

Pullu sazan (*Cyprinus carpio* L)'da paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerine curcuminin etkisi

The effect of curcumin on paraoxonase and arylesterase enzyme activities in scaly carp (*Cyprinus carpio* L)

Selman Akoğul¹ • Serpil Mişe Yonar^{2*}

¹ Diyarbakır Ergani Tarım ve Orman Müdürlüğü, Ergani, Diyarbakır

² Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 23119, Elâziğ

 <https://orcid.org/0000-0003-4524-6437>

 <https://orcid.org/0000-0003-2736-5731>

Corresponding author: serpilmise@gmail.com

Received date: 25.12.2019

Accepted date: 16.05.2020

How to cite this paper:

Akoğul, S. & Mişe Yonar, S. (2020). The effect of curcumin on paraoxonase and arylesterase enzyme activities in scaly carp (*Cyprinus carpio* L). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(4), 329-334. DOI: [10.12714/egejfas.37.4.02](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.4.02)

Öz: Bu çalışmada; pullu sazanda (*Cyprinus carpio*) paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerine curcuminin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla curcumin 10, 20 ve 40 mg/kg yem dozlarında 21 gün süreyle balık yemlerinde verilmiştir. Bu periyodun sonunda balıklardan serum, karaciğer ve böbrek örnekleri alınmış ve paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerindeki değişimler araştırılmıştır.

Curcumin uygulanan grupların serum ve karaciğer paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktiviteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır. Böbrek paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinde belirlenen artış ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Arilesteraz, Balık, Curcumin, *Cyprinus carpio*, Enzim, Paraoksonaz

Abstract: In this study, the effect of curcumin on paraoxonase and arylesterase enzyme activities in scaly carp (*Cyprinus carpio*) were examined. For this purpose, curcumin was added into the feed during 21 days with 10, 20 and 40 mg/kg doses. At the end of this period, serum, liver and kidney samples were taken from the fish and changes in paraoxonase and arylesterase enzyme activities were investigated.

The serum and liver paraoxonase and arylesterase enzyme activities of the curcumin treated groups showed significant increases compared to the control group. The increase in kidney paraoxonase and arylesterase enzyme activities was statistically insignificant.

Keywords: Arylesterase, Fish, Curcumin, *Cyprinus carpio*, Enzyme, Paraoxonase

GİRİŞ

Balıklarda görülen hastalıkların tedavisinde kemoterapötik maddeler kullanılmaktadır. Ancak balıkların karaciğer, böbrek, bağırsak, deri gibi organlarına zarar vermesi, kas dokusunda birikerek insanlara geçmesi, bakterilerin kemoterapötik ilaçlara direnç kazanması, su zeminine çökerek sedimentasyon oluşturması, bağışıklık sistemini olumsuz yönde etkilemesi, etkisinin kısa süreli olması, oksidatif strese neden olması ve antioksidan mekanizmayı baskılaması, tüm enfeksiyonlara karşı etkili olmaması kemoterapötik ilaçların kullanımını sınırlandırmaktadır (Arda vd., 2005; Sağlam ve Yonar, 2009). Bu nedenle enfeksiyöz hastalıkların kimyasal maddeler kullanılarak kontrol altına alınmasında önemli problemlerle karşılaşmaktadır. Son zamanlarda hastalığın çıkmasını engelleyecek korunma önlemlerinin alınması, aşılama, doğal ya da sentetik immunostimulanlar ile balıkların direncini azaltarak hastalıkların oluşumuna sebep olan stres faktörlerine karşı antioksidanların kullanılabilirliği konusu oldukça önem kazanmıştır. Diğer taraftan su kalitesi kriterlerindeki değişim, yem kalitesinin düşük olması, aşırı stoklama, havuz temizliğine yeterince önem verilmemesi, gerekli hijyen koşullarına dikkat edilmemesi gibi yetiştiricilik koşullarının zaman zaman yetersizliği balıklarda strese neden

olmaktadır. Bu da bağışıklık sisteminin etkinliğini azaltabilmektedir (Karaca vd., 2014). Bu nedenlerden dolayı hastalık oluşmadan alınacak önlemler büyük önem taşımaktadır.

Bu önlemlerin alınmasında immunostimulan ve antioksidanların kullanılması önemli bir yer tutmaktadır. Curcumin [1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6 heptadiene-3,5-dione]; *Zingiberaceae* (Zencefilgiller) familyasına ait *Curcuma longa* (Turmerik, Zerdeçal, Zerdeçöp) bitkisinin rizomlarında bulunan, sarı-turuncu renkli biyoaktif bir maddedir. Uzak doğu ülkelerinde özellikle de Çin ve Hindistan' da yaygın olarak bulunan ve kullanılan *Curcuma longa* bitkisinin köklerinden elde edilen turmerik bir diğer ifadeyle zerdeçal, toprak altında yumrularıyla bir metreyi geçecek kadar büyüyen çok yıllık (yaşam süresi iki yıldan fazla olan) bir bitkidir. Bu bölgelerde baharat, gıdalarda bozulmayı önleyici ve boya maddesi olarak tercih edilmektedirler. Kullanımı oldukça eskiye dayanan zerdeçaldan geleneksel tedavide kullanılan bir ilaç olarak safra bozuklukları, anoreksiya, öksürük, diyabetik yaralar, karaciğer bozuklukları, romatizma ve sinüzit gibi farklı

