



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2017; 31 (2): 87 - 92
<http://www.fusabil.org>

Tuğçe KILIÇ
M. Enis YONAR

Fırat Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Su Ürünleri Yetiştiriciliği
Bölümü,
Hastalıklar Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Malathionun Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)'da Paraoksonaz ve Arilesteraz Enzim Aktivitelerine Etkisinin Araştırılması *

Bu çalışmada, pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'a farklı konsantrasyonlarda uygulanan malathionun paraoksonaz (PON) ve arilesteraz (ARE) enzim aktivitelerine etkisinin ortaya çıkarılması amaçlandı. Bunun için malathionun letal konsantrasyon (LC₅₀) değerinin 1/2'si 1/4'ü ve 1/8'i üç deneme grubuna 21 gün süreyle uygulandı. Malathion uygulanan ve kontrol grubundaki balıklardan 7., 14., ve 21. günlerde serum ve karaciğer örnekleri alındı. Alınan örneklerde PON ve ARE enzim aktivitelerindeki değişimler belirlendi. Malathion uygulanan grupların serum ve karaciğerindeki PON ve ARE enzim aktivitelerinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı saptandı (P<0.05). Çalışmanın 7. ve 14. günlerde istatistiksel olarak farkın önemli olduğu bulundu (P<0.05). 21. günde ise bu aktivitelerde farkın önemli olmadığı tespit edildi (P>0.05).

Anahtar Kelimeler: Arilesteraz, balık, enzim, malathion, paraoksonaz

Investigation of Effect of Malathion on Paraoxonase and Arylesterase Enzyme Activities in Scaly Carp (*Cyprinus carpio*)

In this study, it was aimed to investigate the effects on paraoxonase (PON) and arylesterase (ARE) enzyme activities of malathion applied at different concentrations scaly carps (*Cyprinus carpio*). For this purpose, 1/2, 1/4 and 1/8 of letal concentraions (LC₅₀) of malathion were exposed to three experimental groups for 21 days. Serum and liver samples on 7, 14 and 21 days were collected from fish in the control group and experimental groups which were exposed to malathion. Changes in the PON and ARE enzyme activities were determined in the serum and liver samples collected from fish. The PON and ARE activities in the serum and liver decreased in the groups exposed to malathion compared to that of the control group (P<0.05). It was found that statistical difference was significant on 7 and 14 days of the study (P<0.05). No significant difference was determined in these activities on 21 day (P>0.05).

Key Words: Arylesterase, enzyme, fish, malathion, paraoxonase

Giriş

Tarımsal endüstrinin gelişmesi ile aynı alandan yıl boyunca ürün elde edilmesine olanak sağlanırken, bu durum sulak alanları olumsuz etkilemektedir. Tarımsal mücadele amacıyla kullanılan pestisitler, tüm dünyada önemli çevre kirleticileri arasındadırlar. Pestisitlerin, tarımsal üretimin artırılması yönündeki faydaları anlaşıldıkça kullanımı daha yaygın hale gelmektedir. Pestisitlerin hemen hemen tamamı akuatik yaşam için oldukça tehlikelidir. Akuatik ortamlarda pestisit kirliliği, yağmur sularının pestisitleri tarımsal alanlardan akuatik ortamlara taşınmasıyla veya pestisitlerin hava koşullarına bağlı olarak taşınmasıyla gerçekleşmektedir. Bununla birlikte pestisitler evsel ve endüstriyel uygulamalardan sonra yüzey akıntıları veya drenaj kanalları aracılığıyla da havuz, göl ya da nehir gibi büyük su kütlelerine ulaşırlar ve burada suyun kalitesini olumsuz yönde değiştirirler (1). Pestisitler balıklarda sadece ölümlere yol açmaz, aynı zamanda deride özellikle baş bölgesinde, yüzgeçlerde, yutakta ve vücutta kanamalara, fazla mukus salgısına, solungaçlarda hiperemi, hemoraji ve yangıya neden olurlar. Ayrıca zayıflama, durgunluk, iştahsızlık, yüzmede bozukluk, kan tablosunda değişiklik, bağırsaklarda hemoraji ve hiperemi gibi bozukluklar da meydana getirirler (2). Diğer taraftan pestisitler balık vücudunda birikerek insanlara kadar ulaşabilmektedirler (3, 4).

