



GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) AKUT VE KRONİK ALFA SİPERMETRİN UYGULAMALARININ HEMATOTOKSİK, HEPATOTOKSİK ve NEFROTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Veysel PARLAK

Doktora Tezi

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

2016

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) AKUT
VE KRONİK ALFA SİPERMETRİN UYGULAMALARININ
HEMATOTOKSİK, HEPATOTOKSİK ve NEFROTOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Veysel PARLAK

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ERZURUM
2016

Her hakkı saklıdır



**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



TEZ ONAY FORMU

**GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) AKUT VE
KRONİK ALFA SİPERMETRİN UYGULAMALARININ HEMATOTOKSİK,
HEPATOTOKSİK ve NEFROTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Prof. Dr. Muhammet ATAMANALP danışmanlığında, Veysel PARLAK tarafından hazırlanan bu çalışma 04/04/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Hatice PARLAK

İmza :

Üye : Prof.Dr. Muhammed ATAMANALP

İmza :

Üye : Prof.Dr. Nurinisa ESENBÜĞA

İmza :

Üye : Doç.Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza :

Üye : Yrd.Doç.Dr. Arzu UÇAR

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 21/04/2016 tarih ve 17 / ... 20 nolu kararı
ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No : 2012/487

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*) AKUT VE KRONİK ALFA SİPERMETRİN UYGULAMALARININ HEMATOTOKSİK, HEPATOTOKSİK ve NEFROTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Veysel PARLAK

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

Alfa sipermetrinin toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmada, akut ve kronik uygulamalarla gökkuşağı alabalıkları 3 farklı konsantrasyona maruz bırakılmıştır. Akut uygulama sonunda, hematolojik parametrelerden hemoglobin, hematokrit, eritrosit, lökosit, trombosit, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerleri istatistik açıdan çok önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Enzim aktiviteleri bakımından solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve malondialdehit (MDA) seviyelerindeki farklılıklar tüm dokularda $p<0,01$ seviyesinde çok önemli bulunmuştur. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (YPİTK) analizlerinde lipit profillerindeki oransal değişimler istatistiki olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur. SDS-PAGE analizleri sonucunda dokulardaki protein hacim değerlerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Histopatolojik analizlerde ise solungaç dokusu normal bulunurken karaciğerde hepatositlerde hidropik-vakuoler dejenerasyona, böbrekte ise atrofik glomerulus ve tubullerde dejeneratif değişikliklere rastlanılmıştır.

Kronik uygulama sonunda hematolojik parametrelerden hemoglobin, lökosit, trombosit, MCV, MCH ve MCHC değerleri istatistiki olarak çok önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Enzim aktivite sonuçları dikkate alındığında solungaç dokusunda GPx aktivitesi önemsiz ($p>0,05$), SOD, CAT ve MDA düzeyleri çok önemli ($p>0,01$) bulunmuştur. Karaciğer ve böbrek dokularında SOD, CAT ve GPx enzimi ile MDA düzeyleri çok önemli ($p>0,01$) bulunmuştur. YPİTK analizinde tüm dokularda, gün ve doza bağımlı olarak meydana gelen değişiklikler çok önemli seviyede bulunmuştur ($p<0,01$). SDS-PAGE analizi sonucunda dokulardaki protein hacim değerlerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Histopatolojik analizlerde de, solungaç dokusunda lamellerde ödem ve hücresel infiltrasyonlardan ötürü kalınlaşma, karaciğerde disosiasyon ve hepatositlerde nekroz, böbrekte ise şiddetli yangısal hücre infiltrasyonları ve yıkılmış parankim doku belirlenmiştir.

2016, 173 sayfa

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, Pestisit, Hematotoksik, Hepatotoksik, Nefrotoksik

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

INVESTIGATION ON EFFECTS OF ALFA-CYPERMETHRIN ON HAEMOTOTOXIC, HEPATOTOXIC AND NEPHROTOXIC PARAMETERS IN THE RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

Veysel PARLAK

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

In the study present rainbow fish were subjected to acute and chronic exposure with three different concentrations of alpha-cypermethrin. At the end of the acute application, hemoglobin, hematocrit, erythrocytes, leukocytes, platelets, the average amount of hemoglobin per erythrocytes (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration per red blood cell (MCHC), were significantly effected by the treatments ($p<0.01$). In terms of enzyme activities in gill, liver and kidney, treatments had significant effects on SOD, CAT, GPx and MDA ($p<0.01$). In the analysis of high performance thin layer chromatography (HPTLC) relative alteration in lipid profile were statistically insignificant ($p>0.05$). According to SDS-PAGE analysis, the volume of protein did not change significantly in the treatments. Histopathological analysis showed that gill tissues were normal, hidropic-vacuolar degeneration of hepatocytes in the liver, the atrophic glomeruli on kidney and degenerative changes on tubules were observed.

After chronic exposure, hematological parameters such as hemoglobin, leucocyte, thrombocyte, MCV, MCH and MCHC were significantly influenced by the treatment ($p<0.01$), Regarding enzyme activity results in gills, GPx activity was not significantly influenced ($p>0.05$) while SOD, CAT and MDA were significantly affected ($p<0.01$). In liver and kidney, treatments had significant effects on SOD, CAT, GPx and MDA ($p<0.01$). According to HPTLC analysis, we observed very significant relative changes in lipid profiles of all tissue depending duration and doses ($p<0.01$). After SDS-PAGE analysis, all tissues showed decrease in protein volume at the end of the trail period. Histopathological analysis showed that gill tissue enlarged due to cellular infiltration and edema in lamellas. We also observed dissociation in liver, necrosis in hepatocytes, intensive inflammatory cell infiltrations and disintegrated parenchymal tissue in kidneys.

2016, 173 pages

Keywords: Rainbow trout, Pesticide, Haemototoxic, Hepatotoxic, Nephrotoxic

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmanın araştırma konusunun belirlenmesi, planlanıp yürütülmesi ve tez haline getirilmesinde bana yol gösteren danışmanım, Su Ürünleri Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP'e,

Bu tezin değerlendirilme sürecinde tez komitesinde bulunan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Hatice PARLAK, Sayın Prof. Dr. Nurinisa ESENBÜĞA, Sayın Doç.Dr. Hasan TÜRKEZ, Sayın Yrd. Doç. Dr. Arzu UÇAR'a

Her türlü destek ve katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Gonca ALAK ve Su Ürünleri Fakültesi Dekan Yardımcısı Sayın Yrd. Doç. Dr. E. Mahmut KOCAMAN'a

Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Özgür KAYNAR'a ve Sayın Dr.Arş.Görevlisi Serdar ALTUN'a

Çalışmalarım esnasında gerekli yardım ve yakın ilgiyi esirgemeyen Su Ürünleri Fakültesi'ndeki tüm hocalarım ve arkadaşlarıma,

Ayrıca manevi destek ve teşviklerinden dolayı aileme, eşim Sayın Kübranur PARLAK'a ve kızım Berilsu'ya,

Hayatımın her döneminde yanımda olan yardımlarını ve desteklerini her zaman hissettiren dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Veysel PARLAK

Mart, 2016

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Pestisitler	5
1.2. Pestisitlerin Toksisitesi.....	6
1.3. Piretroid Grubu İnsektisitler.....	6
1.4. Alfa sipermetrin.....	7
1.5. Gökkuşuğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	8
1.6. Hematoloji.....	10
1.7. Oksidatif stres.....	11
1.7.1. Serbest oksijen radikalleri	13
1.7.2. Süperoksit radikali (O_2^-)	15
1.7.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2).....	16
1.7.4. Hidroksil radikali ($OH^\cdot$)	17
1.7.5. Singlet oksijen (O_2)	17
1.7.6. Antioksidan savunma sistemi.....	18
1.7.7. Süperoksid dismutaz (EC 1.15.1.1).....	19
1.7.8. Katalaz (EC 1.11.1.16)	20
1.7.9. Glutasyon peroksidaz (GPx) (EC 1.6.4.2)	20
1.7.10. Enzimatik olmayan antioksidanlar	21
1.7.11. Oksidatif stresin lipit, protein ve DNA üzerine etkisi	22
1.7.12. Lipit peroksidasyonu	22
1.7.13. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkisi.....	23
1.7.14. Serbest radikallerin DNA üzerindeki etkisi.....	24
1.8. Metabolik Profil	24

1.8.1. Lipitler	24
1.8.2. Proteinler	26
1.9. Kromatografi	28
1.9.1. İnce tabaka kromatografisi (TLC)	28
1.10. Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)	28
1.11. Histopatoloji	30
2. KAYNAK ÖZETLERİ	31
3. MATERYAL ve YÖNTEM	45
3.1. Materyal	45
3.1.1. Araştırma yeri	45
3.1.2. Su materyali	45
3.1.3. Araştırma tankları	46
3.1.4. Balık materyali	47
3.1.5. Kimyasal materyali	47
3.2. Metot	48
3.2.1. Su dağıtım düzeneği	48
3.2.2. Deney balıklarının bakım ve beslenmesi	48
3.2.3. Pestisitlerin uygulanma şekilleri	48
3.2.4. Kan örneklerinin alınması	49
3.2.5. Kan parametreleri analizleri	50
3.2.5.a. Hemoglobin miktarının tayini	50
3.2.5.b. Hematokrit tayini	50
3.2.5.c. Eritrositlerin çökme hızı	51
3.2.5.d. Eritrosit sayısının tespiti	51
3.2.5.e. Lökosit sayısının tespiti	51
3.2.5.f. Trombosit sayısının tespiti	52
3.2.5.g. Hematolojik analiz sonuçlarından diğer parametrelerin hesaplanması	52
3.2.6. Enzim aktivitesi ölçümleri	53
3.2.6.a. Homejenat hazırlanması	53
3.2.6.b. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin ölçülmesi (SOD)	53
3.2.6.c. Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini	54
3.2.6.d. Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesinin tayini	54

3.2.6.e. Lipid peroksidasyonun ölçülmesi (MDA).....	55
3.2.6.f. Protein miktarı ölçüm yöntemi	56
3.2.6.g. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografi (YPİTK).....	57
3.2.6.h. Protein profilinin belirlenmesi (SDS-PAGE).....	57
3.2.7. Histopatolojik analizler	61
3.2.7.a. Kesitlerin hematoksil-eozin ile boyanması.....	61
3.2.8. İstatistik analizler	62
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	63
4.1. Akut Uygulamaya Ait Hematolojik Parametre Sonuçları.....	63
4.1.1. Hemoglobin Miktarı	63
4.1.2. Hematokrit değerleri.....	65
4.1.3. Eritrosit çökme hızı (Sedimentasyon)	66
4.1.4. Eritrosit sayısı (ES)	68
4.1.5. Lökosit sayısı (LS)	70
4.1.6. Trombosit sayısı (TS).....	71
4.1.7. Ortalama eritrosit hacmi (OEH-MCV).....	73
4.1.8. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (OHM-MCH)	75
4.1.9. Eritrosit başına düşen ort. hemoglobin konsantrasyonu (EOHK-MCHC).....	76
4.2. Kronik Uygulamaya Ait Hematolojik Parametreler.....	78
4.2.1. Hemoglobin miktarı	78
4.2.2. Hematokrit değerleri.....	79
4.2.3. Eritrosit çökme hızı (Sedimentasyon)	81
4.2.4. Eritrosit sayısı (ES)	82
4.2.5. Lökosit sayısı (LS)	83
4.2.6. Trombosit sayısı (TS).....	85
4.2.7. Ortalama eritrosit hacmi (OEH-MCV).....	86
4.2.8. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın miktarı (OHM-MCH)	88
4.2.9. Eritrosit başına düşen ort. hemoglobin konsantrasyonu (EOHK-MCHC).....	89
4.3. Akut Uygulamada Enzim Aktivitelerine İlişkin Sonuçlar	91
4.3.1. SOD enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar	91
4.3.2. CAT enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar	96
4.3.3. GPx enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar	101

4.3.4. MDA düzeyine ilişkin sonuçlar.....	106
4.4. Kronik Uygulamadaki Enzim Aktivitelerine İlişkin Sonuçlar	111
4.4.1. SOD enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar	111
4.4.2. CAT enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar	116
4.2.3. GPx enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar	121
4.4.4. MDA düzeyine ilişkin sonuçlar.....	126
4.5. Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK) Sonuçları	130
4.6. SDS-PAGE Analizlerine Ait Veriler.....	136
4.7. Histopatoloji Sonuçları.....	139
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	141
5.1. Hematoloji	141
5.2. Enzim aktiviteleri	148
5.3. Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK).....	152
5.4. SDS-PAGE Analizleri.....	154
5.5. Histopatoloji Analizi	154
5.6. Sonuç ve Öneriler	155
KAYNAKLAR	158
ÖZGEÇMİŞ	174

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

μ	Mikro
μl	Mikrolitre
ASS	Antioksidan savunma sistemi
EOH	Eritrositlerdeki ortalama hemoglobin
EOHK	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu
ES	Eritrosit sayısı
GPx	Glutasyon peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematokrit değeri
LC50	Letal konsantrasyon
MCH	Kırmızı kan hücrelerinde bulunan ortalama hemoglobin
MCHC	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Kırmızı kan hücrelerinin ortalama hacmi
MDA	Malondialdehit
mL	Mililitre
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
NaCl	Sodyum klorür
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotidfosfat
NBT	Nitro blue tetrazolium
OHM	Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı
RBC	Eritrosit sayısı
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TS	Trombosit sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Pire otu.....	6
Şekil 1.2. Alfa sipermetrinin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 1.3. Gökkuşığı alabalıklarının yaşam alanları.....	9
Şekil 1.4. Türkiye'deki alabalık yetiştiricilik miktarları	9
Şekil 1.5. Serbest radikal yapısı	12
Şekil 1.6. Oksidatif hasara uğramış doku	13
Şekil 1.7. Reaktif oksijen türleri	14
Şekil 1.8. Moleküler oksijen yapısı.	15
Şekil 1.9. Dismutasyon tepkimesi.....	16
Şekil 1.10. Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu	22
Şekil 1.11. Proteinler, enzimler ve protein sentezi ilişkisi.....	27
Şekil 1.12. Sds-page işleyiş şeması	29
Şekil 3.1. Araştırma tankları	46
Şekil 3.2. Gökkuşığı alabalığı (<i>O. mykiss</i>).....	47
Şekil 3.3. Balıklardan kanın alındığı bölge ve böbrek dokusu	49
Şekil 3.5. Akrilamid ve N,N'-metilen bisakrilamid'in kimyasal yapısı.....	59
Şekil 3.6. Bloklanmış doku örnekleri	62
Şekil 4.1. Deneme gruplarına ait kan hemoglobin düzeyleri (g/100ml).....	64
Şekil 4.2. Deneme gruplarına ait kan hematokrit düzeyleri (%).....	66
Şekil 4.3. Deneme gruplarına ait kan eritrosit düzeyleri ($10^6/\text{mm}^3$).....	69
Şekil 4.4. Deneme gruplarına ait kan lökosit düzeyleri ($10^4/\text{mm}^3$)	71
Şekil 4.5. Deneme gruplarına ait kan trombosit düzeyleri ($10^3/\text{mm}^3$).....	72
Şekil 4.6. Deneme gruplarına ait kan MCV düzeyleri (μm^3)	74
Şekil 4.7. Deneme gruplarına ait kan MCH düzeyleri (pg)	76
Şekil 4.8. Deneme gruplarına ait kan MCHC düzeyleri (g/ml)	77
Şekil 4.9. Deneme gruplarına ait kan hemoglobin düzeyleri (g/100ml).....	79
Şekil 4.10. Deneme gruplarına ait kan lökosit düzeyleri ($10^4/\text{mm}^3$)	84
Şekil 4.11. Deneme gruplarına ait kan trombosit düzeyleri ($10^3/\text{mm}^3$).....	85
Şekil 4.12. Deneme gruplarına ait kan OEH düzeyleri (μm^3)	87

Şekil 4.13. Deneme gruplarına ait kan OHM düzeyleri (pg).....	89
Şekil 4.14. Deneme gruplarına ait kan EOHK düzeyleri (g/ml).....	90
Şekil 4.15. SOD enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi	94
Şekil 4.16. CAT enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi	99
Şekil 4.17. GPx enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi	104
Şekil 4.18. MDA aktivitesinin böbrek dokusundaki değişimi.....	109
Şekil 4.19. SOD enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi	114
Şekil 4.20. CAT enzim aktivitesinin böbrek dokusundaki değişimi	119
Şekil 4.21. GPx enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi	124
Şekil 4.22. MDA aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi .	128
Şekil 4.23. Silika jel tabakası üzerindeki yağ profil görüntüsü	130
Şekil 4.24. Solungaç dokusu elektroforetogramları.....	136
Şekil 4.25. Karaciğer dokusu elektroforetogramları.....	137
Şekil 4.26. Böbrek dokusu elektroforetogramları.....	138
Şekil 4.27. Proteinlere ait 3 boyutlu dansitogram görüntüsü.....	139
Şekil 4.28. Kontrol grubu balıklarda normal solungaç (1), karaciğer (2) ve böbrek (3) yapısı. Uygulama gruplarında histopatolojik değişiklikler.....	140

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya nüfus artışı.....	1
Çizelge 1.2. Çevre ve su'ya ait anlık veriler.....	1
Çizelge 1.3. Çevre sorunları neden ve sonuç diyagramı.....	2
Çizelge 1.4. Türkiyede kullanılan tarımsal ilaç dağılımı.....	3
Çizelge 1.5. Pestisitlerin etkiledikleri gruba ve özelliklerine göre sınıflandırılması.....	5
Çizelge 1.6. Alfa sipermetrinin gökkuşağı alabalığında belirlenen LC50 değeri.....	8
Çizelge 1.7. Gökkuşağı alabalığı (<i>O. mykiss</i>)'nın sistematikteki yeri.....	10
Çizelge 1.8. Oksidatif stres kaynakları.....	11
Çizelge 1.9. Biyolojik önemi olan bazı serbest radikaller.....	14
Çizelge 1.10. Hidrojen peroksit kullanım alanları.....	16
Çizelge 1.11. Lipitlerin kimyasal gruplara göre sınıflandırılması.....	25
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan suyun kimyasal özellikleri.....	45
Çizelge 3.2. Cyanmethemoglobin metoduyla hemoglobin tayini.....	50
Çizelge 3.3. SDS-PAGE jellerinin kimyasal kompozisyonları.....	60
Çizelge 4.1. Hemoglobin değerine ait varyans analiz tablosu.....	63
Çizelge 4.2. Hemoglobin miktarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (g/100ml).....	64
Çizelge 4.3. Hematokrit değerine ait varyans analiz tablosu.....	65
Çizelge 4.4. Hematokrit miktarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (%).....	65
Çizelge 4.5. Sedimentasyon değerine ait varyans analiz tablosu.....	67
Çizelge 4.6. Sedimentasyon hızına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (mm/saat).....	67
Çizelge 4.7. Eritrosit değerine ait varyans analiz tablosu.....	68
Çizelge 4.8. Ortalama eritrosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	68
Çizelge 4.9. Lökosit değerine ait varyans analiz tablosu.....	70
Çizelge 4.10. Ortalama lökosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	70

Çizelge 4.11. Trombosit değerine ait varyans analiz tablosu	72
Çizelge 4.12. Trombosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	72
Çizelge 4.13. Ortalama eritrosit hacmi değerine ait varyans analiz tablosu	73
Çizelge 4.14. Ortalama eritrosit hacmine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	73
Çizelge 4.15. OHM değerine ait varyans analiz tablosu.....	75
Çizelge 4.16. OHM-MCH ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	75
Çizelge 4.17. EOHK değerine ait varyans analiz tablosu.....	76
Çizelge 4.18. EOHK ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	77
Çizelge 4.19. Hemogloblin değerine ait varyans analiz tablosu	78
Çizelge 4.20. Hemogloblin miktarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (g/100ml)	78
Çizelge 4.21. Hematokrit değerine ait varyans analiz tablosu.....	80
Çizelge 4.22. Hematokrit miktarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	80
Çizelge 4.23. Sedimentasyon değerine ait varyans analiz tablosu.....	81
Çizelge 4.24. Sedimentasyon çökme hızına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	81
Çizelge 4.25. Eritrosit değerine ait varyans analiz tablosu.....	82
Çizelge 4.26. Eritrosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ...	82
Çizelge 4.27. Lökosit değerine ait varyans analiz tablosu	83
Çizelge 4.28. Lökosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	84
Çizelge 4.29. Trombosit değerine ait varyans analiz tablosu	85
Çizelge 4.30. Trombosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	85
Çizelge 4.31. Ortalama eritrosit hacmi değerine ait varyans analiz tablosu.....	86
Çizelge 4.32. Ortalama eritrosit hacmine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	87
Çizelge 4.33. OHM değerine ait varyans analiz tablosu.....	88
Çizelge 4.34. OHM-MCH ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları	88
Çizelge 4.35. EOHK değerine ait varyans analiz tablosu	89

Çizelge 4.36. EOHK ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları.....	90
Çizelge 4.37. SOD enzimine ait varyans analiz tablosu	91
Çizelge 4.38. SOD enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)	92
Çizelge 4.39. CAT enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu	96
Çizelge 4.40. CAT enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)	97
Çizelge 4.41. GPx enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu	101
Çizelge 4.42. GPx enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)	102
Çizelge 4.43. MDA aktivitesinin varyans analiz tablosu.....	106
Çizelge 4.44. MDA aktivitesinine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (nmol/mg protein).....	107
Çizelge 4.45. SOD enzimine ait varyans analiz tablosu	111
Çizelge 4.46. SOD enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)	112
Çizelge 4.47. CAT enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu	116
Çizelge 4.48. CAT enzim aktivitesine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)	117
Çizelge 4.49. GPx enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu	121
Çizelge 4.50. GPx enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)	122
Çizelge 4.51. MDA aktivitesinin varyans analiz tablosu.....	126
Çizelge 4.52. MDA aktivitesine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (nmol/mg protein).....	126
Çizelge 4.53. Solungaç dokusuna yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi.....	131
Çizelge 4.54. Solungaç dokusuna ait yağ pofillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi.....	132
Çizelge 4.55. Karaciğer dokusuna ait yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre değişimi	133

Çizelge 4.56. Karaciğer dokusuna ait yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi (Kronik).....	133
Çizelge 4.57. Böbrek dokusuna ait yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi (Akut)	134
Çizelge 4.58. Böbrek dokusuna ait yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi (Kronik).....	135



1. GİRİŞ

İnsanoğlunun gıda kaynağını oluşturan bitkisel-hayvansal kaynaklı ürünlerin, kalite ve verim değerlerinin yüksek olması, işlenip değerlendirilmesi, uygun koşullarda saklanması ve pazarlanması gibi faaliyetler, sağlıklı ve yeterli beslenme için oldukça önemlidir. Artan nüfus ve gelişen teknoloji paralel olarak tarımsal faaliyetlerde meydana gelen makineleşme ve yapay gübre kullanımı, doğaya zarar verip başta su kirliliği olmak üzere birçok sorunu beraberinde getirerek biyolojik sistemi olumsuz etkilemektedir (Parlak vd 2009). Çizelge 1.1’de dünya nüfusunda meydana gelen değişiklikler ve Çizelge 1.2’de çevre ve suya ait anlık veriler verilmiştir.

Çizelge 1.1. Dünya nüfus artışı (Anonim 2016a)

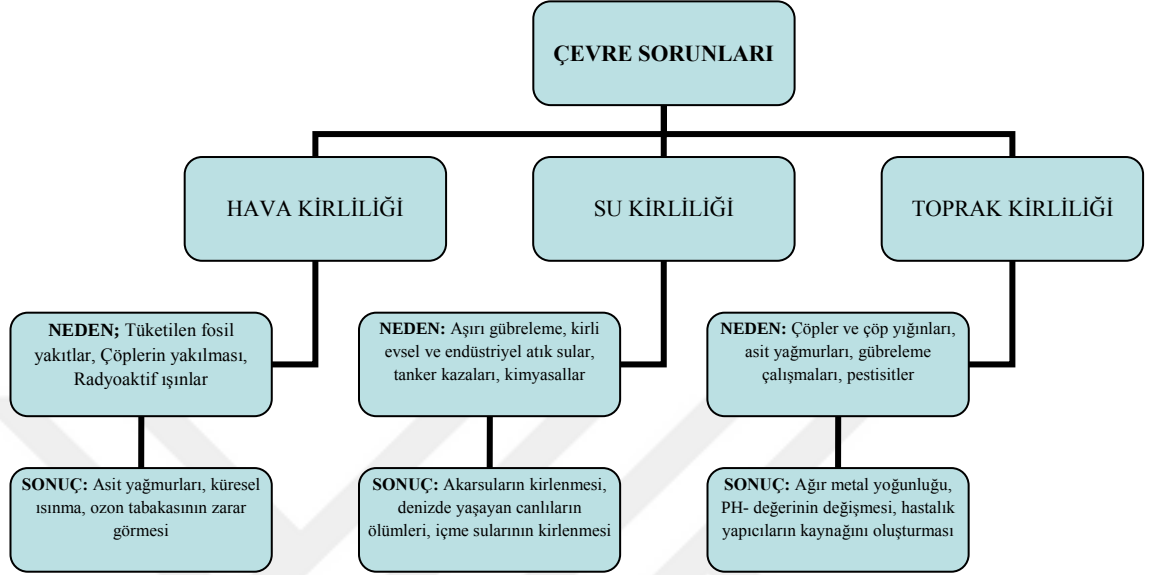
Yıllar	Dünya nüfusu	Türkiye nüfusu
1920	2.070 Milyar	13.648 Milyon
1950	2.520 Milyar	20.947 Milyon
1980	4.440 Milyar	44.736 Milyon
2016	7.409 Milyar	77.695 Milyon
2050	≥10.Milyar (tahmini)	≥ 94.606 Milyon

Çizelge 1.2. Çevre ve su’ya ait anlık veriler (Anonim 2016a)

	01.01 – 19.09.2015	01.01 – 15.03.2016
Çevre- Su	Miktar	Miktar
Bu yıl yok olan orman alanı (hektar)	5.684.124	1.108.503
Bu yılki karbon dioksit CO ₂ emisyonu (ton)	38.714.170.4277	38.714.170.4277
Bu yıl salınan endüstriyel zararlı atık (ton)	8.937.068	2.087.272
Bu yılki su tüketimi (milyar litre)	4.5125.111	23.860.548
Bu yıl suya bağlı hastalıklardan ölenler	1.975.710	179.482
İçecek suya erişimi olmayan insan sayısı	983.781.581	659.343.636

Çevremizde meydana gelen olumsuz etkilerden bazılarını Çizelge 1.3’de verilmiştir.

Çizelge 1.3. Çevre sorunları neden ve sonuç diyagramı (Erten 2004)



Doğal dengenin bozulmasıyla, yeryüzündeki besin kaynakları tahrip olmakta ve besin stokları gün geçtikçe tükenmektedir. Besin kaynakları artan nüfusa cevap veremeyince, insanoglu yeni arayışlara girerek doğal ortamdaki besinleri kendi imkânları ile üretmeye başlamıştır. Böylece tarım faaliyetleri içerisinde, kültür yetiştiriciliği denilen tanım ortaya çıkmıştır (Parlak vd 2009).

Tarım faaliyetleri ile üretilen ürünlerin, tüketimi ve depolanması esnasında birçok sorun yaşanmaktadır. Özellikle bu besinlere zarar veren mikroorganizma ve zararlıları ortamdaki uzaklaştırmak oldukça önemlidir. Bu amaçla pestisitler oldukça yaygın bir şekilde tarımsal alanlarda ve ürün kontrolünde kullanılmaktadır.

Kimyasalların kullanımı 19.yy'dan başlayarak dünya çapında hızla artmış ve pestisitlerin yıllık üretimi 3,2 milyon ton civarında olup, Türkiye'de kullanılan pestisit miktarı 1,3 kg/ha (278 ton/yıl) civarındadır. Bu kimyasallardan 334'ü aktif madde, 5628 âdedi ise bitki koruma ürünü olarak ruhsatlı bir şekilde satılmaktadır. Ülkemizde kullanılan ilaçların dağılımı Çizelge 1.4'te verilmektedir (Kaymak ve Serim 2015).

Çizelge 1.4. Türkiye'de kullanılan tarımsal ilaç dağılımı

Adı	Adet
Pestisitler	4.996
Biyolojik mücadele ajanı	35
Biyopreparat	30
Bitki Gelişimi Düzenleyici	182
Bitki ekstraktı	3
Tuzak ve feromonlar	75

Dünya genelinde ve ülkemizdeki tarım alanlarında, zararlı organizmaları yok etmek ve daha kaliteli ürünler elde etmek için bu ilaçlar yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Kaliteli ürünler yetiştirilmesine rağmen söz konusu kimyasallar doğrudan veya dolaylı yollarla taşınarak, hedef dışı canlıları da etkilemektedir. Özellikle yağmur ve sulama suları, ayrıca rüzgâr faktörü bu kimyasalların dere, nehir, göl, gölet, deniz ve yeraltı sularına kadar ulaşmasına ve sucul ekosistemin olumsuz bir şekilde etkilenmesine neden olmaktadır (Strmach and Braunbeck 2000).

Taşıma ve çözme özelliğine sahip olan su, ortama karışan kimyasalların hızlıca yayılmasını ve besin zincirine geçişini kolaylaştırmaktadır. Birçok kimyasal madde, öncelikle sucul ekosistemlerde birikerek yüksek derişimlere ulaşmakta ve ortamdaki canlı vücudunda bu miktar daha da artmaktadır (Kennish 1998; Ayas vd 2009). Besin zincirinde, insanoğluna kadar ulaşan bu canlılar sağlığımızı olumsuz olarak etkilemektedir. Bu olumsuzlukların belirlenmesinde ve özellikle sucul ortamın izlenmesinde, kirlilik biyoindikatörü olarak balıklar önemli rol oynamaktadır. Bu bakımdan sucul canlılar üzerinde yapılacak toksikoloji çalışmaları, bu kimyasalların olumsuz etkilerinin ve canlının biyolojik aktivitelerinde meydana gelecek değişikliklerin belirlenmesinde önem arz etmektedir (Atamanalp 2000).

Günümüzde çevre kirliliği ve kirleticilerin birikimi çok büyük bir problem haline gelmiştir. Kirleticiler, mutajenik, toksik ve kanserojen özelliklerinden dolayı sağlık problemlerine sebep olmaktadır. Ekzojen kaynakların etkisiyle metabolizmada hücre boyutunda serbest radikaller oluşmakta ve hücresel boyutta oksidatif hasarlar meydana

gelmektedir. Bu hasarlar yaşlanma ve kanser gibi ölümcül sonuçlara neden olmaktadır (Murphy 2001; Parlak vd 2009).

Kirleticilerin etkilerinin belirlenmesi için yapılan pek çok çalışmada, kirleticinin yoğunluğuna bağlı olarak balıklarda beslenmenin durması, yüzme hareketlerinin yavaşlaması, testis-ovaryum gelişiminin engellenmesi, doku hasarları ve ölümlerle popülasyon ve tür çeşitliliğinde azalmalar meydana gelmektedir (Taylan ve Özkoç 2007).

Pestisitler ile ilgili yapılan çalışmalarda sucul ortamda yaşayan canlıların, kirletici maddelere maruz kalması ve bunların canlı dokularındaki birikiminin organizma açısından ölümle sonuçlanabilecek durumlar ortaya çıkardığı belirtilmiştir (Hu 2000).

Su kirliliği sonucunda birçok bulaşıcı hastalığın insan sağlığını tehdit etmesi, sucul ekosistemlerde tedbirler alınması ve ekotoksikolojik araştırmaların gerekliliği bilinmektedir (Çelikel 2011).

Toksik etkilerin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda canlıların fizyolojik, histolojik ve biyokimyasal parametrelerinin incelenmesi doğru bilgiye ulaşmak için önemlidir (Lendhardt 1992; Kayhan vd 2009).

Doğal dengeyi bozan kirleticiler içerisinde önemli bir potansiyele sahip olan pestisitlerin ülkemizde yoğun ve bilinçsiz kullanılması bilim adamlarının bu konudaki ilgisini arttırmış ve pestisitlerin toprak-su ekosistemine olan etkileri üzerine yoğunlaşmıştır.

1.1. Pestisitler

Pestisitler, çevresel ortamda istenmeyen zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak ya da zararlarını azaltmak için kullanılan madde ya da maddelerden oluşan kimyasallardır. Çizelge 1.5'te pestisitler etkiledikleri canlı grubuna ve kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılmıştır (Tiryaki vd 2010).

Çizelge 1.5. Pestisitlerin etkiledikleri gruba ve özelliklerine göre sınıflandırılması

ETKİLEDİKLERİ GRUBA GÖRE	
	İNSEKTİSİT (Böceklerle karşı)
	HERBİSİT (Yabancı otlara karşı)
	FUNGİSİT (Funguslara karşı)
	AKARİSİT (Akarlara karşı)
	RODENTİSİT (Kemirgenlere karşı)
	NEMATİSİT (Nematodlara karşı)
	MOLLUSKİSİT (Yumuşakçalara karşı)
	BAKTERİSİT (Bakterilere karşı)
	VİRİSİT (Virüslere karşı)

KİMYASAL TİPLERİNE GÖRE	
	ORGANOFOSFATLAR
	N-METİL KARBAMATLAR
	KLORLU HİDROKARBONLAR
	BİSDİTİYOKARBAMATLAR
	ORGANOTİNLER
	BOTANİK KÖKENLİ MADDELER
	ARSENİKLER
	FENOL TÜREVLERİ
	MİKROBİYALLER
	FENOKSİALİFATİK ASİTLER
	PİRETRODİLER

1.2. Pestisitlerin Toksisitesi

Pestisitler uygulandıkları zararlı organizmalar üzerinde farklı etkilere sebep olmaktadır. Pestisite maruz kalan organizmadaki toksisite, biyokimyasal bir süreçten sonra ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden toksikoloji çalışmaları, kimyasal maddelerin toksisite verilerini elde etmek ve devamında bu kimyasal maddelerin zararlı sonuçlarını öngörmek açısından önemlidir. Kimyasal maddelerin toksik etki oluşturma iki farklı uygulama ile açığa çıkmaktadır. Bunlar kısa süreli yani akut ve uzun süreli kronik toksisite testleridir. Uygulama farklılığının yanı sıra toksikoloji testlerinde kimyasalların yapısında önemlidir (Orhan 2010).

1.3. Piretroid Grubu İnsektisitler

Bu insektisit grubu yeryüzünde doğal halde yetişen piretrinlerin (Pire otu) asit ve alkol yapılarında değişiklikler yapılarak elde edilmektedir.



Şekil 1.1. Pire otu

Orijinal adı *Tanacetum officinale* olan pire otu Alfa sipermetrinin ham maddesidir. Yöresel olarak Oltu otu ve Pirekapanı olarak adlandırılmaktadır. Bileşikgiller familyasına ait olup anayurdu Kafkasya'dır. Ülkemizde ise Erzurum ili civarında yetişmektedir. Pire otunun yapısında; uçucu yağ, reçine ve piretrin isimli maddeler bulunmaktadır (Anonim 2016b). Piretrin canlı vücuduna girdikten sonra sinir hücrelerine etki ederek toksik etki göstermektedir. Temas halinde etkilidir ve doğada

kolayca parçalanabilirler. Piretroidlerin insan metabolizması üzerinde sistemik ve akut toksik etkisi düşüktür. Piretroidlere maruz kalan insanlarda yapılan çalışmada, ürede ana bileşiğin değişmeden vücuttan atıldığı belirlenmiştir (Çelikel 2011).

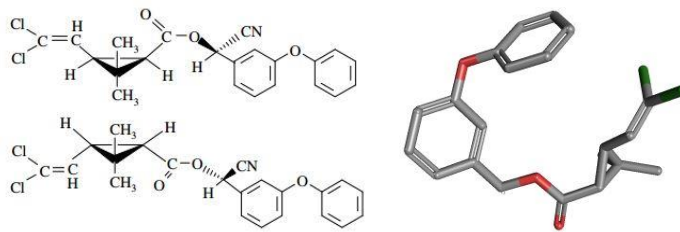
Permethrin, Cypermethrin, Alfa-Cypermethrin, Cyphenothrin, D-Phenoyhrin, Resmethrin, Cyfluthrin, Beta-Cyfluthrin, Deltamethrin ve Etofenprox bu bitkiden sentezlenen kimyasal formlardır.

1.4. Alfa sipermetrin

Sentetik piretroid pestisitlerde Alfa sipermetrin, ülkemizde özellikle elma, zeytin, tahıl, pamuk, mısır, domates, fındık gibi ürünler için zararlı böcekleri yok etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Kocaman 2007).

Kimyasal adı: (RS)- α -Cyano-3-Phenoxybenzyl (1R,S)-cis-3-(2,2- Dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

Kapalı Formülü: $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$, Molekül Ağırlığı: 416,35, Erime Noktası: 79°C



Şekil 1.2. Alfa sipermetrinin kimyasal yapısı (IPCS 1992)

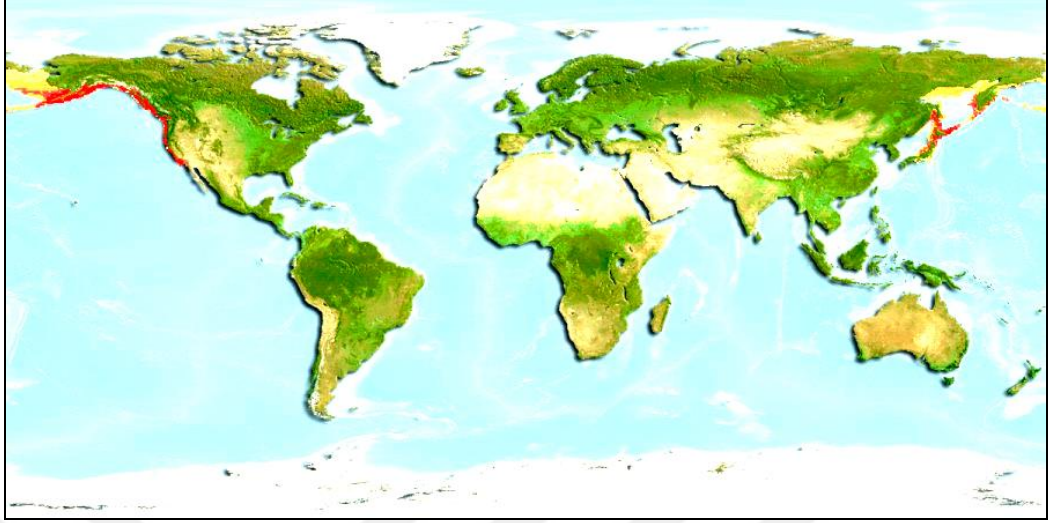
Tarım alanlarında sıklıkla kullanılan bu pestisitın sucul ortama karışma riski oldukça yüksek olup sucul ortamdaki olumsuz etkilerinin belirlenmesinde kirlilik biyoindikatörü olan ve ülkemizdeki tatlı sularda yoğun olarak bulunan gökkuşağı alabağı ele alınmıştır. Alfa sipermetrinin LC50 değerinin belirlenmesinde Çizelge 1.6'daki referans değerler göz önünde bulundurulmuştur.

Çizelge 1.6. Alfa sipermetrinin gökkuşağı alabalığında belirlenen LC50 değeri

http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc142.htm	15 °C’de 12 saatte yenilenen su akışında, (2.1-3.5) 2.8 (µg/litre) Stephenson (1982)
http://www.chinese-pesticide.com/insecticides/alpha-cypermethrin.htm	Gökkuşağı Alabalığı için 96 saatlik uygulamada LC50 = 0,0028 mg/l
http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/carbaryl-dicrotophos/cypermeth-ext.html	Gökkuşağı Alabalığı için 96 saatlik uygulamada LC50 = 0,82 ppb
http://www.nufarm.co.nz/assets/23024/1/Sheriff_100_SDS.pdf	Gökkuşağı Alabalığı için 96 saatlik uygulamada LC50 = 2,8µg/L
Cypermethrin is very highly toxic to fish and aquatic invertebrates. http://extoxnet.orst.edu/pips/cypermeth.htm	Gökkuşağı Alabalığı için 96 saatlik uygulamada LC50; 0,0082 mg/L
http://www.who.int/whopes/quality/en/Alphacypermethrin_WHO_specs_eval_Jan_2013.pdf	Gökkuşağı Alabalığı için 96 saatlik uygulamada LC50 = 2.8 µg/l NOEC = 1.5 µg/l (BASF)
http://www3.syngenta.com	Gökkuşağı Alabalığı için 96 saatlik uygulamada LC50 = 0,0028 mg/L
http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Alphacypermethrin09.pdf	Gökkuşağı Alabalığı için 96 saatlik uygulamada LC50; 2,8 µg/l NOEC = 1,5 µg/l (BASF)
Mevcut çalışmamızda	Gökkuşağı Alabalığı için 96 saatlik uygulamada 11 °C’de 12 saatte yenilenen su akışında LC50; 3.2 µg/litre

1.5. Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Atlantik salmon, pasifik salmon ve gökkuşağı alabalıkları genel adıyla “Salmonidler” olarak adlandırılmaktadır. Bu balıklar dünyada yetiştiriciliği en fazla yapılan karnivor balıklardır. Gökkuşağı alabalığı, Kuzey Pasifik Okyanusu civarında Güney Kaliforniyadan Alaskaya (Aleutians bölgesi, Kamchatka’nın yarım adasının batı pasifik bölgeleri ve Okhotska denize boşalma havza akıntılarında) kadar olan alanda doğal olarak bulunmaktadır (Yanık 2009).



Şekil 1.3. Gökkuşığı alabalıklarının yaşam alanları (kırmızı: doğal alan, sarı: yayılım gösterdiği alan) (Yanık 2009).

Günümüzde ise gökkuşığı alabalığı tüm dünya ülkelerinde yayılım göstermektedir. Ülkemiz sularında göllerde, nehirlerde ve derelerde yaşayan gökkuşığı alabalığı kültürü yapılan en yaygın balıktır (Yanık 2009; Uçar ve Atamanalp 2010). Alabalıkların taksonomi bilgisi ise Çizelge 1.7'deki gibidir. Şekil 4'te ise ülkemizdeki alabalık yetiştiricilik miktarları verilmiştir.



Şekil 1.4. Türkiyedeki alabalık yetiştiricilik miktarları (TÜİK 2014)

Çizelge 1.7. Gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*)’nın sistematikteki yeri (Anonymous 2016)

Filum	Chordata (Kordalılar)
Alt Filum	Vertebrata (Omurgalılar)
Üst Sınıf	Osteichthyes (Kemikli Balıklar)
Sınıf	Actinopterygii (Işınsal Yüzegeçliler)
Takım	Salmoniformes (Alabalıkgiller)
Familya	Salmonidae (Alabalıkgiller)
Alt Familya	Salmoninae (Alabalıkgiller)
Cins	<i>Oncorhynchus</i> (Suckley, 1861 – Pacific salmon)
Tür	<i>O. mykiss</i> (Walbaum, 1792) steelhead, redband trout
Alt Tür	<i>O. mykiss</i> (Walbaum, 1792) Kamchatkan rainbow trout

1.6. Hematoloji

Hematoloji, normal ve olumsuz durumlarda canlının kan yapısı ve fonksiyonlarında meydana gelen değişimler ile ilgilenen bilim dalı olarak tanımlanmaktadır. Hemotolojik değerler, organizmadaki değişikliklerin belirlenmesinde farklı yaş grupları ve ekolojik ortamlarda yaşayan canlıların metabolizmaları hakkında da bilgi vermektedir. Balık kanının yapısı yaş, eşey, mevsim, yakalama yöntemi, cinsi olgunluk, uzunluk, ağırlık, su sıcaklığı, pH, beslenme vb. faktörlerden etkilenmektedir (Çelik 2006).

Hematoloji sadece balık hastalıkları hakkında bilgi vermeyip, beslenme ve çevresel faktörlerin etkilerini de belirleyen bir bilim dalıdır. Normal koşullarda ve çevresel değişimlerde kan değerlerinin belirlenmesi, türler arasındaki tanı ve sucul ortamdaki kirleticilerin etkilerinin belirlenmesinde yardımcı olur (Atamanalp 2003; Kayhan vd 2009).

Balıklar, her türlü stres, hastalık, beslenme yetersizliği, toksik madde, su kalitesindeki değişimler ve diğer çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Hematolojik parametrelerden eritrosit sayısı (RBC), lökosit sayısı (WBC), hemoglobin değeri (Hb), hematokrit oranı (Hct), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) balıklarda sağlık ve fiziksel durumun önemli göstergeleri olarak bilinmektedir (Yüngül

ve Karaman 2014). Kan parametreleri, stres ölçümünde de kullanılmaktadır. Eritrosit sayısındaki değişim stresin belirlenmesinde kullanılan önemli parametrelerden birisidir. Ayrıca kanın pıhtılaşma süresi ve lökosit sayısı da stres seviyesinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Öğüt 2005).

1.7. Oksidatif stres

Canlı vücudunda serbest radikaller ve antioksidanlar bir denge içerisinde. Serbest radikal üretiminin fazla olması sonucu, vücuttaki antioksidan-serbest radikal dengesi olumsuz yönde bozulmakta ve bu olay oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikal ise en dış orbitalinde eşleşmemiş elektron bulunan atom ya da moleküllere denir. Serbest radikaller reaktif ve kararsız durumdaki yapılardır. Kararlı duruma geçip, tek elektronlarını eşlemek üzere diğer moleküller ile reaksiyona girerek, onlardan elektron alma eğilimli olup bu durumda diğer yapılara zarar vermektedirler.

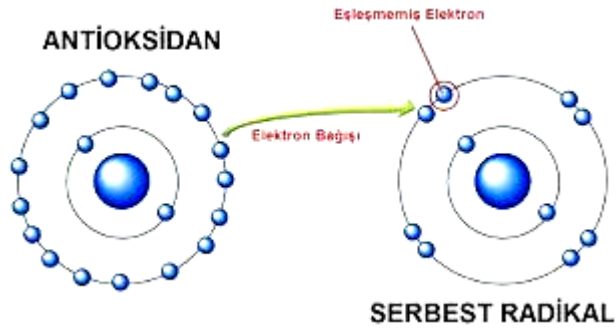
Canlı metabolizmasında oluşan biyolojik hasarın ve ölümün sebebi serbest radikallere dayandırılmaktadır (Cheeseman and Slatyer 1993; Fridovich 1995, Ji and Leichtweis 1997). Oksidatif stres oluşumu ve hasarı, çeşitli çevresel ve metabolizmadan kaynaklı faktörler ile açığa çıkmaktadır. Bu dış ve iç faktörlerin etkisi sonucunda hücre yapısında serbest radikaller oluşmaktadır. Çizelge 1.8’de oksidatif stres kaynakları verilmiştir (Kılıksız ve Demirel 2008).

Çizelge 1.8. Oksidatif stres kaynakları

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Mitokondrial elektron transport zinciri	Diyet faktörleri
Endoplazmik retikulum	Çevresel faktörler (hava kirliliği)
Redoks döngüsü	İlaçlar, ksenobiyotikler
Araşidonik asit metabolizması	Zararlı ışınlar (X-ray, U.V.)
Fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar vs.) ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar	
Ksantin Oksidaz, NADPH Oksidaz vs. enzimler	
Otooksidasyon reaksiyonları.	

Canlı vücuduna alınan oksijenin büyük çoğunluğu mitokondrial elektron taşıma zinciri (ETZ)'nde kullanılmaktadır. Oksijenin %1-3'lük bir miktarı suya dönüşmez bunun sonucu olarak süperoksit radikali ile hidroksil radikali açığa çıkmaktadır. Meydana gelen bu serbest radikaller protein, karbonhidrat ve lipidler üzerinde yapısal bozukluklara neden olup, doku hasarı gibi birçok olumsuz etkiye sebep olmaktadır (Gümüştas ve Atukeren 2008).

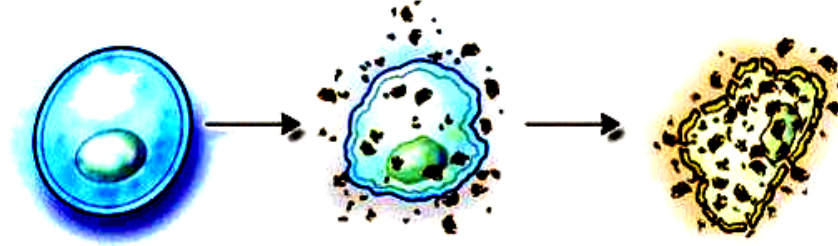
Serbest oksijen radikalleri (SOR) canlı hücrelerinde, sisteme yarar ve zarar anlamında ikili role sahiptirler. Düşük serbest radikal oluşumu bazı durumlarda (örneğin bakterilerin nötrofiller tarafından oksijen radikalleri ile öldürülmesi gibi) organizmaya yararlı olabildiği gibi yüksek konsantrasyon halinde ise protein, lipit ve DNA'yı içeren hücresel yapıların oksidasyonunun (kısacası oksidatif stresin) tetikleyicisidir. Kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanan radikaller, aerobik metabolizma esnasında canlı vücudunda üretilerek, memeli ve bitkilerde lipit peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı ile hücrelerin ölümüne neden olmaktadır (Kayış 2010).



Şekil 1.5. Serbest radikal yapısı (Anonim 2016c)

Saniyede 100.000 defa tepkimeye girme isteğinde olan serbest radikaller, hücrelerden elektron alıp kararlı hale geçmek istemektedir. Vücutta yeterli miktarda antioksidan olmadığı durumda direk olarak hücrelerden elektron alarak hücrelere zarar verirler (Anonim 2016d). Serbest radikallerin meydana gelme hızı, bunları engelleyen savunma sistemleri ile aynı olduğu sürece organizma bu durumdan etkilenmez. Ancak bu denge

olumsuz yönde değişirse serbest radikallerin etkisi ile oksidatif stres denilen durum ortaya çıkarak hücreye zarar verir (Valko *et al.* 2007).



Şekil 1.6. Oksidatif hasara uğramış doku (Anonim 2016e)

Canlı vücudundaki antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olabilmektedir. Antoksidanlar doğrudan ve dolaylı olarak serbest radikallerin istenmeyen etkilerini inhibe ederek, organizmayı koruyan maddelerdir. Vitamin C, A, E, β -karoten, metallotionein, melatonin, bilirubin gibi moleküllerle, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon reduktaz (GSH-Rd) gibi enzimler antioksidanları oluşturmaktadır (Russo 2004).

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada oksidatif stres ve reaktif oksijen türevleri, toksisitenin olası bir mekanizması olması nedeniyle önemli bir hale gelmiştir.

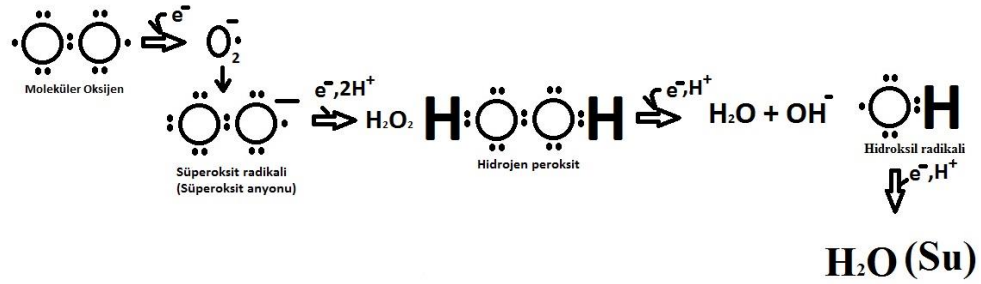
1.7.1. Serbest oksijen radikalleri

Oksijen canlı yaşamı için çok önemli olmasına rağmen, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türlerinin vücuda zarar verme potansiyeli bulunmaktadır (Diplock 1998). Bu reaktif ürünler oksijenin toksik etkilerinden sorumlu olup, kanser dâhil birçok hastalığın sebebini oluşturmaktadır. Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin oluşumunda, çevresel kirleticiler, radyasyon, pestisitler ve fabrika atıkları ile kirlenmiş sular gibi birçok etken önemli rol oynamaktadır (Kaur and Kapoor 2001).

