren çeşitli ağır metallerin zararlı etkilerine karşı koruyucu bir rolü olduğu saptanmıştır. Çalışmamızdaki sonuçlara benzer sonuçlar çoğun ve Şahin (2013)'in yaptığı çalışmada da bulunmuştur. Araştırmacılar kurşun ve kurşun+zeolit karışımlarının etkisinde *O. niloticus*'ta kan dokusu ALT ve AST enzim aktivitelerinin kurşunun tek başına etkisinde daha fazla arttığını ve zeolitin kurşun toksisitesini kısmen ya da tamamen engellediğini belirtmişlerdir. *Heteropneustes fossilis* balıklarında

arsenik toksisitesi üzerine zeolitin koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada arseniğin tek başına etkisinde karaciğer ALT ve ALP enzim aktivitelerinin arttığı; arsenik+zeolit karışımında ise bu enzim aktivitelerinin kısmen arttığı ve zeolitin arsenik toksisitesi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Balasubramanian ve Kumar, 2013). Zeolitlerin moleküler elek yapısı sayesinde cıva ve diğer metalleri bünyesinde tutarak sudaki serbest bulunan metal düzeylerini azaltarak balıklar tarafından alınacak metal düzeylerini düşürdüğü ifade edilmektedir (Chaurasia ve Jain 2006). Yine Jain (1999) de zeolitin içyapısında metallerin hareketsiz formda tutulmasının daha az metalin balık tarafından alınmasına neden olarak metallerin toksik etkilerinin de azalacağını belirtmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışma cıvanın *O. niloticus*'un kan dokusundaki biyokimyasal parametreleri etkilediğini ve bu etkinin metalin yüksek ortam derişimlerinde ve etki süresinin uzamasıyla genellikle arttığını göstermiştir. Cıvanın etkisinde serum enzim aktivitelerindeki değişikliklerin zeolit varlığında ya kısmen ya da tamamen düzeldiğı belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarımız zeolitin cıva toksisitesi üzerine koruyucu bir etkisi olduğunu göstermektedir. Zeolitin iyon değiştirme yeteneğine bağı olarak üç boyutlu kafes şeklindeki geniş hacimli yapısı içerisinde cıvayı tutarak, sudan uzaklaştırarak serbest cıva bulunurluğunu azalttığı ve böylelikle cıvanın balıklar tarafından alınımını azaltarak bu metalin biyokimyasal toksisitesi üzerine koruyucu bir etki yaptığı düşünölmektedir. Çalışmamız aynı zamanda balıklarda ağır metal toksikolojisinin ve bu toksikoloji üzerine zeolitin koruyucu etkisinin değerlendirilmesinde kan dokusundaki enzim aktivitelerinin biyobelirteç olarak kullanılabilceğini de göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma FEFYL2014-0009 nolu Adıyaman Üniversitesi (ADYÜ) Bilimsel Araştırma Projesi ile yürütölmüş olup ADYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminin değerli yöneticilerine ve çalışanlarına teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C.T., & Ayyappan, S. (2004). Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo*

rohita (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58, 220-226. doi: 10.1016/j.ecoenv.2003.12.003

Balasubramanian, J., & Kumar, A. (2013). Effect of sodium arsenite on liver function related enzymes of cat fish *Heteropneustes fossilis* and its chelation by zeolite. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 8(2), 53-58. doi: 10.5132/eec.2013.02.008

Basha, P.S., & Rani, A.U. (2003). Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, 218-221. doi: 10.1016/S0147-6513(03)00028-9

Bergmeyer, H.U., Horder, M., & Rej, R. (1985). International federation of clinical chemistry (IFCC) scientific committee. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 24, 481-495.

Chaurasia, M.K., & Jain, S.K. (2006). Natural zeolite mediated mercury toxicity in fish. *Asian Journal of Experimental Sciences*, 20(2), 303-308.

