



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

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**AKRİLAMİD'İN SAZAN BALIKLARININ (*Cyprinus carpio*, 1758 L.)
SOLUNGAÇLARI ÜZERİNE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hilal CİVELEK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Belda ERKMEN

AKSARAY, 2018

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY BELGESİ

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 132307404 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, Hilal CİVELEK, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı AKRİLAMİD'İN SAZAN BALIKLARININ (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) SOLUNGAÇLARI ÜZERİNE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ başlıklı tezini, aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Belda ERKMEN**
Aksaray Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Figen ERKOÇ**
Gazi Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Yrd. Doç. Dr. Kenan ERDOĞAN**
Aksaray Üniversitesi



.....
.....
.....

Teslim Tarihi: 19/12/2017

Savunma Tarihi: 04/01/2018

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ve bu eserleri her kullanımda alıntı yaparak yararlandığımı belirtir; bunu şerefimle doğrularım.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Hilal CİVELEK

İmza

ÖNSÖZ

Akrilamid, poliakrilamid malzemeleri yapmak için kullanılan, yüksek ısıda protein ile şekerin reaksiyona girmesi sonucu ortaya çıkan bir kimyasaldır. Akrilamid çevrede çok düşük konsantrasyonlarda bulunsan bile, son yıllarda endişe yaratan kimyasal grupları arasında yerini almıştır. Kirleticiler çeşitli yollarla su ortamlarına ulaştıklarında içerisindeki balık ve diğer canlılara zarar vermekte; su ortamlarına evsel, sanayi atık suları veya tarım ve orman sahalarından uygulanması sonrası yağmur suları, direnaj suları, yüzey akışları ve sulama suları ile taşınmaktadır. Sucul ekosistemler üzerinde kimyasalların etkilerini öngörmek veya belirlemek amacıyla, balıklarda kirleticilerin indüklediği biyolojik etkilerin belirlenmesi büyük bir önem taşımaktadır. Balıklar, solungaçları vasıtasıyla su ortamından çevresel kirleticileri absorplamak veya bulaşmış kirleticileri besin olarak almaları sonucunda maruz kalabilirler. Kirlilik artışı gibi çevresel değişikliklere karşı çok hassas olduklarından, tüm sucul ekosistemlerin genel durumunun belirlenmesinde balık sağlığı güvenilir bir göstergedir. Histolojik analizler çok duyarlı parametreler olarak bilinir ve hedef organlarda hücresel değişimlerin belirlenmesinde gereklidir. Dolayısıyla özelde balık popülasyonlarının genelde sucul ekosistemin sağlık durumunu ortaya koymak amacıyla histolojik araştırmaların yapılması oldukça önemlidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bir toksik maddenin balık popülasyonları üzerinde yaratabileceği olumsuz durumların en erken tespitinin kan parametreleri ve histopatolojik incelemeler sonucu elde edilebildiği ve toksikolojik çalışmaların tüm dünyada bu yöne yönelmiş olduğu da belirtilmektedir. Bu çalışmada, dünyada ve Türkiye’de geniş bir dağılım gösteren sazan balığı (*Cyprinus carpio* 1758 L.) solungaçlarında çevresel kirletici olarak yaygın bulunan akrilamidin sublethal düzeylerinin histopatolojik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar sucul ortamlarda akrilamidin yol açtığı toksik etkilerin belirlenmesini sağlayacak ve ayrıca balıklarda yapılacak diğer histopatolojik çalışmalara da katkıda bulunacaktır. Diğer taraftan çevre ve sağlık alanlarında uygulayıcılar tarafından bu veriler kullanılabilecektir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her bölümünde öneri ve desteklerini esirgemeyen ve beni yönlendiren tez danışmanım Sn. Doç. Dr. Belda ERKMEN'e teşekkürü bir borç bilirim. Çalışmam sürecinde laboratuvar kısmını başarılı bir şekilde geçirmemi sağlayan, bilgisiyle beni aydınlatan Sn. Yrd. Doç. Dr. Kenan ERDOĞAN'a ve ekotoksikoloji bilgisiyle bu süreçte bana ışık tutan Sn. Prof. Dr. Figen ERKOÇ'a teşekkür ederim. Bu süreçte benden güler yüzünü eksik etmeyen Nida ERDOĞAN'a teşekkür ederim. Yüksek lisans boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen Sn. Gülsüm KARAKAYA, Sn. Eda AÇIKSÖZ, Sn. Ayşegül KÖSE' ye teşekkür ederim. Başarılı olacağıma herdaim inanan kardeşlerim Sn. Ayten CİVELEK ve Sn. Alper CİVELEK'e teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca beni destekleyen, cesaretlendiren annem Sn. Nuriye CİVELEK ve babam Sn. İmdat CİVELEK'e bana bu imkanı sundukları için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Akrilamid	3
2.1.1 Akrilamid'in kimyasal yapısı	5
2.1.2. Gıdalarda akrilamid'in oluşum mekanizmaları	5
2.2 Sazan (<i>Cyprinus carpio</i> 1758 L.)	9
2.3 Solungaçların Genel Yapısı	10
2.3.1 Solungaç kemeri	12
2.3.2 Primer lamel (solungaç filament)	12
2.3.3 Sekonder lamel	12
2.3.4 Solungaç epiteli	12
2.3.5 Primer epitel	12
2.3.6 Sekonder epitel	13
2.3.7 Solungaç alanı	13
3. LİTERATÜR ÖZETİ	14
3.1. Akrilamid Toksisitesi	14
3.2. Solungaç Histopatolojisi	18
3.2.1 Toksik maddelerin doğrudan zararlı etkileri	18
3.2.2. Balıkların kirleticilere karşı oluşturdıkları savunma tepkileri	19
4. MATERYAL VE METOD	22
4.1 Materyal	22
4.1.1 Akrilamid	22
4.1.2 Akvaryum ünitelerinin hazırlanışı ve su kalite kriterlerinin belirlenmesi	22
4.1.3 Deneyde kullanılan kimyasal malzemeler	23
4.1.4 Deneyde kullanılan alet ve cihazlar	23
4.1.5 Balıkların temini ve deneysel grupların kurulması	25
4.1.6 Hayvan deneyleri yerel etik kurul izni	26
4.1.7 Araştırma birimi	26
4.2 Metod	27
4.2.1 Akrilamide maruz kalan balıkların makroskopik incelenmesi	27
4.2.2 Histolojik incelemeler	27
5. BULGULAR	29
5.1 Dolaşımla İlgili Meydana Gelen Değişiklikler	30
5.2 Dejeneratif Değişiklikler	32

	<u>Sayfa</u>
5.3 Proliferatif Değişiklikler.....	34
5.4 Yangısal Değişiklikler	35
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ.....	51



ÖZET

AKRİLAMİD'İN SAZAN BALIKLARININ (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) SOLUNGAÇLARI ÜZERİNE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

Bu tez çalışmasında, Akrilamid'in sazan balıklarının (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) solungaçları üzerine histopatolojik etkileri araştırılmıştır. Araştırmada iki farklı doz akrilamid (10 ve 50 mg/L) 96 saat boyunca, sazan balıklarına uygulanmıştır. Deney sonrasında solungaç dokuları histopatolojik yöntemlere uygun bir biçimde hazırlanmıştır. Akrilamidin subletal dozlarına maruz kalan uygulama gruplarında kontrol grubuna göre bazı histopatolojik değişiklikler (sekonder lamellerde birleşme, kısalıp kalınlaşma, dökülme, ödem oluşumu, kıkırdak doku hasarı, epitel dokuda ayrılma, hiperemi, telengiektazi, hiperplazi ve mukus hücrelerinde artış) meydana gelmiştir. Söz konusu olan bu değişikliklerin en temel nedeni, solungaçların dış ortamla direkt temas halinde olmasıdır. Ayrıca solungaçların ince membranlara ve geniş yüzey alanına sahip olmasının bu durumu attırdığı düşünülmüştür. Akrilamid ile yapılan çalışmalar incelendiğinde benzer sonuçların elde edildiği görülmüştür ve bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Anahtar kelimeler: *Cyprinus carpio*, Akrilamid, Solungaç, Histopatoloji

ABSTRACT

HISTOPATHOLOGICAL EFFECTS OF ACRYLAMIDE TO COMMON CARP (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) GILLS

Histopathological effects of acrylamide on gills of the common carp (*Cyprinus carpio*, 1758 L.) were studied in the present thesis. Acrylamide was applied to carp during 96 hours in two different exposure concentrations of 10 and 50 mg/L. Gill tissue were evaluated using appropriate histopathological methods at the end of the experiments. Several histopathological lesions were found in acrylamide exposure groups such as fusion of secondary lamellae, shortening and thickening, exfoliation, oedema formation, cartilage tissue damage, epithelial lifting, hyperemia, telangiectasis, hyperplasia and increases in mucus cells, when compared with the control group. The major reason for these changes were due to gills being in direct contact with the environment. In addition the gill thin membranous structure and large surface area of the gills augmented this situation. Work of others with acrylamide showed similar results and were supporting our findings.

Keywords: *Cyprinus carpio*, Acrylamide, Gill, Histopathology

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Akrilamidin kimyasal formülü.....	5
Şekil 2.2. Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu.....	7
Şekil 2.3. Farklı moleküllerden akrilamid oluşumu.....	8
Şekil 2.4. Asparjin ve şekerin karbonil grubunun etkileşimi ile akrilamid oluşumu.....	8
Şekil 2.5. Sazan balığı.....	10
Şekil 2.6. Solungaçların genel görünüşü.....	11
Şekil 2.7. Solungaç flamentlerin genel görünüşü.....	12
Şekil 3.1. Balık solungaçlarında kirleticilerin etkisine bağlı olarak oluşan histolojik bozukluklar.....	21
Şekil 4.1. Akrilamid.....	22
Şekil 4.2. Doku takip cihazı.....	23
Şekil 4.3. Doku bloklama cihazı.....	24
Şekil 4.4. Isıtıcılar.....	24
Şekil 4.5. Mikrotom.....	25
Şekil 4.6. Akvaryum üniteleri.....	26
Şekil 4.7. Akvaryum üniteleri.....	27
Şekil 4.8. Araştırma mikroskobu.....	28
Şekil 5.1. Kontrol grubu sazan balıklarında solungaçların normal histolojik yapısı.....	29
Şekil 5.2. 10 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen hiperemi ve sekonder epitelde ayrılma.....	31
Şekil 5.3. 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen sekonder lamelde telengiektazi oluşumu.....	32
Şekil 5.4. 10 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen sekonder lamelde birleşme ve epitelde ayrılma.....	33
Şekil 5.5. 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen primer lamelde kıkırdak doku hasarı.....	33
Şekil 5.6. 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen primer lamelde mukus hücre artışı.....	34
Şekil 5.7. 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen sekonder lamelde birleşme ve epitelde düzleşme	35
Şekil 5.8. 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen sekonder lamelde ödem ve kısalma.....	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 5.1. Akrilamidin subletal dozlarına (10 mg/L ve 50 mg/L) 96 saat süre ile maruz kalan sazan (<i>C. carpio</i> 1758 L.) balıklarının solungaç dokularında gözlenen histopatolojik değişiklikler.....	30
---	----

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrad derece
µg/L	Mikrogram/litre
µm	Mikrometre
cm	Santimetre
g	Gram
g/mol	Gram/mol
h	Zaman, saat olarak
kg	Kilogram
m ²	Metrekare
mg/kg	Miligram/ kilogram
mg/L	Miligram/ litre
mm	Milimetre
mm/Hg	Milimetre/ civa
ph	Asitlik ve bazlık derecesi
ppm	mg çözünen/ kg veya litre çözelti

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALT	Alanin aminotransferaz enzimi
AST	Aspartat aminotransferaz enzimi
CYP1A	Sitokrom P450 ilaç metabolize eden enzimin izozimlerinden biri
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSİ	Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü
EC₅₀	Deney hayvanlarının yarısına etkili konsantrasyon
EROD	7-etoksiresorufin-O-etilaz (sitokrom P450 enzim sisteminin üyesi)
EU	Avrupa Birliği (AB)
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GSH	Redükte glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematokrit
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
K	Kıkırdak doku
LC₅₀	Deney hayvanlarının yarısını öldüren konsantrasyon
LDH	Laktat dehidrogenaz enzimi
MCH	Ortalama eritrosit hemoglobini
MCV	Ortalama eritrosit volümü
NIOSH	Amerikan Ulusal İş Güvenliği ve Sağlığı Enstitüsü
PAS	Peryodik asit shift
PL	Primer lamel
RBC	Eritrosit sayısı
SL	Sekonder lamel
U.S. EPA	Amerikan Çevre Koruma Ajansı
vd.	ve diğerleri
WBC	Lökosit sayısı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Dünyadaki nüfus artışına paralel olarak meydana gelen göçler, çarpık kentleşme, doğal alanların tahribatı, hızlı bir şekilde sucul ortamların kirlenmesine neden olmaktadır. Günümüzde sucul ortamlara, birçok kirletici çeşitli yollarla girmekte ve sucul canlılar üzerinde yıkıcı etkiler bırakmaktadır (Dündar, 2010, Patnaik vd., 2010). Ekotoksikolojik çalışmaların büyük bir çoğunluğu artık sucul ekosistemler üzerine etki eden kirleticilerin toksik etkileri üzerine yoğunlaşmıştır (Shanker, 1986).

Kemikli balıklar (Teleostlar), kirleticilerin zararlı etkilerine maruz kalan canlılar arasında yer almakla birlikte, suda çözülebilen kirleticileri kolayca absorbe edebildikleri için kirlilik derecesinin göstergesi olarak kabul edilirler (Patnaik vd., 2010). Balıklar kirlilik artışı gibi çevresel değişikliklere karşı çok hassas olduklarından, tüm sucul ekosistemin genel durumunun belirlenmesinde balık sağlığı güvenilir bir göstergedir (Laurent vd., 1980; Kocataş, 1992). Aynı zamanda balıklar sucul ekosistemin ana faunasını oluşturmakla birlikte, çevresel kirleticilerin balık çeşitli organ ve dokularında birikmesi ve besin zinciri yolu ile diğer omurgalılara biyolojik olarak yükseltgenmeleri, olaya ciddî ekotoksikolojik önem kazandırmaktadır (Goksory vd., 1992).

Balık dokularında toksik madde artışına paralel olarak popülasyonlarında büyük bir azalma olduğu bilinmektedir (Damstra vd., 2002; Güngördü, 2007). Balık popülasyonlarında görülen değişimler daha ileri derecede ekosistemin bütünü etkileyecek düzeye ulaşabilir (Temmink vd., 1983). Bu nedenle sucul ekosistemler üzerinde kirleticilerin etkilerini öngörmek veya belirlemek amacıyla, balıklarda kirleticilerin indüklediği biyolojik etkilerin belirlenmesi büyük bir önem taşımaktadır (Mallatt, 1985; Van der Kraak, 2001). Balıkların dokuları çok önemli biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir. Özellikle solungaçlar ilk maruz kalan doku olduğundan solungaçlarda görülen herhangi bir histopatolojik değişikliğin daha iyi anlaşılması için öncelikle suyun fiziksel ve kimyasal bütün özellikleri saptanmalı ve gereken çalışmalar daha sonra yapılmalıdır (Cruz vd., 2014; Erkmen ve Kolonkaya, 2000).

Akrilamid, poliakrilamid malzemeleri yapmak için kullanılan, yüksek ısıda protein ile şekerin reaksiyona girmesi sonucu ortaya çıkan, suda çözünürlüğü yüksek, beyaz renkte, kokusuz bir monomerdur. Akrilamidin öncelikli kullanım alanı yüksek molekül ağırlıklı poliakrilamidlerin üretimidir. Üretilen poliakrilamidin yaklaşık %80-90'ı içme suyu ve atık su arıtımında kullanılmaktadır. Akrilamid, poliakrilamid üretimi sırasında oluşan atıklar ile veya endüstride çeşitli alanlarda kullanımları sırasında çevreye yayılabilir. Bu durum ise, akrilamidin içme suyu ve yüzey sularında bulunabileceğini düşündürmektedir.

Hayvan deneylerinde akrilamidin DNA hasarlarına, kromozom anomalilerine neden olduğu gözlenmiş, bu nedenle Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından insanlar için muhtemel kanserojen olarak nitelendirilmiş ve Grup 2A içinde sınıflandırılmıştır. Akrilamidin toksik etkisine ilişkin çalışmalar daha çok memeliler üzerinde yapılmış olup, sucul ekosistemlere ekotoksikolojik etkileri konusunda yapılmış çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Bu çalışmada, sucul toksisitesi ve hedef olmayan canlılar üzerine muhtemel olumsuz etkileri nedeniyle, akrilamidinsazan (*Cyprinus carpio* 1758 L.) balıklarına akut toksik maruziyet konsantrasyonunun solungaç dokusu üzerine histopatolojik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akrlamid

Akrlamid 1893 yılında Almanya'da Cristian Maureau tarafından kimyasal bir bileşik olarak keşfedilmiş (Kısabay vd., 2014), 1952-1954 yılları arasında ticari ve kimyasal amaçlı olarak kullanılmış bir vinil polimeridir. Akrlamidin monomerik ve polimerik olmak üzere iki formu vardır. Monomerik formda suda çözülebilen bir toz, polimerik formda ise (poliakrlamid) su geçirmez bir jel olması nedeniyle, önemli uygulamaları olan bir bileşiktir. Akrlamid su arıtımında, zenginleştirilmiş petrolün geri kazanımında, kozmetik, boya, kağıt endüstrisinde, plastik üretimi ve tekstil gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Tamer ve Karaman, 2006; Kısabay vd., 2014). Ayrıca akrilamid, araştırma laboratuvarlarında elektroforez ve kromatografi gibi biyokimyasal tekniklerde de kullanılmaktadır (Friedman, 2003).

