

## Balıklarda ağır metal ve pestisitler tarafından indüklenen oksidatif stres mekanizmaları

### Oxidative stress mechanisms induced by heavy metals and pesticides in fish

Cansu Akbulut<sup>1</sup> • Güllü Kaymak<sup>1\*</sup> • Harika Eylül Esmer<sup>2</sup> • Nazan Deniz Yön<sup>1</sup> • Figen Esin Kayhan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 54187 Esentepe, Sakarya, Türkiye.

<sup>2</sup> Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 34722 Göztepe, İstanbul, Türkiye.

\*Corresponding author: [gullukaymak@gmail.com](mailto:gullukaymak@gmail.com)

#### How to cite this paper:

Akbulut, C., Kaymak, G., Esmer, H.E., Yön, N.D., Kayhan, F.E., 2014. Oxidative stress mechanisms induced by heavy metals and pesticides in fish. *Ege J Fish Aqua Sci* 31(3): 155-160. doi: [10.12714/egejfas.2014.31.3.07](https://doi.org/10.12714/egejfas.2014.31.3.07)

**Abstract:** Aquatic organisms are exposed to significant amounts of heavy metals and pesticides due to many anthropogenic activities, particularly industrial and agricultural. Heavy metal and pesticide accumulation may cause an increase in Reactive Oxygen Species (ROS) leading to oxidative stress in fish. These environmental toxicants can promote oxidative damage by directly increasing the cellular concentration of ROS and by reducing the cellular antioxidant capacity. This paper reviews the studies on effects of heavy metals and pesticides exposure on the oxidative stress biomarkers and antioxidant defenses of fish.

**Keywords:** Oxidative stress, heavy metal, pesticide, fish

**Özet** Sucul organizmalar endüstriyel ve tarımsal başta olmak üzere birçok antropojenik aktivite nedeniyle önemli miktarlarda ağır metal ve pestisitlere maruz kalırlar. Ağır metal ve pestisitlerin balıklarda birikmesi oksidatif strese nedeni olan reaktif oksijen türlerinin (ROT) artmasına sebep olur. Bu tip çevresel kirlenmeler, reaktif oksijen türlerinin hücrelerde direkt olarak artmasına neden olur ve antioksidan kapasiteyi azaltırlar. Bu derleme çalışmasının amacı ağır metal ve pestisitlere maruz kalan balıklarda oksidatif stres belirteçleri ve antioksidan savunma mekanizmalarını irdelemektir.

**Anahtar kelimeler:** Oksidatif stres, ağır metal, pestisit, balık

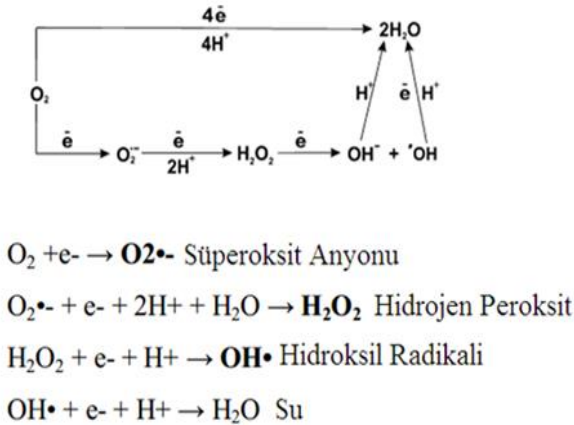
## GİRİŞ

Biyolojik sistemlerde hastalık ve yaşlanmaya sebep olan serbest radikallerin varlığı ve bunların zararlı etkilerinin bazı spesifik antioksidan sistemler ile kontrol edilebilir olduğu elli yılı aşkın bir süredir bilinmektedir (Harman, 1956). Oksijen pek çok canlı için olduğu gibi balıklar için de yaşamsal bir elementtir. Oksijen, organizmalar için yaşamsal öneme sahip olmakla birlikte aynı zamanda çok tehlikeli toksik formlar olan serbest radikallere de dönüşebilmektedir. Serbest radikaller, dış halkalarında bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü reaktif atom, iyon veya moleküllerdir. Serbest radikallerin büyük hücresel hasar, mutasyon, kanser ve biyolojik yaşlanmadan sorumlu olduğu bilinmektedir (Büyükgüzel, 2013). Balıklarda serbest radikallerin oluşumu, ağır metaller, pestisitler ve çevre kirliliği gibi nedenlerle başlamakta ve artmaktadır (Gökpinar vd., 2006). Tüm organizmalar, serbest radikallerin hücrelerde sebep olduğu hasarları önlemek amacıyla, serbest radikal seviyelerini kontrol altında tutmaya çalışırlar (Keleştemur Tuna, 2012; Valavanidis vd., 2006).

