

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



PULLU SAZAN (CYPRINUS CARPIO)' DA BAKIR SÜLFATLA
UYARILMIŞ TOKSİSİTEYE KARŞI POLENİN KORUYUCU
ETKİSİ

Şule Yüksel YONAR

Yüksek Lisans Tezi

KİMYA ANABİLİM DALI

Biyokimya Bilim Dalı

HAZİRAN 2022

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

PULLU SAZAN (CYPRINUS CARPIO)' DA BAKIR SÜLFATLA
UYARILMIŞ TOKSİSİTEYE KARŞI POLENİN KORUYUCU ETKİSİ

Tez Yazarı

Şule Yüksel YONAR

Danışman

Prof. Dr. Mustafa KARATEPE

HAZİRAN 2022

ELAZIĞ

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Başlığı:	Pullu Sazan (Cyprinus carpio)' da Bakır Sülfatla Uyarılmış Toksisiteye Karşı Polenin Koruyucu Etkisi
Yazarı:	Şule Yüksel YONAR
İlk Teslim Tarihi:	30.05.2022
Savunma Tarihi:	29.06.2022

TEZ ONAYI

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına göre hazırlanan bu tez aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve akademik dinleyicilere açık yapılan savunma sonucunda OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Danışman:	Prof. Dr. Mustafa KARATEPE Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	<i>İmza</i> Onayladım
Başkan:	Prof. Dr. İlknur ÖZDEMİR İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi	Onayladım
Üye:	Doç. Dr. Serhat KESER Fırat Üniversitesi, Elazığ Organize Sanayi Bölgesi MYO	Onayladım

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun/...../20..... tarihli toplantısında tescillenmiştir.

İmza
Prof. Dr. Kürşat Esat ALYAMAÇ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “Pullu Sazan (Cyprinus carpio)' da Bakır Sülfatla Uyarılmış Toksisiteye Karşı Polenin Koruyucu Etkisi ” Başlıklı Yüksek Lisans Tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı beyan ederim.

29.06.2022

Şule Yüksel YONAR



ÖNSÖZ

Bakır doğal olarak doğada bulunan, insanlar, diğer memeli hayvanlar, balıklar ve kabuklu canlılarda pek çok vücut fonksiyonunda kullanılmak üzere ihtiyaç duyulan esansiyel iz elementlerden biridir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda bakır içeren sular, hem suda yaşayan canlılar hem de bu canlıları tüketen başta insanlar olmak üzere diğer canlılar açısından tehlikeli bir durum oluşturabilmektedir. Bakır ve bakır bileşiklerinin yüksek konsantrasyonlarının sucul canlılarla karşılaşması halinde, akut ya da kronik seyirli toksisite oluşabilmektedir. Yüksek oranda bakır biriken sucul canlıları içeren besin piramidindeki diğer canlılar içinde aynı tehlike söz konusudur. Bu problemler nedeniyle bakırın olumsuz etkilerini azaltacak önlemlerin alınması oldukça önemlidir.

Bu tez çalışmasında antioksidan özelliğe sahip polenin pullu sazandaki etkisi, kullanılabilirliği ve ayrıca bakır sülfata karşı koruyuculuğu araştırılmıştır. Polenin antioksidan etkisi, balıklara uygulanabilirliği, uygulanan dozlarının olumsuz etki gösterip göstermediği, bakır toksisitesine karşı koruyuculuğu, antioksidan parametreler kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasının tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Mustafa KARATEPE' ye çok teşekkür ederim. Ayrıca araştırmanın yürütülmesi için gereken altyapıyı sağlayan Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi ve Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı' na çok teşekkür ederim. Son olarak maddi manevi desteğini esirgemeyen aileme şükranlarımı sunarım.

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu' nun 04/11/2020 tarih ve 2020/13 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir.

Şule Yüksel YONAR

ELAZIĞ, 2022

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bakır	3
2.2. Polen	4
2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizması	6
3. MATERYAL VE METOT	8
3.1. Materyal.....	8
3.2. Metot	9
3.2.1. Deneysel Plan	9
3.2.2. Doku Örneklerinin İşlenmesi	9
3.2.3. Oksidatif Stresin Belirlenmesi.....	10
3.2.4. Antioksidan Parametrelerin Ölçülmesi.....	10
3.2.5. İstatistiksel Analizler	11
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	12
4.1. Oksidatif Stres Düzeyindeki Değişimler	12
4.2. Antioksidan Parametrelerdeki Değişimler.....	16
5. SONUÇLAR.....	28
ÖNERİLER	29
KAYNAKLAR.....	30
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)' da Bakır Sülfatla Uyarılmış Toksisiteye Karşı Polenin Koruyucu Etkisi

Şule Yüksel YONAR

Yüksek Lisans Tezi

FIRAT ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Haziran 2022, Sayfa: ix + 33

Bu çalışmada sazanlarda (*Cyprinus carpio*) polenin bakır sülfata karşı koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı. Balıklara 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonlarında iki farklı doz olarak bakır sülfat uygulandı. Bakır sülfat uygulanan balıklara eş zamanlı olarak 5 mg/kg polen enjekte edildi. Deneme 14 gün sürdü ve 7. ve 14. günlerde balıklardan doku örnekleri (karaciğer, böbrek ve solungaç) alındı. Doku örneklerinde malondialdehit düzeyi, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon-S-transferaz aktiviteleri ile redükte glutatyon düzeyi incelendi.

Bakır sülfat verilen grupların doku malondialdehit düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$). Bakır sülfat ile aynı anda polen uygulanan gruplarda doku malondialdehit düzeyleri tek başına bakır sülfat uygulanan gruplara göre daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Tek başına polen uygulanan grupta doku malondialdehit düzeyleri kontrol grubuna göre azaldı ($p < 0.05$).

Bakır sülfat uygulanan gruplarda doku katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri ve redükte glutatyon düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalırken, doku glutatyon-S-transferaz aktiviteleri anlamlı olarak arttı ($p < 0.05$). Bakır sülfat ile aynı anda polen uygulanan gruplarda doku katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri ve redükte glutatyon düzeyleri tek başına bakır sülfat uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek iken, doku glutatyon-S-transferaz aktiviteleri anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0.05$). Tek başına polen uygulanan grupta doku katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri ve redükte glutatyon düzeyleri kontrol grubuna göre arttı ($p < 0.05$). Bu artış doku glutatyon-S-transferaz aktiviteleri için önemsiz bulundu ($p > 0.05$).

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Bakır, Balık, Oksidatif stres, Polen

ABSTRACT

Protective Effect of Pollen Against Copper Sulfate-Induced Toxicity in Scaly Carp (*Cyprinus carpio*)

Şule Yüksel YONAR

Master's Thesis

FIRAT UNIVERSITY
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

June 2022, Pages: ix + 33

In this study was aimed to investigate protective effect of pollen against copper sulphate in carp (*Cyprinus carpio*). The copper sulphate was administered as two different doses at 0,5 and 1 mg/L concentrations to fish. 5 mg/kg pollen was simultaneously injected to the copper sulphate applied fish. The experiment lasted 14 days and tissue samples (liver, kidney, and gill) were taken from the fish at 7th and 14th days. In tissue samples, malondialdehyde level, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione-S-transferase activities and reduced glutathione level were analysed.

The tissue malondialdehyde levels of the copper sulphate administered groups were observed to be statistically higher than the control group ($p < 0.05$). The tissue malondialdehyde levels were found to be lower in the groups that were applied pollen simultaneously with the copper sulphate when compared to the groups treated with the copper sulphate alone ($p < 0.05$). The tissue malondialdehyde levels were decreased in the group that was applied pollen alone when compared to the control group ($p < 0.05$).

The tissue catalase and glutathione peroxidase activities and reduced glutathione levels were significantly decreased in the copper sulphate applied groups compared to the control group, while the tissue glutathione-S-transferase activities were significantly increased ($p < 0.05$). The tissue catalase and glutathione peroxidase activities and reduced glutathione levels were statistically higher in the groups that were applied pollen simultaneously with copper sulphate compared to the groups treated with copper sulphate alone, while the tissue glutathione-S-transferase activities were significantly lower ($p < 0.05$). The tissue catalase and glutathione peroxidase activities and reduced glutathione levels were increased in the group that was applied pollen alone when compared to the control group ($p < 0.05$). This increase was found to be insignificant for the tissue glutathione-S-transferase activities ($p > 0.05$).

Keywords: Antioxidant, Copper, Fish, Oxidative stress, Pollen

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1.	Çalışmada kullanılan akvaryumlar	8
------------	--	---



TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Deneyisel grupların karaciğer MDA düzeyleri (nmol/mg protein).....	12
Tablo 4.2. Deneyisel grupların böbrek MDA düzeyleri (nmol/mg protein).....	13
Tablo 4.3. Deneyisel grupların solungaç MDA düzeyleri (nmol/mg protein).....	14
Tablo 4.4. Deneyisel grupların karaciğer CAT aktiviteleri (U/mg protein)	16
Tablo 4.5. Deneyisel grupların böbrek CAT aktiviteleri (U/mg protein)	17
Tablo 4.6. Deneyisel grupların solungaç CAT aktiviteleri (U/mg protein).....	18
Tablo 4.7. Deneyisel grupların karaciğer GSH-Px aktiviteleri (U/mg protein).....	18
Tablo 4.8. Deneyisel grupların böbrek GSH-Px aktiviteleri (U/mg protein).....	19
Tablo 4.9. Deneyisel grupların solungaç GSH-Px aktiviteleri (U/mg protein).....	20
Tablo 4.10. Deneyisel grupların karaciğer GST aktiviteleri (μmol/dakika/mg protein)	21
Tablo 4.11. Deneyisel grupların böbrek GST aktiviteleri (μmol/dakika/mg protein).....	22
Tablo 4.12. Deneyisel grupların solungaç GST aktiviteleri (μmol/dakika/mg protein).....	23
Tablo 4.13. Deneyisel gruplarının karaciğer GSH düzeyleri (μmol/mg protein).....	24
Tablo 4.14. Deneyisel grupların böbrek GSH düzeyleri (μmol/mg protein).....	25
Tablo 4.15. Deneyisel grupların solungaç GSH düzeyleri (μmol/mg protein).....	25

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Arsenik	: As
Bakır	: Cu
Civa	: Hg
Çinko	: Zn
Demir	: Fe
Gümüş	: Ag
Kadmiyum	: Cd
Kg	: Kilogram
Kobalt	: Co
Krom	: Cr
Kurşun	: Pb
L	: Litre
Mangan	: Mn
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
Mol	: Molekül ağırlığı
Nikel	: Ni
Rpm	: Revolution per minute (dakikadaki devir/dönüş sayısı)
Selenyum	: Se
Sodyum Klorür	: NaCl

Kısaltmalar

CAT	: Katalaz
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
GSH	: Redükte Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
LSD	: Least Significant Difference
MDA	: Malondialdehit
PBS	: Phospat buffer saline
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiobarbiturik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NADPH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

1. GİRİŞ

Ağır metaller çoğunlukla iz elementler olarak adlandırılmaktadırlar. Ancak iz element ifadesi organizmadaki düşük düzeyleri ifade etmek için kullanılmakta ve genellikle organizmaların ihtiyaç duyduğu esansiyel metalleri ifade etmektedir. Bu yüzden ağır metaller, minimal düzeylerde esansiyel olan ancak yüksek miktarlarda toksik etki gösteren elementler şeklinde tanımlanmaktadır. Genel bir tanımlama içerisinde ağır metaller; atom ağırlığı 40'tan ve özgül ağırlığı 5 g/cm³'ten fazla olan, periyodik cetvelde 3 ve daha yukarı periyotta yer alan ve eksenindeki elektron dağılımı benzerlik gösteren metalik elementlerdir [1-3]. Bununla birlikte arseniğin özgül ağırlığı bu değerlerden daha az olmasına rağmen diğer ağır metaller gibi toksik etki gösterdiği için adı ağır metaller içerisinde yer almaktadır. Diğer taraftan tıp biliminde ağır metal tanımı daha farklı olarak atomik ağırlıkları dikkate alınmadan toksik özellik taşıyan metaller grubu olarak yapılmıştır [4]. Ancak ağır metaller diğer toksik maddelerden farklı olarak yer kabuğunda doğal olarak bulunan elementlerdir ve bu nedenle de suni olarak ne oluşturulabilir ne de yok edilebilir özelliklere sahiptirler [3].

