

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
2019-YL-155

**SİLİKON DİOKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN
LARVAL DÖNEM *LABIDochROMIS*
CAERULEUS (FRYER, 1956)
(TELEOSTEI: CICHLIDAE) ÜZERİNE
HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

Ümran ÇİNAR

**Tez Danışmanı:
Prof.Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA**

AYDIN

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Ümran ÇINAR tarafından hazırlanan “Silikon Dioksit Nanopartiküllerinin Larval Dönem *Labidochromis caeruleus* (Fryer, 1956) (Teleostei: Cichlidae) Üzerine Histopatolojik Etkileri” başlıklı tez, 20/11/2019 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Prof. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA	ADÜ	
Üye : Prof. Dr. Erdal BALCAN	MCBÜ	
Üye : Doç. Dr. Tülay AŞKIN ÇELİK	ADÜ	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans Tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Gönül AYDIN
Enstitü Müdürü

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

20/11/2019

Ümran Çınar

ÖZET

SİLİKON DİOKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN LARVAL DÖNEM *LABIDochROMIS CAERULEUS* (FRYER, 1956) (TELEOSTEI: CICHLIDAE) ÜZERİNE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

Ümran ÇİNAR

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA

2019,87 Pages

Bu çalışmada, silikon dioksit nanopartiküllerinin (SiO_2NP) *Labidochromis caeruleus* (*L. caeruleus*) türü balık larvalarına etkileri histolojik yönden araştırılmıştır. Bunun için anaç balıklar laboratuvarında çoğaltılmış, bir günlük larvalar kontrol ve deney grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmamış, deney gruplarına SiO_2NP 'leri üç farklı dozda (50 mg/L, 100 mg/L ve 200 mg/L) uygulanmıştır. Madde uygulaması 96 saat süreyle yapılmıştır. Akvaryum sularının %50'si 24 saatlik aralıklarla, test çözeltisi içerisindeki nanopartikül konsantrasyonu değişmeyecek şekilde yenilenmiştir. Tüm gruplara ait larvalar rutin histolojik prosedürden geçirilerek daimi preparat haline getirilmiş, mikroskopta incelenerek değerlendirilmiştir.

SiO_2NP 'leri uygulanan tüm deney gruplarına ait balıkların değerlendirilen solungaç, karaciğer, göz ve beyin dokularında bazı yapısal değişimler tespit edilmiştir. Solungaç dokusunda lamel şekillerinde bozulma, primer lamellerde kopma ve ayrılma, sekonder lamellerde kısalma ve kopma, epitellerinde ayrılma gözlenmiştir. Karaciğerde kapsül altında ödem, hepatositlerde piknotik nükleus, parankimanın farklı bölgelerinde nekroz ve geniş vakuoller izlenmiştir. Göz dokusunda kornea tabakasında inceltme, lens epitelinde ayrılma ve lens liflerinde parçalanmalar dikkati çekmiştir. Beyin dokusunda, sadece yüksek doz grubunda olfaktör bölgenin anterior kısmı, medulla oblongata ve spinal kordda astrositler yoğun izlenmiştir. Bu yapısal değişimler solungaç ve karaciğer dokularında ileri, gözde orta, beyinde hafif düzeydedir.

Anahtar Kelimeler: Silikon dioksit, Nanopartikül, *Labidochromis caeruleus*, Histopatoloji.

ABSTRACT

HISTOPATHOLOGICAL EFFECTS OF SILICONE DIOXIDE NANOPARTICLES ON THE LARVAL PERIOD *LABIDochROMIS CAERULEUS* (FRYER, 1956) (TELEOSTEI: CICHLIDAE)

Ümran ÇİNAR

M.Sc. Thesis, Department of Thesis, Biology Supervisor

Supervisor: Professor. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA

2019, 87 pages

In this study, the effects of silicon dioxide nanoparticles (SiO_2NP) were investigated histologically on fish larvae of *Labidochromis caeruleus* (*L. caeruleus*). For this purpose, rootstock fishes were multiplied in the laboratory and one day larvae were divided into two groups as control and experimental groups. No treatment was performed in the control group and SiO_2NPs were administered to the experimental groups in three different doses (50 mg/L, 100 mg/L and 200 mg/L). Substance administration was carried out for 96 hours. 50% of the aquarium water was renewed at 24-hour intervals without changing the concentration of nanoparticles in the test solution. The larvae of all groups were subjected to routine histological procedure and prepared as a permanent preparation.

Some structural changes were found in the gill, liver, eye and brain tissues of the fishes of all experimental groups applied SiO_2NPs . In the gills, disruption of lamellae shape, shortening and breakage of primary and secondary lamellae, fusion and branching, separation in the secondary lamellae epithelium. Oedema in hepatic capsule, picnotic nucleus in hepatocytes, necrosis in different parts of the parenchyma and large vacuoles were observed in liver. Thinning of the corneal layer in the eye tissue, separation of the lens epithelium and fragmentation of the lens fibers were noted. In the brain tissue, only in the high dose group, astrocytes were observed intensely in the anterior part of the olfactory region, medulla oblongata and spinal cord. These structural changes are advanced in gill and liver tissues, moderate in eye, mild in brain.

Key Words: Silikon dioksit, Nanoparticule, *Labidochromis caeruleus*, Histopathology.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimimde bilimsel anlamda her konuda yanımda olan ve tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yücel BAŞIMOĞLU KOCA' ya minnettarlığımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmamın her aşamasında planlanmasında, araştırılmasında ve yürütülmesinde desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Serdar KOCA' ya teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde kuşkusuz en büyük paya sahip olan bana her konuda destek ve yardımcı olan annem Güldane KOCABIYIK ve babam Nafiz KOCABIYIK'a şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında benden yardımını esirgemeyen oğlum Kazım Eren ÇİNAR'a ayrıca varlığıyla hayatıma renk ve anlam katan kızım Elif Berru ÇİNAR'a sevgilerimi sunarım.

Tez çalışmamızı FEF-17040 no'lu proje ile destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi'ne teşekkür ederim.

Ümran ÇİNAR

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	vii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	ix
ÖZET.....	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xxi
1 . GİRİŞ	1
1.1. Nanopartiküller	4
1.2. Silikon dioksit	5
1.3. <i>Labidochromis caeruleus</i> ’ un Taksonomisi	7
1.4. <i>Labidochromis caeruleus</i> ’ un Dokularının Histolojik Yapısı	9
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Çalışma Planı.....	18
3.2. Histolojik Yöntemler.....	21
4. BULGULAR	23
4.1. Davranış Değişikliklerine Ait Makroskopik Gözlemler.....	23
4.2. Histolojik Bulgular.....	23
4.2.1. Kontrol Grubu Larva Kesitleri	24
4.2.2. Deney Grubu Larva Kesitleri	26
4.3. Organlara ait Histolojik Bulgular	32
4.3.1. Solungaç.....	32
4.3.1.1. Kontrol grubu	32

4.3.1.2. Deney grubu	33
4.3.2. Karaciğer	36
4.3.2.1. Kontrol grubu	36
4.3.2.2. Deney grubu	38
4.3.3. Göz... ..	44
4.3.3.1. Kontrol grubu	44
4.3.3.2. Deney grubu	46
4.3.4. Beyin	52
4.3.4.1.Kontrol grubu	52
4.3.4.2. Deney grubu	54
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	59
EKLER.....	74
KAYNAKLAR.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	87

SİMGELER DİZİNİ

- ⇒ : Primer lamellerde şekil bozukluğu
- : Sekonder lamellerde epitelyal ayrılma
- ➔ : Sekonder lamellerde kayıp
- ➡ : Sekonder lamellerde kısalma
- ➔ : Sekonder lamel kapillerinde genişleme
- ≥ : Hepatosit nükleusları
- X : Yağ vakoulleri
- ⚡ : Eksentrik yerleşimli hepatosit nükleusları
- > : Sitoplazmik vakoulleri içeren hepatositler
- ☀ : Geniş açıklıklar
- ▶ : Damarlarda kan hücresi birikimi
- ★ : Ödem
- ⦿ : Piknotik nükleuslu hepatositler
- ✂ : Hepatosit nükleuslarında boyanmada farklılık
- ◆ : Lens fibrillerinde çözülme
- : Optik diskte çökme
- ∪ : Kornea tabakasında incelme
- ↓ : Lens kapsülünde açılma

KISALTMALAR DİZİNİ

a	: Anterior boşluk
A	: Astrosit
Akt	: Protein kinaz B
c	: Koni hücreleri
Caco-2	: İnsan kolon karsinoma hücre hattı
cm	: Santimetre
cr	: Kornea
Cu-NP	: Bakır nanopartikül
°C	: Santigrat derece
C-SiNP	: Kolloida silika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
E551	: Silikon dioksit
EGFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GES-1	: Gastrik epitel sistem
GI	: Gastrointestinal
GXF251L	: İnsan Gastrik karsinoma hücre dizisi
g/mol	: Gram/mol
g/cm ³	: Gram/santimetreküp
H	: Hepatosit
HT29	: İnsan Kolorektal adenokarsinoma hücre dizisi
i	: İris
k	: Koroid tabaka
L	: Lens
MAPK	: Mitojenle etkinleşen protein kinaz
mg	: Miligram

mg/L	: Miligram/Litre
mL	: Mililitre
M-SiNP	: Mesoporous silica
mTOR	: Protein yolağı (enzim)
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit
NOAEL	: No-observed-adverse-effect level (Gözlenebilen hiçbir etki göstermeyen değer)
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NP	: Nanopartikül
Od	: Optik disk
Os	: Optik sinir
pH	: Asitlik ya da bazlık derecesi
PI3K	: Fosfoinositid 3-kinaz
PL	: Primer lamel
Pr- SiNP	: Çökeltilmiş silica
Py- SiNP	: Projenik silica
r	: Rod hücreleri
Re	: Retina
RM	: Rotary mikrotom
s	: Sklera
S	: Sinüzoidler
SE	: Solungaç epiteli
SiNP	: Silika nanoparçacık
SiO ₂	: Silikon dioksit
SiO ₂ NP	: Silikon dioksit nanopartikül
SL	: Solungaç lamelleri

SY	: Solungaç yayları
SiNP	: Stöber silika (Amorf silika nanopartikülleri)
UFCS	: Ultra ince kolloidal silika
v	: Vitröz humor
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Nanoboyutlu malzemelerin sınıflandırılması	4
Şekil 1.2. Kuartz kimyasal formülü	5
Şekil 1.3. Silikon dioksitin kimyasal formülü	5
Şekil 1.4. <i>Labidochromis caeruleus</i> (Fryer, 1956) (Orijinal resim).....	7
Şekil 1.5. Balıklarda beynin bölümleri	11
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan SiO ₂ NP'leri.....	19
Şekil 3.2. <i>L. caeruleus</i> türü anaç balıklar	20
Şekil 3.3. <i>L. caeruleus</i> larvaları.....	20
Şekil 4.1. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> larvası, frontal dorsal kesit. H&E, 4x.	24
Şekil 4.2. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> genel görünümü, frontal-ventral kesit. H&E, 4x.....	24
Şekil 4.3. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> larvası, sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.	25
Şekil 4.4. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> larvası, sagittal sol yan kesit. H&E, 4x.....	25
Şekil 4.5. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, frontal dorsal kesit. H&E, 4x.....	26
Şekil 4.6. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, frontal ventral kesit. H&E, 4x.	26
Şekil 4.7. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.	27
Şekil 4.8. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, sagittal sol yan kesit. H&E, 4x.	27
Şekil 4.9. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, frontal dorsal kesit. H&E, 4x..	28
Şekil 4.10. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, frontal ventral kesit. H&E, 4x.	28
Şekil 4.11. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.	29

Şekil 4.12. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, sagittal sol yan kesit. H&E, 4x.	29
Şekil 4.13. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, frontal dorsal kesit. H&E, 4x.	30
Şekil 4.14. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, frontal ventral kesit.-H&E, 4x.	30
Şekil 4.15. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.	31
Şekil 4.16. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan <i>L. caeruleus</i> larvası, sagittal sol yan kesit. H&E, 4x.	31
Şekil 4.17. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> solungaç dokusunun genel görünümü. Solungaç yayları, primer lameller, sekonder lameller. H&E, 10x. ..	32
Şekil 4.18. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> solungaç dokusunun genel görünümü. Primer lamel, sekonder lamel ve solungaç epiteli. H&E, 40x.	33
Şekil 4.19. 50 mg/L SiO ₂ NP'leri uygulanan <i>L. caeruleus</i> grubuna ait solungaç kesiti. H&E, 20x.	34
Şekil 4.20. 100 mg/L SiO ₂ NP'leri uygulanan <i>L. caeruleus</i> grubuna ait solungaç kesiti. H&E, 40x.	34
Şekil 4.21. 200 mg/L SiO ₂ NP'leri uygulanan <i>L. caeruleus</i> grubuna ait kesit. H&E, 20x.	35
Şekil 4.22. 200 mg/L SiO ₂ NP'leri uygulanan <i>L. caeruleus</i> grubuna ait kesit. H&E, 40x.	35
Şekil 4.23. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> karaciğer dokusunun genel görünümü. H&E, 10x.	36
Şekil 4.24. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> karaciğer dokusunda hepatosit grupları ve aralarındaki sinüzoidler. H&E, 20x.....	37
Şekil 4.25. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> karaciğer dokusunda yağ vakuolleri, eksentrik yerleşimli hepatosit nükleusu. H&E, 40x.....	37
Şekil 4.26. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta karaciğer dokusunun genel görünümü. H&E, 10x.....	38

Şekil 4.27. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta hepatositlerde yağ vakuolleri, vena centralis. H&E, 80x.....	39
Şekil 4.28 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta karaciğer lobunun uç bölümünde geniş açıklık, hepatositlerde sitoplazmik yağ vakuolleri. H&E, 20x.....	39
Şekil 4.29 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta karaciğer parankimasında geniş açıklıklar, damarlarda kan hücresi birikimi. H&E, 20x.....	40
Şekil 4.30. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta parankimal nekroz. H&E, 40x. .	40
Şekil 4.31. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta kapsül altı ödem ve ayrılma, piknotik nükleuslu hepatositler. H&E, 40x.	41
Şekil 4.32. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta karaciğer dokusunun genel görünümü. H&E, 10x.	41
Şekil 4.33. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta periferik parankimada sitoplazmik vakuol içeren hepatositler. H&E, 20x.	42
Şekil 4.34. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta hepatosit nükleuslarında boyanmada farklılık. H&E, a; 40x, b; 100x.....	43
Şekil 4.35. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> larvası göz dokusunun genel görünümü. cr; kornea, anterior boşluk, iris, lens, vitröz humor, retina, koroid cisim, koroid tabaka, sklera. H&E, 10x.....	44
Şekil 4.36. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> larvası göz dokusunda retina tabakası. H&E, 100x.....	45
Şekil 4.37. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> larvası göz dokusu, optik disk, optik sinir lifleri. H&E, 20x.....	45
Şekil 4.38. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta göz dokusu, lens kapsülünde kayıp. H&E, 10x.....	46
Şekil 4.39. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta göz dokusu, lens primer liflerinde hafif düzeyde çözülme. H&E, 10x.	47
Şekil 4.40. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta retinanın görünümü. H&E, 40x...47	
Şekil 4.41. 50 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta optik sinir. H&E, 40x.	48

Şekil 4.42. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta gözün kornea tabakasında incelme, iriste kısılma, lens primer liflerinde ileri düzeyde çözülme. H&E, 20x.....	48
Şekil 4.43. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan larvalarda lens kapsül altında açılma ve lens fibrillerinde ileri düzeyde dağılma. H&E, 10x.	49
Şekil 4.44. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan larvalarda göz dokusu, retina normal görünümlü. H&E, 40x.....	49
Şekil 4.45. 100 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta optik diskte çökme () izlenmektedir. H&E, 40x.	50
Şekil 4.46. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta göz dokusunda lensin (L) şeklinde bozulma, primer ve sekonder lens fibrillerinde ileri düzeyde parçalanma/kayıp. H&E, 10x.	50
Şekil 4.47. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan gruba ait larvada normal yapıda retina tabakası. H&E, 40x.	51
Şekil 4.48. 200 mg/L SiO ₂ NP uygulanan grupta normal görünümlü optik sinir. H&E, 40x.	51
Şekil 4.49. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> larvası beyin dokusunun genel görünümü. Sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.	52
Şekil 4.50. Kontrol grubu <i>L. caeruleus</i> larvası beyin dokusunun genel görünümü. Frontal dorsal kesit. H&E, 4x.	53
Şekil 4.51. 50 mg/L SiO ₂ uygulanan <i>L. caeruleus</i> beyin dokusu, sagittal sol yan kesit. H&E, 10x.	55
Şekil 4.52. 50 mg/L SiO ₂ uygulanan <i>L. caeruleus</i> beyin dokusu, frontal ventral kesit. H&E, 10x.	55
Şekil 4.53. 100 mg/L SiO ₂ uygulanan larva beyin dokusu, frontal dorsal kesit. H&E, 10x.	56
Şekil 4.54. 100 mg/L SiO ₂ uygulanan larva beyin dokusu sagittal sağ yan kesit. H&E, 10x.	57
Şekil 4.55. 200 mg/L SiO ₂ uygulanan larva beyin dokusu, sagittal sağ yan kesit. H&E, 10x.	57

- Şekil 4.56. 200 mg/L SiO₂ uygulanan larva beyin dokusu, frontal dorsal kesit.
Astrositler. H&E, 10x58
- Şekil 4.57. 200 mg/L SiO₂ uygulanan larva beyin dokusu, frontal dorsal kesit.
Astrositler. H&E, 10x58



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Bouin fiksatif doku takibi21

Çizelge 2. Hematoksilen-Eosin Boyaması22



EKLER DİZİNİ

Ek 5-1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Raporu	74
---	----



1. GİRİŞ

Nano ve teknoloji kelimelerinin birleşiminden oluşan nanoteknoloji; 100 nanometreden küçük partiküllerin kullanıldığı fizik, kimya, biyoloji, enerji üretimi, malzeme ve imalat sektörü, elektronik ve bilgisayar teknolojileri, tıp ve sağlık sektörü, tekstil, havacılık ve uzay araştırmaları, çevre ve enerji, biyoteknoloji ve tarım, savunma sektörü gibi geniş uygulama alanları bulunan bir bilim dalıdır.

Son yıllarda nanoboyutlu malzemeler üzerine gerçekleştirilen çalışmalar tek başına önemli bir alan olma yolunda büyük bir gelişme göstermiştir. Her yeni teknolojiye olduğu gibi, bu teknoloji ve ürünlerinin de çevre ve sağlık üzerindeki etkileri merak edilmektedir.

Nanopartiküller, gerek sistemik dolaşım ile gerekse hava yolu epitelinde sonlanan duyu sinirleri üzerinden veya olfaktör sinir vasıtasıyla gangliyonik ve merkezi sinir sistemi yapılarına ulaşabilmektedir (Medina vd., 2007). Araştırmalar, bu maddelerin merkezi sinir sistemi üzerine toksik etkilerinin olduğunu göstermiştir. Güneş kremlerinde kullanılan titanyum dioksit nanopartiküllerinin farelerde beyin hasarına neden olduğu gösterilmiştir (Long vd., 2006). Ağır metallerden olan nanopartikül boyutundaki manganezin merkezi sinir sisteminde birikerek Parkinson sendromuna yol açtığı, merkezi sinir sisteminde reaktif oksijen ürünlerini ve dopamin tüketimini artırdığı bildirilmiştir (Olanow vd., 2004; Hussain vd., 2006). Chen ve arkadaşlarının çalışmasında da farelere oral yolla verilen nanopartikül boyutlarındaki (23.5 nm) bakır elementinin böbrek, karaciğer ve dalakta mikropartiküler (17 µm) boyuttaki bakır elementinden daha fazla hasara yol açtığı saptanmıştır (Chen vd., 2006).

Nanopartiküllerin insan vücudunda en önemli giriş ve hedef organlarından biride akciğerlerdir. Solunumla akciğerlere alınan partiküller pariyetal plevraya kadar ulaşır. Küçük boyuttaki nanopartiküller makrofajlar tarafından yok edilirken, büyük boyda olan nanotüpler stromada çevresinde birikir. Makrofajlar, bu lifsi yapıları nedeniyle nanotüpleri fagosite edemez ve ortama mezotel hücreleri tarafından proinflatuvar, genotoksik, mitojenik mediatörler salınır (Donaldson vd., 2010). Bu sürecin gelişmesinde partikül boyutları özellikle önem taşımaktadır. Partikül boyutu 100 nm'den küçük nanopartiküllerin hava ve sıvıda daha fazla biriktikleri, epitel hücreleri, lenfatikler, kan, sinir sistemi ve sekonder hedef

organlara daha fazla geçtikleri, büyük partiküllerin ise karaciğerde eliminasyon nedeniyle hedef organlara ulaşmadığı ifade edilmektedir (Oberdörster, 2010).

Titanyum oksit, alüminyum oksit, karbon ve diğer materyalden oluşan nanopartiküllerin yanında silika nanopartiküller (SiO_2NP) en çok üretilenler arasındadır (Borm vd., 2006). SiO_2NP 'ler sadece mevcut ve potansiyel uygulamalı teknik mühendislik alanlarında değil (Borm vd., 2006; Lin vd., 2006), aynı zamanda biyoteknoloji ve tıpta, ilaç uygulamaları (Venkatesan vd., 2005; Roy vd., 2005; Bharali vd., 2005; Gemeinhart vd., 2005), kanser terapisi, enzim immobilizasyonu, biyosensör ve biyolojik belirteç olarak yaygın kullanılmaktadır (Qhobosheane vd., 2001; Santra vd., 2001a; Santra vd., 2001b; Zhang vd., 2004).

Silika, günümüzde en popüler nanopartiküller arasındadır. Büyük ölçekli üretim ve kullanım, insanın SiO_2NP 'lerine maruz kalma riskini arttırmıştır. SiO_2NP 'lerinin kozmetikte, örneğin diş macunu veya cilt bakım ürünlerinde ve aynı zamanda gıda sektöründe de kullanımı bulunmaktadır. Tuz, baharat, anlık çorba kıvamını önleyici maddeler, lezzet artırıcılar veya gıda pigmentleri, şekerleme ürünleri ve ambalaj malzemelerinin kaplama malzemesi olarak veya sağlık takviyeleri gibi gıda katkı maddesi (E551) olarak bulunabilir (Alexandre ve Dubois, 2000; Lomer vd., 2002; Chaudhry vd., 2008; Bouwmeester vd., 2009; Shankar vd., 2011; Frohlich, 2012).

Genel olarak nanopartikül maruziyeti ve özellikle de SiO_2NP 'lerine maruz kalma çevre ve sağlık açısından güvenilirliği büyük önem taşımaktadır. Ancak bu konuda bilimsel bilgi nispeten sınırlıdır. Yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Hareketsizleştirilmiş nanoparçacıkların mükemmel enzimatik aktivite ve mükemmel tespit yeteneği gösterdiğini ifade eden Qhobosheane vd. (2001), silis nanoparçacıklarının enzim immobilizasyonu için iyi biyouyumlu bir katı destek olduğunu, nanoparçacık yüzeyinin biyokimyasal işlevselleştirme, biyolojik algılama ve biyo-işaretleme uygulamaları için kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Silika nanopartiküllerinin hücre seviyesindeki DNA konsantrasyonuna dayanan modüler sistemin transfeksiyon verimliliğini arttırmak için kullanılabileceği, sistemin daha fazla modifikasyonunun DNA transferini daha iyi gerçekleştirebileceği ve DNA ekspresyon engellerini aşabileceği gösterilmiştir

(Gemeinhart vd., 2005).

Lin vd., (2006)'nin çalışmasında SiO₂ nanoparçacıklarına maruz kalmanın, insan bronkoalveoler karsinom türevli kültür hücrelerinde, artan oksidatif stres ile yakın ilişkisinden ve doza bağlı sitotoksiteden söz edilmektedir. Panas vd., (2013, 2014) farklı metal oksit nanoparçacıklarının akciğer epitel hücreleri ve makrofajlarında seçici toksisite, silika nanopartiküllerinin ise enflamatuvar etkisi gösterdiğini gözlemişlerdir. Değerlendirmelerinin sonunda ise amorf SiO₂NP'lerinin her iki hücre tipinde de önemli bir pro-enflamatuvar tepki oluşturduğu ve en sitotoksik nanopartiküller olduğu kararına varmışlardır.

Silikon dioksitin diğer hücre sistemlerine, örneğin hepatik (Ye vd., 2010) ve çeşitli epitelyal benzeri karsinoma hücrelerine (Al-Rawi vd., 2011; Ahamed 2013;) ve primer fare embriyonik hücrelerine etkisinin az olduğu belirlenmiştir (Yang vd, 2009).

