

Alfa Sipermetrinin Gökkuşığı Alabalığı Solungaç Dokusunda Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Veysel Parlak¹, Muhammed Atamanalp^{*1}, Gonca Alak¹ ve Arzu Uçar¹

¹Su ürünleri fakültesi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye

*Corresponding author: mataman@atauni.edu.tr

⁺Speaker: veysel.parlak@atauni.edu.tr

Presentation/Paper Type: Oral / Full Paper

Özet – Alfa-sipermetrinin toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmada, gökkuşığı alabalıkları pestisit 3 farklı konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. 96 saatlik akut uygulama süresinde balıklardan 0, 24, 48 ve 96 saatlerde solungaç dokusu örneklenmiştir. Solungaç dokusunda antioksidan enzim aktivitesi ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda SOD, CAT, GPx ve MDA seviyelerinde çok önemli ölçüde artış belirlenmiştir (P>0,1). Sonuçlar doğrultusunda, canlıda birincil savunma mekanizması olan antioksidanların, pestisit toksik etkisine karşı direnç gösterdiğini ifade edebiliriz.

Anahtar kelimeler – Alfa sipermetrin, Gökkuşığı Alabalığı, SOD, CAT, GPx ve MDA

I. GİRİŞ

Dünya genelinde ve ülkemizde pestisitler tarım alanlarında ürün kalitesini arttırmak için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak bu kimyasallar yağışlar ve yer altı sularına karışarak sucul ortamlara taşınmakta ve buradaki canlıları olumsuz olarak etkilemektedir. Sucul ortamlarda biyoindikatör olarak kullanılan balıkların bu kimyasallara verdiği tepkilerin belirlenmesi, çevresel kirliliğin tespit edilmesinde önem arz etmektedir. Çevresel kirleticiler canlıya temas ettiği zaman, canlıda meydana gelen oksidatif stresi uzaklaştırmak için antioksidanlar devreye girer ve hücre hasarı engellemeye çalışır. Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon peroksidaz (GPx) reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemekle görevli olan antioksidan enzimlerdir. Bu çalışmada alfa sipermetrinin gökkuşığı alabalıkları üzerinde oluşturduğu oksidatif strese karşı antioksidanların verdiği tepkinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

II. MATERYAL VE METOD

A. Kimyasalın uygulanması

Ticari firmadan temin edilen alfa sipermetrinin uygulaması Atatürk üniversitesi su ürünleri fakültesi toksikoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Uygulamada 450 litre hacminde 4 adet fiberglas tank (1 kontrol grubu 3 uygulama grubu) içerisine her birine 15 adet 170±5 gr gökkuşığı alabalığı yerleştirilmiştir. Alfa sipermetrin konsantrasyonu LC₅₀ nin altındaki dozlar göre belirlenmiştir (2 (µg/litre) 2,5 (µg/litre) 3 (µg/litre)). Alfa sipermetrinin 3 farklı konsantrasyonu 96 saat süresince günlük olarak uygulanmıştır.

B. Doku örnekleme

Uygulamanın başlangıç 24, 48 ve 96 saatlerinde tanklardaki balıklar rastgele seçilerek solungaç dokusu örneklenmiştir. Sıvı azotta dondurulan doku örnekleri laboratuvar çalışmasına kadar -80°C de muhafaza edilmiştir.

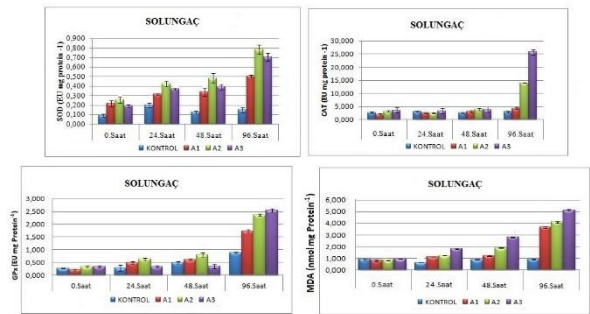
C. Antioksidan enzim aktivitesi ölçümleri

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Ref. [1]'e göre, katalaz (CAT) aktivitesi Ref. [2] metoduna göre, Glutasyon peroksidaz (GPx) Ref. [3] metoduna göre ve Lipid peroksidasyonun (MDA) Ref. [4]'e göre ölçülmüştür.

III. SONUÇLAR

Akut uygulama sonucunda gökkuşığı alabalığı solungaç dokusunda ölçülen antioksidan seviyeleri tablo 1'de verilmiştir. Uygulama sonucunda doza ve zamana bağlı olarak SOD, CAT, GPx ve MDA seviyelerinde artış belirlenmiştir.

Tablo 1. Alfa sipermetrine maruz kalan gökkuşığı alabalığı solungaç dokusuna ait antioksidan seviyeleri.



SOD enzim aktivitesinin alfa sipermetrin uygulanan gruplarda solungaç dokusunda A1'de 0,310±0,012 EU/mg protein olan değer A2'de 0,427±0,031 EU/mg proteine yükselirken A3'te ise 0,370±0,010 EU/mg proteine düşmüştür. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01). CAT enzim aktivitesi bakımından solungaç dokusunda A1'de 2,667±0,252 EU/mg protein olan değer A2'de 2,500±0,361 EU/mg proteine düşüş gösterirken A3'te ise 3,367±0,379 EU/mg proteine yükselmiştir. Solungaç dokusunda gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (p<0,01).

GPx aktivitesi 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 ($p < 0,01$). MDA seviyesi 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 ($p < 0,01$).