Ağır metaller biyolojik olarak etki derecesi bakımından esansiyel (yaşamsal) ve non-esansiyel (yaşamsal olmayan) olarak ikiye ayrılırlar. Çoğunlukla enzimatik reaksiyonlarda ko-faktör olarak görev alan, organizmada yaşamsal faaliyetler için gerekli vitamin ve hormonların yapısına girenler esansiyel olarak sınıflandırılırken, başlangıç düzeylerinden başlayarak toksik olan ve çok düşük düzeylerde bile sağlık sorunlarına neden olanlar non-esansiyel olarak tanımlanmaktadır [4]. Non-esansiyel ağır metaller 0,001-0,1 ppm gibi çok düşük derişimlerde bile toksik olabilmektedirler. Ancak vücuttaki fonksiyonlar için gerekli olan esansiyel ağır metaller de belirli bir derişimden sonra toksik olarak etki gösterirler. En çok bilinen ağır metaller arsenik (As), bakır (Cu), civa (Hg), çinko (Zn), demir (Fe), gümüş (Ag), kadmiyum (Cd), kobalt (Co), krom (Cr), kurşun (Pb), mangan (Mn), nikel (Ni) ve selenyum (Se)' dur. Bu ağır metallere Cu, Zn, Fe, Ni ve Se gibi elementler vücut için esansiyel iken, Hg, Cd ve Pb gibi ağır metaller non-esansiyel olmakta ve başlangıç derişimlerinden itibaren toksik etki göstermektedir [2,4].

Ağır metaller içerisinde yer alan ve esansiyel özellik gösteren bakır, bu özelliğinden dolayı çinkodan sonra vücutta en fazla bulunan iz elementtir [5]. Özellikle organizmalarda yaklaşık 30 kadar enzimde prostetik grup olarak işlev gören bakır, yapısal bileşen olarak mitokondride yer alarak sitokrom c oksidaz aracılığı ile enerji üretiminde, hemoglobin aracılığı ile demirin homeostazisinde, süperoksitdismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimler aracılığı ile serbest oksijen radikallerin temizlenmesinde, kollojen ve elastininin bağ oluşturması gibi mekanizmalarda görev alan enzimlerin katalizlenmesinde görev alır [2,6]. Ancak yüksek dozları toksikasyon, oksidatif hasar ve karaciğer fonksiyonlarında bozukluklara yol açmaktadır [6].

Çiçekli bitkilerde erkek cinsiyet hücresi olan polen dişi organın tozlaşmasını sağlar ve bitkinin kalıtsal özelliklerinin tamamını taşır. Polen, tohumun oluşmasından evvel açmış çiçeklerin orta kısmındaki erkek üreme organının başçık bölgesinde bulunur ve küçük hücrelerden oluşmuş toz şeklindedir. Aynı zamanda çiçek tozu olarak da bilinen polen, bitkilerdeki çiçeklenme dönemi süresince görülebilirler. Arıların salgı bezlerinin gelişimi ve arıların büyümesi için mutlaka gerekli olan polen ayrıca arılar için kolonilerinin yavru üretmek devamlılığını sağlayabilmesi açısından hayatsal öneme sahiptir [7]. İhtiva ettiği besinler açısından oldukça zengin olması nedeniyle son dönemde dikkatleri üzerinde toplayan polenin en bilinen ve önemli özellikleri immünomodulator, antimikrobiyal ve antioksidan fonksiyonlarıdır [8-11]. Yüksek miktarda protein ve karbonhidrat içermekle beraber vitamin, enzim, yağ asidi, mineral madde ve aminoasitleri de içeriğinde bulundurduğu yapılan kimyasal analizlerle belirlenmiştir. Polenin ayrıca karotenoid, flavonoid, steroid ve renk maddelerini içerdiği çalışmalarla gösterilmiştir [11].

Bu tez çalışmasında, bakır sülfat formunda uygulanan bakırın muhtemel olumsuz yan etkilerine karşı polenin koruyuculuğunun araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla model organizma olarak balık kullanılmıştır. Balıklara 0,5 ve 1 mg/L dozunda bakır sülfat suya karıştırılarak uygulanmış, bakır sülfat uygulanan balıklara 5 mg/kg balık dozunda polen 1. ve 7. günlerde eş zamanlı olarak enjekte edilmiştir. Deneme 14 gün devam etmiş, araştırmanın 7. ile 14. gününde balıklardan karaciğer, böbrek ve solungaç örnekleri alınmış ve 30 gün içerisinde işlenmiştir. Bunun için doku örneklerinden homojenatlar hazırlanmış, elde edilen homojenatlarda oksidatif stresin bir belirteci olarak malondialdehit (MDA) düzeyi, katalaz (CAT) aktivitesi, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi, glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesi ve redükte glutatyon (GSH) düzeyi belirlenmiştir. Sonuçlar SPSS paket programı kullanılarak rutin istatistiksel metotlarla değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular neticesinde polenin bakır toksisitesine karşı antioksidan potansiyeli ortaya konulmuş, bakıra karşı koruyucu etkisi incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Çalışmanın ana hatlarını oluşturan bakır, polen, oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizması hakkındaki genel bilgiler aşağıda sunulmuştur.

2.1. Bakır

Bakır, simgesi Cu, atom numarası 29, atomik ağırlığı 63,54 g/mol, yoğunluğu 8,92 g/cm³, erime noktası 1083 0C ve kaynama noktası 2595 0C olan, çeşitli kaya ve minerallerde bol bulunan, temel besin elementlerinden birisidir. Kübik kristal bir yapıya sahip olan bakır Cu⁰, Cu⁺¹ ve Cu⁺² değerlikli bir geçiş metalidir ve ayrıca 5 g/cm³'den daha ağır bir yoğunluğa sahip olduğu için ağır metal olarak da sınıflandırılmaktadır [3,12].

Bakırın elektrik ve ısı iletkenliğinin yüksek olması, aşınma ve korozyon karşısındaki dirençliliği ve çekilebilme ve dövülebilme özellikleri onun endüstri ve sanayide çok geniş kullanım alanına sahip olmasını sağlamaktadır. Ayrıca çok çeşitli alaşımları, elektrik ve elektrik santralleri, elektronik, otomotiv, basınçlı sistemler, borular ve vanalar gibi değişik alanlarda farklı amaçlar için kullanılmaktadır [5]. Ayrıca veteriner hekimlik alanında antihelmintik olarak, tarımda ise fungusit olarak bakır sülfat sıklıkla uygulanmaktadır [6]. Su ürünleri alanında ise bazı parazitler ve mantar hastalıklarının tedavisinde kullanılmakta ve ayrıca bir dezenfektan olarak da oldukça sık başvurulmaktadır [13].

Bakır canlılarda birçok önemli fonksiyonun sürdürülebilmesi için hayati öneme sahiptir. Özellikle birçok enzimin yapısına girmesi bakırı vücut için oldukça elzem kılmaktadır. Bakır, demir metabolizmasında önemli bir rol oynadığı için eksikliğinde insanlarda, demir miktarı yeterli olsa dahi anemiye yol açar. Çünkü bakır olmazsa demir hemoglobine bağlanamaz [1,4]. Özellikle derinin esnek kısımları, saç, kemik ve bazı iç organların temel bileşeni olan bakır, aminoasit, yağ asidi ve vitaminlerin metabolizmadaki tepkimelerinin normal koşullardaki vazgeçilemez bir ögesi durumundadır. Diğer taraftan metalloenzimlerin yapısına katılan bakır bu özelliğinden dolayı canlı metabolizmasında biyokatalizör olarak çok önemli bir işlev göstermektedir. Amin oksidaz, askorbik asit oksidaz, dopamin β-hidroksilaz, oksidaz, sitokrom c oksidaz, süperoksit dismutaz ve tirozinaz bilinen bakır metalloenzimlerinin başlıcalarını oluştururlar [4]. Oksidasyon ve redüksiyon olaylarında kolaylıkla elektron alıp verebilen ve son derece önemli bir element olan bakır bazı enzimatik antioksidanların yapısına girerek serbest radikallerin uzaklaştırılmasında da rol oynamaktadır [5]. Yapısında bakır bulunan ve bakır oksidaz olarak da bilinen seruloplazmin enzimi, serumda antioksidan olarak görev almaktadır. Hücresel bakır, özel genlerin yazılımının arttırılması veya engellenmesi yoluyla protein sentezini etkileyebilmektedir [5].

Vücut için hayati öneme sahip bakırın bu özelliklerine karşın yüksek konsantrasyonları oldukça toksik olabilmektedir. Diğer bir ifadeyle bakır, canlı dokusunda birikebilme özelliğine sahip ve dokulardaki düzeyi kritik noktalara ulaştığında toksik etki yapabilen bir metaldir. Bu metalle karşılaşıldığında başta karaciğer ve böbrek olmak üzere diğer pek çok doku da dahil patolojik değişiklikler olduğu bildirilmiştir [3]. Bakırın metabolize olduğu organ karaciğer olduğu için birincil hasar oluşturduğu organ karaciğerdir. Bakır hepatositlerin çekirdek ve lizozomlarında birikerek hasar yapmakta, bu yapılarıdaki hasar sonucu kan yoluyla böbreğe geçmekte ve burada da hasar oluşturmaktadır [6]. Hücresel ihtiyaçları aşan bakır, serbest radikal üretimine ve lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın doğrudan oksidasyonuna aracılık eder. Bakır fazlalığı serbest oksijen radikallerinin üretimini tetikleyerek mitokondride lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır [6,14]. İnsanlarda bağırsaktan bakır emiliminin artması ve karaciğer dokusunda birikmesi neticesinde oluşan Wilson hastalığı (Hepatolentiküler dejenerasyon)'nda bakır konsantrasyonu karaciğer, beyin, böbrek ve korneada artmakta ve buna bağlı olarak nörolojik bozukluklar ve karaciğer sirozisi görülmektedir. Ayrıca bağırsakta bakır emiliminde oluşacak bir hata sonucunda "Menkes Sendromu" ortaya çıkmaktadır. Bu hastalık neticesinde plazmadaki bakır ve seruloplazmin seviyesi düştüğü için büyümede yavaşlama, vücut ısısında düşme, saçlarda ağarma ve beyinde dejenerasyon meydana gelmektedir [4].