Bu parçacıkların gastrointestinal (GI) yol üzerindeki potansiyel etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu nedenle, özellikle kültür GI hücreleri ile ilgili çalışmalar giderek artmış ve yeni veriler elde edilmiştir. SiO₂NP'lerin gastrointestinal hücreler üzerindeki etkileri ile ilgili çeşitli *in vitro* çalışmalar yayınlanmıştır (Yang ve vd., 2014; Tarantini vd. 2015; Wittig vd., 2017).

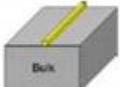
Nanomalzemeler, çevredeki etkileri ve özellikle sucul organizmalar üzerindeki çevresel riskleri konusunda, endişe yaratmıştır. Diğerleri gibi silika nanoparçacıkları da çeşitli alanlarda kullanım bulmakta ve kaçınılmaz olarak çevreye salınmaktadır.

Nanoteknolojideki hızlı gelişmeler bu teknolojinin özünü oluşturan nanopartiküllere dikkatleri çevirmiş ve yapılan ilk deneysel gözlemler bu kuşkuyu haklı çıkaracak boyutlara ulaşmaya başlamıştır. Bununla birlikte, SiO₂NP'lerinin tatlı su balıkları üzerindeki ekotoksikolojik etkileri tam olarak anlaşılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda kozmetik, gıda, sağlık, endüstri ve nanoteknolojide farklı amaçlarla kullanılan SiO₂NP'lerinin sucul organizmalardan *L. caeruleus* türü balık larvalarındaki solungaç, karaciğer, göz ve beyin dokularına muhtemel toksik etkilerinin histolojik yönden belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Nanopartiküller

Nanoteknolojide kullanılan nanopartiküller; “American Society for Testing and Materials (ASTM)”ın standart tanımlamasına göre partikül boyutları iki yada üç boyutlu olarak 1-100 nm boyutlarındaki parçacıklar olarak tanımlanmaktadır (ASTM, 2006).

Nanopartiküller genel olarak karbon bazlı nanopartiküller, metal bazlı nanopartiküller ve yarı iletken bazlı nanopartiküller olarak sınıflandırılabilirken (Lewinski vd., 2008), nanomalzeme boyutu ve tipine göre de nanokristaller, nanopartiküller, nanotüpler, nanoteller, nanoçubuklar ve nano ince filmler gibi farklı sınıflara ayrılmaktadır (Gürmen ve Ebin, 2008).

Nanomalzeme Boyutu	Nanomalzeme Tipi	Örnek
Üç boyutu da < 100 nm <u>1D</u>	nanopartiküller, kuantum <u>dotlar</u> , <u>nanokabuklar</u> , <u>nanohalkalar</u> , <u>mikro-</u> <u>kapsüller</u>	
İki boyutu < 100 nm <u>2D</u>	nanotüpler, fiberler, <u>nanoteller</u>	
Bir boyutu < 100 nm <u>3D</u>	ince filmler, tabakalar ve kaplamalar	

Şekil 1.1. Nanoboyutlu malzemelerin sınıflandırılması (Anonim 9)

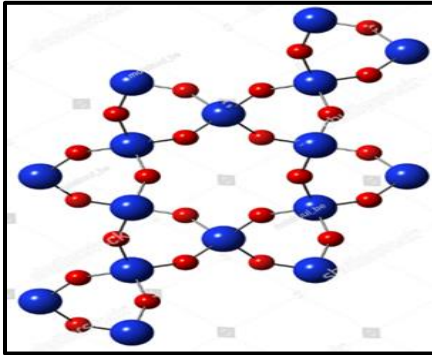
Nanoteknolojik uygulamaların artışıyla birlikte nanomateryaller, pek çok tüketici ürünü için kullanılmaya başlanmıştır (Hanks vd., 2015). Nanopartiküller, yüksek yüzey-hacim oranına sahip olması sebebiyle önem taşımakta olup, katalizörler ve ilaç sanayi, optik materyaller, sensörler ile enerji depolama-transmisyonu da dahil olmak üzere pek çok alanda kullanımı mevcuttur (Haverkamp ve Marshall, 2009). Bu materyallerin fonksiyonları ve kullanım alanları nanopartiküllerin (NP) boyutuna ve bileşimine göre farklılık göstermektedir (Haverkamp vd., 2007). Gümüş NP' leri (AgNP) ev aletlerinde (Siripattanakul-Ratpukdi vd., 2014), platinyum (Pt) NP'leri endüstride ve biyomedikal uygulamalarda (Asztemborska vd., 2015), altın (Au) NP'ler sensör alanındaki çalışmalarda (Yáñez-Sedeño ve Pingarrón, 2005) kullanılabilir.

Son yıllarda büyük önem kazanan NP'ler, nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Çevreye ve insan sağlığına olan etkileri ve riskleri ile ilgili çok az

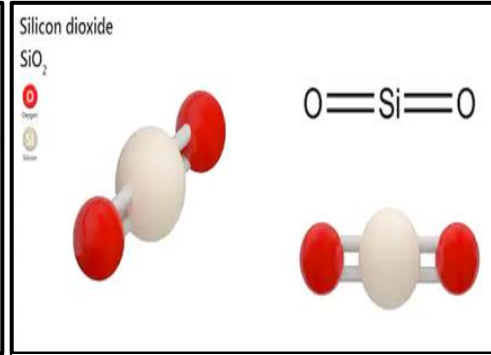
bilgi olmasına rağmen, mühendislik NP'leri çok çeşitli ticari ürünlerin bileşimine entegre edilmiş durumdadır (Andreotti vd., 2015). Ev aletleri ve ürün kaplamaları (Hanks vd., 2015), biyomedikal uygulamalar (Uskoković, 2015; Stone vd., 2015) mücevhercilik (Asztemborska vd., 2015), elektrokimyasal sensörler ve biyosensörler uygulamaları (Haverkamp vd., 2007), tıp (Zhu vd., 2016) ve daha pek çok alanda kullanılabilmektedir. NP'lerin pek çok endüstriyel alanda sıkça kullanılmaya başlanması, nanopartikül sentezlenmesinin de önemini artırmaktadır. Mühendislik yöntemleri ile üretilen NP'ler doğal yollarla da oluşabilmektedir. Hem hali hazırda doğada bulunması hem de nanoteknolojinin gelişmesinin bir sonucu olarak, NP'lerin konsantrasyonlarının ortamlarda yükselmesi de muhtemeldir (Üçüncü Tunca, 2015).

1.2. Silikon dioksit

Silikon dioksit kumdan üretilen bir nanopartiküldür. Doğada kum ya da kuartz halinde bulunur (Şekil 1.2). 16. yüzyıldan beri bilinmektedir. Silika/silisyum 2 oksijen ve 1 silisyum atomundan oluşur, kimyasal sembolü SiO_2 'dir. (Şekil 1.3). Renksiz, kaynama noktası $2.230\text{ }^{\circ}\text{C}$, erime noktası $1.710\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir. Moleküler ağırlığı $60,08\text{ g/mol}$ ve yoğunluğu $2,65\text{ g/cm}^3$ 'dür (Anonim 1).



Şekil 1.3. Kuartz kimyasal formülü



Şekil 1.2. Silikon dioksitin kimyasal formülü

(Anonim 10)

SiO₂ camın bir çok türünün ve çimento gibi malzemelerin temel bileşenidir. Beton, fayans, porselen gibi pek çok madde de kullanılmaktadır. Yüksek erime sıcaklığına sahip olmasından dolayı fırın yapımında kullanılır (Anonim 2). Ayrıca SiO₂NP'ler mühendislik (Borm vd., 2006; Lin vd., 2006) ve biyoteknolojide DNA'nın transportu, ilaç uygulamaları, tıp alanlarında (Venkatesan vd., 2005; Roy vd., 2005; Bharali vd., 2005; Gemeinhart vd., 2005), kanser terapisi, enzim immobilizasyonu, biyosensör ve biyolojik belirteç gibi çeşitli amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır (Ohobosheane vd., 2001; Santra vd., 2001a; Santra vd., 2001b; Zhang vd., 2004).

SiO₂NP'lerinin kozmetikte, örneğin diş macunu veya cilt bakım ürünlerinde ve aynı zamanda gıda sektöründe de kullanımı bulunmaktadır. Tuz, baharat, hazır çorba kıvamını önleyici maddeler, lezzet artırıcılar veya gıda pigmentleri, şekerleme ürünleri ve ambalaj malzemelerinin kaplama malzemesi olarak veya sağlık takviyeleri gibi gıda katkı maddesi olarak kullanılır (Alexandre ve Doboıs, 2000; Lomer vd., 2002; Chaudhry vd., 2008; Bouwmeester vd., 2009; Shankar vd., 2011; Frohlich, 2012). Ayrıca topaklanmayı engelleyici ajan olarak, bira veya şarap üretiminde maya ve proteinlerin uzaklaştırılması ile köpüklenmeyi önleyici ajan olarak kullanılır (Anonim 3).

1.3. *Labidochromis caeruleus*' un Taksonomisi

Kingdom: Animalia

Phylum: Chordata

Classis: Actinopterygii

Ordo: Perciformes

Subordo: Labroidei

Family: Cichlidae

Genus: *Labidochromis*

Species: *Labidochromis caeruleus*



Şekil 1.4. *Labidochromis caeruleus* (Fryer, 1956) (Orijinal resim)

1.3.1. *Labidochromis caeruleus*' un Özellikleri

L. caeruleus Türkiye’de “sarı prenses balığı”, İngiltere’de ise “mavi ışın bantlı” (blue streak hap) ve akvaryum balıkçılığında ise “elektrik sarısı” (electric yellow cichlid) adıyla tanınmaktadır (Saygı, 2009). Cichlidae familyasının bir üyesi olup, Anavatanı Afrika kıtasının Malavi gölü olan bu balık, sığ kayalıklarda yaşamayı sever (Anonim 4).

Akvaryum koşullarında orijinal yaşam alanlarındaki su kalitesini taklit ederek uzun, sağlıklı bir yaşam ve besleme ortamı tesis etmek mümkündür. 24-28 °C su sıcaklığı, >7 pH, <8,5 pH aralığı rutin metabolizmaları için optimum yaşama kriterleri olarak bilinir (Morioka ve Matsumota, 2008).

Sarı prenses genelde durgun, temiz ve bol oksijenli sularda yaşar. Meraklı bir davranış sergilemeleri yanında alanlarını koruyucu özellik de gösterirler. Sarı prenses balıkların erkekleri, dişilere göre daha iri ve daha parlak renkte ve gösterişli olurlar. Doğal koşullarda erkek balıklar 15-16 cm'ye kadar büyümektedirler. Akvaryum ortamında en iyi şartlarda 8-12 cm civarında büyüeyebilirler. Davranış biçimi olarak erkeklerde alan savunması vardır. Sarı prenses hem etçil hem otçul beslenme özelliğine sahiptir (Qaranjiki,2017).

L. caeruleus'ta cinsiyet ayrımı kolay değildir. Dış görünüşüne bakarak anlamaya çalışmak oldukça zordur fakat erkeklerde alın dişilere göre daha diktir, göğüs ve anal yüzgeçteki siyahlıklar dişilere göre daha belirgin ve koyu renklidir. Erkeklerde yüzgeçler dişilere oranla daha sivri bir şekilde sonlanır fakat kesin ayrım yapabilmek için anüs ve ventral açıklığa bakmak gerekir. Erkeklerin ağzının üst kısmı kur yapma zamanında siyah mor arası koyu bir renk alır (Saygı, 2009).

Dişi *L. caeruleus*'lar genellikle 15-20 arasında yumurta bırakır, döllenmiş yumurtaları ağzında kuluçkalar ve 21 gün sonra kusma yöntemiyle larvaları bırakır. Bu kuluçka ve bakım döneminde ağzına yem almaz ve aç kalarak kondisyon kaybına uğradığından hassas bir hal alır. Bu nedenle yumurtlama öncesi ve sonrası dişilerin iyi beslenmesi gerekmektedir. Renkli, hareketli, üremesi kolay, kötü şartlara toleransı yüksek bir balıktır. Bu nedenle son yıllarda biyolojik olayların araştırılmasında, bilgi edinmek için birçok çalışmada model organizma olarak kullanılırlar (Anonim 5).

Yumurtanın döllenmesinden sonra oluşan zigotta mitoz bölünme ve blastodisk oluşum başlar. İlk blastomerden sonra blastula evresi belirginleşir ve morula evresine geçer. Bu evreden sonra blastomer sayısı artmaya başlar ve blastula vitellusun üzerinde çoğalmaya başlar. Son blastula safhasından sonra gastrula safhası başlar ve gastrula vitellus üzerinde germ halkası oluşturur. Daha sonra omurga, otolit, pigmentler belirginleşir ve organ oluşumu başlar. Döllenmeden yaklaşık üç gün sonra larvalar yumurta zarını yırtarak dışarı çıkarlar ve pre-larval dönem başlar. 16. günden sonra vitellus kesesi küçülmeye başlar, 25. günden sonra tamamen kaybolur. Vitellus kesesinin kaybolmasından sonra larvalar dışarıdan beslenmeye başlarlar (Qaranjiki,2017).

1.4. *Labidochromis caeruleus*' un Dokularının Histolojik Yapısı

1.4.1. Solungaç

Solungaç boşluğuna yerleşmiş olan solungaçlar, kemikli balıklarda operkulum denilen ve kemik parçalarından oluşan hareketli solungaç kapakları ile korunmaktadır. Her iki solungaç kapağını alttan boğaz kısmına bağlayan ve solungaç ışıını da denilen solungaç zarları bulunur. Kemikli balıklarda her bir tarafta dört adet solungaç yayı yeralır. Bu yayların iç kısmına yerleşmiş olan uzunluk ve sayıları türlerine göre değişen solungaç dikenleri vardır. Solungaç yaylarının dış kısmına yerleşmiş olan üzerinde kılcık kan damarları taşıyan bu yüzden kırmızı renkli görülen solungaç lamelleri bulunur. Bu lameller solungaç yaylarına bağlanan primer lameller ve solunum yüzeyini artıran filamentöz yapıdaki sekonder lamellerdir (Sonia vd., 2007). Sekonder lameller bir iki sıralı, basit yassı solunum epiteliyle döşelidirler. Epitelin arasında iri ve yuvarlak nükleuslarıyla mukus hücreleri, daha iç kısımlarda destekleyici hücreler bulunur. İyon değişimi yaptıkları için mitokondriye zengin olan klorid hücreleri, büyüklükleri ve açık renkli olmaları ile diğer hücrelerden kolayca ayırt edilebilirler (İşisai vd., 2010).

Balıklarda solunum solungaçlarla sağlanır. Solunum esnasında operkulum kapatılır, ağız açılır ve su ağıza girer. Bundan sonra ağız kapatılır operkulum açılır ve bu sayede su solungaç yarıklarına geçer. Bu sırada solungaç ipliklerindeki kılcık damarlarda bulunan kirli kan içerisindeki karbondioksiti suya vererek yerine sudaki erimiş oksijeni alır (Kuru, 2009).

1.4.2. Karaciğer

Karaciğer, kemikli balıklarda anterior ve posterior olmak üzere iki loblu, nispeten büyük bir organdır. Düz koyu kahve renktedir. Sindirim kanalının kronial kısmının hemen yanında yer alır. Karaciğerin anterior (sağ) lobu safra kesesini içerir. Posterior (sol) lobu da dalağı örter. *L. caeruleus*'un karaciğer genel yapısı diğer teleostalarla benzerlik göstermesine rağmen, hepatositlerin merkezi ven etrafında düzgün kordonlar halinde izlenmesi birçok aynı türde görülmez (Üçüncü vd., 2010; Karaman ve Dörücü, 2017).

Balıklarda karaciğer histolojisi memeli karaciğer histolojisinden farklılıklar göstermektedir. Memelilerdeki lobüller çok kenarlı olup, birbirinden bağ dokusu

ile ayrılırlar. Bu özellik balıklarda yalnızca alabalıkta yalancı lobül olarak görülürken diğer balıklarda türe özgü değişiklikler gösterir ve genellikle karmaşık yapıdadır (Tanyolaç, 1999; Genten, 2009; Timur, 2013).

Lobülü oluşturan karaciğer hücre kordonlarına “Remark kordonları” denir. Bu kordonlar tek hücre kalınlığındadır. Sinüzoidleri örten hücreler arasında tüm omurgalılarda fagositoz kabiliyetine sahip olan hücreler vardır. Bunlar, mikroorganizmalar dahil tüm partikül halindeki yabancı maddeleri fagosit ederler. Bu hücrelere “Kupffer'in yıldız hücresi” denir. Hepatik hücreler yuvarlağımsı çok kenarlı hücre gövdesine sahip ve yuvarlak belirgin bir çekirdek ve çekirdekçikleri vardır. Hücrelerin sitoplazmalarında biraz veya çok glikojen ya da yağ bulunur. Bu nedenle bu hücrelerde pekçok vakuolün görülmesine neden olur (Karaman ve Dörücü, 2017).

Karaciğer hem anabolizma hem de katabolizma olaylarında görev alır. Hepatik arter ile portal ven karaciğere girer ve portal ven birçok kola ayrılarak sinüzoidleri meydana getirir (Sonia vd., 2007). Portal vena, bağırsaklardan emilen besinleri içeren kanı taşır. Bu kan sinüzoidlerle yakın ilişkisi olan karaciğer kordonlarındaki hücrelere geçerek çok miktarda besinin depolanmasını sağlar. Hepatik venanın bir kolu her lobülün merkezine uzanır.

1.4.3. Göz

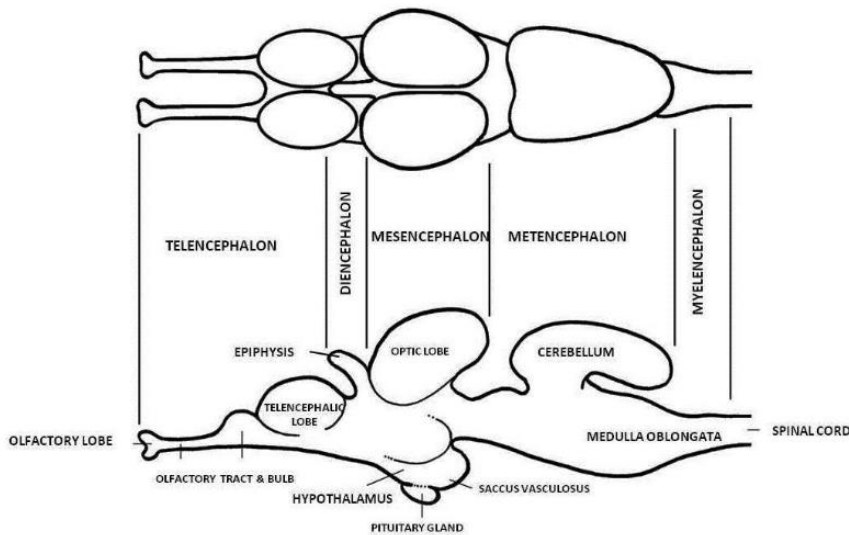
Balıklarda gözler, baş bölgesinin ön tarafında bulunan hafif konveks bir yapıya sahip, görmeyi sağlayan küresel yapılardır. Büyüklük, renk, şekil ve konumları türlere göre değişiklik gösterebilir. Genel olarak başın yanında bulunsa da kaya balıklarında başın iyice tepesine doğru yerleşmiş durumdadır. Küresel ve sert bir kristal içerir. Kornea tabakası ışığı yansıtmaz. Kırılma indisi suyunkinden farklı değildir (Megep, 2006).

Kornea; kornea epitel, kornea stroması ve kornea endotelinden oluşur. İris, gözün anterior ve posterior bölümlerini ayıran ince bir tabakadır. Lens bir mercek kapsülüyle örtülmüştür ve içi lens (mercek) maddesi içerir. Lens maddesi fibrillerden oluşur ve bu lens fibrilleri modifiye olmuş epitel hücreleridir. Retina koroid ile örtülmüştür. Koroid, retinanın altında damarlardan oluşmuş bir tabakadır. Sklera, kalın ve kuvvetli bir tabakadır ve koroidi örter. Retina dışarıdan içeriye doğru pigment epitel, rod ve koni görme hücreleri, dış sınırlayıcı

membran, dış nüklear tabaka, dış ağ tabakası, iç nüklear tabaka, iç ağ tabaka, ganglion hücre tabakası, sinir fibrilleri tabakası ve iç sınırlayıcı membran tabakalarıdır (Timur, 2013).

1.4.4. Beyin

Omuriliğin sefalik kısmının genişlemesiyle oluşan beyin kranial boşlukta yer alır. Telencephalon (olfactory bulb ve serebral yarım küreler), diencephalon (ara beyin veya ikiz beyin), mesencephalon (optik loblar ve tegmentum), metencephalon (cerebellum-beyincik) ve myelencephalon (medulla oblongata-omurilik soğanı) olmak üzere beş ana bölgeden oluşur (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Balıklarda beyin bölümleri (Anonim 7)

Telensefalon, memelilere göre nispeten daha küçüktür ve esas olarak olfaktor loblar, ampuller ve telensefalik loblar tarafından oluşturulur. Koku lobları ve ampulleri (kese) türlere göre uzunluğu değişken olfaktor sinirler ile bağlantılıdır. Kranial sinir veya koku alma siniri (duyusal sinir) içeren telensefalonun ana işlevi koku almaktır.

Diensefalon çatısı, duvarları ve zemini olan epithalamus, talamus ve hipotalamustan meydana gelir. İçerisinde dorsal koroid pleksus yer alan bir

ventrikül içerir. Hipotalamusta endokrin fonksiyon gösteren hipofiz bezi yer almaktadır. Epithalamusun arka kısmı, nöroendokrin fonksiyonuna ek olarak ışığa duyarlı olan epifiz bezini içerir. Diensefalonun ana işlevi endokrin sistemi etkileyen hipofiz yoluyla iç hemeostaziye ilişkin gelen ve giden mesajları ilişkilendirmektir.

Mesensefalon dorsal optik loblar ve ventral tegmentumdan oluşur. Başlıca işlevi, görsel bilgilerin entegrasyonu ve motor işlevlerle ilişkilidir. Beyindeki en değişken yapı olan metensephalon kendi ventrikülünü içeren beyincikten oluşur. Uzayda dengeyi, yüzme, kas tonusunu ve oryantasyonu kontrol eder.

Miyelensefalon esasen arka koroid plexus tarafından dorsal olarak kaplanan medulla oblongata tarafından oluşturulur. Bu bölgede Mautner hücreleri yer alır. Bu hücreler hızlı hareketle ilgili motor koordinatörlerdir. Miyelensefalon ventilasyon oranını kontrol eder ve tat, dokunsal ve anal-akustik sistemlerin fonksiyonlarını işler.

Omurilik, vertebral kolonun sinir kanalı içinde medulla oblongatadan balığın uzunluğu boyunca geriye doğru uzanır. Omurilik miyelinli aksonları içeren beyaz madde ve nöron gövdelerinin hakim olduğu gri maddeden oluşur. Merkezinden ependymal hücrelerle kaplı omurilik kanalı geçer. Ependymal hücreler beyin omurilik sıvısının içeriğini ve dolaşımını düzenler. Omurilik sinirleri omuriliğin her iki tarafında metamerik olarak düzenlenmiştir. Her bir spinal sinir omuriliğe dorsal ve ventral olmak üzere iki kök ile bağlanır. Dorsal kök duyu (somatik ve visseral) ve visseral motordur ve spinal ganglionla sahiptir. Ventral kök ise visseral ve somatik motor olup, ganglion içermez (Anonim 6, Anonim 7, Megep, 2006, Timur, 2013).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Nanopartiküller, çevresindeki bir arayüzey tabakası ile 1 ila 100 nanometre büyüklüğünde partiküllerdir. Arayüzey tabakası, temel olarak tüm özelliklerini etkileyen, nano ölçekli maddenin ayrılmaz bir parçasıdır. Arayüzey tabakası tipik olarak iyonlardan, inorganik ve organik moleküllerden oluşur (Anonim 8).

Nanopartiküllerin biyotik ve abiyotik bileşenlerle etkileşimi hakkında bilgi azdır ve şu anda nanomalzeme toksisitesini değerlendirmek için güvenilir bir yöntem bulunmamaktadır. Metal NP' lerin su kirliliğine neden olması ve balıklarda birikmesi sonucu biyolojik olarak kullanılabilirlikleri insan sağlığı ve çevre için önemli bir risk oluşturmaktadır (Handy vd., (2008 ve 2011); Arora vd., (2012).

