

156825

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MARMARA ve KARADENİZ BÖLGESİ YÜZEY BALIKLARI
KARACİĞERİNDE VİTAMİN A İLE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ,
KATALAZ VE GULUTATYON PEROKSİDAZ ENZİM DÜZEYLERİ**

Güzin ÖZKURT BORAZAN

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

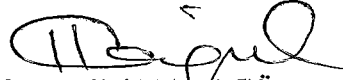
Prof. Dr. Hilal KARAGÜL

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu Başkanlığı tarafından 358 proje numarası ile desteklenmiştir.

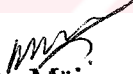
2004 – ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya Anabilim Dalı **Doktora Programı**
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 22.07.2004



Prof.Dr. Hilal KARAGÜL
Ankara üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Jüri Başkanı



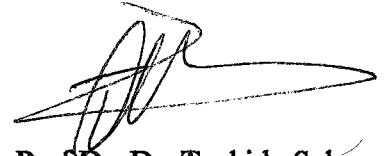
Prof.Dr. Müjgan İzgür
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi



Prof.Dr. Behiç Serpek
Selçuk Üniversitesi
Veteriner Fakültesi



Prof.Dr. Arif Altıntaş
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi



Prof.Dr. Dr. Tevhide Sel
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

ÖNSÖZ

Dünya yüzeyinin 2/3'ü sularla kaplı olup, su kütlelerinin büyük bir bölümünü okyanuslar oluşturur. Denizler yaşamın başlangıç noktası olup yaşamın vazgeçilemez unsurudur. Bu nedenle dünya yüzeyindeki tüm topluluklar suyun bulunduğu bölgeleri yerleşim alanları olarak tercih etmiş ve bu bölgelerde kentleşme, endüstriyel gelişme, ticaret ve turizmin zamanla artması, deniz kirliliğini son yüzyılda insan sağlığını tehdit eder boyuta ulaştırmıştır.

Türkiye'yi çevreleyen denizlerden her birisi, diğer deniz havzalarından az veya çok izole olmuş durumdadırlar. Marmara ve Karadeniz arasındaki bağlantı, dar İstanbul Boğazı ile büyük çapta kısıtlanmıştır. Ege Denizi ile Marmara Denizi arasındaki bağlantı da, aynı şekilde büyük kısıtlama oluşturmaktadır. Ege Denizi ile Akdeniz arasındaki bağlantı ise Ege Denizindeki adalarla Akdeniz'in diğer bölümlerinden ayrılmasına sebep olmaktadır. Bu kısıtlamalar, deniz kesimleri arasındaki su alış-verişini geniş çapta etkilediğinden, bu kesimlere deşarj edilen atıkların seyreltilmesi ve uzaklaştırılması olanakları da global olarak kısıtlanmış olmaktadır. Bu kısıtlamanın yarattığı diğer bir etki de, su kütleleri arasındaki düşey karışımın (özellikle tabakalı yapılara sahip olan Karadeniz ve Marmara'da) belirli bir derinlikten sonra durmasıdır. Bu durum da kirleticilerin büyük bir bölümünün belirli tabakalarda kalmasına ve konsantrasyonlarının bu tabakalarda göreceli olarak artmasına sebep olmaktadır.

Balıklar başta insanlar olmak üzere birçok canlı türü için biyolojik değeri yüksek temel bir besin kaynağıdır. Deniz kirliliğine neden olan maddelerin hem memeli sistemlerinde hem de deniz canlılarında oluşturduğu karsinojenik ve mutajenik etkiler dikkate alındığında balık ve balık ürünleri önem arz etmektedir. Balıklar diğer vertebralılardan farklı olarak ya günlük yada mevsimsel ısı ve oksijen değişikliğine maruz kaldıkları için değişken çevre şartlarına uyum sağlayan metabolizmaya sahiptirler. Bu savunma mekanizması vertebralılarınkinden farklı değildir ve hem enzimatik hem de enzimatik olmayan yapıları kapsar. Antioksidan

Savunma, superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) üçlü enzim sistemi ve enzimatik olmayan düşük molekül ağırlıklı yapılardan olan glutatyon, vitamin A, E, C, karotinler ve ubikinon¹⁰ dur.

Deniz kirliliği sadece deniz canlılarını değil, deniz ürünlerini besin olarak tüketen hem insan hem de hayvan sağlığını ilgilendiren bir konudur. Türkiye gibi denizlerle çevrili bir ülkenin ekonomisine büyük katkı sağlayan deniz ürünlerinin kirlilikle beraber giderek azalması birçok balık türünün bugün avlanılamaz duruma gelmesi ve bazı türlerin ise tamamen yok olması, kirliliğin boyutunu ve önemini göstermektedir.

Bu çalışmada, Karadeniz ve Marmara Denizi'nden örneklenen yüzey balıkları karaciğer dokusunda antioksidan savunma sistemine ait; GPx, SOD, CAT ve Vitamin A aktiviteleri ölçülerek, elde edilen sonuçlara göre kirliliğin, biyokimyasal göstergesi hakkında bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince her türlü desteği esirgemeyen, Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı ve Danışmanım Sayın Prof. Dr. Hilal KARAGÜL'e ve her zaman ilgi ve anlayış gördüğüm, bir aile ortamı içinde olduğumu hissettiren tüm Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine ve arkadaşlarıma, materyal toplama aşamasında çok büyük desteğini ve yardımını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Candan VARLIK'a, Sinop Fen Edebiyat Fakültesi Dekan'ı Sayın Prof. Dr. Şevket BÜYÜKHATİPOĞLU'na, Su Ürünleri Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Yalçın KAYA'ya ve Yrd. Doç. Dr. Ali TÜRKER'e, homojenizasyon aşamasında yardımlarını esirgemeyen ODTÜ Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Meral YÜCEL'e ve tüm Biyoloji Öğretim Üyelerine, tez çalışmalarım boyunca manevi desteğini esirgemeyen eşim ile sabır ve anlayışla bekleyen küçük oğluma teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Şanlı Urfa Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No:358).

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	<i>ii</i>
Önsöz	<i>iii</i>
İçindekiler	<i>v</i>
Simgeler ve Kısaltmalar.....	<i>vii</i>
Şekiller.....	<i>viii</i>
Çizelgeler.....	<i>ix</i>
1. GİRİŞ	1
1.1. Denizlerde Kirlenme.....	4
1.1.1 Karadeniz.....	7
1.1.2 Marmara Denizi.....	11
1.2. Serbest Radikaller.....	15
1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	16
1.3.1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar.....	19
1.3.1.1. Süperoksit Dismutaz.....	19
1.3.1.2. Katalaz.....	20
1.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz.....	21
1.3.1.4. Glutasyon Redüktaz.....	22
1.3.1.5. Glutasyon -S- Transferaz.....	22
1.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma Sistemleri.....	23
1.3.2.1. Glutasyon.....	23
1.3.1.2. Vitamin A ve Beta Karotin.....	24
1.3.1.3. Vitamin E (Tokoferoller).....	24
1.3.1.4. Vitamin C (Askorbik Asit).....	26
1.3.1.5. Melatonin.....	27
1.4. Ksenobiyotik Metabolizması.....	28
1.4.1. Karma Fonksiyonlu Oksidasyon Sistemi ve Sitokrom P-450	29
1.5. Balıklarda Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	30
1.6. Amaç.....	32

2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	34
2.1. Gereç.....	34
2.1.1. Materyal.....	34
2.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	36
2.1.3. Kullanılan Malzemeler.....	36
2.2. Yöntem.....	37
2.2.1. Karaciğer Doku Örneklerinin Homojenizasyonu.....	37
2.2.1.1. Glutasyon Peroksidaz Aktivite Tayini İçin Homojenizasyon.....	37
2.2.1.2. Superoksit Dismutaz Aktivite Tayini İçin Homojenizasyon.....	37
2.2.1.3. Katalaz Aktivite Tayini İçin Homojenizasyon.....	38
2.2.2. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü.....	39
2.2.3. Süeperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü.....	41
2.2.4. Katalaz Aktivitesi Ölçümü.....	44
2.2.5. Total Protein Düzeyi Ölçümü.....	46
2.2.6. Vitamin A ve Beta Karoten Miktarı Ölçümü.....	47
2.2.7. Kullanılan İstatistik Yöntemler.....	49
3. BULGULAR.....	50
4. TARTIŞMA	67
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	77
ÖZET.....	80
SUMMARY.....	83
KAYNAKLAR.....	86
EKLER.....	92
ÖZGEÇMİŞ.....	101

SİMGELER ve KISALTMALAR

AHH	Aril Hidrokarbon Hidroksilaz
BHT	Bütil Hidroksi Toluen
BSA	Sığır Serum Albumini
Cu-OOH	Kumol Hidroperoksit
CAT	Katalaz
Ec-SOD	Ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EROD	7-ethoksi resorufin O-dietilaz
GC	Guanilat Siklaz
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Redükte Glutasyon
GSSH	Okside Glutasyon
GST	Glutasyon-S-Transferaz
G-6-PD	Glukoz 6 Fosfat Dehidrojenaz
MO	Monooksijenaz Enzim Sistemleri
MFO	Karma Fonksiyonlu Oksidaz Sistemi
NADP	Nikotin Adenin Dinükleotit Fosfat
NADPH+H⁺	Nikotin Adenin Dinükleotit Hidrojen Fosfat
NBT	Nitroblue Tetrazolium
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PAH	Polisklik Aromatik Hidrokarbon
PCB	Poliklorlu Bifenil
ROT	Reaktif Oksijen Türevleri
SOD	Süperoksit Dismutaz

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Ksenobiyotiklerin Detoksifikasyon Yolları



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Serbest Radikal Kaynakları

Çizelge 2.1. Örneklenen Balıkların Boy ve Ağırlık Ortalamaları

Çizelge 3.1. Marmara ve Karadeniz'in (dönemler arası) İstavrit ve Çinekop Karaciğer Örneklerine ait GPx Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.2. Marmara ve Karadeniz'in (dönemler arası) İstavrit ve Çinekop Karaciğer Örneklerine ait SOD Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.3. Marmara ve Karadeniz'in (dönemler arası) İstavrit ve Çinekop Karaciğer Örneklerine ait CAT Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.4. Marmara ve Karadeniz'in (dönemler arası) İstavrit ve Çinekop Karaciğer Örneklerine ait Vitamin A Düzeyleri

Çizelge 3.5. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) İstavrit Karaciğer Örneklerine ait GPx Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.6. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) İstavrit Karaciğer Örneklerine ait SOD Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.7. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) İstavrit Karaciğer Örneklerine ait CAT Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.8. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) İstavrit Karaciğer Örneklerine ait Vitamin A Düzeyleri

Çizelge 3.9. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) Çinekop Karaciğer Örneklerine ait GPx Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.10.Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) Çinekop Karaciğer Örneklerine ait SOD Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.11.Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) Çinekop Karaciğer Örneklerine ait CAT Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.12.Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) Çinekop Karaciğer Örneklerine ait Vitamin A Düzeyleri

Çizelge 3.13. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (türler arası) Çinekop Karaciğer Örneklerine ait GPx Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.14. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (türler arası) Çinekop

Karaciğer Örneklerine ait SOD Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.15. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (türler arası) Çinekop

Karaciğer Örneklerine ait CAT Enzim Düzeyleri

Çizelge 3.16. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (türler arası) Çinekop

Karaciğer Örneklerine ait Vitamin A Düzeyleri

Ek Çizelge 1. Marmara 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer

örneklerine ait GPx enzim düzeyleri

Ek Çizelge 2. Marmara 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer

örneklerine ait SOD enzim düzeyleri

Ek Çizelge 3. Marmara 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer

örneklerine ait CAT enzim düzeyleri

Ek Çizelge 4. Marmara Denizi 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer

örneklerine ait vitamin-A düzeyleri

Ek Çizelge 5. Karadeniz 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer

örneklerine ait GPx enzim düzeyleri

Ek Çizelge 6. Karadeniz 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer

örneklerine ait SOD enzim düzeyleri

Ek Çizelge 7. Karadeniz 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer

örneklerine ait CAT enzim düzeyleri

Ek Çizelge 8. Karadeniz 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer

örneklerine ait vitamin-A düzeyleri

1. GİRİŞ

Denizleri çevreleyen karasal ekosistemler, ekonomik açıdan önemli bölgelerdir. Bu bölgeler insan popülasyonunun yoğun olduğu ve biyolojik üretkenliğin fazla olduğu yerlerdir. Bu yüzden kıyı şeridi suları kentsel, tarımsal ve endüstriyel atıklar sebebiyle çok miktarda kimyasal kirleticilerle kirlenir. Deniz ekosistemlerinde en yaygın olarak bir arada görülen kirleticiler; yüksek teknoloji ve endüstriyel gelişimin bir sonucu olarak karşımıza çıkan poliklorlu bifeniller (PCB), polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), dioksinler ve alkiltin bileşikler içeren ve hem mutagenik hem de karsinogenik etkileri nedeniyle akuatik çevre için şiddetli tehdit unsuru olan kimyasallardır. (Arınç ve Şen, 1994; Garrigues ve ark, 1993). Deniz ekosistemlerinde bugün 60.000 civarında farklı kimyasal kirletici olduğu ve son 15 yıldır PAH ve PCB bileşiklerinin çevre kirleticisi olarak dikkate değer biçimde arttığı bildirilmiştir (Arınç ve Şen,1999).

Organik bileşikli atık sular, genelde poliklorlu bifeniller, heksaklorobenzen ve klorlu hidrokarbonlar içerir. Bunlar tarımda özellikle DDT izomerleri ve metabolitleri olarak kullanılırlar. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, ham petrolden veya rafine petrolden yada bu kaynakların yanması ile açığa çıkan önemli kirleticilerdendir (Chung ve ark, 2001).

Genelde kirleticilerin düşük konsantrasyonlarında, fizyolojik hasardan önce çok duyarlı bir sistem olan MFO (karışık fonksiyonlu oksidasyon sistemleri) aktivitesinde değişim beklenen bir durum olduğu için, balıklarda indüklenmiş sitokrom P-450IA, monooksijenazlar, arilhidrokarbon hidroksilaz (AHH) ve 7-ethoksiresorufin O-deetilaz (EROD) aktiviteleri ölçümü, çevresel kirliliğin biyokimyasal monitörü olarak kullanılır (Arınç ve Şen, 1999; Garrigues ve ark., 1993).

Suda çözünen bileşiklere göre nisbeten suda çözünmeyen kimyasalların biyotransformasyonu, bu kimyasalların detoksifikasyonu ve atılımı için gereklidir (Arınç ve Şen, 1994). Kirliliğe maruz kalan organizmalar genelde kirleticiyi

metabolize ederek zararı minimize etme girişiminde bulunurlar. Koruyucu mekanizma çoğunlukla enzim aktivitesindeki değişimleri kapsar (Cheung ve ark, 2001).

Biyotransformasyondaki ilk adım, genelde oksidatif basamaktır ve mikrozomal sitokrom P-450 (CP450)'nin üyesi olduğu karma fonksiyonlu oksidaz (MFO) sistemi tarafından katalizlenir. Faz I metabolizma olan bu reaksiyonu Faz II metabolizma enzimleri takip eder ve ksenobiyotiklerin oksijenli grupları transferaz enzimleri tarafından glukuronat, sülfat ve glutatyonla konjugatlar oluşturularak polar ve suda çözünür ürünler şeklinde safra veya idrar ile atılımı sağlanır (Arınç ve Şen, 1994). Transferaz enzimleri DNA gibi önemli makromoleküler hücresel yapılara elektrofilik bileşiklerin kovalent bağlanma ihtimalini de düşürücü yönde rol alır (Cheung ve ark, 2001). Aerobik yaşamın normal bir bağlamı olan oksidatif reaksiyonlar sonucunda organik bileşiklerde (DNA, proteinler, karbonhidratlar ve lipidler) yapısal hasarlar meydana gelir. Bu yüzden reaktif oksijen türevlerinin (ROT) kötü bir sonucu olan oksidatif hasara “oksidatif stres” adı verilir. Ksenobiyotiklerin metabolizması sonucu fazlaca reaktif oksijen türevleri (ROT) oluşur ve kronik çevresel kirlilik nedeniyle akuatik organizmalar genelde aşırı oksidatif strese maruz kalır (Orbea ve ark, 2000).

Oksidanların üretilmesi ve giderilmesi arasındaki denge bozulduğu zaman oksidatif hasar oluşur ve bu da akuatik canlılarda çevresel kirleticilerin aslında oksidatif stresi arttırdığının göstergesidir (Cheung ve ark, 2001).

Mitokondri, reaktif oksijen türevlerinin (ROT) üretildiği organeldir ve kırmızı kaslar başlıca mitokondri kaynağı olması bakımından önemlidir. Bu yüzden bu doku memelilerde ve kuşlarda reaktif oksijen türevleri (ROT) vericisi olarak dikkate alınır. Çoğu balık türlerinde ise kırmızı kas dokusu azdır ve bununla ilgili olarak diğer dokular; karaciğer, kan, böbrek, hava kesesi, lens ve balık yumurtası daha büyük önem arzeder. Bu bağlamda balıklarda antioksidan savunma, mitokondride ROT üretimden sonra oksijen tüketimi ve/veya varlığına bağlıdır. Bunun oksijen basıncı ile doğrusal bir orantı teşkil ettiği umulmaktadır (Filho,1996).

Balıklar diğer vertebralılardan farklı olarak ya günlük yada mevsimsel ısı ve oksijen değişikliğine maruz kaldıkları için kararsız çevre şartlarına uyum sağlayan metabolizmaya sahiptirler. Bu savunma mekanizması vertebralılarınkinden farklı değildir ve hem enzimatik olan hem de enzimatik olmayan yapıları kapsar. Antioksidan Savunma, superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) üçlü enzim sistemi ve enzimatik olmayan düşük molekül ağırlıklı yapılar olan glutatyon, vitamin A, E, C, karotinler ve ubikinon10'dur. Akuatik organizmalarda türler arasında nicelik açısından farklılıklar olmasına rağmen bu enzimlerin varlığı bilinmektedir (Filho, 1996; Orbea ve ark, 2000). Antioksidan enzimler, hücre homeostazisinde rol oynar. Enzimlerin bu özelliği kirliliğe karşı spesifik bir cevap olarak yansır ve deniz canlılarının bazı türlerinde oksidatif streste kirleticilerin biyobelirteçleri olarak önerilir. Oksidan araçların toksik etkisi ile bu enzimler inhibe olmuş ve DNA zarar görmüşse sistem tamamen bozularak enzimatik inaktivasyon ve lipid peroksidasyonu ile sonuçlanır (Cheung ve ark, 2001).

Oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez olup; hidrojen, karbon, nitrojen ve azot ile birlikte organik moleküllerin temel yapısal atomlarını oluşturur. İlk kez 1954 yılında, oksijenin biyolojik sistemlerde görülen toksik etkilerinden bahsedilmiş ve oksijenin bazı reaktif türlerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Bugün, oksijenin canlılardaki toksik etkisinin "oksijen radikalleri" olarak adlandırılan ve oksijenin metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı bilinmektedir (Yurdakul, 2004). Oksijenin kısmi olarak redüksiyonu sonucu oluşan çeşitli reaktif oksijen türevleri hücre komponentleri için toksik etkiye sahiptir (Hermes_Lima ve ark., 2002). Aerobik yaşamın normal bir bağlamı olan oksidatif reaksiyonlar sonucu meydana gelen reaktif oksijen türevleri, DNA gibi önemli makromoleküler hücresel yapılara kovalent bağlanarak yapısal hasar meydana getirir (Orbea ve ark., 2000).

Hücrelerde oksijen tüketiminin % 1-4'ü mitokondial solunum zinciri reaksiyonunca meydana gelmiş süperoksit radikalleri şeklinde ortaya çıkar (Hermes_Lima ve ark., 2002). Kırmızı kaslar başlıca mitokondri kaynağıdır ve bu

yüzden bu doku memelilerde ve kuşlarda reaktif oksijen türevleri vericisi olarak değerlendirilir. Balıklarda ise kan, karaciğer ve böbrek vb. kas dokusu dışındaki dokular, ROT vericisi olarak dikkate alınır (Filho, 1996).

Diğer hücrel süperoksit radikalleri ise; fagosit plazma membranındaki NADPH oksidaz ile ksantin oksidaz, aldehit oksidaz gibi enzimlerin aktivitesi ve küçük moleküllerin otooksidasyonu sonucu oluşan süperoksit radikalleridir (Hermes_Lima ve ark., 2002).

1.1. Denizlerde Kirlenme

Su tüm canlılar için vazgeçilmez bir besin maddesidir. Dünyanın $\frac{3}{4}$ 'ünün sudan oluştuğu bilinmektedir. Katı, sıvı ve buhar halinde bulunan su, güneşin sağladığı enerji ile döngü halindedir. Yeryüzündeki suların % 97'si tuzlu sulardan oluşur (Kaya ve Pirinçci, 1998).

Doğa kendi içinde dinamik bir denge halindedir. İnsanların yeryüzündeki her türlü üretim ve tüketim faaliyetleri sonucunda açığa çıkan madde ve enerjiyi doğaya vermesi, ortamlardaki ekolojik sistem özelliklerini değiştirici yönde zorlamalar oluşturur. Doğal sistemler bu zorlamalara belirli ölçüler içinde direnç gösterirler. Bu direnç ekolojik sistemlerin *taşıma gücü* veya *özümleme kapasitesi* olarak tanımlanır. Dışsal zorlamaların ekolojik sistemlerdeki dinamik dengeleri kalıcı veya geçici olarak değiştirmesi olgusu *Çevre Kirliliği* olarak adlandırılır.

Deniz kirliliği de çevre kirliliğinin bir bileşenidir. Deniz ekosistemleri su kütlesi, taban sedimentleri ile suda ve sedimentlerde yaşayan her türlü canlıyı içerir. Karasal kökenli kirleticiler denizlere kıyıları boyunca ulaşır. Bu nedenle, kirlilik oluşumu öncelikli olarak kıyı ekosistemlerini etkisi altına alır.

Başlıca deniz kirletici olaylar şöyle sıralanabilir:

- Deniz kıyıları boyunca kurulmuş bulunan kent merkezleri ve sanayi tesislerden denize boşaltılan katı ve sıvı atıklar.
- Hava yolu araçları ve nükleer kaynaklardan ileri gelen radyoaktif maddeler ve diğer kirleticiler.
- Denizlerde kurulmuş bulunan platform ve boru hatlarından ileri gelen sızıntılar.
- Gemiler ve diğer deniz araçlarından ileri gelen kirlilik (petrollü karışım ve yağ atıkları, zehirli sıvılar, ambalaj maddeleri, pis sular ve çöpler).
- Tarımsal alanlardan erozyon sonucu ve akarsularla denizlere taşınan toprak ve diğer kirleticiler.

Kıyı bölgelerindeki su kütlelerinde gerçekleşen fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonlar, parçalanabilir kirleticilerin özümsemesi ile sonuçlanır. Parçalanamayan kirleticiler özümseme reaksiyonlarına girmezler (Anonim, 2000).

Kentsel ve endüstriyel yerleşim bölgelerinden hiç bir arıtmadan geçmeksizin, doğrudan deşarj edilen katı ve sıvı atık miktarı, alıcı ortam olarak kullanılan göl, körfez ve koylarımızın doğal özümleme kapasitelerinin çok üzerinde olduğundan, bu bölgelerimizdeki ekolojik dengeler hızla bozularak kirlenme problemlerini yaratırlar (Atay ve Pulatsü, 2000).

Kıyı bölgesi suları sürekli olarak açık denizle alış-veriş halindedir. Bir yandan karasal kaynaklardan gelen yükler özümseirken, diğer yandan da açık denizle su alış-verişi ile kirletici konsantrasyonlarının azalması gerçekleşir.

Türkiye'yi çevreleyen denizlerden her birisi, diğer deniz havzalarından az veya çok izole olmuş durumdadırlar. Marmara ve Karadeniz arasındaki bağlantı, dar İstanbul Boğazı ile büyük çapta kısıtlanmıştır. Ege Denizi ile Marmara Denizi arasındaki bağlantı da, aynı şekilde büyük kısıtlama oluşturmaktadır. Ege Denizi ile

Akdeniz arasındaki bağlantı ise Ege Denizindeki adalarla Akdeniz'in diğer bölümlerinden ayrılmasına sebep olmaktadır. Bu kısıtlamalar, deniz kesimleri arasındaki su alış-verişini geniş çapta etkilediğinden, bu kesimlere deşarj edilen atıkların seyreltilmesi ve uzaklaştırılması olanakları da global olarak kısıtlanmış olmaktadır. Bu kısıtlamanın yarattığı diğer bir etki de, su kütleleri arasındaki düşey karışımın (özellikle tabakalı yapılara sahip olan Karadeniz ve Marmara'da) belirli bir derinlikten sonra durmasıdır. Bu durum da kirleticilerin büyük bir bölümünün belirli tabakalarda kalmasına ve konsantrasyonlarının bu tabakalarda göreceli olarak artmasına sebep olmaktadır (Anonim, 2000).

Yüzey balıklarından olan istavrit, göçmen bir balık olup büyük sürüler halinde yazın sahillerde, kışın 20-500 m derinlikte ortalama 9,5 °C de yaşar. Sirküle konan boy yasağı 13 cm (toplam boy)'dir (Yücel ve Erkoyuncu, 2000). Beslenme şekli karnivor olup crustesea, balık larvaları ve yavruları temel gıdasıdır (Atay ve Bekcan, 2000). İstavrit orta yağlı (%1,72) yüksek protein (%22,1) içeren balıklardandır (Şengör ve ark., 2000). Üreme döemi, Mayıs-Temmuz'dur. Çinekop, lüferin 15-18 cm boyundaki ismidir. 10-200 m derinlikte yaşar (Anonim, 2001). Göçmen balıklardan olan Lüfer, kışları ılık sularda (Marmara) yazları Karadeniz'de yaşar. Çinekoplar Eylül ayı ortasından itibaren Marmaraya geçer (Atay ve Bekcan, 2000). Uzun ömürlü (9-10 yaş) karnivor balıklardan olup üreme periyodu Nisan-Haziran ayları arasındadır (Anonim 2004). Yağlı (% 4,15) ve yüksek protein içeren bir balık türüdür (İmre ve Sağlık, 1998).