hastalıkların iyileştirilmesinde de faydalandığı bildirilmiştir (Jageta ve Aggarwal 2007; Chattopadhyay vd., 2004; Maheshwari vd., 2006). Curcumin halen kozmetik ve ilaçlarda olduğu kadar baharat, köri (hint baharatı), hardal, patetes cipsleri gibi çok sayıda gıdada renk verici ajan olarak yaygın bir şekilde kullanım alanına sahiptir (Joe vd., 2004; Okada vd., 2001). Curcuminin kimyasal yapısı incelendiğinde benzen halkaları üzerinde fenolik ve metoksi grupları bulunduğu, yine β pozisyonunda bağlı 2 keton grubu içerdiği görülmektedir. Curcuminin bu yapısı kendisine antioksidan özellik kazandırmaktadır (İşitez, 2014). Bu özelliğinin yanı sıra son yıllardaki çalışmalarla curcuminin birçok farklı farmakolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Antikanserojen, antiinflamatuvar, antitümör ve antioksidan özelliklere sahip (Huminięki vd., 2017) curcuminin, kemoproventif, antiproliferatif, nöroprotektif, antimutajenik ve antimikrobiyal gibi önemli aktiviteler gösterdiği de belirtilmiştir (da Silva vd., 2018). Curcuminin önemli bir hormon düzenleyicisi olduğu, kardiovasküler hastalıkların yanı sıra ateroskleroz ve otoimmün hastalıkları engellediği ifade edilmiştir (Huminięki vd., 2017).

Abraham Mazur tarafından ilk olarak 1946 yılında keşfedilen paraoksonaz enziminin hem paraoksonaz hem de arilesteraz enzim aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir (Mazur, 1946; Mackness vd., 1987). Üç formdan oluşan (paraoksonaz 1, paraoksonaz 2, paraoksonaz 3) paraoksonaz/ arilesteraz enzim ailesinin son yıllardaki çalışmalarda yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ile düşük dansiteli lipoproteini (LDL) ve makrofajları oksidasyondan koruyarak antioksidan aktivite gösterdiği ifade edilmiştir (Gan, 1991; Li vd., 1993; Mackness vd., 1996; Mackness vd., 1997; Azarsız ve Sönmez, 2000; Gürsu ve Özdin, 2002).

Diğer taraftan curcuminin balıklar üzerindeki antioksidan etkisi, farklı parametreler kullanılarak farklı çalışmalarda ortaya konulmasına rağmen paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesine etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Paraoksonaz ve arilesteraz enzimlerinin aktivitesi curcumin kullanılarak artırılabilir ve bu sayede balıklar stres faktörlerine karşı daha güçlü hale getirilerek hastalıklara karşı daha dayanıklı bireyler elde edilebilir. Bu çalışmada paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerindeki değişimler incelenerek curcuminin pullu sazan (*Cyprinus carpio*)daki muhtemel antioksidan etkilerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan ve ortalama ağırlığı 50 ± 10 g olan pullu sazanlar (*Cyprinus carpio*) DSİ IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğü'nden canlı olarak temin edildi ve Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'ne getirildi.

Çalışmada $33 \times 100 \times 60$ cm ebatlarındaki 12 farklı cam akvaryum kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce dezenfekte edilen akvaryumların üstü balıkların kaçmasını önlemek için

balık ağı kullanılarak örtüldü. Akvaryumlar hava kompresörü yardımıyla sürekli havalandırıldı. Canlı olarak getirilen ve sağlıklı olup olmadıklarını belirlemek için makroskobik analizleri yapılan balıklar $33 \times 100 \times 60$ cm ebatlarındaki ve ayarlanabilen termostatlı ısıtıcılarla su sıcaklığı $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanmış 12 farklı cam akvaryumun her birinde 10 adet olacak şekilde yerleştirildi. Balıklar on beş gün süreyle ortama adapte edildi. Adaptasyon sırasında günde iki kez olmak üzere balıklara alabildikleri kadar ticari balık yemi verildi. 3 tekrarlı olarak yürütülen çalışmada her bir tekrar için 40 toplamda 120 balık kullanıldı.

