

Bakır ve Bakır+EDTA Karışımlarının *Oreochromis niloticus*'un Kan Dokusundaki Antioksidant Parametrelere Etkisi

Gülbin FIRİDİN* Ferit KARGIN²

¹Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, Teknikokullar, Adana, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Balcalı, Adana, Türkiye

*Sorumlu Yazar:

E-posta: gulbinfiridin@gazi.edu.tr

Geliş Tarihi: 18 Mart 2016

Kabul Tarihi: 25 Temmuz 2016

Özet

Ağır metaller sucul canlılarda toksik etkiler meydana getirmeleri ve besin zincirinde birikerek insan sağlığını tehdit etmeleri nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada Cu ve Cu+EDTA karışımlarına bırakılan *Oreochromis niloticus*'un kan dokusunda enzimatik olmayan; albumin, bilirubin, hemoglobin, haptoglobulin ve transferrin gibi antioksidant parametreler çalışılmıştır. Balıklar 0.1, 0.5, 1.0 mg/L Cu ve 0.1 mg/L Cu+0.3 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu+1.5 mg/L EDTA, 1.0 mg/L Cu+3.0 mg/L EDTA karışımlarına 7, 14 ve 28 günlük sürelerle bırakılmışlardır. Denenen süreler sonunda Cu ve Cu+EDTA karışımlarının etkisinde kalan balıkların kan dokusunda; bilirubin, albumin, transferrin ve hemoglobin düzeylerinde bir artış olurken haptoglobulin düzeyinde ise bir azalma gerçekleşmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidant, bakır, EDTA, kan, *Oreochromis niloticus*

Effects of Copper and Copper + EDTA Mixtures on Antioxidant Parameters in Blood Tissue of *Oreochromis Niloticus*

Abstract

Heavy metals are great importance because of occurring toxic effects in aquatic living and threatening human health by accumulating in the food chain. In this study, nonenzymatic antioxidant parameters as albumin, bilirubin, hemoglobin, haptoglobulin and transferrin were studied in the blood tissue of *Oreochromis niloticus*. Fish were exposed to 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu and 0.1 mg/L Cu+0.3 mg/L EDTA, 0.5 mg/L Cu+1.5 mg/L EDTA and 1.0 mg/L Cu+3.0 mg/L EDTA mixtures at 7, 14, and 28 days. The levels of bilirubin, albumin, transferrin and hemoglobin increased while haptoglobulin decreased in blood tissue of fish which under the metal effects, at the end of the exposure periods.

Keywords: Antioxidant, blood, copper, EDTA, *Oreochromis niloticus*

GİRİŞ

Hızlı sanayileşme sonucunda ağır metal içeren endüstriyel atıkların akuatik ortamlara girmesi önemli derecede artmaktadır. Ağır metaller balıklarda strese neden olmakta ve buna bağlı olarak metabolizmada bazı değişiklikler meydana getirmektedir.

Sentetik kompleksanlar (EDTA (etilendiamin tetraasetik asit), NTA (nitrilotriasetik asit)) metaller için şelat ajan olmaları nedeniyle endüstrinin tüm alanlarında geniş bir şekilde kullanılmaktadır. EDTA'nın yer altı sularında ve toprakta biyolojik parçalanabilirliği düşüktür ve ağır metallerle karşılaştırıldığında yüksek düzeyde bileşik oluşturma kapasitesine sahiptir [1].

