

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ecem PALANDÖKENLİER**

**ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE ÇİNKO SÜLFATIN  
*Oreochromis niloticus*'un KAN DOKUSUNDA BAZI  
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER VE ENZİM  
AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ADANA-2019**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE ÇİNKO SÜLFATIN  
*Oreochromis niloticus*'un KAN DOKUSUNDA BAZI BİYOKİMYASAL  
PARAMETRELER VE ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Ecem PALANDÖKENLİER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Bu Tez / /2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından  
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....  
Prof.Dr. Ferit KARGIN  
DANIŞMAN

.....  
Doç.Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN  
ÜYE

.....  
Dr.Öğr.Üyesi.Benay TUNÇSOY  
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.  
**Kod No:**

**Prof. Dr. Mustafa GÖK  
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.  
Proje No: FYL-2018-10685**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge  
ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat  
Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir

## ÖZ

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİ VE ÇİNKO SÜLFATIN *Oreochromis niloticus*'un KAN DOKUSUNDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER VE ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

**Ecem PALANDÖKENLİER**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Ferit KARGIN  
Yıl: 2019, Sayfa: 67  
Jüri : Prof. Dr. Ferit KARGIN  
: Doç. Dr. Hikmet Y. ÇOĞUN  
: Dr. Öğr. Üyesi Benay TUNÇSOY

Bu çalışmada, *Oreochromis niloticus*'un kan dokusunda çinko oksit nanopartikülleri ve çinko sülfatın biyokimyasal parametreler ve enzim aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Kan dokusunda biyokimyasal parametreler (Glikoz, Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, Kortizol) ve enzim aktivitesini (AST, ALT, ALP ve LDH) belirlemek için balıklar 4 ve 28 gün boyunca 0.5 mg / L ve 1.5 mg / L ZnO NP ve 0.5 mg / L and 1.5 mg / L ZnSO<sub>4</sub>'e maruz bırakılmıştır.

*O. niloticus*'da ZnO NP ve Zn SO<sub>4</sub> serum parametreleri ve enzim aktivitelerinde değişikliğe neden olmuştur. 28 günlük deney süresi sonunda hem ZnSO<sub>4</sub> hemde ZnO NP'ye maruz kalan balıkların serum trigliserid ve kortizol düzeyleri artarken serum kolesterol düzeyleri kontrole oranla azalmıştır. Serum glikoz ve total protein düzeyleri, maruz kalma süresinin sonunda sadece ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisinde artmıştır. ZnO NP ve Zn SO<sub>4</sub> etkisinde serum enzim aktivitelerinin (Alkalen fosfataz, Aspartat aminotrasferaz, Alanin aminotransferaz, ve laktat dehidrojenez) arttığı gözlenmiştir. Genel olarak, serum parametreleri ve serum enzim aktiviteleri üzerine etkisi açısından ZnSO<sub>4</sub>'ın ZnO NP'den daha etkili olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çinko, Nanopartikül, *O. niloticus*, Serum parametreleri

## ABSTRACT

### MSc THESIS

# THE EFFECTS OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES AND ZINC SULPHATE ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS AND ENZYME ACTIVITIES IN BLOOD TISSUE OF *Oreochromis niloticus*

**Ecem PALANDÖKENLİER**

**DEPARTMENT OF BIOLOGY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA**

Supervisor : Prof. Dr. Ferit KARGIN  
Year:2019, Pages: 67  
Jury : Prof. Dr. Ferit KARGIN  
: Assoc. Prof. Hikmet Y. ÇOĞUN  
: Assist. Prof. Dr. Benay TUNÇSOY

In this study, effects of zinc oxide nanoparticles and zinc sulphate on biochemical parameters and enzyme activity in blood tissue of *Oreochromis niloticus* were investigated. The fish were exposed to 0.5 mg / L and 1.5 mg / L ZnO NP and 0.5 mg / L and 1.5 mg / L Zn SO<sub>4</sub> for 4 and 28 days to determine biochemical parameters (Glucose, Total Protein, Cholesterol, Triglyceride, Cortisol) and enzyme activity (AST, ALT, ALP ve LDH) in blood tissue.

In *O. niloticus*, serum parameters and enzyme activities were changed with the effect of ZnO NP and ZnSO<sub>4</sub>. At the end of the 28<sup>th</sup> day, in both ZnSO<sub>4</sub> and ZnO NP exposed fish serum triglyceride and cortisol levels increased, while serum cholesterol levels decreased compared with control. Serum glucose and total protein levels increased in the influence of ZnSO<sub>4</sub> at the end of the exposure period. In the serum of fish exposed to ZnSO<sub>4</sub> and ZnO NP were observed an increase in the activity of serum enzymes (ALP, AST, ALT ve LDH). In general, ZnSO<sub>4</sub> more effective than ZnO NP in terms of serum parameters and serum enzyme activities

**Key Words:** Zinc, Nanoparticles, *O. niloticus*, Serum parameters,

## GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Kirletici maddelerin çevreye bırakılması antropojenik faaliyetlere bağı olarak ortaya çıkabilmekte buda, toprak, su ve hava kirliliği yaratarak organizmaların sağık durumunu negatif olarak etkilemektedir. Ağır metaller, büyük ekolojik kaygılara sahip önemli bir kirletici sınıfını oluşturur. Ağır metaller, metabolik, biyokimyasal ve fizyolojik olarak balıklar üzerinde geniş bir etkiye sahiptirler. Gözlenen etkiler, ozmoregülasyon, solunum, doku hasarı ve enerji kaynaklarının azaltılması gibi bozuklukları içermektedir.

Çinko (Zn), pirinç, bronz, kauçuk ve boya'nın önemli bir bileşenidir ve dünyadaki en yaygın kullanılan elementlerden biridir. Zn, organizmalar için önemli bir mikro besleyicidir ve 200 den fazla enzimin yapısına girmektedir. Çinko oksit (nano-ZnO) partikülleri tipik metal oksit NP'leridirler, Çinko oksit nanopartiküller (ZnO NP), biyomedikal uygulamalar, güneş pilleri, LCD'ler, elektrik, optik, biyosensör, seramik, gıdalar ve kozmetik gibi çok çeşitli ürünlerdeki en yaygın kullanılan metal oksit nano partiküllerinden biridir. İlginç fiziko-kimyasal özelliklerine rağmen, biyolojik sistemler üzerindeki zararlı etkileri hakkında giderek artan bir endişe mevcuttur. ZnO NP'leri, toksik etkileri nedeniyle, su ortamında bulunan en zararlı nanoürünlerden biri olarak sınıflandırılırlar. ZnO NP'lerinin yaygın olarak üretilmesi ve tüketilmesi, su ortamlarına salınmasını arttırmaktadır.

Bu araştırmada çinko nanopartiküllerinin ve çinko sülfatın 0.5 ve 1.5 mg/L derişimlerinin etkisinde 4 ve 28 günlük sürelerle *O. niloticus*'un, serum parametreleri (Glikoz, Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, kortizol) ve serum enzim (AST, ALT, ALP ve LDH) aktiviteleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisine bırakılan *O. niloticus*'un serum glukoz düzeyleri 28 günlük etki süre sonunda sadece ZnSO<sub>4</sub> etkisinde her iki derişimde de kontrole göre artış gösterdiği belirlenmiştir. 4 günlük etki süresinde 0.5 mg/L'lik derişimde serum glukoz düzeyindeki artış Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla olmuştur. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisine bırakılan balıklarda serum total

protein düzeyleri sadece  $ZnSO_4$  etkisinde denenen her iki süre ve derişimde de kontrole göre artış gösterdiği saptanmıştır. 1.5 mg/L'lik ortam derişiminde serum total protein düzeyi denenen her iki sürede de  $Zn SO_4$  etkisinde  $ZnO NP$ 'e oranla daha fazla artış göstermiştir. Denenen her iki süre sonunda hem  $ZnO NP$  hemde  $ZnSO_4$  etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde serum total kolesterol düzeyleri kontrole göre azalma göstermiştir.  $ZnO NP$  ve  $ZnSO_4$ 'ın etkisine bırakılan balıklarda 4 ve 28 günlük etki süre sonunda hem  $ZnO NP$  hemde  $ZnSO_4$  etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde serum trigliserid düzeyleri kontrole göre artış gösterdiği belirlenmiştir.  $ZnO NP$  ve  $ZnSO_4$ 'ün serum trigliserid düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında, 28 günlük etki süresinde denenen her iki ortam derişiminde de serum trigliserid düzeyi  $Zn SO_4$  etkisinde  $ZnO NP$ 'e oranla daha fazla artış göstermiştir. Hem  $Zn NP$  hemde  $ZnSO_4$  'ın etkisindeki serum kortizol düzeyi her iki süre sonunda denenen tüm derişimlerde kontrole göre önemli bir düzeyde arttığı belirlenmiştir.  $ZnO NP$  ve  $ZnSO_4$ 'ün serum kortizol düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında, 4 ve 28 günlük etki sürelerinde denenen her iki ortam derişiminde de serum kortizol düzeyi  $ZnSO_4$  etkisinde  $ZnO NP$ 'e oranla daha fazla artmıştır.

$ZnO NP$  ve  $ZnSO_4$ 'ın etkisine bırakılan *O. niloticus*'da 4 ve 28 günlük etki süre sonunda  $ZnO NP$  ve  $ZnSO_4$ 'ün etkisinde serum AST, ALT, ALP ve LDH aktiviteleri kontrole oranla artış göstermiştir.  $ZnO NP$  ve  $ZnSO_4$ 'ün serum enzim aktiviteleri üzerine etkisi kıyaslandığında, denenen süre ve derişimlerde serum enzim aktiviteleri  $ZnSO_4$  etkisinde  $ZnO NP$ 'e oranla daha fazla artış göstermiştir. Süreye bağlı metal etkisi incelendiğinde, denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde serum AST, ALT, ALP ve LDH enzim aktivitesi genelde 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla artış gösterdiği belirlenmiştir.

Genel olarak,  $ZnO NP$  ve  $ZnSO_4$ 'ın etkisine 4 ve 28 günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'da serum parametreleri (glukoz, total protein, kolesterol, trigliserit, kortizol)ve serum enzim (AST, ALT, ALP ve LDH)aktiviteleri üzerine etkisi açısından  $ZnSO_4$ 'ın  $ZnO NP$ 'den daha etkili olduğu gözlenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Ferit KARGIN'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında bana her türlü yardım ve desteğini veren sayın Doç. Dr Hikmet Y. ÇOĞUN'a, Öğr. Gör. Dr. Tüzün AYTEKİN'e ve Biyolog Dr. Özge TEMİZ'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan canım annem, babam ve aileme de sonsuz teşekkürler ederim.

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

|                               |      |
|-------------------------------|------|
| ÖZ .....                      | I    |
| ABSTRACT.....                 | II   |
| GENİŞLETİLMİŞ ÖZET .....      | III  |
| TEŞEKKÜR.....                 | V    |
| İÇİNDEKİLER .....             | VI   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....       | VIII |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....         | X    |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....  | XII  |
| 1. GİRİŞ .....                | 1    |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....    | 7    |
| 3. MATERYAL ve METOD .....    | 11   |
| 3.1. Materyal.....            | 11   |
| 3.2. Metod.....               | 14   |
| 3.2.1. İstatistik .....       | 14   |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA ..... | 15   |
| 4.1. Bulgular .....           | 15   |
| 4.2. Tartışma .....           | 38   |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....     | 49   |
| KAYNAKLAR .....               | 51   |
| ÖZGEÇMİŞ .....                | 67   |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

|                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1. ZnO NP'nin taramalı elektron mikroskop (SEM) ölçüm sonuçları.....                                                         | 12 |
| Çizelge 4.1. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum glikoz düzeyleri (mg/dL). ....           | 15 |
| Çizelge 4.2. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum total protein düzeyleri (g/dL). ....     | 18 |
| Çizelge 4.3. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum total kolesterol düzeyleri (mg/dL). .... | 21 |
| Çizelge 4.4. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum trigliserid düzeyleri (mg/dL). ....      | 23 |
| Çizelge 4.5. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum kortizol düzeyleri (µg/dL). ....         | 26 |
| Çizelge 4.6. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum ALP enzim aktiviteleri (U/L). ....       | 28 |
| Çizelge 4.7. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum AST enzim aktiviteleri (U/L). ....       | 31 |
| Çizelge 4.8. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum ALT enzim aktiviteleri (U/L). ....       | 33 |
| Çizelge 4.9. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum LDH enzim aktiviteleri (U/L). ....       | 35 |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

|                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1. ZnO NP'nin taramalı elektron mikroskop görüntüsü.....                                                                                                                       | 12 |
| Şekil 4.1. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum glikoz düzeyleri (mg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).....            | 17 |
| Şekil 4.2. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum total protein düzeyleri (mg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L). ....    | 20 |
| Şekil 4.3. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum total kolesterol düzeyleri (mg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L). .... | 22 |
| Şekil 4.4. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum trigliserid düzeyleri (mg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).....       | 25 |
| Şekil 4.5. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum kortizol düzeyleri (µg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).....          | 27 |
| Şekil 4.6. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum ALP enzim aktivitesi (U/L) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).....          | 30 |
| Şekil 4.7. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum AST enzim aktivitesi (U/L) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).....          | 32 |
| Şekil 4.8. ZnO NP ve ZnSO <sub>4</sub> 'ün etkisine bırakılan <i>O. niloticus</i> 'da serum ALT enzim aktivitesi (U/L) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).....          | 34 |

Şekil 4.9. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum LDH enzim aktivitesi (U/L) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L)..... 37



## SİMGELER VE KISALTMALAR

|       |                              |
|-------|------------------------------|
| °C    | : santigrad derece           |
| cm    | : santimetre                 |
| gr    | : gram                       |
| µg    | : mikrogram                  |
| mg    | : miligram                   |
| ml    | : mililitre                  |
| mg/L  | : Litre başına miligram      |
| nm    | : nanometre                  |
| U/L   | : litre başına birim         |
| mg/dL | : desilitre başına miligram  |
| µg/dL | : desilitre başına mikrogram |
| g/dL  | : gram başına desilitre      |



## 1. GİRİŞ

Sanayileşmeyi, nüfus artışı ve çevre sağlığını önemsememe küresel çevre kirliliğine neden olmuştur. Kirletici maddelerin çevreye bırakılması antropojenik faaliyetlere bağlı olarak ortaya çıkabilmekte buda, toprak, su ve hava kirliliği yaratarak organizmaların sağlığını tehdit etmektedir. Ağır metaller, önemli bir kirletici sınıfını oluşturur. Bunun nedeni, biyolojik olarak bozunmamaları ve dolayısıyla su ortamında uzun süre kalabilmeleridir (Ndimele ve ark., 2017). Genelde metaller, kentsel, endüstriyel ve madencilik kaynaklı atıklardan ortaya çıkar. Sonuç olarak, sayısız sucul sistemler bu metallerin artan konsantrasyonlarını alabilir ve bu da ortamda bulunan türleri etkileyebilir. Ağır metal kirliliği, yalnızca atmosferin, su kütlelerinin ve gıda ürünlerinin kalitesini düşürmekle kalmayıp, aynı zamanda besin zinciriyle hayvanların ve insanların sağlığını tehdit eden, kalıcı ve geri dönüşümsüz kirleticilerdirler. (Kankia ve Abdulhamid, 2014). Temel olarak balıklar, metalleri sindirim sistemi (besin) ve solungaç yüzeyi (suyla) olmak üzere iki giriş yoluyla almaktadırlar. Daha sonra metaller kan yoluyla hedef organlara taşınırlar.

Ağır metallerin, metabolik ve fizyolojik, davranışsal ve ekolojik olarak balıklar üzerinde geniş bir etkiye sahiptirler. Gözlenen etkiler arasında, ozmoregülasyon, solunum bozukluğu, doku hasarı ve enerji kaynaklarının azaltılması sayılabilir. Bu etkilerin derecesi, metalin toksisitesine, konsantrasyonuna, kimyasal formuna, etkilenen türlere, organizmanın koşullarına ve çevre özelliklerine bağlı olarak değişebilmektedir (Heath, 1984; Tort ve ark., 1984; Ghazaly, 1992).

Çinko (Zn), pirinç, bronz, kauçuk ve boya'nın önemli bir bileşenidir ve dünyadaki en yaygın kullanılan elementlerden biridir. Bu metal, eritme, elektrokaplama ve madencilik, boya, çatı tablası, otomobil parçaları ve odun koruyucuları gibi endüstriyel prosesler vasıtasıyla sucul sistemlere girmektedir

(Eisler, 1993). Zn, organizmalar için önemli bir mikro besleyicidir ve 200 den fazla enzimin yapısında bir antioksidan olarak etkindir (Eisler, 1993; Bury ve ark. 2003).