Hayvansal protein kaynağı olarak, hem kolay hem de en ucuz sağlanabilen besinlerin başında su ürünleri gelmektedir. Özellikle balık eti insanlar için besleme değeri ve protein kalitesi bakımından çok önemli bir yere sahiptir. İnsanların deniz ve tatlısu ürünlerine ve kirlenmemiş yiyeceklere ihtiyacının giderek artmasıyla çevre kirliliği ve en önemli bileşenlerinden olan deniz kirliliği önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Çevre kirliliği nedeniyle biyolojik zenginliklerimiz tehlike altına girmekte ve bazı türlerin nesli tükenme aşamasına gelmektedir. Kirliliğin boyutları denizlerimizdeki canlı yaşamı etkilediği gibi insan sağlığını da tehdit eder durumdadır (Atay ve Pulatsü, 2000).

1.1.1. Karadeniz:

Karadeniz son yıllarda birçok olumsuz koşulun kısa sürede bir araya gelmesi sonucunda ekolojik değişim gösteren bir denizdir. Yüzey sularında özellikle 1987 yılından itibaren artan oranda etkisini gösteren olumsuz faktörlerden en önemlisi Tuna nehir girdilerinden dolayı meydana gelen aşırı organik yük ve bu süreçte tankerlerin basalt suları ile taşındığı idda edilen *Mnemiopsis leidyi* adlı istilacı (ktenoforum) türün Karadeniz’de aşırı çoğalmasındır. Karadeniz ortamına da yabancı bir tür olan *Mnemiopsis leidyi*, hamsinin ana besini olan copepodlara ortak olduğu gibi, su yüzeyinde hamsi balığı yumurtalarını da tüketerek, hamsi üretimini olumsuz yönde etkilemiştir.

Ekolojik sistemde olan değişikliklerden dolayı besin zincirinin doğal döngüsü de bozulur ve birbiri üzerinden besleme (detrital) sistemi, bakterilerin yoğun olduğu ve organik parçalanma sonucunda aşırı oksijen tüketen (detritus) bir sisteme doğru kayar (Atay ve Pulatsü, 2000).

Yarı kapalı deniz olarak tanımlanan Karadeniz, 40° 51’ ve 46° 32’ kuzey boylamları ile 27° 27’ ve 41° 42’ doğu enlemleri arasında bulunur. Doğu-batı doğrultusundaki maksimum uzunluğu 1200 km, kuzey-güney yöndeki maksimum genişliği ise 600 km kadardır. Yüzölçümü 422.189 km² olup, toplam hacmi 536.969 km³dür. Bu hacmin % 87’si derin oksijensiz sulardan oluşur. Ortalama derinlik 1272 m olmakla birlikte 2000m’yi aşan alanlar, tüm basenin % 37.2’sini kapsar (Anonim, 2001). Karadeniz Türkiye’yi çevreleyen denizler içinde ortalama derinliği açısından en derin su havzasıdır (Atay ve Pulatsü, 2000).

Karadeniz’in suları genelde az tuzludur, yüzey sularının tuzluluğu % 0,18-19 arasındadır. Karadeniz’in tuzluluğu 100 m’den sonra artmaya başlar. 200 m’de % 0,22’ye ulaşır ve tabana kadar da % 0,22 değerini sabit bir biçimde korur. Bu tuzluluk tabakalaşmasından kaynaklanan çok stabil yoğunluk tabakalaşması, çok farklı özellikler taşıyan yüzey suları ile dip sularının birbiriyle karışmasını engeller.

Yaz aylarında yüzey suyu sıcaklıkları 21-24°C arasında değişir. Kış aylarında ise güneydoğu kesiminde ortalama 12-13°C olan sıcaklıklar, kuzeybatıda 2°C'ye kadar düşer (Anonim, 2000). Yüzey suyu sıcaklığı genellikle bu bölgenin kıyısal kesimlerinin hava sıcaklığından biraz daha yüksektir (Atay, Pulatsü, 2000). Yaklaşık 100 m derinlikten tabana kadar sıcaklık yıl boyunca 8.9°C olarak sabit kalır.

Karadeniz, güney batısındaki İstanbul Boğazı üzerinden Marmara, Çanakkale Boğazı ve Ege aracılığıyla da Akdeniz'e bağlanır. Bol yağış az buharlaşma ve karasal tatlı su girdilerinin fazlalığı sebebiyle, Karadeniz'de yüzey sularında su bütçesi her zaman fazlalık göstermekte, bu sebeple yüzey suları İstanbul Boğazı yoluyla Marmara Deniz'ine akmaktadır. Boğazdaki ters akıntı sistemi ise Akdeniz'in tuzlu sularını Karadeniz'in dip basenine taşımaktadır (Anonim, 2000).

İstanbul Boğazı yoluyla Akdeniz'den gelen 8-10 mg oksijen içeren suların, debilerinin oldukça düşük oluşu nedeni ile, derin sulara eklenen oksijen miktarı, bu kesimlere giren organik maddenin parçalanması için gerekli olan oksijeni dengelemeye yetmez (Atay ve Pulatsü, 2000; Anonim, 2000). Son yıllarda Marmara Deniz'inde görülen çözülmüş oksijen azalması Karadeniz'e bu yolla olan oksijen girdisini daha da azaltmıştır. Karadeniz'in göreceli olarak verimli bir bölge olması sebebiyle, fotosentetik tabakanın altındaki derinliklerde var olan oksijensiz sular biyojenik kökenlidir. Biyolojik parçalanmada oksijen kaynağı olarak sülfat kullanıldığından, dip basen indirgenmiş hidrojen sülfürlü sularla kaplanmıştır ve bu anoksik dip sularında birçok canlı türü için yaşam söz konusu değildir (Anonim, 2000). Oksijenli yüzey suları ile anoksik dip suları arasında bir geçit tabakası bulunmaktadır. Bu tabakada oksijen bulunmadığı gibi hidrojen sülfür oluşumuna ilişkin bir kanıtta yoktur (Atay ve Pulatsü, 2000).

Karadeniz'de çözülmüş oksijen konsantrasyonu yaklaşık olarak yüzeydeki 50 m içinde mevsimsel değişim göstermektedir. Tam yüzeyde çözülmüş oksijen konsantrasyonu, doygunluk değerine yakındır. Özellikle ilkbahar aylarında fotosentetik aktivitenin (birincil üretimin) artması sonucunda ortaya çıkan

fitoplankton patlaması nedeniyle 10-50 m arasında, 12 mg/l'ye kadar ulaşan yüksek değerlere çıkar. Yine sonbahar aylarında küçük çaptaki fitoplankton patlaması ile çözülmüş oksijen konsantrasyonu yükselmektedir. Kış aylarında hava koşullarının neden olduğu düşey fiziksel karışımlardan dolayı ilk 50 m içinde homojen bir dağılım göstermektedir. Yazın, yüzey sularında çözülmüş oksijen konsantrasyonu oksijen doygunluk değerlerinden daha düşüktür. Oksijence zengin tabakaların altında ise, konsantrasyon hızla azalır ve 100 m derinliğe varmadan önce 2 mg/l'ye kadar düştüğü görülür. Oksijen konsantrasyonundaki azalış, artan derinlikte devam eder ve belirli bir derinlikte sıfıra ulaşır. Bu derinlikten sonraki geçiş tabakasında bakteriler öncelikli olarak nitratı oksijen kaynağı olarak kullanırlar. Ortalama 150. m'nin altında H₂S görülmeye başlar ve konsantrasyonu derinliğe bağlı olarak artarak, 900 m'lerde 9-10 mg/l'ye kadar ulaşır (Anonim, 2000).

Yüzey sularının pH'sı diğer denizlere benzer şekilde 8.2 ile 8.5 arasındadır. Oksijensiz sulardaki organik parçalanma CO₂ konsantrasyonunun artmasına neden olmakta ve pH düşmektedir. 500 m'nin altındaki sularda ise asidik hidrojen sülfürün varlığına karşın, pH 7.5'in altına düşmemektedir (Atay ve Pulatsü, 2000).

Karadeniz makro besinler bakımından oldukça zengin bir denizdir. Yüzey sularındaki inorganik fosfat konsantrasyonu 3.5-17.5 µg/l, dip sulardaki 175-225 µg/l olarak verilmiştir. Bunun sebebi, yüksek düzeydeki birincil üretim ve bu şekilde oluşan organik maddenin remineralize olması sonucunda inorganik fosforun dip sularında birikimidir. Dip sularındaki yüksek inorganik fosfat konsantrasyonuna diğer bir açıklama ise, demir ve manganezin oksijenli sularda meydana getirdiği partiküler haldeki fosforlu bileşiklerin oksijensiz ortama geçtiklerinde çözünmeleri ve hem demirin hem de manganezin indirgenmiş ve iyonik hallerini meydana getirmeleri sebebiyle, inorganik fosforun açığa çıkmasıdır. Bu işlemin organik parçalanmayla ilgisi yoktur (Anonim, 2000).

Her ne kadar besin tuzları deniz canlıları için temel gıda olsalar da, aşırı artış organik kirlenmeye yol açmakta ve bir dizi sorunlar ortaya çıkartmaktadır. Yüzey sularındaki aşırı yük canlı yaşam için vazgeçilmez olan güneş ışınlarının derinlere

sızmasını engellemektedir. Karadeniz'de derinlere ışık sızması uzun süreli olarak azalmıştır. Deniz suyunda ışık yayılmasının azalması ekonomik değeri bulunan sığ su yosunu stoklarında %95 azalmaya neden olmuştur. Derin sularda çökmeye ve parçalanmaya başlayan organik maddeler denizin 150-200 m den daha derin kısımlarında oksijensizlik durumu ortaya çıkartır. Bu koşullar altında organik maddeler, nitrat ve sülfatlardaki oksijen bağlarını kullanarak daha ileri aşamalarda parçalanmakta ve bundan sonraki kimyasal indirgenme hidrojen sülfür oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Hidrojen sülfür, Karadeniz'in su kütlelerinin %90'ını kirletmektedir (Atay ve Pulatsü, 2000).

Oksijenli ve oksijensiz suların derinlik boyunca kesin bir biçimde ayrılması, ortamın redoks potansiyelini etkilemektedir. Redoks potansiyeli yüzey sularında pozitif değerlerden, bu tabaka geçişinde hızla negatif değerlere doğru değişmektedir. Bu değişim eser metallerin derinlik boyunca dağılımını etkilemektedir. Partiküler haldeki demir ve manganez konsantrasyonları, oksijenli tabakanın alt sınırına doğru maksimuma ulaşır. Ancak redoks potansiyelinin negatif olduğu hidrojen sülfürlü sulara geçildiğinde bu elementlerin çözülmüş ve indirgenmiş şekilleri açığa çıkar. Sülfür ve karbonatlar şeklinde çökmeleri nedeniyle toplam indirgenmiş demir ve manganez konsantrasyonları oksijensiz dip sularda oldukça yüksektir. Çözülmüş çinko ve bakır ise oksijenli tabakada yüksek konsantrasyonlarda bulunmakta ve bu elementler dip sulara geçtiğinde bu metallerin sülfürleri şeklinde çökmektedir (Anonim, 2000).

Batı Karadeniz bölgesinde kıyıdan 100 m açıktan alınan deniz suyu örneklerinde demir miktarı 0,03-1,40 mg/l arasında, 500 m açıktan alınan örneklerde ise 0,01-0,90 mg/l arasında bulunmuştur. Buna göre demir kıyıdaki örneklerde tolere değerin (0,7 mg/l) üzerinde bulunmuş, açığa gidildikçe de düşüş göstermiştir (Atay ve Pulatsü, 2000).

Karadeniz'de organizmada birikim yapan kirleticilerin seviyeleri hakkında bilgiler sınırlıdır. Balık örneklerinde analizlenen klorlu hidrokarbonlara ait verilere göre, DDT türevleri, BHC izomerleri, dieldrin, aldrin ve endrin ölçülmüş ve

konsantrasyonlar sırayla 0.281, 0.074, 0.032, 0.013, 0.009 ppm olarak verilmiştir. Klorlu hidrokarbon konsantrasyonları, bölgelere göre değişim göstermemiş ancak konsantrasyonlar bağıl olarak yaz aylarında yüksek bulunmuştur. Karadeniz yüzey suları İstanbul Boğazı'na girdikten sonra şehrin atıkları ve yoğun deniz trafiği sebebiyle petrol kirleticilerini beraberinde Marmara Denizi'ne taşırlar. Yüzey tabakasında petrol hidrokarbonu konsantrasyonu deniz suyu sıcaklığı arttığında azalmaktadır (Anonim, 2000).

Karadeniz'de 163 balık türü yaşamaktadır ancak bunlardan ekonomik açıdan sadece birkaçı önemlidir. Üretimin % 90'nını oluşturan ekonomik açıdan önemli 9 tür balık; hamsi, sarıkanat istavrit, kolyoz, torik, mezgit, sardalya, lüfer, tekir ve kefaldir fakat Karadeniz ekolojisinin değişmesi sonucu hamsi, sarıkanat istavrit, torik, sardalya, karagöz istavrit ve lüferin yakalanması 1987-1996 yıllarında düşmüştür (Çelikkale ve ark., 1998).

Karadeniz'de birçok balık türünün üreme ve beslenme alanlarını kaybetmelerinin nedeni, makrofitik popülasyonlar veya onların besin zincirinin kopuşudur. 1970 başlarından beri kuzeybatı Karadeniz'de ekonomik olarak önemli olan balıkların bir çoğunda azalma gözlenmiştir. Torik, uskumru ve lüfer stokları çok azalmış, Karadeniz kalkanı, pisi balığı ve hortumlu dil balığının yumurtlama alanları deniz kirliliği sonucunda tahrip olmuştur. Karadeniz'de 1960'lara kadar 26 balık türü yakalanırken bu sayı 1980'lerde 6'ya düşmüştür (Atay ve Pulatsü, 2000).

1.1.2. Marmara Denizi:

Marmara Denizi, tümüyle Türkiye sınırları içinde yer alan bir iç deniz özelliği taşımaktadır. Topoğrafik ve hidroğrafik özellikleri, bu denizin dinamiği ve sağlığı üzerinde önemli rol oynamaktadır. Marmara Denizi'ni Ege ve Karadeniz'e bağlayan iki önemli su yolundan birisi İstanbul Boğazı (uzunluğu 30 km, genişliği 0.7-3.5 km, derinliği 30-110 m), diğeri ise Çanakkale Boğazı'dır (uzunluğu 60 km, genişliği 1.3-7.0 km, ortalama derinliği 55 m).

Toplam 11.350 km²'lik bir alana ve 3378 km³'lük bir hacime sahip olan Marmara Denizi, güneyde kısmen sığ olan geniş bir sahanlık bölgeyle, kuzeyde derinlikleri doğudan batıya doğru sırayla 1152 m (Tekirdağ Baseni), 1265 m (Orta Marmara Baseni) ve 1097 m (İstanbul Baseni) olan bir seri depresyonla sınırlanmıştır. Bu çukurlar 600-700m derinliğe sahip eşiklerle birbirinden ayrılmışlardır (Anonim, 2000). Marmara Denizi bu günkü durumunu son 5000 yıldır devam ettiren bir iç denizimizdir (Atay ve Pulatsü, 2000).

Karadeniz ve Ege kökenli sular boğazlarda olduğu gibi Marmara'da da belirgin iki tabaka meydana getirir. Marmara Denizi'nde mevsimsel bir sıcaklık tabakalaşması gözlenmektedir. Bunun yanısıra Karadeniz kökenli az tuzlu (%0,16-0,18) yüzey sularının ve Ege kökenli tuzlu (%0,38-0,39) alt tabaka sularının meydana getirdiği sürekli yoğunluk tabakalaşmasının (piknoklin) varlığı, Marmara'da alt ve üst tabakaların karışımını sınırlamakta ve birbirinden oldukça farklı özelliklere sahip iki tabakanın oluşumuna neden olmaktadır. Bu konumuyla Marmara, Ege ve Karadeniz arasında bir geçiş bölgesi özelliği sergilemektedir (Anonim, 2000; Atay ve Pulatsü, 2000).

Marmara Denizi, bir yandan İstanbul Metropolü, İzmit Körfezi, Tekirdağ ve Gemlik Körfezi etrafındaki yoğun yerleşim ve sanayileşmenin diğer yandan da bu denize akan akarsuların önemli çevresel baskıları altındadır (Atay ve Pulatsü, 2000).

Denizlerde son yıllarda kirlenmenin gün geçtikçe ve büyük bir hızla ilerlediği en tehlikeli bölge, Marmara Denizi olmuştur. Bu denizimizin atıklarda seyrelmeyi ve doğal arıtmayı sağlamaya yetecek ölçüde su alış-verişine sahip olmaması ve mevcut akıntı ve karışım hareketlerinin yeterli seyrelmeyi sağlayamaması, Marmara Denizi biyolojik alanının darılmasına ve ekolojinin zarar görmesinin devam edeceği anlamını taşımaktadır. Marmara Denizi'ndeki sürekli yoğunluk tabakalaşmasının varlığı kirleticilerin, makro besinlerin ve buna bağlı olarak birincil üretimin yer ve zaman içinde değişmesinde ve doğal çevrimlerinde önemli rol oynamaktadır (Anonim, 2000).

Marmara'da 25-30 m'nin altında kalan alt tabaka sularının oksijen doygunluğu % 20-30 civarında olması, bu suların oksijenden yetersiz olduğunu göstermektedir. Bu değerin hiçbir zaman % 50 doygunluk değeri üzerine çıkmaması bu tabaka içerisine üst tabakalardan çöken organik maddenin parçalanması için gereken oksijenin karşılanamadığının belirgin bir göstergesidir (Atay ve Pulatsü, 2000).

Doğu dip suları, organik madde açısından üç ayrı kaynağın etkisi altındadır. Bunlar sırasıyla Karadeniz'den, Marmara'nın kendi biyolojik üretiminden ve kentsel-endüstriyel yerleşim bölgelerinden kaynaklanan organik maddelerdir. Bu nedenle en yoğun oksijen tüketimi bu bölge sularında olmaktadır. Çözünmüş oksijen konsantrasyonundaki bu azalma özellikle 1970'li yıllardan itibaren belirgin bir biçimde görünmektedir. Balık yaşamı için gerekli olan 5 mg/l konsantrasyon sınırının yaklaşık 45 m derinliğe kadar ulaştığı bilinmesine karşın 1983 yılından bu yana 25 m'den daha derin suların pek çok deniz canlısı için yaşanamayacak duruma geldiği ortaya çıkmaktadır (Anonim, 2000).

Marmara Denizi'nin değişik bölgelerinden toplanan midyelerde yapılan civa analizi sonuçlarına göre, en yoğun civa kirliliğinin İzmit Körfezi (0,56 mg Hg/kg) ve Haliç'te (0,50-0,06 mg Hg/kg) olduğu tesbit edilmiştir. En az civa kirliliği ise Erdek (0,06 mg Hg/kg) ve Bandırma (0,10 mg Hg/kg) Körfezi'ndedir (Atay ve Pulatsü, 2000).

İstanbul Boğazı Karadeniz ağzında ortalama 17 ng/l olarak bulunan civa değeri kullanılarak yapılan hesaplamalarla, Marmara Denizi'ne Boğaz kanalıyla olan yıllık toplam civa akışının yaklaşık 10 ton olduğu tesbit edilmiştir. Bu miktar kara kaynaklı deşarjlardan kaynaklanan toplam civa deşarjının (2 ton/yıl) oldukça üzerindedir. Karadeniz'den kaynaklanan kirlenici yükü, Marmara Denizi'nin kirlenmesinde oldukça önemli role sahiptir.

Her türlü deniz taşıma araçlarının sintine ve basalt sularından, rafineri ve petrokimya komplekslerinin atık sularından, petrol dolun ve boşaltım tesislerinden ve tanker trafiğinden kaynaklanan petrol kirliliği denizlerdeki besin zincirinin tüm halkaları üzerinde önemli etkilere sahiptir. İstanbul Boğazı ağzında yapılan çalışmalar bu bölge içindeki petrol hidrokarbonların dağılımları Boğaz yüzey suyunun hareket yönüne ve yüzey suyu sıcaklığına bağlı olarak mevsimsel farklılıklar göstermektedir. Bir diğer özellik de, Marmara Denizi derin çukurları boyunca ölçülen PAH miktarlarının diğer bölgelere oranla (körfezler hariç) her mevsim daima yüksek bulunmasıdır. Bu bölge suları deniz trafiğinin çok yoğun olması sebebiyle geçen gemilerin sintine sularından en fazla etkilenen bölgedir (Anonim, 2000).

Marmara Denizi'nde 1986 döneminden beri ciddi boyutlara ulaşan bir ötrofikasyon (besin maddeleri artışı) olayı yaşanmaktadır. Marmara sularına bırakılan organik kökenli atıklar, bazı balık türlerinin bu su kütesinden uzaklaşmasına veya kaybolmasına yol açmış, buna karşın organik atıklardan yararlanan ve kirli sulardan etkilenmeyen başta bazı algler olmak üzere belirli türlerde kütleli artışa neden olmuştur (Atay ve Pulatsü, 2000).

1987 ağustos dönemi yapılan bir çalışmada, tüm Marmara ortalaması 1.15 µg/l olan PAH miktarı, İstanbul Boğazı'nın Karadeniz ağzında 0.65 µg/l, Boğaz boyunca ise 0.59 µg/l olarak bulunmuştur. Büyük Çekmece, Yalova ve Boğaz'ın Marmara ağzı içinde kalan bölgede ise 1.47 µg/l'ye yükseldiği bildirilmiştir. Buradan bu bölge içinde mevcut yoğun demirleme, yükleme ve boşaltma gibi liman faaliyetlerinin önemli petrol kirliliği yarattığı görülmektedir (Anonim, 2000).

Marmara sularında yaşayan 200 balık türünden sadece birkaç tür ekonomik açıdan öneme sahiptir (Çelikkale ve ark., 1998). Marmara Denizi 1960'lardan beri, gerek endüstriyel gerekse evsel atıklarla kirlenmesi sonucunda Marmara genelinde 125 tür balık avlanırken bu türlerden pek çoğu bozulan ortam şartlarının etkisiyle yıldan yıla kaybolmuştur. Buna karşılık direnç gösterebilen birkaç tür artış göstermiş, böylece toplam su ürünleri üretiminde belirgin bir azalma olmamıştır. Direnç

gösterebilen türler; istavrit, lüfer, kolyoz, kefal ve mezgit olmuştur. Hemen hemen tümü ile kaybolan türler ise uskumru, kılıç, gümüş balığı, gelincik balığı, dülger balığı, isrongiloz balığı, akya, hani ve yazılı hani balığıdır (Atay ve Pulatsü, 2000).

1.2. Serbest Radikaller

Radikaller, dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron içeren kimyasal türlerdir. Her türden kimyasal ve biyokimyasal tepkime daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar seviyesinde gerçekleşir. Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir. İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. hücrel koşullarda da ciddi bir miktar ve çeşitlilikte radikal üretilmektedir (Yurdakul, 2004).

Çizelge 1.1. Serbest radikal kaynakları (Anonim, 2003).

Endojen Kaynaklar	Mitokondrial elektron transport zinciri
	Endoplazmik retikulum
	Redoks döngüsü
	Araşidonik asit metabolizması
	Fagositik hücreler (monosit, makrofajlar, nötrofil, eozinofil) ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar
	Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz gibi oksidan enzimler
	Otooksidasyon reaksiyonları
Eksojen Kaynaklar	Diyet faktörleri
	Çevresel faktörler
	İlaçlar

Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron taransferi enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur ama eğer zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olur (Gümrükçüoğlu, 2003; Yalçın, 2002). Reaktif türevler ile makromoleküller (protein, DNA, lipid, karbohidrat) arasındaki etkileşimler reversibl ve irreversibl oksidatif modifikasyonlarla sonuçlanabilir. Bu olaya “Oksidatif Stres” adı verilir (Yurdakul, 2004; Yalçın, 2002; Hermes_Lima ve ark., 2002; Filho ve ark., 2001; Storey, 1996; Winston, 1991).

1.3. Reaktif Oksijen Türevleri ve Diğer Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma Sistemleri

Normal fizyolojik koşullarda, hücreler oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu sistemler şu şekilde sınıflandırılabilir.

A) Enzimatik Antioksidanlar:

1) Öncelikli olanlar:

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Katalaz (CAT)

Selenyum bağımlı Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Glutatyon-S-Transferaz (GST)

Glutatyon Redüktaz (GR)

2) İlişkili olanlar:

NADPH-Kinon Oksidoredüktaz

Epoksit Hidrolaz

UDP-Glukronil Transferaz

Sulfonil Transferaz

Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz (G-6-PD)

Fosfoglukonat Dehidrojenaz

B) Enzimatik Olmayan Antioksidanlar:

- 1) Vitamin C
- 2) Vitamin E
- 3) Vitamin A
- 4) Flavinoidler
- 5) Melatonin
- 6) Ürik Asit
- 7) Albümin
- 8) Haptoglobulin
- 9) Sistein
- 10) Seruloplazmin
- 11) Transferrin ve Laktoferrin
- 12) Ferritin
- 13) Oksipurinol
- 14) Ubikinon
- 15) Bilirubin
- 16) Mannitol
- 17) Lipoik asit
- 18) Hemopeksin

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayan antioksidanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir. GSH enzimatik bir antioksidan olmadığı halde hücre içi güçlü bir antioksidan etkiye sahiptir (Filho,1996; Mather_Mihaich ve Giulio, 1986; Hidalgo ve ark., 2002; Pascual ve ark., 2003; Anonim, 2003; Winston,1991; Hermes_Lima ve ark., 2002).

