

Tilapia nilotica'da Kadmiyum Birikiminin Total Protein Düzeyine Etkisi

Mustafa KALAY

Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yenişehir Kampüsü, Mersin - TÜRKİYE

Cahit ERDEM

Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Balcalı Kampüsü, Adana - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 21.06.2002

Özet: Bu çalışmada *Tilapia nilotica*'nın farklı dokularındaki kadmiyum birikim düzeyi ve bu birikimin karaciğer ve böbrek dokularındaki total protein derişimine etkisi incelenmiştir.

Belirlenen deney sürelerinin sonunda diseke edilen solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki kadmiyum derişimi perkin elmer 3100 marka atomik absorpsiyon spektrofotometresi yardımı ile belirlenmiştir. Total protein derişimi belirlenecek olan karaciğer ve böbrek doku örnekleri homojenize edilmişlerdir. Doku homojenatındaki total protein derişimi Lowry Yöntemi ile belirlenmiştir.

Kadmiyum solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında yüksek düzeyde birikmiştir. Kadmiyum öncelikle metallothionein (MT) sentez kapasitesi yüksek olan karaciğer dokusunda birikmekle birlikte, deney süresine bağlı olarak en fazla böbrek dokusunda yoğunlaşmıştır.

Karaciğer ve böbrek dokularında kadmiyum birikim düzeyine bağlı olarak total protein derişimi artış göstermiştir. Ancak, önceki sürele göre 60. günde bu dokulardaki kadmiyum ve total protein derişimi bir miktar düşüş göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Kadmiyum, birikim, *Tilapia nilotica*, total protein

Effect of Cadmium Accumulation on Total Protein Levels in *Tilapia nilotica*

Abstract: The aim of the present study was to determine the accumulation of cadmium in different tissues of *Tilapia nilotica* and to establish the influence of this accumulation on total protein levels in liver and kidney tissues.

At the end of each experimental period; gill, liver and kidney tissues from the animals were dissected and their cadmium accumulation was determined using atomic absorption spectrophotometry. Liver and kidney tissues were homogenised to determine total protein levels. The protein contents of the tissue homogenates were determined by the Lowry method.

Cadmium accumulation was higher in the gill, liver and kidney tissues. Cadmium primarily accumulated in liver tissue where metalloproteins (MT) are synthesised, while accumulation in kidney tissue exceeded the liver levels with increasing exposure periods.

The total protein levels of the liver and kidney tissues rose with increasing cadmium accumulation. The cadmium accumulation and total protein levels decreased, however, on day 60 compared with the previous periods.

Key Words: Cadmium, accumulation, *Tilapia nilotica*, total protein

Giriş

Günümüzde çevreye verilen toksik maddelerin önemli bir kısmını ağır metaller oluşturmaktadır. Kentlerden ve özellikle de ilgili endüstri kuruluşlarından çevreye yayılan ağır metaller yaşam ortamlarında ve canlılarda birikerek kirliliğe neden olmaktadır (1).

Su, ağır metallerin taşınmasında ve dağılımında önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla ağır metaller öncelikle sucul formlarda birikerek besin zinciri yolu ile üst trofik düzeylere taşınmaktadır (2). Canlılar için esansiyel

olmayan kadmiyumun sucul canlılardaki birikimi ve bu birikime bağlı olarak fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde meydana getirdiği değişiklikler ile ilgili araştırmalar devam etmektedir (3-5).

Sudaki kadmiyum balıkların vücut yüzeyi ve solungaçları ile etkileştikten sonra diğer dokulara geçmektedir (6,7). Doğada ve laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalar sonucu kadmiyumun en çok solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında biriktiği saptanmıştır (8,9). Örneğin; *Salmo gairdneri*'de biriken toplam

kadmiyumun önemli bir kısmı bu dokularda ölçülmüştür (10).

Karaciğer dokusu, ağır metallerin taşınmasında ve detoksifikasyonunda görev yapan metallothionein (MT) ve benzeri proteinlerin başlıca sentez yerlerinden biri olduğundan (11,12) kadmiyum detoksifikasyonundaki işlevi oldukça önemlidir. Ancak kadmiyum birikim düzeyi bakımından, özellikle kronik çalışmalarda, karaciğer dokusuna göre birikimin en fazla böbrek dokusunda olduğu belirlenmiştir (13,14).

Kadmiyum, civa ve kurşun gibi biyolojik işlevi olmayan ağır metaller organizmaya alındığında veya esansiyel elementlerin organizmadaki derişimi metabolik gereksinimi aştığında MT sentezi artmaktadır (12,15,16). MT ve MT dışı düşük molekül ağırlıklı proteinlerin sentez düzeyine bağlı olarak öncelikle metabolik aktivitesi yüksek olan dokuların total protein düzeyinde değişim olduğu bilinmektedir (5,17,18).

