

**Bakır, Çinko, Kurşun ve Kadmiyumun *Oreochromis Niloticus*'da
Bazı Serum Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri****Nuray ÇİFTÇİ, Cengiz KORKMAZ, Özcan AY,
Fahri KARAYAKAR*, Bedii CİCİK**

Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yenişehir Kampüsü, Mersin/TÜRKİYE.

*Sorumlu Yazar Tel.: +90 324 341 30 25

Geliş Tarihi: 29.03.2017

E-posta: fkarayakar@mersin.edu.tr

Kabul Tarihi: 11.07.2017

Öz

Araştırmada bakır (Cu), çinko (Zn), kurşun (Pb) ve kadmiyum (Cd)'un 96 saatlik LC₅₀ değerinin %10'una karşılık gelen sırasıyla 4.0, 6.0, 0.2 ve 1.6 ppm ortam derişimlerinin 7, 15 ve 30 gün sürelerle etkisine bırakılan *Oreochromis niloticus*'un serum glukoz, total protein, albumin, D-Bilirubin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) ve total kolesterol düzeylerinde meydana gelen değişimler belirlenmiştir. Deneme süresince incelenen derişimlerin etkisinde mortalite gözlenmemiştir. İncelenen metallerin belirlenen süreler sonundaki etkisinde kontrole oranla, total protein, albumin ve D-Bilirubin düzeylerinde önemli bir ayırım saptanmazken, serum glukoz, AST, ALT ve total kolesterol düzeylerinde artış gözlenmiştir. Elde edilen bulgular, ağır metal etkisinin serum biyokimyasal parametrelerinde değişikliklere, metabolik olaylarda bozukluklara neden olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Balık, Metal, Kan Serum, Toplam Protein, AST, ALT.**Abstract****Effects of Copper, Zinc, Lead and Cadmium on Some Blood Parameters of *Oreochromis Niloticus***

Oreochromis niloticus was exposed to 10% of the LC₅₀ values of Cu, Zn, Pb and Cd (4.0, 6.0, 0.2 and 1.6 ppm respectively) over 7, 15 and 30 days and changes in serum glucose, total protein, albumin, D-Bilirubin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and total cholesterol levels were determined. No mortality was observed during the experiments. Total protein, albumin and D-Bilirubin levels did not change compared to controls and during the exposure periods, whereas serum glucose, AST, ALT and total glucose levels showed an increase compared to control fish and decreased with increasing exposure periods. Our results revealed that heavy metals can alter serum biochemical parameters and cause metabolic disfunctions.

Keywords: Fish, Metal, Blood Serum, Total Protein, AST, ALT.**Giriş**

Temelde insan odaklı, yaşam standartlarını iyileştirmeyi hedefleyen teknolojik gelişmeler, kimyasalların kullanımını arttırmış, bu kimyasalların önemli bir kısmını oluşturan ağır metal atıklarında doğal ortamlara katıl-

masına neden olmuştur. Suyun yüksek çözücü özelliği, atıklarla çevreye bırakılan ağır metallerin yıkanarak sucul ekosistemlere taşınmasına, sucul organizmalar başta olmak üzere bunlarla beslenen tüm canlılarda önemli sağlık

ve çevre problemlerine yol açmıştır. Hayvansal organizmalar yaşamsal olaylar için Fe, Cu, Zn gibi ağır metallere düşük derişimlerde gereksinim duyarken, Cd, Pb, Hg gibi ağır metaller ise herhangi bir biyolojik işlevleri olmadığı gibi çok düşük derişimlerde de toksik etkilidirler (Sigel vd., 2009). Dolayısıyla gerek çok düşük derişimlerdeki toksik elementler gerekse belirli bir derişim aralığının üzerindeki iz elementler hayvansal organizmalarda birikime, metabolik ve fizyolojik olaylarda değişikliklere neden olurlar (Wendelaar Bonga ve Lock, 1992).

Bakır, hayvansal organizmalarda serüloplazmin gibi taşıyıcı proteinin yanı sıra sitokromoksidaz, liziloksidaz, katalaz, tirozinaz, feniloksidaz, askorbik asit oksidaz ve ürikaz gibi pek çok enzimin yapısında prostetik grup olarak yer alan bir iz elementtir. Çinko, hayvansal organizmalarda, demirden sonra en fazla gereksinim duyulan bir iz element olup, protein, karbohidrat, lipid ve nükleik asit metabolizmasında işlev görmektedir (Wood vd., 2012). Kadmiyum ve kurşunun ise canlı organizmalarda biyolojik işlevi bulunmamaktadır (Sigel vd., 2009).