Akrlamidin polimerik formu toksik olmadığı halde monomerik formu insanlar ve hayvanlar için nörotoksiktir. Akrlamidin monomerik formuna insanlar yüksek sıcaklıkta pişirilen gıdaları tüketerek ya da mesleki koşullardan dolayı maruz kalmaktadır. Akrlamidin olumsuz sağlık etkileri ilk defa 2002 yılında İsveç'te ekmek, kahve, patates cipsi, patates kızartması ve daha pek çok gıda maddesinde olası kanserojen bu maddenin yüksek düzeylerinin rapor edilmesiyle kamuoyunun dikkatini çekmiştir. Besin yoluyla alındıktan sonra gastrointestinal sistemden hızla absorblanarak dokulara dağılım gösterir. Karaciğerde glisidamid metabolitine ilaç metabolize eden sistem tarafından dönüştürülerek, DNA ve proteinlere yüksek reaktivite gösterir. Yapılan deneysel araştırmalar ve sağlıkla ilgili risk değerlendirmeleri sonucunda akrilamide insan maruziyetinin olabilecek en düşük düzeyde sınırlandırılmasının bilimsel komiteler ve idari merciler tarafından karara bağlandığı bildirilmiştir. İnsan maruziyetini azaltmak için gıda hazırlama prosesleri gözden geçirilmektedir (Pedreschi vd., 2013).

İnsanda akrilamid toksikokinetiği: 2,4-7,0 saat olarak yarı ömrü belirlenmiştir. Metabolizması büyük oranda CYP2E1 ile epoksid türevi olan glisidamide dönüşmesi ve bunda ana madde olan akrilamide göre DNA ve proteinlere karşı daha reaktif olmasıyla toksisitesi artmaktadır. Akrilamid ve metaboliti olan glisidamid glutatyon ile konjuge olduktan sonra idrarda merkaptürik asit konjugatı olarak atılır (Zamani vd., 2017).

Akrilamide maruz kalma sonucunda deney hayvanlarında genotoksisite, karsinojenite, nörotoksisite ve üremede bozukluk görülürken, insanlar için nörotoksisiteye kesinlikle neden olduğu yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. İnsanda periferik nöropati mesleki maruziyet sonucunda İsveç ve Çin gibi ülkelerden rapor edilmiştir (Pedreschi vd., 2013; Mehri vd., 2014). IARC akrilamide insan için olası kanserojen olarak sınıflandırmıştır. Kemiricilerde çoklu organ kanseri olarak değerlendirilmiştir. Akrilamidin yüksek düzeyleri genotoksik, nörotoksik ve kanserojeniktir.

Gıdalarda doğal olarak bulunmayan akrilamid, gıdaların yüksek ısı ile işlem görmesi sonucu, gıdalarda düşük düzeyde oluşarak besin yoluyla vücuda alınmaktadır. Gıdalarla alınan akrilamidin insan vücudunda ne gibi hasarlar oluşturacağı tam olarak bilinmemekle birlikte, ileride büyük risk oluşturacağı endişe yaratmaktadır (Altınöz, 2009).

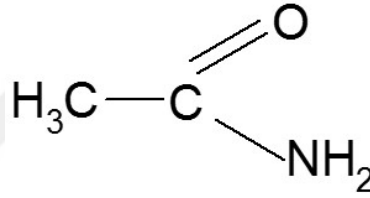
Gıda kaynaklı akrilamide maruz kalma geniş kitleleri ilgilendirdiği için; Amerikan Ulusal İş Güvenliği ve Sağlığı Enstitüsü (National Institute of Occupational Safety and Health, NIOSH, 1976), WHO (1985), IARC (1986, 1994), Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) ve Avrupa Birliği (European Union, EU, 2002) gibi kuruluşlar bu konuyu gündemlerine alarak incelemişlerdir. Bunlardan özellikle FDA ve WHO akrilamid ile ilgili yapılması gerekenler konusunda bildiri yayınlamışlardır. Ayrıca Amerikan Çevre Koruma Ajansı (U.S. EPA) akrilamid'in toksik ve kanserojenik dozları hakkında bir çok çalışma yaptırarak bazı referans değerler belirlenmiştir (Tamer ve Karaman; 2006, Altınöz, 2009).

İçme suyu kalitesi için, WHO'nun yönergesine göre, bir litre içme suyunda maksimum 0,5 µg/L akrilamid olarak bildirilirken (WHO, 1993); Avrupa Birliği

tarafından içme sularında bulunabilecek akrilamid miktarı 0,1 µg/L olarak sınırlandırılmıştır (Cavalli vd., 2004; Keskin, 2007).

2.1.1 Akrilamid'in kimyasal yapısı

Akrilamid beyaz kristal yapıda ve kokusuz bir monomer olup su, etil alkol, metil alkol, dimetileter ve asetonunda çözünürken, heptan ve benzende çözünmez (Tamer ve Karaman., 2006). Erime sıcaklığı 84,56⁰C, kaynama sıcaklığı ise (25 mm Hg) 125⁰C'dir (Keskin, 2007). Akrilamid doymamış çift bağ içeren bir amiddir (Blasiak vd., 2004). Akrilamid 2-propenoamid, etilen karboksamid, akrilik asit amid, vinil amid, propenoik asit amid olarak da bilinmektedir (Keskin, 2007).



Şekil 2.1. Akrilamidin kimyasal formülü: (C₂H₅NO).

Akrilamid üre (CO(NH₂)₂) ve formaldehid (HCHO) veya glioksal (CHO)₂, aldehitler (RCHO), aminler (R₂NH), tiyoller (RSH) gibi küçük reaktif moleküllerle reaksiyona girebilme özelliğine sahiptir (Lingnert, 2002).

2.1.2. Gıdalarda akrilamid'in oluşum mekanizmaları

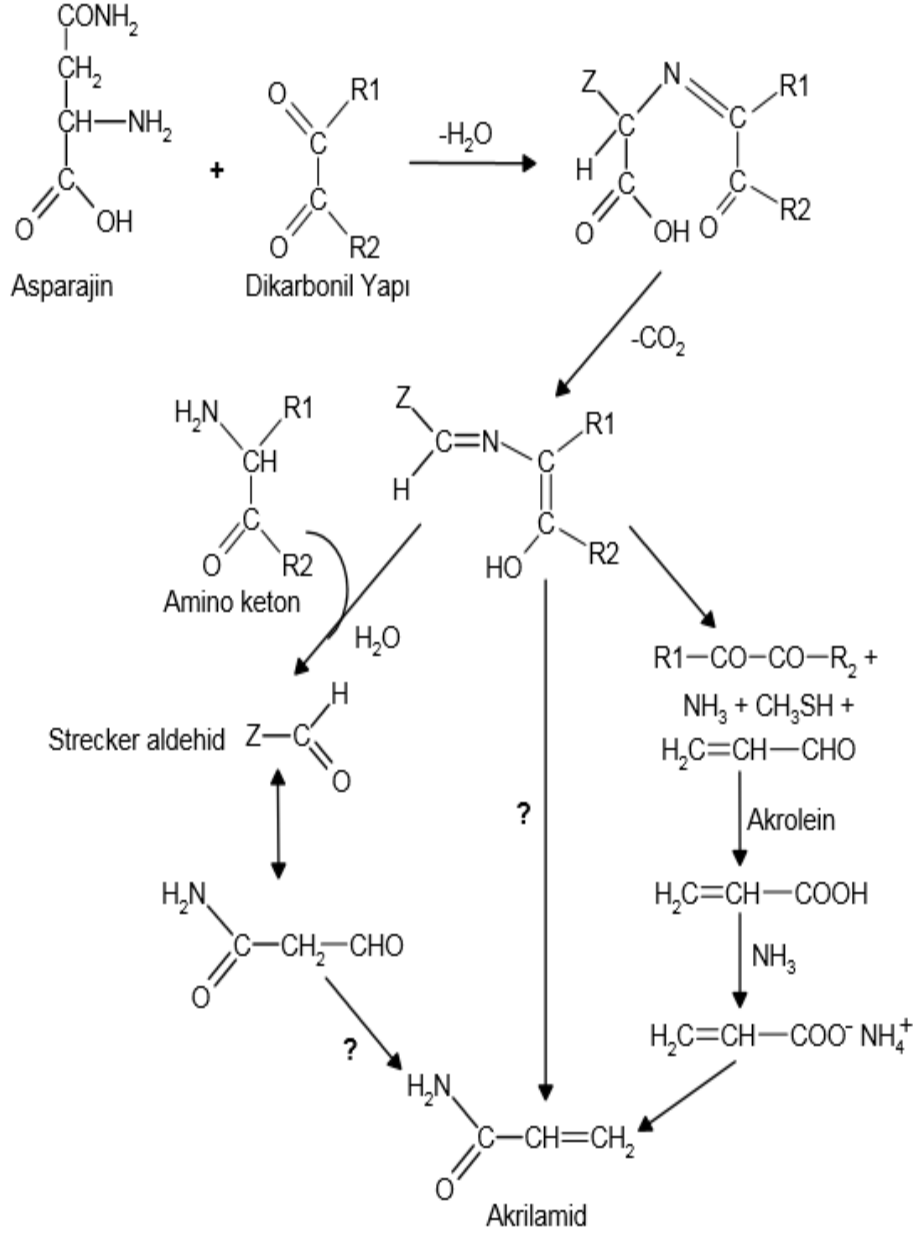
İnsan üreme sistemine etkileri konusunda bilim adamları ortak karara henüz varmamıştır. Bu etkilerin değerlendirilmesinde akrilamide besin yoluyla maruz kalma en önemli etkidir (Riboldi vd., 2014). Akrilamid yüksek sıcaklıkta (>120⁰C) üretilen ya da karbohidrat bakımından zengin gıdaların pişirilmesiyle oluşan ve uzun süre ısıtılma işlemi uygulanması durumunda gittikçe miktarı artan bir bileşik olmasına rağmen, hangi sıcaklıkta meydana geldiği tam olarak bilinmemektedir (Tamer ve Karaman, 2006; Riboldi, 2014). 2002 yılında Stockholm Üniversitesi'nden bir grup araştırmacı Upsala'daki marketlerden 130'dan fazla karbohidratça zengin gıda örneklerini toplamış ve 120⁰C'nin üzerinde işlem gören bu gıdalarda akrilamid oluştuğunu belirtmişlerdir (Tamer ve Karaman, 2006). İsveç, İsviçre, ABD, Norveç ve İngiltere'de yapılan benzer çalışmalarda da aynı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan

alışmalar sonucu akrilamid içeriği en fazla olan yiyecekler kızartmalar (ince dilimlenmiş patates, cips) ve hububatlı ürünler (kraker, bisküvi) olduğu bildirilmiştir (Tamer ve Karaman, 2006).

Akrilamide maruz kalmanın başlıca yolu gıdalarla alınmadır. Genel olarak populusyonun günlük akrilamid alımının 0,3-0,8 mg/kg olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca akrilamidin gıdalarla alımının çocuklar ve gençlerde daha fazla olduğu düşünülmektedir çünkü yetişkinlere oranla patates kızartmasının, cipsin ve erezin tüketimi daha fazladır (Tamer ve Karaman, 2006).

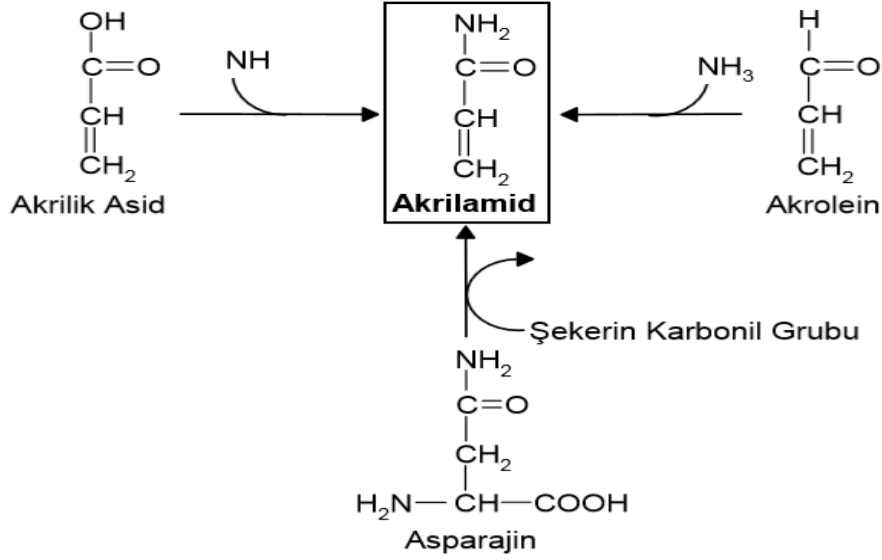
Akrilamid'in gıdalarda oluşumu aşağıda gruplandırılmıştır:

- a- Karbonhidratlar, lipidler ve serbest amino asitlerin bozunması sonucu oluşan akrolein ya da akrilik asitlerin oluşumu yolu ile,
- b- Sitrik asit, malik asit, laktik asiti de kapsayan bazı organik asitlerin dehidrasyon-dekarboksilasyon yolu ile,
- c- Tahıllarda yüksek oranda bulunan asparjin amino asidinin düşük orandaki řekerlerle reaksiyona girmesiyle akrilamid oluřabilir (Tamer ve Karaman, 2006).



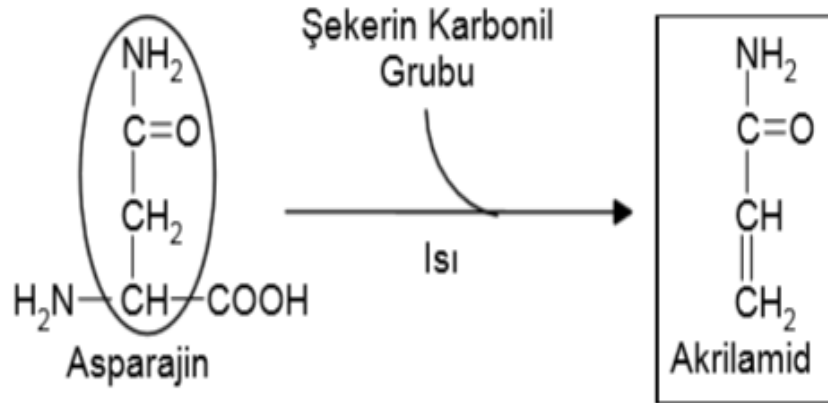
Şekil 2.2. Maillard reaksiyonu ile akrilamid oluşumu (Stadler, 2002).

Maillard reaksiyonlarında akrilamidin oluşabilmesi için reaksiyona giren amino asidin asparajin olması oldukça önemlidir. Karbohidrat ve protein içerikli gıdaların yüksek sıcaklıkta işlem görmesi sonucu oluşan bu bileşik gıdalarda renk, lezzet ve aromanın oluşumuna katkı sağlar (Ötles vd., 2004; Karagöz, 2009).



Şekil 2.3. Farklı moleküllerden akrilamid oluşumu (Lingnert, 2002).

Akrolein (2-propanal, $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$) üç karbonlu aldehittir ve akrilamidin yapısını ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}_2$) anımsatmaktadır. Bu nedenle akrolein akrilamidin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Temel kimyasal transformasyonlar ile akrolein akrilamide dönüşebilir, ancak akrilamidin alternatif oluşum mekanizmalarında akrolein gerekli değildir. Örneğin, proteinler ve/veya amino asitlerin hidrolizi, dekarboksilasyonu gibi transformasyonlar akrilamid oluşumu ile sonlanabilir (Lingnert vd., 2002).



Şekil 2.4. Asparajin ve şekerin karbonil grubunun etkileşim ile akrilamid oluşumu (Biederman, 2003).

2.2 Sazan (*Cyprinus carpio* 1758 L.)

Dünyada balık aileleri arasında en fazla türe sahip olan sazanlar *Cyprinidae* ailesine mensup olup, çok geniş bir coğrafik alana yayılmışlardır. Ilıman iklim bölgelerinde ekonomik öneme sahip olan sazan balıkları, başta Brezilya olmak üzere birçok yerde (Latin Amerika, Avustralya, Asya, Avrupa, Afrika) yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ülkemizde tatlı sularda doğal olarak bulunan sazan balığı (*Cyprinus carpio* 1758 L.); “aynalı sazan” veya “pullu sazan” olarak da adlandırılmaktadır (Muus vd., 1976; Dündar, 2010).