Bu araştırma; Dünya'nın uygun iklim kuşaklarında bulunan bir çok ülkesinde yetiştiriciliği yaygın olarak yapılmakta olan, *Cichlidae* familyasına ait türlerden, *T. nilotica*'nın farklı dokularında biriken kadmiyumun karaciğer ve böbrek dokularındaki total protein düzeyine etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, $19,78 \pm 0,99$ (17,2 – 26,4) cm boy ve $71,16 \pm 4,22$ (58 – 82) g ağırlığa sahip *T. nilotica* türü balıklar kullanılmıştır. Deneyler süresince laboratuvar 25 ± 1 °C sıcaklıkta tutulmuştur. Balıklar vücut ağırlıklarının % 3'ü düzeyinde, yapılan analizler sonucu kadmiyum içermediği belirlenmiş olan, hazır balık yemi ile beslenmişlerdir. Deneylerde kullanılan suyun bazı kimyasal özellikleri aşağıdaki gibidir;

Toplam sertlik: $277,07 \pm 2,87$ ppm CaCO_3

pH: $8,05 \pm 0,06$

Çözünmüş O_2 : $7,58 \pm 0,13$

Belirlenen 1, 15, 30, 45 ve 60 günlük deney süreleri dikkate alınarak deneyler beş seri halinde yürütülmüştür. Her seride 40 x 120 x 40 cm boyutlarında, cam bölmelerle üç göze ayrılmış, altı akvaryum kullanılmıştır. Bir seride bulunan altı akvaryumun ilk beşine 0,01, 0,05, 0,1, 0,5 ve 1,0 ppm'lik yüzer litre kadmiyum çözeltisi, son akvaryuma ise kontrol grubu olarak çeşme suyu

konulmuştur. Akvaryumların cam bölmelerle üç göze ayrılması sonucu herbir derişimin üç tekrarlı olması sağlanmış olup, her tekrarda iki balık kullanılmıştır. Böylece üç göze ayrılmış bir akvaryumda 6 balık, kontrol grubu ile birlikte 6 farklı derişim çalışıldığından bir seri deneyde 36 balık, deneyler 5 seri halinde yürütüldüğünden bu çalışmada toplam 180 balık kullanılmıştır. Deney ortamındaki kadmiyum derişimini belli bir düzeyde tutmak amacıyla, deney çözeltileri iki günde bir kadmiyum klorürden ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -Merck) taze olarak hazırlanan stok çözeltiden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir.

Belirlenen deney süreleri sonunda, akvaryumlardan çıkartılan balıklar MS-222 (Etil ester 3 - amino benzoik asit) içeren çözeltiye alınarak bayıltılmışlardır (19). Bayıltılan balıkların solungaç, karaciğer ve böbrek dokuları diseke edilmişlerdir. Solungaç örnekleri kadmiyum analizinde kullanılırken; karaciğer ve böbrek doku örnekleri iki kısma ayrılmış bir kısmı kadmiyum analizinde, bir kısmı ise total protein derişimini belirlemede kullanılmıştır.

Total protein düzeyi belirlenecek olan karaciğer ve böbrek doku örnekleri yaş ağırlıkları saptandıktan sonra 0,3 M sukroz (Merck) çözeltisi içerisinde Ultra - Turax T-25 homojenizatör ile 5 dakika homojenize edilmişlerdir (24.000 dev./dk.). Daha sonra homojenat 10 dakika süre ile santrifüjlenmiştir (3000 dev./dk.). Homojenattaki total protein derişimi Lowry Metodu ile belirlenmiştir (20).

Kadmiyum derişimini belirlemek amacıyla diseke edilen doku örnekleri, 110 °C sıcaklığa ayarlı etüvde sabit tartıma gelinceye kadar tutulduktan sonra kuru ağırlıkları saptanarak yakma tüplerine aktarılmışlardır. Yaş yakma yöntemi (21) ile hazırlanan örneklerin kadmiyum analizlerinde atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Perkin Elmer 3100) kullanılmıştır. Deney verilerinin istatistik analizleri "Regresyon Analizi" ve "Student Newman Keul's Test (SNK)" kullanılarak yapılmıştır (22).

Bulgular

Solungaç dokusundaki kadmiyum birikimi, ortam derişimine ve etkide kalma süresine bağlı olarak değişmiştir. Ancak 0,01 ppm ortam derişiminde kadmiyum birikim düzeyi bakımından tüm deney süreleri arasında istatistik fark yoktur. Buna karşın 0,5 ve 1,0 ppm ortam derişimlerinde deney süresine bağlı olarak metal birikim düzeyi belirgin olarak artmış olup, tüm

deney süreleri arasında istatistik fark gösterecek düzeydedir. Bir günlük deney süresinin sonunda, diğer ortam derişimlerine göre, 0,5 ve 1,0 ppm ortam derişimlerinde solungaç dokusu kadmiyum düzeyi oldukça yüksektir. Altmış günlük sürenin sonunda solungaç kadmiyum düzeyi, özellikle 0,5 ve 1,0 ppm ortam derişimlerinde en yüksek değere ulaşmıştır. Bu sürede tüm ortam derişimleri arasında istatistik fark bulunmaktadır (Tablo 1).