Solungaçlar aracılığı ile vücuda alınan ağır metaller, kan aracılığı ile vücut içerisinde taşındıklarından, kan parametreleri diğer dokulara oranla ağır metallere daha çabuk ve daha fazla etkilenmektedirler. Plazmada bulunan albumin ve globulin gibi taşıyıcı proteinlerle bilirubin gibi protein katabolizması ürünlerinin serumdaki derişimlerinin, metale ve metalin ortam derişimine bağlı olarak derişim gösterdiği belirlenmiştir (Javed ve Usmani, 2015).

Ağır metal gibi toksik maddelerin etkisinde kalan balıkların hematolojik ve biyokimyasal parametrelerinin incelenmesi, organizmanın yapısal ve fonksiyonel durumunun belirlenmesinde önemlidir (Dethloff vd.,

1999). Glukoz, hayvansal organizmalarda başlıca enerji kaynağı olup, fazlası kas ve karaciğer dokularında glikojen formunda depo edilir. Normal metabolik olaylar için gereksinim duyulan enerji, kandaki serbest glukozdan sağlanırken, enerji gereksinimindeki süreklilik depo formunun yıkımını da beraberinde getirmektedir (Javed ve Usmani, 2015). Aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) gibi transaminazlar, toksik maddelerin neden olduğu doku hasarını saptamak için kullanılmaktadır (Nemcsok ve Benedeky, 1990).

Bu enzimler, karbohidrat ve protein metabolizması arasındaki bağlantıda stratejik bir öneme sahip olup, oksidasyon veya glikoneogenez için amino asitlerin kullanılmasında da önemli bir rol oynamaktadır (Kavitha vd., 2010). Kolesterol, hayvansal yağların içerisinde yer alan en önemli steroldür. Plazma ve kırmızı kan hücreleri arasında eşit olarak dağılmıştır (Vinodhini ve Narayanan, 2009). Ayrıca hücre membranının yapısal bileşeni olup, tüm steroid hormonların öncüsüdür. Ağır metallerin, özellikle membranlarda, hücre yapısında zararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, kolesterol düzeyindeki derişimler, çevresel stresin bir göstergesi olarak kullanılabilir. Serum total protein düzeyindeki derişimler, karaciğer hasarının, absorpsiyon azalmasının ve protein kaybının göstergesi olabileceğinden, balıkların sağlık durumunun incelenmesinde önemli parametrelerden birisidir (Öner vd., 2008). Bilirubin, karaciğer hasarı ve safra yolları tıkanıklığında önerilen serum testlerinden biridir. *O. niloticus*'da Cu etkisinde total Bilirubin ve D-Bilirubin (Mutlu vd., 2015) ve *Clarias batrachus*'da (Jyothi ve Narayan, 1999) Bilirubin düzeyinin yüksek olduğunu, yüksek serum Bilirubin düzeyinin de karaciğer işlevinde bozulmaya yol açtığını bildirmişlerdir.

Balık, protein kaynağı olarak sucul ekosistemlerdeki besin zincirinin önemli bir halkasını oluşturduğundan, kirleticilerin; sucul ekosistemlerdeki etkilerinin incelenmesi, balık popülasyonunun sağlığının yanı sıra üst trofik düzeylerdeki canlıların ve çevre sağlığının korunması bakımından da oldukça önemlidir. Balık sağlığı üzerine ağır metallerin etkilerini belirlemek amacıyla bu çalışmada ikisi iz (Cu ve Zn), ikisi toksik (Cd ve Pb) etkili dört farklı metalin 96 saatlik LC₅₀ değerinin %10'una karşılık gelen (Cu için, Straus, 2003; Zn ve Cd için Fırat ve Kargın, 2010; Pb için, Eisler, 2000) derişimlerinin 7, 15 ve 30 gün süreyle etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum glukoz, total protein, albümin, D-Bilirubin, AST, ALT ve total kolesterol düzeylerindeki değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırma Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma merkezinde yer alan kontrollü ortam koşullarına sahip (24 ± 1°C durağan sıcaklık; 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu) Temel Bilimler Laboratuvarında yürütülmüştür. Deney materyali olarak Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Uygulama Birimi yetiştiricilik ünitesinden sağlanan ortalama 109,08 ± 2,24 g ağırlık ve 18,46 ± 1,01 cm boya sahip *O. niloticus* türü balıklar kullanılmıştır.

mıştır.