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler:

- 1) Serbest radikal oluşumunun önlenmesi:
 - a) Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki,
 - b) Oksijeni uzaklaştırıcı veya kolantrasyonunu azaltıcı etki,
 - c) Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki.

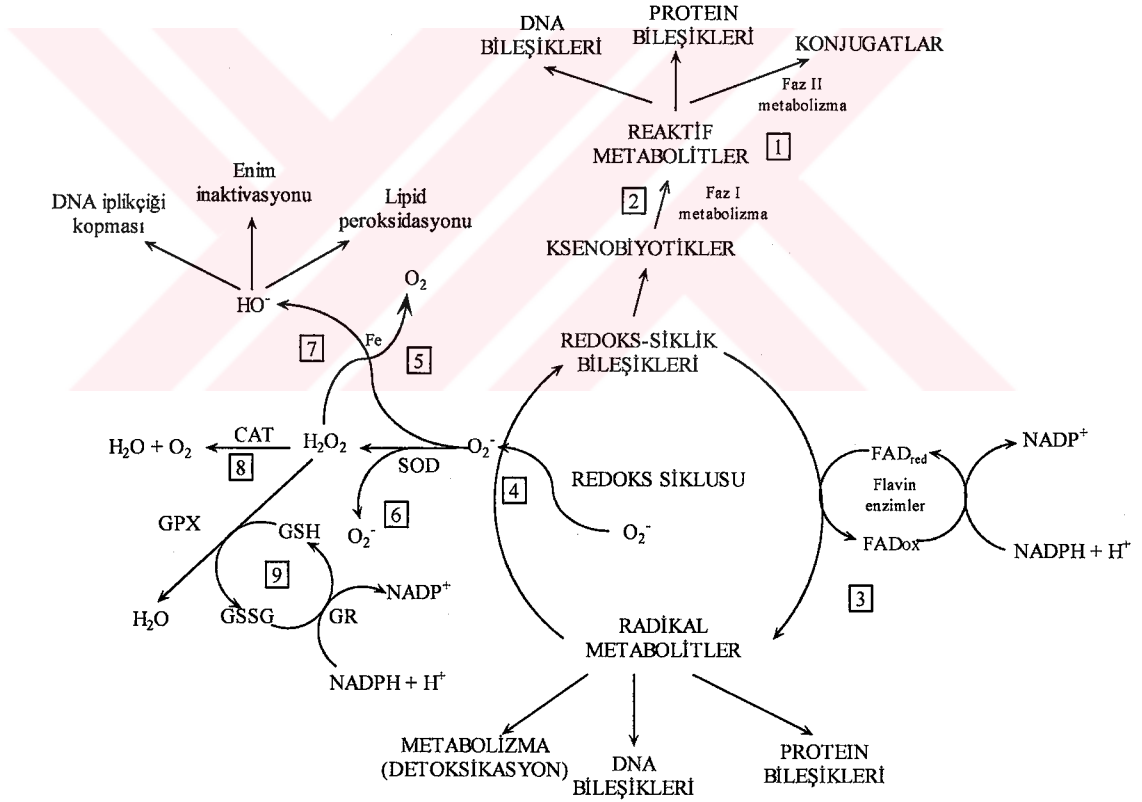
2) Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi:

a) Toplayıcı (scavenging) etki: ROT'lerini etkileyerek onları tutma veya çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme. (Ör: Enzimler.)

b) Bastırıcı (quencher) etki: ROT'leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olma. (Ör: Flavinoitler, vitaminler.)

c) Onarıcı (repair) etki

d) Zincir kırıcı (chain breaking) etki: ROT'lerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki. Hemoglobinin, seruloplazminin, mineraller örnek gösterilebilir (Hermes_Lima ve ark.,2002; Winston,1991; Anonim,2003; Storey,1996; Murray ve ark.,1993).



Şekil 1.1. Ksenobiyotiklerin detoksifikasyon yolları (Anonim, 1999).

1) Faz 1 metabolizma: Reaktif metabolitler ya faz 2 enzimlerince detoksifiye edilir ya da hücre bileşenleri ile reaksiyona girer.

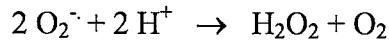
- 2) Faz 1 metabolizması redoks siklusu bileşenleri
- 3) Redoks siklusu ürünleri flavoproteinlerce redüklenir ve radikal metabolitler oluşur
- 4) Siklus tamamlanır ve radikal metabolitler otooksidasyona uğrayarak superoksit anyonu oluşur ve rejenerasyon gerçekleşir
- 5) Demir varlığında superoksit anyonu hidroksil radikaline dönüşür
- 6) Superoksit anyonu SOD tarafından hidrojen peroksit'e dönüştürülür
- 7) Demir varlığında hidrojen peroksit Fonton reaksiyonu sonucu moleküler oksijen ve hidroksil radikaline çevrilir
- 8) Hidrojen peroksit, ya CAT yada GPX tarafından suya dönüştürülür
- 9) Okside glutatyon GR tarafından redükte formuna dönüştürülür

1.3.1. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar:

1.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD):

Süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çeviren reaksiyonu katalizleyen bir metalloenzimdir:

SOD



Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılır. Çünkü, süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki O_2^- Düzeyleri kontrol altında tutulur (Murray ve ark, 1993).

SOD'ın farklı izoenzimleri mevcuttur Cu-Zn SOD iki eşit molekül ağırlıklı subüniteden kurulu olup subünite başına bir atom bakır ve bir atom çinko içerir ve yeri sitosoldür. Bu enzim diğer hücre organellerinde (çekirdek ve lizozom) olduğu gibi peroksimal matriksde de tesbit edilmiştir. Mn-SOD başlıca mitokondrial bir

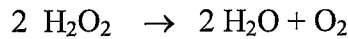
proteindir ve kovalent bağ oluşturmeyen eşit molekül ağırlıklı dört subüniteye sahiptir. Son çalışmalarda peroksimal membranda da lokalize olduğu tesbit edilmiştir. Ayrıca ekstraselüler SOD (Ec-SOD) ve prokaryotik Fe-SOD'da bilinen diğer SOD formlarındandır (Orbea ve ark, 2000).

Sitozolik SOD ve vasküler endotele bağlı bulunan ekstrasellüler SOD'ın kofaktörleri çinko ve bakırdır. (CuZn-SOD) Bu enzimlerin aktivitelerinden bakır, stabilitelelerinden çinko sorumludur. Mitokondrial SOD'ın (Mn-SOD) kofaktörü mangandır (Anonim, 2003). Bütün SOD enzimlerinin katalizlediği reaksiyon aynıdır ve düşük pH da kendiliğinden meydana gelir (Jones ve ark., 1986).

1.3.1.2. Katalaz (CAT):

Katalaz esas olarak peroksizomlarda lokalize ve yapısında 4 "hem" grubu bulunan bir hemoproteindir. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi (H_2O_2) elektron vericisi bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. İn vivo şartlarda peroksidaz aktivitesi tercih edilir. Katalaz, kanda, kemik iliğinde, müköz membranlarda, böbrek ve karaciğerde bulunur fakat enzim aktivitesi dokular ve hücreler arasında farklılık gösterir. Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. Görevi, oksidaz etkisi ile oluşan hidrojen peroksidi (H_2O_2) su (H_2O)'ya ve moleküler oksijen (O_2)'ne parçalamaktır (Murray ve ark, 1993; Orbea ve ark, 2000).

CAT

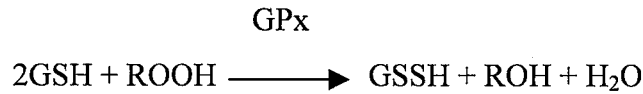


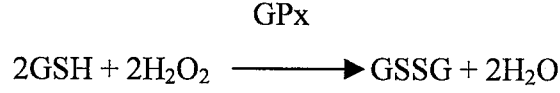
SOD aracılığıyla oluşmuş olan hidrojen peroksit bir radikal olmamasına karşın en reaktif ROT olan HO· Radikalinin öncüsüdür. Bu nedenle birçok

ROT'inden daha fazla oksidatif hasara neden olur. Katalaz hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalar. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksitin yanı sıra metil-, etil-hidroperoksitler gibi küçük molekülü lipid hidroperoksitleri de içine alır (Chung ve ark.,2001).

1.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx):

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük molekülü lipidhidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. Enzimin molekül ağırlığı yaklaşık 84.000 olup bu enzimin herbiri bir atom selenyum kapsayan ve yaklaşık 21.000 mol ağırlıklı 4 alt birimden oluşan tetramerik yapıda bir enzimdir. GSH peroksidaz karaciğer, böbrek, eritrosit, damar endotel tabakası, gözün lensi başta olmak üzere birçok hücrede bulunmaktadır. Selenyum, mitokondrial şişmede koruyucu etkisi olan glutasyon peroksidaz enziminin aktif bölgesinde yer almaktadır. Glutasyon peroksidaz enziminin aktif merkezinde çok nadir bir aminoasit olan selenosistein bulunmaktadır. Selenosisteinde sisteindeki kükürt atomu yerine selenyum girmiştir. Bu ve diğer enzimlerdeki -SeH grubu enzimlere kataliz olayında daha büyük avantaj sağlamaktadır. Karaciğerde en yüksek, kalp, akciğer ve beyinde orta, kasta düşük aktivitede bulunur. Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin detoksifikasyonu için en önemli bir peroksidazdır. Redükte glutasyonu (GSH) okside glutatona (GSSG) dönüştürken hidrojen peroksit suya indirgenerek detoksifiye olmaktadır. Okside glutasyonun redükte glutatona indirgenmesinde gerekli olan $\text{NADPH} + \text{H}^+$ heksos monofosfat döngüsünden elde edilir. Glutasyon peroksidaz'ın katalizlediği reaksiyonlar aşağıda gösterilmektedir (Murray ve ark, 1993; Anonim, 2003; Hermes_Lima ve ark., 2002).

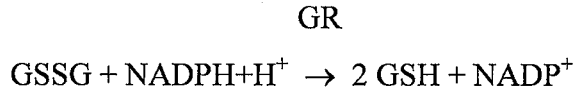




Kırmızı kan hücrelerinde hemoglobinde bulunan demir normal olarak değerli (ferrik) şeklindedir (Fe^{+++}). Fakat hidrojen peroksit tarafından Fe^{++} değerlikli ferros demir haline dönüştürülmektedir. Bu hemoglobin oksijen taşıma kapasitesine sahip değildir. Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksit kullanarak hemoglobinin methemoglobin haline dönüşmesini engellemektedir. İndirgenmiş glutatyon, mitokondri ve mikrozomlarda elektron nakil zinciri üzerinde büyük oranda üretilir (İtegin, 2002).

1.3.1.4. Glutatyon Redüktaz (GR):

Hidrojen peroksidin detoksifikasyonu reaksiyonunda okside formuna dönüşen glutatyonun ileride kullanılmak üzere tekrar redükte GSH'a dönüştürülmesi gereklidir. Çünkü organizmanın glutatyon deposu sınırlıdır. GR, NADPH varlığında glutatyon disülfiti tekrar redükte glutatyona (GSH) çevirir (Hermes_Lima ve ark., 2002).

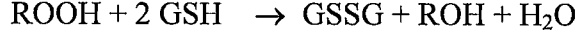


1.3.1.5. Glutatyon-S-Transferaz (GST):

GST'lar iki protein alt biriminden oluşan bir enzim ailesidir. Genel olarak 3 sitozolik ve bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta

araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlere (ROOH) karşı GST'lar Se-bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi gösterirler (Storey, 1996).

GST



Antioksidan aktivitelerine ilaveten çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup hem, bilirubin ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddeleri reversibl olarak bağlayarak bunların hücre içi transportunda görev alırlar. Bazı güçlü alkilleyici ajanlara doğrudan kovalent bağlanarak hücrel proteinler ve makromolekülleri bu ajanların etkisinden korurlar. GST'lar prostaglandin sentezinde de rol oynarlar (Anonim, 2003).

1.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma Sistemleri

1.3.2.1. Glutatyon (GSH):

Önemli bir hücre içi antioksidandır ve hücre dışında çok düşük miktarlarda bulunur. Glutatyon (GSH) her hücrede bulunmaktadır. Glutamik asit, sistein ve glisin amino asitlerinden meydana gelmiş bir tripeptittir. GSH'a antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır. Glutatyon, HO[•] ve singlet O₂ gibi ROT'lerinin temizleyicisidir. Serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bunun dışında proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Demirin Fe⁺² (ferröz) halde tutulmasını sağlar. Böylece, protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller, hatta rejener olmalarını sağlar (Anonim, 2003; Gözükara,1997).

Potansiyel olarak zehirli bazı elektrofilik ksenobiyotikler glutatyon ile konjuge olurlar. Toksik potansiyeli olan ksenobiyotikler GSH ile konjugasyona uğramazlarsa, DNA, RNA veya hücre proteinleri ile kovalan olarak birleşerek

serbest kalırlar ve ciddi hücre hasarına neden olurlar. Bundan dolayı GSH bazı ilaçlar ve karsinojenler gibi çeşitli toksik bileşiklere karşı önemli bir savunma mekanizmasıdır. Glutasyon konjugatları, ekskresyon öncesi daha ileriye metabolize olurlar. Glutamil ve glisinil grupları spesifik enzimler tarafından uzaklaştırılır ve geri kalan sistenil kısmının amino gurubuna bir asetil gurubu eklenir. L-asetil sisteinin konjugatı olan merkapturik asit şeklinde idrarla atılır (Murray ve ark, 1993).

GSH birçok enzimin kofaktörüdür. Tiroid hormon sentezinde rol oynar. Bazı moleküllerin hücre içi taşınmasına aracılık eder. Birçok kimyasalın karaciğerde detoksifikasyonunda rol oynar (Murray ve ark,1993; Gözükara,1997; Anonim, 2003).

1.3.2.2. Vitamin A ve β -Karotin:

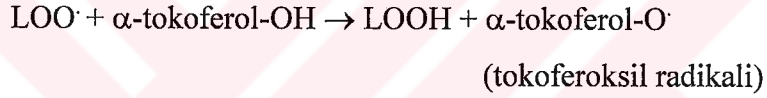
A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karotin son derece güçlü singlet O_2 temizleyicisi olup ayrıca hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleriyle de doğrudan reaksiyon verip lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu önleyebilir. Oksijenin düşük parsiyel basınçlarında serbest peroksit radikallerini dokularda yakalanmasında rol oynayan bir antioksidandır. Beta-Karotin'in bir antioksidan olarak etki gösterebilmesi, bunun konjuge bir alkil yapısında serbest organik peroksit radikallerinin stabilizasyonundan kaynaklanmaktadır. Beta-karotin düşük oksijen düzeylerinde etkili olduğundan daha yüksek oksijen düzeylerinde etkili olan Vitamin E'nin antioksidan etkisini tamamlayıcıdır (Murray ve ark, 1993).

1.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol):

E vitamini tokoferol yapısında olup α , β , γ ve δ olarak dört tipin karışımıdır. α -tokoferol doğal dağılımı en geniş ve biyolojik aktivitesi en fazla olanıdır. Antioksidan etkisi en fazla olanı da α -tokoferoldür. Yapısında bulunan fenolik

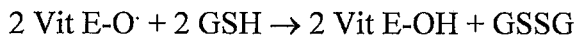
hidroksil gruplu aromatik halka vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır.

En yüksek vitamin E yoğunluğu mitokondri ve mikrozoimler gibi membrandan zengin hücre kısımlarında bulunur. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden koruyucu savunma elemanıdır. Bir molekül vitamin E 100 molekül yağ asidinin peroksidasyonunu önleyebilir. Vitamin E O_2^- , HO^\cdot , singlet O_2 , lipid peroksil (LOO^\cdot) radikallerini ve diğer radikallerin etkilerini önler. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Lipid peroksil radikallerini yıkarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için zincir kırıcı bir antioksidan olarak da bilinir (Murray ve ark., 1993).



Sonuçta oluşan tokoferoksil radikali ($\alpha\text{-tokoferol-O}^\cdot$) stabildir ve kendi kendine lipid peroksidasyonu başlatmak için yeterince reaktif değildir. Glukuronik asitle oksidasyona uğrayarak safra yolu ile atılır.

E vitamini ve GPx serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. GPx oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır, E vitamini sentezlerini engeller. Ayrıca GPx'in yapısına katılan Se^{+2} 'un organizmadan kaybını önler ve enzimi aktif şekilde tutar. E vitamini oksitlendikten sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve GSH tarafından yeniden indirgenebilir (Anonim, 2003).

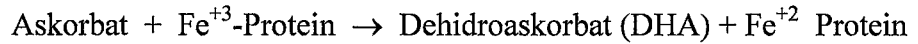


Tokoferol'ün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonunda gerçekleşir ve bu yüzden en yüksek oksijen kısmi basınca maruz kalan lipid yapılarda (eritrosit membranı ve solunum sistemi membranları) tokoferolün yoğunlaştığı bilinmektedir. Alfa-Tokoferol ve Selenyum sinerjik etkileşimleri ile birbirlerine duyulan gereksinimi indirgemekte veya lipid peroksitlerine karşı olan reaksiyonlarda birbirlerini desteklemektedirler (Murray ve ark,1993).

1.3.2.4. Vitamin C (Askorbik Asit):

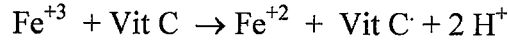
Vitamin C bir ketolaktondur. Suda eriyen vitaminlerdendir. Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan vitamin C süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek etkilerini önler. Askorbik asit moleküler oksijen, nitrat ve sitokrom a,c gibi bileşiklerin indirgenmesini sağlayan bir ajandır (Murray ve ark,1993). Ayrıca, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. Vitamin C, tokoferoksil radikalinin tokoferole redüklenmesini de sağlar. Alfa tokoferoksil radikalini alfa-tokoferol'e indirgediğinden sekonder bir antioksidan etki de gösterir (Wefers ve Sies, 1988). Askorbik asit vitamin E, biyotin, folik asit, pantotenik asit, tiyamin ve riboflavin üzerine koruyucu etki gösterir (Ersoy ve Bayşu, 1986).

C vitamininin antioksidan etkisinin yanında oksidan etkisi de söz konusudur. Çünkü, vitamin C ferrik demiri (Fe^{+3}) ferröz demire (Fe^{+2}) indirgeyen süperoksit dışındaki tek hücrel etkidir.

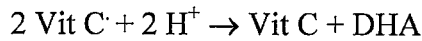


Bu yolla askorbik asit proteine bağlı ferrik demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan indirgeyerek (Fenton reaksiyonu) H_2O_2 ile etkileşmeye uygun olan ferröz demire dönüştürür. Yani O_2^- üretimine katkıda bulunur.

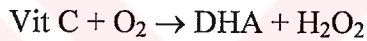
Vitamin C'nin Fe^{+3} ile doğrudan reaksiyonunda C vitamini radikali (Vit C \cdot) de oluşur:



Vit C \cdot Radikali çok reaktif değildir. Ya NADH Redüktaz tarafından indirgenir ya da iki proton alıp serbest radikal reaksiyonlarının ilerlemesini durdurur:



Bundan başka vitamin C oksidasyonundan H_2O_2 de meydana gelebilir (Anonim, 2003).



1.3.2.5. Melatonin:

Melatonin $HO\cdot$ Radikalini temizleyen çok güçlü bir antioksidandır. $HO\cdot$ İle reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür. Bu da ortamdaki $O_2\cdot$ Radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterir. Diğer antioksidanlara göre çok güçlü bir antioksidan olmasının nedenleri:

1. Lipofilik olması nedeniyle hücrenin hemen tüm organellerine, birçok dokuya rahatça girerek geniş bir alanda aktivite gösterir;
2. Hücre çekirdeğine girebilmesi nedeniyle DNA'yı oksidatif hasara karşı korur;
3. Çok yüksek dozlarda ve uzun süreli kullanımında bile toksik bir etkisi yoktur;
4. Prooksidan aktiviteye sahip değildir (Anonim, 2003).

1.4. Ksenobiyotik Metabolizması

Ksenobiyotik, organizmaya yabancı olan bileşik anlamına gelmektedir. Çevre kirliliğine neden olan maddeler, ilaçlar, gıda katkı maddeleri vb. Ksenobiyotik tanımı kapsamına girer. Ksenobiyotik metabolizması iki faz ile karakterizedir.

Faz I 'in temel reaksiyonları; monooksijenazlar yada Sitokrom p-450 türleri olarak adlandırılan enzim sınıfının üyelerince katalizlenen "Hidroksilasyon", "Redüksiyon" ve "Hidroliz"dir. Faz I'de oluşmuş hidroksile veya diğer bileşikler Faz II'de spesifik enzimler aracılığı ile glukuronik asit, sülfat, asetat, glutatyon veya bazı amino asitler ile "Konjugasyon" yada "Metilasyon" uğratılarak çeşitli polar metabolitlere dönüştürülür.

Bu iki fazın amacı; ksenobiyotiklerin sudaki çözünürlüklerini (polarite) arttırmak ve böylece vücuttan atılımlarını kolaylaştırmaktır. Çok hidrofobik özellikte olan bazı ksenobiyotikler, daha polar formlara dönüştürülmezlerse, adipoz dokuda devamlılıklarını sürdürürler.

Bazı durumlarda Faz I metabolik reaksiyonları ile ksenobiyotikler inaktif formdan biyolojik aktif bileşiklere dönüştürülebilir. Bu tür ksenobiyotiklere Prokarsinojenler denir. Faz I reaksiyonları ile aktif forma dönüşmüş ürünler, bizzat konjugasyon reaksiyonları ile daha az aktif veya inaktif yapılara dönüştürülerek idrar yada safrayla atılırlar.

Bazen de konjugasyon öncesi ilave Faz I reaksiyonları sayesinde aktif bileşikler, daha az aktif veya inaktif yapılara dönüştürülürler. Çok nadir de olsa bazen konjugasyon bir ksenobiyotiğin biyolojik aktivitesini arttırabilir (Murray ve ark, 1993).

1.4.1. Karma Fonksiyonlu Oksidasyon Sistemi ve Sitokrom P-450

Sitokrom P-450 enzimleri, hem-tiyolat proteinlerinin büyük bir ailesini teşkil etmekte olup, endojen ve eksojen çok çeşitli bileşiklerin metabolizmasında rol alan enzimlerdir. İlk olarak 1955'de Rat mikrozomlarında keşfedilmiş ve karbon monoksit (CO)'i bağlayan bir pigment olarak 450 nm dalga boyunda en yüksek absorpsiyon vermesiyle tanınmıştır (Donaldson, 2000; Gözükara, 1997). En kompleks monooksijenaz reaksiyonları, sitokrom P-450'nin katıldığı reaksiyonlardır. Bu enzim sistemi üç önemli birimden oluşur. Birincisi NADPH sitokrom P-450 redüktaz, ikincisi farklı formları olan sitokrom P-450 üçüncüsü ise, fosfatidil kolindir. Enzime özgünlük kazandıran molekül ağırlığı 47.000 ile 60.000 dalton arasındadır (Gözükara, 1997; Murray ve ark, 1993).

Sitokrom P-450 (CYP450) monooksijenaz enzim sistemleri (MO) veya diğer adıyla karma fonksiyonlu oksidaz (MFO) sistemi, insandan file kadar bütün memelilerin hücrelerinde yanısıra balıklarda, bitkilerde, mantarlarda ve bakterilerde kısaca yaşayan tüm canlılarda bulunmaktadır (Şen ve Arınç 2000; Snyder, 2000).

Sitokrom P-450 enzimleri hücrelerde başlıca endoplazmik retikulumda lokalize olmuşlardır. En yoğun buldukları organ karaciğerdir fakat mide-bağırsak sistemi, böbrek, akciğer, beyin ve plasentada da bulunduğu bilinmektedir. Genel olarak, tek bir sitokrom P-450 proteini bir tek gen tarafından kodlanır. Çoğu organizma için bu genlerin gerçek sayısı tam olarak bilinmemektedir (Snyder, 2000).

Karma fonksiyonlu oksidaz (MFO) sistemi, pek çok substratı hidrosilasyon ile suda çözünür hale getirerek redükte glutatyona, glukuronik aside ve sülfatlara bağlanarak atılmasını sağlar (Gözükara, 1997). Bu sistemin substratları iki sınıfta toplanır. Endojen substratlar; stroidler, steroid hormonlar, yağ asitleri, vitamin D ve safra asitleridir. Eksojen substratlar; hemen hemen bütün ilaçlar, benzen içeren organik çözücüler, etanol, aseton, belli mantar toksinleri, antibiyotikler, insanlarda kullanılan kemoteropatik ajanlar (bazıları kuvvetli mutageniktir), bitkisel terpenler, epoksitler, antioksidanlar, polisiklik hidrokarbon (benzo-a-pren, bifenil) ve halojenli

hidrokarbon (poliklorinli ve polibromatlı bifeniller) içeren çevre kirleticileridir (Arınç ve Şen, 1993).