Karaciğer dokusunda kadmiyum birikim düzeyi 0,01, 0,05 ve 0,1 ppm ortam derişimlerinde 45. günden

itibaren, 0,5 ve 1,0 ppm ortam derişimlerinde ise 15. günden itibaren belirgin olarak artış göstermiştir. Dolayısıyla yüksek ortam derişimlerinde tüm süreler arasında istatistik fark bulunmasına karşın, 0,05 ortam derişiminde 1 ve 15 günlük süreler arasında, 0,1 ortam derişiminde ise 1, 15 ve 30 günlük süreler arasında istatistik fark bulunmamaktadır. Karaciğer dokusu için 1, 15 ve 30 günlük sürelerde 0,5 ve 1,0 ppm ortam derişimlerinde, 45 ve 60 günlük sürelerde ise tüm ortam derişimlerinde metal birikim düzeyi belirgin olarak artış göstermiştir (Tablo 2).

Tablo 1. *T. nilotica*'da kadmiyumun solungaç dokusundaki birikimi ($\mu\text{g Cd/g k.a.}$) üzerine ortam derişimi ve sürenin etkileri.

ORTAM DERİŞİMİ (ppm Cd)	SÜRE (Gün)									
	1		15		30		45		60	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0,00	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a
0,01	2,88 \pm 0,38	bx	4,39 \pm 0,20	bx	5,33 \pm 0,15	bx	4,45 \pm 0,74	bx	5,28 \pm 0,67	bx
0,05	3,41 \pm 0,26	bx	11,44 \pm 0,92	bt	10,16 \pm 0,86	bt	16,57 \pm 1,37	cv	16,30 \pm 0,90	cv
0,10	4,19 \pm 0,11	bx	24,46 \pm 3,56	ct	18,44 \pm 0,80	ct	50,31 \pm 4,95	dv	48,86 \pm 0,81	dv
0,50	6,97 \pm 0,59	cx	31,97 \pm 1,15	ct	43,26 \pm 2,33	dv	51,62 \pm 3,57	dv	62,15 \pm 2,99	ey
1,00	9,72 \pm 1,13	dx	24,49 \pm 1,91	ct	37,07 \pm 1,79	dv	56,26 \pm 3,23	dy	65,82 \pm 2,16	ez

* = SNK; a, b, c, d ve e derişimler; x, t, v, y ve z süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır.
Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $P < 0,01$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

$\bar{X} \pm S\bar{x}$ = Aritmetik ortalama \pm Standart hata

D.A. = Duyarlılık düzeyinin altında

Tablo 2. *T. nilotica*'da kadmiyumun karaciğer dokusundaki birikimi (mg Cd/g k.a.) üzerine ortam derişimi ve sürenin etkileri.

ORTAM DERİŞİMİ (ppm Cd)	SÜRE (Gün)									
	1		15		30		45		60	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0,00	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a
0,01	0,73 \pm 0,07	bx	1,65 \pm 0,12	bt	2,65 \pm 0,37	bv	4,59 \pm 0,15	by	4,55 \pm 0,08	by
0,05	0,85 \pm 0,01	bx	3,12 \pm 0,78	bx	9,00 \pm 0,54	bt	62,57 \pm 1,42	cv	39,98 \pm 1,37	cy
0,10	0,90 \pm 0,01	bx	8,11 \pm 0,65	bx	17,27 \pm 1,56	bx	116,77 \pm 3,32	dt	102,38 \pm 6,13	dt
0,50	2,12 \pm 0,06	cx	31,24 \pm 2,90	ct	178,17 \pm 5,61	cv	177,15 \pm 7,34	ev	198,14 \pm 6,94	ev
1,00	3,44 \pm 0,57	dx	55,90 \pm 2,58	dt	177,67 \pm 10,5	cv	216,02 \pm 13,0	fv	210,55 \pm 10,6	ev

Kısaltmalar Tablo 1 deki gibidir.

İncelenen diğer dokulara göre en yüksek düzeyde kadmiyum birikimi böbrek dokusunda olmuştur. 0,5 ve 1,0 ppm kadmiyum derişimlerinde birikim 30. günden itibaren çok yüksek düzeydedir. Diğer ortam derişimlerinde birikim düzeyi daha düşük olmakla birlikte, özellikle 45. ve 60. günlerde diğer süreler ile istatistik fark gösterecek düzeydedir. Bütün ortam derişimleri için bir önceki süre ile karşılaştırıldığında 60. günde kadmiyum birikim hızının yavaşladığı görülmüştür. Her bir sürede ortam derişimine bağlı olarak kadmiyum birikim düzeyi artış göstermiştir. Bu artış süreye bağlı olmakla birlikte özellikle 0,1, 0,5 ve 1,0 ppm ortam derişimlerinde çok yüksek düzeydedir. Bu ortam derişimleri arasındaki fark 45. ve 60. günlerde belirgindir (Tablo 3).