Günümüzde kullanılan pestisitlerin büyük bir kısmı organofosfatlı, karbamatlı ve sentetik piretroid bileşikler şeklindedir. Organofosfatlı pestisitler 1930'lu yıllarda Almanya'da kimyasal savaş ajanları olarak üretilmiş, çevrede hızlı çözünme özellikleri nedeniyle dünya çapında en yaygın olarak kullanılan insektisid grubunu oluşturmuştur. Bu özellik organofosfatlı pestisitlere önemli bir avantaj sağlamasına karşın, genellikle hedef organizma spesiflikleri çok düşük ve hedef olmayan birçok omurgalı ve

Geliş Tarihi : 10.03.2017
Kabul Tarihi : 02.05.2017

Yazışma Adresi Correspondence

M. Enis YONAR
Fırat Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi,
Su Ürünleri Yetiştiriciliği
Bölümü,
Hastalıklar Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

meyonar@firat.edu.tr

* Bu çalışma; Yüksek Mühendis Tuğçe KILIÇ'ın yüksek lisans tezinden özetlenmiş ve Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Yönetim Birimi tarafından SÜF.16.05. nolu proje olarak desteklenmiştir.

omurgasız türüne karşı yüksek akut toksisiteye sahip olduğu için birçok karasal ve akuatik organizma çevredeki bu bileşiklerden oldukça etkilenebilmektedir. Nanogram düzeyindeki çok düşük derişimlerde bile akuatik omurgalı ve omurgasızlarda toksik etkiler oluşturabilen organofosfatlı pestisitlere karşı balıklar çok duyarlıdır (1, 5, 6). Malathion O,O-dimethyl-S-(1,2-dicarbethoxyethyl) phosphorodithioate kimyasal formülüne sahip, tarım ürünlerinin korunmasında ve halk sağlığında çeşitli böceklerle karşı çok yaygın kullanımı olan, balıklarda yüksek derecede toksisiteye sahip organofosfatlı bir insektisitdir (7, 8).

Paraoksonaz (PON), hem arilesteraz (ARE) (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (arildialkil fosfataz; organofosfat hidrolaz; paraokson hidrolaz; E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip karaciğerde sentezlenen, aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan bir ester hidrolazdır. PON'un fizyolojik substrat(lar)'ı henüz tanımlanmamıştır; fakat insektisit ve sinir gazı yapımında yaygın olarak kullanılan organofosfat bileşiklerinin hidrolizini katalizlemekte ve bu nedenle *in vivo* ksenobiyotik metabolizması ve toksikolojik çalışmalar için büyük önem taşımaktadır (9).

PON enzimi ilk olarak 1953 yılında Aldridge tarafından insan kan serumunda bulunmuş, 1996 yılında PON aktivitesinden sorumlu genin bir multigen ailesinin üyesi olduğu tespit edilmiş ve sırasıyla PON1, PON2 ve PON3 olarak isimlendirilmiştir. PON3 enzimi de PON1'e benzer şekilde büyük çoğunlukta karaciğerden sentezlenmekte ve serumda HDL'ye bağlı olarak bulunmaktadır. PON2 diğer üyelerden farklı olarak plazmada bulunmamaktadır. Ancak beyin, karaciğer, böbrek ve testis gibi pek çok dokuda sentezlenmektedir. PON'un polimorfik değişim gösterdiği bilinmesine karşın ARE enzimi genetik polimorfik bir değişim göstermemektedir. Yine iki enzimin doğal substratları farklı olmasına karşın PON enzimi ARE'nin doğal substratı olan fenil asetatı hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. Ayrıca PON ve ARE'nin iyi bilinen ortak özellikleri organofosfatları, aril ve alkil halojenürleri hidroliz etme yeteneğidir. PON enzimi LDL'yi oksidasyondan koruyucu özelliği ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere diğer radikalleri nötralize etme kapasitesi nedeniyle antioksidan işlevde de bulunmaktadır. ARE ise PON'daki değişimlerden etkilenmeyen asıl proteinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (9, 10).