Nanoteknoloji ve nanomateriyallerin kullanımı, bilim ve teknolojiye nispeten yeni olup, küresel piyasa değerleri artan bir eğilim göstermektedir. Nanoteknoloji endüstrisindeki mevcut büyüme ve artan sayıda nanopartiküllerin (NP) üstün özelliklerini kullanan ürünlerin sayısı, küresel ekonomide son derece önemli hale gelmiştir. Nanoteknoloji, genellikle 1 ila 100 nm aralığındaki boyuta sahip materyallerin geliştirilmesi ve uygulanması olarak tanımlanmaktadır (Masciangioli ve Zhang, 2003; Roco, 2003). Bunlar nano filmler (bir boyutlu), nanoteller ve nanotüpler (iki boyutlu) veya nanopartiküller (üç boyutlu) gibi materyaller olabilir (Handy ve ark., 2008). Üretilen nanomateriyaller (1 nm ile 100 nm arasındaki parçacıklar) büyük boyutlu muadillerinde görülemeyen benzersiz elektrik, termal, mekanik ve görüntüleme gibi gelişmiş veya ayırıcı fizikokimyasal özelliklere sahiptirler (Colvin, 2003; Andersson-Willman ve ark., 2012). Buna ek olarak, ağırlık başına daha büyük bir yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle, nanoparçacıklar (NP) biyomoleküllere daha duyarlıdır ve dolayısıyla daha toksiktirler (Benn ve Westerhoff, 2008). Ortaya çıkan bir endüstri olarak, nanoteknoloji, nanoparçacıkların (NP) benzersiz optik özellikleri, katalitik kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle çok dikkat çekmektedir. (Roco, 2003; Maynard ve ark., 2006). Bu özellikler onları endüstriyel, tıbbi ve askeri alanlarda geniş bir uygulama alanı (Ma ve ark., 2013) için cazip kılmaktadır (Serda ve ark., 2009). NP teknolojisinin talep ve uygulamasındaki artış çeşitli metal endüstrilerinde, biyomedikal bilim ve sağlık teknolojisinde kullanımını arttırmıştır (Masciangioli ve Zhang, 2003; Jovanovic ve Palić, 2012). Bu nano ürünlerin dünya çapında kullanılmasıyla atmosferik hava, toprak ve su gibi mevcut kaynaklardan çevreye (Brar ve ark., 2010) artan miktarlarda NP'lerin serbest bırakılması kaçınılmazdır (Nowack ve Buchel, 2007; Hendren ve ark., 2011). Bu nedenle, üretim, kullanım ya da atılımları sırasında çevreye bırakıldıklarında (Paterson ve ark., 2011), onların son hedefleri su ekosistemleridir ki burada tüm canlılarla

etkileşime girebilirler (Nohynek ve ark., 2007). NP'lerin su ortamındaki geleceği, biyotik ve abiyotik bileşenlerle olan etkileşimleri ve zarara neden olma potansiyelleri hala tam olarak anlaşılamamıştır ve bu belirsizlikler, insan ve çevre sağlığına yönelik riskler konusunda endişeler yaratmaktadır (Scown ve ark., 2010). Bu nedenle, çevre üzerindeki etkilerini değerlendirmek gereklidir (Hou ve ark., 2016).

Metal oksit nanoparçacıklarının kullanımının hızla artması, bu parçacıkların çevreye kontrolsüz olarak bırakılmasına neden olmaktadır. Günümüzde, bazı nano parçacıklar su ekosistemlerinde belirlenmiştir (Klaine ve ark., 2008; Scown ve ark., 2010 a, b). Su ekosistemleri ve sudaki besin zincirini oluşturan su organizmaları, antropojenik faaliyetlerden salınan nanoparçacıkların etkileri nedeniyle risk altındadır (Gottschalk ve ark., 2013). Bununla birlikte, nanomateriyallerin, metal oksitlerden yarı iletken malzemelere kadar geniş bir ürün yelpazesine sahip olması nedeniyle nanoparçacıkların etkileri tam olarak anlaşılamamıştır. Ek olarak, fiziksel ve kimyasal özellikleri sadece element bileşimine değil, aynı zamanda yüzey kaplamasına, sentez ve çevre koşullarına (pH, sıcaklık, oksidasyon ve ışık oluşumu) bağlı olarak değişir (Borm ve ark., 2006).

Çinko Oksit (nano-ZnO) partikülleri tipik metal oksit NP'leridir ve bunlar yanmaz ve kokusuz beyaz tozlardır. Çinko oksit nanopartiküller (Zn ONP), biyomedikal uygulamalar, güneş pilleri, LCD'ler, elektrik, optik, biyosensör, seramik, gıdalar ve kozmetik gibi çok çeşitli ürünlerdeki en yaygın kullanılan metal oksit nano partiküllerinden biridir (Vaseem ve ark. 2010). Yüksek stabilite, antikorozyon ve fotokatalitik özelliklerinden dolayı güneşten koruyucu, kozmetik, boya, kağıt, plastik ve yapı malzemeleri gibi geniş bir ürün yelpazesinde yaygın olarak kullanılırlar (Hao ve Chen, 2012). İlginç fiziko-kimyasal özelliklerine rağmen, biyolojik sistemler üzerindeki zararlı etkileri hakkında giderek artan bir endişe mevcuttur. ZnO NP'leri, toksik etkileri nedeniyle, su ortamında bulunan en zararlı nanoürünlerden biri olarak sınıflandırılırlar (Kahru ve Dubourguier, 2010;

Li ve ark., 2011). ZnO NP'lerinin yaygın olarak üretilmesi ve tüketilmesi, su ortamlarına salınmasını arttırmaktadır. ZnO NP'lerinin su ekosistemleri ve organizmaları için önemli riskler oluşturabileceği ve diğer metal oksit NP'lere göre daha yüksek toksisiteye sahip olabileceği belirtilmiştir (Hao ve ark., 2013). Nanotoksikolojik araştırmalar, ZnO NP'lerine maruz kalmanın, büyük oranda oksidatif hasara neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) indüksiyonu, inflamasyonda mediatörlerin salınması, DNA hasarı ve apoptozise neden olabileceğini ortaya koymuştur (Sharma ve ark., 2012). Bununla birlikte, ZnO NP'lerin ayrıntılı etki mekanizması hala tam olarak anlaşılamamıştır ve tartışılmaktadır.(Chupani ve ark., 2017).

Balıklar, su ortamındaki kontaminasyonun belirlenmesi için biyobelirteç olarak kullanılmaktadırlar. Genellikle besin zincirlerinin en yüksek düzeyinde bulunurlar ve bu nedenle dokularında su, besin ve sedimentte bulunabilen metalleri alarak biriktirebilirler. Balıklar çevreleriyle çok yakın temast içindeler, aşırı derecede ona bağımlıdırlar ve içindeki değişikliklerden etkilenirler. Bundan dolayı balıklar, doğal sudaki kirleticilerin varlığını belirtmek için bir "uyarı sistemi" olarak kullanılabilirler. (Nussey ve ark., 1995).

Son zamanlarda biyomarkırlar NP'lerin organizmaların fizyolojisi üzerine toksisitesini test etmek için yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Klaper ve ark., 2009). Suda yaşayan organizmaların NP'lere maruz kalması, biyokimyasal bozulmalara ve / veya adaptif tepkilere neden olabilir ve buna verilen biyolojik yanıtlar veya biyomarkırlar, su organizmalarının sağlık durumunu değerlendirmek için kullanılmaktadırlar (Zhu ve ark., 2008; Binelli ve ark., 2009; Lu ve ark. al., 2011). Hematolojik, biyokimyasal ve iyon regülasyon biyomarkırlarının analizi, toksik maddenin etki mekanizmasını ve stres koşulları altında organizmaların fizyolojik durumlarını belirlemek için yaygın olarak kullanılırlar (Kavitha ve ark., 2010; Saravanan ve ark., 2011; Sathya ve ark., 2012; Ambili ve ark., 2013). Ek olarak, bir toksik madde ile bir biyolojik sistem arasındaki etkileşim, bu biyomarkırlar kullanılarak ölçülebilir (Li ve ark., 2010).

Hematolojik değişkenler, kirleticilerin sublethal konsantrasyonlarını belirlemek için balık fizyolojisinin klinik tanıları sırasında daha sık olarak kullanılmaktadır. Stresin, toksik maddelerin ve metallerin göstergesi olarak hematolojik değişkenlerin kullanılması, balıkların değişen bir dış çevreye göstereceği fizyolojik tepki hakkında bilgi sağlayabilmektedir. Bu dolaşım sisteminin dış çevreyle yakın ilişkisinin bir sonucudur (Casillas ve Smith, 1977). Balık kan parametreleri, hastalık, stres ve kimyasal maruziyet gibi anormal durumlarda fizyolojik ve patolojik değişikliklerin izlenmesinde bir gösterge olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Roche ve Bogé 1996; Witeska ve Kościuk 2003). Kan parametrelerindeki değişiklikler çoğunlukla çevresel veya fizyolojik değişikliklere hızlı tepkilerdir, ayrıca kolaylıkla ölçülebilmekte ve organizmanın fizyolojik durumunun bütünsel bir ölçümünü sağlarlar (Tort ve Torres, 1988). Kan serum kimyası parametrelerinin ölçümleri, balıkları biyolojik izlemede bir tanı aracı olarak kullanılmaktadır (Adams ve ark.,1996).

Metal çeşidine, balık türüne, su kalitesine ve etkide kalma süresine bağlı olarak bazı metallerin hemoglobin, hematokrit, plazma proteini, plazma ozmolalitesi, kortizol, glikoz ve kan enzimlerini artırıp azaltabileceği gösterilmiştir (Cyriac ve ark., 1989; Munoz ve ark., 1991). Bu parametrelerin çoğu, metallerin sublethal konsantrasyonlarına maruz kaldıktan sonra hızla tepki verirler. Hayvan, stres etmenini telafi edebiliyorsa veya uzaklaştırabiliyorsa, bu tepki geçicidir (Thomas, 1990).

Biyokimyasal parametreler arasında plazma glikozu ve protein toksik stresin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Kavitha ve ark., 2010). Glikoz balıklarda önemli bir enerji kaynağıdır ve kan glikoz düzeyindeki değişiklikler kemikli balıklarda stresin genel göstergesi olarak kullanılabilir. Kan glikozu, hızlı, pratik ve kantitatif olduğu için stres tepkisinin bir parametresi olarak kullanılabilir. Benzer şekilde, farklı biyolojik fonksiyonları yerine getiren proteinler çevresel stres faktörleri tarafından büyük oranda etkilenir. Kanda proteinlerin ölçümü, organizmanın fizyolojik evrelerini belirlemek için

kullanılabilir ve çoğunlukla genel sağlık durumu için bir indikatör olarak kullanılır (Lavanya ve ark., 2011). Kortizol, kemikli balıkların böbreğin üst tarafında bulunan interrenal hücreler tarafından üretilen bir kortikosteroidtir. Dolaşımdaki kortizol düzeyleri hipotalamus ve hipofiz beziyle düzenlenir ve balıklar, tuzluluk veya toksik maddeler gibi homeostaziyi bozan stres faktörlerine maruz kaldığında artar (Hontela ve ark., 1997; Richards ve ark. 2003). Kortizol, kemikli balıklarda birincil bir stres hormonu olup, gökkuşağı alabalığının derisindeki çeşitli değişikliklerden sorumludur (Iger ve ark., 1994) ve ayrıca, hidromineral düzenlenme, büyüme ve bağışıklık sistemi üzerine uzun süreli etkileri vardır. Kortizol salınımının azalması ve dolaşımdaki kortizol düzeylerinin düşürülmesi, çeşitli kirleticilere kronik maruz kalmanın sonucunda ortaya çıkar (Hontela ve ark., 1995).

Metal nanopartiküllerinin balık kan dokusu üzerine etkilerinin incelendiği araştırmalar çok azdır. Bu nedenle bu çalışmada çinko nanopartiküllerinin ve çinko sülfatın 0.5 ve 1.5 mg/L derişimlerinin etkisinde 4 ve 28 günlük sürelerle *O. niloticus*'un, serum parametreleri (Glikoz, Total Protein, Kolesterol, Trigliserit, kortizol) ve serum enzim (AST, ALT, ALP ve LDH) aktiviteleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Benson ve ark. (1987), 1.35 ve 2.40 mg/L Cd derişimlerinin etkisine 96 saat süreyle bıraktıkları tatlı su balığı *Notemigonus crysoleucas*'ın kan parametrelerindeki değişimleri incelemişler ve Cd'nin kan ALT ve AST düzeyinde önemli değişikliklere neden olduğu saptamışlardır.

Tort ve ark. (1987), *Scyliorhinus canicula*'da hematolojik parametreleri üzerine bakırın etkileri ile ilgili yaptıkları bir araştırmada, düşük Cu derişimlerinde hemoglobin düzeyi değişmezken eritrosit ve hematokrit düzeyinde azalma, yüksek Cu derişimlerinde ise incelenen tüm hematolojik parametrelerin düzeylerinde azalmaların olduğunu saptamışlardır.

Ghazaly, (1992) Kadmiyumun faklı derişimlerinin etkisine 24, 48, 72 ve 96 saat süreyle bıraktıkları *Tilapia zilli*'nin kan total protein, glikoz ve laktik asid düzeylerinde derişimin artmasına ve sürenin uzamasına bağlı olarak artış gösterdiğini saptamıştır.

Balint ve ark. (1995), İnsektisit methidathion ve deltamethrinin *C. carpio*'da biyokimyasal parametreler üzerine etkisi ile ilgili yaptıkları araştırmada, 6 saatlik uygulamadan sonra serum glukoz düzeyinin %30 arttığı, 72 saatlik uygulamadan sonra ise serum LDH aktivitesinde 2.5 katlık bir artış olduğu; asetilkolin esterase (AChE) aktivitesinde ise %20 düzeyinde bir azalma olduğunu belirtmişlerdir.

Nussey ve ark., (1995) Bakırın 0.16 mg/l ve 0.40 mg/l derişimlerinin etkisine 96 saat süreyle bıraktıkları *Oreochromis mossambicus* 'da plazma klorür ve Ca düzeylerindeki azalmalar olduğunu belirtmişlerdir.

Pelgrom ve ark. (1995), Bakırın subletal etkisine bıraktıkları *O. mossambicus*'da serum Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> iyon düzeylerinde bir azalmanın meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Hussein, ve ark., (1996) 14 ve 28 süreyle 6 mg / L atrazin'in etkisine bıraktıkları *O. niloticus* and *Chrysichthyes auratus* balıklarında serum glukoz ve serum total protein düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğunu belirtmişlerdir.

Araştırmacılar *C. auratus*'da atrazin düzeylerinin artmasıyla hem trigliseridler hem de total lipidlerin önemli ölçüde azaldığını belirlemişlerdir.

Dethloff ve ark. (1999), *Oncorhynchus mykiss* ile yaptıkları bir çalışmada bakırın farklı derişimlerinin 3, 7, 14 ve 21 gün süre ile etkisinde glikoz ve kortizol düzeylerinin başlangıçta kontrole oranla arttığını, sürenin uzamasıyla kontrol düzeyine geldiğini belirtmişlerdir.

Chen ve ark. (2004), bakırın etkisine bıraktıkları *O. niloticus*'da total protein ve albümin düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmazken, glikoz ve kolesterol düzeyleri ile ALP aktivitesinde ise kontrole oranla artış olduğunu belirtmişlerdir.

Monteiro ve ark., (2005) 40 ve 400 µg/L Cu'nun etkisine 3, 7, 14, 21 günlük sürelerle bırakılan *O. niloticus*'da bakırın etkisinde kalma süresi boyunca plazma kortizol ve glikoz düzeyleri belirgin olarak arttığını belirtmişlerdir.

Zaghloul ve ark. (2006), bakırın etkisine bırakılan *Clarias gariepinus*, *O. niloticus* ve *T.zilli*'de serum glikoz düzeyinde kontrole oranla bir artış olurken, serum total protein düzeyinde ise bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Serum AST, ALT ve ALP aktiviteleri ise kontrole oranla bir artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Griffitt ve ark., (2008) Ag NP ve Cu NP'nin *Danio rerio* için 48 saatlik LC<sub>50</sub> değerini sırasıyla 7.07 mg/L ve 0.98 mg/L olarak saptamışlar ve Ag NP'nin AgNO<sub>3</sub>'e ve Cu NP'nin CuCl<sub>2</sub>'ye oranla toksik etkilerinin daha az olduğunu belirtmişlerdir.

Hao ve Chen (2012) Nano-ZnO'un üç farklı konsantrasyonuna (0.5, 5.0 and 50.0 mg/L) 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan *C. carpio*'da herhangi bir mortaliteye neden olmadığını saptamışlardır, bu da, nano-ZnO'nun yavru sazanlarının hayatta kalması için çok toksik olmadığını göstermektedir.

Sathya ve ark., (2012) Farklı sürelerle 0.0107 mg/L AgNO<sub>3</sub> etkisine bıraktıkları *Cirrhinus mrigala* balıklarında plazma glukoz düzeylerinde sürenin uzamasına bağlı olarak artış, protein düzeylerinde ise azalma olduğunu saptamışlardır.

Sharma ve ark.(2012) ZnO NP'lerine maruz kalma sonucu organizmalarda, ZnO NP'lerin büyük oranda oksidatif hasara neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) indüksiyonuna, inflamasyonda mediatörlerin salınmasına, DNA hasarı ve apoptoza neden olabileceğini ortaya koymuşlardır.

Shaw ve ark., (2012) 20 ve 100 µg/L Cu NP ve CuSO<sub>4</sub> etkisine bıraktıkları *O. mykiss*'de bazı hematolojik parametrelerde süreye bağlı birkaç değişiklik gözlenmiş, ancak bunlar normal sınırlarda olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, CuSO<sub>4</sub> etkisine kıyasla 20 µg l-1 Cu NP'ye maruz bırakılan balıklarda 4. günde plazma Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> 'da geçici bir düşüş olduğunu saptamışlardır.

Johari ve ark. (2013), AgNP'lerin etkisine bıraktıkları *O. mykiss*'de plazma kolinesteraz (ChE) aktivitesi ile plazma Na, K ve Cl'nin azaldığını bildirmiştir. 0.03-100 mg/L Ag-NP'lerine etkisine 4 gün süreyle bırakılmasıyla gökkuşağı alabalığındaki plazma kortizol düzeylerinin yükseldiği belirlenmiştir.

Monfared ve Soltani (2013). 3, 300 ve 1000 mg/L olmak üzere üç farklı Ag NP etkisine 8 hafta süreyle bıraktıkları *O. mykiss*'de total serum protein düzeylerinde belirgin bir azalma ve AST aktivitelerinde bir artışın olduğu saptamışlardır.

Katuli ve ark. (2014) *D. rerio* ile yaptıkları bir araştırmada akut (4 gün için 16.76 mg / L AgNPs) ve uzun süreli (3 haftaya kadar 2-4 mg / L) AgNP etkisinde erişkin balıklarda plazma kortizol ve glukoz düzeylerinin (akut ve uzun süreli etkilerde) yükseldiğini ve bunun balıkların stresli olmalarından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Lee ve ark., (2014) *C.carpio* ile yaptıkları bir araştırmada 12 hafta 2.4 mg/L ZnO NP konsantrasyonunda tüm kanda önemli derecede çinko biriktiğini

belirtmişlerdir. Araştırmacılar AST, ALT, LDH ve ALP aktivitelerinin kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Remya ve ark. (2015) 5, 10, 15, 20 ve 25 günlük sürelerle 500 mg/L Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NPlerinin etkisine bıraktıkları *Labeo rohita*'da plazma Na ve K iyonlarında artış, plazma Cl iyonlarında azalmalar olduğunu saptamışlardır.