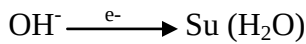
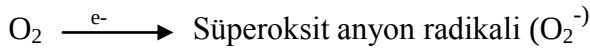
Çizelge 1.9. Biyolojik önemi olan bazı serbest radikaller (Halliwell and Gutteridge 2000; Kayış 2010)

Radikaller	Non- radikaller
Süperoksit, O_2^-	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, OH^-	Hipokloröz asit, $HOCl$
Peroksil, RO_2	Ozon, O_3
Alkoksil, RO	Singlet oksijen, O^+
Hidroperoksit, HO_2	Peroksinitrit, $ONOO^-$
Nitrik oksit, NO	Hidroperoksid, $L(R)OOH$

Şekil 1.7’de oksijen molekülü elektron alarak suya indirgenmektedir. Oksijenin bir elektron alması sonucu süperoksit anyonu, iki elektron eklenmesi sonucu hidrojen peroksit, üç elektron eklenmesi sonucu hidroksil radikali ve en son dört elektron eklenmesi ile su oluşmaktadır (Halliwell 1994; Wickens 2001).

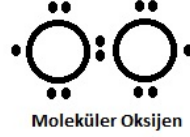


Şekil 1.7. Reaktif oksijen türleri (Süperoksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali) (Halliwell 1994)



1.7.2. Süperoksit radikali (O_2^-)

Oksijen molekülü (O_2), dış yörüngesinde eşleşmemiş iki elektrona sahiptir. Bu elektronlar çift olmadıklarında ya da ayrı orbitallerde bulunduklarında ve aynı yönde döndükleri zaman en düşük enerji seviyesinde bulunmaktadır. Dış orbitallerden her biri birer elektron daha alabilir. Bu elektron değişimi sonucunda süperoksit radikali oluşur (Fridovich 1975). Oksijen molekülünden süperoksit oluşumu aerobik hücrelerin yaklaşık olarak tamamında gerçekleşebilir (Halliwell and Gutteridge 1999).



Şekil 1.8. Moleküler oksijen yapısı (Fridovich 1975).

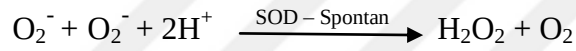
Süperoksit radikalleri çeşitli tepkimeler ile oluşabilir bunlar;

- 1- İndirgeyici özelliği sahip olan biyomoleküller, oksijen molekülüne bir elektron vererek yükseltgenirken, oksijen molekülünde süperoksit radikaline dönüşmesini sağlarlar.
- 2- Enzimlerle katalizlenen bir reaksiyonda yan ürün olarak oluşabilir.
- 3- Mitokondride meydana gelen enerji metabolizmasında tüketilen oksijenin %1-5 kadar miktarında süperoksit oluşumu meydana gelir (Yurdakul 2004).

Süperoksit radikali hem oksidan hem de indirgendir, ayrıca reaktivliği ile pH arasında doğrusal orantı vardır (Bast *et al.* 1991).

1.7.3. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Oksijen molekülünün iki elektron veya süperoksit radikalinin bir elektron alması sonucu peroksit molekülü meydana gelir. Peroksit molekülüne 2 hidrojen bağlanması sonucunda da hidrojen peroksit oluşur. Yine farklı bir şekilde doğal olarak ya da süperoksit dismutaz enzimi katalizörlüğünde gerçekleşen dismutasyon tepkimesi sonucunda hidrojen peroksit meydana gelir. Tepkime Şekil 9’da verilmiştir (Cheesman and Slater 1993; Kayış 2010).



Şekil 1.9. Dismutasyon tepkimesi

Aslında H₂O₂ gerçek bir radikal olmamasına rağmen hidroksil radikalinin oluşumuna sebep olabildiğinden önemli bir oksidandır. Doğal olarak gerçekleşen dismutasyon tepkimesinde en uygun pH değeri 4,8’dir. Katalizör eşliğinde gerçekleşen tepkimede ise bu pH değeri geniş aralıkta esneklik gösterebilmektedir (Kelly *et al.* 1998).

Hidrojen peroksit ve su tüm yoğunluklarda karışarak çözelti oluşturabilmektedir. Çözeltideki H₂O₂ - H₂O konsantrasyonuna göre bu çözeltilerin; yoğunluğu, donma ve kaynama noktaları gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri değişmektedir (Easton *et al.* 1952). Çizelge 1.10’da Hidrojen peroksit kullanım alanları verilmiştir.

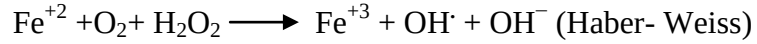
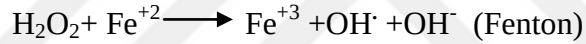
Çizelge 1.10. Hidrojen peroksit kullanım alanları (Othmers 1963).

Konsantrasyon (H ₂ O ₂)	Uygulama alanı
%3’den düşük	Lens çözeltilerinde temizleme amacıyla
%3’lük	Diş macunu, sağlık ve kozmetik sektörü, medikal aletlerin temizliğinde
%30’luk	laboratuvar uygulamalarında, elektronik sanayinde ve saç ağartıcılarda
%35-50’lik	Kimyasal sentezlerde endüstriyel uygulamalarda, kâğıt hamuru üretiminde, tekstil sektöründe ve deterjan sanayinde
%70’lik	Özel organik sentezlerde
%90 ve üzeri	Askeri uygulamalarda (jet yakıt üretiminde) kullanılır

1.7.4. Hidroksil radikali (OH[•])

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin serbest geçiş metalleri (Fe, Cu, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) ile tepkimesi sonucunda oluşan en reaktif oksijen radikalidir. Yarılanma mr 10⁻⁹ saniyede gerçekleşmektedir (Mc Cord 1993; Riley 1994, Gutteridge 1994). Biyomolekllerle olan güçlü aktivitesinden dolayı diğeri serbest radikal türlerine göre biyolojik sistemlere daha fazla zarar vermektedir. DNA ve protein yapılarında oluşturduğu hasar oldukça önemlidir (Deaton and Marlin 2003).

Hidroksil radikalinin oluştuğu tepkimeler Fenton ve Haber-weiss reaksiyonları olarak adlandırılır;



Hidrojen peroksit, demir ile tepkimeye girince ayrışmaya başlar. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşmaktadır (Cheeseman and Slater 1993; Akkuş 1995, Dikici 1999).

1.7.5. Singlet oksijen (O₂)

Singlet oksijenin molekül yapısındaki elektronlar eşleşmiş durumda olduğu için serbest radikal olarak kabul edilmez. Yörüngesinde yer alan elektronların dönme yönleri birbirine zıt olduğundan yüksek reaktif yapıdadır. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin bulunduğu yörüngeden başka bir yörüngeye ya da kendi spininin ters yönüne dönmesiyle oluşur. Delta (¹Δg O₂) ve sigma (¹Σg⁺ O₂) yapıda iki farklı forma sahiptir. Sigma formu daha aktif yapıda olup kolayca delta formuna dnrebilmektedir (Cross

and Halliwell 1987; Ames *et al.* 1993, Dikici 1999, Halliwell and Gutteridge 1999, Yanbeyi 1999).

1.7.6. Antioksidan savunma sistemi

Oksijen, metabolizma faaliyetleri esnasında reaktif oksijen türlerine dönüşebilmesinden dolayı toksik ve tehlikelidir. Reaktif oksijen türlerinin dengeleyecisi ve vücutta savunma mekanizması olarak antioksidanlar bulunmaktadır. Serbest radikalleri ve bunların oluşturduğu zararı engelleyen maddeler antioksidan olarak adlandırılmaktadır. Antioksidanlar protein yapısının bozulması, lipid peroksidasyonu ve DNA mutasyonu gibi hayati öneme sahip bozulmaları engellemektedirler. Metabolizma antioksidanlar sayesinde kendisini endojen ve eksojen zararlılara karşı korumaktadır. Hücre boyutunda koruyucu özellikte olan; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz antioksidan enzimler olup temel enzimatik antioksidanlar: CAT, SOD ve GPx'tir (Deaton and Marlin 2003; Urso and Clarkson 2003, Valavanidis *et al.* 2006)

Biyolojik sistemlerde antioksidanların etkileri genel olarak iki şekilde görülür (Murray *et al.* 1993; Hermes-Lima *et al.* 2001):

1- Serbest radikal oluşumunun engellenmesi

- a-** Serbest radikal oluşumda rol alan reaktif türevlerini uzaklaştırarak
- b-** Oksijen molekülünü uzaklaştırarak veya konsantrasyonunu azaltarak
- c-** Katalizör olarak tepkimeye giren geçiş metalleri uzaklaştırarak

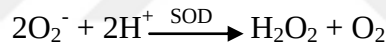
2- Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi

- a-** Enzimler aracılığıyla serbest radikalleri tutarak daha az reaktif başka moleküllere dönüştürmek
- b-** Serbest radikallere bir proton vererek onların aktivite kaybına sağlamak (flavonoidler, vitaminler).
- c-** Onarıcı etki göstermek

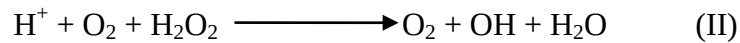
d- Hemoglobin, seroplazmin, mineraller ve vitaminlerin, serbest radikalleri ve zincirleme reaksiyon başlatacak olan diğer maddeleri kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirinin oluşmasını önlemek (Kayış 2010).

1.7.7. Süperoksid dismutaz (EC 1.15.1.1)

Antioksidan sistemlerinin ilk enzimi olan süperoksit dismutaz (SOD), süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene dismutasyonunu katalizleyen enzimdir (Fridovich 1986; Molassiotis *et al.* 2006). SOD enzimi tüm canlı metabolizmalarında ve en fazla hücre içi organellerde yer almaktadır (Pereira *et al.* 2003). Süperoksit anyonunun hidrojen peroksite dönüşmesi esnasında, glutatyon peroksidaz tepkimeye girerek hidrojen peroksiti, su ve moleküler oksijene dönüştürür. Hücreyi serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korumuş olur. SOD ve GPx aktivitelerindeki azalma süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit artışına yol açar (Delibaş ve Özçankaya 1995).



SOD enzimi ilk olarak, Mc Cord ve Fridovich (1969) tarafından inek kanındaki eritrositlerden saflaştırılmıştır. Bu enzimin ksantin-ksantin oksidaz deney sisteminde sitokrom C'nin indirgenmesini inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

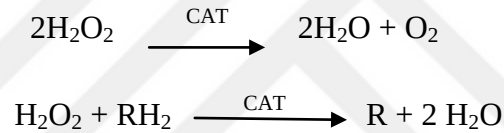


SOD süperoksit düzeylerini kontrol etmede önemli bir etkidir, SOD I. tepkimenin hızını arttırırken II. tepkimede ise oluşumu engellemektedir (Yanbeyi 1999). Doğal olarak gerçekleşen bir reaksiyon ile SOD katalizörlüğünde gerçekleşen reaksiyon hızı arasında 4000 kat civarında fark oluşabilmektedir. Bu enzimin öncelikli görevi süperoksit radikalinin zararlı etkilerini engelleyerek lipid peroksidasyonunu inhibe etmektir (Kılbaş 2006).

SOD enzimi yapısında kofaktör olarak bulunan metal iyonuna göre üç sınıfa ayrılır. Bu gruplar bakır ve çinko içerenler, mangan içerenler ve demir içerenlerdir (Fridovich 1975; Asada 1976; Asada *et al.* 1980; Allen *et al.* 1984; Rousseau 1990; Smirnov and Palanca 1995; Çakır 1997; Sheng *et al.* 2004).

1.7.8. Katalaz (EC 1.11.1.16)

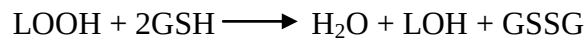
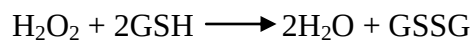
Katalaz çoğu organizmada bulunan ve 4 tane hem içeren hemoprotein yapıda bir enzimdir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek dokularında ve peroksizom organelinde yoğun bir şekilde bulunur. H_2O_2 'i moleküler oksijen ve suya ayrıştırır (Tudhope 1967; Dikici 1999).



Ayrıca katalazın indirgeyici etkisi hidrojen peroksidin çift redüksiyonu ile fenol, alkol gibi farklı substratların detoksifikasyonunu sağlar (Mc Cord 2000; Orbea *et al.* 2000). Bu sayede oksidatif stresin engellenmesinde görev almaktadır.

1.7.9. Glutatyon peroksidaz (GPx) (EC 1.6.4.2)

Hidrojen peroksidin zararlı etkilerini inhibe etmekle sorumlu olan enzimdir. Hidrojen peroksiti ve membran peroksitlerini (ROOH/LOOH) su molekülüne ve etkisiz durumda olan alkole (LOH/ROH) indirger. Hücre içerisinde, lipid peroksidasyonunu engelleyen en önemli enzimdir.



Hidrojen peroksit, etil hidroperoksit, tertbutilhidroperoksit, sümen hidroperoksit ve linoleik asit hidroperoksit gibi serbest radikaller GPx enzimi sayesinde inhibe edilebilmektedir. Enzim aktivitesi böbrek ve karaciğer dokusunda çok daha fazladır (Dikici 1999; Knapen *et al.* 1999).

GPx enzim aktivitesinin ilk basamağında H_2O_2 indirgenir ve enzim yükseltgenir, kümen hidroperoksit veya tersiyer butil hidroperoksit ve NADPH'nin varlığında, elektron akseptörü olarak kullanılan redükte glutatyon (GSH)'un oksidasyonu sonucu okside glutatyon (GSSG) açığa çıkmaktadır. Bu olay spektrofotometrik ve flourometrik ölçüm ile belirlenmektedir. NADPH dakikada okside olan miktarı ile enzim aktitesi hesaplanır. Ayrıca reaksiyon esnasında tüketilen hidroperoksitlerin ve GSH'nin miktarı esas alınarak yapılan farklı ölçümlerde mevcuttur (Lawrence and Burk 1976; Flohe and Otting 1984; Huysal 1999).

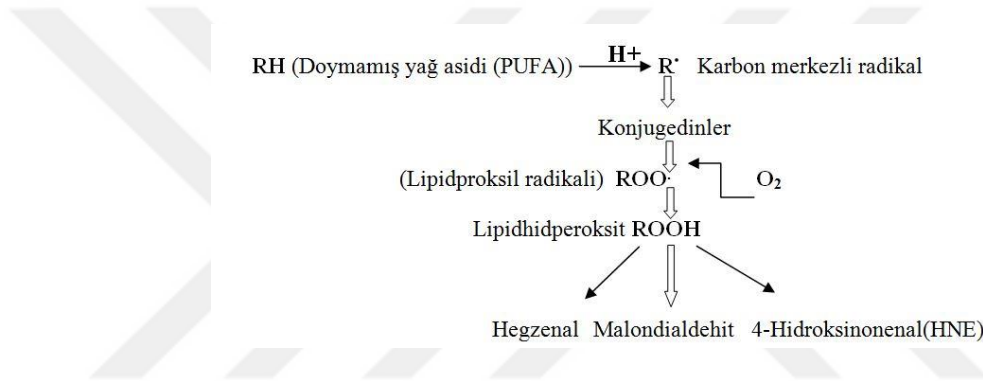
1.7.10. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Biyolojik sistemlerde enzim özelliğinde olmayan GSH, albümin, β -karoten (Vitamin A), tokoferol (Vitamin E), askorbik asit (Vitamin C), melatonin, bilirubin, ürik asit ve seruloplazmin gibi bazı antioksidanlar mevcuttur (Frank and Massaro 1980; Halliwell 1994).

Vitamin A, Vitamin E ve aksorbik asit, lipid peroksidasyonuna karşı ilk savunma basamağıdır. Serbest radikal olan lipid peroksitlerini, süperoksit ve hidroksil radikalini inhibe etmektedirler. Vitamin A ve E yağda çözünürken vitamin A geçiş metallerinide bağlamaktadır. Aksorbik asit nötrofiller tarafından uyarılan antioksidanları nötralize eder. Hücre içerisinde glutatyon (GSH)'un önemli bir bölümü tiyol (indirgenmiş) ve diğer bölümüde GSSG (okside glutatyon) halinde bulunur. Tiyol grubu hidroksil ve singlet oksijeni inhibe ederken diğer peroksitlerle tepkimeye girerek serbest radikallerin hasarlarını engeller. Ayrıca GSH, mebran geçirgenliğinin sağlanması, protein konformasyonu ve enzim aktivitesinin ayarlanması gibi görevlerde de rol almaktadır (Murray *et al.* 1993; Burton 1994; Akkuş 1995; Klaassen and Watkins 2003).

1.7.11. Oksidatif stresin lipid, protein ve DNA üzerine etkisi

Serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki denge bozulduğu zaman oksidatif stres diye adlandırılan durumla dokularda hasarlar oluşmaya başlar. Reaktif oksijen türleri en fazla hücre membranlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinde (PUFA) olumsuz etki oluşturmaktadır. Bu yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda lipid peroksidasyonu başlamaktadır. Şekil 1.10'da serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu gösterilmiştir (Gupta *et al.* 2014).



Şekil 1.10. Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu sonucunda, lipid peroksitleri (lipid peroksit, siklik peroksit ve siklik endoperoksit) oluşmakta ve bu reaksiyon zincirleme olarak devam edip malondialdehit (MDA), hidroksinonenal (HNE) ve hegzenal olarak adlandırılan aldehitler meydana getirmektedir (Kanner *et al.* 1987; Esterbauer *et al.* 1991).

1.7.12. Lipit peroksidasyonu

Serbest radikallerin olumsuz etkilerinden en fazla membran lipidleri etkilenmekte ve lipid peroksidasyonun hücre çeperinde meydana getirdiği hasarların dönüşü olmamaktadır. Lipid peroksidasyonu serbest radikallerin etkisi ile hücre zarının yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu olarak tanımlanan kimyasal bir olaydır (Cheesman and Slater 1993; Çakır 1997). Hidroksil (OH) radikalının membran yapısında bulunan fosfolipitlere zarar vermesiyle başlayan tepkimede OH

radikali ortadan kalkar ve bir lipid radikali oluşur. Oluşan radikal bir metilen grubundan bir hidrojen atomu kopararak oluşumu uzatır (Akkuş 1995; Yanbeyi 1999).

Lipid peroksil radikallerinin yapıdaki diğer polianstüre yağ asitleri ile tepkimeye girmesi sonucu, C (karbon) merkezli yeni radikaller oluşur. Lipid peroksil radikalleride H[•] iyonu ile birleşerek lipid hidroperoksitlerine dönüşürler. Bu serbest radikallerin hücrede birikmesi sonucunda, membran yapısı ve işleyişi bozulur. Ayrıca bu radikaller geçiş metalleri ile reaksiyona girerek zararlı bir yapı olan aldehitlerin meydana gelmesine sebep olurlar. Bilinen en iyi aldehit MDA'dır. MDA miktarının ölçümü ile lipid peroksidasyonu değerlendirilebilmektedir Lipid peroksidasyonunda açığa çıkan zararlı ürünler sonraki basamakta membran proteinlerinin yapısını da bozarak hücrede kalıcı hasarlara sebep olmaktadır (Gutteridge 1995; Dikici 1999).

1.7.13. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkisi

Öncelikle hidroksil radikali olmak üzere serbest radikaller protein yapısında oksidatif hasarlara sebep olmaktadır. Bu hasarlar aminoasitlerin modifikasyonu, proteinlerin parçalanması, proteinlerin kümeleşmesi ve çapraz bağ oluşturmaları şeklinde meydana gelmektedir (Erenel vd 1992). Doymamış bağ içeren moleküllerden elektron almak daha kolay olduğu için serbest radikaller daha rahat hareket ederek fenil, triptofan, alanin, metionin, tirozin, sistein ve histidin gibi aminoasit yapısı bulunduran proteinleri kolaylıkla hasara uğratmaktadır. Hasara uğrayan proteinlerin arginin, lizin, prolin ve treonin gibi yan zincirlerinde karbonil grupları oluşur (Prokai *et al.* 2007; Rao and Moller 2011). Protein yapısında meydana gelen oksidatif hasarlar, hücre iskeletini oluşturan protein ve enzimlerde yapısal hasarlara neden olarak birçok hastalığın kaynağı ya da gelişmesi üzerine etkili olabilmektedir (Shacter 2000).

1.7.14. Serbest radikallerin DNA üzerindeki etkisi

Mutajenik etkiye sahip olan serbest radikallerin DNA üzerinde zararlı etkiler oluşturduğu bilinmektedir (Song 2004). Singlet oksijene göre tepkimeye girme yeteneği daha fazla olan hidroksil radikali DNA yapısındaki pürin ve pürimidin bazlarının yapısından H atomu kopararak mutasyona sebep olmaktadır (Halliwell and Gutteridge 2000). Aynı zamanda serbest radikallerin etkisi sonucu açığa çıkan baz radikalleri, proteinlerin aromatik aminoasitleri ile birleşerek DNA-protein çapraz bağlarını oluşturur (Cooke *et al.* 2003). Genel olarak serbest radikaller DNA yapısında meydana gelen replikasyon ve transkripsiyon olaylarını olumsuz etkileyip DNA hasarını arttırmaktadır (Hu *et al.* 1995).

1.8. Metabolik Profil

1.8.1. Lipitler

Canlı yapısında yer alan organik bileşilerden biri sayılan lipidler, yüksek yağ asitleri ve bunların oluşturduğu doğal bileşiklerleri kapsayan heterojen yapıda olan bir grup bileşiktir. Yağlar hidrofobik özelliğinden dolayı suda çözünmeyip, eter, kloroform, benzen ve aseton benzeri organik çözücüler ile kolayca çözünmektedir.

Genel olarak yapılarında C, H ve O bulunurken N, P ve S gibi elementlerde lipidlerin yapısına katılabilmektedir. Yapılarında bulunan karbon (C) yapılarına göre doymuş ve doymamış yağ asitleri olarak ayrılmaktadır. Lipidler hücre duvarında yapı taşı olarak bulunup, metabolizma için gerekli enerji maddesi olarak depo edilir. Yağların hayvansal dokularda yayılım miktarı büyük farklılıklar göstermektedir. Sperma, yumurta ve beyin dokusunda %7,5-30, embriyonal dokuda %1-2 ve deri altı dokusu, kemik iliği ve böbrek gibi organların etrafını saran dokularda yağ miktarı %90 lara ulaşabilmektedir. Depo dokularındaki lipidlerin çoğunluğunu trigliseritler oluştururken diğer dokulardaki lipidler, fosfolipit ve sterol glikolipit yapısındadır. Çizelge 1.11’de lipidler içerdikleri kimyasal gruplara göre sınıflandırılmıştır (Keskin 1987).

Çizelge 1.11. Lipitlerin kimyasal gruplara göre sınıflandırılması.

1- Yağ asitleri: kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitleri ve eikozanoidler (siklik doymamış yağ asitleri)
2- Gliserol türevleri: Trigliseritler (trیاçilgliseroller), mumlar ve gliserofosfolipidler
3- Sfingozin türevleri: Sfingofosfolipidler, glikolipidler
4- Lipoproteinler
5- İzopren türevleri lipidler: Terpenler ve steroller

Ayrıca Bloor, 1942'e göre lipidlerin sınıflandırılmasında

1. Basit Lipitler: Yağ asitlerinin çeşitli alkollerle esterleridir.

a- Yağlar: Yağ asitlerinin gliserol ile esterleridir. (yağ asiti + gliserol)

b- Mumlar: Yüksek molekül ağırlıklı monohibrid alkol + yağ asiti

2. Kompleks lipitler: Yağ asiti + alkol + ilave grup

Fosfolipitler (FL)

FL: Yağ asiti + alkol'e ilaveten fosforik asit rezidüsü içeren lipidlerdir.

Glisero fosfolipitler: Alkol gliserol'dür.

Sfingo (Sfingomyelinler) fosfolipitler: Alkol sfingozin'dir

Glikolipitler: Yağ asiti + sfingozin + karbohidrat (Glikosfingolipitler)

a) Serebrozitler

b) Gangliozitler

Diğer kompleks lipidler

Aminolipidler

Sülfolipidler

Lipoproteinler gibi.

3. Öncül ve türev lipidler: Yukarıda söz konusu olan lipidlerin hidrolizi sonucu oluşurlar. Yağ asiti, gliserol, steroid, yağ aldehytleri, keton cisimleri, hidrokarbonlar, yağda çözünen vitaminler, hormonlar.
4. Nötral lipidler: Yüksüz olduklarından açilgliseroller (gliseridler), kolesterol ve kolesterol esterleri olarak isimlendirilirler.

1.8.2. Proteinler

Proteinler karbon, oksijen, hidrojen, azot ve kükürt elementlerini içeren makroelementlerdir. Bir veya birden çok polipeptit zincirinden oluşurlar. Yapılarında bulunan %16'lık azot miktarından dolayı karbonhidrat ve lipidlerden ayrıcalık ifade ederler. Yapılarında C: %50, O: %23, N: 16, H: %7, S: %0-3, P: %0-3 ve iz miktarda Fe, Zn ve Cu içerirler. Proteinlerin yapısında yer alan 20 aminoasit zincirinin kendi aralarında yapacağı değişikliklerle birbirinden farklı sonsuz sayıda protein molekülü oluşabilir.

Proteinler farklı sayıda ve çeşitte aminoasit içerirler. Bu aminoasitler arasındaki bağa peptid bağı denilmekte ve polipeptit yapılar meydana gelerek proteinler oluşmaktadır. Karmaşık yapısına rağmen proteinler canlının kendisine özgü olmaktadır.

Proteinlerde, karbonhidrat ve lipidler gibi canlı organizmaların temel bileşenleridir. Hücre yapısında meydana gelen tüm süreçlerde görev almaktadır. Biyokimyasal tepkimelerde katalizör işlevi olan enzimler protein yapısında olup metabolizma için hayati bir önem teşkil etmektedir. Farklı yapıdaki proteinlerin ise yapısal veya mekanik görevleri vardır. Proteinler birçok işlevinin yanı sıra besinlerin önemli bileşenleridir. Farklı yapılarda olan aminoasitlerden lizin, alanin, threonin, triptofan, fenilalanin, metiyonin, lösin, izölösün ve valin gibi aminoasitler vücut tarafından sentezlenemeyen ve dışarıdan alınması gerekli olan esansiyel aminoasitlerdir. Bunun dışındaki aminoasitler vücut tarafından sentezlenebilmektedirler (Dobson 2000).

1.9. Kromatografi

Bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere, sabit fazın yüzeyine veya içine uygulanarak, sıvı veya gaz halindeki hareketli faz aracılığıyla maddelerin hareket etmesi sonucunda birbirlerinden ayrılması veya saflaştırılması yöntemine kromatografi denilmektedir. Moleküllerin tutunma (adsorpsiyon), dağılma, iyon değişimi, ilgi (afinite) özellikleri ya da molekül ağırlıklarındaki farklılıklarından yararlanılarak geliştirilmiş bir yöntemdir (Arabacı 2011).

Maddelerin farklı özellikleri sayesinde karışımdaki bileşenlerden bazıları sabit fazda daha yavaş hareket eder diğerleri ise daha hızlı hareket ederek birbirinden ayrılır. Kromatografik yöntemler ayrılma mekanizması, uygulama biçimi ve faz tiplerine göre gruplandırılmaktadır (Temizkan ve Arda 2008).

1.9.1. İnce tabaka kromatografisi (TLC)

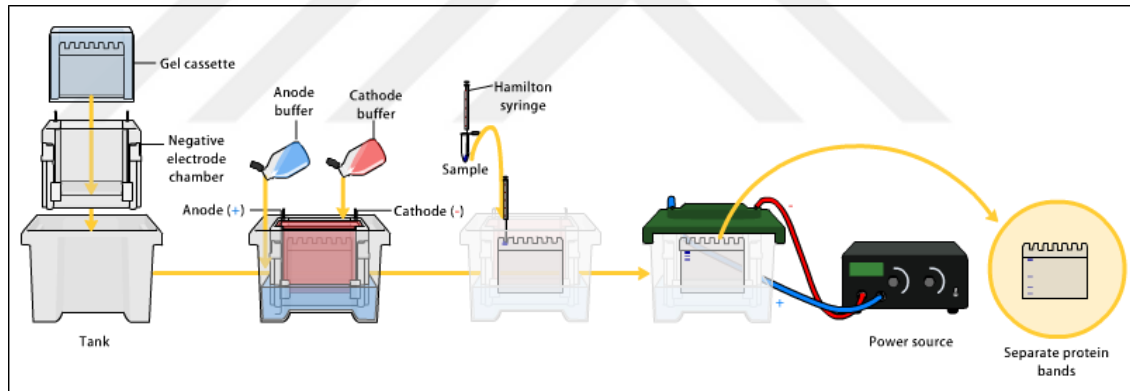
İnce tabaka kromatografisi basit, ucuz, hassas, hızlı ve miligram düzeyinde numune ile sonuç alınması açısından çok kullanılan pratik bir yöntemdir. İnce tabaka kromatografisi; karışımdaki bileşenleri birbirinden ayırarak kaç madde olduğunu, hedef maddenin karışımda olup olmadığını ve ürün saflığının kontrol edilmesi gibi amaçlarla çözücü gücü yüksek ve hızlı sonuç alınabilmesinden dolayı sıklıkla kullanılan bir yöntemdir.

1.10. Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Elektroforetik metotlar genellikle büyüklük, yük ve 3 boyutlu yapı (konformasyon) bakımından yüklü durumda olan makromoleküllerin yüksüz bir ortamda birbirinden ayrılması için kullanılmaktadır. Moleküller sahip oldukları elektron yüküne göre zıt kutuba doğru hareket ederler. Örneğin nükleik asitler yapılarındaki fosfat grubundan dolayı sabit negatif yüke sahip olup elektroforez esnasında jel üzerinde pozitif elektrota doğru hareket ederler. Sonuç olarak protein ya da DNA/RNA elektriksel bir ortamda

yükü ile doğru orantılı ancak şekli ve büyüklüğü ile ters orantılı bir hızda hareket ederler. Bir elektroforez uygulamasında hareket oranını elektriksel alan gücü, molekülün net yükü ve elektroforez ortamının yoğunluğu etkilemektedir (Kim and Shelef LA 1986).

SDS-PAGE metodu yüksek oranda çözülme sağlaması, kolay tekrarlanabilirliği ve proteinlerin molekül ağırlıklarına göre hareket etmesinden dolayı tercih edilmektedir (Parisi and Agulari 1985). Elektroforez işleminde ayrılan maddelerin belirlenmesi için özel boyama yöntemleri kullanılmaktadır. Bu amaçla tüm proteinlerin boyanması için kenacid blue, amidoblack ve commasie brilliant blue gibi boya maddeleri kullanılmaktadır (Hofmann 1978; Hofmann and Bluchel 1991). Proteinlerin molekül ağırlıklarını belirlemede en yaygın kullanılan yöntem poliakrilamid jel elektroforezidir.



Şekil 1.12. Sds-page işleyiş şeması (Anonymous 2016a)

1.11. Histopatoloji

Patoloji hücre, organ ve dokularda meydana gelen mikroskopik değişiklikleri inceleyen bilim dalıdır. Histopatolojik çalışmalar sonucunda dokuların mikroskopik yapısı gözlenerek çevresel kirleticilerin dokularda oluşturduğu farklı patolojik özelliklerle hastalık tanılarının konulması kolaylaşmaktadır.

Kirleticilerin oluşturduğu ilk etki, canlıların davranış ya da dış görünümde ortaya çıkmadan önce doku ve hücre seviyesinde görülür. Histolojik analizler ile hedef organlarda ki hücresel değişimler belirlenmektedir. Patolojik çalışmalarda organlar ayrı ayrı incelenerek doku hasarları tespit edilmektedir (Uçar ve Atamanalp 2009).

Kirleticilerin etkisine bağlı olarak organ, doku ve hücre tiplerinde ortaya çıkan hücresel değişiklikler benzer olabileceği gibi farklılıklarda gösterebilir. Bu farklılıkların meydana gelişinde toksik maddeye maruz kalma seviyesi etkilidir (Lawrence and Hemingway 2003; Uçar ve Atamanalp 2008).

Ksenobiyotikler tarafından meydana gelen, subletal stres seviyesinin belirlenmesinde ve balık sağlığının değerlendirilmesinde, dokuda meydana gelen histolojik değişiklikler yaygın olarak kullanılmaktadır (Thophon *et al.* 2003).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ceylan ve Altun (2010) vibriosis infeksiyonuna maruz kalmış gökkuşaağı alabalıkları (*O.mykiss*) ile yaptıkları çalışmada hematolojik değışiklikleri incelemiştirler. Hastalık infekte edilen balıklarda eritrosit, hemogloblin, hematokrit ve albümin değerlerinde (11.günden sonra) azalma, trombosit sayısında ise artış tespit etmişlerdir. Toplam lökosit sayıları ise 10. güne kadar artarken 11.günden sonra azalmış ve lökosit yüzde değerlerinde farklılıklar (nötrofil ve monosit hücrelerinde artış lenfosit hücrelerinde ise azalma) olduğunu bildirmişlerdir.

Bakırın subletal konsantrasyonuna 35 gün boyunca maruz kalan sazan balığında (*Cyprinus carpio*) hematolojik parametreler incelenmiş deneme süresince eritrosit (RBC) miktarında azalma (% olarak -2,2, -6,52, -10,63, -14,58, -18,36) olurken lökosit (WBC) miktarında ise daha ciddi azalma (%-48,51, -74,85) olduğu bildirilmiştir. Hemogloblin içeriğininde kontrol grubuna ile kıyasla azaldığı (%-15,64, -23,36,-25,59, -26,60,) belirtilmiştir (Thangam *et al.* 2014).

Shahi *et al.* (2013) yeşil yılanbaş balıklarını (*Channa punctatus*) bir hafta süreyle pestisitlerin (furadan, rutin, taraxerol ve apigenin) farklı konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar ve uygulama sonunda kandaki hemogloblin, hematokrit ve eritrositlerin sayılarında azalma olduğunu rapor etmişlerdir.

Lineer alkin benzen sülfonatin 0,2 ve 0,4 mg/L konsantrasyonuna maruz kalan gökkuşaağı alabalıklarında (*O. mykiss*) hematolojik ve histolojik parametreler değeriendirilmiştir. 54 günlük uygulama sonrasında kimyasala maruz kalan balıklarda eritrosit sayısının arttığı belirlenmiştir. Histopatolojik olarak incelen dokularda önemli bir değışiklik belirlenmemiştir (Türkmen vd 2004) .

Organik fosforlu pestisitlerden, fenitrothion farklı konsantrasyonlarına (5, 50 ve 100 µg/L) akut uygulama ile maruz bırakılan Tilapia (*Oreochromis niloticus*) balığında

hematokrit ölçümler değerlendirilmiş ve fenitrothionun etkisinde kalan balıkların hematokrit değerlerinde azalma olduğu rapor edilmiştir (Karasu vd 2009).

Musa *et al.* (2013) Afrika kedi balığını (*Clarias gariepinus*) tütün yaprağı tozunun farklı konsantrasyonlarına (1,25-1,50-1,75 ve 2,00 g L⁻¹) maruz bırakarak hematatolojik parametrelerde meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. 120 saatlik uygulama sonrasında lökosit miktarında artış, eritrosit miktarında ve hemoglobin seviyesinde azalma olduğunu belirtmişlerdir.

Glifosat herbisitinin balıklar üzerindeki hematolojik etkisini belirlemek için güney Amerika kökenli sábalo (*Prochilodus lineatus*) balığının juvenilleri 96 saat süresince kimyasalın farklı konsantrasyonlarına (1 mg/L ve 5 mg/L) maruz bırakılmıştır. Uygulama sonunda herbisit balıkların hematokrit değerleri ile eritrosit ve lökosit sayısında artışa sebep olduğu bildirilmiştir (Modesto and Martinez 2010).

Pereira *et al.* (2013) yaptıkları akut toksisite çalışmasında klamazonun üç farklı konsantrasyonuna (1, 5 ve 10 mg/L) maruz bırakılan *P. lineatus* balığında, hemataloji parametrelerinden hemoglobin, hematokrit, MCH ve MCHC değerlerin azaldığını, eritrosit sayısının ise düşük konsantrasyonda arttığını bildirmişlerdir.

Glifosatın farklı konsantrasyonlarına (3,5, 7 ve 14 ppm) 16 gün süresince maruz bırakılan sazan (*C. carpio*) balıklarında biyokimyasal ve hematolojik parametreler incelenmiş, MCH ve MCV oranlarında artış belirlenirken hemoglobin, hematokrit miktarı ile eritrosit ve lökosit sayısında azalma olduğunu bildirmişlerdir (Gholami-Seyedkolaei *et al.* 2013).

Nwani *et al.* (2013) klorprifosun iki farklı konsantrasyonuna (0,861 mg/L ve 172 mg/L) 15 gün süresince maruz bırakılan Afrika kedi balığında (*C. gariepinus*) hematolojik parametreleri incelemişlerdir. Eritrosit ve lökosit sayılarında, hematokrit seviyelerinde azalma olurken hemoglobin seviyelerinde değişim meydana gelmediğini bildirmişlerdir.

Güney Brezilya'daki Madre nehrinin iki farklı bölgesinden yakalanan gümüş kedi balıklarında (*Rhamdia quelen*) hematolojik parametreler incelenmiş, avlanan balıkların lökositlerinde artış belirlenirken hematokrit yüzdeleri, eritrosit sayıları, toplam trombosit sayıları ve lökosit sayılarında herhangi bir fark olmadığı kaydedilmiştir (Brum *et al.* 2014).

Velisek *et al.* (2011) terbütrinin farklı konsantrasyonlarına (0,02, 0,2 ve 2 µg/L) maruz bıraktıkları sazan balıklarında (*C. carpio*) hematolojik parametreleri incelemiş ve iki yüksek konsantrasyonda, eritrosit sayısı, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonunun arttığı, ortalama eritrosit hacmi ve lökosit sayısının ise azaldığını bildirmişlerdir.

Organoklorlu pestisitler içerisinde yer alan endosulfanın 3 farklı dozuna (5, 50 ve 500 µg/kg) 49 gün süresince maruz kalan Atlantik salmonlarında (*Salmo salar*) hematolojik ve biyokimyasal değişiklikler incelenmiştir. 500 µg/kg doza maruz kalan balıklardan 35. günde alınan kan örneklerinin hematolojik değerlerinde (hemoglobin, hematokrit ve eritrosit başına düşen hemoglobin miktarı) artış olduğu, 49. gün sonunda alınan örneklerin hematolojik değerlerinde düşüş meydana geldiğini rapor etmişlerdir (Petri *et al.* 2006).

Kobalt kloritin 180 µg/l'lik dozuna 8 saat aralıklı uygulamalarla 28 gün süresince maruz bırakılan gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) hematolojik parametrelerde meydana gelen değişikliklerin incelendiği çalışmada, eritrosit sayısı, lökosit sayısı, trombosit sayısı, hemoglobin düzeyi, ESR, MCV ve MCHC seviyelerinde azalma olduğu belirlenmiştir (Atamanalp vd 2011).

Akvaryum vatoz balıkları (*Ancistrus multispinis*) 96 saat süresince deltametrinin farklı iki (0,1 ve 0,3 mg/kg⁻¹) dozuna maruz bırakılmış, yüksek doz uygulanan balıkların eritrosit sayılarında ve hemoglobın değerinde artış, düşük dozda ise değişiklik olmadığı belirlenmiştir (Pimpão *et al.* 2007).

Mekkawy *et al.* (2011) yaptıkları çalışmada nonilfenolun farklı konsantrasyonlarına (0, 0,005, 0,08 ve 0,1mg/L) maruz kalan Afrika kedibalığında (*C. gariepinus*) hematolojik parametrelerde meydana gelen değişiklikleri incelemiş, eritrosit sayısı, hemoglobın seviyesi, paket hücre hacmi, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın konsantrasyonu, trombosit sayısı, lökosit sayısı, bazofil, lenfosit ve monosit sayılarında azalma belirlenirken, ortalama eritrosit hacmi, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın miktarı, nötrofil ve eosinofil sayılarında artış meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Sülfamerazinin farklı dozlarına (100, 200 ve 400 mg/kg) maruz kalan gökkuşaağı alabalığında (*O. mykiss*) 21 günlük uygulama sonucunda yapılan kan analizlerinde; ortalama eritrosit hacminde artış, hematokrit değerlerinde, eritrosit ve lökosit sayılarında, hemoglobın, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın ile eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın konsantrasyonu miktarlarında ise azalma kaydedilmiştir (Sağlam ve Yonar 2009).

Organofosfor yapısında bulunan diazinonun farklı konsantrasyonlarına (LC₅₀=1,65 mg/L'nin %25, %50 ve %75) maruz kalan gökkuşaağı alabalığı (*O. mykiss*) yavrularında hematolojik parametreler incelemiştir. Lökosit ve eritrosit sayıları, hematokrit ve hemoglobın seviyelerinde düşüş belirlenirken, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın miktarı ile eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın konsantrasyonunun, %50'lik olan dozda artıp daha sonra azaldığı belirlenmiştir. %50'lik doza maruz kalan grupta lenfosit sayısı azalış gösterirken, %75'lik doza maruz kalan grupta artış meydana geldiği rapor edilmiştir (Far *et al.* 2012).

Metil parathionun (MP) 0.009 ppm konsantrasyonuna 35 gün süresince maruz bırakılan Hindistan sazanlarında (*Catla catla*) hematolojik ve biyokimyasal parametreler araştırılmıştır. Balıklardan 7-14-21 ve 35. günlerde kan örnekleme yapılmış Hb, Hct, RBC ve plazma protein değerlerinde önemli derecede azalma kaydedilmiştir. Lökosit sayısının 21. güne kadar kademeli olarak artış gösterdiği 21-35. günler arasında ise aniden azalmaya başladığı, MCV ve MCH oranlarının ise uygulama süresince artış gösterdiği, MCHC değerinin ise azaldığı bildirilmiştir (Abhijith *et al.* 2012).

Organik klorlu insektisitler grubunda yer alan lindan kimyasalı kullanılarak yapılan çalışmada; sazan balıkları (*C. carpio*) 24 saat süresince kimyasalın 0,38 ppm'lik dozuna maruz bırakılmıştır. Uygulama sonrasında MCV, MCH, MCHC, hemoglobin, hematokrit ve eritrosit değerlerinde azalma meydana gelirken lökosit sayılarında ise artış meydana geldiğini bildirilmiştir (Saravanan *et al.* 2011).

Atamanalp vd (2008) yaptıkları çalışmada DDVP (dichlorvos)'nin 1,6 mg/Lt konsantrasyonuna maruz kalan gökkuşağı alabalığında (*O. mykiss*) hemoglobin, eritrosit-lökosit sayılarında, eritrosit sedimentasyon oranında, ortalama eritrosit hacminde, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonunda artış, trombosit sayısı, hematokrit ve ortalama eritrosit hacmi değerlerinde ise azalış meydana geldiği belirtilmiştir.

Venkataraman and Sandhya-Rani (2013) yaptıkları çalışmada, malathionun farklı konsantrasyonlarına (0,05, 0,25, 0,5 ppm) maruz kalan kedi balıklarında (*C. batrachus*) hematolojik etkileri değerlendirmiştir. 96 saatlik akut uygulama sonrasında artan doz miktarına bağlı olarak eritrosit, hemoglobin, hematokrit ve ortalama eritrosit hacmi değerlerinde azalma belirlenirken lökosit, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin değerlerinde artış kaydetmişlerdir.

Dünder (2010) yaptığı çalışmada arsenik toksisitesine maruz kalan sazan (*C. carpio*) balıklarında CAT aktivitesinde azalma, MDA seviyesinde artış, WBC, RBC, HB ve HCT değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı değişiklikler olduğunu belirlemiştir.

Sentetik piretroitlerden sipermetrinin subletal dozlarına (0,004-0,002-0,001 mg/L) maruz kalan gökkuşaklı alabalıklarında (*O. mykiss*) eritrosit sayısı, trombosit sayısı, hemogloblin değeri ve eritrosit-sedimentasyon oranında artış, hematokrit yüzdesinde ise azalış olduğu bildirmiştir. Ayrıca histopatolojik incelemeler sonucunda ise karaciğer dokusunda, hepatositlerde ve vakoullerde dejenerasyon, yağlanma ve hücresel nekroz, böbreklerde ise vasküller dilatasyon ve nekroz olduğu tespit edilmiştir (Atamanalp vd 2000).

Sazan balıklarında (*C. carpio*) subletal (10 µg/l) cyfluthrinin meydana getirdiği biyokimyasal, hematolojik ve histopatolojik değişiklikleri incelenerek yapılan örneklemelerde eritrosit ve lökosit miktarlarında önemli bir fark olmadığı, toplam trombosit miktarında ise önemli derecede azalma olduğu belirlenmiştir. Histolojik olarak beyin dokusunda hiperemi, karaciğerde hidrofik dejenerasyon ve solungaçlarda telenjiyektazi olduğu rapor edilmiştir (Sepici-Dinçel vd 2008).

Üç Noktalı Gurami (*Trichogaster trichopterus*) üzerinde parakuat (herbisit) kimyasalının meydana getirdiği histopatolojik değişikliklerin belirlenmesi için yapılan çalışmada, karaciğer ve solungaç dokusundaki değişimler belirlenmiştir. Solungaç dokusunda hipertrofi, solungaç yapraklarında dejenerasyon ve solungaç lamellerinde ödem, karaciğer hücrelerinde ise hipertrofi, doku yüzeyinde şişme ve sitoplazmik vakuollerin olduğu kaydedilmiştir (Banaee 2013).

Ağır metalin olumsuz etkilerinin tespit edildiği çalışmada, Marchand *et al.* (2009) iki farklı baraj gölünden yakalanan Afrika kedi balıklarının (*C. gariepinus*) karaciğerlerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin nekroz artışından kaynaklandığı bildirilmiştir.

Boran vd (2010) juvenil gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) pestisit (maneb: 10mg/L–2,00mg/L ve karbarilin; 0,20mg/L–3,90mg/L) toksitesinin epitelyum hücrelerinde nekroz, ödem ve şişlik oluşturduğunu, solungaçlarda hiperplazi, karaciğer ve böbrek dokusunda ise nekroz ve iltahaplanmaya sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Captan fungisitinin juvenil gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*) üzerinde meydana getirdiği histopatolojik değişikliklerde dokularda hipertrofi, lamel epitellerinde ayrışma-kaynaşma ve epitelyum hücre nekrozu kaydedilerek en fazla solungaç dokusunun etkilendiği, solungaç lamellerinde hiperplazi gözlemlendiği rapor edilmiştir (Boran vd 2012).

Ticari olarak satılan ve sucul ortamdaki canlılara kolayca ulaşabilen 3 farklı gübrenin (Amonyum sülfat, fosfor ve potasyum oksit içerikli) juvenil gökkuşığı alabalıklarının (*O. mykiss*) karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında histolojik lezyonlar, epidermis hücrelerinde dejenerasyon ve mukus hücrelerinde ödemler oluşturduğu bildirilmiştir (Çapkın vd 2009).

Bakır sülfatın farklı konsantrasyonlarına ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0,5 mg/l (24 saat), 3,0 mg/l (18 saat) ve 500 mg/l (1-2 dk) maruz bırakılan gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) solungaç lamellerinde dejenerasyon ve nekroz, kas dokusunda dejenerasyon, karaciğerde ise sinuzoidal boşluklar ve venalarda konjesyon olduğu belirlenmiştir. Hematolojik analizlerde ise hematokrit, hemogloblin, trombosit değerlerinde artış, lökosit değerlerinde ise düşüş tespit edilmiştir (Bulut 2010).

Tarım alanlarında yoğun bir şekilde kullanılan sipermetrinin sub-letal dozlarına (10,05, 20,10 ve 30,15 μL) 10 gün süresince maruz bırakılan karabalıkların (*C. gariepinus*) solungaç dokusunda sekonder lamellerde erime, ödem, epitel hipertrofisi ve hiperplazisi, nekroz oluşumu ve deskuamasyon, karaciğer dokusunda hepatik lezyonlar, hepatositlerde şişlik ve fokal nekrozlar, böbrek dokusunda ise epitel hipertrofisi, lümenlerde daralma, bowman kapsülünde genişleme ve glomerül atrofisi olduğu bildirilmiştir (Velmurugan et al. 2009).

Çapkın vd (2010) karbosulfanın sub-letal dozlarına (25, 50 ve 200 µg/L) 14 gün süresince maruz bıraktıkları juvenil gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss*)’nda solungaç lamellerinde erime, hiperplazi, epitel dokusunda vokualizasyon ve dökülme, karaciğer ve böbrek dokularında ise hücre nekrozu, dejenarasyon ve ödemler tespit etmişlerdir.

Deltametrin 0,75 µg/l konsantrasyonunda maruz kalan kedi balığı (*Clarias gariepinus*)’nın karaciğer, böbrek, solungaç ve kan dokularında oksidatif seviyesi belirlenmiştir. 48. saatte yapılan örnekleme sonuçlarında karaciğer, böbrek ve solungaçlarda lipid peroksidasyonunda (MDA) artış, katalaz aktivitesi, total protein ve albumin seviyesinde ise azalma olduğu bildirilmiştir (Amin and Hashem 2012).

Diazinon toksisitesine farklı konsantrasyonlarda (20, 40 ve 60 µg/l’lik konsantrasyonlarında 96 saat) maruz bırakılan kıızılgöz (*Rutilus rutilus*) balıklarının karaciğer dokusunda katalaz aktivitesinde 24. saatte artış meydana gelirken, 48 ve 96. saatlerde azalma olduğu belirlenmiştir (Keramati *et al.* 2010).

Etoxazole maruz bırakılan nil tilapiyasında (*O. niloticus*) karaciğerde katalaz, SOD ve GPx düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmadığı MDA seviyesinde ise artış belirlendiği bildirilmiştir (Sevgiler vd 2004).

Propiconazole 30 gün süresince farklı konsantrasyonlarına (0,2-50 ve 500 µg/l) maruz kalan gökkuşığı alabalıklarında 7, 20 ve 30. günlerde enzim aktivite ölçümleri yapılmıştır. 7.gün yapılan ölçümlerde enzim aktivitelerinde herhangi bir değişiklik belirlenmemiş, 20 ve 30 gün örneklemealarında ise SOD, katalaz ve GPx enzim aktivitelerinde önemli derecede azalmalar tespit edilmiştir. Sonuç olarak uzun süreli müdahalelerin önemli dercede oksidatif hasara sebep olduğu ortaya konulmuştur (Li *et al.* 2010).

Uçar vd (2012) tarafından yapılan çalışmada gökkuşığı alabalıkları (*O. mykiss*) 7 gün boyunca karboksinin 3,85 ppm’lik konsantrasyonuna maruz bırakılarak karaciğer dokusunda SOD aktivitesi ölçülmüştür. Araştırmacılar enzim aktivitesinde artış

kaydederek söz konusu kimyasalın gökkuşağı alabalıkları (*O. mykiss*)’nda oksidatif strese sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Sayeed *et al.* (2003) tarafından yapılan çalışmada, deltametrinin 0,75 µg/l konsantrasyonuna 48 saat boyunca maruz bırakılan yeşil yılanbaş (*C. punctatus*) balıklarının karaciğer ve böbrek dokularında katalaz aktivitesinde artış, lipid peroksidasyonunda ise azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Peixoto *et al.* (2006) oxyfluorfenin farklı konsantrasyon (0,3 ve 0,6 mg/L) ve sürelerine (7, 14 ve 21 gün) maruz bırakılan Nil tilapiyası (*O. niloticus*)’nda CAT ve GR aktivitesinde artış, SOD aktivitesinde ise azalma kaydetmişlerdir.