Sazan balıklarının vücutları füze şeklinde olup, yanlardan hafif yassılaşmıştır. Bu balıkların sırt kısımları koyu yeşile yakın olmakla birlikte yan kısımları açık kahvemsî sarı renktedir. Bu balıkların vücut renkleri yaşadıkları ortamın şartlarına bağlı olarak değişmektedir. Genellikle vücutları düzgün ve pullarla kaplıdır. Ağızlarında diş yoktur, sadece farinks dişleri vardır. Başları küçüktür ve baş kısmına yakın bir çift ventral yüzgeç bulunmaktadır, diğer yüzgeçler (dorsal, anal, kaudal) ise tektir (Dündar, 2010; Öngün, 2013).

Sazan balıkları yüksek toleransa sahip olmalarından dolayı, az miktarda oksijene gerek duyarlar ve 20°C'nin üzerindeki sularda iyi gelişme gösterdikleri gibi, ani sıcaklık değişimlerine de iyi uyum sağlarlar. Ayrıca sazanlar dipten beslenen balıklar oldukları için başlıca besinlerini bentik su canlıları oluşturur. Bunun yanı sıra planktonlar, böcek larvaları, bazı ergin böcekler, mollusklar, bitkisel atıklar ve bitki parçaları ile beslenebilirler. Ayrıca bazı büyük sazanların küçük balıkları yediği de bildirilmiştir (Öngün, 2013).

Sazan balıkları durgun veya yavaş akan sularda, çamurlu, sıcak ve bol bitkinin bulunduğu alanlarda yaşamayı tercih ettikleri gibi su sıcaklığının 18-22°C olduğu dönemlerde üremeyi tercih ederler. Üreme doğal ortamda su sıcaklığının istenilen dereceye ulaşması ile Nisan-Mayıs aylarında bol bitkili ve sığ sularda gerçekleştirilir. Bitkilere yapışan yumurtalardan 3-4 günde larvalar çıkar. Çıkan larvalar ortalama 5 mm büyüklükte olup 1-3 gün bitkilere tutunarak yaşarlar. Bu süreç sonunda ise yüzeye çıkıp yüzmeye ve yem almaya başlarlar.

Sazan balığı (*Cyprinus carpio* 1758 L.)'nın sistematikteki yeri;

Phylum: Chordata

Subphylum: Gnathostomata

Classis: Pisces

Subclassis: Teleostei

Ordo: Cypriniformes

Familia: Cyprinidae

Genus: *Cyprinus*

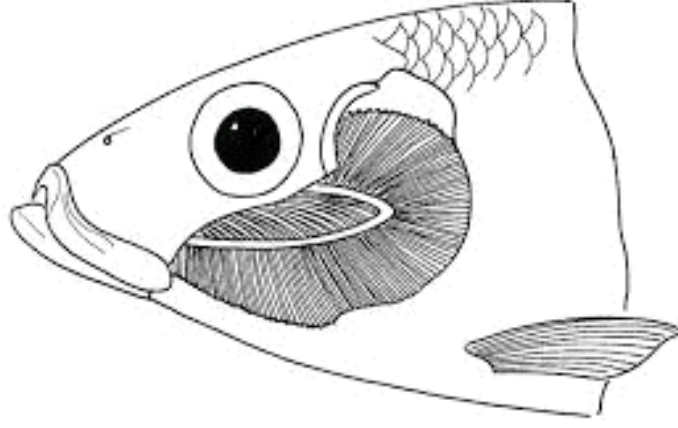
Species: *Cyprinus carpio*



Şekil 2.5. Sazan balığı (URL1).

2.3 Solungaçların Genel Yapısı

Suda yaşayan canlıların havadaki oksijenden yararlanmasını sağlayan en önemli organ solungaçlardır. Solungaçlar vücudun dış yüzeyinin suya doğru yapmış olduğu kıvrımlar olup yutak bölgesinde, her iki yanda içten dışa doğru uzanan bir seri cep ya da yarık içinde bulunurlar (Demir, 2009).

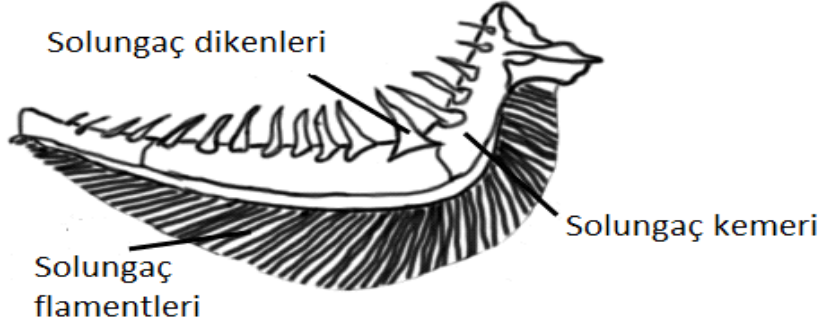


Şekil 2.6. Solungaçların genel görünüşü (URL2).

İnsanlarla karşılaştırıldığında, balıkların daha yüksek solunum oranına sahip olmaları ve solungaçlarının solunum yüzeylerinin büyük olması, bu canlıların su kirliliğine maruz kalmalarını arttırabilmektedir. Balık solungaçlarının diğer özellikleri solungaçlarda kan ve suyun karşı akım sistemi, ince membranlar ve geniş yüzey alanı sudan bileşiklerin alınımını ve kan akışına transferini arttırabilir (Van der Kreek vd., 2001; Güngördü, 2007). Deniz kemikli balıkları, hipotonik doğaları nedeniyle deniz suyu içerler, bu da balıkların sudaki maddelere maruz kalmalarını arttırabilmektedir (Damstra vd., 2002; Demir, 2009; Güngördü, 2007). Bunun aksine, tatlı su balıkları (bu balıklar su içmezler) suyu vücutları içinde hareket ettirirler, bu nedenle su kirliticilerine maruz kalmanın bir yolu yaratılmış olmaktadır (Damstra vd., 2002; Güngördü, 2007; Demir, 2009).

Balık solungacı üç kısımdan oluşmaktadır.

- a. Solungaç kemeri
- b. Primer lamel (solungaç filamenti)
- c. Sekonder lamel



Şekil 2.7. Solungaç filamentlerinin genel görünüşü (URL3).

2.3.1 Solungaç kemeri

Primer lameli destekleyen yapıdır (Erkmen, 1997).

2.3.2 Primer lamel (solungaç filamenti)

Farklı hücre tiplerini bir arada bulunduran primer lamel, sekonder lamelin destek aldığı ana bölgedir (Talas vd., 2014). Primer lamelin şekli, sayısı, büyüklüğü balık türlerine ve balıkların bulunduğu çevreye göre değişiklik göstermektedir (Erkmen, 1997).

2.3.3 Sekonder lamel

Solungaçlarda gaz değişiminin yapıldığı ana bölgedir. Primer lamelin her iki tarafında yer alan sekonder lamelin büyüklüğü, yoğunluğu ve şekli farklı ortamlarda yaşayan farklı balık türleri için oldukça değişiklik gösterir (Erkmen, 1997).

2.3.4 Solungaç epiteli

Solungaçlarda gaz ve iyon transportunu gerçekleştiren, solungaç yüzeyini örten iki çeşit epitel doku vardır. Bunlar; a) Primer epitel ve b) Sekonder epitel olarak isimlendirilmektedir.

2.3.5 Primer epitel

Primer epitel çok katlı olup, geniş yayılım gösterir, primer lamelin tamamını kaplar. Bu geniş yayılımdan dolayı "interlamellar epitel" olarak da adlandırılır. Primer epitelde beş tip hücre bulunur. Bunlar; Pavament hücreleri, mukus hücreleri, klorid hücreleri, farklılaşmamış hücreler, nöroepitel hücrelerdir (Laurent, 1982; Ojha, 1993). Kloroid hücrelerin varlığı primer epitelin en önemli özelliğidir. Tuzlu sularda

büyük ölçüde iyon sekresyonunun yapıldığı yerler olan kloroid hücreler, primer epitelin dış tabakasında yer alan pavament hücreleri ile çok yakın ilişki içerisinde bulunmaktadır. Pavament hücreler iyi gelişmiş golgi aygıtına, yoğun düz endoplazmik retikuluma ve bol miktarda farklı büyüklükteki veziküllere sahiptirler (Laurent, 1984).

Mukus hücreleri bulundukları yerler ve sayıları bakımından farklılık gösterdikleri gibi genellikle filamentlerin baş kısmında lokalize olmuşlardır. Mukus hücrelerinin yoğunluğu ortamın tuzluluk derecesine göre değişebilmektedir. Primer epitelin bazal tabakası ise tipik farklılaşmamış hücrelerden meydana gelmektedir (Laurent, 1984; Çınar vd., 2008).

2.3.6 Sekonder epitel

Sekonder lameli kaplayan sekonder epitel, solunum epiteli olarak da adlandırılır. Bu epitel gaz değişiminin yapıldığı ana yer olmasından dolayı çok ince yapıya sahiptir. Bu özellik akciğerli balıklar harici tüm balıklarda aynıdır (Demir, 2009; Laurent vd.,1980); çünkü bu balıklar gaz değişimi için solungaçlarını pek kullanmamaktadır. (*Protopterus* ve *Lepidosiren*).

Sekonder epitel iki hücre tabakasından meydana gelmiştir: a) Bazal veya seröz tabaka iç kısımda, b) Apikal veya muköz tabaka dış kısımda yer almaktadır (Erkmen, 1997; Laurent vd., 1980). Bu iki tabakaya ait hücreler farklı özelliklere sahiptirler. Elektron mikroskopuyla yapılan çalışmalarda muköz tabakanın organeller bakımından daha zengin olduğu belirtilmiştir. Bu zenginlik muköz tabakanın daha yüksek bir aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Seröz tabaka ise farklılaşmamış epitel hücrelerinden meydana gelmiştir. Bu hücrelerde nükleusun sitoplazmaya hacimsel oranının yüksek olması ve bol miktarda ribozoma ve iyi gelişmiş düz endoplazmik retikuluma sahip olmaları, bunların farklılaşmaya hazır hücreler olduklarını göstermektedir (Laurent vd., 1980).

2.3.7 Solungaç alanı

Solungaç alanı, sekonder lamel sayısı ve bunların ortalama yüzey alanı olarak tanımlanmaktadır. Solungaç alanının aynı ağırlığa sahip balıklarda aktiviteye bağlı olarak değişebileceği belirtilmiştir. Bir kg vücut ağırlığına sahip olan ton balığında bu alan 2 m² iken, aynı vücut ağırlığına sahip daha az aktif olan diğer balıklarda bu değer 0,13 m²'yi geçmemektedir (Laurent, 1982).

3. LİTERATÜR ÖZETİ

3.1. Akrilamid Toksisitesi

Akrilamid toksikolojisi plastik üretiminde akrilamidin kullanılması nedeniyle detaylı olarak araştırılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucu akrilamidin çok hızlı bir şekilde vücutta absorbe edildiği ve yayıldığı gözlemlenmiş, plasenta aracılığı ile anneden çocuğa geçebilmekle beraber, anne sütünde de bulunabileceği belirtilmiştir (Tamer ve Karaman, 2006); fakat akrilamidin insan sağlığı üzerine teratojenik ve mutajenik etkileri ile üreme sistemi üzerine etkilerine dair bilgiler mevcut değildir (Anonim, 1994). Ancak deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda genetik materyale zarar verdiği, adrenal bezlerde ve testislerde tümör oluşumunu tetiklediği, kanserojenik etkiye sahip olduğu, sinirler üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu, üreme sistemini etkileyerek kısırlığa neden olduğu belirtilmiştir. Bu gibi nedenlerden dolayı 1994 yılında akrilamid Uluslar Arası Kanser Araştırma Kurumu (IARC); tarafından insanlar için muhtemel kanserojen olduğu bilinen 2A grubu maddeler sınıfına dahil edilmiştir (Kısabay vd., 2014). Kaza sonucu akrilamide maruz kalan insanlarda, akrilamidin nörotoksik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Krautter vd., 1986).

Akrilamidin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, oksidatif stresi indüklediği, hücrel redoks dengesini bozarak reaktif oksijen radikalleri oluşturduğu gösterilmiştir. Metaboliti olan glisidamid, GSH ile konjugasyona girerek hücre nükleofilleri ile etkileşimi kısmen engellenebilir. Akrilamid ise GST aracılığı ile GSH'a bağlanabilir. Bu durumda hücrel antioksidan koruma sisteminin en önemli molekülü GSH tükenebilir. Bağırsaktan hızla absorlandıktan sonra akrilamid GSH ile konjugasyona girdiğinden hücrel GSH stoklarını tüketme riski gösterir. Diğer taraftan akrilamid oksidatif stres sonucunda apoptoz oluşturabilir. Görüldüğü gibi nörotoksik, üreme toksisitesi, genotoksisite ve kanserojenez gibi son etkiler apoptoz ile tetiklenebilir (Zamani vd., 2017).

Zovko vd. (2015) akrilamidin ekotoksitesini standardize biyodeneyleler kullanarak tatlı su organizmalarına araştırmış ve alglerin akrilamide çok hassas olduğunu; diğer

hedef olmayan canlı *Lemna minor* (su mercimeği) ve *Daphnia magna*'ya ise az toksik olduğunu bildirmiştir. Avrupa Birliği raporuna göre komisyon ülkelerinde toplam yıllık akrilamid üretimi 80.000-100.000 ton alıcı su ortamlarına kaynaklardan salınan miktar ise günde 280 kg'dır. Araştırmada hedef olmayan canlı *Daphnia magna*'ya immobilizasyon EC₅₀ değeri 100 mg/L olarak hesaplanmıştır (Zovko vd., 2015). Larguinho vd. değişik biyolojik organizasyon düzeyinde akrilamidin balık modelinde genotoksisiteden biyokimyasal savunma mekanizmasına ve doku-organ etkilerine sublethal LC₅₀ değerleri kullanarak araştırmıştır. Çalışmada ergin *Carrasius auratus* (Japon balığı) 50-200 mg/L akrilamide 96 saat maruz bırakılmış, çeşme suyu kontrol olarak kullanılmıştır. Akrilamid için LC₅₀ değeri 119,5 mg/L en toksik dozu ise 200 mg/L olarak bulunmuştur. Total DNA zincir kırıklarında ve eritrosit nükleer anomalilerinde doza bağımlı artış, karaciğerde CYP1A ve GST aktivitelerinde yükselme bulmuşlardır (Larguinho vd., 2013).

Mytilus galloprovincialis (kara midye) de LC₅₀ (96 h) değeri yaklaşık 400 mg/L olarak bulunmuştur. 1-10 mg/L akrilamid kronik maruziyetinde ise lipid peroksidasyonu, EROD ve GST aktiviteleri anlamlı derecede yükselmiş ancak toplam antioksidan kapasite aşılmamıştır. Asetilkolin esterase aktivitesinde ise nörotoksik etkileri gösteren bulgu belirtilmemiştir. Önemli histolojik hasar görülmemesine rağmen (solungaç sindirim) dişi gonadların şiddetli nekroz ve oosit atresizi görülmüştür (Larguinho vd., 2014).

Dişi ve erkek sıçanlara akrilamid uygulanması sonucunda serum AST, ALT, LDH, trigliserid düzeylerinde kontrole göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Elde edilen bu bulgular sonucunda uzun süreli akrilamid alınımlı karaciğer biyokimyası ve patoloji üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Yerlikaya vd., 2012).

Yapılan çalışmalarda akrilamid farelerde, tiroid ve böbrek üstü bezlerinde, rahimde ve cinsel organlarda tümörlerin büyümesini teşvik etmiştir. Bu nedenle akrilamidin düşük dozlarının bile hayvanlarda risk oluşturduğu, genotoksik ve karsinojen etkiye sahip olduğu düşünülmüştür (Sharp, 2003).

Akrilamid fareler ve kemirgenlerin somatik hücrelerinde gen mutasyonuna ve kromozomal sapmalara neden olduğu, ayrıca deney hayvanlarının üreme sistemini etkileyerek, doğurganlığı azalttığı gibi kısırlığa da neden olduğu bildirilmiştir (Tamer ve Karaman; 2006). Akrilamid fareler üzerinde karsinojenik etkiye sahip olmasına rağmen, insanlar için aynı durumun söz konusu olabilmesi için akrilamid alım

seviyesinin daha yüksek dozda olması gerekmektedir. Yapılan tüm çalışmalarda belirli bir popülasyon için sonuçlar elde edildiğinden, bu sonuçlar kanserojen etkiye sahiptir demek için yeterli değildir (Tamer ve Karaman; 2006).

Farelerle yapılan 8 günlük bir çalışmada, akrilamidin 50 mg/kg'nın felce neden olduğu belirtilmiştir (Shanker ve Seth,1986). Yine bir başka çalışmada akrilamidin insan vücudunda, mutajenik ve kanserojenik olduğu düşünülen glisidamide dönüştüğü belirtilmektedir (Claeys vd., 2005). Akrilamid uygulanan canlılarda glutatyon-S-transferaz düzeyinde ilginç bir şekilde azalma gözlemlenmiştir. Detoksifikasyonda önemli rol oynayan glutatyon-S- transferazın azalması sonucunda memelilerde felç belirtileri gelişmeden önce depresyonun geliştiği gözlemlenmiştir (Shanker ve Seth, 1986).