Kaya ve ark., (2016). 14 gün süreyle iki farklı boyutta ZnO nanopartikülünün 1 ve 10 mg/L konsantrasyonlarının etkisine bıraktıkları tilapia balıklarında herhangi bir ölümün gözlenmediğini saptamışlardır. Araştırmacılar ZnO NP'lerin bu boyuttaki parçacıklarının, bu konsantrasyonlarda balıklar için düşük bir akut toksisite sergilediğini belirtmişlerdir.

Chupani ve ark., (2017) yaptıkları bir araştırmada farklı miktarda ZnNP'leri ilave ettikleri besinle 6 hafta süresince besledikleri *C. carpio* balıklarında plazma ALT aktivitesinde belirgin bir azalma, yüksek konsantrasyon grubunda ise AST aktivitesinde bir artış olduğunu gözlemişlerdir.

Farsania ve ark., (2017) 1.5 ve 2.5 mg/L ZnO NP etkisine 10 gün süreyle bırakılmış AST, ALT ve ALP serum aktivitesinde belirgin artışlar gösterdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar sadece ZnO NP'lere maruz bırakılan balıklarda kan glikozundaki artışların olduğunu ve bu artışın strese bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan *O. niloticus* Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi üretim havuzlarından alınarak Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ekofizyoloji laboratuvarına getirilen balıklar her biri 40x120x40 cm boyutlarındaki stok akvaryumlar içerisinde 2 ay süreyle laboratuvar ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre sonunda deneyde kullanılan balıklar  $11.36 \pm 1.33$  cm boy ve  $20.08 \pm 4.99$  g ağırlığa ulaşmışlardır.

Deneyler  $25 \pm 1$  °C sıcaklıkta yürütülmüş, akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve günde 12 saat aydınlanma, 12 saat karanlık periyodu uygulanmıştır. Balıklar, günde iki kez olmak üzere balık ağırlığının % 2'i kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir.

Deney süresince adsorbsiyon ve evaporasyon gibi nedenlerle çinko çözeltileri her gün taze olarak hazırlanan stok çözeltilerinden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir. Deney süresince ortam suyunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıda verilmiştir.

---

Sıcaklık (Akvaryum):  $23 \pm 1.5$  °C

Toplam sertlik:  $261.81 \pm 0.210$  ppm CaCO<sub>3</sub>

pH:  $7.82 \pm 0.06$

Çözülmüş Oksijen:  $6.53 \pm 0.06$  mg/ L

---

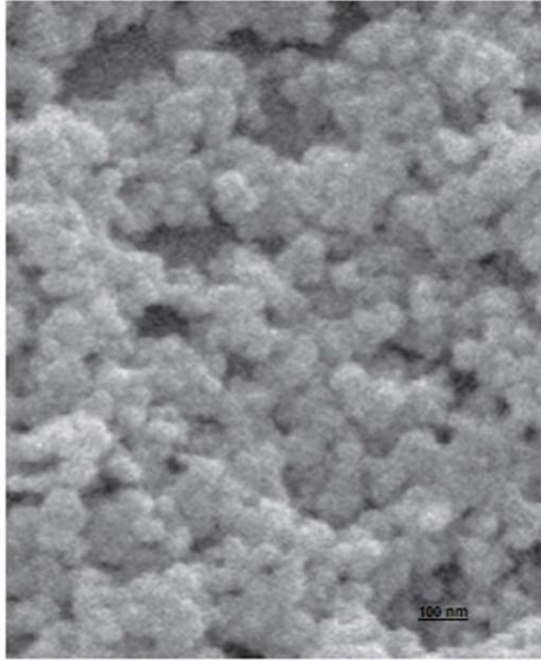
Deneyler için ZnO NP her gün taze stok solüsyon şeklinde hazırlanmıştır. Stok solüsyonda ultra saf su (18 MΩ/cm) kullanılarak vorteks ile 6 saat karıştırılarak çözündürülmüştür. Örneklerin NP boyutu ve yüzey yükünün

belirlenmesi için analizi yapılmış ve karakteristik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile stok solüsyon ve yüksek doz ZnO NP 1.5 mg/L etkisindeki akvaryum çözeltisinden belirlenmiştir (Çizelge 3.1). Şekil 3.1.'de stok solüsyonun SEM görüntüsü verilmiştir.

Çizelge 3.1. ZnO NP'nin taramalı elektron mikroskop (SEM) ölçüm sonuçları

| Partikül karakterleri         | Method | Mili-Q Saf Su | Çeşme Suyu |
|-------------------------------|--------|---------------|------------|
| Büyüklik (nm)                 | TEM    | <100nm*       |            |
| Partikül Büyüklik Ayrımı (nm) | SEM    | 85.5±7.3      | 11±8,7     |

\*sigma aldrich katalogundaki ZnO NP değeri



Şekil 3.1. ZnO NP'nin taramalı elektron mikroskop görüntüsü

Deneyler, ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> dikkate alınarak iki seri olarak yürütülmüştür. Balıklar birinci seride ZnO NP'nin 0.5 ve 1.5 mg/L derişimlerine, ikinci seride ZnSO<sub>4</sub>' un 0.5 ve 1.5 mg/L ortam derişimlerinin etkisine 4 (96 saat) ve 28 gün sürelerle bırakılmıştır.

Deneylerde 40X120X40 cm. boyutlarında olan 5 cam akvaryum kullanılmıştır. Her bir akvaryuma 12 balık konulmuş, toplamda 60 balık kullanılmıştır. Birinci seride bu akvaryumlardan ikisine 120'şer litre 0.5 ve 1.5 mg/L ZnO NP çözeltileri, ikinci serideki akvaryumlardan ikisine ZnSO<sub>4</sub>'un 0.5 ve 1.5 mg/L lik çözeltilerinden 120'şer litre konulmuştur. Beşinci akvaryuma ise metal içermeyen çeşme suyu konulup kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır. Deney çözeltilerinin hazırlanmasında bakır sülfat (Sigma Aldrich, ZnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) ve çinko oksit nanopartikülü (Sigma-Aldrich; ZnO; partikül boyutu <100nm) kullanılmıştır

Belirlenen her sürenin sonunda balıklar çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve kurutma kâğıdı ile yüzeylerinde bulunan su damlacıkları alınmıştır. Balıklar kuyruk bölgesinden kesilerek dorsal aortadan kanları alınmıştır. Kan örnekleri içinde herhangi bir madde bulunmayan içi boş tüplere alınmıştır.

Metal olarak çinko oksit nanopartikülü (ZnO.NP) partikül büyüklüğü 100 nm'den küçük anatase formu (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Deneyler için ZnO.NP her gün taze stok solüsyon şeklinde hazırlanmıştır. ZnO.NP stok solüsyonu ultra saf su kullanılarak vorteks ile 6 saat karıştırılarak çözündürülmüştür. Örnekler NP boyutu ve yüzey yükünü belirlenmek için analiz edilmiş ve karakteristik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile stok solüsyon ve ZnO.NP yüksek derişimi (1.5 mg/L) etkisindeki akvaryum çözeltilisinden belirlenmiştir (Çizelge 3.1). Şekil 3.1.' de stok solüsyonun SEM görüntüsü verilmiştir.

**3.2. Metod**

Serum parametreleri ve enzim aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla tüplere alınan kan örnekleri, 3000 rpm’de 10 dakika süreyle santirfüj (Hettich EBA 8S) edilmiştir. Elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplerine alınmış ve analize hazır hale getirilmiştir. Serum parametrelerinin analizlerinde Ç.Ü. Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarundaki Beckman Coulter UniCel DXI 800 ve AU5800 marka otoanalizatör cihazları kullanılmıştır.

**3.2.1. İstatistik**

Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri “ Regresyon analizi” ve “Student-Newman Keul’s Test (SNK)” testleri SPSS 21 paket programı uygulanarak yapılmıştır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

## 4.1. Bulgular

Bu çalışmada; ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisine 4 ve 28 gün sürelerle bırakılan *O. niloticus*'da serum parametreleri (glikoz, total protein, kolesterol, trigliserit, kortizol ve AST, ALT, ALP ve LDH) üzerine etkileri araştırılmıştır.

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın derişim ve süreye bağlı olarak *O. niloticus*'un serum glikoz düzeylerine etkileri Çizelge 4.1'de verilmiştir. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisindeki serum glikoz düzeyi 4 günlük etki süresi sonunda tüm derişimlerde kontrole göre önemli bir değişim göstermediği, 28 günlük etki süre sonunda ise sadece ZnSO<sub>4</sub> etkisinde her iki derişimde de kontrole göre artış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.1.; P<0.05).

Çizelge 4.1. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum glikoz düzeyleri (mg/dL).

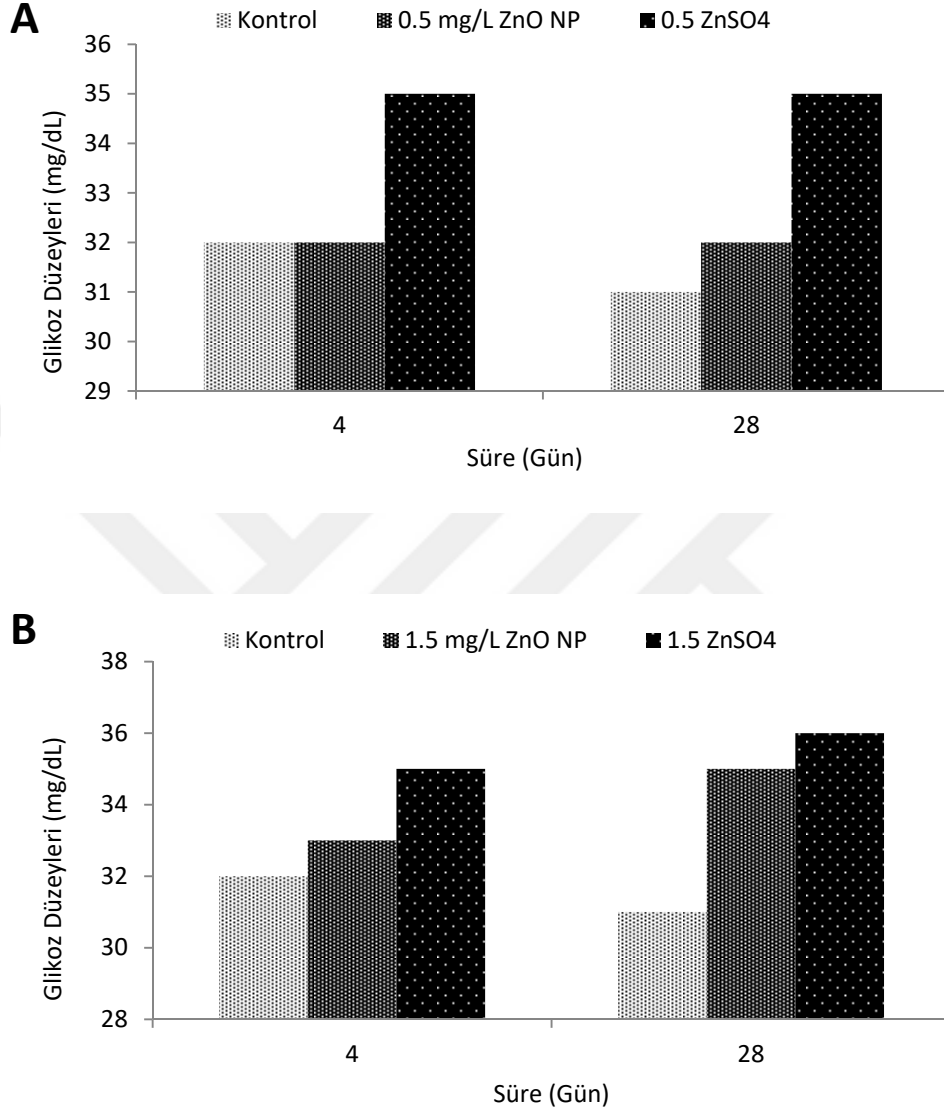
| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 32.00±1.52             | xa | 31.00±0.57             | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 32.33±0.88             | xa | 32.66±2.90             | xa |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 33.66±1.30             | xa | 35.33±1.48             | xa |
| Kontrol                    | 32.00±1.52             | xa | 31.00±0.57             | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 35.66±0.66             | xa | 35.33±0.57             | ya |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 32.66±1.45             | xa | 36.33±1.20             | ya |

\*SNK; x ve y harfler derişimler arası a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart Hata

Süreye bağlı metal etkisi incelendiğinde, ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm derişimlerdeki serum glikoz düzeyi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla herhangi bir değişim göstermediği belirlenmiştir (P>0.05).

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum glikoz düzeyleri üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.1. A ve B'de verilmiştir. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün serum glikoz düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında, 4 günlük etki süresinde 0.5 mg/L'lik derişimde serum glikoz düzeyindeki artış Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla olmuştur (Şekil 4.1.; P<0.05).



Şekil 4.1. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum glikoz düzeyleri (mg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın derişim ve süreye bağı olarak *O. niloticus*'un serum total protein düzeylerine etkileri Çizelge 4.2'de verilmiştir. ZnO NP 'ın etkisindeki serum total protein düzeyi 4 günlük etki süresi sonunda denenen her iki derişimde de kontrole göre önemli bir değışim göstermezken, ZnSO<sub>4</sub> etkisinde her iki ortam derişiminde kontrole göre artmıştır. 28 günlük etki süre sonunda ise sadece ZnSO<sub>4</sub> etkisinde hem 0.5 mg/L hemde 1.5 mg/L'lik ortam derişimlerinde kontrole göre artış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2.; P<0.05).

Süreye bağı metal etkisi incelendiğinde, ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm derişimlerde (0.5 mg/L ZnSO<sub>4</sub> hariç) serum total protein düzeyi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla herhangi bir değışim göstermediğı belirlenmiştir (P>0.05).

Çizelge 4.2. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum total protein düzeyleri (g/dL).

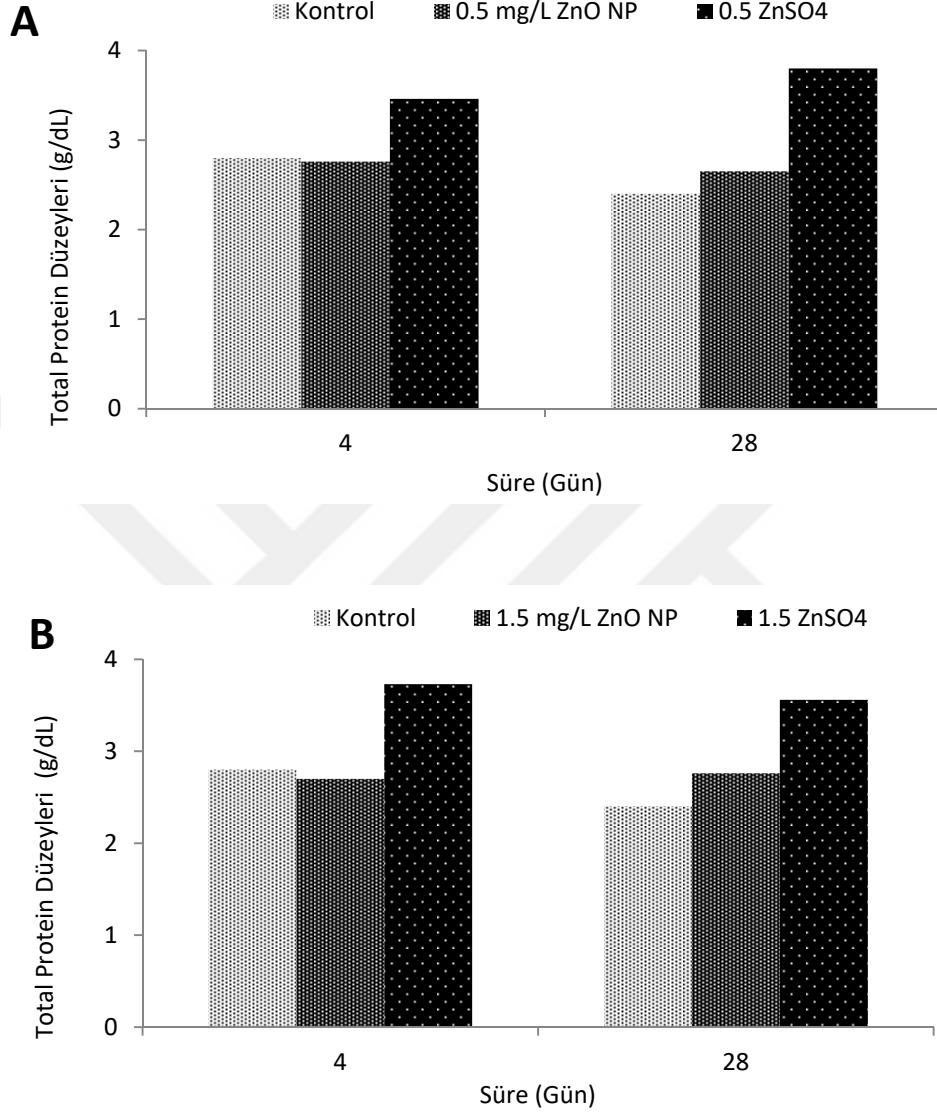
| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 2.80±0.57              | xa | 2.40±0.20              | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 2.76±0.23              | xa | 2.65±0.10              | xa |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 2.70±0.05              | xa | 2.76±0.26              | xa |
| Kontrol                    | 2.80±0.57              | xa | 2.40±0.20              | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 3.46±0.08              | ya | 3.80±0.05              | yb |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 3.73±0.16              | ya | 3.56±0.08              | ya |

\*SNK; x ve y harfler derişimler arası, a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart Hata

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum total protein düzeyleri üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.2. A ve B'de verilmiştir. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün serum total protein düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında, 28 günlük etki süresinde 0.5 mg/L'lik derişimde serum total protein düzeyindeki artış Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla olmuştur (Şekil 4.2.; P<0.05). 1.5 mg/L'lik ortam derişiminde serum total protein düzeyi denenen her iki sürede de Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla artış göstermiştir (Şekil 4.2.; P<0.05).