Karaciğer ve böbrek dokularının protein düzeyi ile ilgili veriler sırasıyla Tablo 4 ve Tablo 5'de verilmiştir. Her iki dokunun protein düzeyi, deney süresine bağlı olmakla birlikte kadmiyumun etkisinde artış göstermiştir. Bu dokular için süreye bağlı olarak artan protein düzeyinin 30. günden itibaren sabitleşmeye başlaması dikkat çekicidir. Karaciğer dokusu için 30, 45 ve 60 günlük sürelerde ortam derişiminin etkisi belirgin olup, kontrol grubu ile istatistik fark gösterecek düzeydedir. Böbrek dokusunda ise protein düzeyi, 15. günden itibaren kontrol grubu ile istatistik fark gösterecek düzeyde artış göstermiştir.

Tartışma

T. nilotica ile yapılan bu araştırmada, çalışılan kadmiyum ortam derişimleri 60 günlük deney süresinin

sonunda mortaliteye neden olmamışlardır. Karşılaştırmalı çalışmalarda da *Tilapia* türlerinin daha dirençli olduğu belirlenmiştir (23,24).

Ağır metallerin alınımı ve dokulardaki dağılımı; metale (21), metalin içinde bulunduğu suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerine (25,26) bağlı olmakla birlikte metabolik aktivitesi yüksek olan dokularda daha fazla birirmektedirler (14,27). *Cyprinus carpio* ve *Salmo gairdneri* ile yapılan çalışmalarda kadmiyum birikim düzeyi bakımından üç doku arasındaki ilişki sırasıyla böbrek > karaciğer > solungaç ve böbrek > solungaç > karaciğer şeklindedir (12,14). Bizim çalışmamız hem ortam derişimine ve etkide kalma süresine bağlı olarak dokulardaki kadmiyum birikiminin artması, hem de birikim düzeyi bakımından dokular arasındaki ilişki (böbrek > karaciğer > solungaç) bakımından daha önce yapılan çalışmalarla uyum göstermektedir.

Lameller yapısından dolayı solungaç dokusu geniş bir yüzey alanına sahiptir. Solungaç dokusuna geçiş aşamasında kadmiyumun kalmodulin, metallothionein, glutatyon, karbonik anhidraz, Ca-ATPaz ve Na,K-ATPaz molekülleri ile etkileştiği ifade edilmektedir (28). Kadmiyumun etkisinde klor hücrelerinde dejenerasyon olması ve kalsiyum kanallarını bloke eden ajanların kadmiyum alınımını düşürmesi (29), kadmiyum alınımının özellikle klor hücreleri boyunca kalsiyum taşıma sistemi yardımıyla olduğu düşüncesini (25) desteklemektedir.

Solungaç dokusunda kadmiyum birikimi, diğer dokulara oranla, daha erken başlamakla birlikte (30) deney süresine bağlı olarak giderek yavaşlamaktadır. *S. gairdneri* 9 ppb kadmiyumun etkisinde tutulduğunda

Tablo 3. *T. nilotica*'da kadmiyumun böbrek dokusundaki birikimi ($\mu\text{g Cd/g k.a.}$) üzerine ortam derişimi ve sürenin etkileri.

ORTAM DERİŞİMİ (ppm Cd)	SÜRE (Gün)									
	1		15		30		45		60	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0,00	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a
0,01	4,96 \pm 0,34	bx	5,98 \pm 0,17	bx	8,02 \pm 0,65	bt	16,35 \pm 0,43	bv	16,60 \pm 0,52	bv
0,05	4,63 \pm 0,30	bx	5,98 \pm 0,39	bx	31,37 \pm 0,52	bx	351,96 \pm 19,1	ct	286,75 \pm 15,6	cv
0,10	5,79 \pm 0,45	bx	38,20 \pm 1,98	cx	53,41 \pm 2,57	bx	577,26 \pm 26,8	dt	331,52 \pm 15,5	cv
0,50	4,35 \pm 0,14	bx	76,33 \pm 5,04	dx	692,59 \pm 27,7	ct	935,63 \pm 46,1	ev	778,25 \pm 75,8	dtv
1,00	5,62 \pm 0,66	bx	91,41 \pm 1,18	ex	792,33 \pm 56,7	ct	1223,02 \pm 29,2	fv	1410,86 \pm 75,8	ct

Kısaltmalar Tablo 1 deki gibidir.

Tablo 4. *T. nilotica*'da kadmiyum birikiminin karaciğer dokusu protein derişimine (m/g y.a.) etkisi.