Sucul ekosistemlerde yaşayan canlıların genel sağlık durumunun iyi olabilmesi için, sulara karışan akrilamidin miktarının bilinmesi gerekmektedir. Akrilamidin sucul ekosistemlerde hangi seviyede olması gerektiği tam olarak bilinmemekle beraber, bu ekosistem içinde yaşayan canlı türlerinin farklı dozlardan etkilenebileceği bildirilmiştir. Aynı zamanda burada yaşayan türlerin yaşamını sonlandıran LC₅₀ (öldürücü dozun) değerinin, türler arasında farklılık gösterebileceği gibi tür içinde de canlıların büyük ve küçük olma durumuna göre bile değişebileceğinden bahsedilmiştir. Koca kafa goyan balığı (*Heteropneustes fossilis*) ile yapılan araştırmada 96 saat için LC₅₀ değerinin 124 mg/L olduğu belirtilirken, 56 mg/L nin bu balıklarda herhangi bir etkiye neden olmadığı bildirilmiştir. Japon balıklarıyla yapılan bir diğer çalışmada ise 30 günlük süre için LC₅₀ değerinin 50 mg/L olduğu bildirilmiştir (Shanker ve Seth, 1986). *H. fossilis* (fosil yayın balığı) ile yapılan çalışmada LC₅₀ değeri belirlenememiştir. Tüm balıklar 24 saat sonunda ölmüştür. Yapılan bu çalışmada geçen süre zarfının ilk kısmında balıklarda herhangi bir stres belirtisi gözlenmemiş olmasına rağmen, geri kalan tüm sürede kuyruk ve yüzgeçlerde hareket kaybı gözlemlenmiştir (Shanker ve Seth, 1986).

Gökkuşağı alabalıklarıyla (*Onchorhynchus mykiss*) yapılan 96 saatlik bir çalışmada, altı gruba ayrılan balıklar farklı dozlarda akrilamide maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda 10 mg/L uygulanan balıkların sekonder lamellerinde kısalma ve birleşme (füzyon) ve epitel hücrelerinde nekroz gözlemlenmiştir. Ayrıca elektron mikroskopuyla incelendiğinde klorid hücrelerinin mitokondriden yoksun olduğu belirtilmiştir (Albassam vd., 1987).

Deney hayvanlarıyla yapılan bir başka çalışmada ise akrilamidin monomerik formunun sinir sistemi ve üreme sisteminde tümör oluşumuna neden olabileceği belirtilmiştir (Johnson vd., 1986; Yang vd., 2005). Yapılan çalışmalar sonucu akrilamidin deney hayvanları ve insanlar için nörotoksik olduğu gösterilmiştir (Sickles vd., 1976; Spencer vd., 1978).

Ayrıca deney hayvanlarıyla yapılan bir çok çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir. *Channa punctatus* ile yapılan akut toksisite deneyinde krom tuzu kullanılmış olup 96 saat için LC₅₀ değerinin 41.75 mg/L olduğu tespit edilerek karaciğer dokusunda; vakuolleşme, hepatositlerde piknotik çekirdek oluşumu, böbreklerde; böbrek tübülerindeki epitel hücrelerinde artış, vakuolleşme, solungaçlarda ise ödem oluşumu, nekroz, sekonder lamelde dökülmeler, hiperplazi gözlemlenmiştir (Mishra vd., 2008). Moringa oliferanın toksik etkisinin belirlenmesinde deney hayvanı olarak kullanılan *Cyprinus carpio*'larla akut ve subkronik çalışma yapılmıştır. Akut çalışma sonucunda hemoglobin, hematokrit, RBC, sayısında kontrole oranla bir düşüş gözlemlenirken, subkronik çalışmada ise Hb, Hct ve RBC iki fazlı bir yanıt göstermiştir. WBC ve MHC düzeyinde kademeli bir artış deney boyunca (35 gün) kaydedilmiştir. MCV değeri en çok 28. günün sonunda yüzde olarak yüksek çıkmıştır (% 21.36). Ayrıca her iki çalışmada da plazma protein seviyelerinde kontrole oranla düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir (Kavitha vd., 2009). Ağır metallerle yapılan birçok çalışmada örneğin kurşun ve kadmiyum ile yapılan çalışmalarda benzer sonuçların elde edildiği rapor edilmiştir. Kurşun maruziyeti sonucunda solungaç lamellerinde genellikle füzyon görülürken, kadmiyuma maruz kalma sonucunda vakuolleşme ve kan damarlarında tıkanıklıklar gözlemlenmiştir (Patnaik vd., 2010).

Yukarıda verilen literatür bilgisi sonucunda akrilamidin suçlu toksisitesi konusunda çok sınırlı veri bulunduğu anlaşıldığından, bu araştırma suçlu sistemin indikatör türü olan sazan balığına iki doz düzeyinde akrilamidin subletal etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

3.2. Solungaç Histopatolojisi

Birçok araştırmacı solungaçlarda yaygın olarak görülen patolojileri iki grup altında toplamaktadır;

1-Toksik maddelerin doğrudan zararlı etkileri (Erkmen, 1997; Laurent vd., 1980).

2-Balıkların kirleticilere karşı oluşturdukları savunma tepkileri (Morgan vd., 1973; Erkmen, 1997).

3.2.1 Toksik maddelerin doğrudan zararlı etkileri

Bunlar genellikle geri dönüşümü olmayan, doza bağımlı solunum epitelinde ortaya çıkan lezyonlardır.

A. Nekroz; Membran zedelenmesi şiddetli olduğunda, enzimlerin lizozomlardan dışarı sızması, sitoplazmaya geçmesi ve hücreyi sindirmesi ile nekroz meydana gelir (Mallatt, 1985; Uçar vd., 2008). Nekrotik hücreler membran bütünlüğünü koruyamaz ve çoğunlukla içerikleri dışarı çıkar. İskemi, toksinler, enfeksiyonlar ve travma gibi sık karşılaşılan pek çok zedelenmede ana hücre ölüm yolu nekrozdur.

Lepistes reticulatus balıklarıyla yapılan 96 saatlik çalışmada zeta sipermetrinin LC₅₀ değeri 21.35 µg/L olarak belirlenmiş ve farklı dozlardaki (15, 20, 26, 35 µg/L) zeta sipermetrinin solungaç dokusunda meydana getirdiği histopatolojik değişiklikler incelenmiştir. Solungaçlarda hiperplazi, sekonder lamellerde kısalma ve nekroz gözlemlenmiştir (Çalışkan vd., 2003).

B. Epitelde kopma; Yüksek kirletici maruziyetinin neden olduğu epitel bütünlüğünün bozulmasıdır (Mallatt, 1985, Uçar vd., 2008). Sazan balıklarıyla (*Cyprinus carpio*) yapılan akut toksisite çalışmasında deltametrinin solungaç ve böbrek dokusunda meydana getirdiği histopatolojik değişiklikler araştırılmıştır. Deltametrinin 96 saat için LC₅₀ değeri 0,041 mg/L olarak belirlenmiştir. Farklı dozlarda (0,029, 0,041, 0,058 mg/L) deltametrin uygulanması sonucunda böbreklerde piknotik çekirdek oluşumu, lümenlerin daralması, epitel hücrelerinde dejenerasyon ve vakuolleşme, solungaçlarda ise epitel dokuda kopma, ödem oluşumu, hiperplazi, lamellerin birleşmesi ve nekroz gözlemlenmiştir (Cengiz, 2006).

3.2.2. Balıkların kirleticilere karşı oluşturdıkları savunma tepkileri

Bu histopatolojik değişiklikler, istenilmeyen etkilere sahip toksik maddelerin solungaçlara girişini yavaşlatmaya hizmet eder. Geri dönüşümü mümkün değişimlerdir.

A. Hipertrofi: Hücre ve organların boyutundaki artmadır. Burada yeni hücre oluşumu söz konusu değildir, sadece yapısal proteinlerin ve organellerin artmasıyla irileşen yeni hücreler vardır (Uçar ve Atamanalp, 2008). Gökkuşığı alabalıklarıyla yapılan akut toksisite çalışmasında mantar ilacının solungaç dokusu üzerine histopatolojik etkileri incelenmiştir. Mantar ilacının farklı dozlarının uygulanması sonucunda solungaçlarda hipertropi, hiperplazi, lamellerin birleşmesi ve nekroz oluşumu gözlemlenmiştir (Boran vd., 2010).

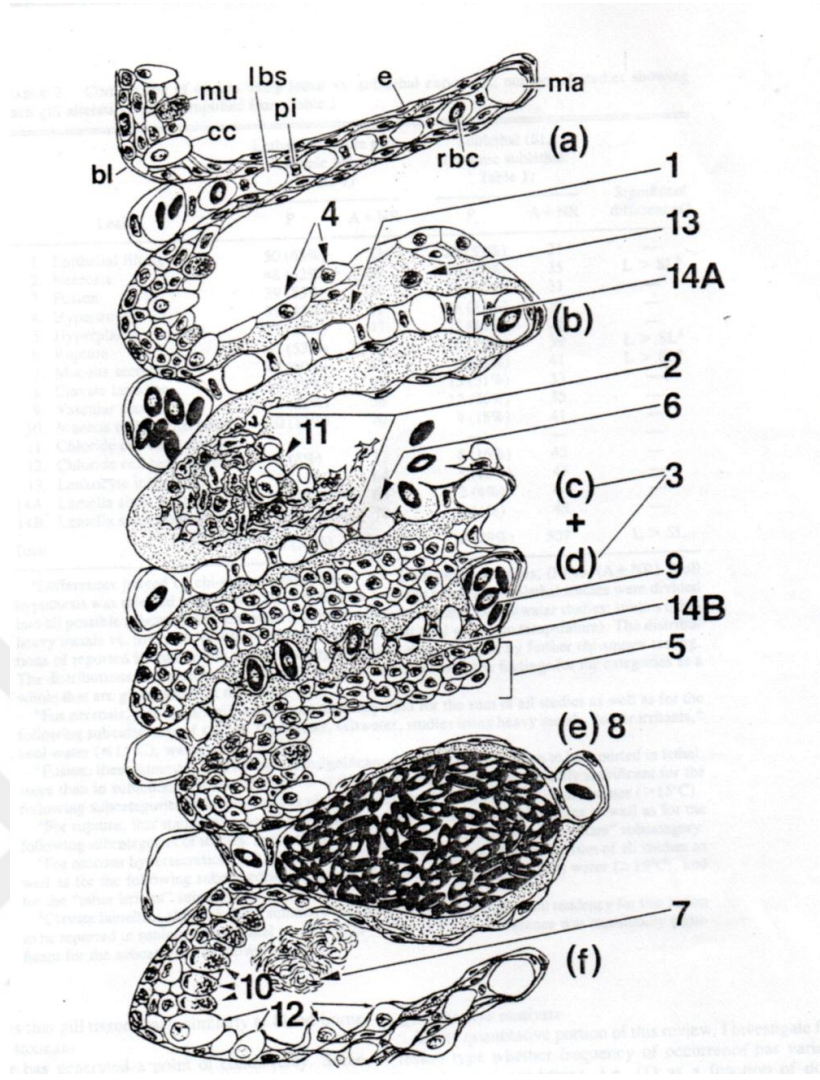
B. Hiperplazi: Sekonder lamellerde yer alan epitel hücrelerinin komşu lamellerin arasını dolduracak şekilde aşırı çoğalması durumudur (Morgan vd., 1973; Erkmen, 1997). Hiperplazi oluşumu birçok pestisit uygulamasına maruz kalmış balıkların solungaç lamellerinde görülen patolojik bir durumdur (Gill vd., 1998). Lamellar epitelde oluşan hiperplazi, sudaki kirleticilerin solungaçlardaki kan akışına ulaşabilmesi için gereken difüzyon mesafesinin artışı sağlayarak, solungaçları kirleticilerin etkisinden koruma amaçlıdır (Mallat, 1985; Salamat vd., 2012). *Oreochromis niloticus* balıklarıyla yapılan akut toksisite çalışmasında organofosforlu pestisitlerden fenitrothionun farklı dozları (0,1 ve 0,5 mg/L) uygulanmıştır. Fenitrothionun 96 saat için LC₅₀ değeri 0,84 mg/L bulunmuştur. Farklı dozlarda fenitrothin uygulanması sonucunda beyin, testis, böbrek, karaciğer ve solungaç dokusunda çeşitli histolojik bulgulara rastlanmıştır. Solungaçlarda hiperemi, hiperplazi, lamellerde birleşme ve telengiektazi görülmüştür (Benli vd., 2009).

C. Lamellerde birleşme: Lamellar birleşme birçok araştırmacı tarafından tanımlanmıştır. Lamellar birleşme solungaçlara daha sağlam bir yapı kazandırmaktadır (Erkmen, 1997). Sekonder lamellerde gözlenen bu birleşme, zarar gören solungaç yüzey alan miktarının azalmasını sağlayan koruyucu bir oluşumdur (Mallat, 1985; Erkmen, 1997; Salamat vd., 2012). *Oreochromis niloticus* balıklarıyla yapılan altı haftalık çalışmada amonyağın farklı dozlarının (1, 2, 5 ve 10 mg/L) karaciğer, böbrek ve solungaç dokularındaki histopatolojik etkileri incelenmiştir. Solungaçlarda hiperemi, sekonder lamellerde birleşme, klorür

hücrelerinde çoğalma, telengiektazi görülmüştür. Ayrıca karaciğer ve böbrek dokularında hiperemi, hücrelerde şişme, glomerulonefrit (nefronların iltihaplanması) belirlenmiştir (Benli vd., 2008).

D. Clavete lamel (Telengiektazi): Suda bulunan kirleticilerin yol açtığı tahri  edici reaksiyonlar sonucunda sekonder lamellerde gözlenen patolojik bir oluşumdur (Erkmen, 1997; Uçar, 2008). Sekonder lamelde yer alan kan damarı çeperinin yayıflatılmı  noktalarında meydana gelen şişlik olarak da tanımlanır. Yapılan çalışmalarda lamellar birleşme ve clavete lamel oluşumu, balıkların kirleticilere karşı oluşturduğu savunma tepkilerine örnek verilebilir (Mallatt, 1985; Salamat vd., 2012).

Piaractus mesopotamicus balıklarıyla yapılan akut toksisite çalışmasında glifosat herbisitinin 48 saat için LC₅₀ değerinin 3,74 mg/L olduğu belirtilip, karaciğer ve solungaçlarda bir çok histopatolojik durum gözlemlenmiştir. Solungaçlarda hiperplazi, hipertrofi, mukus hücrelerinde çoğalma görülmüştür (Shiogiri vd., 2012). Suudi Arabistan'da Hanefi  ayında Tilapia balıklarıyla (*Oreochromis sp.*) yapılan araştırma sonucunda ise solungaçlarda bir çok histopatolojik durum gözlemlenmiştir. Solungaç lamellerinde (sekonder lamellerde) anormal oluşumlar, lamellerde birleşme (füzyon), epitel ayrılması, ödem oluşumu, nekroz gözlemlenmiştir. Klorid (klorür) hücrelerinde ve mukus hücrelerinde büyüme olduğu belirtilmiştir (Sorour ve Harbey, 2012).



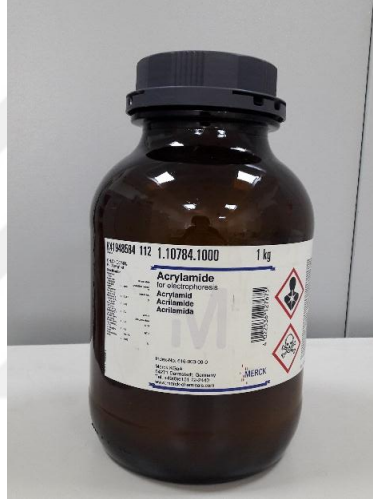
Şekil 3.1. Balık solungaçlarında kirleticilerin etkisine bağlı olarak oluşan histopatolojik bozukluklar; a: Normal sekonder lamella yapısı; 1: Epitel ayrılması, 2: Nekrozis, 3: Lamellar birleşme (c-d), 4: Hipertrofi, 5: Hiperplazi, 6: Epitel kopması, 7: Mukus sekresyonu, 8: Clavete lamella (e), 9: Vaskular tıkanıklık, 10: Mukus hücre proliferasyonu, 11: Klorid hücrelerin erken hasara uğraması, 12: Klorid hücre proliferasyonu, 13: Epitelde lökosit infiltrasyonu, 14: A; Lamellar kan sinüsünde daralma (Mallat, 1985'den).

4. MATERYAL VE METOD

4.1 Materyal

4.1.1 Akrilamid

Çalışmamızda CAS numarası 79-06-1 olan, ticari akrilamid (Merck, Darmstadt, Almanya, kat.no 1.10784.1000, molekül ağırlığı 71.07 g/mol) kullanılmıştır.



Şekil 4.1. Akrilamid.