Sitokrom P-450 enzimleri “ferrik” demir (+3 değerlikli) ihtiva eden proteilerdir. Substrat önce sitokrom P-450’ye bağlanır sonra NADPH+H⁺’dan veya sitokrom c’den bir elektron gelir ve demir “ferro” (+2 değerlikli) yapıya dönüşür. Daha sonra sisteme bir oksijen molekülü girer ve sitokrom P-450 enzimi, P-450-Substrat- ferro demir-moleküler oksijen kompleksi oluşur, bu sırada sistem bir elektron daha alarak substrat hidroksillenmiş olarak ayrılır ve sistemden bir su molekülü çıkarken enzimin demiri tekrar eski yapısına (ferrik) dönerek yeni bir reaksiyona girmek üzere değişmemiş olarak çıkar (Gözükara, 1997).

1.5. Balıklarda Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Deniz canlılarında, kimyasalların özellikle çevre kirleticilerinin oluşturduğu etkiler çeşitlilik arzettiği kadar balık ve diğer akua türlerinin bu kirleticileri değiştirme (biyotransformasyon), biriktirme (akümülyasyon) ve uzaklaştırma (ekskresyon) yeteneği de oldukça ilginçtir (Şen ve Arınç, 2000).

Deneysel amaçla yapılan bir çalışmada; poliaromatik hidrokarbon karsinojenlerinin balık karaciğerinde tümör oluşturduğu ve monooksijenaz aktivitenin indüklendiği tesbit edilmiştir (Stegeman ve Lech, 1991).

Antioksidan savunma sistemi enzimlerinin deniz ve tatlısu balıkları arasında, karşılaştırılması amaçlanan bir çalışmada; karaciğer ve kan dokusu örneklerinde deniz balıklarının CAT aktivitesi tatlı su balıklarından düşük bulunmuş olup, bunun sebebi denize göre tatlı suyun daha asidik yapıya ve yüksek H₂O₂ konsantrasyonu içermiş olmasına bağlanmıştır. SOD aktivitesi ise, deniz balıklarında tatlı su balıklarına göre daha yüksek bulunması, denizin alkalinitesinin ve süperoksit radikalleri miktarının yüksek olmasına bağlı olarak bu sonuca varıldığı belirtilmiştir (Filho,1996).

PAH bileşiklerinin midyelerde GPx, CAT ve SOD düzeyine olan etkisini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, karaciğer CAT düzeyi düşük bulunmasına karşın GPx ve SOD düzeyleri kirletici miktarına bağlı olarak artmıştır (Cheung ve ark, 2001).

Kuzey Amerika Great Lakes’de yaşayan alabalıklarda organik kirleticilerden TCDD (2,3,7,8 tetraklorodibenzo-p-dioksin) ile kirlenmiş sulardan toplanan balık karaciğer örneklerinde GPx, SOD düzeyleri yüksek, fakat CAT aktivitesi ile vitamin A ve E düzeyleri düşük bulunmuştur (Palace ve ark,1998).

Pasifik Okyanusu’nda yaşayan balık türlerinde su derinliğinin ve ksenobiyotiklerin antioksidan enzim sistemleri üzerine etkisinin araştırılmasına yönelik Janssens ve ark. (2000), yaptığı bir çalışmada; orta düzey derinlikde (200 m) yaşayan balıkların karaciğer GPx ve SOD aktivitesi dipte (1300 m) yaşayan balıklardan daha yüksek bulunmuş olması diptere indikçe oksijen konsantrasyonunun ve ısınının giderek düşmesine bağlanmıştır.

Karadeniz Teknik Üniversitesi tarafından Trabzon’da Kolaylı ve Keha (1999), denize adapte ve tatlı su kültür Gökkuşluğu alabalıklarında antioksidan enzim aktivitelerini ölmüşlerdir. Deniz suyuna adapte olan alabalıkların karaciğer homojenizatlarında ölçülen SOD aktivitesi, tatlı su alabalıklarına göre düşük bulunmuş olup, CAT ve GPx aktivitesi ise, denize adapte olanlarda yüksek bulunmuştur. Denize adapte olanlarda SOD aktivitesinin düşük tesbit edilmiş olması, deniz suyundaki süperoksit radikallerinin tatlı suya oranla daha düşük olduğu ve bu yüzden de CAT ve GPx aktivitelerinin daha yüksek tesbit edildiği belirtilmiştir

Herbivor ve omnivor tatlı su sazanlarının farklı beslenme koşullarının antioksidan enzim düzeylerine etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (Radi ve ark., 1985), herbivorlarda doku örneklerinde GPx ve CAT enzim aktivitesinin omnivora göre daha düşük olduğu tesbit edilmiş, Mn-SOD aktivitesi de aynı şekilde daha düşük bulunmuştur fakat herbivor sazanlarda mitokondrial SOD total

SOD'un % 30-60'ını oluşturduğu için (omnivor sazanlarda Mn-SOD, toplam SOD'un % 10'unu geçmez) total SOD aktivitesi herbivor sazanlarda omnivorlardan daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Her iki grup sazan grup içi karşılaştırıldığında, enzim aktivitelerinde ferdi farklılıklar olduğu fakat aktivitelerin düzeninde benzerlik olduğu gözlenmiştir.

Sazanlara CuSO_4 ve ZnSO_4 uygulanmış ve doku homojenizatlarında antioksidan enzim düzeyleri ölçülmüştür. Bakır sülfat uygulanan grupta, GPx aktivitesi çinko sülfat uygulanan gruptan hafif yüksek bulunmuş olmasının nedeni, bakır sülfatın süperoksit radikal artışına neden olmasıyla açıklanmış ve bu radikallerin de hidrojen peroksit dönüşümlerine bağlanmıştır. Bakır sülfat uygulanan grupta CAT aktivitesinde önemli bir değişikliğin tesbit edilmemesinin nedeni GPx'in aktivite artışı ile hidrojen peroksiti zararsız şekle getirmesi ile açıklanmıştır. Bu grupta SOD aktivitesinde düşüş tesbit edilmesi, bakır sülfatın indüklediği süperoksit radikallerinin SOD tarafından veya kendiliğinden hidrojen peroksit dönüşmesi sonucu enzim aktivitesinde azalmayla açıklanmıştır. Çinko sülfat uygulanan grupta CAT aktivitesinin düşmüş olması, hidrojen peroksit konsantrasyonunun artmasına bağlanmış ve SOD aktivitesinin düzensiz bir artış ve azalma göstermesi çinko sülfatın bakır sülfata göre daha az toksik olması ve bu nedenle yeterli oksidasyon oluşturmaması ile açıklanmıştır. Diğer yandan bu grupta GPx aktivitesi diğer gruba oranla daha düşük olmasına rağmen yine de yüksek değerler içermesi, hücrelerde glutatyon düzeyinin sürdürülmesi açısından glukoz metabolizmasının hızlanması ve buna bağlı olarak da GPx aktivitesinin yükselmesi ile izah edilmiştir (Radi ve Matkovic, 1988).

1.6. Amaç:

Bu çalışmada, ekonomik açıdan yüksek değer taşıyan yüzey balıklarından Çinekop (*Pomotamus saltator*) ve İstavrit (*Trachurus trachurus*) balıklarında antioksidan savunma sistemlerindeki değişim GPx, SOD, CAT enzim aktiviteleri ve

Vitamin A düzeyi ölçülerek denizlerdeki kirlilikten balıkların ne düzeyde etkilendiği ve kirliliğin izlenmesi amaçlanmıştır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Materyal

Araştırmada, Marmara Bölgesi Marmara Ereğlisi açıkları ile Karadeniz Bölgesi Sarıkum açıklarında yakalanan Carancidae familyasına ait İstavrit (*Trachurus trachurus*) ile Pomatomidae familyasına ait Çinekop (*Pomatomus saltator*) balıklar kullanılmıştır.

Örnekler, Marmara Ereğlisi'nin 2.5 mil açığında 41. kuzey enlemi ve 28. doğu boylamları arasında kalan bölgede 25 kulaç derinlikten, Karadeniz'de Sarıkum'un 1.26 mil açığında 42. kuzey enlem ve 34. doğu boylamları arasındaki bölgede 17.4 kulaç derinlikten Gırgır yöntemi kullanılarak Ocak-Mart (1. dönem) ile Ekim-Aralık (2. Dönem) dönemlerinde toplanmıştır.

Her iki bölgeden; her dönem, her bir numune için ortalama 30-40 balığın karaciğerini içeren havuzlar oluşturularak 15 istavrit ve 15 çinekop karaciğer örneği toplanmıştır. Fakat Karadeniz'de 2. dönem çinekop avlanamadığı için 2. Döneme ait Karadeniz çinekop örneği elde edilememiştir. İki dönemde toplam örnek sayısı 105'dir.

Yakalanan balıkların uzunlukları ve ağırlıkları kaydedildikten hemen sonra iç organları soğuk-buzlu ortamda çıkartıldı ve karaciğerleri fizyolojik tuzlu suyla yıkandı. Yıkama işlemini takiben 10 g'lık karaciğer örnek havuzlarından enzim analizleri için 5 g karaciğer numaralandırılmış poşetlere konuldu ve alüminyum folyo ile sarılarak sıvı nitrojen tankında depolandı. Nakil işlemleri sıvı nitrojen tankıyla gerçekleştirildi ve analiz işlemlerine kadar -80°C soğutucuda muhafaza edildi. Vitamin analizleri için ise, kalan diğer 5 g karaciğer örneği numaralandırılmış ayrı poşetlere konuldu ve soğuk zincir ile nakli sağlandıktan sonra -20°C soğutucuda

analiz işlemlerine kadar muhafaza edildi. Örneklenen balıkların ağırlık ve boy ortalama değerleri Çizelge 2.1.de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Örnek havuzlar oluşturulan balıkların boy ve ağırlık ortalamaları

Deniz	Balık türü	Avlama dönemi	Boy (cm)		Ağırlık (g)	
			min.	mak.	min.	mak.
MARMARA	İSTAVRİT	1.Dönem	min.	16	min.	25
			mak.	25	mak.	120
			x	19	x	60
		2.Dönem	min.	12	min.	25
			mak.	17	mak.	64
			x	14	x	42
	ÇİNEKOP	1.Dönem	min.	13	min.	70
			mak.	23	mak.	180
			x	18	x	100
		2.Dönem	min.	13	min.	42
			mak.	20	mak.	120
			x	16	x	72
KARADENİZ	İSTAVRİT	1.Dönem	min.	9	min.	14
			mak.	16	mak.	60
			x	12	x	31
		2.Dönem	min.	9	min.	11
			mak.	14	mak.	45
			x	11	x	22
	ÇİNEKOP	1.Dönem	min.	10	min.	37
			mak.	21	mak.	102
			x	13	x	79

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

Doku örneklerinin analize hazırlanmasında, Ortadoğu Teknik Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Biyokimya laboratuvarları'nda bulunan; Libror AEG-220 Shimadzu ve Distributed-Serviced by Fisher Scientific hassas teraziler, Sigma 3K 30 highspeed soğutmalı santrifüj ve Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatör kullanılmıştır. Doku örneklerinin analizinde, Ankara Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda bulunan; Heraeus Minifuge RF soğutmalı santrifüj, Precisa XB 220A hassas terazi, Abbot-Alycon 300i otoanalizör, Knick pH-metre, Stuart manyetik karıştırıcı, Ependorf 1101 fotometre ile ısıtıcı ve yazıcısı, Shimadzu Uv-1202 UV-VIS spektrofotometre, vakumlu termoetüv ve çeşitli cam malzemeler kullanılmıştır. Doku örneklerinin nakli için Ankara Üniversitesi Dölerme ve Sun-i Tohumlama Anabilim Dalı Laboratuvarlarına ait sıvı nitrojen tankı kullanılmıştır.

2.1.3. Kullanılan Malzemeler

Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler; sodyum hidroksit (Merck, 6462), Sakkaroz (Merck, 107687), disodyum EDTA (Merck, 108421), Tris (ICN, 819623), Tween 20 (Sigma, 1379), potasyum dihidrojen fosfat (Merck, 4871), disodyum hidrojen fosfat dihidrat (Merck, 6580), Triton-x-100 (Merck, 8603), sodyum dihidrojen fosfat anhidr (Merck, 6579), Redükte Glutasyon (Sigma, G-4251), Na-Azid (Merck, 6688), Glutasyon Redüktaz (Sigma, G-3664), β NADPH+H⁺ (Sigma, N-6505), Kumol-hidroperoksit (Sigma,C-0524), Kloroform (Merck, 2431), Absolut etanol (Merck, 0986), ksantin (Sigma, X-0626). Ksantin oksidaz (Sigma, X-1875), Nitroblue tetrazolium (Sigma, N-6876), Sodyum karbonat (Merck, 6398), Sığır serum albumini (Sigma, A-4503), Bakır klorür (Merck, 2733), Amonyum sülfat (Merck, 1216), % 35 hidrojen peroksit (Merck, 8597), butil hidroksitoluen (Sigma, B-1378), n-Hekzan (Merck, 4368), Aseton (Merck, 0013), L-Askorbik asit (Merck, 0074), Silika gel toz (Sigma, s- 2509) olup, hepsi analitik saflıktadır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Karaciğer Dokusu Örneklerinin Homojenize Edilmesi

2.2.1.1. Glutatyon Peroksidaz Aktivite Tayini İçin Homjenizasyon

Kullanılan Çözeltiler:

Homojenizasyon tampon (pH 7.4): 86.0 g sakkaroz, 0.372 g EDTA, 0.606 g Tris tartılarak 1 litre tridistile suda çözüldü ve pH'sı 7.4'e ayarlandı.

Testin Yapılışı:

Doku örnekleri Paglia ve Valentine (1967) yöntemi kullanılarak hazırlandı. Sıvı nitrojen tankından çıkartılan örnekler, +4 ° C de çözdürüldü. Süzgeç kağıdı ile kurulandı ve 1 g tartıldı. Tartılan karaciğer dokusu buz içersindeki cam-cam homojenizatöre aktarıldı ve 10 ml homojenizasyon tampon eklendi. 3 dakika 3000 U/min' de homojenize edilen örnekler, santrifüj kaplarına aktarılarak +4 ° C de 10 dakika 2000 g'de santrifüj edildi. Süpernatantlar başka santrifüj tüplerine aktarılarak +4 ° C de 10 400 g'de 60 dakika bir kez daha sanrifüj edildi. Elde edilen son süpernatantlar -80 ° C' de dondurularak muhafaza edildi.

2.2.1.2. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini İçin Homojenizasyon

Kullanılan Çözeltiler:

Tampon I (pH 7.8): 50 mmol/L KH_2PO_4 ve 50 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 1 litre tridistile suda çözüldü ve pH'sı 7.8'e ayarlandı.

Tampon II (Homojenizasyon Tampon): Tampon I + Tween 20 (% 0.5)

Tampon III : Tampon I + BSA (% 0.05)

Testin Yapılışı:

Doku örnekleri Misra ve Fridovich (1972) yöntemi kullanılarak hazırlandı. Sıvı nitrojen tankından çıkartılan örnekler, +4 ° C'de çözdürüldü. Süzgeç kağıdı ile kurulandı ve 200 mg tartıldı. Tartılan karaciğer dokusu buz içerisindeki cam-cam homojenizatöre aktarıldı ve 5 ml homojenizasyon tampon eklendi. 10 kez 1000 U/min homojenize edildi. +4 ° C'de 2500 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve büyük parçalar uzaklaştırıldı. Üst kısım tekrar +4 ° C'de 11 950 g'de 45 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar, analizlere kadar -80° C'de dondurularak muhafaza edildi.

2.2.1.3. Katalaz Aktivite Tayini İçin Homojenizasyon

Kullanılan Çözeltiler:

Fosfat Tampon (pH 7.0): 50 mmol/L KH_2PO_4 ve 50 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 1 litre tridistile suda çözüldü ve pH'sı 7.0'e ayarlandı.

Homojenizasyon Tampon: Fosfat Tampon + Triton-x-100 (% 1)

Testin Yapılışı :

Doku örnekleri AEBI (1983) yöntemi kullanılarak hazırlandı. Sıvı nitrojen tankından çıkartılan örnekler, +4° C'de çözdürüldü. Süzgeç kağıdı ile kurulandı ve 500 mg tartıldı. Tartılan karaciğer dokusu buz içerisindeki cam-cam homojenizatöre aktarıldı ve 5 ml homojenizasyon tampon eklendi. 12 kez 1000 U/min homojenize edildi. +4° C'de 2500 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar, analizlere kadar -80° C'de dondurularak muhafaza edildi.

2.2.2. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü

Glutasyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve Valentine (1967) tarafından bildirilen yöntemle ölçüldü.

Testin prensibi:

Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi indirgenmiş nikotinamid dinükleotid fosfatın ($\text{NADPH}+\text{H}^+$) glutasyon redüktaz aracılığı ile oksidasyona bağlıdır. Glutasyonun, kumol hidroperoksit (C-OOH) ile glutasyon peroksidaz katalizörlüğünde reaksiyonu sonucunda okside glutasyon (GSSG) ve su açığa çıkar. Bu reaksiyonda oluşan okside glutasyon, glutasyon redüktaz tarafından $\text{NADPH}+\text{H}^+$ varlığında tekrar indirgenir. Bu reaksiyonda redükte glutasyon (GSH) miktarı sabit kalır. $\text{NADPH}+\text{H}^+$ ise NADP^+ 'a dönüşür.

Kullanılan çözeltiler:

1. Sodyum Fosfat Tampon (pH 7.0) (100 mmol/L): 9 g Na_2HPO_4 ve 7 g NaH_2PO_4 500 ml tridistile suda eritildi ve hacim 500 ml'ye tamamlandı. pH'sı 7.0'ye ayarlandı ve $+4^\circ \text{C}$ 'de saklandı.
2. Redükte Glutasyon (GSH) (20 mmol/L): 30.7 mg redükte glutasyon 5 ml tridistile suda eritildi ve 1 N NaOH ile pH'sı 6.0'a ayarlandı. Testten hemen önce taze olarak hazırlandı.
3. EDTA (10 mmol/L): 372 mg EDTA 100 ml tridistile suda eritildi ve $+4^\circ \text{C}$ 'de saklandı.
4. Na-Azid (NaN_3) (20 mmol/L): 130 mg Na-Azid 100 ml tridistile suda eritildi ve $+4^\circ \text{C}$ 'de saklandı.

5. Glutasyon Redüktaz (10 U/ml): 144 µl enzim üzerine 5.856 ml tridistile su eklenerek çalışmadan önce taze olarak hazırlanır.

6. NADPH+H⁺ (3 mmol/L): 12.5 mg NADPH+H⁺ 5 ml fosfat tampon içerisinde eritildi. Çalışmadan önce taze olarak hazırlandı.

7. Kumol hidroperoksit (% 80'lik C₉H₁₂O₂) (12.5 mmol/L): 115 µl C-OOH 50 ml tridistile su eklenerek taze olarak hazırlandı.

Testin yapılışı:

Kör ve test işaretli iki kuvartz spektrofotometre küveti alındı. Önce kör işaretli küvete 1 ml sodyum fosfat tampon çözeltisi, 0.1 ml EDTA çözeltisi, 0.1 ml Na-Azid çözeltisi, 0.1 ml NADPH+H⁺ çözeltisi, 0.1 ml redükte glutasyon çözeltisi, 0.2 ml glutasyon redüktaz enzim çözeltisi ile 0.2 ml bidistile su kondu 3 dakika 37 °C'de inkübe edildi. Daha sonra 3 dakika boyunca fotometrede 366 nm dalga boyunda körün körü için absorbansta meydana gelen değişiklikler yazıcı yardımı ile kaydedildi. Kör için aynı kuvartz küvete 0.2 ml C-OOH çözeltisi ilave edildi ve işlem tekrarlandı. Bu işlemden sonra test işaretli kuvartz küvete 1 ml sodyum fosfat tampon çözeltisi, 0.1 ml EDTA çözeltisi, 0.1 ml Na-Azid çözeltisi, 0.1 ml NADPH+H⁺ çözeltisi, 0.1 ml redükte glutasyon çözeltisi, 0.2 ml glutasyon redüktaz enzim çözeltisi ile 0.2 ml homojenize dokudan elde edilen süpernatant kondu ve yine 3 dakika 37 °C'de inkübe edildi. Daha sonra 3 dakika boyunca fotometrede 366 nm dalga boyunda testin körü için absorbansta meydana gelen değişiklikler yazıcı ile kaydedildi. Test için bu kuvartz küvete 0.2 ml C-OOH çözeltisi ilave edildi ve son işlem tekrarlandı.

Testin Hesaplanması:

Absorbanstaki düşmeye bağlı olarak meydana gelen değişikliklerden aşağıdaki formül yardımı ile enzim aktivitesi tesbit edildi.

$$\Delta E \times V \times 1000$$

$$\text{GPx Aktivitesi} = \text{nmol NADPH+H}^+/\text{dakika} = \frac{\text{Dakika} \times d \times v \times \epsilon}{\text{Dakika} \times d \times v \times \epsilon}$$

ΔE = Absorbansta meydana gelen düşme/dakika

V = Küvetin toplam hacmi (2 ml)

v = Test hacmi (0,2 ml)

d = Küvet ışık yolu (1 cm)

ϵ = 366 nm'de absorbans sabitesi = 3.45 cm²/μmol (37°C)

GPx aktivitesi, nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olarak değerlendirildi.

2.2.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü

Doku homojenizatlarından elde edilen süpernatantlarda süperoksit dismutaz enzim aktivitesi Sun ve ark. (1988) tarafından geliştirilen yöntemle ölçüldü.

Testin prensibi :

Reaksiyon ortamında enzimatik bir reaksiyon ile üretilen süperoksit radikallerinin, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgemesinin örnekteki SOD tarafından engellenmesi prensibine dayanır. Yöntemde süperoksit radikali üretimi ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile sağlanır. Bu şekilde üretilen süperoksit radikalleri, NBT ile reaksiyona girerek bu maddeyi indirgemesi sonunda maksimum absorbansını 560 nm'de veren formazon oluşur. Ortama ilave edilen enzimin, üretilen radikalleri dismutasyona uğratması nisbetinde, NBT redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorbans değerleri düşer. Dolayısıyla formazon oluşumunun inhibisyonunun tayin edilmesiyle SOD miktarı indirekt olarak saptanmaktadır.

Kullanılan çözeltiler :

1. Kloroform : Analiz saflığında kullanıldı.
2. Absolut etanol : Analiz saflığında kullanıldı.
3. Ksantin stok çözeltisi (3 mmol/L) : 23 mg ksantin ($C_5H_4N_4O_2$) 50 ml'lik balon içerisinde 5.0 ml 0.1 N NaOH ile çözüldü ve tridistile su ile hacim 50 ml'ye tamamlandı ve +4° C'de saklandı. Çözelti kullanılacağı zaman 10 kat seyreltildi.
4. Ksantin oksidaz enzim çözeltisi : 25 U/ml aktiviteye sahip ksantin oksidaz enzim çözeltisinden 16 µl alınarak 2 ml 2 M amonyum sülfat çözeltisi ile karıştırıldı.
5. Etilendiamintetraasetik asit çözeltisi (EDTA) (0.6 mmol/L) : 0.233 g EDTA ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$) tridistile su ile çözümlenerek hacim 1 L'ye tamamlandı ve +4° C'de saklandı.
6. Nitroblue tetrazolium çözeltisi (NBT) (0.15 mmol/L) : 12.3 mg NBT tridistile su ile çözümlenerek hacim 100 ml'ye tamamlandı ve +4° C'de saklandı.
7. Sodyum karbonat çözeltisi (400 mmol/L) : 4.24 g sodyum karbonat (Na_2CO_3) tridistile su ile çözümlenerek hacim 100 ml'ye tamamlandı ve +4° C'de saklandı.
8. Sığır albumini çözeltisi (1.0g/L) : 100 mg sığır albumini tridistile su ile çözümlenerek hacim 100 ml'ye tamamlandı ve +4° C'de saklandı.
9. Bakır klorür çözeltisi (0.8 mmol/L) : 13.6 mg bakır klorür ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) tridistile suda çözümlenerek ve hacim 100 ml'ye tamamlandı ve +4° C'de saklandı.

10. Amonyum sülfat çözeltisi (2 M) : 26.4 g amonyum sülfat $[(NH_4)_2SO_4]$ tridistile su ile çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı ve $+4^\circ C$ 'de saklandı.

Reaktif karışımı (20 testlik) : 20 ml ksantin çalışma çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6.0 ml sodyum karbonat çözeltisi ve 3.0 ml sığır albumini çözeltisi 100 ml'lik bir erlen içerisinde karıştırıldı.

Testin yapılışı:

Kör ve test işaretli deney tüplerine 2.45 ml reaktif karışımı konuldu. Kör tüpüne 0.5 ml bidistile su ilave edildi. Doku homojenizatı süpernatantından 1 ml alınıp üzerine 0.3 ml kloroform ve 0.5 ml etanol ilave edilerek 3000 RPM'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan berrak kısımdan 0.5 ml alınarak test tüpüne konuldu. Daha sonra tüplere 50 µl ksantin oksidaz enzim çözeltisi konularak karıştırıldı. 20 dakika $25^\circ C$ 'lik su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda 1 ml bakır klorür çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu. Oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda köre karşı okundu.

Testin Hesaplanması :

SOD enzim aktivitesinin hesaplanmasında aşağıdaki formülden yararlanılarak yüzde inhibisyon hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [\text{Körün absorbansı} - \text{Testin absorbansı} : \text{Körün absorbansı}] \times 100$$

Bir SOD ünitesi, NBT reaksiyonunu % 50 inhibe eden aktivite olarak kabul edildiğinden reaksiyon ortamında bulunan enzim aktiviteleri, bu ünite cinsinden hesaplandı ve U/g-protein olarak değerlendirildi.

2.2.4. Katalaz Aktivitesi Ölçümü

Doku homojenizatlarında katalaz enzim aktivitesi Aebi (1983) tarafından bildirilen yöntemle ölçüldü.

