



## Sucul Ortamların İzlenmesinde Balık Biyobelirteci Olarak Histopatolojik Değerlendirme

A. Erdem DÖNMEZ

\*<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü, 33160 Mersin, Türkiye

Geliş Tarihi: 01.02.2023

Kabul Tarihi: 23.05.2023

Basım Tarihi: 30.06.2023

Atıf yapmak için: Dönmez, A.E. (2023). Sucul ortamların izlenmesinde balık biyobelirteci olarak histopatolojik değerlendirme. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 8(2), 183-190. <https://doi.org/10.35229/jaes.1245431>

How to cite: Dönmez, A.E. (2023). Histopathological assessment as a fish biomarker for monitoring aquatic environments. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 8(2), 183-190. <https://doi.org/10.35229/jaes.1245431>

 <https://orcid.org/0000-0001-5460-1811>

\*Sorumlu yazarın:  
A. Erdem DÖNMEZ  
Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi  
Yetiştiricilik Bölümü, 33160 Mersin, Türkiye  
✉: [edonmez@mersin.edu.tr](mailto:edonmez@mersin.edu.tr)

Öz: Sucul ortamların kimyasal açıdan izlenmesi, sulardaki kirlenme derecesinin ölçülmesine yardımcı olmaktadır. Bununla birlikte kirliliğin etkilerinin belirlenmesi için yapılan etki değerlendirme çalışmalarında biyoizleme araçlarına gereksinim duyulmaktadır. Balıklar dahil olmak üzere çeşitli organizmalar üzerindeki kirlilik etkilerinin değerlendirilmesi biyobelirteç yanıtı kullanılarak yapılabilmektedir. Farklı balık türleri bu amaçla çeşitli biyokimyasal çalışmalar kapsamında araştırılmıştır. Uluslararası Deniz Keşif Konseyi (ICES) kirliticileri izleme programlarında biyolojik değerlendirme amacıyla uyguladığı biyobelirteçler setinde histopatolojik değerlendirmeye de yer vermektedir. Histopatolojik tekniklerin kullanılması, çevresel kimyasallara maruz kalma ile etkilenen belirli hedef organların ve hücrelerin incelenmesine olanak tanımaktadır. İncelenen göstergeler kirlenme maddelerinin, balıkların organları üzerindeki kronik ve ölümcül olmayan etkileri hakkında bilgi sağlayabilmesi ve oluşan stresin değerlendirilmesi amaçlarıyla balık sağlığı çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Çünkü balıklardaki histopatolojik değişiklikler esas olarak su kalitesine bağlıdır. Değişmiş veya kirlenmiş ortamların tanımlanması açısından faydalı göstergeler olduklarından, genellikle kirlenmiş su ekosistemlerinin araştırılmasında kullanımları daha yaygındır. Balık metabolizması ve fizyolojisinde meydana gelen değişiklikler organ morfolojisinde de değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişiklikler histopatolojik inceleme yoluyla da saptanabilmektedir. Ayrıca bir skorlama sisteminin kullanılmasıyla bu değişikliklerin çevresel stres faktörleriyle ilişki düzeyinin saptanması da mümkün olmaktadır. Solungaçlar, karaciğer, böbrek ve deri dokularında oluşan lezyonlar balıkların sağlık durumunun değerlendirilmesinde en sık kullanılan histopatolojik göstergelerdir. Bu nedenlerle, özellikle toksikolojik etkilerin tanımlanmasında histopatolojik inceleme altın standart olarak da kabul edilmektedir. Bu derleme, sucul ortamların izlenmesinde bir biyobelirteç olarak histopatolojinin önemine dair genel bir değerlendirme sunmayı amaçlamaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Balık, biyobelirteç, histopatoloji, patomorfoloji, su kirliliği.

## Histopathological Assessment as a Fish Biomarker for Monitoring Aquatic Environments

**Abstract:** Chemical monitoring of aquatic environments helps to measure the degree of contamination in waters. However, biomonitoring tools are needed in impact assessment studies to determine the effects of pollution. Evaluation of pollution effects on various organisms, including fish, can be done using biomarker responses. Different fish species have been investigated in various biochemical studies for this purpose. The International Council for the Exploration of the Sea (ICES) also includes histopathological evaluation in the set of biomarkers used for biological evaluation in various pollutant monitoring programs. The use of histopathological techniques allows the examination of specific target organs and cells affected by exposure to environmental chemicals. The indicators examined are frequently used in fish health studies to provide information about the chronic and nonlethal effects of pollutants on the organs of fish and to evaluate the resulting stress. Because histopathological changes in fish mainly depend on water quality. They are generally more common in the investigation of polluted water ecosystems, as they are good indicators for identifying altered or contaminated environments. Changes in fish metabolism and physiology also cause changes in organ morphology. These changes can be detected by histopathological examination. In addition, by using a scoring system, it is possible to determine the level of relationship between these changes and environmental stress factors. Lesions in the gills, liver, kidney and skin tissues are the most commonly used histopathological indicators in the evaluation of the health status of fish. For these reasons, histopathological examination is also accepted as the gold standard, especially in the identification of toxicological effects. This review aims to provide an overview of the importance of histopathology as a biomarker in monitoring aquatic environments.

\*Corresponding author:  
A. Erdem DÖNMEZ  
Mersin University, Faculty of Fisheries,  
Department of Aquaculture, 33160 Mersin,  
Türkiye.  
✉: [edonmez@mersin.edu.tr](mailto:edonmez@mersin.edu.tr)

**Keywords:** Biomarker, fish, histopathology, pathomorphology, water pollution.

## GİRİŞ

Dünyadaki su habitatlarının % 65'i, biyolojik çeşitlilik açısından orta ila yüksek düzeyde tehdit altında bulunmaktadır (Vörösmarty vd., 2010). Bu tehdide yol açan en önemli nedenler arasında pestisitlerle organik yükler, metal birikimi, asitlenme, termal değişim ve tarımsal üretim gibi antropojenik kaynaklı etkenler sayılabilir. Su kütleleri sıklıkla sucul canlılarda biyokimyasal ve histopatolojik değişimlere neden olan çok çeşitli kimyasal kirletici maddelere açısından depo görevi de görmektedir. Bu maddelerin sudaki karmaşık etkileşimleri nedeniyle, ekosistem bütünlüğü üzerindeki tüm izlerini takip etmek tam anlamıyla mümkün değildir. Ekosistem kirliliğinin izlenmesinde tipik yöntem, suyun fiziksel ve kimyasal parametrelerine göre farklı kategorilerde sınıflandırılmasıdır (Reddy & Rawat, 2013; Raskovic & Poleksic, 2017).