2.2. Polen

Bulunduğu bölgeye göre değişik renkler alabilen, çok çekirdekli olabilen ve haploit kromozoma sahip, bitkilerin çiçeklenme dönemlerinde görülen, dişi organın tozlaşmasını sağladığı için çiçek tozu da denilen, çiçekli bitkilerin erkek üreme organında oluşan erkek gametofitlere polen denilmektedir [15-17]. Generatif ve vejetatif şeklinde iki farklı hücreden oluşmuş n kromozomlu bir mikrospor olan polen [16], bu mikrospor ana hücresinin mayoz bölünmesi sonucunda meydana gelmektedir. Mayoz bölünme sonucunda oluşan dört haploid hücreden diğer bir ifadeyle tetratlardan ayrılmış mikrospora polen denilmektedir [17].

Polenin asli vazifesi aynı türdeki dişi üreme organına ulaşarak ovaryum içindeki yumurtanın döllenmesini sağlamaktır. Bu açıdan bakıldığında polen neslin devamlılığını sağlamak için kritik bir rol oynamaktadır. Bahar aylarında çiçeklerin açmaya başlamasıyla çiçekler arasındaki tozlaşma başlamakta, böylece polenin çiçekteki dişi organa taşınımı da gerçekleşmektedir. Çiçekli bitkilerin yalnızca % 20'si rüzgâr yoluyla polenlerini taşıırken (anemogam), diğerleri kuşlar (ornitogam), böcekler (entomogam) veya diğer faktörler vasıtasıyla ulaştırmaktadır. Bal arıları, poleni en etkili şekilde toplayan böceklerdir. Bal arıları kendi salgılarını topladıkları polene kattıklarında arı poleni oluşmaktadır [16].

Polinasyon ya da tozlaşma olarak da bilinen olayın gerçekleşmesinde çiçekli bitkilerin arılara ne kadar ihtiyacı varsa yaşamlarını sürdürmeleri ve besin gereksinimlerini karşılamaları

için arıların da çiçeklere ihtiyacı vardır. Her iki canlı grubunun beraber evrimleştiğini gösteren kanıtlar, yapılan arkeolojik çalışmalarla da ispatlanmıştır. Arılar polen ve nektar toplamak amacıyla oldukça fazla çiçeği ziyaret etmektedirler. Topladıkları nektarları karbonhidrat ihtiyaçlarını karşılamak için polenleri ise protein ihtiyaçlarını karşılamak için kullanırlar. Buna bağlı olarak değişen polenin bitkisel zenginliği ve kalitesi aynı zamanda arıların hem gelişim sürecini hem de çoğalmalarını da temelden etkilemektedir. Bal arıları için polen kaynakları bulundukları bölgedeki doğal florayla birebir ilişkilidir ve bu florayla değişmektedir. Floranın polen değeri ise bölgedeki polenli bitki türlerinin çeşitliliği, yoğunluğu ve çiçeklenme süresinin uzunluğu ile ilişkilidir [15].

Polen insan metabolizması için oldukça önemli ve gerekli olan birçok değerli besin maddesini içermektedir. Yüksek oranda protein ve karbonhidrat içeren polen aynı zamanda zengin bir vitamin ve mineral madde deposudur [15]. Polen, yapısında su başta olmak üzere proteinleri, karbonhidratları, doymuş ve doymamış yağlar ile onların türevleri olmak üzere lipitleri, aminoasitleri ve şekerleri yüksek oranda barındırmaktadır. Bununla birlikte polenler vitamin, organik asit, mineral ve elementler bakımından da oldukça zengin maddelerdir. Polenlerin yapısında yağda çözünen vitaminler (A, D, E ve K) ile suda eriyen vitaminler (B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12 ve C) bulunur. Arjinin, fenilalanin, glutamin, histidin, izolösin, lisin, lösin, metiyonin, sistin, triptofan ve valin polenlerde bulunan başlıca aminoasitlerdir ve bu aminoasitlerin polendeki bulunurluk oranları %7-30 arasında değişmektedir. Lösin ve lisin sırasıyla %7,1 ve %6,4 oranlarındaki düzeyleriyle polen içerisinde en fazla bulunan aminoasitler iken triptofan ve metiyonin %1,4 ve %1,9 oranlarıyla en az bulunan aminoasitlerdir [15,17]. Doğada mevcut bulunan 31 yağ asidi çeşidinden 16 tanesi polende belirlenmiş olup bunlardan en önemlisi palmitik asittir. Bu asidi sırasıyla myristik, linoleik, oleik, stearik ve diğer asitler takip etmektedir. Farklı oranlardaki glukoz, sukroz, fruktoz, kalloz, pektin, selüloz ve lignin polenlerde bulunan önemli karbonhidratları oluştururlar [17]. İz element ve mineral madde içeriği bakımından da oldukça zengin bir potansiyele sahip olan polenin mineral madde içeriğinde bakır, bor, demir, fosfor, iyot, kalsiyum, klorin, magnezyum, manganez, molibden, nikotinamid, potasyum, silis, sodyum ve sülfür bulunurken iz elementlerden çinko, titanyum, aliminyum ve nikel bulunmaktadır [17].

Yukarıda sayılan maddelerin yanında polen içerisinde amilaz, diastaz ve fosfataz gibi değerli enzimler, esansiyel yağ asitleri, farklı madensel tuzlar, hormon benzeri büyüme faktörleri, karotenoidler ve steroidler ile renk pigmentleri de belirlenmiştir. Arı polenin içeriğindeki fenolik bileşikler ve flavonoidler, onun güçlü antioksidan, antimikrobiyal, antiinflammatuar, antikarsinojen, vazodilatör, antialerjik ve antiviral gibi çeşitli biyolojik aktivitelerinden sorumludurlar [15].

2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizması

Dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran atom veya moleküllere serbest radikal denmektedir. Reaktif oksijen türleri ya da oksidan moleküller diye de isimlendirilen serbest radikaller, normal hücresel metabolizma veya normal fizyolojik koşullar sırasında oluşmaktadırlar. Hücrelerde sürekli oluşan serbest radikaller ile onlarla reaksiyona giren antioksidanlar arasında bir denge vardır. Bu dengenin serbest radikaller lehine değişmesi yani bir başka ifadeyle hücrede süperoksit radikallerinin birikmesi ya da endojen savunma sistemlerinin yetersiz kalması oksidatif stres olarak tanımlanır [18,19]. Serbest radikallerin kısa ömürlü, değişken ve reaktif olması yapılarında eşlenmemiş elektronlar bulunmasından kaynaklanır. Serbest radikaller kararlı hale gelmek için hücrenin diğer bileşenlerinden elektron alırlar ve elektronu alınan bileşen başka bir radikal haline dönüşür. Bu reaksiyonlar zincirleme şekilde devam eder ve sonuçta hücreler zarar görür. Yani diğer bir ifadeyle serbest radikaller etkileşime girdiği maddenin yapısını bozar [20].

Serbest radikaller oluşum şekillerine göre aşağıda açıklandığı gibi ikiye ayrılır [21,22].

1. Elektron eksiklikleri bulunmasından dolayı diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişi yapabilen ve moleküler oksijenden su oluşuncaya kadar oluşan radikaller (süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$), alkoksil radikali ($RO\cdot$) ve peroksil radikali ($ROO\cdot$)) ve
2. Elektron eksiği bulunmamasına karşın diğer moleküllerle radikallerden daha zayıf bir şekilde birleşebilen non-radikaller (hidrojen peroksit (H_2O_2), lipit hidroperoksit ($ROOH$) ve hipokloröz asit ($HOCl$))' dir.

Organizmada moleküler düzeyde birçok olumsuz etkiye neden olan serbest radikaller aşırı arttığında hücre için oldukça toksik olurlar. Hücrede protein, lipid ve nükleik asitlere zarar vererek hücre içi sinyal mekanizmasını bozar [23]. Parkinson, Alzheimer, Huntington, Amyotrofik lateral skleroz, immün sistem hastalıkları, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi birçok hastalığın oluşum nedeni, serbest radikallerle uyarılan oksidatif stres olarak gösterilmektedir [24]. Bununla birlikte katarakt, ateroskleroz gibi yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı oluşan dejeneratif hastalıkların ortaya çıkmasına da yine serbest radikaller neden olmaktadır [25]. Hücrelerde serbest radikallerden olumsuz anlamda en fazla etkilenen bileşikler doymamış yağ asitlerinin fosfolipit gruplarıdır. Serbest radikaller doymamış yağ asitlerine saldırır. Metilen grubundan bir hidrojen uzaklaştırılır ve sonuçta serbest radikaller lipit peroksidasyonunu başlatmış olur. Bu reaksiyonla karbon merkezli lipit radikali, lipit radikalinin de moleküler oksijen ile reaksiyona girmesiyle lipit peroksit radikali oluşur. Bu radikal diğer yağ asitleriyle beraber yeni lipit radikallerinin oluşumuna neden olur ve olay kendi kendine katalizlenerek devam eder [20,26]. Lipit peroksitlerin yıkımlanmasıyla biyolojik olarak son derece olan aktif aldehitler oluşur [22,27-30]. Bu aldehidler ya hücrelerde metabolize edilerek etkisizleştirilirler ya da hücrenin diğer kısımlarına hasar verirler. Lipit peroksidasyon neticesinde oluşan en önemli

ürünlerden birisi malondialdehit olup, oluşan bu aldehit türü hücrede iyon alışverişini etkileyerek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanması, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuzluklara yol açar. Malondialdehit düzeyinin ölçülmesi lipid peroksiyonun seviyesinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır [31,32].

Hücrede lipid, protein ve DNA gibi okside olma potansiyeli yüksek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddelere antioksidan, bu maddelerin etkin olduğu mekanizmalara ise antioksidan savunma mekanizmaları denir. Fizyolojik olarak normal şartlarda serbest radikallerin dolaşımı antioksidanlar tarafından etkili bir şekilde kontrol edilerek hücre hasarı kontrol altında tutulmaktadır. Antioksidanların bu etkisi aşağıda açıklanan dört farklı mekanizmayla olmaktadır [33].