Stara *et al.* (2012) yaptıkları çalışmada, tirazinin farklı konsantrasyonlarına (0,06-2-4 µg/l) maruz bırakılan sazan balıklarında (*C. carpio*) 14, 28 ve 60. günlerde beyin, solungaç, kas ve karaciğer dokularında antioksidan enzim aktivite ölçümlerinde 14 ve 28. günde SOD, CAT, GPx ve GSH enzim aktivitelerinde artış belirlerken 60. günde azalış belirlemişlerdir.

Kumari *et al.* (2014) yaptıkları çalışmada potasyum dikromatın 48,3 ppm’lik konsantrasyonuna maruz bırakılan Hindistan sazanında (*Labeo rohita*) 24, 48, 72 ve 96 saat ile 15. günlerde solungaç, karaciğer, beyin ve kas örnekleme yapmışlardır. Bütün dokularda katalaz aktivitesinde artış izlenip en yüksek değer 48. saatte belirlenirken SOD aktivitesinde 24-72 saatte artış ve 96 saatte azalma meydana geldiğini rapor etmişlerdir.

Kurutaş vd (2009) tarafından yapılan çalışmada Adana Ceyhan nehrinde yaşayan benekli siraz (*Capoeta barroisi*) balığının maruz kaldığı çevresel kirleticilerin meydana getirdiği oksidatif hasar seviyesi belirlenmiştir. Karaciğer ve solungaç dokusu SOD, CAT ve G6PD ile GSH ve lipid peroksidasyon seviyelerinde önemli artış belirlendiği rapor edilmiştir.

Almeida *et al.* (2009) yaptıkları çalışmada kadmiyum kontaminasyonuna maruz kalan Nil tilapia (*O. niloticus*)’sında oksidatif stres biyomarkırlarındaki değişiklikleri incelemişlerdir. 15 gün süresince 0,75 mg/L kadmiyum kloride (CdCl_2) maruz kalan balıkların karaciğer dokusunda glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve SOD aktivitesinde azalma meydana gelirken CAT (katalaz) aktivitesinde artış meydana gelmiştir. Aynı şekilde lipid peroksidasyon konsantrasyonunda artış belirlenmiştir.

Akdeniz Midyesi (*Mytilus galloprovincialis*)’nde SDS (sodyum dodesil sülfat)’ın meydana getirdiği oksidatif stres ile ilişkili biyokimyasal parametreler değerlendirilmiştir. 18 gün süresince 0,1 ve 1 mg/l olmak üzere farklı konsantrasyonlarda uygulama yapılmış, SOD ve CAT aktivitesinin solunugaçlarda değişmediği, hepatopankreasta ve kabukta önemli seviyede yükseldiği bildirilmiştir. SOD aktivitesinde en yüksek artış hepatopankreasta, CAT aktivitesinde ise en yüksek değer kabukta ölçülmüştür (Messina *et al.* 2014).

Jia *et al.* (2014) yaptıkları çalışmada sazan balıklarına (*C. carpio*) karın bölgesinden 0,5 ml/kg oranında vücut ağırlıklarına göre karbon tetraklorür (CCL_4) enjekte etmişlerdir. Antioksidan kapasitesi ve lipid peroksidasyonundaki değişiklikler sonucunda SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde azalma meydana gelirken MDA seviyesinde artış olduğunu belirlemişlerdir.

Cheng *et al.* (2015) yaptıkları çalışmada balon balığını (*Takifugu obscurus*) amonyağın 0, 1,43, 3,57, 7,14 mM konsantrasyonuna 72 saat süresince maruz bıraktıktan sonra kan ve karaciğer örnekleme yapılmıştır. 3. saatte SOD aktivitesi artış göstermiş sonrasında 6 ve 12. saatte orijinal seviyesine geri azalmıştır. 72 saat sonunda katalaz aktivitesinde artış belirlenirken GPx aktivitesinin ise 1,43 ve 3,57 konsantrasyonlarında arttığı rapor edilmiştir.

Çapkın ve Altınok (2013) yaptıkları çalışmada, gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*)’nın maruz kaldığı karbosulfan ($25\mu\text{g/l}$) toksisitesinin (21 gün süresince) karaciğer dokusundaki, oksidatif stres parametrelerinde meydana getirdiği değişiklikleri

incelemiştirler. 14. günde, katalaz aktivitesi 45,93'ten 26,25 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ azalırken 21. günde 26,25'ten 32,18 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ yükselmiştir. SOD aktivitesinde ise 21 gün sonunda maksimum seviye $12,98 \pm 0,3$ U/mg protein olarak ölçülüp 6. hafta sonunda $3,54 \pm 0,43$ U/mg miktarında azalma olduğunu belirlemişlerdir.

Dorval *et al.* (2003) tarafından bildirilen çalışma sonuçlarına göre; in vitro şartlarda endosufan (EC_{50} 19 μM , LC_{50} 366 μM) pestisitine maruz kalan gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*)'nda katalaz aktivitesi yükselirken GPx aktivitesinde azalma meydana gelmiştir.

Ramos *et al.* (2014) yaptıkları çalışmada asetaminofene akut (0,00, 0,05, 0,50, 5,00 mg/L) ve kronik (0,0, 12,5, 25,0 ve 50,0 $\mu\text{g}/\text{L}$) uygulamalarla maruz kalan gökkuşağı alabalıklarında (*O. mykiss*) karaciğer ve solungaç dokusunda, oksidatif savunma sistemi değişiklikleri ve peroksidatif hasarı araştırmışlardır. Karaciğer dokusunda katalaz ve GPx aktivitesi incelendiğinde hem akut hemde kronik uygulamada artış tespit edilirken GR aktivitesinde ise değişiklik olmadığını belirtmişlerdir.

Jia *et al.* (2015) yaptıkları çalışmada, nitrite akut olarak (0, 0,02, 0,08, 0,4 ve 0,8 mM) maruz bırakılan juvenil kalkan (*Scophthalmus maximus*) balıklarında meydana gelen hematolojik değişiklikleri ve oksidatif stres parametrelerini incelemiştirler. 0,4 ve 0,8 mM konsantrasyonlarında hemoglobin miktarında, SOD, katalaz ve GPx aktivitelerinde azalma meydana geldiğini rapor etmişlerdir.

Klorpirifos'a (0,040 ve 0,080 mg/L^{-1}) maruz bırakılan sazan (*C. carpio*) balıklarında karaciğer ve böbrek dokusunda SOD, MDA seviyesi incelendiğinde artış belirlenirken katalaz ve GPx seviyesinde azalma olduğu belirtilmiştir (Ural 2013).

Kobalt toksitesine (50, 100, 150 mg/L^{-1}) maruz kalan Japon balığı (*Carassius auratus*)'nda beyin, karaciğer ve böbrek dokularında oksidatif stres parametreleri değerlendirilmiştir. Beyin dokusunda (150 mg/L^{-1} 'de %111) ve karaciğerde (50 ve 150 mg/L^{-1} 'de %30-66) lipid peroksidasyon seviyesinde artış belirken SOD aktivitesi

karaciğer ve beyin dokusunda azalmıştır. Böbrekte ise katalaz aktivitesi değişmez iken SOD aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Kubrak *et al.* 2011).

Adeogun *et al.* (2012) çalışmalarında sucul ekosisteme karışan endüstriyel atıkların karabalıklar (*C. gariepinus*) üzerinde meydana getirdiği oksidatif stresi belirlenmeye çalışmışlardır. Sudaki çözünmüş oksijen miktarına ($27,10 \pm 1,05$, $31,00 \pm 2,30$, $5,96 \pm 0,09$, $7,16 \pm 0,02$, $0,42 \pm 0,03$, $2,11 \pm 0,42$ mg/L) göre gruplar ayrılmıştır. Oksijen miktarı en düşük olan grupta karaciğer ve solungaç dokusunda SOD ve CAT seviyelerinde artış belirlenirken tüm konsantrasyonlarda böbrek dokusunda değişiklik olmadığını belirlemişlerdir. GSH seviyesi karaciğerde artış gösterirken solungaç ve böbrek dokusunda değişiklik belirlenmemiştir. MDA seviyesinde ise böbrek dokusunda artış olurken karaciğer ve solungaç dokusunda değişiklik olmadığını bildirmişlerdir.

Biyolojik sistemlerin temel yapısı oluşturan lipitler ve yağ asitleri aynı zamanda yaşam sürecinin düzenlenmesinde de önemli rol almaktadır (Montero *et al.* 2005). Balıklarda deri, karın dokusu, karaciğer ve mesentrik dokular lipitlerin depo yerleridir (Ackman 1994). Balıkların embriyonik gelişme döneminde metabolik enerji gereksinimleri, lipitler tarafından karşılanmaktadır (Sargent 2002).

Balıklarda lipit miktarları mevsim, besin maddesi içeriği ve miktarı, su sıcaklığı, pH, tuzluluk ve üreme dönemleri gibi farklı iç ve dış faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Shiari *et al.* 2002; Kaushik *et al.* 2006). Tuzlu suda yaşayan balıklarda lipid yapısı daha fazla (n-3) çoklu doymamış yağ asidi içerir. Özellikle solungaç ve böbrek dokusunda farklılık daha belirgin görülmektedir (Huss 1988).

Karboksilik asit olan yağ asitleri, lipidlerin ana bileşenini oluşturup doymuş ve doymamış yağ asitleri olarak 2'ye ayrılır. Doymuş yağ asitlerinin içerdiği karbonlar hidrojen ile en fazla sayıda bağ yapmış durumda olup karbon bağları tekli yapıdadır. Doymamış yağ asitlerinde ise çift bağ içeren karbon zincirleri bulunmaktadır (Sargent *et al.* 2002).

Trigliseritler, pilorik kese veya orta midede lipaz enzimleri ile gliserol veya yağ asitlerine ayrıldıktan sonra kana geçmektedir. Kan içerisinde gliserol ve yağ asitlerinin tekrar bir araya gelmesi sonucu trigliseritler oluşarak lipoproteinlerin yapısına katılmaktadırlar. Balıklarda açlık sonucu, lipidlerin kullanılması türlere göre değişiklik göstermektedir (Bilinski 1974).

Triaçilgliseroller (TAG), fosfolipitler (FL), sifingolipitler (SF) ve steroller balık dokusundaki temel lipidleri oluşturmaktadır. Nötral bir lipid olan triaçilgliseroller, 3 tane yağ asidi ve gliserolün birleşmesinden oluşan bir yağ esteri olup metabolik enerji kaynağıdırlar (Sargent *et al.* 2002). Polar lipidlerin en önemlisi ise fosfolipitler ve glikolipitler olup hücre çeperinin temel yapısını oluştururlar. Fosfolipitler yağ asitlerinin alkol, fosfat ve gliserol ile esterleşmesinden meydana gelmekte, kaslarda ve karaciğerde depolanmaktadır (Tocher 2003).

Kolesterol 27 karbonlu ve 3. karbonunda hidroksil grubu olan bir bileşik olup metabolizmada birçok biyokimyasal reaksiyonda görev almaktadır. Kolesterol, doymamış yağ asitleri ve fosfolipidler membran akışkanlığının dengelenmesinde ve mebranın sağlamlığını artırmak ile görevli olup (Farkas and Csengeri 1976) en fazla karaciğer dokusunda sentezlenmektedir (Erkan 2008).

Vücutta esterleşmemiş halde ya da farklı yağ asit esteri olarak bulunan yapılara serbest yağ asidi denilmektedir. Özellikle farklı molekül yapıları ile bağlantısı olmadığından bu şekilde adlandırılan serbest yağ asitlerinin parçalanmaları sonucunda çok fazla miktarda ATP oluştuğu için önemli bir enerji kaynağıdır. Karaciğer ve kas dokularında enerji ihtiyacı için okside edilebilmektedir (Champe and Harvey 1994).

Dokularda meydana gelen oksidatif bozulma ile birlikte malondialdehit oluşumu artmakta ve bu durumun insanlar için mutajenik ve karsijonek etkiye neden olduğu belirtilmektedir (Polat ve Tokur 2000).

SDS-PAGE yöntemi genel olarak proteinlerin molekül ağırlıklarının belirlenmesinde, protein saflaştırılmasında ve saf proteinin alt yapısının incelenmesinde kullanılmaktadır (Janson and Ryden 1998).

Proteinlerin denaturasyonu/indirgenmesi tek bir mekanizma ile açıklanamayacak kadar komplekstir ve denaturasyondan birden fazla etken sorumludur. Yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu protein oksidasyonu ile proteinlerde yapısal olarak proteinlerin çözünürlüğünün azalması, fonksiyonlarının bozulması, besinsel kayıplar ve tekstürel bozulmalar olduğu bildirilmiştir (Soyer and Hultin 2000; Tokur ve Korkmaz 2007).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma yeri

Çalışma Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan Toksikoloji Deneme Ünitesi'nde, Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvarlarında ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Su materyali

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Toksikoloji Deneme ünitesinde dinlendirme tankına alınan su, hava motoru ve hava taşı yardımı ile oksijen miktarı arttırılarak içme suyu borularıyla kg balığa 0,5 l/dk.'dan az olmamak üzere tanklara dağıtılmıştır (Atamanalp 2000; Esenbuğa 2013).

Araştırmada kullanılan suyun kimyasal analizi Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan suyun kimyasal özellikleri

Oksijen (O ₂)	10,16 mg/L
Nitrat (NO ₃)	0,70 mg/L
Nitrit (NO ₂)	< 0,001 mg/L
pH	7,23
NH ₃	0,07 mg/L
Sıcaklık	9,7±1°C

3.1.3. Araştırma tankları

Araştırmada kullanılan tanklar fiberglass malzemeden olup 1 m çap ve derinliğindedir. Su seviyesi boru sistemiyle ayarlanabilmektedir. Suyun tahliyesi tankların alt kısmında bulunan musluk sistemi ile sağlanmış ve günde iki kere sifonlanmıştır (Atamanalp 2000; Esenbuğa 2013).



şekil 3.1. Araştırma tankları (Orjinal resim)

3.1.4. Balık materyali

Denemede 170 ± 5 g ağırlığında 210 adet gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) kullanılmıştır. Cinsiyet faktöründen kaynaklı değişiklikleri elemine etmek için erkek bireyler seçilmiştir. Uygulama akut ve kronik olmak üzere iki şekilde dizayn edilerek, her iki uygulamada da tanklardan biri kontrol diğer 6'sı ise 2 tekerrürlü muamele gruplarını oluşturacak şekilde belirlenmiştir. Balıklar her tanka 15 balık gelecek şekilde 7 adet tanka yerleştirilmiştir (Atamanalp 2000; Esenbuğa 2013).



Şekil 3.2. Gökkuşağı alabalığı (*O.mykiss*)

3.1.5. Kimyasal materyali

Pestisit olarak kullanılan alfa sipermetrin ticari bir firmadan (Süspansiyon Konsantre AVERKILL alfa cypermethrin) temin edilip LC50 seviyesi, 12 saatte bir yenilenebilir statik test yöntemi dikkate alınarak belirlenmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Su dağıtım düzeneği

İçme suyu şebekesinden alınan su, filtrasyona tabi tutulduktan sonra içerisinde bulunabilecek muhtemel gazları uçurabilmek için kanalda bulunan engellerden geçirilerek dinlendirme tankına aktarılmış ve tanklara dağıtılan su miktarı boruların uç kısmında yer alan küçük musluklar ile ayarlanmıştır.

3.2.2. Deney balıklarının bakım ve beslenmesi

Denemeye alınan balıklar 14 gün aklimasyona tabi tutulmuş ve %45 proteinli ticari (Sibal AŞ.) yemle, günlük olarak canlı ağırlığının %2'si oranında günde iki kere sabah-akşam yemleme yapılmıştır (Bricknell *et al.* 1999). Tanklar günde iki kere tahliye borusu yardımıyla sifonlanarak yem ve dışkı artıklarının ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır.

3.2.3. Pestisitlerin uygulanma şekilleri

Balıklar 96 saatlik ve 21 günlük uygulamalarla pestisit 3 farklı subletal konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Tanklara "ortamı yenilenen deneyler" prosedürüne göre (Esenbuğa 2013) 12 saatte bir konsantrasyonlar verilmiştir. Gerek ortamın yenilenmesi süresince gerekse yemleme, sifon, gibi işlemler esnasında deneklerin strese girmemesine ve zarar görmemesine özen gösterilmiştir (Atamanalp 2003). Kullanılan kimyasallar ve uygulamaları aşağıdaki gibidir.

AKUT			KRONİK		
A1	A2	A3	K1	K2	K3
2 (µg/litre)	2.5 (µg/litre)	3 (µg/litre)	1.75 (µg/litre)	2 (µg/litre)	2.25 (µg/litre)

3.2.4. Kan örneklerinin alınması

Balıklara anestezi uygulaması yapılmadan kaudal venadan girilerek 4 ml kan örneği alınıp (Val *et al.* 1998; Atamanalp 2000; Çiltaş 2000; Girgin 2003) heparinli tüplerde muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Balıklardan kanın alındığı bölge ve böbrek dokusu (Orjinal fotoğraf)

3.2.5. Kan parametreleri analizleri

3.2.5.a. Hemogloblin miktarının tayini

Çalışmada Cyanmethemoglobin metodu kullanılmıştır. Buna göre 0,02 ml kan örneği 5 ml drabkin solüsyonuyla karıştırılarak yavaş hareketlerle alt üst edilmiş ve homojen bir karışım sağlanmıştır. Hemogloblinin Cyanmethemoglobine tam olarak dönüşmesi için 10 dk bekledikten sonra dipteki çökelti uzaklaştırılmıştır. Spektrofotometrede 540 nm’de transmittans (%T) değeri ölçülerek elde edilen değere karşılık gelen hemogloblin miktarı standart tablodan bakılarak tespit edilmiş ve g/100 cm³ olarak yazılmıştır (White *et al.* 1976; Çiltas 2000; Girgin 2003). Örneğin spektrofotometrede ölçülen sonuç 72 olursa Çizelge 3.2’de karşılık gelen değer 5,3 g/100 cm³ olarak belirlenir.

Çizelge 3.2. Cyanmethemoglobin metoduyla hemogloblin tayini

%T	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
20									20,5	20,2
30	19,4	18,9	18,4	17,9	17,5	16,9	16,6	16,0	15,6	15,2
40	14,8	14,3	13,9	13,6	13,2	12,9	12,5	12,1	11,9	11,5
50	11,2	10,8	10,5	10,2	9,9	9,7	9,3	9,1	8,8	8,6
60	8,2	8,0	7,7	7,5	7,2	6,9	6,7	6,5	6,2	6,0
70	5,8	5,6	5,3	5,0	4,9	4,7	4,5	4,1	4,0	3,8
80	3,6	3,4	3,2	3,0	2,8	2,6	2,4	2,2	2,0	1,9
90	1,7									

3.2.5.b. Hematokrit tayini

Hematokrit tayininde mikrohematokrit metodu uygulanmıştır. Kan örnekleri 1,1 mm çaplı, 7 mm uzunluğundaki mikrohematokrit tüplerine alındıktan sonra tüpün bir ucu cam macunıyla kapatılarak hematokrit santrifüjde 10500 rpm’de 5 dk. santrifüj

sonrasında bulunan değer skaladan okunmuş ve toplam kanın %'si olarak kaydedilmiştir (Blaxhall and Daisley 1973; Jones and Pearson 1976; Atamanalp vd 2002; Girgin 2003).

3.2.5.c. Eritrositlerin cökme hızı

Eritrosit cökme oranının tespitinde antikoagülanlı kan örnekleri 1,1-1,2 mm çapında ve 7 cm uzunluğundaki hematokrit tüplerine alınarak 1 saat süreyle dik pozisyonda (90°) bekletilmiş sonrasında ayrışan serum kısmı cetvel yardımıyla ölçölmüştür. Sonuçlar mm/saat cinsinden belirlenmiştir (Uçar 2010).

3.2.5.d. Eritrosit sayısının tespiti

Kan örneği eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar çekilmiş, üzeri 101 çizgisine kadar Dacie's solüsyonuyla tamamlanarak 1/200 oranında sulandırılmıştır. İyice calkalanan karışım, 1-2 dakika boyanmaya bırakılmıştır. Homojenize olmamış ilk 4-5 damla pipetten boşa akıtıldıktan sonra thoma lamının kamarasına doldurulmuştur. Thoma lamı üzerinden mikroskopta $1/5 \text{ mm}^2$ sayılarak cıkkan değer $10^6/\text{mm}^3$ cinsinden hesaplanmıştır (Blaxhall and Daisley 1973; Uçar 2010).

3.2.5.e. Lökosit sayısının tespiti

Alınan kan örnekleri lökositler için 4 mm^3 , sayının yetersiz bulunduğu durumlarda ise 9 mm^3 sayılmıştır. Bulunan sonuç $10^4/\text{mm}^3$ cinsinden hesaplanmıştır (Blaxhall and Daisley 1973; Uçar 2010).

3.2.5.f. Trombosit sayısının tespiti

Eritrosit sayısının tespiti ile aynı metot kullanılarak tüm kareler sayılmıştır. Bulunan sonuç $10^4/\text{mm}^3$ cinsinden hesaplanmıştır (Satake *et al.* 1986; Reddy and Bashamohideen 1989; Uçar 2010).

3.2.5.g. Hematolojik analiz sonuçlarından diğer parametrelerin hesaplanması

Kırmızı kan hücrelerinin ortalama hacmi (MCV)

MCV: Eritrositlerin ortalama hacmi (μm^3)

Hct: Hematokrit değeri (%)

RBC: Eritrosit sayısı ($10^6/\text{mm}^3$)

Kırmızı kan hücrelerinde bulunan ortalama hemoglobin (MCH)

MCH: Eritrositlerde bulunan ortalama hemoglobin ($\mu\text{g}/\text{hücre}$)

Hb: Hemoglobin miktarı (g/100 ml)

RBC: Eritrosit sayısı ($10^6/\text{mm}^3$)

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu(MCHC)

MCHC: Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (g/100 ml)

Hb: Hemoglobin miktarı (g/100 ml)

Hct: Hematokrit değeri (%)

(Reddy and Bashamohideen 1989; Satake *et al.* 1986; Girgin 2003; Uçar 2010).

3.2.6. Enzim aktivitesi ölçümleri

3.2.6.a. Homejenat hazırlanması

Fosfat tamponu hazırlanırken 2,04 gr KH_2PO_4 tartılarak 250 ml saf suda çözündürülmüştür. Üzerine 100 ml saf su eklendikten sonra pH 7,3'e ayarlanıp son hacim 500 ml'ye tamamlanmıştır. Doku örnekleri, 3 katı kadar fosfat tamponu içerisinde homojen hale getirildikten sonra 1300 rpm'de 1 saat santrifüj edilmiştir. Sonra süpernatant kısmı alınarak 4°C'de muhafaza edilerek ölçümler yapılmıştır (Atabeyoğlu 2011).

3.2.6.b. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin ölçülmesi (SOD)

Yöntem enzimatik reaksiyon sonucu açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin, ortamda bulunun nitro blue tetrazolium (NBT)'u indirgemesi esnasında, numunede bulunan süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) enziminin serbest radikalleri engellenmesi prensibine dayanır. Ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile süperoksit radikalleri meydana gelir. Üretilen süperoksit radikalleri NBT ile reaksiyona girerek formazan (mor) boya üretir. Reaksiyon sonucu görülen renk değişimi spektrofotometre ile 560 nm'de ölçülür. Reaksiyon sırasında SOD açığa çıkan radikalleri dismutasyona uğratar ve böylece NBT redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve spektrofotometrede okunan absorban değerleri düşer.

	Numune	Kör
Fosfat Tamponu (μl)	310	310
NBT (μl)	300	300
Na_2CO_3 (μl)	200	200
Sığır Albumin (μl)	100	100
Ksantin (μl)	40	40
Homojenat (μl)	30	-
Distile Su (μl)	-	30
Ksantin Oksidaz (μl)	20	20

Ependorf tüpler içerisinde kör ve numune hazırlanarak oda sıcaklığında 20 dk bekletilmiştir. Sonrasında reaksiyonu durdurmak için 500 µl CuCl₂ eklenmiş ve absorbans ölçülerek spesifik aktivite (EU/mg protein) hesaplamaları yapılmıştır (Sun *et al.* 1988).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(\text{Körün absorbansı} - \text{Numunenin Absorbası})}{(\text{Körün absorbansı})}$$

Şekil 3.4. % İnhibisyon hesaplaması

Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden aktivite olarak kabul edilmektedir. Dolayısıyla; Aktivite (EU/ml) = %İnhibisyon / 50 x 0,1'dir. Spesifik Aktivite = (EU/ml)/(mg protein/ml) eşitliğinden hesaplanmıştır.

3.2.6.c. Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini

Katalaz aktivitesinin belirlenmesinde Aebi (1984) metodu kullanılmıştır. Hidrojen peroksitin (H₂O₂) katalaz enzimi tarafından yıkılması prensibine dayanmaktadır. Reaksiyon, spektrofotometrede 240 nm'de ölçüm yapılarak tespit edilmektedir. Absorbans miktarında meydana gelen azalma hızı katalaz aktivitesi ile ilişkilendirmektedir.

3.2.6.d. Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesinin tayini

Hidrojen peroksit tarafından indirgenmiş glutasyon (GSH), GPx aracılığı ile okside glutatyon (GSSG) yükseltgenir. Sonrasında ters yönde GSSG'nin glutasyon redüktaz enzimi ile tekrar GSH'a indirgenmesi esnasında ortamda bulunan NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) kullanılır. GPx aktivitesi, NADPH'in NADP⁺'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbansdaki azalış farkının 340 nm'de ölçülmesiyle hesaplanır (Beutler 1975).

Numuneler aşağıdaki gibi hazırlanarak 37 °C’de 10 dk bekletildikten sonra üzerine 10µl t-bütıl eklenerek spektrofotometrede 340 nm’de 2 dk (0; 60; 90; 120 sn) okuma yapılmıştır.

	Numune (µl)	Kör (µl)
Tris-EDTA	100	100
GSH	20	20
GR	100	100
NADPH	100	100
Hemolizat	10	-
Saf Su	660	670

Hesaplama

$$\text{GPx Aktivitesi (U/mL)} = \Delta\text{OD} / t \times V_t / (6,22 \times V_0)$$

ΔOD = Zamana göre absorbans değişimi

t = Zaman

V_t = Toplam hacim

V_0 = Örnek hacmi

GPx Spesifik Aktivitesi (U/mg protein) = GPx aktivitesi / Protein miktarı

3.2.6.e. Lipid peroksidasyonun ölçülmesi (MDA)

Lipid peroksidasyonunun zincirleme reaksiyonu ile sekonder bir ürünü olarak MDA oluşmaktadır. MDA lipit peroksidasyonun belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. MDA, aerobik şartlarda pH 3,4’te tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95 °C’de inkübasyon sonucu pembe renkli bir kompleks oluşturur bu kompleks spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ölçülür (Ohkawa *et al.* 1979; Gutteridge 1995).

Çözeltiler

1-EDTA çözeltisi (0,1 M): 37,224 gr EDTA- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ 1 litre distile su içerisinde çözündürüldü.

2-BHT çözeltisi (%88): 0,220 gr BHT 25 ml saf alkolde çözöldü.

3-NaOH çözeltisi (0.05 N): 2 gr NaOH 1 lt distile su içerisinde çözöndüröldü.

4-TBA çözeltisi (%1): 1 gr TBA 100 ml'ye 0,05 N NaOH ile tamamlandı.

5- TCA (%30) : 30 gr TCA 100 ml distile su içerisinde çözöndüröldü.

6- Fosfat Tamponu: 8,1 gr NaCl, 2,302 gr Na_2HPO_4 , 0.194 gr NaH_2PO_4 distile suda eritilerek 1 lt'ye tamamlandıktan sonra pH'sı 7,4 'ye ayarlandı.

Deneyin yapılışı

200 μl hemolizat üzerine 800 μl fosfat tamponu -25 μl BHT çözeltisi ve 500 μl %30'luk TCA eklendi. Tüpler vortekste karıştırıldıktan sonra 20°C'de 2 saat süresince bekletildi. Sonra 15 dk 2000 rpm'de santrifüj edildi. Supernatant kısmından 1 ml alınarak başka tüplere aktarıldı. Yeni tüpler üzerine 75 μl EDTA ve 250 μl TBA eklendi. Tüpler vortekste karıştırılıp ve 15 dk sıcak su banyosunda (90°C'de) bekletildi. Sonrasında oda sıcaklığında 532 nm'de UV/Vis spektrofotometrede ölçüm yapıldı.

Hesaplanması $A=a.b.c$ A=absorbans, a=ekstinksiyon katsayısı, b=ışık yolu, c=konsantrasyon (Abs.532) =MDA nmol/ml.

3.2.6.f. Protein miktarı ölçüm yöntemi

Enzim çözeltilerinin kantitatif protein miktarının ölçölmesinde Bradford (1976) yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde boya olarak kullanılan Coomassie Brilliant Blue G250, negatif bir yüke sahiptir ve protein üzerindeki pozitif yüke bağlanır. Boyanın kırmızı ($\lambda_{\text{max}}=465$ nm) ve mavi ($\lambda_{\text{max}}=595$ nm) formu mevcuttur. Boyanın proteine bağlanması, kırmızı formun mavi forma dönüşmesini sağlar. Bradford yönteminde, sıgır

serum albümini (BSA) kullanılarak elde edilen standart grafik yardımıyla her bir numunedeki protein miktarı BSA'ya eşdeğer olarak bulunur.

3.2.6.g. Yüksek performanslı ince tabaka kromatografi (YPİTK)

İnce tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography (TLC)) çok küçük miktardaki maddelerin kalitatif analizi ve farklı maddelerin birbirinden ayrılmasında kullanılan önemli bir tekniktir.

Yapılan işlem 20x10 cm Silika Jel 60 F254 YPİTK plakası kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Doku homojenatları (450 µl) üzerine 900 µl n-hekzan/izo-propanol (2:1 (h/h)) karışımı eklendikten sonra (Hara and Radin 1978) tüplerin kapağı kapatılarak şiddetli bir biçimde vortekslenmiştir ve on dakika beklendikten sonra tekrar vortekslenmiştir. Bu işlem 2 kez daha tekrar edilmiştir. Vortekslenen tüpler 5000 g'de 10 dk süreyle santrifüj edilmiş ve üst faz (hekzan fazı) YPİTK plakalarına yüklenmiştir. Plakalara yüklenen lipid sınıfları hekzan: dietileter: formik asit (80:20:2 (h/h/h)) karışımında 7 cm yürütülüp, oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutulan bu plakalar üzerine %8 H₃PO₄ içerisindeki %3'lük CuSO₄ püskürtülmüş ve 180 °C'deki etüvde yaklaşık 10 dk süreyle yakılarak lipid bantları görünür hale getirilmiştir (Sherma 2003). YPİTK plakaların Epson Perfection V700 fototarayıcı ile fotoğrafı alındıktan sonra, her bir örneğe ait lipid bantlarının kapladığı alan Phoretix 1D (TL120) yazılımı kullanılarak tespit edilmiş ve toplam karışımdaki %olarak ifade edilmiştir (Kaynar *et al.* 2013).

3.2.6.h. Protein profilinin belirlenmesi (SDS-PAGE)

Doku proteinlerini belirlemek için örnekler bir gün önce -20 °C'den çıkartılarak çözündürülmüştür. Protein profil analizi sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) metodu ile gerçekleştirilmiştir (Laemmli 1970). Eppendorf tüpe alınan 100 µl doku homojenatı üzerine 900 µl elektroforez örnek buffer tamponu eklenmiştir. Tüpler iyice karıştırılarak 100°C'de 1 dk süreyle bekletildikten sonra Laemmli metodu BioRad TetraCell sistemine uyarlanarak SDS-PAGE işlemleri

gerçekleştirilmiştir. Jeldeki proteinlerin boyanması için örnekler 2 saat Oriole solüsyonunda bekletilmiş ve protein bandlarının dansitometrik analizleri gerçekleştirilmiştir (BioRad Oriole user manual).

Solüsyonların Hazırlanışı:

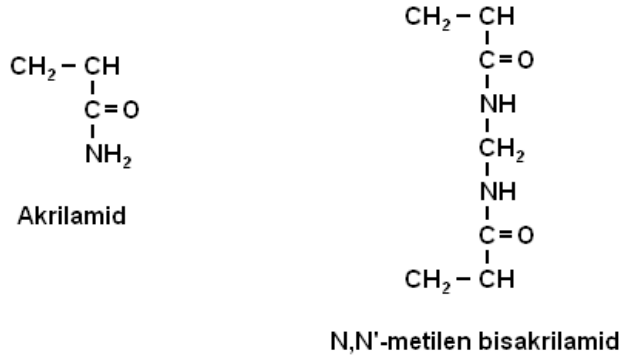
Akrilamid Stok Solüsyonu (%30): Şekil 3,5’de kimyasal yapıları sunulmuş olan 14,6 g akrilamid ve 0,4 g N,N'-metilen bisakrilamid, 50 ml’ye distile suyla tamamlanmış ve manyetik karıştırıcı yardımıyla 30 dakika süreyle karıştırılmıştır. Süzgeç kâğıdından geçirilerek süzölmüş ve koyu renkli şişede +4°C’de muhafaza edilmiştir.

Stacking Jel Tamponu (0,5 mol tris-HCl (pH 6,8)): 6,1 g trizma-base yaklaşık 90 ml distile suda eritilerek ve 1N HCl ile pH 6,8’e ayarlanmıştır. Toplam hacim 100 ml’ye distile su ile tamamlanarak +4°C’de saklanmıştır.

Resolving Jel Tamponu (1,5 mol tris-HCl (pH 8,8)): 18,3 g trizma-base yaklaşık 90 ml distile suda eritilerek ve 1 N HCl ile pH 8,8’e ayarlanmıştır. Toplam hacim 100 ml’ye distile su ile tamamlanarak +4°C’de saklanmıştır.

Tris-Glisin Elektrod Tamponu (pH 8,3): 1,515 g tris, 7,2 g glisin ve 0,25 g sodyum dodesil sülfat (SDS) distile su ile 500 ml’ye tamamlanmıştır.

Örnek Tamponu: 4 ml distile su, 1 ml 0,5 mol tris-HCl (pH 6,8) (stacking jel tamponu), 0,8 ml gliserol, 1,6 ml %10 SDS, 0,4 ml 2-β-merkaptetanol, 0,2 ml %0.05 bromfenol blue karıştırılarak koyu renkli şişede, oda ısısında saklanmıştır.



Şekil 3.5. Akrilamid ve N,N'-metilen bisakrilamid'in kimyasal yapısı

%10 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS): 10 g SDS 50 ml distile suda hafifçe karıştırılarak çözülmüş ve toplam hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. **%10 Amonyum Persülfat (APS):** 100 mg amonyum persülfat üzerine 1 ml distile su ilave edilerek, kullanmadan hemen önce, taze olarak hazırlanmıştır. **Bromfenol Blue Solüsyonu:** 50 mg bromfenol blue yaklaşık 5 ml distile suda çözülerek 10 ml'ye tamamlanmıştır.

SDS-PAGE Analizi

Düz cam plaka (10x8.5 cm) ile 1,5 mm kalınlığındaki plastik şeritleri (spacer) olan plaka sandviç teşkil edecek şekilde bir araya getirildi. İlk önce kimyasal kompozisyonu Çizelge 3.3'da verilen rezolving jel 10 ml'lik bir enjektör ile plakaların arasına hava kabarcığı oluşturmadan üst kenara ~2.5 cm kalıncaya kadar dolduruldu. Jelin dökülmesini takiben 1 ml'lik bir enjektör ile jel yüzeyi üzerinde bütanol ile ince bir tabaka oluşturularak düz bir polimerizasyon hattı meydana getirildi. En az 2 saat süreyle polimerizasyon için beklendikten sonra su süzgeç kâğıdıyla uzaklaştırılmış ve kimyasal kompozisyonu Çizelge 3.3'da verilen stacking jel hazırlanıp, hava kabarcığı oluşturmadan bir enjektör yardımı ile döküldü. Hemen ardından 1,5 mm kalınlığındaki taraklar yerleştirilmiş ve polimerizasyon için en az 3 saat süreyle bekletildi. Sürenin sonunda taraklar çıkarılarak, polimerizasyon artıklarını uzaklaştırmak için numunelerin uygulanacakları kuyucuklar 3 defa tris-glisin elektrod tamponuyla (pH 8,3) yıkanmış ve yıkama sonrası kuyucuklar aynı tampon ile doldurularak, numuneler kuyucuklara 15 µl

uygulandı (Laemmli 1970). 20 mA/jel sabit akım modunda yaklaşık 90 dakika süreyle elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Süre sonunda jeller oriole solüsyonunda 2 saat süreyle bekletildi ve jel görüntüleme sistemi ile (Bio Rad Gel Doc XR) fotoğrafları çekildi.

Çizelge 3.3. SDS-PAGE jellerinin kimyasal kompozisyonları

	Rezolving Jel (%8)	Stacking Jel (%4)
dH ₂ O (ml)	13	17
Tris-HCl pH 8.8 (ml)	7.5	-
Tris-HCl pH 6.8 (ml)	-	7.5
%10 SDS (μl)	300	300
Akrilamid stok (ml)	8	4
APS (μl)	150	150
TEMED (μl)	5.0	5.0

Protein standartı:

Ticari olarak satın alınan 500 μl'lik kullanıma hazır marker karışımı kullanıldı (Precision Plus Protein™ All Blue Prestained Protein Standart, kat. No: 1610373)

Uygulanışı: Örnek kuyucuklarına 15 μl ilave edilmiş ve 20 mA/jel sabit akımda yaklaşık 90 dakika süreyle elektroforez işlemine devam edilmiştir. Elektroforez sonrası homojenat örneklerine ait jeller coomassie brilliant blue R250 ile boyanmış ve Biorad Gel Doc XR jel görüntüleme sisteminde fotoğrafı çekilerek, ImageLab 4.1 jel analiz programı ile analiz edilmiştir.

Proteinlerin molekül ağırlıklarının hesaplanması: Molekül ağırlıkları bilinen standart proteinlerin molekül ağırlıkları ve jeldeki göç mesafeleriyle ilişkili olarak semi-logaritmik bir grafik yardımıyla örnek proteinin molekül ağırlığının tespiti esasına dayanır. Her standart protein için Rf değeri hesaplanmış ve bunun için aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{Nispi göç değeri (Rf)} = \frac{\text{Proteinin göç mesafesi}}{\text{Boyanın göç mesafesi}}$$

Fotoğrafları çekilen doku proteinlerinin molekül ağırlıkları yukarıdaki prensibe göre, Bio Rad Image Lab. Ver. 5.2.1. programı ile otomatik olarak gerçekleştirilmiştir.

Analiz sonucunda her bir protein bandının total protein konsantrasyonu içindeki “bireysel yüzde” değerleri kullanılarak, Lowry yöntemiyle total protein miktarları hesaplanmış olan örneklerde “g” olarak bireysel protein miktarları belirlenmiştir (Lowry *et al.* 1951).

3.2.7. Histopatolojik analizler

Çalışma sonrası nekropsileri yapılan balıklarda solungaç, karaciğer ve böbrek doku örnekleri alınarak %10'luk formalin içerisinde muhafaza edilmiştir. Dokuların histopatolojik muayenesi amacıyla örnekler 0,5 cm kalınlığında kesilerek %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda bekletilmiştir. Sonraki aşamada otomatik takip cihazı ile (SHANDON Citadel 1000) dehidrasyon (Sırasıyla %70, %80, %96 ve %100'lük alkolde ikişer saat bekletilerek), şeffaflandırma (ksilol I, ksilol II'de birer saat) ve parafinizasyon (56°C'de likid parafinde 2 saat) işlemlerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlanmıştır. Parafin blokları hazırlanan dokular mikrotomla (Reichert-Rotary) 5 mikron kalınlığında kesilerek Hemotoksilen-Eosin ile boyanmıştır (Presnell 1997). Hazırlanan preparatlar Olympus BX51(DP72 kamera ataçmanlı) marka ışık mikroskobu ile incelenerek önemli mikroskobik bulgu gösterenlerden resimler çekilmiştir.

3.2.7.a. Kesitlerin hematoksilin-eozin ile boyanması

Örnekler ksilol I'de (15 dakika) bekletilmiş, sonrasında sırasıyla %100, 96, 80, 70 ve %60 lık alkolle 3'er dakika fiksasyon sağlanmış ve sırasıyla distile suda 5, hemotoksilen boya solüsyonunda 6 dakika bekletilerek çeşme suyunda yıkama yapılmıştır. Sonrasında

asit alkol solüsyonuna 3 kere daldırılıp çıkarma, çeşme suyunda 15 dk, eozin boyada 3 dakika bekletme ve sırasıyla %60, 70, 80, 96 ve %100 alkollerde 3'er dakika bekletme, xylol'de 15 dakika bekletme ve entallen yapıştırıcı kullanılarak lamelle kapatma işlemleri yapılmıştır.



Şekil 3.6. Bloklanmış doku örnekleri

3.2.8. İstatistik analizler

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 20.0 istatistik paket programından yararlanılmıştır. Çalışma sonunda gruplara ait elde edilen veriler ANOVA testine tabi tutulmuştur. Farklı bulunan ortalama gruplarının kontrolünde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (Esenbuğa 2013).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Akut Uygulamaya Ait Hematolojik Parametre Sonuçları

4.1.1. Hemoglobin Miktarı

Balıklarda memelilerde olduğu gibi kemik iliği bulunmamakta, kemik iliği yerine temel lenfoid organlarını timus, böbrek ve dalak ile ilgili lenfoid dokular oluşturmaktadır (Ocak 2016). Hemoglobin bir protein olup eritrositlerde bulunarak oksijenin dokulara taşınması ve dokulardan alınan karbondioksitin solunum organlarına ulaştırılmasında görevlidir. Bununla birlikte kanın kırmızı renkte olmasının nedeni hemoglobin içerisindeki demir elementidir. Hemoglobin sayısı, kırmızı kan hücreleri sayısından farklı olabilir. Bunun nedeni her hücre içinde aynı hemoglobin proteinin bulunmamasıdır. Hemoglobin değerleri, genelde 1 desilitre kanda kaç gram hemoglobin olduğu şeklinde ifade edilir (Anonim 2016f). Çizelge 4.1’de hemoglobin değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.2’de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.1’de hemoglobin düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. Hemoglobin değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	9,433	22,516	0,000**
Gün	3	14,275	34,073	0,000**
Grup x Gün	9	1,609	3,842	0,002**
Hata	32	0,419		

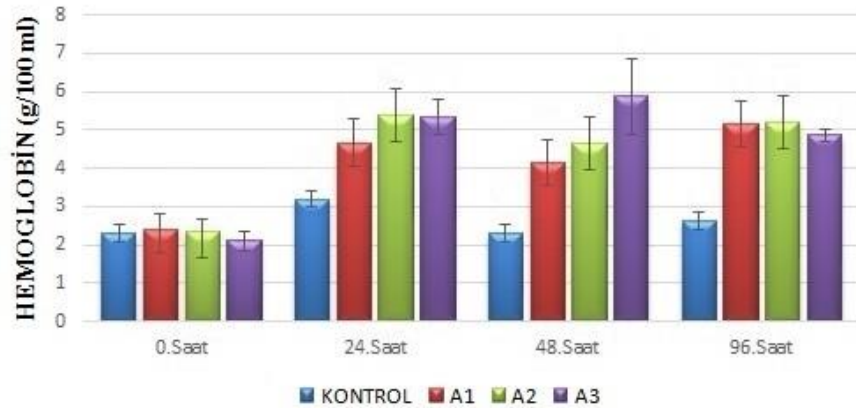
**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), Önemli değil ($p>0,05$)

Hemoglobin seviyesinin gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A3 grubunda 4,542 g/100 ml ve 24.saate 4,642 g/100 ml en yüksek değerler olurken, A1 grubunda 4,092 g/100 ml ve 48.saate 4,233 g/100 ml en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama hemoglobin değerleri bakımından gruplar arasındaki fark çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.2. Hemoglobin miktarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (g/100ml)

HEMOGLOBİN	
Grup **	ORTALAMA
Kontrol	2,608 ^b
A-1	4,092 ^a
A-2	4,392 ^a
A-3	4,542 ^a
Saat **	
0	2,292 ^b
24	4,642 ^a
48	4,233 ^a
96	4,467 ^a
Std. Hata	0,187

**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), ÖD: Önemli değil ($p>0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.1. Deneme gruplarına ait kan hemoglobin düzeyleri (g/100ml)

Hemoglobin miktarı kontrol grubuna göre oranla önemli seviyede bir artış göstermiştir. A1 grubunda kontrol $2,40\pm0,40$ g/100 ml iken uygulamadan sonra 24. saatte $4,67\pm0,28$ g/100 ml, 48. saatte $4,13\pm0,75$ g/100 ml ve 96. saatte $5,17\pm1,15$ g/100 ml olarak artmıştır. A2 uygulama grubunda kontrol $2,37\pm0,58$ g/100 ml iken 24. saatte $5,37\pm0,40$ g/100 ml, 48. saatte $4,63\pm0,90$ g/100 ml ve 96. saatte $5,20\pm0,17$ g/100 ml olarak artmıştır. A3 uygulama grubunda ise kontrol $2,10\pm0,26$ g/100 ml iken 24. saatte $5,33\pm0,45$ g/100 ml, 48. saatte $5,87\pm1,00$ g/100 ml ve 96. saatte $4,87\pm0,15$ g/100 ml olarak değerlerde artış belirlenmiştir. Uygulama gruplarında elde edilen değerler istatistikî olarak çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

4.1.2. Hematokrit değerleri

Hematokrit, kandaki eritrositlerin mevcut hacminin toplam kan hacmine oranı olarak bilinmektedir. Hematokrit oransal bir değer olduğu için % (yüzde) olarak ifade edilmektedir (Anonim 2016g). Çizelge 4.3'te hematokrit değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.4'te en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.2'de hematokrit düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.3. Hematokrit değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	29,922	0,726	0,544 ^{ÖD}
Gün	3	85,686	2,078	0,123 ^{ÖD}
Grup x Gün	9	173,848	4,216	0,001 ^{**}
Hata	32	41,234		

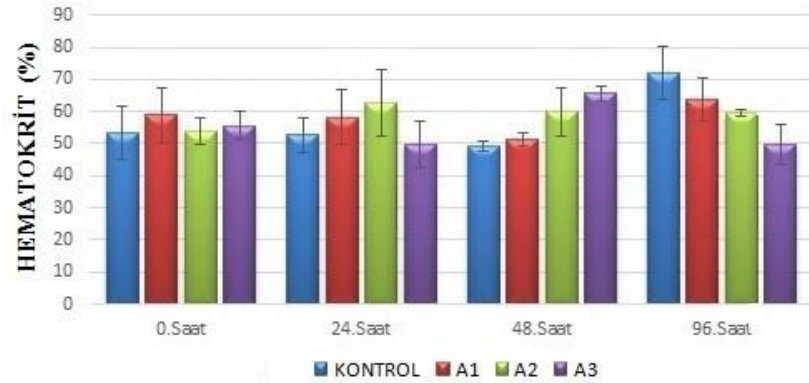
^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0.05)

Hematokrit seviyesinin gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A2 grubunda 58,875 ve 96.saate 61,167 en yüksek değerler olurken, A3 grubunda 55,208 ve 24.saate 55,833 en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama hematokrit değerleri bakımından günxgrup interaksyonu çok önemli bulunmuştur (p<0,01).

Çizelge 4.4. Hematokrit miktarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (%)

HEMATOKRİT	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	56,833 ^a
A-1	57,958 ^a
A-2	58,875 ^a
A-3	55,208 ^a
Saat^{ÖD}	
0	55,375 ^b
24	55,833 ^{ab}
48	56,500 ^{ab}
96	61,167 ^a
Std. Hata	1,854

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), ^{ÖD}: Önemli değil (p>0.05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.2. Deneme gruplarına ait kan hematokrit düzeyleri (%)

Hematokrit seviyesi kontrol grubuna göre oranla A3 grubunda azalırken A1 ve A2 gruplarında artış göstermiştir. A1 uygulama grubunda kontrol $58,83 \pm 8,60$ iken uygulamadan sonra 24. saatte $58,17 \pm 8,40$, 48. saatte $51,17 \pm 2,08$ ve 96. saatte $63,67 \pm 6,80$ olarak artış belirlenmiştir. A2 uygulama grubunda kontrol $53,67 \pm 4,19$ iken 24. saatte $62,67 \pm 10,21$, 48. saatte $59,83 \pm 7,58$ ve 96. saatte $59,33 \pm 1,04$ olarak değerlerde artış olmuştur. A3 uygulama grubunda ise kontrol $55,67 \pm 4,50$ iken uygulamadan sonra 24. saatte $49,83 \pm 7,32$, 48. saatte $65,67 \pm 2,36$ ve 96. saatte $49,67 \pm 6,02$ ölçülen değerlerde 48. saatte artış görülse de genel itibariyle azalış belirlenmiştir. Uygulama gruplarında elde edilen değerler istatistikî olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$).

4.1.3. Eritrosit çökme hızı (Sedimentasyon)

Sedimentasyon tayini, tek başına tanı konulmasında yeterli olmasa da hastalıklarının belirlenmesinde yardımcı parametre olarak önemli bir yeri olan ucuz ve kolay uygulanabilen analizlerden biridir. Antikoagülanlı tüplere alınan kanların pıhtılaşması engellenir, sonrasında standart bir pipet içerisinde bekletilen kanda, yer çekimi kuvveti esasına göre eritrositler, plazmadan ayrılarak pipetin tabanına çöker. Bu eritrositlerin birim zamandaki çökme hızına sedimentasyon adı verilir (Öztürk 2003). Çizelge 4.5'te sediment değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.6'da en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları verilmiştir.

Çizelge 4.5. Sedimentasyon değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	0,130	0,472	0,704 ^{ÖD}
Gün	3	2,033	7,365	0,001 ^{**}
Grup x Gün	9	0,547	1,981	0,075 ^{ÖD}
Hata	32	0,276		

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0,05)

Çizelge 4.6. Sedimentasyon hızına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (mm/saat)

SEDİMENTASYON	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	1,708 ^a
A-1	1,667 ^a
A-2	1,792 ^a
A-3	1,542 ^a
Saat^{**}	
0	2,167 ^a
24	1,625 ^b
48	1,750 ^{ab}
96	1,167 ^c
Std. Hata	0,152

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Sedimentasyon seviyelerinin gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A2 grubunda 1,792 mm/saat ve 48.saate 1,750 mm/saat en yüksek değerler olurken, A3 grubunda 1,542 mm/saat ve 96.saate 1,167 mm/saat en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Sedimentasyon değerleri bakımından gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır (p>0,05). Sedimentasyon düzeyleri, kontrol grubuna ile kıyaslandığında A1 ve A2 gruplarında 24 ve 48. saatlerde azalma olurken 96. saatte artış belirlenmiştir. A3 grubunda ise 24 ve 96. saatte azalma olurken 48. saatte artış belirlenmiştir. A1 uygulama grubunda kontrol 2,00±0,50 mm/saat iken uygulamadan sonra 24. saatte 1,67±0,76 mm/saat, 48. saatte 1,67±0,76 mm/saat ve 96. saatte 1,33±0,28 mm/saat olarak değerlerde azalma belirlenmiştir. A2 uygulama grubunda kontrol 3,00±0,50 mm/saat iken uygulamadan sonra 24. saatte 1,17±0,76 mm/saat, 48. saatte 1,50±0,50 mm/saat ve 96. saatte 1,50±0,50 mm/saat olarak değerlerde artış belirlenmiştir. A3 uygulama grubunda kontrol 1,67±0,28 mm/saat iken uygulamadan sonra 24. saatte

1,67±0,28 mm/saat, 48. saatte 2,00±0,50 mm/saat ve 96. saatte 0,83±0,28 mm/saat olarak değerler belirlenmiştir.