Kirletici maddeler; liman faaliyetleri, endüstriyel atıklar, kanalizasyon suları, yağmur suyu drenajları gibi kaynaklar ile tarımsal / kentsel kökenli kaynaklar ve atmosferik taşınma aracılığıyla sucul ortamlara karışabilmektedir (Kroon vd., 2017). Tüm sucul ekosistemler potansiyel olarak bu tür kirletici maddelere karşı savunmasız olduğundan, sucul organizma sağlığı üzerinde kirliliğin etkilerinin araştırılması önemli konuların başında gelmektedir (Baines vd., 2021). Bu durum, sucul ortamlarda su kalitesinin izlenmesinin ve yönetilmesinin gerekliliğini de ortaya koymaktadır. Kirlenmiş alanlardaki sucul canlılarda biyobirikim ve biyobelirteç yanıtlarının ölçümleri, çevresel risk değerlendirmesi için tasarlanmış çevresel izleme programlarına katkıda bulunabilecek bilgiler sağlamaktadır (Poleksic vd., 2010; Luczynska vd., 2018). Bu izleme ve değerlendirmeler için günümüzde iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan ilki, sucul ortamlarda kirlilik oluşturan maddelerinin varlığının kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanarak doğrudan ölçülmesidir. İkincisi ise sucul ortamlarda yaşayan canlıların bireysel veya toplu olarak fizyolojik parametrelerini inceleyerek sağlık durumları üzerinden yapılan biyolojik değerlendirmelerdir (Sweidan vd., 2015). Çevresel izlemenin nihai amacının biyolojik/ekolojik sistemleri korumak olduğu düşünüldüğünde, çevredeki potansiyel zararlı maddelere maruz kalmanın genel biyolojik etkilerini incelemenin zorunluluğu anlaşılmaktadır. Bu durum, kimyasal bazlı izlemeden biyolojik bazlı izlemeye geçiş eğiliminin artmasına yol açmıştır (Lam, 2009).

Histopatoloji, bir organizmanın doku ve hücrelerinin mikroskopik olarak incelenmesi ve histolojik anormalliklerin yarı niceliksel olarak ifade edilmesi çalışmasıdır. Ksenobiyotik maddelerin hedef organlardaki

etkilerinin belirlenmesinde özellikle erken dönemde ortaya çıkmaları nedeniyle histolojik değişikliklerin iyi bir biyobelirteç parametre olduğu kabul edilmektedir (Greenfield vd., 2008; Poleksic vd., 2010). Bu nedenle, akut ve kronik durumları izlemek ve fizikokimyasal analizlere ek veri sağlamak için farklı balık dokularındaki histolojik değişikliklerin incelenmesi sucul toksikolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. Ek olarak, balık organlarında gözlemlenen histolojik değişiklikler çeşitli biyoizleme programları kapsamında sucul ekosistemlerin ekolojik kalitesi için de biyobelirteç parametre olarak değerlendirilmektedir. Histopatolojik değişikliklerin çeşitli antropojenik kirleticilerin etkilerinin gösterilmesinde kullanılabileceği ve ekosistemde çalışılan popülasyonun genel sağlık durumlarının değerlendirilmesinde de önemli bir veri olacağı belirtilmektedir. Ayrıca histopatoloji, saha incelemeleri için hem kısa hem de uzun vadeli toksik etkileri değerlendirmenin en pratik yöntemlerinden biri olarak da kabul edilmektedir (Braunbeck vd., 1990; Hinton & Lauren 1990; Schwaiger vd., 2004; Yancheva vd., 2016).

**Biyobelirteç Kavramı:** Biyobelirteçlerin tanımı, çevre bilimlerinde farklı biçimlerde ifade edilebilmektedir. Birleşik Devletler (ABD) Ulusal Bilimler Akademisi biyobelirteç kavramını, bir biyolojik sistem veya örnekte ölçülebilen hücresel ve biyokimyasal bileşen veya süreçlerin, ksenobiyotikler tarafından indüklenmesinin bir varyasyonu olarak tanımlamıştır. Biyokimyasal/fizyolojik tepkilerdeki değişiklikler ile ekolojik etkiler arasında önemli bir bağlantı olduğu kabul edildiğinden, bu tanım daha sonra davranışsal parametreleri de içerecek şekilde genişletilmiştir (Monserrat vd., 2012). Bazen biyobelirteçler olarak adlandırılan biyolojik değişiklikler, alt organizma seviyesinden (biyokimyasal, fizyolojik veya histolojik) topluluk ve ekosistem seviyelerine kadar farklı biyolojik organizasyon seviyelerinde de meydana gelebilmektedir (Wright & Welbourn, 2002). Genel olarak bir biyobelirteç, organizmanın belirli bir ortamda büyüme, üreme, hayatta kalma ve uyum sağlama yeteneğini etkileyebilen bir stres ajanının herhangi bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Ayrıca biyobelirteç terimi bir bireydeki veya bireysel organizasyon düzeyindeki bir göstergeye atıfta bulunmak için de kullanılmaktadır. Bu gösterge, moleküler ve biyokimyasal süreçlerde, hücresel yapı ve işlevlerde, doku organizasyonunda veya tek tek organlar ya da tüm vücudun ağırlık ve uzunluk oranlarında meydana gelen değişiklikler olabilmektedir. Bununla birlikte, stres oluşturan ajanın doğru tanımlanması, çevre sağlığını izlemek açısından biyobelirteç kullanımının önemli detaylarından birisidir. Biyobelirteç ölçümlerindeki değişiklikler ortamdaki kirleticilerden kaynaklanmakla birlikte genellikle organizma sağlığı ve mevsimsel

değişimler gibi diğer değişkenleri de yansıtılmaktadır. Biyobelirteç tepkilerinin ortamdaki kirlenmeler dışındaki farklı nedenlerden kaynaklanma olasılığını ortadan kaldırmak veya en düşük düzeye indirmek için, biyobelirteç uygulamalarında uygun kontrollerin kullanılması esastır (Parente & Hauser Davies, 2014; Jaffer vd. 2017).