PON enziminin organofosfatlı bileşiklerin hidrolizini katalizlemesi toksikolojik çalışmalar için büyük önem taşıdığından, bu çalışmada organofosfatlı bir pestisit olan malathion'un pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'da PON ve ARE enzim aktivitesinde yol açtığı değişimlerin ortaya çıkarılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Deneme Düzeni: Araştırmada kullanılan ve ortalama ağırlığı yaklaşık 100 g olan pullu sazan (*C. carpio* Linnaeus, 1758) örnekleri DSİ IX. Bölge

Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden temin edildi. Balıklar daha önceden hazırlanmış ve su sıcaklığı 23 °C'ye ayarlanmış 30x100x40 cm boyutlarındaki 12 akvaryuma her birinde 15 adet olacak şekilde stoklandı. Deneysel çalışmaya başlamadan önce balıklar akvaryumlara 15 gün süreyle adapte edildi. Adaptasyon ve deneme süresince balıklara ticari bir firmadan temin edilen alabalık yemi verildi.

Adaptasyon süresi sonunda aşağıdaki gibi bir kontrol üç deney grubu olmak üzere toplam dört grup oluşturuldu

K: Kontrol grubu;

D1: 1 mg L⁻¹ konsantrasyonunda (LC₅₀ değerinin (2.10 mg L⁻¹) yaklaşık 1/2'si) malathion uygulanan grup;

D2: 0.5 mg L⁻¹ konsantrasyonunda (LC₅₀ değerinin (2.10 mg L⁻¹) yaklaşık 1/4'ü) malathion uygulanan grup;

D3: 0.25 mg L⁻¹ konsantrasyonunda (LC₅₀ değerinin (2.10 mg L⁻¹) yaklaşık 1/8'i) malathion uygulanan grup.

Araştırmada kullanılan malathion (190 g L⁻¹ malathion, S-1,2 bis (ethoxycarbonyl) ethyl-O,O dimethyl phosphorodithioate) ticari bir firma (Safa Tarım, Konya, Türkiye) aracılığıyla temin edildi. Malathionun subletal konsantrasyonları Kaur ve Dhawan (11)'a göre seçildi. Nominal konsantrasyonu sağlamak için test konsantrasyonları haftada 3 kez yenilendi. Çalışma üç tekrarlı yürütüldü. Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan (Protokol No: 2015/114) bu araştırmada her bir tekrar için 60 adet olmak üzere toplamda 180 balık kullanıldı. Deneme 21 gün sürdü.

Serum ve Karaciğer Örneklerinin Alınması:

Çalışmanın 7., 14. ve 21. günlerinde her gruptan beş balık alınıp benzokain (25 mg L⁻¹) ile anestezi edildi. Anesteziden sonra balıklar pedüncül bölgesinden ensize edilerek kavdal venadan kan örnekleri cam tüplere alındı. Bunu takiben usulüne uygun bir şekilde (2) otopsi yapılan balıkların karaciğeri çıkarıldı. Cam tüplere alınan kan örneklerinin 3500 rpm'de 10 dakika santrifüjünden sonra serumları ayrıldı. Serum ve karaciğer örnekleri analiz edilene kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Alınan karaciğer örneklerinden homojenatların hazırlanması için örnekler 0.5 gram tartıldı. İki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra %1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında sulandırılarak homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 50 mL'lik propilen tüplerde soğutmalı santrifüjde 3200 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alındı (12).

PON ve ARE aktivitelerinin Ölçülmesi: PON ve ARE enzim aktiviteleri Dubravka ve ark. (13)'a göre spektrofotometrik olarak serum ve karaciğer örneklerinde tayin edildi. PON enzim aktivitesini ölçmek için substrat olarak paraokson, ARE aktivitesini ölçmek için ise fenilasetat kullanıldı. Enzim aktivitelerinin hesaplanması için hazırlanan standart grafikten yararlanıldı.

İstatistiksel Analiz: Denemede elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 12.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Kontrol ve deneme grubu balıklarının PON ve ARE enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler tek yönlü varyans analizi ile test edildi. Gruplar arasındaki farklılığın tespitinde ise Tukey testinden yararlanıldı. Bağımlı gruplarda (günler için) istatistiksel farklılığı ortaya çıkarabilmek amacıyla tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı.