Nanopartiküllerle ilgili yapılan bir derlemede, nanopartiküllerin solunması halinde solunum yollarında birikebildiği ve oksidatif strese bağlı inflamatuvar reaksiyonlar gösterdiği ifade edilmektedir. Nanopartiküllerin beyin dokusuna olfaktör (koku alma) epiteli yoluyla geçtikleri belirtilmektedir. Ayrıca nanopartiküllerin oluşturduğu tümörlerin sadece sıçanlarda ve yüksek dozlarda ortaya çıktığı söylenmektedir (Borm, 2006).

Titanyum dioksit (TiO_2) nanopartikülleri, tüketici ürünlerinde, boyalarda ve farmasötik preparatlarda kullanılan ilk beş nanopartikül arasındadır. Bu tür nanoparçacıklara maruziyet daha çok cilt ve solunum yoluyla olmaktadır. Alarifi vd., (2013) çalışmalarında TiO_2 nanoparçacıklarının karaciğer dokusuna etkilerini histolojik yönden araştırmak amacıyla *Wistar albino* türü sıçanları, 24 ve 48 saat boyunca 63 mg, 126 mg ve 252 mg dozlarındaki TiO_2 -nanopartiküllerine maruz bırakmışlardır. Sonuçta karaciğer hepatositlerinde hidropik dejenerasyon, bulanıklık, şişlik, yağ dejenerasyonu, kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve merkezi damarlarda tıkanıklık gözlemlenmiştir.

Nano- TiO_2 veya diğer nanoparçacıkların karaciğer toksisitelerini indükleyebildiği bilinmesine rağmen, mekanizmalar ve moleküler patogeneze hala belirsizdir. Ma vd., (2009) çalışmalarında, nano-anataz TiO_2 'i (5 nm), üst üste 14 gün boyunca farelerinin karın boşluğuna enjekte etmiş ve farelerin karaciğerin inflamatuvar tepkilerini araştırmışlardır. RT-PCR ve ELISA analizleri ile nano-anataz TiO_2 'nin nükleik faktör- κB , makrofaj göçü inhibe edici faktör, tümör nekroz faktörü-a,

interlökin-6 dahil olmak üzere çeşitli enflamatuar sitokinlerin mRNA ve protein ekspresyonlarını önemli ölçüde değiştirdiğini tespit etmişlerdir.

Nanopartiküller küçük boyutlarından dolayı yeni özelliklere ve fonksiyonlara sahiptir. Nanopartiküllerin benzersiz doğası potansiyel olarak toksik etkilerle ilişkilendirilebilir. Balasubramanyam vd., (2009), çalışmalarında alüminyum oksit nano partiküllerine oral yoldan maruz bırakılan sıçanların kemik iliğinde genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla çalışmalarında 30 ve 40 nm partikül büyüklüğüne sahip alüminyum oksit nanopartikülleri sıçanlara oral yoldan 500, 1000 ve 2000 mg dozlarında 18 ile 48 saat uygulamışlardır. İncelemeler sonucunda alüminyum oksit nano partiküllerine maruz kalmanın, ciddi boyutlarda genetik hasara neden olma potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Gupta vd. (2016)' nin çalışmasında 50 nm'den küçük Cu-NP'lerinin üç aylık *Cyprinus carpio* (sazan) böbrek, karaciğer ve solungaç dokuları üzerindeki toksik etkileri hem biyokimyasal hemde histolojik yönden açıklanmaya çalışılmıştır. Araştırmada balıklar Cu-NP'lerine 20 ve 100 mg/L/Kg dozlarda 7 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Deneye başlamadan önce balıkların ağırlıkları ölçülmüş ve hergün deney tanklarındaki su %80 oranında yenilenmiştir. Vücut ve doku ağırlığı bakımından karşılaştırıldığında düşük dozda Cu-NP'lerine maruz bırakılan grubun kontrole göre, yüksek doz grubunun ise düşük doza göre daha belirgin ve anlamlı bir etki gösterdiği dikkati çekmiştir. Adı geçen çalışmada histolojik incelemelerle düşük dozda Cu-NP'lerine maruz kalan gruba ait *C. carpio* solungaçlarında sekonder lamellerin tabanında hiperplazi ve nadir anevrizma, solungaç epitelinde ödem, lamel uçlarında şişmiş mukositler gözlemlenmiştir. Karaciğer dokusunda ise artmış sinüzoidal boşluk, piknotik çekirdekli hücreler ve nekrozun erken evrelerini belirten sitoplazmik vakuol tespit etmişlerdir. Yüksek doza maruz bırakılan grupta ise hasar görmüş kan damarı ve kan hücrelerinin birikimine ek olarak, çok sayıda piknotik çekirdekli hepatositlerle birlikte ve canlılığını yitirmiş hepatosit toplulukları şeklinde belirgin karaciğer hasarı saptamışlardır. Aynı çalışmada böbreklerde düşük doza maruz bırakılan grupta böbrek tübüllerinde dejenerasyon, hematopoetik dokuda birkaç nekrotik hücre ve geniş sinüzoidal boşluklar, yüksek doza maruz kalan grupta ise çok sayıda tübülde dejenerasyon, glomerulus ve Bowman kapsülü arasındaki boşlukta (cavum bowmani) ileri düzeyde genişleme bildirmişlerdir.

Bir başka çalışmada ise farelere 0.1 ve 0.5 mg/kg dozlarda intratrakeal karbon nanotüp uygulamasından 7 ve 90 gün sonra pulmoner toksisite incelenmiş, tüm nanotüp ürünlerinin doza bağımlı olarak epitelioid granülomlarına, 7 gün grubuna ait deneklerde ise interstisyel enflamasyona neden olduğu, bu lezyonların 90 gün gruplarında devam ettiği ve daha belirgin hale geldiği saptanmıştır. Hayvanların bazılarında akciğerlerinde ayrıca alveoler septaya yayılmış peribronşiyal iltihaplanma ve nekroz tespit edilmiştir. Karbon nanotüp intratrakeal muamele sonrası farelerin akciğerlerinin normal olduğu buna rağmen yüksek doz kuvars nanotüpleri ile muamele edilenlerde ise hafif ile orta dereceli iltihaplanma gözlemlendiğini rapor edilmiştir (Lam vd., 2004).

Titanyum oksit, alüminyum oksit, bakır, karbon ve diğer materyalden oluşan nanopartiküllerin yanısıra silika nanopartikülleri de en çok üretilenler arasındadır. Kolloidal silika (C-SiNP), stöber silika (S-SiNP), mesoporous silika (M-SiNP), çökeltilmiş silika (Pr-SiNP) ve pirojenik silika (Py-SiNP) gibi farklı silika nanopartikül tipleri bulunmaktadır (Murugadoss vd., 2017). SiO₂NP'ler sadece mevcut ve potansiyel uygulamalı teknik mühendislik alanlarında değil (Borm vd., 2006; Lin vd., 2006), aynı zamanda biyoteknolojide, ilaç uygulamaları (Venkatesan vd., 2005; Roy vd., 2005; Bharali vd., 2005; Gemeinhard vd., 2005), kanser terapisi, enzim immobilizasyonu, biyosensör ve biyolojik belirteç olarak yaygın kullanılmaktadır (Ohobosheane vd., 2001; Santra vd., 2001a; Santra vd., 2001b; Zhang vd., 2004).

Son yıllarda SiO₂NP'lerinin canlı sistemler üzerine etkileri ile ilgili hücre kültürü ve deney hayvanları kullanılarak çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Kaewamatawong vd. (2006) çalışmalarında düşük dozda ultra ince kolloidal silika partiküllerinin (UFCS) akut ve subakut akciğer toksisitesini incelemek için farelere 0, 0.3, 3, 10, 30 ve 100 µg UFCS'yı intratrakeal olarak uygulamışlardır. Üç gün sonra farelerin hücresel ve biyokimyasal faaliyetlerini ve vücut ağırlığını değerlendirmişlerdir. Düşük doz UFCS uygulamasının geçici akut orta dereceli akciğer iltihabına ve doku hasarına neden olduğunu bildirmişlerdir.

SiO₂NP'lerinin oral alımından sonra gastrointestinal (GI) yol üzerindeki potansiyel etkiler hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu nedenle, oral yolla alınımı üzerine çalışmalar giderek artmaktadır ve daha yakın zamanda yeni veriler elde edilmiştir. SiO₂NP'lerin gastrointestinal hücreler üzerindeki etkileri ile ilgili çeşitli *in vitro* çalışmalar yayınlanmıştır. Bir çalışmada Yang vd. (2014), insan

gastrik epitel (GES-1) ve kolorektal adenokarsinoma (Caco-2) hücreleri için dört farklı büyüklükteki SiO₂NP'lerinin 100 µg/mL konsantrasyonuna kadar güvenli olduğunu kabul etmişlerdir. Fakat daha uzun inkübasyon periyotlarında ve daha yüksek konsantrasyonlarda DNA hasarı olduğu ve hücre sağ kalımının azaldığını ifade etmişlerdir.

Tarantini vd., (2015) 32 µg/mL konsantrasyonda amorf nanosilika partiküllerinin insan Caco-2 hücrelerinde hücre yaşayabilirliğini azalttığı tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada ise insan kolon kanseri hücre hattında (HT29) 10 µg/mL konsantrasyonda SiO₂NP'lerinin (14 nm) sitotoksik ve genotoksik etkilere neden olduğu belirlenmiştir (Mu vd., 2012). Yapılan bir çalışmada ticari olarak elde edilmiş olan amorf silika nanopartikülünün (12 nm) toksikolojik etkileri insan gastrik karsinoma hücre dizisi GXF251L üzerinde araştırılmış, silika nanopartiküllerin konsantrasyona ve zamana bağlı olarak EGFR ve MAPK yollarını çeşitli seviyelerde etkilediği tespit edilmiştir (Wittig vd., 2017).

Ersöz ve Altun Çolak, (2018) çalışmalarında sık kullanılan NP'ler arasında yer alan SiO₂NP'lerinin (20-55 nm) *Drosophila melanogaster*'in 3. evre larvaları üzerine olası toksik etkilerini değerlendirmişler ve bunun için meyve sineği larvalarına 0.1, 1, 5 ve 10 mg/mL konsantrasyonlarda 24, 48, 96 ve 120 saat boyunca SiO₂NP'leri uygulamışlardır. Çalışma sonucunda larvalara uygulanan SiO₂NP'lerinin mortaliteyi tüm konsantrasyonlarda kontrole göre arttırdığını, pupa ve ergin birey oluşumunu ise azalttığını belirlemişlerdir. Meyve sineklerinde larval mortalitenin artarak pupa ve ergin gelişim oranının kontrole göre azalmasının artan SiO₂NP dozuyla birlikte üretimi artan serbest radikallerden kaynaklandığı konusunda ipuçları tespit edildiğini rapor etmişlerdir.

Vidya vd., (2016) silika nanopartiküllerinin tatlı su balıklarındaki (*Oreochromis mossambicus*) oksijen tüketimi üzerine akut toksik etkilerini araştırmıştır. Alt ölümcül konsantrasyonu LC50-96 saat 12 mg/L olarak belirlenmiş, oksijen tüketim oranının kontrol grubuna kıyasla zamana bağlı olarak azaldığı rapor edilmiştir.

Yine Vidya ve Chitra (2018), başka bir çalışmalarında SiO₂NP'lerinin *Oreochromis mossambicus*' un solungaç, karaciğer ve beyin dokuları üzerine etkilerini histopatolojik yönden incelemişlerdir. SiO₂NP'lerine 12 mg/L dozda, 96 saat ve 60 gün boyunca maruz bırakılan balıkların bu dokuları, kontrol grubuyla

karşılaştırıldığında, SiO₂NP'lerinin zamana bağlı olarak ağır hasara neden olduğunu saptamışlardır. Solungaçta epitelinin ayrılması, solungaç kemerlerinde hasar ve vakuolizasyon, anevrizma, sekonder lamellerin yokluğu ve kıvrılması, mukozada birikme, gibi patolojik bulgular izlemişlerdir. Karaciğerde major hepatik lezyonlar normal doku mimarisinin kaybı, hepatositlerde vakuolizasyon, iğ şeklinde çekirdek ve nekroz saptamışlardır. Beyin dokusunda sinir hücrelerinde dejenerasyon, vakuolizasyon, beyin ödemi, nörofibriller bölgede nekroz ve koroid pleksusta lezyon tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, balıklar SiO₂NP'lerine maruz bırakıldıktan sonra, nanopartiküllerin neden olduğu tamir edilemez morfolojik değişiklikler saptadıklarını ve bu çalışmanın doğal olarak çevresel değişikliklere neden olan nanopartiküllerin üretimini ve kullanımını kısıtlamak için çevresel tarama ve izleme programlarına katkıda bulunmaya yarayacağını rapor etmişlerdir.

Gen terapötikleri, RNA terapötikler ve DNA aşıları dahil olmak üzere verimli moleküler ilaçların geliştirilmesi, DNA veya RNA' nın hücreye verimli bir şekilde transfer edilmesine bağlıdır. Toksisite ve immünojeniklik dahil, potansiyel DNA transferi viral metodlar ile viral olmayan sentetik taşıyıcıların kullanılmasını gerektirmiştir.

Gemeinhart vd., (2005)'nin çalışmasında, yoğun bir silika nanoparçacık kullanılarak DNA-transfeksiyon reaktif kompleksinin transfeksiyon etkinliği arttırılmıştır. Silika nanoparçacıkların, yüzey modifikasyonu ve transfeksiyon veriminin sadece küçük bir değişiklik ile hücre alım mekanizmasının belirlenmesine olanak sağladığı belirlenmiştir. Silika nanopartiküllerinin, hücre seviyesindeki DNA konsantrasyonuna dayanan modüler sistemin transfeksiyon verimliliğini artırmak için kullanılabileceği, sistemin daha fazla modifikasyonunun DNA dağıtımını daha iyi hedefleyebileceği ve diğer DNA ekspresyon engellerinin üstesinden gelebileceğini rapor etmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Planı

Deneyler ADÜ Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Histolojisi-Embriyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Çalışma ADÜ-Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan izin alındıktan sonra (HADYEK karar no: FEF-2017/046) gerçekleştirilmiş olup, deney hayvanlarının bakımına ilişkin “Hayvan Etik Kurulu” uygulamalarına özen gösterilmiştir.

Çalışma için ADÜ/Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü'nden temin edilen anaç balıklar ADÜ/FEF Biyoloji Bölümü Histoloji-Embriyoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Anaç balıklar $26\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklığındaki dinlendirilmiş su içeren, 30x50x100 cm ebatlarındaki cam akvaryuma alınmış ve balıkların iki hafta boyunca laboratuvar koşullarına alışması sağlanmıştır. Deneyler 14:10 aydınlık/karanlık fotoperiyotta gerçekleştirilmiştir. Akvaryumlar, akvaryum motoru ile sürekli havalandırılmış ve deneme sürecinde suyun buharlaşmasını önlemek için üzerleri cam kapaklar ile kapatılmıştır. Balıklar; türe uygun olarak seçilmiş, gelişimlerini ve yumurta üretimini teşvik edici protein içerikli ticari balık yemi ile günde iki kez beslenmiştir.

L. caeruleus türü balıklarda yumurta döllenmesi gerçekleşikten sonra alt çenelerinde şişlik oluşur. Anaç balıklar döllenmiş yumurtalarını kuluçka süresince (21 gün) ağızlarında taşır ve bu sürenin sonunda yavru balıklar ağızdan çıkarılır. Bu nedenle çalışmada kullanılacak anaç balıklar her gün izlenmiş olup, alt çenesi şiş olan anaç balıkların ağız içi kontrol edilerek döllenmiş yumurta olup olmadığına bakılmıştır. Ağızlarında döllenmiş yumurta bulunan anaç balıklar $28\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklığındaki dinlendirilmiş su içeren 35x25x20 cm ebatlarındaki cam akvaryuma alınarak burada larvaların gelişmesi beklenmiştir. Ayrılan anaç balıkların 20-21. günlerde ağızları tekrar kontrol edilerek yumurtaların larval forma girip girmedikleri gözlemlenmiştir. Kuluçka süresi sonunda belirgin hale gelmiş ve gerekli olgunluğa ulaşmış olan bu larvalar, anaç balığın ağzı küçük bir spatül yardımıyla açılarak, içinde anaç balığın bulunduğu akvaryum suyunu içeren petriye aktarılmıştır (Şekil 3.2). Böylece kusturma işlemi gerçekleştirilmiş ve larvalar elde edilmiştir (Şekil 3.3).

Larvaların kusturma işleminin gerçekleştiği gün sıfırinci gün olarak kabul edilmiş ve bir gün bekletilerek larvaların ortama adapte olması sağlanmıştır. Bir günlük larvalar kontrol ve deney grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Her grupta 10'ar larva olacak şekilde, toplamda 40 adet larva kullanılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir işlem yapılmamış, deney gruplarına ticari firmadan (Nanoshel/INDIA) satın alınan SiO_2NP 'leri (20-30 nm) 50 mg/L, 100 mg/L ve 200 mg/L olarak üç farklı dozda uygulanmıştır (Şekil 3.1).

Madde uygulama 96 saat sürmüş bu sürenin sonunda larvalar histolojik prosedüre alınmıştır. Akvaryum sularının %50'si 24 saatlik aralıklarla, test çözeltisi içerisindeki nanopartikül konsantrasyonu değişmeyecek şekilde yenilenmiştir (OECD, 1992). Kontrol grubuna ait akvaryum ise 24 saatlik aralıklarla akvaryum suyunun %50'si dinlenmiş su ile yenilenmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan SiO_2NP 'leri.



Şekil 3.2. *L. caeruleus* türü anaç balıklar



Şekil 3.3. *L. caeruleus* larvaları

3.2. Histolojik Yöntemler

Deneme ve kontrol gruplarına ait larvalar bütün olarak 24 saat süreyle Bouin solüsyonu ile tespit edilmiştir. Fiksatifin fazlasının uzaklaştırılması amacıyla larvalar, %70'lik alkol ile iyice yıkanmıştır. Yıkama işlemi 24 saat boyunca her yarım saatte bir alkolün değiştirilmesi şeklinde yapılmıştır. Daha sonra larvalar doku takibine alınmıştır (Çizelge 3.1). Takip sonrası kontrol ve deney grubuna ait larvalar yönleri frontal dorsal, frontal ventral, sagittal sol yan ve sagittal sağ yan olacak şekilde parafine gömülerek bloklanmıştır. Parafin bloklardan Rotary mikrotomda (Leica RM-2145) 6µ kalınlığında her bloktan boyama için 5'er lam (her lamda üç doku olacak şekilde) kesitler alınmıştır. Elde edilen kesitler Mayer's Hematoksilen-Eosin ile boyandıktan sonra entellan ile kapatılarak daimi preparat haline getirilmiştir (Çizelge 3.2), (Bancroft ve Cook, 1994).

Hazırlanan preparatlarda larvaların hem bütün hali hem de bu larvalardaki solungaç, karaciğer, göz ve beyin dokuları ayrı ayrı incelenerek farklı büyütmelede fotoğrafları (Olympus BX 51, Olympus E-330 digital kamera) çekilip değerlendirilmiştir. Çalışmanın bitiminde yapılan incelemeler sonucunda, deney gruplarından elde edilen bulgular kontrol grubu ile karşılaştırılıp değerlendirilerek literatür bilgileri ile tartışılmıştır.

Çizelge 1. Bouin fiksatif doku takibi

Madde	Süre
% 80'lik Alkol	1 Saat
% 96'lık Alkol	1 Saat
% 96'lık Alkol	1 Saat
% 100'lük Alkol	1 Saat
% 100'lük Alkol	1 Saat
% 100'lük Alkol	1 Saat
Ksilol	80 dk
Ksilol	80 dk
Ksilol + Parafin	1 Saat (Etüvde 58°C)
Parafin	1 Gece (Etüvde 58°C)

Çizelge 2. Hematoksilen-Eosin Boyaması

Madde	Süre
60°C etüvde	1 gece
Ksilen I	30 dakika
Ksilen II	30 dakika
% 95 alkol	2 dakika
% 80 alkol	2 dakika
%70 alkol	2 dakika
% 60 alkol	2 dakika
Akar su	5 dakika
Mayer's hematoksilen	5 dakika
Akar su	5 dakika
Asit alkol	2-3 saniye
Eosin	1 dakika
Akar su	5 dakika
% 80 alkol	1 dakika
% 96 alkol	1 dakika
Ksilen çıkış	1 saat
Entellan	Kapatma

4. BULGULAR

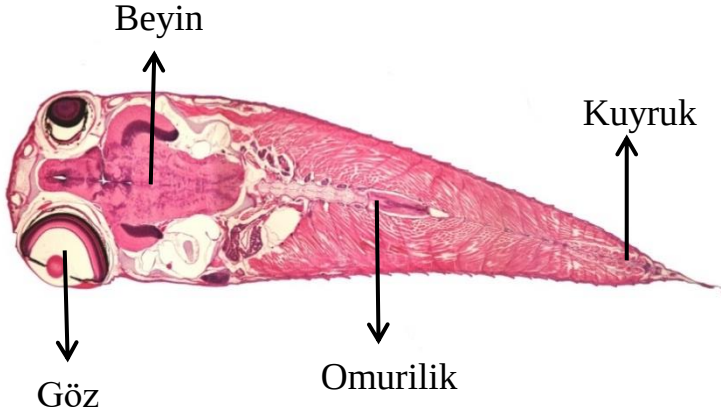
4.1. Davranış Değişikliklerine Ait Makroskopik Gözlemler

SiO₂NP'lerinin 50 mg/L, 100 mg/L, ve 200 mg/L dozlarına maruz bırakılan balık larvalarında; tüm gruplarda balıklar ilk akvaryuma koyulduğunda strese girdikleri fakat ortama uyum sağladıkça hareketlerinin normale döndüğü gözlenmiştir. Bunun dışında deney süresince balıkların kontrol grubuna göre daha aktif ve hareketli oldukları, maruz bırakılan Silikon dioksit dozu arttıkça büyüme ve gelişmelerinin de daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. 96 saatlik deney süresi bitiminde 200 mg/L'ye maruz bırakılan grupta ki larvaların 100 mg/L ve 50 mg/L SiO₂NP'lerine maruz bırakılan balık larvalarına göre daha büyük oldukları, kontrol grubu ve 50 mg/L'ye maruz bırakılan larvaların nispeten büyüklüklerinin yakın oldukları 100 mg/L uygulanan gruptaki balıkların 50 mg/L'ye göre nispeten büyük oldukları makroskobik olarak izlenmiştir.

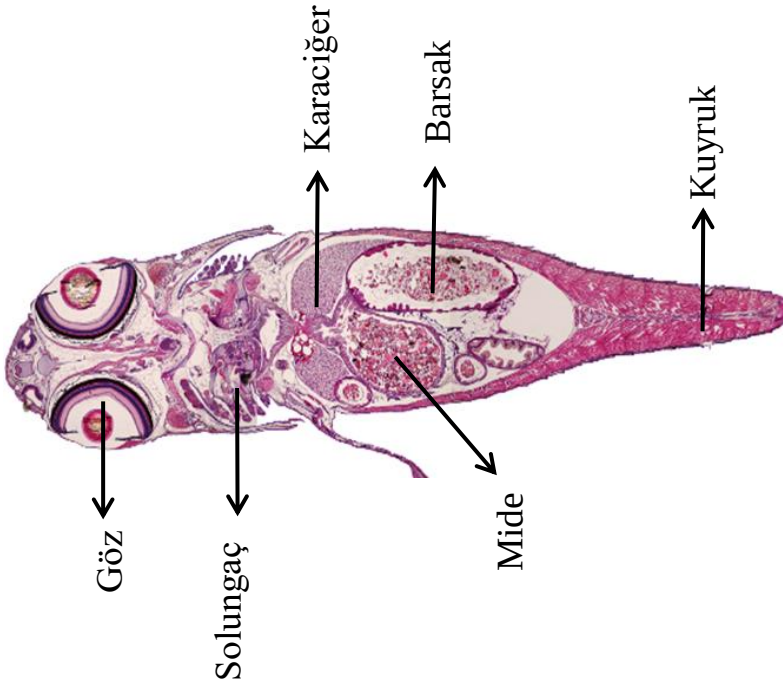
4.2. Histolojik Bulgular

Bütün deney gruplarında yapılan incelemeler sonucunda, larvaları bir bütün olarak ele aldığımızda aşağıda da görüldüğü gibi kontrol grubuna kıyasla genel morfolojik yapılarında gözle görülür makroskobik değişiklikler saptanmamıştır. Solungaç, karaciğer, göz ve beyin dokularındaki mikroskobik değişiklikler aşağıda organ bazında verilmiştir.