Su kütleleri özellikle son yıllarda artan oranda tarımsal ve endüstriyel kimyasallar içermektedir. Bu kimyasalların sucul canlılar tarafından bünyelerine alınması, su, sediment, suda asılı partikül madde ve besin yoluyla olmaktadır. Organizmalarca metabolizmaya alınan çevresel kirlenici kimyasallar, serbest radikaller ile mücadelede rol oynayan metabolik süreçleri alt üst edebilirler. Bu nedenle sucul organizmalar, doku ve hücresel hasarın belirlenmesi, hastalık, yaşlanma gibi fizyolojik etkilere sebep olan serbest radikallerden korunma sürecinde model organizma olarak pek çok araştırmada kullanılmaktadır. Bu derlemede çevresel faktörler tarafından, sucul canlılarda oksidatif stresi indüklediği iyi bilinen bazı mekanizmaları (örneğin; balıklarda reaktif oksijen türlerin (ROT) oluşum ve yok edilme mekanizmalarını, oksidatif stres yollarını) irdelemek amacıyla bir araya getirilmiştir.

Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres: Biyolojik sistemlerde serbest radikallerin metabolizması son yarım yüzyılda en çok araştırılan konular arasında yer almaktadır.

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektron içeren atom, molekül ve iyonlardır (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Bu eşleşmemiş elektronlar, genellikle kimyasal reaksiyonlarda görev alan yüksek oranda reaktif radikallerdir. Çoğu zaman singlet oksijen ( $1O_2$ ) gibi moleküller, süperoksit anyon ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ) ve bunların türevleri gibi bazı reaktif oksijen türleri (ROT) ile karıştırılır. Örneğin;  $1O_2$  yapısında eşleşmemiş oksijen içermediği için serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur ve oksijenden daha hızlı bir biyolojik moleküldür.  $H_2O_2$  radikal olmamasına rağmen, oksijenden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu için reaktif türdür. Çeşitli ROT türleri arasındaki dönüşüm ve ilişkiler Şekil 1’de verilmiştir. ROT, moleküler oksijenin ( $O_2$ ) kısmi indirgenmesi sonucu oluşan ürünlerdir. Genellikle  $O_2$ , su ( $H_2O$ ) oluşumuyla sonuçlanan mitokondriyal elektron taşıma zinciri tarafından dört elektron ( $4-e$ ) mekanizması ile indirgenir. Ancak tek bir elektronun moleküler oksijene sıralı eklenmesi sonucu süperoksit anyonu oluşur. Ayrıca, hidrojen peroksit ve son olarak da hidroksil radikaline ve hidroksil anyonuna ( $OH^-$ ) indirgenir. Zincir, hidroksil radikaline elektron ve proton eklenmesi sonucu su oluşumuyla tamamlanır.

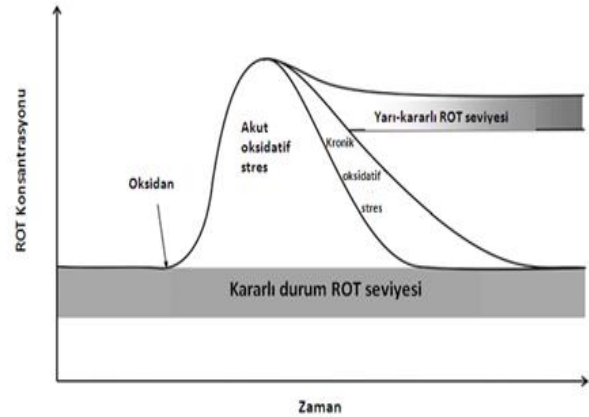


Şekil 1. Organizmalardaki oksijen metabolizması ve reaktif oksijen türleri arasındaki dönüşüm.

Figure 1. Routes of oxygen metabolism and reactive oxygen species in organisms.

Yukarıda belirtildiği gibi, reaktif oksijen türleri çeşitli tipteki antioksidanlarla detoksifiye edilebilir ya da hücre veya hücre dışı komponentlerle etkileşebilir. ROT metabolizması yüksek oranda zarar verme kapasitesi ve biyolojik aktivitesi nedeniyle hücre kontrolü altındadır ve hücre içi konsantrasyonları genellikle  $10^{-8}$  moları geçmez (Foyer ve Noctor, 2009). Bazı durumlarda ROT konsantrasyonları değişebilir; çünkü ROT sürekli üretilir ve harcanır. Kararlı durum ROT konsantrasyonlarında genellikle üretilen ROT miktarı, harcanan ROT miktarına eşittir. Buna rağmen bazı nedenlerle ROT konsantrasyonu oksidatif ya da indirgeyici stres adı verilen redoks durumunun değişmesine böylece hücre, doku ve organların hasar görmesine yol açabilir. Oksidatif stresin kararlı durumu, ROT konsantrasyonunun değiştiği ya da