Bulgular

Çalışmaya başlamadan önce 2 hafta süreyle gözlem altında tutulan pullu sazanlarda herhangi bir ölüm gözlenmedi. Yem alımlarında herhangi bir problem yaşanmadı. Deneme süresince kontrol ve deneme grubu balıklarında ölüm görülmedi. Balıklarda klinik olarak herhangi bir olumsuzluk gözlemlenmezken, kan alındıktan sonra otopsi yapılan balıklarda da klinik herhangi bir bulguya rastlanmadı.

Kontrol grubu balıklarıyla farklı konsantrasyonlarda malathion uygulanan balıkların serum ve karaciğer PON enzim aktivitesinde belirlenen değişimler Tablo 1'de gösterildi. Uygulamanın 7. gününde serum PON aktivitesi, kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla %27.49, %29.03 ve %13.79 düzeyinde azaldı ($P<0.05$). Denemenin 14. gününde kontrol grubuna göre D1 ve D2 deneme gruplarında serum PON aktivitesi sırasıyla %10.15 ve %10.45, 21. günde ise %10.27 ve %6.43 düzeyinde azaldı ($P<0.05$). D3 grubunda 14. ve 21. günde kontrol grubuna göre serum PON aktivitesinde farkın önemli olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$).

Çalışmanın 7. gününde karaciğer PON aktivitesi kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla %22.32, %17.83 ve %5.30 düzeyinde azaldı ($P<0.05$). Denemenin 14. gününde kontrol grubuna göre D1 ve D2 deneme gruplarında karaciğer PON aktivitesi sırasıyla %11.22 ve %7.56, 21. günde ise yalnızca D1 grubunda %6.15 düzeyinde azaldı ($P<0.05$). D2 grubunda 14. günde, D3 grubunda ise 14. ve 21. günde kontrol grubuna göre karaciğer PON aktivitesinde farkın önemli olmadığı bulundu ($P>0.05$).

Kontrol grubu balıklarıyla farklı konsantrasyonlarda malathion uygulanan balıkların serum ve karaciğer ARE enzim aktivitesinde belirlenen değişimler Tablo 2' de gösterildi. Uygulamanın 7. gününde serum ARE aktivitesi kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla %27.61, %25.50 ve %19.65 düzeyinde azaldı ($P<0.05$). Denemenin 14. gününde kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında serum ARE aktivitesi sırasıyla %22.71, %11.19 ve %6.4, 21. günde ise D1 ve D2 gruplarında sırasıyla %10.40 ve %5.84 düzeyinde azaldı ($P<0.05$). D3 grubunda 21. günde kontrol grubuna göre serum ARE aktivitesinde farkın önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$).

Çalışmanın 7. gününde karaciğer ARE aktivitesi kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında sırasıyla %46.51, %27.82 ve %21.23 düzeyinde azaldı ($P<0.05$). Denemenin 14. gününde kontrol grubuna göre D1, D2 ve D3 deneme gruplarında karaciğer ARE aktivitesi sırasıyla %39.21, %11.18 ve %23.99, 21. günde ise yine bu gruplarda sırasıyla %33.33, %8.11 ve %5.79 düzeyinde azaldı ($P<0.05$). Uygulamanın tüm günlerinde karaciğer ARE aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu ($P<0.05$).

Tablo 1. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum ve karaciğer PON enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler (Ortalama \pm standart hata)