Deneylerde her biri 40×120×40 cm boyutlarında 5 adet cam akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumlardan ilk dördüne sırasıyla bakır, çinko, kurşun ve kadmiyumun 120'şer L anılan tür için 96h LC₅₀ değerinin %10'una karşılık gelen 4.0, 6.0, 0.2 ve 1.6ppm'lik derişimlerdeki çözeltileri konurken, beşinci akvaryuma aynı hacimde metal içermeyen dinlenmiş çeşme suyu konmuş ve kontrol grubu olarak incelenmiştir. Belirlenen süreler sonunda istatistiksel açıdan güvenilir ve anlamlı sonuçlar elde etmek için her gruptan 3 adet balık disekte edilmiştir. Buna bağlı olarak 7, 15 ve 30 günlük süreler dikkate alındığında her bir akvaryuma 9 adet balık konmuş ve deney süresince toplam 45 adet balık kullanılmıştır. Deney ve kontrol akvaryumlarındaki suyun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1'de gösterildiği şekilde belirlenmiştir.

Metal çözeltilerinin hazırlanmasında baktırın CuSO₄.5H₂O (Merck), çinkonun ZnSO₄.7H₂O (Merck), kurşunun Pb(NO₃)₂ (Merck) ve kadmiyumun CdCl₂.H₂O (Merck) suda çözünebilen tuzları kullanılmıştır. Metal tuzlarının presipitasyonunu önlemek amacıyla stok çözeltiler hazırlanırken trisodyumsitrat (C₆H₅Na₃O₇.5,5H₂O Merck) kullanılmıştır.

Akvaryumlarda havalandırma merkezi havalandırma sistemi ile sağlanmış, deneyler süresince balıklar, günde bir kez toplam biyomasın % 2'si kadar hazır balık yemi (Pınar, Ba-

Tablo 1. Deney ve Kontrol Akvaryumlarındaki Suyun Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Sıcaklık (°C)	24 ± 1
pH	8.62 ± 0.16
Çözünmüş Oksijen (mgL ⁻¹)	5.29 ± 0.7
Toplam Sertlik (mgL ⁻¹ CaCO ₃)	227 ± 0.48
Alkalinite (mgL ⁻¹ CaCO ₃)	332 ± 0.50

lık Yemi, Pelet No.2) ile beslenmiştir. Deney ve kontrol akvaryumlarında evaporasyon, presi-pitasyon ve adsorbsiyon gibi nedenlerle deney çözeltilerinin derişiminde zamana bağlı değişimler olabileceğinden deney çözeltileri her iki günde bir stok çözeltiden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiş ve ortam yenilenmiştir.

Belirlenen süreler sonunda deney akvar-yumlarından çıkarılan balıklar, Etilen Glikol Mono Fenil Eter (= 2-Fenoksietanol, C₈H₁₀O₂; Merck) anestezi madde (1mL/L) (Morgan vd., 1997) ile bayıltılmıştır. Vücut yüzeyindeki metal rezidüleri çeşme suyu ile yıkanıp uzaklaştırıldıktan sonra balıklar kurutma kağıdı ile kurulanıp örneklemelere hazır hale getirilmiştir.

Serum biyokimyasal parametrelerin incelenmesinde kullanılacak kan, kaudal pe-dunkülün kesilmesiyle (Congleton ve LaVoie, 2001) sağlanmışır. Alınan kan örnekleri içeri-sinde herhangi bir antikoagülant madde bulun-mayan santrifüj tüplerine aktarılıp, 4000 dev/dak.'da 10 dakika süreyle santrifüjlenerek, serum örnekleri elde edilmiştir (Çelik, 2005; Fırat ve Kargın, 2010). Serum örneklerinde, AST, ALT, albümin, D-Bilirubin, glukoz, total protein ve total kolesterol düzeyleri Olympus AU 400 oto analizatörü kullanılarak belirlen-miştir (Fırat ve Kargın, 2010). Örneklerin ana-lizinde Olympus Life and Material Science (O'Callaghan's Mills, Lismeehan, Clare, Ireland)'dan sağlanan reaktanlar kullanılmıştır.

Deney verilerinin istatistik analizinde SPSS paket programı kullanılmış ve Student Newman Keul's (SNK) testi uygulanmıştır.

Bulgular

Araştırmada Cu, Zn, Cd ve Pb'un sırasıyla 4.0, 6.0, 1.6 ve 0.2 ppm ortam derişimlerinin 7, 15 ve 30 gün süre ile etkisinde *O. niloticus*'da mortalite gözlenmemiştir.

İncelenen metallerin belirlenen süreler sonun-da etkisinde kalan balıkların serum glukoz, AST, ALT ve total kolesterol (P<0,05), serum total protein, albümin, D-Bilirubin (P>0,05) düzeylerinde meydana gelen değişimler Tablo 2-3'de gösterilmiştir (P<0,05; P>0,05).

İncelenen tüm süre ve metal etkisinde serum glukoz düzeyi, kontrole göre artış göstermiştir. En fazla artış Zn etkisinde 7. gün sonunda olmuştur (P<0,05) (Tablo 2).