1. Temizleme etkisi: Serbest oksijen radikallerinin tutulması ya da oksidanların daha zayıf bir moleküle dönüştürmesidir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki ederler.
2. Baskılama etkisi: Oksidanlara bir hidrojen verilerek onların etkisiz hale getirilmesi veya etkilerinin ya da reaksiyon hızlarının azaltılması. Vitaminler ve flavonoidler etkilerini bu yolla gösterirler.
3. Onarma etkisi: Serbest radikallerin lipid, protein ve DNA gibi yapılarda oluşturdukları biyolojik hasarın onarılması.
4. Zincir koparma etkisi: Serbest radikallerin bağlanması, zincirlerinin kırılarak işlevlerinin engellenmesi.

Antioksidanlar, birincil (enzimatik) ve ikincil antioksidanlar (enzimatik olmayan) olarak ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) enzimlerinden oluşmaktadır. Glutatyon, β -karoten, ürik asit, A, C ve E vitaminleri ile flavonoidler ikincil antioksidanları oluştururlar [34-36].

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada pullu sazana bakır, polen ve aynı anda bakır ve polen uygulandıktan sonra oksidatif stres ve bazı antioksidan parametrelerdeki değişimlerin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla balıklara iki farklı dozda bakır sülfat formunda bakır suya karıştırılarak uygulandı. Bakır sülfat uygulanan balıklara polen eş zamanlı olarak tek doz olacak şekilde farklı günlerde iki kez enjekte edildi. Denemenin sonunda balıkların farklı dokularında oksidatif stres ve antioksidan parametrelerindeki değişimler tespit edildi. Elde edilen sonuçlar uygun istatistiksel yöntemler kullanılarak analiz edildi.

3.1. Materyal

Tez çalışmasında 33 x 100 x 60 cm boyutlarında ve önceden dezenfekte edilmiş 12 adet akvaryum (2 tekrarlı ve her tekrarda 6, toplamda 12 cam akvaryum) kullanıldı (Şekil 3.1). Çalışma başlamadan önce balıkların akvaryumlara 15 gün süreyle adaptasyonları sağlandı. Çalışma süresince akvaryumlar balıkların atlamalarını engellemek için eleklerle kapatıldı.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan akvaryumlar

Tez çalışmasında, ortalama ağırlığı yaklaşık 50 ± 5 g olan ve Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi tarafından DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden canlı olarak temin edilen 120 adet (her bir tekrarda 60, toplamda 120 balık örneği) pullu sazan (*Cyprinus carpio*) kullanıldı.

Çalışmada Zonguldak ilindeki yerel arıcılar tarafından temin edilen kestane (*Castanea sativa*) poleni kullanıldı. Laboratuvar analizleri için gerekli olan kimyasal maddeler ise ABCR, AppliChem, Fluka, Isolab, Merck, Serva, Sigma-Aldrich ve VWR Chemicals firmalarından temin edildi.

3.2. Metot

3.2.1. Deneysel Plan

Balıklar 12 akvaryuma, her birinde 10 tane olmak üzere bırakıldı. Balıklar aşağıdaki gibi 6 grubu ayrıldı.

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: 0,5 mg/L konsantrasyonunda bakır sülfatın suya karıştırılarak uygulandığı grup

Grup 3: 1 mg/L konsantrasyonunda bakır sülfatın suya karıştırılarak uygulandığı grup

Grup 4: 5 mg/kg balık dozunda polenin enjekte edildiği grup

Grup 5: 0,5 mg/L konsantrasyonunda bakır sülfatın suya karıştırılarak uygulandığı ve 5 mg/kg balık dozunda polenin enjekte edildiği grup

Grup 6: 1 mg/L konsantrasyonunda bakır sülfatın suya karıştırılarak uygulandığı ve 5 mg/kg balık dozunda polenin enjekte edildiği grup

Çalışma 14 gün sürdü. Çalışmanın 7. gününde kontrol grubu dışındaki diğer gruplarda bulunan balıklardan 5 tanesi otopsi edildi, kalan 5 taneye ise yine polen 5 mg/kg balık dozunda enjekte edildi. 14. gün sonunda kalan diğer balıklar da otopsi edildi. Balıkların otopsi edilmesi ve polen enjeksiyonu benzokain (25 mg/L) ile anesteziden sonra yapıldı. Otopsi işlemi tekniğine uygun olarak gerçekleştirildi [13]. Otopsi edilen balıkların karaciğer, böbrek ve solungaçları çıkarılarak folyolara sarılıp - 20 0C' de saklandı. Doku örnekleri 30 gün içerisinde işlendi.

3.2.2. Doku Örneklerinin İşlenmesi

İncelenen oksidatif stres ve antioksidan parametrelerin ölçülmesi için öncelikle alınan karaciğer, böbrek ve solungaç dokularından homojenatlar hazırlandı. Bu amaçla dokuların serum fizyolojik (%0,09 NaCl) yardımıyla yıkanmasından sonra iki süzgeç kağıdı kullanılarak suyu alındı. Dokular %1.15'lik potasyum klorür (KCl) içinde 1/10 oranında sulandırılıp homojenize edildikten sonra propilen tüpler içerisinde 3200 rpm'de +4 °C'de soğutmalı santrifüjde 10 dakika

santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda oksidatif stresin bir göstergesi olarak MDA düzeyi, GSH-Px, CAT ve GST aktiviteleri ile GSH düzeyi ölçüldü.

3.2.3. Oksidatif Stresin Belirlenmesi

Oksidatif stresin belirlenmesi için doku MDA düzeylerinde oluşan değişimler ölçüldü. Bu amaçla Placer vd. [37] tarafından bildirilen yöntemin modifiye edilmesiyle doku MDA düzeyleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Bunun için 0,25 ml homojenat ve 2,25 ml renk ayırıcı (2-Thiobarbituric acid (TBA) ve Trikloroasetik asit (TCA)) karıştırılarak 5 dakika 3000 rpm’de santrifüj edildi. Daha sonra 20 dakika için kaynar suda bekletilen örnekler 532 nm’ de okundu.

3.2.4. Antioksidan Parametrelerin Ölçülmesi

CAT Aktivitesinin Ölçülmesi

Doku CAT aktivitesi Aebi [38] tarafından bildirilen yöntemle ölçüldü. 2 ml doku homojenatının üzerine 1 ml hidrojen peroksit ilave edildikten sonra 0. ve 30. saniyedeki absorbans farkı 240 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü.

GSH-Px Aktivitesinin Ölçülmesi

Doku GSH-Px aktivitesi Beutler [39]’ in bildirdiği metoda göre belirlendi. Buna göre, deney ortamında NADPH’ın NADP⁺’ya dönüşmesi sırasında optik dansitede oluşan absorbans farkının 340 nm dalga boyunda ölçülmesiyle GSH-Px aktivitesi belirlendi.

GST Aktivitesinin Ölçülmesi

Doku glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesindeki değişimler Habig vd. [40] tarafından bildirilen yöntem kullanılarak ölçüldü.

GSH Düzeyinin Belirlenmesi

Doku GSH düzeyi Ellman [41]’ in bildirildiği yöntemin modifiye edilmesiyle belirlendi. Çöktürücü solüsyonla (EDTA, metafosforik asit ve sodyum klorür (NaCl)) 3000 rpm’ de 20 dakika santrifüj edilen karaciğer, böbrek ve solungaç örneklerinden alınan süpernatantlara disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) ve Ellman ayırıcı ilave edildi. Elde edilen karışım 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Protein Düzeyinin Belirlenmesi

Yukarıda açıklanan parametrelerin aktivite veya düzeylerini hesaplamak için doku protein düzeyleri ölçüldü. Bunun için Lowry vd. [42] tarafından bildirilen yöntem kullanıldı.

3.2.5. İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen sonuçların istatistiksel analizlerinde SPSS 21.0 istatistik programı kullanıldı. Her parametre için gözlemlenen değişimler $p < 0,05$ düzeyinde tek yönlü varyans analizi kullanılarak analiz edildi. Bağımlı gruptaki (günler için) istatistiksel farklılıklar için tekrarlı ölçümlerde varyans analizi uygulandı. Gruplar arası farklılıkları belirlemek için Least Significant Difference (LSD) kullanıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata şeklinde açıklandı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmaya başlamadan önceki adaptasyon sürecinde ve yine 14 günlük deneme süresince kontrol ve deneme grubundaki balıklarda ölüm olayı görülmedi.

Kontrol ve deneme gruplarının oksidatif stres ve antioksidan parametrelerine ait değerler arasında önemli farklılıklar tespit edildi.

4.1. Oksidatif Stres Düzeyindeki Değişimler

Deneyisel grupların karaciğer MDA düzeylerindeki değişimler Tablo 4.1' de sunulmuştur.

Tablo 4.1. Deneyisel grupların karaciğer MDA düzeyleri (nmol/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	2,96 ± 0,12 ^b	2,98 ± 0,09 ^b
2	3,48 ± 0,24 ^d	3,86 ± 0,28 ^{d,*}
3	3,91 ± 0,20 ^e	4,21 ± 0,27 ^{e,*}
4	2,33 ± 0,15 ^a	2,39 ± 0,23 ^a
5	3,14 ± 0,29 ^c	3,40 ± 0,20 ^{c,*}
6	3,16 ± 0,17 ^c	3,43 ± 0,26 ^{c,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir (p < 0,05).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) karaciğer MDA düzeylerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu saptandı (p < 0,05).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) karaciğer MDA düzeylerinin düştüğü (p < 0,05), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu tespit edildi (p < 0,05).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer MDA düzeyinin azaldığı belirlendi (p < 0,05). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer MDA değerleri 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık göstermedi (p > 0,05).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde karaciğer MDA düzeyinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) daha yüksek olduğu görüldü (p < 0,05).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde karaciğer MDA düzeyinde

istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki karaciğer MDA düzeyi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Deneyisel grupların böbrek MDA düzeylerindeki değişimler Tablo 4.2' de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Deneyisel grupların böbrek MDA düzeyleri (nmol/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	$3,66 \pm 0,27^b$	$3,65 \pm 0,21^b$
2	$4,04 \pm 0,33^d$	$4,49 \pm 0,38^{d,*}$
3	$4,37 \pm 0,29^e$	$4,90 \pm 0,35^{e,*}$
4	$3,37 \pm 0,24^a$	$3,40 \pm 0,16^a$
5	$3,89 \pm 0,38^c$	$4,13 \pm 0,25^{c,*}$
6	$3,87 \pm 0,30^c$	$4,18 \pm 0,32^{c,*}$

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) göre bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) böbrek MDA düzeylerinin arttığı belirlendi ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplarla (Grup 2 ve Grup 3) karşılaştırıldığında bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) böbrek MDA düzeylerinin azaldığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) böbrek MDA düzeyinin, kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla düştüğü saptandı ($p < 0,05$). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4), 7. ve 14. gündeki böbrek MDA değerleri arasında herhangi bir farklılık gözlemlenmedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 3) böbrek MDA düzeyinin, 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 2) böbrek MDA düzeyinden daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde böbrek MDA düzeyinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki böbrek MDA düzeyi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Deneyisel grupların solungaç MDA düzeylerindeki değişimler Tablo 4.3' de verilmiştir.