Araştırmada, Sigma-Aldrich' den temin edilen curcumin (*Curcuma longa*; katalog no: C1386; kimyasal formülü: (E,E)-1,7-bis(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione, Diferuloylmethane, Diferulymethane, Natural Yellow 3) kullanıldı. Curcumin 10, 20 ve 40 mg/kg yem düzeyinde özel bir firmadan temin edilerek toz haline getirilmiş pelet yemlerle karıştırıldı. Çeşme suyu yardımıyla hamur haline dönüştürülen yem kıyma makinesinden geçirildi ve böylece tekrar pelet haline getirildi. Pelet haline getirilen yemler tepsilere bırakıldı ve yem fırınında kurutuldu. Kuruyan yemler kullanılabildiği kadar koyu renkteki cam şişeler içinde 4°C 'de saklandı. Balıklara uygulanan curcuminin oranları Mişe Yonar vd. (2013) ve Mişe Yonar vd. (2014)'e göre seçildi. Araştırma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı'na onaylandı (Protokol No: 2018/20).

Adaptasyonun sağlanmasından sonra balıklar aşağıdaki gibi biri kontrol üçü deneme olmak üzere dört grubu ayrıldı.

K: Curcumin içermeyen yem verilen grup (kontrol grubu)

CUR-10: 10 mg/kg yem dozunda curcuminin 21 gün süreyle verildiği grup,

CUR-20: 20 mg/kg yem dozunda curcuminin 21 gün süreyle verildiği grup,

CUR-40: 40 mg/kg yem dozunda curcuminin 21 gün süreyle verildiği grup.

Curcuminin 21 gün süreyle uygulanmasından sonra 22. günde her bir akvaryumdaki 10 balık (her bir grup için örnek sayısı 30) benzokainin 25 mg/L'lik konsantrasyonuyla anestezi edildi (San ve Yonar, 2017). Serum ve doku örneklerinin alınması için öncelikle anestezi edilen balıkların kavdal venasından kan örnekleri antikoagülan içermeyen jelli tüplere dolduruldu. Kan örneklerinin 3500rpm'de 10 dakika santrifüj edilmesiyle serumlar çıkarıldı.

Kan örneklerinin alınmasının ardından balıklar tekrar makroskobik olarak muayene edildi. Makroskobik muayeneyi takiben usulüne uygun şekilde otopsi edilen (Arda vd., 2005) balıklardan karaciğer ve böbrek örnekleri ayrılarak çıkarıldı. Karaciğer ve böbrekten homojenat hazırlamak için bu dokular 0,5 gram ağırlığında tartıldıktan sonra %1,15'lik potasyum klorür (KCl) ile 1/10 oranında dilüe edilerek homojenizatör yardımıyla ezilip homojenize edildi. Homojenatların 10 dakika boyunca $+4^\circ\text{C}$ 'de, 3200 rpm' deki santrifüjünü takiben çıkarılan süpernatantlar enzim aktivitelerini ölçmek için kullanıldı (Mişe Yonar vd., 2014).

Serum ile karaciğer ve böbrek homojenatlarında paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçüldü. 850 µl Tris-HCl tamponu (100 mM, pH:8) içerisine 100 µl substrat çözeltisi (2 mM paraokson + 2mM koenzim CaCl₂) ile 100 µl örnek eklenerek 37 °C'de absorbansta 1 dakikada oluşan değişim 412 nm'de okundu. Böylelikle paraoksonanın p-nitrofenole enzimatik dönüşüm hızı belirlenerek paraoksonaz enzim aktivitesi ölçüldü. Aynı prensiple arilesteraz enzim aktivitesi de belirlendi fakat substrat olarak fenilasetat kullanıldı (Dubravka vd., 2001). Enzim aktivitelerinin hesaplanması için hazırlanan standart grafikler kullanıldı.

İstatistiksel analizler için SPSS 21.0 istatistik paket programı kullanıldı. Kontrol ve deneme grubu balıklarının serum, karaciğer ve böbreğindeki paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinde belirlenen değişimler tek yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA) ile test edildi. Gruplar arasındaki farklılığın tespitinde ise Tukey testinden yararlanıldı (Sümbüloğlu, 1998; Kocaçalışkan ve Bingöl, 2008; Kalaycı, 2010).

BULGULAR

Adaptasyon ve deneme süresince balıkların yem alımlarında herhangi bir problem yaşanmazken balıklarda

herhangi bir ölüm de gerçekleşmedi. Çalışmaya başlamadan önce makroskobik olarak muayene edilen ve yine kan alımını takiben otopsi edilen balıkların klinik muayenesinde herhangi bir bulguya karşılaşılmadı.

Araştırma süresince sıcaklık, oksijen düzeyi ve pH'da önemli değişiklikler oluşmadı. Bu değerler sırasıyla 23±1 °C, 7,2±0,2 ve 8,15±0,13 mg/L olarak belirlendi.

Farklı oranlarda curcumin verilen CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarının serum, karaciğer ve böbreğindeki paraoksonaz enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre belirlenen değişimler Tablo 1' de gösterilmiştir.

Curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında serum paraoksonaz enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı görüldü (p<0.05). Bu artış kontrol grubuna göre CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında sırasıyla %13,80, %24,38 ve %29,39 olarak gerçekleşti. Curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme grupları kendi içinde karşılaştırıldığında ise CUR-20 ve CUR-40 gruplarının serum paraoksonaz enzim aktivitesinin CUR-10 grubundan farklı olduğu (p<0.05), CUR-40 grubunun serum paraoksonaz enzim aktivitesinin CUR-20 grubundan herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi (p>0.05).

Tablo 1. Kontrol grubu ile curcumin uygulanan grupların serum, karaciğer ve böbreğindeki paraoksonaz enzim aktivitesi (ortalama ± standart hata)

Table 1. Paraoxonase enzyme activity in serum, liver and kidney of control group and curcumin treated groups (mean ± standard error)

Doku	K	CUR-10	CUR-20	CUR-40
Serum (U/mL)	33,75±4,07 ^a	38,41±5,22 ^b	41,98±4,79 ^c	43,67 ± 3,92 ^c
Karaciğer (U/g)	36,86±5,21 ^a	44,48±4,73 ^b	49,20±4,11 ^c	53,76 ± 4,62 ^d
Böbrek (U/g)	23,04±3,16 ^a	23,47±2,10 ^a	23,88±3,02 ^a	23,95 ± 2,80 ^a

^{a,b,c,d}: Aynı satırda yer alan farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05)

Kontrol grubuna göre farklı dozlarda curcuminin verildiği CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında karaciğer paraoksonaz enzim aktivitesinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi (p<0.05). Bu artış kontrol grubuna göre CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında sırasıyla %20,67, %33,47 ve %45,84 olarak tespit edildi. Curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme grupları kendi içinde karşılaştırıldığında ise her üç grubun da karaciğer paraoksonaz enzim aktivitesinin birbirinden farklı olduğu görüldü (p<0.05).

Farklı oranlarda curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarının böbrek paraoksonaz enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış görüldü (p>0.05). Bu artış kontrol grubuna göre CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında sırasıyla %1,86, %3,64 ve %3,94 olarak gerçekleşti. Yine curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme grupları kendi içinde karşılaştırıldığında her üç grubun böbrek

paraoksonaz enzim aktivitesinin de birbirinden farklı olmadığı saptandı (p>0.05).

Farklı oranlarda curcumin verilen CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarının serum, karaciğer ve böbreğindeki arilesteraz enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre belirlenen değişimler Tablo 2'de gösterilmiştir.

Curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında serum arilesteraz enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı görüldü (p<0.05). Bu artış kontrol grubuna göre CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında sırasıyla %10,78, %21,83 ve %24,12 olarak saptandı. Curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme grupları kendi içinde karşılaştırıldığında ise CUR-20 ve CUR-40 gruplarının serum arilesteraz enzim aktivitesinin CUR-10 grubundan farklı olduğu (p<0.05), CUR-40 grubunun serum arilesteraz enzim aktivitesinin CUR-20 grubundan herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi (p>0.05).

Tablo 2. Kontrol grubu ile curcumin uygulanan grupların serum, karaciğer ve böbreğindeki arilesteraz enzim aktivitesi (ortalama \pm standart hata)
Table 2. Arylesterase enzyme activity in serum, liver and kidney of control group and curcumin treated groups (mean \pm standard error)

Doku	K	CUR-10	CUR-20	CUR-40
Serum (U/mL)	122,49 \pm 11,30 ^a	135,70 \pm 14,83 ^b	149,23 \pm 17,21 ^c	152,04 \pm 16,09 ^c
Karaciğer (U/g)	147,33 \pm 15,75 ^a	164,43 \pm 18,13 ^b	185,47 \pm 20,58 ^c	182,68 \pm 14,92 ^c
Böbrek (U/g)	96,22 \pm 12,01 ^a	98,28 \pm 10,05 ^a	99,01 \pm 14,62 ^a	98,36 \pm 10,29 ^a

a,b,c,d: Aynı satırda yer alan farklı harfler taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$)

Kontrol grubuna göre farklı dozlarda curcuminin verildiği CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında karaciğer arilesteraz enzim aktivitesinin istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı belirlendi ($p < 0.05$). Bu artış kontrol grubuna göre CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında sırasıyla %11,60, %25,88 ve %23,99 olarak tespit edildi. Curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme grupları kendi içinde karşılaştırıldığında ise CUR-20 ve CUR-40 gruplarının karaciğer arilesteraz enzim aktivitesinin CUR-10 grubundan farklı olduğu ($p < 0.05$), CUR-40 grubunun karaciğer arilesteraz aktivitesinin CUR-20 grubundan herhangi bir farklılık göstermediği belirlendi ($p > 0.05$).