Serum AST düzeyi incelenen metaller etkisinde kontrole oranla artarken, etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak azalmıştır (P<0,05) (Tablo 2).

İz elementlerden Cu etkisi dışında, serum ALT düzeyi, kontrole göre artarken, deneme süresi sonunda 7. güne oranla azalmıştır (P < 0,05) (Tablo 2).

Serum total kolesterol düzeyi, Pb etkisi dışında kontrole göre artarken, incelenen tüm metaller etkisinde deneme süresi sonunda, 7. güne oranla azalma saptanmıştır (P<0,05) (Tablo 2).

O. niloticus'da incelenen metallerin etkisinde, belirlenen süreler sonunda, serum total protein, serum albumin ve serum D-Bilirubin düzeyleri belirlenmiş olup, kontrole oranla istatistiksel bakımdan önemli bir ayırım göstermemiştir (P>0,05) (Tablo 3).

Tartışma

Poecilia reticulata ile yapılan bir araştırmada, metal etkisinin başlangıcında mukus salınımında ve operkulum hareketlerinde artış, düzensiz yüzme, yem almama, renkte koyulaşma gibi değişiklikler meydana geldiği ve etkide kalma süresinin uzamasıyla bu değişikliklerin normale döndüğü bildirilmiştir (Khun-yakari vd., 2001). Cu, Pb, Zn ve Cd ile yürütülen bu araştırmada da metal etkisinin başlan-gıcında balıklarda benzer davranış değişiklik-

Tablo 2. Cu, Zn, Pb ve Cd'un *O. niloticus*'un Serum Glukoz (mg/dL), AST (U/L), ALT (U/L) ve Total Kolesterol (mg/dL) Düzeyi Üzerine Etkileri

Metal Derişimleri (mg/L)	7. Gün			15.Gün			30.Gün		
	\bar{X}	S \bar{x}	*	\bar{X}	S \bar{x}	*	\bar{X}	S \bar{x}	*
Serum Glukoz (mg/dL)									
Kontrol	32,00	± 0,00	as	32,50	± 0,50	as	30,00	± 2,00	as
Cu (4.0)	53,50	± 0,50	as	283,0	± 1,00	bt	48,50	± 0,50	at
Pb (0,2)	106,0	± 1,00	as	42,50	± 1,50	bx	50,50	± 0,50	ct
Zn (6.0)	557,0	± 36,0	at	80,50	± 1,50	by	88,50	± 9,50	bx
Cd (1.6)	285,0	± 4,00	ax	49,00	± 1,00	bz	52,00	± 0,57	bt
Serum AST (U/L)									
Kontrol	70,00	± 1,00	as	70,00	± 1,00	as	70,00	± 1,00	as
Cu (4.0)	217,0	± 2,00	at	112,0	± 0,50	bt	82,13	± 1,12	ct
Pb (0,2)	309,5	± 0,50	ax	247,0	± 1,00	bx	135,5	± 4,50	cx
Zn (6.0)	313,5	± 1,50	ax	253,0	± 7,00	by	211,0	± 5,00	cy
Cd (1.6)	396,5	± 1,50	ay	313,0	± 3,00	bz	109,0	± 3,00	cz
Serum ALT (U/L)									
Kontrol	6,00	± 0,00	as	6,00	± 0,00	as	6,00	± 0,00	as
Cu (4.0)	5,50	± 0,50	as	14,5	± 0,50	bt	4,15	± 0,35	ct
Pb (0,2)	11,0	± 1,00	at	10,0	± 1,00	ax	4,00	± 0,00	bt
Zn (6.0)	15,5	± 0,50	ax	7,00	± 0,00	bs	11,5	± 0,50	cx
Cd (1.6)	14,5	± 0,50	ax	16,0	± 1,00	at	10,0	± 0,00	by
Serum Total Kolesterol (mg/dL)									
Kontrol	197,0	± 6,00	as	197,0	± 6,00	as	197,0	± 6,00	as
Cu (4.0)	252,0	± 4,00	at	333,0	± 2,00	bt	222,13	± 4,08	ct
Pb (0,2)	105,0	± 7,00	ax	257,0	± 1,00	bx	141,0	± 0,00	cx
Zn (6.0)	422,0	± 3,00	ay	182,0	± 11,0	bs	317,0	± 1,00	cy
Cd (1.6)	270,0	± 1,00	az	263,0	± 4,00	ax	129,5	± 2,50	bz

xSX±: Aritmetik Ortalama ± Standart Hata; *SNK; a, b ve c harfleri süreler; s, t, x, y ve z harfleri ise metaller arası ayırımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.