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) solungaç MDA düzeylerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) solungaç MDA düzeylerinin düştüğü ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Tablo 4.3. Deneysel grupların solungaç MDA düzeyleri (nmol/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	$3,27 \pm 0,18^b$	$3,23 \pm 0,15^b$
2	$4,51 \pm 0,29^d$	$5,04 \pm 0,41^{d,*}$
3	$4,89 \pm 0,35^e$	$5,45 \pm 0,47^{e,*}$
4	$3,08 \pm 0,19^a$	$3,12 \pm 0,24^a$
5	$4,02 \pm 0,36^c$	$4,66 \pm 0,39^{c,*}$
6	$3,99 \pm 0,45^c$	$4,02 \pm 0,28^{c,*}$

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç MDA düzeyinin önemli düzeyde azaldığı belirlendi ($p < 0,05$). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç MDA düzeyleri 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık göstermedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde solungaç MDA düzeyinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde solungaç MDA düzeyinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki solungaç MDA düzeyi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Serbest radikaller oksijenden tek elektronun indirgenmesiyle oluşurlar. Karbohidrat, protein, lipid ve nükleik asit gibi komponentlerin yıkımına neden olduklarından hücrelere zarar verirler. Diğer taraftan DNA' ya zarar verirken hücrelerde enzim aktivasyonunu ve membran geçirgenliğini de olumsuz etkilemektedirler. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımıyla oluşan, bir başka ifadeyle serbest radikallerin etkisiyle lipid peroksidasyon sonucu açığa çıkan aldehitlerden biri olan MDA düzeyinde meydana gelen değişimlerin ölçülmesi oksidatif zararın belirlenmesinde kullanılan en önemli belirteçlerden bir tanesidir [22,32,43]. Bu tez çalışmasında da oksidatif stresin bir ifadesi olarak MDA düzeyindeki değişimler ölçülmüştür.

Yapılan farklı çalışmalardan elde edilen sonuçlar balıklarda MDA düzeyi ile bakır sülfat tarafından indüklenen stres arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Örneğin; Roméo vd. [44]

farklı konsantrasyonlarda bakırı intraperitoneal yolla levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarına enjekte etmiştir. Sonuç olarak uygulamadan 48 saat sonra artan bakır konsantrasyonuna bağlı olarak karaciğer dokusunda MDA düzeyinin de arttığını belirlemiştir. Benzer sonuçlar *Carassius auratus* türü balıklarda da tespit edilmiş 0,1, 0,5, 1 ve 1,5 ppm konsantrasyonlarında uygulanan bakır sülfat pentahidrat formundaki bakırın uygulamadan 24 saat sonra alınan karaciğer dokusunda MDA düzeyini arttırdığı ve bu artışın konsantrasyondaki artışla pozitif bir ilişki gösterdiği ifade edilmiştir [45]. Yukarıda açıklanan çalışmalardan elde edilen bulgulara paralel olarak ratlarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Özcelik ve Uzun [46] ratlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında toksik düzeyde bakır uygulamasının beyin dokusundaki MDA düzeyini arttırdığını tespit etmişlerdir. Zhang vd. [47] ise bakırın ratlarda karaciğer dokusu ile serumda MDA düzeyini arttırdığını bildirmişlerdir. Hem farklı balık türlerinden hem de ratlardan elde edilen sonuçlarla benzer şekilde bu çalışmada da iki farklı konsantrasyonda yalnız bakır uygulanan balıkların karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinin arttığı görülmüştür. Bu bulgu bakır toksisitesine bağlı olarak reaktif oksijen türlerinin üretiminin bir sonucu olarak oluşan ve artan lipid peroksidasyonun bir neticesi olabilir [48,49].

Diğer yandan bu çalışmada karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinin yalnız polen uygulanan grupta düştüğü belirlenmiştir. 96 saat süresince 0,5, 2,5, 5, 10, 20 ve 30 ppm konsantrasyonlarında ve banyo yoluyla verilen polenin alabalıklarda karaciğer, dalak ve kalp MDA düzeylerine etkileri araştırılmıştır [50]. Sonuç olarak tüm deneme gruplarında karaciğer MDA düzeyinin, 0,5 ppm konsantrasyonunda polen uygulanan grup dışındaki tüm deneme gruplarında ise dalak ve kalp MDA düzeyinin azaldığı ifade edilmiştir. Yine alabalıklarda yapılan fakat polenin yemle verildiği diğer bir çalışmada 21. gün sonunda kontrol grubuna göre polen uygulamasının karaciğer, böbrek ve dalak MDA düzeylerini düşürdüğü görülmüştür [51]. Safi [52], 30 ppm konsantrasyonunda suya karıştırarak polenin uygulandığı pullu sazanlarda karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığını belirlemiştir. Bu çalışmada ise 5 mg/kg balık dozunda yalnız polen uygulanan grubun karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuç Dastan vd. [50], Yöntürk [51] ve Safi [52]'nin bulgularıyla paraleldir.

Ayrıca bu çalışmada bakır sülfatla eş zamanlı olarak polen uygulanan grubun karaciğer, böbrek ve solungaç MDA düzeylerinin kontrol grubuna yakın ancak yine de kontrol grubundan düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç bakır sülfat uygulamasıyla dokularda oluşan oksidatif hasarın polen uygulamasıyla engellenebileceğini göstermektedir. Önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi bu etki polenin güçlü radikal temizleyici özelliği veya antiradikal aktivitesiyle açıklanabilir [9].

4.2. Antioksidan Parametrelerdeki Değişimler

CAT Aktivitesindeki Değişimler

Deneyisel grupların karaciğer CAT aktivitesindeki değişimler Tablo 4.4' de sunulmuştur.

Tablo 4.4. Deneyisel grupların karaciğer CAT aktiviteleri (U/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	3,72 ± 0,38 ^d	3,71 ± 0,35 ^d
2	2,51 ± 0,27 ^b	2,27 ± 0,42 ^{b,*}
3	2,14 ± 0,40 ^a	1,94 ± 0,26 ^{a,*}
4	4,42 ± 0,48 ^e	4,39 ± 0,36 ^e
5	3,35 ± 0,52 ^c	3,09 ± 0,44 ^{c,*}
6	3,37 ± 0,37 ^c	3,12 ± 0,41 ^{c,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farklı gösterir (p < 0,05).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) karaciğer CAT aktivitelerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu saptandı (p < 0,05).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) karaciğer CAT aktivitelerinin arttığı (p < 0,05), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi (p < 0,05).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer CAT aktivitesinin önemli düzeyde arttığı belirlendi (p < 0,05). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer CAT aktivitesi 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık göstermedi (p > 0,05).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde karaciğer CAT aktivitesinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) daha düşük olduğu görüldü (p < 0,05).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde karaciğer CAT aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi (p > 0,05). Ancak 14. gündeki karaciğer CAT aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu (p < 0,05).

Deneyisel grupların böbrek CAT aktivitelerindeki değişimler Tablo 4.5' de gösterilmiştir.

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) göre bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) böbrek CAT aktivitelerinin azaldığı belirlendi (p < 0,05).

Tablo 4.5. Deneyisel grupların böbrek CAT aktiviteleri (U/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	3,21 ± 0,29 ^d	3,24 ± 0,23 ^d
2	2,74 ± 0,33 ^b	2,41 ± 0,32 ^{b,*}
3	2,35 ± 0,24 ^a	2,09 ± 0,18 ^{a,*}
4	3,90 ± 0,40 ^e	3,88 ± 0,34 ^e
5	3,02 ± 0,36 ^c	2,76 ± 0,30 ^{c,*}
6	3,05 ± 0,17 ^c	2,78 ± 0,24 ^{c,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir (p < 0,05).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplarla (Grup 2 ve Grup 3) karşılaştırıldığında, bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) böbrek CAT aktivitelerinin arttığı (p < 0,05), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi (p < 0,05).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) böbrek CAT aktivitesinin, kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yükseldiği saptandı (p < 0,05). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4), 7. ve 14. gündeki böbrek CAT aktiviteleri arasında herhangi bir farklılık gözlemlenmedi (p > 0,05).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 3) böbrek CAT aktivitesinin, 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 2) böbrek CAT aktivitesinden düşük olduğu görüldü (p < 0,05).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde böbrek CAT aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi (p > 0,05). Ancak 14. gündeki böbrek CAT aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu (p < 0,05).

Deneyisel grupların solungaç CAT aktivitelerindeki değişimler Tablo 4.6' da verilmiştir.

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) solungaç CAT aktivitelerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu saptandı (p < 0,05).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) solungaç CAT aktivitelerinin arttığı (p < 0,05), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi (p < 0,05).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç CAT aktivitesinin önemli düzeyde yükseldiği belirlendi (p < 0,05). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç CAT aktiviteleri 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık göstermedi (p > 0,05).

Tablo 4.6. Deneyisel grupların solungaç CAT aktiviteleri (U/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	2,78 ± 0,19 ^b	2,75 ± 0,17 ^b
2	2,13 ± 0,12 ^d	1,90 ± 0,10 ^{d,*}
3	1,80 ± 0,16 ^e	1,63 ± 0,14 ^{e,*}
4	3,19 ± 0,24 ^a	3,22 ± 0,20 ^a
5	2,47 ± 0,11 ^c	2,21 ± 0,15 ^{c,*}
6	2,51 ± 0,17 ^c	2,20 ± 0,13 ^{c,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir (p < 0,05).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde solungaç CAT aktivitesinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) düşük olduğu görüldü (p < 0,05).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde solungaç CAT aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi (p > 0,05). Ancak 14. gündeki solungaç CAT aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu (p < 0,05).

GSH-Px Aktivitesindeki Değişimler

Deneyisel grupların karaciğer GSH-Px aktivitesindeki değişimler Tablo 4.7' de sunulmuştur.

Tablo 4.7. Deneyisel grupların karaciğer GSH-Px aktiviteleri (U/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	3,36 ± 0,27 ^d	3,44 ± 0,19 ^d
2	2,88 ± 0,41 ^b	2,69 ± 0,22 ^{b,*}
3	2,60 ± 0,32 ^a	2,41 ± 0,35 ^{a,*}
4	3,98 ± 0,45 ^e	4,03 ± 0,38 ^e
5	3,17 ± 0,19 ^c	2,86 ± 0,37 ^{c,*}
6	3,11 ± 0,26 ^c	2,88 ± 0,31 ^{c,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p < 0,05). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir (p < 0,05).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) karaciğer GSH-Px aktivitelerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) karaciğer GSH-Px aktivitelerinin arttığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer GSH-Px aktivitesinin önemli düzeyde arttığı belirlendi ($p < 0,05$). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer GSH-Px aktivitesi 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık göstermedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde karaciğer GSH-Px aktivitesinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) daha düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde karaciğer GSH-Px aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. günde karaciğer GSH-Px aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu ($p < 0,05$).