Farklı oranlarda curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarının böbrek arilesteraz enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış görüldü ($p > 0.05$). Bu artış kontrol grubuna göre CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında sırasıyla %2,14, %2,89 ve %2,22 olarak gerçekleşti. Yine curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme grupları kendi içinde karşılaştırıldığında her üç grubun böbrek arilesteraz enzim aktivitesinin de birbirinden farklı olmadığı saptandı ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Araştırma boyunca kontrol ve farklı oranlarda curcumin verilen deneme grubu balıklarında ölüm olayıyla karşılaşmamıştır. Balıkların curcumin içeren yemleri aldıkları görülmüştür. Çalışma öncesindeki adaptasyon sırasında ve curcuminin uygulandığı 21 günlük süre zarfında hem kontrol hem de deneme grubu balıklarında yapılan makroskobik muayene sonucunda klinik herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır. Yine her iki süre zarfında bu balıklar rutin davranışlar göstermiştir. Bu bulgular 21 gün için uygulanan farklı dozlardaki curcuminin balıklarda herhangi bir olumsuz etki göstermediğini, güvenilir bir şekilde belirtilen doz ve sürelerde balıklara verilebileceğini açığa çıkarmıştır.

Hem yetiştiriciliğinin yapılması hem de doğal ortamda geniş dağılım göstermesi nedeniyle ülkemiz için önemli bir balık türü olan pullu sazan laboratuvar ortamına kolayca uyum gösterebilmektedir. Bu türün değişik ortamlara kolayca uyum sağlaması, beslenme ve yetiştirilmesindeki kolaylık, doğal suların bol ve kolayca elde edilebilmeleri ve ayrıca ekonomik değerlerinin yüksekliği gibi önemli özellikleri yüzünden akuatik ve toksikolojik çalışmalarda oldukça fazla tercih edilmektedir. Bu çalışmada da paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerindeki değişimlerin incelenmesiyle

elde edilen sonuçlar kullanılarak curcuminin antioksidan etkisinin ortaya çıkarılması için *Cyprinidae* familyasına ait pullu sazan (*Cyprinus carpio*) kullanılmıştır.

Curcuminin farklı dozlarının uygulandığı bu tez çalışmasında paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesinde serum, karaciğer ve böbrek kullanılmıştır. Balıklarda immunostimulan ve antioksidan karaktere sahip maddelerin etkilerinin belirlenmesi amacıyla en fazla tercih edilen organlar kan ve karaciğerdir (Çağdaş vd., 2017; Yonar vd., 2019). Çünkü diğer omurgalılarda olduğu gibi balıklarda da primer metabolik organ karaciğerdir. Diğer taraftan karaciğerde meydana gelen aktivitelerdeki değişimlerin yansımaları kan dokusunda da görülebilmektedir (Percin ve Konyalioglu, 2008). Ayrıca paraoksonaz enzimi memelilerde karaciğerde sentezlenmekte, HDL' ye bağlı olarak serumda bulunmaktadır. Açıklanan bu nedenlerden dolayı bu çalışmada da curcumin uygulandıktan sonra paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesinde oluşan değişimler serum ile karaciğer ve böbrekte incelenmiştir.

Balıklarda paraoksonaz ve arilesteraz enzimi aktiviteleri ile ilgili çalışmalar son yıllarda bir hayli artmıştır. Folly vd. (2001) paraoksonaz enzim aktivitesinin varlığını ve bu enziminin HDL ile ilişkisini *Piaractus mesopotamicus* türü balıklarda, Bastos vd. (2004) ise *Hypostomus punctatus*, *Piaractus mesopotamicus*, *Brycon cephalus* ve *Salminus brasiliensis* türü neotropikal balıklarda paraoksonaz enzim aktivitesinin varlığını göstermişlerdir. Doğadan yakalananlara göre kültür şartlarında yetiştirilen gökkuşuğu alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) (Karataş ve Kocaman, 2012) ve kültür altındaki kaynak alabalığında (*Salvelinus fontinalis*) (Karataş ve Kocaman, 2014) serum paraoksonaz enzim aktivitesi daha yüksek bulunmuştur. Yöntürk ve Yonar (2018) antioksidan özelliğe sahip polenin 21 gün süreyle %1, %2 ve %4 oranında uygulandığı alabalıkların (*Oncorhynchus mykiss*) serum ve karaciğer paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesinde istatistiksel herhangi bir farklılık belirleyememişlerdir. Bu çalışmada ise farklı oranlarda curcumin içeren yemlerle beslenen pullu sazanda paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktiviteleri serum, karaciğer ve böbrekte araştırılmış, curcumin uygulamasıyla bu aktivitelerin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesinin dokular arasında farklılık gösterdiği saptanmıştır.