Doku	Günler	Deneme Grupları				P
		K	D1	D2	D3	
Serum (U mL ⁻¹)	7. gün	75.73 \pm 3.99	54.91 \pm 8.24 ^{C; b}	53.74 \pm 5.18 ^{C; b}	65.28 \pm 7.58 ^{B; b}	0,000*
	14. gün	76.64 \pm 5.54	67.86 \pm 7.33 ^{B; a}	68.63 \pm 6.60 ^{B; a}	74.05 \pm 5.80 ^{A; a}	0.002*
	21. gün	76.49 \pm 7.86	68.63 \pm 7.62 ^{B; a}	71.57 \pm 9.02 ^{B; a}	75.39 \pm 8.07 ^{A; a}	0.001*
	P		0.003**	0.001**	0.003**	
Karaciğer (U g ⁻¹)	7. gün	73.86 \pm 5.40	57.37 \pm 5.23 ^{D; a}	60.69 \pm 5.02 ^{C; a}	69.94 \pm 3.78 ^{B; a}	0.002*
	14. gün	74.15 \pm 5.69	65.83 \pm 4.58 ^{B; b}	68.54 \pm 6.11 ^{B; b}	74.05 \pm 5.41 ^{A; b}	0.002*
	21. gün	73.90 \pm 6.77	69.35 \pm 4.35 ^{B; c}	72.48 \pm 5.18 ^{A; B; c}	74.29 \pm 4.95 ^{A; b}	0.004*
	P		0.008**	0.004**	0.006**	

K: Kontrol grubu

D1: 1 mg L⁻¹ konsantrasyonunda malathion uygulanan grup

D2: 0.5 mg L⁻¹ konsantrasyonunda malathion uygulanan grup

D3: 0.25 mg L⁻¹ konsantrasyonunda malathion uygulanan grup

^{a, b, c, d} Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$)

^{A, B, C, D} Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$)

* Aynı satırda bulunan gruplardan en az biri diğerlerinden farklıdır ($P<0.05$)

** Aynı sütunda bulunan gruplardan en az biri diğerlerinden farklıdır ($P<0.05$)

Tablo 2. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum ve karaciğer ARE enzim aktivitesindeki zamana bağlı değişimler (Ortalama ± standart hata)

Doku	Günler	Deneme Grupları				P
		K	D1	D2	D3	
Serum (U mL ⁻¹)	7. gün	345.86 ± 22.97	249.95 ± 25.32 ^{C; a}	257.21 ± 24.88 ^{C; a}	277.42 ± 25.24 ^{B; a}	0,000*
	14. gün	347.42 ± 20.26	268.51 ± 23.13 ^{D; b}	308.52 ± 20.82 ^{C; b}	324.91 ± 23.06 ^{B; b}	0.001*
	21. gün	346.17 ± 24.39	310.16 ± 24.65 ^{C; c}	325.95 ± 21.39 ^{B; c}	334.38 ± 22.78 ^{A, B; b}	0.003*
	P		0.000**	0.004**	0.002**	
Karaciğer (U g ⁻¹)	7. gün	153.32 ± 14.12	81.77 ± 15.45 ^{D; a}	110.52 ± 13.47 ^{C; a}	120.76 ± 14.78 ^{B; a}	0.000*
	14. gün	153.70 ± 13.55	93.43 ± 14.06 ^{D; b}	136.51 ± 12.85 ^{B; b}	116.82 ± 13.01 ^{C; a}	0.003*
	21. gün	152.49 ± 12.10	101.66 ± 16.38 ^{C; c}	140.11 ± 15.61 ^{B; b}	143.65 ± 12.24 ^{B; b}	0.002*
	P		0.004**	0.004**	0.005**	

K: Kontrol grubu

D1: 1 mg L⁻¹ konsantrasyonunda malathion uygulanan grupD2: 0.5 mg L⁻¹ konsantrasyonunda malathion uygulanan grupD3: 0.25 mg L⁻¹ konsantrasyonunda malathion uygulanan grup

a,b,c,d Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05)

A,B,C,D Aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05)

* Aynı satırda bulunan gruplardan en az biri diğerlerinden farklıdır (P<0.05)

** Aynı sütunda bulunan gruplardan en az biri diğerlerinden farklıdır (P<0.05)

Tartışma

Çalışma süresince balıklarda ölüm gözlenmemiştir. Yem alımlarında herhangi bir olumsuzluk yaşanmamıştır. Yine balıklarda pestisit zehirlenmelerinde görülen deride özellikle baş bölgesinde, yüzgeçlerde, yutakta ve vücutta kanamalar, fazla mukus salgısı, solungaçlarda hiperemi, hemoraji ve yangı, zayıflama, durgunluk, iştahsızlık, yüzmede bozukluk, bağırsaklarda hemoraji ve hiperemi (2) gibi klinik bulgulara rastlanmamış, balıkların rutin davranışlarını sergilediği gözlemlenmiştir. Bu bulgular verilen dozların balıklarda herhangi bir zehirlenmeye neden olmadan kronik olarak toksik etkiler doğurabileceğini göstermektedir.