Chen, C.Y., Wooster, G.S., Getchell, R.G., Bowser, P.R., & Timmons, M.B. (2003). Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosis-affected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. *Aquaculture*, 218, 89-102. doi:10.1016/S0044-8486(02)00499-4

Çoğun, H.Y., Fırat, Ö., Fırat, Ö., Yüzereroğlu, T.A., Gök, G., Kargın, F., & Kötemen, Y. (2012). Protective Effect of selenium against mercury induced toxicity on hematological and biochemical parameters of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 26(3), 117-122. doi: 10.1002/jbt.20417.

Coppo, J.A., Mussart, N.B., & Fioranelli, S.A. (2002). Physiological variation of enzymatic activities in blood of Bullfrog, *Rana catesbeina* (Shaw, 1802). *Veterinary Review*, 12(13), 22-27.

Çoğun, H.Y., & Şahin, M. (2013). The effect of lead and zeolite on hematological and some biochemical parameters in Nile fish (*Oreochromis niloticus*). *Current Progress Biological Research*, 12, 277-286.

- Çolpan, İ., Tuncer, Ş.D., Önoğ, A., V Yıldız, G. (1995). Limozin x Jersey (F1) melezi tosunlarda zeolitin besi performansi ve karkas özelliklerine etkisi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 35(3-4), 26-43.
- De la Tore, F.R., Salibian, A., & Ferrari, L. (2000). Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium. *Environmental Pollution*, 109, 227-278. doi:10.1016/S0269-7491(99)00263-8
- Dreiem, A., Ring, A., & Fonnum, F. (2005). Organic solvent-induced cell death in rat cerebellar granule cells: structure dependence of C10 hydrocarbons and relationship to reactive oxygen species formation. *Neurotoxicology*, 26, 321-330. doi: 10.1016/j.neuro.2005.01.006
- Empfehlungen, D. (1972). Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. *Zeitschrift für klinische Chemie und klinische Biochemie*, 10, 182-192.
- Firat, Ö., & Kargin, F. (2010a). Individual and combined effects of heavy metals on serum biochemistry of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 151-157. doi: 10.1007/s00244-009-9344-5
- Firat, Ö., & Kargin, F. (2010b). Biochemical alterations induced by Zn and Cd individually or in combination in the serum of *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36, 647-653. doi: 10.1007/s10695-009-9337-3.
- Firat, Ö., Çoğun, H.Y., Yüzereroğlu, T.A., Gök, G., Firat, Ö., Kargin, 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.
- Gharaei, A., Ghaffari, M., Keyvanshokoo, S., & Akrami, R. (2011). Changes in metabolic enzymes, cortisol and glucose concentrations of Beluga (*Huso huso*) exposed to dietary methylmercury. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37, 485-493. doi: 10.1007/s10695-010-9450-3.
- Gilbert, S.G., & Grant-Webster, K.S. (1995). Neurobehavioral effects of developmental methylmercury exposure, *Environmental Health Perspectives*, 103, 135-42.
- Gundacker, C., Komarnicki, G., Zödl, B., Forster, C., Schuster, E., & Wittmann, K. (2006). Whole blood mercury and selenium concentrations in a selected Austrian population: Does gender matter? *Science of The Total Environment*, 372, 76-86. doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.08.006
- Hamed, R.R., Farid, N.M., Elowa, S.H.E., & Abdalla, A.M. (2003). Glutathione related enzyme levels of freshwater fish as bioindicators of pollution. *The Environmentalist*, 23, 313-322. doi: 10.1023/B:ENVR.0000031409.09024.cc
- Ishikawa, N.M., Ranzani-Paiva, M.J.T., & Ferreira, C.M. (2007). Hematological parameters in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to sub-lethal concentrations of mercury. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(4), 619-626.
- Jain, S.K. (1999). Protective role of zeolite on short and long term lead toxicity in the teleost fish *Heteropneustes fossilis*. *Chemosphere*, 39(2), 247-251.
- Jee, J.H., Masroor, F., & Kang, J.C. (2005). Responses of cypermethrin-induced stress in haematological parameters of Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Research*, 36, 898-905. doi: 10.1111/j.1365-2109.2005.01299.x
- Kalender, S., Öğütçü, A., Uzunhisarcık, M., Açıkgoz, F., Durak, D., Ulusoy, Y. & Kalender, Y. (2005). Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology*, 211, 197-206. doi:10.1016/j.tox.2005.03.007
- Karan, V., Vitorovic, S., Tutundzic, V., & Poleksic, V. (1998). Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 40, 49-55.
- Luskova, V., Svoboda, M., & Kolarov, J. (2002). The effects of diazinon on blood plasma biochemistry in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brunensis*, 71, 117-123.
- Moss, D.W., Henderson, A.R. & Kochmar, J.F. (1986). Enzymes; principles of diagnostic