4.1.2 Akvaryum ünitelerinin hazırlanışı ve su kalite kriterlerinin belirlenmesi

Yapılan çalışmada 300 L hacimli cam akvaryumlar kullanılarak, deney öncesinde tüm akvaryumlar sodyum hipoklorid ile dezenfekte edilmiştir. Akvaryumlara aktarılabacak olan su ana şebekeden alınarak ilk olarak suyun kaba atıklardan temizlendiği filtreden, ikinci olarak suyun pH, çözünmüş oksijen ve klor bakımından ayarlandığı filtreden geçirilerek depolanması sağlanmıştır. Depolanan su pompalar aracılığı ile akvaryumlara aktarılmıştır. Daha sonra aktarılan su üç gün akvaryumlarda bekletilerek ve hava filtreleri çalıştırılarak, ortamın çözünmüş oksijen miktarı 7 ppm, pH yaklaşık 7,2-7,4 olana kadar ayarlanmış ve deneyde kullanılacak balıklar ortama alınmıştır.

4.1.3 Deneyde kullanılan kimyasal malzemeler

Bu çalışmada ksilen, %95-98 teknik etil alkol, %99.8 absölüt etil alkol, glasiyal asetik asit (Sigma Aldrich), hematoksilen (Merck), Entellan, HCl, eozin (J.T. Barker), potasyumalum $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ kullanılmıştır.

4.1.4 Deneyde kullanılan alet ve cihazlar

Deneyisel çalışmalar boyunca hassas terazi, pH metre, diseksiyon seti, lam, lamel, piset, TP 1020 doku takip cihazı (Leica), EG 1160 doku bloklama cihazı (Leica), RM 2125RT mikrotom (Leica), HI 1220 ısıtıcı tabla (leica), DM 4000 BL araştırma mikroskobu (Leica) kullanılmıştır.



Şekil 4.2. Doku takip cihazı.



Şekil 4.3. Doku bloklama cihazı.



Şekil 4.4. Sıcak su banyosu ve ısıtıcı tablo.



Şekil 4.5. Mikrotom.

4.1.5 Balıkların temini ve deneysel grupların kurulması

Deneyde kullanılan sazan (*Cyprinus carpio* 1758 L.) balıkları Orman ve Su İşleri Bakanlığı DSİ 7. Bölge Müdürlüğü 73. Şube Müdürlüğü Yedikır Su Ürünleri İstasyonundan hibe yolu ile temin edilmiştir.

Uygulama öncesinde balıklar düzenli olarak 300 L'lik akvaryumlarda 15-20 gün pelet yem ile beslenerek ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Ortalama ağırlıkları $59,82 \pm 10,38$ g boyları $16,76 \pm 0,90$ cm olan juvenil balıklar kullanılmıştır. Her biri 7 balık içeren 3 grup oluşturulmuştur. İlk gruptaki balıklar kontrol grubunu oluşturmuş, ikinci grup balıklara 10 mg/L akrilamid, üçüncü grup olan balıklara ise 50 mg/L akrilamid uygulanmıştır. Stok akrilamid çözeltisi ve sulandırıcılarla elde edilen doz çözeltileri distile su içinde hazırlanmıştır. Balıklar 96 saat boyunca 7 ppm çözünmüş oksijen doygunluğunda, 7,2-7,4 pH'da $18-20^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki suda bu uygulamaya maruz bırakılmıştır.

4.1.6 Hayvan deneyleri yerel etik kurul izni

Deneylerde kullanılan sazan balığı için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri yerel etik kurulu tarafından onaylanan, 26-05-2014 tarihli 06 sayılı protokol uygulanmıştır. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel etik kurulu ve Dünya Tıp topluluğu Helsinki deklarasyonunda bulunan deneysel prosedürler için belirlenmiş prensipler kılavuzu izlenmiştir.

4.1.7 Araştırma birimi

Bu çalışmanın akrilamide maruziyet deneyleri, Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi, Ekotoksikoloji Laboratuvarında; deneylerin devamı ise Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi akvaryum sisteminin olduğu laboratuarda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.6. Akvaryum üniteleri.



Şekil 4.7. Akvaryum üniteleri.

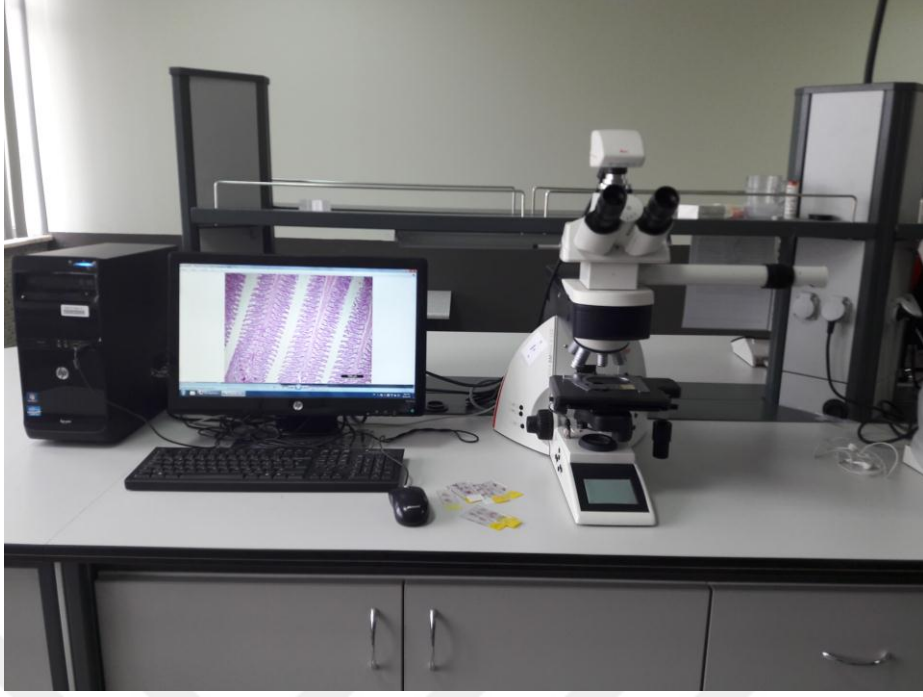
4.2 Metod

4.2.1 Akrilamide maruz kalan balıkların makroskopik incelenmesi

İki doz seviyesinde (10 ve 50 mg/L) akrilamide maruz bırakılan sazan balıklarında deney süresince ölüm görülmemiş, balıklar makroskopik incelemede sağlıklı bulunmuştur. Sazan balıkları buz anestezisi altında disekte edilerek solungaç dokuları hasara uğratılmadan çıkarılmıştır.

4.2.2 Histolojik incelemeler

Disekte edilen solungaç dokuları doku takip kasetine ayrı ayrı konularak %10'luk formaldehit çözeltisinde fikse edilmiştir. Daha sonra dokunun suyunun tamamen alınması, dokunun saydamlaştırılması ve emdirme (parafin) amacı ile tüm dokular sırayla doku takip cihazına konulmuştur. Bu işlemden sonra dokular doku bloklama cihazında parafine gömülerek kesime hazırlanmıştır. Hazırlanan bloklar 5 µm kalınlığında kesilerek hazırlanan preparatlar solungaçlarda akrilamide bağlı olarak histopatolojik bir değişimin meydana gelip gelmediğinin saptanması için Hematoksilen & Eosin boyası ile boyanmıştır. Entellan damlatılarak lamel ile kapatılan preparatlar araştırma mikroskobunda incelenmiştir.



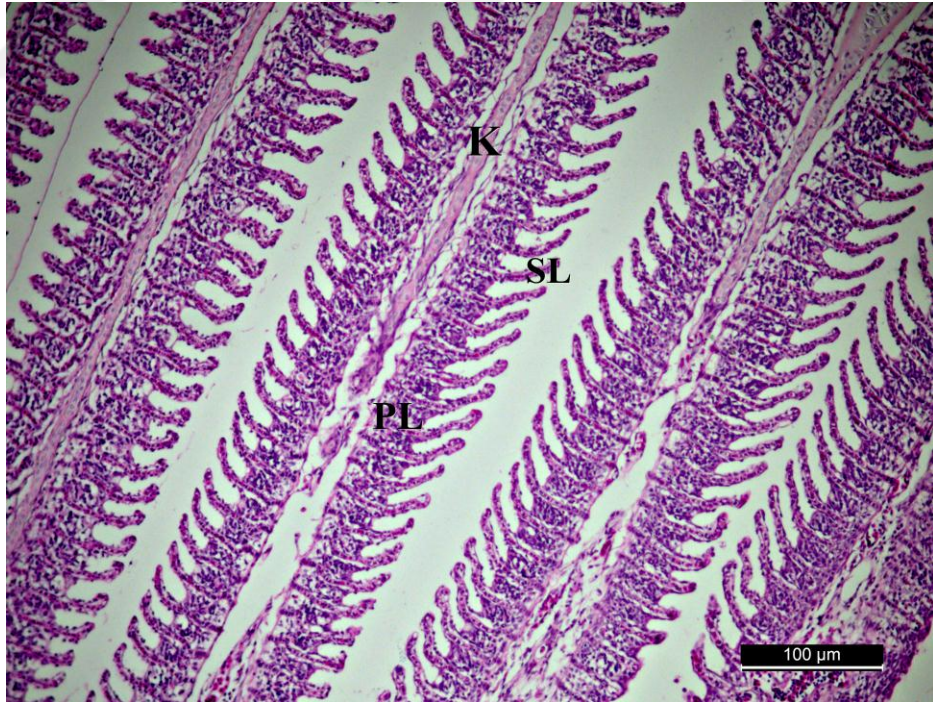
Şekil 4.8. Araştırma mikroskobu.

5.BULGULAR

Akrilamidin farklı subletal dozlarına maruz bırakılan (10 ve 50 mg/L) sazan balıkları (*Cyprinus carpio* 1758 L.)'na ait solungaç dokuları rutin histolojik işlemlerden geçirildikten sonra Hemotoksilen ve Eosin (H&E) ile boyanmış ve ışık mikroskopunda histopatolojik yönden incelenmiştir.

10 ve 50 mg/L akrilamide subletal dozda 96 saat süresince maruz bırakılan sazan balıklarının solungaç dokularında tespit edilen histopatolojik değişiklikler Çizelge 1'de verilmiştir.

Yapılan histolojik incelemeler sonucunda, kontrol grubu sazan balıklarının solungaç doku örneklerinde, primer lamel ve sekonder lamel bölgelerinde herhangi bir yapısal dejenerasyon gözlenmemiştir (Şekil.1).



Şekil 5.1 Kontrol grubu sazan balıklarında solungaçın normal histolojik yapısı.
PL- primer lamel, SL- sekonder lamel, K- kıkırdak doku Boya: H&E.

Çizelge 1. Akrilamidin subletal dozlarına (10 mg/L ve 50 mg/L) 96 saat süre ile maruz kalan sazan (*C. carpio* 1758 L.) balıklarının solungaç dokularında gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Solungaç dokusunda gözlenen histopatolojik değişiklikler		Kontrol	10 mg/L	50 mg/L
1. Dolaşımla ilgili meydana gelen değişiklikler	-Hiperemi (kanama)	-	++	+++
	-Telengiektazi	-	-	++
2. Dejeneratif değişiklikler	- Sekonder lamel epitelinde ayrılma ve dökülme	-	++	+++
	- Kıkırdak doku hasarı	-	+	++
	- Mukus salgısında artış	-	+	++
3. Proliferatif Değişiklikler	- Sekonder lamellerde kısalma	-	++	++
	-Sekonder lamellerde birleşme	-	+	++
4. Yangısal Değişiklikler	- Sekonder lamellerde ödem	-	++	+++

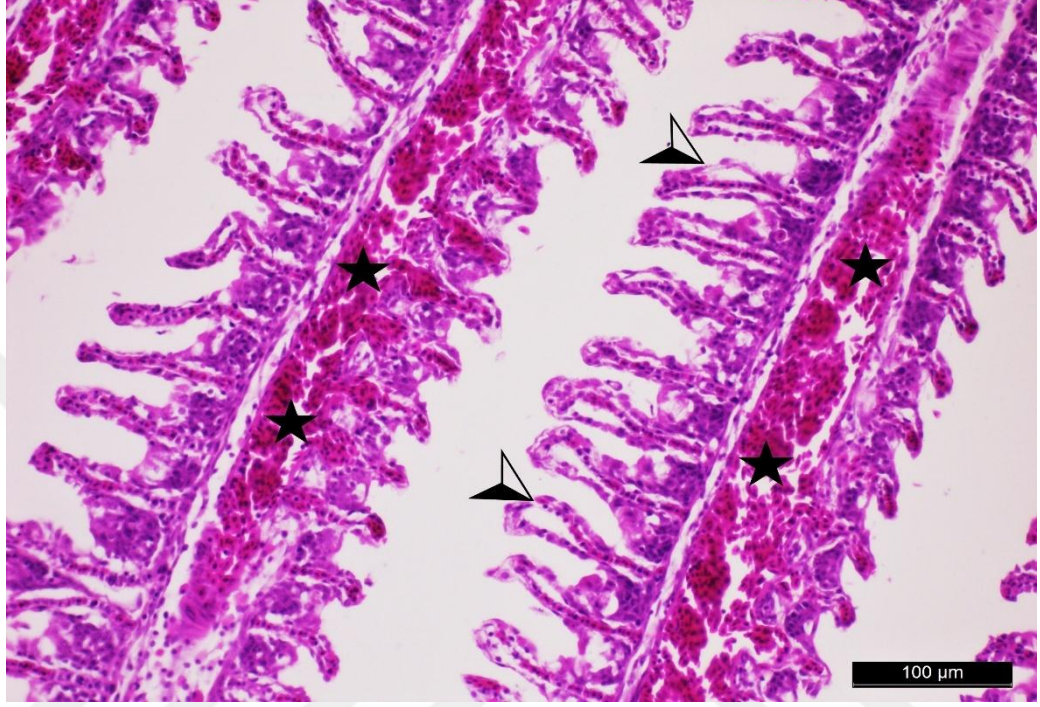
(-): Histopatolojik değişiklik yok, (+): Histopatolojik değişiklik görülme sıklığı.

Uygulama grubu sazan balıklarının solungaç dokuları kontrol grubu balıklarla karşılaştırılmış, dört farklı dejeneratif grup (dolaşımla ilgili değişiklikler, dejeneratif değişiklikler, proliferatif değişiklikler, yangısal değişiklikler) altında topladığımız birçok histopatolojik değişiklik saptanmıştır. Tespit edilen bu değişiklikler her bir uygulama grubuna ait balık örneklerinde farklı sıklıklarda olmakla birlikte, hemen hemen bütün balıklarda kaydedilmiştir. Histopatolojik bulgular doza bağlı olarak artış göstermiştir.

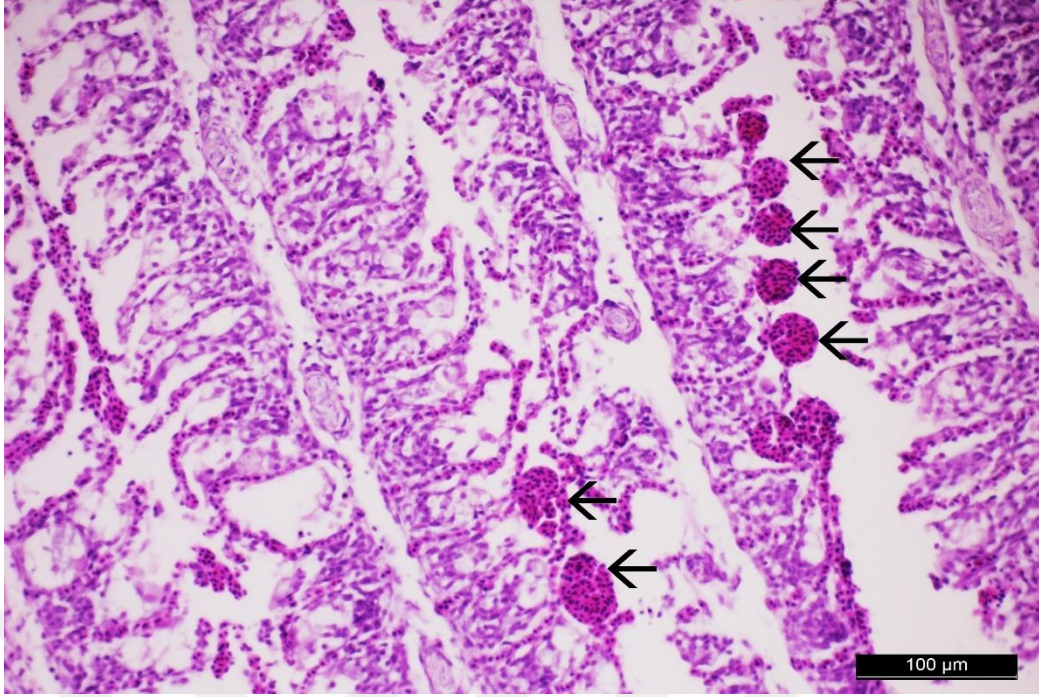
5.1 Dolaşımla İlgili Meydana Gelen Değişiklikler

Dolaşımla ilgili meydana gelen bozulmalar kan ve doku sıvı akışının patolojik durumu sonucunda gelişir. Bu gruptaki histopatolojik değişikliklerden hiperemi (kanama) kontrol grubunda gözlemlenmemiştir. Akrilamid uygulanan diğer gruplarda ise doz artışına bağlı olarak hiperemi artış göstermektedir (Şekil 5.2). Bu

grupta meydana gelen bir başka bozulma ise telangiektazidir (Şekil 5.2). Kontrol ve 10 mg/L akrilamid grubunda gözlemlenmezken, 50 mg/L akrilamid uygulanan deney grubunda telangiektazinin önemli oranda gözlenmesi dikkat çekmiştir.