Balıklarda PON ve ARE enzim aktivitesi ile ilgili farklı teoriler vardır. Bazı araştırmacılar balıklarda bu enzim aktivitesinin olmadığını iddia ederken (9, 14, 15) bazı araştırmacılar ise bu enzim aktivitesinin balıklarda görüldüğünü ifade etmişlerdir. Balıklardaki çalışmalar ise bu enzimlerin yalnızca saflaştırılması ve düzeyinin belirlenmesi yönünde olmuştur (16, 17, 18). Örneğin; Folly ve ark. (19) *Piaractus mesopotamicus* türü balıklarda PON aktivitesinin varlığını göstermiş ve bu enzimin balıklarda high density lipoprotein (HDL) ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Diğer taraftan aynı koşullarda yetiştirilen normal ve albino gökkuşuğu alabalıklarının PON aktivitesi araştırılmış ve sonuçta kültür gökkuşuğu alabalığında serum PON aktivitesi daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın nedeni tür, büyüklük ve baskınlık durumuna bağlanmıştır (20). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada ise doğadan yakalanan ve kültür altındaki kaynak alabalığı (*Salvelinus fontinalis*)'nda PON enzim aktivitesi ile PON/HDL oranı araştırılmıştır. Sonuç olarak PON

aktivitesi ve PON/HDL oranı kültür altındaki kaynak alabalığında doğadan yakalananlara göre daha yüksek bulunmuştur (21). Bastos ve ark. (22) neotropikal dört balık türü *Piaractus mesopotamicus*, *Brycon cephalus*, *Hypostomus punctatus*, *Salminus brasiliensis*'in serumunda PON enzim aktivitesini sırasıyla 6.1, 6.6, 1.5 ve 35.2 nmol x min⁻¹ x mL⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada da PON ve ARE enzim aktivitesi hem serum hem de karaciğerde tespit edilmiş dolayısıyla bu enzimlerin varlığı sazanlarda gösterilmiştir.

Farklı metallerin balıklardaki paraoksonaz enzim düzeyine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kadmiyum, bakır, civa ve kobalt ağır metallerinin sazanlarda paraoksonaz enzimini farklı şekilde inhibe ettiği bulunmuştur (18). Sayın ve ark. (23) tarafından *Scylliorhinus canicula* türü balıklarda yapılan çalışmada PON enzim aktivitesi saflaştırılmış ve (Ni²⁺), (Cd²⁺), (Hg²⁺) ve (Cu²⁺) metallerinin PON enzim aktivitesine inhibitör etkisi *in vitro* olarak araştırılmıştır. Serum PON total aktivitesi 11788.8 U mL⁻¹ olarak, spesifik aktivite ise 344.701 olarak bulunmuştur. Ayrıca Ni²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺ ve Cu²⁺ metallerinin hepsinin inhibitör etki gösterdiğini, bunun yanında en güçlü inhibitör etkinin Cu²⁺ tarafından oluşturulduğu belirlenmiştir. Çinko sülfat (ZnSO₄) formunda çinko metali kullanılarak yapılan başka bir çalışmada da 10 gün boyunca 5 ve 10 mg L⁻¹ konsantrasyonlarında çinko uygulanan *Capoeta capoeta* balıklarında plazma PON1 aktivitesinin kontrol grubuna göre azaldığı ve PON1 aktivitesinin metallerle çok duyarlı olduğu ifade edilmiştir (24). Yonar ve ark. (25), krom oksit (CrO₃) formunda krom kullanarak yaptıkları çalışmalarında 15, 30 ve 60 ppb konsantrasyonlarında 28 gün uygulanan kromun sazanlarda (*C. carpio*) serum PON ve ARE aktivitesini düşürdüğünü göstermişlerdir.

Bu düşüşün artan konsantrasyonla arttığını ifade etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da PON enzim aktivitesinin balıklar için ağır metaller gibi toksik olduğu bilinen malathion uygulamasıyla azaldığı görülmüştür.