Şekil 4.2. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum total protein düzeyleri (mg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın derişim ve süreye bağılı olarak *O. niloticus*'un serum total kolesterol düzeylerine etkileri Çizelge 4.3'de verilmiştir. Denenen her iki süre sonunda hem ZnO NP hemde ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde serum total kolesterol düzeyleri kontrole göre azalış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.3.; P<0.05).

Süreye bağılı metal etkisi incelendiğinde, ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm derişimlerde (0.5 mg/L ZnO NP derişimi hariç) serum total kolesterol düzeyi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla azaldığı belirlenmiştir (P>0.05).

Çizelge 4.3. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum total kolesterol düzeyleri (mg/dL).

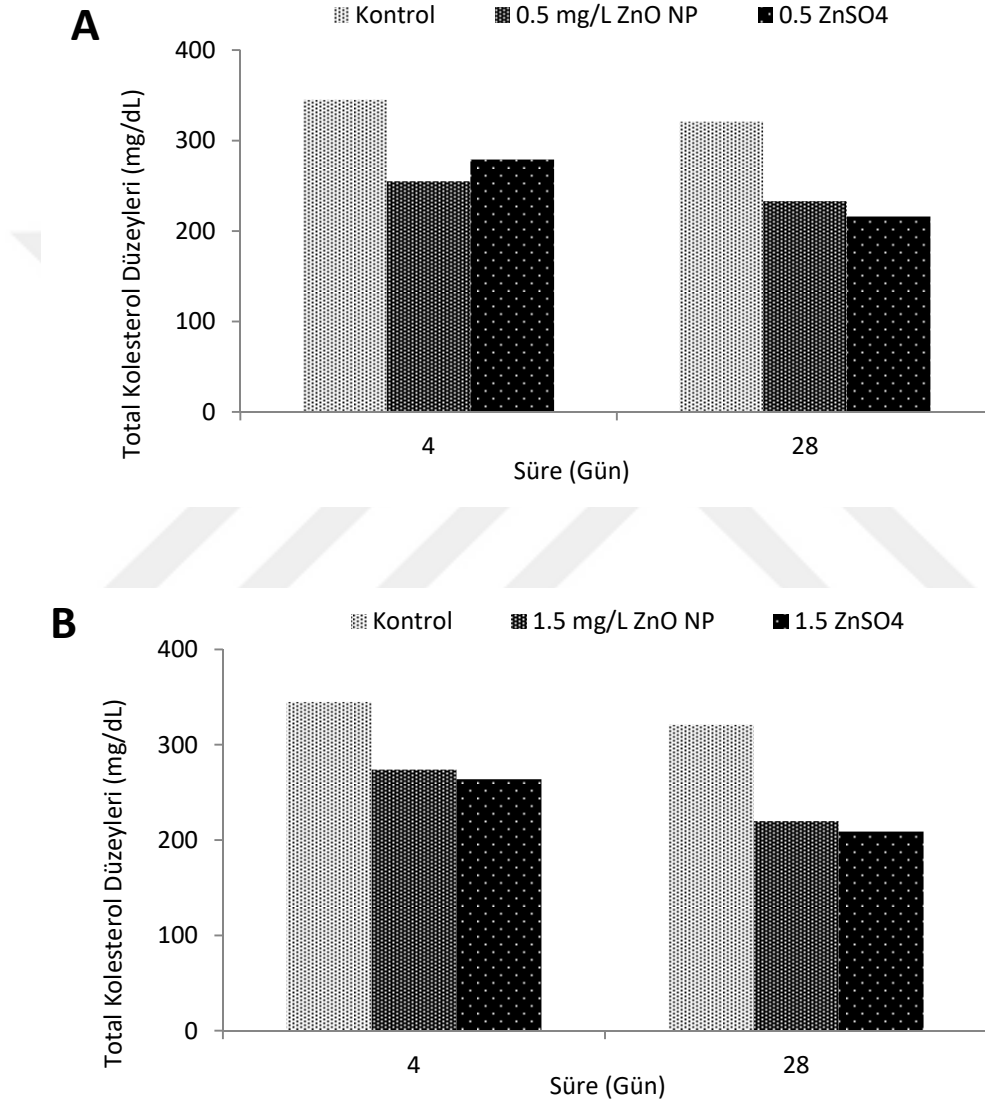
| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 345.33±9.68            | xa | 321.33±7.05            | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 255.66±19.8            | ya | 233.66±12.5            | ya |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 274.60±6.96            | ya | 220.83±3.63            | yb |
| Kontrol                    | 345.33±9.68            | xa | 321.33±7.05            | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 279.33±5.66            | ya | 216.66±4.05            | yb |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 264.60±13.8            | ya | 209.66±4.25            | yb |

\*SNK; x ve y harfler derişimler arası a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart Hata

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum total kolesterol düzeyleri üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.3. A ve B'de verilmiştir. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün serum

total kolesterol düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında, denenen tüm derişim ve sürelerde herhangi bir ayırım gözlenmemiştir (Şekil 4.3.;  $P>0.05$ ).



Şekil 4.3. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum total kolesterol düzeyleri (mg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün derişim ve süreye bağılı olarak *O. niloticus*'un serum trigliserid düzeylerine etkileri Çizelge 4.4'de verilmiştir. Hem ZnO NP hemde ZnSO<sub>4</sub> 'ın etkisindeki serum trigliserid düzeyi 4 günlük etki süresi sonunda denenen tüm derişimlerde kontrole göre önemli bir düzeyde artmıştır (Çizelge 4.4.; P<0.05). Bu artış ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün düşük ve yüksek derişimleri arasında da istatistiksel ayırım göstermiştir. 28 günlük etki süre sonunda ise hem ZnO NP hemde ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde serum trigliserid düzeyleri kontrole göre artış göstermiştir (Çizelge 4.4.; P<0.05).

Süreye bağılı metal etkisi incelendiğinde, sadece 1.5 mg/L ZnSO<sub>4</sub> ortam derişiminin etkisinde serum trigliserid düzeyi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla artış görülmüştür (Çizelge 4.4. P<0.05).

Çizelge 4.4. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum trigliserid düzeyleri (mg/dL).

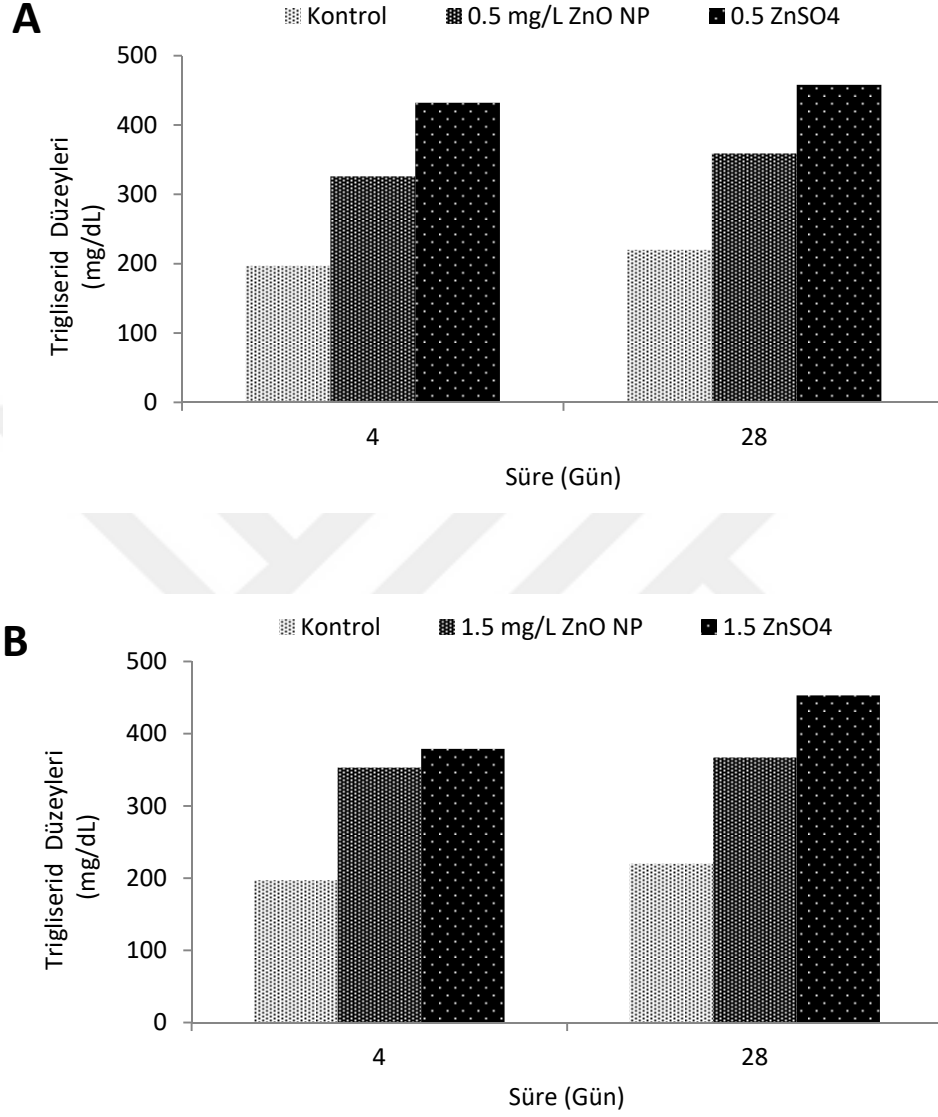
| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 197.1±3.76             | xa | 220.2±6.75             | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 326.3±3.85             | ya | 359.7±12.3             | ya |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 353.3±1.66             | za | 367.9±21.4             | ya |
| Kontrol                    | 197.1±3.76             | xa | 220.2±6.75             | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 432.0±8.14             | ya | 458.8±9.09             | ya |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 379.8±13.1             | za | 453.5±6.33             | yb |

\*SNK; x, y ve z harfler derişimler arası a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart Hata

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum trigliserid düzeyleri üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.4. A ve B'de verilmiştir. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün serum trigliserid düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında, 4 günlük etki süresinde 0.5 mg/L'lik derişimde serum trigliserid düzeyindeki artış Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla olmuştur (Şekil 4.4.; P<0.05). 28 günlük etki süresinde ise denenen her iki ortam derişiminde de serum trigliserid düzeyi Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla artış göstermiştir (Şekil 4.4.; P<0.05).





Şekil 4.4. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum trigliserid düzeyleri (mg/dL) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın derişim ve süreye bağı olarak *O. niloticus*'un serum kortizol düzeylerine etkileri Çizelge 4.5'de verilmiştir. Hem ZnO NP hemde ZnSO<sub>4</sub> 'ın etkisindeki serum kortizol düzeyi her iki süre sonunda denenen tüm derişimlerde kontrole göre önemli bir düzeyde arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5.;  $P < 0.05$ ).

Süreye bağı metal etkisi incelendiğinde, ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm derişimlerde serum kortizol düzeyi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla herhangi bir ayırım göstermediğı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ).

Çizelge 4.5. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum kortizol düzeyleri ( $\mu\text{g/dL}$ ).

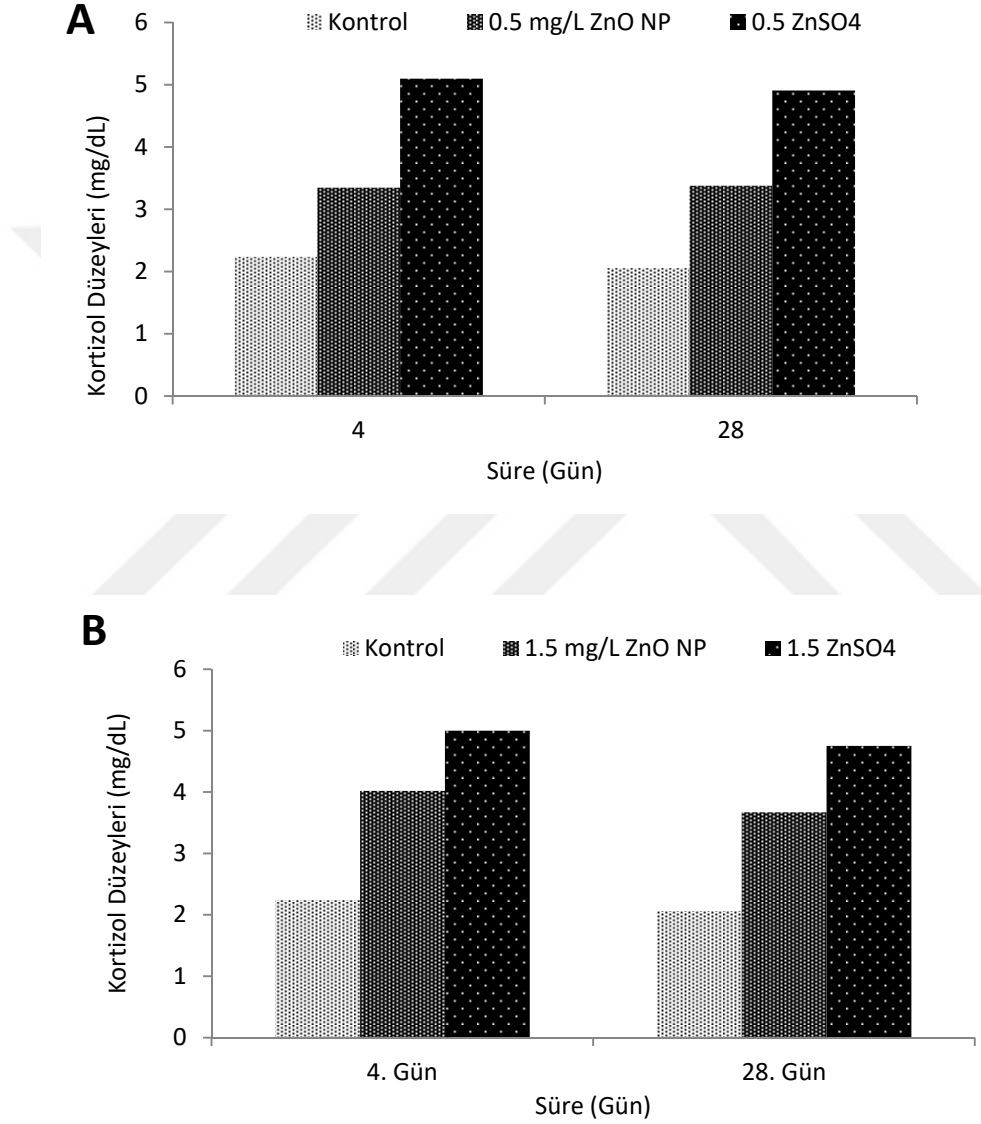
| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 2.24±0.29              | xa | 2.06±0.10              | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 3.35±0.39              | ya | 3.38±0.33              | ya |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 4.02±0.08              | ya | 3.67±0.45              | ya |
| Kontrol                    | 2.24±0.29              | xa | 2.06±0.10              | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 5.10±0.60              | ya | 4.91±0.26              | ya |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 5.00±0.15              | ya | 4.75±0.05              | ya |

\*SNK; x ve y harfler derişimler arası a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayırım vardır ( $P < 0.05$ ).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart Hata

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum kortizol düzeyleri üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.5. A ve B'de verilmiştir. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün serum kortizol düzeyi üzerine etkisi kıyaslandığında, 4 ve 28 günlük etki sürelerinde denenen her

iki ortam derişiminde de serum kortizol düzeyi  $\text{ZnSO}_4$  etkisinde  $\text{ZnO NP}$ 'e oranla daha fazla artış göstermiştir (Şekil 4.5.;  $P<0.05$ ).



Şekil 4.5.  $\text{ZnO NP}$  ve  $\text{ZnSO}_4$ 'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum kortizol düzeyleri ( $\mu\text{g/dL}$ ) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın derişim ve süreye bağı olarak *O. niloticus*'un serum ALP enzim aktivitesine etkileri Çizelge 4.6'da verilmiştir. 4 günlük etki süresinde 1.5 mg/L 'lik ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde serum ALP enzim aktivitesi kontrole oranla önemli bir düzeyde artmıştır (Çizelge 4.6.; P<0.05). 28 günlük etki süre sonunda ise 1.5 mg/L'lik ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> 'ün her iki ortam derişiminin etkisinde serum ALP enzim aktivitesi kontrole oranla artış göstermiştir (Çizelge 4.6.; P<0.05).

Süreye bağı metal etkisi incelendiğinde, denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde (1.5 mg /L ZnSO<sub>4</sub> hariç) serum ALP enzim aktivitesi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla artış gösterirken, 1.5 mg /L ZnSO<sub>4</sub> ortam derişiminde ise azalmıştır (Çizelge 4.4. P<0.05).