kronikleştiği, hücresel metabolizmayı zedeleyip hücre bileşenlerine zarar verdiği bilinen bir durumdur. İndirgenmiş stres de benzer şekilde tanımlanabilir ancak tek farkı, kararlı durum ROT konsantrasyonunun düşmesidir. Oksidatif stres gelişimi, hücresel ROT kaynakları ve antioksidan sistemler aşağıdaki bölümde açıklanmıştır (Şekil 2). Normal koşullar altında, ROT’un üretimi ve ortadan kaldırılması arasındaki denge ROT seviyesinin stabilize edilmesiyle sağlanır. Oluşan oksidatif hasar, kararlı durum ROT seviyesini artırır ve eğer antioksidan potansiyeli yeterli ise, ROT düzeyindeki geçici artış “akut oksidatif stres” olarak isimlendirilir. Antioksidan sisteminin verimliliği dengede olmadığı zaman hızlı bir şekilde ROT üretilir ve sistemde “kronik oksidatif stres” oluşur. Curcuminin, Gökkuşaağı alabalığı’nda (*Oncorhynchus mykiss*) bazı antioksidan parametrelere etkisinin incelendiği bir çalışmada, karaciğer, böbrek ve dalak dokularında malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) ile glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada, 21 gün süreyle curcuminin farklı dozları (10, 20, 40 mg/kg) uygulanan balıklarda MDA seviyesinin düştüğü, GSH-Px, GR ve GST aktiviteleri ile GSH düzeylerinin ise arttığı rapor edilmiştir (Mişe Yonar vd., 2014).



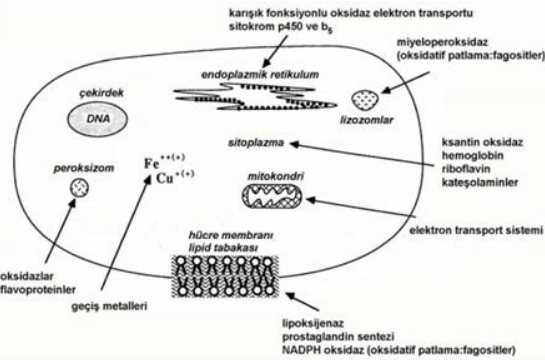
Şekil 2. Canlı organizmalarda reaktif oksijen türü seviyesinin dinamik yapısı (Lushchak, 2011’den).

Figure 2. The dynamics of level of reactive oxygen species in living organisms (from Lushchak, 2011).

Balıklarda Reaktif Oksijen Türlerinin Üretilmesi: İlginç bir şekilde hem hayvanlarda hem de insanlardaki antioksidan savunma sistemleri birbirine çok benzemektedir. Biyolojik sistemlerde ROT üretiminin pek çok mekanizması vardır ve genellikle oksijen metabolizmasının yan ürünleri olarak üretilir. Organizmalar tarafından tüketilen oksijenin %90’ından fazlası enerji üretimiyle ilgili elektron transportunun  $4-e$  mekanizması ile kullanılır (Papa ve Skulachev, 1997). Ökaryotlarda mitokondriyal sistem bulunurken, prokaryotlarda elektron taşıma zincirleri plazma membranında bulunur. Koenzim Q ve kompleks III, elektronların moleküler oksijen ile etkileşerek süper oksit anyonunun oluşturduğu mitokondriyal elektron transport zincirinin en önemli bileşenleridir (Demin vd., 1998). Endoplazmik retikulumdaki (ER) elektron transport zinciri ikinci

en önemli ROT kaynağıdır (Malhotra ve Kaufman, 2007). Hücrel ve yabancı kimyasalların katabolizması sitokrom P450 ile redoks aşamalarını içerir ve ER'deki ROT üretiminden sorumludur. Belirli miktardaki ROT, sitozol ve peroksisomlarda çeşitli oksidazlar tarafından üretilir. Örneğin, triptofandioksijenaz (Li vd., 2007), ksantinoksidad (Shmarakov ve Marchenko, 2008; Kelley vd., 2010), ve sitokrom P450 redüktaz (Cederbaum, 1989) gibi enzimler esas olarak süper oksit anyonunu üretirken bunlar gibi aminoasit ve glukozoksidadlar esas olarak hidrojen peroksit üretir (Bonfont-Rousselot, 2002).