4.1.4. Eritrosit sayısı (ES)

Eritrositler sayıca en fazla olan hücrelerdir. İçerdikleri globülin ve demir içerikli hemoglobinler sayesinde kana kırmızı rengini verir. İçerdikleri hemoglobin sayesinde solungaçlardan dokulara oksijen ve dokulardan solungaçlara karbondioksiti taşımaları en önemli görevleridir. Anemi hastalığının belirlenmesinde eritrositlerle birlikte hemoglobin ve hematokrit miktarları önem teşkil etmektedir (Yılmaz 2015). Çizelge 4.7’de eritrosit değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.8’de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.4’te eritrosit düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.7. Eritrosit değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	0,355	2,220	0,105 ^{ÖD}
Gün	3	8,312	51,949	0,000 ^{**}
Grup x Gün	9	1,147	7,171	0,000 ^{**}
Hata	32	0,160		

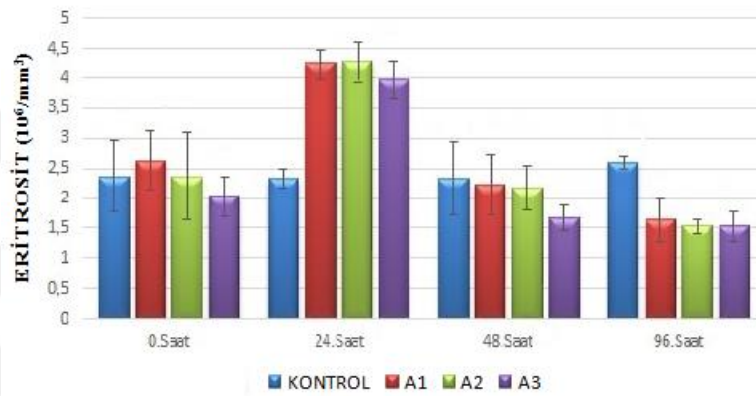
^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0.05)

Çizelge 4.8. Ortalama eritrosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

ERİTROSİT	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	2,408 ^{ab}
A-1	2,683 ^b
A-2	2,583 ^{ab}
A-3	2,300 ^b
Saat^{**}	
0	2,350 ^b
24	3,700 ^a
48	2,100 ^{ab}
96	1,825 ^c
Std. Hata	0,115

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), ^{ÖD}: Önemli değil (p>0.05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Eritrosit sayısının gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A1 grubunda $2,683 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ ve 24.saate $3,700 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ en yüksek değerler olurken, A3 grubunda $2,300 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ ve 96.saate $1,825 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama eritrosit sayısı bakımından gruplar arasındaki fark çok önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Ancak gün ve grupxgün interaksiyonunu istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($P<0.01$).



Şekil 4.3. Deneme gruplarına ait kan eritrosit düzeyleri ($10^6/\text{mm}^3$)

Eritrosit sayılarının kontrol grubuna göre kıyaslaması yapıldığı zaman 24. saatte tüm gruplarda artış olurken 48 ve 96. saatte kontrole göre azalma söz konusudur. A1 uygulama grubunda kontrol $2,63\pm0,49 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 24. saatte $4,23\pm0,25 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ meydana gelen artış, 48.saatte $2,23\pm0,50 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ ve 96.saatte $1,63\pm0,35 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ olarak azalış göstermiştir. A2 grubunda kontrol $2,37\pm0,72 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 24.saatte $4,27\pm0,35 \cdot 10^6/\text{mm}^3$, 48.saatte $2,17\pm0,37 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ ve 96.saatte $1,53\pm0,11 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ olarak değerlerde artış belirlenmiştir. 24. saatte meydana gelen artış 48 ve 96. saatte azalma göstermiştir. A3 uygulama grubunda ise kontrol $2,03\pm0,32 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 24. saatte $3,97\pm0,30 \cdot 10^6/\text{mm}^3$, 48. saatte $1,67\pm0,20 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ ve 96. saatte $1,53\pm0,25 \cdot 10^6/\text{mm}^3$ olarak değişmiştir. Ölçülen değerlerde 24. saatte artış görülürken 48 ve 96. saatte azalama belirlenmiştir. Uygulama gruplarında elde edilen değerler istatistikî olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.1.5. Lökosit sayısı (LS)

Lökositler vücudun savunma sisteminde görevli olan hareketli ve renksiz kan hücreleridir. Yapısal farklarına göre, granüllü (nötrofil, eozinofil, bazofil) hücreler ve granüllü olmayan hücreler (lenfosit ve monositler) olarak ikiye ayrılmaktadır (Roberts 2001). Çizelge 4.9’da lökosit değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.10’da alfa sipermetrinin lökosit sayısına etkisi ve Şekil 4.5’te en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları verilmiştir.

Çizelge 4.9. Lökosit değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	1,006	4,458	0,010 **
Gün	3	15,331	67,950	0,000 **
Grup x Gün	9	3,113	13,798	0,000 **
Hata	32	0,226		

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0.05)

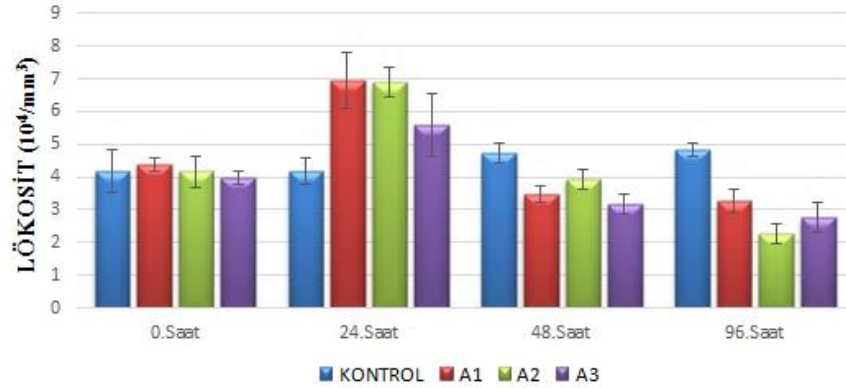
Çizelge 4.10. Ortalama lökosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

LÖKOSİT	
Grup **	ORTALAMA
Kontrol	4,475 ^a
A-1	4,517 ^a
A-2	4,317 ^a
A-3	3,883 ^b
Saat **	
0	4,183 ^b
24	5,900 ^a
48	3,825 ^b
96	3,283 ^c
Std. Hata	0,137

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0.05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Lökosit sayısının gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A1 grubunda 4,517 10⁴/mm³ ve 24.saate 5,900 10⁴/mm³ en yüksek değerler olurken, A3 grubunda 3,883 10⁴/mm³ ve 96.saate 3,283 10⁴/mm³ en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama

lökosit sayısı bakımından gruplar arasındaki fark çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).



Şekil 4.4. Deneme gruplarına ait kan lökosit düzeyleri ($10^4/\text{mm}^3$)

Lökosit sayıları kontrol grubuna oranla 24. saatte tüm konsantrasyonlarda artış gösterirken 48 ve 96.saatte azalma söz konusudur. A1 uygulama grubunda lökosit sayıları $4,40\pm0,20$, 24. saatte $6,93\pm0,85$, 48. saatte $3,47\pm0,25$ ve 96. saatte $3,27\pm0,35$ $10^4/\text{mm}^3$ olarak değişiklik göstermiştir. A2’de grubunda kontrol $4,17\pm0,47$, 24. saatte $6,90\pm0,45$, 48. saatte $3,93\pm0,30$ ve 96. saatte $2,27\pm0,30$ $10^4/\text{mm}^3$ olarak değerler 24.saatte artış gösterdikten sonra 48 ve 96.saatte azalma göstermiştir. A3’te kontrol $4,00\pm0,20$ $10^4/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 24.saatte $5,60\pm0,96$, 48.saatte $3,17\pm0,32$ ve 96.saatte $2,77\pm0,47$ $10^4/\text{mm}^3$ olarak değişiklik belirlenmiştir.

4.1.6. Trombosit sayısı (TS)

Trombosit hücreleri kanda pıhtılaşmayı sağlayan yapılardır. Çizelge 4.11’de trombosit değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.12’de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.6’da trombosit düzeyleri verilmiştir. Trombosit sayısı gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A1 grubunda $11,333$ $10^3/\text{mm}^3$ ve 24.saatte $14,833$ $10^3/\text{mm}^3$ en yüksek değerler olurken, A3 grubunda $10,00$ $10^3/\text{mm}^3$ ve 96.saatte $8,167$ $10^3/\text{mm}^3$ en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Günxgrup interaksiyonuna göre trombosit değerlerinde ki değişim istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.11. Trombosit değerine ait varyans analiz tablosu

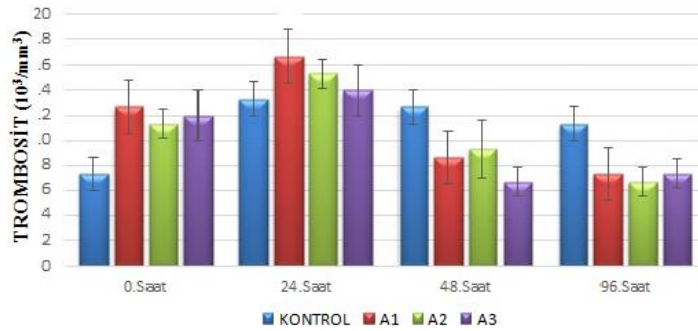
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	4,306	1,782	0,170 ^{ÖD}
Gün	3	101,417	41,966	0,000 **
Grup x Gün	9	17,269	7,146	0,000 **
Hata	32	2,417		

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0.05)

Çizelge 4.12. Trombosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

TROMBOSİT	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	11,167 ^a
A-1	11,333 ^a
A-2	10,667 ^a
A-3	10,000 ^a
Saat **	
0	10,833 ^b
24	14,833 ^a
48	9,333 ^c
96	8,167 ^c
Std. Hata	0,449

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0.05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

**Şekil 4.5.** Deneme gruplarına ait kan trombosit düzeyleri (10³/mm³)

Trombosit sayıları, kontrol grubuna oranla 24. saatte tüm konsantrasyonlarda artış gösterirken 48 ve 96. saatte kontrole göre azalma söz konusudur. A1 uygulama grubunda kontrol 12,67±1,15 10³/mm³ iken uygulamadan sonra 24. saatte 16,67±3,05 10³/mm³, 48. saatte 8,67±1,15 10³/mm³ ve 96. saatte 7,33±1,15 10³/mm³ olarak azalış

göstermiştir. A2 grubunda kontrolde $11,33 \pm 1,15 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ olan değer 24. saatte $15,33 \pm 1,15 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$, 48. saatte $9,33 \pm 2,31 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ ve 96. saatte $6,67 \pm 1,15 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ olarak değişiklik göstermiştir. A3 grubunda kontrol $12,00 \pm 2,00 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 24. saatte $14,00 \pm 2,00 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$, 48. saatte $6,67 \pm 1,15 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ ve 96. saatte $7,33 \pm 1,15 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ olarak değişmiştir.

4.1.7. Ortalama eritrosit hacmi (OEH-MCV)

MCV eritrositlerin ortalama hacimlerini ifade etmek için kullanılır. Çizelge 4.13'te OEH değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.14'de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.7'de OEH düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.13. Ortalama eritrosit hacmi değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	3933,067	1,224	0,317 ^{ÖD}
Gün	3	76378,605	23,764	0,000 ^{**}
Grup x Gün	9	10838,908	3,372	0,005 ^{**}
Hata	32	3214,066		

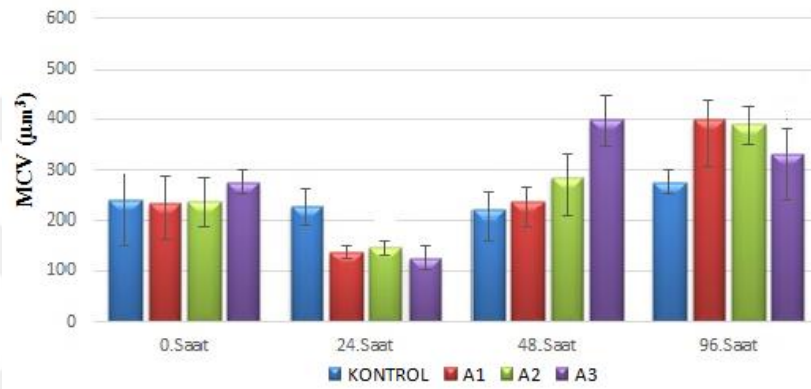
^{**}Çok önemli ($p < 0,01$), ^{*}Önemli ($p < 0,05$), Önemli değil ($p > 0,05$)

Çizelge 4.14. Ortalama eritrosit hacmine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

MCV	
GRUP ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	241,557 ^a
A-1	251,516 ^a
A-2	264,032 ^a
A-3	283,558 ^a
Saat ^{**}	
0	246,192 ^b
24	159,193 ^c
48	285,254 ^b
96	350,024 ^a
Std. Hata	16,37

^{**}Çok önemli ($p < 0,01$), ^{*}Önemli ($p < 0,05$), ÖD: Önemli değil ($p > 0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Ortalama eritrosit hacimlerinin gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A3 grubunda $283,558 \mu\text{m}^3$ ve 96.saate $350,024 \mu\text{m}^3$ en yüksek değerler olurken, A1 grubunda $251,516 \mu\text{m}^3$ ve 24.saate $159,193 \mu\text{m}^3$ en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama eritrosit hacmi bakımından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$). Gün ve günxgrup interaksiyonu ise önemli bulunmuştur ($p<0,01$).



Şekil 4.6. Deneme gruplarına ait kan MCV düzeyleri (μm^3)

Ortalama eritrosit hacmi, kontrol grubuna oranla 24. saatte tüm konsantrasyonlarda azalma gösterirken 48 ve 96. saatte bir artış söz konusudur. A1 uygulama grubunda kontrol $231,90 \pm 68,22 \mu\text{m}^3$ iken uygulamadan sonra 24. saatte $136,97 \pm 12,60 \mu\text{m}^3$, 48. saatte $236,30 \pm 48,71 \mu\text{m}^3$ ve 96. saatte $400,90 \pm 92,52 \mu\text{m}^3$ olarak değişiklik göstermiştir.

A2 grubunda kontrol $236,29 \pm 47,00 \mu\text{m}^3$ iken 24. saatte $146,25 \pm 13,53 \mu\text{m}^3$, 48. saatte $284,75 \pm 77,31 \mu\text{m}^3$ ve 96. saatte $388,84 \pm 37,5 \mu\text{m}^3$ olarak değerler 24. saatte azalış gösterdikten sonra 48 ve 96. saatte artış göstermiştir. A3 grubunda kontrol $276,02 \pm 23,24 \mu\text{m}^3$ iken uygulamadan sonra 24. saatte $126,33 \pm 23,47 \mu\text{m}^3$, 48. saatte $397,92 \pm 50,13 \mu\text{m}^3$ ve 96. saatte $333,96 \pm 93,37 \mu\text{m}^3$ olarak değişmiştir.

4.1.8. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (OHM-MCH)

Hemoglobin konsantrasyonu ve eritrosit sayılarının oranından faydalanılarak hesaplanmaktadır. Çizelge 4.15'te OHM değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.16'da en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.8'de OHM düzeyleri ise verilmiştir.

Çizelge 4.15. OHM değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	304,641	9,420	0,000**
Gün	3	797,858	24,672	0,000**
Grup x Gün	9	144,893	4,481	0,001**
Hata	32	32,338		

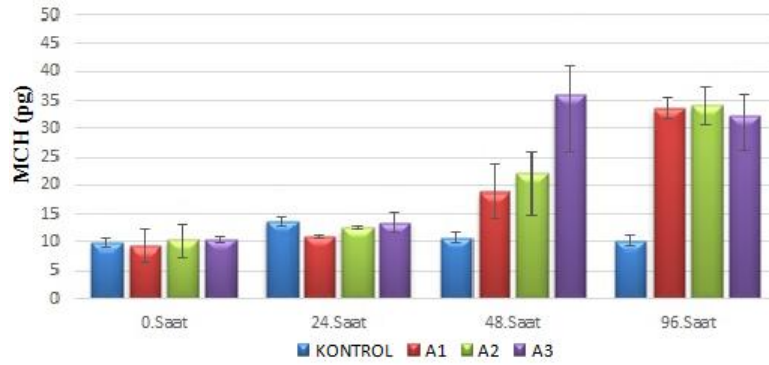
**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), Önemli değil ($p>0,05$)

Ortalama hemoglobin miktarının gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A3 grubunda 23,080 pg ve 96.saate 27,560 pg en yüksek değerler olurken, A1 grubunda 18,25 pg ve 24.saate 12,719 pg en düşük değerler olarak belirlenmiştir. OHM miktarı bakımından grup, gün ve günxgrup interaksyonu arasındaki fark çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.16. OHM-MCH ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

MCH	
Grup **	ORTALAMA
Kontrol	11,137 ^b
A-1	18,25 ^{8a}
A-2	19,793 ^a
A-3	23,080 ^a
Saat **	
0	9,988 ^c
24	12,719 ^c
48	22,001 ^b
96	27,560 ^a
Std. Hata	1,64

**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), ÖD: Önemli değil ($p>0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.7. Deneme gruplarına ait kan MCH düzeyleri (pg)

A1 uygulama grubunda kontrol $9,45 \pm 2,83$ pg iken uygulamadan sonra 24. saatte $11,03 \pm 0,27$ pg, 48. saatte $19,02 \pm 4,72$ pg ve 96. saatte $33,54 \pm 14,52$ pg olarak artış göstermiştir. A2 grubunda kontrol $10,31 \pm 2,92$ pg iken 24. saatte $12,58 \pm 0,24$ pg, 48. saatte $22,20 \pm 7,43$ pg ve 96. saatte $34,08 \pm 3,40$ pg olarak değerler artış göstermiştir. A3 grubunda ise kontrol $10,37 \pm 0,64$ pg iken 24. saatte $13,52 \pm 1,86$ pg, 48. saatte $36,01 \pm 10,10$ pg ve 96. saatte $32,41 \pm 6,17$ pg olarak değişiklik meydana gelmiştir.

4.1.9. Eritrosit başına düşen ort. hemoglobin konsantrasyonu (EOHK-MCHC)

Eritrositlerin yapısında bulunan hemoglobin yoğunluğunu ifade etmek için kullanılmaktadır. Çizelge 4.17’de EOHK değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.18’de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.9’da EOHK düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.17. EOHK değerine ait varyans analiz tablosu.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	27,505	20,425	0,000**
Gün	3	41,917	31,128	0,000**
Grup x Gün	9	5,141	3,818	0,002**
Hata	32	1,347		

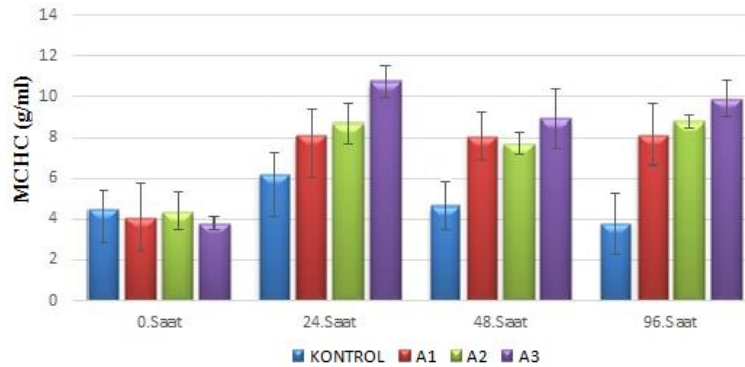
**Çok önemli ($p < 0,01$), *Önemli ($p < 0,05$), Önemli değil ($p > 0,05$)

Ortalama hemoglobin konsantrasyonlarının gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında A3 grubunda 8,337 g/ml ve 24.saate 8,432 g/ml en yüksek değerler olurken, A1 grubunda 7,094 g/ml ve 48.saate 7,332 g/ml en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama hemoglobin konsantrasyonu bakımından gruplar arasındaki fark istatistikî olarak çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.18. EOHK ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

MCH	
Grup **	ORTALAMA
Kontrol	4,769 ^c
A-1	7,094 ^b
A-2	7,380 ^{ab}
A-3	8,337 ^a
Saat **	
0	4,179 ^c
24	8,432 ^a
48	7,332 ^b
96	7,636 ^{ab}
Std. Hata	0,335

**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), ÖD: Önemli değil ($p>0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.8. Deneme gruplarına ait kan MCHC düzeyleri (g/ml)

A1 uygulama grubunda kontrol 4,08±0,23 g/ml iken uygulamadan sonra 24. saatte 8,11±0,93 g/ml, 48. saatte 8,06±1,22 g/ml ve 96. saatte 8,14±1,66 g/ml olarak artış belirlenmiştir. A2 grubunda kontrol 4,39±0,92 g/ml iken 24. saatte 8,67±1,00 g/ml, 48. saatte 7,70±0,53 g/ml ve 96. saatte 8,76±0,29 g/ml olarak değerler artış göstermiştir. A3 grubunda ise kontrol 3,77±0,33 g/ml iken 24. saatte 10,77±0,77 g/ml, 48. saatte

8,93±1,44 g/ml ve 96. saatte 9,87±0,88 g/ml olarak değişmiştir. Gün ve grupxgün interaksyonu istatistikî olarak çok önemli bulunmuştur (p<0,01).

4.2. Kronik Uygulamaya Ait Hematolojik Parametreler

4.2.1. Hemoglobin miktarı

Çizelge 4.19'da hemoglobin değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.20'de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.10'da hemoglobin düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.19. Hemoglobin değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	0,839	1,922	0,146 ^{ÖD}
Gün	3	21,569	49,442	0,000 ^{**}
Grup x Gün	9	4,393	10,070	0,000 ^{**}
Hata	32	0,436		

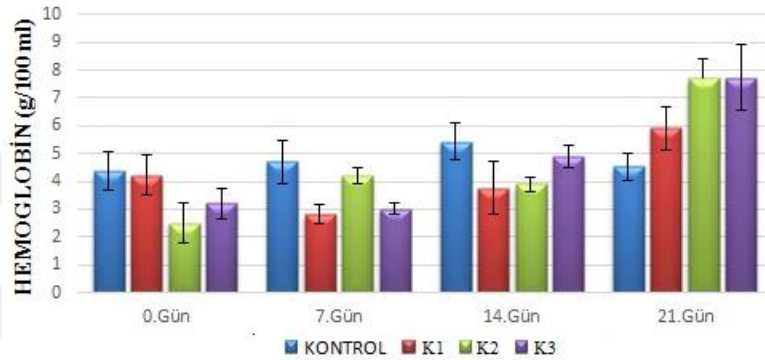
^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), ^{ÖD}Önemli değil (p>0,05)

Çizelge 4.20. Hemoglobin miktarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (g/100ml)

HEMOGLOBİN	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	4,758 ^a
K-1	4,175 ^a
K-2	4,575 ^a
K-3	4,708 ^a
Saat^{**}	
0	3,575 ^c
7	3,675 ^c
14	4,500 ^b
21	6,467 ^a
Std. Hata	0,191

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), ^{ÖD}: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Hemoglobin seviyesinin gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K3 grubunda 4,708 g/100 ml ve 21.günde 6,467 g/100 ml en yüksek değerler olurken, K1 grubunda 4,175 g/100 ml ve 7.günde 3,675 g/100 ml en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Hemoglobin değerleri bakımından gruplar arasındaki fark önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Gün ve grupxgün interaksyonu ise istatistikî olarak çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).



Şekil 4.9. Deneme gruplarına ait kan hemoglobin düzeyleri (g/100ml)

Hemoglobin değerleri, kontrol grubuna oranla başlangıç ve 21.günler arasında artış söz göstermiştir. K1 uygulanan grupta, kontrol 4,23±0,70 g/100 ml iken uygulamadan sonra 7.günde 2,80±0,34 g/100 ml, 14.günde 3,77±0,95 g/100 ml ve 21.günde 5,90±0,79 g/100 ml olarak değişmiştir. Değerlerde 7.günde azalma olsa da genel olarak artış belirlenmiştir. K2 uygulama grubunda kontrol 2,50±0,70 g/100 ml iken uygulamadan sonra 7.günde 4,20±0,26 g/100 ml, 14.günde 3,90±0,26 g/100 ml ve 21.günde 7,70±0,70 g/100 ml olarak değerlerde artış belirlenmiştir. K3 uygulama grubunda kontrol 3,20±0,52 g/100 ml iken uygulamadan sonra 7.günde 3,00±0,20 g/100 ml, 14.günde 4,90±0,40 g/100 ml ve 21.günde 7,73±1,19 g/100 ml olarak değerlerde artış belirlenmiştir.

4.2.2. Hematokrit değerleri

Çizelge 4.21’de hematokrit değerine ait varyans analiz tablosu ve Çizelge 4.22’de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları verilmiştir.

Çizelge 4.21. Hematokrit değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	146,866	2,220	0,105 ^{ÖD}
Gün	3	648,436	9,801	0,000 ^{**}
Grup x Gün	9	51,945	0,785	0,632 ^{ÖD}
Hata	32	66,161		

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0,05)

Çizelge 4.22. Hematokrit miktarına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

HEMATOKRİT	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	62,667 ^a
K-1	57,333 ^{ab}
K-2	57,083 ^{ab}
K-3	54,292 ^b
Saat^{**}	
0	63,625 ^a
7	62,958 ^a
14	57,042 ^a
21	47,750 ^b
Std. Hata	2,348

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Hematokrit seviyesinin gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K1 grubunda 57,333 ve 7.günde 62,958 en yüksek değerler olurken, K3 grubunda 54,292 ve 21.günde 47,750 en düşük değerler olarak belirlenmiştir. hematokrit seviyesi bakımından gruplar arasındaki fark önemli bulunmamıştır (p>0,05). Hematokrit seviyesi sadece günü göre meydana gelen değişimlerde istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur (p<0,01).

K1 uygulama grubunda kontrol 68,17±19,27 iken uygulamadan sonra 7.günde 60,67±3,81, 14.günde 58,50±6,87 ve 21.günde 42,00±5,56 olarak değerlerde azalma belirlenmiştir. K2 uygulama grubunda kontrol 62,00±8,67 iken uygulamadan sonra 7.günde 63,17±6,29, 14.günde 57,17±6,33 ve 21.günde 46,00±7,00 olarak değerlerde azalış belirlenmiştir. K3 uygulama grubunda kontrol 54,67±3,32 iken uygulamadan sonra 7.günde 62,83±6,25, 14.günde 50,00±4,58 ve 21.günde 49,67±11,59 olarak ölçülen değerlerde genel itibariyle azalış belirlenmiştir.

4.2.3. Eritrosit çökme hızı (Sedimentasyon)

Çizelge 4.23’de sedimentasyon değerine ait varyans analiz tablosu ve Çizelge 4.24’te en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları verilmiştir.

Çizelge 4.23. Sedimentasyon değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	1,130	4,094	0,014**
Gün	3	0,227	0,824	0,490 ^{ÖD}
Grup x Gün	9	0,311	1,126	0,374 ^{ÖD}
Hata	32	0,276		

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0,05)

Çizelge 4.24. Sedimentasyon çökme hızına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

SEDİMENTASYON	
Grup **	ORTALAMA
Kontrol	1,583 ^b
K-1	2,000 ^{ab}
K-2	1,958 ^{ab}
K-3	2,333 ^a
Saat^{ÖD}	
0	1,875 ^a
7	2,125 ^a
14	1,833 ^a
21	2,042 ^a
Std. Hata	0,152

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Sedimentasyon seviyelerinin gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K3 grubunda 2,333 mm/saat ve 7.günde 2,125 mm/saat en yüksek değerler olurken, K2 grubunda 1,958 mm/saat ve 14.günde 1,833 mm/saat en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Sedimentasyon değerleri bakımından gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur (p<0,01). Ancak gün ve grupxgün interaksyonu ise istatistikî olarak önemli bulunmamıştır (p>0,05).

K1 uygulama grubunda kontrol $2,00 \pm 0,50$ mm/saat iken uygulamadan sonra 7.günde $2,50 \pm 0,50$ mm/saat, 14.günde $1,50 \pm 0,00$ mm/saat ve 21.günde $2,00 \pm 0,50$ mm/saat olarak belirlenmiştir. K2 uygulama grubunda kontrol $2,00 \pm 0,50$ mm/saat iken uygulamadan sonra 7.günde $1,83 \pm 1,15$ mm/saat, 14.günde $2,00 \pm 0,50$ mm/saat ve 21.günde $2,00 \pm 0,50$ mm/saat olarak değerler belirlenmiştir. K3 uygulama grubunda kontrol $2,00 \pm 0,50$ mm/saat iken uygulamadan sonra 7.günde $2,17 \pm 0,28$ mm/saat, 14.günde $2,33 \pm 0,28$ mm/saat ve 21.günde $2,83 \pm 0,57$ mm/saat şeklinde değişiklikler belirlenmiştir.

4.2.4. Eritrosit sayısı (ES)

Çizelge 4.25’de eritrosit değerine ait varyans analiz tablosu ve Çizelge 4.26’da en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları verilmiştir.

Çizelge 4.25. Eritrosit değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	21,559	0,971	0,419 ^{ÖD}
Gün	3	54,797	2,468	0,080 ^{ÖD}
Grup x Gün	9	19,579	0,882	0,551 ^{ÖD}
Hata	32	22,206		

* Önemli ($p < 0,05$), ** Çok önemli ($p < 0,01$), ÖD: önemli değil ($p > 0,01$)

Çizelge 4.26. Eritrosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

ERİTROSİT	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	2,583 ^a
K-1	5,667 ^a
K-2	3,225 ^a
K-3	3,467 ^a
Saat^{ÖD}	
0	2,317 ^{ab}
7	1,750 ^b
14	6,425 ^a
21	4,450 ^{ab}
Std. Hata	1,36

**Çok önemli ($p < 0,01$), *Önemli ($p < 0,05$), ÖD: Önemli değil ($p > 0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Eritrosit sayısının gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K1 grubunda $5,667 \times 10^6/\text{mm}^3$ ve 14.günde $6,425 \times 10^6/\text{mm}^3$ en yüksek değerler olurken, K2 grubunda $3,225 \times 10^6/\text{mm}^3$ ve 7.günde $1,750 \times 10^6/\text{mm}^3$ en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama eritrosit sayısı bakımından gruplar arasındaki fark, gün ve grupxgün interaksyonları önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

K1 uygulama grubunda kontrol $2,47 \pm 0,030 \times 10^6/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 7.günde $1,50 \pm 0,10 \times 10^6/\text{mm}^3$ meydana gelen azalış, 14.günde $3,80 \pm 0,79 \times 10^6/\text{mm}^3$ ve 21.günde $4,90 \pm 0,55 \times 10^6/\text{mm}^3$ olarak artış göstermiştir. K2 grubunda kontrol $2,47 \pm 0,49 \times 10^6/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 7.günde $1,27 \pm 0,05 \times 10^6/\text{mm}^3$, 14.günde $4,37 \pm 0,15 \times 10^6/\text{mm}^3$ ve 21.günde $4,80 \pm 0,34 \times 10^6/\text{mm}^3$ olarak değerlerde artış belirlenmiştir. K3 uygulama grubunda kontrol $2,07 \pm 0,20 \times 10^6/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 7.günde $1,60 \pm 0,26 \times 10^6/\text{mm}^3$, 14.günde $4,93 \pm 0,49 \times 10^6/\text{mm}^3$ ve 21.günde $5,27 \pm 0,64 \times 10^6/\text{mm}^3$ olarak değişmiştir.

4.2.5. Lökosit sayısı (LS)

Çizelge 4.27’de lökosit değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.28’de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.11’te lökosit düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.27. Lökosit değerine ait varyans analiz tablosu.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	3,034	10,049	0,000**
Gün	3	27,759	91,956	0,000**
Grup x Gün	9	3,285	10,883	0,000**
Hata	32	0,302		

* Önemli ($p<0,05$), ** Çok önemli ($p<0,01$), ÖD: önemli değil ($p>0,01$)

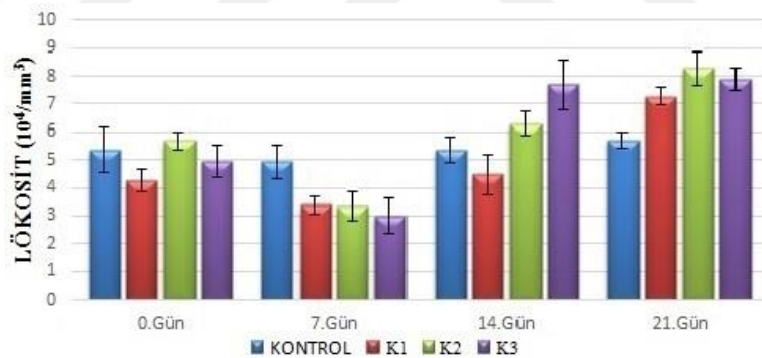
Lökosit sayısının gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K2 grubunda $5,892 \times 10^4/\text{mm}^3$ ve 21.günde $7,275 \times 10^4/\text{mm}^3$ en yüksek değerler olurken, K1 grubunda $4,842 \times 10^4/\text{mm}^3$ ve 7.günde $3,658 \times 10^4/\text{mm}^3$ en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama

lökosit sayısı bakımından gruplar arasındaki fark, gün ve grupxgün interaksiyonları çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.28. Lökosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

ERİTROSİT	
Grup **	ORTALAMA
Kontrol	5,342 ^b
K-1	4,842 ^c
K-2	5,892 ^a
K-3	5,883 ^a
Saat **	
0	5,067 ^c
7	3,658 ^d
14	5,958 ^b
21	7,275 ^a
Std. Hata	0,159

**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), ÖD: Önemli değil ($p>0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.10. Deneme gruplarına ait kan lökosit düzeyleri (10⁴/mm³)

K1 uygulama grubunda kontrol $4,27\pm0,41$ 10⁴/mm³ iken uygulamadan sonra 7.günde $3,37\pm0,32$ 10⁴/mm³, 14.günde $4,47\pm0,70$ 10⁴/mm³ ve 21.günde $7,27\pm0,32$ 10⁴/mm³ olarak değişiklik göstermiştir. K2 uygulanan grupta kontrol $5,67\pm0,30$ 10⁴/mm³, 7.günde $3,33\pm0,50$ 10⁴/mm³, 14.günde $6,30\pm0,45$ 10⁴/mm³ ve 21.günde $8,27\pm0,61$ 10⁴/mm³ olarak değerler belirlenmiştir. K3 uygulama grubunda kontrol $4,97\pm0,56$ 10⁴/mm³ iken uygulamadan sonra 7.günde $3,00\pm0,65$ 10⁴/mm³, 14.günde $7,70\pm0,88$ 10⁴/mm³ ve 21.günde $7,87\pm0,41$ 10⁴/mm³ olarak değerler belirlenmiştir.

4.2.6. Trombosit sayısı (TS)

Çizelge 4.29’da trombosit değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.30’da en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.12’de trombosit düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.29. Trombosit değerine ait varyans analiz tablosu

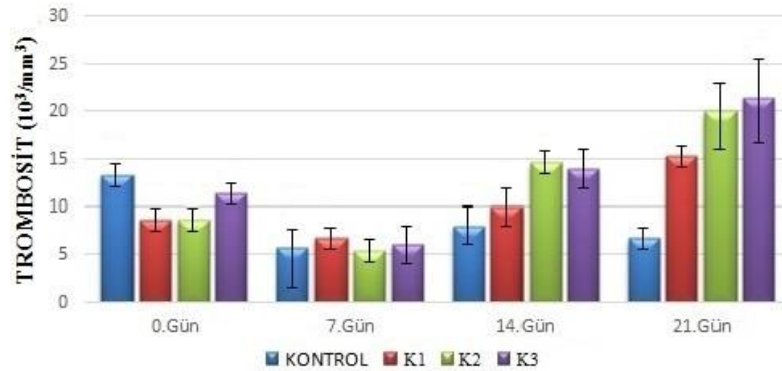
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	53,687	10,518	0,000**
Gün	3	199,576	39,101	0,000**
Grup x Gün	9	41,762	8,182	0,000**
Hata	32	5,104		

* Önemli ($p < 0,05$), ** Çok önemli ($p < 0,01$), ÖD: önemli değil ($p > 0,01$)

Çizelge 4.30. Trombosit sayısına ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

TROMBOSİT	
Grup **	ORTALAMA
Kontrol	8,417 ^b
K-1	10,167 ^b
K-2	12,167 ^a
K-3	13,167 ^a
Saat **	
0	10,500 ^b
7	5,917 ^c
14	11,667 ^b
21	15,833 ^a
Std. Hata	0,652

**Çok önemli ($p < 0,01$), *Önemli ($p < 0,05$), ÖD: Önemli değil ($p > 0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.11.Deneme gruplarına ait kan trombosit düzeyleri (10³/mm³)

Trombosit sayısı gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K3 grubunda $13,167 \times 10^3/\text{mm}^3$ ve 21.günde $15,833 \times 10^3/\text{mm}^3$ en yüksek değerler olurken, K1 grubunda $10,167 \times 10^3/\text{mm}^3$ ve 7.günde $5,917 \times 10^3/\text{mm}^3$ en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Ortalama trombosit sayısı bakımından gruplar arasındaki fark, gün ve grupxgün interaksyonları çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

K1 uygulama grubunda kontrol $8,67 \pm 1,15 \times 10^3/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 7.günde $6,67 \pm 1,15 \times 10^3/\text{mm}^3$, 14.günde $10,00 \pm 2,00 \times 10^3/\text{mm}^3$ ve 21.günde $15,33 \pm 1,15 \times 10^3/\text{mm}^3$ olarak artış göstermiştir. K2 uygulama grubunda kontrol $8,67 \pm 1,15 \times 10^3/\text{mm}^3$, 7.günde $5,33 \pm 1,15 \times 10^3/\text{mm}^3$, 14.günde $14,67 \pm 1,15 \times 10^3/\text{mm}^3$ ve 21.günde $20,00 \pm 4,00 \times 10^3/\text{mm}^3$ olarak değerler artış göstermiştir. K3 uygulama grubunda kontrol $11,33 \pm 1,15 \times 10^3/\text{mm}^3$ iken uygulamadan sonra 7.günde $6,00 \pm 2,00 \times 10^3/\text{mm}^3$, 14.günde $14,00 \pm 2,00 \times 10^3/\text{mm}^3$ ve 21.günde $21,33 \pm 4,61 \times 10^3/\text{mm}^3$ olarak değişmiştir.

4.2.7. Ortalama eritrosit hacmi (OEH-MCV)

Çizelge 4.31’de OEH değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.32’de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.13’te OEH düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.31. Ortalama eritrosit hacmi değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	3195,123	0,935	0,435 ^{ÖD}
Gün	3	186806,847	54,646	0,000 ^{**}
Grup x Gün	9	16085,273	4,705	0,001 ^{**}
Hata	32	3418,519		

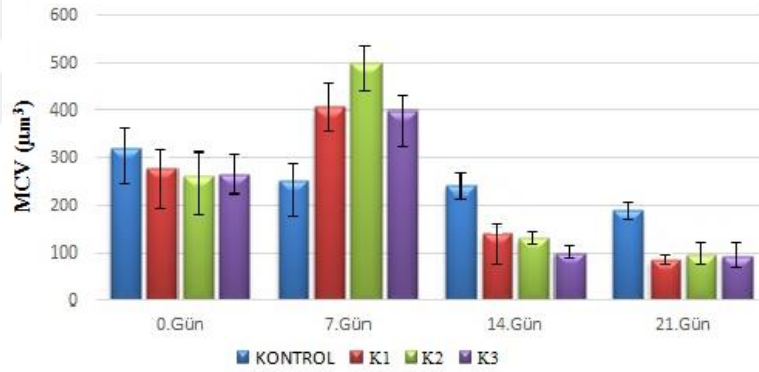
* Önemli ($p<0,05$), ** Çok önemli ($p<0,01$), ÖD: önemli değil ($p>0,01$)

Ortalama eritrosit hacimlerinin gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K2 grubunda $247,136 \mu\text{m}^3$ ve 7.günde $389,775 \mu\text{m}^3$ en yüksek değerler olurken, K3 grubunda $216,108 \mu\text{m}^3$ ve 21.günde $116,713 \mu\text{m}^3$ en düşük değerler olarak belirlenmiştir. Gün ve grup x gün interaksyonları çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.32. Ortalama eritrosit hacmine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

MCV	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	250,815 ^a
K-1	228,232 ^a
K-2	247,136 ^a
K-3	216,108 ^a
Saat ^{**}	
0	281,821 ^b
7	389,775 ^a
14	153,982 ^c
21	116,713 ^c
Std. Hata	16,88

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.12. Deneme gruplarına ait kan OEH düzeyleri (µm³)

Uygulama ve kontrol grubu kıyaslandığı zaman 7. günde tüm konsantrasyonlarda azalma olurken 14 ve 21.günde kontrole göre artış söz konusudur. K1 grubunda kontrol 278,68±84,37 µm³ iken uygulamadan sonra 7.günde 406,76±52,08 µm³, 14.günde 141,52±15,85 µm³ ve 21.günde 85,97±10,50 µm³ olarak belirlenmiştir. K2 uygulama grubunda kontrol 261,22±80,61 µm³, 7.günde 499,57±56,26 µm³, 14.günde 130,84±12,69 µm³ ve 21.günde 96,91±22,44 µm³ olarak değerler ölçülmüştür. K3'te kontrol 267,29±41,40 µm³ iken uygulamadan sonra 7.günde 400,10±76,98 µm³, 14.günde 101,95±13,45 µm³ ve 21.günde 95,08±25,05 µm³ olarak değişmiştir.

4.2.8. Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobın miktarı (OHM-MCH)

Çizelge 4.33’de OHM değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.34’de en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.14’de OHM düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.33. OHM değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	48,836	3,014	0,044*
Gün	3	209,591	12,935	0,000**
Grup x Gün	9	88,796	5,480	0,000**
Hata	32	16,204		

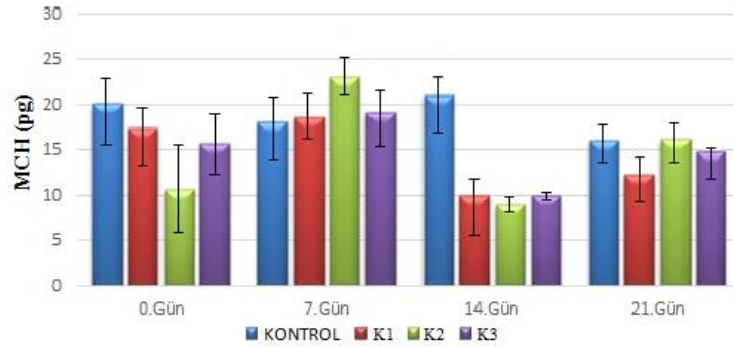
* Önemli ($p<0,05$), ** Çok önemli ($p<0,01$), ÖD: önemli değil ($p>0,01$)

Ortalama hemoglobın miktarının gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K2 grubunda 17,256 pg ve 7.günde 22,287 pg en yüksek değerler olurken, K1 grubunda 14,611 pg ve 14.günde 12,508 pg en düşük değerler olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak ortalama hemoglobın miktarı bakımından gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gün ve grupxgün etkileşimleri çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.34. OHM-MCH ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

MCH	
Grup *	ORTALAMA
Kontrol	18,859 ^a
K-1	14,611 ^b
K-2	17,256 ^{ab}
K-3	14,907 ^b
Saat **	
0	15,997 ^b
7	22,287 ^a
14	12,508 ^b
21	14,842 ^b
Std. Hata	1,16

**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), ÖD: Önemli değil ($p>0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.13. Deneme gruplarına ait kan OHM düzeyleri (pg)

K1 uygulama grubunda kontrol $17,44 \pm 4,12$ pg iken uygulamadan sonra 7. günde $18,72 \pm 2,54$ pg, 14. günde $10,02 \pm 8,46$ pg ve 21. günde $12,26 \pm 2,89$ pg olarak belirlenmiştir. K2 uygulama grubunda kontrol $10,74 \pm 4,87$ pg, 7. günde $33,18 \pm 2,10$ pg, 14. günde $8,95 \pm 0,88$ pg ve 21. günde $16,15 \pm 2,42$ pg olarak belirlenmiştir. K3 uygulama grubunda kontrol $15,65 \pm 3,41$ pg, 7.günde $19,17 \pm 3,83$ pg, 14.günde $9,95 \pm 0,42$ pg ve 21.günde $14,86 \pm 3,12$ pg olarak değişmiştir.

4.2.9. Eritrosit başına düşen ort. hemoglobin konsantrasyonu (EOHK-MCHC)

Çizelge 4.35’de EOHK değerine ait varyans analiz tablosu, Çizelge 4.36’da en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları ve Şekil 4.15’te EOHK düzeyleri verilmiştir.

Çizelge 4.35. EOHK değerine ait varyans analiz tablosu

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
Grup	3	4,934	2,475	0,079 ^{ÖD}
Gün	3	176,766	88,682	0,000 ^{**}
Grup x Gün	9	17,785	8,923	0,000 ^{**}
Hata	32	1,993		

* Önemli ($p < 0,05$), ** Çok önemli ($p < 0,01$) , ÖD: önemli değil ($p > 0,01$)

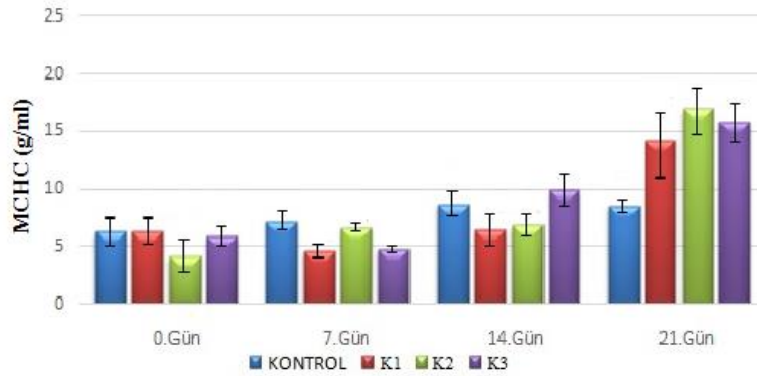
Ortalama hemoglobin konsantrasyonlarının gruplara ve zamana göre kıyaslanmasında K3 grubunda 9,075 g/ml ve 21.günde 13,873 g/ml en yüksek değerler olurken, K1 grubunda 7,928 g/ml ve 7.günde 5,834 g/ml en düşük değerler olarak belirlenmiştir.

Ortalama hemoglobin konsantrasyonu bakımından gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gün ve grupxgün interaksiyonları çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.36. EOHC ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları

MCHC	
Grup ^{ÖD}	ORTALAMA
Kontrol	7,687 ^b
K-1	7,928 ^{ab}
K-2	8,650 ^{ab}
K-3	9,075 ^a
Saat ^{**}	
0	5,664 ^c
7	5,834 ^c
14	7,970 ^b
21	13,873 ^a
Std. Hata	0,408

^{**}Çok önemli ($p<0,01$), ^{*}Önemli ($p<0,05$), ^{ÖD}: Önemli değil ($p>0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur



Şekil 4.14. Deneme gruplarına ait kan EOHC düzeyleri (g/ml)

K1 uygulama grubunda kontrol 6,37±1,13 g/ml iken uygulamadan sonra 7.günde 4,62±0,57 g/ml, 14.günde 6,42±1,31 g/ml ve 21.günde 14,29±3,35 g/ml olarak belirlenmiştir. K2 uygulama grubunda kontrol 4,14±1,46 g/ml, 7.günde 6,67±0,36 g/ml, 14.günde 6,88±0,94 g/ml ve 21.günde 16,91±2,29 g/ml olarak belirlenmiştir. K3 uygulama grubunda kontrol 5,85±0,87 g/ml, 7.günde 4,79±0,29 g/ml, 14.günde 9,87±1,35 g/ml ve 21.günde 15,79±1,65 g/ml olarak belirlenmiştir.

4.3. Akut Uygulamada Enzim Aktivitelerine İlişkin Sonuçlar

4.3.1. SOD enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar

Superoksit dismutaz (SOD) enzimi oksijen radikallerinin hidrojen peroksit dönüşümünü katalizlemektedir. Sonraki basamakta açığa çıkan hidrojen peroksit, katalaz enzimi ile tepkimeye girerek suya dönüşmektedir. SOD enziminin reaksiyondaki etkinliği, oksijen radikalının, daha tehlikeli olan hidroksil radikaline dönüşmesini engellemektir. Bu nedenle SOD, serbest radikallerin engellenmesinde ilk görevli antioksidan enzimdir (Van der oost *et al.* 2003). SOD enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.37’de, analiz verileri ise Çizelge 4.38’de verilmiştir.