Testin prensibi :

Uygun tampon içinde bulunan hidrojen peroksitin katalaz enziminin etkisi ile yıkılması sonucu, bu maddenin 240 nm'de sebep olduğu absorbans azalmasının ölçülmesi esasına dayanır. Absorbansta gözlenen azalma hızı, katalaz enzim aktivitesi ile orantılıdır.

Kullanılan çözeltiler:

1. Fosfat tamponu (50 mmol/L) (pH:7.0): 3.52 g KH_2PO_4 ve 7.26 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tridistile suda çözülerek 1 litreye tamamlandı ve pH:7.0'a ayarlanarak $+4^\circ \text{C}$ 'de saklandı.

2. Fosfat tamponunda H_2O_2 çözeltisi (10 mmol/L): %35'lik H_2O_2 çözeltisinden 0.13 ml alınarak daha önce hazırlanmış olan 100 ml fosfat tampon üzerine ilave edilir. Bu karışım 240 nm'deki absorbansının 0.5 olması gerekir. Okunan absorbans, bu değerden küçük ise H_2O_2 , büyük ise tampon eklenerek absorbansın 0.5 olması sağlandı. H_2O_2 çözeltisi analizden önce taze olarak hazırlandı.

Testin yapılışı :

Her numunenin çalışılmasından önce numunede bulunması olası olan ve 240 nm'de absorbans verebilen maddelerin sebep olabileceği absorbans yükselmesini saptamak amacıyla kör deney hazırlandı.

Kör deney için kuvarz küvete 2.95 ml fosfat tampon üzerine 50 μl örnek konuldu ve spektrofotometre kör deney olarak kabul edilen bu küvete göre sıfırlandı.

Test işaretli kuvartz küvete ise 2.95 ml fosfat tampon içinde hazırlanmış H_2O_2 çözeltisi konuldu ve 50 μ l örnek eklendi. Küvetler alt üst edilerek karışması sağlandı ve zaman geçirmeden spektrofotometredeki yerlerine yerleştirildi. Spektrofotometreden absorbanstaki azalma takip edildi. Absorbansın 0.45'den 0.40'a inmesi için geçen süre tesbit edildi ve aşağıdaki formülden yararlanılarak k hız sabiti hesaplandı. Absorbansın 0.45'den 0.40'a inmesi için gerekli sürenin 60 saniyeyi aşması durumunda örnek daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılarak, çok hızlı düşmesi durumunda ise dilüe edilerek test tekrarlandı. Sonuç k/g-protein olarak verildi.

Testin Hesaplanması :

$$k = \frac{0.1175}{\Delta t} \text{ sn}^{-1}$$

Formülün çıkarılması :

Çok kısa bir reaksiyon süresi içinde ve nisbeten yüksek enzim konsantrasyonlarında, zaman içinde H_2O_2 konsantrasyonunda meydana gelen azalma birinci dereceden bir reaksiyondur. Buna göre reaksiyonun k hız sabiti

$$k = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{S_2}{S_1} = \frac{2.3}{\Delta t} \log \frac{S_1}{S_2}$$

Bu formülde $\Delta t = t_2 - t_1$

$S_1 = t_1$ anındaki H_2O_2 konsantrasyonunu

$S_2 = t_2$ anındaki H_2O_2 konsantrasyonunu

Tesbit edilen süre içindeki konsantrasyon azalması, absorbans azalması ile orantılı olduğundan, yukarıda belirtilen (1) numaralı formüldeki S_1 yerine A_1 (başlangıçtaki absorbans = 0.45), S_2 yerine de A_2 (reaksiyon sonundaki absorbans = 0.40) koyabiliriz. Buna göre (1) numaralı formülü aşağıdaki gibi yazabiliriz :

$$k = \frac{2.3}{\Delta t} \times \log \frac{A_1}{A_2} = \frac{0.1175}{\Delta t} \text{ sn}^{-1}$$

2.2.5. Toplam Protein Düzeyinin Ölçümü

Doku homojenizatlarında toplam protein düzeyinin ölçümü otoanalizörde biüret metodu (Weichselbaum, 1946) ile gerçekleştirildi.

Testin prensibi :

Örnekte bulunan proteinlerin peptid bağları, kuvvetli alkali ortamda bakır iyonları ile biüret isimli menekşe renkli bir kompleks oluşturur. Oluşan rengin şiddeti, örnekte bulunan peptid bağları sayısı dolayısı ile protein miktarı ile doğru orantılıdır.

2.2.6. Vitamin A (Retinol) ve Beta-Karotin Miktarı Ölçülmesi

Karaciğer homojenizatlarında Vitamin A ve beta-karotin tayini, Aseton-Hekzan (1:1) karışımında ekstraksiyon (Grys, 1980) sonucu Suzuki ve Katoh (1990)'un bildirdikleri UV-visible spektrofotometrik yöntem ile yapıldı.

Testin prensibi :

Karaciğerden Vitamin A'nın ekstraksiyonu sırasında oksidasyonun zararlı etkisinin önlenmesi amacıyla Aseton-Hekzan kullanılarak soğuk bir ortam elde edilir ve antioksidan maddeler (L-askorbik asit ve BHT) de kullanılarak oksidasyon en aza indirilir. Beta-Karotin ve Retinol sırasıyla 453 ve 325 nm'de maksimum ışık absorpsiyonu ölçülerek miktar tayini yapılır.

Kullanılan Çözeltiler :

1. Absolut etanol (% 99.5) : Distile su ile % 95'lik etil alkol hazırlandı ve her ml'sinde 20 µg olacak şekilde butil hidroksi toluen (BHT) ilave edildi.

2. n-Hekzan : Analiz saflığında kullanıldı.

3. Butil hidroksi toluen (BHT)

4. Aseton-Hekzan (1:1) : Karaciğerde vitamin A esterlerini ekstrakte etmek ve serbest retinol haline çevirmek için eşit oranda taze olarak hazırlandı.

5. L-Askorbik asit

6. Silika gel toz

Testin Yapılışı :

-25° C’de dondurulmuş taze karaciğer örneklerinden porselen bir havan kullanılarak tam 1 g tartıldı. Bunun üzerine 100 mg L-Askorbik asit eklenerek bir havan tokmağı ile iyice ezildi. Bu işlem sırasında küçük miktarlarda Silika gel toz, gevrek bir kıvam elde edilinceye kadar eklendi. Kuru homojen karışım rodajlı bir ekstraksiyon balonuna aktarıldı. Havan 50 ml Aseton-Hekzan (1:1) karışımı ile çalkalanır ve solvent karışımı da balona aktarıldı. Balonun ağzı kapatılarak 30 dakika şiddetli çalkalandı (mekanik çalkalayıcıda dakikada 180 salınım) uygulandı. Bu süre sonunda içerik, 50 ml’lik plastik bir santrifüj tüpüne alındı ve 3000 RPM’de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra sıvı faz alındı ve kuruyuncaya kadar evapore edildi (vakum altında uçurma). Aseton-hekzan karışımıyla ekstraksiyon işlemi takiben elde edilen rezidüye, 5 ml n-hekzan ve 1 ml % 95’lik BHT’li etil alkol ilave edilerek yeniden çözüldü. Karışım alüminyum folyo ile kaplanmış, kapaklı bir santrifüj tüpünde iyice karıştırıldıktan sonra 2000 RPM’de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra hekzan fazından kuvarz küvetlere 3 ml alındı ve β -karotin için 453 nm ve retinol için 325 nm’de absorbansları okundu.

Testin Hesaplanması:

$$\text{Karotin } (\mu\text{g/g-yaş karaciğer ağırlık}) = \frac{A(452)}{0.00258 \times 100}$$

0.00258 = 1 μ g/g konsantrasyondaki β -karotin standardının hekzan fazında 453 nm dalga boyundaki absorbansıdır.

$$\text{Vitamin A } (\mu\text{g/g-yaş karaciğer ağırlığı}) = \frac{A_{325} - (\beta\text{-karotin konst.} \times 0.00017)}{0.00182 \times 100}$$

2.27. Kullanılan İstatistik Yöntemler:

Gruplar arası farklılığın öneminin istatistik hesaplanmasında t-testi (Esin ve ark. 1997) kullanılmıştır.



3. BULGULAR

Marmara Denizi ve Karadeniz'in yüzey (pellagic) balıklarından İstavrit (*Trachurus tarachurus*) ve Çinekop (*Pomotamus saltator*) balıkları karaciğer örneklerine ait ölçülen GPx enzim aktivitesi dönemler arası t-testi sonuçları Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir. Karaciğer örneklerine ait değerler 'Ekler'bölümünde Ek-Çizelge 1. ve 5.'de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Marmara ve Karadeniz'in (Dönemler arası) İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri

GPx (nmol NADPH+H ⁺ /dakika/mg-protein)						
Deniz	Tür	Avlama Dönemi				Sig.
		1. dönem		2. dönem		
		n	x ± Sx	n	x ± Sx	
MARMARA	İstavrit	8	3,082 ± 0,61	13	19,33 ± 2,24	p ≤0,01
MARMARA	Çinekop	15	14,10 ± 3,40	13	28,84± 5,75	p ≥0,05
KARADENİZ	İstavrit	10	6,74 ± 1,91	11	14,83 ± 1,90	p ≥ 0,05
KARADENİZ	Çinekop	15	55,01 ± 8,82	—	—	—

Analiz sonuçlarına göre GPx aktivitesi, Marmara 1. Dönem İstavrit karaciğerinde 0,77-6,03 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein arasında değişmekte olup, ortalama 3,08 ± 0,61 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein'dir. 2. Dönem İstavrit'lerde GPx aktivitesi 8,10-30,79 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein arasında ve ortalama 19,33 ± 2,24 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olup, İstavrit'lerde, iki dönem arasında istatistik olarak anlamlılık (p ≤0.01) bulunmuştur.

Marmara Denizi Çinekop karaciğerinde, GPx aktivitesi 1. Dönem analiz sonuçlarına göre 0,72-54,34 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein arasında, ortalama ise, 14,10 ± 3,40 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein'dir. 2. Dönem 0,43-71,60 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein arasında ve ortalama 28,84 ± 5,75 nmol

NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olup, Çinekop balıkları GPx aktivitesi dönemler arasında istatistik açıdan anlamlı ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır.

Karadeniz 1. Dönem İstavrit karaciğer GPx aktivitesi 1,26-21,13 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein arasında ve ortalama $6,74 \pm 1,91$ nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein'dir. 2.Dönem 8,63-31,84 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein arasında olup ortalama $14,83 \pm 1,90$ nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olarak; dönemler arasında, istatistik açıdan anlamlılık ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır.

Karadeniz Çinekop karaciğerinde 1.Dönem GPx aktivitesi 32,27-120,4 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein arasında ve ortalama $55,01 \pm 8,82$ nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein'dir. 2. Dönem Karadeniz'de çinekop avlanmadığı için, istatistik açıdan iki dönem karşılaştırılamamıştır.

Diğer antioksidan enzim olan, SOD enzim aktivitesi t-testi sonuçları Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir. Karaciğer örneklerine ait değerler 'Ekler'bölümünde Ek-Çizelge 2. ve 6.'da yer almaktadır.

Çizelge 3.2. Marmara ve Karadeniz'in (Dönemler arası) İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri

SOD (U/g-protein)						
Deniz	Tür	Avlama Dönemi				Sig.
		1. dönem		2. dönem		
		n	x ± Sx	n	x ± Sx	
MARMARA	İstavrit	12	0,0848±0,036	15	0,0576±0,0071	$p \geq 0,05$
MARMARA	Çinekop	13	0,0265±0,0062	15	0,0383±0,0080	$p \geq 0,05$
KARADENİZ	İstavrit	15	0,0282±0,0052	13	0,0273±0,0028	$p \geq 0,05$
KARADENİZ	Çinekop	15	0,0860±0,0086	—	—	—

Marmara 1. Dönem İstavrit karaciğer SOD aktivitesi 0,0107-0,475 U/g-protein arasında ve ortalama $0,0848 \pm 0,036$ U/g-protein'dir. 2.Dönem, 0,0224-0,140

U/g-protein ve ortalama $0,0576 \pm 0,0071$ U/g-protein olup, dönemler arasında istatistik olarak bir önem ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiştir.

Marmara Çinekop karaciğerinde 1. Dönem SOD aktivitesi 0,0036-0,0850 U/g-protein arasında ölçülmüş ve ortalama $0,0265 \pm 0,0062$ U/g-protein'dir. 2. Dönem değerler 0,0112-0,131 U/g-protein arasında ve ortalama $0,0383 \pm 0,0080$ U/g-protein olup, iki dönem arasında istatistik açıdan anlamlılık ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır.

Karadeniz 1. Dönem İstavrit karaciğer SOD aktivitesi 0,0109-0,0815 U/g-protein arasında ve ortalama $0,0282 \pm 0,0052$ U/g-protein'dir. 2. Dönem 0,0158-0,0514 U/g-protein arasında ve ortalama $0,0273 \pm 0,0028$ U/g-protein olup, iki dönem arasında istatistik açıdan bir önem ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiştir.

1. Dönem Çinekop karaciğer SOD aktivitesi 0,0375-0,150 U/g-protein değerleri arasında ve ortalama $0,0860 \pm 0,0086$ U/g-protein olarak bulunmuştur. 2. Dönem Karadeniz'de Çinekop avlanamadığı için dönemler arasında karşılaştırma yapılamamıştır.

CAT enzim aktivitesi t-testi sonuçları Çizelge 3.3.'de gösterilmiştir. Karaciğer örneklerine ait değerler 'Ekler'bölümünde Ek-Çizelge 3. ve 7.'de yer almaktadır.

Çizelge 3.3. Marmara ve Karadeniz'in (Dönemler arası) İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri

CAT (k/g-protein)						
Deniz	Tür	Avlama Dönemi				Sig.
		1. dönem		2. dönem		
		n	x ± Sx	n	x ± Sx	
MARMARA	İstavrit	12	0,00217±0,00027	15	0,00701±0,0033	p ≥0,05
MARMARA	Çinekop	15	0,000855±0,00028	15	0,000773±0,00015	p ≥0,05
KARADENİZ	İstavrit	15	0,000531±0,00005	15	0,000742±0,00013	p ≥0,05
KARADENİZ	Çinekop	15	0,000689±0,00011	—	—	—

Marmara 1. Dönem İstavrit karaciğer CAT aktivitesi 0,00135-0,00466 k/g-protein arasında ve ortalama $0,00217 \pm 0,00027$ k/g-protein'dir. 2. Dönem 0,00026-0,0537 k/g-protein değerleri arasında ve ortalama $0,00701 \pm 0,0033$ k/g-protein olup, Marmara Denizi İstavrit örnekleri CAT aktivitesi açısından iki dönem karşılaştırıldığında, istatistik açıdan anlamlılık ($p \geq 0,05$) göstermemektedir.

Marmara Denizi 1.Dönem Çinekop karaciğer CAT aktivitesi 0,00012-0,00478 k/g-protein arasında ve ortalama $0,000855 \pm 0,00028$ k/g-protein'dir. 2. Dönem 0,00024-0,00228 k/g-protein değerleri arasında ölçülmüş ve ortalama $0,000773 \pm 0,00015$ k/g-protein'dir. Marmara Denizi Çinekop örnekleri dönemler arası karşılaştırıldığında istatistik açıdan bir öneme ($p \geq 0,05$) sahip değildir.

Karadeniz 1.Dönem İstavrit karaciğer CAT aktivitesi 0,00018-0,00094 k/g-protein arasında değerler almakta ve ortalama $0,000531 \pm 0,00005$ k/g-protein olup, 2.Dönem 0,00023-0,00207 k/g-protein arasında ve ortalama $0,000742 \pm 0,00013$ k/g-protein'dir. Her iki dönem karşılaştırıldığında istatistik olarak anlamlılık ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiştir.

Karadeniz 1.Dönem Çinekop karaciğer CAT aktivitesi 0,00017-0,00162 k/g-protein arasında ve ortalama $0,000689 \pm 0,00011$ k/g-protein olup, 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için dönemler arası karşılaştırılamamıştır.

Antioksidan Savunma Sistemi üyesi olan Vitamin-A'ya ait t-testi sonuçları Çizelge 3.4.'de gösterilmiştir. Marmara ve Karadeniz İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait değerler 'Ekler'bölümünde Ek-Çizelge 4. ve 8.'de yer almaktadır.

Çizelge 3.4. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (Dönemler arası) İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait Vitamin-A düzeyleri

Vitamin-A ($\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık)						
Deniz	Tür	Avlama Dönemi				Sig.
		1. dönem		2. dönem		
		n	$x \pm Sx$	n	$x \pm Sx$	
MARMARA	İstavrit	15	$86,54 \pm 13,18$	15	$54,72 \pm 6,00$	$p \leq 0,05$
MARMARA	Çinekop	15	$69,93 \pm 5,33$	15	$31,52 \pm 1,81$	$p \leq 0,01$
KARADENİZ	İstavrit	15	$54,55 \pm 3,46$	15	$36,11 \pm 2,53$	$p \geq 0,05$
KARADENİZ	Çinekop	13	$32,86 \pm 2,39$	—	—	—

Marmara Denizi 1. Dönem İstavrit karaciğer Vitamin-A düzeyi $36,5-219,1 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık değerleri arasında ve ortalama $86,54 \pm 13,18 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık'dır. 2.Dönem $26,1-92,0 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık arasında ve ortalama $54,72 \pm 6,00 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık olup, iki dönem karşılaştırıldığında istatistik olarak $p \leq 0,05$ düzeyinde bir öneme sahip bulunmuştur.

Marmara Denizi 1. Dönem Çinekop karaciğer Vitamin-A düzeyi $36,0-106,9 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık değerleri arasında ve ortalama $69,93 \pm 5,33 \mu\text{g/g}$ - yaş ağırlık olup, 2. Dönem $23,5-46,2 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık arasında ve ortalama $31,52 \pm 1,81 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık'dır. Dönemler arası karşılaştırma yapıldığında istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem tesbit edilmiştir.

Karadeniz İstavrit karaciğer örneklerinde 1. Dönem Vitamin-A düzeyi 34,1-73,2 µg/g-yaş ağırlık arasında değerlere sahip ve ortalama $54,55 \pm 3,46$ µg/g-yaş ağırlık olup, 2. Dönem 17,1-54,9 µg/g-yaş ağırlık ve ortalama $36,11 \pm 2,53$ µg/g-yaş ağırlık'dır. Dönemler arası karşılaştırıldığında istatistik açıdan anlamlılık ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiştir.

Karadeniz Çinekop karaciğer örneklerinde 1.Dönem Vitamin-A düzeyi 19,9-7,1 µg/g-yaş ağırlık arasında bulunmuş ve ortalama $32,86 \pm 2,39$ µg/g-yaş ağırlık'dır. Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için dönemler arası karşılaştırma yapılamamıştır.

Antioksidan Savunma Sistemi enzim düzeyleri GPx, SOD ve CAT ile enzimatik olmayan Vitamin-A düzeyi, İstavrit ve Çinekop balıklarında Marmara ve Karadeniz olarak; denizler arası karşılaştırılmış olup, İstavrit karaciğer örneklerinin GPx enzim aktivitesine ait ve t-testi sonuçları Çizelge 3.5.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) İstavrit karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri

GPx (nmol NADPH+H ⁺ /dakika/mg-protein)					
	MARMARA	KARADENİZ		MARMARA	KARADENİZ
	1.Dönem İstavrit	1.Dönem İstavrit		2.Dönem İstavrit	2.Dönem İstavrit
n	8	10	n	13	11
x ± Sx	3,082 ± 0,61	6,74 ± 1,91	x ± Sx	19,33 ± 2,24	14,83 ± 1,90
Sig.	p ≤0,05		Sig.	p ≥0,05	

Marmara Denizi İstavrit örneklerine ait GPx enzim aktivitesi ortalaması 1. Dönem $3,082 \pm 0,61$ nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olup, Karadeniz İstavrit örneklerine ait 1. Dönem GPx enzim aktivite ortalaması ise $6,74 \pm 1,91$ nmol

NADPH+H⁺/dakika/mg-protein'dir. 2. Döneme ait Marmara ortalaması $19,33 \pm 2,24$ nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olup, Karadeniz ortalaması ise $14,83 \pm 1,90$ nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein bulunmuştur. Denizler arasında yapılan karşılaştırmada 1. Dönem istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönem için istatistik açıdan anlamlılık ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır.

Denizler arası İstavrit karaciğer SOD enzim aktivitesine ait t-testi sonuçları Çizelge 3.6.'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) İstavrit karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri

SOD (U/g-protein)					
	MARMARA	KARADENİZ		MARMARA	KARADENİZ
	1.Dönem İstavrit	1.Dönem İstavrit		2.Dönem İstavrit	2.Dönem İstavrit
n	12	15	n	15	13
x ± Sx	0,0848±0,036	0,0282±0,0052	x ± Sx	0,0576±0,0071	0,0273±0,0028
Sig.	p ≥0,05		Sig.	p ≥0,05	

Marmara Denizi İstavrit karaciğer örneklerine ait 1. Dönem SOD enzim aktivitesi ortalaması $0,0848 \pm 0,036$ U/g-protein, Karadeniz için ortalama $0,0282 \pm 0,0052$ U/g-protein'dir. 2. Dönem Marmara'ya ait ortalama $0,0576 \pm 0,0071$ U/g-protein, Karadeniz için ortalama $0,0273 \pm 0,0028$ U/g-protein olup, denizler arası karşılaştırma sonucuna göre her iki dönemde de istatistik olarak bir önem ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiştir.

Denizler arası karşılaştırıldığında İstavrit karaciğer CAT enzim aktivitesine ait t-testi sonuçları Çizelge 3.7.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) İstavrit karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri

CAT (k/g-protein)					
	MARMARA	KARADENİZ		MARMARA	KARADENİZ
	1.Dönem İstavrit	1.Dönem İstavrit		2.Dönem İstavrit	2.Dönem İstavrit
n	12	15	n	15	
$\bar{x} \pm S_x$	0,00217±0,00027	0,000531±0,00005	$\bar{x} \pm S_x$	0,00701±0,0033	0,000742±0,00013
Sig.	p ≤0,01		Sig.	p ≤0,05	

Marmara Denizi ve Karadeniz 1. Dönem İstavrit örneklerine ait CAT enzim aktivitesi ortalamaları sırasıyla $0,00217 \pm 0,00027$ k/g-protein ve $0,000531 \pm 0,00005$ k/g-protein olup, 2. Dönem ortalamaları $0,00701 \pm 0,0033$ k/g-protein ve $0,000742 \pm 0,00013$ k/g-protein'dir. Denizler arasında karşılaştırma yapıldığında 1. Dönem olarak istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönemde de istatistik açıdan anlamlılık $p \leq 0,05$ bulunmuştur.

Denizler arası karşılaştırmada İstavrit karaciğer Vitamin-A düzeylerine ait t-testi sonuçları Çizelge 3.8.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) İstavrit karaciğer örneklerine ait Vitamin-A düzeyleri

Vitamin-A ($\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık)					
	MARMARA	KARADENİZ		MARMARA	KARADENİZ
	1.Dönem İstavrit	1.Dönem İstavrit		2.Dönem İstavrit	2.Dönem İstavrit
n	15	15	n	15	15
$x \pm Sx$	86,54 \pm 13,81	54,55 \pm 3,46	$x \pm Sx$	54,72 \pm 6,00	36,11 \pm 2,53
Sig.	$p \leq 0,05$		Sig.	$p \leq 0,01$	

Marmara ve Karadeniz'in 1.Dönemlerinin İstavrit karaciğer örneklerine ait Vitamin-A ortalamaları sırasıyla 86,54 \pm 13,81 $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık ve 54,55 \pm 3,46 $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık, 2. Dönem ortalamaları 54,72 \pm 6,00 $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık ve 36,11 \pm 2,53 $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık'dır. İki denizin İstavrit örnekleri 1. Döneme ait veriler karşılaştırıldığında istatistik olarak $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık görülmüş olup, 2. Dönemde ise istatistik olarak $p \leq 0,01$ düzeyinde artış tesbit edilmiştir.