Belirli bir kimyasal maddenin çevresel ortamlardaki varlığı kimyasal analizlerle ortaya konduğunda, o maddenin biyolojik olarak kullanılabilir olduğu anlamına gelmediği gibi, biyolojik sistemler üzerinde herhangi bir zararlı etkisinin olup olmadığı sonucuna da varılamamaktadır. Bununla birlikte biyolojik sistemler genellikle kimyasal karışımlara veya zararlı ajanlara maruz kalmaktadır. Kimyasal maddeler, çok farklı toksik ve biyolojik etkiye yol açabilecek farklı formlarda bulunabilmekte ve birbirleri ile aditif, antagonistik veya sinerjistik olarak etkileşime girebilmektedir (Lam, 2009). Kimyasal analizler, su ortamındaki ksenobiyotiklerin varlığını ortaya çıkarabilmekte, ancak biyoetkileşim ve dolaylı olarak biyolojik sistemler açısından potansiyel zararlı etkileri hakkında bilgi sağlayamamaktadır (Monserrat vd. 2012). Isı şoku proteinleri (HSP70 veya HSP90), oksidatif stres belirteçleri [(süperoksit dismutaz - SOD), glutatyon, katalaz, lipid peroksidasyon (LPO)], durum indeksleri (kondisyon faktörü, hepatosomatik indeks, gonadal indeks), histopatolojik değerlendirme, DNA hasarı ve asetilkolinesteraz (AChE) düzeyi biyolojik etkilerin biyobelirteçlerine örnek olarak verilebilir. Genel olarak, bazı biyobelirteçler, bir ksenobiyotik sınıfa maruz kalmanın veya fizyolojik işlevdeki değişikliklerin spesifik olarak tanımlanmasına izin verir, ancak biyobelirteç uygulamalarının çoğu, fizyolojik bozulmaya verilen genel bir yanıtı izler. Bununla birlikte, birçok kirlilik dışı faktörün de biyobelirteç yanıtlara etki edebileceğini göz önünde bulundurmak önemlidir. Bu faktörler; genel sağlık durumu, cinsiyet, yaş, beslenme, metabolik aktivite, göç davranışı, üreme ve gelişme durumu ile popülasyon yoğunluğunun yanı sıra mevsim, ortam sıcaklığı ve çevre kirliliğinin heterojenliği gibi faktörleri de içermektedir. Genellikle ilgili ekolojik alan için en uygun biyolojik tepkilerin dikkatli bir şekilde belirlenmesi hedeflenmelidir (Dallas & Jha, 2015). Biyolojik izleme, çevredeki değişiklikleri değerlendirmek için biyolojik tepkilerin sistematik kullanımı olarak tanımlanabilir. Bu bağlamda, biyobelirteçler, kirlilik etkilerinin değerlendirilmesi için dünya genelinde giderek daha fazla tanınan araçlar haline gelmektedir (Dalzochio vd. 2016). Balıklarda kirli ortamlarda gelişen erken tepkileri izlemek için bir dizi farklı biyobelirteç oluşturulmuştur. Bunlar biyokimyasal, fizyolojik ve patolojik parametreleri içermektedir. Balıkların değişen ortama uyum sağlama ve homeostazi sürdürme kapasitesi

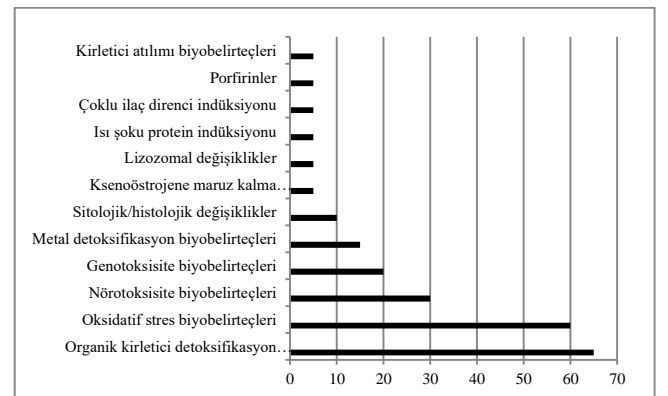
sınırlıdır. Farklı organizasyon düzeylerindeki yanıtlar: moleküler, hücre altı, hücresel, doku, organ değişiklikleri ve bir bütün olarak organizmada meydana gelen değişiklikler şeklinde gruplandırılabilir. Sonuç olarak, bu seviyelerin her birindeki değişiklikleri izlemek için farklı biyobelirteçler mevcuttur (Raskovic & Poleksic, 2017). Ayrıca Ulusal Araştırma Konseyi (NAS/NRC) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) üç farklı biyobelirteç türünün kullanıldığını kabul etmektedir:

1. *Maruz kalma biyobelirteçleri:* Bu durumda iki tür maruz kalma mevcuttur. İlki, çevredeki ksenobiyotik miktarı olarak tanımlanan çevresel maruziyettir. İçsel maruziyet (veya doz) ise organizmaya alınan ksenobiyotik miktarını içermektedir. Yarı ömür, dolaşımdaki zirve veya kümülatif doz ile karakterize edilmektedir.

2. *Etki biyobelirteçleri:* Organizmada belirleyebileceğimiz herhangi bir değişiklik, sağlıkta bozulma, organlarda, dokularda veya vücut sıvılarında değişiklikler olarak da tanımlanmaktadır.