Çizelge 4.37. SOD enzimine ait varyans analiz tablosu

SOD enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu					
SOLUNGAÇ	Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
	Grup	3	0,264	289,659	0,000**
	Gün	3	0,244	267,723	0,000**
	Grup x Gün	9	0,029	31,800	0,000**
KARACIĞ	Hata	32	0,112		
	Grup	3	0,006	6,808	0,001**
	Gün	3	0,004	4,298	0,012*
	Grup x Gün	9	0,005	5,131	0,000**
BÖBREK	Hata	32	0,098		
	Grup	3	0,005	8,803	0,000**
	Gün	3	0,022	37,761	0,000**
	Grup x Gün	9	0,013	21,684	0,000**
	Hata	32	0,127		

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0,05)

Çizelge 4.38. SOD enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)

SOD		
Grup **	ORTALAMA	STD. HATA
Kontrol	0,124 ^d	0,005
A-1	0,200 ^c	0,005
A-2	0,267 ^a	0,005
A-3	0,243 ^b	0,005
Saat **		
0	0,146 ^d	0,005
24	0,214 ^b	0,005
48	0,182 ^c	0,005
96	0,293 ^a	0,005
Doku **		
Solungaç	0,347 ^a	0,004
Karaciğer	0,133 ^c	0,004
Böbrek	0,146 ^b	0,004

**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), ÖD: Önemli değil ($p>0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

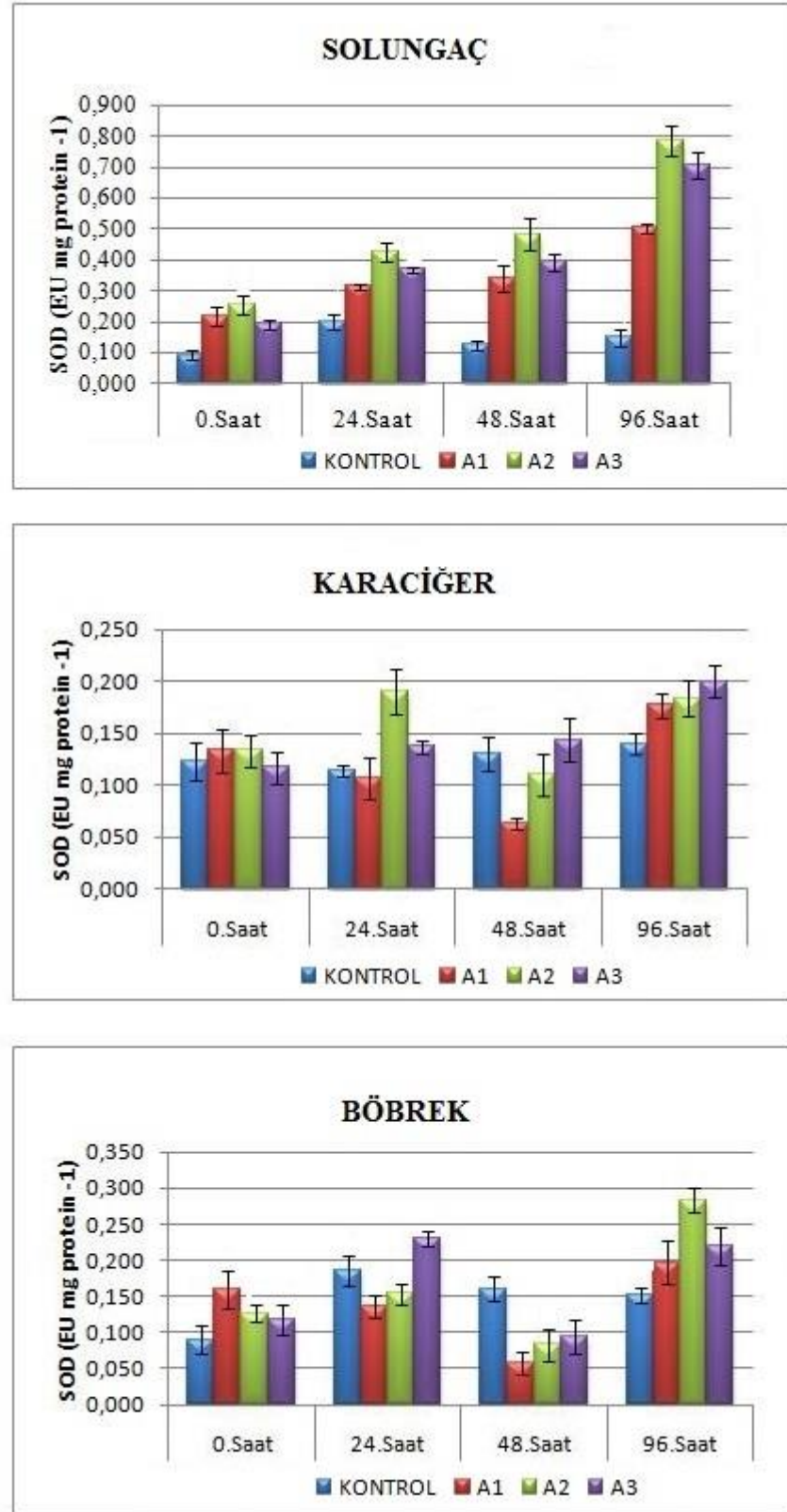
SOD enzim aktivitesinin alfa sipermetrin uygulanan gruplarda dokulara göre kıyaslanması yapıldığında 24. saat itibari ile en yüksek değer $0,427\pm0,031$ EU/mg protein ile A2 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,107\pm0,021$ EU/mg protein ile A1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1'de $0,310\pm0,012$ EU/mg protein olan değer A2'de $0,427\pm0,031$ EU/mg proteine yükselirken A3'te ise $0,370\pm0,010$ EU/mg proteine düşmüştür. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Karaciğer dokusunda benzer bir şekilde A1'de $0,107\pm0,021$ EU/mg protein A2'de $0,190\pm0,051$ EU/mg proteine yükselirken A3'te $0,137\pm0,006$ EU/mg proteine düşüş göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $0,137\pm0,015$ EU/mg protein, A2'de $0,153\pm0,015$ EU/mg protein ve A3'te $0,230\pm0,010$ EU/mg protein olarak sürekli bir artış belirlenmiştir (Çizelge 4.38). Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$)

48. saatte en yüksek değer $0,483\pm0,049$ EU/mg protein ile A2 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,057\pm0,015$ EU/mg protein ile A1 grubunda böbrek

dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1'de $0,340 \pm 0,043$ EU/mg protein olan değer A2'de $0,483 \pm 0,049$ EU/mg proteine yükselirken A3'te ise $0,393 \pm 0,029$ EU/mg protein miktarına düşmüştür. Karaciğer dokusunda A1'de $0,063 \pm 0,006$ EU/mg protein A2'de $0,110 \pm 0,020$ EU/mg proteine ve A3'te $0,143 \pm 0,021$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $0,057 \pm 0,015$ EU/mg protein, A2'de $0,083 \pm 0,032$ EU/mg protein ve A3'te $0,093 \pm 0,023$ EU/mg protein olarak sürekli bir artış belirlenmiştir (Çizelge 4.38). Solungaç, Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$)

Uygulamanın 96.saatinde en yüksek değer $0,783 \pm 0,049$ EU/mg protein ile A2 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,177 \pm 0,032$ EU/mg protein ile A1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1'de $0,503 \pm 0,015$ EU/mg protein olan değer A2'de $0,783 \pm 0,049$ EU/mg proteine yükselirken A3'te ise $0,707 \pm 0,040$ EU/mg proteine düşmüştür. Karaciğer dokusunda A1'de $0,177 \pm 0,032$ EU/mg protein A2'de $0,183 \pm 0,047$ EU/mg proteine ve A3'te $0,200 \pm 0,036$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $0,197 \pm 0,031$ EU/mg protein, A2'de $0,283 \pm 0,046$ EU/mg proteine artış belirlenirken A3'te $0,220 \pm 0,036$ EU/mg protein olarak düşüş belirlenmiştir (Çizelge 4.38).

A1 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,217 \pm 0,031$ EU/mg protein, 24.saatte $0,310 \pm 0,012$ EU/mg protein, 48. saatte $0,340 \pm 0,043$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,503 \pm 0,015$ EU/mg protein olarak, zamana bağlı değerlerde artış belirlenmiştir. A1 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,133 \pm 0,031$ EU/mg protein, 24.saatte $0,107 \pm 0,021$ EU/mg protein, 48. saatte $0,063 \pm 0,006$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,177 \pm 0,032$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24 ve 48. saatlerde düşüş meydana gelirken 96.saatte artış ölçülmüştür. A1 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,160 \pm 0,026$ EU/mg protein, 24.saatte $0,137 \pm 0,015$ EU/mg protein, 48. saatte $0,057 \pm 0,015$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,197 \pm 0,031$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24 ve 48. saatlerde düşüş meydana gelirken 96.saatte artış ölçülmüştür (Şekil 4.16).



Şekil 4.15. SOD enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi, *a ve b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

A2 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,253 \pm 0,031$ EU/mg protein, 24.saatte $0,427 \pm 0,031$ EU/mg protein, 48. saatte $0,483 \pm 0,049$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,783 \pm 0,049$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. A2 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,133 \pm 0,015$ EU/mg protein, 24.saatte $0,190 \pm 0,051$ EU/mg protein, 48. saatte $0,110 \pm 0,020$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,183 \pm 0,047$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24.saatte artış olurken 48. saatte düşüş ve 96.saatte tekrar artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir. A2 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,127 \pm 0,012$ EU/mg protein, 24.saatte $0,153 \pm 0,015$ EU/mg protein, 48. saatte $0,083 \pm 0,032$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,283 \pm 0,046$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24.saatte artış olurken 48. Saatte düşüş ve tekrar 96.saatte artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.16).

A3 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,193 \pm 0,015$ EU/mg protein, 24.saatte $0,370 \pm 0,010$ EU/mg protein, 48. saatte $0,393 \pm 0,029$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,707 \pm 0,040$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. A3 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,117 \pm 0,015$ EU/mg protein, 24.saatte $0,137 \pm 0,006$ EU/mg protein, 48. saatte $0,137 \pm 0,006$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,200 \pm 0,036$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir. A3 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,117 \pm 0,021$ EU/mg protein, 24.saatte $0,230 \pm 0,010$ EU/mg protein, 48. saatte $0,093 \pm 0,023$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,220 \pm 0,036$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24.saatte artış olurken 48. Saatte düşüş ve tekrar 96.saatte artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.16). Grup, gün, doku ve bunlar arasındaki interaksiyonlar istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$).

4.3.2. CAT enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar

Katalaz enzimi hücre içerisinde meydana gelen reaksiyonlar sonucunda yan ürün olarak açığa çıkan hidrojen peroksiti suya dönüştürmekle görevlidir. Bu sayede H_2O_2 'in hücredeki zararlı etkisi engellenmektedir.

CAT enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.39'da, analiz verileri ise Çizelge 4.40'da verilmiştir.

Çizelge 4.39. CAT enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu

CAT enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu					
SOLUNGAÇ	Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
	Grup	3	139,686	217,292	0,000**
	Gün	3	388,100	603,715	0,000**
	Grup x Gün	9	128,842	200,423	0,000**
	Hata	32	0,643		
KARACİĞER	Grup	3	5,161	21,533	0,000**
	Gün	3	13,660	56,990	0,000**
	Grup x Gün	9	7,154	29,845	0,000**
	Hata	32	0,240		
BÖBREK	Grup	3	19,974	72,502	0,000**
	Gün	3	37,104	134,683	0,000**
	Grup x Gün	9	3,406	12,362	0,000**
	Hata	32	0,275		

**Çok önemli ($p < 0,01$), *Önemli ($p < 0,05$), Önemli değil ($p > 0,05$)

Çizelge 4.40. CAT enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)

KATALAZ		
Grup **	ORTALAMA	STD. HATA
Kontrol	4,196 ^c	0,104
A-1	2,836 ^d	0,104
A-2	4,732 ^b	0,104
A-3	6,274 ^a	0,104
Saat **		
0	4,400 ^b	0,104
24	3,772 ^c	0,104
48	2,350 ^d	0,104
96	7,515 ^a	0,104
Doku **		
Solungaç	5,712 ^a	0,090
Karaciğer	2,790 ^c	0,090
Böbrek	5,026 ^b	0,090

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

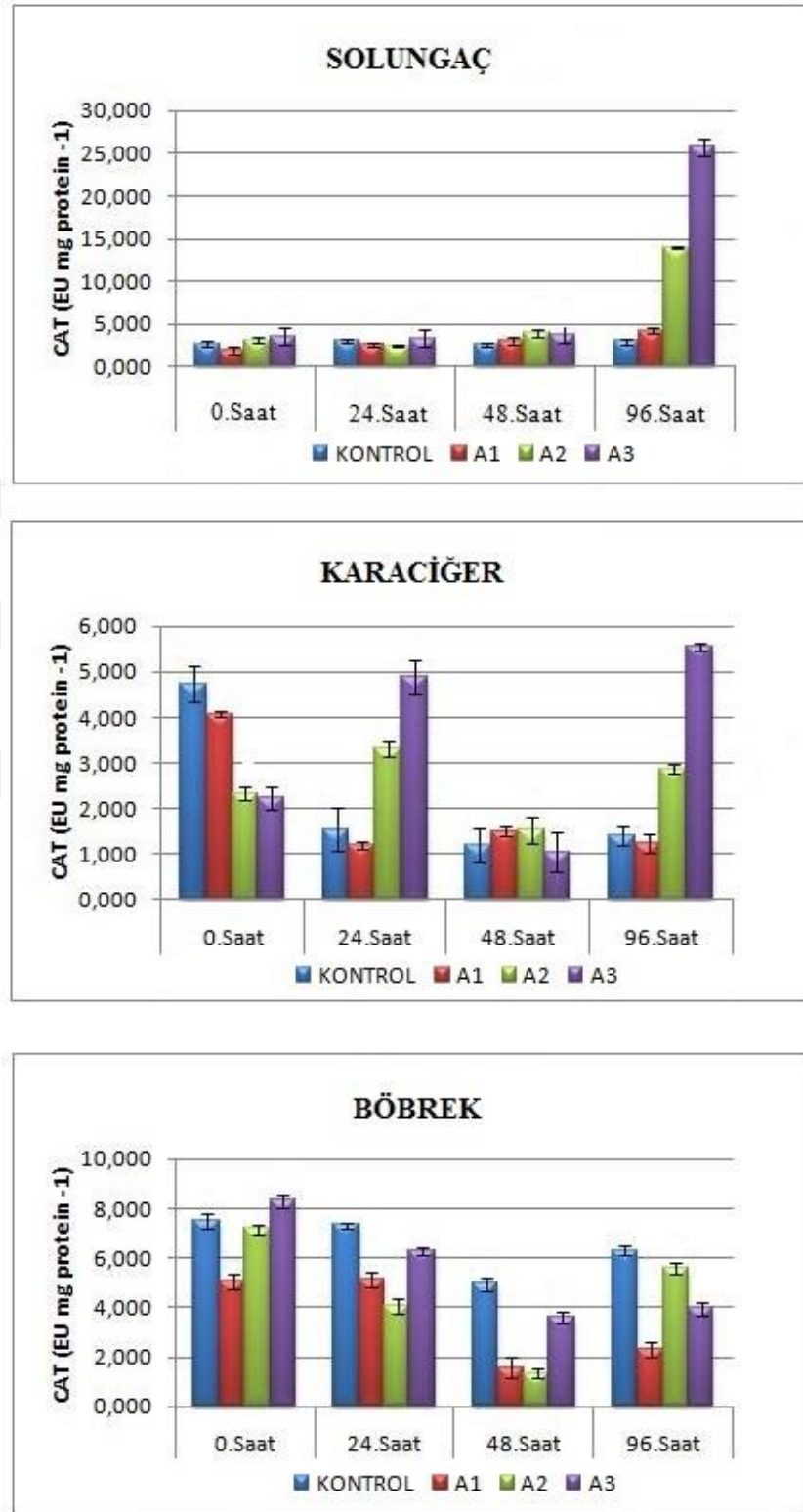
CAT enzim aktivitesinin alfa sipmetrin uygulanan gruplarda dokulara göre kıyaslanması yapıldığında 24. saat itibari ile en yüksek değer $6,267 \pm 0,321$ EU/mg protein ile A3 grubunda böbrek dokusunda, en düşük değer ise $1,200 \pm 0,200$ EU/mg protein ile A1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1'de $2,667 \pm 0,252$ EU/mg protein olan değer A2'de $2,500 \pm 0,361$ EU/mg proteine düşüş gösterirken A3'te ise $3,367 \pm 0,379$ EU/mg proteine yükselmiştir. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01). Karaciğer dokusunda enzim aktivitesi, A1'de $1,200 \pm 0,200$ EU/mg protein, A2'de $3,300 \pm 0,529$ EU/mg proteine ve A3'te $4,900 \pm 0,700$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $5,133 \pm 0,306$ EU/mg protein, A2'de $4,033 \pm 0,404$ EU/mg proteine azalış olurken A3'te ise $6,267 \pm 0,321$ EU/mg protein olarak bir artış belirlenmiştir (Çizelge 4.40). Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01).

48. saatte en yüksek değer $3,93 \pm 0,376$ EU/mg protein ile A2 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $1,050 \pm 0,111$ EU/mg protein ile A3 grubunda karaciğer

dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1'de $3,053 \pm 0,166$ EU/mg protein olan değer A2'de $3,93 \pm 0,376$ EU/mg proteine yükselirken A3'te ise $1,770 \pm 0,125$ EU/mg protein düşmüştür. Karaciğer dokusunda A1'de $1,497 \pm 0,160$ EU/mg protein A2'de $1,537 \pm 0,281$ EU/mg proteine artış gösterirken A3'te $1,050 \pm 0,111$ EU/mg proteine azalış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $1,570 \pm 0,311$ EU/mg protein, A2'de $1,343 \pm 0,211$ EU/mg proteine azalırken A3'te $3,583 \pm 0,245$ EU/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.40).

Uygulamanın 96.saatinde en yüksek değer $25,750 \pm 0,923$ EU/mg protein ile A3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $1,250 \pm 0,368$ EU/mg protein ile A1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür (Çizelge 4.40). Solungaç dokusunda A1'de $4,250 \pm 0,373$ EU/mg protein olan değer A2 'de $13,997 \pm 2,831$ EU/mg proteine ve A3'te ise $25,750 \pm 0,923$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda A1'de $1,250 \pm 0,368$ EU/mg protein A2'de $2,870 \pm 0,415$ EU/mg proteine ve A3'te $5,550 \pm 0,089$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $2,313 \pm 0,171$ EU/mg protein, A2'de $5,600 \pm 1,222$ EU/mg proteine artış belirlenirken A3'te $5,550 \pm 0,089$ EU/mg protein olarak düşüş belirlenmiştir (Çizelge 4.40).

A1 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $1,967 \pm 0,208$ EU/mg protein, 24.saatte $2,667 \pm 0,252$ EU/mg protein, 48. saatte $3,053 \pm 0,166$ EU/mg protein ve 96.saatte $4,250 \pm 0,373$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. A1 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $4,067 \pm 0,473$ EU/mg protein, 24.saatte $1,200 \pm 0,200$ EU/mg protein, 48. saatte $1,497 \pm 0,160$ EU/mg protein ve 96.saatte $1,250 \pm 0,368$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile düşüş meydana gelmiştir. A1 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $5,067 \pm 0,115$ EU/mg protein, 24.saatte $5,133 \pm 0,306$ EU/mg protein, 48. saatte $1,570 \pm 0,311$ EU/mg protein ve 96.saatte $2,313 \pm 0,171$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile azalış ölçülmüştür (Şekil 4.17). Değerlerde meydana gelen değişiklikler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.



Şekil 4.16. CAT enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi, *a ve b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

A2 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $3,167 \pm 0,252$ EU/mg protein, 24.saatte $2,500 \pm 0,361$ EU/mg protein, 48. saatte $3,93 \pm 0,376$ EU/mg protein ve 96.saatte $13,997 \pm 2,831$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde 24.saatte düşüş olurken sonrasında artış belirlenmiştir. A2 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $2,333 \pm 0,379$ EU/mg protein, 24.saatte $3,300 \pm 0,529$ EU/mg protein, 48. saatte $1,537 \pm 0,281$ EU/mg protein ve 96.saatte $2,870 \pm 0,415$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24.saatte artış olurken 48. saatte düşüş ve 96.saatte tekrar artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir. A2 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $7,167 \pm 0,666$ EU/mg protein, 24.saatte $4,033 \pm 0,404$ EU/mg protein, 48. saatte $1,343 \pm 0,211$ EU/mg protein ve 96.saatte $5,600 \pm 1,222$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24 ve 48. saatte azalma olurken 96.saatte tekrar artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında azalma belirlenmiştir (Şekil 4.17).

A3 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $3,567 \pm 0,416$ EU/mg protein, 24.saatte $3,367 \pm 0,379$ EU/mg protein, 48. saatte $1,770 \pm 0,125$ EU/mg protein ve 96.saatte $25,750 \pm 0,923$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde 48.saatte azalma olurken başlangıç ve 96.saat arasında artış belirlenmiştir. A3 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $2,233 \pm 0,208$ EU/mg protein, 24.saatte $4,900 \pm 0,700$ EU/mg protein, 48. saatte $1,050 \pm 0,111$ EU/mg protein ve 96.saatte $5,550 \pm 0,089$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir. A3 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $8,300 \pm 0,200$ EU/mg protein, 24.saatte $6,267 \pm 0,321$ EU/mg protein, 48. saatte $3,583 \pm 0,245$ EU/mg protein ve 96.saatte $3,957 \pm 0,578$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24 ve 48. saatte düşüş olurken tekrar 96.saatte düşük bir oranda artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında azalış belirlenmiştir (Şekil 4.17). Grup, gün, doku ve bunlar arasındaki interaksyonlar istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$).

4.3.3. GPx enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar

Hücredeki reaksiyonlar sonucu açığa çıkan hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasından sorumlu olup hücre içerisinde lipid peroksidasyonunu engelleyen en önemli enzimdir. Ayrıca diğer serbest radikallerin engellenmesinde de görev aldığı için en önemli enzimdir (Cheesman and Slater 1993).

GPx enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.41’de ve analiz verileri Çizelge 4.42’de verilmiştir.

Çizelge 4.41. GPx enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu

GPx enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu					
SOLUNGAC	Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
	Grup	3	0,781	55,106	0,000**
	Gün	3	6,696	472,176	0,000
	Grup x Gün	9	0,375	26,439	0,000**
	Hata	32	0,114		
KARACİĞER	Grup	3	0,570	25,582	0,000**
	Gün	3	0,242	10,874	0,000**
	Grup x Gün	9	0,155	6,967	0,000**
	Hata	32	0,122		
BÖBREK	Grup	3	0,266	12,003	0,000**
	Gün	3	0,270	12,187	0,000**
	Grup x Gün	9	0,296	13,364	0,000**
	Hata	32	0,122		

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0,05)

Çizelge 4.42. GPx enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)

GPx		
Grup **	ORTALAMA	STD. HATA
Kontrol	0,401 ^d	0,023
A-1	0,581 ^c	0,023
A-2	0,647 ^b	0,023
A-3	0,827 ^a	0,023
Saat **		
0	0,384 ^c	0,023
24	0,394 ^c	0,023
48	0,648 ^b	0,023
96	1,030 ^a	0,023
Doku **		
Solungaç	0,781 ^a	0,020
Karaciğer	0,438 ^c	0,020
Böbrek	0,622 ^b	0,020

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

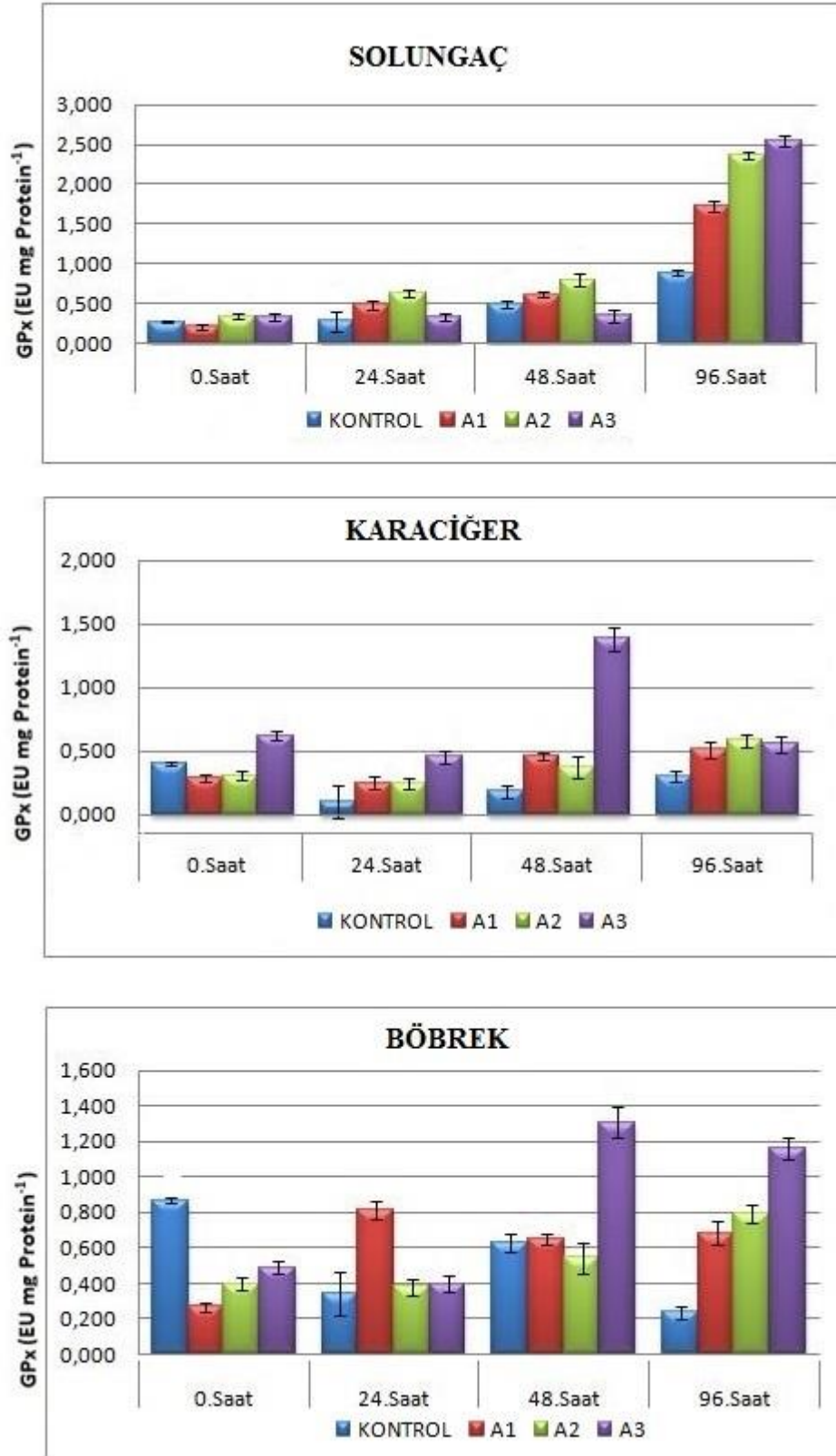
GPx enzim aktivitesinin alfa sipermetrin uygulanan gruplarda dokulara göre kıyaslanması yapıldığında 24. saat itibari ile en yüksek değer $0,813 \pm 0,127$ EU/mg protein ile A1 grubunda böbrek dokusunda, en düşük değer ise $0,243 \pm 0,045$ EU/mg protein ile A2 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1'de $0,487 \pm 0,065$ EU/mg protein olan değer A2'de $0,637 \pm 0,050$ EU/mg proteine artış gösterirken A3'te ise $0,333 \pm 0,060$ EU/mg proteine azalmıştır. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01). Karaciğer dokusunda enzim aktivitesi, A1'de $0,250 \pm 0,201$ EU/mg protein, A2'de $0,243 \pm 0,045$ EU/mg proteine düşerken A3'te $0,453 \pm 0,095$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $0,813 \pm 0,127$ EU/mg protein, A2'de $0,383 \pm 0,030$ EU/mg proteine azalış olurken A3'te ise $0,397 \pm 0,069$ EU/mg protein olarak bir artış belirlenmiştir (Çizelge 4.42). Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01)

48. saatte en yüksek değer $1,380 \pm 0,356$ EU/mg protein ile A3 grubunda karaciğer

dokusunda, en düşük değer ise $0,350\pm0,056$ EU/mg protein ile A3 grubunda solungaç dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1’de $0,613\pm0,081$ EU/mg protein olan değer A2’de $0,797\pm0,101$ EU/mg proteine yükselirken A3’te ise $0,350\pm0,056$ EU/mg protein dştmştr. Karaciğer dokusunda A1’de $0,463\pm0,090$ EU/mg protein A2’de $0,370\pm0,163$ EU/mg proteine azalış gösterirken A3’te $1,380\pm0,356$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1’de $0,647\pm0,345$ EU/mg protein, A2’de $0,543\pm0,307$ EU/mg proteine azalırken A3’te $1,307\pm0,256$ EU/mg protein olarak artış belirlenmiştir (izelge 4.42).

Uygulamanın 96.saatinde en yüksek değer $2,543\pm0,097$ EU/mg protein ile A3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,510\pm0,127$ EU/mg protein ile A1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür (izelge 4.39). Solungaç dokusunda A1’de $1,730\pm0,298$ EU/mg protein olan değer A2 ‘de $2,370\pm0,262$ EU/mg proteine ve A3’te ise $2,543\pm0,097$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda A1’de $0,510\pm0,127$ EU/mg protein A2’de $0,583\pm0,311$ EU/mg proteine ve A3’te $1,553\pm0,055$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1’de $0,683\pm0,095$ EU/mg protein, A2’de $0,797\pm0,035$ EU/mg protein ve A3 ’te $1,160\pm0,085$ EU/mg protein olarak artış belirlenmiştir (izelge 4.42).

A1 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,217\pm0,029$ EU/mg protein, 24.saatte $0,487\pm0,065$ EU/mg protein, 48. saatte $0,613\pm0,081$ EU/mg protein ve 96.saatte $1,730\pm0,298$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. A1 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,290\pm0,053$ EU/mg protein, 24.saatte $0,250\pm0,201$ EU/mg protein, 48. saatte $0,463\pm0,090$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,510\pm0,127$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24.saatte düşüş meydana gelirken sonrasında artış belirlenmiştir. A1 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,267\pm0,031$ EU/mg protein, 24.saatte $0,813\pm0,127$ EU/mg protein, 48. saatte $0,647\pm0,345$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,683\pm0,095$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24. saatteki artış, 48 ve 96.saatlerde azalmış olsa da genel itibari ile artış ölçülmüştür (şekil 4.18).



Şekil 4.17. GPx enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi, *a ve b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

A2 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,340 \pm 0,036$ EU/mg protein, 24.saatte $0,637 \pm 0,050$ EU/mg protein, 48. saatte $0,797 \pm 0,101$ EU/mg protein ve 96.saatte $2,370 \pm 0,262$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. A2 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,303 \pm 0,046$ EU/mg protein, 24.saatte $0,243 \pm 0,045$ EU/mg protein, 48. saatte $0,370 \pm 0,163$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,583 \pm 0,311$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24.saatte azalış meydana gelirken 48. ve 96.saatte artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir. A2 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,397 \pm 0,083$ EU/mg protein, 24.saatte $0,383 \pm 0,030$ EU/mg protein, 48. saatte $0,543 \pm 0,307$ EU/mg protein ve 96.saatte $0,797 \pm 0,035$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24. azalma olurken 48. ve 96.saatte artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.18).

A3 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,337 \pm 0,035$ EU/mg protein, 24.saatte $0,333 \pm 0,060$ EU/mg protein, 48. saatte $0,350 \pm 0,056$ EU/mg protein ve 96.saatte $2,543 \pm 0,097$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde 24.saatte azalma olurken 48. ve 96.saat arasında artış belirlenmiştir. A3 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,620 \pm 0,046$ EU/mg protein, 24.saatte $0,453 \pm 0,095$ EU/mg protein, 48. saatte $1,380 \pm 0,356$ EU/mg protein ve 96.saatte $1,553 \pm 0,055$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. 24. Saatte azalma olurken sonrasında artış belirlenmiştir. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir. A3 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,490 \pm 0,087$ EU/mg protein, 24.saatte $0,397 \pm 0,069$ EU/mg protein, 48. saatte $1,307 \pm 0,256$ EU/mg protein ve 96.saatte $1,160 \pm 0,085$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 24. saatte azalış olurken 48. ve 96.saatte artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.18). Grup, gün, doku ve bunlar arasındaki interaksiyonlar istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$).

4.3.4. MDA düzeyine ilişkin sonuçlar

Hücre çeperinde yer alan doymamış yağ asitleri, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek aldehit, keton, hidroksi asitler, keto asitler ve alkol gibi peroksidasyon ürünlerinin açığa çıkmasına sebep olur. Böylece biyomoleküller için zararlı bir zincirleme reaksiyon olan lipid peroksidasyonu meydana gelmiş olur. Lipid peroksidasyon ürünleri membran yapısında geri dönüşümsüz hasarlar oluşturur. Diğer yandan reaktif aldehitlerin oluşmasına sebep olarak hücre bileşenlerine zarar verirler. Sonuçta doku hasarının yayılmasıyla pek çok hastalık meydana gelir (Rikans and Hornbrook 1997; Wang and Quinn 1999). Lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi MDA'nın oluşması sonucunda membran özelliğinin bozulmasıdır. MDA seviyesi dokularda lipid peroksidasyon düzeyindeki değişimi ifade etmektedir (Benzie 2003). Alfa sipermetrin uygulaması sonucunda MDA ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.43'de ve analiz verileri Çizelge 4.44'de verilmiştir.

Çizelge 4.43. MDA aktivitesinin varyans analiz tablosu

MDA aktivitesine ait varyans analiz tablosu					
SOLUNGAÇ	Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
	Grup	3	6,984	398,688	0,000**
	Gün	3	15,779	900,774	0,000**
	Grup x Gün	9	1,869	106,682	0,000**
	Hata	32	0,118		
KARACİĞ	Grup	3	0,360	174,155	0,000**
	Gün	3	0,799	387,220	0,000**
	Grup x Gün	9	0,051	24,762	0,000**
	Hata	32	0,102		
BÖBREK	Grup	3	0,422	118,509	0,000**
	Gün	3	2,690	754,617	0,000**
	Grup x Gün	9	0,180	50,361	0,000**
	Hata	32	0,104		

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0,05)

Çizelge 4.44. MDA aktivitesinine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (nmol/mg protein)

MDA		
Grup **	ORTALAMA	STD. HATA
Kontrol	0,482 ^d	0,015
A-1	0,861 ^c	0,015
A-2	1,062 ^b	0,015
A-3	1,372 ^a	0,015
Saat **		
0	0,426 ^d	0,015
24	0,662 ^c	0,015
48	0,846 ^b	0,015
96	1,842 ^a	0,015
Doku **		
Solungaç	1,809 ^a	0,013
Karaciğer	0,403 ^c	0,013
Böbrek	0,620 ^b	0,013

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

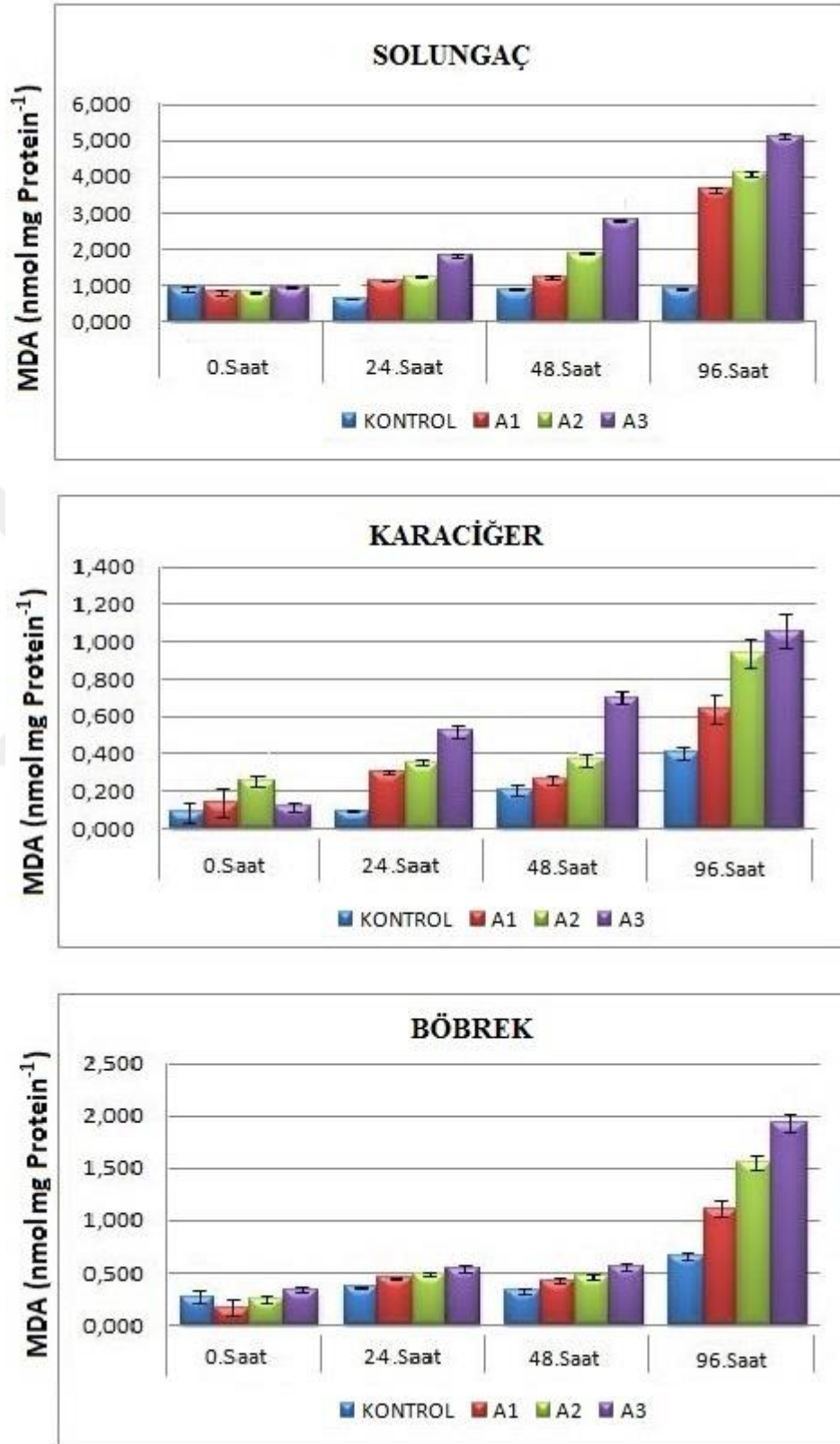
MDA miktarının alfa sipermetrin uygulanan gruplarda dokulara göre kıyaslanması yapıldığında 24. saat itibari ile en yüksek değer $1,833 \pm 0,090$ nmol/mg protein ile A3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,300 \pm 0,020$ nmol/mg protein ile A1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1'de $1,123 \pm 0,076$ nmol/mg protein olan değer A2'de $1,250 \pm 0,075$ nmol/mg protein ve A3'te ise $1,833 \pm 0,090$ nmol/mg protein olarak artış göstermiştir. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01). Karaciğer dokusunda MDA miktarı, A1'de $0,300 \pm 0,020$ nmol/mg protein, A2'de $0,353 \pm 0,015$ nmol/mg protein ve A3'te $0,520 \pm 0,030$ nmol/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $0,453 \pm 0,015$ nmol/mg protein, A2'de $0,487 \pm 0,021$ nmol/mg protein ve A3'te $0,543 \pm 0,025$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.44). Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01).

48. saatte en yüksek değer $2,803 \pm 0,132$ nmol/mg protein ile A3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,260 \pm 0,020$ nmol/mg protein ile A1 grubunda karaciğer

dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda A1'de $1,230 \pm 0,050$ nmol/mg protein olan değer A2'de $1,897 \pm 0,032$ nmol/mg protein ve A3'te $2,803 \pm 0,132$ nmol/mg protein olarak artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda A1'de $0,260 \pm 0,020$ nmol/mg protein A2'de $0,367 \pm 0,032$ nmol/mg protein ve A3'te $0,700 \pm 0,056$ nmol/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $0,427 \pm 0,031$ nmol/mg protein, A2'de $0,467 \pm 0,025$ nmol/mg protein ve A3'te $0,557 \pm 0,124$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.44).

Uygulamanın 96.saatinde en yüksek değer $5,127 \pm 0,208$ nmol/mg protein ile A3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,643 \pm 0,087$ nmol/mg protein ile A1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür (Çizelge 4.40). Solungaç dokusunda A1'de $3,663 \pm 0,374$ nmol/mg protein, A2'de $4,097 \pm 0,175$ nmol/mg protein ve A3'te $5,127 \pm 0,208$ nmol/mg proteine artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda A1'de $0,643 \pm 0,087$ nmol/mg protein, A2'de $0,937 \pm 0,057$ nmol/mg protein ve A3'te $1,057 \pm 0,093$ nmol/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise A1'de $1,110 \pm 0,161$ nmol/mg protein, A2'de $1,557 \pm 0,059$ nmol/mg protein ve A3'te $1,933 \pm 0,050$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.44).

A1 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,810 \pm 0,075$ nmol/mg protein, 24.saatte $1,123 \pm 0,076$ nmol/mg protein, 48. saatte $1,230 \pm 0,050$ nmol/mg protein ve 96.saatte $3,663 \pm 0,374$ nmol/mg protein olarak ölçülmüştür. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. A1 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,140 \pm 0,010$ nmol/mg protein, 24.saatte $0,300 \pm 0,020$ nmol/mg protein, 48. saatte $0,260 \pm 0,020$ nmol/mg protein ve 96.saatte $0,643 \pm 0,087$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile meydana gelen artış 48.saatte düşüş gösterirken 96. saatte tekrar artış belirlenmiştir. A1 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,170 \pm 0,026$ nmol/mg protein, 24.saatte $0,453 \pm 0,015$ nmol/mg protein, 48. saatte $0,427 \pm 0,031$ nmol/mg protein ve 96.saatte $1,110 \pm 0,161$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile meydana gelen artış 48.saatte düşüş gösterirken 96. saatte tekrar artış belirlenmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.18. MDA aktivitesinin böbrek dokusundaki değişimi, *a ve b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

A2 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,823 \pm 0,031$ nmol/mg protein, 24.saatte $1,250 \pm 0,075$ nmol/mg protein, 48. saatte $1,897 \pm 0,032$ nmol/mg protein ve 96.saatte $4,097 \pm 0,175$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. A2 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,257 \pm 0,015$ nmol/mg protein, 24.saatte $0,353 \pm 0,015$ nmol/mg protein, 48. saatte $0,367 \pm 0,032$ nmol/mg protein ve 96.saatte $0,937 \pm 0,057$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir. A2 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,250 \pm 0,030$ nmol/mg protein, 24.saatte $0,487 \pm 0,021$ nmol/mg protein, 48. saatte $0,467 \pm 0,025$ nmol/mg protein ve 96.saatte $1,557 \pm 0,059$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir. Başlangıç süresi itibari ile meydana gelen artış 48.saatte düşüş gösterirken 96. saatte tekrar artış belirlenmiştir. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.22).

A3 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,933 \pm 0,025$ nmol/mg protein, 24.saatte $1,833 \pm 0,090$ nmol/mg protein, 48. saatte $2,803 \pm 0,132$ nmol/mg protein ve 96.saatte $5,127 \pm 0,208$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde 24, 48 ve 96.saatlerde artış belirlenmiştir. A3 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,117 \pm 0,032$ nmol/mg protein, 24.saatte $0,520 \pm 0,030$ nmol/mg protein, 48. saatte $0,700 \pm 0,056$ nmol/mg protein ve 96.saatte $1,057 \pm 0,093$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir. A3 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,337 \pm 0,032$ nmol/mg protein, 24.saatte $0,543 \pm 0,025$ nmol/mg protein, 48. saatte $0,557 \pm 0,124$ nmol/mg protein ve 96.saatte $1,933 \pm 0,050$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir. Başlangıç ve 96.saat değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.22). Grup, gün, doku ve bunlar arasındaki etkileşimler istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$).

4.4. Kronik Uygulamadaki Enzim Aktivitelerine İlişkin Sonuçlar

4.4.1. SOD enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar

Pestisit uygulaması sonucunda dokularda konsantrasyona ve zamana bağlı olarak SOD enzimine ait varyans analiz tablosu 4.45'te ve meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.46'da verilmiştir.

Çizelge 4.45. SOD enzimine ait varyans analiz tablosu

SOD enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu					
	Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
SOLUNGAÇ	Grup	3	27,662	75,535	0,000**
	Gün	3	106,343	290,382	0,000**
	Grup x Gün	9	18,824	51,400	0,000**
	Hata	32	0,366		
KARACİĞER	Grup	3	0,032	2,415	0,085 ^{ÖD}
	Gün	3	0,868	66,375	0,000**
	Grup x Gün	9	0,107	8,191	0,000**
	Hata	32	0,113		
BÖBREK	Grup	3	1,257	84,042	0,000**
	Gün	3	5,245	350,658	0,000**
	Grup x Gün	9	1,084	72,477	0,000**
	Hata	32	0,115		

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), Önemli değil (p>0,05)

SOD enzim aktivitesinin alfa sipermetrin uygulanan gruplarda dokulara göre kıyaslanması yapıldığında 7. gün itibari ile en yüksek değer $0,637 \pm 0,350$ EU/mg protein ile K1 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,220 \pm 0,035$ EU/mg protein ile K3 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda K1'de $0,637 \pm 0,350$ EU/mg protein K2 'de $0,490 \pm 0,151$ EU/mg proteine ve K3'te $0,607 \pm 0,050$

EU/mg protein olarak artış belirlenmiştir. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Karaciğer dokusunda K1'de $0,283\pm0,085$ EU/mg protein K2'de $0,227\pm0,055$ EU/mg protein ve K3'te $0,220\pm0,035$ EU/mg protein olarak düşüş ölçülmüştür. Böbrek dokusunda ise K1'de $0,323\pm0,035$ EU/mg protein, K2'de $0,303\pm0,040$ EU/mg protein ve K3'te $0,310\pm0,078$ EU/mg protein olarak belirlenmiştir. K2'de azalma olmasına rağmen K3'te tekrar artış meydana gelmiştir. Ancak K1 ve K3 arasında azalma söz konusudur (Çizelge 4.46). Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

Çizelge 4.46. SOD enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)

SOD		
Grup **	ORTALAMA	STD. HATA
Kontrol	0,497 ^d	0,060
K-1	0,952 ^c	0,060
K-2	1,209 ^b	0,060
K-3	1,981 ^a	0,060
Gün **		
0	0,294 ^c	0,060
7	0,394 ^c	0,060
14	1,048 ^b	0,060
21	2,904 ^a	0,060
Doku **		
Solungaç	2,293 ^a	0,052
Karaciğer	0,363 ^c	0,052
Böbrek	0,824 ^b	0,052

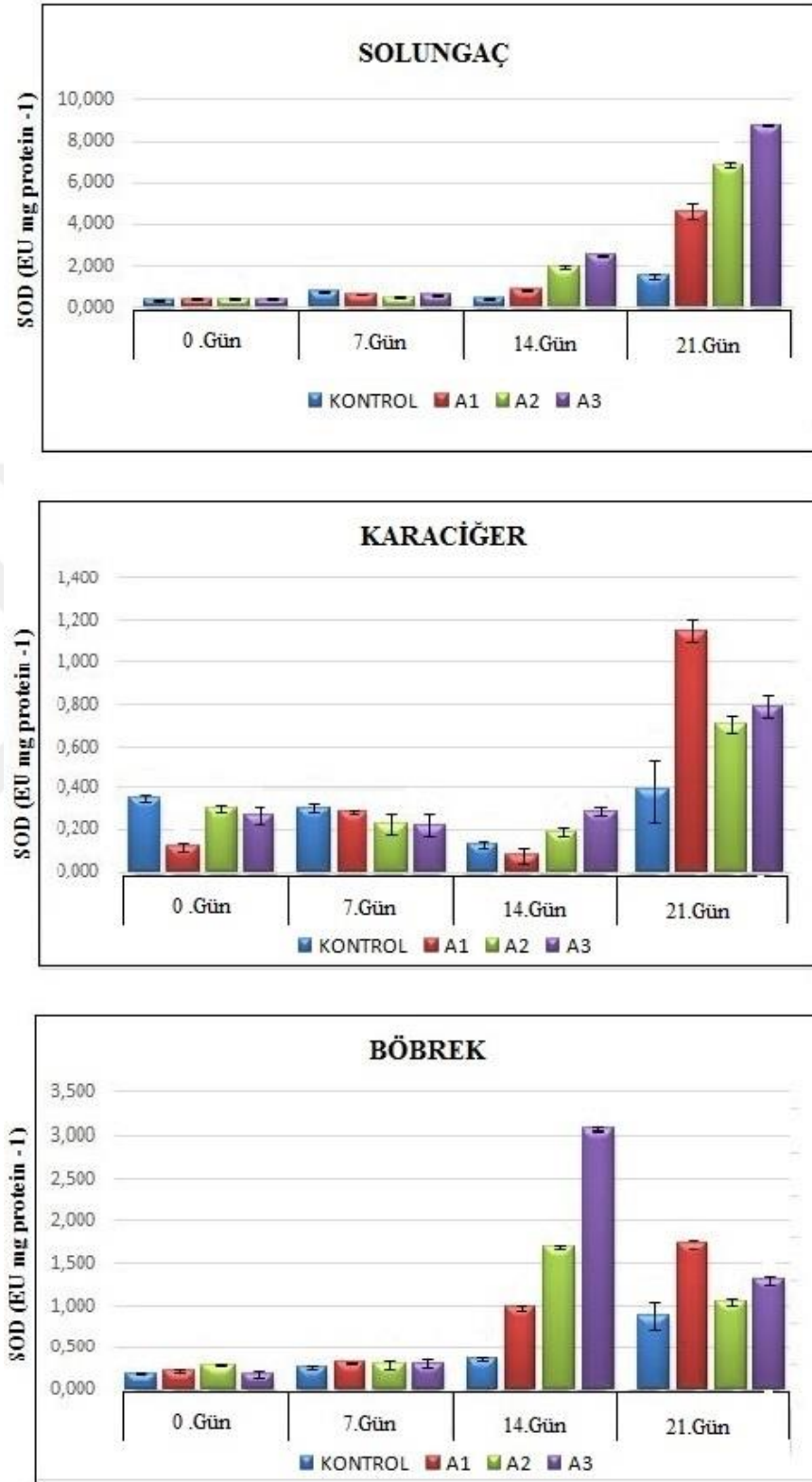
**Çok önemli ($p<0,01$), *Önemli ($p<0,05$), ÖD: Önemli değil ($p>0,05$). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

14. günde en yüksek değer $3,087\pm0,342$ EU/mg protein ile K3 grubunda böbrek dokusunda, en düşük değer ise $0,080\pm0,017$ EU/mg protein ile K1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda K1'de $0,850\pm0,114$ EU/mg protein olan değer K2'de $1,947\pm0,212$ EU/mg protein ve K3'te ise $2,520\pm0,210$ EU/mg protein olarak artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda K1'de $0,080\pm0,017$ EU/mg protein K2'de $0,190\pm0,035$ EU/mg proteine ve K3'te $0,287\pm0,068$ EU/mg proteine artış

göstermiştir. Böbrek dokusunda ise K1'de $0,980 \pm 0,214$ EU/mg protein, K2'de $1,687 \pm 0,112$ EU/mg protein ve K3'te $3,087 \pm 0,342$ EU/mg protein olarak sürekli bir artış belirlenmiştir (Çizelge 4.46).

Uygulamanın 21. gününde en yüksek değer $8,783 \pm 0,986$ EU/mg protein ile K3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,710 \pm 0,078$ EU/mg protein ile K2 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür (Çizelge 4.46). Solungaç dokusunda K1'de $4,640 \pm 0,459$ EU/mg protein olan değer K2 'de $6,890 \pm 0,873$ EU/mg protein ve K3'te $8,783 \pm 0,986$ EU/mg proteine artış belirlenmiştir. Karaciğer dokusunda K1'de $1,153 \pm 0,355$ EU/mg protein K2'de $0,710 \pm 0,078$ EU/mg proteine ve K3'te $0,793 \pm 0,164$ EU/mg proteine azalma belirlenmiştir. Böbrek dokusunda ise K1'de $1,727 \pm 0,108$ EU/mg protein, K2'de $1,043 \pm 0,042$ EU/mg proteine ve K3'te $1,310 \pm 0,123$ EU/mg protein olarak düşüş belirlenmiştir (Çizelge 4.46).

K1 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,413 \pm 0,047$ EU/mg protein, 7.günde $0,637 \pm 0,350$ EU/mg protein, 14. günde $0,850 \pm 0,114$ EU/mg protein ve 21. günde $4,640 \pm 0,459$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. K1 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,120 \pm 0,010$ EU/mg protein, 7.günde $0,283 \pm 0,085$ EU/mg protein, 14. günde $0,080 \pm 0,017$ EU/mg protein ve 21. günde $1,153 \pm 0,355$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi günü sonrasında meydana gelen artış 14. günde düşerken 21. günde tekrar artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir. K1 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,220 \pm 0,036$ EU/mg protein, 7.günde $0,323 \pm 0,035$ EU/mg protein, 14. günde $0,980 \pm 0,214$ EU/mg protein ve 21. günde $1,727 \pm 0,108$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.19. SOD enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi, *a ve b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

K2 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,430 \pm 0,017$ EU/mg protein, 7.günde $0,490 \pm 0,151$ EU/mg protein, 14. günde $1,947 \pm 0,212$ EU/mg protein ve 21. günde $6,890 \pm 0,873$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. K2 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,300 \pm 0,036$ EU/mg protein, 7. günde $0,227 \pm 0,055$ EU/mg protein, 14. günde $0,190 \pm 0,035$ EU/mg protein ve 21. günde $0,710 \pm 0,078$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 7. ve 14. günde azalma olurken 21. günde artış ölçülmüştür. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir. K2 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,297 \pm 0,071$ EU/mg protein, 7.günde $0,303 \pm 0,040$ EU/mg protein, 14. günde $1,687 \pm 0,112$ EU/mg protein ve 21. günde $1,043 \pm 0,042$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 7 ve 14. günde meydana gelen artış 21. günde azalmıştır. Ancak başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.20).