Belirli hücrel bileşenlerin ve ksenobiyotiklerin (açık havada oksijen ve/veya UV radyasyon varlığında peroksitler oluşturarak oluşan oksidasyon) otooksidasyonu önemli miktarda ROT üretiminden sorumlu olabilir. Organizmalarda doğal olarak oluşan katekolaminler ve bazı diğer bileşikler spesifik fizyolojik durumlar altında önemli ROT üreticileri olarak rol oynayabilirler ve hatta hastalık ve yaşlanmaya yol açabilirler (McAnulty vd., 2003). ROT'un ana grubunu oluşturan kirleticiler öncelikle ağır metaller, aromatik hidrokarbonlar, pestisitler, poliklorlubifeniller, dioksinler ve benzer formülasyonlu çevresel kirleticilerdir (Lushchak, 2008; Alak vd., 2013). ROT üretimine yol açan mekanizmalar çok çeşitli olabilir ancak reaktif türün üretimini birbirini tamamlamaktadır (Valko vd., 2007). Oksidatif stres gelişiminin, önemli herhangi bir stres bileşeni olduğunu belirtmek gerekir. Pek çok sucul organizma belirli reaktif türlerin kontrollü bir şekilde üretimi için özel tasarlanmış sistemlere sahiptir. Örneğin, siyanür duyarısız oksidatif patlama ilk kez lökositlerde tanımlanmış (Dri vd., 1979), benzer işlemler, daha sonra hayvanların pek çok hücre tipinde ve bitkilerde de bulunmuştur (Asai vd., 2008; Foyer ve Noctor, 2009). ROT üretiminin düzenlenmiş moleküler mekanizmaları, NADPH oksidaz tarafından NADPH'nin enzimatik oksidasyonuna bağlıdır. Bu sistem mikroorganizmaları hedef olarak hücrel ROT seviyesini kontrol eder. Bir diğer reaktif türlerin üretimindeki özel sistem ise, nitrik oksit sentaz tarafından nitrik oksit (NO) üretilmesi yoluyla gerçekleşir (Agnisola, 2005).



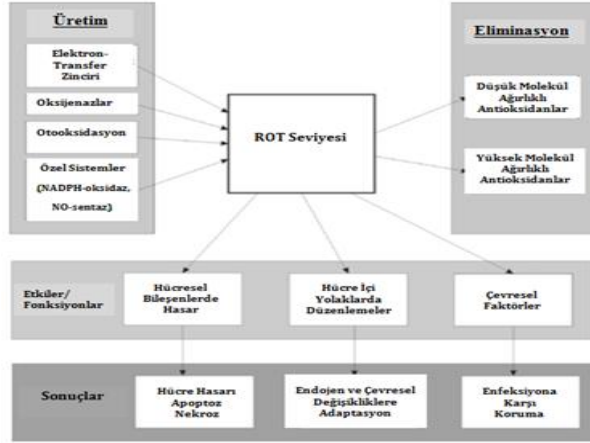
**Şekil 3.** Endojen kaynakların reaktif oksijen türlerinin üretimine etkisi.  
**Figure 3.** Effects of endogenous resources on production of reactive oxygen species.

Hücrel fraksiyonlar kullanılarak yapılan çalışmalar hem

endojen kaynakların hem de çevresel kirleticilerin teşvikiyle artan ROT üretimine ışık tutar. Örneğin, endojen kaynaklı NADPH-bağımlı ROT üretim süreci Morina balığı (Gadus morhua) karaciğer, hava kesesi, solungaç ve kas dokularında incelenmiştir (Lemaire vd., 1994). Kirleticilerin redoks döngüsü üzerine etkilerinin araştırıldığı in vitro çalışmalar; O<sub>2</sub>'nin alımında (Garcia Martinez vd., 1995), O<sub>2</sub>- üretiminde (Lemaire ve Livingston, 1997), O<sub>2</sub>'nin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüşümünde (Sjölin ve Livingston, 1997), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den OH- üretiminde (Kitamura ve Tatsumi, 1997) sitokrom P450 redüktazın katalitik rolüyle NADPH-bağımlı katalizi üzerine yoğunlaşmıştır. Çevresel kirleticilerden olan herbisitlerin bazı balık türlerinin doku ve organlarında ROT üretimini artırarak oksidatif stres geliştirme potansiyeli bazı yönleriyle araştırılmıştır. Örneğin; yaygın kullanılan bir herbisit olan Diquat, sazan (Cyprinus carpio) karaciğer hücrelerinde (Wright vd., 2000) ve gökkuşuğu alabalığı O. mykiss solungaç dokularında (Hook vd., 2006) ROT üretimini uyarmıştır. Japon balığı (Carassius auratus) karaciğer ve böbreklerinde suda bulunan demirin serbest radikal sürecine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, protein karbonil grupları, proteinlerin oksidatif modifikasyon belirteç seviyeleri artmış, fakat lipit peroksitlerin konsantrasyonu azalmıştır (Bagnyukova vd., 2006). Hibrid Amazon balığına (Pseudoplatystoma sp.) glifosfat herbisitinin farklı dozlarının 96 saat süreyle uygulandığı bir akut çalışmada balıkların oksidatif stres parametreleri ve antioksidan savunma mekanizmaları değerlendirilmiştir. Araştırmacılar, balıkların karaciğer ve beyin dokularında antioksidan aktivitenin arttığını, karaciğer ve kas dokularında TBARS seviyelerinin yükseldiğini rapor etmişlerdir (Sinhorin vd., 2014). Potasyum dikromat maruziyeti Avrupa yılan balığı (Anguilla anguilla) solungaç ve böbrek dokularında oksidatif stresi oldukça artırmıştır (Ahmad vd., 2006). Bir insektisit grubu olan klorlu hidrokarbonlar, sazan'da deri tümör hücrelerinde (Ruiz-Leal ve George, 2004) ve kaplan balığı (Hoplias malabaricus) hepatositlerinde (Filipak Neto vd., 2008) oksidatif stresi arttırmışlardır. Dioktil adipatın (DOA) çipura (Sparus aurata) karaciğer ve solungaç dokuları üzerine etkilerinin araştırıldığı bir makalede, bir dizi hepatosellüler değişim beraberinde her iki dokuda da kimyasalın artan konsantrasyonuna bağlı olarak çoklu histolojik değişimler rapor edilmiştir (Üreten ve İşisağ Üçüncü, 2013). Halometan uygulanan Goodea gracilis türü balıklarda doza bağlı olarak ROT üretiminin arttığı ve oksidatif stres olduğu gözlenmiştir (Dzul-Caamal vd., 2013). Zebra balığı beyin dokusunda düşük dozda arsenik trioksitinin ROT üretimini artırarak oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir (Sarkar vd., 2014).