ORTAM DERİŞİMİ (ppm Cd)	SÜRE (Gün)									
	1		15		30		45		60	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0,00	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a
0,00	36,81 ± 0,98	^{ax}	37,35 ± 2,04	^{ax}	32,12 ± 1,98	^{ax}	30,90 ± 1,10	^{ax}	30,59 ± 1,35	^{ax}
0,01	35,73 ± 1,45	^{ax}	38,36 ± 1,76	^{ax}	43,79 ± 0,89	^{bx}	37,63 ± 2,06	^{ax}	56,99 ± 1,47	^{bt}
0,05	40,34 ± 3,71	^{ax}	52,25 ± 2,47	^{bxt}	52,83 ± 2,16	^{bxt}	59,25 ± 1,26	^{bt}	51,32 ± 3,46	^{bxt}
0,10	45,94 ± 3,33	^{ax}	44,92 ± 1,23	^{abx}	69,96 ± 4,17	^{ct}	65,46 ± 1,53	^{b^{ct}}	51,40 ± 0,47	^{bx}
0,50	44,40 ± 0,96	^{ax}	46,12 ± 1,82	^{abx}	78,82 ± 1,34	^{ct}	75,06 ± 3,94	^{ct}	83,73 ± 0,59	^{ct}
1,00	47,04 ± 2,21	^{ax}	74,26 ± 2,00	^{ct}	77,13 ± 1,26	^{ct}	72,23 ± 0,90	^{ct}	68,97 ± 1,23	^{dt}

Kısaltmalar Tablo 1 deki gibidir.

Tablo 5. *T. nilotica*'da kadmiyum birikiminin böbrek dokusu protein derişimine (m/g y.a.) etkisi.

ORTAM DERİŞİMİ (ppm Cd)	SÜRE (Gün)									
	1		15		30		45		60	
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	*
0,00	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a	D.A.	a
0,00	43,05 ± 1,91	^{ax}	39,07 ± 2,93	^{ax}	36,81 ± 1,86	^{ax}	41,91 ± 2,32	^{ax}	45,34 ± 2,05	^{ax}
0,01	42,99 ± 3,06	^{ax}	65,90 ± 1,47	^{bt}	62,58 ± 0,82	^{bt}	65,36 ± 2,45	^{bt}	62,53 ± 3,00	^{at}
0,05	56,31 ± 3,47	^{ax}	71,32 ± 2,27	^{bt}	96,46 ± 4,75	^{cv}	96,76 ± 5,56	^{cv}	109,0 ± 7,92	^{bv}
0,10	51,73 ± 1,59	^{ax}	95,98 ± 8,97	^{ct}	111,9 ± 5,59	^{ct}	101,0 ± 4,05	^{ct}	108,9 ± 5,02	^{bt}
0,50	53,01 ± 3,33	^{ax}	105,4 ± 3,75	^{ct}	131,5 ± 3,56	^{dv}	90,11 ± 6,59	^{ct}	82,83 ± 3,06	^{ct}
1,00	49,02 ± 3,48	^{ax}	103,8 ± 3,11	^{ct}	96,20 ± 8,35	^{ct}	123,9 ± 5,27	^{dt}	61,06 ± 4,04	^{ax}

Kısaltmalar Tablo 1 deki gibidir.

başlangıçta toplam vücut yükünün % 40'ı düzeyinde olan solungaç dokusu kadmiyum derişimi, 12. haftanın sonunda % 10'a kadar düşüş göstermiştir (10). Bizim çalışmamızda solungaç dokusu kadmiyum birikim düzeyi, karaciğer ve böbrek dokularına göre, başlangıçtaki hızlı birikim fazından sonra giderek yavaşlamıştır. Bu durum 0,1, 0,5 ve 1,0 ppm ortam derişimlerinde 15. günden itibaren açıkça görülmektedir (Tablo 1). Karaciğer ve böbrek dokularına göre solungaç dokusu kadmiyum birikim hızının kısa sürede yavaşlaması, normal koşullarda bu dokunun MT ve benzeri proteinleri düşük düzeyde içermesi ve metal etkisinde bu proteinleri sentez kapasitesinin daha sınırlı olması ile açıklanabilir (12,31).

Solungaç dokusu üzerinden dolaşım sistemine geçen kadmiyum, MT proteinlerinin başlıca sentez yerlerinden biri olan karaciğer dokusunda birikmektedir (11). Karaciğer dokusu normal koşullarda da önemli düzeyde metal bağlayıcı protein içermektedir. Kontrol grubu *C. carpio* balıklarının karaciğer dokusundaki MT düzeyinin, solungaç ve böbrek dokularındaki düzeyin 4 katı olduğu saptanmıştır (12). Yüksek derişimlerin kullanıldığı akut çalışmalarda, diğer dokulara göre, karaciğer dokusunda molekül ağırlığı yüksek yapısal proteinlere bağlı kadmiyum derişimi daha düşük bulunmuştur (32). Bu da yüksek dozda metali tölere etme konusunda en hazırlıklı dokunun karaciğer olduğunu göstermektedir. Subtropikal bir balık türü olan *Haemulon sciurus*'a enjeksiyonla

verilen kadmiyum çok kısa sürede karaciğer dokusunda yoğunlaşmıştır. Dokudaki kadmiyum derişimine bağlı olarak MT sentez düzeyi artış göstermiş olup, 6. günün sonunda karaciğer dokusu MT düzeyinin kontrol grubunun 5 katı olduğu belirlenmiştir (15). İn vitro koşullarda kadmiyumun etkisinde kalan hepatositlerde de MT ve glutatyon sentez düzeyi artış göstermiştir (33).