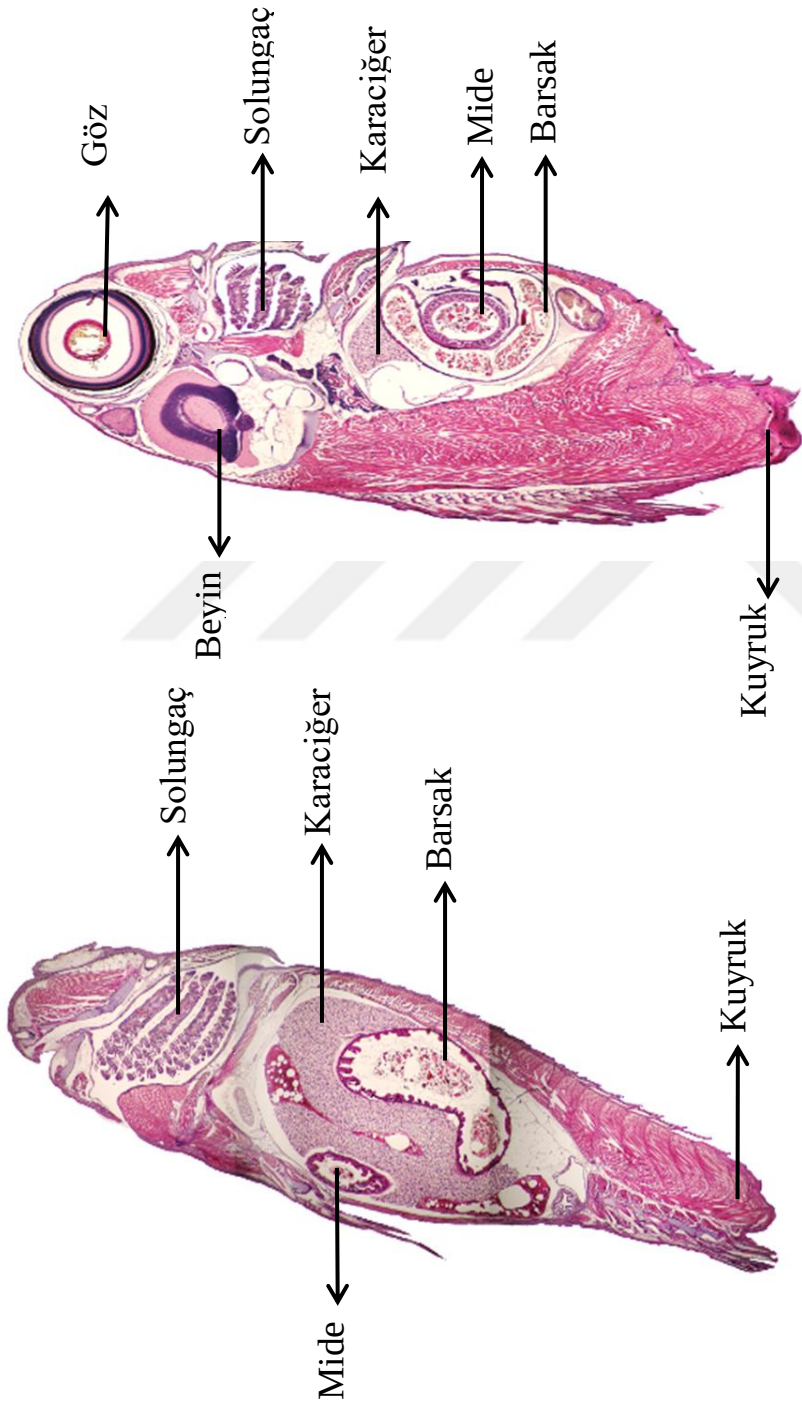
4.2.1. Kontrol Grubu Larva Kesitleri



Şekil 4.1. Kontrol grubu *L. caeruleus* larvası, frontal dorsal kesit. H&E, 4x.



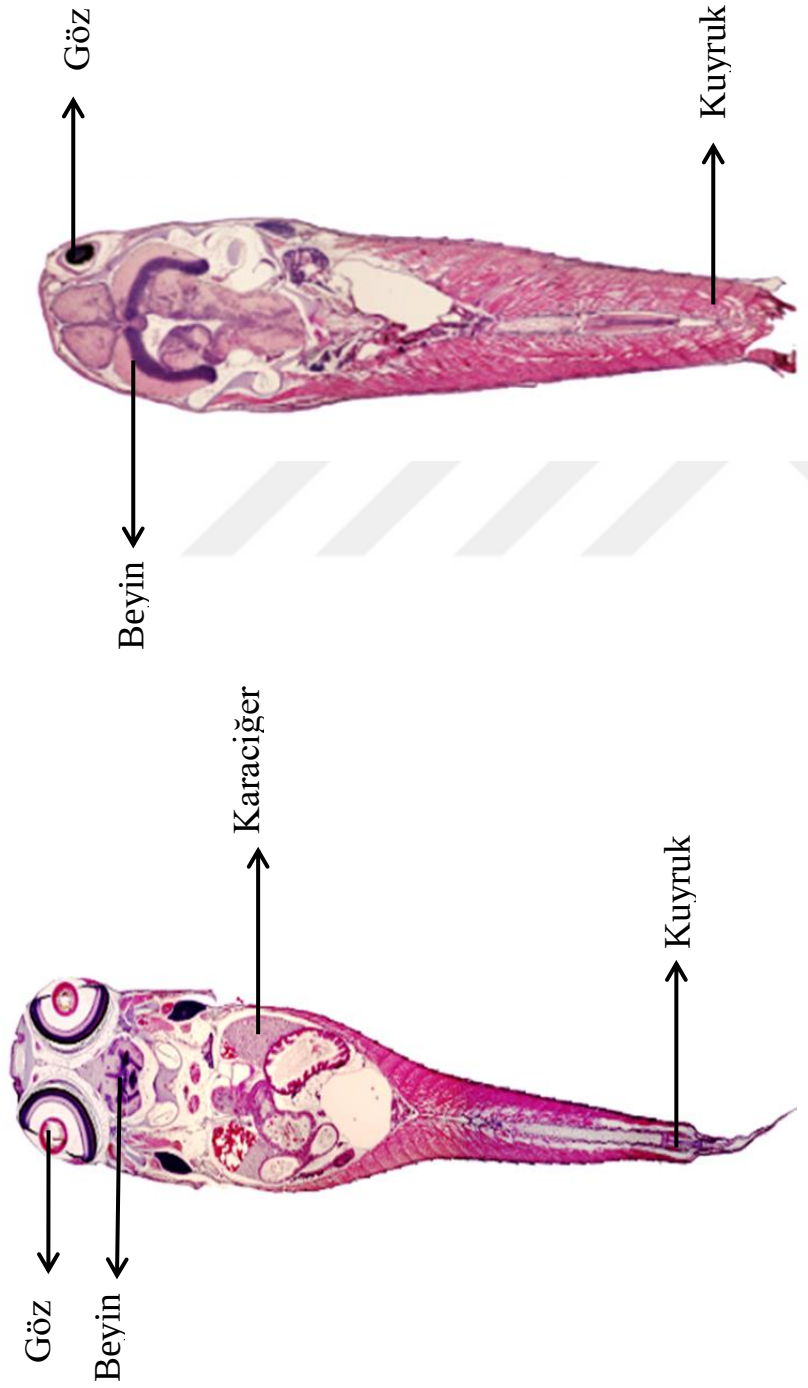
Şekil 4.2. Kontrol grubu *L. caeruleus* genel görünümü, frontal ventral kesit. H&E, 4x.



Şekil 4.4. Kontrol grubu *L. caeruleus* larvası, sagittal sol yan kesit. H&E, 4x.

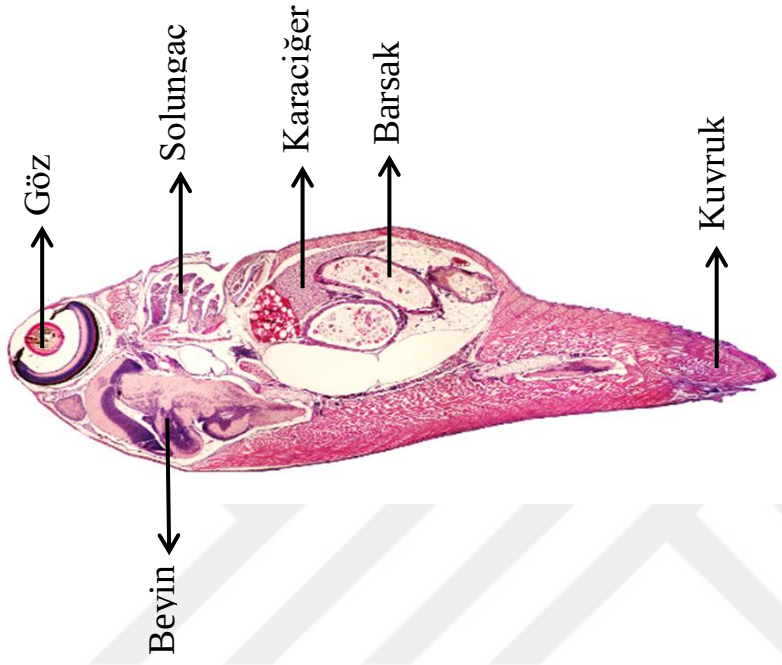
Şekil 4.3. Kontrol grubu *L. caeruleus* larvası, sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.

4.2.2. Deney Grubu Larva Kesitleri

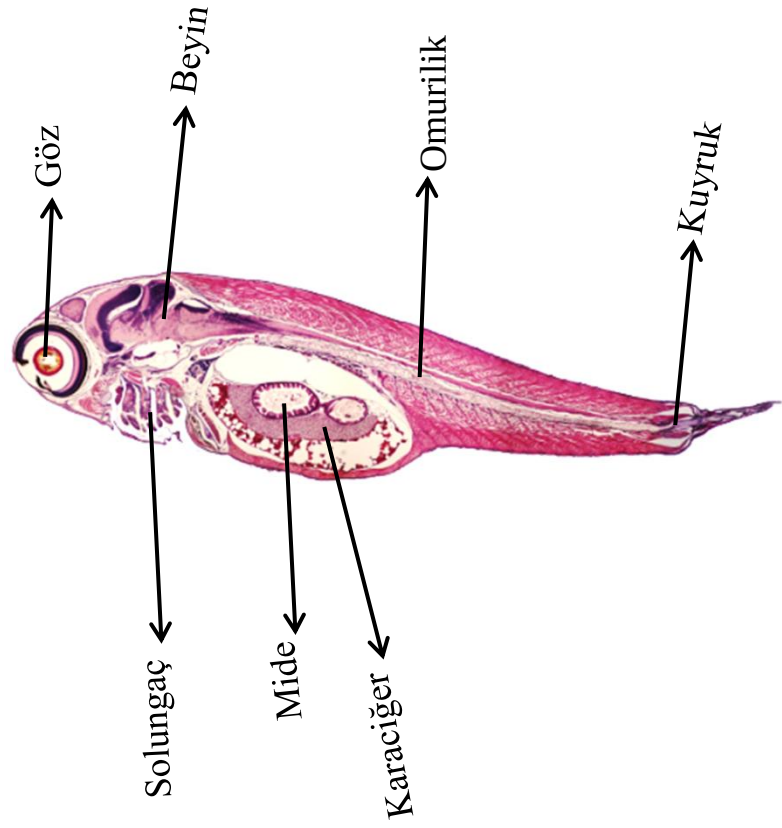


Şekil 4.5. 50 mg/L SiO₂NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, frontal dorsal kesit. H&E, 4x.

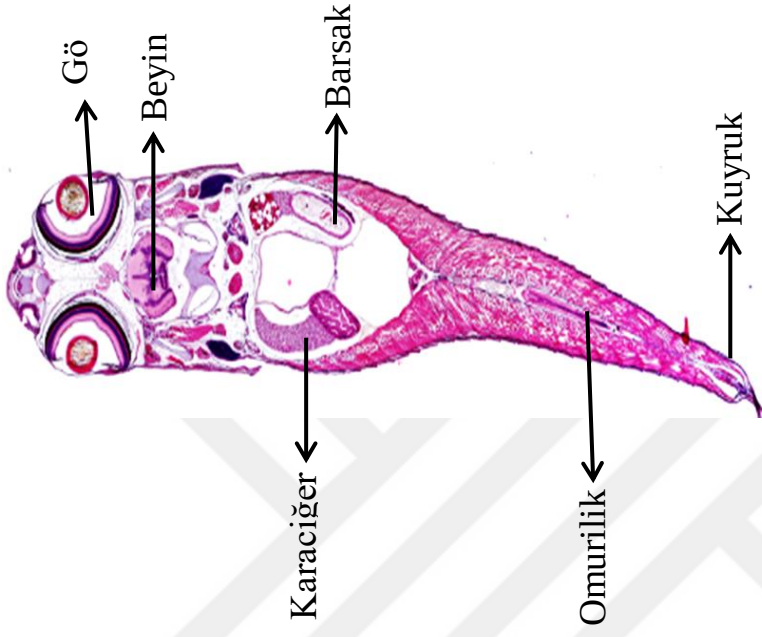
Şekil 4.6. 50 mg/L SiO₂NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, frontal ventral kesit. H&E, 4x.



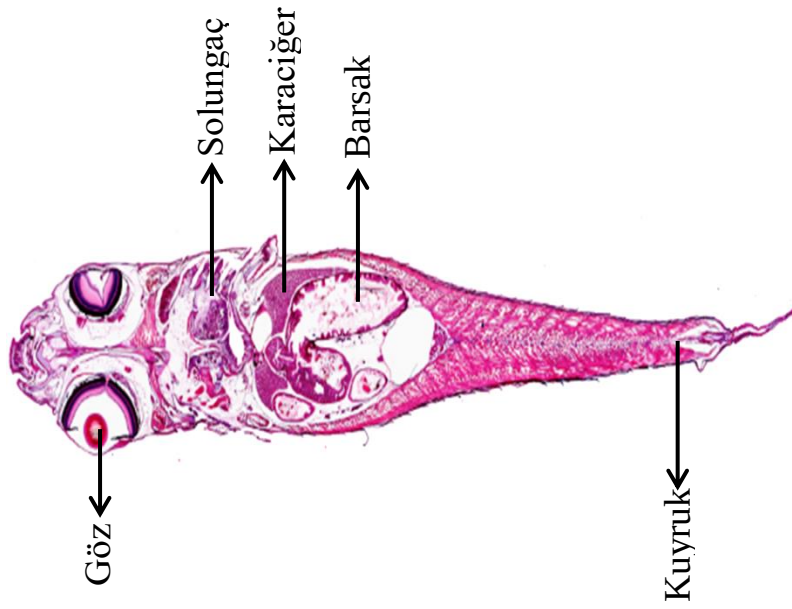
Şekil 4.7. 50 mg/L SiO_2NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.



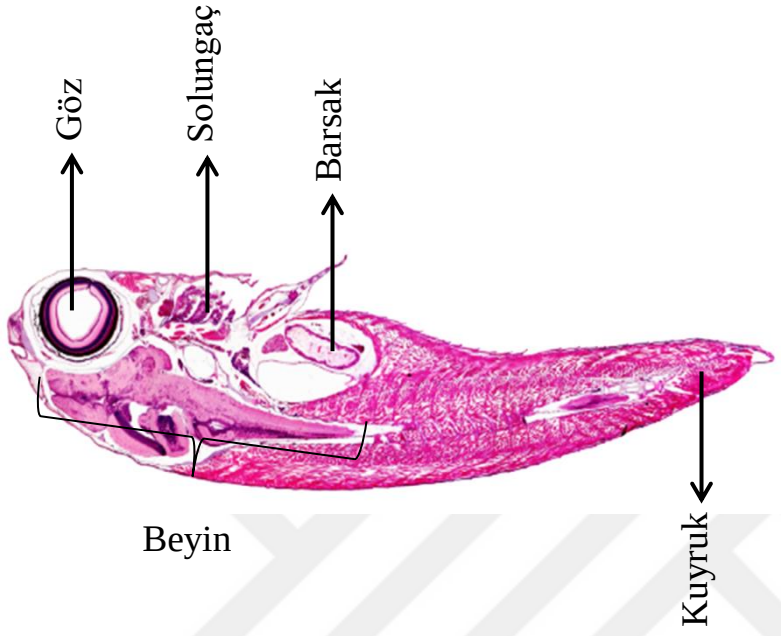
Şekil 4.8. 50 mg/L SiO_2NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, sagittal sol yan kesit. H&E, 4x.



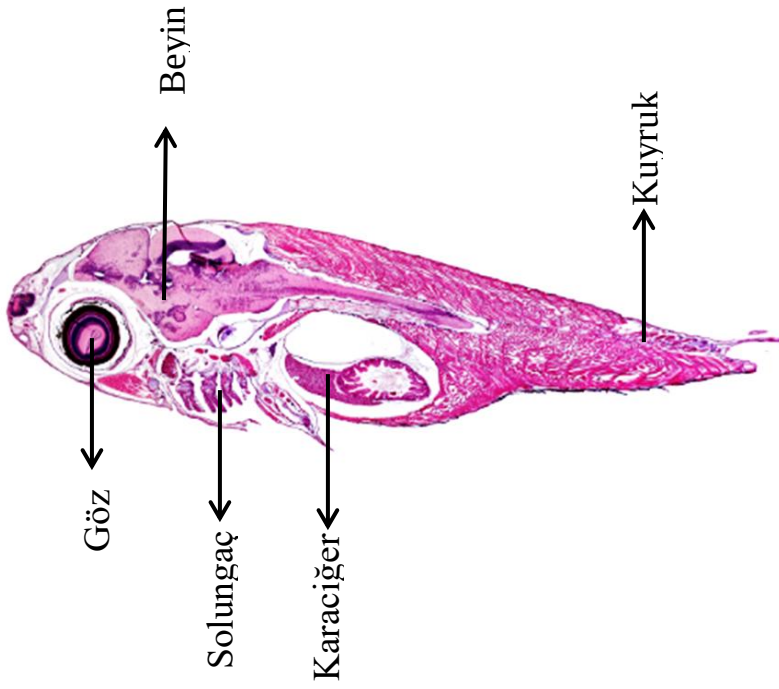
Şekil 4.9. 100 mg/L SiO_2NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, frontal dorsal kesit. H&E, 4x.



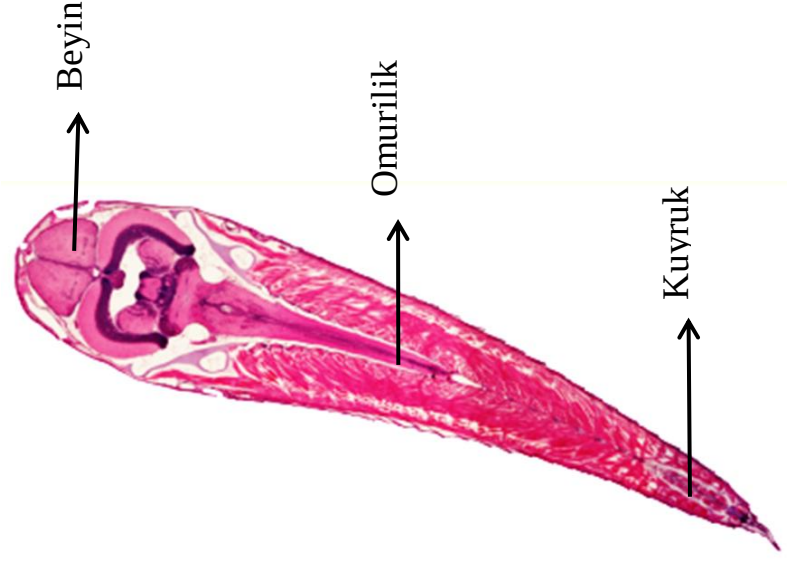
Şekil 4.10. 100 mg/L SiO_2NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, frontal ventral kesit. H&E, 4x.



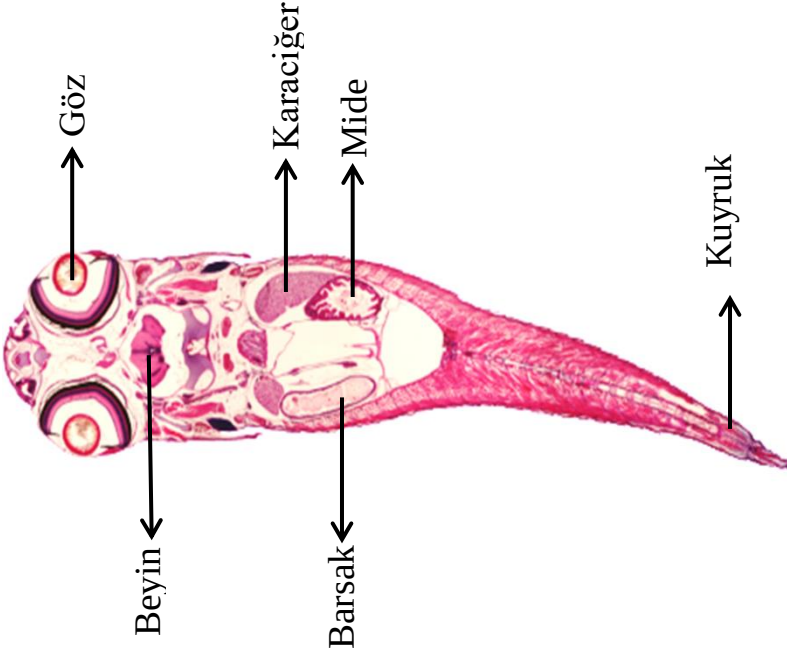
Şekil 4.11. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.



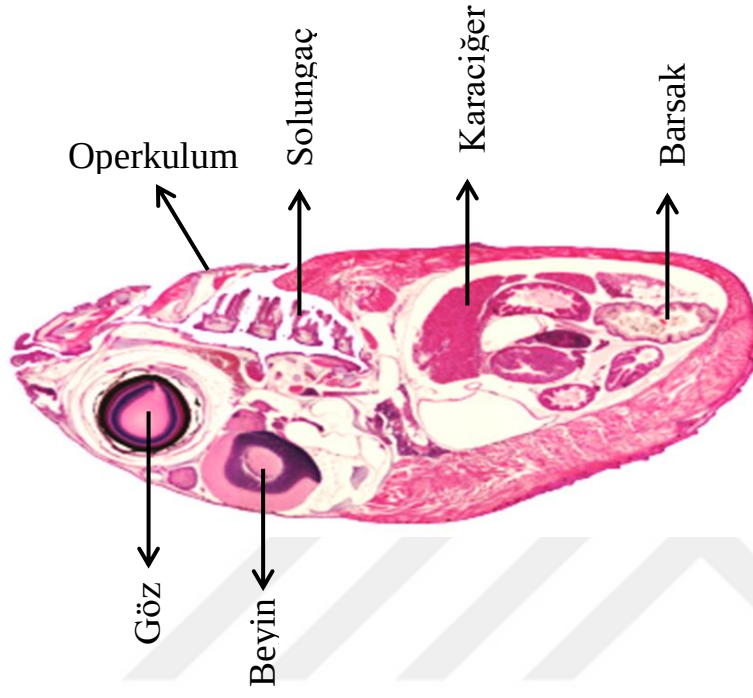
Şekil 4.12. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, sagittal sol yan kesit. H&E, 4x.



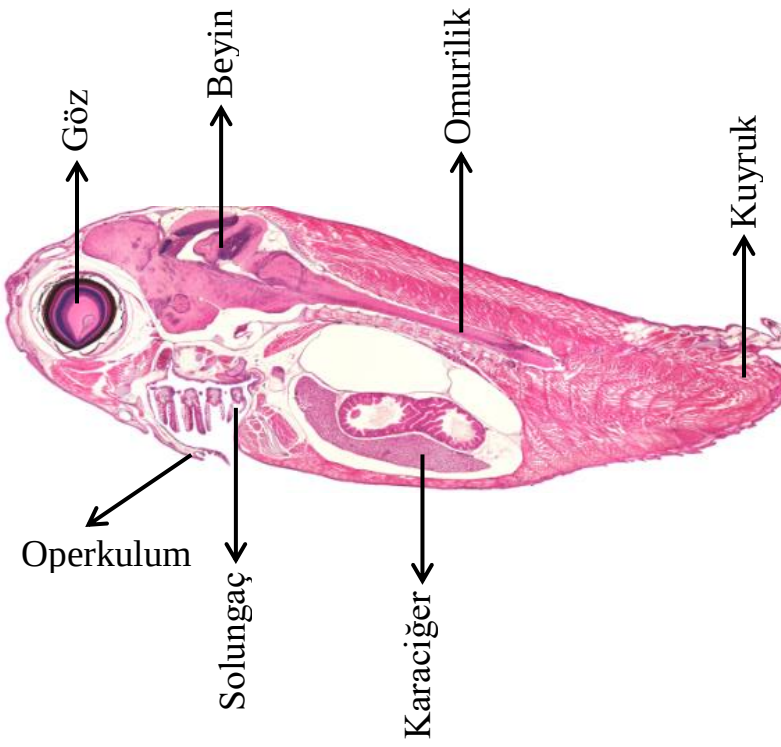
Şekil 4.13. 200 mg/L SiO_2NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, frontal dorsal kesit. H&E, 4x.