K3 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,400 \pm 0,040$ EU/mg protein, 7.günde $0,607 \pm 0,050$ EU/mg protein, 14. günde $2,520 \pm 0,210$ EU/mg protein ve 21. günde $8,783 \pm 0,986$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. K3 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,270 \pm 0,052$ EU/mg protein, 7. günde $0,220 \pm 0,035$ EU/mg protein, 14. günde $0,287 \pm 0,068$ EU/mg protein ve 21. günde $0,793 \pm 0,164$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç itibariyle 7.günde azalma olsa da 14 ve 21. günde artış belirlenmiştir. K3 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,180 \pm 0,020$ EU/mg protein, 7.günde $0,310 \pm 0,078$ EU/mg protein, 14. günde $3,087 \pm 0,342$ EU/mg protein ve 21. günde $01,310 \pm 0,123$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi ve 21.gün arasında yapılan ölçümlerde artış belirlenmiştir (Şekil 4.20). Grup, gün, doku ve bunlar arasındaki interaksiyonlar istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$).

4.4.2. CAT enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar

Pestisit uygulaması sonucunda dokularda konsantrasyona ve zamana bağlı olarak CAT enzimine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.47’de ve analiz verileri Çizelge 4.48’de verilmiştir.

Çizelge 4.47. CAT enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu

CAT enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu					
	Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
SOLUNGAÇ	Grup	3	137,493	159,031	0,000**
	Gün	3	772,959	894,042	0,000**
	Grup x Gün	9	93,809	108,504	0,000**
	Hata	32	0,865		
KARACİĞER	Grup	3	146,797	62,815	0,000**
	Gün	3	279,656	119,665	0,000**
	Grup x Gün	9	30,880	13,213	0,000**
	Hata	32	2,337		
BÖBREK	Grup	3	122,032	113,505	0,000**
	Gün	3	633,381	589,127	0,000**
	Grup x Gün	9	56,082	52,164	0,000**
	Hata	32	1,075		

**Çok önemli ($p < 0,01$), *Önemli ($p < 0,05$), Önemli değil ($p > 0,05$)

Çizelge 4.48. CAT enzim aktivitesine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)

KATALAZ		
Grup **	ORTALAMA	STD. HATA
Kontrol	3,684 ^d	0,199
K-1	7,404 ^c	0,199
K-2	9,892 ^a	0,199
K-3	9,046 ^b	0,199
Gün **		
0	1,254 ^d	0,199
7	5,992 ^c	0,199
14	16,074 ^a	0,199
21	6,706 ^b	0,199
Doku **		
Solungaç	8,317 ^a	0,172
Karaciğer	8,095 ^a	0,172
Böbrek	6,107 ^b	0,172

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

CAT enzim aktivitesinin alfa sipermetrin uygulanan gruplarda dokulara göre kıyaslanması yapıldığında 7. gün itibari ile en yüksek değer 12,740±1,274 EU/mg protein ile K2 grubunda karaciğer dokusunda, en düşük değer ise 2,970±0,095 EU/mg protein ile K3 grubunda solungaç dokusunda ölçülmüştür.

Solungaç dokusunda K1’de 4,880±0,092 EU/mg protein olan değer K2’de 9,027±0,769 EU/mg proteine artış gösterirken K 3’te ise 2,970±0,095 EU/mg proteine azalmıştır. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01).

Karaciğer dokusunda enzim aktivitesi, K1’de 5,460±0,735 EU/mg protein, K2’de 12,740±1,274 EU/mg protein ve K3’te 10,643±1,097 EU/mg protein olarak belirlenmiştir. K3’te K2’ye göre azalma olsa da K1’e göre genel bir artış söz konusudur. Böbrek dokusunda ise K1’de 6,717±0,590 EU/mg protein, K2’de 3,807±0,355 EU/mg proteine azalış olurken K3’te ise 8,797±1,023 EU/mg protein olarak bir artış belirlenmiştir (Çizelge 4.48). Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu

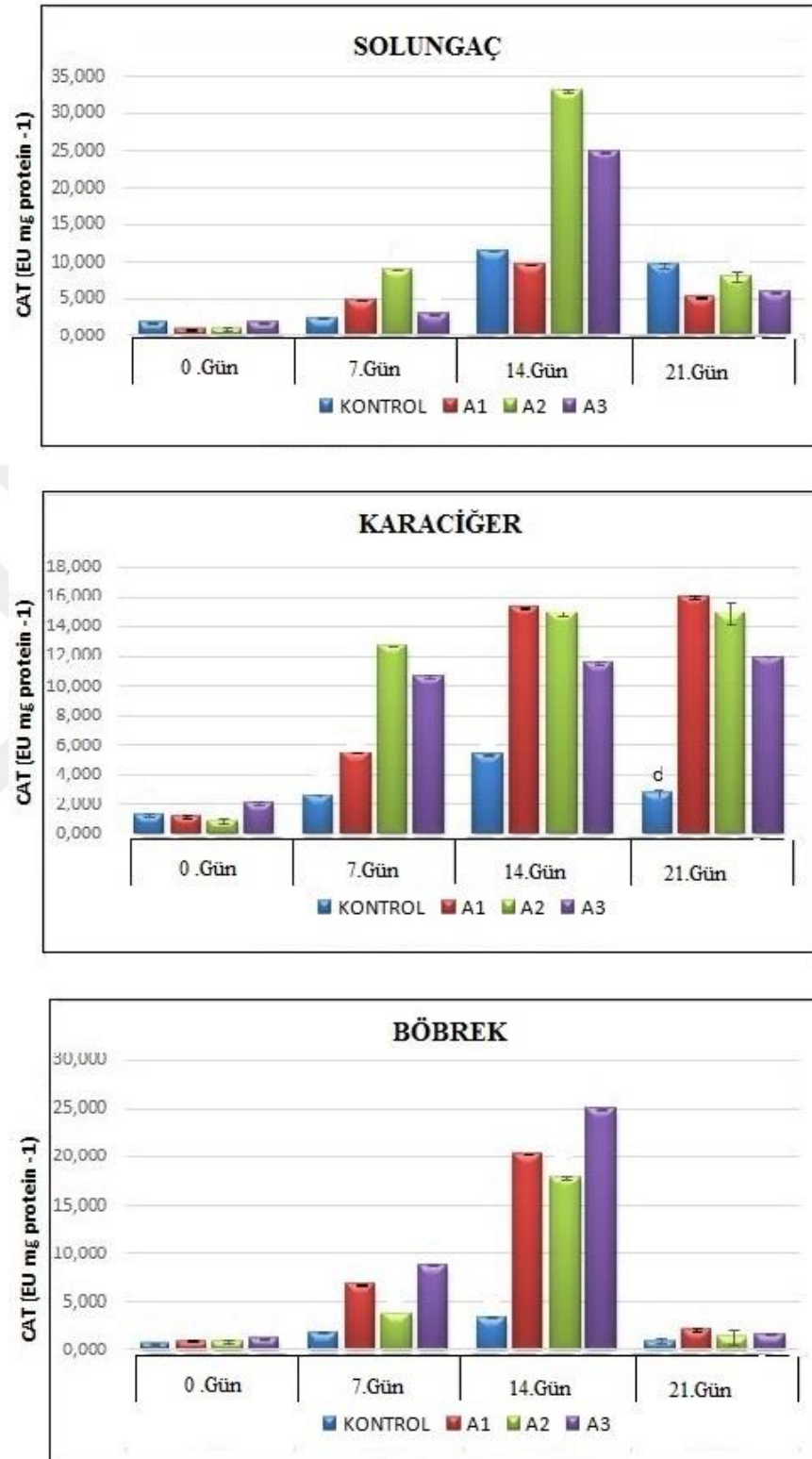
farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

14. günde en yüksek değer $33,250\pm1,946$ EU/mg protein ile K2 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $9,703\pm1,010$ EU/mg protein ile K1 grubunda solungaç dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda K1’de $9,703\pm1,010$ EU/mg protein olan değer K2 ‘de $33,250\pm1,946$ EU/mg proteine yükselirken K3’te ise $24,950\pm0,755$ EU/mg protein düşmüştür.

Karaciğer dokusunda K1’de $15,307\pm1,521$ EU/mg protein K2’de $14,897\pm1,441$ EU/mg proteine artış gösterirken K3’te $11,533\pm1,532$ EU/mg proteine azalış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise K 1’de $20,257\pm0,618$ EU/mg protein, K2’de $17,857\pm0,478$ EU/mg proteine azalırken K3’te $25,010\pm1,762$ EU/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.48).

Uygulamanın 21. gününde en yüksek değer $16,050\pm0,669$ EU/mg protein ile K1 grubunda karaciğer dokusunda, en düşük değer ise $1,427\pm0,515$ EU/mg protein ile K2 grubunda böbrek dokusunda ölçülmüştür (Çizelge 4.48). Solungaç dokusunda K1’de $5,220\pm0,524$ EU/mg protein olan değer K2 ‘de $7,950\pm0,304$ EU/mg proteine yükselirken K3’te ise $5,875\pm0,035$ EU/mg proteine azalış göstermiştir.

Karaciğer dokusunda K1’de $16,050\pm0,669$ EU/mg protein K2’de $14,887\pm2,074$ EU/mg proteine ve K3’te $11,960\pm0,606$ EU/mg proteine azalış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise K1’de $2,113\pm0,121$ EU/mg protein, K2’de $1,427\pm0,515$ EU/mg proteine azalırken K3’te $1,680\pm0,145$ EU/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.48).



Şekil 4.20. CAT enzim aktivitesinin böbrek dokusundaki değişimi, *a ve b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

K1 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,947 \pm 0,085$ EU/mg protein, 7.günde $4,880 \pm 0,092$ EU/mg protein, 14. günde $9,703 \pm 1,010$ EU/mg protein ve 21. günde $5,220 \pm 0,524$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde 21. gündeki değer 14. güne göre düşse de genel olarak artış belirlenmiştir. K1 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $1,207 \pm 0,040$ EU/mg protein, 7. günde $5,460 \pm 0,735$ EU/mg protein, 14. günde $15,307 \pm 1,521$ EU/mg protein ve 21. günde $16,050 \pm 0,669$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile artış meydana gelmiştir. K1 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,983 \pm 0,050$ EU/mg protein, 7.günde $6,717 \pm 0,590$ EU/mg protein, 14. günde $20,257 \pm 0,618$ EU/mg protein ve 21. günde $2,113 \pm 0,121$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile meydana gelen artış 21.günde hızlı bir azalma göstermiştir (Şekil 4.21).

K2 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $1,070 \pm 0,151$ EU/mg protein, 7.günde $9,027 \pm 0,769$ EU/mg protein, 14. günde $33,250 \pm 1,946$ EU/mg protein ve 21. günde $7,950 \pm 0,304$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak artan değerler 21. günde azalmasına rağmen genel olarak artış belirlenmiştir. K2 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,873 \pm 0,051$ EU/mg protein, 7.günde $12,740 \pm 1,274$ EU/mg protein, 14. günde $14,897 \pm 1,441$ EU/mg protein ve 21. günde $14,887 \pm 2,074$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile enzim aktivitesinde artış ölçülmüştür. K2 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,917 \pm 0,178$ EU/mg protein, 7.günde $3,807 \pm 0,355$ EU/mg protein, 14. günde $17,857 \pm 0,478$ EU/mg protein ve 21. günde $1,427 \pm 0,515$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 14.günde meydana gelen hızlı artış 21.günde azalsa da genel itibari ile artış ölçülmüştür (Şekil 4.24). K3 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $1,873 \pm 0,131$ EU/mg protein, 7.günde $2,970 \pm 0,095$ EU/mg protein, 14. günde $24,950 \pm 0,755$ EU/mg protein ve 21. günde $5,875 \pm 0,035$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde 14.günde meydana gelen aşırı artış ve 21. günde azalmıştır. Genel olarak başlangıç ve bitiş arasında artış belirlenmiştir. K3 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde

2,057±0,110 EU/mg protein, 7.günde 10,643±1,097 EU/mg protein, 14. günde 11,533±1,532 EU/mg protein ve 21. günde 11,960±0,606 EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir. K3 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde 1,210±0,075 EU/mg protein, 7.günde 8,797±1,023 EU/mg protein, 14. günde 25,010±1,762 EU/mg protein ve 21. günde 1,680±0,145 EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 14.güne kadar meydana gelen artış 21.günde azalsa da genel olarak artış söz konusudur (Şekil 4.21). Grup, gün, doku ve bunlar arasındaki etkileşimler istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p<0,01$).

4.2.3. GPx enzim aktivitesine ilişkin sonuçlar

Pestisit uygulaması sonucunda dokularda konsantrasyona ve zamana bağlı olarak GPx enzimine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.49'da ve analiz verileri Çizelge 4.50'de verilmiştir.

Çizelge 4.49. GPx enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu

GPx enzim aktivitesine ait varyans analiz tablosu					
SOLUNGAÇ	Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
	Grup	3	3,858	2,118	0,117 ^{ÖD}
	Gün	3	64,116	35,203	0,000 ^{**}
	Grup x Gün	9	3,934	2,160	0,053 ^{ÖD}
	Hata	32	1,821		
KARACİĞE	Grup	3	0,428	17,243	0,000 ^{**}
	Gün	3	0,317	12,769	0,000 ^{**}
	Grup x Gün	9	0,412	16,600	0,000 ^{**}
	Hata	32	0,025		
BÖBREK	Grup	3	13,318	113,710	0,000 ^{**}
	Gün	3	153,409	1309,839	0,000 ^{**}
	Grup x Gün	9	15,884	135,621	0,000 ^{**}
	Hata	32	0,117		

^{**}Çok önemli ($p<0,01$), ^{*}Önemli ($p<0,05$), Önemli değil ($p>0,05$)

Çizelge 4.50. GPx enzimine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (EU/mg protein)

GPx		
Grup **	ORTALAMA	STD. HATA
Kontrol	1,557 ^c	0,135
K-1	2,117 ^b	0,135
K-2	1,736 ^c	0,135
K-3	2,829 ^a	0,135
Gün **		
0	0,628 ^c	0,135
7	0,863 ^c	0,135
14	4,569 ^a	0,135
21	2,179 ^b	0,135
Doku **		
Solungaç	2,755 ^a	0,117
Karaciğer	0,718 ^c	0,117
Böbrek	2,706 ^a	0,117

**Çok önemli (p<0,01), *Önemli (p<0,05), ÖD: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

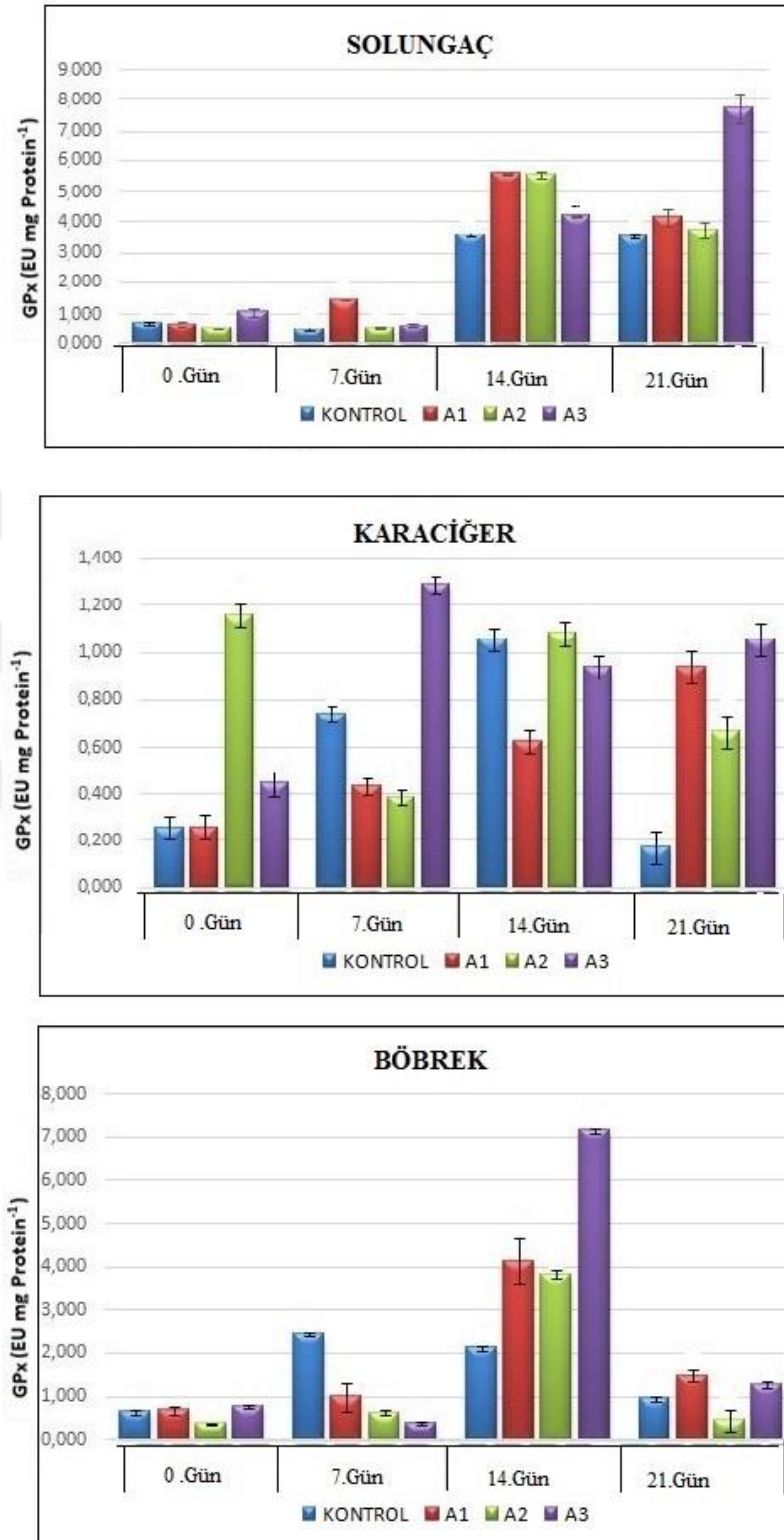
GPx enzim aktivitesinin alfa sipmetrin uygulanan gruplarda dokulara göre kıyaslanması yapıldığında 7. gün itibari ile en yüksek değer $1,450 \pm 0,276$ EU/mg protein ile K1 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,387 \pm 0,030$ EU/mg protein ile K2 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda K1'de $1,450 \pm 0,276$ EU/mg protein olan değer K2'de $0,493 \pm 0,257$ EU/mg proteine azalış gösterirken K3'te ise $0,633 \pm 0,453$ EU/mg proteine artmıştır. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01). Karaciğer dokusunda enzim aktivitesi, K1'de $0,430 \pm 0,089$ EU/mg protein, K 2'de $0,387 \pm 0,030$ EU/mg proteine düşerken K3'te $1,290 \pm 0,0400$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise K1'de $0,993 \pm 0,064$ EU/mg protein, K2'de $0,623 \pm 0,100$ EU/mg proteine ve K3'te $0,390 \pm 0,026$ EU/mg proteine bir azalış belirlenmiştir (Çizelge 4.50). Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01).

14. günde en yüksek değer $14,157 \pm 0,855$ EU/mg protein ile K3 grubunda böbrek dokusunda, en düşük değer ise $0,623 \pm 0,050$ EU/mg protein ile K1 grubunda karaciğer

dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda K1'de $5,587 \pm 0,367$ EU/mg protein olan değer K2'de $5,540 \pm 1,390$ EU/mg protein ve K3'te $4,183 \pm 0,588$ EU/mg protein azalmıştır. Karaciğer dokusunda K1'de $0,623 \pm 0,050$ EU/mg protein K2'de $1,080 \pm 0,135$ EU/mg protein ve K3'te $0,940 \pm 0,082$ EU/mg proteine artış ölçülmüştür. Böbrek dokusunda ise K1'de $4,137 \pm 0,595$ EU/mg protein, K2'de $3,820 \pm 0,370$ EU/mg proteine azalırken K3'te $7,157 \pm 0,855$ EU/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.50).

Uygulamanın 21. gününde en yüksek değer $7,743 \pm 2,906$ EU/mg protein ile K3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,450 \pm 0,101$ EU/mg protein ile K2 grubunda böbrek dokusunda ölçülmüştür (Çizelge 4.43). Solungaç dokusunda K1'de $4,150 \pm 1,999$ EU/mg protein olan değer K2'de $3,743 \pm 2,608$ EU/mg proteine düşerken K3'te ise $7,743 \pm 2,906$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda K1'de $0,940 \pm 0,110$ EU/mg protein K2'de $0,667 \pm 0,109$ EU/mg proteine azalırken K3'te tekrar $1,053 \pm 0,540$ EU/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise K1'de $1,483 \pm 0,206$ EU/mg protein, K2'de $0,450 \pm 0,101$ EU/mg protein olarak azalmıştır. K3'te ise $1,277 \pm 0,159$ EU/mg proteine artış belirlenmiştir (Çizelge 4.50).

K1 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,683 \pm 0,096$ EU/mg protein, 7.günde $1,450 \pm 0,276$ EU/mg protein, 14. günde $5,587 \pm 0,367$ EU/mg protein ve 21. günde $4,150 \pm 1,999$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde 21.gün değeri 14.güne göre azalsa da genel olarak artış belirlenmiştir. K1 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,257 \pm 0,021$ EU/mg protein, 7.günde $0,430 \pm 0,089$ EU/mg protein, 14. günde $0,623 \pm 0,050$ EU/mg protein ve 21. günde $0,940 \pm 0,110$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile artış belirlenmiştir. K1 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,670 \pm 0,020$ EU/mg protein, 7.günde $0,993 \pm 0,064$ EU/mg protein, 14. günde $8,137 \pm 0,595$ EU/mg protein ve 21. günde $1,483 \pm 0,206$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 7 ve 14.günde artış meydana gelirken 21. günde azalma olsa da genel itibari ile artış ölçülmüştür (Şekil 4.22).



Şekil 4.21. GPx enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi, *a ve b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

K2 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,500 \pm 0,026$ EU/mg protein, 7.günde $0,493 \pm 0,257$ EU/mg protein, 14. günde $5,540 \pm 1,390$ EU/mg protein ve 21. günde $3,743 \pm 2,608$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerdeki 21.günde azalma gösterse de genel olarak artış belirlenmiştir. K2 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $1,157 \pm 0,055$ EU/mg protein, 7.günde $0,387 \pm 0,030$ EU/mg protein, 14. günde $1,080 \pm 0,135$ EU/mg protein ve 21. günde $0,667 \pm 0,109$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 7.günde azalış meydana gelirken 14.gündeki artış 21. günde tekrar azalmıştır. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında azalma belirlenmiştir. K2 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç saatinde $0,370 \pm 0,095$ EU/mg protein, 7.günde $0,623 \pm 0,100$ EU/mg protein, 14. günde $5,820 \pm 0,370$ EU/mg protein ve 21. günde $0,450 \pm 0,101$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 7 ve 14.günde artış olurken 21. günde azalma ölçülmüştür. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.22).

K3 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $1,063 \pm 0,150$ EU/mg protein, 7.günde $0,633 \pm 0,453$ EU/mg protein, 14. günde $4,183 \pm 0,588$ EU/mg protein ve 21. günde $7,743 \pm 2,906$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde 7.günde azalma olurken 14 ve 21. günlerde artış belirlenmiştir. K3 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,443 \pm 0,090$ EU/mg protein, 7.günde $1,290 \pm 0,0400$ EU/mg protein, 14. günde $0,940 \pm 0,082$ EU/mg protein ve 21. günde $1,053 \pm 0,540$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Ölçülen değerlerde başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir. K3 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,770 \pm 0,036$ EU/mg protein, 7.günde $0,390 \pm 0,026$ EU/mg protein, 14. günde $14,157 \pm 0,855$ EU/mg protein ve 21. günde $1,277 \pm 0,159$ EU/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile 7. günde azalma olurken 14. Günde meydana gelen ani artış 21. günde tekrar azalmıştır. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.22). Grup, gün, doku ve bunlar arasındaki interaksiyonlar istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$).

4.4.4. MDA düzeyine ilişkin sonuçlar

Pestisit uygulaması sonucunda MDA seviyesine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.51’de, MDA seviyesinde meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.52’de verilmiştir.

Çizelge 4.51. MDA aktivitesinin varyans analiz tablosu

MDA aktivitesine ait varyans analiz tablosu					
	Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Önem Seviyesi
SOLUNGAÇ	Grup	3	32,938	256,951	0,000 ^{**}
	Gün	3	113,768	887,513	0,000 ^{**}
	Grup x gün	9	15,218	118,719	0,000 ^{**}
	Hata	32	0,128		
KARACİ	Grup	3	1,839	906,068	0,000 ^{**}
	Gün	3	0,835	411,421	0,000 ^{**}
	Grup x gün	9	0,298	146,858	0,000 ^{**}
	Hata	32	0,102		
BÖBRE	Grup	3	9,504	142,969	0,000 ^{**}
	Gün	3	37,014	556,781	0,000 ^{**}
	Grup x gün	9	3,856	58,004	0,000 ^{**}
	Hata	32	0,166		

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), ^{ÖD}: Önemli değil (p>0,05)

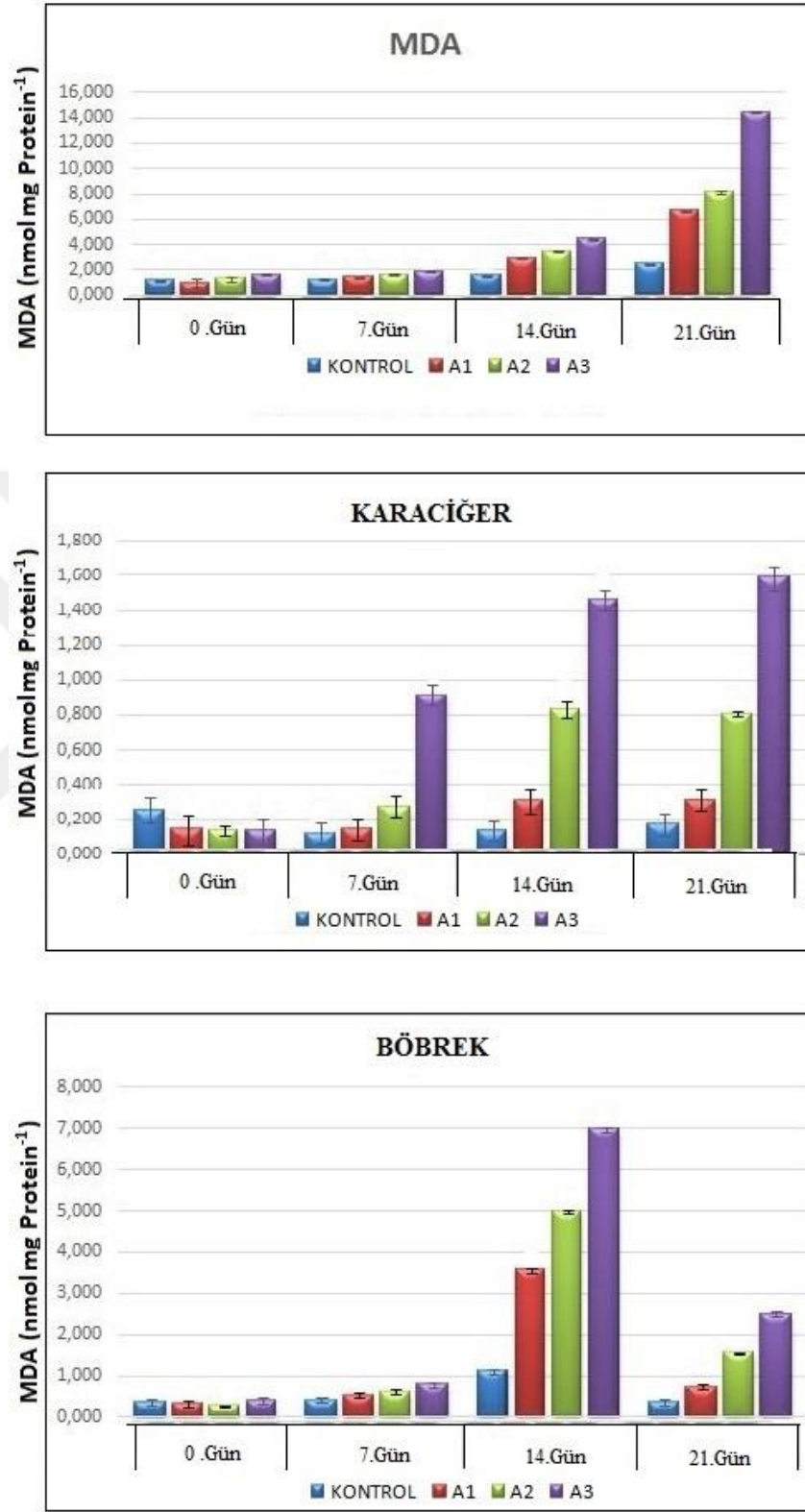
Çizelge 4.52. MDA aktivitesine ait en küçük kareler ortalamaları ve standart hataları (nmol/mg protein)

MDA		
Grup ^{**}	ORTALAMA	STD. HATA
Kontrol	0,779 ^d	0,043
K-1	1,508 ^c	0,043
K-2	2,001 ^b	0,043
K-3	3,096 ^a	0,043
Gün ^{**}		
0	0,593 ^d	0,043
7	0,836 ^c	0,043
14	2,649 ^b	0,043
21	3,308 ^a	0,043
Doku ^{**}		
Solungaç	3,465 ^a	0,037
Karaciğer	0,483 ^c	0,037
Böbrek	1,590 ^b	0,037

^{**}Çok önemli (p<0,01), ^{*}Önemli (p<0,05), ^{ÖD}: Önemli değil (p>0,05). a, b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

Kontrol grubuna oranla MDA seviyesinde, 7. gün itibari ile en yüksek değer $1,900 \pm 0,044$ ile K3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,143 \pm 0,015$ nmol/mg protein ile K1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda K1'de $1,450 \pm 0,060$ nmol/mg protein olan değer K2'de $1,650 \pm 0,096$ nmol/mg protein ve K3'te ise $1,900 \pm 0,044$ nmol/mg protein olarak artış göstermiştir (Çizelge 4.52). Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Karaciğer dokusunda MDA miktarı, K1'de $0,143 \pm 0,015$ nmol/mg protein, K2'de $0,273 \pm 0,015$ nmol/mg protein ve K3'te $0,917 \pm 0,015$ nmol/mg proteine olarak artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise K1'de $0,527 \pm 0,025$ nmol/mg protein, K2'de $0,613 \pm 0,025$ nmol/mg protein ve K3'te $0,790 \pm 0,020$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir. Karaciğer ve böbrek dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). 14. günde en yüksek değer $6,973 \pm 0,150$ nmol/mg protein ile K3 grubunda böbrek dokusunda, en düşük değer ise $0,303 \pm 0,040$ nmol/mg protein ile K1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda K1'de $2,927 \pm 0,318$ nmol/mg protein olan değer K2'de $3,487 \pm 0,285$ nmol/mg protein ve K3'te $4,450 \pm 0,356$ nmol/mg protein olarak artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda K1'de $0,303 \pm 0,040$ nmol/mg protein K2'de $0,830 \pm 0,100$ nmol/mg protein ve K3'te $1,460 \pm 0,026$ nmol/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise K1'de $3,557 \pm 0,359$ nmol/mg protein, K2'de $4,987 \pm 0,852$ nmol/mg protein ve K3'te $6,973 \pm 0,150$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.52).

Uygulamanın 21. gününde en yüksek değer $14,437 \pm 0,577$ nmol/mg protein ile K3 grubunda solungaç dokusunda, en düşük değer ise $0,310 \pm 0,026$ nmol/mg protein ile K1 grubunda karaciğer dokusunda ölçülmüştür. Solungaç dokusunda K1'de $6,680 \pm 0,541$ nmol/mg protein, K2'de $8,110 \pm 0,794$ nmol/mg protein ve K3'te $14,437 \pm 0,577$ nmol/mg proteine artış göstermiştir. Karaciğer dokusunda K1'de $0,310 \pm 0,026$ nmol/mg protein, K2'de $0,807 \pm 0,078$ nmol/mg protein ve K3'te $1,587 \pm 0,049$ nmol/mg proteine artış göstermiştir. Böbrek dokusunda ise K1'de $0,727 \pm 0,071$ nmol/mg protein, K2'de $1,550 \pm 0,056$ nmol/mg protein ve K3'te $2,493 \pm 0,318$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir (Çizelge 4.52).



Şekil 4.22. MDA aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokusundaki değişimi, *a ve b aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur

K1 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $1,003 \pm 0,286$ nmol/mg protein, 7.günde $1,450 \pm 0,060$ nmol/mg protein, 14. günde $2,927 \pm 0,318$ nmol/mg protein ve 21. günde $6,680 \pm 0,541$ nmol/mg protein olarak ölçülmüştür. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. K1 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,143 \pm 0,061$ nmol/mg protein, 7.günde $0,143 \pm 0,015$ nmol/mg protein, 14. günde $0,303 \pm 0,040$ nmol/mg protein ve 21. günde $0,310 \pm 0,026$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Ölçülen değerlerde başlangıç süresi itibari artış belirlenmiştir. K1 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,330 \pm 0,065$ nmol/mg protein, 7.günde $0,527 \pm 0,025$ nmol/mg protein, 14. günde $3,557 \pm 0,359$ nmol/mg protein ve 21. günde $0,727 \pm 0,071$ nmol/mg protein ölçüm yapılmıştır. Başlangıç süresi itibari ile meydana gelen artış 21.günde düşüş gösterse de değerlerde genel olarak artış söz konusudur (Şekil 4.23).

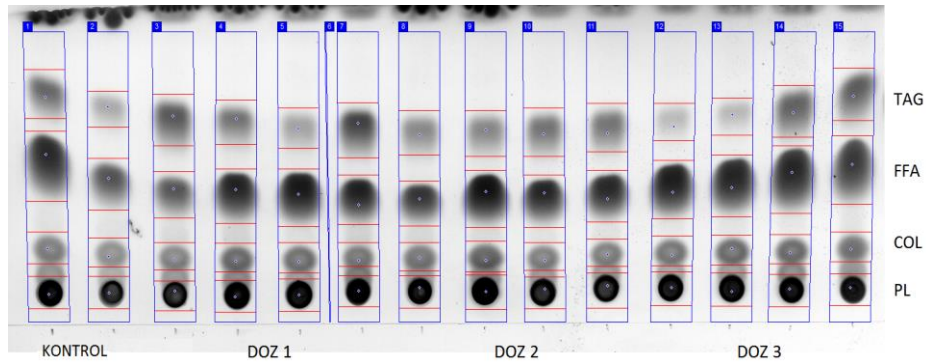
K2 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $1,297 \pm 0,238$ nmol/mg protein, 7.günde $1,650 \pm 0,096$ nmol/mg protein, 14. günde $3,487 \pm 0,285$ nmol/mg protein ve 21. günde $8,110 \pm 0,794$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. K2 grubunda karaciğer dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,137 \pm 0,038$ nmol/mg protein, 7.günde $0,273 \pm 0,015$ nmol/mg protein, 14. günde $0,830 \pm 0,100$ nmol/mg protein ve 21. günde $0,807 \pm 0,078$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir. K2 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,270 \pm 0,062$ nmol/mg protein, 7.günde $0,613 \pm 0,025$ nmol/mg protein, 14. günde $4,987 \pm 0,852$ nmol/mg protein ve 21. günde $1,550 \pm 0,056$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir. Başlangıç süresi itibari ile meydana gelen artış 21. günde düşüş gösterirken başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.23).

K3 grubunda solungaç dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $1,617 \pm 0,427$ nmol/mg protein, 7.günde $1,900 \pm 0,044$ nmol/mg protein, 14. günde $4,450 \pm 0,356$ nmol/mg protein ve 21. günde $14,437 \pm 0,577$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Zamana bağlı olarak ölçülen değerlerde artış belirlenmiştir. K3 grubunda karaciğer

dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,137 \pm 0,025$ nmol/mg protein, 7.günde $0,917 \pm 0,015$ nmol/mg protein, 14. günde $1,460 \pm 0,026$ nmol/mg protein ve 21. günde $1,587 \pm 0,049$ nmol/mg protein olarak ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir. K3 grubunda böbrek dokusunda yapılan ölçümlerde başlangıç gününde $0,393 \pm 0,059$ nmol/mg protein, 7.günde $0,790 \pm 0,020$ nmol/mg protein, 14. günde $6,973 \pm 0,150$ nmol/mg protein ve 21. günde $2,493 \pm 0,318$ nmol/mg protein olarak artış belirlenmiştir. Başlangıç ve 21. gün değerleri arasında artış belirlenmiştir (Şekil 4.23). Grup, gün, doku ve bunlar arasındaki interaksiyonlar istatistiksel olarak çok önemli bulunmuştur ($p < 0,01$).

4.5. Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK) Sonuçları

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) bitki ve hayvan metabolizması, gıda sektörü, çevre ve ilaç sanayisi gibi pek çok alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Gelişen teknoloji ile birlikte kullanılan yöntemlerin standardizasyonu sonucunda Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK) sistemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde aynı düzlem üzerinde eş zamanlı olarak maddelerin ayrımı sağlanmakta ve direkt densitometrik ölçümler elde edilerek miktar analizi yapılabilmektedir (Şekil 4.24). Çizelge 4.53, 4.54, 4.55, 4.56, 4.57 ve 4.58’de solungaç, karaciğer ve böbrek dokularına ait lipid profillerindeki oransal değişiklikler verilmiştir.



Şekil 4.23. Silika jel tabakası üzerindeki yağ profil görüntüsü

Çizelge 4.53’de akut uygulama sonrasında solungaç dokusunda; triaçilgliserol (TAG), serbest yağ asidi (SYA), diaçilgliserol (DAG), kolestrol (KOL) ve fosfolipid (FL) profilleri belirlenmiştir. 24, 48 ve 96. saatlerde ve konsantrasyon miktarlarındaki oransal değişiklikler incelendiğinde istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.54’de kronik uygulamada ise 7, 14 ve 21.günlerdeki TAG, SYA ve FL profillerindeki oransal değişiklikler istatistiksel açıdan çok önemli ($p<0,01$), KOL miktarındaki oransal değişiklik önemli ($p<0,05$) ve DAG miktarındaki oransal değişiklik önemsiz ($p>0,05$) olarak bulunmuştur. Konsantrasyona göre değişiklikler incelendiği zaman TAG ve SYA’da linear olarak meydana gelen değişiklik istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$), DAG, KOL ve FL’de ise önemsiz ($p>0,05$) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.53. Solungaç dokusuna yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi

SOLUNGAÇ AKUT - ETKİ		TAG (%)	SYA (%)	DAG (%)	KOL (%)	FL (%)
Saat	24	28,597	15,148	8,954	17,608	29,695
	48	29,007	15,317	8,629	17,934	29,122
	96	27,814	16,154	9,435	18,057	28,539
Linear	Std. Hata	0,646	0,444	0,365	0,371	0,463
	Sig.	0,398	0,120	0,359	0,398	0,087
Quadratic	Std. Hata	0,646	0,444	0,365	0,371	0,463
	Sig.	0,319	0,543	0,216	0,824	0,994
Doz	Kontrol	28,703	15,220	8,544	17,576	29,958
	A1	28,313	15,337	9,216	17,880	29,264
	A2	28,829	15,678	9,043	17,991	28,460
	A3	28,044	15,924	9,221	18,018	28,792
Linear	Std. Hata	0,746	0,513	0,421	0,428	0,534
	Sig.	0,664	0,293	0,332	0,459	0,082
Quadratic	Std. Hata	0,746	0,513	0,421	0,428	0,534
	Sig.	0,793	0,900	0,563	0,748	0,345
Cubic	Std. Hata	0,746	0,513	0,421	0,428	0,534
	Sig.	0,513	0,890	0,531	0,955	0,605

Çizelge 4.54. Solungaç dokusuna ait yağ pofillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi

SOLUNGAÇ KRONİK - ETKİ		TAG (%)	SYA (%)	DAG (%)	KOL (%)	FL (%)
Gün	7	27,263	18,115	8,687	18,474	27,462
	14	27,078	18,783	8,896	17,901	27,347
	21	25,003	23,194	8,604	17,529	25,671
Linear	Std. Hata	0,445	0,702	0,249	0,293	0,443
	Sig.	0,001	0,000	0,816	0,030	0,008
Quadratic	Std. Hata	0,445	0,702	0,249	0,293	0,443
	Sig.	0,093	0,038	0,418	0,781	0,160
Doz	Kontrol	27,317	19,031	8,621	18,107	26,924
	K1	26,304	19,633	8,861	17,798	27,409
	K2	26,517	20,130	8,726	18,008	26,621
	K3	25,654	21,329	8,708	17,960	26,351
Linear	Std. Hata	0,513	0,811	0,288	0,339	0,511
	Sig.	0,046	0,050	0,924	0,880	0,281
Quadratic	Std. Hata	0,513	0,811	0,288	0,339	0,511
	Sig.	0,885	0,715	0,657	0,703	0,466
Cubic	Std. Hata	0,513	0,811	0,288	0,339	0,511
	Sig.	0,325	0,825	0,704	0,612	0,440

Çizelge 4.55’de akut uygulama sonrasında karaciğer dokusunda; triaçilgliserol (TAG), serbest yağ asidi (SYA), kolesterol (KOL) ve fosfolipid (FL) sınıfları belirlenmiştir. 24, 48 ve 96. saatlerde ve doz miktarlarındaki oransal değişiklikler incelendiğinde istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.56’da kronik uygulamada ise 7, 14 ve 21.günlerdeki TAG, SYA ve FL oranlarındaki değişiklikler linear olarak istatistiksel açıdan çok önemli ($p<0,01$) ve KOL oranındaki değişiklik önemsiz ($p>0,05$) olarak bulunmuştur. Konsantrasyona göre değişiklikler incelendiği zaman TAG, SYA, KOL ve FL oranlarında linear olarak meydana gelen değişiklik istatistiksel açıdan çok önemli ($p<0,01$) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.55. Karaciğer dokusuna ait yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre değişimi

KARACİĞER AKUT - ETKİ		TAG (%)	SYA (%)	COL	PL
Saat	24	15,203	32,856	16,785	35,157
	48	14,958	33,218	17,086	34,748
	96	14,702	33,762	16,955	34,592
Linear	Std. Hata	0,405	0,593	0,413	0,473
	Sig.	0,389	0,290	0,773	0,407
Quadratic	Std. Hata	0,405	0,593	0,413	0,473
	Sig.	0,992	0,901	0,673	0,828
Doz	Kontrol	14,924	34,356	16,082	34,652
	A1	15,144	32,892	17,064	34,910
	A2	14,929	32,517	17,610	34,947
	A3	14,819	33,351	17,011	34,820
Linear	Std. Hata	0,467	0,684	0,477	0,546
	Sig.	0,801	0,279	0,131	0,827
Quadratic	Std. Hata	0,467	0,684	0,477	0,546
	Sig.	0,727	0,106	0,110	0,728
Cubic	Std. Hata	0,467	0,684	0,477	0,546
	Sig.	0,798	0,968	0,743	0,981

Çizelge 4.56. Karaciğer dokusuna ait yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi (Kronik)

KARACİĞER KRONİK - ETKİ		TAG (%)	SYA (%)	KOL (%)	PL (%)
Gün	7	14,009	34,853	17,020	34,062
	14	13,191	37,202	17,169	32,439
	21	11,020	41,222	17,478	30,281
Linear	Std. Hata	0,396	0,640	0,317	0,499
	Sig.	0,000	0,000	0,312	0,000
Quadratic	Std. Hata	0,422	0,683	0,338	0,533
	Sig.	0,199	0,324	0,848	0,684
Doz	Kontrol	13,946	35,760	16,194	34,113
	K1	12,929	37,582	17,109	32,389
	K2	12,308	37,805	18,022	31,769
	K3	11,777	39,888	17,564	30,771
Linear	Std. Hata	0,473	0,764	0,378	0,597
	Sig.	0,002	0,001	0,005	0,000
Quadratic	Std. Hata	0,463	0,749	0,371	0,585
	Sig.	0,604	0,863	0,072	0,539
Cubic	Std. Hata	0,458	0,740	0,366	0,578
	Sig.	0,882	0,303	0,409	0,570

Çizelge 4.57’de akut uygulama sonrasında böbrek dokusunda; triaçilgliserol (TAG), serbest yağ asidi (SYA), kolesterol (KOL) ve fosfolipid (FL) profilleri belirlenmiştir. 24, 48 ve 96. saatlerde zamana bağlı SYA’deki oransal değişiklik linear olarak istatistiksel açıdan önemli ($p<0,05$) iken TAG, KOL ve FL’deki oransal değişiklikler önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Konsantrasyona miktarlarındaki değişiklikler incelendiğinde TAG, SYA, KOL ve FL’deki oransal değişiklikler önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.58’de kronik uygulamada ise 7, 14 ve 21.günlerdeki SYA ve FL profilindeki oransal değişiklikler linear olarak istatistiksel açıdan çok önemli ($p<0,01$) TAG ve KOL miktarındaki değişiklik önemsiz ($p>0,05$) olarak bulunmuştur. Konsantrasyona göre değişiklikler incelendiği zaman TAG ve SYA’da linear olarak meydana gelen oransal değişiklik istatistiksel açıdan çok önemli ($p<0,01$), FL’deki değişiklik önemli ($p<0,05$) ve KOL’deki değişiklik önemsiz ($p>0,05$) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.57. Böbrek dokusuna ait yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi (Akut)

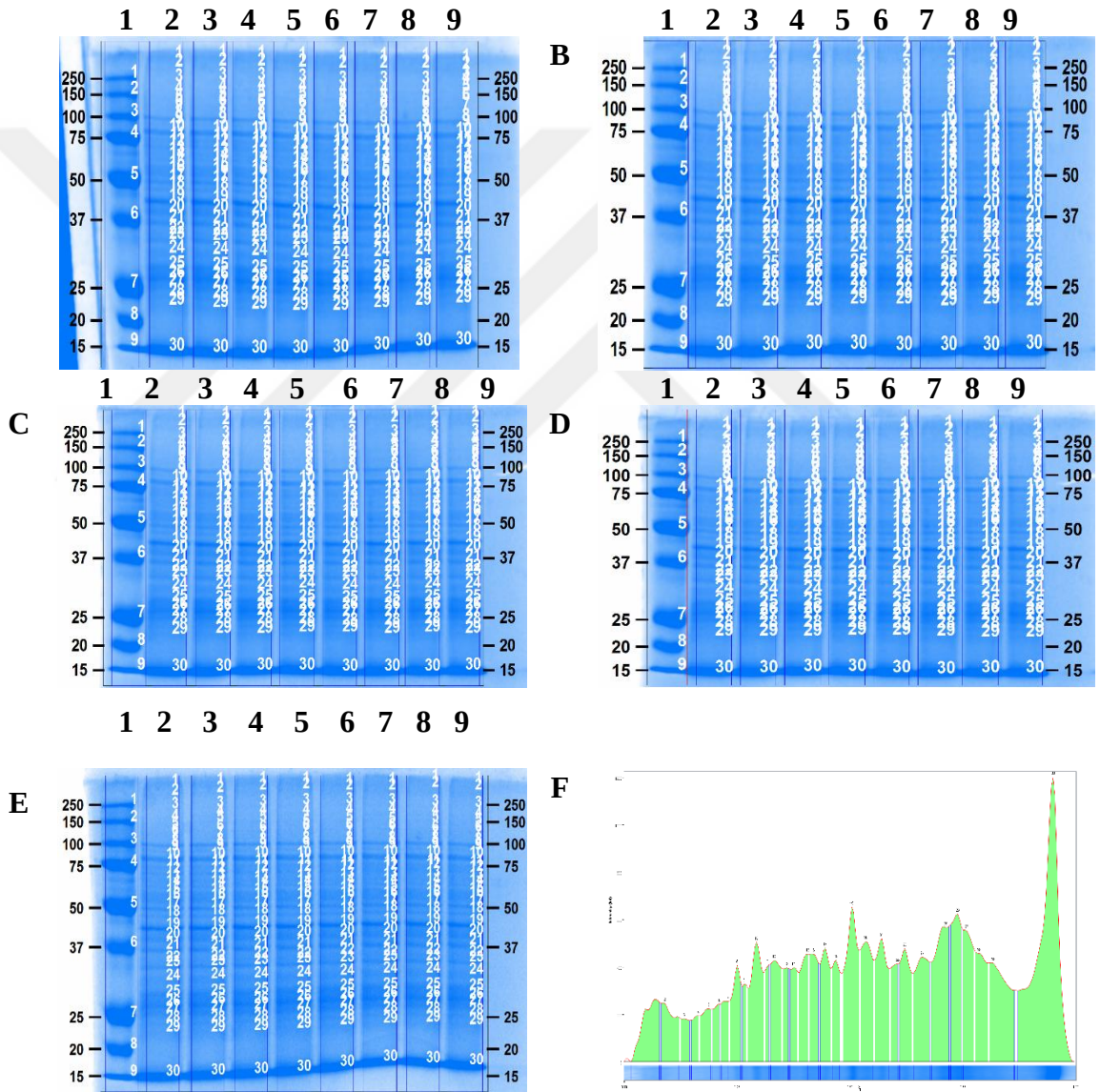
BÖBREK AKUT - ETKİ		TAG (%)	SYA (%)	KOL (%)	FL (%)
Saat	24	20,667	36,733	17,350	25,283
	48	20,717	37,525	16,900	24,908
	96	20,075	38,425	16,900	24,792
Linear	Std. Hata	0,505	0,538	0,394	0,391
	Sig.	0,414	0,034	0,425	0,381
Quadratic	Std. Hata	0,505	0,538	0,394	0,391
	Sig.	0,581	0,935	0,644	0,789
Doz	Kontrol	21,189	36,522	17,044	25,267
	A1	20,400	37,522	16,967	25,344
	A2	20,156	38,056	16,867	24,956
	A3	20,200	38,144	17,322	24,411
Linear	Std. Hata	0,584	0,621	0,455	0,451
	Sig.	0,228	0,061	0,721	0,153
Quadratic	Std. Hata	0,584	0,621	0,455	0,451
	Sig.	0,481	0,469	0,562	0,496
Cubic	Std. Hata	0,584	0,621	0,455	0,451
	Sig.	0,923	0,994	0,778	0,878

Çizelge 4.58. Böbrek dokusuna ait yağ profillerinin zaman ve konsantrasyona göre oransal değişimi (Kronik)

BÖBREK KRONİK - ETKİ		TAG (%)	SYA (%)	KOL (%)	FL (%)
Gün	7	18,546	40,788	16,780	23,886
	14	17,859	42,088	17,323	22,733
	21	17,875	43,235	16,900	21,992
Linear	Std. Hata	0,387	0,691	0,385	0,435
	Sig.	0,230	0,018	0,827	0,004
Quadratic	Std. Hata	0,387	0,691	0,385	0,435
	Sig.	0,465	0,929	0,314	0,701
Doz	Kontrol	19,627	39,614	17,391	23,368
	K1	19,151	40,736	16,761	23,357
	K2	17,023	43,321	16,782	22,874
	K3	16,572	44,477	17,069	21,882
Linear	Std. Hata	0,447	0,797	0,444	0,503
	Sig.	0,000	0,000	0,637	0,036
Quadratic	Std. Hata	0,447	0,797	0,444	0,503
	Sig.	0,978	0,983	0,310	0,337
Cubic	Std. Hata	0,447	0,797	0,444	0,503
	Sig.	0,106	0,423	0,847	0,986

4.6. SDS-PAGE Analizlerine Ait Veriler

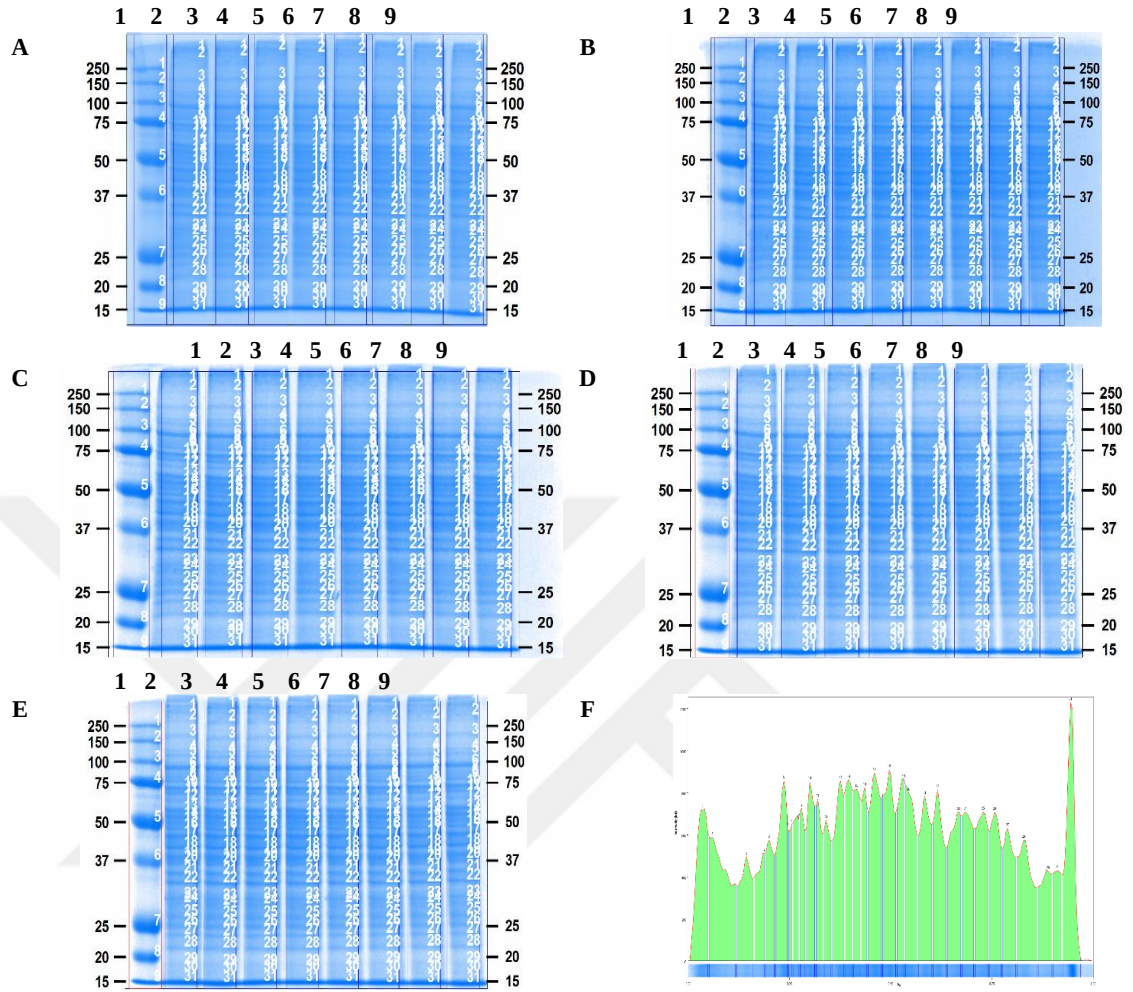
SDS-PAGE analizleri sonucunda dokulara ait toplam protein profilleri hacimsel olarak belirlenmiştir. Solungaç, karaciğer ve böbrek dokusuna ait protein bant görüntüleri Çizelge 4.25, 4.26 ve 4.27’de verilmiştir.