Tablo 3. Cu, Zn, Pb ve Cd'un *O. niloticus*'un Serum total protein (mg/dL), albumin (U/L), D-bilirubin (U/L) Düzeyi Üzerine Etkileri

Metaller	Parametreler	Birim	Gruplar	Süre (gün)					
				7		15		30	
				\bar{X}	$S\bar{X}$	\bar{X}	$S\bar{X}$	\bar{X}	$S\bar{X}$
	Total Protein	mg/dL	Kontrol	2,87 ± 0,28	2,59 ± 0,16	2,58 ± 0,19			
			Deney	2,63 ± 0,50	2,48 ± 0,47	2,53 ± 0,36			
Cu (4.0ppm)	Albumin	U/L	Kontrol	0,85 ± 0,04	0,91 ± 0,10	0,94 ± 0,09			
			Deney	0,80 ± 0,01	0,87 ± 0,08	0,91 ± 0,05			
	D-Bilirubin	U/L	Kontrol	0,08 ± 0,006	0,09 ± 0,004	0,08 ± 0,003			
			Deney	0,10 ± 0,015	0,11 ± 0,008	0,09 ± 0,001			
	Total Protein	mg/dL	Kontrol	2,83 ± 0,28	2,71 ± 0,28	2,77 ± 0,36			
			Deney	2,92 ± 0,34	2,85 ± 0,34	2,89 ± 0,41			
Pb (0,2 ppm)	Albumin	U/L	Kontrol	0,91 ± 0,08	0,88 ± 0,07	0,85 ± 0,03			
			Deney	0,87 ± 0,07	0,90 ± 0,05	0,89 ± 0,02			
	D-Bilirubin	U/L	Kontrol	0,09 ± 0,007	0,07 ± 0,003	0,08 ± 0,002			
			Deney	0,11 ± 0,018	0,10 ± 0,015	0,09 ± 0,011			
	Total Protein	mg/dL	Kontrol	3,08 ± 0,32	3,05 ± 0,28	3,09 ± 0,25			
			Deney	3,13 ± 0,24	3,11 ± 0,21	3,14 ± 0,18			
Zn (6 ppm)	Albumin	U/L	Kontrol	1,02 ± 0,02	1,01 ± 0,15	1,09 ± 0,02			
			Deney	1,08 ± 0,16	1,05 ± 0,13	1,10 ± 0,07			
	D-Bilirubin	U/L	Kontrol	0,07 ± 0,004	0,07 ± 0,006	0,07 ± 0,008			
			Deney	0,08 ± 0,012	0,08 ± 0,016	0,08 ± 0,013			
	Total Protein	mg/dL	Kontrol	2,78 ± 0,27	2,82 ± 0,20	2,85 ± 0,17			
			Deney	2,84 ± 0,50	2,90 ± 0,45	2,96 ± 0,34			
Cd (1.6ppm)	Albumin	U/L	Kontrol	1,04 ± 0,05	1,01 ± 0,01	1,07 ± 0,03			
			Deney	1,06 ± 0,07	1,05 ± 0,04	1,09 ± 0,08			
	D-Bilirubin	U/L	Kontrol	0,09 ± 0,008	0,08 ± 0,004	0,10 ± 0,005			
			Deney	0,10 ± 0,016	0,09 ± 0,011	0,11 ± 0,002			

xSX±: Aritmetik Ortalama ± Standart Hata; Veriler arasında P>0.05 düzeyinde istatistik ayırım yoktur.

leri gözlenmiş, etkide kalma süresinin uzamasıyla bu değişiklikler normale dönmüş, ancak Cu etkisindeki balıklarda renkteki koyulaşma deneme süresince devam etmiştir. Cu, Pb, Zn ve Cd etkisinin başlangıcında gözlenen davranış değişikliklerinin etkide kalma süresinin uzamasıyla normale dönmesi, balığın

metal etkisi ile değişen ortam koşullarına uyumu ile açıklanabilir.

Araştırmada Cu, Pb, Zn ve Cd'un belirlenen derişimlerinin incelenen süreler sonundaki etkisi balıklarda mortaliteye neden olmamıştır. Mortalite gözlenmemesi incelenen derişimlerin belirlenen sürelerde *O.niloticus*

için düşük olmasından kaynaklanabilir.