Şekil 4.14. 200 mg/L SiO_2NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, frontal ventral kesit.-H&E, 4x.



Şekil 4.15. 200 mg/L SiO_2NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.



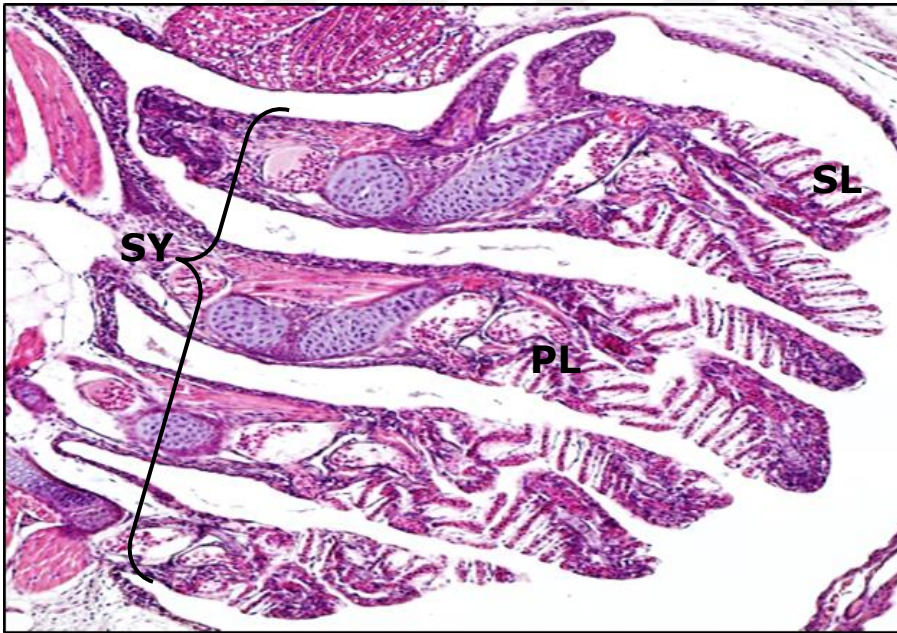
Şekil 4.16. 200 mg/L SiO_2NP uygulanan *L. caeruleus* larvası, sagittal sol yan kesit. H&E, 4x.

4.3. Organlara ait Histolojik Bulgular

4.3.1. Solungaç

4.3.1.1. Kontrol grubu

Kontrol grubuna ait balıklardan elde edilen preparatlar incelendiğinde solungaç yaylarının, filamentlerin ve lamellerin düzgün, solungaç epitel hücrelerinin normal görünümlü ve dizilimli olduğu görülmüştür (Şekil 4.17). Bağ ve kıkırdak doku ile desteklenen, merkezi konumdaki primer lamellerden sağlı sollu ışınsal tarzda ayrılan sekonder lamellerin düzgün olduğu görülmüştür (Şekil 4.18). Primer lamellerin ortasında merkezi vena sinüzoidi yer almaktadır (Şekil 4.18). Sekonder lamellerin dış yüzeyi örtü epiteli ve aralarında yer alan salgı hücreleriyle kaplıdır (Şekil 4.18).



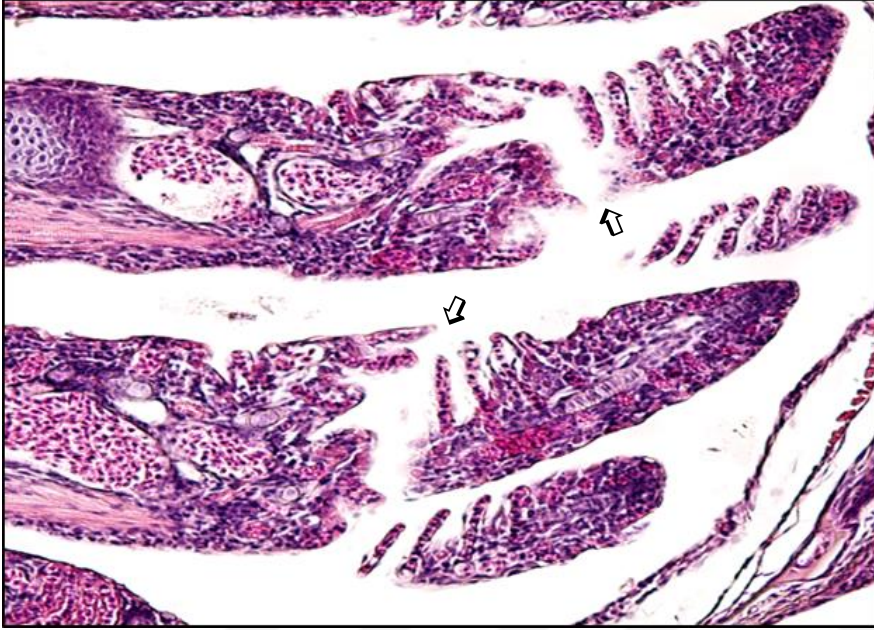
Şekil 4.17. Kontrol grubu *L. caeruleus* solungaç dokusunun genel görünümü. Solungaç yayları (SY), primer lameller (PL), sekonder lameller (SL). H&E, 10x.



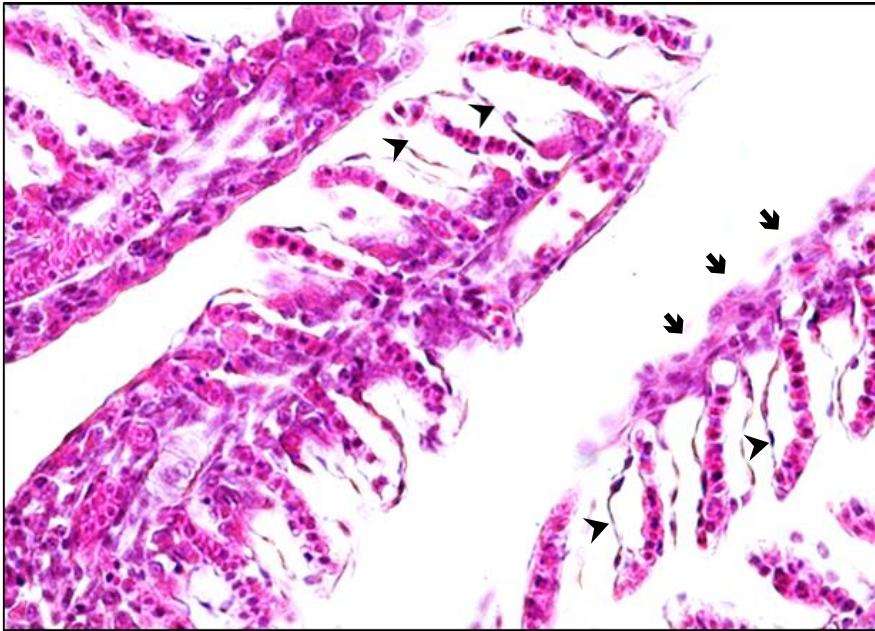
Şekil 4.18. Kontrol grubu *L. caeruleus* solungaç dokusunun genel görünümü. Primer lamel (PL), sekonder lamel (SL) ve solungaç epiteli (SE). H&E, 40x.

4.3.1.2. Deney grubu

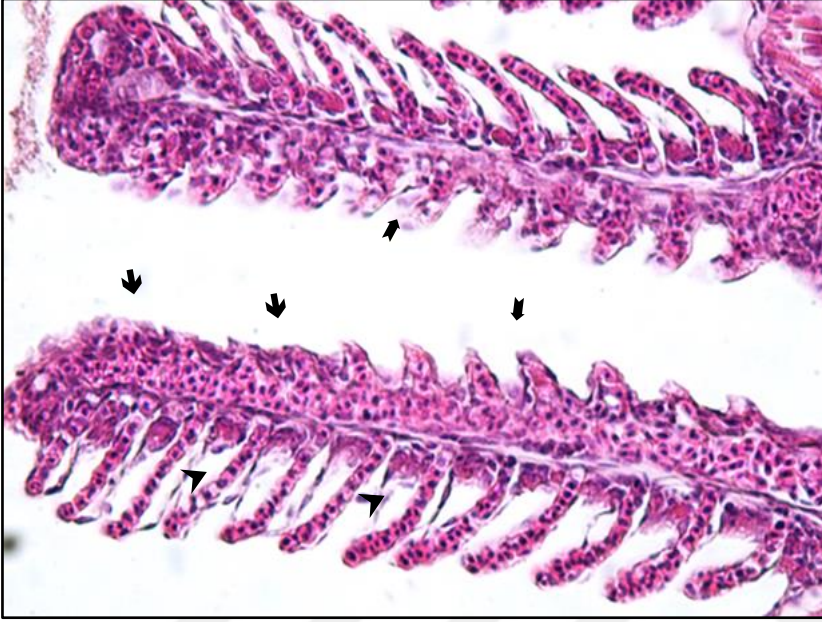
SiO₂NP'leri uygulanan tüm deney gruplarına ait balıkların solungaç dokularında doza bağlı artış gösteren bazı yapısal değişimler tespit edilmiş olup, en belirginini lamel şekillerindeki bozulmalardır (Şekil 4.19-22). İncelemelerde tüm deney gruplarında primer lamellerde kopma ve ayrılma (Şekil 4.19), sekonder lamellerde şekil bozukluğu ve ödem oluşumuna bağlı olarak epitellerinde ayrılma gözlenmiştir (Şekil 4.20-22). Bazı sekonder lamellerin kısaldığı hatta döküldüğü, bazı sekonder lamellerde ise kılcal damarların genişlediği (balonlaşma) dikkati çekmiştir (Şekil 4.21, 22).



Şekil 4.19. 50 mg/L SiO₂NP'leri uygulanan *L. caeruleus* grubuna ait solungaç kesiti. Primer lamellerde şekil bozukluğu ve kopma (⇨) izlenmektedir. H&E, 20x.



Şekil 4.20. 100 mg/L SiO₂NP'leri uygulanan *L. caeruleus* grubuna ait solungaç kesiti. Sekonder lamellerde ödeme bağlı epitelde ayrılma (➤), sekonder lamellerde kayıp (➡). H&E, 40x.



Şekil 4.21. 200 mg/L SiO_2NP 'leri uygulanan *L. caeruleus* grubuna ait sekonder lamel epitelinde ayrılma (➤), sekonder lamellerde kısalma (↖) ve kayıp (➡). H&E, 20x.



Şekil 4.22. 200 mg/L SiO_2NP 'leri uygulanan *L. caeruleus* grubuna ait sekonder lamel epitelinde ayrılma (➤) ve dökülme, kapillerde genişleme (➡). H&E, 40x.

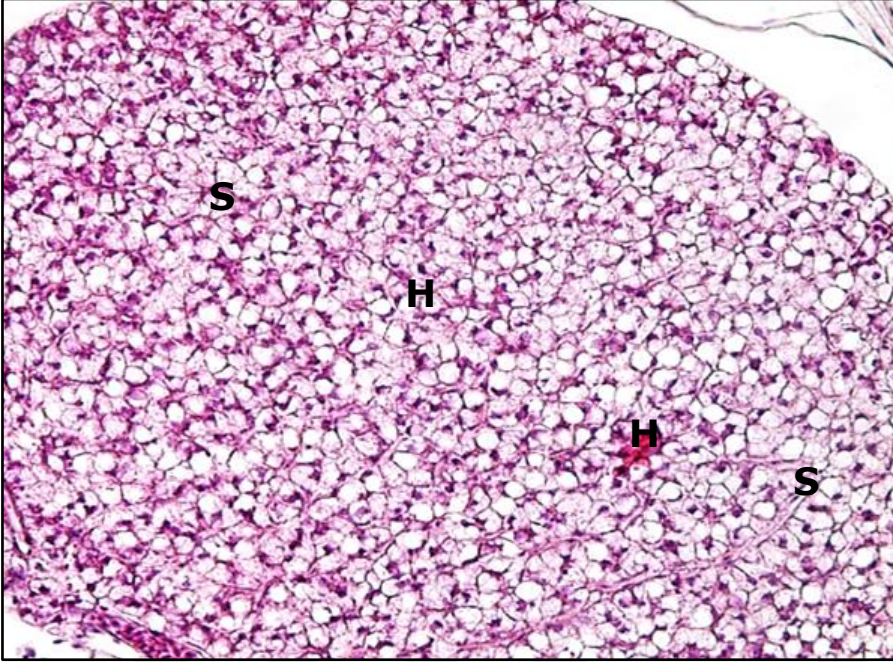
4.3.2. Karaciğer

4.3.2.1. Kontrol grubu

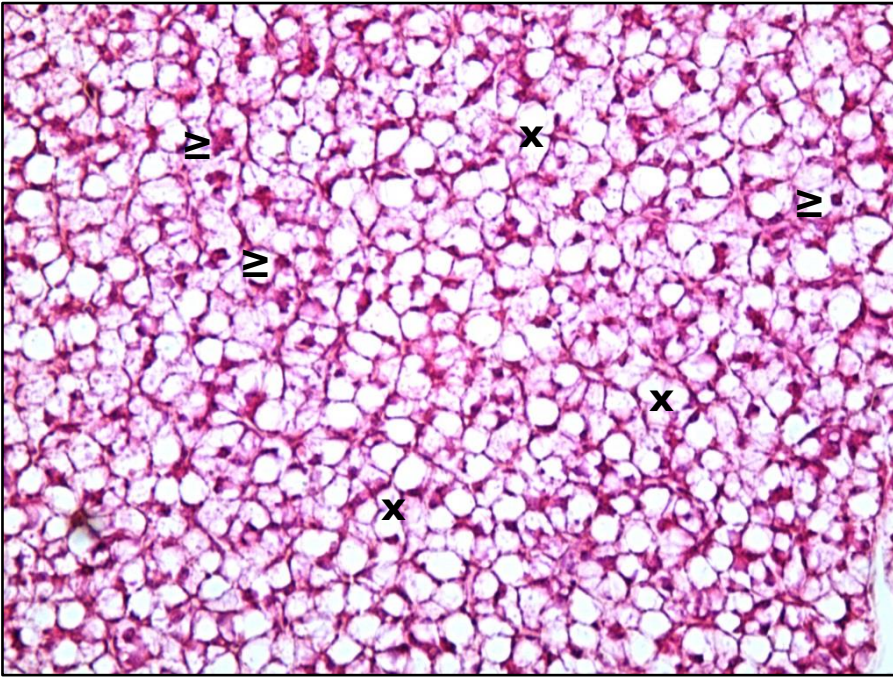
Kontrol grubuna ait balıklardan elde edilen preparatlar incelendiğinde *L. caeruleus*'un karaciğer dokusunda anterior ve posterior olmak üzere iki loba sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.23). Normal yapılanma gösterdiği gözlenen parankimayı oluşturan hepatositler düzgün kordonlardan ziyade düzensiz diziliimli hücre grupları şeklindedir (Şekil 4.24). Hepatositlerin yuvarlağımsı şekilde olduğu, sitoplazmalarında belirgin bir nükleusa ve bol miktarda yağ damlası içerdiği belirlenmiştir. İçerdikleri yağ miktarına bağlı olarak nükleusların hücrenin farklı yerlerinde olduğu, genellikle periferik sitoplazmaya doğru itildiği görülmüştür (Şekil 4.24). Yağ damlacıkları sitoplazmada çok sayıda irili ufaklı vakuol şeklinde izlenmektedir (Şekil 4.23-25). Parankimada, portal venin birçok dala ayrılarak oluşturduğu sinuzoidler normal yapıdadır (Şekil 4.24,25).



Şekil 4.23. Kontrol grubu *L. caeruleus* karaciğer dokusunun genel görünümü. H&E, 10x.



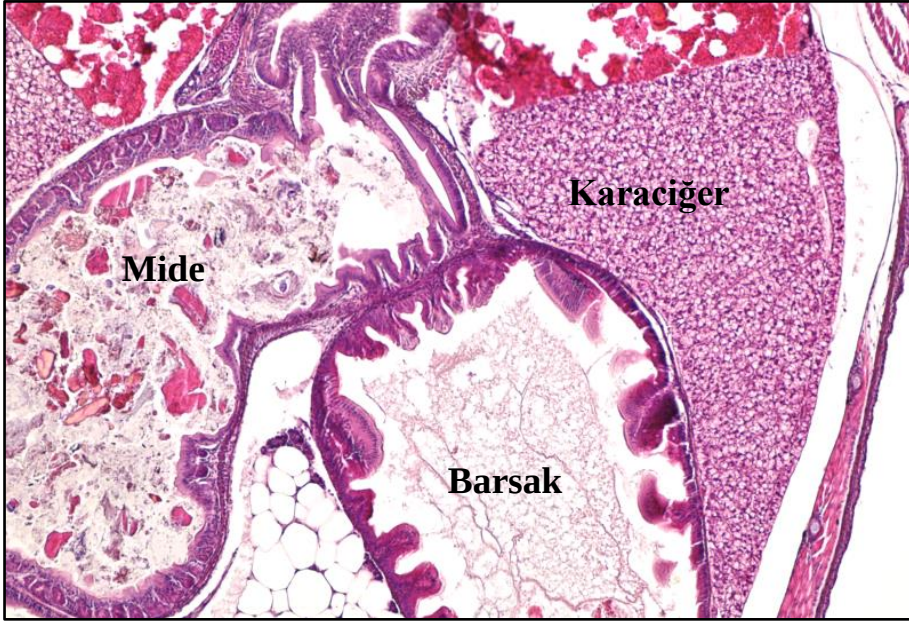
Şekil 4.24. Kontrol grubu *L. caeruleus* karaciğer dokusunda hepatosit grupları (H) ve aralarındaki sinüzoidler (S). H&E, 20x.



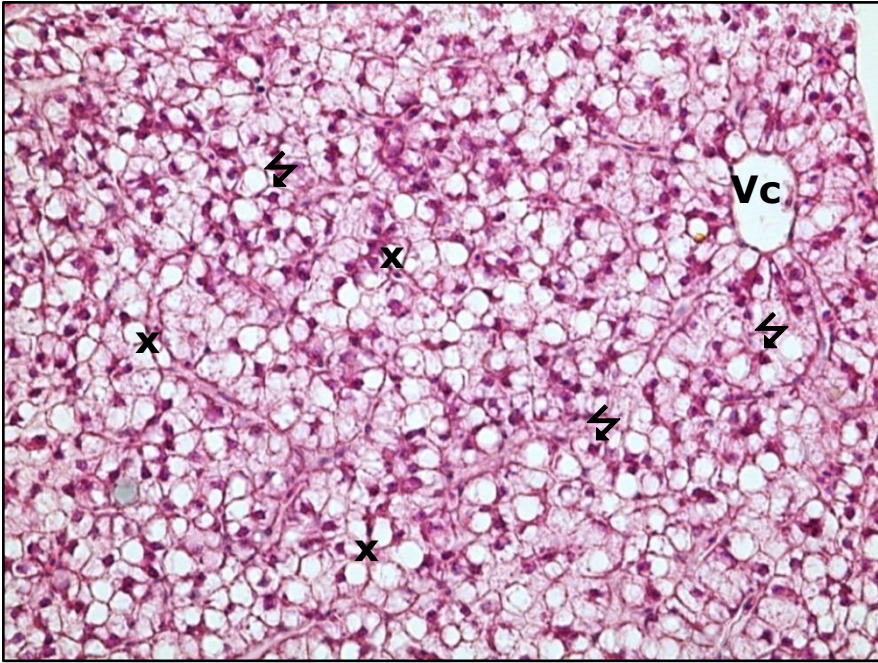
Şekil 4.25. Kontrol grubu *L. caeruleus* karaciğer dokusunda yağ vakuolleri (X), hepatosit nükleusları (≥). H&E, 40x.

4.3.2.2. Deney grubu

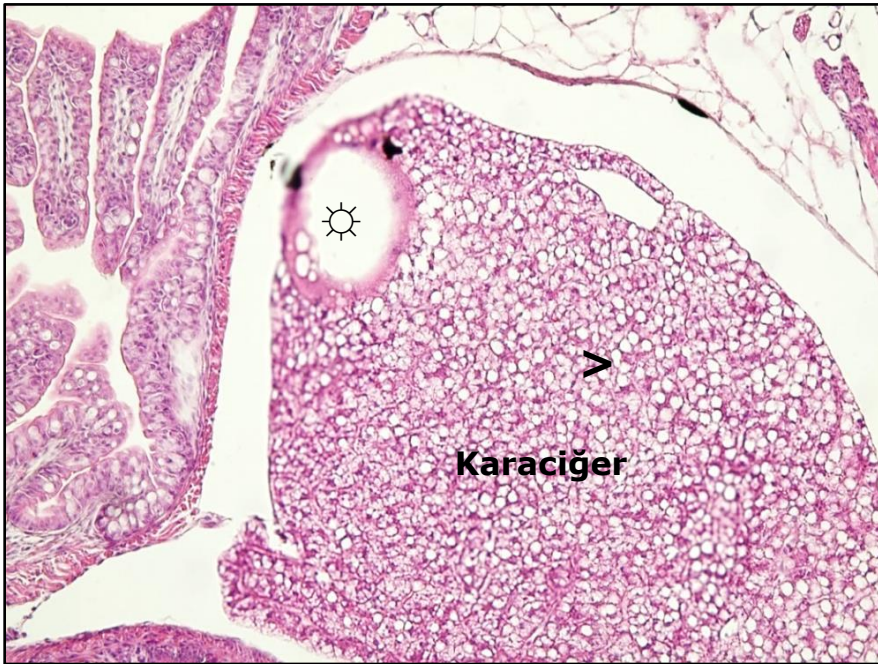
Deney grubuna ait larvalarda yapılan incelemelerde 50 mg/L SiO_2NP 'leri uygulanan balıkların karaciğer dokularında, parankimanın ve hepatositlerin kontrol grubuna benzer olduğu gözlenmiştir. Hepatik hücre sitoplazmaları çok miktarda yağ vakuolü içermekte ve nükleuslar eksentrik yerleşimlidir (Şekil 4.27,28). 100 mg/L SiO_2NP uygulanan grupta karaciğer lobunun uç bölümünde (Şekil 4. 28) ve parankimanın farklı yerlerinde vakuol tarzda geniş açıklıklar dikkat çekicidir (Şekil 4. 29). Ayrıca bu gruba ait kesitlerde, kan damarlarının kan hücreleri ile dolu olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.29). Şekil 4.30 ve 31'de görüldüğü gibi parankimada hepatoselüler nekroz ve kapsül altında ödem saptanmıştır. Kapsül altına yakın yerleşim gösteren hepatositlerde piknotik nükleuslar ayırt edilmiştir (Şekil 4.31). 200 mg/L uygulanan grupta ise periferik parankimada yer alan hepatositlerin nükleuslarında boyanmada farklılıklar izlenmiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.26. 50 mg/L SiO_2NP uygulanan grupta karaciğer dokusunun genel görünümü. H&E, 10x.



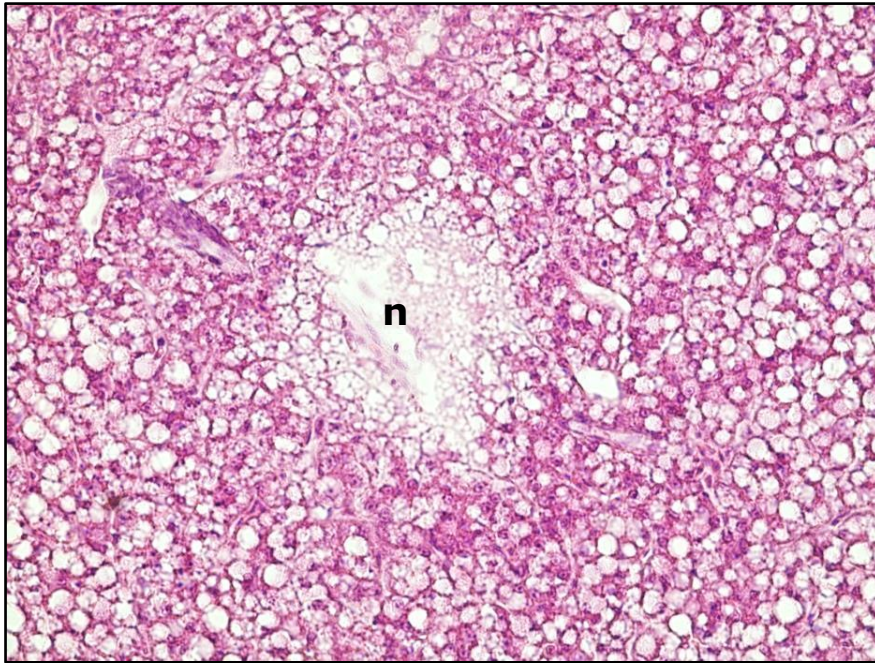
Şekil 4.27. 50 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta hepatositlerde yağ vakuolleri (X), eksentrik yerleşimli hepatosit nükleusları (⚡) izlenmektedir. Vc; vena centralis. H&E, 80x.