Şekil 4.24. Solungaç dokusu elektroforetogramları

(1 Moleküler ağırlık markeri, 2-3 Kontrol, 4-5 Doz 1, 6-7 Doz 2, 8-9 Doz 3)

(A- 0. Gün, B- 4. Gün (Akut 96.saat), C- 7.Gün, D- 14.Gün, E- 21.Gün) ve dansitogramı (BioRad ImageLab 4.01 jel analiz programı)

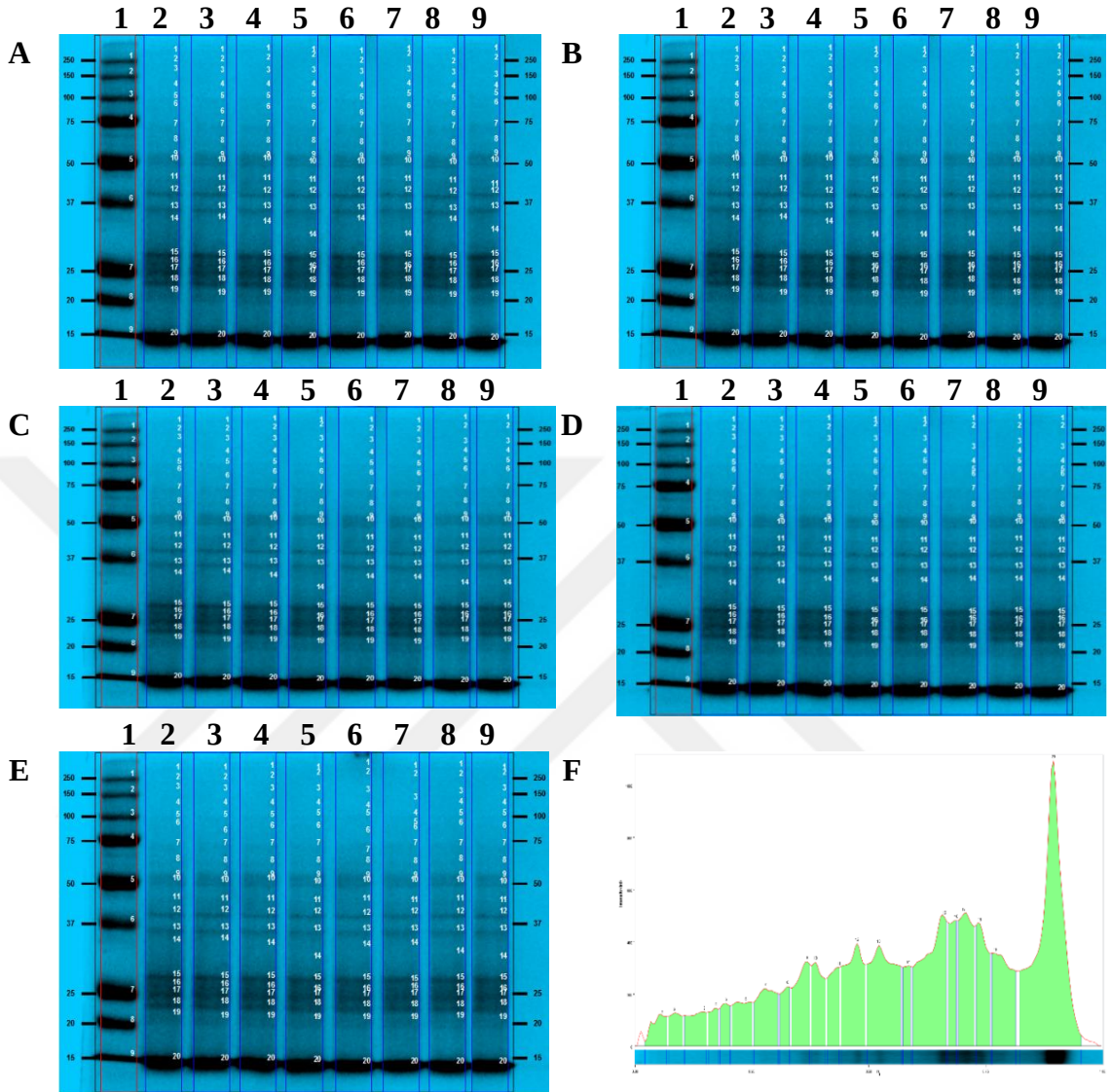


Şekil 4.25. Karaciğer dokusu elektroforetogramları

(1 Moleküler ağırlık markeri, 2-3 Kontrol, 4-5 Doz 1, 6-7 Doz 2, 8-9 Doz 3)

(A- 0. Gün, B- 4. Gün (Akut 96.saat), C- 7.Gün, D- 14.Gün, E- 21.Gün) ve densitogramı (BioRad ImageLab 4.01 jel analiz programı)

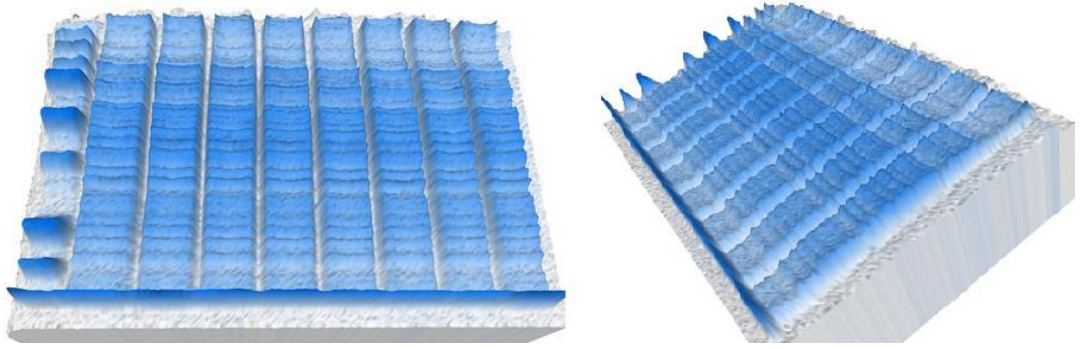
Analiz sonucunda solungaç dokusunda 30, karaciğer ve böbrek dokusunda ise 31 adet protein bandı belirlenmiştir. Kronik uygulama sonrasında her 3 dokudada protein miktarlarında hacimsel olarak azalma olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.26. Böbrek dokusu elektroforetogramları

(1 Moleküler ağırlık markeri, 2-3 Kontrol, 4-5 Doz 1, 6-7 Doz 2, 8-9 Doz 3)

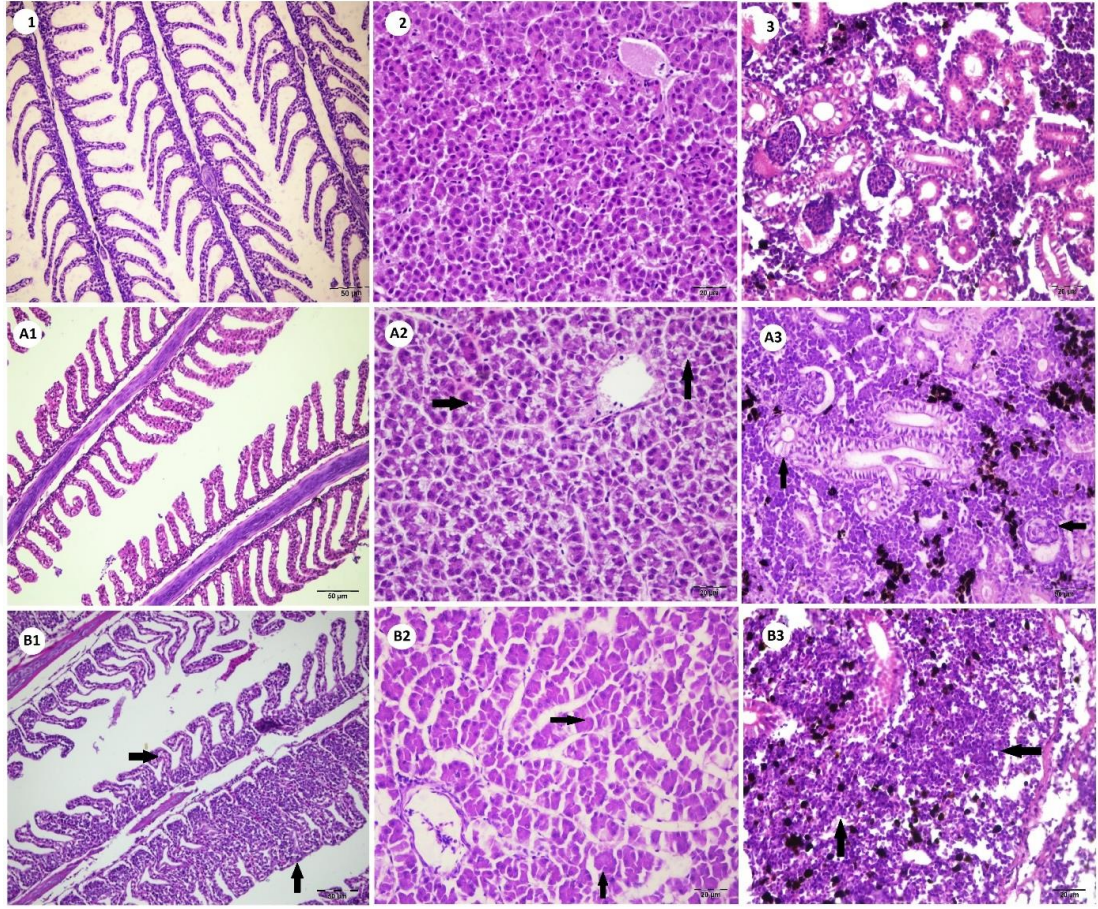
(A- 0. Gün, B- 4. Gün (Akut 96.saat), C- 7.Gün, D- 14.Gün, E- 21.Gün) ve densitogramı (BioRad ImageLab 4.01 jel analiz programı)



Şekil 4.27. Proteinlere ait 3 boyutlu dansitogram görüntüsü

4.7. Histopatoloji Sonuçları

Solungaç, karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik incelemesinde kontrol grubu (1, 2, 3), akut uygulamanın A3 grubuna ait 96.saat (A1, A2, A3) ve kronik uygulamanın K3 grubuna ait 21.gün (B1, B2, B3) örnekleri değerlendirilmiştir.



Şekil 4.28. Kontrol grubu balıklarda normal solungaç (1), karaciğer (2) ve böbrek (3) yapısı. Uygulama gruplarında histopatolojik değişiklikler (A1, A2, A3 (Akut 96.saat) ve K1, K2, K3 (Kronik 21.gün)). H-E.

Kontrol grubuna ait solungaç, karaciğer böbrek kesitleri normal bulunmuştur (Şekil 4.29). Akut ve kronik uygulama gruplarında A3 ve K3 gruplarında belirlenen bulgular ise;

A1: Normal solungaç yapısında değişiklik belirlenmemiştir. H-E. 50µm.

A2: Karaciğerde hepatositlerde hidropik-vakuoler dejenerasyon (oklar). H-E. 20 µm.

A3: Atrofik glomerulus ve tubullerde dejeneratif değişiklikler (oklar) H-E. 20 µm.

K1: Lamellerde ödem ve hücresel infiltrasyonlardan ötürü kalınlaşma (oklar). H-E. 50µm.

K2: Karaciğerde disosiasyon ve hepatositlerde nekroz ve H-E. 20 µm.

K3: Böbrekte şiddetli yangısal hücre infiltrasyonları ve yıkımlanmış parankim doku (oklar) H-E. 20 µm (Şekil 4.29).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Hematoloji

Genellikle canlı organizmaların uzun dönemli toksik maddelere maruz kalması, önce organ ve dokularda birikime sonrada bu kirleticilerin zararlı etkilerinin bir sonucu olarak moleküler düzeyde dönüşümsüz değişiklerin oluşmasına neden olmaktadır (Esenbuğa 2013).

Sucul organizmaların strese tepki olarak verdiği primer yanıtın fizyolojik etkisiyle, zincirleme bir şekilde sekonder yanıtlar oluşur. Sekonder yanıtlar ise histolojik, histopatolojik, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde meydana gelen değişikliklerle belirlenebilmektedir. Balıklarda stres sonrasında homeostaziye sağlamak amacıyla, hematolojik, hormonal ve enerji metabolizmasını düzenleyen bazı fizyolojik değişiklikler açığa çıkmaktadır (Kayhan 2009).

Balıklarda ksenebiyotikler solungaç ve mide-bağırsak aracılığı ile vücuda alındıktan sonra kan vasıtasıyla doku ve organlara taşındığı için, ilk olumsuz etki kan hücreleri ve bunların üretildiği dokularda meydana gelir (Witeska and Baka 2002). Akut stres ortamında bulunan balıklarda, fizyolojik sistem gereği dalak sürekli kasılarak eritrosit üretimini teşvik edeceği için eritrosit sayısında artış meydana gelebilir. Sonraki periyotlarda yeterli miktarda eritrosit oluşumunun gerçekleşmemesi bu sistemin zarar gördüğü anlamına gelmektedir.

Stres koşullarında bulunan balıklar bu ortamdan korunmak için hiperaktif olur ve enerji ihtiyacını karşılamak için yüksek miktarda oksijen tüketir. Diğer taraftan kirleticilerden uzaklaşmak için mukus salgısını artırarak vücudunu kaplar ve bunun sonucunda solungaçlardan gazların değişimi azalır. Oksijen ihtiyacının artışı ve oksijen alımının yavaşlaması sonucunda balıklarda hipoksi meydana gelebilir (Alkahem *et al.* 2011).

Balıklarda stresin nedeni endojen ve eksojen kaynaklı faktörlerdeki değişimler olabilmektedir. Bu değişimler ilk olarak kan parametrelerini etkilemekte ve çok kısa sürede gözlenebilmektedir. Balıklar stres anında, homeostatik mekanizmalarla metabolizmayı normal düzeye döndürmeye çalışmaktadır. Ancak stres faktörünün uzun süreli etkisi sonucu metabolizmanın tepkisi yetersiz kalmaktadır (Duran 2011). Alfa sipermetrin uygulaması sonrasında konsantrasyon ve süreye bağlı olarak gökkuşağı alabalıklarının (*O.mykiss*) kan parametrelerinde, meydana gelen önemli değişiklikler (artış ve azalış) uygulanan pestisitlerin derişimi ve kimyasal formunun homeostatik mekanizmaların etkisini inhibe etmesinden kaynaklanabilir.

Hemoglobin değeri akut uygulamada 24-48-96 saatlik periyotların tümünde artış göstermiştir. Kronik uygulamada ise 7-14. günlerde azalmalar belirlenirken 21. günde artış kaydedilmiştir. Hemoglobin değerindeki azalmalar pestisitlerin zararlı etkisi nedeniyle hücrelerin yıkımı ile ilgilidir. Alfa sipermetrine maruz bırakılan balıkların hemoglobin değerindeki azalmaların aerobik glikolizinin inhibisyonu nedeniyle demir sentez mekanizmasının bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Banaee *et al.* 2008). Kronik uygulamada hemoglobin ve hematokrit değerlerindeki azalma anemi varlığını göstermektedir. Hemoglobin seviyesindeki artış ise bir tür adaptasyon olarak görülmektedir. Osmoregülasyon dengesinin bozulması, hipoksi ve kan akışkanlığının azalması hemoglobin seviyesinde artışa sebep olmaktadır (Javale and Dama 2010).

Hematokrit düzeyi, eritrosit sayısı ile orantılı olmasından dolayı kanın oksijen taşıma kapasitesi ve eritropoietik dokuların işlevleri hakkında bilgi veren önemli bir parametredir (Witeska 2005). Anemilerde kan sıvısı arttığından genel olarak hematokrit değeri azalır. Balık türleri ile yapılan araştırmalarda, eritrosit sayısı ve hematokrit düzeyinin türe, ortam konsantrasyonuna ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişim gösterdiği saptanmıştır (Arslan 2006).

Çalışmamızda akut uygulama periyodunda uygulama süresine ve konsantrasyona bağlı olarak dalgalanmalar (artış-azalış) olduğu belirlenmiştir. Hematokrit seviyesindeki artış eritrositlerin büyümesinden veya plazmanın hemokonsantrasyonundan kaynaklanabilir.

Kronik uygulama sonucunda hematokrit seviyesinde belirlenen azalışta eritrosit sayısının düşmesi veya hemodilüsyonun etkili olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca yapılan çalışmada akut ve kronik uygulama periyotlarında sedimentasyon değerlerinde değişimler olurken bu farklılık istatistik olarak günxgrup interaksiyonunda önemli bulunmamıştır. Bu değerlerin literatürlerde (Atamanalp vd 2011; Nwani *et al.* (2013) bildirilen değerlerden farklılık göstermesi denemeye alınan balık türlerinin, kullanılan balıkların cinsiyet ve yaşlarının ve çalışmaların yapıldığı koşulların farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Eritrositler oldukça stabil parametrelerdir ve balıklar çeşitli fizyolojik mekanizmalarını kullanarak bu standardizasyonu sürdürürler. Çalışmamızda akut uygulamanın 24 saatlik periyodunda eritrosit sayılarında artış gözlenirken 48. ve 96. saatlerde azalış belirlenmiştir. Bu dalgalanma, uygulamanın ilk 24 saatlik periyodunda, fizyolojik mekanizmalar etkinleşerek eritrosit üretimini teşvik etmiş sonraki periyotlarda ise alfa sipermetrinin doz artışına bağlı olarak hematoksik etkiler ortaya çıkarak eritrosit üretimini engellemiştir. Bu durum uygulama yapılan balıklarda aneminin geliştiğine, hemoglobin veya diğer hücresel komponentlerin oksidasyonu nedeniyle ROS' ların hasar gördüğüne işaret etmektedir (Mintzer *et al.* 2009).

Ksenobiyotikler eritrositlerin membran özelliklerini değiştirerek çekirdek ve hücre yapısında değişikliklere neden olmaktadır. Özellikle eritrositlerin boyutlarının ve yüzey şekillerinin bozulmasına ve eritrosit antioksidan sistem enzimlerinin aktivitelerinin değişmesine sebep olmaktadır (Blasiak *et al.* 1991).

Balık kanındaki hücrelerden sayıca en fazla olanı eritrositlerdir. Eritrosit sayısı, dokulara oksijen taşıma kapasitesinin bir ölçütü olarak bilinmektedir (Houston 1997).

Eritrositler oksijenin taşınmasında çok önemli role sahiptir ve hemoglobin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Tüm vertebratlarda bu durumun olması hematolojik parametreler arasında sinerjistik bağlardan kaynaklanmaktadır. Akut

uygulamada 48. saat ve kronik uygulamada ilk 7 günlük periyotlarda eritrosit sayılarında azalmanın meydana gelmesi alfa cypermetrinin balıkların homopoetik sistemde fizyolojik bozukluklar oluşturduğunun göstergesidir. Eritrosit sayısındaki azalma hücre canlılığını etkileyen peripherel hücrelerin pestisit etkisinde bozulmasından kaynaklanmış olabilir. Bu durum kandaki karbondioksit seviyesinin yükselmesinin sonucu olarak anaerobik solunumu teşvik etmesidir. Bu durumda balık dokulara daha fazla oksijen taşımak için olgunmamış eritrositlerin salınımı gerçekleşir.

Oksijen taşıma kapasitesi etkin hemoglobin konsantrasyonuna bağlı olup taşıma kapasitesi anemide azalır. Aneminin tipine bağlı olarak bu kapasite, ya eritrositlerin sayısının azalmasından, ya da yetersiz veya anormal hemoglobin yapımından kaynaklanır. Dalak ve karaciğerden ayrılan tam gelişmemiş eritrosit bölünme yeteneğine sahiptir fakat henüz hiç hemoglobin içermez. (Anonim 2016i).

Stres koşulları altında balıkların lökosit miktarında gözlemlenen değişikliklerin sebebi bağışıklık sisteminin baskı altına alınması ve hastalıklara karşı duyarlılığın artmasıdır. Lökosit miktarındaki artış, kirleticilere maruz bırakılan balığın hayatta kalabilmesine ve fizyolojik sisteminin bütünlüğünü koruyabilmesine yardım eden antikorların artışıyla doğru orantılıdır (Ayoola 2011).

Bu çalışmada akut uygulamanın 24-48. saatlerinde lökosit sayısında artışın gözlenmesi, fizyolojik sistemde alfa sipermetrin kaynaklı stresle mücadele etmek için antikor üreten immünolojik reaksiyonların gerçekleşmesinden kaynaklanmaktadır. Lökositler savunma sistemi fonksiyonu nedeniyle bağışıklık sisteminin en önemli hücreleridir. Kirleticilerin transformasyonu nedeniyle ortamdaki değişikliğe kısa sürede cevap verirler. Lökosit sayısında artışın balıklarda toksik maddeye karşı savunma mekanizmasını geliştirebildiğini ancak uygulama süresine ve doz artışına bağlı olarak bağışıklık sisteminin zayıfladığı söylenebilir. Kronik uygulamada ise 7. günde lökosit sayılarında düşüş belirlenirken 14. ve 21. günlerde artış belirlenmiştir. Toksik kimyasallara maruziyet sonucunda lökosit sayılarında anormallikler gözlenebilir. Lökosit sayısının

ani artışı balıkların savunma sisteminin aktivasyonu ve bağışıklık mekanizmalarının güçlü olmasıyla açıklanabilir.

Sinha *et al.* (2009), lökosit miktarındaki düşüşün toksik madde uygulaması sonucunda hemolitik enzimlerin hücrelere sızarak otolizi (hücre veya dokunun çıkardığı enzimler etkisiyle kendi kendini eritmesi) sonucunda olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızın akut uygulamalarında lökosit miktarındaki değişimlerde balıkların metabolik cevap olarak lökosit ürettiğini ancak bu üretimin süreklilik göstermediği, doza bağlı olarak dalgalı bir seyirde devam ettiği sonucuna varılmıştır. Kronik uygulama periyotlarında ise 7 günlük periyotta lökosit sayısının baskılandığı ancak sonrasında savunma sisteminin lökosit üretimine teşvik ettiği belirlenmiştir. Bu durum stres altındaki balıklarda epinephrin salgılanmasından ve bağışıklık sisteminin zayıflamasından kaynaklanmış olabilir. Lökosit sayısındaki artışın sebebi toksik yıkıma karşı balığın savunma sistemi cevabı veya stres altındaki balıkların homeostasi dengesi kurmaya çalıştığı şeklinde açıklanabilir. Lökosit sayısındaki düşüş ise hematolojik dokularda bozukluk veya enfeksiyonların geliştiği anlamına gelebilir.

Balıklarda stres koşulları, çeşitli kirleticiler, sıcaklık ve oksijen gibi ortamın fiziksel ve kimyasal yapısındaki herhangi bir faktörde oluşan değişimlerin etkileri sonucu oluşmakta ve bu değişimler öncelikle kan parametrelerini etkilemektedir. Balıklarda stres altında çok kısa sürede gözlenebilen bu değişimler belirli bir süre içerisinde homeostatik mekanizmalarla normale dönüştürülse de stres faktörünün daha uzun sürelerinde kalıcı olabilmektedir (Duran 2011).

Trombositler hemostazın sağlanmasında yani kanamanın durdurulmasında önemlidirler. Ancak hem damar sistemi hem de kanın bizzat kendisi kan kaybının önlenmesine yönelik bir dizi koruyucu mekanizmaya sahiptir. Trombositler bir yüzeye yapışma eğilimindedirler, fakat kan damarlarının içini döşeyen normal endotel hücrelerine yapışmazlar. Ancak damarın içindeki endotel bir şekilde hasar görürde altındaki bağ dokusu (kollajen) açığa çıkarsa, trombositler kollajene bağlanır. Bu bağlanma trombositlerin granüllerdeki içeriği ortama boşaltmalarına sebep olur (Anonim 2016i).

Çalışmamızda akut uygulama sonucunda 48-96.saatlerde trombosit miktarında azalmalar belirlenmiştir. Vücuttaki ksenobiyotik madde miktarı, kana bağımlı bağışıklık sistemini etkileyen olumsuzluklar, kan hücrelerindeki oksijen miktarının azalması ve dalakta meydana gelen olumsuz etkiler trombosit eksikliğinin sebebi olarak gösterilebilir.

Hipoksi durumunun gerçekleştiği ortamda balıklar bu durumun üstesinden gelebilmek için eritrositlerin MCV ve MCH miktarını artırmaktadırlar. Bu değerlerde meydana gelen artış eritrositlerin yıkımı nedeniyle veya üretilmemesinden dolayı oluşmaktadır. Normal koşullar altında eritrosit hücre parametreleri oldukça stabil olup stres koşulları altında dalgalanmalar göstererek kan kompozisyonundaki kantitatif değişikliklerin miktarını sağlayabilir. Stres faktörünün Hct ve MCV değerinde artışa ve MCHC değerinde azalışa sebep olduğunu rapor etmişlerdir (Iversen *et al.*1998).

Kumari *et al.* (2014) MCV değerindeki artışı endosmosis (dışarıdan içeriye doğru osmoz) olarak tanımlamış ve bu değer dahada yükselirse hemodilüsyonun (kanda eritrositlere oranla plazmanın artması) ortaya çıkacağını bildirmiştir. Balık stres faktörünün ortaya çıkardığı hipoksi ile mücadele etmek için genellikle eritrositlerin MCV ve MCH'ını artırarak cevap verir. Akut uygulamada, 48 saatlik periyodunda bu indislerde artış belirlenmiştir. Bu artışın alfa sipermetrinin eritrositlerin yıkımına sebep olduğundan veya eritrositlerin üretilmemesinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Yine bu parametrelerdeki artışın hemoliz sonucunda eritrositlerin membranlarındaki yapısal bozukluktan kaynaklanmış olabileceğide gözlemlenmiştir. Kronik uygulamada MCV ve MCH değeri 7 günlük periyotta artış gösterirken 14 ve 21. günlerde azalma eğilimine geçmiştir. Akut uygulamada MCHC değerindeki artış eritrositlerin büyümesi veya hemoglobin sentezinde bir azalmanın olduğunun göstergesidir.

Çelik vd (2006), farklı tür balıklarda hematolojik indekslerin referans değerleri üzerine yaptıkları çalışmada her türlü stres, hastalık, beslenme yetersizliği, toksik maddeler, su kalitesindeki değişimler ve diğer çevresel faktörler gibi nedenler balığın direk fizyolojik durumunu etkilediğini belirlemişlerdir. Balıklarda sağlık ve fiziksel durumun önemli göstergeleri olarak bilinen bazı hematolojik indekslerin farklı tür balıklardaki seviyeleri

incelenmiştir. Hematolojik indekslerden RBC, WBC, Hb, Hct, MCV, MCH ve MCHC minimum ve maksimum değerleri sırasıyla $0,128-4,005 \times 10^6/\text{mm}^3$, 1, $43571-107,000 \times 10^3/\text{mm}^3$, 1, $300-16,000 \text{ g}100\text{ml}^{-1}$, % 4, $800-58,800$, $31,600-894,940 \mu\text{m}^3$, $17,300-406,250 \mu\text{g}/\text{hücre}$ ve $8,700-65,000 \text{ g } 100\text{ml}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bu değerler ışığında, genel olarak balıklarda hematolojik indekslerin farklılık gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Akut enfeksiyonlar, ağır metal zehirlenmeleri ve böbrek deformasyonları gibi durumlarda eritrosit sedimentasyon oranı yükselme göstermektedir (Blaxhall and Daisley 1973). Balıklarda enfeksiyon varlığı ile sedimentasyon hızı artmaktadır (Uçar 2010). Bu değerlerin literatürler de bildirilen değerlerden farklılık göstermesi denemeye alınan balık türlerinin, kullanılan balıkların cinsiyet ve yaşlarının ve çalışmaların yapıldığı koşulların farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Kan hücrelerindeki şekilsel ve hacimsel değişiklikler, toksik etkili kimyasalların spesifik göstergelerinden biri olup, bu değişiklikler arasında eritrosit ve eritrosit nükleus büyüklüğündeki değişiklikler, yapısal deformasyonlar sayılabilir (Vosyliene 1999; Duran 2011).

Isoda and Fujimaki (1990), herhangi bir enfeksiyona maruz kalmış, hasta balık bireylerinde, eritrosit sayısında düşüş olduğunu ve lökosit hücrelerinde de savunmaya bağlı artışın görüldüğünü bildirmişlerdir.

Trombosit sayısını, Lester and Budd (1983) coho salmonlarında $26,10^3 \text{ mm}^3$, Casillas and Smith (1977) gökkuşağı alabalıklarında strese önce $21,10^3 \text{ mm}^3$, strese sonra $43,10^3/\text{mm}^3$ olarak bildirmişlerdir. Balıklarda stres koşulları, çeşitli kirleticiler, sıcaklık ve oksijen gibi ortamın fiziksel ve kimyasal yapısındaki herhangi bir faktörde oluşan değişimlerin etkileri sonucu oluşmakta ve bu değişimler öncelikle kan parametrelerini etkilemektedir. Balıklarda stres altında çok kısa sürede gözlenebilen bu değişimler belirli bir süre içerisinde homeostatik mekanizmalarla normal düzeye döndürülmekte, ancak stres faktörünün daha uzun sürelerle etkisinde kalıcı olmaktadır (Duran 2011).

Suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki değişimler balıkların hematolojik parametrelerinde değişime neden olmaktadır. Suyun pH'sının asidik yöne kaymasının balıklarda hematokrit, hemoglobin düzeyleri ile eritrosit sayısını artırdığı Heat (1995) tarafından bildirilmiştir.

Hematolojik parametrelerinin, balığın fizyolojik durumunu yansıtmaları nedeniyle ortamdaki kirlilik düzeyinin belirlenmesi, üreticilikte hastalık ve mortalite görülmeden gerekli önlemlerin alınması ve kirleticilerin besin zinciri yolu ile daha üst trofik düzeylere yoğun olarak aktarılacak insan sağlığını etkilememesi bağlamında, sık sık saptanması önerilebilir.

5.2. Enzim aktiviteleri

Serbest radikallerin düşük miktarları mikroorganizmalara karşı savunmada yararlı olsa da bu miktarın artması sonucu oksidatif stres açığa çıkmakta ve kalıcı hasarlara sebep olabilmektedir (Yu *et al.* 2008).

İç ve dış faktörlerin etkisiyle serbest radikallerin artışı sonucu antioksidan savunma sisteminin bozulması ve oksidatif stresin engellenmesinde yetersiz kalınması birçok çalışmada ortaya konulmuştur (Dorvel and Hontela 2003; Keramati *et al.* 2010).

Pestisitler reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunu uyarabilirler (Gluszczak *et al.* 2007; Keramati *et al.* 2010). Yapılan çalışmalarda ksenobiyotiklerin H₂O₂, superoksit anyonu ve hidroksil radikali gibi serbest radikal türlerinin üretimini arttırdığı belirlenmiştir (Banerjee *et al.* 1999).

Canlılar serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunabilmek için antioksidan savunma sistemi (ASS) ile donatılmışlardır. Antioksidant enzimler oksidatif stres tarafından indüklenen anahtar bileşenler olup, endojen enzimler (Süperoksitdismutaz (SOD), Glutatyonperoksidaz (GSH-Px), Katalaz (CAT) ve eksojen enzimlerden (Vitamin E ve C, bazı ilaçlar) oluşmaktadır (Uçar vd 2012). Bu enzimler hücre dengesinin

düzenlenmesinde yaşamsal bir öneme sahiptirler ve indüksiyonları kirleticilere karşı verilen tepkinin bir sonucu olup, antioksidant enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu toksikolojik çalışmalarda hücre hasarlarının incelenmesinde önemli indikatörlerdir (Oruç vd 2004; Çinkıloğlu 2007; Kayış 2010).

Oksijen yönünden zengin bir atmosferin varlığı reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS)'ne karşı çıkan endojen bir antioksidant sistemin gelişmesini sağlamıştır (Sen and Packner, 2000). Bu O₂ metabolizması ürünlerinin azaltılması enzimatik (SOD), (CAT) ve (GSH-Px) hücresel savunma mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir (Uçar vd 2012).

Çoğu organizmada antioksidan sistemi temel olarak SOD, GPx, CAT enzimlerinden oluşmaktadır (Kehrer, 1993; Kerameti *et al.* 2010). SOD, CAT, GPx ve GR gibi enzimlerin pestisitlerden kaynaklanan serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı hücresel sistemi koruyabildikleri saptanmıştır (Banerjee *et al.* 1999; Banerjee *et al.* 2001).

Cossuue *et al.* (1997) kimyasal stres altında antioksidan sistemlerin indüklemesinin adaptasyon olarak değerlendirilebileceğini, adaptasyonun olmaması durumunda organizmanın toksik maddeye duyarlı olacağını ve toksisitenin başlayacağını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda SOD enzim aktivitesinde ilk saatlerde ve bazı konsantrasyonlarda azalmalar olsada genel olarak bir artış söz konusudur. SOD serbest radikallere ilk tepki mekanizması olup, meydana gelen artışın alfa sipermetrin uygulamasının sebep olduğu süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırmak için olduğu düşünülmektedir. Azalma olan durumlarda ise pestisite karşı oluşan adaptasyonun bir sonucu ya da enzimin bazal aktivitesiyle serbest radikal oluşumunu inhibe etmesinin etkisinin olduğu düşünülmektedir (Song, 2004). Söz konusu parametre ile ilgili olarak mevcut çalışmadan elde edilen bulgular yapılan bazı çalışmalarla paralellik göstermiştir (Oruç vd 2004; Peixoto *et al.* 2006).

Süperoksit dismutaz ve katalaz toksisiteye karşı savunmanın ilk ve en önemli basamağındadır. H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda görev alan CAT gibi enzimatik antioksidantların kanda, kemik iliğinde, mukoz membranlarda, böbrek ve karaciğerde diğer dokulara oranla daha fazla bulunduğu ve daha yüksek aktivite gösterdiği bilinmektedir (Pandey *et al.* 2003; Çinklıoğlu 2007). Elde edilen sonuçlara benzer olarak Peixoto *et al.* (2006) tilapia (*Oreochromis niloticus*), Sayeed *et al.* (2003) yeşil yılanbaşı (*Channa punctatus*) balığının karaciğerinde pestisit uygulamalarının CAT aktivitesini artırdığını kaydetmişlerdir.

Çalışmamızda CAT enzim aktivitesinin solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında genel olarak yüksek çıkmasını bu enzimin, alfa sipermetrinin etkisi ile hücreresel düzeyde artış gösteren H_2O_2 'nin su ve oksijene indirgeme özelliğinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Konsantrasyon ve süreye bağlı olarak bazı değerlerde ise CAT aktivitesinde düşüşler gözlenmiştir. H_2O_2 'nin yüksek olduğu ve adaptasyonun sağlanamadığı durumlarda bu değişikliklerin olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca CAT aktivitesinde meydana gelen azalışların sebebinin, serbest radikallerin protein sentezini baskılamasından dolayı olduğu düşünülebilir (Palaniappan *et al.* 2008).

Antioksidant enzim aktiviteleri, glutatyon redoks düzeyi, lipid peroksidasyonu toksikolojik çalışmalarda sıklıkla tercih edilen biyomarkırlardır (Oruç vd 2004). Özellikle hücre içi GSH düzeyindeki değişimler, balıklarda kirleticilerin neden olduğu oksidatif stresin önemli bir indikatörü olarak kabul edilmektedir (Zhang *et al.* 2005; Çinklıoğlu 2007).

GPx enziminin substratı, Glutatyon (GSH)'dır. GSH seviyesinde meydana gelen azalmalar, serbest radikal üretiminin artmasına ve hücresel boyutta bozukluklara sebep olur. GSH oksidatif stresin seviyesinin değerlendirilmesinde önemli olup hidrojen peroksiti inhibe etmektedir (Jurma *et al.* 1997).

Kirleticilerin etkisinde GSH düzeyinde gerçekleşen artışlar, GSH sentezinde görev alan enzimlerin, GSH düzeyinin yerine koyulması için gerçekleştirebilecekleri

düzenlenmeler ve aktivasyonlar ile açıklanmaktadır (Çinklioğlu 2007). Bu çalışmada alfa sipermetrin etkisinde, solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında kontrole oranla GPx'de gözlenen artışların, GSH'ın, aktive olan GSH sentez mekanizmaları ile yerine konmasına bağlı olabileceği ya da diğer detoksifikasyon mekanizmaları ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Zhang *et al.* 2005; Çinklioğlu 2007). Muamele grupları arasında gözlemlenen GPx aktivitelerinde meydana gelen azalmaların ise O₂'nin artışına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir (Yılmaz 2010).

Doymamış yağ asitleri ile serbest radikaller arasındaki reaksiyon sonucu oluşan ve hücrel membranlarda lipid peroksidasyonu (LPO) ana ürünü olan hücrel MDA seviyesi LPO'un seviyesinin ifadesi olarak değerlendirilebilir (Papadimitriou *et al.* 2002; Yu *et al.* 2008).

Çalışmamızda akut ve kronik uygulamalar sonucunda lipid peroksidasyon seviyesinde (MDA), konsantrasyona ve süreye bağlı olarak artışlar olduğu belirlenmiştir. Pestisitler oksidatif stresi arttırarak serbest radikal üretimine ve LPO'ya yol açmaktadırlar. (Kehrer 1993). Pestisitlerin etkisinde ROS'un yükseldiğini ve bunun oksidatif strese yol açarak antioksidan enzimleri azalttığını bunun da LPO oluşumunu artırarak membran yapısını bozduğunu artan MDA miktarıyla açıklayabiliriz (Akhgrari *et al.* 2003; Fetoui *et al.* 2009). Piretroit insektisitlerden deltamethrin farelere oral yolla 15 gün süreyle verilmiş, çalışma sonunda karaciğer ve böbreklerde lipid peroksidasyonunu arttığı bildirilmiştir (Rehman *et al.* 2006).

Tetyana *et al.* (2005) yaptıkları çalışmada 3-amoni 1,2,4 triazole kirleticisiyle muamele edilmiş goldfish (Japon balığı) balığında LPO ve oksidatif stres seviyesinin arttığını bildirmişlerdir.

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Bu hasarların belirlenmesinde sıklıkla tiobarbütirik asitle ölçülebilen

malondialdehit (MDA) kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir (Akkuş 1995).

Pestisit uygulanan gruplarda MDA düzeylerinin anlamlı ölçüde artış gösterdiği dikkati çekmektedir. Bununla birlikte, bu gruplarda CAT ve GPx enzim aktivitelerinde gözlenen artışın da lipid peroksidasyonundaki bu artışı kompanse edecek yönde olduğunu düşündürmektedir (Kaya 2005).

Balık yetiştiriciliği yapılan sulara (tatlı su, tuzlu su, akarsu ve durgun su), su içerisinde barındırmış olduğu organizmalara zarar verebilecek her çeşit yabancı maddelerin karıştırılmaması insan sağlığı açısından, ekonomik açıdan ve organizmanın sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle gerekli ön tedbirler alındıktan ve incelemeler yapıldıktan sonra balık üretim tesisleri planlanmalı ve zehirlenmelerden kaynaklı ölümlerin önüne geçilebilmesi için doğal su kaynaklarımızın her çeşit kirleticiden korunması zorunludur.

Çalışma sonucunda elde edilen verilere dayanarak doğal su ortamlarındaki kirliliğin düzenli olarak izlenmesi, canlılar üzerindeki etkilerinin belirlenerek bu çalışmalarla bir veri tabanı oluşturulması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Yapılan tüm çalışmalar doğrultusunda gerekli önlemlerin alınarak yetiştiricilik açısından zararlı olan kirleticilerin etki seviyelerinin belirlenmesi zorunlu hale gelmiştir.

5.3. Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK)

Lipazlar enzim yapısında olup yağ asitlerini sentezleyen veya yağları hidrolizleyen lipolitik yapıdadır ve gliserin ile yağ asitlerinden oluşan esterleri hidroliz etmekle görevlidir. Lipazlar sulu ortamda katı ve sıvı yağların ve diğer lipidlerin hidrolizini katalizleyerek diaçilgliserinler, monoaçilgliserinler, gliserin ve serbest yağ asitlerini

oluştururlar. Enzimatik olarak gerçekleşen hidroliz tepkimesine lipoliz adı verilir (Keklikçioğlu ve Açikel 2011).

Triaçilgliserol molekülleri bağırsaklar tarafından emilemeyecek büyüklükte moleküller olup, estaraz yapıda olan pankreatik lipaz tarafından hidroliz edilerek 1.ve3. karbonlarına bağlı durumda olan yağ asitlerinden ayrılır. Açığa 2- monoaçilgliserol ve serbest yağ asidi çıkar. Buda bize triaçilgliserol ile serbest yağ asidi arasında ters orantı olduğunu ifade etmektedir (Mayes and Botham 2003).

Çalışmamızda karaciğer ve böbrek dokusuna triaçilgliserol (TAG), serbest yağ asidi (SYA), kolesterol (KOL) ve fosfolipid (FL) profilleri belirlenirken solungaç dokusunda bunlara ek olarak diaçilgliserol (DAG) profilide belirlenmiştir.

Akut uygulamamızda solungaç ve karaciğer dokusunda yağ profili oranlarında bir değişiklik söz konusu olmamıştır. Böbrek dokusunda ise sadece SYA oranında süreye ve konsantrasyona bağlı olarak bir artış söz konusudur ($P<0,005$). Kronik uygulamamızda ise solungaç dokusunda KOL, FL ve TAG oranlarında, karaciğer dokusunda TAG ve FL oranlarında, böbrek dokusunda FL oranında azalma olurken tüm dokularda SYA oranında artış belirlenmiştir.

Uygulamamızda süre ve konsantrasyon artıkça değişikliklerin meydana geldiği gözlenmiştir. TAG ve FL sentezlerinde SYA açığa çıkması (Sandoval 2012) değerlerimizle orantılıdır. Bu değişikliklerin alfa sipermetrin uygulaması sonucunda balığın maruz kaldığı stres faktöründen ve stres sonrası oluşan açlıktan kaynaklandığı düşünülmektedir (Ruwhof *et al.* 2001).

Balıkların yağ asitlerini doğrudan enerji kaynağı olarak kullanamaması nedeniyle trigliseritler parçalanarak gliserole, gliserol de glikojene dönüştürülür. Bu parçalanma işlemi, balıkların açlık dönemlerinde (yağ asitlerinin enerji kaynağı olarak kullanılma esnasında) glukagon hormonu ve lipaz enzimi yardımıyla gerçekleşmektedir (Love 1970).

5.4. SDS-PAGE Analizleri

Akut ve kronik uygulamalar ile alfa sipermetrine maruz bırakılma balıkların solungaç karaciğer ve böbrek dokularındaki toplam protein profilini ait bant yoğunlukları belirlenmiştir (Şekil. 4.28-4.29-4.30). Akut uygulamada protein banlarında herhangi bir azalmaya rastlamazken kronik uygulamada K3 konsantrasyonu ve son gün itibari ile bant yoğunluklarında azalmalara rastlanılmıştır. Ayrıca uygulama grupları arasında da bant yoğunluklarına göre fark belirlenmemiştir. Sürenin artması ve uygulamanın devam etmesi sonucunda bant yoğunluğunda azalmaların devam edeceği düşünülmektedir.

Lipit oksidasyonu sonucunda proteinlerin denatürasyonu ve enzimlerin inhibe olması ile biyolojik membranların yıkımı meydana gelmektedir (Standby 1990; Brannan and Erickson 1996). Çalışma sonucunda elde ettiğimiz lipit peroksidasyonundaki artış, protein denatürasyonu ile toplam protein hacminde meydana gelen azalmayı destekler niteliktedir.

Elektroforez sonuçlarına göre bant yoğunluğunda meydana gelen azalmanın, alfa sipermetrine maruz kalma sonucunda proteinlerin disulfid kovalent bağların kopması ve protein denatürasyonunun meydana gelmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

5.5. Histopatoloji Analizi

Akut ve kronik uygulamanın son günlerinde solungaç karaciğer ve böbrek dokularında meydana gelen patolojik değişiklikler incelenmiştir (Şekil 4.28). Akut uygulamada solungaç yapısında değişiklik belirlenmemiştir. Bu durum kısa süreli uygulamada solungaç dokusunda pestisit birikmemesi ve adaptasyon sürecinde solungaç dokusunda mukoza artışıyla ilişkilendirilebilir. Karaciğerde dokusunda hepatositlerde hidropik-vakuoler dejenerasyon meydana gelirken, böbrekte ise atrofik glomerulus ve tubullerde dejeneratif değişiklikler meydana gelmiştir. Bu dokularda ki hasarlar alfa sipermetrin bu dokulara nüfus etmesi ve kan hücrelerinde meydana gelen olumsuz etkiler ile açıklanabilir.

Kronik uygulamada ise solungaç dokusunda lamellerde ödem ve hücresel infiltrasyonlardan ötürü kalınlaşma, karaciğerde disosiasyon ve hepatositlerde nekroz ve böbrekte şiddetli yangısal hücre infiltrasyonları ve yıkımlanmış parankim doku (Şekil 4.32) oluşumları belirlenmiştir. Sürenin uzaması ve konsantrasyona bağlı olarak kanda ve hücresel boyutta meydana gelen değişiklikler, alfa sipmetrin uygulamasının olumsuz etkilerini yansıtmaktadır.

5.6. Sonuç ve Öneriler

Çevre kirliliğinin etkilerinin gün geçtikçe daha yoğun hissedilmesi çevre bilincinin gelişmesine olumlu etki etmektedir. Akuatik toksikoloji sucul organizmaların kirleticilere maruz kalması sonucu ortaya çıkan olumsuz etkileri ele almakta ve uzun süredir kullanılan test metotlarına yenilerini ekleyerek sonuçların hassasiyetini ve güvenilirliğini üst düzeye taşımaktadır. Özellikle sucul ortamdaki biyobelirteçler akuatik toksikoloji alanında yapılan araştırmaların sınırlarını genişletmiştir.

Kirleticilerin son durağı olan sucul ortamlarda meydana gelen birikim biyolojik yaşamı tehdit etmektedir. Akuatik organizmalar özellikle balıklar fizyolojik ve kimyasal değişikliklere karşı hassas canlılardır. Bu durumda kirleticilerin balıklar üzerinde oluşturduğu olumsuz etkileri belirlemek ekosistemin geleceği ve besin zincirinin her halkasındaki canlılar için oldukça önemlidir.

Çalışma sonucunda elde edilen verilere dayanarak doğal su ortamlarındaki kirliliğin düzenli olarak izlenmesi, canlılar üzerindeki etkilerinin belirlenerek bu çalışmalarla bir veri tabanı oluşturulması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Yapılan tüm çalışmalar doğrultusunda gerekli önlemlerin alınarak yetiştiricilik açısından zararlı olan kirleticilerin etki seviyelerinin belirlenmesi zorunlu hale gelmiştir.

Gökkuşağı alabalıklarının (*O. mykiss*) hematotoksik, hepatotoksik, nefrotoksik ve histopatolojik reaksiyonlar sonucu pestisitlere karşı duyarlı ve kirleticilere verilen tepkilerin belirlenmesinde yararlı biyomarkırlar olabileceği belirlenmiştir.