3. *Duyarlılık biyobelirteçleri:* Her organizma, tür veya popülasyonun stres etkenine veya ksenobiyotige yanıt verme kapasitesi farklıdır. Bu kapasite, balıkların ksenobiyotiklere maruz kalmadan önce sahip olabileceği genetik faktörleri veya arka plan hastalıklarını içermektedir (Van der Oost vd., 2003).

En çok araştırılan biyobelirteç yanıtlar, organik kirlenici detoksifikasyon biyobelirteçleri (sitokrom P540 ailesi dahil), oksidatif stresle ilgili biyobelirteçler (antioksidan enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonu, antioksidanların tükenmesi gibi), nörotoksosite (asetilkolinesteraz aktivitesinin inhibisyonu), genotoksosite (comet tahlili, mikronükleus ve eritrosit nükleer anormallikleri ile değerlendirilen DNA hasarı), metal detoksifikasyon biyobelirteçleri (metalloyinin indüksiyonu), sitolojik / histolojik değişiklikler, ksenoöstrojen maruziyeti biyobelirteçleri (vitellogenin), lizozomal değişiklikler, ısı şoku proteinleri, çoklu ilaç direnci indüksiyonu, porfirinler ve kirlenici atılımının biyobelirteçleri olarak değerlendirilmektedir (Şekil 1) (Savassi vd., 2020; Lionetto vd., 2021).



**Şekil 1.** Deniz koruma alanlarında kirliliğin biyoizlenmesi çalışmalarında sıklıkla araştırılan biyobelirteçlerin yüzde frekansları (Lionetto vd., 2021)  
**Figure 1.** Percentage frequencies of biomarkers frequently investigated in pollution biomonitoring studies in marine protected areas (Lionetto et al., 2021)

**Histopatoloji:** Histopatoloji kavramı, hücre ve doku örneklerinin mikroskopik inceleme sonrasında yorumlanması yoluyla hastalıkların araştırılması ve teşhisi olarak tanımlanabilmektedir. Bir organizmanın kimyasal maddelere maruz kalmasının etkilerini veya riskini araştırmak için bir biyobelirteç olarak kullanıldığında ise histopatoloji, kirlilik derecesine erişim de dahil olmak üzere morfolojik değişiklikleri değerlendirmek için güçlü bir araç olarak kabul edilmektedir. Kimyasal karışımlara maruz kalmanın olumsuz etkileri göz önüne alındığında, histopatolojik bulgular önemli biyolojik veriler sağlamaktadır (Yancheva vd., 2016). Biyobelirteç olarak histolojik değişikliklerin araştırılması çevresel değerlendirmelerde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Su kalitesinin değerlendirilmesi için izleme programlarına histopatolojik analizin eklenmesi, su kalitesini tehlikeye atabilecek çevresel değişimlerin ve antropojenik kaynaklı bozuklukların değerlendirilmesinde farklı yöntemlerin kullanılmasının önemini pekiştirmektedir (Salamat vd., 2013). Histolojik biyobelirteçlerin kullanımının en büyük avantajlarından biri, belirli hedef organları inceleme olanağı sağlaması ve doğrudan/dolaylı toksik etkilerin dokuları nasıl etkilediğinin belirlenmesine olanak sağlamasıdır (Oliveira Ribeiro vd., 2006; Jahanbakhshi & Hedayati, 2013; Salamat & Zarie, 2016; Cardoso vd., 2018). Histopatolojik değişikliklerin kontamine alanlara maruz kalınmasının bir biyobelirteci olarak kabul edilmesinin izleme, tehlike takibi veya yasal değerlendirmeler açısından oluşturulacak çevresel inceleme programlarına önemli bilgiler sunduğu kaydedilmektedir (Reddy, 2012).

Yapılan araştırmalar sonrasında altı farklı kriterin göz önünde bulundurulması ile oluşturulan biyobelirteçler listesi, 1'den 5'e kadar genel olarak notlandırılmıştır. Bu listede histopatoloji, toksikolojik değerlendirmelerde yüksek önemde ve 3.5 notuyla derecelendirilmiştir. Özellikle 1970'li yıllardan itibaren artan kirlilik ve oluşan çevre duyarlılığı sonrasında, histopatolojik değerlendirme giderek daha fazla kullanılan bir biyobelirteç haline gelmiştir. 1990'ların başlarından itibaren histopatoloji, "kimyasal ve hücrel etkileşimi izleyen daha yüksek düzeyde bir yanıt" olarak çevre ve balık sağlığı için tanımlanan bir biyobelirteç halini almıştır. Bu nedenle histopatoloji, hem toksikolojik hem de ekosistem yönetimi açısından balık sağlığı durumunun biyolojik belirteci olarak önemli bir yere sahiptir (Raskovic & Poleksic, 2017). Ayrıca, histopatolojik değerlendirme, özellikle düşük seviyeli toksik stres için güvenilir ve kolay ölçülebilir bir indeks sağlamaktadır (Osman vd., 2010)

Histopatolojik indeksler, tanımlanan lezyonun ciddiyetini ve organdaki yayılma seviyesini dikkate alan yarı kantitatif yöntemlere dayalı olarak hesaplanabilmektedir. Bu hesaplama yöntemi de kirleticilere maruz kalmanın biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi için önem taşımaktadır (Briaudeau, 2019). Avrupa'daki deniz ortamlarının izlenmesi çalışmalarında kullanılan ve Avrupa Birliği (AB) tarafından finanse edilen "İzlemede Biyolojik Etkiler Kalite Güvencesi" (BEQUALM) programı çalışma paketlerinde kirletici maddelere maruz kalmanın biyolojik son noktası olarak balık hastalıkları ve karaciğer patolojisi de değerlendirmeye alınmaktadır (Stentiford vd., 2014).