Belirli bir derişim aralığı üzerinde ağır metal etkisinin balıklarda hipoksiye neden olduğu saptanmıştır. Ağır metal etkisinin yanı sıra hipoksik koşullar stres faktörü olduğundan mevcut durum ile mücadele, balıklarda enerji gereksinimini artırır (Al-Akel ve Shamsi, 1996). Enerji gereksinimindeki artış karbohidratlar başta olmak üzere enerji kaynaklarının mobilizasyonunu hızlandırır. *O. niloticus*'da Cu, Cd ve Ag'ün (Öner vd., 2008), *Oncorhynchus mykiss*'de Cu'nun (Dethloff vd., 1999), *Cyprinus carpio*'da Pb'un serum glukoz düzeyini arttırdığı (Zare vd., 2007), *Scyliorhinus canicula*'da Zn'nun serum glukoz düzeyini düşürdüğü (Torres vd., 1986) bildirilmiştir. *C. carpio* ile yürütülen bir araştırmada Cu etkisinin 15. günde serum glukoz düzeyini arttırdığı, 30. günde düşürdüğü belirtilmiştir (Cicik, 1995). Yapılan bu araştırmada Cu, Zn, Pb ve Cd etkisine bırakılan balıklarda serum glukoz düzeyi kontrole göre artmıştır. Deneme süresi sonunda Cu dışında incelenen metallerin etkisinde serum glukoz düzeyi 7. güne oranla azalmıştır. Serum glukoz derişimindeki artış, glikojenolizis ve glukoneogenik enzimlerin aktivitesindeki artıştan kaynaklanabileceği gibi pankreatik β hücrelerindeki bozukluğa bağlı insülin üretimi ve salınımının inhibisyonundan da kaynaklanabilir. Serum glukoz derişimindeki azalma ise etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak balıklarda enerji rezervlerinin tükendiğini göstermektedir (Cicik, 1995; Öner vd., 2008).

Plazma proteinleri karaciğer orjinli olup, başlıca aminoasit rezervleridir. Kanda transport ve pıhtılaşmayı sağladıkları gibi, kan pH'sının ve onkotik basıncın düzenlenmesinde önemli role sahiptirler.

Ağır metal etkisinde oluşan doku deformasyonu, absorpsiyon oranındaki düşme ve protein kayıplarına bağlı olarak serumdaki dü-

zeyi değişmektedir. Cd'un kronik etkisi *Mugil- cephalus*'da serum total protein düzeyini arttırırken (Hilmy vd.,1985), *O. niloticus*'da Cu'nun (Öner vd., 2008) serum total protein düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir. Çeşitli balık türleri ile yürütülen araştırmalarda metal etkisinin balıkların serum total protein derişiminde herhangi bir değişime neden olmadığı bildirilmiştir (Canlı, 1995; Ricard vd., 1998; Atlı vd., 2015). Yürütülen bu araştırmada da Cu, Zn, Cd ve Pb'un belirlenen süre ve derişimlerinde *O. niloticus*'un serum total protein ve albümin düzeylerinde kontrole ve etkide kalma süresine bağlı olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir ($P>0,05$). Serum total protein ve albümin düzeyinde değişimin gözlenmemesi protein metabolizmasında metal etkisine bağlı bir değişim olmamasından kaynaklanabilir (Canlı, 1995; Ricard vd., 1998; Atlı vd., 2015).

Bilirubin omurgalı hayvanlarda protein katabolizmasında başlıca azot içerikli metabolik bir üründür. Bunun yanında ozmotik düzenleyici olarak işlev görmesi solungaç ve böbrek fonksiyon bozukluğunu yansıtması bakımından önemlidir. *O. niloticus* ile yürütülen bir araştırmada Cu, Cd ve Ag etkisinin Bilirubin düzeyini kontrole göre arttırdığı, Cr'un azalttığı bildirilmiştir (Öner vd., 2008). *Clarias albopunctatus*'da Zn'un 96 saatlik etkisinin D-Bilirubin derişimini arttırdığı bildirilmiştir (Okonkwo ve Ejike, 2011). Bu araştırmada Cu, Zn, Cd ve Pb'un incelenen derişimlerinin belirlenen sürelerle etkisi *O. niloticus*'da kontrole ve etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak D-Bilirubin düzeyinde değişime neden olmamıştır. D-Bilirubin düzeyinde değişimin gözlenmemesi serum total protein ve albümin bulguları ile uyumlu olup incelenen derişimlerin belirlenen sürelerle etkisinin protein metabolizmasında değişime neden olmamasından kaynaklanabilir (Öner vd., 2008; Okonkwo ve Ejike, 2011).

Transaminazlar hayvansal organizmaların protein ve karbohidrat metabolizmalarında önemli rol oynayan enzimlerdir (Eze, 1983). *Notemigonus crysoleucas*'da Cd etkisinin (Benson vd., 1987), *C. carpio*'da Cu'nun serum AST ve ALT aktivitelerini arttırdığı (Karan vd., 1998) bildirilmiştir. Cu, Zn, Pb ve Cd ile yürütülen bu araştırmada serum AST ve ALT aktivitelerinin kontrole göre arttığı ve deneme süresi sonunda 7. güne oranla azaldığı saptanmıştır. Serum AST ve ALT aktivitesindeki artış, deney süresinin başlangıcında enerji gereksinimindeki artışa bağlı olarak glukoneogenik aktivitedeki artıştan, karaciğer doku bütünlüğündeki bozulmaya bağlı olarak plazmaya salınımındaki artıştan kaynaklanabilir. Serum AST ve ALT aktivitelerindeki azalma ise etkide kalma süresinin sonunda karaciğer sentezlerindeki inhibisyonundan kaynaklanabilir (Benson vd., 1987; Karan vd., 1998).