Gökkuşığı alabalıklarında (*O. mykiss*) alfa sipermetrinin;

- Kan parametrelerinde olumsuz değişimlere sebep olduğu,
- Solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında oksidatif strese neden olduğu ve lipid peroksidasyonunu arttırdığı,
- Kronik uygulama sonrasında gün ve doz artışına bağlı olarak, lipid peroksidasyonunun devamında lipid profillerinde de değişim ve oransal olarak azalışlara sebep olduğu,
- Kronik uygulama sonrasında gün ve doz artışına bağlı olarak, protein hacim miktarında azalmaların meydana geldiği,
- Solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında patolojik olarak hasarlara sebep olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler;

- Hematoloji parametrelerinin pestisit toksisitesinin belirlenmesinde etkin olduğunu göstermektedir.
- Biyokimyasal toksikoloji alanında bilime katkı sağlayacak ve kirlilik izleme programları ile ekotoksikolojik risk değerlendirme çalışmalarında kullanılabilecektir.
- Toksik maddelerin akuatik canlıların bünyesine alındıktan sonra oluşturduğu etki ve tepki mekanizmasını bir bütün halinde ortaya koymaktadır.
- Farklı alanlarda kullanılmakta olan HPTLC metodunun entegrasyonu ile su ürünleri alanında ilk kez kullanılarak pestisitlerin zararlı etkisinin dokulardaki yağ profili boyutunda oluşturduğu değişimi belirlemek için kullanılmıştır.

Tarımsal zararlılarla mücadelede, çevre duyarlılığı yüksek olan farklı yöntemlere yer verilmeli, kimyasal mücadele ise en son aşamada düşünülmelidir. Zararlılara karşı mücadelede kullanılan kimyasalların ambalajları boş dahi olsa çevreye bırakılmamalı ya da başka amaçla yeniden kullanılmamalıdır.

Zirai alanlarda pestisit kullanan çiftçiler; su kaynaklarına yakın arazilerde ilaçlama yaparken rüzgâr, yağmur vs. gibi etkenleri dikkate almalı, ilaçlamada kullanılan alet ve ekipmanları bu alanlarda yıkamamalı ve boş ilaç ambalajlarını sucul ortamlara atmamaları hususunda gerekli özeni göstermeleri konusunda bilinçlendirilmelidir.

Laboratuar çalışmaları arazi ortamına bir model oluştursa da benzer çalışmaların tabii ortamda yapılması yolunun araştırılması, bu şekilde tarımsal arazi yakınlarındaki su kaynaklarında yaşamını sürdüren balık başta olmak üzere tüm su canlılarının pestisitlerden etkileşimlerinin ortaya konulması düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abhijith, B. D., Ramesh, M. and Poopal, R. K., 2012. Sublethal toxicological evaluation of methyl parathion on some haematological and biochemical parameters in an Indian major carp (*Catla catla*). *Comparative Clinical Pathology*, 21 (1), 55-61.
- Ackman, R.G. 1994. Seafood lipids. F. Shahidi ve J.R. Botta (eds), *Seafoods: chemistry, processing technology and quality*. Blackie Academic & Professional, 41-45.
- Adeogun, A.O., Ogidan, M.I., Ibor, O.R., Chukwuka, A.Z., Adedara, I.A and Farombi, E.O., 2012. Long-Term Exposure to Industrial Effluent Induces Oxidative Stress and Affects Growth in *Clarias gariepinus*. *Research Journal of Environmental and Earth Sciences* 4(7): 738-746.
- Aebi H (1984) Catalase in Vitro. *Method Enzym* 105: 121- 126.
- Afonso C.D. Bainy, Erika Saito, Paulo S.M. Carvalho, Virginia B.C. Junqueira, 1996. Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquatic Toxicology* 34, 151-162.
- Akhgarı, M., Abdollahı, M., Kebryaezadeh, A., Hosseini, R., Sabzevari, O., 2003. Biochemical Evidence for Free Radical-Induced Lipid Peroxidation as A Mechanism for Subchronic Toxicity of Malathion in Blood and Liver of Rats. *Hum Exp Toxicol*, 4:205-11.
- Akkuş, İ. 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Kuzucular ofset, Konya.
- Alak, G., Atamanalp, M., Ucar, A., Arslan, H., Şensurat, T., Parlak, V., Kocaman, E. M. 2013., "Kahverengi Alabalıklarda (*Salmo trutta fario*) Kadmiyum Toksisitesine Karşı Humik Asit Etkisinin Hematolojik Parametrelerle Araştırılması.", *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences (EgeJFAS)*, 29(4): 181-185.
- Alak, G., Özdemir, N., Atamanalp, M. 2007. "Akuatik Toksikolojide Stres Proteinleri". *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3 (5-8): 545-552.
- Alkahem Al-Balawi HF, Ahmad Z, Al-Akel AS, Al-Misned F, Suliman EM, Al-Ghanim KA (2011). Toxicity bioassay of lead acetate and effects of its sub-lethal exposure on growth, haematological parameters and reproduction in *Clarias gariepinus*. *Afr. J. Biotech.* 10: 11039-11047.
- Allen, RG., Farmer, KJ., Newton, RK., Sohal, RS. 1984. Effects of paraquat administration on longevity, oxygen consumption, lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, inorganic peroxides and glutathione in the adult housefly. *Comp Biochem Physiol C*, 78 (2):283-8.
- Almeida1, J., Barreto, R., Ethel L., Novelli, B., Castro, F., E. Moron, S. 2009. Oxidative stress biomarkers and aggressive behavior in fish exposed to aquatic cadmium contamination. *Neotropical Ichthyology*, 7(1):103-108.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M., 1993. Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Sep 1; 90(17), 7915-7922.
- Amin, K., Hashem, K.S., 2012. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *BMC Veterinary Research* 2012, 8:45.

- Anonim 2016a. <http://www.worldometers.info/tr/>.
- Anonim 2016b. <http://www.bitkilerimiz.org/2014/11/pire-otu.html>.
- Anonim 2016c. <http://www.fitekran.com/antioksidanlar-hakkinda-hersey/>
- Anonim 2016d. (<http://www.rain-life.com.tr/index.php?p=161>).
- Anonim 2016e. <http://www.oksante.com.tr/oksantest.pdf>
- Anonim 2016f. <http://multiyasam.com/hemoglobin-hgb-yuksekligi-nedenleri-ve-tedavisi>.
- Anonim 2016g. <http://tahlil.com/hematokrit-testi-hct-nedir>.
- Anonim 2016h. (https://en.wikipedia.org/wiki/Polyacrylamide_gel_electrophoresis).
- Anonim 2016i. <http://www.dicle.edu.tr/Contents/263b1ae9-abe2-4561-9625-283ab2c1d725.pdf>.
- Anonymous 2016. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=161989.
- Arabacı, N. 2011. Cold aktif alkalın amilaz enzimi üreten bacillus sp. Suşlarının izolasyonu, enzim üretimi, karakterizasyonu ve endüstriyel kullanım olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Arslan, M., Karaytuğ, S., Cıık, B. “Bakırın *Clarias lazera* (Valenciennes, 1840)’da Doku Glikojen ve Serum Glukoz Düzeyi Üzerine Etkileri”, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 23(1/1): 23-27, (2006).
- Asada, K. 1976. Method of Plant Enzyme And Protein . Kyoritsu Pres Tokyo, pp. 373-378.
- Asada, K., Kanematsu, S., Okada, S. and Hayakawa T. 1980. Chemical and biological aspects of superoxide and superoxide dismutase, elsevier, Amsterdam, pp. 136-153.
- Atabeyoğlu, K., 2011. Bazı ağır metallerin subletal dozlarının gökkuşığı alabalıklarında, katalaz, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri ve mRNA ekspresyonları üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Su ürünleri mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora Tezi.
- Atamanalp, M., 2000. The effects of subletal doses of cypermethrin on haematological and biochemical parameters of rainbow trout (*O. mykiss*). Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Atamanalp, M., 2003. Farklı yetiştirme sistemlerinin (havuz ve kafes) gökkuşığı alabalığı (*O. mykiss* Walbaum, 1792) hemoglobin, hematokrit ve sediment seviyeleri üzerine etkileri. E. Ü. Su Ürünleri Dergisi, 20 (1-2), 81-86.
- Atamanalp, M., Aksakal, E., Kocaman, E. M., Uçar, A., Şişman, T. ve Türkez, H., 2011. Kobalt klorite maruz kalan gökkuşığı (*O. mykiss*)’nın kan parametrelerindeki değişimler. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 17, 573-576.
- Atamanalp, M., Angiş, S., Oğuzhan, P. and Aksakal, E., 2008. Alterations in hematological parameters of rainbow trout (*O. mykiss*) exposed to DDVP . Israeli Journal of Aquaculture, 60 (1), 9-12.
- Atamanalp, M., Kocaman, E.M., Canyurt, M.A., 2002. Kentsel Atıkların Capoeta capoeta (Güldenstaedt, 1772)’nın Hematokrit ve Sediment Seviyeleri Üzerine Etkileri. E. U. Su Ürünleri Dergisi, cilt 19, s (3-4):439-445
- Ayas D, Kalay M, Sangün MK (2009) Mersin Körfezi'nden Örneklenen Yüzey Suyu ve *Patella* Türlerindeki (*Patella caerulea*, *Patella rustica*) Cr, Cd ve Pb Düzeylerinin Belirlenmesi. Ekoloji 18, 70, 32-37.

- Ayoola, S.O., 2011. Acute toxicity and histopathology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings exposed to aqueous and ethanolic extracts of *Euphorbia poissonii* leaves. *New Clues Sci.*, 1: 55-68.
- Banaee M., Davoodi, M.H., Zoheiri F., 2013. Histopathological changes induced by paraquat on some tissues of gourami fish (*Trichogaster trichopterus*). *Open Vet J.* 2013; 3(1): 36–42.
- Banaee, M, Mirvagefi, A. R, & Rafei, G. R. Majazi Amiri B ((2008). Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal Environmental Research*, , 2, 189-198.
- Banerjee, B.D., Seth, V., Ahmed, R.S., 2001. Pesticide-Induced Oxidative Stress: Perspectives and Trends. *Rev Environ Health*, 16(1):1-40.
- Banerjee, B.D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pahsa, S.T., Chakraborty, A.K., 1999. Biochemical Effects of Some Pesticides on Lipid Peroxidation and Free-Radical Scavengers. *Toxicology Letters*, 107: 33–47.
- Bast, A., Haenen, GRM., Doelman, JA., 1991."Oxidants and antioxidants: State of the art". *Am J Med*, 91(Suppl 3): 2-13.
- Benzie F. 2003. Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2003; Part A, 136: 113-126.
- Beutler, E., 1975. *Red Cell Metabolism*. Grune & Stratton, New York, 2nd ed., USA.
- Bilinski, E., 1974. Biochemical aspects of fish swimming. *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology*. Academic Press, London, UK, s.239.
- Blasia k, J., Walter Z., Bawronska, M. 1991. The changes of osmotic fragility of pig organophosphorus insecticides. *Acta Biochim. Pol.* 38 (1): 75-80.
- Blaxhall, P. C., Daisley, K. W., 1973. Routine haematological methods for use fish with blood. *J. Fish Biol.*, 5, 771-781.
- Bloor, W. R., 1942. *Biochemistry of the fatty acids*. Reinhold, N. Y., p. 387.
- Boran, H., Altınok, İ. and Çapkın, E., 2010. Histopathological changes induced by maneb and carbaryl on some tissues of rainbow trout (*O. mykiss*). *Tissue and Cell*, 42, 158–164.
- Boran, H., Çapkın, E. and Altınok, İ., Terzi, E., 2012. Assessment of acute toxicity and histopathology of the fungicide captan in rainbow trout. *Exp Toxicol Pathol.* 2012 Mar;64(3):175-9.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 77, 248-251.
- Branden, C., Tooze, J., 1999, *Introduction to Protein Structure*, Garland Publishing 2nd ed.: New York, NY.
- Brannan, R.G., Erdckson, M.C., 1996. Sensory assessment of frozen stored channel catfish in relation to lipid oxidation. *J. Aquatic Food Product Tech.*, 5(1):67-80.
- Bricknell, I. R., Bowden, T. J., Bruno, D. W., MacLachlan, P., Johnstone, R. and Ellis, A. E., 1999. Susceptibility of atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L) to infection with typical and a typical *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, 175, 1–13.
- Brum, A., Dotta, G., Roumbedakis, K., Gonçalves, E. L. T., Garcia, L. P., Garcia, P., Scussel, V. M. and Martins, M. L., 2014. Hematological and histopathological changes in silver catfish (*Siluriformes*) *Rhamdia quelen* exposed to clomazone herbicide in the Madre River, Santa Catarina State, Southern Brazil. *Journal of*

- Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 49 (3), 169-178.
- Bulut, C., 2010. Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ve formaldehit (CH_2O)'in gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) histopatolojik ve hematolojik etkilerinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı. Yüksek lisans tezi.
- Burton, G.W., 1994. Vitamin E: Molecular and Biological Function Proceedings of the Nutrition Society, 53(2), 251-26.
- Casillas, E. and Smith, L.S., "Effect of Stress on Blood coagulation and haematology in rainbow trout (*S. gairdneri*).” J. Fish Biol., 10, 481-494, 1977.
- Ceylan M, Altun S., 2010. *Vibrio Anguillarum* ile İnfekte Edilmiş Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Hematolojik İncelemeleri. Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.29 (2010), 2: 35-42.
- Champe, PC., Harvey, RA., 1994 Biyokimya, Çeviri; Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, İkinci Baskı , Nobel Tıp Kitapevi İstanbul. S,213-222.
- Chautan, M., Calaf, R., Leonardi, J. 1990. Inverse modifications of heart and liver α -tocopherol status by various dietary n-6/n-3 polyunsaturated ratios. J Lipid Research. 3: 2201-2208.
- Cheeseman KH., Slater TF. 1993. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull. Jul; 49 (3): 481-93.)
- Cheng, C., Yang,F., Ling,A., Liao,S., Miao,Y., Ye,. Wang,A., 2015. Effects of ammonia exposure on apoptosis, oxidative stress and immune response in pufferfish (*Takifugu obscurus*). Aquatic Toxicology 164 (2015) 61-71.
- Cooke, MS., Evans, MD., Dizdaroglu, M., Lunec, J. 2003. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. Faseb;17:1195-214.
- Cross, C. E., Halliwell, B., Borish, E., Pryor, W., Ames, B N., Saul, R., MC Cord, J.M. and Harman, D., 1987. Oxygen Radicals and Human Disease. Ann. Intern.Med., 107, 526- 545.
- Çakır, M. 1997. Aspirin ve vitamin E (α -Tokoferol)'nin farelerde (*Mus musculus*) karaciğer total süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 50s (yayınlanmamış).
- Çapkın, E., Altınok, İ., 2013. Effects of chronic carbosulfan exposure on liver antioxidant enzyme activities in rainbow trout. Environ Toxicol Pharmacol. 2013 Jul;36(1):80-7. doi: 10.1016/j.etap.2013.03.022. Epub 2013 Apr 6.
- Çapkın, E., Birincioğlu, S. and Altınok, İ., 2009. Histopathological changes in rainbow trout (*O. mykiss*) after exposure to subletal composite nitrogen fertilizers. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72, 1999-2004.
- Çapkın, E., Terzi, E., Boran, H., Yandi, I., Altınok, I., 2010. Effects of some pesticides on the vital organs of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Tissue Cell. 2010 Dec;42(6):376-82.
- Çelik, E. Ş., 2006. Bazı balık türleri için kan elektrolitlerinin standardizasyonu. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 22 (1-2), 245-255.
- Çelikel, Y., 2011. Alpha-Cypermethrin'in *Daphnia magna* (Straus 1820) (Cladocera, Crustacea) üzerine akut toksik etkisinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji anabilim dalı, Yüksek lisans tezi.

- Çinkılığlu, E. (2007). Cyprinus carpio’da beyin dokusunda fenthionun antioksidant savunma sistemi, lipid peroksidasyonu ve asetilkolinesteraz enzim aktivitesine Nasetilsistein modülatörlüğünde etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çiltaş, A. K., 2000. *Stenotrophomonos malthophilia*, *Brevibacillus agri*, *Micrococcus lylae* suşlarının patojenitesi ile gökkuşağı alabalığı üzerinde oluşturulan enfeksiyonların laboratuvar ve klinik yönden araştırılması. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Deaton, C.M., Marlin, D.J., 2003. Exercise-Associated Oxidative Stress, Clin. Tech. Equine Pract, Vol 2, No 3, 278-29.
- Delibaş, N., Özçankaya, R., 1995. Serbest Radikaller. S.D.Ü Tıp Fakültesi Dergisi, 2(3), 11-17.
- Dikici, İ. 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Konya, 73s (yayınlanmamış).
- Diplock, A. 1998. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium.
- Dobson, CM., 2000. The nature and significance of protein folding. In Mechanisms of Protein Folding 2nd ed. Ed. RH Pain. Frontiers in Molecular Biology series. Oxford University Press: New York, NY.
- Dorval, J., Hontela, A., 2003. Role of Glutathione Redox Cycle and Catalase in Defense Against Oxidative Stress Induced by Endosulfan in Adrenocortical Cells Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Toxicology And Applied Pharmacology, 192 : 191–200.
- Dorval, J., Leblond, V.S., Hontela, A. 2003. Oxidative stress and loss of cortisol secretion in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed in vitro to endosulfan, an organochlorine pesticide. Aquatic Toxicology 63 (2003) 229_/241.
- Duran, S., 2011. Bakır (Cu), Çinko (Zn), Kadmiyum (Cd) ve Karışımlarının *Oreochromis Niloticus*’ta Bazı Hematolojik Parametreler Üzerine Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Dündar, S. 2010. Sazan balıklarına arsenik uygulaması sonucu biyokimyasal, Histopatolojik, mikrobiyolojik ve hematolojik Parametrelerde meydana gelen değişimler üzerine propolisin etkileri. Niğde Üniversitesi. Fen bilimleri enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi.
- Easton, M.F., Mitchell, A.G., Wynne-Jones. W.F.K., 1952. Trans. Faraday soc. 48:796
- Erenel, G., Erbaş, D., Akıcıoğlu, A., “Serbest radikaller ve antioksidan sistemler”, Gazi Tıp Dergisi, 3: 243-250, 1992.
- Erkan, S., 2008. Florozisli koyunlarda serum lipit profili. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı. Ankara.
- Erten, S., 2004. Çevre Eğitimi Ve Çevre Bilinci Nedir, Çevre Eğitimi Nasıl Olmalıdır?, Çevre ve İnsan Dergisi, Çevre ve Orman Bakanlığı Yayın Organı. Sayı 65/66. 2006/25 Ankara.
- Esenbuğa, H., 2013. Sds (Sodium dodecyl sulphate)’nin farklı dozlarının gökkuşağı alabalığının (*O. mykiss*) yüzme performansı, hematoloji parametreleri ve bazı

- antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Esterbauer, H., Schaur, R.J., Zollner, H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*;11: 81-128.
- Far, M. S., Roodsari, H. V., Zamini, A., Mirrasooli, E. and Kazemi, R., 2012. The effects of diazinon on behavior and some hematological parameters of fry rainbow trout (*O. mykiss*). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4 (4), 369-375.
- Fetoui, H., Makni, M., Garoui, E.M., Zeghal, N., 2009 . Toxic Effects of Lambda-Cyhalothrin, A Synthetic Pyrethroid Pesticide, on The Rat Kidney: Involvement of Oxidative Stress and Protective Role of Ascorbic Acid. *Experimental and Toxicologic Pathology* , In Press.
- Fırat, Ö., 2007. *Oreochromis niloticus*'ta Metal (Zn, Cd) Ve Metal Karışımının (Zn+Cd) Kan Dokusunda Fizyolojik Ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı . Doktora Tezi. Adana.
- Flohe, L., Otting, F. 1984. Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol*, 105:93-104.
- Frank, L. ve Massaro, D., 1980. Oxygen toxicity. *The American Journal of Medicine*. 69, 117-126.
- Fridovich, I. 1975. Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*, 44:147-59.
- Fridovich, I., 1995. "Superoxide Radical and Superoxide Dismutases", *Annu. Rev. Biochem.* 64; 97-105,
- Fridovich, J. 1986. Biochemical effects of the Superoxide radicals. *Arch. Biochem. Biophys.*, 247; 1-11.
- Georgina Sandoval (ed.), *Lipases and Phospholipases: Methods and Protocols*, *Methods in Molecular Biology*, vol. 861, DOI 10.1007/978-1-61779-600-5_1, © Springer Science+Business Media New York 2012
- Gholami Seyedkolaei, S. J., Mirvaghefi, A., Farahmand, H. and Kosari, A. A., 2013. Effect of a glifosat based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 98 (1), 135-141.
- Girgin, A. ve Şen, D., 2003. Keban baraj gölündeki *Chalcalburnus mossulensis* (Heckel, 1843)'in hematolojik parametrelerinin incelenmesi. *G. Ü Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 23 (1), 11-21.
- Gluszczak, L., Miron, D.D.S., Moraes, B.S., Simões, R.R., Schetinger, M.R.C., Vânia, V.M., Loro, L., 2007. Acute Effects of Glyphosate Herbicide on Metabolic and Enzymatic Parameters of Silver Catfish (*Rhamdia Quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 146: 519–524.
- Gupta, R.K., Patel, A.K., Shah, N., 2014. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pac J Cancer Prev*;15:4405-4409.
- Gutteridge, J.M. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem. Dec*; 41(12 Pt 2):1819-28.
- Gutteridge J.M. 1994. Biological origin of free radicals and mechanism of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interaction*;91 (2-3) : 133-40.

- Gümüştas, K., Atukeren, P., 2008. Oksidatif ve nitrozatif stresin psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi. İ.ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikler. Sempozyum Dizisi No:62 •S:329-340.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York, 936.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York, 93.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 2000. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York, 936s
- Halliwell, B., 1991. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry, and role in human disease. The American Journal of Medicine. 91, 14-22.
- Halliwell, B., 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lancet, 344, 721-724.
- Hara A. and Radin N. S. (1978), Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. Anal. Biochem. 90, 420-426.
- Heath, A.G., 1995. Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press. New York, Inc. 2nd Ed. 359 pp.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M., and Storey, K.B., 2001. Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress. In: Storey K.B., Storey J.M. (Eds), Cell and Molecular Responses to Stress,, Elsevier Press, Amsterdam, pp. 263-287.
- Hofmann, K., 1978.): Charakterisierung Der. Proteine in Muskeln Und Inneren Organen Von Rind And Schwein Mithilfe Der SDS-Polyacrylamidgel-Electrophorese. Kongreß, Bd. III, L. 2:3, Kulmbach.
- Hofmann, K., Blüchel. E., 1991. Blut und Muskelfaserstoff Trennung und Bestimmung Unter Anwendung Der SDS-Elektrophores. Fleischwirtsch. 71 (11) : 1290-1293.
- Houston, A. H., 1997. Review: Are the Classical Haematological Variables Acceptable Indicators of Fish Health ?. Transactions of the American Fisheries Society. U.S.A., 6, (126), p. 879-894.
- Hu, H., 2000. Exposure to metals. Occupational and Environmental Medicine, 27, 983-996.
- Hu, JJ, Dubin, N., Kurland, D., Ma, BL and Roush, GC. 1995. The effects of hydrogen peroxide on DNA repair activities. Mutat Res;336:193-201.
- Huysal, K., 1999. Tıp II Diabetlilerde Eritrosit Glutasyon Redüktaz, Glutasyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz, Katalaz Aktiviteleri, Hemoglobinin Glikozilasyonu ve Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniv. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum.
- Inwry, O.H., Rosemugh, N.J., Farr, A.L., Randall, K.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol Chem. 193:265- 275.
- IPCS, 1992. International Programme on Chemical Safety. Alpha-cypermethrin. Environmental Health Criteria, p. 142. Geneva, World Health Organization.
- Isoda, M., Fujimaki, Y.: Fine-Structural Study of Leucocytes in the Gold Fish (Carassius auratus). J. Fish. Biol. 1990; 23(2), 170- 175.
- Iversen, M., Finstad, B., Nilssen, K.J., 1998: Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (Salmo salar L.) smolts. Aquaculture, 168: 387-394.
- Janson, J.C., Ryden, L., 1998. Protein Purification- Principles, High Resolution Methods, and Applications. 695 p. WileyVCH, New York.

- Jawale, C.S., Dama, L.B., 2010. Hematological changes in the fresh water fish, *Cyprinus carpio* exposed to sub-lethal concentration of piscicidal compounds from *Cestrum* species. *National Journal of Life Sciences*. 7(1): 81-84.
- Ji, L.L., Leichtweis, S., 1997. "Exercise and Oxidative Stress: Sources Of Free Radicals and Their Impact on Antioxidant Systems", *Age*, Vol: 20, pp.91-106.
- Jia, R., Han, C., Lei, J.L., Liu, B.L., Huang, B., Huo, H.H., Yin, S.T., 2015. Effects of nitrite exposure on haematological parameters, oxidative stress and apoptosis in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquat Toxicol*. 2015 Dec;169:1-9. doi: 10.1016/j.aquatox.2015.09.016. Epub 2015 Oct 1.
- Jia, R., Cao, L., Du, J., Wang, J., Liua, Y., Jeney, G., Xu, P., Yin, G., 2014. Effects of carbon tetrachloride on oxidative stress, inflammatory response and hepatocyte apoptosis in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*. Volume 152, July 2014, Pages 11–19
- Jones, B. J. and Pearson, W. D., 1976. Variations in haematocrit values of successive blood samples from bluegill. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 2, 291–293.
- Jurma, O.P., Hom, D.G., Andersen, J.K. 1997. Decreased glutathione results in calcium-mediated cell death in PC12. *Free Radic Biol Med*. 23(7):1055-1066.
- Kanner, J., German, J.B., Kinsella, J.E. 1987. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Crit Rev Food Sci Nutr*; 25:317-364.
- Karasu, Benli, Asi, Ç., Gülen, Z., 2009. Fenitrothionun etkisinde bırakılan tilapiada (*Oreochromis niloticus* L.) sekonder stres indikatörleri hematokrit ve plazma glikoz seviyesinin değişimi. *Yyü. Tar. Bil. Derg.*, 19 (1), 19-22.
- Kaur, C. and Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Tech*. 36; 703-725.
- Kaushik, S.J., Corraze, G., Radunz, J. ve Dumas, J. 2006. Fatty acids profiles of wild brown trout and Atlantic salmon juveniles in the Nivelle basin. *J. Fish Bio.*, 68:1376-1387.
- Kaya, E., 2005. Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi Kimya Anabilim Dalı, Isparta.
- Kayhan, F. E., Muşlu, M. N. ve Koç, N. D., 2009. Bazı ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde yarattığı stres ve biyolojik yanıtlar. *Journal of Fisheries Sciences*, 3 (2), 153-162.
- Kayış, T.R., 2010. Diazinon'un subletal konsantrasyonlarının *pimpla turionellae* l.'nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi.
- Kaymak, S., Serim, A.S., 2015. Pestisit Sektöründe Araştırma ve Geliştirme. *Meyve Bilimi*. Cilt: 2 (1). S;27-34. ISN:2148-0036.
- Kaynar, Ö., İleritürk, M., Hayırlı, A., 2013. Evaluation of computational modifications in HPTLC with Gel analysis software and flatbed scanner for lipid separation. *JPC - Journal of Planar Chromatography - Modern TLC* . Volume 26, Issue 3 . DOI: 10.1556/JPC.26.2013.3.1.
- Kehrer, J.P., 1993. Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. *Critical Reviews in Toxicology*, 23(1):21-
- Keklikçioğlu, N., Açıkel, Ü. 2011. *Candida utilis*'in Lipaz Enzimi Aktivitesine Başlangıç Sakkaroz Derişiminin ve Aktivatör Yağların Etkisi. Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları.

- Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abramo, K.H. AND Levin, E.D., 1998. Oxidative Stress in Toxicology: Established Mammalian and Emerging Piscine Model Systems. *Environmental Health Perspectives*, 106 (7): 375-384.
- Kennish MJ (1998) Pollution Impacts on Marine Biotic Communities. CRC Press, London.
- Keramati, V., Jamılı, S., Ramin, M., 2010. Effect of Diazinon on Catalase Antioxidant Enzyme Activity in Liver Tissue of *Rutilus rutilus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*.
- Keramati, V., Jamili, S., Ramin, M. 2010. Effect of diazinon on catalase antioxidant enzyme activity in liver tissue of *Rutilus rutilus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 2010 Vol. 5 No. 5 pp. 368-376.
- Keskin, H., 1987. Besin Kimyası (I-II), İ.Ü. Yayınları, (İstanbul, 1987)
- Kılbaş, S., 2006. L-Name hipertansif ratlarda lisinoprilin beyinde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi.
- Kılıksız, S., Demirel, C., 2008. Oksidatif stres, radyasyona bağlı hasar ve radyokoruyucu olarak N-asetil-sistein'in potansiyel rolü. *Türk Onkoloji Dergisi* 2008;23(4):200-207.
- Kim, H., Shelef LA (1986): Characterization and Identification of Raw Beef, Pork, Chicken, And Turkey Meats by Electrophoretic Patterns of Their Sarcoplasmic Proteins. *J. Food sci.* 51(3): 731-735.
- Klaassen, C.D. and Watkins, J.B., 2003 Caserett&Doull's Essentials of Toxicology, 3rd (Eds). New York, McGraw-Hill, USA.
- Knapen, M.F.C.M., Zusterzeel, P.L.M., Peters, W.H.M., Steegers, E.A.P., 1999. Glutathione and Glutathione-Related Enzymes in Reproduction. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 82: 171-184.
- Kocaman, A., 2007. Acetamiprid ve Alpha-Cypermethrin Pestisidlerinin Tek Başına Ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman İnsan Periferik Lenfositlerindeki İn Vitro Genotoksik Etkileri. Çukurova Üniversitesi. Biyoloji Anabilim Dalı. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
- Kubrak, OI., Husak, VV., Rovenko, BM., Storey, JM., Storey, KB., Lushchak, V., 2011. Cobalt-induced oxidative stress in brain, liver and kidney of goldfish *Carassius auratus*. *Chemosphere*. 2011 Oct;85(6):983-9.
- Kumari, K., Khare, A., Dange, S., 2014. The Applicability of Oxidative Stress Biomarkers in Assessing Chromium Induced Toxicity in the Fish *Labeo rohita*. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume 2014, Article ID 782493, 11 pages.
- Kurutaş, E., Şahan, A., Altun, T., 2009. Oxidative stress biomarkers in liver and gill tissues of spotted barb (*Capoeta barroisi* Lortet, 1894) living in the river Ceyhan, Adana, Turkey. *Turk J Biol* 33 (2009) 275-282.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259): 680-685.
- Lawrance, R.A. and Burk R.F., 1976. Glutathion Peroxidase Activity in Selenium Deficient Rat Liver, *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 71(4), 952-958.
- Lawrence, A. J., Hemingway K. L., 2003. Effects of Pollution on Fish. UK. P: 144-153.

- Lendhardt, M., 1992. Seasonal changes in some blood chemistry parameters and in relative liver and gonad weights of pike (*Essox lucius*) from River Danube, J. Fish Biol., 40, 709-718.
- Lester, R.J.G., and Budd, J., Soma Changes in the Blood Cells of diseased coho salmon can. J. zool 57, 1458-1464, 1983.
- Li, Z., Zlabeka, V., Grabic, R., Li, P., Machovaa, J., Veliseka, J., Randaka, T., 2010. Effects of exposure to sublethal propiconazole on intestine-related biochemical responses in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Chemico-Biological Interactions 185 (2010) 241–246.
- Love, R. M. (1970). *The Chemical Biology of Fishes*. Academic Press, London.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Randall (1951) Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275.
- Marchand, M. J., Van Dyk, J. C., Pieterse, G. M., Barnhoorn, I. E. J. and Bornman, M. S., 2009. Histopathological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* from polluted aquatic systems in South Africa. Environ. Toxicol., 24, 133-147.
- Masters C. Omega-3 fatty acids and the peroxisome. Mol Cell Biochem. 1996; 165: 83-93.
- Mayes, P.A., Botham, K.M., 2003. Metabolism of Acylglycerols & Sphingolipids, Harper's Illustrated Biochemistry, Twenty-Sixth Edition, The McGraw-Hill Companies, 197-204 / Chapter 24.
- Mc Cord, J.M., 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress, Am J. Med., 108, 652-659.
- Mc Cord, Jm. 1993. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem; 26 (5) : 351-7.
- Mc Cord, Jm., Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). J Biol Chem. Nov 25; 244(22):6049-55.
- Mekki, A., Mahmoud, U. M. and Sayed, A. E. H., 2011. Effects of 4-nonylphenol on blood cells of the african catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). Tissue and Cell, 43 (4), 223-229.
- Messina, C., Faggio, C., Laudicella, V., Sanfilippo, m., Trischitta, F., Santulli, A., 2014. Effect of sodium dodecyl sulfate (SDS) on stress response in the Mediterranean mussel (*Mytilus Galloprovincialis*): Regulatory volume decrease (Rvd) and modulation of biochemical markers related to oxidative stress. Aquatic Toxicology. 157 (2014) 94-100.
- Mintzer, D.M., Billet, S.N., Chmielewski, L. 2009. Drug-Induced Hematologic Syndromes. Advance in Hematology. Volume 2009 (2009), Article ID 495863, 11 pages.
- Modesto, K. A., Martinez, C. B. R., 2010. Effect of roundup transorb on fish: Hematology, antioksidant defenses and acetylcholinesterase activity. Chemosphere, 81 (6), 781-787.
- Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G. and Therios, I. 2006. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh). Environ. Exp. Bot., 56; 54-62.

- Murphy, R.C., 2001. Free-radical-induced oxidation of arachidonoly plasmalogen phospholipids: antioxidant mechanism and precursor pathway for bioactive eicosanides, *Chem. Res. Toxicol.*, 14, 463.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K. and Radwell, V.W., 1993. Harper'in Biyokimyası. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Menten, Prof.Dr. Biltan Ersöz. Barış Kitabevi.
- Musa, M.S., Aura, M.C., Ogello, E.O., Omondi, R., Karasi, H.C and Munguti, J.M., 2013. Haematological Response of African Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell 1822) Fingerlings Exposed to Different Concentrations of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) Leaf Dust. *ISRN Zoology Volume 2013* (2013), Article ID 492613, 7 pages.
- Nwani, C. D., Ugwu, D. O., Okeke, O. C., Onyishi, G. C., Ekeh, F. N., Atama, C. and Eneje, L. O., 2013. Toxicity of the chlorpyrifos based pesticide termifos®: effects on behaviour and biochemical and haematological parameters of african catfish *Clarias gariepinus*. *African Journal of Aquatic Science*, 38 (3), 255-262.
- Ocak, F., 2016. Balıklarda Lenfoid Organlar ve İmmün Sistemin Özellikleri Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Tagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Chemistry*. 95, 351-358.
- Orbea, A., Fahımlı, H.D. and Cajaraville, M.P., 2000. Immunolocalization of Four Antioxidant Enzymes in Digestive Glands of Molluscs and Crustaceans and Fish Liver. *Histochem. Cell. Biol.*, 114, 393-404.
- Orhan, H., 2010. Toksikolojinin Temel İlkeleri. Klinik Toksikoloji Kursu-Dokuz Eylül Üniversitesi.
- Oruç, E.Ö., Sevgiler, Y., Üner, N., 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 137: 43-51.
- Othmers, K., *Encyclopedia of Chemical technology* 1963, 391-407, 820-821, 2. Baskı.
- Öğüt, H., 2005. Balıklarda Stres, Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri, (Editör: M., Karataş), Nobel Yayıncılık, 498 s.
- Özgöçmen, S., Atalay, S., Ardıçoğlu, O., Kamanlı, A. 2000. Effect of omega-3 fatty acids in the management of fibromyalgia syndrome. *Int J Clin Pharm Ther*. 38: 362-363.
- Öztürk, T., Egemen, A. 2003. Eritrosit Sedimentasyon Hızı. Birinci basamakta bir laboratuvar testi. *Cilt 12. sayı 10 sy.* 383.
- Palaniappan, P.R., and Vijayasundaram, V., FTIR study of arsenic induced biochemical changes on the liver tissues of fresh water fingerlings *Labeo Rohita*, *Romanian J. Biophys.*, 18, 135-144, 2008
- Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-hafeez, B., Raisuddin, S., 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago atto*. *The Science of the Total Environment*, 309: 105-115.
- Parisi, E., Agulari, D. 1985. Methods Differentiating Meats of Different Species of Animals. "Biochemical Identification of Meat Species" R.L.S. Patterson (Ed). Elsevier Applied Science Publishers Ltd.p. 40-49, England.
- Parlak, H., Arslan, Ö., Boyacıoğlu, M., Karaaslan, M. 2009. ekotoksikoloji ders kitabı. Ege üniversitesi. Su ürünleri fakültesi yayınları. No:79, Ders kitap dizini no:39

- Peixoto, F., Alves-Fernandes, D., Santos, D., Fontainhasfernandes, A. 2006. Toxicological Effects of Oxyfluorfen on Oxidative Stress Enzymes in Tilapia *Oreochromis Niloticus*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 85: 91-96.
- Pereira, L., Fernandes, M. N. and Martinez, C. B. R., 2013. Hematological and biochemical alterations in the fish *Prochilodus lineatus* caused by the herbicide clomazone. Environmental Toxicology and Pharmacology, 36 (1), 1-8.
- Pereira, M.D., Herdeiro, R.S, Fernandes, P.N., Eleutherio, E.C.A., Panek, A.D. 2003. Targets of oxidative stress in yeast sod mutants. Biochem. Biophys. Acta., 1620; 245-251.
- Petri, D., Glover, C. N., Ylving, S., Kolas, K., Fremmersvik, G., Waagbø, R. and Berntssen, M. H. G., 2006. Sensitivity of atlantic salmon (*Salmo salar*) to dietary endosulfan as assessed by haematology, blood biochemistry, and growth parameters. Aquatic Toxicology, 80, 207–216.
- Pimpão, C. T., Zamprônio, A. R. and Silva de Assis, H. C., 2007. Effects of deltamethrin on hematological parameters and enzymatic activity in *Ancistrus multispinis* (Pisces, Teleostei). Pesticide Biochemistry and Physiology, 88, 122-127.
- Polat, A., Tokur, B., 2000. Balıklarda prooksidan ve antioksidanların lipit oksidasyonuna etkileri. Ege Üniversitesi. Su Ürünleri Fak. Dergisi, 17(3-4), 299-310.
- Presnell, J. and Schreibman, M. P., 1997. Animal Tissue Techniques. The Johns Hopkins University Pres Ltd. 5th ed., London, 269-271.
- Prokai, L., Yan, L.J., Vera-Serrano, J.L., 2007. Mass spectrometry-based survey of age-associated protein carbonylation in rat brain mitochondria. J Mass Spectrom. 42: 1583-1589.
- Ramos, A.S., Correia, A.T., Antunes, S.C., Gonc, F., Nunes, B., 2014. Effect of acetaminophen exposure in *Oncorhynchus mykiss* gills and liver: Detoxification mechanisms, oxidative defence system and peroxidative damage. Environmental toxicology and pharmacology 37(2014) 1221–1228.
- Rao, R.S., Moller, IM. 2011. Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. Proteomics. 11: 4166-4173.
- Reddy, P. M. and Bashamoiden, M. D., 1989. Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Acta. Hydrochim. Hydrobiol., 17 (1), 101–107.
- Rehman, H., Ali, M., Atif, F., Kaur, M., Bhatia, K., Raisuddin, S., 2006. The Modulatory Effect of Deltamethrin on Antioxidants in Mice . Clinica Chimica Acta, 369: 61-65
- Reiter, R.J., 1993. Interactions of the Pineal Hormone Melatonin with Oxygen-Centered Free Radicals. Brazilian J. Med. Biol. Res., 26, 1141-1155.
- Rikans, LE., Hornbrook, KR. 1997. Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. Biochemical Acta. 1362:116-127.
- Riley PA. 1994. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing raditaion. Int J Rad Bio; 65 (1) ; 27-33.
- Roberts R.J., 2001, Fish Pathology (3rd Ed.). WB Saunders, Toronto. 472 p.
- Rousseau, P., Amstrong, M. 1990. Superoxide Dismutases-Production and Therapeutic Potential Pharmacological Technooloi Loruil.

- Russo, A., Cardileb, V., Sanchez, F., Troncosoc, N., Vanellaa, A., Garbarinod, JA., "Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines", *Life Science*, 76(5): 545-558, 2004.
- Ruwhof, C., Wamel, JT., Noordzij, LA., Aydin, S., Harper, JC., Van der Laarse, A. 2001. Mechanical stress stimulates phospholipase C activity and intracellular calcium ion levels in neonatal rat cardiomyocytes. *Cell Calcium*. 2001 Feb;29(2):73-83.
- Sağlam, N., Yonar, M. E., 2009. Effects of sulfamerazine on selected haematological and immunological parameters in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). *Aquaculture Research*, 40 (4), 395-404.
- Saravanan, M., Prabhu Kumar, K. and Ramesh, M., 2011. Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish *Cyprinus carpio* (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100 (3), 206-211.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R., & Bell, J.G. 2002. The lipids. In: Halver JE, Hardy RW (eds) *Fish nutrition*, 3rd edn. Academic, San Diego, USA, pp. 181–257.
- Satake, T., Nuti Sobrinho, A., Paula Lopes, O. V., Lopes, R. A. and Leme Dos Santos, H. S., 1986. Haematological study of brazilian fish. III. blood parameters in armored catfish *Hypostomus paulinus* Ihering 1905 (Pisces, *Loricariidae*). *Ars Veterinaria, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal Unesp Jaboticabal-SP-Brasil*, 2 (2), 179-183.
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Raisuddin, S. 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56: 295–301.
- Sds-page iAnonymous 2016a. <http://www.bio-rad.com/en-tr/category/ready-gel-precast-gels>
- Sen, C.K., and Packer, L., 2000. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72, 653-669.
- Sepici-Dinçel, A., Benli, A., Selvi, M., Sarıkaya, R., Şahin, D., Özkul, A., Erkoç, F., 2008. Sublethal cyfluthrin toxicity to carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings: Biochemical, hematological, histopathological alterations. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 (2009) 1433–1439.
- Sevgiler, Y., Oruç, E., Üner, N. (2004). Evaluation of etoxazole toxicity in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 78: 1–8.
- Shacter, E. 2000. Quantification and Significance of Protein Oxidation in Biological Samples, *Drug Metabolism Reviews*, 32: 3-4, 307-326, DOI: 10.1081/DMR-100102336.
- Shahi, J., Chauhan, S. and Singh, A., 2013. Comparative study on the haematological effect of synthetic and plant origin pesticides on fish *Channa punctatus*. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 4 (1), 48-53.
- Sharma, P., Hug, A., Singh, R., 2014. Cypermethrin-induced reproductive toxicity in the rat is prevented by resveratrol. *J Hum Reprod Sci*. 2014 Apr-Jun; 7(2): 99–106.
- Sheng, L., Zheng, X., Tong, H., Liu, S., Du, J., Liu, Q., 2004. Purification and Characterization of Cytosolic Isoenzyme III of Cu, Zn- Superoxide Dismutase from Tobacco Leaves. *Plant Science*, 167 (6): 1235-1241.

- Shiari, N., Terayama, M. ve Takeda. H. 2002. Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanostictus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 131B:387-393.
- Sinan, O. (2007). Fen bilgisi öğretmen adaylarının enzimlerle ilgili kavramsal anlama düzeyleri. *Necatibey Eğitim Fakültesi Elektronik Fen ve Matematik Eğitimi Dergisi*, 1 (1), 1-22.
- Sinha S, Basant A, Malik A, Singh KP. 2009. Iron-induced oxidative stress in a macrophyte: A chemometric approach. *Ecotox Environ Safe* 72:585–595.
- Smirnoff, N., Pallanca, J.E. 1995. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 24,16.
- Song, O., 2004. Oxidative Stress: A Theoretical Model or Biological Reality. *C. R. Biologies.*, 327, 649-662.
- Soyer, A., Hultin, H.O., 2000. Kinetics of oxidation of the lipids and proteins of cod sarcoplasmic reticulum. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2127-2134.
- Stansby, M.E., 1990. Deterioration. In: *Fish Oil in Nutrition*. M. Stansby (Eds), Van Nostrand Reinhold, New York, p. 120-131.
- Stara, A., Machova, J., Velisek, J., 2012. Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Environ Toxicol Pharmacol*. 2012 Mar;33(2):334-43.
- Strmach, M. and Braunbeck, T., 2000. Isolated hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a tool to discriminate between differently contaminated small river system, *Toxicol. Dn Vitro*, 14, 361- 377.
- Taylan, Z.S., Özkoç, H., 2007. Potansiyel ağır metal kirliliğinin belirlenmesinde akuatik organizmaların biokullanılabilirliği. *BAÜ FBE Dergisi*. Cilt:9, Sayı:2, 17-33.
- Temizkan, G. ve Arda, N., 2008. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Nobel Tıp Kitabevi, 3.Baskı, İstanbul, s.345.
- Tetyana V. B., Vasyukiv, O.Y., Storey, K.B., Lushchak, V.L., 2005. Catalase Inhibition by Amino Triazole Induces Oxidative Stress in Goldfish Brain. *Brain Research*, 1052: 180 – 186
- Thangam, Y., Jayaprakash, S., Perumayee, M. 2014. Effect of Copper Toxicity on Hematological Parameters to Fresh Water Fish *Cyprinus Carpio*(Common Carp). *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*. e-ISSN: 2319-2402,p- ISSN: 2319-2399.Volume 8, Issue 9 Ver. I (Sep. 2014), PP 50-60.
- Thophon, S., Kruatrachue, M., Upatham, E.S., Pokethitiyook, P., Sahaphong, S., Jaritkhuan, S., 2003. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer* in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Pollut.* 121, 307–320.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S., 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 26(2): 154-169.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11, 107-184.
- Tokur, B., Korkmaz, K., 2007. The effects of fenton type (Fe+2/H₂O₂) oxidation system on lipid and protein oxidation of grey mullet (*Mugil cephalus*). *Journal of FisheriesSciences.com*, 1(1): 41-47.
- Tudhope, G.R. 1967. Red cell catalase in health and in disease, with reference to the enzyme activity in anaemia. *Clin. Sci*, 33,165-182.

- Tuik, 2014. Su ürünleri istatistikleri, Fishery Statistic 2013. http://www.tuik.gov.tr/Kitap.do?metod=KitapDetay&KT_ID=13&KITAP_ID=52.
- Türkmen, G., Keleş, O., Aslan, M., Bakirel, T. and Arun, S., 2004. Biochemical and haematological changes in fish exposed to sublethal concentrations of linear alkylbenzene sulphonate (LAS). *Medicine Veterinary Journal*, 60 (2), 143-146.
- Uçar, A. ve Atamanalp, M., 2010. Kıyisal kirlenmenin balıklar üzerine etkileri. *Türkiye Kıyı Sempozyumu*, Trabzon, 489-469.
- Uçar, A., Al-hamdani, A., Alak, G., Atamanalp, M., Topal, A., Arslan, H., Parlak, V., Fakioğlu, Ö., Şensurat, T., 2012. Karboksın'ın Gökkuşluğu Alabalıkları (*Oncorhynchus Mykiss*)'nda Süperoksitdismutaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 5(2): 83-85, 2012.
- Uçar, A., Ali Al-Hamdani, A.H., Alak, G., Atamanalp, M., Topal, A., Fakioğlu, Ö., Arslan, H., Parlak, V., Şensurat, T., 2012. Effects of carboxin on superoxide dismutase enzyme activite in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BIBAD Research Journal of Biological Sciences*. 5 (2): 083-085.
- Uçar, A., Atamanalp, M., 2009. Balıklarda Toksikopatolojik Lezyonlar II. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 40 (1), 95-101, 2009 ISSN: 1300-9036.
- Ural, M.Ş., 2013. Chlorpyrifos-induced changes in oxidant/antioxidant status and haematological parameters of *Cyprinus carpio carpio*: ameliorative effect of lycopene. *Chemosphere*. 2013 Feb 90 (7) : 2059-64.
- Urso, M.L. and Clarkson, P.M., 2003. Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation. *Toxicology*, 189, 41–54.
- Val, A. L., De Menezes, G. C. and Wood, C. M., 1998. Red blood cell adrenergic responses in amazonian teleost. *Journal of Fish Biology*. 52, 83-93.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. and Scoullas, M., 2006. Molecular Biomarkers of Oxidative Stress in Aquatic Organisms in Relation to Toxic Environmental Pollutants, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64, 178–179.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, MT., Mazur, M., Telser, J., 2007. “Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease”, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.
- Van Der Oost, R., Beyer, J. and Vermeulen, N. P. E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 13, 57-149.
- Velisek, J., Stara, A., Kolarova, J. and Svobodova, Z., 2011. Biochemical, physiological and morfological responses in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after long term exposure to terbutryn in real environmental concentration. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100, 305-313.
- Velmurugan, B., Mathews, T., Cengiz, EI., 2009. Histopathological effects of cypermethrin on gill, liver and kidney of fresh water fish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), and recovery after exposure. *Environ Technol*. 2009 Dec 1;30(13):1453-60.
- Venkataraman, G. V. and Sandhya Rani, P. N., 2013. Acute toxicity and blood profile of freshwater fish, *Clarias batrachus* (Linn.) exposed to malathion. *Journal of Academia and Industrial Research*, 2 (3), 200-204.
- Wang, X, Quinn, PJ. Vitamin E and its function in membranes. *Progress in lipid Research* 1999; 38: 309-336.

- White, W. L., Ericson, N. M. and Stevens, S. C., 1976. Chemistry for the Clinical Laboratory (4th Ed.), CV Mosby, St Louis, 122 p.
- Wickens, A.P., 2001. Ageing and Free Radical Theory. Respiration Physiology, 128, 379–391.
- Witeska, M. Baka, I., 2002. The Effect of Long-Term Cadmium Exposure on Common Carp Blood. Fresenius Environm. Bulletin, 11(12A), 1059- 1065.
- Witeska, M., 2005. Stress in Fish Hematological and Immunological Effects of Heavy Metals. Electronic Journal of Ichthyology, 1, 35-41.
- Yanbeyi, S. 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 88s (yayınlanmamış).
- Yanık, T., 2009. Gökkuşáğı Alabalığı ve Alabalıkğillerin Morfolojik Özellikleri Arazi Çalışmaları. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü “Doğal Alabalık Çalıştayı” 22-23 Ekim 2009, 144-148 s. Trabzon.
- Yıldız, N. ve Bircan, H., 1991. Araştırma ve Deneme Metodları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No:305.
- Yılmaz, E., 2015. Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi Üzerine Bir Derleme Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi (CFD), Ciltl 36, No. 2 (2015) ISSN: 1300-1949 Cumhuriyet University Faculty of Science Science Journal (CSJ), Vol. 36, No. 2 (2015) ISSN: 1300-1949.
- Yılmaz, M., 2010. Bazı pestisitlerin sıçan dokularındaki asetilkolinesteraz ve antioksidan enzim aktiviteleri ile Malondialdehit düzeyine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Adana.
- Yu,M., Li, S-M., Li, X-Y., Zhang, B-J. , Wang, J-J ., 2008. Acute Effects of 1Octyl-3-Methylimidazolium Bromide Ionic Liquid on The Antioxidant Enzyme System of Mouse Liver. Ecotoxicology and Environmental Safety, 71:903-908.
- Yurdakul, Z. 2004. Oksijen ve Canlılar. <http://www.biyokimya.8m.net/oksijen.html>.
- Yüngül, M., Karaman, Z. 2014. Çelik Gölü'nde Yaşayan Yayın Balığı (Silurus glanis Linnaeus, 1758)'nda Bazı Kan Parametreleri. Yunus Araştırma Bülteni 2014 (1): 23-30.
- Zhang, J.F., Liub, H., Sun, Y.Y., Wang, X.R., Wu, J.C., Xue, Y.Q. 2005. Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, exposed to 2,4-dichlorophenol. Environmental Toxicology and Pharmacology. 19: 185–190.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Elazığ'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Elazığ'da tamamladı. 2002 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü'nü 2006 yılında tamamladı. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans öğrenimine, 2010 yılında doktora eğitimine başladı. 2013 yılından beri Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.