Antioksidantlar ksenobiyotiklere karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Albumin, transferrin, ferritin, metallothionein ve seruloplazmin serumda bulunan antioksidant proteinlerdir [2]. Albumin; insan ve diğer hayvanların kan plazmasında bulunan en yaygın proteindir ve ağır metallerin portal sisteme alınıp, karaciğere taşınmasında ve karaciğer taşıma kapasitesinin aşılması durumunda, metallerin diğer doku ve organlara taşınmasında işlev görmektedir. Kan ile doku sıvıları arasında suyun dengelenmesini sağlamaktadır. Albumin, oksijen serbest radikallerine bağlanarak bunları kontrol altına almaktadır [3, 4]. Bilirubin; alyuvarların dalakta yıkımı sırasında hemoglobinin moleküllerinin parçalanmasıyla oluşmaktadır. Kansızlık durumunda ya da safra yollarının tıkanmasında, kanda bilirubin değeri yükseilir. Serbest radikal tutucusudur. Transferrin; metal bağlayıcı

proteindir ve Fe'i kontrol altına alarak oksidatif stresi azaltmaktadır [5]. Haptoglobulin; hemoglobini bağlamaktadır. Hemoglobinin; kanda solunum organından dokulara O₂, dokulardan solunum organına CO₂ ve proton taşıyan proteindir. Oksidanları bağlamaktadır.

Toksikolojik çalışmalarda *O. niloticus*'un biyolojik model olarak kullanılması yüksek yetiştirme oranı, kolay çoğalması, çeşitli besinlerle beslenebilme özelliği, hastalıklara karşı büyük direnci, çiftlik koşullarının geniş çeşitliliğine iyi tolerans göstermesi nedeniyle olabileceği belirlenmiştir [6].

Akuatik ortamda besin zincirinin önemli bir halkasını oluşturan balıkların dokularındaki biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler ortamdaki kirlilik düzeyini yansıtmaktadır. Bu çalışmada Cu ve Cu+ EDTA karışımının *O. niloticus*'da albumin, bilirubin, transferrin, hemoglobin, haptoglobulin gibi antioksidant parametreler üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Araştırmada kullanılan balıklar, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi balık yetiştirme havuzlarından alınarak laboratuvara getirilmiş ve dinlendirilmiş çeşme suyu bulunan cam akvaryumlar içerisinde iki ay süre ile bekletilerek ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre içerisinde deneyde kullanılacak balıklar 12.10 ± 0.24 cm boy ve 28.85 ± 0.68 g ağırlığa ulaşmıştır. Balıklar laboratuvar koşullarına adaptasyonları ve deney süresince,

günde 2 defa vücut ağırlıklarının %2'si kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir ve denemeden 48 saat önce beslenmeleri kesilmiştir.

Balıklar 7, 14 ve 28 gün sürelerle; birinci seride Cu'nun 0.1, 0.5, 1.0 mg/L Cu, ikinci seride Cu+EDTA karışımlarının 0.1+0.3, 0.5+1.5 ve 1.0+3.0 mg/L derişimlerinin etkisine bırakılmıştır. Kontrol grubu için dinlendirilmiş çeşme suyu kullanılmıştır. Her birinin içerisinde 18 adet balık bulunan toplamda 7 akvaryum kullanılmıştır. Deney akvaryumlarında kullanılan metal çözeltilerinin derişimlerinde buharlaşma, adsorbsiyon ve akümülyasyon gibi nedenlerle değişim olabileceği dikkate alınarak çözeltiler her gün taze hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir. Deney ortam suyunun kimyasal özellikleri; toplam sertlik: 352.63 ± 5.14 mg/L CaCO₃, pH: 8.19 ± 0.009 , çözünmüş oksijen: 7.35 ± 0.11 mg/L, akvaryum ısısı: $21.14 \pm 0.18^\circ\text{C}$ olarak ölçülmüştür.

Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Deneme süresi sonunda beyin omurilik bağlantısı kesilerek öldürülen balıkların, kuyruk bölgesinden kesilerek dorsal aortadan kanları alınmıştır. Denenen tüm süre ve derişimlerde içinde herhangi bir antikoagülant madde bulunmayan içi boş düz tüplere alınan kan örnekleri, 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj (Hettich EBA 8S) edilmiştir. Elde edilen serum

örneklerinin analizi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarındaki Roche Hitachi marka Modular DPP otoanalizator cihazında yapılmıştır.

Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri Student-Newman Keul's Test (SNK) kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar $P < 0.05$ düzeyinde önemli kabul edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Cu ve Cu + EDTA karışımının belirli bir ortam derişiminde ve denenen etki sürelerinde *O. niloticus*'un albumin, bilirubin, transferrin, haptogloblin ve hemoglobin düzeyleri Çizelge 1-5'te verilmiştir.

0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ve Cu+ EDTA karışımlarında denenen her üç sürede de serum albumin düzeyinde kontrol grubuna göre önemli artış gözlenmiştir ($P < 0.05$). Ortamdaki metal derişimlerinin artması ve sürenin ilerlemesiyle albumin düzeyinin de arttığı belirlenmiştir. Albumin düzeyinde gözlenen artışlar Cu ve Cu + EDTA karışımı arasında istatistik ayrım göstermiştir ($P < 0.05$). 28. günde Cu ve Cu + EDTA karışımının en yüksek derişimlerinde albumin düzeyinde kontrole kıyasla sırasıyla %38 ve %20 oranında artış gerçekleşmiştir (Çizelge 1. $P < 0.05$).

Çizelge 1. *O. niloticus*'da Cu derişimlerinde serum albumin düzeyi (g/dL) üzerine EDTA'nın etkisi.

DERİŞİM (mg/L)	Süre (Gün)		
	7	14	28
0.0	1.317±0.018 ax	1.320±0.023 ax	1.313±0.022 ax
0.1 Cu	1.473±0.012 bx	1.513±0.019 bx	1.650±0.116 by
0.1 Cu+0.3 EDTA	1.373±0.019 cx	1.410±0.012 cxy	1.460±0.017 cy
0.0	1.317±0.018 ax	1.320±0.023 ax	1.313±0.022 ax
0.5	1.550±0.015 bx	1.603±0.009 by	1.667±0.012 bz
0.5 Cu+1.5 EDTA	1.427±0.015 cx	1.483±0.007 cy	1.533±0.015 cz
0.0	1.317±0.018 ax	1.320±0.023 ax	1.313±0.022 ax
1.0	1.627±0.015 bx	1.703±0.009 by	1.807±0.015 bz
1.0+3.0 EDTA	1.443±0.012 cx	1.497±0.012 cy	1.573±0.012 cz

a, b ve c harfleri derişimleri; x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($P < 0.05$).

Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cu ve Cu+ EDTA karışımlarında denenen süreler sonunda serum bilirubin düzeyi kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artmıştır ($P < 0.05$). Cu ve Cu + EDTA karışımlarında sürenin uzamasına bağlı olarak serum bilirubin düzeyinde önemli artış olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). 7. günde Cu ve Cu + EDTA karışımının en

düşük derişiminde bilirubin düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yaklaşık olarak sırasıyla 3 kat ve 2 kat arttığı saptanmıştır. 28. gün Cu ve Cu + EDTA karışımının en yüksek derişimlerinde de bilirubin düzeyi kontrole göre yaklaşık olarak sırasıyla 5 ve 3 katlık bir artış göstermiştir (Çizelge 2. $P < 0.05$).

Çizelge 2. *O. niloticus*'da Cu derişimlerinde serum bilirubin düzeyi (g/dL) üzerine EDTA'nın etkisi.

DERİŞİM (mg/L)	Süre (Gün)		
	7	14	28
0.0	0.014±0.003 ax	0.013±0.002 ax	0.014±0.002 ax
0.1 Cu	0.042±0.002 bx	0.041±0.001 by	0.044±0.002 bz
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.024±0.002 cx	0.031±0.001 cx	0.037±0.001 cy
0.0	0.014±0.003 ax	0.013±0.002 ax	0.014±0.002 ax
0.5	0.045±0.002 bx	0.054±0.002 by	0.062±0.002 bz
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.023±0.001 cx	0.034±0.001 cx	0.038±0.001 cy
0.0	0.014±0.003 ax	0.013±0.002 ax	0.014±0.002 ax
1.0	0.058±0.001 bx	0.067±0.001 by	0.073±0.001 bz
1.0+3.0 EDTA	0.032±0.002 cx	0.040±0.002 cx	0.045±0.002 cy