Şekil 4.28. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta karaciğer lobunun uç bölümünde geniş açıklık (⊙), hepatositlerde sitoplazmik yağ vakuolleri (>). H&E, 20x.



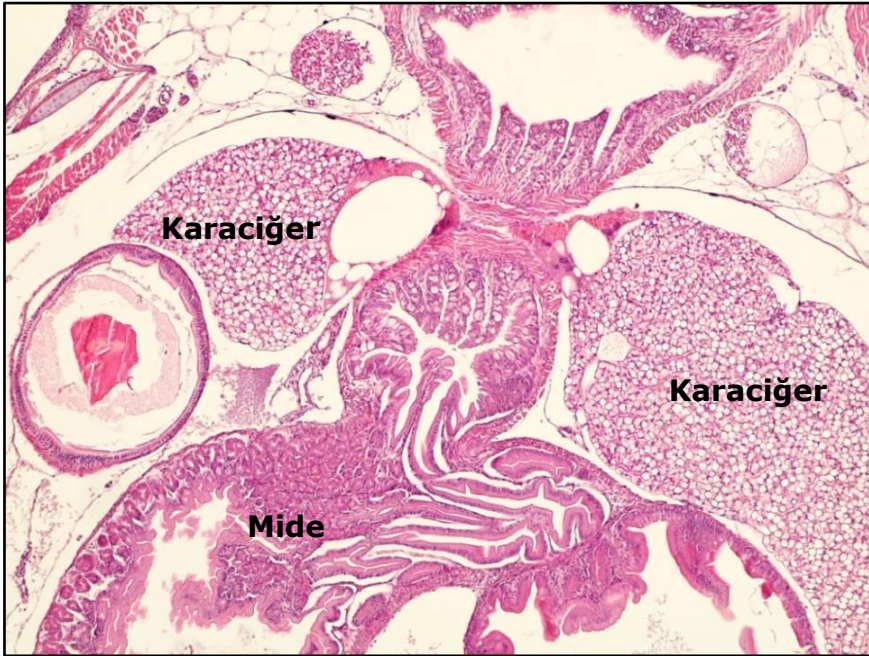
Şekil 4.29. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta karaciğer parankimasında geniş açıklıklar (☼), damarlarda kan hücresi birikimi (►). H&E, 20x.



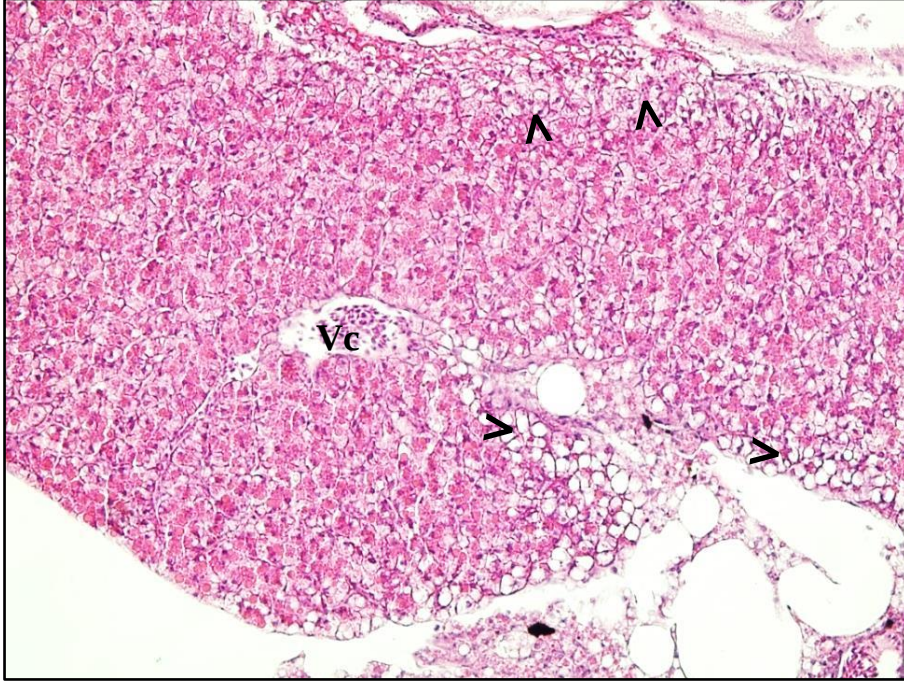
Şekil 4.30. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta parankimal nekroz (n). H&E, 40x.



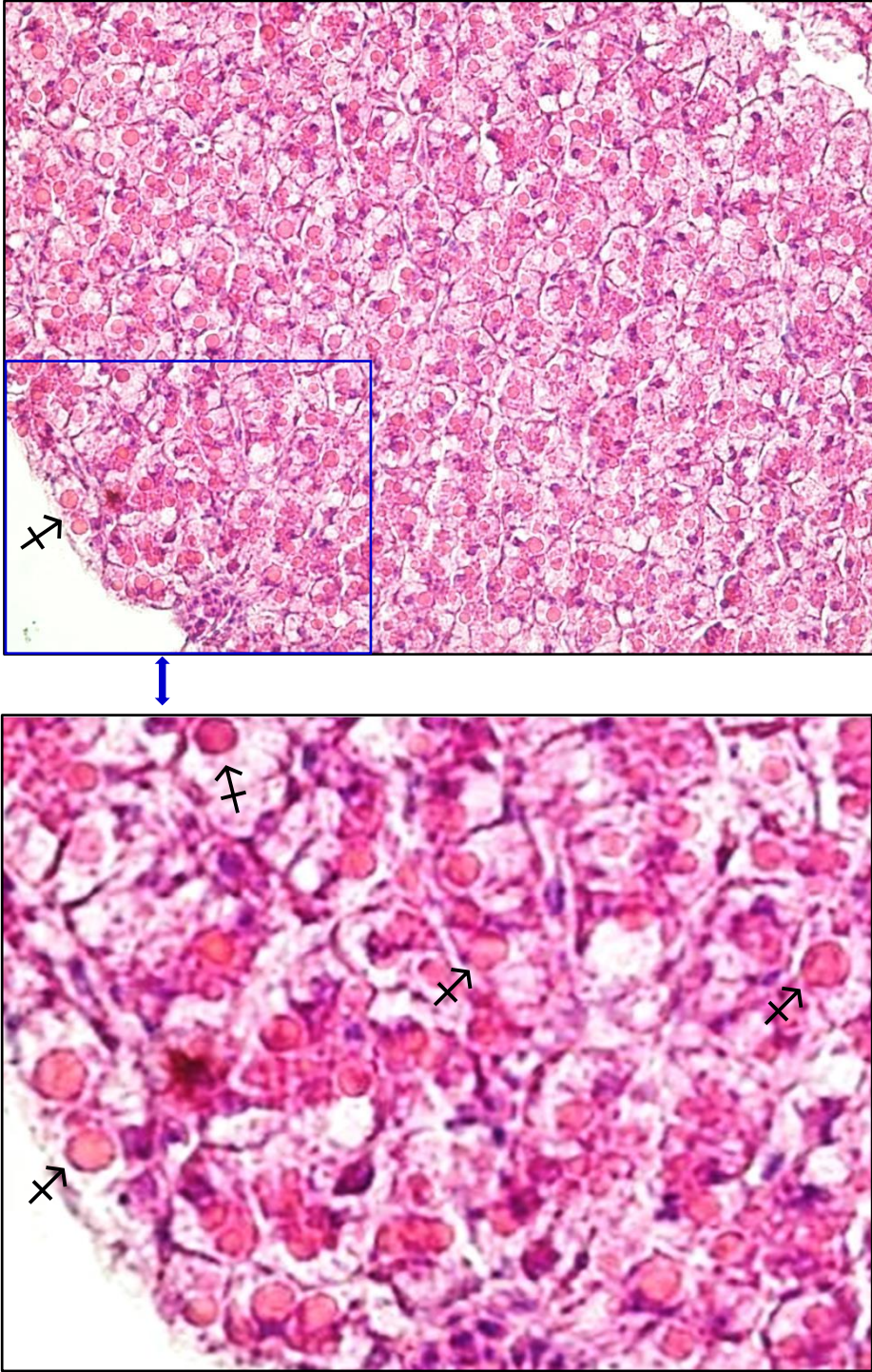
Şekil 4.31. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta kapsül altı ödem ve ayrılma (*), piknotik nükleuslu hepatositler (⊙). H&E, 40x.



Şekil 4.32. 200 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta karaciğer dokusunun genel görünümü. H&E, 10x.



Şekil 4.33. 200 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta periferik parankimada sitoplazmik vakuol içeren hepatositler (>). H&E, 20x.

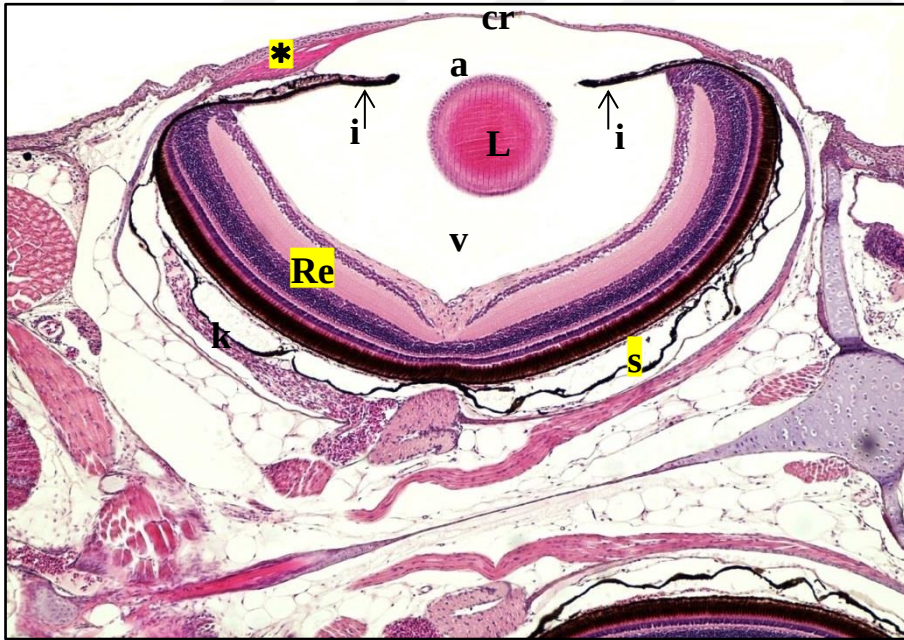


Şekil 4.34. 200 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta hepatosit nükleuslarında boyanmada farklılık (↗). H&E, a; 40x, b; 100x

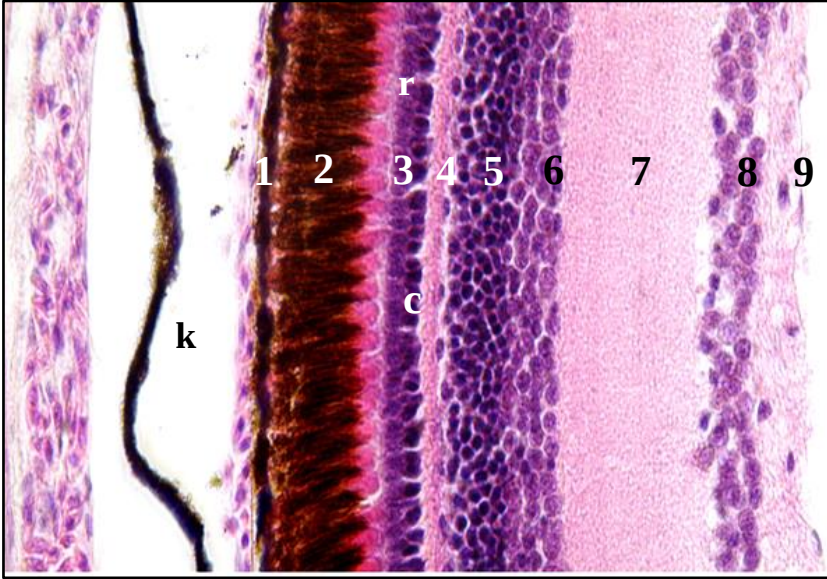
4.3.3. Göz

4.3.3.1. Kontrol grubu

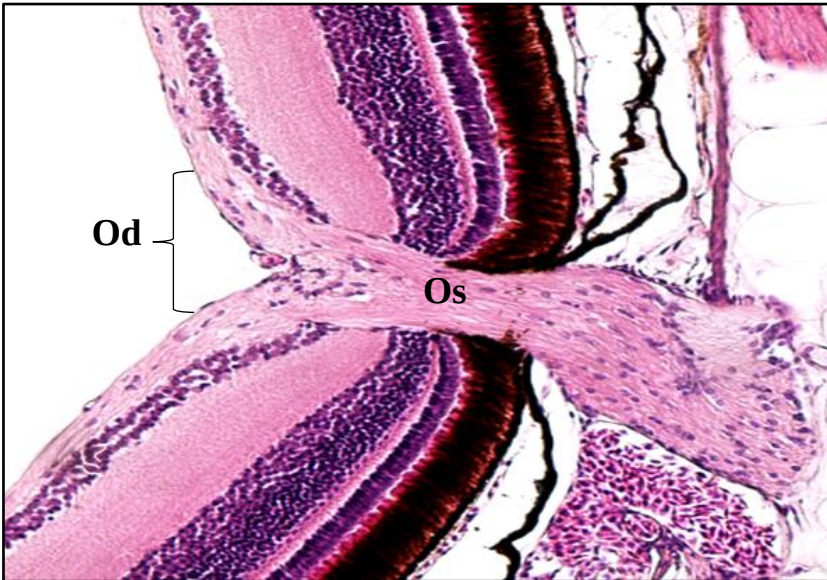
Kontrol grubuna ait göz dokusu preparatları incelendiğinde lensi askıda tutan ligamentler (iris) ile lensler ve mercek maddesi fibrilleri ve bu fibrilleri oluşturan epitel hücrelerinin normal görünümlü olduğu gözlenmiştir. Retina ve retinayı örten koroid ile koroidi örten sklera, koroid boşluğun normal görünümlü ve dizilimli olduğu görülmüştür. Optik sinirler ve iris normal görünümündedir. Retina ve retinayı dışarıdan içeriye doğru oluşturan pigment epiteli, rodlar ve cone tabakası (görme hücreleri), dış sınırlayıcı membran, dış nüklear tabaka, dış ağ tabakası, iç nüklear tabaka, iç ağ tabaka, ganglion hücre tabakası, sinir fibrilleri tabakası ve iç sınırlayıcı membran tabakaları normal görünümündedir (Şekil 4.35, 37).



Şekil 4.35. Kontrol grubu *L. caeruleus* larvası göz dokusunun genel görünümü. cr; kornea, a; anterior boşluk, i; iris, lens (L), v; vitröz humor, Re; retina, *; koroid cisim, k; koroid tabaka, s; sklera. H&E, 10x.



Şekil 4.36.Kontrol grubu *L. caeruleus* larvası göz dokusunda retina tabakası.1; Retina pigment epiteli, 2; Foto reseptörlerinin dış bölümü, 3; Foto reseptörlerinin iç bölümü, 4; dış sınırlayıcı membran, 5; dış nüklear tabaka, 6; iç nüklear tabaka, 7; Müller hücreleri, 8; ganglion hücre katmanı, 9; optik sinir lifleri, k; koroid, c; koni hücreleri, r; rod hücreleri. H&E, 100x.



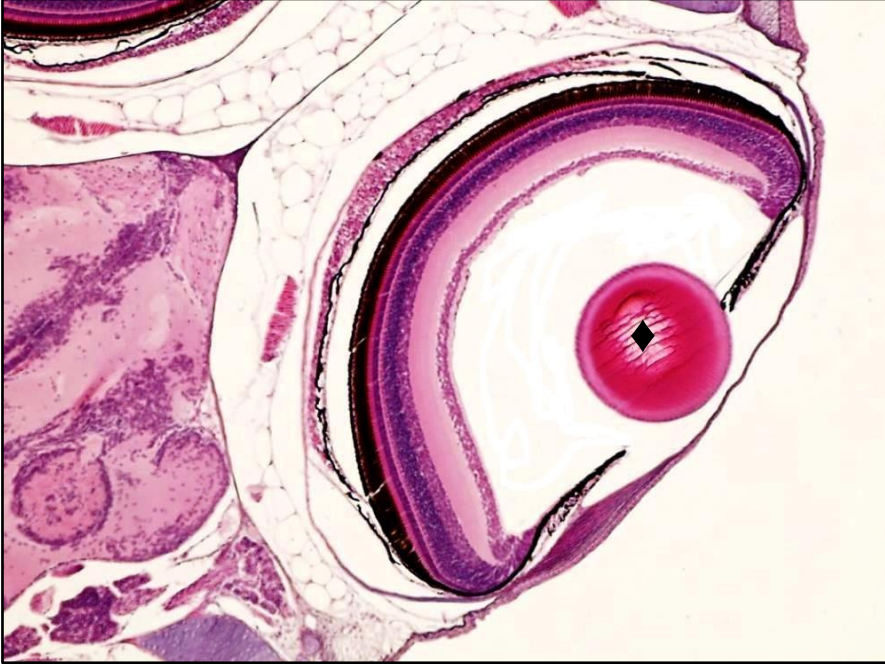
Şekil 4.37. Kontrol grubu *L. caeruleus* larvası göz dokusu, Od; optik disk, Os; optik sinir lifleri. H&E, 20x.

4.3.3.2. Deney grubu

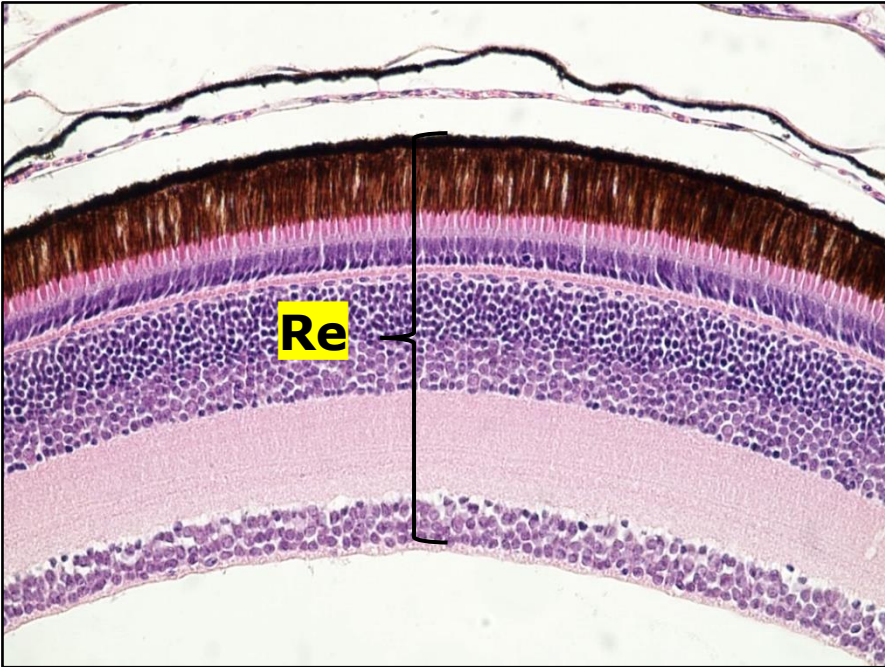
50 mg/L SiO_2NP 'leri uygulanan grupta lens kapsülünde kayıp, lens primer fibrillerinde hafif düzeyde çözülme görülmüştür (Şekil 4.39). 100 mg/L SiO_2NP 'leri uygulanan grupta kornea tabakasında yer yer incelme, lense askıda tutan ligamentlerde (iris) kısılma, lens primer liflerinde ileri düzeyde çözülme izlenmiştir (Şekil 4.42). 200 mg/L SiO_2NP 'leri uygulanan grupta bazı örneklerde lens epitelinin lens fibrillerinden ayrıldığı, birçok kesitte lens fibrillerinin ileri düzeyde parçalandığı tespit edilmiştir (Şekil 4.46). Bütün deney gruplarında retina ve optik sinir ile bu bölgesinde herhangi bir yapısal değişim olmadığı dikkati çekmiştir (Şekil 4.40,41,44,45,47,48).



Şekil 4.38. 50 mg/L SiO_2NP uygulanan grupta göz dokusu, lens kapsülünde kayıp (►). H&E, 10x.



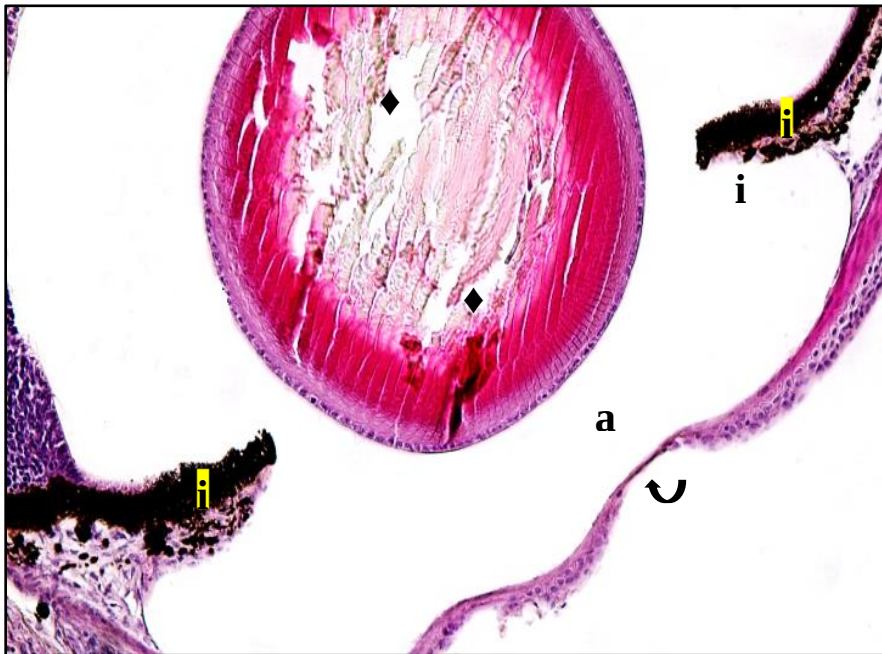
Şekil 4.39. 50 mg/L SiO_2NP uygulanan grupta göz dokusu, lens primer liflerinde hafif düzeyde çözülme (◆). H&E, 10x.



Şekil 4.40. 50 mg/L SiO_2NP uygulanan grupta retinanın (Re) görünümü. H&E, 40x.



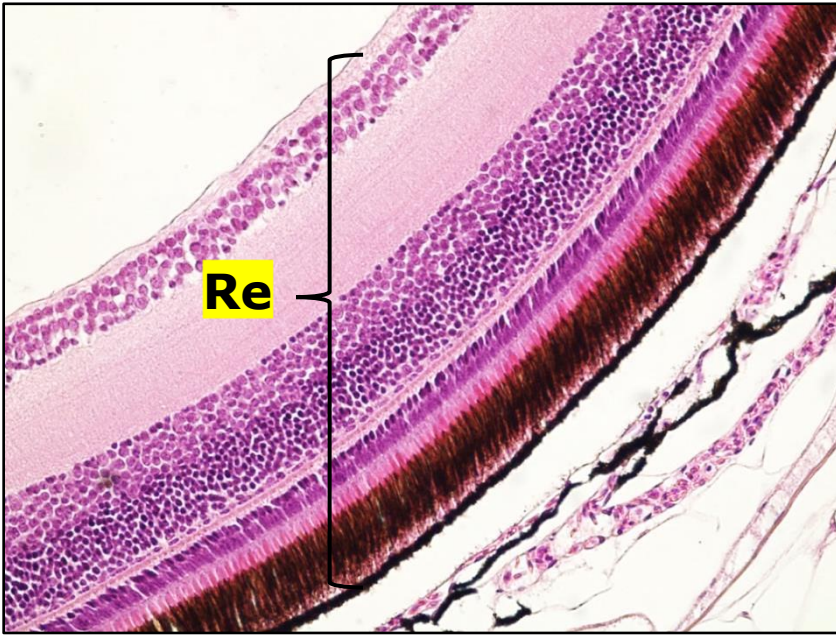
Şekil 4.41. 50 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta optik sinir (Os). H&E, 40x.