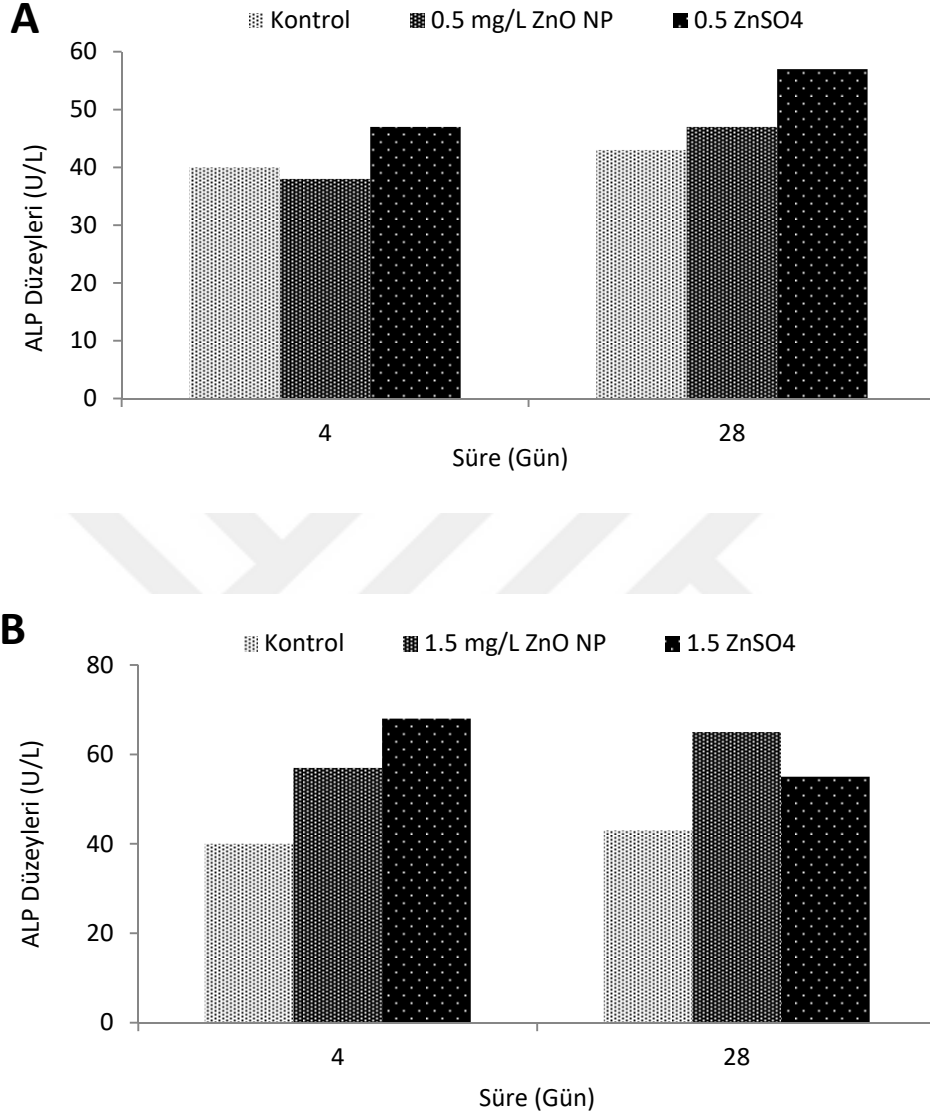
Çizelge 4.6. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum ALP enzim aktiviteleri (U/L).

| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 40.66±1.33             | xa | 43.33±2.40             | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 38.66±2.18             | xa | 47.16±2.68             | xb |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 57.33±0.88             | ya | 65.33±2.90             | yb |
| Kontrol                    | 40.66±1.33             | xa | 43.33±2.40             | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 47.33±1.20             | xa | 57.66±0.33             | yb |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 68.66±4.66             | ya | 55.33±0.33             | yb |

\*SNK; x ve y harfler derişimler arası a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart Hata

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum ALP enzim aktivitesi üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.6. A ve B'de verilmiştir. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün serum ALP enzim aktivitesi üzerine etkisi kıyaslandığında, 4 günlük etki süresinde denenen her iki ortam derişiminde de ALP enzim aktivitesi Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla artış göstermiştir (şekil 4.6.; P<0.05). 28 günlük etki süresinde ise 0.5 mg/L'lik derişimde serum ALP enzim aktivitesindeki artış Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla olurken, 1.5 mg/L'lik ortam derişiminde ise serum ALP enzim aktivitesindeki artış ZnO NP etkisinde ZnSO<sub>4</sub> 'e oranla daha fazla olmuştur (şekil 4.5.; P<0.05).



Şekil 4.6. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum ALP enzim aktivitesi (U/L) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın derişim ve süreye bağı olarak *O. niloticus*'un serum AST enzim aktivitesine etkileri Çizelge 4.7'de verilmiştir. 4 ve 28 günlük etki sürelerinde ZnO NP (0.5 mg/L hariç) ve ZnSO<sub>4</sub>'ün denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde serum AST enzim aktivitesi kontrole oranla önemli bir düzeyde artış göstermiştir (Çizelge 4.7.; P<0.05).

Süreye bağı metal etkisi incelendiğinde, ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm derişimlerde serum AST enzim aktivitesi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla herhangi bir değışim göstermediğı belirlenmiştir (P>0.05).

Çizelge 4.7. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum AST enzim aktiviteleri (U/L).

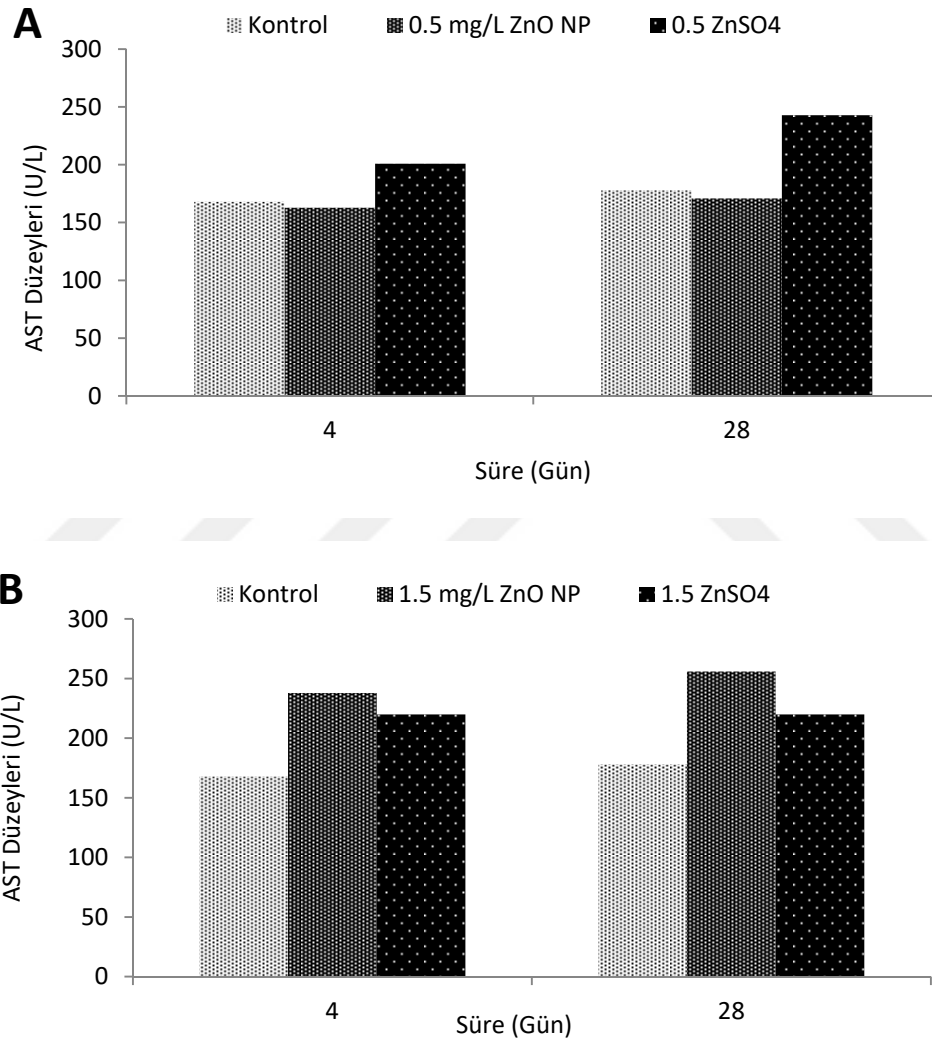
| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 168.33±4.05            | xa | 178.33±3.28            | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 163.66±3.17            | xa | 171.00±3.60            | xa |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 238.00±6.80            | ya | 256.16±17.3            | ya |
| Kontrol                    | 168.33±4.05            | xa | 178.33±3.28            | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 201.66±6.17            | ya | 243.83±14.3            | ya |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 220.33±5.78            | ya | 220.00±8.32            | ya |

\*SNK; x ve y harfler derişimler arası a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart Hata

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum AST enzim aktivitesi üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.7. A ve B'de verilmiştir. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün serum AST enzim aktivitesi üzerine etkisi kıyaslandığında, 0.5 mg/L'lik ortam

derişiminin etkisinde hem 4 gün hemde 28 günlük etki sürelerinde AST enzim aktivitesi Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla artış göstermiştir (Şekil 4.7.; P<0.05).



Şekil 4.7. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum AST enzim aktivitesi (U/L) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın derişim ve süreye bağılı olarak *O. niloticus*'un serum ALT enzim aktivitesine etkileri Çizelge 4.8'de verilmiştir. 4 günlük etki süresinde ZnO NP (0.5 mg/L'lik derişimi hariç) ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde serum ALT enzim aktivitesi kontrole oranla önemli bir düzeyde artmıştır (Çizelge 4.8.; P<0.05). 28 günlük etki süre sonunda ise ZnO NP'nin düşük ortam derişimi dışında denenen tüm ortam derişimlerinde hem ZnO NP hemde ZnSO<sub>4</sub> etkisinde serum ALT enzim aktivitesi kontrole oranla artış göstermiştir (Çizelge 4.8.; P<0.05).

Süreye bağılı metal etkisi incelendiğinde, ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün yüksek derişimlerinin etkisinde serum ALT enzim aktivitesi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla artış gösterdiği saptanmıştır (P>0.05).

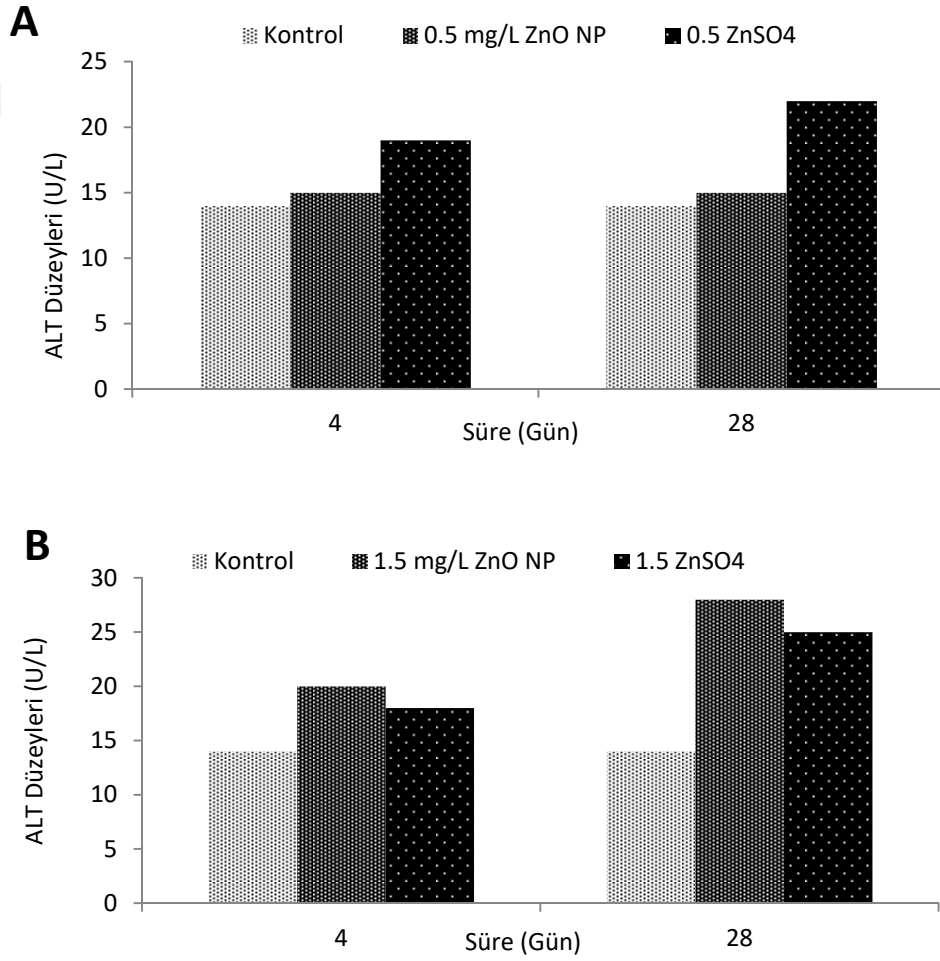
Çizelge 4.8. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum ALT enzim aktiviteleri (U/L).

| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 14.33±0.88             | xa | 14.33±0.88             | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 15.00±0.57             | xa | 15.00±0.57             | xa |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 20.00±0.57             | ya | 28.50±0.76             | yb |
| Kontrol                    | 14.33±0.88             | xa | 14.33±0.88             | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 19.00±0.57             | ya | 22.33±1.45             | ya |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 18.66±0.66             | ya | 25.33±1.33             | yb |

\*SNK; x ve y harfler derişimler arası a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayrım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart Hata

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum ALT enzim aktivitesi üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.8. A ve B'de verilmiştir. 0.5 mg/L'lik ortam derişiminin etkisinde hem 4 gün hemde 28 günlük etki sürelerinde ALT enzim aktivitesi Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.8.; P<0.05).



Şekil 4.8. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum ALT enzim aktivitesi (U/L) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın derişim ve süreye bağı olarak *O. niloticus*'un serum LDH enzim aktivitesine etkileri Çizelge 4.9'da verilmiştir. Hem ZnO NP (0.5 mg/L'lik derişimi hariç) hemde ZnSO<sub>4</sub>'ın etkisindeki serum LDH enzim aktivitesi 4 günlük etki süresi sonunda denenen tüm derişimlerde kontrole göre önemli bir düzeyde artmıştır (Çizelge 4.9; P<0.05). Bu artış ZnSO<sub>4</sub>'ün düşük ve yüksek derişimleri arasında da istatistiksel ayırım göstermiştir. 28 günlük etki süre sonunda ise hem ZnO NP hemde ZnSO<sub>4</sub> etkisinde denenen tüm ortam derişimlerinde serum LDH enzim aktivitesi kontrole göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu artış hem ZnO NP hemde ZnSO<sub>4</sub> 'ün düşük ve yüksek derişimleri arasında da istatistiksel ayırım göstermiştir (Çizelge 4.9; P<0.05).

Çizelge 4.9. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum LDH enzim aktiviteleri (U/L).

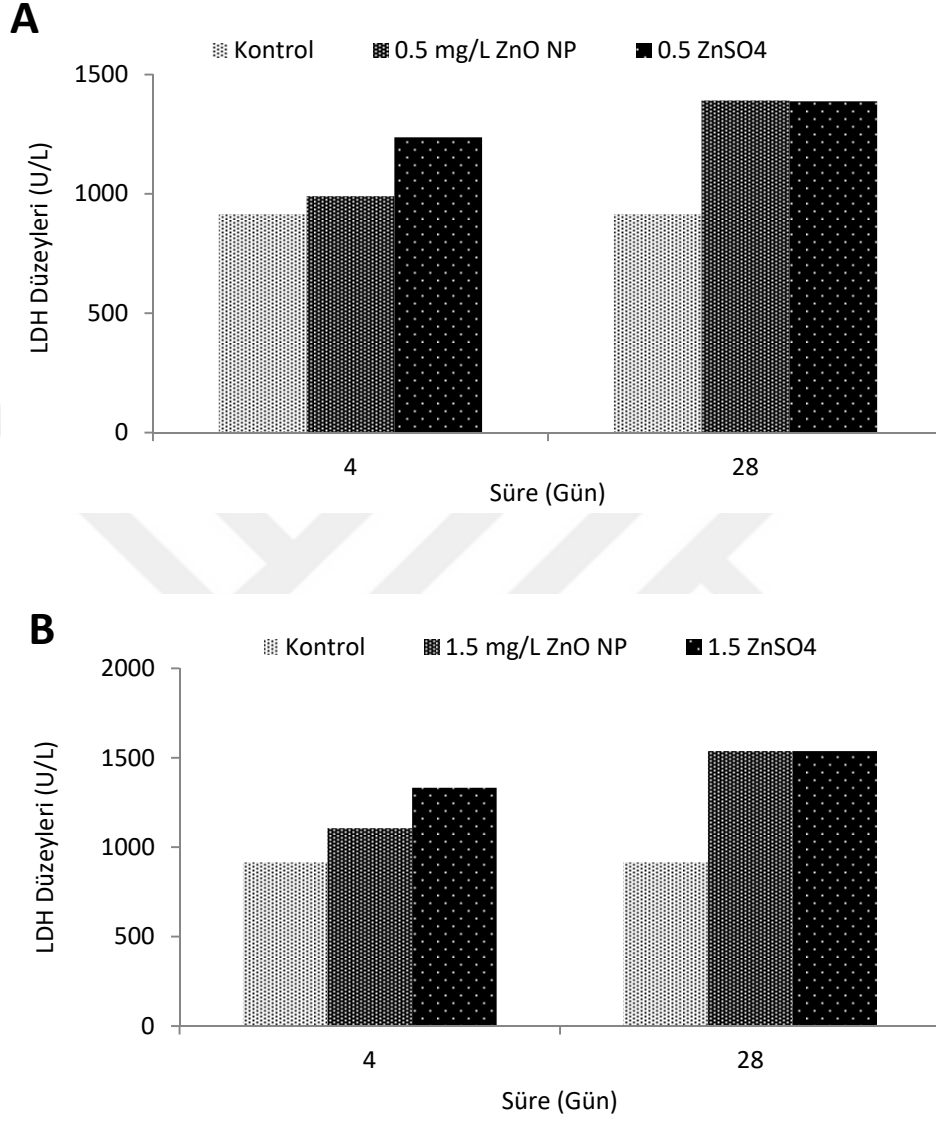
| Derişim                    | Süre (Gün)             |    |                        |    |
|----------------------------|------------------------|----|------------------------|----|
|                            | 4                      |    | 28                     |    |
|                            | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  | $\bar{X} \pm s\bar{x}$ | *  |
| Kontrol                    | 915.66±6.06            | xa | 915.33±11.8            | xa |
| 0.5 mg/L ZnO NP            | 990.00±9.84            | xa | 1391.3±23.3            | yb |
| 1.5 mg/L ZnO NP            | 1106.3±52.4            | ya | 1537.6±13.9            | zb |
| Kontrol                    | 915.66±6.06            | xa | 915.33±11.8            | xa |
| 0.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 1237.3±12.4            | ya | 1388.3±21.6            | yb |
| 1.5 mg/L ZnSO <sub>4</sub> | 1332.0±14.0            | za | 1537.6±13.9            | zb |

\*SNK; x, y ve z harfler derişimler arasın a ve b harfleri ise süreler arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında düzeyinde istatistik ayırım vardır (P < 0.05).