a, b ve c harfleri derişimleri; x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.05).
Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.1, 0.5, 1.0 mg/L Cu ve Cu + EDTA ortam derişimlerinde her üç sürede de serum transferrin düzeyi kontrole kıyasla önemli oranda artmıştır (P<0.05). Denenen tüm ortam derişimlerinde transferrin düzeyi 14. günde önemli oranda artmış, sürenin uzamasıyla da azalmıştır. Transferrin düzeyindeki artış doğrudan Cu etkisinde derişimin artışıyla daha

yüksek olmuştur ve Cu'nun etkisindeki artışın karışımların etkisine oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Cu ve Cu + EDTA metal karışımının en düşük derişimlerinde transferrin düzeyi kontrol grubuna göre sırasıyla 7. günde %40 ve %20; 14. günde %89 ve %45 oranında bir artış göstermiştir (Çizelge 3. P<0.05).

Çizelge 3. *O. niloticus*'da Cu derişimlerinde serum transferrin düzeyi (g/dL) üzerine EDTA'nın etkisi.

DERİŞİM (mg/L)	Süre (Gün)		
	7	14	28
0.0	0.220±0.006 ax	0.233±0.009 ax	0.227±0.007 ax
0.1 Cu	0.307±0.009 bx	0.373±0.012 by	0.347±0.009 by
0.1 Cu+0.3 EDTA	0.263±0.003 cx	0.297±0.012 cy	0.260±0.006 cx
0.0	0.220±0.006 ax	0.233±0.009 ax	0.227±0.007 ax
0.5	0.370±0.012 bx	0.440±0.006 by	0.407±0.012 bz
0.5 Cu+1.5 EDTA	0.287±0.001 cx	0.337±0.007 cy	0.313±0.007 cz
0.0	0.220±0.006 ax	0.233±0.009 ax	0.227±0.007 ax
1.0	0.447±0.015 bx	0.527±0.007 by	0.520±0.006 by
1.0+3.0 EDTA	0.357±0.018 cx	0.450±0.173 cy	0.417±0.003 cy

a, b ve c harfleri derişimleri; x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.05).
Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.1, 0.5, 1.0 mg/L Cu ve Cu + EDTA ortam derişimlerinde denenen her üç sürede serum haptoglobulin düzeyinde kontrole göre önemli azalma gözlenmiştir (P<0.05). 1.0 mg/L Cu etkisinde serum haptoglobulin düzeyinde 7 ve 14. günlerde kontrole göre önemli azalma gerçekleşmiş ve sürenin uzamasına bağlı olarak bir istatistik ayrım gözlenmemiştir (P>0.05). 0.1 + 0.3 mg/L Cu + EDTA karışımında kontrol grubuna göre haptoglobulin düzeyinde 7. günde önemli

azalma gözlenirken 28. günde artış gözlenmiştir (P<0.05). Cu ve Cu + EDTA derişimlerinde sürenin uzamasına bağlı olarak haptoglobulin düzeyinde artış gözlenmiştir. 7. günde Cu ve Cu + EDTA metal karışımının en düşük derişimlerinin etkisinde haptoglobulin düzeyi kontrole göre sırasıyla %52 ve %26 oranında azalmıştır. 14. günde en yüksek Cu derişiminde %22 azalma, Cu + EDTA karışımında ise %5 artma gözlenmiştir (Çizelge 4. SNK, P<0.05).

Çizelge 4. *O. niloticus*'da Cu derişimlerinde serum haptogloblin düzeyi (g/dL) üzerine EDTA'nın etkisi.