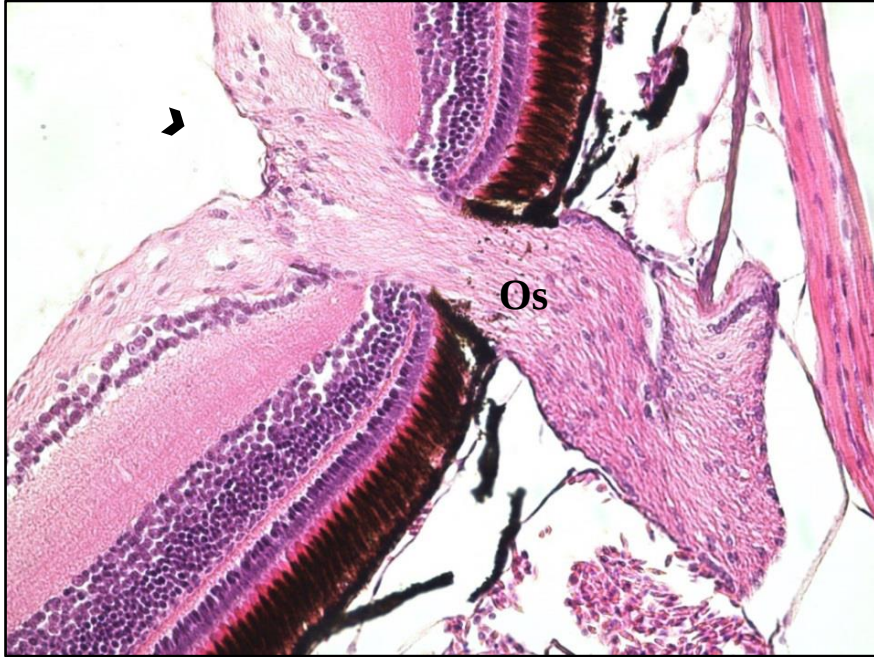
Şekil 4.42. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta gözün kornea tabakasında inceltme (N), iriste kısalma (i), lens primer liflerinde ileri düzeyde çözülme (♦) izlenmektedir. a; anterior boşluk. H&E, 20x.



Şekil 4.43. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan larvalarda lens kapsül altında açılma (↓) ve lens fibrillerinde ileri düzeyde dağılıma (◆). H&E, 10x.



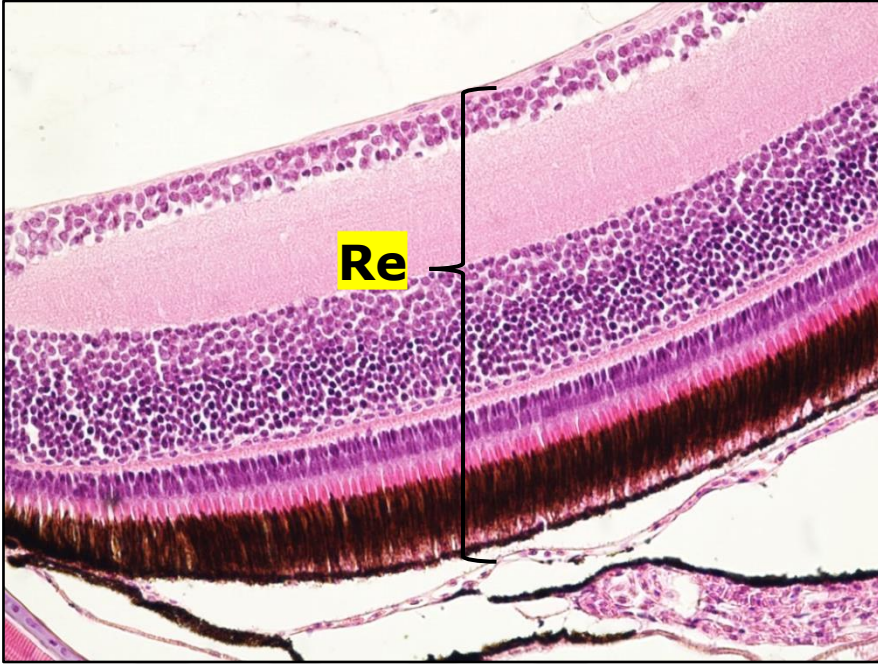
Şekil 4.44. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan larvalarda göz dokusu, Re; retina normal görümlü. H&E, 40x.



Şekil 4.45. 100 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta optik diskte çökme (➤) izlenmektedir. H&E, 40x.



Şekil 4.46. 200 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta göz dokusunda lensin (L) şeklinde bozulma, primer ve sekonder lens fibrillerinde ileri düzeyde parçalanma/kayıp (◆). H&E, 10x.



Şekil 4.47. 200 mg/L SiO₂NP uygulanan gruba ait larvada normal yapıda retina (Re) tabakası. H&E, 40x.

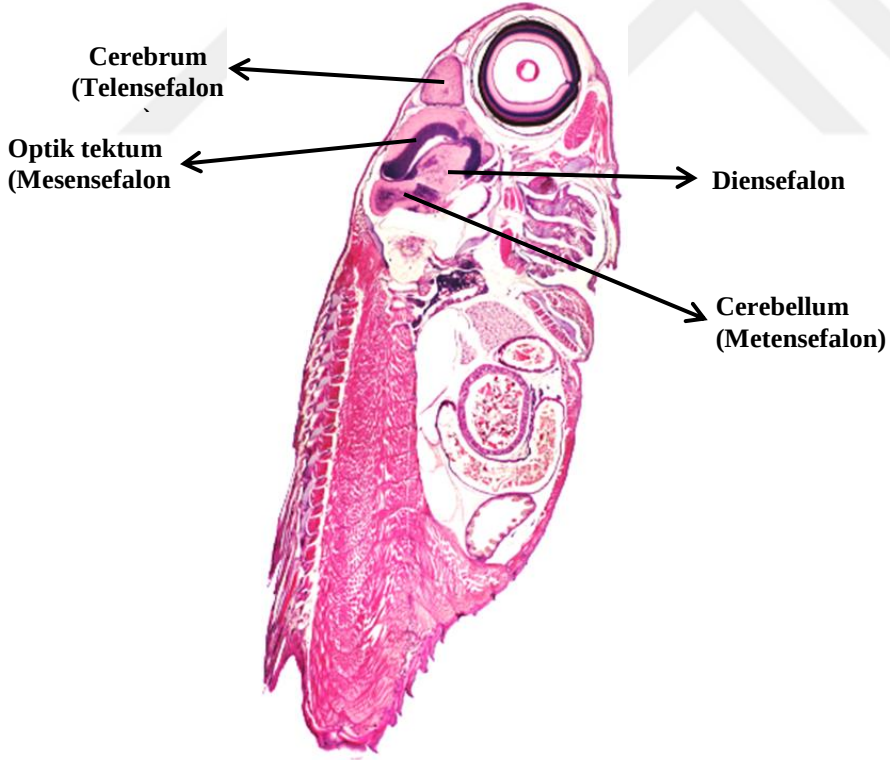


Şekil 4.48. 200 mg/L SiO₂NP uygulanan grupta normal görünümlü optik sinir (Os). H&E, 40x.

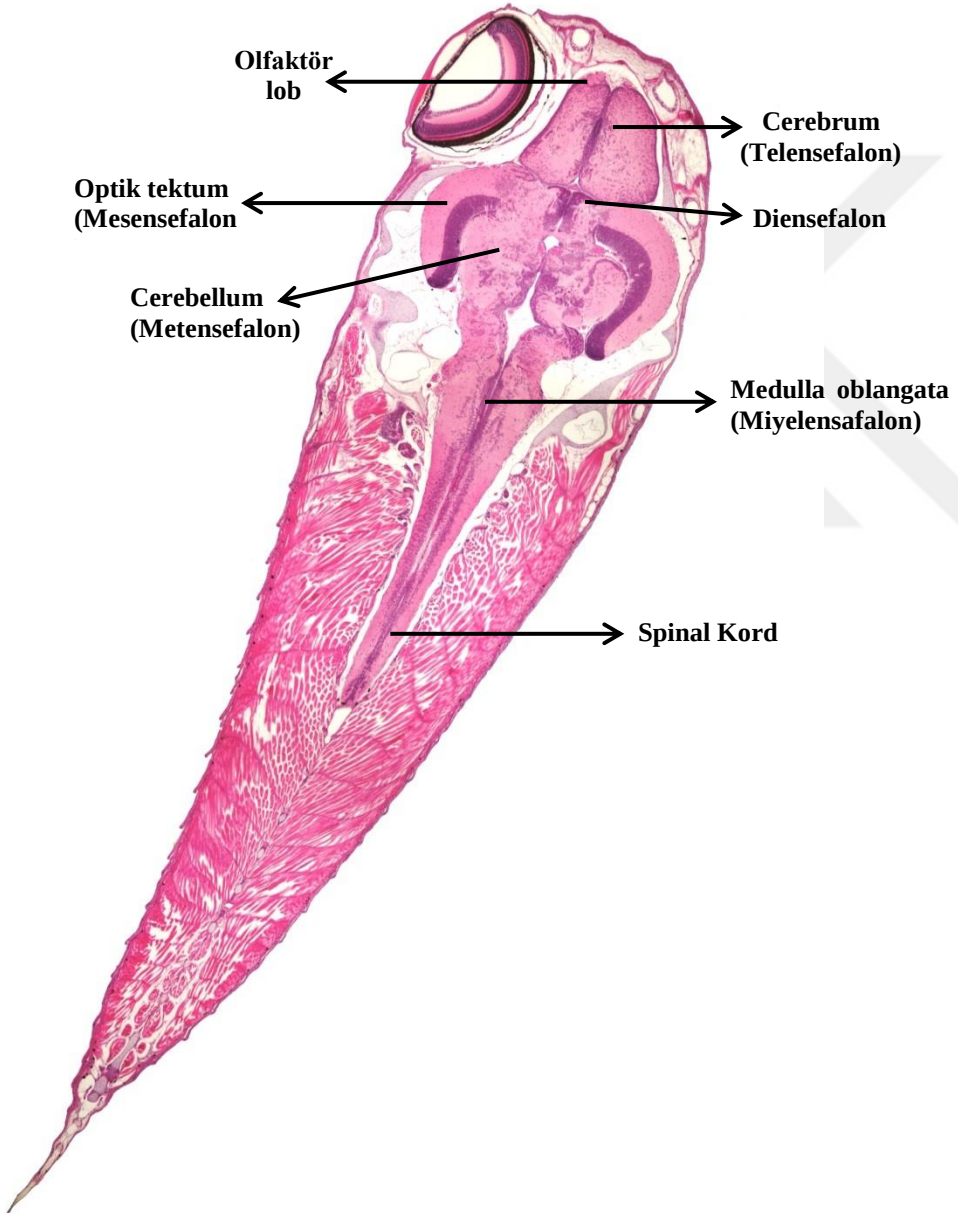
4.3.4. Beyin

4.3.4.1. Kontrol grubu

Kontrol grubuna ait beyin dokusu preparatları incelendiğinde kranial boşluğa yerleşmiş telencephalon, diencephalon, mesencephalon, metencephalon ve myelencephalon olmak üzere beş ana bölümden oluştuğu görülmüştür (Şekil 4.49). Beyin dokusunun olfaktör loplar, beyin, beyincik lopları, myelensefalonu oluşturan medulla oblangata ve devamında seyreden spinal kord, birbiriyle bağlantılı nöronlardan ve onları destekleyen akson, dentrit ve glial uzantılardan meydana gelmiştir (Şekil 4.50).



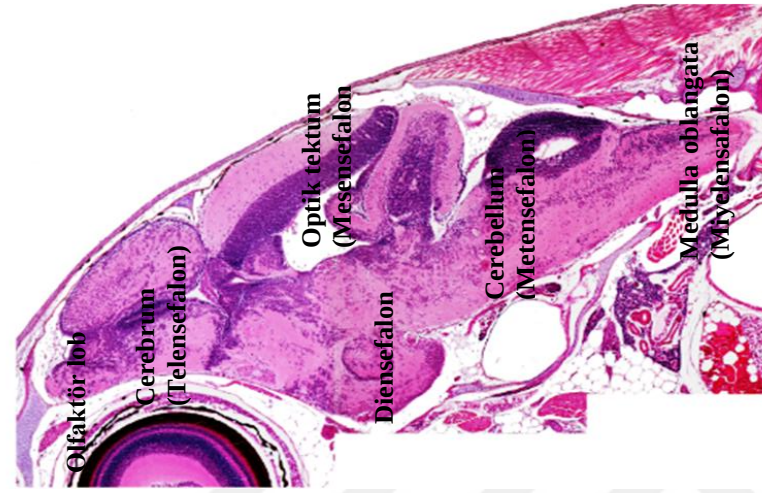
Şekil 4.49. Kontrol grubu *L. caeruleus* larvası beyin dokusunun genel görünümü. Sagittal sağ yan kesit. H&E, 4x.



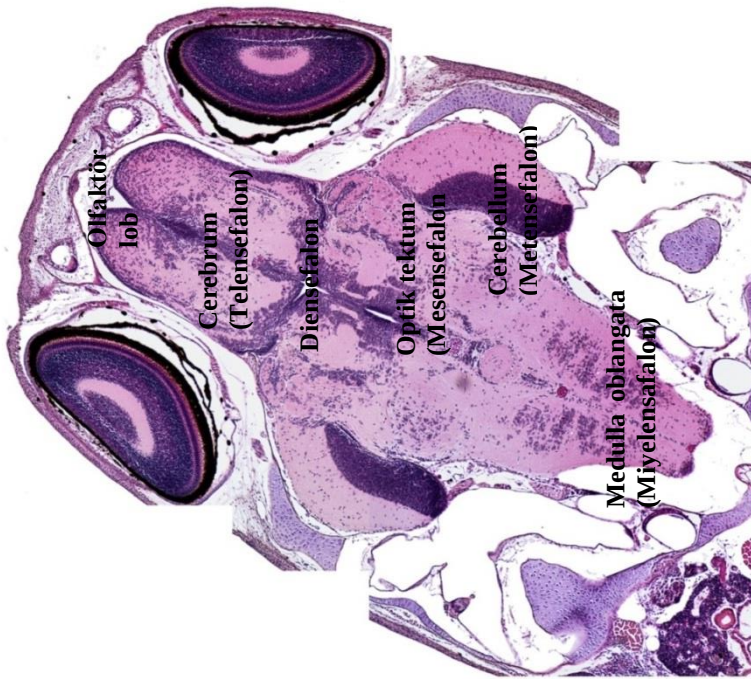
Şekil 4.50. Kontrol grubu *L. caeruleus* larvası beyin dokusunun genel görünümü. Frontal dorsal kesit. H&E, 4x.

4.3.4.2. Deney grubu

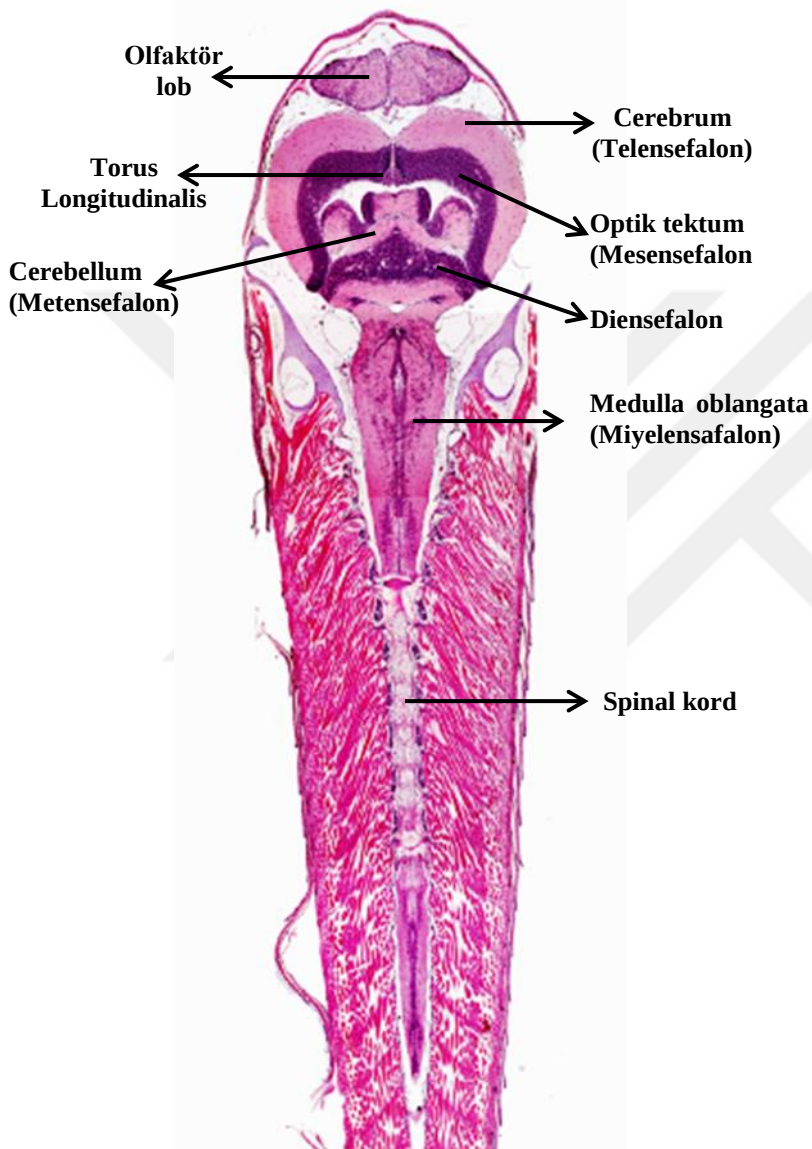
Tüm deney gruplarına ait beyin dokusu preparatları incelendiğinde esas olarak olfaktor loblar, ampuller ve telensefalik loblardan oluşan telensefalonun kontrollere benzer yapıda olduğu görülmüştür (Şekil 4.51-55). Görsel bilgilerin entegrasyonu ve motor işlevlerle ilişkili olan mesensefalon ve beyincik bölümünü içeren metensefalon yapısal olarak normaldir. Medulla oblongata ve spinal korda bakıldığında kontrol grundaki yapısını koruduğu dikkati çekmiştir (Şekil 4.51-55). Yüksek doz (200mg) grubu kesitlerinde beynin olfactory bölgesinin anteriorü, medulla oblongata ve spinal kord gibi farklı bölümlerinde astrositlerin yoğun olarak bulunduğu dikkati çekmiştir (Şekil 4.56-58).



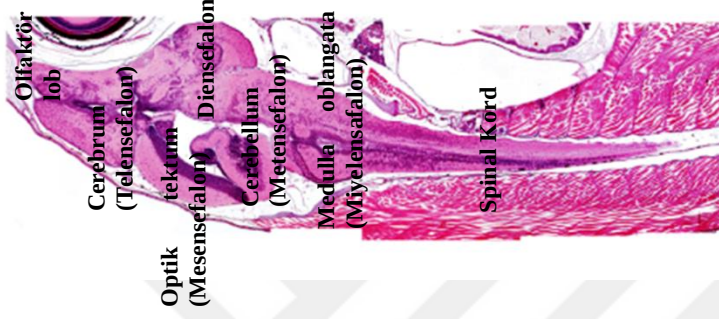
Şekil 4.51. 50 mg/L SiO_2 uygulanan *L. caeruleus* beyin dokusu, sagittal sol yan kesit. H&E, 10x.



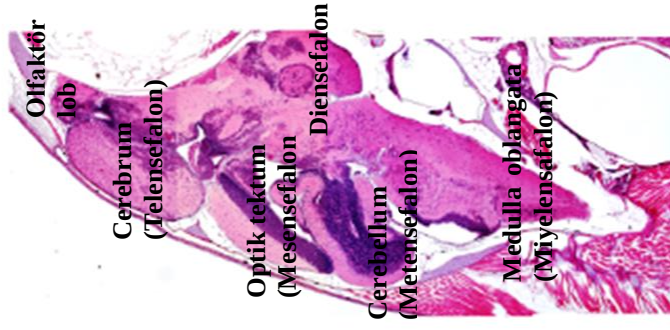
Şekil 4.52. 50 mg/L SiO_2 uygulanan *L. caeruleus* beyin dokusu, frontal ventral kesit. H&E, 10x.



Şekil 4.53. 100 mg/L SiO₂ uygulanan larva beyin dokusu, frontal dorsal kesit. H&E, 10x.



Şekil 4.54. 100 mg/L SiO₂ uygulanan larva beyin dokusu sagittal sağ yan kesit. H&E, 10x.



Şekil 4.55. 200 mg/L SiO₂ uygulanan larva beyin dokusu, sagittal sağ yan kesit. H&E, 10x.



Şekil 4.56. 200 mg/L SiO_2 uygulanan larva beyin dokusu, frontal dorsal kesit. Astrositler (A). H&E, 10x.



Şekil 4.57. 200 mg/L SiO_2 uygulanan larva beyin dokusu, frontal dorsal kesit. Astrositler (A). H&E, 10x.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda nanoteknoloji alanındaki hızlı gelişmeler bu teknoloji ürünlerinin günlük yaşantımıza daha fazla oranda girmelerine yol açmaktadır. Binlerce çeşit nanoteknoloji ürününün günlük kullanılan ürünler arasında yer aldığı görülmektedir. Kir tutmaz bebek elbiseleri, leke tutmaz masa örtüleri ve koltuk yüzleri, su tutmaz-ıslanmaz-kirlenmez boyalar, traş losyonları, güneş kremleri hatta tanı ve tedavi amacıyla kullanılan bir takım ilaç ve tıbbi uygulamalar bunlardan birkaçıdır (Roco, 2005).

Silika, çeşitli endüstrilerde yaygın olarak uygulanmaktadır. Altın kaplı silika uygulaması, iyi huylu ve kötü huylu tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Yüzeyi modifiye edilmiş hidrofobik ve lipofilik nanosilika, ipek böceği endüstrisinde, tavuk sıtması ve nükleer polihedroz virüsü tedavisinde yeni ilaçlar olarak etkili bir şekilde kullanılabilir (Barik vd.,2008).

Ticari ürünlerde kullanılan nanomalzemelerin artmasıyla birlikte, nanoteknolojinin çevresel ve sosyal maliyetleri göz önüne alındığında, yararlarının mı yoksa zararlarının mı daha ağır bastığı merak konusudur. Nanomalzemelerin toksik etkisi üzerine yapılan çoğu araştırma, vücuda giren nanopartiküllerin olumlu ya da olumsuz etkilerine odaklanmıştır.

Nanopartiküllerin kasıtlı olarak yerleştirildiği ilaçlar ve görüntüleme sistemleri gibi biyomedikal uygulamalarda kullanımı durumunda oluşabilecek toksik etkileri hakkında daha az araştırma yapılmıştır. Ayrıca, nanopartiküllerin bağışıklık sistemine toksisitesini değerlendirmek için belirlenmiş standartlar da bulunmamaktadır. Dobrovolskaia ve McNeil, (2007)'in immünotoksitesite hakkındaki son araştırmaları nanopartiküllerin immün yanıtları uyurabildiğini, baskılayabildiğini ve immün sistemle uyumlarının büyük ölçüde yüzey kimyası tarafından belirlendiğini göstermiştir.

Çoklu ilaç direnci (Multi Drug Resistance-MDR) ile başetmek için silika nanoparçacıkları ($100\pm13\text{nm}$) anti kanser ilacı doksurubisin ile birleştirilmiş insan meme kanser hücresi (MCF-7) ile muamele edilmiştir. Uygulamadan 1, 2, 3 gün sonra nano-MDDS ve serbest ilaçların MCF-7 hücrelerine sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçta ilaçtaki silika nanoparçacıkları kanser hücreleri ile

etkileşime geçtiği ve bu hücrelerde apoptozunu indükleyerek ve hücre çoğalmasını engellediği tespit edilmiştir (He vd., 2011).