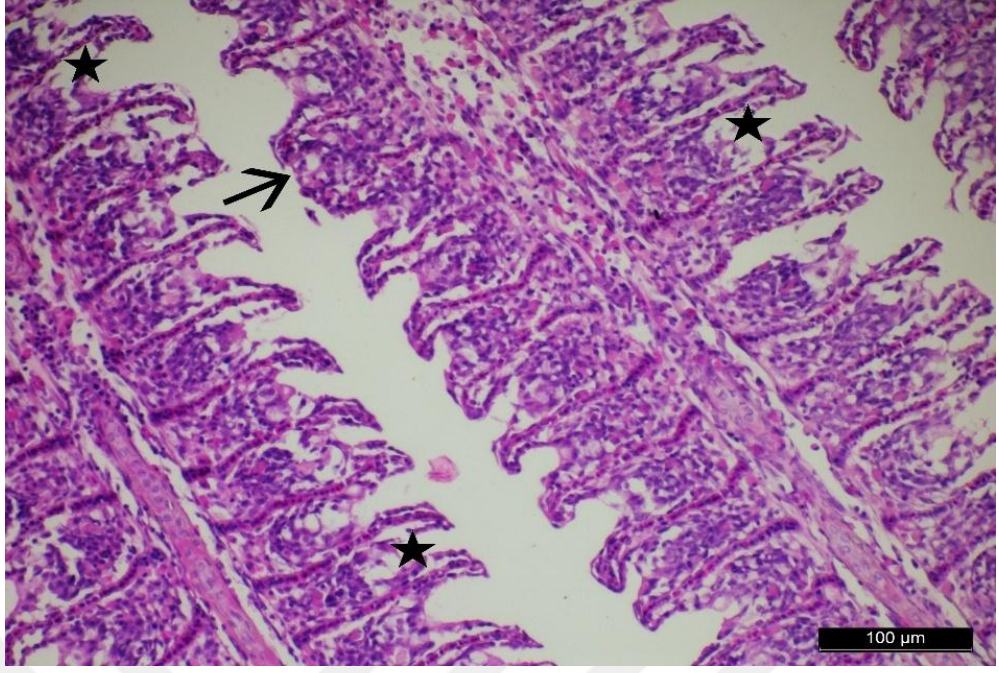
Şekil 5.2 10 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen hiperemi (yıldız) ve sekonder epitelde ayrılma (ok başı), Boya: H&E.



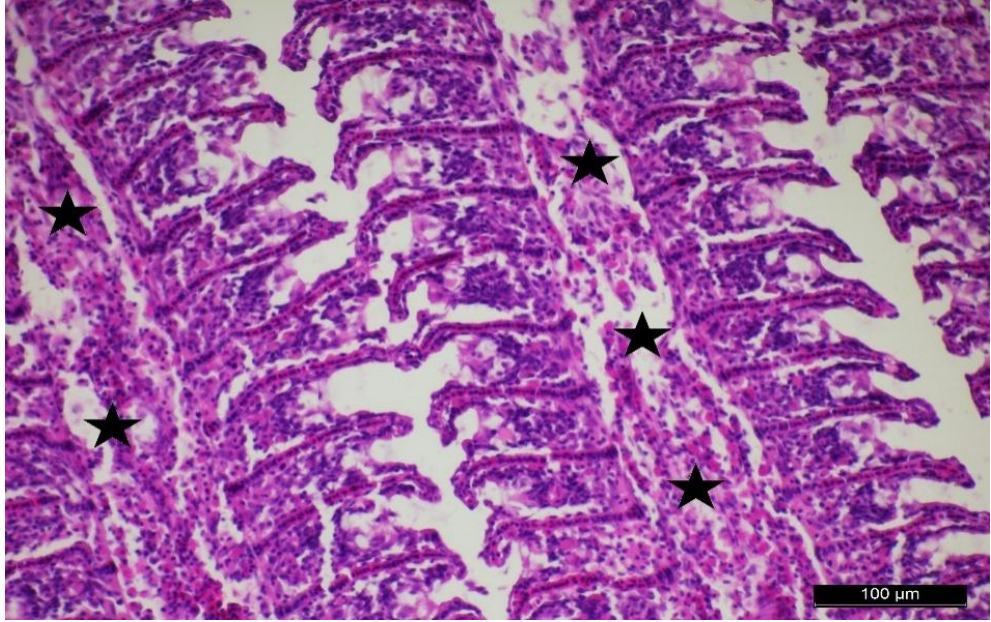
Şekil 5.3 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen sekonder lamelde telangiektazi (ok) oluşumu, Boya: H&E.

5. 2 Dejeneratif Değişiklikler

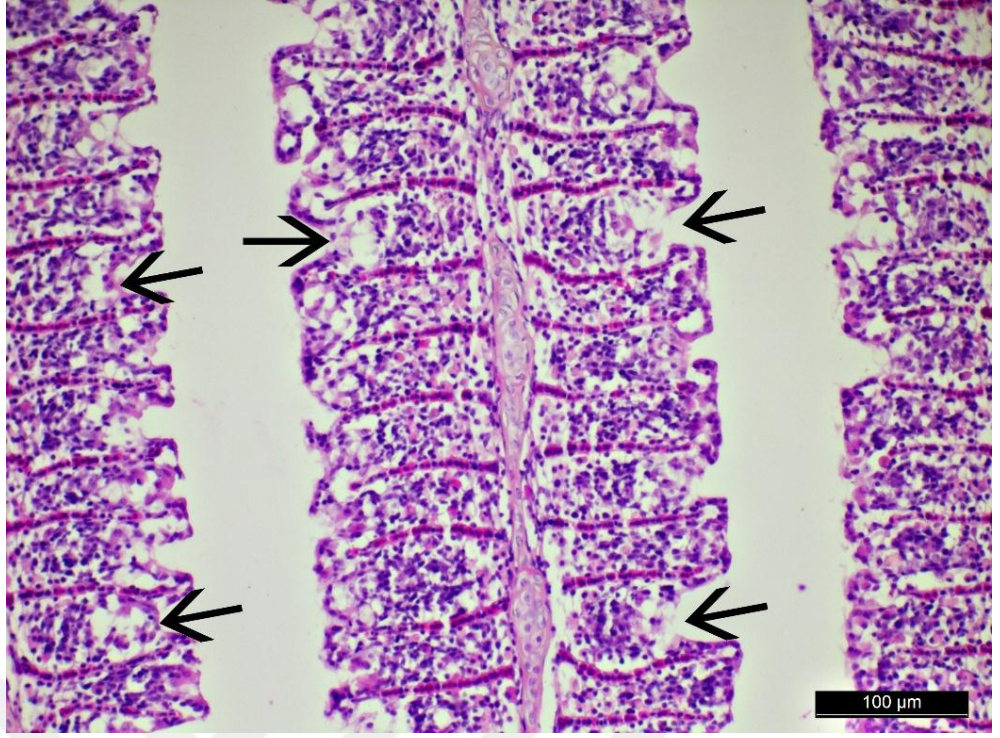
Kontrol grubu sazan balıklarının solungaç dokularında herhangi bir dejeneratif değişiklik gözlenmemiştir. Sekonder lamel epitelinde ayrılma ve dökülme (Şekil 5.4) doza bağlı olarak artış göstererek 50 mg/L akrilamid uygulanan gruptaki balıklarda bu oran en yüksektir. Her iki uygulama grubunda da primer lamelde kıkırdak doku hasarı (Şekil 5.5) tespit edilmiştir. Ayrıca primer lamel epitelinde bulunan mukus hücrelerinde (Şekil 5.6) kontrole oranla artış gözlemlenmiştir.



Şekil 5.4 10 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen sekonder lamelde birleşme (ok) ve epitelde ayrılma (yıldız), Boya: H&E.



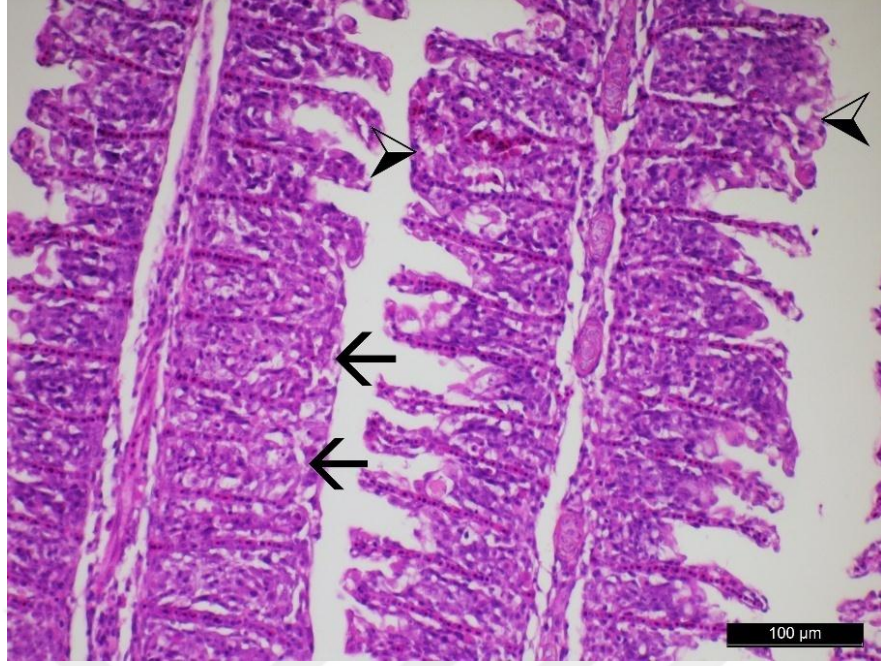
Şekil 5.5 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen primer lamelde kırıkdak doku hasarı (yıldız), Boya: H&E.



Şekil 5.6 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen primer lamelde mukus hücre artışı (ok), Boya: H&E.

5.3 Proliferatif Değişiklikler

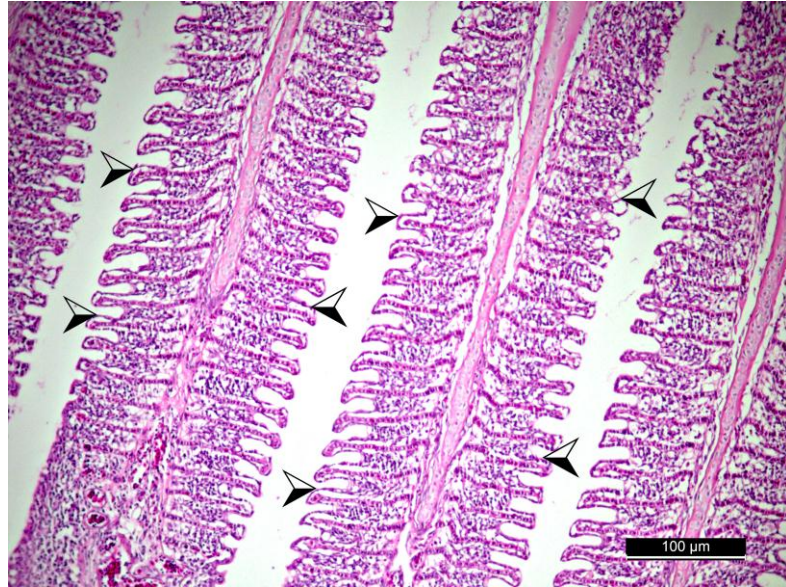
Kontrol grubu sazan balıklarının solungaç dokularında herhangi bir proliferatif değişiklik gözlenmemiştir. Uygulama grubu sazan balıklarının solungaç dokularında sekonder lamellerde birleşme ve tamamen düzleşme (hiperplazi) (Şekil 5.7) ve lamellerde kısılma (Şekil 5.8) gözlemlenmiştir. Ancak doza bağlı olarak artış gösteren proliferatif değişiklikler, 50 mg/L akrilamid uygulanan grupta daha fazla gözlemlenmiştir.



Şekil 5.7 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen sekonder lamelde birleşme (ok başı) ve epitelde düzleşme (ok), Boya: H&E.

5.4 Yangısal Değişiklikler

Kontrol grubu sazan balıklarının solungaç dokularında herhangi bir yangısal değişiklik gözlenmemiştir. 50 mg/L akrilamid uygulanan grupta lamellerde ödem (Şekil 5.8) oluşumunun daha fazla olduğu saptanmıştır.



Şekil 5.8 50 mg/L akrilamid grubu sazan balıklarının solungaç dokularında gözlenen sekonder lamelde ödem (ok başı) ve kısalma Boya: H&E.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sucul ortamda var olan birçok kirletici maddenin subletal düzeyleri ile yapılan akut toksisite deneyleri, balıklarda kirletici etkilerinin ilk sonuçlarını göstermesi bakımından son derece önemli çalışmalardır (Erkmen, 2000; Çalışkan vd., 2003; Yıldırım vd., 2006; Benli ve Özkul, 2010; Erkmen vd., 2017). Sucul sistemlerdeki birçok kirletici kısa veya uzun vadelerde subletal düzeylerde. Bu düzeyler balık ölümlerine yol açmadıkları için genellikle farkedilmezler; fakat bu tip etkilerin sonuçları morfolojik ve fizyolojik olup, canlıların uyum gücünde azalmaya ve hastalıklara neden olurlar.

Birçok kirletici maddenin toksik etkilerini ortaya koymak amacıyla hem doğal ortam hem de deneysel koşullarda çeşitli biyobelirteçler kullanılmaktadır (Laporte, 2002). Kimyasal ve fiziksel parametrelerin ölçümü ve değerlendirilmesinin yanı sıra, histopatolojik biyobelirteçler organizmalar üzerine kirleticilerin subletal etkilerinin indikatörleri olarak kullanılabilirler (Au, 2004). Hücresel değişiklikler kirleticilere uzun süre maruziyetin kümülatif olumsuz fizyolojik ve biyokimyasal sonuçlarını ifade eder (Hinton ve Laurent, 1990). Hücre yapısındaki patolojik değişiklikler ise detoksifikasyon, solunum, osmoregülasyon ve üreme gibi önemli biyolojik süreçlerde bozulmaya yol açarak organ fonksiyonlarına zarar verebilir (Au, 2004). Gözlemlenen bu patolojiler ise hayatta kalmayı zora sokan ve sonuç olarak popülasyon yapısını bozarak tüm ekosistemi etkileyen değişimlerdir (Fry, 1971).

Günümüzde histopatoloji, hayati fonksiyonlar üzerine kirletici etkilerinin araştırılmasında ve hücre, doku ve organlarda meydana gelen erken değişimlerin saptanmasında önemli bir araç olarak görülmekte ve uzun yıllardır kullanılmaktadır (Abdollah Pour, 2010). Sucul ortamdaki kontaminantların zararlı etkilerinden dolayı, balıkların çeşitli ksenobiyotiklere karşı verdikleri histo-sitolojik tepkilerin araştırılması ve karakterize edilmesi zorunlu hale gelmiştir (Hinton, 1990).

Ksenobiyotiklerin balıklar tarafından sudan alınmaları temel olarak solungaçların transfer kapasiteleri ve bileşiklerin fizikokimyasal özellikleri ile belirlenir (Randall vd., 1996). Sucul canlılar için solungaçlar, ayrı ayrı geçirgenlik ve engelleme kabiliyetleri ile kirlenici maddelerin sudan alınmasını belirleyen tipik biyolojik bariyerlerden birisidir (Laporte, 2002). Balık solungacı, solunum, osmoregülasyon, asit-baz dengesi ve azotlu atıkların boşaltımı gibi birçok önemli fonksiyonu yerine getiren çok fonksiyonlu bir organdır (Au, 2004). Solungaç yapısı, sudaki kirlenicilerle doğrudan ve sürekli temas sağlayan geniş bir yüzey alanı sağlar. Dolayısıyla bu organ sudaki kirlenicilere karşı son derece büyük bir hassasiyete sahiptir (Oliveira Ribeiro, 2006) ve kirleniciler için başlıca hedef organ olarak kabul edilir (Camargo, 2007). Solungaçlar, kontaminant maruziyetinin en önemli histolojik biyobelirteç organıdır (Hinton ve Lauren, 1990; Van Dyk vd., 2009). Bu organda meydana gelecek herhangi bir hücresel değişiklik tüm balık sağlığını önemli derecede etkileyecek olayları başlatacaktır (Schlacher vd., 2007).

Birçok laboratuvar ve alan çalışması, balıkların biyolojik özelliklerinin (cinsiyet ve yaş) veya mevsimsel faktörlerin balık solungacının stres/kirlenici maruziyetine vermiş olduğu tepkileri etkilemediğini göstermektedir. Dolayısıyla solungaç histopatolojisi, doku preparasyonu zaman alıcı olmasına rağmen, genel çevresel kirlenmenin ümit vaat eden biyobelirteci olarak kabul görmüştür (Mela vd., 2007).

Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre, akrilamid sazan (*Cyprinus carpio* 1758 L.) solungaçlarında gaz değişiminin azalmasına neden olan önemli histopatolojik değişimlere neden olmuştur. Bu histopatolojik değişiklikler ise dört alt grupta (dolaşımla ilgili değişiklikler, dejeneratif değişiklikler, proliferatif değişiklikler ve yangısal değişiklikler) sınıflandırılarak incelenmiştir. Tespit edilen solungaç lezyonları akrilamid konsantrasyonuna bağlı olarak hafiften şiddetliye doğru bir aralıkta sıralanmıştır. Bulgularda görüldüğü gibi, sazan son derece dirençli bir tür olmasına rağmen, en düşük akrilamid konsantrasyonunda (10 mg/L) dahi normal solungaç yapısı etkilenmiştir. Yapılan çalışmada solungaçlarda tespit edilen histopatolojik değişikliklerin büyük bir çoğunluğu geniş bir yelpazedeki farklı maruziyet şartları altındaki farklı balık türlerinde de rapor edilmiştir (Boran vd., 2010; Joseph ve Raj, 2011; Abalaka vd., 2015). Dolayısıyla öyle görünüyor ki, gözlenen histopatolojik değişiklikler, bu çalışmada dikkate alınan akrilamid

konsantrasyonlarına karşı spesifik ve sınırlı toksik tepkilerden ziyade, strese karşı oluşan fizyolojik modifikasyonlar olarak kabul edilebilir. Tespit edilen epitelde ayrılma ve dökülme ile gelişen ödem, telengiektazi, epitel hücrelerinde hiperplazi ve hipertrofinin yanısıra sekonder lamellerdeki kısmi birleşme (lamellar birleşme) petrol bileşikleri, organofosfatlar, sentetik piretroitler, plastikleştiriciler ve ağır metaller gibi diğer birçok kimyasala karşı solungaçların verdiği alışlagelmiş tepkiler olarak kabul edilebilir.

Sucul canlılarda stres reaksiyonlarının başlamasına neden olan faktörler çok çeşitli olup; akrilamid gibi organik veya inorganik kimyasallar ve hatta endişe yaratan kirleticilerde olduğu gibi karışım halinde (kokteyl) etkisi bulunabilir. Japon balıklarıyla (*Carrasius auratus*) yapılan çalışmada akrilamidin farklı dozlarına (10-200 mg/L) 96 saat boyunca maruz kalma sonucunda biyokimyasal savunma gerçekleşmesine rağmen karaciğerde ve pankreatik dokuda ciddi zararlı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışma sonunda karaciğer dokuları incelendiğinde 50 mg/L akrilamid uygulanan grupta belirgin lezyonlar oluşmamışken, pankreas dokusunda düzensiz hücre oluşumları ve lokal hücre ölümleri meydana gelmiştir. Ayrıca endoplazmik retikulum ve zimojen hücrelerinde meydana gelen azalmaya bağlı olarak renk oluşumunun belirsizginleştiği bildirilmiştir. Pankreas dokusunda meydana gelen değişiklikler 100-150 mg/L uygulanan gruplarda aynı şekilde devam ederken, karaciğer dokusunda meydana gelen değişiklikler 100 mg/L uygulanan gruptan itibaren gözlemlenmiştir. Karaciğerde eozinofilik hücre oluşumları, vakuoller lipofuksin benzeri granüller oluşmuştur. Ayrıca erken evrede apoptosiz söz konusudur. 150 mg/L uygulanan grupta karaciğer dokusunda eozinofilik hücreler diğer düşük doz gruplarına oranla artmıştır. İltahap oluşumu ve hiperemi gözlemlenmiştir. Sonuç olarak her iki organın ksenobiyotikleri depoladığı bilinmektedir. Pankreatik toksisite, karaciğer toksisitesine oranla daha az araştırılmasına rağmen memelilerde akut ve kronik toksisitenin ilaçlarla ve bunların metabolitleriyle meydana geldiği bilinmektedir. Akrilamidin karaciğer ve pankreas dahil olmak üzere birçok organ ve dokuda tümör ve tümör olmayan değişikliklere neden olduğu belirtilmiştir (Larguinho, 2013). Yapılan bu çalışmada konsantrasyon arttıkça meydana gelen histopatolojik lezyonlar bizim çalışmamızda olduğu gibi artış göstermiştir.

Akrilamidin subletal konsantrasyonlarına (10 mg/L ve 50 mg/L) 96 saatlik maruziyet sonrası *Cyprinus carpio* 1758 L. solungaçlarında tespit edilen başlıca değişiklik, bazı durumlarda lameller arası alanı tamamen dolduran filament epitelindeki kalınlaşmadır (Hiperplazi). Bu durumda lamellar epitel daha kısa görünür ve lamellar epitel görünmez olur. Lamellar epitelde oluşan hiperplazi, sudaki kirleticilerin solungaçlardaki kan akışına ulaşabilmesi için gereken difüzyon mesafesinin artışı sağlayarak, solungaçları kirleticilerin aşırı etkisinden koruma amaçlıdır (Mallat, 1985). Sekonder lamellerde gözlemlenen birleşme ise zarar görebilir solungaç yüzey alanını azaltmaya yönelik bir savunma tepkisi olmakla birlikte, gaz değişimi için mevcut yüzey alanının küçülmesi kana oksijen alımının da azalmasına yol açarak solunumu olumsuz yönde etkilemektedir (Mallat, 1985; Stentiford vd., 2003). Her iki akrilamid konsantrasyonunda da gözlemlenen epitelde ayrılma ve dökülme ile gelişen ödem kontaminantlara akut maruziyet sonrası solungaçlarda sıklıkla gözlemlenen ilk değişiklik olup, dış ortam ve kan akımı arasında daha büyük bir alanın oluşumunu sağlayan savunma mekanizması olarak tanımlanmaktadır (Evans, 1987; Arellano vd., 1999).

Hiperemi her iki akrilamid konsantrasyonunda görülmekle birlikte, yüksek akrilamid konsantrasyonunda bazı durumlarda telengiektazi gibi vasküler değişiklikler gözlemlenmiştir. Subletal maruziyetler sonucunda gelişen çoğu solungaç hasarı lamellar epiteli etkiler, böylece daha büyük stresle başa çıkmaya çalışan balıklarda kan damarlarında da bazı değişiklikler gözlemlenebilir. Bu gibi durumlarda zarar görmüş pillar hücreleri lameller içerisinde kan akışının artışına neden olarak, marjinal kanalların dilatasyonuna, dolayısıyla da hiperemi, konjesyon ve telengiektazi oluşumuna neden olurlar (Rodriguez, 2002). Bu ciddi ve şiddetli bir lezyondur, düzelmesi mümkün olabilir ancak epiteldeki değişikliklerden çok daha zordur (Poleksic, 1994). Pillar hücrelerindeki bozulma daha fazla kan akışına dolayısıyla da hücreler üzerine kontaminantların doğrudan etkilerine yol açar.

Diğer araştırmacıların yaptığı birçok çalışma çalışmamızı destekler niteliktedir. Laboratuvar ortamında deneysel akrilamid maruziyeti ile balıkta yapılan ekotoksikoloji deneysel çalışmalarına rastlanılmadığından bulgularımızı doğrudan karşılaştırma imkanı olmamıştır. Araştırma bulgularımıza benzer histolojik hasar araziden toplanan (Qarun Gölü, Mısır) *Solea vulgaris* ve *Tilapia zilli* balıklarının kas,

karaciğer, solungaç, böbrek ve bağırsak dokularında bildirilmiştir. Karaciğerde vakuoleşme, fokal alanlarda nekrotik fibröz bulguları, hepatositler arasında inflamatuvar hücrelerin kümelenmesi ve damarlarda pıhtılı oluşumlar hiperemik, dejeneratif, bulmuştur (Mohamed, 2009). Solungaç dokusunda filament ve sekonder lamellerde proliferatif, dejeneratif ve nekrotik değişimler ile sekonder lamellerde ödem, kan damarlarında dilatasyon ve daralma son olarakta mukus hücreleri proliferasyonu bildirmiştir. Benzer hasar böbrek ve bağırsak dokusunda da gözlenmiştir.

İnorganik bileşiklerde de benzer balık dokusu hasarı bildirilmiştir. Krom tuzunun 96 saat için LC₅₀ değerinin 41,75 mg/L olduğu belirlenen bir başka çalışmada, solungaçlarda ödem oluşumu, nekrotik bulgular, epitel hücrelerinde dökülme, hiperplazi gözlemlenmiştir (Mishra ve Mohanty, 2008).

Yapılan benzer çalışmalarda kirleticilere doğrudan ya da dolaylı olarak maruz kalma sonucunda, solungaç dokusunda meydana gelen bu hasarların en büyüğünün epitel dokuda meydana geldiği tespit edilmekle beraber organ fonksiyonlarını değiştirdiğinden bahsedilmiştir (Paulino vd., 2012). Primer epitelde bulunan mukus hücrelerinin toksik maddelerin etkisini azaltmak amacıyla çoğaldıkları ve yüzey alanını kapladıkları gözlemlenmiştir (Abalaka vd., 2015; Mallat, 1985). Toksik maddelere karşı yapılan bu savunma mekanizması gaz alışverişi ve osmoregülasyonu engellemiştir (Abalaka vd., 2015; Tamse vd., 1995).

Gökkuşağı alabalıklarıyla (*Onchorhynchus mykiss*) yapılan çalışmada, çeşitli dozlarda akrilamid uygulanarak (0,5, 1, 10, 50, 100, 150 mg/L) bazı parametrelere bakılmıştır. Solungaçlarda nekroz, sekonder lamellerde birleşme, hücre çoğalması, lökosit infiltrasyonu, kloroid hücrelerinde şişme ve membran bütünlüğünde bozulma, araştırmamızla uyumlu olarak bildirilmiştir. Ayrıca büyük balıkların küçük balıklara oranla toksisiteden daha çok etkilenmesi göze çarpan sonuçlar arasında yer almakla beraber nedeni tam olarak bilinmemektedir. Bu etkilenme oranının solunum sıklığı ve yaş ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Albassam, 1987).

Deney hayvanlarıyla yapılan birçok çalışmada akrilamidin birçok doku ve organda tümörlere ve çeşitli kanser türlerine neden olduğu tespit edilmiştir (Rice, 2005, Riboldi, 2014). Sıçan ve farelerle yapılan çalışmalar sonucunda genetik yatkınlık göz önünde bulundurulduğunda sıçanların farelere oranla kansere yakalanma riskinin

daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Rice, 2005). İçme suyu ile akrilamide maruz kalan farelerde akciğer tümörünün gelişmesine neden olurken, sıçanlarda testis, troid ve meme tümörlerinin oluşumunu tetiklemiştir (Bull vd., 1984; Rice, 2005). Yapılan çalışmalarda akrilamid ve glisidamid'in hücre DNA'sında genotoksik etki oluşturarak DNA zincirinde kırılmalar, çapraz zincir bağlanmaları, baz kayması ve baz değişiklikleri gibi çok ciddi hasarlara neden olduğunu göstermektedir. Aslında DNA üzerinde oluşan genotoksik etkilerin, akrilamiden ziyade akrilamidin metaboliti olan glisidamiden kaynaklandığı bildirilmiştir. Fare ve sıçanlara akrilamid uygulanarak yapılan çalışmalarda, akrilamiden çok sayıda glisidamid oluştuğu ve glisidamidin bu hayvanların karaciğer, akciğer ve böbrek DNA'larının pürin bazları ile etkileşerek genotoksik etkiler meydana getirdiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak akrilamid kromozomal bozulmayı ve DNA kırılmasını teşvik eden genotoksik bir maddedir (Paulsson vd., 2003; Gamboa da costa vd., 2003).

Kedam ve ark. akrilamid'in ve kadmiyum klorür'ün farklı dozlarını tavuk embriyolarına uygulayarak, embriyonik karaciğerin ve hepatik hücrelerinin morfolojisini incelemişlerdir. Farklı dozlarda akrilamid (0.1, 0.2, 0.3 mg fizyolojik salin içinde, tek doz olarak) döllenmiş tavuk embriyolarını 8., 9. ve 10. kuluçka gününde uygulanmıştır. Uygulamadan 11 gün sonra embriyo karaciğeri disekte edilerek fizyolojik salin ile yıkanmış ve Bouin çözeltisi içinde fikse edilmiştir. Maruz bırakılan embriyoların karaciğerlerinde 0.1 mg dozda hafif hasar görünürken 0.2 mg da piknotik çekirdek oluşumu, canlı dokuların erken ölümü, sinüzoidal boşlukların çoğalması, aşırı kanama ve nekrotik hepatositler bulunmuştur. Apoptoz başlangıcı 0.3 mg dozda kesin tespit edilirken yağlanma ve kanama belirtileri ile nekroz 0.2 mg dakilerle karşılaştırıldığında daha yoğun olarak bildirilmiştir. Farklı dozlarda kadmiyum klorür (0.01, 0.02, 0.03mg) uygulanan grupta ise benzer sonuçlar elde edilmiştir. Karaciğer birçok ilacın ve ksenobiyotiğin bertaraf edildiği organ olması sebebiyle bu çalışmada tercih edilen organ olmuştur (Kedam vd., 2012).

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, akrilamide subletal maruziyet sonucunda *Cyprinus carpio* solungaçlarının yapısal olarak etkilendiğini göstermektedir. Buna ek olarak bu çalışmanın sonuçları göstermektedir ki, solungaçlarda meydana gelen histolojik ve morfolojik değişiklikler çevresel şartlar hakkında faydalı bilgiler sağlayabilir ve balıkların genel sağlık ve stres durumlarının değerlendirilmesinde

spesifik biyobelirteçler olarak kullanılabilirler. Akrilamid ile balıkta yapılmış sadece birkaç çalışma olduğundan bu araştırma bilime katkısı olan bu yönüyle de yenilikçi bir araştırmadır. Bunun yanında literatürde etki mekanizması tam bilinmemesine rağmen moleküler toksikolojik etkileri hemen hemen hiç çalışılmamıştır. İleri araştırmalarda hem etki mekanizmasına yönelik hem de hedef olmayan canlılara toksik etkilerin belirlenebileceği çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.



KAYNAKLAR

- Abalaka, S.E., Fatihu, M.Y., Ibrahim, N.D.G., ve Ambali, S.F., 2015, Gills and skin histopathological evaluation in African sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* exposed to ethanol extract of *Adenium obesum* stem bark, Egyptian Journal of Aquatic Research, 41, 119-127.
- Abdollah pour, F., 2010, Comparative study of heavy metals (Cd, Cu, Ni, Pb) accumulation in deposits and fish species of Musa creeks, in: Master Thesis, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, İran.
- Albassam, M., Moore, J., ve Sharma, A., 1987, Ultrastructural and clinicopathological studies on the toxicity of cationic acrylamide-based flocculant to rainbow trout, Vet., Pathol, 24, 34-43.
- Altınöz, E., 2009, Ratlarda akrilamid kaynaklı oksidatif stres ve genotoksisite üzerine n-asetilsiteinin etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Anonim, 1994, Some industrial chemicals: acrylamide, IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans 60, 389-91.
- Arellano, J.M., Storch, V., Sarasquete, C., 1999, Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the senegales sole, *Solea senegalensis*, Ecotoxicol. Environ. Saf., 44, 62-72.
- Au, D.W.T., 2004. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. Mar. Pollut. Bull., 48, 817-834.
- Benli, A.Ç.K., Köksal, G., ve Özkul, A., 2008, Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): effects on gill, liver and kidney histology, Chemosphere, 72, 1355-1358.
- Benli, A.Ç.K., ve Özkul, A., 2009, Acute toxicity and histopathological effects of sublethal fenitrothion on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, Pesticide Biochemistry and Physiology, 97, 32-35.
- Biederman, M., ve Grob, K., 2003, Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch: ways to reduce acrylamide contents in bakery ware, Mitteilungen für Lebensmittel Hygiene, 94, 406-422.
- Blasiak, J., Gloc, E., Wozniak, K. ve Czechowska, A., 2004, Genotoxicity of acrylamide in human lymphocytes, Chemico-Biological Interac., 149, 137-149.
- Boran, H., Çapkın, E., Altınok, İ., Terzi, E., 2010, Assessment of acute toxicity and histopathology of the fungicide captan in rainbow trout, Experimental and Toxicologic Pathology, 64, 175-179.