Pestisitlerin balıklarda PON veya ARE enzim aktivitesine etkisini araştıran yalnızca bir araştırmaya rastlanılmıştır. Bu araştırmada karbamatlı bir pestisit olan karbosulfanın gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'ndaki mutajenik, genotoksik ve enzim inhibitör etkisi araştırılmıştır (26). Karbosulfanın 25 µg L⁻¹'lik konsantrasyonu (LC₅₀ değerinin %5'i) balıklara verilerek kronik toksisitesi 60 gün için incelenmiştir. İlk ay için her hafta, ikinci ay için ise 15 günde bir alınan plazma örneklerinde PON aktivitesi 12.01±1.65 U L⁻¹ ve 9.05±0.89 U L⁻¹ arasında bulunmuştur. PON aktivitesinin karbosulfan uygulamasıyla istatistiksel olarak önemli bir inhibisyona uğramadığı, PON aktivitesinin inhibisyon oranının birinci haftada %7.36 iken bu oranın sekizinci hafta %16.67 şeklinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu araştırmada ise deneme başlangıcında PON aktivitesi malathionun her üç konsantrasyonunun uygulandığı sazanlarda kontrol grubuna göre önemli oranda azalmış, deneme sonunda ise kontrol grubuna yakın bulunmuştur. Bu farklılık incelenen balığın türü, ağırlığı, uygulanan

pestisit türü, konsantrasyonu ve süresinden kaynaklanabilir.

Son yıllarda insan ve ratlar üzerine yapılan çalışmalarda PON aktivitesi ile oksidatif stres arasında karşılıklı bir ilişki olduğu ileri sürülmüş fakat bu mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır (27). Bu araştırmadaki PON ve ARE enzim aktivitesinde belirlenen azalma malathionun sebep olduğu oksidatif stresle ilişkilendirilebilir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre PON ve ARE enzim aktivitelerinin malathionun artan derişimine bağlı olarak denemenin ilk günlerinde azaldığı, malathionun uygulanan düşük derişimlerinin etkisinde bile *C. carpio*'da serum ve karaciğer dokusunda toksik etki oluşturduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar malathion uygulamasının balıklarda strese neden olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan uygulamanın 21. gününde incelenen enzim aktivitelerinin artması ve hemen hemen kontrol değerine yakın bir düzeye çıkması, malathionun neden olduğu stresin vücut tarafından bertaraf edilmeye çalışıldığı bir işarettir. Buna göre PON ve ARE enzim aktivitesi pestisit toksisitesini belirlemede biyobelirteç olarak kullanılabilir.