IV. TARTIŞMA

Çalışmamızda SOD enzim aktivitesinde ilk saatlerde ve bazı konsantrasyonlarda azalmalar olsa da 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 pestisitte karşı oluşan adaptasyonun bir sonucu ya da enzimin bazal aktivitesiyle serbest radikal oluşumunu inhibe etmesinin etkisinin olduğu düşünülmektedir Ref. [5]. Söz konusu parametre ile ilgili olarak mevcut çalışmadan elde edilen bulgular yapılan bazı çalışmalarla paralellik göstermiştir Ref. [6]. Süperoksit dismutaz ve katalaz toksisiteye karşı savunmanın ilk ve en önemli basamağıdır. H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda görev alan CAT gibi enzimatik antioksidanların kanda, kemik iliğinde, mukoz membranlarda, böbrek ve karaciğerde diğer dokulara oranla daha fazla bulunduğu ve daha yüksek aktivite gösterdiği bilinmektedir Ref. [7]. Elde edilen sonuçlara benzer olarak Ref. [8]'da yeşil yılanbaşı (*Channa punctatus*) balığının karaciğerinde pestisit uygulamalarının CAT aktivitesini artırdığını kaydetmişlerdir. Çalışmamızda CAT enzim aktivitesinin solungaç dokusunda genel olarak yüksek çıkmasını bu enzimin, alfa sipermetrinin etkisi ile hücresel 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 sağlanmadığı durumlarda bu değişikliklerin olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca CAT aktivitesinde meydana gelen azalışların sebebinin, serbest radikallerin protein sentezini baskılamasından dolayı olduğu düşünülebilir Ref. [9]. GPx'de gözlenen artışların, GSH'nin, aktive olan GSH sentez mekanizmaları ile yerine konmasına bağlı olabileceği ya da diğer detoksifikasyon mekanizmaları ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir Ref. [10]. Muamele grupları arasında gözlemlenen GPx aktivitelerinde meydana gelen azalmaların ise O_2 'nin artışına bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir Ref. [11]. Çalışmamızda uygulama sonucunda lipid peroksidasyon seviyesinde (MDA), konsantrasyona ve süreye bağlı olarak artışlar olduğu belirlenmiştir. Pestisitler oksidatif stresi arttırarak serbest radikal üretimine ve LPO'ya yol açmaktadır Ref. [12]. Pestisitlerin etkisinde ROS'un yükseldiğini ve bunun oksidatif strese yol açarak antioksidan enzimleri azalttığını bunun da LPO oluşumunu arttırarak membran yapısını bozduğunu artan MDA miktarıyla açıklayabiliriz. Piretroid insektisitlerden deltamethrin farelere oral yolla 15 gün süreyle verilmiş, çalışma sonunda solungaç dokusunda lipid peroksidasyonunu arttırdığı bildirilmiştir Ref. [13]. 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 Ref. [14].

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.

REFERANSLAR

- [1] Y. Sun, L.W. Oberley, Y. Li, 1998. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase Clin. Chem. 34, 497-500.
- [2] H. Aebi, S.R. Wyss, B. Scherz, F. Skvaril, 1974. Heterogeneity of Erythrocyte Catalase .2. Isolation and Characterization of Normal and Variant Erythrocyte Catalase and Their Subunits. Eur J Biochem 48, 137-145.
- [3] E. Beutler, 1984. Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods. Grune and Starton, New York 1984.
- [4] J.M. Gutteridge, 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem. Dec; 41(12 Pt 2):1819-28.
- [5] O. Song, 2004. Oxidative Stress: A Theoretical Model or Biological Reality. C. R. Biologies., 327, 649-662.
- [6] F. Peixoto, D. Alves-Fernandes, D. Santos, A. Fontainhasfernandes, 2006. Toxicological Effects of Oxyfluorfen on Oxidative Stress Enzymes in Tilapia Oreochromis Niloticus. Pesticide Biochemistry and Physiology, 85: 91-96.
- [7] S. Pandey, S. Parvez, I. Sayeed, R. Haque, B. Bin-hafeez, S. Raisuddin, 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish Wallago atto. The Science of the Total Environment, 309: 105-115.
- [8] I. Sayeed, S. Parvez, S. Pandey, B. R. Bin-Hafeez, Haque, S. Raisuddin, 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, Channa punctatus Bloch. Ecotoxicology and Environmental Safety 56: 295-301.
- [9] P.R. Palaniappan, and V. Vijayasundaram, FTIR study of arsenic induced biochemical changes on the liver tissues of fresh water fingerlings Labeo Rohita, Romanian J. Biophys., 18, 135-144, 2008.
- [10] J.F. Zhang, H. Liub, Y.Y. Sun, X.R. Wang, J.C. Wu, Y.Q. Xue, 2005. Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish Carassius auratus, exposed to 2,4-dichlorophenol. Environmental Toxicology and Pharmacology. 19: 185-190.
- [11] E. Yılmaz, 2015. Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi Üzerine Bir Derleme Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi (CFD), Cilt 36, No. 2 (2015) ISSN: 1300-1949 Cumhuriyet University Faculty of Science Science Journal (CSJ), Vol. 36, No. 2 (2015) ISSN: 1300-1949.
- [12] J.P. Kehrer, 1993. Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. Critical Reviews in Toxicology, 23(1):21.
- [13] H. Rehman, M. Ali, F. Atif, M. Kaur, K. Bhatia, S. Raisuddin, 2006. The Modulatory Effect of Deltamethrin on Antioxidants in Mice. Clinica Chimica Acta, 369: 61-65.
- [14] E. Kaya, 2005. Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi Kimya Anabilim Dalı, Isparta.