Böbrek dokusu kadmiyum birikim düzeyi, deney süresine bağlı olarak belirgince artmaktadır. Kronik kadmiyum derişimlerinin etkisinde tutulan *S. gairdneri*'de 22. haftanın sonunda toplam kadmiyumun % 70'inin düşük moleköl ağırlıklı proteinlere bağlı olarak bu dokuda biriktiği belirlenmiştir (10). *C. carpio* 30 gün süre ile 5 ppm kadmiyumun etkisinde tutulduğunda karaciğer dokusuna göre böbrek dokusunda kadmiyum birikimi ve MT sentezi daha geç başlamıştır (34). Ağız yoluyla veya enjeksiyonla verilen kadmiyumun da deney süresine bağlı olarak böbrek dokusunda yoğunlaştığı saptanmıştır (35,36). *Salvelinus alpinus* ile yapılan çalışmada böbrek dokusundan izole edilen MT izomerlerinin karaciğer dokusu MT izomerlerine göre kadmiyum bağlamaya daha eğilimli oldukları saptanmıştır (8). Yine kadmiyum ve bakırın dokulardaki dağılımı ile ilgili bir çalışmada kadmiyumun ağırlıklı olarak böbrek dokusu MT'lerine bağlı olarak bu dokuda biriktiği ifade edilmiştir (27).

Bizim çalışmamızda da böbrek dokusu kadmiyum yükü incelenen diğer dokulara göre daha yüksektir. Böbrek dokusu kadmiyum birikim düzeyi, ortam derişimi ve 45. güne kadar etkide kalma süresine bağlı olarak artış göstermiştir (Tablo 3). Ortam derişimine bağlı olarak özellikle 30 ve 45 günlük süreler sonunda bu dokudaki kadmiyum derişimi çok yüksek düzeylere çıkmıştır. Böbrek ve karaciğer dokularındaki kadmiyum birikim düzeyi, 45. günden sonra ortam derişimine bağlı olarak ya sabit kalmış ya da bir miktar düşüş göstermiştir (Tablo 2,3). Bu durum, karaciğerden dolaşım sistemine geçen Cd-MT oranının artması ve böbrek dokusu tübüllerinde meydana gelen nekrotik yıkımlar sonucu amino asit,

glikoz, kadmiyum ve MT atılım oranının artış göstermesi ile açıklanabilir (37).

Ağır metaller, metabolik aktivitesi yüksek olan dokularda total protein derişimini arttırmaktadırlar. Bakırın etkisinde kalan *T. nilotica*'da karaciğer dokusu total protein derişimi artarken, kas dokusu total protein derişiminin düşüş gösterdiği saptanmıştır (38). Kadmiyumun etkisinde kalan *Tilapia zilli*'nin solungaç ve karaciğer dokularında da total protein düzeyi belirgin olarak artış göstermiştir (39). *Poecilia reticulata* geilişme döneminin başından itibaren uzun süre kadmiyumun etkisinde tutulduğunda proteinin diğer makromoleküllere oranı artış göstermiştir (18). Çinkonun etkisinde kalan *T. zilli* ve *Clarias lazera*'da karaciğer dokusu ile serum total protein derişimi artış göstermiş olup, bu durum metalin etkisinde MT sentez düzeyinin artması ile açıklanmıştır (40). Kadmiyum, *Mugil cephalus*'da karaciğer ve solungaç dokuları ile serum protein derişimini artırırken, MT sentezini stimüle edecek düzeyde kadmiyum biriktirmeyen kalp dokusunda protein derişimini değiştirmemiştir (41). Kadmiyum, bakır ve krom metallerinin etkisinde kalan *Clarias batrachus*'da kas dokusu total protein derişimi % 41 düşüş gösterirken, karaciğer ve böbrek dokularında total protein derişimi sırasıyla % 36 ve % 38 artış göstermiştir (17). Verilen bulguların tersine *T. nilotica* 7 gün boyunca 0,32, 0,64, 1,28 ve 2,56 ppm kadmiyum derişimlerinin etkisinde tutulduğunda karaciğer dokusu total protein düzeyinin belirgin olarak düşüş gösterdiği ifade edilmiştir (5).

Bu araştırmada karaciğer ve böbrek dokularında kadmiyum birikim düzeyi ile total protein derişimi arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Her iki dokuda total protein derişimi 45. günden sonra sabitleşmekle birlikte, önceki sürelerde ortam derişimi ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış göstermiştir. Metabolik olarak aktif olan karaciğer ve böbrek dokularında total protein derişiminin artması, kadmiyum birikim düzeyine bağlı olarak bu dokularda MT ve MT dışı proteinlerin sentezindeki artış ile açıklanabilir.