$\bar{X} \pm s\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart Hata

Süreye bağlı metal etkisi incelendiğinde, denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde serum LDH enzim aktivitesi 28 günlük etki süresinde 4 günlük etki süresine oranla artış göstermiştir (Çizelge 4.9.  $P<0.05$ ).

Belirli bir derişimde *O. niloticus*'da serum LDH enzim aktivitesi üzerine ZnO NP ve  $ZnSO_4$ 'ın etkisini saptamak amacıyla verilerin istatistik analizi yapılmış ve sonuçlar şekil 4.9. A ve B'de verilmiştir. ZnO NP ve  $ZnSO_4$ 'ün serum LDH enzim aktivitesi üzerine etkisi kıyaslandığında, 4 günlük etki süresinde 0.5 mg/L ortam derişiminde LDH enzim aktivitesi  $Zn SO_4$  etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.9.;  $P<0.05$ ).



Şekil 4.9. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum LDH enzim aktivitesi (U/L) üzerine sürenin etkisi (A: 0.5 mg/L, B: 1.5 mg/L).

#### 4.2. Tartışma

Ağır metallerin su organizmalarına olan toksik etkileri, metale, türe, etkide kalınan süreye ve suyun kimyasal özellikleri gibi faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir (Hollis ve ark., 1999; Erdem ve Kargın, 1992; Kargın ve Erdem, 1992). Metal nanopartiküllerinin su organizmalarına toksik etkileri ağır metallerin etkilerine benzer olmakla birlikte ayrıca nanopartikülün büyüklüğüne, şekline, yapısına ve suda çözünbilme kapasitesine, bağlı olarak değişim gösterebilmektedir (Wang, 2011; Hao ve ark., 2013; Adam ve ark., 2015). ZnO NP'lerin yüksek derişimleri organizmalarda toksisiteye ve çevreye zarar vermekte olup, ZnO NP'lerin toksisite mekanizması temelde nanopartiküller ve biyomoleküller arasındaki etkileşime bağlıdır ve toksisite enzimatik aktivitede azalmaya neden olmaktadır (Chang ve ark., 2012).

Ağır metaller doğada genelde çok düşük düzeylerde bulunurlar. Çinko, balıklar için gerekli besin maddesidir ve demirden sonra organizmalarda bulunan en yaygın ikinci iz mineraldir (Chupania ve ark., 2018). Çinko tatlı suda bulunan balıklar için önemli bir mikro besleyici mineraldir ve vücudun çok çeşitli yaşamsal süreçlerinde gereklidir. (Chupania ve ark., 2017). Çinko, yaygın olarak balıkların yemine ilave besin olarak eklenen bir metal olup insan ve hayvan beslenmesi için gerekli olan bir iz mineralidir (Roney, 2005). Eser düzeyde hemen tüm canlıların gereksinim gösterdiği çinko yüksek derişimlerde ise toksik etki yapar (Kargın ve Erdem, 1992). Bu araştırmada 1.5 mg/L ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ın ortam derişimlerinde deneylerin sona erdirildiği 28 günlük süre içerisinde balıklarda ölüm gözlenmemiştir. ZnO NP'nin üç farklı konsantrasyona maruz kalan *Cyprinus carpio*'da herhangi bir mortalitenin gözlenmediği; bu da, ZnO NP'nin sazanlarının hayatta kalması için toksik olmadığını göstermektedir (Hao, ve Chen, 2012). Bu araştırmada balıklarda yüksek derişimlerde ölüm gözlenmemesinin nedeni balıkların adaptasyon yetenekleri ve detoksifikasyon mekanizmalarının iyi olmasından kaynaklanmaktadır.

*O. niloticus* ile yürütülen bu araştırmada da ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde 28 günlük deney süresince balıklarda besini değerlendirmeme, akvaryum dibinde kümeleşme ve yüzmeye hareketlerinde dengesizlik gibi davranış değişiklikleri görülmüştür. ZnO NP'nin yüksek konsantrasyonlarının (50.0 mg/L ) etkisine bırakılan *C. carpio* balıkları ilk günlerde olağandışı davranışlar sergilediği belirlenmiş, buna ek olarak, balıkların suda aşırı derecede mukus salgıladıkları saptanmıştır (Hao ve Chen, 2012).

Ağır metaller ve metal nanopartiküller hemen tüm organizmalarda vücuda deri, besin ve solungaç yoluyla alınmakta ve kan yoluyla iç organlara taşınarak dokularda biriktirilebilmektedir (Bury ve ark., 2003; Handy ve ark. 2008; Hao ve ark., 2013). Balıklar ağır metalleri solungaçları aracılığıyla doğrudan sudan almaktadırlar. Solungaç yüzeyinde bağlanmada oluşan doygunluk sonucu metaller hücre içine geçmektedirler. NP'ler balıklara hasar gören epitel hücre membranı yoluyla doğrudan girebilir ve istenmeyen toksik etkilere neden olabilir (Mansouri ve ark., 2016).

Ağır metaller, genellikle kan su içeriğindeki değişiklikler nedeniyle hematolojik parametrelerde değişiklikler meydana getirirler (Ghazaly, 1992). Bystrzejska-Piotrowska ve ark. (2009), metal oksit nanopartiküllerin membranlara bağlanarak veya hücre içinde depolanarak hücresel işlevleri bozabileceğini bildirmişlerdir. Toksik maddelere maruz kalan balıklar, spesifik olmayan bir stres tepkisinin neden olduğu bazı telafi edici mekanizmaları aktif duruma geçirirler (Wendelaar Bonga, 1997).

Metabolik bozuklukların saptanmasında ve teşhisinde serum bileşenlerinin analizi yararlı olmaktadır. Sağlık durumunun değerlendirilmesi için en yaygın klinik örnek serumdur ve son zamanlarda çeşitli hastalıklar ve kimyasal etkiler için biyomarkırların taranmasında büyük önem kazanmıştır (Chupani ve ark., 2017). Biyokimyasal parametreler, stres araştırması için hassas parametreler olarak kabul edilmekte ve balıklarda çevresel stresin hassas bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Kavitha ve ark. 2010). Suda yaşayan organizmada metaller,

hücrenin normal işleyişini bozabilmekte bu da hayvanların biyokimyasal mekanizmalarında değişikliklere neden olmaktadır. Sudaki kirlетici maddelerin karbonhidrat mekanizması üzerindeki etkisi, glikoz, glikojen ve laktik asit içeriğinde değişiklikleri içermektedir (Sathya ve ark., 2012).

Glikoz, bir organizmanın stresli durumunu değerlendirmek için en hassas indekslerden biridir; kandaki yüksek konsantrasyonu bir balığın stres altında olduğunu ve enerji rezervlerini (karaciğer ve kaslardaki glikojen) yoğun olarak kullandığını gösterir (Lee ve ark., 2014). Serum glikoz düzeylerindeki değişiklikler stres tepkisinin ikincil bir markırı olarak kabul edilir (Toa ve ark., 2004) ve çevre kirlетicilerine maruz kalan organizmalarda sıklıkla ölçülür. Bakırın etkisine bırakılan *Salmo trutta*'da serum glikoz düzeyi ortam derişimi ve etkide kalma süresine bağılı olarak arttığı belirlenmiştir (Nemcsok ve Hughes, 1988). Glikoz, yüksekliği ağır metaller de içeren birçok stres faktörüne karşı ilk tepki olarak ortaya çıkar ve kortikosteroidler tarafından salınır (Chaudhry, 1984). Cd'un etkisine bırakılan *Tilapia zilli*'de glikoz düzeyi metal derişimine ve süreye bağılı olarak artmıştır (Ghazaly, 1992). Bakırın etkisine bırakılan *O. niloticus*'da, etkide kalma süresi boyunca plazma glikoz düzeyleri belirgin olarak arttığı belirtilmiştir (Monteiro ve ark., 2005). ZnO NP'lere maruz bırakılan *O. niloticus* balıklarında kan glikoz düzeyindeki artışların, ZnO NP'lerin neden olduğu strese bağılı olduğunu (Farsania ve ark., 2017) ve artan enerji talebini yansıttığı belirtilmiştir (Barton, 2002). Ag NP'lerin akut ve uzun süreli etkisine bırakılan *Dani rerio* balıklarında plazma glikoz düzeylerinin yükseldiğini belirtilmiştir (Katuli ve ark., 2014). ZnO NP'lere 12 hafta boyunca maruz bırakılan *C. carpio*'da serum glikoz düzeyinde arttığı ve glikoz düzeyindeki bu artışın, ZnO NP'lere uzun süre maruz kalınması nedeniyle karaciğer hasarıyla ilişkili olabileceğı belirtilmiştir (Lee ve ark., 2014). AgNO<sub>3</sub> akut ve subletal etkisine bırakılan *Cirrhinus mrigala* balıklarında serum glikoz düzeyindeki artışın, gümüşün neden olduğu artan metabolik talepler için enerji sağlamak amacıyla olduğu belirtilmiştir (Sathya ve ark., 2012). Bu araştırmada da ZnO NP'nin her iki ortam derişimi ve denenen her iki sürede serum

glikoz düzeyinde herhangi bir değişim gözlenmezken, 28 günlük etki süresinde  $ZnSO_4$ 'ün her iki ortam derişiminde serum glikoz düzeyi artış göstermiştir. 4 günlük etki süresinde 0.5 mg/L'lik ortam derişiminde serum glikoz düzeyi  $ZnSO_4$  etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla artış göstermiştir.  $ZnSO_4$  etkisinde serum glikoz düzeyindeki bu artış balıkların strese girmeleri, solunum hızının artması ve artan enerji talebinin karşılanması sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Total serum proteinleri karaciğerde sentezlenen esas serum proteinleri olup, genelde karaciğer rahatsızlığının bir belirtici olarak kullanılır. Toksik maddelerin neden olduğu stres koşullarında organizmaların genel sağlık durumunu anlamak için önemli bir biyokimyasal parametre olarak protein düzeyi kullanılmaktadır (Lavanya ve ark., 2011). Cd'un etkisine bırakılan *T. zilli*'de kan total protein düzeyindeki değişikliklerin meydana geldiği ve bu değişikliklerin, metalin konsantrasyonuna ve etkide kalma süresine bağlı olarak artış gösterdiği belirtilmiştir (Ghazaly, 1992).  $CuSO_4$  etkisine bırakılan *O. niloticus*'da total protein düzeyi kısa süreli etkide artış göstermiştir (Chen ve ark., 2004). Pb etkisine bırakılan *Oreochromis mossambicus*'ta total protein düzeyinin arttığı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Ruparelia ve ark.,1989). Çinko ve bakır etkisinde *C. carpio*'da total serum protein düzeyinin arttığı belirtilmiştir (Cicik, 1995). Bu araştırmada da ZnO NP'nin her iki ortam derişimi ve denenen her iki sürede serum total protein düzeyinde herhangi bir değişim gözlenmezken,  $ZnSO_4$ 'ün tüm ortam derişimi ve etki süresinde serum total protein düzeyi artış göstermiştir. Denenen her iki sürede de 1.5 mg/L'lik ortam derişiminde serum total protein düzeyindeki artış  $Zn SO_4$  etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla olmuştur.  $ZnSO_4$  etkisinde serum total protein düzeyindeki bu artış, büyük bir olasılıkla karaciğerde sentezlenen taşıyıcı proteinlerin kana geçmesi sonucu olduğu düşünülmektedir.

Kolesterol membranların önemli bir yapısal bileşeni olmasına ek olarak tüm steroid hormonların bir öncü maddesi olarak bilinmektedir. Kolesterol ksnoyotiklerin etkisindeki balıklarda stres tepkilerini değerlendirmede

kullanılmaktadır. Serumdaki kolesterol düzeyi stres faktörlerinin etkisini incelemek için önemli bir parametredir (Gluth ve Hanke, 1984; Öner ve ark., 2008). *C. carpio*'da biyokimyasal parametreler üzerine Cr'un etkisini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada metal derişiminin artışına paralel olarak serum total kolesterol düzeyinde önemli azalmalar olduğu saptanmıştır (Shaheen ve Akhtar, 2012). Subletal bakır derişimlerinin etkisinde *O. mykiss* balıklarında serum kolesterol düzeyinde azalmalar olduğu belirlenmiştir (Heydarnejad ve ark., 2013). Pb'nin etkisine bırakılan *O. mossambicus*'ta serum kolesterol düzeyinin yaklaşık olarak %50 düzeyinde azaldığı belirlenmiştir (Ruparelia ve ark., 1989). Herbisit atrazine etkisine bırakılan *O. niloticus* ve *Chrysichthys auratus* balıklarında serum total koesterol düzeyleri her iki balık türünde de azalma gösterdiği belirtilmiştir (Hussein ve ark., 1996). Bu araştırmada denenen ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün tüm derişim ve sürelerde serum total kolesterol düzeyi azaldığı saptanmıştır. Serum total kolesterol düzeyindeki bu azalış hem ZnO NP hemde ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisinde derişim artışı ve sürenin uzamasına bağlı olarak daha fazla olmuştur. Bu araştırmada serum kolesterol düzeyindeki azalmalar, kolesterol sentezi üzerine ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün olumsuz etkileri sonucu kolesterol sentezindeki bozulmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Trigliserit düzeyi lipid metabolizmasını değerlendirmek için önemli bir parametredir ve bazı hastalık durumlarında yüksek düzeylere çıkabilmektedir. Trigliserit, temel olarak hücrel enerjiyi sağlamada işlev görür ve beslenme durumunun bir göstergesi olarak kullanılabilir (Yang ve Chen, 2003). AgNO<sub>3</sub>'ün 0.05mg/L derişiminin etkisine farklı sürelerle bırakılan *O. niloticus*'da serum trigiserit düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (Öner ve ark., 2008). Yang ve Chen (2003), gallium'a maruz kalan *C. carpio*'daki serum trigliserit düzeylerinin kontrole kıyasla önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir. Bu araştırmada denenen her iki sürede ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün derişim artışlarına paralel olarak *O. niloticus*'da serum trigiserit düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Genelde serum

trigliserit düzeyindeki bu artış  $ZnSO_4$  etkisinde kalan balıklarda  $ZnO$  NP etkisinde kalan balıklara oranla daha fazla olmuştur. Serum trigliserit düzeyindeki bu artış metallerin olumsuz etkisi sırasında hücrel metabolizma değişiklikleri ile açıklanabilir.

Kortizol stres tepkisinde önemli bir rol oynamaktadır ve toksik maddelerin etkisinde güvenilir bir biyolojik belirteç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Kortizol karbonhidrat metabolizmasını etkileyen önemli bir hormondur. Balıklarda kortizolün, hidromineral dengeyi sağlama ve enerji metabolizmasını düzenleme olmak üzere iki önemli görevi vardır (Nolan ve ark., 2003). Kortizol, kemikli balıklarda böbreğin üst kısmından, hipotalamus-hipofiz-böbrek (hypothalamo-pituitary-interrenal (HPI) eksenini boyunca salgılanan bir hormondur (Pottinger, 1998) ve en önemli rolü, uzun süreli stres sırasında enerjinin kullanılabilirliğini artırmaktır. Bu glukoneogenez yoluyla başarılmakta buda balıklarda plazma glikoz düzeylerinde artışa neden olmaktadır (Saravanan ve ark., 2011; Sheridan, 1989). Nolan ve ark. (2003) akut strese maruz kalınca, kortizol düzeyleri yükselir, genel olarak birkaç saat sonra kontrol düzeyine geri dönebildiği veya kronik stres durumunda artmış olarak kalabildiğini belirtmişlerdir. *O. niloticus*'da, bakırın etkisinde plazma kortizol ve glikoz düzeyleri belirgin olarak arttığı ve plazma kortizol düzeyindeki bu artışın, etkide kalma süresi boyunca yüksek kaldığı belirtilmiştir (Monteiro ve ark., 2005). Katuli ve ark. (2014) AgNP'lerin etkisine bıraktıkları *D. rerio* balıklarında plazma kortizol düzeylerinin yükseldiğini ve bu durumun balıkların strese girmeleri sonucu olduğunu bildirmişlerdir. Gümüşün kronik etkisine bırakılan gökkuşağı alabalığında (*O. mykiss*) kortizol düzeyinde artış olduğu belirtilmiştir (Brauner ve Wood, 2002). Cd etkisine bırakılan *O. mykiss*'te plazma glikoz ve kortizol düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (Ricard ve ark.1998). Bu çalışmada  $ZnO$  NP ve  $ZnSO_4$ 'ün tüm derişim ve sürelerinin etkisinde serum total kortizol düzeyi artış göstermiştir. Kortizol düzeyindeki bu artış  $ZnO$  NP'ün etkisinde kalan balıklarda  $ZnSO_4$  etkisinde kalan balıklara oranla

daha fazla olmuştur. Bu çalışmada serum kortizol düzeylerindeki artış, balıkların 28 günlük süre boyunca ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'etkisinde streste kalmaları ve buna bir tepki göstermeleri nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

Hayvanlarda ağır metaller, pestisitler ve diğer kirleticilerin etkisini belirlemek ve kirliliğinin izlenmesinde serum enzimleri ALT, AST, ALP ve LDH kullanılmaktadır (Lavanya ve ark., 2011). AST, ALT ve ALP gibi serum enzimleri, su organizmalarında çok düşük düzeydeki kirleticilerin etkisine duyarlı olmaları nedeniyle ekotoksikolojik çalışmalarda hassas biyobelirteçler olarak kullanılmaktadırlar (Levesque ve ark., 2002; Nel et. al., 2009). Ayrıca, ALT, AST ve ALP aktiviteleri sıklıkla balık hastalıklarının teşhisinde ve çevresel kirlenmeden kaynaklanan doku hasarının tespit edilmesinde kullanılmaktadırlar (Fırat ve ark., 2011).