Denizler arası karşılaştırmada; Marmara ve Karadeniz'in 1. ve 2. Dönemlerinin Çinekop karaciğer GPx enzim aktivitesine ait t-testi sonuçları Çizelge 3.9.'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.9. Marmara ve Karadeniz'in 1. ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri

GPx (nmol NADPH+H ⁺ /dakika/mg-protein)					
	MARMARA	KARADENİZ		MARMARA	KARADENİZ
	1.Dönem Çinekop	1.Dönem Çinekop		2.Dönem Çinekop	2.Dönem Çinekop
n	15	15	n	13	-
x ± Sx	14,10 ± 3,40	55,01 ± 8,82	x ± Sx	28,84 ± 5,75	-
Sig.	p ≤0,01		Sig.	-	

Marmara ve Karadeniz'in 1. Dönemlerinin Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla 14,10 ± 3,40 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein ve 55,01 ± 8,82 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olup, 2. dönem Marmara Denizi ortalaması 28,84 ± 5,75 nmol NADPH+H⁺/dakika/mg-protein olarak hesaplanmıştır. Denizler arası karşılaştırma sonucuna göre 1. Döneme ait istatistik açıdan p ≤0,01 düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Marmara ve Karadeniz'in 1. ve 2. Dönemlerinin Çinekop karaciğer örneklerinin SOD enzim aktivitesine ait t-testi sonuçları Çizelge 3.10.'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.10. Marmara ve Karadeniz'in 1. ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri

SOD (U/g-protein)					
	MARMARA	KARADENİZ		MARMARA	KARADENİZ
	1.Dönem Çinekop	1.Dönem Çinekop		2.Dönem Çinekop	2.Dönem Çinekop
n	13	15	n	15	-
$\bar{x} \pm S_x$	0,0265±0,0062	0,0860±0,0086	$\bar{x} \pm S_x$	0,0383±0,008	-
Sig.	p ≤0,05		Sig.	-	

Marmara ve Karadeniz'in 1.Dönemlerinin Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,0265 \pm 0,0062$ U/g-protein ve $0,0860 \pm 0,0086$ U/g-protein olup, 2.dönem Marmara Denizi ortalaması $0,0383 \pm 0,008$ U/g-protein'dir. Denizler arası karşılaştırma sonucuna göre 1. Döneme ait istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Marmara ve Karadeniz'in 1. ve 2. Dönemlerinin Çinekop karaciğer örneklerinin CAT enzim aktivitesine ait t-testi sonuçları Çizelge 3.11.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.11. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri

CAT (k/g-protein)					
	MARMARA	KARADENİZ		MARMARA	KARADENİZ
	1.Dönem Çinekop	1.Dönem Çinekop		2.Dönem Çinekop	2.Dönem Çinekop
n	15	15	n	15	-
x ± Sx	0,000855±0,00028	0,000689±0,00011	x ± Sx	0,000773±0,00015	-
Sig.	p ≥0,05		Sig.	-	

Marmara ve Karadeniz'in 1. Dönemlerinin Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,000855 \pm 0,00028$ k/g-protein ve $0,000689 \pm 0,00011$ k/g-protein olup, Marmara Denizi 2. Dönem ortalaması $0,000773 \pm 0,00015$ k/g-protein'dir. Denizler arası karşılaştırma sonucuna göre 1. Döneme ait istatistik açıdan bir önem ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiş ve 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Marmara ve Karadeniz'in 1. ve 2. Dönemlerinin Çinekop karaciğer Vitamin-A düzeylerine ait t-testi sonuçları Çizelge 3.12.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.12. Marmara ve Karadeniz'in 1.ve 2. Dönemlerinin (denizler arası) Çinekop karaciğer örneklerine ait Vitamin-A düzeyleri

Vitamin-A ($\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık)					
	MARMARA	KARADENİZ		MARMARA	KARADENİZ
	1.Dönem Çinekop	1.Dönem Çinekop		2.Dönem Çinekop	2.Dönem Çinekop
n	15	13	n	15	-
$\bar{x} \pm S_x$	69,93 \pm 5,33	32,86 \pm 2,39	$\bar{x} \pm S_x$	31,52 \pm 1,81	-
Sig.	p \leq 0,01		Sig.	-	

Marmara ve Karadeniz'in 1. Dönemlerinin Çinekop karaciğer örneklerine ait Vitamin-A düzeyleri ortalamaları sırasıyla, 69,93 \pm 5,33 $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık ve 32,86 \pm 2,39 $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık olup, Marmara Denizi 2. Dönem ortalaması 31,52 \pm 1,81 $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık'dır. Denizler arası karşılaştırma sonucuna göre 1. Döneme ait istatistik açıdan p \leq 0,01 düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Antioksidan enzim düzeyleri ile Vitamin A düzeyi, türler arasında da karşılaştırılmış olup Marmara ve Karadeniz'in İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim aktivitesi t-testi sonuçları Çizelge 3.13.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.13. Marmara ve Karadeniz'in (Türler arası) İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri

GPx (nmol NADPH+H ⁺ /dakika/mg-protein)						
Deniz	Avlama Dönemi	Tür				Sig.
		İstavrit		Çinekop		
		n	x ± Sx	n	x ± Sx	
MARMARA	1. dönem	8	3,082 ± 0,61	15	14,10 ± 3,40	p ≤0,05
MARMARA	2. dönem	13	19,33 ± 2,24	13	28,84± 5,75	p ≤0,05
KARADENİZ	1. dönem	10	6,74 ± 1,91	15	55,01 ± 8,82	p ≤0,01
KARADENİZ	2. dönem	11	14,83 ± 1,90	-	-	-

Marmara Denizi 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, 3,082 ± 0,61 ve 14,10 ± 3,40 nmol NADPH+H⁺/ dakika /mg-protein olup 2. Dönem ortalamaları 19,33 ± 2,24 ve 28,84 ± 5,75 nmol NADPH+H⁺/ dakika /mg-protein olarak ölçülmüştür. Marmara Denizi istavrit ve çinekop örnekleri GPx aktivitesi yönünden türler arası farklılık karşılaştırıldığında, her iki dönemde de istatistik açıdan anlamlılık (p ≤ 0,05) bulunmuştur.

Karadeniz 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, 6,74 ± 1,91 ve 55,01 ± 8,82 nmol NADPH+H⁺/ dakika /mg-protein olup, türler arası karşılaştırma sonucuna göre 1. Döneme ait istatistik açıdan p ≤0,01 düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Marmara ve Karadeniz'in İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim aktivitesi t-testi sonuçları Çizelge 3.14.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.14. Marmara ve Karadeniz'in (Türler arası) İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri

SOD (U/g-protein)						
Deniz	Avlama Dönemi	Tür				Sig.
		İstavrit		Çinekop		
		n	$\bar{x} \pm Sx$	n	$\bar{x} \pm Sx$	
MARMARA	1. dönem	12	0,0848±0,036	13	0,0265±0,0062	$p \geq 0,05$
MARMARA	2. dönem	15	0,0576±0,0071	15	0,0383±0,0080	$p \geq 0,05$
KARADENİZ	1. dönem	15	0,0282±0,0052	15	0,0860±0,0086	$p \leq 0,01$
KARADENİZ	2. dönem	13	0,0273±0,0028	-	-	-

Marmara Denizi 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,0848 \pm 0,036$ ve $0,0265 \pm 0,0062$ U/g-protein olup 2. Dönem ortalamaları $0,0576 \pm 0,0071$ ve $0,0383 \pm 0,0080$ U/g-protein'dir. Türler arası karşılaştırma sonucuna göre Marmara Denizi çinekop ve istavrit karaciğer örneklerinde her iki dönemde de istatistiksel anlamlılık ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır.

Karadeniz 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,0282 \pm 0,0052$ ve $0,0860 \pm 0,0086$ U/g-protein olup, 1. Döneme ait istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Marmara ve Karadeniz'in İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim aktivitesi t-testi sonuçları Çizelge 3.15.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.15. Marmara ve Karadeniz'in (Türler arası) İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri

CAT (k/g-protein)						
Deniz	Avlama Dönemi	Tür				Sig.
		İstavrit		Çinekop		
		n	$x \pm Sx$	n	$x \pm Sx$	
MARMARA	1. dönem	12	0,00217±0,00027	15	0,000855±0,00028	$p \geq 0,05$
MARMARA	2. dönem	15	0,00701±0,0033	15	0,000773±0,00015	$p \leq 0,05$
KARADENİZ	1. dönem	15	0,000531±0,00005	15	0,000689±0,00011	$p \leq 0,05$
KARADENİZ	2. dönem	15	0,000742±0,00013	–	–	–

Marmara Denizi 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,00217 \pm 0,00027$ ve $0,000855 \pm 0,00028$ k/g-protein olup, istatistik açıdan önem ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiştir. 2. Dönem ortalamaları $0,00701 \pm 0,0033$ ve $0,000773 \pm 0,00015$ k/g-protein olarak ölçülmüş ve istatistiksel $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem bulunmuştur.

Karadeniz 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,000531 \pm 0,00005$ ve $0,000689 \pm 0,00011$ k/g-protein olup, istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık bulunmuştur. 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Marmara ve Karadeniz'in İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait Vitamin A düzeyi t-testi sonuçları Çizelge 3.16.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.16. Marmara ve Karadeniz'in (Türler arası) İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait Vitamin A düzeyleri

Vitamin-A ($\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık)						
Deniz	Avlama Dönemi	Tür				Sig.
		İstavrit		Çinekop		
		n	$x \pm Sx$	n	$x \pm Sx$	
MARMARA	1. dönem	15	$86,54 \pm 13,18$	15	$69,93 \pm 5,33$	$p \leq 0,05$
MARMARA	2. dönem	15	$54,72 \pm 6,00$	15	$31,52 \pm 1,81$	$p \leq 0,01$
KARADENİZ	1. dönem	15	$54,55 \pm 3,46$	13	$32,86 \pm 2,39$	$p \geq 0,05$
KARADENİZ	2. dönem	15	$36,11 \pm 2,53$	–	–	–

Marmara Denizi 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait Vitamin A düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $86,54 \pm 13,18$ ve $69,93 \pm 5,33$ $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık olup, 2. Dönem ortalamaları $54,72 \pm 6,00$ ve $31,52 \pm 1,81$ $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık olarak ölçülmüştür. Marmara Denizi istavrit ile çinekop örnekleri Vitamin A düzeyi yönünden türler arası farklılık karşılaştırıldığında, istatistik açıdan 1. dönem $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık görülmüş olup, 2. Dönemde ise istatistik olarak $p \leq 0,01$ düzeyinde artış tesbit edilmiştir.

Karadeniz 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait Vitamin A düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $54,55 \pm 3,46$ ve $32,86 \pm 2,39$ $\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık olup, istatistik açıdan önem ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır. 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Toplam protein düzeyleri, her bir enzim parametresi için ayrı ayrı hazırlanmış karaciğer homojenatlarında ölçülmüş olup, enzim aktivitesi hesaplamalarında kullanılmıştır.

4.TARTIŞMA

Bu çalışmada Marmara ile Karadeniz yüzey balıklarından istavrit ve çinekop karaciğer dokusunda iki avlanma dönemi (Ocak-Mart, Ekim-Aralık) takip edilerek, SOD, CAT ve GPx aktiviteleri ile vitamin A düzeyi gibi antioksidan metabolizma parametreleri ile deniz kirliliği arasındaki ilişki, hem iki deniz hem dönemler hem de türler arasında incelenmiştir.

Kirlenmeyi ve etkilerini belirleme çabalarında su kalitesinin biyolojik açıdan değerlendirilmesinin önemli bir yeri vardır. Biyolojik sistemler genellikle kirlenmeye büyük duyarlılık gösterirler. Bu nedenle kimyasal örnekleme çalışmaları sırasında gözden kaçabilecek bazı kirlenme durumlarını, biyolojik sistemlerdeki değişiklikleri izleyerek belirlemek mümkün olabilmektedir (Atay ve Pulatsü, 2000).

Gabryelak ve ark. (1983)'nın tatlı su balıkları eritrositlerinde mevsimsel değişikliğin peroksit metabolizması enzimleri üzerine olan etkisini araştırdıkları bir çalışmada, ilkbahar aylarında peroksidaz aktivitesi $204,055 \pm 25,40$ U/g-Hb, sonbahar aylarında $147;260 \pm 38,31$ U/g-Hb, CAT aktivitesi ilkbaharda $4,8 \pm 1,01$ B.U/g-Hb ve sonbaharda $4,6 \pm 1,5$ B.U/g-Hb, SOD aktivitesi ilkbaharda 1054 ± 150 U/g-Hb, sonbaharda ise 801 ± 132 U/g-Hb olarak bulunmuştur. Antioksidan enzim aktivitelerinin ilkbahar aylarında yükseldiğini tesbit etmişlerdir.

Bu çalışmada, Marmara Denizi balık karaciğer örneklerine ait 1. Dönem İstavrit karaciğeri GPx ortalaması $3,08 \pm 0,61$ nmol NADPH+H⁺/dak./mg-protein, 2. Dönem ise, $19,33 \pm 2,24$ nmol NADPH+H⁺/dak./mg-protein. Vitamin-A düzeyi 1. Dönem ortalaması $86,54 \pm 13,18$ µg/g-yaş ağırlık, 2. Dönem ortalaması $54,72 \pm 6,00$ µg/g-yaş ağırlıktır. İstavrit'lerde, iki dönem karşılaştırıldığında 2. Dönem GPx aktivitesi 1. Döneme göre artmış olup $p \leq 0,01$ düzeyinde istatistiksel anlamlılık ve 2. Dönem Vitamin A düzeyi 1. Döneme göre düşük bulunarak $p \leq 0,05$ düzeyinde istatistiksel anlamlılık tesbit edilmiştir. CAT ve SOD enzim düzeylerinde istatistik olarak bir önem ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır. 1. Dönem Çinekop karaciğeri Vitamin-A düzeyi ortalaması $69,93 \pm 5,33$ µg/g- yaş ağırlık olup, 2. Dönem ortalaması $31,52 \pm$

1,81 µg/g-yaş ağırlık'dır. Dönemler arası karşılaştırma yapıldığında 2. Dönem Vitamin A düzeyi 1. Döneme oranla düşük ölçülmüş ve istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem tesbit edilmiştir.

Çalışmada 2. Avlama dönemi sonbahar-kış aylarına rast gelmektedir. İstavrit karaciğer örnekleri GPx aktivitesinde 2. Dönem (Ekim-Aralık) gözlenen artış, Gabryelak ve ark. (1983)'lerinin tesbit ettiği sonuçla örtüşmemektedir. İstavritlerin üreme mevsimi bahar başından yaz ortasına kadar devam eder (Mayıs-Temmuz). İstavritler uzun ömürlü (0-7 yaş) karnivor yüzey balıklarından olup, boy ve ağırlık artışı 2 yaşa kadar hızlı, 4 yaşından sonra yavaştır (yaş hesaplaması, aya göre yapılmaktadır). Ekim ve Aralık ayları arasında avlanan balıkların ortalama ağırlıkları genel ortalamanın üzerinde olup, Mart ayından sonra küçük balıklara daha fazla rastlanmaktadır (Yücel ve Erkoyuncu, 2000). Avlama mevsimi 1 Eylül ile Nisan sonu arasındadır (Benli, 2004). 2. Avlama dönemi yakalanan istavritler yavrulama dönemini geçirmiş İstavritler ile daha çok genç (2-3 yaş) bireylerden oluşmaktadır. GPx enzimi aktivitesindeki 2.Dönemde gözlenen artış, yakalanan istavrit popülasyonundaki genç balıkların daha fazla olması ile ilgili olabilir.

Palace ve ark. (1998)'ları Kuzey Amerika Great Lakes'de yaşayan alabalıklarda organik kirleticilerden TCDD (2,3,7,8 tetraklorodibenzo-p-dioksin) ile kirlenmiş sulardan toplanan balıklarla yaptıkları çalışmada, karaciğer örneklerinde GPx aktivitesi $0,068 \pm 0,003$ U/mg-protein referans balıkların karaciğerinde $0,060 \pm 0,002$ U/mg-protein, kirli sulardan toplanan balıkların karaciğer SOD aktivitesi $58,2 \pm 12,8$ U/mg-protein, referans balıkların karaciğerinde $48,3 \pm 8,5$ U/mg-protein ölçülmüş olup, SOD ve GPx düzeyleri kirli sulardan toplanan balıklarda yüksektir. Fakat CAT aktivitesi (915 ± 62 U/mg-protein) ile vitamin A düzeyleri ($2,65 \pm 0,38$ nmol/g) referans balıkları karaciğeri CAT ve vitamin A sonuçlarına göre (1415 ± 59 U/mg-protein, $2,83 \pm 0,63$ nmol/g) düşük bulmuşlardır.

Marmara Denizi istavrit ve çinekop karaciğer örnekleri 2. Dönemde Vitamin A düzeyinde gözlenen düşüş, GPx düzeyindeki artış (sadece istavrit örneklerinde), Palace ve ark. (1998)'lerinin sonuçları ile örtüşmekte olup, Marmara Denizi'nde

petrol kirliliğinin önemli boyuta ulaşması (Anonim, 2000) sonucu biyolojik sistemlerin kirleticilere karşı verdiği yanıt olarak değerlendirilebilir.

En yaygın olarak bilinen akuatik çevre (organik) mikro-kirleticileri; polisiklik aromatik hidrokarbonlar, poliklorlu bifeniller, pestisitler ve herbisitler gibi halojenli organik bileşiklerdir. Poliklorlu bifeniller (PCB) ile pestisitler hidrofobik ve düşük biyo-bozunurluk özellikleri sebebiyle çevredeki konsantrasyonlarına bağlı olarak organizmalarda yüksek konsantrasyonlarda birikime neden olurlar. Polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)'ların balıklarda birikimi, bu bileşiklerin bozunma yeteneğinin fazla olmasıyla çok düşük önem taşır. Bir çok balık türünde hidrofobik mikro-kirleticilerin karma fonksiyonlu oksidaz sistemi enzim aktivitesini indüklemektedir (Oost ve ark, 1991; Fenet ve ark. 1998).

Bu çalışmada her denizin kendi içinde dönemler karşılaştırıldığı gibi, denizler arasında da aynı türler arasında karşılaştırma yapılmıştır. Marmara Denizi İstavrit örneklerine ait GPx enzim aktivitesi ortalaması 1. Dönem $3,082 \pm 0,61$ nmol NADPH+H⁺/ dakika/ mg-protein olup, Karadeniz İstavrit örneklerine ait 1. Dönem GPx enzim aktivite ortalaması ise $6,74 \pm 1,91$ nmol NADPH+H⁺/ dakika/ mg-protein'dir. 2. Döneme ait Marmara ortalaması $19,33 \pm 2,24$ nmol NADPH+H⁺/ dakika/ mg-protein olup, Karadeniz ortalaması ise $14,83 \pm 1,90$ nmol NADPH+H⁺/ dakika /mg-protein bulunmuştur. Denizler arasında yapılan karşılaştırmada GPx aktivitesi Karadeniz istavritlerinde Marmara'ya göre yüksek bulunarak 1. Dönemde istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönem Karadeniz istavritlerinde Marmara'ya göre düşük bulunarak, istatistik açıdan anlamlılık ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiştir. Marmara ve Karadeniz 1. Dönem İstavrit örneklerine ait CAT enzim aktivitesi ortalamaları sırasıyla $0,00217 \pm 0,00027$ k/g-protein ve $0,000531 \pm 0,00005$ k/g-protein olup, 2. Dönem ortalamaları $0,00701 \pm 0,0033$ k/g-protein ve $0,000742 \pm 0,00013$ k/g-protein'dir. Her iki dönemde de CAT aktivitesi Karadeniz örneklerinde Marmara'ya göre yüksek tesbit edilmiştir. 1.Dönem olarak istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem, 2. Dönemde ise istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık bulunmuştur. Marmara ve Karadeniz'in 1.Dönemlerinin İstavrit karaciğer örneklerine ait Vitamin-A ortalamaları sırasıyla $86,54 \pm 13,81$

$\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık ve $54,55 \pm 3,46 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık, 2. Dönem ortalamaları $54,72 \pm 6,00 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık ve $36,11 \pm 2,53 \mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık'dır. Her iki dönemde de Karadeniz örnekleri Vitamin A düzeyleri Marmara'ya göre düşük ölçülmüştür. İki denizin İstavrit örnekleri 1.Döneme ait veriler karşılaştırıldığında istatistik olarak $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık görülmüş olup, 2. Dönem için istatistik önemin $p \leq 0,01$ düzeyinde arttığı tesbit edilmiştir.

Filho (1996), antioksidan savunma sistemi enzimlerini deniz ve tatlısu balıkları arasında karşılaştırdığı çalışmasında; deniz balıkları karaciğer CAT aktivitesi $248 \pm 33 \text{ pmol/g}$ olup, tatlı su balıklarının $671 \pm 92 \text{ pmol/g}$ olarak ölçülmüş ve deniz balıkları karaciğer CAT aktivitesi tatlı su balıklarından düşük bulunmuştur. Bunun sebebi, denize göre tatlı suyun daha asidik yapıya ve yüksek H_2O_2 konsantrasyonu içermiş olmasına bağlanmıştır. SOD aktivitesi deniz balıklarında karaciğer dokusunda $7,9 \pm 2,1 \text{ pmol/g}$ tatlı su balıklarında ise $1,7 \pm 0,1 \text{ pmol/g}$ ölçülmüş olup, deniz balıklarında tatlı su balıklarına göre daha yüksek bulunması, denizin alkalinitesinin ve süpeoksit radikalleri konsantrasyonunun yüksek olmasına bağlı olarak bu sonuca varıldığını belirtmiştir.

Bütün balıklar 5 mg/l ve üzerinde çözünmüş oksijen derişimlerinde rahatsız olmadan aktivitelerini sürdürürler. Atık sulara karışan organik maddeler çözünmüş oksijen miktarının düşmesine neden olur. Oksijenin çözünebilirliği suyun tuz derişimi ile ters ilişki içinde olup tuzluluk arttıkça çözünmüş oksijen miktarı azalır. Çözünmüş oksijen düzeyi düşük olması karbondioksit düzeyinin yüksek olmasına ve dolayısıyla canlılar tarafından oksijenin kullanımını sınırlandırmaktadır. Marmara'da $25\text{-}30 \text{ m}$ 'nin altında kalan alt tabaka sularının oksijen doygunluğu % $20\text{-}30$ civarında olması, bu suların oksijenden yetersizliğini göstermektedir. Bu değerin hiçbir zaman % 50 doygunluk değeri üzerine çıkmaması bu tabaka içersine üst tabakalardan çöken organik maddenin parçalanması için gereken oksijenin karşılanamadığının belirgin bir göstergesidir (Atay ve Pulatsü, 2000).

Marmara Denizi örneklerinde tesbit edilen CAT aktivitesi Karadenize oranla yüksektir. İstatiksel açıdan iki deniz arasında önemlilik, Marmara sularının

Karadeniz'e oranla daha tuzlu ve çözülmüş oksijen düzeyi bakımından daha fakir oluşuna bağlı olarak karbondioksit düzeyinin yükselmesi ve dolayısı ile sudaki asiditenin artmasına sebep olarak hidrojen peroksit düzeyinin daha fazla (Filho, 1996) artmasına bağlanabilir. Diğer yandan petrol ve petrol ürünleri kirliliğinde deniz suyu yüzeyinde oksidatif reaksiyonlar artar. Bu reaksiyonlar sonucu çözülmüş oksijen azalır. Bir litre ham petrolün tamamının oksidasyonu için, 15 °C'deki hava ile doygun 400 000 litre deniz suyundaki oksijenin tamamına ihtiyaç vardır (Atay ve Pulatsü, 2000). Marmara Denizi kirliliğinin önemli etkenlerinden biri petrol ve petrol ürünleridir.

Kolaylı ve Keha (1999)'nın Trabzon'da, denize adapte ve tatlı su kültür Gökkuşluğu alabalıklarında antioksidan enzim aktivitelerinin karşılaştırılmasını amaçladıkları bir çalışmada, deniz suyuna adapte olan alabalıkların karaciğeri homojenatlarında ölçülen SOD aktivitesi (407 ± 19 U/g-yaş ağırlık), tatlı su alabalıkları (459 ± 23 U/g-yaş ağırlık)'na göre düşük bulunmuş olup, CAT ve GPx aktivitesi ise, denize adapte olanlarda ($4,65 \pm 0,81$ BU/g-yaş ağırlık, $28,31 \pm 4,35$ U/g-yaş ağırlık) yüksek, tatlı su alabalıklarında ($3,54 \pm 0,55$ BU/g-yaş ağırlık, $22,47 \pm 2,55$ U/g-yaş ağırlık) daha düşük bulunmuştur. Denize adapte olanlarda SOD aktivitesinin düşük tesbit edilmiş olması, deniz suyundaki süperoksit radikallerinin tatlı suya oranla daha düşük olduğu ve bu yüzden de CAT ve GPx aktivitelerinin daha yüksek tesbit edildiği belirtilmiştir.

Karadeniz istavrit örneklerinde GPx aktivitesinin Marmara'ya göre yüksek bulunması Kolaylı ve Keha (1999)'nın çalışması ile uyumaktadır. Diğer açıdan GPx aktivitesini yüksek, CAT aktivitesinin ve Vitamin A düzeyinin düşük bulunmuş olması bir arada değerlendirildiğinde organik kirleticilerle kirliliğin (Palace ve ark., 1998) bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Marmara ve Karadeniz arasında 1. ve 2. Dönemlerinin Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla $14,10 \pm 3,40$ nmol NADPH+H⁺ /dakika/ mg-protein ve $55,01 \pm 8,82$ nmol NADPH+H⁺ / dakika/ mg-protein olup Karadeniz çinekop örnekleri GPx aktivitesi Marmara örneklerine göre

yüksek tesbit edilmiştir ve istatistiksel $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem, SOD enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,0265 \pm 0,0062$ U/g-protein ve $0,0860 \pm 0,0086$ U/g-protein olup Karadeniz çinekop örnekleri SOD aktivitesi Marmara örneklerine göre yüksek tesbit edilmiştir ve istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem, Vitamin-A düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $69,93 \pm 5,33$ µg/g-yaş ağırlık ve $32,86 \pm 2,39$ µg/g-yaş ağırlık olup Karadeniz çinekop örnekleri Vitamin A düzeyi Marmara örneklerine göre düşük tesbit edilmiş, denizler arası karşılaştırma sonucuna göre istatistiksel $p \leq 0,01$ düzeyinde anlamlılık göstermektedir.