Kaynaklar

1. Edwards, J.W., Edyvane, K.S., Boxall, V.A., Hamann, M., Soole, K.L.: Metal Levels in Seston and Marine Fish Flesh Near Industrial and Metropolitan Centres in South Australia. Marine Pollut. Bull., 2001; 42: 389-396.
2. Simon, O., Ribeyre, F., Boudou, A.: Comparative Experimental Study of Cadmium and Methylmercury Trophic Transfers between the Asiatic Clam *Corbicula fluminea* and the Crayfish *Astacus astacus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 2000; 38: 317-326

3. Lionetto, M.G., Giordano, M.E., Vilella, S., Schettino, T.: Inhibition of Eel Enzymatic Activities by Cadmium. *Aquatic Toxicol.*, 2000; 48: 561-571.
4. Sastry, K.V., Shukla, V.: Acute and Chronic Toxic Effects of Cadmium on Some Haematological, Biochemical and Enzymological Parameters in the Freshwater Teleost Fish *Channa punctatus*. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 1994; 4: 171-176.
5. Almedia, J.A., Novelli, E.L.B., Silva, M.D.P., Junior, R.A.: Environmental Cadmium Exposure and Metabolic Responses of the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Environ. Pollut.*, 2001; 114: 169-175.
6. Hollis, L., McGeer, J.C., McDonald, D.G., Wood, C.M.: Cadmium Accumulation, Gill Cadmium Binding, Acclimation, and Physiological Effects during Sublethal Cd Exposure in Rainbow Trout. *Aquatic Toxicol.*, 1999; 46: 101-119.
7. Wong, C.K.C., Wong, M.H.: Morphological and Biochemical Changes in the Gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to Ambient Cadmium Exposure. *Aquatic Toxicol.*, 2000; 48: 517-527.
8. Dallinger, R., Egg, M., Köck, G., Hofer, R.: The Role of Metallothionein in Cadmium Accumulation of Arctic Char (*Salvelinus alpinus*) from High Alpine Lakes. *Aquatic Toxicol.*, 1997; 38: 47-66.
9. McGeer, J.C., Szedbedinszky, C., McDonald, D.G., Wood, C.M.: Effects of Chronic Sublethal Exposure to Waterborne Cu, Cd or Zn in Rainbow Trout. 2: Tissue Specific Metal Accumulation. *Aquatic Toxicol.*, 2000; 50: 245-256.
10. Kay, J., Thomas, D.G., Brown, M.W., Cryer, A., Shurben, D., Solbe, J.F. Del. G., Garvey, J.S.: Cadmium Accumulation and Protein Binding Patterns in Tissues of Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Environ. Hlth. Persp.*, 1986; 65: 133-139.
11. Wu, S.M., Weng, C.F., Yu, M.J., Lin, C.C., Chen, S.T., Hwang, J.C., Hang, P.P.: Cadmium-Inducible Metallothionein in Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1999; 62: 758-768.
12. De Smet, H., De Wachler, B., Lobinski, R., Blust, R.: Dynamics of (Cd, Zn)-Metallothionein in Gills, Liver and Kidney of Common Carp *Cyprinus carpio* during Cadmium Exposure. *Aquatic Toxicol.*, 2001; 52: 269-281.
13. De Conto Cinier, C., Ramel, M.P., Faure, R., Garin, D., Bouvet, Y.: Kinetics of Cadmium Accumulation and Elimination in Carp *Cyprinus carpio* Tissues. *Comp. Biochem. Physiol. Part C*, 1999; 122: 345-352.
14. Hollis, L., Hogstrand, C., Wood, C.M.: Tissue Specific Cadmium Accumulation, Metallothionein Induction, and Tissue Zinc and Copper Levels during Chronic Sublethal Cadmium Exposure in Juvenile Rainbow Trout. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2001; 41: 468-474.
15. Hogstrand, C., Haux, C.: Metallothionein as an Indicator of Heavy-Metal Exposure in two Subtropical Fish Species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1990; 138: 69-84.
16. Chan, H.M., Cherian, M.G.: Protective Roles of Metallothionein and Glutathione in Hepatotoxicity of Cadmium. *Toxicology*, 1992; 72: 281-290.
17. Jana, S., Sahana, S.S.: Effects of Copper, Cadmium and Chromium Cations on the Freshwater Fish *Clarias batracus* L. *Physiol. Bohemos.*, 1988; 37: 79-82.
18. Miliou, H., Zaboukas, N., Apostolopoulou, M.M.: Biochemical Composition, Growth, and Survival of the Guppy, *Poecilia reticulata*, during Chronic Sublethal Exposure to Cadmium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1998; 35: 58-63.
19. Ruparelia, S.G., Verma, Y., Saiyed, S.R., Rawal, U.M.: Effects of Cadmium on Blood of Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters), during Prolonged Exposure. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1990; 45: 305-312.
20. Wedemeyer, G.A., Yasutake, W.T.: Clinical Methods for the Assessment of the Effects of Environmental Stress on Fish Health. *U.S. Tech. Pap. U.S. Fish Wildl. Serv.*, 1977; 89: 1-18.
21. Kalay, M., Canlı, M.: Elimination of Essential (Cu, Zn) and Non-Essential (Cd, Pb) Metals from Tissues of a Freshwater Fish *Tilapia zilli*. *Tr. J. of Zoology*, 2000; 24: 429-436.
22. Sokal, R.R., Rohlf, J.F.: (1969). "Biometry". W.H. Freeman and Company, San Francisco, 776 pp.
23. Abel, P.D., Papoutsoglou, S.E.: Lethal Toxicity of Cadmium to *C. carpio* and *T. aurea*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1986; 37: 382-386.
24. Erdem, C., Kargin, F.: *Cyprinus carpio* ile *Tilapia nilotica*'nın Karaciğer, Dalak, Barsak, Solungaç ve Kas Dokularındaki Bakır Birikiminin Karşılaştırılması Olarak Araştırılması. *Biyokimya Derg.*, 1992; 17: 13-27.
25. Pratap, H.B., Wendelaar Bonga, S.E.: Effect of Ambient and Dietary Cadmium on Pavement Cells, Chloride Cells, and Na/K-ATPase Activity in the Gill of the Freshwater Teleost *Oreochromis mossambicus* at Normal and High Calcium Levels in the Ambient Water. *Aquatic Toxicol.*, 1993; 26: 133-150.
26. Mason, R.P., Laporte, J.M., Andres, S.: Factors Controlling the Bioaccumulation of Mercury, Methylmercury, Arsenic, Selenium, and Cadmium by Freshwater Invertebrates and Fish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2000; 38: 283-289.
27. Handy, R.D.: The Effect of Acute Exposure to Dietary Cd and Cu on Organ Toxicant Concentrations in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicol.*, 1993; 27: 1-14.
28. Reid, S.D., McDonald, D.G.: Metal Binding Activity of the Gills of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1991; 48: 1061-1068.
29. Wicklund, G.A., Norrgren, L., Müssener, A.: Differences in Uptake of Inorganic Mercury and Cadmium in the Gills of Zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Aquatic Toxicol.*, 1994; 30: 13-26.
30. Hollis, L., McGeer, J.C., McDonald, D.G., Wood, C.M.: Effects of Long Term Sublethal Cadmium Exposure in Rainbow Trout during Soft Water Exposure: Implications for Biotic Ligand Modelling. *Aquatic Toxicol.*, 2000; 51: 93-105.