DERİŞİM (mg/L)	Süre (Gün)		
	7	14	28
0.0	4.090±0.040 ax	4.140±0.056 ax	4.177±0.026 ax
0.1 Cu	1.950±0.250 bx	3.403±0.081 by	3.557±0.173 by
0.1 Cu+0.3 EDTA	3.250±0.259 cx	4.297±0.184 ay	4.853±0.049 cy
0.0	4.090±0.040 ax	4.140±0.056 ax	4.177±0.026 ax
0.5	2.923±0.045 bx	3.143±0.170 bx	3.420±0.240 bx
0.5 Cu+1.5 EDTA	3.250±0.056 cx	4.237±0.149 ay	4.547±0.352 acy
0.0	4.090±0.040 ax	4.140±0.056 ax	4.177±0.026 ax
1.0	3.523±0.206 bx	3.217±0.020 bx	3.603±0.326 ax
1.0+3.0 EDTA	3.127±0.058 cx	4.343±0.043 cy	4.893±0.373 bcy

a, b ve c harfleri derişimleri; x ve y harfleri ise süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.05).
Aritmetik ortalama ± Standart hata

0.1 ve 0.5 mg/L Cu ortam derişiminde denenen her üç sürede de hemogloblin düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli artış kaydedilmiştir (P<0.05). Cu + EDTA karışımında sürenin uzamasına bağlı olarak önce artma daha sonra ise azalma gerçekleşmiştir. 1.0 mg/L Cu ortam derişiminde hemogloblin düzeyi kontrole kıyasla 7. ve 14. günde önemli oranda artarken (P<0.05) 28. günde istatis-

tik ayrım göstermemiştir (P>0.05). Hemogloblin düzeyi kontrole kıyasla Cu + EDTA karışımlarının etkisinde 14. günde artma, 28. günde azalma göstermiştir. 14. günde en düşük Cu ve Cu + EDTA derişimlerinde hemogloblin düzeyi kontrole göre %44 ve %18 oranında bir artış göstermiştir (Çizelge 5. SNK, P<0.05).

Çizelge 5. *O. niloticus*'da Cu derişimlerinde serum hemogloblin düzeyi (g/dL) üzerine EDTA'nın etkisi.

DERİŞİM (mg/L)	Süre (Gün)		
	7	14	28
0.0	7.317±0.143 ax	7.313±0.092 ax	7.813±0.092 ax
0.1 Cu	8.433±0.110 bx	10.50±0.167 by	8.960±0.252 bx
0.1 Cu+0.3 EDTA	7.267±0.0933 ax	8.603±0.105 cy	6.580±0.078 cz
0.0	7.317±0.143 ax	7.313±0.092 ax	7.813±0.092 ax
0.5 Cu	9.440±0.133 bx	8.523±0.217 by	8.760±0.246 bxy
0.5 Cu+1.5 EDTA	7.503±0.223 ax	9.717±0.208 cy	6.470±0.286 cz
0.0	7.317±0.143 ax	7.313±0.092 ax	7.813±0.092 ax
1.0 Cu	9.943±0.092 bx	8.227±0.194 by	7.357±0.132 abz
1.0+3.0 EDTA	7.247±0.138 ax	9.230±0.127 cy	7.047±0.171 bx

a, b ve c harfleri derişimleri; x, y ve z harfleri ise süreler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır (P<0.05).
Aritmetik ortalama ± Standart hata

Su ortamında EDTA ve NTA gibi şelatlaştırıcı ajanların ve askıda katı maddelerin bulunması metallerin akuatik hayvanlar üzerine toksisitesini azaltmaktadır. Şelatlaştırıcılar (kompleksleştiriciler) metal zehirlenmesini kontrol altına alma ve tedavide oldukça etkili maddelerdir ve yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [7]. EDTA gibi kompleksleştirici ajanlar metal iyonlarını bağlayarak etkisiz hale getirebilmektedir. Şelat ajanları, hem biyolojik hem de kimyasal proseslerde metal iyonlarının çözünebilmesinde ve transportunda kullanılmaktadır [8].