DeneySEL grupların böbrek GSH-Px aktivitelerindeki değişimler Tablo 4.8' de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. DeneySEL grupların böbrek GSH-Px aktiviteleri (U/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	$3,06 \pm 0,14^d$	$3,00 \pm 0,16^d$
2	$2,62 \pm 0,29^b$	$2,20 \pm 0,20^{b,*}$
3	$2,19 \pm 0,18^a$	$1,96 \pm 0,25^{a,*}$
4	$3,74 \pm 0,33^e$	$3,70 \pm 0,28^e$
5	$2,80 \pm 0,24^c$	$2,51 \pm 0,26^{c,*}$
6	$2,76 \pm 0,30^c$	$2,49 \pm 0,22^{c,*}$

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) göre bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) böbrek GSH-Px aktivitelerinin azaldığı belirlendi ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplarla (Grup 2 ve Grup 3) karşılaştırıldığında, bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) böbrek GSH-Px aktivitelerinin

arttığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) böbrek GSH-Px aktivitesinin, kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yükseldiği saptandı ($p < 0,05$). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4), 7. ve 14. gündeki böbrek GSH-Px aktiviteleri arasında herhangi bir farklılık gözlemlenmedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 3) böbrek GSH-Px aktivitesinin, 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 2) böbrek GSH-Px aktivitesinden düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde böbrek GSH-Px aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki böbrek GSH-Px aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu ($p < 0,05$).

Deneyisel grupların solungaç GSH-Px aktivitelerindeki değişimler Tablo 4.9' da verilmiştir.

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) solungaç GSH-Px aktivitelerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) solungaç GSH-Px aktivitelerinin arttığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Tablo 4.9. Deneyisel grupların solungaç GSH-Px aktiviteleri (U/mg protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	$2,82 \pm 0,16^b$	$2,85 \pm 0,14^b$
2	$2,27 \pm 0,18^d$	$2,01 \pm 0,21^{d,*}$
3	$2,03 \pm 0,20^e$	$1,82 \pm 0,17^{e,*}$
4	$3,26 \pm 0,33^a$	$3,30 \pm 0,29^a$
5	$2,58 \pm 0,22^c$	$2,35 \pm 0,19^{c,*}$
6	$2,59 \pm 0,31^c$	$2,37 \pm 0,18^{c,*}$

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç GSH-Px aktivitesinin önemli düzeyde yükseldiği belirlendi ($p < 0,05$). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç GSH-Px aktiviteleri 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık göstermedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde solungaç GSH-Px aktivitesinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde solungaç GSH-Px aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki solungaç GSH-Px aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu ($p < 0,05$).

GST Aktivitesindeki Değişimler

Deneysel grupların karaciğer GST aktivitesindeki değişimler Tablo 4.10' de sunulmuştur.

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) karaciğer GST aktivitelerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) karaciğer GST aktivitelerinin azaldığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Tablo 4.10. Deneysel grupların karaciğer GST aktiviteleri ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	121,83 $\pm$ 9,86 ^a	123,11 $\pm$ 10,42 ^a
2	184,09 $\pm$ 19,53 ^c	216,75 $\pm$ 20,68 ^{c,*}
3	215,06 $\pm$ 24,11 ^d	247,00 $\pm$ 20,06 ^{d,*}
4	133,26 $\pm$ 14,82 ^a	136,95 $\pm$ 16,23 ^a
5	159,48 $\pm$ 19,18 ^b	185,77 $\pm$ 13,66 ^{b,*}
6	162,26 $\pm$ 15,33 ^b	184,45 $\pm$ 16,92 ^{b,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer GST aktivitesinde herhangi bir farklılık belirlenmedi ($p > 0,05$). Ayrıca yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer GST aktivitesi 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık göstermedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde karaciğer GST aktivitesinin, 1 mg/L

bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde karaciğer GST aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki karaciğer GST aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Deneyisel grupların böbrek GST aktivitelerindeki değişimler Tablo 4.11' de gösterilmiştir.

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) göre bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) böbrek GST aktivitelerinin arttığı belirlendi ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplarla (Grup 2 ve Grup 3) karşılaştırıldığında, bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) böbrek GST aktivitelerinin azaldığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Tablo 4.11. Deneyisel grupların böbrek GST aktiviteleri ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	95,77 $\pm$ 6,64 ^a	93,89 $\pm$ 5,02 ^a
2	142,68 $\pm$ 10,29 ^c	175,03 $\pm$ 12,88 ^{c,*}
3	169,05 $\pm$ 18,02 ^d	199,81 $\pm$ 20,14 ^{d,*}
4	99,00 $\pm$ 8,06 ^a	100,21 $\pm$ 6,95 ^a
5	118,35 $\pm$ 11,26 ^b	142,51 $\pm$ 12,30 ^{b,*}
6	122,91 $\pm$ 10,79 ^b	148,30 $\pm$ 13,41 ^{b,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) böbrek GST aktivitesinin, kontrol grubundan (Grup 1) herhangi bir farklılık göstermediği saptandı ($p > 0,05$). Ayrıca yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4), 7. ve 14. gündeki böbrek GST aktiviteleri arasında herhangi bir farklılık gözlemlenmedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 3) böbrek GST aktivitesinin, 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 2) böbrek GST aktivitesinden daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde böbrek GST aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki böbrek GST aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

Deneyisel grupların solungaç GST aktivitelerindeki değişimler Tablo 4.12' de verilmiştir.

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) solungaç GST aktivitelerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) solungaç GST aktivitelerinin azaldığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Tablo 4.12. Deneyisel grupların solungaç GST aktiviteleri ($\mu\text{mol/dakika/mg protein}$)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	80,95 $\pm$ 4,36 ^a	78,33 $\pm$ 5,55 ^a
2	116,33 $\pm$ 7,48 ^c	132,23 $\pm$ 11,30 ^{c,*}
3	129,99 $\pm$ 10,32 ^d	151,94 $\pm$ 13,48 ^{d,*}
4	78,71 $\pm$ 8,01 ^a	81,45 $\pm$ 6,77 ^a
5	93,00 $\pm$ 6,72 ^b	111,06 $\pm$ 9,98 ^{b,*}
6	96,90 $\pm$ 8,24 ^b	115,23 $\pm$ 12,25 ^{b,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç GST aktivitesinin herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi ($p > 0,05$). Ayrıca yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç GST aktivitelerinde 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık gözlemlenmedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde solungaç GST aktivitesinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) daha yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde solungaç GST aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki solungaç GST aktivitesi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

GSH Düzeyindeki Değişimler

Deneyisel grupların karaciğer GSH düzeylerindeki değişimler Tablo 4.13' de sunulmuştur.

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) karaciğer GSH düzeylerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu saptandı ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) karaciğer GSH düzeylerinin arttığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer GSH düzeyinde anlamlı bir artış belirlendi ($p < 0,05$). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) karaciğer GSH düzeyi 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık göstermedi ($p > 0,05$).

Tablo 4.13. Deneyisel grupların karaciğer GSH düzeyleri ($\mu\text{mol/mg}$ protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	$92,14 \pm 5,41^d$	$90,73 \pm 6,88^d$
2	$60,63 \pm 6,53^b$	$48,55 \pm 4,30^{b,*}$
3	$47,20 \pm 8,26^a$	$32,93 \pm 7,30^{a,*}$
4	$113,81 \pm 7,45^e$	$116,49 \pm 5,83^e$
5	$76,47 \pm 4,39^c$	$61,33 \pm 6,23^{c,*}$
6	$77,98 \pm 5,74^c$	$59,91 \pm 3,96^{c,*}$

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde karaciğer GSH düzeyinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) daha düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde karaciğer GSH düzeyinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki karaciğer GSH düzeyi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu ($p < 0,05$).

Deneyisel grupların böbrek GSH düzeylerindeki değişimler Tablo 4.14' de gösterilmiştir.

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) göre bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) böbrek GSH düzeylerinin azaldığı belirlendi ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplarla (Grup 2 ve Grup 3) karşılaştırıldığında, bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) böbrek GSH düzeylerinin arttığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) böbrek GSH düzeyinin, kontrol grubundan (Grup 1) daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0,05$). Ancak yalnız

polen uygulanan grubun (Grup 4), 7. ve 14. günde ki böbrek GSH düzeyleri arasında herhangi bir farklılık gözlemlenmedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 3) böbrek GSH düzeyinin, 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan grubun (Grup 2) böbrek GSH düzeyinden daha düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Tablo 4.14. Deneyisel grupların böbrek GSH düzeyleri ($\mu\text{mol/mg}$ protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	66,24 $\pm$ 3,94 ^d	65,47 $\pm$ 4,47 ^d
2	47,01 $\pm$ 5,10 ^b	35,67 $\pm$ 6,17 ^{b,*}
3	35,27 $\pm$ 5,26 ^a	27,06 $\pm$ 4,44 ^{a,*}
4	78,13 $\pm$ 7,30 ^e	80,24 $\pm$ 8,12 ^e
5	55,11 $\pm$ 4,14 ^c	46,20 $\pm$ 6,02 ^{c,*}
6	56,29 $\pm$ 3,88 ^c	45,59 $\pm$ 5,77 ^{c,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde böbrek GSH düzeyinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. günde ki böbrek GSH düzeyi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu ($p < 0,05$).

Deneyisel grupların solungaç GSH düzeylerindeki değişimler Tablo 4.15' de verilmiştir.

Tablo 4.15. Deneyisel grupların solungaç GSH düzeyleri ($\mu\text{mol/mg}$ protein)

Gruplar	7. gün	14. gün
1	41,26 $\pm$ 3,19 ^d	42,05 $\pm$ 3,33 ^d
2	26,17 $\pm$ 4,22 ^b	20,01 $\pm$ 3,52 ^{b,*}
3	19,81 $\pm$ 2,57 ^a	12,17 $\pm$ 4,28 ^{a,*}
4	49,40 $\pm$ 6,16 ^e	50,21 $\pm$ 4,87 ^e
5	34,66 $\pm$ 4,19 ^c	23,17 $\pm$ 3,26 ^{c,*}
6	33,41 $\pm$ 3,97 ^c	24,08 $\pm$ 3,48 ^{c,*}

Grup 1: Kontrol; Grup 2: 0,5 mg/L bakır sülfat; Grup 3: 1 mg/L bakır sülfat; Grup 4: 5 mg polen; Grup 5: 0,5 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen; Grup 6: 1 mg/L bakır sülfat ve 5 mg polen. ^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$). * İstatistiksel olarak aynı grupta 7. günden farkı gösterir ($p < 0,05$).

Çalışmanın 7. ve 14. günlerinde bakır sülfat uygulanan grupların (Grup 2 ve Grup 3) solungaç GSH düzeylerinin kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara (Grup 2 ve Grup 3) kıyasla bakır sülfatla eş zamanlı polen uygulanan grupların (Grup 5 ve Grup 6) solungaç GSH düzeylerinin arttığı ($p < 0,05$), ancak yine de kontrol grubundan (Grup 1) daha düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,05$).