- Bull, R.J., Robinson, M., Laurie, R.D., Stoner, G.D., Greisiger, E., Meier, J.R.ve Stober, J., 1984, Carcinogenic effects of acrylamide in SENCAR and A/J mice. *Cancer Res*, 44, 107–111.
- Camargo, M.M.P.ve Martinez, C.B.R., 2007, Histopathology of gills, kidney and liver of a neotropical fish caged in an urban stream, *Neotrop. Ichthyol.*, 53, 327–336.
- Cavalli, S., Polesello, S. ve Sacconi, G., 2004, Determination of acrylamide in drinking water by large-volume direct injection and ionexclusion chromatography–mass spectrometry, *J Chromatog A*, 1039, 155-159.
- Cengiz, E.İ., 2006, Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22 200–204.
- Claeys, W.L., De Vleeschouwer, K., ve Hendrickx, M.E., 2005, Quantifying the formation of carcinogens during food processing: acrylamide, *Trends In Food Science & Technology*, 16, 181-193.
- Conte, F.P., Salt Secretion, In *Fish Physiology* (Hoar, W.S. and Randall, D.J. eds.) Vol.1, pp.241-283, Academic Press, New York.
- Corbett, P.A., King, C.K., ve Mondon, J.A., 2014, Application of a quantitative histological health index for Antarctic rock cod (*Trematomus Bernacchi*) from Davis Station, East Antarctica, *Marine Environmental Research*, 109, 28-40.
- Cruz, A.L., Prado, M.T., Maciel, L.A.S., ve Couto, R.D., 2014, Environmental effects on the gills and blood *Oreochromis niloticus* exposed to rivers of Bahia, Brazil, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111 23-31.
- Çalışkan, M., Erkmen, B., ve Yerli, S.V., 2003, The effects of zeta cypermethrin on the gills of common guppy *Lepistes reticulatus*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 117-120.
- Çınar, K., Şenol, N., ve Özen, M.R., 2008, Histochemical characterization of glycoproteins in the gills of the carp (*Cyprinus carpio*), *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 55, 61-64.
- Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R., ve Van Der Kraak, G., 2002, Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors, World Health Organization, 11–32.
- Demir, N., 2009, İhtiyoloji, Karataş, M., 924, 4. Baskı, Nobel yayınevi, Ankara.
- Doğan, İ.S., Meral, R., 2006, Gıdalarda akrilamid ve önemi, Türkiye 9. Gıda kongresi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van, bildiriler kitabı, 629-632.
- Dündar, S.P., 2010, Sazan balıklarına arsenik uygulaması sonucu biyokimyasal, histopatolojik, mikrobiyolojik ve hematolojik parametrelerde meydana gelen değişimler üzerine propolisin etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Erkmen, B., 1997, Kızılırmak'ın kolları acıçay ve terme çayında yaşayan *capoeta tinca*'nın su kalitesine bağlı olarak solungaç morfolojileri üzerine

çalışmalar, Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Erkmen, B., Çalışkan, M., Yerli, S.V., 2000, Histopathological effects of cyphenothrin on the gills of *Lebistes reticulatus*, Vet. Human Toxicol., 42, 5-7.
- Erkmen, B., Benli, A.Ç.K., Ağuş, H.H., Yıldırım, Z., Mert, R., ve Erkoç, F., 2017, Impact of sublethal di-n-butyl phthalate on the aquaculture fish species Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): histopathology and oxidative stress assessment, Aquaculture Research, 48:2, 675-685.
- Erkmen, O., 2010, Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 53, 220-235.
- Evans, D.H., 1987. The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. Environ. Health Perspect., 71, 47-58.
- Fanta, E., Rios, F.S.A., Romao, S., Vianna, A.C.C., ve Freiburger, S., 2003, Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food, Ecotoxicology and Environmental Safety, 54, 119-130.
- Friedman, M., 2003, Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide, J. Agric. Food Chem., 51, 4504-4526.
- Fry, F.E.J., 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fishes. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), Fish Physiology. Academic Press, London, 1-98.
- Gamboa da Costa, G., Churchwell, M.I., Hamilton, L.P., Beland, F.A., Marques, M.M.ve Doerge, D.R., 2003, DNA adduct formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice, Chem Res Toxicol, 16, 1328-1337.
- Gill, T.S., Plant, J.C. ve Prant, J., 1988, Gill, liver and kidney lesions associated with experimental exposures to carbaryl and dimethoate in the fish *Puntius conchonus* (Ham.). Bull. Environ. Contamin. Toxicol., 41, 71-78.
- Goksoyr, A. ve Förlin, L., 1992, The Cytochrome P450 system in fish, Aquatic Toxicology and Environmental Monitoring. Aquatic Toxicology, 22, 287-312.
- Güngördü, A., 2007, Karakaya baraj gölünün su kalitesinin ekotoksikolojik yaklaşımlarla değerlendirilmesi, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Hassaninezhad, L., Safahieh, A., Salamat, N., Savari, A., Majd, N.E., 2014 Assessment of gill pathological responses in the tropical fish yellowfin seabream of Persian Gulf under mercury exposure, Toxicology Reports, 1, 621-628.
- Hinton, D.E. ve Lauren, D.J., 1990, Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure, in: J.F. McCarty, L.R. Shigart (Eds.), Biomarkers of Environmental Contamination, Lewis Publishers, Boca Raton, 15-57.

- Johnson, K.A., Gorzinski, S.J., Bodner, K.M., Campbell, R., Wolf, C., Friedman, M.A., ve Mast, R.W., 1986, Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats, *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 85, 154–168.
- Joseps, B., ve Raj, S.J., 2011., Impact of Pesticide Toxicity on Selected Biomarkers in Fishes, *International Journal of Zoological Research*, 7 (2): 212-222.
- Karagöz, A., 2009, Akrilamid ve gıdalarda bulunuşu, *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 8(2), 187-192.
- Kavitha, C., Ramesh, M., Kumaran, S.S., ve Lakshimi, S.A., 2012, Toxicity of *Moringa oleifera* seed extract on some hematological and biochemical profiles in freshwater fish *cyprinus carpio*, *Experimental Toxicologic And Pathology*, 64, 681-687.
- Kedam, R.T., Sheik., B.R., Bai., M.M., ve Haseenabhanu, S.K., 2012, A histological study on acrylamide and cadmium chloride altered chick embryonic liver, *IOSR Journal of Pharmacy*, 2, 1-8.
- Keskin, Z. 2007, Akrilamidin Kanda Na -K ATPaz Enzim Aktivitesi ve Glutasyon Hemoglobin, Albumin Düzeylerine Etkisi, Yüksek Lisans TEZİ, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kocataş, A., 1992, Ekoloji-Çevre Biyolojisi, Ege Üniv.Fen Fakültesi Kitaplar serisi No:142, Bornova, İzmir, 564s.
- Korkmaz, T., Kısabay, A., Çakıroğlu, E. ve Selçuki D., 2014, Kısa süreli akrilamid maruziyeti sonucu gelişmiş toksik polinöropati olgusu, *Causapedia*, 3, 701.
- Krautter, R.G., Mast, R.W., Alexander, H.C., Wolf, H.C., Friedman, M.A., Koschier, F.J. ve Thompson, C.M., 1986, Acute aquatic toxicity tests with acrylamide monomer and macroinvertebrates and fish, *Environmental Toxicology and Chemistry Vol 5*, pp 373-371.
- Laporte, J.M., Andres, S.ve Mason, R.P., 2002, Effect of ligands and other metals on the uptake of mercury and methylmercury across the gills and the intestine of the blue crab *Callinectes sapidus*, *Comp. Biochem. Physiol., C: Toxicol. Pharmacol.*, 131, (2), 185–196.
- Larguinho, M., Costa, P. M. Sousa, G., Costa, M. H., Diniz, M. S., ve Baptista, P. V., 2013, Histopathological findings on *Carassius auratus* hepatopancreas upon exposure to acrylamide: correlation with genotoxicity and metabolic alterations, *Jornual of Applied Toxicology*, 34, 1292-1302.
- Larguinho, M., Cordeiro, A., Diniz, M. S., Costa, P. M., ve Pedro, V., 2014, Metabolic and histopathological alterations in the marine bivalve *Mytilus gallo* provincial is induced by chronic exposure to acrylamide, *Enviromental Research* 135, 55-62.
- Laurent, P. ve Dannel, 1980, Morphology of gill epithelia in fish, *Am. J. Physiol.* 238, R147-R159.

- Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M. ve Aman, P., 2002, Acrylamide in food: mechanism of formation and influencing factors during heating of foods, *Scandinavian Journal of Nutrition*, 46 (4), 159-172.
- Mallatt, J., 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can.J. Fish, Aquat., Sci.*, 42, 630-648.
- Mehri, S., Karami, H.V., Hassani, F.V., ve Hosseinzade, H., 2014, Chrysin Reduced acrylamide-Induced neurotoxicity in bot in vitro and in vivo Assessments, *Iranian Biomedical Journal*, 18 (2), 101-106.
- Mela, M., Randi, M.A.F., Ventura, D.F., Carvalho, C.E.V., Pelletier, E. ve Oliveira Ribeiro, C.A., 2007. Effects of dietary methylmercury on liver and kidney histology in the neotropical fish *Hoplias malabaricus*, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 68 (3), 426-435.
- Mishra, A.K., Mohanty, B., 2008, Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gel kine and liver of freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch), *Environmental toxicity and pharmacology* 26., (2008) 136-141.
- Mohamed, F.S.A., 2009, Histopathological studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt, *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1 (1), 29-39.
- Morgan, M. ve Towell, P.W.A., 1973, The structure of the gill of the trout *Salmo gairnerdi* (Richardson), *Zelforch. Mikrosk. Anat.*, 142, 147-162.
- Muus, B.J. ve Dahlstrom, P., 1976. Süswasserfische, BLV Bestimmungsbuch, BLV Verlagsgesellschaft Münch, Bern, Wien, 224p.
- Ojha, J., ve Mishra, A.K., 1993, Interspecific variations in the functional organization dimensions and scaling of gills in relation to body weight of the gangetic mullets, *rhinomugil corsula* (ham) and *sicamugil cassasia* (ham.), (mugilidae, mugiliformes), *Indian natr., Sci. Acad.*, 59, 567-580.
- Öngün, A., 2013. Farklı dozlarda kapari (*Capparis ovata* desf.) uygulamasının sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıklarında hipotalamo-hipofizi-interrenal aks aktivitesi üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Patnaik, B.B., Howrelia, J.H., ve Selvanayagam, V., 2011 Histopathology of gill, liver, muscle and brain of *Cyprinus carpio communis* L. exposed to sublethal concentration of lead and cadmium, *African Journal of Biotechnology*, 57, 12218-12223.
- Paulino, M.G., Souza, N.E.S., ve Fernandes, M.N., 2012, Subchronic exposure to atrazine induces biochemical and histopathological changes in the gills of a Neotropical freshwater fish, *Prochilodus lineatus*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 6-13.
- Paulsson, B., Kotova, N., Grawe, J., Henderson, A., Granath, F., Golding, B. ve Törnqvist, M., 2003, Induction of micronuclei in mouse and rat by glycidamide, genotoxic metabolite of acrylamide. *Mutat Res.*, 535, 15-24.

- Pedreschi, F., Mariotti, M.S., ve Granby, K., 2013, Current issues in dietary acrylamide: formation, mitigation and risk assessment, Society of Chemical Industry, 94, 9-20.
- Poleksic, V. ve Mitrovic-Tutundzic, V., 1994, Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution, in: r. müller, r. lloyd (eds.), sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish, Fishing News Books, Oxford, 339–352.
- Randall, D.J., Brauner, A.J., Thurston, R.V. ve Neuman, J.F., 1996, Water chemistry at the gill surfaces of fish and the uptake of xenobiotics. In: Taylor, E.W. (Ed.), Toxicology of Aquatic Pollution, Cambridge University Press, London/New York, 1–16.
- Riboldi, B.P., Vinhas, A.M., ve Moreira, J.D., 2014, Risks of dietary acrylamide exposure: A systematic review, Food Chemistry, 157, 310-320.
- Rice, J.M., 2004, The carcinogenicity of acrylamide, Mutation Research, 580, 3–20.
- Rodriguez, M.R., Ordoez, F.J., Rosety, M., Rosety, J.M., Ribelles, A. ve Carrasco, C., 2002, Morpho-histochemical changes in the gills of turbot, *Scophthalmus maximus* L., induced by sodium dodecyl sulfate, Ecotoxicol. Environ. Saf., 51, 223–228.
- Salamat, N., ve Zarie, M., 2012, Using of fish pathological alterations to assess aquatic pollution: a review, World Journal of Fish and Marine Sciences, 4, 223-231.
- Schlacher, T.A., Mondon, J.A. ve Connolly, R.M., 2007, Estuarine fish health assessment: evidence of wastewater impacts based on nitrogen isotopes and histopathology, Mar. Pollut. Bull., 54, 1762-1776.
- Shanker, R., ve Seth, K.P., 1986, Toxic effects of acrylamide in a freshwater fish, *Heteropneustes fossilis*, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 37, 274-280.
- Sharp, D., 2003, Acrylamide in food, The Lancet, 361, 9355, 361-362.
- Shiogri, N.S., Paulino, M.G., Carraschi, P.S., Baraldi, F.G., Cruz, C. ve Fernandes, M.N., 2012, Acute exposure of glyphosate- based herbicide affects the gill and liver of the neotropical fish *Piaractus mesopotamicus*, Environmental Toxicology and Pharmacology, 34, 388-396.
- Sickles, D.W. ve Goldstein, B.D., 1986, Acrylamide produces a direct dose dependent and specific inhibition of oxidative metabolism in motoneurons, Neurotoxicol., 7, 187–196.
- Sorour, J.M. ve Harbey, A.D., 2012, Histological and ultrastructural changes in gills of tilapia fish from Wadi Hanifah Stream, Riyadh, Saudi Arabia, Journal of American Science, 8(2), 180-186.
- Spencer, P.S., Sabri, M.I., Schaumburg, H.H. ve Moore, C.L., 1978, Does a defect of energy metabolism in the nerve fiber underlie axonal degeneration in poly neuropathies?, Ann. Neurol., 5, 501–507.
- Stadler, R.H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A., Robert, M.C., ve Riediker, S., 2002, Acrylamide from Maillard reaction products. Nature, 419, 449-450

- Stentiford, G.D., Longshaw, M., Lyons, B.P., Jones, G., Green, M. ve Feist, S.W., 2003. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Mar. Environ. Res.* 55, 137-159.
- T.C. MEB, 624B00001, 2011, Denizcilik, Türkiye Cumhuriyeti Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara.
- Talas, Z.S., Gülhan, M.F., Erdoğan, K., Örün, İ., 2014, Antioxidant effects of propolis on carp *Cyprinus carpio* exposed to arsenic: biochemical and histopathologic findings, *Diseases of Aquatic Organism*, 108, 241-249.
- Tamer, C.E., Karaman, B., 2006, Gıdalarda akrilamid oluşumu ve insan sağlığı üzerine etkileri, Türkiye 8. Gıda Kongresi, 2006, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Bildiriler kitabı, 195-199.
- Tamse, C.T., Gacutan, R.Q., Tamse, A.F., 1995, Changes induced in the gills of milkfish (*Chanos chanos Forskal*) fingerlings after acute exposure to Nifurpirinol (Furanace; P-7138). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 54, 591–596.
- Temminck, J., Bowmeister, P., Jong, P., ve Van Den Berg, J., 1983, An ultrastructural study of chromate-induced hyperplasia in the gill of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquatic Toxicology*, 4, 165-179.
- Uçar, A., Atamanalp, M., 2008, Balıklarda toksikopatolojik lezyonlar 2, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Erzurum.
- Van Der Kraak, G., Hewitt, M., Lister, A., McMaster M.E. ve Munkittrick, K.R., 2001, Endocrine toxicants and reproductive success in fish, *Human Ecol. Risk Assess.*, 7, 1017-1025.
- Van Dyk, J.C., Marchand, M.J., Smit, N.J. ve Pieterse, G.M., 2009. A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. *Afr. J. Aquatic Sci.*, 34, 273-282.
- WHO, 1993, Revision of the WHO guidelines for drinking water quality. *Ann Ist. Super Sanita*, 29 (2), 335-45.
- Yang, H.J., Lee, S.H., Jin, Y., Choi, J.H., Han, D.U., Chae, C., Lee, M.H., ve Han, H.C., 2005, Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile, *Reproductive Toxicol.*, 19, 527-534.
- Yerlikaya, F.H., Toker, A., Yener, Y., ve Toy, H., 2012, Uzun Süre Akrilamid Verilen Sıçanlarda Karaciğer Fonksiyon Testlerinin ve Karaciğer Histopatolojisinin Değerlendirilmesi, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*; 10(3): 77-84
- Yıldırım, M.Z., Benli, A.Ç.K., Selvi, M., Özkul, A., Erkoç, F., ve Koçak, Ö., 2006, Acute toxicity, behavioral changes, and histopathological effects of deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings, *Environmental toxicology*, 21, 614-620.

Zamani, E., Shokrzadeh, M., Fallah, M.ve Shaki, F., 2017, A review of acrylamide toxicity and its mechanism, Pharmaceutical and Biomedical Research, 3 (1), 1-7.

Zovko, M., Cifrek, V.Z., Cvetkoviç, Z., Bosnir, J., ve Sikic, S., 2015, Assement of acrylamide toxicity using a batter of standardised bioassays, Arh. Hig. Rada. Toxicol., 66, 315-321.

URL- 1 <[https://www. Guncelkaynak.com](https://www.Guncelkaynak.com), sazan balığı>, 13.01.2018

URL 2 < www.biology-resources.com, balık solungaçları, görseller>, 13.01.2018.

URL 3 <science/gills.html>, 13.01.2015.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Hilal CİVELEK

Doğum Tarihi ve Yeri: 23.03.1987/ RİZE

E-posta adresi : hilalcivel@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi, Biyoloji bölümü, 2008-2013.

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
Biyoloji Anabilim Dalı, 2013-2018.