Diğer taraftan balıklar için toksik olan metal ve pestisitlerin paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesine etkisini araştıran çalışmalar da yapılmıştır. Bu çalışmalarda

paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesindeki değişiklikler incelenerek toksik maddelerin vücutta oluşturduğu negatif etkiler belirlenmeye çalışılmıştır. Bakır, civa, kadmiyum ve kobalt metallerinin sazanlarda (Beyaztaş vd.,2007), (Ni²⁺), (Cd²⁺), (Hg²⁺) ve (Cu²⁺) metallerinin *Scylliorhinus canicula* balıklarında (Sayın vd., 2012) paraoksonaz enzim aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Çinko sülfat (ZnSO₄) formunda 5 ve 10 mg/L konsantrasyonlarındaki çinkonun 10 gün boyunca uygulandığı *Capoeta capoeta*' da plazma paraoksonaz-1 enzim aktivitesinin düştüğü ve bu aktivitenin metallere karşı çok duyarlı olduğu ifade edilmiştir (Deveci vd., 2015). Benzer bir sonuç yine sazanlarda yapılan bir çalışmadan elde edilmiş, 28. gün boyunca 15, 30 ve 60 ppb konsantrasyonlarında uygulanan kromun serum paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitesini düşürdüğü tespit edilmiştir (Yonar vd., 2012). Gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nda karbosulfanın mutajenik, genotoksik ve enzim inhibitör etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, paraoksonaz enzim aktivitesinde istatistiki olarak önemli olmayan bir inhibisyonun gerçekleştiği belirlenmiştir (Altınok vd., 2012). Yapılan başka bir çalışmada ise paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinin 0,25, 0,5 ve 1 mg/L konsantrasyonundaki malathion uygulamasıyla azaldığı ancak bu aktivitelerin uygulama sonunda kontrol grubuna yaklaştığı görülmüştür (Kılıç ve Yonar, 2017). Bu çalışmada ise 10, 20 ve 40 mg/kg yem oranında curcumin uygulanan CUR-10, CUR-20 ve CUR-40 deneme gruplarında paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinin arttığı saptanmıştır. Toksik maddelerin aksine antioksidan ve immunostimulan özelliklere sahip curcuminin özellikle serum ve karaciğer paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinde kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artışa yol açmıştır. Bu sonuca göre curcuminin pullu sazanda herhangi bir toksik etki göstermediği ve stres oluşturmadığı dolayısıyla güvenli bir şekilde kullanılabileceği görülmektedir.

Curcuminin balıklardaki antioksidan etkisi farklı parametreler kullanılarak yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir. Mişe Yonar vd. (2014) tarafından gökkuşacağı alabalığında yapılan bir çalışmada, kontrol grubuna kıyasla curcuminin 10 mg/kg yem, 20 mg/kg yem ve 40 mg/kg yem

oranında uygulandığı grupların karaciğer, böbrek ve dalak dokusunda malondialdehit (MDA) düzeylerinin düştüğü, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri ile redükte glutatyon (GSH) düzeyinin arttığı ifade edilmiştir. Benzer bir sonuç Manju vd. (2012) tarafından elde edilmiş %0,5 ve 1 düzeyinde yeme katılan curcuminin, 2. hafta sonunda *Anabas testudineus* türü balıklarda karaciğer lipit peroksidasyon düzeyini önemli oranda azalttığı fakat GSH-Px ve GR enzim aktivitelerinde herhangi bir değişime neden olmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise curcuminin uygulanan her üç deneme grubunda da paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı, yine curcuminin artan dozuna bağlı olarak paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerindeki artışın daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç yukarıdaki araştırmacıların bulgularıyla paralel olarak curcuminin antioksidan kapasiteyi artırmasıyla açıklanabilir. Nitekim deney fareleri ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda da paraoksonaz enzim aktivitesiyle oksidatif stres arasında karşılıklı bir ilişki olduğu, paraoksonaz enziminin diğer özelliklerinin yanı sıra antioksidan özellik de gösterdiği ifade edilmiştir (Aviram vd., 1999).

Sonuç olarak; curcuminin pullu sazanın farklı dokularında paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerini olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Bu sonuç curcuminin balıklarda antioksidan savunmayı güçlendirdiğini buna bağlı olarak da balıklara antioksidan olarak uygulanabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen sonuçlar antioksidanların etkilerinin veya kullanılabilirliğinin belirlenmesinde paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinin ölçülmesinin bir biyobelirteç olarak kabul edilebileceğini göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma; Yüksek Mühendis Selman AKOĞUL'un yüksek lisans tezinden özetlenmiş ve Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Yönetim Birimi tarafından SÜF.18.01. Nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKÇA

- Altınok I., Capkın, E. & Boran, H. (2012). Mutagenic, genotoxic and enzyme inhibitory effects of carbosulfan in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102, 61-67. DOI: [10.1016/j.pestbp.2011.10.011](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.10.011)
- Arda, M., Seçer, S. & Sarıyüyoğlu, M. (2005). Balık Hastalıkları. Ankara: Medisan Yayınevi.
- Aviram, M., Rosenbalt, M., Billecke, S., Eroglu, J., Sorenson, R., Bisgaiier, C.L., Newton, R.S. & La Du, B. (1999). Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 892-904. DOI: [10.1016/S0891-5849\(98\)00272-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00272-X)
- Azarsız, E. & Sönmez E.Y. (2000). Paraoksonaz ve klinik önemi. *Türk Biyokimya Dergisi*, 25, 109-119.
- Bastos, V.L.F.C., Alves, M.V., Bernardino, G., Ceccarelli, P.S. & Bastos, J.C. (2004). Paraoxonase Activity in Sera of Four Neotropical Fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 72, 798-805. DOI: [10.1007/s00128-004-0315-2](https://doi.org/10.1007/s00128-004-0315-2)
- Beyaztaş, S., Türker, D., Sinan, S. & Arslan, O. (2007). *Cyprinus carpio* paraoksonaz enziminin bazı ağır metallere inhibisyon etkisinin incelenmesi. 21. Ulusal Kimya Kongresi, 23-27 Ağustos, Malatya.
- Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U. & Banerjee, R.K. (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current Science*, 87(1), 44-53.
- Çağdaş, B., Kocagöz, R., Onat, İ., Perçin, F., Özyayın, O. & Orhan, H. (2017). Periodic Monitoring of Persistent Organic Pollutants and Molecular Damages of *Cyprinus carpio* from Büyük Menderes River. *Environmental Science Pollution Research International*, 24, 4241-4251, 2017. DOI: [10.1007/s11356-015-4848-1](https://doi.org/10.1007/s11356-015-4848-1)
- da Silva, A.C., de Freitas Santos, P.D., do Prado Silva, J.T., Leimann, F.V., Bracht, L. & Gonçalves, O.H. (2018). Impact of curcumin