AST ve ALT, normalde karaciğerde dahil olmak üzere birçok organın hücrelerinde bulunan plazmada işlevsel olmayan enzimlerdir. AST ve ALT, biyolojik proseslerde çok hassas ve önemli enzimlerdir (Yousef ve ark., 2007). Bunlar aynı zamanda böbrek ve karaciğerin durumunu ve doku hasarını veya organların işlevsel bozukluğunu değerlendirmede önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Salah El-Deen ve Rogeps, 1993), bu enzimlerin artışı karaciğer hasarının bir göstergesidir. Harvey ve ark. (1994), karaciğerde serumdaki bu enzimlerin yüksek düzeylerinin, genellikle hayvanların karaciğerindeki hastalık ve nekrozın göstergesi olduğunu belirtmişlerdir. Bakırın toksik etkisine bırakılan *C. gariepinus*, *O. niloticus* and *T. zilli* türlerinde serum enzimleri AST, ALT ve ALP aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdiği belirtilmiştir (Zaghloul ve ark.,2006). Öner ve ark. (2008) *O. niloticus*'un bakırın sublethal (0.05 mg/ l) konsantrasyonuna uzun süre maruz kalmasının, hem AST hem de ALT aktivitelerinde önemli bir artışa yol açtığını bildirmişlerdir. ZnO NP yüksek konsantrasyon grubunda *C. carpio*'da plazma AST aktivitesinde artış gözlenmiştir (Chupania,ve ark., 2018). Araştırmacılar bunun karaciğer fonksiyonlarının bozulmasından kaynaklanmış olabileceğini, AST'nin serum ve doku seviyeleri

arasında kinetik bir dengenin olduğunu ve bu nedenle, AST serum aktivitesinde belirlenen bu yükselmenin hepatotoksitenin bir göstergesi olabileceğini belirtmişlerdir. Farsania ve ark. (2017), E vitaminin ZnO NP'ye maruz kalan *O. niloticus* üzerindeki koruyucu rolü ile ilgili yaptıkları araştırmada ZnO NP'nin etkisindeki balıklarda serum AST, ALT ve ALP aktivitesinin belirgin artışlar gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu durum, ZnO NP maruziyeti sırasında ortaya çıkan enerji kriziyle başa çıkabilmek için amino asitlerin trikarboksilik aside (TCA) dönüştürülmesinin şiddetlendiğini göstermektedir (Jiraungkoorskul ve ark. 2003). 30 gün süreyle farklı CuO NP derişimlerinin etkisine bırakılan *O. niloticus*'da serum enzim (AST, ALT ve ALP) aktivitelerinde anlamlı bir artış olduğu belirtilmiştir (Abdel-Khalek ve ark., 2015). Araştırmacılar AST, ALT ve ALP aktivitelerindeki artış, kas hasarı, bağırsak ve karaciğer yaralanması ve toksik hepatit gibi çeşitli koşullardan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. ZnO NP etkisinde *C. carpio*'da ALT ve AST düzeyi kontrol grubuna kıyasla belirgin derecede farklılık göstermiş ve en yüksek etkide kalma grubundaki AST düzeyi 4. haftada kontrol grubuna kıyasla belirgin bir şekilde arttığı belirtilmiştir (Lee ve ark., 2014). Ag NP etkisinde *O. mykiss* balıklarında plazma AST ve ALT aktivitelerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış olmuştur (Monfared ve Soltani, 2013). Araştırmacılar Ag NP etkisinden sonra AST ve ALT'deki artışın histopatolojik bulgularla uyumlu olduğunu ve bu enzimlerin artışı karaciğer hasarının bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmada, ZnO NP'nin yüksek derişiminde, ZnSO<sub>4</sub>'ün ise her iki derişiminde ve denenen her iki sürede serum AST ve ALT aktivitelerinde kontrole göre artış saptanmıştır. 0.5 mg/L'lik ortam derişiminin etkisinde her iki sürede de AST enzim aktivitesi Zn SO<sub>4</sub> etkisinde ZnO NP'e oranla daha fazla artış göstermiştir. AST ve ALT enzim aktivitelerindeki bu artış enerjiye duyulan gereksinimin fazla olması ve karaciğerin hasar görmesi sonucu bu enzimlerin kana karışması nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

ALP ve LDH farklı temel işlevler için enerjik makromoleküllerin detoksifikasyonundan, metabolizmasından ve biyosentezinden sorumlu enzimlerdirler (Yousef ve ark., 2007). Bu enzimlere herhangi bir müdahale, biyokimyasal bozulmaya ve doku ve hücrel işlev lezyonlarına neden olur (Khan ve ark. 2001). ALP hayvan hücrelerinin önemli bir enzimi olup ksenobiyotiklere karşı çok hassas olması nedeniyle organizmanın metabolik durumunun belirlenmesinde sıkça kullanılan bir enzimdir (Jing ve ark., 2006). LDH, organizmaların birçok dokusunun hemen her hücresinde bulunan bir enzimdir. Genelde hücre veya dokular kirleticilerin etkisinde zarar gördüğünden, LDH buralardan kana karışır. Cd'un etkisinde *M. cephalus*'da serum ALP ve LDH aktivitelerinin kontrole göre arttığı belirtilmiştir (Hilmy ve ark., 1985). Araştırmacılar ALP ve LDH aktivitelerindeki bu artışın doku hasarı nedeniyle bu enzimlerin kan dokusuna geçmesi sonucu olabileceğini belirtmişlerdir. Drastichova ve ark. (2004) kadmiyumun etkisine bıraktıkları *C. carpio*'da serum LDH aktivitesinin artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Cu'nun etkisine bırakılan *Heteropneustes fossilis*'de serum ALP aktivitesinin arttığı saptanmıştır (Singh ve Reddy, 1990). Heydarnejad ve ark. (2013) 30 günlük Cu maruziyetinin ardından ALP aktivitesinde artışın olduğunu bildirmişlerdir. ALP aktivitesindeki değişiklikler, aynı zamanda metalin etkisindeki balıklarda fizyolojik ve fonksiyonel değişikliklerin sonucu olabileceği belirtilmiştir (Jiraungkoorskul ve ark. 2003). Sharifiasab ve ark. (2016) ZnO NP'lerin plazmada LDH aktivitesini belirgin bir şekilde arttırdığını ve LDH aktivitesindeki artışın, ZnO NP etkisinde hücrel metabolizma değişiklikleri ile açıklanabileceğini belirtmişlerdir. Abdel-Khalek ve ark. (2015) CuO NP farklı derişimlerinin etkisine bıraktıkları *O. niloticus*'da serum ALP aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir. Lee ve ark. (2014), ZnO NP farklı derişimlerinin etkisine farklı sürelerle bıraktıkları *C. carpio*'da LDH ve ALP aktiviteleri kontrol grubuna kıyasla arttığını belirtmişlerdir. Bu araştırmada ZnO NP ve ZnNSO<sub>4</sub>'ün yüksek derişimlerinde ve denenen her iki sürede serum ALP aktivitesi kontrole göre

artarken, LDH aktivitesi ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisinde denenen tüm koşullarda kontrole göre artmıştır. LDH aktivitesindeki bu artış, derişim artışına ve sürenin uzamasına bağlı olarak daha yüksek olmuştur. 4 günlük etki süresinde düşük ve yüksek ortam derişimlerinde ALP enzim aktivitesindeki artış ZnSO<sub>4</sub> etkisindeki balıklarda ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha fazla olmuştur. 4 günlük etki süresinde düşük ortam derişiminde serum LDH enzim aktivitesi ZnSO<sub>4</sub> etkisindeki balıklarda ZnO NP etkisindeki balıklara oranla daha fazla artış göstermiştir. Bu çalışmada ALP ve LDH aktivitelerindeki bu artış, ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'ün etkisi sonucu balıklarda meydana gelen metabolizma ve fizyolojik değişiklikleri nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada *O. niloticus*'da ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde kan dokusunda serum biyokimyasal parametreleri ve enzim aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmamızda bu metallerin *O. niloticus*'un kan dokusunda serum glikoz, total protein, kolesterol, trigliserit, kortizol ve serum AST, ALT, ALP ve LDH enzim aktivitelerini etkilediği ve bu parametrelerin metallerin etkisine duyarlı oldukları belirlenmiştir.

Metallerin etkisinde *O. niloticus*'un serum glikoz, total protein, trigliserit ve kortizol düzeylerinde artış, kolesterol düzeyinde ise azalmaya neden olurken, serum AST, ALT, ALP ve LDH enzim aktivitelerinde ise artışa neden olmuştur. ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub> etkisinde *O. niloticus*'da incelenen serum glikoz, total protein, kolesterol, trigliserit, kortizol ve serum AST, ALT, ALP ve LDH enzim aktivitelerinin kontrole göre artış veya azalışlar göstermeleri balıkların metallerin etkisi nedeniyle oksidatif strese maruz kaldıklarını göstermektedir.

Çinko oksit nanopartiküller (ZnO NP), biyomedikal uygulamalar, güneş pilleri, LCD'ler, elektrik, optik, biyosensör, seramik, gıdalar ve kozmetik gibi çok çeşitli ürünlerdeki yaygın olarak kullanılmakta ek olarak, yüksek stabilite, antikorozyon ve fotokatalitik özelliklerinden dolayı güneşten koruyucu, kozmetik, boya, kağıt, plastik ve yapı malzemeleri gibi geniş bir ürün yelpazesinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. ZnO NP'lerinin yaygın olarak üretilmesi ve tüketilmesi, su ortamlarına girişini arttırmaktadır. ZnO NP'ler küçük boyutlu olmaları ve geniş yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle membranlardan hücrelere girerek toksik etki gösterebilmekte ve hücre makromolekülleriyle etkileşime girerek yapılarını değiştirebilmektedirler.

Çok yoğun olarak kullanılan nanopartiküllerin çevreye bırakılmaları sonucu organizmalar üzerine etkileri ile ilgili yapılan birçok araştırmada bu partiküllerin metallerin diğer formlarına oranla toksik etkileri farklılıklar göstermektedir. Ülkemizde konu ile ilgili araştırmaların çok sınırlı olması nedeni

ile nanopartikül toksisitesinin öncelikle araştırılması ve toksik etkilerinin metallerin diğer formlarına oranla farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu çalışmada *O. niloticus*'da metallerin etkisinde incelenen serum biyokimyasal parametreleri ve enzim aktivitelerinde ZnO NP'lerin, ZnSO<sub>4</sub>'e oranla daha az toksik olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları risk belirlenmesinde ZnO NP ve ZnSO<sub>4</sub>'nin etkileri hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu metallerin organizmalar üzerine yaptıkları etki mekanizmaları ortaya çıkarılarak bunlara karşı birtakım önlemlerin alınmasında katkı sağlamaktadır. Çalışmamızın sonuçları, kirleticilerin etkisinde balıklarda oksidatif stres belirlenmesi için biyomarkırların değerlendirilmesinde bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada elde edilen bulgular ülkemizde ve dünyada kirlilik izleme programlarında ve çevresel risk değerlendirme (ERA) çalışmalarında kullanılabilecektir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Khalek, A.A., Kadry, M.A.M., Badran, S.R., Marie, M.S., 2015. Comparative Toxicity of Copper Oxide Bulk and Nano Particles in Nile Tilapia; *Oreochromis niloticus*: Biochemical and Oxidative Stress. Journal of Basic and Applied Biology, 72:43-57.
- Adams SM, Ham KD, Greeley MS, LeHew RF, Hinton DE, Saylor CF 1996 Downstream gradients in bioindicator responses: point source contaminant effects on fish health. Can J Fish Aquat Sci 53:2177–2187.
- Adam,N., Schmitt, C., De Bruyn, L., Knapen, D., Blus, R. 2015. Aquatic acute species sensitivity distributions of ZnO and CuO nanoparticles. Science of the Total Environment 526, 233-242.
- Ambili, T.R., Saravanan, M., Ramesh, M., Abhijith, D.B., Poopal, R.K., 2013. Toxicological effects of the antibiotic oxytetracycline to an Indian major carp *Labeo rohita*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 64, 494–503.
- Andersson-Willman, B., Gehrman, U., Cansu, Z., Buerki-Thurnherr, T., Krug, H.F., Gabrielsson, S., Scheynius, A., 2012. Effects of subtoxic concentrations of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on human lymphocytes, dendritic cells and exosome production. Toxicol. Appl. Pharmacol. 264, 94–103.
- Balint, T., Szegletes, T., Szegletes, Z., Halasy, K., Nemcsok, J., 1995. Biochemical and Subcellular Changes in Carp Exposure to the Organophosphorus Menhidathion and the Pyrethroid Deltamethrin. Aquatic Toxicol., 33: 279–295.
- Barton, B.A. 2002. Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. Integrative and Comparative Biology, 42, 517–525.

- Benn, T.M., Westerhoff, P., 2008. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4133–4139.
- Benson, W. H., Baer, K. N., Stackhouse, R. A., Watson, C. F., 1987. Influence of cadmium exposure on selected hematological parameters in freshwater teleost, *Notemigonus crysoleucas*. *Ecotoxicology and Environmental Saf.*, 13, 1: 92–96.
- Binelli, A., Parolini, M., Cogni, D., Pedriali, A., Provini, A., 2009. A multi-biomarker assessment of the impact of the antibacterial trimethoprim on the non-target organism zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Comp. Biochem. Physiol. C* 150, 329–336.
- Borm, P., Klaessig, F.C., Landry, T.D., Moudgil, B., Pauluhn, J., Thomas, K., et al., 2006. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles. *Toxicol. Sci.* 90, 23–32.
- Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., 2010. Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge – evidence and impacts. *Waste Manag.* 30, 504–520.
- Brauner, C.J., Wood, C.M. 2002. Effect of long-term silver exposure on survival and ionoregulatory development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos and larvae, in the presence and absence of added dissolved organic matter. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 133, 161-173.
- Bury, N.R., Walker, P.A., Glover, C.N., 2003. Nutritive metal uptake in teleost fish. *J Exp Biol* 206:11–23.
- Bysrzejewska-Piotrowska, G., Golimowski, J., Urban, P.L., 2009. Nanoparticles: their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Manag.* 29, 2587–2595.

- Casillas E. and Smith L. S. 1977. Effect of stress on blood coagulation and haematology in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish Biol. 10, 481-491.
- Chang, Y., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., Xing, G., 2012. The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. Materials. 5, 2850-2871.
- Chaudhry, H.S. 1984. Nickel toxicity on carbohydrate metabolism of freshwater fish *Colisa fasciatus*. Toxicology Letters. 20, 115-121.
- Chen, C.Y., Wooster, G.A., Bowser, P.R., 2004. Comparative Blood Chemistry and Histopathology of Tilapia Infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or Exposed to Carbon Tetrachloride, Gentamicin or Copper Sulphate. Aquaculture, 239:421-443.
- Chen, C., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G., 2006. Acute Toxicological Effects of Copper Nanoparticles In Vivo. Toxicology Letters, 163:109-20.
- Chupani, L., Zusková, E., Niksirat, H., Panáček, A., Lünsmann, V., Haange, S., Bergen, M., Jehmlich, N. 2017. Effects of chronic dietary exposure of zinc oxide nanoparticles on the serum protein profile of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). Science of the Total Environment 579 (2017) 1504–1511.
- Chupania, L., Niksirata, H., Velíšeka, J., Staráa, A., Hradilováb, S., Kolaříkb, J., Panáčekb, A., Zuskováa, E. 2018. Chronic dietary toxicity of zinc oxide nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio* L.): Tissue accumulation and physiological responses. Ecotoxicology and Environmental Safety, 147, (2018), 110-116.
- Cicik, B., 1995. *Cyprinus carpio*'da Bakır, Çinko ve Bakır + Çinko Karışımında Solungaç, Karaciğer ve Kas Dokularındaki Metal Birikiminin Nicel Protein, Glikojen ve Kandaki Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, 106-108.

- Colvin, V.L., 2003. The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nat. Biotechnol.* 21, 1166–1170.
- Cyriac P.J., Antony, A., Nambisan, P.N.K., 1989. Hemoglobin and hematocrit values in the fish *Oreochromis mossambicus* (Peters) after short term exposure to copper and mercury. *Bull Environ Contam Toxicol* 43:315–320.
- Dethloff, G.M., Schlenk, D., Hamm, J.T., Bailey, H.C., 1999. Alterations in Physiological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with Exposure to Copper and Copper/Zinc Mixtures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 42:253-264.
- Drastichova, J., Svobodova, Z., Lusova, V. and Machova, J., 2004. Effect of Cadmium on Hematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 72: 725–732.
- Eisler, R., 1993. Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates. *Contam Hazar Rev* 26:1–79.
- Erdem, C., Kargin, F., 1992. *Cyprinus carpio* ile *Tilapia nilotica*'nın Karaciğer, Dalak, Barsak, Solungaç ve Kas Dokularındaki Bakır Birikiminin Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması. *Biyokimya Dergisi*, 7(1):13-27.
- Farsania, H.G., Doriab, H.B., Jamalic, H., Hasanpour, S., Mehdipour, N., Rashidiyane, G., 2017. The protective role of vitamin E on *Oreochromis niloticus* exposed to ZnONP. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145, 1-7.
- Fırat, Ö., Cogun, H.Y., Aytekin Yüzereroglu, T., Gok, G., Fırat, Ö., Kargin, F., Kotemen, Y. 2011. A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiol Biochem.*, 37, 657-666.
- Ghazaly, K.S. 1992. Hematological and physiological responses to sublethal concentrations of cadmium in a freshwater teleost, *Tilapia zilli*. *Water, Air, and Soil Pollution* 64: 551-559.

- Gluth, G., Hanke, W. 1984. A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentration II. The dependency on the temperature. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology. 79, 39-45.
- Gottschalk, F., Sun, T.Y., Nowack, B., 2013. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies. Environ. Pollut. 181, 287–300.
- Griffitt, R.J., Luo, J., Gao, J., Bonzongo, J.C., Barber, D.S., 2008. Effects of Particle Composition and Species on Toxicity of Metallic Nanomaterials in Aquatic Organisms. Environmental Toxicology and Chemistry, 27:1972-1978.
- Handy, R.D., Kammer, F.V.D., Lead, J.R., Hasselöv, M., Owen, R., Crane, M., 2008. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. Ecotoxicology 17, 287–314.
- Hao, L., Chen, L., 2012. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles. Ecotoxicology and Environmental Safety 80,103–110.
- Hao, L., Chen, L., Hao, J., Zhong, N., 2013. Bioaccumulation and Sub-Acute Toxicity of Zinc Oxide Nanoparticles in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*): A Comparative Study with Its Bulk Counterparts. Ecotoxicology and Environmental Safety, 91:52-60.
- Harvey RB, Kubena LF, Elissalde M 1994. Influence of vitamin E on aflatoxicosis in growing swine. Am J VetRes 55:572–577
- Heath, A.G. 1984. Changes in tissue adenylates and water content of bluegill, *Lepomis macrochirus*, exposed to copper. J. Fish. Biol, 24 (3), 299-309.