Kolesterol, hücre membranının başlıca yapısal bileşeni olup steroid hormonların öncü maddesidir. Metal etkisine bırakılan balıklarda doku deformasyonuna bağlı olarak serumdaki düzeyi değişir. *Labeorohita*'da metal etkisinde meydana gelen stresin serum kolesterol düzeyini azalttığı (Zutshi vd., 2010), *Anabas testudineus*'da Pb'un (Tulasi vd., 1989), *O. Niloticus*'da Cu'nun (Mutlu vd., 2015) subletal etkisinin serum kolesterol düzeyini arttırdığı bildirilmiştir. *O. niloticus* ile yürütülen bu araştırmada da serum kolesterol düzeyi Cu ve Zn etkisinde kontrole göre artarken, Cd, Pb, etkisinde deneme süresi sonunda azalmıştır. İncelenen tüm metaller etkisinde ise deneme süresi sonunda 7. güne oranla azalma saptanmıştır. Serum kolesterol düzeyindeki artma, metal etkisinde plazma membranındaki yapısal bozukluktan kaynaklanabileceği gibi steroidogenezdeki değişimlerden de kaynaklanabilir. Azalma ise karaciğerdeki sentezinin bozulma-

sından kaynaklanabileceği olasıdır (Tulasi vd., 1989; Zutshi vd., 2010; Mutlu vd., 2015).

Belirlenen süre ve metallerin etkisinde, incelenen biyokimyasal parametrelerin düzeyleri, organizmanın metabolik ve fizyolojik durumlarındaki değişimleri yansıtmaktadır. Bu nedenle balıklarda serum glukoz, total protein, albümin, D-Bilirubin, AST, ALT ve total kolesterol gibi biyokimyasal parametrelerdeki değişimlerin ağır metal toksisitesinin iyoindikatörü olarak kullanılabileceği olasıdır.

Kaynaklar

- Al-Akel, A.S. ve Shamsi, M.J.K. 1996. Hexavalent chromium: Toxicity and impact on carbohydrate metabolism and haematological parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) from Saudi Arabia. *Aquat. Sci.*, 58: 24-30.
- Atlı, G., Arıyürek, S.Y., Kaynak, E.G. ve Canlı, M. 2015. Alterations in the serum biomarkers belonging to different metabolic systems of fish (*Oreochromis niloticus*) after Cd and Pb exposures. *Environ. Toxicology and Pharmacology*, 40, 508-515.
- Benson, W.H, Baer, K.N., Stackhouse, R.A. ve Watson, C.F. 1987. Influence of cadmium exposure on selected hematological parameter in fresh water teleost, *Notemigonus crysoleucas*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 13: 92-96.
- Canlı, M. 1995. Natural occurrence of metallothionein like proteins in the hepatopancreas of the Norway lobster *Nephrops norvegicus* and effects of Cd, Cu, and Zn exposures on levels of the metal bound on metallothionein. *Turk. J. Zool.*, 19, 313-321.
- Cicik, B. 1995. *Cyprinus carpio* (L.)'da bakır, çinko ve bakır+çinko karışımında solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki metal birikiminin nicel protein, glikojen ve kandaki bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri. Adana, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi.
- Congleton, J.L. ve LaVoie, W.J. 2001. Comparison of blood chemistry values for samples collected from juvenile chinook salmon by three methods. *Journal of Aquatic Animal Health* 13:168-172.