Histopatolojinin biyobelirteç olarak kullanılmasının bir diğer avantajı da, hem biyotik hem de abiyotik faktörlerin balık sağlığı ve organ işlevi üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, doku ve organ sistemlerinin biyolojik organizasyon hiyerarşisinde ara bir konumda yer almasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, popülasyonlar düzeyinde yapılan histopatolojik incelemeler, yalnızca birkaç örnekte mevcut olsalar bile, genellikle daha ciddi ve belirgin değişikliklere işaret etmektedir (Saraiva vd., 2015). Histopatolojik araştırmalara başlamadan önce en fazla dikkat edilmesi gereken şey öncelikli hedef organların belirlenmesidir. Herhangi bir organ hedef olarak seçilebilmekle birlikte, çoğunlukla birden fazla organın örneklenmesi tavsiye edilmektedir. Genellikle bu seçimde, ksenobiyotığın doğası, kirlilik düzeyi, analiz ortamı veya analizin amacı göz önünde bulundurulmalıdır. Histopatolojik biyobelirteçler, organizmanın bir veya daha fazla toksik maddeye, geçmişte veya o anda maruz kalmasının bir sonucu olarak ortaya çıkan doku lezyonlarını kapsadığı için genellikle karaciğer, böbrek, solungaç, ovaryumlar, iskelet ve deri dokularında tespit edilen lezyonlar biyobelirteç yanıtlar olarak değerlendirilmektedir (Reddy, 2012).

Ekotoksikolojik çalışmalarda en yaygın örneklenen organlar; solungaçlar, karaciğer, böbrek ve deridir. Dokuların örneklenmesinde; örnekleme boyutu, tür, yaş, cinsiyet, mevsim ve göç dönemleri dikkat edilmesi gereken başlıca faktörler olarak kabul edilmektedir (Raskovic & Poleksic, 2017; Steckert vd., 2018). Yabancı bileşiklerle temas halinde olan doku ve organlar, daha yüksek konsantrasyonlarda kimyasal kirleticilere maruz kaldıklarından daha fazla zarar görme ve hasar oluşumu potansiyeline sahiptir (Hussain vd., 2019). Doğrudan temas özelliğine sahip olan solungaçlar, metabolizma ve ksenobiyotik metabolizmasında anahtar rol oynayan karaciğer, balığın iç ortamı ile birlikte atılım ve su-tuz dengesinin sabit tutulması için önemli olan böbrekler ise su kirliliği açısından başlıca gösterge olarak kabul edilen dokulardır (Zeitoun & Mehana, 2014; Dane & Şişman, 2020a). Solungaçlar, geniş yüzey alanı, yüksek iyon taşıma

aktivitesi ve yüksek kan oranı gibi özellikler nedeniyle de tercih edilen dokulardan birisidir. Bu dokular dışında yine sıklıkla araştırılan diğer dokular ise bağırsak, deri ve beyin dokularıdır. Balığın yaşadığı ortamda bir kirletici varsa sindirim sistemi muayenesinde de tespit edilebilmektedir. Histopatolojik biyobelirteçlere ek olarak, bağırsak katsayısı ve kondisyon faktörü gibi biyometrik parametreler, su kalitesine bağlı olarak balıklarda metabolik durumun göstergeleri olarak kabul edilmektedir (Dane & Şişman, 2020b). Yapılan çalışmalar ağır metaller ve herbisitler gibi çevresel kirleticilerin, düşük konsantrasyonlarında ve akut maruziyette bile balığın birçok dokusunun etkilenebileceğini göstermiştir. Tüm bu temel organlarda ortaya çıkacak doku hasarları, organizmalarda ozmotik düzenleme, beslenme, üreme gibi biyolojik aktivitelerin bozulmasına yol açarak popülasyonların azalmasına da neden olmaktadır (Khoshnood, 2017).

Birçok araştırmacı, pestisitlere, petrol hidrokarbonuna, polisiklik aromatik hidrokarbonlara (PAH), poliklorlu bifenillere (PCB) ve ağır metaller maruz kalan farklı balık türlerinin solungaçlarında solunum epitelinin kalkması, klorür hücrelerinin ve mukus hücrelerinin hiperplazisi ve hipertrofisi, epitel hücrelerinin ödemi, solungaç filamanının çomaklaşması ve anevrizma gibi histopatolojik hasarları tespit etmişlerdir (Abdel Moneim vd., 2012; Naz vd., 2021). Ağır metaller biyolojik olarak parçalanmadıklarından su kütlelerine girdiklerinde, balık organlarında metabolik ve biyosorpsiyon süreçleri yoluyla biyokonsantrasyon meydana gelebilmektedir. Bu durum solungacın yapısal bütünlüğünü etkilemekte ve morfolojik değişikliklere neden olmaktadır (Strzyzewska vd., 2016; Abiona vd., 2019). Ayrıca metallerin biyobirikimi, oluşan DNA hasarının bir sonucu olarak oksidatif strese yol açmakta ve belirlenen histopatolojik değişiklikler, antioksidan savunmanın üretilen yüksek reaktif oksijen türleri (ROS) ile mücadelede yeterli olmadığını ortaya koymaktadır (Javed vd. 2016). Karaciğerde toksinlere maruz kalma sırasında lipid depolarının mobilize edilememesinin sinüzoidal boşluk kaybı ile karakterize edildiği ortaya konmuştur. Yağ değişiminin varlığı aslında kirleticilerden etkilenen dokularda en gözle görülür hasarlardan biri olarak kabul edilmektedir. Ayrıca karaciğer dokusunda vakuolizasyon, piknoz, nekroz, inflamasyon ve hipertrofi gözlemlenmiş bulgular arasındadır (Van Dyk vd., 2012; Saleh & Marie, 2016; Ratn vd., 2018). Endüstriyel, tarımsal ve kanalizasyon atıklarının böbreklerde de hasara neden olduğu bildirilmiştir. Hematopoietik dokuda ve böbrek tübüllerinde dejenerasyon ve nekrozların ortaya çıktığı, glomerüler atrofi, Bowman kapsüllerinde ödem ve glomerüler kılcal damarlarda hasarların oluştuğu da tespit edilen diğer bulgular arasındadır (Raskovic vd., 2013; Paul

vd., 2019; Malik vd., 2020). Ek olarak, neoplazmalar ve preneoplastik lezyonlar gibi bazı morfolojik bulgular, PAH'lar, PCB'ler, DDT, dieldrin ve klordanlar gibi kimyasallarla ilişkileri nedeniyle izleme programlarında değerlendirilmektedirler. Bu nedenle, bazı histopatolojik bulgular, hayvanların maruz kaldığı kirleticilerin ana sınıfını belirlemede de etkin rol oynayabilmektedir (Ribeiro & Narciso, 2014).