Reaktif Oksijen Türlerinin Yok Edilmesi ve Antioksidanlar: Sucul organizmalardaki antioksidan sistemler hem düşük hem de yüksek moleküler ağırlıklı antioksidanlar içerirler (Livingstone, 2001). Düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar, glutatyon, askorbik asit (C vitamini) gibi suda çözünen ve karotenoid (β-karotendahl), retinol (A vitamini), ve α-tokoferol (E vitamini) gibi yağda çözünen bileşiklerde tanımlanmıştır. Bunlar genellikle serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırmada görev alırlar. Örneğin; bu bileşikler GSH, GSH-Px ya da GST

gibi antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerinin kofaktörü olarak rol oynar. Belirli bir grup olan antioksidan enzimler; süperoksit dismutaz (SOD), katalazlar (CAT), Se-bağımlı glutatyon peroksidazlar (Se-GPx), DT-diaforaz gibi enzimleri içerir ve glutatyon redüktaz (GR), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PDH) gibi gerekli kofaktörleri sağlar. Metalotiyoneinler ve ferritin gibi spesifik olmayan yüksek moleküler ağırlıklı antioksidanlar, metal iyonlarına (özellikle demir ve bakır) bağlanarak ROT kaynaklı hasarı önleyen proteinlerdir. Antioksidanların kararlı durum seviyeleri, alım/sentez, ulaştırma, metabolizasyon, etkisiz hale gelme ve atılım arasındaki denge ile sağlanır. En çok üretilen tokoferol ve karotenoidler gibi bazı antioksidanlar ise beslenme yoluyla sucul organizmalar tarafından alınır. İlginç bir şekilde, antioksidan üretimi genellikle organizmaların ihtiyaçlarına karşılık gelir ve aktif düzenlemeye tabi tutulur (Kelley vd., 2010). Reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılması ve üretilmesi arasındaki denge ile potansiyel biyolojik etki ve organizma fonksiyonundaki değişiklikler Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 4. Reaktif oksijen türlerinin oluşum ve eliminasyon dengesi ile potansiyel biyolojik etkileri (Lushchak, 2011'den).

Figure 4. Balance between production and elimination of reactive oxygen species and their potential biological effects (from Lushchak, 2011).

Çevresel kirlenmelerin balıklarda oksidatif stres oluşturma yollarından biri antioksidan enzimleri inhibe etme şeklindedir. SOD ve CAT gibi antioksidan enzimleri inhibe eden herbisitler çeşitli bileşik gruplarından oluşur. Hai vd. (1997) dietil ditiyo karbamatinin (DDC) sazan dokularında pro/antioksidan sistemi modifiye etmesine rağmen, aynı zamanda kendi yapısında tiyol gruplarının varlığı nedeniyle antioksidan olarak görev