Farklı balık türleri ile yapılan çalışmalarda EDTA'nın dokularda metal birikimini önleyerek metal toksisitesini azalttığı bildirilmiştir [9,10]. Ni etkisine bırakılan balıklarda biyokimyasal değişikliklerin ve patolojik bozuklukların giderilmesinde EDTA gibi şelatların önemli rolü olmuştur [11]. Tao ve ark. [12], *Parachirodon inesi* balığında EDTA'nın Cu toksisitesini azalttığını bildirmişlerdir. Cu ve Cu + EDTA karışımlarının etkisine bırakılan *Carassius auratus*'ta EDTA solungaçtaki Cu birikimini azaltmıştır [13]. Araştırmacılar, solungaçlarda metalin bağlandığı bölgede

EDTA ile kompleks oluşturarak metalin vücuda girişini engellediğini belirtmişlerdir.

Metaller maruz kalma süresine, suyun fizikokimyasal özelliklerine, metal çeşidine ve balık türlerine bağlı olarak serum proteinlerinde artış veya azalış şeklinde değişikliklere neden olmaktadır [14,15].

Albuminler yapısındaki aminoasitlerin bağlayıcı özelliğinden dolayı plazmada taşınması gereken organik ve inorganik maddeleri (metal iyonları, hormonlar, metabolitler (bilirubin, safra asitleri), yağ asitleri ve ilaçlar)) kolayca bağlamak ve taşımaktadır. Albumin plazmanın major antioksidanıdır. Cu ve Ni etkisinde *Cyprinus carpio*'da serum total protein ve globulin miktarı artarken albuminin azaldığı bildirilmiştir [16]. *Cyprinus carpio* ile yapılan bir çalışmada, uygulanan Cu derişiminin artışı serum albumin düzeyini artırmıştır [17]. *Channa punctatus*'ta ağır metal etkisinde serumdaki albumin önemli oranda azalırken globulin artmıştır. Globulin miktarındaki artışın ağır metallere karşı immün tepkiyi artırdığı ileri sürülmüştür [18]. Transferrin Fe'yi barsak epitelinden hemopoetik dokulara (kemik iliğine, retikuloendotelial sisteme, dalağa, karaciğere) taşımaktadır. Fe eksikliğinde, transferrin düzeyi artmakta fazlalığında ise azalmaktadır. Haptoglobin damar içinde açığa çıkan hemoglobini bağlayarak RES'e (retikuloendotelial sistem) taşımakta ve hemoliz durumunda kandaki düzeyi azalmaktadır. Haptoglobin hemoliz durumunda dokuların bir hasar indikatörü olarak haptoglobin-hemoglobin kompleksini oluşturmaktadır. Protein sentezinin azaldığı şiddetli karaciğer hastalıklarında ve hemolitik anemilerde haptoglobinin seviyesi düşmektedir.