## SONUÇ

Biyobelirteçler, etkili çevre yönetimi için yönergelerin oluşturulmasında değerli bir araç olarak biyolojik ve ekolojik yönden gerekli bilgiler sunabilmektedir. Popülasyonların etkilenmesinden önce biyolojik organizasyonun alt seviyelerinde oluşan değişiklikleri tanımlamak için sucul canlılarda kullanılan biyobelirteçlerin incelenmesinin ekotoksikolojik yaklaşımın temeli olduğu söylenebilir. Bu nedenle, balık biyobelirteçlerinin de çevresel kaynaklı değişikliklerin izlenmesinde özellikle ksenobiyotik bileşiklerin etkisinin değerlendirilmesi açısından son derece gerekli olduğu ortadadır. Yabancı bileşiklerle temas halinde olan doku ve organlar yüksek konsantrasyonlardaki maruziyetlerde değişikliğe uğrama ve zarar görme potansiyeline sahip olduğundan bu maruziyetin bir göstergesi olarak histolojik inceleme, kirlilik derecesini değerlendirmek bakımından yararlı bir yöntem olarak kabul görmektedir. Balıklardaki doku değişiklikleri, ayrıca farklı çevresel stres faktörleri ya da patojenler tarafından da indüklenmektedir. Bu yüzden histopatolojik inceleme, balığın sağlık durumunun da iyi bir göstergesidir ve her bir lezyonun varlığı, organ işlevini ve balığın hayatta kalma olasılığını da etkileyebilmektedir. Bu bağlamda, sucul ekosistemlerdeki kontaminasyonu belirlemek için balıklar üzerinde yapılan histolojik incelemeler, bu ekosistemlerin sağlığı hakkında da faydalı bilgiler sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Moneim, A.M., Al Kahtani, M.A & Elmenshaw, O.M. (2012).** Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments Saudi Arabia. *Chemosphere*, **88**, 1028-1035. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2012.04.001](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.001)
- Abiona, O.O., Anifowose, A.J., Awojide, S.H., Adebisi, O.C., Adesina, B.T. & Ipinmoroti, M.O. (2019).** Histopathological biomarking changes in the internal organs of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to heavy metals contamination from Dandaru pond, Ibadan, Nigeria. *Journal of Taibah University for*

- Science*, **13**(1), 903-911. DOI: [10.1080/16583655.2019.1658400](https://doi.org/10.1080/16583655.2019.1658400)
- Baines, C., Lerebours, A., Thomas, F., Fort, J., Kreitsberg, R., Gentes, S., Meitern, R., Saks, L., Ujvari, B., Giraudeau, M. & Sepp, T. (2021).** Linking pollution and cancer in aquatic environments: A review. *Environment International*, **149**, 106391. DOI: [10.1016/j.envint.2021.106391](https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106391)
- Braunbeck, T., Görge, G., Storch, V. & Roland, N. (1990).** Hepatic steatosis in zebra fish (*Brachydanio rerio*) induced by long-term exposure to  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **19**(3), 355-374. DOI: [10.1016/0147-6513\(90\)90036-5](https://doi.org/10.1016/0147-6513(90)90036-5)
- Briaudeau, T. (2019).** A "biomarker + histopathology" tool box in *Solea spp.* for the assessment of the biological effects of pollution in the context of the EU Marine Strategy Framework Directive. International PhD Thesis, Department of Zoology and Animal Cell Biology Research Group: Cell Biology in Environmental Toxicology, Euskal Herriko Unibertsitatea, Plentzia, Spain, 252p.
- Cardoso, R.L., Carvalho-Neta, R.N.F., Lealde Castro, A.C., Ferreira, C.F.C., Silva, M.H.L., Azevedo, J.W.J., Sobrinho, J.R.S.C. & Santo, D.M.S. (2018).** Histological and genotoxic biomarkers in *Prochilodus lacustris* (Pisces, Prochilodontidae) for environmental assessment in a protected area in the northeast of Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **101**, 570-579. DOI: [10.1007/s00128-018-2464-8](https://doi.org/10.1007/s00128-018-2464-8)
- Dallas, L.J. & Jha, A.N. (2015).** Applications of biological tools or biomarkers in aquatic biota: A case study of the Tamar Estuary, South West England. *Marine Pollution Bulletin*, **95**(2), 618-633. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2015.03.014](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.03.014)
- Dalzochio, T., Zimmermann, G., Rodrigues, P., Petry, I.E., Gehlen, G. & Da Silva, L.B. (2016).** The use of biomarkers to assess the health of aquatic ecosystems in Brazil: a review. *International Aquatic Research*, **8**, 283-298. DOI: [10.1007/s40071-016-0147-9](https://doi.org/10.1007/s40071-016-0147-9)
- Dane, H. & Şişman, T. (2020a).** Effects of heavy metal pollution on hepatosomatic index and vital organ histology in *Alburnus mossulensis* from Karasu River. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Science*, **44**, 607-617. DOI: [10.3906/vet-1904-50](https://doi.org/10.3906/vet-1904-50)
- Dane, H. & Şişman, T. (2020b).** A morpho-histopathological study in the digestive tract of three fish species influenced with heavy metal pollution. *Chemosphere*, **242**, 125212. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2019.125212](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125212)
- Greenfield, B.K., Teh, S.J., Ross, J.R.M., Hunt, J., Zhang, G.H., Davis, J.A., Ichikawa, G., Crane, D., Hung, S.S.O., Deng, D.F., Teh, F.C. & Green, P.G. (2008).** Contaminant concentrations and histopathological effects in *Sacramento splittail* (*Pogonichthys macrolepidotus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **55**(2), 270-281. DOI: [10.1007/s00244-007-9112-3](https://doi.org/10.1007/s00244-007-9112-3)
- Hinton, D.E. & Lauren, D.J. (1990).** Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure, In: McCarthy, J.F., Shugart, L.R. (Ed.), *Biomarkers of Environmental Contamination*, 17-57p, Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Hussain, B., Fatima, M., Al-Ghanim, H.A. & Mahboob, S. (2019).** Environmentally induced nephrotoxicity and histopathological alternations in *Wallago attu* and *Cirrhinus mirigla*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **26**, 752-757. DOI: [10.1016/j.sjbs.2019.02.003](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.02.003)
- Jaffer, N.S., Rabee, A.M. & Al-Chalabi, A.M.M. (2017).** Biochemical and hematological parameters and histological alterations in fish *Cyprinus carpio L.* as biomarkers for water pollution with chlorpyrifos. *Human and Ecological Risk Assessment*, **23**(3), 605-616. DOI: [10.1080/10807039.2016.1261626](https://doi.org/10.1080/10807039.2016.1261626)
- Jahanbakhshi, A. & Hedayati, A. (2013).** Gill histopathological changes in Great sturgeon after exposure to crude and water soluble fraction of diesel oil. *Comparative Clinical Pathology*, **22**, 1083-1086. DOI: [10.1007/s00580-012-1531-5](https://doi.org/10.1007/s00580-012-1531-5)
- Javed, M., Ahmad, I., Usmani, N. & Ahmad, M. (2016).** Studies on biomarkers of oxidative stress and associated genotoxicity and histopathology in *Channa punctatus* from heavy metal polluted canal. *Chemosphere*, **151**, 210-219. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2016.02.080](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.080)
- Khoshnood, Z. (2017).** Effects of environmental pollution on fish: a short review. *Transylvanian Review of Systematical and Ecological Research*, **19**(1), 49-60. DOI: [10.1515/trser-2017-0005](https://doi.org/10.1515/trser-2017-0005)
- Kroon, F., Streten, C. & Harries, S. (2017).** A protocol for identifying suitable biomarkers to assess fish health: A systematic review. *Plos One*, **12**(4), E0174762. DOI: [10.1371/journal.pone.0174762](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174762)
- Lam, P., (2009).** Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean & Coastal Management*, **52**(7), 348-354. DOI: [10.1016/j.ocecoaman.2009.04.010](https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2009.04.010)
- Lionetto, M.G., Caricato, R. & Giordano, M.E. (2021).** Pollution biomarkers in the framework of marine biodiversity conservation: state of art and