Matkovics ve ark. (1984)'in sazanlarda herbisitlerin peroksid metabolizması enzimleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, doku örneklerinde CAT, SOD ve GPx aktivitesini ölçmüşlerdir. Paraquat, çok yaygın olarak kullanılan bir herbisit olup deniz ve tatlı su kirliliğine neden olmaktadır. SOD aktivitesi kontrol grubunda $943,7 \pm 85,0$ U/g-yaş ağırlık, paraquat uygulanan grupta $1146,5 \pm 135,3$ U/g-yaş ağırlık GPx aktivitesi kontrol grupta $0,047 \pm 0,002$ U/g-yaş ağırlık, paraquat uygulanan grupta $0,059 \pm 0,002$ U/g-yaş ağırlık CAT aktivitesi kontrol grupta $0,66 \pm 0,05$ BU/g-yaş ağırlık, paraquat uygulanan grupta $0,42 \pm 0,02$ BU/g-yaş ağırlık olarak ölçülmüşlerdir. SOD ve GPx aktivitelerinin yüksek bulunması, oluşan oksidatif stres ile superoksit radikalının artması SOD'u indüklemiş, CAT'ı inhibe etmiştir. GPx aktivite artışı, SOD'un katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksit miktarının artmasına bağlanmıştır.

Bu çalışmada, Çinekop karaciğer GPx ve SOD aktivitesi Karadeniz örneklerinde Marmara'ya göre yüksek, vitamin A düzeyi düşük tesbit edilmiştir. Marmara ve Karadeniz kirliliğinin bileşenlerinden biri olan herbisitlerin yol açtığı kirliliğe Karadeniz çinekoplarının antioksidan sistem olarak verdiği yanıtın Marmara çinekoplarından daha yüksek tesbit edilmesi, denizler arasındaki kirletici bileşenlerinin ve aynı zamanda da faunalarının farklı olduğunu düşündürmektedir. Enzim aktivitelerindeki artış kirlilik dışında Karadeniz'de yakalanan 1. Dönem çinekopların sadece 3-4 ay (yaz dönemi) Karadeniz'de bulunmaları ve Aralık ayı sonuna kadar Marmara'ya göçlerini tamamlamalarına bağlı olarak antioksidan sistem aktivasyonunun göç dönemi sebebiyle artmış olması olası nedenlerdendir. Vitamin A

düzeyindeki istatistiksel anlamlılık, Palace ve ark. (1998)'lerinin organik kirleticilerden PCB türevleri ile yaptıkları çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bu yüzden bu parametrenin sonucu Karadeniz'deki organik kirliliğe dikkat çekmektedir (Anonim 2000).

Antioksidan enzim düzeyleri ile Vitamin A düzeyi, türler arasında da karşılaştırılmış olup Marmara İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $3,082 \pm 0,61$ ve $14,10 \pm 3,40$ nmol NADPH+H⁺/ dakika /mg-protein olup 2. Dönem ortalamaları $19,33 \pm 2,24$ ve $28,84 \pm 5,75$ nmol NADPH+H⁺/ dakika /mg-protein olarak ölçülmüştür. Marmara Denizi istavrit ve çinekop örnekleri GPx aktivitesi yönünden türler arası farklılık karşılaştırıldığında, her iki dönemde de Çinekop örneklerinde GPx aktivitesi istavritlere göre yüksek ölçülmüş olup, istatistik açıdan anlamlılık ($p \leq 0,05$) bulunmuştur. CAT enzim düzeyleri 2. Dönem ortalamaları sırasıyla, $0,00701 \pm 0,0033$ ve $0,000773 \pm 0,00015$ k/g-protein olarak ölçülmüştür. 2. dönemde Çinekop örneklerinde CAT aktivitesi istavritlere göre yüksek ölçülmüş ve istatistiksel $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem bulunmuştur. 1. Dönem Vitamin A düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $86,54 \pm 13,18$ ve $69,93 \pm 5,33$ µg/g-yaş ağırlık olup, 2. Dönem ortalamaları $54,72 \pm 6,00$ ve $31,52 \pm 1,81$ µg/g-yaş ağırlık olarak ölçülmüştür. Marmara Denizi istavrit ile çinekop örnekleri Vitamin A düzeyi yönünden türler arası farklılık karşılaştırıldığında, her iki dönemde de Çinekop örneklerinde Vitamin A düzeyi istavritlere göre düşük bulunmuş olup, istatistik açıdan 1. dönem $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık 2. Dönemde istatistik olarak önemin $p \leq 0,01$ düzeyinde arttığı tesbit edilmiştir.

Balıklardaki lipidler 2 sınıfa ayrılır, hücre mebranlarında bulunan fosfolipitler (yapısal lipitler) ve depo edilen trigliseritlerdir. Beyaz kas dokusu fazla olan balıklarda lipid oranı % 1'den daha azdır. Bunun % 90'ından fazlası fosfolipiddir. Balıklar depo ettikleri yağ dokusuna göre yağlı ve yağsız balıklar olarak sınıflandırılır. Yağsız balıklar, enerji için lipidleri karaciğerde depolarken, yağlı balıklar ise vücuda yayılmış tüm yağ hücrelerinde lipidleri depolarlar. Yağsız balıkların kırmızı kasları bazı trigliseritleri içermekte olup bu kaslarda lipid direk

katabolize edilerek enerji elde edilir. Diğer açık renk kaslarda ise enerji için glukojen anaerobik yolla kullanılarak enerjiye çevrilir. Göç eden balıklarda yavrulama döneminde enerji eldesi için, gonadlarda depo edilen yağlar mobilize edilir. Balık lipidleri memelilerden farklıdır. Bu farklılık, % 40'dan fazla uzun zincirli ve doymamış yağ asidi (14C-22C) içermesi ile ilgilidir. Tatlı su balıklarında uzun zincirli ve doymamış (4, 5 ve 6 çift bağ) yağ asitleri % 70 civarında iken, deniz balıklarında bu oran % 88'e çıkmaktadır (Borresen, 1995). Balıklarda en önemli yağ asitleri; omega-3 (n-3), ekosapentaenoik asit (EPA, C-20:5) ve dekosahexaenoik asit (DHA, C-22:6)'dir (İmre ve Sağlık, 1998).

Bu çalışmada Marmara Denizi yüzey balıkları arasında yapılan karşılaştırma sonucu GPx aktivitesi ve Vitamin A düzeyi her iki dönemde de anlamlı bulunmuş, CAT aktivitesi sadece 2. Dönemde önemlilik göstermiştir. Çinekop balıkları karaciğer dokusu örneklerine ait hesaplanan veriler, GPx aktivitesi açısından istavritlerden yüksek, CAT ve Vitamin A yönünden ise istavritlerden düşük bulunmuştur. Çinekop balıkları istavritlere göre daha yağlıdır (İmre ve Sağlık, 1998), bu yüzden oksidatif stres koşullarında lipid peroksidasyonuna karşı savunma yönünde vereceği antioksidan yanıt istavritlere oranla daha fazla olması olasıdır. Çinekoplar için 1. Avlama dönemi özellikle en yağsız oldukları ilkbahar (Atay ve Bekcan, 2000) dönemine denk gelmekte ve her iki balık türü için bu av dönemi yavrulama dönemi (Atay ve Bekcan, 2000; Anonim 2003) değildir. Bundan yola çıkarak GPx aktivitesinin her iki dönemde de istavritlere oranla yüksek, CAT ve Vitamin A düzeyinin düşük bulunması türler arası farkı akla getirdiği kadar Marmara'da var olan organik kirliliği (Anonim 2000) de düşündürmektedir.

Zıkıç ve ark.,(1997)'lerinin ağır metallerden kadmiyum kirliliği ile ilgili yaptıkları bir çalışmada; Sazan eritrositlerinde SOD ve CAT aktivitesi kontrol grubuna göre düşük tesbit etmişlerdir. Kadmiyumun yarattığı oksidatif stres sonucu kanda glukoz düzeyi artmasının nedeni, bir yandan glukogenolizisin artması ve diğer yandan da ekstrahepatik dokularda amino asit ve proteinlerden glukoz sentezinin hızlanması ile ilişkilendirilmiştir. Enzim düzeylerindeki azalışın sebebi ise, kadmiyumun hipoksi yaratarak kanda hemotokrit değeri ve hemoglobin

konsantrasyonu düşüşüne neden olmasıyla açıklanmıştır. Bu etkilerin sadece tatlı su balıklarında değil deniz balıklarında da uzun vadede kirliliğe maruz kalma sonucunda görüldüğünü belirtilmiştir.

Cheung ve ark.(2001)'lerinin PAH bileşiklerinin midyelerde GPx, CAT ve SOD düzeyine olan etkisini incelemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, karaciğer CAT düzeyi düşük bulunmasına karşın GPx ve SOD düzeyleri kirlenici konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır.

Bu çalışmada, çinekozlarda ağır metal kirliliği sonucu CAT aktivitesinin düşmüş olabileceği düşünülse bile, Gwozdinski ve ark.,(1992)'lerinin bakır ve cıvanın levrek antioksidan metabolizması üzerine etkilerini araştırdıkları çalışması sonuçlarıyla (GPx ve CAT düşük, SOD yüksek) örtüşmediği için özellikle de Vitamin A düzeyinde gözlenen düşme ile ağır metal kirliliğinden daha çok organik kirliliğe karşı çinekop balıklarının istavritlerden daha duyarlı olduğu düşünülebilir.

Karadeniz 1. Dönem İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $6,74 \pm 1,91$ ve $55,01 \pm 8,82$ nmol NADPH+H⁺/dakika /mg-protein olup, türler arası karşılaştırma yapıldığında Karadeniz çinekop örnekleri GPx aktivitesi istavritlere göre yüksek bulunmuş ve 1. Döneme ait istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem, SOD enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,0282 \pm 0,0052$ ve $0,0860 \pm 0,0086$ U/g-protein olup, Karadeniz çinekop örnekleri SOD aktivitesi istavritlere göre yüksek bulunmuş ve 1. Döneme ait istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem, CAT enzim düzeyleri ortalamaları sırasıyla, $0,000531 \pm 0,00005$ ve $0,000689 \pm 0,00011$ k/g-protein olup, Karadeniz çinekop örnekleri CAT aktivitesi istavritlere göre yüksek bulunmuş ve istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık bulunmuştur. 2. Dönem karşılaştırması Karadeniz'de 2. Dönem Çinekop avlanamadığı için yapılamamıştır.

Bu çalışmada Karadeniz'de çinekop örnekleri enzim aktiviteleri istavritlere göre yüksek bulunmuş olup, tek dönem için (2. Dönem çinekop avlanamadı) istatistik karşılaştırma yapılmıştır. İlk dönemde bulunan istatistik anlamlılık, türler

arası farklılıktan kaynaklanabilir. Vitamin A düzeyinde istatistik bir önem bulunmadığı ve iki dönem karşılaştırılmadığı için tek dönemde bulunan enzimsel aktivite artışını kirliliğe bağlamamak gerekir.

Sonuç olarak, her iki deniz için kirliliğe karşı yüzey balıklarında karaciğer antioksidan savunma sistemine ait enzim ve enzim olmayan antioksidanlarla verdikleri yanıt, Marmara ve Karadeniz kirliliği biyomonitörü olarak değerlendirilebilir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada yüzey balıklarından iki türde antioksidan metabolizma enzimleri olan GPx, CAT ve SOD ile enzim olmayan Vitamin A parametreleri ölçülerek deniz kirliliği ile olan ilişkisi incelenmiştir.

Marmara Denizi istavrit ve çinekop karaciğer örnekleri dönemler arasındaki karşılaştırmada 2. Dönemde Vitamin A düzeyinde gözlenen düşüş, GPx düzeyindeki artış, Marmara Denizi'nde petrol kirliliğinin önemli boyuta ulaşması sonucu biyolojik sistemlerin kirleticilere karşı verdiği yanıt olarak değerlendirilebilir.

Marmara ile Karadeniz'in karşılaştırılmasında; Marmara Denizi istavrit örneklerinde tesbit edilen CAT aktivitesi Karadenize oranla yüksektir. İstatiksel açıdan iki deniz arasında önemlilik, Marmara hidrojen peroksit düzeyinin Karadeniz'den daha fazla olmasına bağlanabilir. Diğer yandan petrol ve petrol ürünleri kirliliğinde deniz suyu yüzeyinde oksidatif reaksiyonlar artar. Marmara Denizi kirliliğinin önemli etkenlerinden biri petrol ve petrol ürünleridir. İstavrit örnekleri CAT aktivitesine ait istatistik önemliliğin kirlilik biyobelirteci olarak değerlendirilmesi düşünülebilir. Karadeniz istavrit örneklerinde GPx aktivitesini yüksek, CAT aktivitesinin ve Vitamin A düzeyinin düşük bulunmuş olması bir arada değerlendirildiğinde organik kirleticilerle kirliliğin bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Çinekop karaciğer GPx ve SOD aktivitesi Karadeniz örneklerinde Marmara'ya göre yüksek, vitamin A düzeyi düşük tesbit edilmiştir. Marmara ve Karadeniz kirliliğinin bileşenlerinden biri olan herbisitlerin yol açtığı kirliliğe Karadeniz çinekoplarının antioksidan sistem olarak verdiği yanıtın Marmara çinekoplarından daha yüksek tesbit edilmesi, denizler arasındaki kirletici bileşenlerinin ve aynı zamanda da faunalarının farklı olmasından kaynaklanabilir. Enzim aktivitelerindeki artış kirlilik dışında, göç dönemine bağlı olarak artmış olabilir. Vitamin A düzeyindeki istatistiksel anlamlılık, Karadeniz'deki organik kirliliğe dikkat çekmektedir.

Türler arası karşılaştırma sonucuna göre; Marmara Denizi yüzey balıkları GPx aktivitesi ve Vitamin A düzeyi her iki dönemde de anlamlı bulunmuş, CAT aktivitesi sadece 2. Dönemde önemlilik göstermiştir. Çinekop balıkları karaciğer dokusu GPx aktivitesi açısından istavritlerden yüksek, CAT ve Vitamin A yönünden ise istavritlerden düşük bulunmuştur. Çinekop balıkları istavritlere göre daha yağlıdır bu yüzden oksidatif stres koşullarında lipid peroksidasyonuna karşı vereceği antioksidan yanıt istavritlere oranla daha fazla olması olasıdır. GPx aktivitesinin her iki dönemde de istavritlere oranla yüksek, CAT ve Vitamin A düzeyinin düşük bulunması türler arası fark olarak yorumlanabileceği gibi Marmara'da var olan organik kirliliği de hatırlatmaktadır.

Karadeniz'de çinekop örnekleri enzim aktiviteleri istavritlere göre yüksek bulunmuş olup, tek dönem için istatistik karşılaştırma yapılmıştır. İlk dönemde bulunan istatistik anlamlılık, türler arası farklılıktan kaynaklanabilir. Vitamin A düzeyinde istatistik bir önem bulunmadığı ve iki dönem karşılaştırılmadığı için tek dönemde bulunan enzim aktivite artışını kirliliğe bağlanmaması gerektiği kanısındayız.

Sonuç olarak, her iki deniz için kirliliğe karşı yüzey balıklarında karaciğer antioksidan savunma sistemine ait enzim ve enzim olmayan antioksidanlarla verdikleri yanıt, Marmara ve Karadeniz kirliliği biyomonitörü olarak değerlendirilebilir.

Balık eti insanlar için besleme değeri ve protein kalitesi bakımından çok önemli bir yere sahiptir. İnsanların deniz ve tatlısu ürünlerine ve kirlenmemiş yiyeceklere olan ihtiyacı giderek artmaktadır. Bu bağlamda denizlerimizdeki kirlilikten etkilenmeyecek sağlıklı ürünler elde etmek için; her kirletici için su analizleri ve deniz balıkları dokularında kirlilik parametrelerinin rutin hale getirilmesi gerekmektedir.

Deniz balıklarında kirliliğin biyomönütörü olan antioksidan sistem parametrelerinin; yüzey balıklarının karnivor ve herbivor türleri arasında, yüzey ve

dip balık türleri arasında, göçmen balıklar ile göçmen olmayan deniz balıkları hem kendi içlerinde hem de aralarında çalışılması, Ülkemiz deniz balıkları antioksidan sistemi hakkında daha detaylı bilgi edinilmesine ve daha sağlıklı su ürünü tüketilmesine imkan sağlayacaktır. Bu çalışmada, deniz kirliliği ile yüzey balıklarının antioksidan metabolizması ilişkisini incelenmiştir ve elde edilen veriler açısından, bu konuda yapılacak çalışmalara kaynak oluşturabilir.



ÖZET

Marmara ve Karadeniz Bölgesi Yüzey Balık Karaciğerinde Vitamin A ile Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutasyon Peroksidaz Enzim Düzeyleri

Marmara ve Karadeniz'den 2 dönem 15 adet istavrit ve 15 adet çinekop örneği oluşturmak amacıyla; balık karaciğerini içeren 10 g'lık havuzlar oluşturuldu. Balıkların uzunlukları ve ağırlıkları kaydedildikten hemen sonra iç organları buzlu ortamda çıkartıldı ve karaciğerleri fizyolojik tuzlu suyla yıkandı. Yıkama işlemini takiben enzim analizleri için 5 g karaciğer, Vitamin analizleri için ise diğer 5 g karaciğer örneği numaralandırılmış ayrı poşetlere konuldu ve alüminyum folyo ile sarılarak sıvı nitrojen tankında depolandı. Analiz işlemlerine kadar -80 derecelik soğutucuda muhafaza edildi.

Yüzey balıklarından istavrit ve çinekop örnekleri analizlerinden elde edilen sonuçların t-testi kullanılarak dönemler arası ve denizler arası karşılaştırılması neticesinde Marmara Denizi istavrit balıkları dönemler arasındaki karşılaştırmasında 2. Dönem GPx aktivitesi 1. Döneme göre artmış (1. Dönem; $3,08 \pm 0,61$ ve 2. Dönem; $19,33 \pm 2,24$ nmol NADPH+H⁺/dak./mg-protein) olup $p \leq 0,01$ düzeyinde istatistiksel anlamlılık ve 2. Dönem Vitamin A düzeyi 1. Döneme göre düşük (1. Dönem; $86,54 \pm 13,18$ ve 2. Dönem; $54,72 \pm 6,00$ µg/g-yaş ağırlık) bulunarak $p \leq 0,05$ düzeyinde istatistiksel anlamlılık tesbit edilmiştir. SOD ve CAT için ($p \geq 0,05$) fark tesbit edilmemiştir. Çinekoplarda ise sadece vitamin A düzeyi 2. Dönem 1. Döneme göre düşük (1. Dönem; $69,93 \pm 5,33$ ve 2. Dönem; $31,52 \pm 1,81$ µg/g-yaş ağırlık) ölçülmüş ve istatistik olarak $p \leq 0,05$ fark bulunmuştur. CAT, SOD ve GPx için ($p \geq 0,05$) fark tesbit edilmemiştir. Karadeniz istavritlerinde hiç bir parametre için ($p \geq 0,05$) fark bulunmamıştır.

Marmara ile Karadeniz'in karşılaştırılmasında Denizler arasında yapılan karşılaştırmada GPx aktivitesi Karadeniz istavritlerinde Marmara'ya göre yüksek

(Marmara; $3,082 \pm 0,61$ ve Karadeniz; $6,74 \pm 1,91$ nmol NADPH+H⁺/ dakika/ mg-protein) bulunarak, 1. Dönemde istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem bulunurken, 2. Dönem, istatistik açıdan anlamlılık ($p \geq 0,05$) tesbit edilmemiştir. Her iki dönemde de CAT aktivitesi Karadeniz örneklerinde (1.Dönem; $0,000531 \pm 0,00005$ ve 2.Dönem ; $0,000742 \pm 0,00013$ k/g-protein) Marmara'ya (1.Dönem; $0,00217 \pm 0,00027$ ve 2.Dönem; $0,00701 \pm 0,0033$ k/g-protein) göre yüksek tesbit edilmiştir. 1.Dönem olarak istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem, 2. Dönemde ise istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık bulunmuştur. Her iki dönemde de Karadeniz örnekleri Vitamin A düzeyleri (1.Dönem; $54,55 \pm 3,46$ ve 2.Dönem; $36,11 \pm 2,53$ µg/g-yaş ağırlık) Marmara'ya (1.Dönem; $86,54 \pm 13,81$ ve 2.Dönem; $54,72 \pm 6,00$ µg/g-yaş ağırlık) göre düşük ölçülmüştür. 1.Döneme ait veriler karşılaştırıldığında istatistik olarak $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık görülmüş olup, 2. Dönem için istatistik önemin $p \leq 0,01$ düzeyinde arttığı tesbit edilmiştir. Çinekozlarda ise sadece 1.dönem karşılaştırılabilmiş, Karadeniz çinekop örnekleri GPx aktivitesi ($55,01 \pm 8,82$ nmol NADPH+H⁺/ dakika/ mg-protein) Marmara örnekleri ($14,10 \pm 3,40$ nmol NADPH+H⁺/dakika/ mg-protein)'ne göre yüksek tesbit edilmiştir ve istatistiksel $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem, Karadeniz çinekop örnekleri SOD aktivitesi ($0,0860 \pm 0,0086$ U/g-protein) Marmara örnekleri ($0,0265 \pm 0,0062$ U/g-protein)'ne göre yüksek tesbit edilmiştir ve istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem, Karadeniz çinekop örnekleri Vitamin A düzeyi ($32,86 \pm 2,39$ µg/g-yaş ağırlık) Marmara örnekleri ($69,93 \pm 5,33$ µg/g-yaş ağırlık)'ne göre düşük tesbit edilmiş, istatistiksel $p \leq 0,01$ düzeyinde anlamlılık göstermektedir.

Marmara Denizi istavrit ve çinekop örnekleri GPx aktivitesi yönünden türler arası farklılık karşılaştırıldığında, her iki dönemde de Çinekop örneklerinde GPx aktivitesi (1.Dönem; $14,10 \pm 3,40$ ve 2.Dönem; $28,84 \pm 5,75$ nmol NADPH+H⁺/ dakika /mg-protein) istavritlere (1.Dönem; $3,082 \pm 0,61$ ve 2.Dönem; $19,33 \pm 2,24$ nmol NADPH+H⁺/ dakika /mg-protein) göre yüksek ölçülmüş olup, istatistik açıdan anlamlılık ($p \leq 0,05$) bulunmuştur. 2. dönemde Çinekop örneklerinde CAT aktivitesi ($0,000773 \pm 0,00015$ k/g-protein) istavritlere ($0,00701 \pm 0,0033$ k/g-protein) göre yüksek ölçülmüş ve istatistiksel $p \leq 0,05$ düzeyinde bir önem bulunmuştur. Her iki dönemde de Çinekop örneklerinde Vitamin A düzeyi (1.Dönem; $69,93 \pm 5,33$ ve

2.Dönem; $31,52 \pm 1,81 \mu\text{g/g-yaş}$) istavritlere ($86,54 \pm 13,18$ ve 2.Dönem; $54,72 \pm 6,00 \mu\text{g/g-yaş}$) göre düşük bulunmuş olup, istatistik açıdan 1. dönem $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık 2. Dönemde istatistik olarak önemin $p \leq 0,01$ düzeyinde arttığı tesbit edilmiştir.

Karadeniz 1.Dönem çinekop örnekleri GPx aktivitesi ($55,01 \pm 8,82 \text{ nmol NADPH+H}^+/\text{dakika /mg-protein}$) istavritlere ($6,74 \pm 1,91 \text{ nmol NADPH+H}^+/\text{dakika /mg-protein}$) göre yüksek bulunmuş ve istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem, çinekop örnekleri SOD aktivitesi ($0,0860 \pm 0,0086 \text{ U/g-protein}$) istavritlere ($0,0282 \pm 0,0052 \text{ U/g-protein}$) göre yüksek bulunmuş ve istatistik açıdan $p \leq 0,01$ düzeyinde bir önem, çinekop örnekleri CAT aktivitesi ($0,000689 \pm 0,00011 \text{ k/g-protein}$) istavritlere ($0,000531 \pm 0,00005 \text{ k/g-protein}$) göre yüksek bulunmuş ve istatistik açıdan $p \leq 0,05$ düzeyinde anlamlılık bulunmuştur. Vitamin A'da istatistik açıdan önem ($p \geq 0,05$) bulunmamıştır.

Anahtar Sözcükler: Balık, Antioksidatif Metabolizma, Karaciğer, Deniz kirliliği

SUMMARY

Vitamin A, Superoxide Dismutase, Glutathion Peroxidase and Catalase Levels in Liver of Fishes Locates in Surface (Pelagic Fishes) of the Marmara and the Black Sea

To make 15 samples of scad and blue fish from Marmara and Black Sea liver pools were established each weighing 10 grams. After recording the weight and length of each fish the livers were immediately taken in icy environment and the livers were washed with saline. After washing procedure samples were separated with nylon sample bags, wrapped with aluminium foil and placed in liquid nitrogen tank each weighing 5 grams for vitamin and enzyme analysis.

Values obtained from the scad and blue fish which are surface fishes were compared with t-test. In scad's of Marmara Sea the GPX activity were found higher (1st term; $3,08 \pm 0,61$ and 2nd term; $19,33 \pm 2,24$ nmol NADPH+H⁺/min./mg-protein) in the 2nd term then 1st term and the results were statistically significant as $p \leq 0.01$. 2nd term Vitamin A levels were lower (1st term; $86,54 \pm 13,18$ and 2nd term; $54,72 \pm 6,00$ µg/g-w.t.w.) than the first term and were found statistically significant as $p \leq 0.05$. There were no significant difference in between the values of SOD and CAT. In blue fish's only vitamin A values between terms (1st term; $69,93 \pm 5,33$ and 2nd term; $31,52 \pm 1,81$ µg/g-w.t.w.) were found statistically significant as $p \leq 0.05$. In Black Sea scads none of the parameters were found significantly different as $p \geq 0,05$.