Metaller hemoglobin yapısına zarar vermektedir [19, 20]. Cd'nin etkisine bırakılan *Catla catla* balığında hemoglobin içeriği 25 günlük etki süresinde artış göstermiştir [21]. Araştırmacılar hemoglobindeki bu artışın, yapısı bozulan hemoglobinin yerine yenisinin üretilmesi ve olgunlaşmamış eritrositlerin ortama verilmesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Balıklara Cu uygulaması hemoglobin değerlerini artırmakta ve bu artış kırmızı kan hücrelerinin artışıyla birlikte olmaktadır [22]. Cu'nun etkisine bırakılan *Oreochromis mossambicus*'ta hemoglobin düzeyinin artış gösterdiği saptanmıştır [23]. Yine başka bir çalışmada Cu etkisinde, *Heteropneustes fossilis* balığının hemoglobin ve bilirubin düzeyleri kontrol balıklarına göre artış göstermiştir [24]. Bu artış sürenin uzamasına bağlı olarak daha yüksek düzeylere ulaşmıştır. *Oreochromis niloticus* ile yapılan bir çalışmada 7 ve 14 günlük süreyle Cd, Zn ve Cd+Zn derişimlerinin etkisinde serum albumin, transferrin, total protein düzeyleri kontrole göre önemli oranda artış göstermiştir [25]. Araştırmacılar bu artışların metallere tepki olarak karaciğerdeki protein sentezinin artmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Denenen tüm sürelerde serum hemoglobin, albumin, bilirubin ve transferrin düzeyleri Cu ve Cu karışımları etkisinde kontrole göre önemli düzeyde artış göstermiş ve doğrudan Cu etkisinde sürenin uzamasıyla bu değerler artmıştır. Bu artış metalin ortamdan alınması ve taşınmasında görev yapmaları nedeniyle serum proteinlerinin sentezlerindeki artıştan kaynaklanabilmektedir. Cu'nun doğrudan etkisinde bu artış Cu+EDTA karışımına göre daha fazla olmuştur. Bilirubin düzeyindeki artışın eritrosit yıkımının artmasından ve karaciğer rahatsızlıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Sürenin ilerlemesiyle Cu etkisinde gözlenen hemoglobinin düzeyindeki düşüşün, hemoglobinin sentez mekanizmalarının bozulmasıyla veya azalan eritrosit sayısı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen sonuçların genel olarak önceki çalışmaların sonuçlarıyla paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Cu plazma proteinlerinin miktarını değiştirmiştir. Balıklara Cu ile birlikte EDTA uygulanması ise Cu'nun etkisini bir dereceye kadar azaltabilmiştir. Balıklarla laboratuarda yapılan akuatik biyodenyler, kimyasalların tek ve karışım halindeki etkileriyle ilgili bilgileri sağlamaktadır. Cu kirliliği bulunan sucul ortamlarda, kirliliğin ortamdaki kaldırılması için EDTA gibi şelatlaştırıcı ajanların kullanılması sucul organizmaların sağlığı açısından önemlidir. Sunulan bu çalışmada EDTA'nın Cu toksisitesini azaltmada önemli rolünün olduğu belirlenmiştir. Akuakültür sistemlerinde ve bazı endüstriyel atıkların uzaklaştırılması işlemlerinde EDTA, NTA ve zeolit gibi metal şelatlayıcı bileşiklerin kullanılmasının yaygınlaştırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Martinez C.E. 2000. Solubility of Lead, Zinc and Copper Added to Mineral Soils. Environmental Pollution, 107: 153-158.
- [2] Ahmad S. 1995. Antioxidant Mechanisms of the Enzymes and Proteins. Oxidative Stress and Antioxidant Defences in Biology. Chapman and Hall, America, 238-265.
- [3] Cousins R. J. 1985. Absorption, Transport and Hepatic Metabolism of Copper and Zinc Special Reference to Metallothionein and Ceruloplasmin. Physiological Reviews, 65: 238-309.
- [4] Yiğitoğlu R., Göker Z. 2000. Biyokimya & Klinik Biyokimya (B. ADAM editör). Proteinler, I. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, s. 297-304.
- [5] Emerk K., Sözen E.Y. 2002. İnsan Biyokimyası (T. ONAT editör). Palme Yayıncılık, Ankara, s. 641-673
- [6] Fontainhas-Fernandes A.A. 1998. Tilapia production, in M.A. Reis -Henriques (Ed), Aquaculture Handbook, 135-150.
- [7] Gopal R., Narmada S., Vijayakumar R., Jaleel C.A. 2009. Chelating Efficiency of CaNa2 EDTA on Nickel-Induced Toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) Through Its Effects on Glutathione Peroxidase, Reduced Glutathione and Lipid Peroxidation. C. R. Biologies, 332: 685-696.
- [8] Knepper T.P. 2003. Synthetic Chelating Agents and Compounds Exhibiting Complexing Properties in the Aquatic Environment. Trends in Analytical Chemistry, 22 (10): 708-724.
- [9] Muramoto S. 1983. Elimination of Copper From Cu-Contaminated Fish by Long-Term Exposure to EDTA and Freshwater. Journal of Environmental Science and Health, Part A., 19 (3): 455-461.
- [10] Kargın F. 1996. Seasonal Changes in Levels of Heavy Metals in Tissues of *Mullus barbatus* and *Sparus aurata* Collected From Iskenderun Gulf (Turkey). Water Air and Soil Pollution, 90: 557-562.
- [11] Gopal R., Narmada S., Vijayakumar R., Jaleel, C.A. 2009. Chelating Efficiency of CaNa2 EDTA on Nickel-Induced Toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.) Through Its Effects on Glutathione Peroxidase, Reduced Glutathione and Lipid Peroxidation. C. R. Biologies, 332: 685-696.
- [12] Tao S., Long A., Pan B., Xu F., Dawson R. 2002. Uptake of Copper Complexed to EDTA, Diaminoethane, Oxalic Acid, or Tartaric Acid by Neon Tetras (*Paracheirodon innesi*) Ecotoxicology and Environmental Safety, 53: 317-322.
- [13] Liu H., Zhang. J.F., Shen, H., Wang X.R., Wang