- nanoformulation on its antimicrobial activity, *Trends in Food Science & Technology*, 72, 74-82. DOI: [10.1016/j.tifs.2017.12.004](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.004)
- Deveci, H.A., Kaya, İ., Yılmaz, M. & Karapehlivan, M. (2015). Effect of zinc sulphate on the levels of plasma paraoxonase activity, total oxidant and high density lipoprotein of transcaucasian barb (*Capoeta capoeta* Guldenstaedt, 1773). *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(9), 2732-2735.
- Dubravka, J., Milena, T., Branka, R., Vrea, S.R., Elsa, R. & Martin, B. (2001). Serum paraoxonase activities in the hemodialyzed uremic patients: Cohort study. *Clinical Science*, 42, 146-150.
- Folly, E., Bastos, V.L.C., Alves, M.V., Bastos, J.C. & Atella, G.C. (2001). A high density lipoprotein from *Piaractus mesopotamicus*, pacu, (Osteichthyes, Characidae), is associated with paraoxonase activity. *Biochimie*, 83, 945-951. DOI: [10.1016/S0300-9084\(01\)01342-6](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(01)01342-6)
- Gan, N., Smolen, A., Eckerson, W. & La Du B.N. (1991). Purification of human serum paraoxonase/arylesterase, Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metabolism and Disposition*, 19, 100-106.
- Gürsu, M.F. & Özdin, M. (2002). Sigara içenlerde serum paraoksonaz (PON1) aktiviteleri ile malondialdehit düzeylerinin araştırılması. *Fırat Tıp Dergisi*, 7, 732-737.
- Huminiecki, L., Horbańczuk, J. & Atanasov, A.G. (2017). The functional genomic studies of curcumin, *Seminars in Cancer Biology*, 46, 107-118. DOI: [10.1016/j.semcancer.2017.04.002](https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.04.002)
- İşitez, N. (2014). Alkileyici ajanlar tarafından uyarılan genotoksisite üzerine curcuminin etkisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Afyon.
- Jagetia, G.C. & Aggarwal, B.B. (2007). "Spicing Up" of the immune system by curcumin, *Journal of Clinical Immunology*, 27(1), 19-35. DOI: [10.1007/s10875-006-9066-7](https://doi.org/10.1007/s10875-006-9066-7)
- Joe, B., Vijaykumar, M. & Lokesh, B.R. (2004). Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 44, 97-111. DOI: [10.1080/10408690490424702](https://doi.org/10.1080/10408690490424702)
- Kalaycı, Ş. (2010). SPSS Uygulamalı Çok Değişkenli İstatistik Teknikleri. Ankara: Asil Yayınları.
- Karaca, M., Varışlı, L., Korkmaz, K., Özaydın, O., Perçin, F. & Orhan, H. (2014). Organochlorine Pesticides and Antioxidant Enzymes are inversely correlated with liver enzyme gene expression in *Cyprinus carpio*. *Toxicology Letters*, 230, 198-207. DOI: [10.1016/j.toxlet.2014.02.013](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.02.013)
- Karataş, T. & Kocaman, E.M. (2012). Comparison of Paraoxonase Activity, Malondialdehyde and High-Density Lipoprotein Levels in Cultivated Normal and Albino Rainbow Trout Reared in the Same Conditions. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(1), 87-90. DOI: [10.9775/kvfd.2011.4971](https://doi.org/10.9775/kvfd.2011.4971)
- Karataş, T. & Kocaman, E.M. (2014). Susceptibility to oxidative damage in wild and cultured brook trouts (*Salvelinus fontinalis* Mitchell, 1815). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(1), 180-183.
- Kılıç, T. & Yonar, M.E. (2017). Malathionun pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'da paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerine etkisinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 31(2), 87-92.
- Kocaçalışkan, İ. & Bingöl, N.A. (2008). *Biyoistatistik*. Ankara: Nobel Yayınları.
- Li, W.F., Costa, L.G. & Furlong, C.E. (1993). Serum paraoxonase status: A major factor in determining resistance to organophosphates. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40, 337-346. DOI: [10.1080/15287399309531798](https://doi.org/10.1080/15287399309531798)
- Mackness, M.I., Arrol, S.I., Mackness, B. & Durrington, P.N. (1997). Allo-enzymes of paraoxonase and effectiveness of high density lipoproteins in protecting low density lipoprotein against lipid peroxidation. *Lancet*, 349, 851-852.
- Mackness, M.I., Mackness, B., Durrington, P.N., Connely, P.W. & Hegele, R.A. (1996). Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Current Opinion Lipidology*, 7, 69-76.
- Mackness, M.I., Walker, C.H. & Carson, L.A. (1987). Low'A'-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease. *Clinical Chemistry*, 3, 587-588.
- Maheshwari, R.K., Singh, A.K., Gaddipati, J. & Simal, R.C. (2006). Multiple biological activities of curcumin: A short review. *Life Sciences*, 78, 2081-2087. DOI: [10.1016/j.lfs.2005.12.007](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.12.007)
- Manju, M., Akbarsha, M.A. & Oommen, O.V. (2012). In vivo protective effect of dietary curcumin in fish *Anabas testudineus* (Bloch). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(2), 309-318. DOI: [10.1007/s10695-011-9508-x](https://doi.org/10.1007/s10695-011-9508-x)
- Mazur, A. (1946). An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates. *The Journal of Biological Chemistry*, (164), 271-289.
- Mişe Yonar, S., Yonar, M.E. & Yöntürk, Y. (2014). Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)'nda Curcuminin Bazı Antioksidan Parametreler Üzerine Etkisi. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 26(1), 53-57.
- Mişe Yonar, S., Yonar, M.E., Yöntürk, Y. & Pala, A. (2013). Curcuminin gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)' nda bazı hematolojik parametrelere etkisi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi (BİBAD)*, 6 (1), 59-61.
- Okada, K., Wangpoentrakul, C., Tanaka, T., Toyokuni, S., Uchida, K. & Osawa, T. (2001). Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice. *Journal of Nutrition*, 131, 2090-2095. DOI: [10.1093/jn/131.8.2090](https://doi.org/10.1093/jn/131.8.2090)
- Percin, F. & Konyalioglu, S. (2008). Serum Biochemical Profiles of Captive and Wild Northern Bluefin Tuna, (*Thunnus thynnus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean. *Aquaculture Research*, 39, 945-953. DOI: [10.1111/j.1365-2109.2008.01954.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01954.x)
- Sağlam, N. & Yonar, M.E. (2009). Effects of sulfamerazine on selected haematological and immunological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). *Aquaculture Research*, 40, 395-404. DOI: [10.1111/j.1365-2109.2008.02105.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02105.x)
- San, A. & Yonar, M.E. (2017). Determination of oxidative stress in scaly carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) exposed to deltamethrin in different water temperature. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3), 281-286. DOI: [10.12714/egejfas.2017.34.3.06](https://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.3.06)
- Sayın, D., Türker Çakır, D., Gençer, N. & Arslan, O. (2012). Effects of some metals on paraoxonase activity from shark *Scyliorhinus canicula*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(4), 595-598. DOI: [10.3109/14756366.2011.604320](https://doi.org/10.3109/14756366.2011.604320)
- Sümbüloğlu, K. (1998). *Biyoistatistik*. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi.
- Yonar, M.E., Mişe Yonar, S., Çoban, M.Z. & Eroğlu, M. (2012). The effect of propolis on serum paraoxonase and arylesterase enzyme activities in *Cyprinus carpio* during chromium exposure. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(6), 1399-1402.
- Yonar, M.E., Mişe Yonar, S., İspir, Ü. & Ural, M.Ş. (2019). Effects of curcumin on haematological values, immunity, antioxidant status and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas salmonicida* subsp. *Achromogenes*. *Fish & Shellfish Immunology*, 89, 83-90. DOI: [10.1016/j.fsi.2019.03.038](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.03.038)
- Yöntürk, Y. & Yonar, M.E. (2018). Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)' nda arı polenin paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerine etkisinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 30(2), 23-27.