When comparing the Marmara and Black sea the GPx activity of Black Sea scads were found higher than Marmara scads (Marmara; $3,082 \pm 0,61$ and Black Sea; $6,74 \pm 1,91$ nmol NADPH+H⁺/ min./ mg-protein) but while the values of the 1st term found statistically significant as $p \leq 0.05$ there was no significant difference ($p \geq 0,05$) between 2nd term. CAT activity of Black Sea samples were found higher (1st term; $0,000531 \pm 0,00005$ and 2nd term; $0,000742 \pm 0,00013$ k/g-protein) than Marmara (1st term; $0,00217 \pm 0,00027$ and 2nd term; $0,00701 \pm 0,0033$ k/g-protein) in

both terms. 1st term was statistically significant as $p \leq 0.01$ and in 2nd term statistically significant as $p \leq 0.05$. In both terms Vitamin A values of Black sea (1st term; $54,55 \pm 3,46$ 2nd term; $36,11 \pm 2,53$ $\mu\text{g/g-w.t.w.}$) were lower than Marmara Sea (1st term; $86,54 \pm 13,81$ 2nd term; $54,72 \pm 6,00$ $\mu\text{g/g-w.t.w.}$). In the 1st term the values were statistically significant as $p \leq 0,05$ and in the 2nd term the values were statistical significance were higher as $p \leq 0,01$. Blue fish values were only compared only in the 1st term. Black Sea blue fishes GPx activity ($55,01 \pm 8,82$ nmol NADPH+H⁺/min./mg-protein) were higher than Marmara ($14,10 \pm 3,40$ nmol NADPH+H⁺/min/mg-protein) and statistically significant as $p \leq 0,01$. Black sea blue fish samples SOD activity ($0,0860 \pm 0,0086$ U/g-protein) were found higher than Marmara sea ($0,0265 \pm 0,0062$ U/g-protein) and statistically significant as $p < 0.05$. Black Sea çinekop samples Vitamin A levels ($32,86 \pm 2,39$ $\mu\text{g/g-w.t.w.}$) were found lower than Marmara Samples ($69,93 \pm 5,33$ $\mu\text{g/g-w.t.w.}$) and statistically significant as $p \leq 0,01$.

When comparing the level of GPx activity between scad and blue fish species of Marmara Sea, in both terms the activity of blue fish samples (1st term; $14,10 \pm 3,40$ and 2nd term; $28,84 \pm 5,75$ nmol NADPH+H⁺/min./mg-protein) were higher than scads (1st term; $3,082 \pm 0,61$ and 2nd term; $19,33 \pm 2,24$ nmol NADPH+H⁺/min./mg-protein) and statistically significant as $p \leq 0,05$. In 2nd term blue fish samples CAT activity ($0,000773 \pm 0,00015$ k/g-protein) were higher than scads ($0,00701 \pm 0,0033$ k/g-protein) and statistically significant as $p \leq 0,05$. In both terms blue fish samples vitamin A levels (1st term; $69,93 \pm 5,33$ and 2nd term; $31,52 \pm 1,81$ $\mu\text{g/g-w.t.w.}$) were found lower than scads (1st term; $86,54 \pm 13,18$ and 2nd term; $54,72 \pm 6,00$ $\mu\text{g/g-w.t.w.}$) such as in 1st term statistically significant as $p \leq 0,05$ and in the 2nd term statistical significance were raised as $p \leq 0,01$.

Black sea blue fish samples GPx activity ($55,01 \pm 8,82$ nmol NADPH+H⁺/min./mg-protein) were found higher than scad samples ($6,74 \pm 1,91$ nmol NADPH+H⁺/min./mg-protein) and statistical significance was $p \leq 0,01$. Blue fish samples SOD activity ($0,0860 \pm 0,0086$ U/g-protein) were higher than scad samples ($0,0282 \pm 0,0052$ U/g-protein) and statistical significance was $p \leq 0,01$. Blue

fish samples CAT activity ($0,000689 \pm 0,00011$ k/g-protein) were higher than scads ($0,000531 \pm 0,00005$ k/g-protein) and statistically significant as $p \leq 0,05$. There were no significant difference between Vitamin A values ($p \geq 0,05$).

Key Words: Fish, Antioxidative Metabolism, Liver, Sea Pollution



KAYNAKLAR

- Aebi, H.E. (1983). Catalase in: H.U.Bermeyer (Hrsy). Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie; Weinheim, Bd. III, 273-286.
- Anonim (1999). Biomarkers of Oxidative Stress and Genotoxicity in Liver of Field-Collected Brown Bullhead. Technical Note EEDP-04-31.
- Anonim (2000). Ulusal Çevre Eylem Planı (UÇEP) İhtisas Komisyon Raporu. T.C. Çevre Bakanlığı Yayınları 2-91.
- Anonim (2001). Pomatomus saltator.
Erişim tarihi: 18.12.2001
Erişim adresi: <http://www.yelkenci.org/haftaninkonusu.php>
- Anonim (2003). Oksidatif Stres
Erişim tarihi: 13.02.2003
Erişim adresi: <http://www.gata.edu.tr/temelbilimler/biyokimya/seminer/OKSİDATİ%20STRES>
- Anonim (2004). Lüfer
Erişim tarihi: 21.04.2004
Erişim adresi: <http://www.dsti.org/html/lufer.htm>
- Arınç, E., Şen, A. (1993). Effects of in vivo benzene Treatment on Cytochrome P450 and Mixed-Function Oxidase Activities of Gilthead Seabream Liver Microsomes. Comp. Biochem. Physiol. vol: 104C no:1 p:61-65.
- Arınç, E., Şen, A. (1994). Effects of in vivo benzo(a)pyrene treatment on liver microsomal mixed-function oxidase activities of gilthead seabream (sparus aurata). Comp. Biochem. Physiol. vol: 107C no:3 p:405-414
- Arınç, E., Şen, A. (1999). Hepatic cytochrome P-4501A and 7-ethoxyresorufin O-deethylase induction in mullet and common sole as an indicator of toxic organic pollution in İzmir Bay, Turkey. Marine Environmental Research 48, 147-160.
- Atay, D., Bekcan, S. (2000). Deniz Balıkları ve Üretim Tekniği. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Yayın No:1515; 32-57
- Atay, D., Pulatsü, S. (2000). Su Kirlenmesi ve Kontrolü. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Yayın No:1513: 1-178

Benli, A.H. (2004). Balıkçılık ve Yetiştiricilik.

Erişim tarihi: 12.05.2004

Erişim adresi: <http://stu.inonu.edu.t/cevre/balikcilik.htm>

Borresen, T. (1995). Muscle Anatomy and Function Chemical Composition. FAO, 348:24-27.

Burland, S., Baskin, S., Holowenko, F. (2001). Biochemical and Cellular Biomarkers in Enviromental Toxicity

Erişim tarihi: 27.12.2001

Erişim adresi: www.arleus.com/review/biomarkers/htm

Cheung, C. C. C., Zheng, G. J., Li, a. M. Y., Richardson, B. J., Lam, P. K. S. (2001). Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. Aquatic Toxicol. 52, 189-203

Çelikkale, M. S., Düzgünes, E., Okumuş, İ., Mutlu, C. (1998). Problems and future prospects of the Black Sea fisheries of Turkey. Symposium on fisheries and ecology. 2-4 September Trabzon, Turkey.

Donaldson, D. (2000). Cytochrome P 450 Enzymes. The Journal of The Royal Society for the Promotion of Health, 120, 150-151.

Ersoy, E., Bayşu, N. (1986). Biyokimya. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın No: 408: 465-466, Ankara.

Esin, A., Ekni, M., Gamgam, H. (1997). Sağlık Bilimlerinde İstatistik. Gazi Üniversitesi Yayın No: 171: 355-365, Ankara.

Fenet, H., Casellas, C., Bontoux, J. (1998). Laboratory and Field-Caging Studies on Hepatic Enzymatic Activites in European Eel and Rainbow Trout. Ecotox. And Env. Safety, 40: 137-143.

Filho, W. (1996). Fish antioxidant defenses-A comparative approach. Brazilian J. Med. and Biol. Res. 29: 1735-1742.

Filho,W., Torres, M.A., Tribess, T.B., Pedrosa, R.C., Soares, C.H.L. (2001). Influence of Season and Pollution on the Antioxidant Defenses of the Cichlid Fish Acara. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 34: 719-726.

- Garrigues, Narbonne, J.F., Lafaure, M., Ribera, D., Lemaire, P., Raoux, C., Michel, X., Salaun, J.P., Monad, J.L., Romeo, M. (1993). Banking of environmental samples for short-term biochemical and chemical monitoring of organic contamination in coastal marine environments; the GICBEM experience (1986-1990). *The Science of the Total Environment* 139/140, 225-236
- Gözükara, E.M. (1997). *Biyokimya 2*. İstanbul: Tayf Ofset Matbaası.633
- Gümrükçüoğlu, A. (2003). *Serbest Radikaller*.
Erişim tarihi: 01.12.2003
Erişim adresi: http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm
- Grys, S. (1980). Indirect spectrophometry on vitamin A products. Peak signal readout. *Methods in Enzymology*, 67: 195-199.
- Gwozdziński, K., Roche, H., Peres, G. (1992). The Comparison of the Effects of Heavy Metal Ions on the Antioxidant Enzyme Activities in Human and Fish Erythrocytes. *Comp.Biochem.Physiol.*, 102C: 57-60.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M., Storey, K.B. (2000). Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress.
Erişim tarihi: 01.02.2002
Erişim adresi: hermes@unb.br.
- Hidalgo, C.M., Exposito, A., Palma, J.M., Higuera, M. (2002). Oxidative Stress Generated by Dietary Zn-Deficiency. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 34: 183-193.
- İmre, S., Sağlık, S. (1998). Fatty Acid Composition and Cholesterol Content of Some Turkish Fish Species. *Turk J. Chem.*, 22: 321-324.
- İtegin, M. (2002). *Oksijen ve Canlılar*.
Erişim tarihi: 30.07.2002
Erişim adresi: <http://www.klinikbiyokimya.com/seminer/oksijen.htm>
- Jansens, B.J., Childress, J.J., Baguet, F., Rees, J.F. (2000). Reduced enzymatic antioxidative defense in deep-sea fish. *The Journal of Experimental Biology* 203: 3717-3725.
- Jones, T.W., Thor, H., Orrenius, S. (1986). Cellular Defense Mechanisms Against Toxic Substances. *Arch.Toxicol.*, 9: 259-271.

- Kaya, S., Piriçci, İ. (1998). Çevre Toksikolojisi. Çevre Bilimi ve Çevre Toksikolojisi. Medisan Yayın Serisi, 36: 40-45.
- Kleinow, K.M., Melancon, J.M., Lech, J.J. (1987). Biotransformation and Induction: Implications for Toxicity, Bioaccumulation and Monitoring of Environmental Xenobiotics in Fish. Environmental Health Perspectives, 71: 105-119.
- Kolaylı, S., Keha, E. (1999). A Comparative Study of Antioxidant Enzyme Activities in Freshwater and Seawater-Adapted Rainbow Trout. J. Biochem. Molecular Toxicology, 13: 334-337.
- Mather-Mihaich, E., Giulio, R.T. (1986). Antioxidant Enzyme Activities and Malondialdehyde, Glutathione and Methemoglobin Concentrations in Channel Catfish Exposed to DEF and *N*-Butyl Mercaptan. Comp. Biochem. Physiol., 85C: 427-432.
- Matkovic, B., Szabo, L., Varga, I., Bababas, K., Berencsi, G., Nemcsok, J. (1984). Effects of A Herbicide on The Peroxide Metabolism Enzymes and Lipid Peroxidation in Carp Fish. Acta Biologica Hungarica, 35: 91-96.
- Misra, H.P., Fridovich, I. (1972). Role of Superoxide Anion in the Autooxidation of Epinephrine and Simple Assay for Superoxide Dismutase. J. Biol. Chem., 247: 283-293.
- Murray, K.R., Mayes, P.A., Granner, P.K., Rodwel, V.W. (1993). Harper's Biochemistry. 24. Ed. Prentice-Hall International Inc.
- Oost, R., Heida, H., Opperhuizen, A., Vermeulens, N. (1991). Interrelationships Between Bioaccumulation of Organic Trace Pollutants and MFO-Induction in Fish. Comp. Biochem. Physiol., 100C: 43-47.
- Orbea, A., Fahimi, D.H., Cajaravile, M.P. (2000). Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. Histochem. Cell. Biol. 114: 393-404
- Paglie, D.E., Valantine, W.N. (1967). Studies on Qualitative and Quantative Characterization of Erythrocyte Glutathion Peroxidase. J.Lab.Clin. Met., 70: 158-169.
- Palace, V.P., Brown, S.B., Baron, C.L., Fitzsimons, J., Woodin, R.B., Stegeman, J.J., Klaverkamp, J.F. (1998). An evaluation of the relationships among oxidative

- stress, antioxidant vitamins and early mortality syndrome (EMS) of lake trout (*Salvelinus namaycush*) from lake ontario. *Aquatic Toxicol.* 43: 195-208
- Pandey, S., Ahmad, I., Parvez, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Raisuddin, S.(2001). Effect of Endosulfan on Freshwater Fish. *Arch. Environ. Contam.Toxicol.*, 41: 345-352.
- Pascual, P., Pedrajas, J.R., Toribio, F., Lopez-Barea, J., Peinado, J. (2003). Effect of Food Deprivation on Oxidative Stress Biomarkers in Fish. *Chemico-Biological Intreactions*, 145: 191-199.
- Radi, A.R., Matkovics, B., Hai, Q., Gabrielak, T. (1985). Comparative Antioxidant Enzyme Study in Fresh Water Fish with Different Types of Feeding Behaviour. *Acta, Biologica Hungarica*, 36: 169-174.
- Radi, A.R., Hai, Q., Matkovics, B. (1986). Comparative Antioxidant Enzyme Study in Fresh Water Fishes. *Acta, Biologica Hungarica*, 37: 135-141.
- Radi, A.R., Matkovics, B. (1988). Effects of Metal Ions on The Antioxidant Enzyme Activities, Protein Contents and Lipid Peroksidation of Carp Tissues. *Comp. Biochem. Physiol.*, 90C: 69-72.
- Snyder, J.M. (2000). Cytochrome P 450 Enzymes in Aquatic Invertebrates: Recent Advantaces and Future Directions. *Aquatic Toxicology*, 48: 529-547.
- Storey, B.K. (1996). Oxidative Stress: Animal Adaptations in Nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Reserch*, 29: 1715-1733.
- Stegeman, J.J., Lech, J. (1991). Cytochrome P-450 monooxygenase systems in aquatic species: Carcinogen and pollutant exposure. *Environmental Health Perspectives*, 90 : 101-109
- Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y. (1988). A simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.*, 34: 497-500
- Suzuki, J.P., Katoh, N.A. (1990). A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in catltle using only spectrophotometer. *J. Vet. Sci.*, 52: 1281-1283
- Şen, A., Arınç, E. (2000). Further immunochemical and biocatalytic characterization of CYP1A1 from feral leaping mullet (*Liza saliens*)liver microsomes. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 126: 235-244

- Şengör, F.G., Çelik, U., Akkuş, S. (2000). Buzdolabı Koşullarında Depolanan İstavrit Balığının Tazeliğinin ve Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 24: 187-193.
- Yalçın, A.S. (2002). Serbest Radikaller ve Antioksidanlar: Hastalıklarla İlişkileri ve Ölçüm Yöntemleri. Konferans. Ankara.
- Yurdakul, Z. (2004). Oksijen ve Canlılar.
Erişim tarihi: 10.01.2004
Erişim adresi: <http://www.biyokimya.8m.net/oksijen.html>
- Yücel, Ş., Erkoyuncu, İ. (2000). Orta Karadeniz Bölgesi'nde Avlanan İstavrit (Trachurus trachurus)'in Populasyon Dinamiği. Turk. J. Biol., 24:543-552.
- Wefers, H., Sies, H. (1988). The protection by ascorbate and glutathione against microsomal lipid peroxidation is dependent on vitamin E. Eur. J. Biochem., 174: 353-357
- Weichselbaum, T. E. (1946). An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of blood serum and plasma. Am. J. Clin. Path., 10: 40-49.
- Winston, G.W. (1991). Oxidants and Antioxidants in Aquatic Animals. Comp. Biochem. Physiol., 100C: 173-176.
- Zıkıç, V., Stajn, A.S., Ognjanovic, B.I., Pavlovic, S.Z., Saicic, Z.S. (1997). Activities of Superoxide Dismutase and Catalase in Erythrocytes and Transaminases in the Plasma of Carps Exposed to Cadmium. Physiol. Res., 46: 391-396.



Ek Çizelge 1. Marmara 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri

No	GPx (NADPH+H/dak./mg-protein)			
	İstavrit Marmara 1.Dönem	İstavrit Marmara 2.Dönem	Çinekop Marmara 1.Dönem	Çinekop Marmara 2.Dönem
1	3,86	24,70	24,27	26,30
2	Ölçülemedi	9,96	9,57	0,43
3	0,77	16,95	21,73	Ölçülemedi
4	Ölçülemedi	17,62	7,09	10,35
5	Ölçülemedi	30,71	13,58	27,70
6	Ölçülemedi	11,15	0,72	6,39
7	4,81	13,04	15,09	9,05
8	2,89	8,10	3,84	33,00
9	1,81	24,27	6,34	32,60
10	Ölçülemedi	Ölçülemedi	7,52	71,60
11	2,52	24,70	21,13	46,50
12	Ölçülemedi	30,79	14,89	25,08
13	6,03	12,13	6,34	26,76
14	Ölçülemedi	27,17	5,17	59,28
15	1,97	Ölçülemedi	54,34	Ölçülemedi

Ek Çizelge 2. Marmara 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri

No	SOD (U/g-protein)			
	İstavrit Marmara 1.Dönem	İstavrit Marmara 2.Dönem	Çinekop Marmara 1.Dönem	Çinekop Marmara 2.Dönem
1	0,0734	0,0480	0,0107	0,0232
2	0,1075	0,0469	Ölçülemedi	0,0440
3	0,0233	0,0655	0,0357	0,0814
4	0,0860	0,0742	0,0571	0,131
5	0,0426	0,0622	0,0118	0,0557
6	0,0487	0,0666	0,0244	0,0271
7	0,475	0,0705	0,0271	0,0273
8	0,0553	0,0351	0,0211	0,0288
9	0,0107	0,0375	0,0255	0,0131
10	0,0283	0,0224	Ölçülemedi	0,0112
11	0,0222	0,0407	0,0154	0,0290
12	Ölçülemedi	0,0358	0,0036	0,0260
13	Ölçülemedi	0,0523	0,0069	0,0164
14	Ölçülemedi	0,0660	0,0850	0,0265
15	0,0448	0,140	0,0205	0,0337

Ek Çizelge 3. Marmara 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri

No	CAT (k/g-protein)			
	İstavrit Marmara 1.Dönem	İstavrit Marmara 2.Dönem	Çinekop Marmara 1.Dönem	Çinekop Marmara 2.Dönem
1	0,00466	0,00420	0,00091	0,00228
2	Ölçülemedi	0,00220	0,00023	0,00037
3	0,00142	0,00308	0,00478	0,00072
4	0,00186	0,00560	0,00045	0,00109
5	0,00200	0,00422	0,00054	0,00055
6	0,00230	0,00760	0,00070	0,00041
7	0,00270	0,0537	0,00098	0,00121
8	0,00147	0,00712	0,00081	0,00078
9	0,00126	0,00026	0,00055	0,00185
10	0,00219	0,00056	0,00012	0,00032
11	0,00135	0,00584	0,00044	0,00055
12	0,00177	0,00344	0,00041	0,00024
13	0,00310	0,00311	0,00039	0,00038
14	0,00136	0,00317	0,00068	0,00043
15	Ölçülemedi	0,00101	0,00083	0,00041

Ek Çizelge 4. Marmara Denizi 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait vitamin-A düzeyleri

No	Vitamin-A ($\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık)			
	İstavrit Marmara 1.Dönem	İstavrit Marmara 2.Dönem	Çinekop Marmara 1.Dönem	Çinekop Marmara 2.Dönem
1	41,5	74,2	40,6	32,0
2	70,3	59,5	36,0	46,2
3	109,2	92,0	86,6	25,4
4	160,2	61,8	89,4	25,2
5	138,6	59,1	63,6	43,2
6	219,1	88,1	77,7	33,2
7	62,1	30,2	79,5	38,1
8	73,1	14,3	49,6	23,9
9	57,0	30,2	49,5	30,3
10	51,4	79,7	76,9	26,8
11	36,5	39,6	71,7	37,0
12	40,0	55,0	106,9	31,3
13	90,6	49,2	61,1	25,3
14	67,4	61,8	62,7	31,5
15	81,2	26,1	97,2	23,5

Ek Çizelge 5. Karadeniz 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait GPx enzim düzeyleri

No	GPx (NADPH+H/dak./mg-protein)			
	İstavrit Karadeniz 1.Dönem	İstavrit Karadeniz 2.Dönem	Çinekop Karadeniz 1.Dönem	Çinekop Karadeniz 2.Dönem
1	4,86	13,58	25,36	–
2	Ölçülemedi	12,90	23,22	–
3	Ölçülemedi	20,28	76,90	–
4	Ölçülemedi	11,64	101,9	–
5	1,66	12,49	120,4	–
6	2,14	8,63	99,63	–
7	21,13	12,85	56,23	–
8	Ölçülemedi	31,84	68,95	–
9	6,30	Ölçülemedi	77,61	–
10	Ölçülemedi	Ölçülemedi	29,60	–
11	5,16	Ölçülemedi	34,41	–
12	3,62	Ölçülemedi	18,51	–
13	10,31	12,46	11,77	–
14	1,26	15,09	32,27	–
15	11,02	11,40	48,45	–

Ek Çizelge 6. Karadeniz 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait SOD enzim düzeyleri

No	SOD (U/g-protein)			
	İstavrit Karadeniz 1.Dönem	İstavrit Karadeniz 2.Dönem	Çinekop Karadeniz 1.Dönem	Çinekop Karadeniz 2.Dönem
1	0,0225	Ölçülemedi	0,120	–
2	0,0185	0,0237	0,0625	–
3	0,0180	0,0200	0,0625	–
4	0,0222	Ölçülemedi	0,0389	–
5	0,0200	0,0220	0,120	–
6	0,0291	0,0373	0,120	–
7	0,0158	0,0124	0,0550	–
8	0,0552	0,0158	0,150	–
9	0,0153	0,0333	0,0700	–
10	0,0205	0,0303	0,109	–
11	0,0138	0,0273	0,110	–
12	0,0109	0,0326	0,0750	–
13	0,0213	0,0514	0,0736	–
14	0,0815	0,0295	0,0375	–
15	0,0588	0,0190	0,0855	–

Ek Çizelge 7. Karadeniz 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait CAT enzim düzeyleri

No	CAT (k/g-protein)			
	İstavrit Karadeniz 1.Dönem	İstavrit Karadeniz 2.Dönem	Çinekop Karadeniz 1.Dönem	Çinekop Karadeniz 2.Dönem
1	0,00065	0,00023	0,00066	—
2	0,00060	0,00067	0,00041	—
3	0,00032	0,00035	0,00026	—
4	0,00039	0,00207	0,00075	—
5	0,00070	0,00059	0,00096	—
6	0,00060	0,00065	0,00162	—
7	0,00061	0,00055	0,00079	—
8	0,00033	0,00071	0,00063	—
9	0,00094	0,00066	0,00069	—
10	0,00050	0,00192	0,00017	—
11	0,00028	0,00039	0,00136	—
12	0,00069	0,00052	0,00116	—
13	0,00018	0,00086	0,00045	—
14	0,00069	0,00026	0,00017	—
15	0,00049	0,00070	0,00025	—

Ek Çizelge 8. Karadeniz 1. ve 2. Avlama Dönemi İstavrit ve Çinekop karaciğer örneklerine ait vitamin-A düzeyleri

No	Vitamin-A ($\mu\text{g/g}$ -yaş ağırlık)			
	İstavrit Karadeniz 1.Dönem	İstavrit Karadeniz 2.Dönem	Çinekop Karadeniz 1.Dönem	Çinekop Karadeniz 2.Dönem
1	69,5	17,1	24,4	–
2	49,0	25,4	47,1	–
3	71,7	32,7	32,9	–
4	36,5	45,5	30,9	–
5	50,5	42,6	29,1	–
6	51,8	34,8	19,9	–
7	73,2	49,8	26,2	–
8	34,1	35,7	37,6	–
9	65,0	35,1	21,7	–
10	35,2	54,9	33,1	–
11	62,9	33,0	39,2	–
12	52,5	24,8	45,3	–
13	51,5	42,2	39,8	–
14	69,0	34,9	Ölçülemedi	–
15	45,9	33,2	Ölçülemedi	–

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Ad	Güzin
Soyadı	ÖZKURT BORAZAN
Doğum yeri ve tarihi	İstanbul, 02.03.1971
Uyruğu	T.C.
Medeni durumu	Evli
Askerlik durumu	-
İletişim adresi ve tetefonu	Örnek mah.7.Sok. İmar 2/19 blok no:3 06090 Telsizler/ANKARA

II. Eğitimi

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Bakırköy İ.H. Lisesi (dışardan)
Barbaros Hayrettin Paşa İlkokulu

Yabancı dili: İngilizce

III. Ünvanları :

Veteriner Hekim
Araştırma Görevlisi

IV. Mesleki deneyimi

Araştırma Görevlisi (1996-2004)

V. Üye olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Biyokimya Derneđi

VI. Bilimsel İlgi alanları

Yayımları:

VII. Bilimsel etkinlikleri

Katıldığı Konferans, Sempozyum vb.:

1-Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 21-22 Haziran 2002, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.

2-Doç.Dr. Hamdi Uysal, Protein Biyoteknolojisi Semineri, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2 Mayıs 2003, Ankara.

3-Ulusal HPLC ve Diğer Separasyon Teknikleri Sempozyumu, 25-27 Mayıs 2003, GATA, Ankara.