- Hendren, C.O., Mesnard, X., Dröge, J., Wiesner, M.R., 2011. Estimating production data for five engineered nanomaterials as a basis for exposure assessment. *Environ. Sci. Technol.* 45, 2562–2569.
- Heydarnejad, M.S., Khosravian-Hemami, M., Nematollahi, A., Rahnama, S., 2013. Effects of Copper at Sublethal Concentrations on Growth and Biochemical Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Review of Hydrobiology*, 98:71-79.
- Hollis, L., McGeer, J.C., McDonald, D.G., Wood, C.M., 1999. Cadmium Accumulation, Gill Cd Binding, Acclimation and Physiological Effects during Long Term Sublethal Cd Exposure in Rainbow Trout. *Aquatic Toxicology*, 46:101-119.
- Hontela, A., Dumont, P., Duclos, D., Fortin, R., 1995. Endocrine and metabolic dysfunction in yellow perch, *Perca flavescens*, exposed to organic contaminants and heavy metals in the St. Lawrence River. *Environ. Toxicol. Chem.* 14, 725–731.
- Hontela, A., Daniel, C., Rasmussen, J.B., 1997. Structural and functional impairment of the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish exposed to bleached kraft mill effluent in the St. Maurice River, Quebec. *Ecotoxicol* 6:1–12.
- Hilmy, A. M., Shabana, M. B. and Daabees, A. Y., 1985. Effects of cadmium toxicity upon the in vivo and in vitro activity of proteins and five enzymes in blood serum and tissue homogenates of *Mugil cephalus*. *Comp. Biochem. and Physiol. C: Comp. Pharmacol.*, 81, 1: 145–153
- Hou, J., You, G., Xu, Y., Wang, C., Wang, P., Miao, L., Dai, S., Bowen Lv, B., Yang, Y. 2016. Antioxidant enzyme activities as biomarkers of fluvial biofilm to ZnO NPs ecotoxicity and the Integrated Biomarker Responses (IBR) assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 133, 10–17

- Hussein, S.Y., El-Nasser, M.A., Ahmed, S.M. 1996. Comparative Studies on the Effects of Herbicide Atrazine on Freshwater Fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthys auratus* at Assiut, Egypt. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 57:503-510
- Iger, Y., Jenner, H.A., Wendelaar Bonga, S.E., 1994. Cellular responses in the skin of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to Rhine water. J Fish Biol 45:1119–1132.
- Jing, G., Li, Y., Xie, L. and Zang, R. 2006. Metal accumulation and Enzyme Activities in Gill and Digestive Gland of Pearl Oyster (*Pinctada fucata*) Exposed to Copper. Comp. Biochem. Physiol. P. C., 144; 184-190.
- Jiraungkoorskul, W., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Shaphong, S., Vichasri-Grams, S., Pokethitiyook, P., 2003. Biochemical and Histopathological Effects of Glyphosate Herbicide on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Environmental Toxicology, 18:260-267.
- Johari, S., Kalbassi, M., Soltani, M., Yu, I., 2013. Toxicity comparison of colloidal silver nanoparticles in various life stages of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iran. J. Fish. Sci. 12, 76–95.
- Jovanović, B., Palić, D., 2012. Immunotoxicology of non-functionalized engineered nanoparticles in aquatic organisms with special emphasis on fish—review of current knowledge, gap identification, and call for further research. Aquat. Toxicol. 118–119, 141–151.
- Kahru, A., Dubourguier, H.C., 2010. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. Toxicology 269, 105–119.
- Kankia, H. I., and Abdulhamid Y., 2014. Determination of accumulated heavy metals in benthic invertebrates found in Ajiwa Dam, Katsina State, Northern Nigeria. Archives of Applied Science Research, 6 (6):80-87.
- Kargin, F., Erdem, C., 1992. Bakır- Çinko Etkileşiminde *Tilapia nilotica* (L.)'nın Karaciğer, solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi. Doğa-Tr. J. Zool., 16; 343–348.

- Katuli, K.K., Massarsky, A., Hadadi, A., Pourmehran; Z., 2014. Silver nanoparticles inhibit the gill Na/K-ATPase and erythrocyte AChE activities and induce the stress response in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 106, 173-180.
- Kavitha, C., Malarvizhi, A., Senthil Kumaran, S., Ramesh, M., 2010. Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. *Food Chem. Toxicol.* 48, 2848–2854.
- Kaya, H., Aydın, F., Gürkan, M., Yılmaz, S., Ates, M., Demir, V., Arslan, Z., 2016. A comparative toxicity study between small and large size zinc oxide nanoparticles in tilapia (*Oreochromis niloticus*): Organ pathologies, osmoregulatory responses and immunological parameters *Chemosphere* 144, 571–582.
- Klaine, S.J., Alvarez, P.J., Batley, G.E., Fernandes, T.F., Handy, R.D., Lyon, D.Y., Mahandra, S., McLaughlin, M.J., Lead, J.R. 2008. Nanomaterials in the environment behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1825-1851.
- Klaper, R., Crago, J., Barr, J., Arndt, D., Setyowati, K., Chen, J., 2009. Toxicity bio-marker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: changes in toxicity with functionalization. *Environ. Pollut.* 157, 1152–1156.
- Lavanya, S., Ramesh, M., Kavitha, C., Malarvizhi, A. 2011. Hematological, biochemical and ionoregulatory responses of Indian major carp *Catla catla* during chronic sublethal exposure to inorganic arsenic. *Chemosphere*.82:977-985.

- Lee, J., Kim, Ji., Shin, Yu., Ryu, Ji., Eom, Ig., Lee, J.S., Kim, Y., Kim, Pil., Choi, K., Lee, B., 2014. Serum and ultrastructure responses of common carp (*Cyprinus carpio* L.) during long-term exposure to zinc oxide nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104, 9-17.
- Levesque, H.M., Moon, T.W., Campbell, P.G.C., Hontela, A., 2002. Seasonal Variation in Carbohydrate and Lipid Metabolism of Yellow Perch (*Perca flavescens*) Chronically Exposed to Metals in the Field. *Aquatic Toxicology* 60:257-267.
- Li, Z.H., Velisek, J., Zlabek, V., Grabic, R., Machova, J., Kolarova, J., Randak, T., 2010. Hepatic antioxidant status and hematological parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after chronic exposure to carbamazepine. *Chem. Biol. Interact.* 183, 98–104.
- Li, L.Z., Zhou, D.M., Peijnenburg, W.J.G.M., Gested, C.A.M., Jin, S.Y., 2011. Toxicity of zinc oxide nanoparticles in the earthworm, *Eisenia fetida* and subcellular fractionation of Zn. *Environ. Int.* 37, 1098–1104.
- Lu, G.H., Chen, W., Li, Y., 2011. Effects of PAHs on biotransformation enzymatic activities in fish. *Chem. Res. Chin. Univ.* 27, 413–416.
- Ma, H., Williams, P.L., Diamond, S.A., 2013. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles – a review. *Environ. Pollut.* 172, 76–85.
- Mansouri, B., Maleki, A., Johari, S.A., Shahmoradi, B., Mohammadi, E., Shamsavari, S., Davari, B. 2016. Copper Bioaccumulation and Depuration in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Following Co-exposure to TiO<sub>2</sub> and CuO Nanoparticles. *Arch Environ Contam Toxicol* 71:541–552
- Masciangioli, T., Zhang, W.-X., 2003. Environmental technologies at the nanoscale. *Environ. Sci. Technol.* 37, 102–108.
- Maynard, A.D., Aitken, R.J., Butz, T., Colvin, V., Donaldson, K., Oberdörster, G., Philbert, M.A., Ryan, J., Seaton, A., Stone, V., Tinkle, S.S., Tran, L., Walker, N.J., Warheit, D.B., 2006. Safe handling of nanotechnology. *Nature* 444, 267–269.

- Monfared, A.L., Soltani, S., 2013. Effects of silver nanoparticles administration on the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histological and biochemical studies European Journal of Experimental Biology, 3(2):285-289.
- Monteiro, S.M., Mancera, J.M., Fontáinhas-Fernandes, A., Sousa, M., 2005. Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 141, 375 – 383.
- Munoz, M.J., Carballo, M., Tarazona, J.V., 1991. The effect of sublethal levels of copper and cyanide on some biochemical parameters of rainbow trout along subacute exposition. Comp Biochem Physiol 100C:577–582
- Ndimele, P.M., Pedro, M.O., Julius Ibukun Agboola, J., Stephen Chukwuka, K.S., Ekwu, A.O., 2017. Heavy metal accumulation in organs of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) from industrial effluent-polluted aquatic ecosystem in Lagos. Nigeria. Environ Monit Assess, 189: 255.
- Nel, A.E., Madler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E.M., Somasundaran, P., Klaessig, F., Castranova, V., Thompson, M., 2009. Understanding Biophysico chemical Interactions at the Nanobio Interface. Nature Materials, 8:543-557.
- Nemcsok, J., Hughes, G.M., 1988. The Effect of Copper Sulphate on Some Biochemical Parameters of Rainbow Trout. Environmental Pollution, 49:77-85.
- Nohynek, G.J., Lademann, J., Ribaud, C., Roberts, M.S., 2007. Grey Goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. Crit. Rev. Toxicol. 37, 251–277.
- Nolan, D.T., Spanings, F.A.T., Ruane, N.M., Hadderingh, R.H., Jenner, H.A., Wendelaar Bonga, S.E. 2003. Exposure to Water from the Lower Rhine Induces a Stress Response in the Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 45, 247–257.

- Nowack, B., Bucheli, T.D., 2007. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environ. Pollut.* 150, 5–22.
- Nussey, G., Van Vuren, J. H. J. and du Preez, H. H. 1995. Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 11 IC, No. 3, pp. 369-380.
- Öner, M., Atli, G., Canli, M., 2008. Changes in Serum Parameters of Freshwater Fish *Oreochromis niloticus* Following Prolonged Metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) Exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2:360-366.
- Paterson, G., Ataria, J.M., Hoque, M.E., 2011. The toxicity of titanium dioxide nanopowder to early life stages of the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 82, 1002-1009.
- Pelgrom, S.M.G.J., Lock, R.A. C., Balm, P.H.M., Wendelaar Bonga, S.E., 1995. Integrated Physiological Response of Tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to Sublethal Copper Exposure. *Aquatic Toxicology*, 32:303-320.
- Remya, A.S., Ramesh, M., Saravanan, M., Poopal, R.K., Bharathi, S., Nataraj, D., 2015. Iron oxide nanoparticles to an Indian major carp, *Labeo rohita*: Impacts on hematology, iono regulation and gill  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase activity. *Journal of King Saud University-Science*, 27, 151-160.
- Pottinger, T., 1998. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets. *J. Fish Biol.* 53, 728–742.
- Ricard, A. C., Daniel, C., Anderson, P., Hontela, A., 1998. Effects of Subchronic Exposure to Cadmium Chloride on Endocrine and Metabolic Functions in Rainbow Trout *Onchorynchus mykiss*. *Arc. Environ. Contam. Toxicol.*, 34: 377-381.
- Richards, J.G., Semple, J.W., Bystriansky, J.S., Schulte, P.M., 2003.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase  $\alpha$ - isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer. *J. Exp. Biol.* 206, 4475–4486.

- Roche, H., Bogé, G., 1996. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication. *Mar. Environ. Res.* 41, 27—43.
- Roco, M.C., 2003. Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14, 337–346.
- Roney, N., Smith, C.V., Williams, M., Osier, M., Paikoff, S.J. 2005. Toxicological profile for zinc. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Washington, DC.
- Ruparelia, S. G., Verma, Y., Mehta, N. S., Salyed, S. R., 1989. Lead-Induced Biochemical Changes in Freshwater Fish *Oreochromis mossambicus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 43: 310–314.
- Salah El-Deen, M.A., Rogers, W.A. 1993. Changes in Total Protein and Transaminase Activities of Grass Carp Exposed to Diquat. *Journal of Aquatic Animal Health.* 5, 280-286.
- Saravanan, M., Karthika, S., Malarvizhi, A., Ramesh, M., 2011. Ecotoxicological impacts of clofibric acid and diclofenac in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. *J. Hazard Mater.* 195, 188–194.
- Sathya, V., Ramesh, M., Poopal, R.K., Dinesh, B., 2012. Acute and sublethal effects in an Indian major carp *Cirrhinus mrigala* exposed to silver nitrate: gill Na/K-ATPase, plasma electrolytes and biochemical alterations. *Fish Shellfish Immunol.* 32, 862–868.
- Scown, T.M., Santos, E.M., Johnston, B. D., Birgit Gaiser Baalousha, B. G.M., Mitov, S., Lead, J.R., Stone, V., Fernandes, T.F., Jepson, M. 2010. Effects of Aqueous Exposure to Silver Nanoparticles of Different Sizes in Rainbow Trout. *Toxicological Sciences*, Volume 115, Issue 2, 1 521–534.

- Scown, T.M., van Aerle, R., Tyler, C.R., 2010a. Review: do engineered nanoparticle- pose a significant threat to the aquatic environment. *Crit. Rev. Toxicol.* 40, 653–670.
- Scown, T.M., Santos, E.M., Johnston, B.D., Gaiser, B., Baalousha, M., Mitov, S., et al., 2010b. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout. *Toxicol. Sci.* 115, 521–534.
- Serda, R.E., Ferrati, S., Godin, B., Tasciotti, E., Liu, X., Ferrari, M., 2009. Mitotic traf-ficking of silicon microparticles. *Nanoscale* 1, 250–259.
- Shaheen, T., Akhtar, T., 2012. Assessment of Chromium Toxicity in *Cyprinus carpio* through Hematological and Biochemical Blood Markers. *Turkish Journal of Zoology*, 36:682-690.
- Sharifinasab, Z., Banace, M., Mohiseni, M., Noori, A. 2016. Vitamin C and chitosan alleviate toxicity effects of paraquat on some biochemical parameters in hepatocytes of common carp. *Iranian Journal of Toxicology*, 10, 31-40.
- Sharma, V., Anderson, D., Dhawan, A., 2012. Zinc oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and ROS-triggered mitochondria mediated apoptosis in human liver cells (HepG2). *Apoptosis* 17, 852—870.
- Shaw, B.J., Al-Bairuty, G.A., Handy, R.D., 2012. Effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): physiology and accumulation. *Aquat. Toxicol.* 116–117, 90–101.
- Sheridan, M.A., 1989. Alterations in lipid metabolism accompanying smoltification and seawater adaptation of salmonid fish. *Aquaculture* 82, 191–203.

- Singh, H. S. , and Reddy, T. V. 1990. Effect of Copper Sulfate on Hematology, Blood Chemistry, and Hepato-Somatic Index of Indian Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and Its Recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 20; 30-35.
- Thomas, P., 1990. Molecular and biochemical responses of fish to stressors and their potential use in environmental monitoring. In:Adams SM (ed) *Biological indicators of stress in fish*. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp 9–28.
- Toa, D.G., Afonso, L.O.B., Iwana, G.K., 2004. Stress response of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to chemical cues released from stressed conspecifics. *Fish Physiology and Biochemistry*, 30,103-108.
- Tort, L., Torres, P., .Hidalgo, J., 1984. Short-term cadmium effects on gill tissue metabolism. *Marine Pollution Bulletin*.15(12),448-450.
- Tort, L., Torres, P., Flos, R., 1987. Effects on dogfish haematology and liver composition after acute copper exposure. *Comp. Biochem. Physiol. C: Comp. Pharma.*, 87, 2: 349–353.
- Tort, L., Torres, P., 1988. The effects of sublethal concentrations of cadmium on haematological parameters in the dogfish, *Scyliorhinus canicula*. *J. Fish. Biol*, 32, 277-282.
- Vaseem, M., Umar, A., Hahn, Y.-B., 2010. *ZnO Nanoparticles: Growth, Properties, and Ap- plications*. American Scientific Publishers, New York, pp. 1—36.
- Wang, W.X., 2011. Incorporating Exposure into Aquatic Toxicological Studies: An Imperative. *Aquatic Toxicology*, 105 (3-4):9-15.
- Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.* 77, 591 – 625.
- Witeska, M., Kościuk, B., 2003. The changes in common carp blood after short-term zinc exposure. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 10, 284–286.

- Yang, J.L., Chen, H.C., 2003. Effects of Gallium on Common Carp (*Cyprinus carpio*): Acute Test, Serum Biochemistry, and Erythrocyte Morphology. *Chemosphere*, 53:877-882.
- Yousef, M.I., Awad, T.I., Elhag, F.A., Khaled, F.A., 2007. Study of The Protective Effect of Ascorbic Acid against The Toxicity of Stannous Chloride on Oxidative Damage, Antioxidant Enzymes and Biochemical Parameters in Rabbits. *Toxicology*, 235:194-202.
- Zhu, M.T., Feng, W.Y., Wang, B., Wang, T.C., Gu, Y.Q., Wang, M., Wang, Y., Ouyang, H., Zhao, Y.L., Chai, Z.F., 2008. Comparative study of pulmonary responses to nano and submicron-sized ferric oxide in rats. *Toxicology* 247, 102–111.
- Zaghloul, K.H., Omar, W.A., Abo-Hegab, S., 2006. Toxicity Specificity of Copper in Some Freshwater Fishes. *Egyptian Journal of Zoology*, 47, 383-400.



## ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Adana’da doğdum. İlköğretim ve lise öğrenimimi Adana’da tamamladıktan sonra 2010-2015 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisans öğrenimimi tamamlayarak mezun oldum. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans programına başladım.