yaptığını belirlemişlerdir (Hai vd., 1997). Bir fungusit olan Prokloraz özellikle sitokrom P450 enzim aktivitelerini etkileyerek sucul organizmalar üzerinde olumsuz etkiler meydana getirebilir. Aynı madde üç dikenli balıkta (*Gasterosteus aculeatus*) glutatyon havuzunu tüketmiş ve antioksidan enzimlerde geçici bir artışı indüklemiştir (Sanchez vd., 2008). Sazan embriyolarında 48 gün süreyle Cyfluthrin pestisitinin subletal dozunun (10 µg/L) uygulandığı bir çalışmada balıkların beyin dokularında MDA düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (Sepici vd., 2009). Pestisitlere karşı akut ve kronik maruziyetin (7, 20, 30 gün) sebep olduğu değişikliklerin incelendiği bir çalışmada, Gökkuşluğu alabalığına Propiconazole (PCZ)'nin farklı dozlarını (0.2, 50, 500 µg/l) uygulayan araştırmacılar, oksidatif stres göstergeleri olarak (LPO ve ROT) ve antioksidan (SOD, CAT, GR ve GPx) enzim aktivitelerini ölçmüşlerdir. Çalışmaya göre; 7 gün sonunda antioksidan savunma sistemi, kimyasalın etkisine karşı adaptasyonla cevap vermiş, 20 ve 30 günlük sürelerde ise antioksidan enzimlerde inhibisyon görülmüş ve uzun süreli uygulamaların ciddi oksidatif hasarlara yol açtığı rapor edilmiştir (Li vd., 2010). Mieirol vd. (2010) civa bileşiklerine maruz kalmanın Altınbaş Kefal'de (*Liza aurata*) antioksidan aktivitesinin azaldığını belirlemişlerdir. Atrazin, neotropikal balık türlerinde akut etkisinin belirlendiği bir çalışmada farklı hücre tiplerinde herbisit antioksidan enzimleri inhibe ettiği gözlenmiştir (Santos ve Martinez, 2012). Kızılöz balığı (*Rutilus rutilus*) ile yapılan bir çalışmada, diazonin maddesi farklı süre ve dozlarda balıklara uygulanmıştır. 24 saat sonunda CAT aktivitesinin arttığı, 48 ve 96 saatlerde ise azaldığı gözlenmiştir (Keramati vd., 2010). Farklı dozlarda uygulanan iz elementlerin *Prionace glauca* (Barrera-Garcia vd., 2013) ve *Isurus oxyrinchus* (Velez-Alavez vd., 2013) türü köpek balıklarında antioksidan enzimleri inhibe ettiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak organizmaların sahip olduğu en önemli özelliklerden biri hücrelerinde enerji akışının kontrol edilmesidir. Reaktif oksijen türlerinin oluşması sonucunda gelişen oksidatif stres çeşitli mekanizmalar yoluyla biyomoleküllere zarar vermektedir. Sucul organizmalarda antioksidan savunma sistemleri, çevresel şartlara bağlı olarak değişmekte ve adaptif bazı yanıtlar geliştirmektedir. Sucul canlıların doku ve organlarında görülebilen yanıtlar, aslında ekosistemin tümüyle olumsuz etkilendiğinin de bir göstergesidir.

## KAYNAKLAR

- Agnisola, C., 2005. Role of nitric oxide in the control of coronary resistance in teleosts. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 142: 178–187. doi:10.1016/j.cbpb.2005.05.051
- Ahmad, I., Maria, V.L., Oliveira, M., Pacheco, M., Santos, M.A., 2006. Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to naphthoflavone. *Mutat. Res.*, 608: 16–28. doi: 10.1016/j.mrgentox.2006.04.020
- Alak, G., Atamanalp, M., Uçar, A., Arslan, H., Şensurat, T., Parlak, V., Kocaman, E.M., 2013. Investigation of humic acid effects versus cadmium toxicity on hematological parameters of Brown trout (*Salmo trutta fario*) (in Turkish with English abstract). *Ege J Fish Aqua Sci.* 29(4): 181-185. doi: 10.12714/eejefas.2013.29.4.06
- Asai, S., Ohta, K., Yoshioka, H., 2008. MAPK signaling regulates nitric oxide and NADPH oxidase-dependent oxidative bursts in *Nicotiana glauca*. *Plant Cell*, 20: 1390–1406. doi: 10.1105/tpc.107.055855