- enzymology and the aminotransferases. In: Tietz, N.W. (Ed.), Textbook of Clinical Chemistry, Saunders, Philadelphia, pp. 663-678.
- Mumpton, F.A. (2006). Using zeolites in agriculture: Zeolite product website. Available at <http://www.zeolite-products.com> (Erişim Mart 2016).
- Oliveira Ribeiro, C.A., Filipack Neto, F., Mela, M., Silva, P.H., Randi, M.A.F., Costa, J.R.A., & Pelletier, E. (2006). Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead and tributyltin chloride. *Environmental Research*, 101, 74-80. doi: 10.1016/j.envres.2005.11.005
- Palanivelu, V., Vijayavel, K., Ezhilarasibalasubramanian, S., & Balasubramanian, M.P. (2005). Influence of insecticidal derivative (Cartap Hydrochloride) from the marine polychaete on certain enzyme systems of the freshwater fish *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Environmental Biology*, 26, 191-196.
- Papaioannou, D., Katsoulos, P.D., Panousis, N., & Karatzias, H. (2005). The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: A review. *Microporous and Mesoporous Materials*, 84, 161-170. doi:10.1016/j.micromeso.2005.05.030
- Patil M., & Kulkarni, R.S., (1993). Ovarian and hepatic biochemical response to sumaach (acrude from HCG) in fish, *Notopterus notopterus* Pallas, under pesticide treatment. *Geobios*, 20, 255-259.
- Shivaknmar, R. (2005). Endosufan induced metabolic alternation in freshwater fish, *Catla catla*. Ph.D. Thesis, Karnataka University, Dharwad, Karnataka, India.
- Sokal, R.R., & Rohlf, J.F. (1969). Biometry. Freeman and Company, San Fracisco, 776 pp.
- Stanic, B., Andric, N., Zoric, S., Grubor-Lajsic, G., & Kovacevic, R. (2006). Assessing pollution in the Danube River near Novi Sad (Serbia) using several biomarkers in sterlet (*Acipenser ruthenus* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65, 395-402. doi: 10.1016/j.ecoenv.2005.08.005
- Taş, M., Demirel, R., Şentürk, D., Kurt, D., Bacinoğlu, S., Cirit, Ü., & Ketani, M.A., (2007). Effects of dietary natural zeolite on the testicular weight, body weight and spermatological characteristics in rats. *Journal of The Faculty of Veterinary Medicine Istanbul University*, 33(3), 33-42.
- Wacker, W.E.C., Ulmer, D.D., & Vallee, B.L. (1956). Metalloenzymes and myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine*, 255, 449-451.
- Yousef, M.I., Awad, T.I., Elhag, F.A., & Khaled, F.A. (2007). Study of the effect of ascorbic acid against the toxicity of stannous chloride on oxidative damage, antioxidant enzymes and biochemical parameters in rabbits. *Toxicology*, 235, 194-202. doi: 10.1016/j.tox.2007.03.01