Kaynaklar

- Piner P. Fenthion İçeren Ortamda BSO ve NAC'nin *Oreochromis niloticus*'da Beyin Dokusunda Glutasyon Metabolizması, Lipid Peroksidasyonu Ve Asetilkolinesteraz Aktivitesine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2005.
- Arda M, Seçer S, Sarıyüpoğlu M. Balık Hastalıkları. Ankara: Medisan Yayınları, 2005.
- Atamanalp M, Yanık T. Pestisitlerin cyprinidae'lere toksik etkileri. Ege Su Ürünleri Dergisi 2001; 18: 555-563.
- Karasu Benli AÇ, Gülen Z. Fenitrothion'un etkisinde bırakılan tilapia'da (*Oreochromis niloticus* L.) sekonder stres indikatörleri hematokrit ve plazma glukoz seviyesinin değişimi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 2009; 19: 19-22.
- Fulton MH, Key PB. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorous insecticide exposure and effects. Environ Toxicol Chem 2001; 20: 37-45.
- Hai DQ, Varga SZI, Matkovics B. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). Comp Biochem Phys C 1997; 117: 83-88.
- Öztürk D. *Cyprinus carpio*'da Malathion Etkisinde Lipit Peroksidasyonu ve Serum Steroid Hormon Düzeylerindeki Değişimler. Yüksek Lisans Tezi, ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2009.
- Erdağ D. Malatyon Verilen Farelerde Oksidasyon Parametreleri Üzerine *Allium czepligauricum* (Liliaceae), *Iathyrus karsianus* (Fabaceae) ve *Onosma nigricaulis* (Boraginaceae)'den Elde Edilen Ekstraktların Etkileri. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, 2012.
- Başkol G, Köse K. Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. Erciyes Tıp Dergisi 2004; 26: 75-80.
- Çelik M, Gülcü F, Ozan G, Gürsu MF. Organik solventler ile çalışan işçilerde paraoksonaz 1 ve arilesteraz aktivite düzeyleri. Turk J Biochem 2005; 30: 194-199.
- Kaur K, Dhawan A. Variable sensitivity of *Cyprinus carpio* eggs, larvae, and fry to pesticides. B Environ Contam Tox 1993; 50: 593-599.
- Mişe Yonar S. Toxic effects of malathion in carp, *Cyprinus carpio*: Protective role of lycopene. Ecotoxicol Environ Safe 2013; 97: 223-229.
- Dubravka J, Milena T, Branka R, et al. Serum paraoxonase activities in the hemodialyzed uremic patients: Chort study. Clin Sci 2001; 42: 146-150.
- Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connely PW, Hegele RA. Paraoxonase: Biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. Curr Opin Lipido 1996; 7: 69-76.
- Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscl Thromb Vas* 2001; 21: 473-480.
- Bastos VLFC, Folly E, Rossini A, et al. Paraoxonase activity in liver of Pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Characidae). Rev Bras Zool 1998; 15: 677-685.
- Bastos VLFC, Rossini A, Alves MV, et al. Paraoxonase activity in sera from *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Characidae) and *Hypostomus punctatus* Valenciennes (Siluridae). Rev Bras Zool 1998; 15: 665-675.
- Beyaztaş S, Türker D, Sinan S, Arslan O. *Cyprinus carpio* paraoksonaz enziminin bazı ağır metallerle inhibisyon

- etkisinin incelenmesi. 21. Ulusal Kimya Kongresi, 23-27 Ağustos, Malatya, Türkiye, 2007.
19. Folly E, Bastos VLC, Alves MV, Bastos JC, Atella GC. A high density lipoprotein from *Piaractus mesopotamicus*, pacu, (Osteichthyes, Characidae), is associated with paraoxonase activity. *Biochimie* 2001; 83: 945-951.
 20. Karataş T, Kocaman EM. Comparison of paraoxonase activity, malondialdehyde and high-density lipoprotein levels in cultivated normal and albino rainbow trout reared in the same conditions. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18: 87-90.
 21. Karataş T, Kocaman EM. Susceptibility to oxidative damage in wild and cultured brook trouts (*Salvelinus fontinalis* Mitchill, 1815). *Int J Fish Aqua Studies* 2014; 2: 180-183.
 22. Bastos VLFC, Alves MV, Bernardino G, Ceccarelli PS, Bastos JC. Paraoxonase activity in sera of four neotropical fish. *B Environ Contam Tox* 2004; 72: 798-805.
 23. Sayın D, Türker Çakır D, Gençer N, Arslan O. Effects of some metals on paraoxonase activity from shark *Scyliorhinus canicula*. *J Enzym Inhib Med Ch* 2012; 27: 595-598.
 24. Deveci HA, Kaya İ, Yılmaz M, Karapehlivan M. Effect of zinc sulphate on the levels of plasma paraoxonase activity, total oxidant and high density lipoprotein of transcaucasian barb (*Capoeta capoeta* Guldenstaedt, 1773). *Fresen Environ Bull* 2015; 24: 2732-2735.
 25. Yonar ME, Mişe Yonar S, Çoban MZ, Eroğlu M. The effect of propolis on serum paraoxonase and arylesterase enzyme activities in *Cyprinus carpio* during chromium exposure. *Fresen Environ Bull* 2012; 21: 1399-1402.
 26. Altınok I, Capkın E, Boran H. Mutagenic, genotoxic and enzyme inhibitory effects of carbosulfan in rainbow trout *Orconhynchus mykiss*. *Pest Biochem Phys* 2012; 102: 61-67.
 27. Aviram M, Rosenbalt M, Billecke S, et al. Human serum paraoxonase (pon 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radical Bio Med* 1999; 26: 892-904.