- Çelik, E.Ş. 2005. Çanakkale boğazı'nda navlanan iskorpit balığı (*Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758)'nin kan glukoz düzeyindeki aylık değişimler. E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, Cilt/Volume 22, Sayı/Issue (1-2): 115-118.
- Dethloff, G. M., Schlenk, D., Khan, S. ve Bailey, H. C. 1999. The effects of copper on blood and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 36, 415-423.
- Eisler, R. 2000. Handbook of Chemical Risk Assessment: Health Hazards to Humans, Plants, and Animals, Metals, Volume 1., Lewis Publishers, Boca Raton London New York Washington, D.C., 111p.
- Eze, L. C. 1983. Isonloridinhibition of liver glutamate oxaloacetic transaminase from goat (*Carpahercus*). International Journal of Biochemistry 15: 13-16.
- Firat, Ö.ve Kargın, F. 2010. Individual and combined effects of heavy metals on serum biochemistry of Niletilapia *Oreochromis niloticus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 58:151-157.
- Hilmy, A.M., Shabana, M.B.ve Daabees, A.Y. 1985. Effects of cadmium toxicity upon the in vivo and in vitro activity of proteins and five enzymes in blood serum and tissue homogenates of *Mugil cephalus*. Comp. Biochem. Physiol. 81:1C, 145-153.
- Javed, M.ve Usmani, N. 2015. Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channapunctatus* inhabiting river polluted by thermal power plant effluent. Saudi Journal and Biological Sciences. 22:2, 237-242.
- Jyothi, B. ve Narayan, G. 1999. Certain pesticide-induced carbohydrate metabolic disorders in the serum of fresh water fish *Clarias batrachus* (Linn.). Food and Chemical Toxicology 37, 417-421.
- Karan, V, Vitorovic, S., Tutundzic, V. ve Poleksic, V. 1998. Functional enzymes activity and gill histology of carp after copper sulfate exposure and recovery. Ecotoxol. Environ. Saf. 40:49-55.
- Kavitha, C., Malarvizhi, A., Kumaran, S.S. ve Ramesh, M. 2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. Food and Chemical Toxicology 48, 2848-2854.
- Khunyakari, R. P. Tare, V.ve Sharma, R. N. 2001. Effects of some trace heavy metals on *Poecilia reticulata* (Peters). J. Environ. Biol., 22 (2), 141-144.
- Morgan, J.D., Sakamoto, T., Grau, E. G. ve Iwama, G.K. 1997. Physiological and respiratory responses of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to salinity acclimation. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 117A, No. 3, pp. 391-398.
- Mutlu, E., Aydın, S.ve Kutlu, B. 2015. Alterations of growth performance and blood chemistry in Niletilapia (*Oreochromis niloticus*) affected by copper sulfate in long-term exposure. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 15: 487-493.
- Nemcsok, J.ve Benedeczky, I. 1990. Effect of sublethal concentrations of phenol on some enzyme activities and blood sugar level of carp, *Cyprinus carpio* (L.). Environ. Monit. Assess. 14, 377-383.
- Okonkwo, F.O. ve Ejike, C.E.C.C. 2011. Simulation of heavy metal contamination of fresh water bodies: toxic effects in the cat fish and its amelioration with co-contamination with glyphosate. J. Appl. Sci. Environ. Manage. 15:(2), 341-345.
- Öner, M., Atlı, G. ve Canlı, M. 2008. Changes in serum biochemical parameters of fresh water fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures. Environmental Toxicology and Chemistry, 27:2, 360-366.
- Ricard, A. C., Daniel, C., Anderson, P. ve Hontela, A. 1998. Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 34, 377-381.
- Sigel, A., Sigel, H. Ve Sigel, R.K.O. 2009. Metal ions in life sciences. Royal Society of Chemistry. Cambridge CB40WF, UK
- Straus, D.L. 2003. The acute toxicity of copper to blue tilapia in dilutions of settled pond water. Aquaculture 219, 233-240.
- Torres, P., Tort, L., Planas, J.ve Flos, R. 1986. Effects of confinement stress and additional zinc treatment on some blood parameters in the dog fish *Scyliorhinus canicula*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology. 83:1, 89-92.

- Tulasi, S.J., Reddy, P.U.M. ve Ramano Rao, J.V. 1989. Effects of lead on the spawning potential of the freshwater fish, *Anabastentudineus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 43: 858-863.
- Vinodhini, R. ve Narayanan, M. 2009. The impact of toxic heavy metals on the hematological parameters in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, Vol. 6, No. 1, 23-28.
- Wendelaar Bonga, S.E. ve Lock, R.A.C. 1992. Toxicants and Osmoregulation in Fish. *Journal of Zoology* 42, 47893. Society of Chemistry. Cambridge CB40WF, UK.
- Wood, C, M., Farrell, A, P. ve Brauner, C.J. 2012. Homeostasis and Toxicology of Essential Metals. Academic Press is an imprint of Elsevier, London, 494 pp.
- Zare, S., Afaghi, A., Heidari, Y., Asadpoor, Y. ve Shiri, S. 2007. Effects of lead nitrate ($PbNO_3$) on the glucose and cortisol hormone levels in common carp, *Cyprinus carpio*. *Pak. J. Biol. Sci.*, 10(15): 2587-2590.
- Zutshi, B., Raghu Prasad, S. G. ve Nagaraja, R. 2010. Alteration in hematology of *Labeorohita* under stress of pollution from Lakes of Bangalore, Karnataka, India. *Environ Monit Assess.* 168:11-19.