Denemenin 7. ve 14. günlerinde kontrol grubuna (Grup 1) kıyasla yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç GSH düzeyinin yükseldiği görüldü ($p > 0,05$). Ancak yalnız polen uygulanan grubun (Grup 4) solungaç GSH düzeylerinde 7. ve 14. günlerde herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$).

Yalnız bakır sülfat uygulanan deneme grupları (Grup 2 ve Grup 3) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın hem 7., hem de 14. gününde solungaç GSH düzeyinin, 1 mg/L bakır sülfat uygulanan grupta (Grup 3) 0,5 mg/L bakır sülfat uygulanan gruptan (Grup 2) düşük olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Bakır sülfatla eşzamanlı polen uygulanan deneme grupları (Grup 5 ve Grup 6) kendi içerisinde karşılaştırıldığında çalışmanın 7. ve 14. günlerinde solungaç GSH düzeyinde istatistiksel herhangi bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$). Ancak 14. gündeki solungaç GSH düzeyi her iki grupta da (Grup 5 ve 6) 7. günden daha düşük bulundu ($p < 0,05$).

Diğer omurgalılarda olduğu gibi balıklarda da en önemli antioksidan enzimler, hidrojen peroksid (H_2O_2)' i temizleyen CAT, süperoksid radikali ($O_2^{\cdot-}$)' ni yok eden SOD, H_2O_2 ve lipid hidroperoksitleri temizleyen GSH-Px ile glutatyona bağlı diğer enzimlerdir [53,54]. Öte yandan enzimatik özellik göstermeyen fakat çok önemli bir antioksidan olan tripeptit karakterdeki GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasardan korumaktadır. Ayrıca glutatyona bağlı enzimlerin fonksiyonları için de mutlaka gerekli olan GSH, protein yapısındaki sülfhidril gruplarını indirgenmiş halde tutarak protein ve enzimlerin birçoğunun inaktive olmasını engellemektedir [55]. Örneğin ancak GSH' ın varlığında GSH-Px H_2O_2 'yi suya dönüştürebilmektedir. Bu reaksiyonda GSH okside glutatyon (GSSG) formuna dönüşmektedir. Ksenobiyotiklerin ve endojen bileşiklerin detoksifikasyonu ve biyotransformasyonunda rol alan ve GSH ile elektrofilik gruplar taşıyan bileşikler arasındaki konjugasyonu katalizleyen GST, çok fonksiyonlu faz II enzim ailesinin bir üyesidir [56]. 0,1, 0,5, 1 ve 1,5 ppm konsantrasyonlarında bakır sülfat pentahidrat formunda bakır uygulanan *Carassius auratus* türü balıklarda uygulamadan 24 saat sonra karaciğer dokusundaki CAT, GSH-Px ve GST aktivitesi ile GSH düzeyinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca bu azalma konsantrasyondaki artışla doğru orantılı bulunmuştur [45]. Varó vd. [57], 0, 0,25, 0,5 ve 1,5 mg/L konsantrasyonlarında ve 24 saat banyo tarzında uygulanan bakır sülfatın ortalama ağırlığı 0,27 g olan çipura (*Sparus aurata*) yavrularının solungaç GST aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artışa yol açtığını belirlemiştir. Paris-Palacios vd. [58] 40 ve 140 μ g/L konsantrasyonlarında ve 14 gün boyunca banyo yoluyla uygulanan bakır sülfatın zebra balıklarının hepatik dokusunda CAT ve GST aktiviteleri ile glutatyon içeriğinde artışa yol açtığını gözlemlemiştir. Diğer bir çalışmada ise

Dautremepuits vd. [59], bakır ile kitosan uygulanan çalışmasında 0,1 ve 0,25 mg/L konsantrasyonlarında yalnız bakır uygulanan grupların ön böbrek ve karaciğer GST ve CAT aktivitesinde doz, süre ve dokuya bağlı olarak hem artma hem de azalma belirlemiştir. Bakır sülfatın muhtemel toksik etkilerine karşı polenin koruyuculuğunun araştırıldığı bu çalışmada ise yalnız bakır sülfat uygulanan gruplarda karaciğer, böbrek ve solungaç dokusundaki CAT ve GSH-Px aktiviteleri ile GSH düzeylerinin azaldığı, GST enzim aktivitelerinin arttığı görülmüştür. Bu sonuç yukarıda açıklanan çalışmalardan elde edilen sonuçlardan bazıları ile uyumlu iken bazıları ile tezat oluşturmaktadır. Bu çalışma ve bazıları yukarıda açıklanan araştırmalardan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar deney hayvanının türü, incelenen dokulardaki farklılıklar, bakırın uygulanan formu ve uygulama yöntemi, bakırın uygulanan miktarı ve uygulama süresi ile açıklanabilir. Ayrıca bu çalışmada yalnız bakır uygulanan grupların doku GST aktivitelerinde belirlenen artış, bakırın toksik etkisine bağlı olarak bir detoksifikasyon enzimi olan GST' nin yüksek aktivite göstermesiyle ilgili olabilir.

Bu çalışmada yalnızca polenin uygulandığı grubun karaciğer, böbrek ve solungaç dokusundaki CAT ve GSH-Px aktivitesi ile GSH düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak bu artış GST aktivitesinde önemsiz bulunmuştur. Dastan vd. [50] polen uygulamasıyla alabalıklarda total antioksidan kapasitenin (TAS) artması neticesinde total oksidan kapasitenin (TOS) düştüğünü, yine polenin karaciğer, dalak ve kalp dokusundaki total serbest sülfirid düzeylerini arttırdığını belirlemişlerdir. Alabalıklarda yapılan başka bir çalışmada ise 21 gün süreyle % 1, 2 ve 4 oranında oral yolla uygulanan polenin karaciğer, böbrek ve dalak GSH düzeyleri ile GSH-Px aktivitelerini istatistiksel olarak arttırdığı, GST aktivitelerinde ise önemli herhangi bir farklılığa yol açmadığı ifade edilmiştir [51]. *Rhamdia quelen* türü balıklarda 0,5 mg/L konsantrasyonundaki polenin karaciğer GST aktivitesini arttırdığı, böbrek GST aktivitesini düşürdüğü, beyin dokusundaki GST aktivitesini ise etkilemediği, her üç dokudaki GSH düzeyinin ise kontrol grubundan herhangi bir farklılık göstermediği belirlenmiştir [60]. Araştırmacının [60] elde ettiği sonuç bu araştırmadan elde edilen sonuçla farklılık göstermektedir. Bu farklılık balığın türü, polenin uygulama dozu, süresi ve yöntemi ile ilgili olabilir.

Diğer taraftan bu çalışmada yalnız bakır sülfat uygulanan gruplardaki balıkların CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri ile GSH düzeylerinin azaldığı görülmüştür. Fakat bakır sülfat ile eş zamanlı olarak polen uygulanan deneme gruplarının incelenen tüm dokularında CAT ve GSH-Px aktiviteleri ile GSH düzeylerinin istatistiksel olarak arttığı ancak bu değerlerin yine de kontrol grubundan düşük olduğu saptanmıştır. Bu sonuç polenin yapısında bulunan fenolik maddeler sayesinde dokulardaki antioksidan kapasitenin artmasıyla açıklanabilir [61]. Ayrıca bakırın neden olduğu dokulardaki yüksek GST aktivitesinin polen uygulamasıyla düşmesinin nedeni, polenin güçlü radikal temizleyici özelliğine bağlı olarak bu enzimin düşük aktivite göstermesi olabilir.

5. SONUÇLAR

- 1) 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonunda yalnızca bakır sülfat uygulanan gruptaki balıkların incelenen dokularında oksidatif stresin bir göstergesi olarak doku MDA düzeylerinin arttığı dolayısıyla bakır sülfatın oksidatif strese yol açtığı görülmüştür.
- 2) 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonunda yalnızca bakır sülfat uygulanan gruptaki balıkların, doku CAT ve GSH-Px aktiviteleri ile GSH düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca GST enzim aktivitesinin bu gruplarda arttığı belirlenmiştir. Bu sonuç bakır sülfatın toksik olduğunu göstermektedir.
- 3) 5 mg/kg balık dozunda yalnızca polen enjekte edilen gruptaki balıkların dokularında incelenen oksidan/antioksidan parametrelere bakıldığında oksidatif stresin azaldığı, antioksidan kapasitenin arttığı tespit edilmiştir.
- 4) Bakır sülfatla eş zamanlı olarak polen uygulanan gruplarda, yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara göre MDA değerlerinin azaldığı ve kontrol grubuna yaklaştığı saptanmıştır. Polen uygulamasıyla bakır sülfatın yol açtığı oksidatif stres kısmen önlenmiştir.
- 5) Bakır sülfatla eş zamanlı olarak polen uygulanan gruplarda, yalnız bakır sülfat uygulanan gruplara göre doku CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri ile GSH düzeylerinin arttığı, GST enzim aktivitesinin ise azaldığı tespit edilmiştir. Antioksidan parametrelerden elde edilen sonuçlar polen uygulamasıyla antioksidan etkinliğin arttığını ve bakır sülfatın neden olduğu toksik etkinin polenle iyileştirilebileceğini göstermiştir.