- Bagnyukova, T.V., Chahrak, O.I., Lushchak, V.I., 2006. Coordinated response of goldfish antioxidant defenses to environmental stress. *Aquat. Toxicol.*, 78: 325–331. doi: [10.1016/j.aquatox.2006.04.005](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.04.005)
- Barrera-Garcia, A., O'Hara, T., Galvan-Magana, F., Mendez-Rodriguez, L.C., Caterlini, J.M., Zenteno-Savin, T., 2013. Trace elements and oxidative stress indicators in liver and kidney of Blue shark (*Prionace glauca*). *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 165(4): 483-490. doi: [10.1016/j.cbpa.2013.01.024](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.01.024)
- Bonnefont-Rousselot, D., 2002. Glucose and reactive oxygen species. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 5: 561–568.
- Büyükgüzel, E., 2013. Biochemical and molecular mechanisms of protein oxidation (in Turkish with English abstract). *Karaelmas Science and Engineering Journal*, 3(1): 40-51.
- Cederbaum, A.I., 1989. Oxygen radical generation by microsomes: role of iron and implications for alcohol metabolism and toxicity. *Free Radic. Biol. Med.*, 7: 559–567. doi: [10.1016/0891-5849\(89\)90033-6](https://doi.org/10.1016/0891-5849(89)90033-6)
- Demin, O.V., Kholodenko, B.N., Skulachev, V.P., 1998. A model of O<sub>2</sub>-generation in the complex III of the electron transport chain. *Mol. Cell. Biochem.*, 184: 21–33. doi: [10.1023/A:1006849920918](https://doi.org/10.1023/A:1006849920918)
- Dri, P., Bellavite, P., Berton, G., Rossi, F., 1979. Interrelationship between oxygen consumption, superoxide anion and hydrogen peroxide formation in phagocytosing guinea pig polymorphonuclear leucocytes. *Mol. Cell. Biochem.*, 23: 109–122.
- Dzul-Caamal, R., Olivares-Rubio, H.F., Lopez-Tapia, P., Vega-Lopez, A., 2013. Pro-oxidant and antioxidant response elicited by CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and CHCl<sub>3</sub> in *Goodea gracilis* using non-invasive methods. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 165(4):515-27. doi: [10.1016/j.cbpa.2013.03.005](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.005)
- Filipak Neto, F., Zanata, S.M., Silva de Assis, H.C., Nakao, L.S., Randi, M.A., Oliveira Ribeiro, C.A., 2008. Toxic effects of DDT and methyl mercury on the hepatocytes from *Hoplias malabaricus*. *Toxicol. In Vitro*, 22: 1705–1713. doi: [10.1016/j.tiv.2008.07.006](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2008.07.006)
- Foyer, C.H., Noctor, G., 2009. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxid. Redox Signaling*, 11: 861–905. doi: [10.1089/ars.2008.2177](https://doi.org/10.1089/ars.2008.2177)
- Garcia Martinez, P., Winston, G. W., Metosh-Dickey, C., O'Hara, S. C. M. and Livingstone, D. R., 1995. Nitrofurantoin-stimulated reactive oxygen species production and genotoxicity in digestive gland microsomes and cytosol of the common mussel (*Mytilus edulis*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 131: 332–341. doi: [10.1006/taap.1995.1076](https://doi.org/10.1006/taap.1995.1076)
- Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal antioxidants (in Turkish with English abstract). *Ege J Fish Aqua Sci*, 23(Suppl 1/1): 85-89.
- Hai, D.Q., Varga, S.I., Matkovic, B., 1997. Effects of diethyl-dithiocarbamate on antioxidant system in carp tissue. *Acta Biol. Hung.*, 48: 1–8.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*, second ed. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Harman, D., 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 11, 298–300.
- Hook, S.E., Skillman, A.D., Small, J.A., Schultz, I.R., 2006. Gene expression patterns in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to a suite of model toxicants. *Aquat. Toxicol.*, 77: 372–785. doi: [10.1016/j.aquatox.2006.01.007](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.01.007)
- Keleştemur Tuna, G., 2012. Physiological effects created on fish of hypoxic waters (in Turkish with English abstract). *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 5(1): 87-90.
- Kelley, E.E., Khoo, N.K., Hundley, N.J., Malik, U.Z., Freeman, B.A., Tarpey, M.M., 2010. Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radic. Biol. Med.*, 48 (4): 493–498. doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.012](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.012)
- Keramati, V., Shahla, J., Ramin, M., 2010. Effect of diazinon on catalase antioxidant enzyme activity in liver tissue of *Rutilus rutilus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 5(5): 368-376.
- Kitamura, S. and Tatsumi, K., 1997. Purification of NADPH-linked and NADH-linked quinone reductases from liver of sea bream, *Pagrus major*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 118B: 675–680. doi: [10.1016/S0305-0491\(97\)00274-5](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(97)00274-5)
- Lemaire, P. And Livingstone, D.R., 1997. Aromatic hydrocarbon quinone-mediated reactive oxygen species production in hepatic microsomes of the flounder (*Platichthys flesus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117C: 131-139. doi: [10.1016/S0742-8413\(97\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(97)00060-1)
- Lemaire, P., Matthews, A., Forlin, L., Livingstone, D.R., 1994. Stimulation of oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and perch (*Perca fluviatilis*) by model and pollutant xenobiotics. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 26: 191–200.
- Li, J.S., Han, Q., Fang, J., Rizzi, M., James, A.A., Li, J., 2007. Biochemical mechanisms leading to tryptophan 2,3-dioxygenase activation. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 64: 74–87. doi: [10.1002/arch.20159](https://doi.org/10.1002/arch.20159)
- Li, Z., Zlabeka, V., Grabica, R., Lia, P., Machovava, J., Veliseka, J., Randak, T., 2010. Effects of exposure to sublethal propiconazole on the antioxidant defense system and Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup>- ATPase activity in brain of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology*, 98: 297-303.
- Livingstone, D.R., 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*. 42: 656–666. doi: [10.1016/S0025-326X\(01\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00060-1)
- Lushchak, V.I., 2008. Oxidative stress as a component of transition metal toxicity in fish. In: Svensson, E.P. (Ed.), *Aquatic Toxicology Research Focus*. Nova Science Publishers Inc., Hauppaug, NY, USA, pp. 1–29.
- Lushchak, V.I., 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology* 101:13–30.
- Malhotra, J.D., Kaufman, R.J., 2007. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: A vicious cycle or a double-edged sword. *Antioxid. Redox Signaling*, 9: 2277–2293. doi: [10.1089/ars.2007.1782](https://doi.org/10.1089/ars.2007.1782)
- McAnulty, S.R., McAnulty, L.S., Nieman, D.C., Morrow, J.D., Utter, A.C., Henson, D.A., Dumke, C.L., Vinci, D.M., 2003. Influence of carbohydrate ingestion on oxidative stress and plasma antioxidant potential following a 3 h run. *Free Radic. Res.*, 37: 835–840. doi: [10.1080/107157603003850](https://doi.org/10.1080/107157603003850)
- Mieiro, C.L., Ahmad, I., Pereira, M.E., Duarte, A.C., Pacheco, M., 2010. Antioxidant system breakdown in brain of feral golden grey mullet (*Liza aurata*) as an effect of mercury exposure. *Ecotoxicology*, 19 (6): 1034–1045. doi: [10.1007/s10646-010-0485-0](https://doi.org/10.1007/s10646-010-0485-0)
- Mişe Yonar, S., Yonar, M.E., Yöntürk, Y., 2014. The effect of Curcumin some antioxidant parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). (in Turkish with English abstract). *Firat Univ. Journal of Science*, 26(1): 53-57.
- Papa, S., Skulachev, V.P., 1997. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Mol. Cell. Biochem.*, 174: 305–319.
- Ruiz-Leal, M., George, S., 2004. An in vitro procedure for evaluation of early stage oxidative stress in an established fish cell line applied to investigation of PHAH and pesticide toxicity. *Mar. Environ. Res.*, 58: 631–635. doi: [10.1016/j.marenvres.2004.03.054](https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.03.054)
- Sanchez, W., Piccini, B., Porcher, J.M., 2008. Effect of prochloraz fungicide on biotransformation enzymes and oxidative stress parameters in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). *J. Environ. Sci. Health, Part B* 43: 65–70. doi: [10.1080/03601230701735151](https://doi.org/10.1080/03601230701735151)
- Santos, T.G., Martinez, C.B.R., 2012. Atrazine promotes biochemical changes and DNA damage in a Neotropical fish species. *Chemosphere*, 89: 1118-1125. doi: [10.1016/j.chemosphere.2012.05.096](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.096)
- Sarkar, S., Sandip, M., Ansuman, C., 2014. Low dose of arsenic trioxide triggers oxidative stress in zebrafish brain: Expression of antioxidant genes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107: 1-8. doi: [10.1016/j.ecoenv.2014.05.012](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.012)
- Sepici, D.A., Benli, A.C., Selvi, M., Sarıkaya, R., Şahin, D., Özkul, A., Erkoç, F., 2009. Sublethal cyfluthrin toxicity to Carp 66 (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings: Biochemical, hematological, histopathological alterations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1433-1439.