- perspectives. *Water*, **13**, 1847. DOI: [10.3390/w13131847](https://doi.org/10.3390/w13131847)
- Luczynska, L., Paszczyk, B. & Luczynski, M.J. (2018).** Fish as a bioindicator of heavy metals pollution in aquatic ecosystem of Pluszne Lake, Poland, and risk assessment for consumer's health. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **153**, 60-67. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2018.01.057](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.057)
- Malik, D.S., Sharma, A.K., Sharma, A.K., Thakur, R. & Sharma, M. (2020).** A review on impact of water pollution on freshwater fish species and their aquatic environment. *Advances in Environmental Pollution Management: Wastewater Impacts and Treatment Technologies*, **1**, 10-28. DOI: [10.26832/aesa-2020-aepm-02](https://doi.org/10.26832/aesa-2020-aepm-02)
- Monserrat, J.M., Letts, R.E., Ferreira, J.L.R., Ventura-Lima, J., Amado, L.L., Rocha, A.M., Gorbi, S., Bocchetti, R., Benedetti, M. & Regoli, F. (2012).** Biomarkers of oxidative stress: benefits and drawbacks for their application in biomonitoring of aquatic environments, In: Abele, D., Vazquez-Medina, J.P. & Zenteno-Savin, T. (Ed), *Oxidative stress in aquatic ecosystems*, 1st ed., 317-326p, Blackwell Publishing Ltd., Chichester, UK.
- Naz, S., Hussain, R, Ullah, Q., Chatha, A.M.M., Shaheen, A. & Khan, R.U. (2021).** Toxic effect of some heavy metals on hematology and histopathology of Major Carp (*Catla catla*). *Environmental Science and Pollution Research*. **28**, 6533-6539. DOI: [10.1007/s11356-020-10980-0](https://doi.org/10.1007/s11356-020-10980-0)
- Oliveira Ribeiro, C.A., Filipack, F., Mela, M., Silva, P.H., Randi, M.A.F., Costa, J.R.A. & Pelletier, E. (2006).** Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead and tributyltin chloride. *Environmental Research*, **101**, 74-80. DOI: [10.1016/j.envres.2005.11.005](https://doi.org/10.1016/j.envres.2005.11.005)
- Osman, A.G.M., Abd El Reheem, A.M, AbuefFadl, K.Y. & Gad El-Rab, A.G. (2010).** Enzymatic and histopathologic biomarkers as indicators of aquatic pollution in fishes. *Natural Science*, **2**(11), 1302-1311. DOI: [10.4236/ns.2010.211158](https://doi.org/10.4236/ns.2010.211158)
- Parente, T.E.M. & Hauser Davies, A. (2014).** The use of fish biomarkers in the evaluation of water pollution In: Almeida, E.A. & Ribeiro A.O. (Ed), *Pollution and fish health in tropical ecosystems*, 1st ed., 164-183p, CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, USA.
- Paul, S., Mandal, A., Bhattacharjee, P., Chakraborty, S., Paul, R. & Mukhopadhyay, B.K. (2019).** Evaluation of water quality and toxicity after exposure of lead nitrate in freshwater fish, major source of water pollution. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, **45**, 345-351. DOI: [10.1016/j.ejar.2019.09.001](https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.09.001)
- Poleksic, V., Lenhardt, M., Jaric, I., Djordjevic, D., Gacic, Z., Cvijanovic, G. & Raskovic, B. (2010).** Liver, gills and skin histopathology and heavy metal content of the *Danube sterlet* (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **29**(3), 515-21. DOI: [10.1002/etc.82](https://doi.org/10.1002/etc.82)
- Raskovic, B., Jaric, I., Koko, V., Spasic, M., Dulic, Z., Markovic, Z. & Poleksic, V. (2013).** Histopathological indicators: a useful fish health monitoring tool in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) culture. *Central European Journal of Biology*, **8** (10), 975-985. DOI: [10.2478/s11535-013-0220-y](https://doi.org/10.2478/s11535-013-0220-y)
- Raskovic, B. & Poleksic, V. (2017).** Fish histopathology as biomarker in ecotoxicology, In: Berillis, P. (Ed), *Trends in fisheries and aquatic animal health*, 1st ed., 155-181p. Bentham Science Publishers, Sharjah, UAE.
- Ratn, A., Prasad, R., Awasthi, Y., Kumar, M., Misra, A. & Trivedi, S.P. (2018).** Zn<sup>2+</sup> induced molecular responses associated with oxidative stress, DNA damage and histopathological lesions in liver and kidney of the fish, *Channa punctatus* (Bloch, 1793). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **151**, 10-20. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.12.058](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.058)
- Reddy P.B. (2012).** Histopathological studies as potential and direct biomarkers of pollution. *Trends in Life Sciences*, **1**(1), 27-31.
- Reddy P.B. & Rawat, S.S. (2013).** Assessment of aquatic pollution using histopathology in fish as a protocol. *International Research Journal of Environment Science*, **2**(8), 79-82.
- Ribeiro, C.A.O. & Narciso, M.F. (2014).** Histopathological markers in fish health assessment. In: Almeida, E.A. & Ribeiro A.O. (Ed), *Pollution and fish health in tropical ecosystems*, 1st ed., 206-242p, CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, USA.
- Salamat, N., Soleimani, Z., Safahieh, E., Savari, A. & Ronagh, M.T. (2013).** Using histopathological changes as a biomarker to trace contamination loading of Musa Creeks (Persian Gulf). *Toxicologic Pathology*, **41**, 913-920. DOI: [10.1177/0192623312468515](https://doi.org/10.1177/0192623312468515)
- Salamat, N. & Zarie, M. (2016).** Fish histopathology as a tool for use in marine environment monitoring: a