ÖNERİLER

- 1) Deneme sonuna kadar enjeksiyonla polen verilen balıklarda herhangi bir ölüm olayının gerçekleşmemiş olması nedeniyle bu madde güvenle kullanılabilir.
- 2) Yalnız polen uygulaması oksidatif stresi azalttığı ve antioksidan kapasiteyi arttırdığı için bu madde antioksidan olarak kullanılabilir.
- 3) Bakır sülfat formunda bakır uygulamasının yol açtığı oksidatif stres polen kullanılarak önlenebilir.
- 4) Elde edilen sonuçlar başka çalışmalarla da desteklenmelidir. Bakır toksisitesine göre Başka deneysel canlı türlerinde farklı doz ve sürelerde ve farklı yöntemlerle polen uygulamasının sonuçlarına ihtiyaç olduğu görülmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] Kuzu, N. (2010). *Erzurum İlindeki Bazı İşletmelerde Üretilen Alabalıkların Ağır Metal Yönünden İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi.
- [2] Kablan, B. (2018). *Klinoptilolit Cyprinus carpio'nun Doku ve Organlarındaki Bakır Birikimi Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi.
- [3] Erkmen, O. (2019). *Bakır Madenlerinde Çalışan İşçilerin Kanlarındaki Bakır Konsantrasyonunun Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi.
- [4] Özbolat, G. ve Tuli, A. (2016). Ağır Metal Toksisitesinin İnsan Sağlığına Etkileri, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(4), 502-521. doi:10.17827/aktd.253562.
- [5] Gövercin, İ. (2010). *İzmir İlinde Sütlerde Bazı Ağır Metal (Kurşun, Kadmiyum, Arsenik, Civa, Bakır, Çinko) düzeylerinin belirlenmesi*, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi.
- [6] Güllüoğlu, H. (2018). *Bakır Sülfat Toksisitesi Oluşturulan Ratlarda Krisin ve Flunixin Megluminin Yem Tüketimi, Canlı Ağırlık, Antioksidan Durum, Bazı Kan ve Yangı Parametreleri Üzerine Etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi.
- [7] Çankaya, N., Korkmaz, A. (2008). *Polen*. Samsun İl Tarım Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi Yayını, Samsun.
- [8] Yang, X., Guo, D., Zhang, J., Wu, M. (2007). Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide, *International Immunopharmacology*, 7(3), 401-408. doi: 10.1016/j.intimp.2006.11.001
- [9] Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S. (2009). Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 86-91. doi: 10.1016/j.fct.2008.10.013
- [10] Xu, X., Sun, L., Dong, J., Zhang, H. (2009). Breaking the cells of rape bee pollen and consecutive extraction of functional oil with superficial carbon dioxide, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 42-46. doi: 10.1016/j.ifset.2008.08.004
- [11] Abbass, A.A., El-Asely, A.M., Kandiel, M.M.M. (2012). Effects of Dietary Propolis and Pollen on Growth Performance, Fecundity and Some Hematological Parameters of *Oreochromis niloticus*, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12, 851-859. doi: 10.4194/1303-2712-v12_4_13
- [12] Canpolat, G. (2016). *Oksitli Bakır Cevherlerinden Bakırın Değerlendirilmesi*, Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi.
- [13] Arda, M., Seçer, S., Sarıeyyüpoğlu, M. (2017). *Balık Hastalıkları*, 3. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
- [14] Pak, F. (2019). *Farklı Konsantrasyonlarda Kadmiyum ve Bakır İyonlarına Maruz Bırakılan Sarıağız Balığının (Argyrosomus regius) Bazı Dokularındaki Antioksidant Enzim Aktivitelerinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi.
- [15] Gülhan, M.F. (2014). *Nitrik Oksit Sentaz Blokağı ile Hipertansiyon Oluşturulan Sıçanlarda Propolis, Cape ve Polen'in Kan Basıncı, Adma, Nf-Kb ve Paraoksanaz Düzeylerine Etkileri*, Doktora Tezi, Niğde Üniversitesi.
- [16] Fişne, A. (2016). *Trabzon Yöresi Ballarında Polen Analizi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi.
- [17] Tümerdem, Ç. (2016). *Beyazarı Ballarında Polen Analizi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi.

- [18] Sies H. ve Cadenas, E. (1985). Oxidative stress: damage to intact cells and organs, *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, 311, 617–631. doi: 10.1098/rstb.1985.0168
- [19] Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress, *Biochemical Society Transactions*, 35, 1147-1150. doi: 10.1042/bst0351147
- [20] Lushchak, V.I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification, *Chemico-Biological Interactions*, 224, 164-75. doi: 10.1016/j.cbi.2014.10.016
- [21] Cheeseman, K.H. ve Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry, *British Medical Bulletin*, 49, 481-493. doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625
- [22] Benzer, F. (2001). *Fasciola Hepatica ile Enfekte Koyunların Kan ve Karaciğer Dokularında Arginaz, Nitrik Oksit, Bazı Antioksidant Enzimler ve Lipid Peroksidasyon Düzeyleri ile Karaciğer Arginaz Enziminin Biyokimyasal Özellikleri*, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi.
- [23] Lopez-Alarcona, C. ve Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays, *Analytica Chimica Acta*, 763, 1-10. doi: 10.1016/j.aca.2012.11.051
- [24] Pisoschi, A.M. ve Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74. doi:10.1016/j.ejmech.2015.04.040
- [25] Percival, M. (1998). Antioxidants, *Clinical Nutrition Insights*, 10, 1-4
- [26] Ayala A, Munoz MF, Argüelles S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 360438, 31 pages. doi: 10.1155/2014/360438.
- [27] Köse, K. ve Doğan, P. (1992). Lipid Peroksidasyonu, *Erciyes Tıp Dergisi*, Prof. Dr. Ahmet Bilge Ek sayısı, 340-350.
- [28] Akkuş, İ. (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, Mimoza Yayınevi, Konya.
- [29] Yanbeyi, S. (1999). *Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri*, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi.
- [30] Dikici, İ. (1999). *Akut Viral Hepatitlerle İnterferon Tedavisi Görmüş Kronik Viral Hepatitlerde Oksidatif Stresin Araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi.
- [31] Frankel, E.N. ve Neff, W.E. (1983). Formation of malonaldehyde from lipid oxidation products, *Biochimica et Biophysica Acta*, 754(3), 264-270.
- [32] Morales, A.E., Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. and Gabriel C.G. (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver, *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 139(1-3), 153-161. doi: 10.1016/j.cca.2004.10.008
- [33] Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Christopher, J., Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266(1-2), 37-56. doi:10.1023/b:mcbi.0000049134.69131.89
- [34] Kaya, E. (2005). *Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi.
- [35] Yonar, M.E., Mişe Yonar, S., Silici, S. (2011). Protective effect of propolis against oxidative stress and immunosuppression induced by oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.), *Fish and Shellfish Immunology*, 31, 318-325. doi: 10.1016/j.fsi.2011.05.019
- [36] Ighodaro, O.M. ve Akinloye, O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire

- antioxidant defence grid, *Alexandria Journal of Medicine*, 54, 287-293. doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001
- [37] Placer, Z.A. Cushman, L., Johnson, B.C. (1966). Estimation of products of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biological fluids, *Analytical Biochemistry*, 16, 359-364. doi: 10.1016/0003-2697(66)90167-9.
- [38] Aebi, H. (1983). *Catalase*, Methods in Enzymatic Analysis (Ed: Bergmeyer, H.U.), Academic Press, New York, pp. 276-286.
- [39] Beutler, E. (1975). *Red cell metabolism*. A Manual of Biochemical Methods (Ed: Beutler, E.), Grune Strottan, New York, pp. 67-69.
- [40] Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *The Journal of Biological Chemistry*, 249 (22), 7130-7139.
- [41] Ellman, G.L. (1959). Tissue sulphhydryl groups, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70-77. doi: 10.1016/0003-9861(59)90090-6
- [42] Lowry, O.H., Rosenberough, N.J., Farr, A.L., Randal, R.J. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent, *Journal of Biochemistry*, 193, 265-275.
- [43] Fontagné, S., Bazin, D., Brèque, J., Vachot, C., Bernarde, C., Rouault, T., Bergot, P. (2006). Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae, *Aquaculture*, 257, 400-411. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.01.025
- [44] Roméo, M., Bennani, N., Gnassia-Barelli, M., Lafaurie, M., Girard, J.P. (2000) Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*, *Aquatic Toxicology*, 48,185-194. doi: 10.1016/s0166-445x(99)00039-9
- [45] Trivedi, M.H., Sangai, N.P., Renuka, A. (2012). Assessment of toxicity of copper sulphate pentahydrate on oxidative stress indicators on liver of goldfish (*Carassius auratus*), *Bulletin of Environmental Pharmacological and Life Science*, 1(9),52-57.
- [46] Ozcelik, D. ve Uzun, H. (2009). Copper Intoxication; antioxidant defences and oxidative damage in rat brain, *Biological Trace Element Research*, 127, 45-52. doi: 10.1007/s12011-008-8219-3
- [47] Zhang, S.Z., Noordin, M.M., Rahman, S.O.A., Haron, M.J. (2000). Effects of copper overload on hepatic lipid peroxidation and antioxidant defense in rats, *Veterinary and Human Toxicology*, 42, 261-264.
- [48] Dillard, C.J., Tappel, A.L. (1984). Lipid peroxidation and copper toxicity in rats, *Drug and Chemical Toxicology*, 7, 447-487. doi: 10.3109/01480548408994214
- [49] Waggoner, D., Bratnikas, T., Gitlin, J. (1999). The role of copper in neurodegenerative disease, *Neurobiology of Disease*, 6, 221-230. doi: 10.1006/nbdi.1999.0250
- [50] Dastan, S.D., Gulhan, M.F., Selamoglu, Z., Dastan, T. (2017). The determination of different effective concentration of ethanolic extract of bee pollen on biochemical analysis in liver, spleen and heart tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(1), 326-340.
- [51] Yöntürk, Y. (2017). *Gökkuşluğu Alabalığı (Oncorhynchus mykiss, W.)' nda Arı Poleninin Antioksidan ve İmmunostimulan Etkisinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi.
- [52] Safi, A.E. (2021). *Gökkuşluğu Alabalığında (Oncorhynchus mykiss) Oksitetrasiklin ile İndüklenen Toksisiteye Karşı Polenin Koruyuculuğu*, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi.
- [53] Storey, K.B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature, *Brazilian Journal of Medical and Biological Reserach*, 29, 1715-1733.

- [54] Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiological Reviews*, 82, 47-95. doi: 10.1152/physrev.00018.2001
- [55] Hayes, J.D. ve McLellan, L.I. (1999). Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress, *Free Radical Research*, 31, 273-300. doi: 10.1080/10715769900300851
- [56] Hamed, R.R., Farid, N.M., Elowa, S.H.E., Abdalla, A.M. (2003). Glutathione related enzyme levels of freshwater fish as bioindicators of pollution, *The Environmentalist*, 23, 313–322. doi: 10.1023/B:ENVR.0000031409.09024.cc
- [57] Varó, I., Nunes, B., Amat, F., Torreblanca, A., Guilhermino, L., Navarro, J.C. (2007). Effect of sublethal concentrations of copper sulphate on seabream *Sparus aurata* fingerlings, *Aquatic Living Resources*, 20, 263-270. doi: 10.1051/alr:2007039
- [58] Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S., Vernet, G. (2000). Biochemical and (ultra)structural hepatic perturbations of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) exposed to two sublethal concentrations of copper sulfate, *Aquatic Toxicology*, 50, 109-124. doi: 10.1016/s0166-445x(99)00090-9
- [59] Dautremepuits, C., Betoulle, S., Vernet, G. (2002). Antioxidant response modulated by copper in healthy or parasitized carp (*Cyprinus carpio* L.) by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda), *Biochimica et Biophysica Acta*, 1573,4-8. doi: 10.1016/s0304-4165(02)00328-8
- [60] Ferreira, D., Unfer, T.C., Rocha, H.C., Kreutz, L.C., Gessi Koakoski, G., Barcellos, L.J.G. (2012). Antioxidant activity of bee products added to water in tebuconazole-exposed fish, *Neotropical Ichthyology*, 10(1), 215-220. doi: 10.1590/S1679-62252012000100021
- [61] Leja, M., Mareczek, A., Wyżgolik, G., Klepacz-Baniak, J., Czekońska, K. (2007). Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species, *Food Chemistry*, 100 (1), 237-240. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.09.047

ÖZGEÇMİŞ

Şule Yüksel YONAR