- Shmarakov, I.O., Marchenko, M.M., 2008. Xanthine oxidase activity in the rat liver tissue in the process of oncogenesis. *Ukr. Biokhim. Zh.*, 80: 86-91.
- Sinhorin, V.D.G., Sinhorin, P.A., Santos Teixeira, J.M., Lazarotto Mileski, K.M., Hansen, P.C., Moreira, P.S.A., Honda Kowashita, N., Martins Baviera, A., Loro, V.L., 2014. Effects of the acute exposition to glyphosate-based herbicide on oxidative stress parameters and antioxidant responses in a hybrid Amazon fish surubim (*Pseudoplatystoma* sp). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 106:181-187.
- Sjölin, A. M. and Livingstone, D. R., 1997. Redox cycling of aromatic hydrocarbon quinones catalysed by digestive gland microsomes of the common mussel (*Mytilus edulis* L.). *Aquatic Toxicology*, 38: 83–99. doi: [10.1016/S0166-445X\(96\)00836-3](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(96)00836-3)
- Üreten, M., İşısağ Üçüncü, S., 2013. The effects of Dioktyl adipate (DOA) on liver and gill histology of *Sparus aurata* (Sea bream). (in Turkish with English abstract). *Ege J Fish Aqua Sci* 30(3): 115-122. doi: [10.12714/egejfas.2012.30.03.05](https://doi.org/10.12714/egejfas.2012.30.03.05)
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullas, M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64: 178–189. doi: [10.1016/j.ecoenv.2005.03.013](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.03.013)
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39: 44–84. doi: [10.1016/j.biocel.2006.07.001](https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001)
- Velez-Alavez, M., Labrada-Martagon, V., Mendez-Rodriguez, L.C., Galvan-Magana, F., Zenteno-Savin, T., 2013. Oxidative stress indicators and trace element concentrations in tissues of mako shark (*Isurus oxyrinchus*). *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 165(4):508-14. doi: [10.1016/j.cbpa.2013.03.006](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.006)
- Wright, J., George, S., Martinez-Lara, E., Carpena, E., Kindt, M., 2000. Levels of cellular glutathione and metallothionein affect the toxicity of oxidative stressors in an established carp cell line. *Mar. Environ. Res.*, 50: 503–508.