31. Hidalgo, J., Tort, L., Flos, R.: Cd-, Zn-, Cu-Binding Protein in the Elasmobranch *Scyliorhinus canicula*. Comp. Biochem. Physiol., 1985; 81C: 159-165.
32. Brown, D.A., Bay, S.M., Herselman, G.P.: Exposure of Scorpionfish (*Scorpaena guttata*) to Cadmium: Effects of Acute and Chronic Exposures on the Cytosolic Distribution of Cadmium, Copper and Zinc. Aquatic Toxicol., 1990; 16: 295- 310.
33. Schlenk, D., Rice, C.D.: Effect of Zinc and Cadmium Treatment on Hydrogen Peroxide-Induced Mortality and Expression of Glutathione and Metallothionein in a Teleost Hepatoma Cell Line. Aquatic Toxicol., 1998; 43: 121-129.
34. Kito, H., Tazawa, T., Ose, Y., Sato, T., Ishikawa, T.: Protection by Metallothionein against Cadmium Toxicity. Comp. Biochem. Physiol., 1982; 73C: 135-139.
35. Matsuura, K., Takasugi, M., Kunifuji, Y., Horie, A., Kuroiwa, A.: Morphological Effects of Cadmium on Proximal Tubular Cells in Rats. Biol. Trace Elem. Res., 1991; 31: 171-181.
36. Saygi, S., Deniz, G., Kutsal, O., Vural, N.: Chronic Effects of Cadmium on Kidney, Liver, Testis and Fertility of Male Rats. Biol. Trace Elem. Res., 1991; 31: 209-214.
37. Sarkar, B.: Metal-Protein Interactions in Transport, Accumulation and Excretion of Metals. Biol. Trace Elem. Res., 1989; 21: 137-144.
38. Cıçık, B., Erdem, C.: *Tilapia nilotica*'da Bakırın Karaciğer ve Kas Dokularındaki Nicel Protein Değişimlerine Etkileri. Biyokimya Derg., 1992; 17: 51-64.
39. Kargın, F.: Elimination of Cadmium from Cd-Contaminated *Tilapia zilli* in Media Containing EDTA and Freshwater: Changes in Protein Levels. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1996; 57: 211-216.
40. Hilmy, A.M., Shabana, M.B., Daabes, A.Y.: Effects of Cadmium Toxicity upon the in Vivo and in Vitro Activity of Proteins and Five Enzymes in Blood Serum and Tissue Homogenates of *Mugil cephalis*. Comp. Biochem. Physiol., 1985; 81: 145-153.
41. Hilmy, A.M., El-Domiaty, N.A., Daabes, A.Y., Latife, H.A.A.: Some Physiological and Biochemical Indices of Zinc Toxicity in Two Freshwater Fishes, *Clarias lazera* and *Tilapia zilli*. Comp. Biochem. Physiol., 1987; 87C: 297-301.