- review. *Comparative Clinical Pathology*, **25**, 1273-1278. DOI: [10.1007/s00580-014-2037-0](https://doi.org/10.1007/s00580-014-2037-0)
- Saleh, Y.S. & Marie, M.A.S. (2016)**. Use of *Arius thalassinus* fish in a pollution biomonitoring study, applying combined oxidative stress, hematology, biochemical and histopathological biomarkers: A baseline field study. *Marine Pollution Bulletin*, **10**, 6308-322. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2016.03.030](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.030)
- Saraiva, A., Costa, J., Serrão, J., Cruz, C. & Eiras, J.C. (2015)**. A histology based fish health assessment of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, **448**, 375-381. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2015.06.028](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.028)
- Savassi, L.A., Paschoalini, A.L., Arantes, F.P., Rizzo, E. & Bazzoli, N. (2020)**. Heavy metal contamination in a highly consumed Brazilian fish: immunohistochemical and histopathological assessments. *Environmental Monitoring and Assessment*, **192** (542). DOI: [10.1007/s10661-020-08515-8](https://doi.org/10.1007/s10661-020-08515-8)
- Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H. & Negele, R.D. (2004)**. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I. histopathological alterations and bioaccumulation in Rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, **68**, 141-150. DOI: [10.1016/j.aquatox.2004.03.014](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.014)
- Steckert, L.D., Cardoso, L., Jeronimo, G.T., Padua, S.B. & Martins, M.L. (2018)**. Investigation of farmed Nile tilapia health through histopathology. *Aquaculture*, **486**, 161-169. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2017.12.021](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.021)
- Stentiford, G.D., Massoud, M.S., Al-Mudhhi, S., Al-Sarawi, M.A., Al-Enezi, M. & Lyons, B.P. (2014)**. Histopathological survey of potential biomarkers for the assessment of contaminant related biological effects in species of fish and shellfish collected from Kuwait Bay, Arabian Gulf. *Marine Environmental Research*, **98**, 60-67. DOI: [10.1016/j.marenvres.2014.03.005](https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.03.005)
- Strzyewska, E., Szarek, J. & Babinska, I. (2016)**. Morphologic evaluation of the gills as a tool in the diagnostics of pathological conditions in fish and pollution in the aquatic environment: a review. *Veterinarni Medicina*, **61**(3), 123-132. DOI: [10.17221/8763-VETMED](https://doi.org/10.17221/8763-VETMED)
- Sweidan, A.H., El Bendary, N., Hegazy, O.M., Hassanien, A.E. & Snasel, V. (2015)**. Water Pollution Detection System based on Fish Gills as a Biomarker. *Procedia Computer Science*, **65**, 601- 611. DOI: [10.1016/j.procs.2015.09.004](https://doi.org/10.1016/j.procs.2015.09.004)
- Van der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N.P.E. (2003)**. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **13**(2), 57-149. Doi: [10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)
- Van Dyk, J.C., Cochrane, M.J. & Wagenaar, G.M. (2012)**. Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. *Chemosphere*, **87**, 301-311. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2011.12.002](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.002)
- Vörösmarty, C.J., McIntyre, P.B., Gessner, M.O., Dudgeon, D., Prusevich, A., Green, P., Glidden, S., Bunn, S.E., Sullivan, C.A., Reidy Liermann, C., Davies, P.M. (2010)** Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, **467**, 555-561. DOI: [10.1038/nature09440](https://doi.org/10.1038/nature09440).
- Wright, D.A. & Welbourn, P. (2002)**. *Environmental toxicology*. 1st ed., Cambridge University Press, Cambridge, UK, 630p.
- Yancheva, V., Velcheva, I., Stoyanova, S. & Georgieva, E. (2016)**. Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. *Applied Ecology and Environmental Research*, **14**(1), 47-75. DOI: [10.15666/aeer/1401\\_047075](https://doi.org/10.15666/aeer/1401_047075)
- Zeitoun M.M. & Mehana, E.E. (2014)**. Impact of water pollution with heavy metals on fish health: overview and updates. *Global Veterinaria*, **12**(2), 219-231. DOI: [10.5829/idosi.gv.2014.12.02.82219](https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2014.12.02.82219)