W.M., 2005. Impact of Copper and Its EDTA Complex on the Glutathione-Dependent Antioxidant System in Freshwater Fish (*Carassius auratus*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 74: 1111-1117.

[14] Monteiro S. M., Mancera J. M., Fernandes A.F., Sousa M., 2005. Copper Induced Alterations of Biochemical Parameters in the Gill and Plasma of *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology, 141C: 375-383.

[15] Akbary P. 2014. Consideration of Blood Serum Biochemical Parameters of Yellow Fin Sea Bream (*Acanthopagrus latus* Houttuyn, 1782) and Orange-Spotted Grouper (*Epinephelus coioides* Hamilton, 1822). Advances in Biological Chemistry, 4: 407-413.

[16] Gopal V., Parvathy S. and Balasubramanian P.R. 1997. Effect Of Heavy Metals On The Blood Protein Biochemistry Of The Fish *Cyprinus Carpio* And Its Use As A Bio-Indicator Of Pollution Stress. Environmental Monitoring and Assessment 48: 117-124.

[17] Romanenko V.D., Yevtushenko, N.Y. 1985. The Tissue Accumulation of Heavy Metals and Their Influence on the Biosynthesis in the Fish Organism. Symposia Biologica Hungarica, 29: 299-311.

[18] Javed M., Usmani N. 2014. Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent. Saudi Journal of Biological Sciences (22) 237-242.

[19] Alves L.C. and Wood C.M. 2006. The Chronic Effects of Dietary Lead in Freshwater Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Elevated Calcium Diets. Aquatic Toxicology. 78: 217-232.

[20] Chiesa M.E., Rosenberg C.E., Fink N.E., Salibian A. 2006. Serum Protein Profile and Blood Cell Counts in Adult Toads *Bufo arenarum* (Amphibia: Anura: Bufonidae): Effects of Sublethal Lead Acetate. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 50: 384-391

[21] Remya S.R., Ramesh M., Sajwan K.S. and Kumar K.S. 2008. Influence of Zinc on Cadmium Induced Haematological and Biochemical Responses in a Freshwater Teleost Fish *Catla catla*. Fish Physiology and Biochemistry. 34: 169-174.

[22] Nussey G., Van Vuren J.H.J. and DU Preez, H.H. 1995. Effect of Copper on the Haematology and Osmoregulation of the Mozambique Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). Comparative Biochemistry and Physiology - Part C, 111 (3): 369-380.

[23] Cyriac P., J. Antony A., Nambisan P.N.K., 1989. Hemoglobin and Hematocrit Values in Fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) After Short Term Exposure Copper and Mercury. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 43: 315-320.

[24] Singh H.S. and Reddy T.V. 1990. Effect of Copper Sulfate on Hematology, Blood Chemistry and Hepatosomatic Index of an Indian Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and Its Recovery. Ecotoxicology and Environmental Safety, 20: 30-35.

[25] Firat O., Kargin F. 2010. Biochemical Alterations Induced By Zn And Cd Individually Or In Combination In The Serum Of *Oreochromis Niloticus*, Fish Physiology and Biochemistry, 36: 647-653.