Her ne kadar nanopartiküller biyomedikal uygulamalar için büyük bir potansiyele sahip olsalar da, canlı sistemler üzerine etkileri hakkındaki değerlendirmelerin eksikliği ortadadır. Duan vd. (2014) silika nanopartiküllerinin (Nano-SiO₂) biyolojik davranışlarını endotel hücre fonksiyonu üzerindeki etkilerini netleştirmek için yaptıkları çalışmada, Nano-SiO₂'nin endotel hücrelerinde NO/NOS sistemini bozabileceği, enflamatuar yanıtı indükleyebileceği, otofajiyi aktive edebileceği ve nihayetinde PI3K/Akt/mTOR yolu ile endotel fonksiyon bozukluğuna yol açabileceğini tespit etmişler, Nano-SiO₂'ye maruz kalmanın kardiyovasküler hastalıklar için potansiyel bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir.

Sucul ortamın en alt omurgalı grubunu oluşturan ve insanlar için önemli bir besin kaynağı olan balıklar sudaki birçok kirletici için erken uyarı sistemi olarak değerlendirilebilir (Singh vd., 2002). Bu kirleticilerin meydana getirebileceği dokusal bozuklukların belirlenmesinde histopatolojik çalışmalar önemli bir yer tutmaktadır.

Solungaçlar ozmoregülasyon, asit-baz dengesinin düzenlenmesi ve nitrojenli atıkların boşaltılmasında görevli olmaları nedeni ile dış ortamla sürekli bir alış veriş içindedir. Bu sebeple balıkların geliştikleri çevre ile olan etkileşimlerinde asıl bölgeyi oluşturmaları nedeni ile sudaki kimyasallara veya çevre koşullarındaki değişikliğe bağlı olarak ilk etkilenen yapılardır (Barlas, 1999).

Bu çalışmada yapılan inceleme ve gözlemlerden SiO₂NP den en fazla etkilenen organın solungaçlar olduğunu söylemek mümkündür. Bu durum; balıklarda solunum, ozmoregülasyon ve atılım gibi birçok önemli fonksiyonlara katılan solungaçların, suyun kalitesindeki değişikliklere karşı hassas ve dış çevre ile yakın temas halinde olduklarından sudaki her türlü maddenin birincil hedefi olması ile açıklanabilir.

SiO₂NP nanopartikülleri uygulanan tüm deney gruplarının solungaç dokularında lamel şekillerinde bozulma, primer lamellerde kopma ve ayrılma, sekonder lamellerde şekil bozukluğu ve ödem oluşumuna bağlı olarak epitellerinde ayrılma, bazı sekonder lamellerde ise kılcıl damarların genişlemesi (balonlaşma) gibi

önemli bazı yapısal değişimler tespit edilmiştir. Bazı sekonder lamellerin kısmi füzyonunun yanı sıra epitelyal ayrılma, hiperplazi ve hipertrofi gibi değişiklikler savunma mekanizmalarına örnektir, çünkü bunlar genel olarak dış çevre ile kan arasındaki mesafenin artmasına neden olur ve böylece kirleticilerin girişine bir engel oluşturur (Fernandes ve Mazon, 2003; Başımoğlu Koca vd. 2005; Koca vd., 2008; Gürcü vd., 2010; Yıldız vd., 2010).

Bu çalışmada gözlenen solungaç sekonder lamellerindeki kısıalma ve kopmaların, yüzey alanının azaltılmasına yönelik bir değişim olabileceğini düşündürmektedir. Organ, sudaki maddeye daha az yüzeyden maruz kalmayı hedeflemektedir diyebiliriz. Balıklar düşük oksijen alımını telafi etmek için havalandırma oranlarını arttırma kapasitesine sahip olmasına rağmen (Fernandes ve Mazon, 2003), çalışmada gözlenen epitelyal ayrılma sonucu su ve kan arasındaki mesafenin artması ile oksijen alımının bozulması kaçınılmazdır.

Solungaçlardaki benzer değişiklikler, metallere (Oliveira Ribeiro vd., 2000; Cerqueira ve Fernandes, 2002; Martinez vd., 2004) ve organik kirletici maddelere (Rosety-Rodríguez vd., 2002; Fanta vd., 2003) maruz kalan balıklarda da bildirilmiştir. Mallatt'a (1985) göre bu değişiklikler spesifik değildir ve farklı tür maddeler tarafından indüklenebilir.

Nishimori vd, (2009) 4 hafta boyunca 70 nm'lik silika parçacıklarını farelere intravenöz yolla enjekte ederek karaciğer, dalak, akciğer, böbrek, beyin ve kalp gibi ana organların histolojik analizini yapmışlardır. Histolojik analiz sonucunda 70 nm silika parçacıkları ile muamele edilen farelerde hepatik mikrogranülasyon ve splenik megakaryosit birikimini ortaya çıkarırken, böbrek, akciğer, beyin ve kalbin etkilenmediğini böylece, karaciğer ve dalağın 70 nm'lik silika parçacıklarının kronik olarak verilmesiyle toksisite için ana hedef organlar gibi görüldüğünü rapor etmişlerdir.

Karaciğer metabolizması, kirleticilerin biyokimyasal dönüşümü ve detoksifikasyonu için temel organdır. Dolayısıyla, toksisite çalışmalarında hepatositlerin histopatolojisi güvenilir biyobelirteçler olarak kullanılır. Balık karaciğeri, kirleticiler çevrede olduğundan çok büyük miktarlarda karaciğerde biriktiğinden ve histolojik lezyonlara neden olduğundan karaciğer kirletici maddelere karşı hassastır.

Isoda vd. (2013) partikül büyüklüğü ile toksisite arasındaki ilişkiyi üç farklı nanosilika partiküllerini (SP30, SP50, SP70) kullanarak araştırmışlar, SP30 ve SP50 uygulanmasından sonra hepatik hasarda doza bağlı artışlar gözlemişlerdir. SP30 ile SP50'nin daha düşük doz seviyelerinde bile SP70'e göre daha fazla akut karaciğer hasarına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, SP30'un toksisitesini kimyasal olarak indüklenmiş karaciğer hasarı varlığında (karbon tetraklorür, paraquat, sisplatin ve asetaminofen) araştırmışlar ve test edilen en küçük boyuttaki partiküllerin (SP30) karaciğer hasarına yol açan kimyasal maddelerle sinerjize olduğunu belirtmişlerdir. Bu verilerin silika nanoparçacıklarının büyüklüğünün (çapının) nanoparçacık kaynaklı karaciğer hasarının ciddiyetini etkilediğini, nanoteknoloji ve nanotoksikoloji alanında gelecekteki araştırmalar için yararlı olacağını belirten bir bulgu olduğunu rapor etmişlerdir.

Bir çalışmada tatlı su balıklarından *Oreochromis mossambicus* türü balıklar 96 saat ve 60 gün boyunca 12 mg/L SiO₂NP'lerine maruz bırakılmış, hepatositlerde segmentasyon ve iğ biçimli nükleus gibi histolojik değişikliklere rastlanmıştır. SiO₂NP'lerine 60 gün boyunca maruz kalan grupta ileri düzeyde vakuolleşme, çekirdek yokluğu ve tamamen düzensiz hepatositler gibi morfolojik doku hasarı ciddiyetinin daha belirgin olduğu ifade edilmiştir (Vidya ve Chitra 2018).

Hepatositlerin sitoplazmasındaki vakuoller lipit ve glikojen içerir bu da karaciğerin normal metabolik fonksiyonu ile ilgilidir (Camargo ve Martinez 2007). Dolayısıyla, hepatositlerin vakuolleşmesi, parankimal hücrelerde maddelerin sentez hızı ile sistemik dolaşıma salınım hızı arasındaki dengesizliği gösterir (Gingerich 1982). Yorumlarına katıldığımız bu araştırmacıların düşüncelerine ek olarak, hepatositlerde gözlediğimiz sitoplazmik vakuolizasyon ve piknotik nükleus oluşumu ve nükleuslarda boyanma farklılığına dayanarak, SiO₂NP'lerinin hepatik dokudaki protein ve enzimlerle etkileşime girdiğini, antioksidan savunma mekanizmalarını etkileyerek ve atrofiyi teşvik eden reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açtığını, bunun sonucunda da nekrozun geliştiğini söylemek mümkündür. Nitekim, Alarifi vd., (2013)'nin TiO₂ nanopartiküllerinin hepatik dokuya etkilerini inceledikleri çalışmalarında, hepatositlerdeki çekirdek ve sitoplazmik hasarın hücre içi mekanizmalarda meydana gelen bozulmalar sonucunda apoptoz ve nekroz olabileceğinden söz edilmektedir.

Seryum oksit nanopartiküllerinin (nanoceria) uygulanması sonrasında kültür göz merceği proteinlerinin kromatografik ve elektroforetik profillerinin değişmediği

belirlenen çalışmada, nanoceria'nın göz merceği proteinleri üzerinde zararlı etkisi olmadığı açıklanmıştır (Pierscionek vd. 2010).

Jo vd., (2012) tarafından silika nanopartiküllerinin (SiNP) retina neovaskülarizasyonu üzerindeki antianjiyogenik etkisini göstermeyi amaçladıkları çalışmalarında retina nöronal veya endotelial hücrelerinde doğrudan SiNP toksisitesi gözlenmediği ifade edilmiştir. Ayrıca SiNP'lerin intravitreal enjeksiyonunun, oksijene bağlı retinopati farelerinde anormal retinal anjiyogenez etkili bir şekilde azalttığı, *in-vitro* vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) kaynaklı anjiyogenez etkili bir şekilde inhibe ettiği rapor edilmiştir. SiNP'lerin ERK 1/2 aktivasyonunu bloke ettiğini belirttikleri bu çalışmalarında, SiNP'lerin VEGF'nin aracılık ettiği retina neovaskülarizasyonu inhibitörü olarak kullanılabileceği ve anjiyogenezle ilişkili körlüğün tedavisinde gelecekteki uygulamalar için önerilebileceği sonucuna varmışlardır.

SiNP'lerin insan kornea epitel hücreleri (HCEC) gibi oküler yüzey hücreleri üzerindeki toksisitesi hakkında çok az şey bilindiğinden söz edilen çalışmada, kültür HCEC'lerde 50, 100 ve 150 nm boyutlarında SiNP'nin indüklediği sitotoksosite değerlendirilmiş, bu nanopartiküllerin HCEC'lerde anlamlı sitotoksosite indüklediği tespit edilmiştir. 48 saat muamele sonrasında SiNP'lerin HCEC'ler tarafından alındığı ve hücreler reaktif oksijen türlerinin oluşumunun doza bağlı olarak hafifçe yükseldiği, ancak üç farklı büyüklükteki SiNP için 100 ug/ml konsantrasyonlarına kadar hücreler canlılıklarında önemli bir azalma gözlenmediği görülmüştür (Park vd., 2016).

Kim vd.,'nin (2017) raporuna göre; insan kornea endotel hücre (HCEC) hattında (B4G12) SiNP' nin üç farklı boyut (50, 100 ve 150nm) ve üç farklı dozda (0, 25, 50 ve 100 ug/ml) 48 saat maruz kalma durumunda transimiyon elektron mikroskop düzeyinde SiNP'lerin hücre içine alındığı fakat mitokondriyal yapısal hasar gözlenmediği, hem hücreler yaşayabilirlik hem de LDH seviyesinin 100 ug/mL dozda değişmeden kaldığı, otofajinin belirgin doza bağımlı bir aktivasyon gösterdiği, ancak mTOR (rapamisin) aktivasyonunun değişmeden kaldığı söylenmektedir. 72 saat boyunca 100 ug/ml SiNP konsantrasyonunda, insan kornea dokusu kültürünün belirgin endotel toksisite göstermediği de ifade edilmektedir. Aynı raporda bulgularına dayanarak 50, 100 ve 150nm SiNP'lerin, kornea endotelial hücrelerinde 100 ug/mL' ye kadar konsantrasyonlarda akut

belirgin sitotoksositeyi indüklemediği, bununla birlikte SiNP'lerin uzun süreli toksisitesi bilinmediği vurgulanmaktadır.

Primer insan korneal epitel hücrelerinin (hCEC) ultra ince (30 ve 40nm) SiO₂NP'lerine 24 saat süre ile *in-vitro* maruz kalması durumunda hücre zarı hasarı, hücre ömrünün azalması, hücre ölümü ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu gibi değişimler oluşturduğu, aynı nanoparçacıklara *in-vivo* maruz kalma durumunda da gözlenebilir kornea hasarı tespit edilmiştir. Bu etkilerin ultra ince (100 ve 150 nm) SiO₂NP'lerden daha şiddetli olduğu ve yaygın kullanılan antioksidan bileşiklerin korneayı SiO₂NP'nin neden olduğu hasardan korumadığı bildirilmiştir (Dayu vd., 2018).

Dayu vd., (2018)'nin sonuçlarına benzer şekilde, bu tez çalışmasında balıklarda 50 mg deney grubunda lens kapsülünde kayıp, 100 mg/L grubunda kornea tabakasında yer yer incelme, lens epitelinde ayrılma, lens primer liflerinde çözülme, 200 mg/L uygulama grubunda ise lens fibrillerinin ileri düzeyde parçalanma saptanmıştır. Bütün deney gruplarında retina ve optik sinir ve bölgesinde herhangi bir yapısal değişim olmadığı, sadece 100 mg/L uygulanan grupta optik diskte çökme olduğu belirlenmiştir.

Elektron mikroskop düzeyinde yapılan bir çalışmada sıçanlarda 6, 20, 50 nm boyutunda ve 150 mg/mL dozunda SiO₂NP'lerinin karaciğer, böbrek, beyinde oksidatif strese neden olduğu ve yapısal hasara yol açtığı gösterilmiş, özellikle beyinde nörotoksik etki ile uyumlu yapısal değişikliklere neden olmasından dolayı, SiO₂NP'lerin etkilerinin insanlarda kullanılmadan önce iyice araştırılması gerektiği vurgulanmıştır (Çömelekoğlu vd., 2019).

Teleost beyini nöropile gömülü nöroglial ve diğer nöronal hücrelerin uzantılarını içeren kendine özgü nöron tabakalarından oluşur (Butler, 2011). Vidya ve Chitra (2018) çalışmasında kısa süreli SiO₂NP uygulanan balıkların beyin dokusunda hafif dejenerasyon gözlenirken, uzun süreli maruz kalma durumunda koroid pleksusta ciddi nörodejenerasyon, vakuolizasyon oluşumu, beyin ödemi, nörofibriller bölgenin nekrozu ve lezyon tespit etmişlerdir. Koroid pleksus ventriküllerin lümenine salgılanan beyin omurilik sıvısını (BOS) sentezler (Ferguson 2006). Nanopartiküllerin koroid pleksusda neden olduğu lezyonların balıklarda sublethal nörolojik rahatsızlığa neden olabilecek patolojik beyin

hasarını gösterir. Patolojik lezyonlar, maruz kalma durumunun ortadan kalkmasından sonra bile korunmaktadır (Vidya ve Chitra (2018)).

Çalışmamızda tüm deney gruplarında telensefalon, mesensefalon, metensefalon, medulla oblongata ve spinal kordun yapısal olarak kontrollere benzer yapıda olduğu gözlenmesine rağmen, sadece yüksek doz grubunda olfactory bölgenin anterior kısmı, medulla oblongata ve spinal kord gibi farklı bölgelerde astrositlerin yoğun olarak bulunduğu saptanmıştır. Astrositler, bilindiği üzere, nöronları koruyan sinir sisteminin yıldız biçimli glial hücreleridir. Bu anlamda, yüksek doz grubunda bu hücrelere sıklıkla rastlanması SiO_2NP 'lerinin kan beyin bariyerini geçebileceğini akla getirmektedir.

Kim vd. (2014)' nin farklı büyüklüklerde (20 ve 100 nm) ve farklı dozlarda (550-1000-2000 mg/Kg) koloidal silika nanoparçacıkların toksik etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sıçanlara oral yolla 90 gün uygulama sonrasında, deney gruplarının hiçbirinde klinik değişiklik ve histopatolojik bulguların belirlenmediği, herhangi bir hayvan ölümünün olmadığı, deney süresince haftalık olarak ağırlıkları tartılan sıçanların ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu, bu nedenle NOAEL (No-observed-adverse-effect level) değerinin 2.000 mg/kg'dan fazla olması gerektiği ifade edilmiştir. Kim vd., (2014)' nin bu çalışmalarına benzer şekilde, bizim çalışmamızda da kontrollere kıyasla doz artışına bağlı olarak balıkların büyümelerinde makroskobik olarak gözlenen artış, bize SiO_2NP 'lerinin canlıların büyüme ve gelişmeleri üzerinde olumlu bir etkisinin de olabileceğini düşündürmüştür.

Yukarıdaki çalışmalardan da anlaşılabacağı üzere, nanopartiküllerin canlı sistemler üzerine olumlu ya da olumsuz etkileri sadece partikülün fiziksel, kimyasal özellikleri ile ilgili değil aynı zamanda partiküle maruz kalan canlı sisteminin özellikleri, maruz kalma şekli, dozu ve süresi ile de ilgilidir. Bu nedenle nanopartiküllerin yarar ve zararlarının kesin olarak belirlenebilmesi için bunlar göz ardı edilmemelidir.

Son yıllarda nanoteknoloji alanındaki hızlı gelişmeler bu teknoloji ürünlerinin günlük yaşantımıza daha fazla oranda girmelerine yol açmaktadır. Binlerce çeşit nanoteknoloji ürününün günlük kullanılan ürünler arasında yer aldığı görülmektedir. Kir tutmaz bebek elbiseleri, leke tutmaz masa örtüleri ve koltuk yüzleri, su tutmaz-ıslanmaz-kirlenmez boyalar, traş losyonları, güneş kremleri

hatta tanı ve tedavi amacıyla kullanılan bir takım ilaç ve tıbbi uygulamalar bunlardan birkaçıdır (Roco, 2005).

Silika, çeşitli endüstrilerde yaygın olarak uygulanmaktadır. Altın kaplı silika uygulaması, iyi huylu ve kötü huylu tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Yüzeyi modifiye edilmiş hidrofobik ve lipofilik nanosilika, ipekböceği endüstrisinde, tavuk sıtması ve nükleer polihedroz virüsü tedavisinde yeni ilaçlar olarak etkili bir şekilde kullanılabilir (Barik vd.,2008).

Ticari ürünlerde kullanılan nanomalzemelerin artmasıyla birlikte, nanoteknolojinin çevresel ve sosyal maliyetleri göz önüne alındığında, yararlarının mı yoksa zararlarının mı daha ağır bastığı merak konusudur. Nanomalzemelerin toksik etkisi üzerine yapılan çoğu araştırma, vücuda giren nanopartiküllerin olumlu ya da olumsuz etkilerine odaklanmıştır.

Nanopartiküllerin kasıtlı olarak yerleştirildiği ilaçlar ve görüntüleme sistemleri gibi biyomedikal uygulamalarda kullanımı durumunda oluşabilecek toksik etkileri hakkında daha az araştırma yapılmıştır. Nanopartiküllerin bağışıklık sistemine toksisitesini değerlendirmek için belirlenmiş standartlar da bulunmamaktadır. Dobrovolskaia ve McNeil (2007)'in immünotoksisite hakkındaki son araştırmaları, nanopartiküllerin immün yanıtları uyatabildiğini, baskılayabildiğini ve immün sistemle uyumlarının büyük ölçüde yüzey kimyası ile belirlendiğini göstermiştir.

Çoklu ilaç direnci (Multi Drug Resistance-MDR) ile baş etmek için silika nanoparçacıkları ($100\pm 13\text{nm}$) anti kanser ilacı doksurubisin ile birleştirilmiş insan meme kanser hücresi (MCF-7) ile muamele edilmiştir. Uygulamadan 1,2,3 gün sonra nano-MDDS ve serbest ilaçların MCF-7 hücrelerine sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçta ilaçtaki silika nanoparçacıkları kanser hücreleri ile etkileşime geçtiği ve bu hücrelerde apoptozunu indükleyerek ve hücre çoğalmasını engellediği tespit edilmiştir (He vd., 2011).

Her ne kadar nanopartiküller biyomedikal uygulamalar için büyük bir potansiyele sahip olsalar da, canlı sistemler üzerine etkileri hakkındaki değerlendirmelerin eksikliği ortadadır. Duan vd. (2014) silika nanopartiküllerinin (Nano-SiO₂) biyolojik davranışlarını endotel hücre fonksiyonu üzerindeki etkilerini netleştirmek için yaptıkları çalışmada, Nano-SiO₂'nin endotel hücrelerinde NO/NOS sistemini bozabileceği, enflamatuvar yanıtı indükleyebileceği, otofajiyi

aktive edebileceği ve nihayetinde PI3K/Akt/mTOR yolu ile endotel fonksiyon bozukluğuna yol açabileceğini tespit etmişler, Nano-SiO₂' ye maruz kalmanın kardiyovasküler hastalıklar için potansiyel bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir.

Sucul ortamın en alt omurgalı grubunu oluşturan ve insanlar için önemli bir besin kaynağı olan balıklar sudaki birçok kirletici için erken uyarı sistemi olarak değerlendirilebilir (Singh vd., 2002). Bu kirleticilerin meydana getirebileceği dokusal bozuklukların belirlenmesinde histopatolojik çalışmalar önemli bir yer tutmaktadır.

Solungaçlar ozmoregülasyon da, asit-baz dengesinin düzenlenmesi ve nitrojenli atıkların boşaltılmasında görevli olmaları nedeni ile dış ortamla sürekli bir alış veriş içindedir. Bu sebeple balıkların geliştikleri çevre ile olan etkileşimlerinde asıl bölgeyi oluşturmaları nedeni ile sudaki kimyasallara veya çevre koşullarındaki değişikliğe bağlı olarak ilk etkilenen yapılardır (Barlas, 1999).

Bu çalışmada yapılan inceleme ve gözlemlerden SiO₂NP'den en fazla etkilenen organın solungaçlar olduğunu söylemek mümkündür. Bu durum; balıklarda solunum, osmoregülasyon ve atılım gibi birçok önemli fonksiyonlara katılan solungaçların, suyun kalitesindeki değişikliklere karşı hassas ve dış çevre ile yakın temas halinde olduklarından sudaki her türlü maddenin birincil hedefi olması ile açıklanabilir.

SiO₂NP'leri uygulanan tüm deney gruplarının solungaç dokularında lamel şekillerinde bozulma, primer lamellerde kopma ve ayrılma, sekonder lamellerde şekil bozukluğu ve ödem oluşumuna bağlı olarak epitellerinde ayrılma, bazı sekonder lamellerde ise kılcal damarların genişlemesi (balonlaşma) gibi önemli bazı yapısal değişimler tespit edilmiştir. Bazı sekonder lamellerin kısmi füzyonunun yanı sıra epitelyal ayrılma, hiperplazi ve hipertrofi gibi değişiklikler savunma mekanizmalarına örnektir, çünkü bunlar genel olarak dış çevre ile kan arasındaki mesafenin artmasına neden olur ve böylece kirleticilerin girişine bir engel oluşturur (Fernandes ve Mazon, 2003; Başimoğlu Koca vd. 2005; Koca vd., 2008; Gürcü vd., 2010; Yıldız vd., 2010). Bu çalışmada gözlenen solungaç sekonder lamellerindeki kısılma ve kopmaların, yüzey alanının azaltılmasına yönelik bir değişim olabileceği yönünde düşündürmektedir. Organ daha az yüzeyden, sudaki daha az maddeye maruz kalmayı hedeflemektedir diyebiliriz.

Epitelyal ayrılma nedeniyle su ve kan arasındaki mesafenin artması sonucu, oksijen alımının bozulması kaçınılmazdır. Ancak balıklar düşük oksijen alımını telafi etmek için havalandırma oranlarını artırma kapasitesine sahiptir (Fernandes ve Mazon, 2003). Solungaçlardaki benzer değişiklikler, metallere (Oliveira Ribeiro vd., 2000; Cerqueira ve Fernandes, 2002; Martinez vd., 2004) ve organik kirletici maddelere (Rosety-Rodríguez vd., 2002; Fanta vd., 2003) maruz kalan balıklarda da bildirilmiştir. Mallatt'a (1985) göre bu değişiklikler spesifik değildir ve farklı tür maddeler tarafından indüklenebilir.

Nishimori vd, (2009) 4 hafta boyunca 70 nm'lik silika parçacıklarını farelere intravenöz yolla enjekte ederek karaciğer, dalak, akciğer, böbrek, beyin ve kalp gibi ana organların histolojik analizini yapmışlardır. Histolojik analiz sonucunda 70 nm silika parçacıkları ile muamele edilen farelerde hepatik mikrogranülasyon ve splenik megakaryosit birikimini ortaya çıkarırken, böbrek, akciğer, beyin ve kalbin etkilenmediğini böylece, karaciğer ve dalağın 70 nm'lik silika parçacıklarının kronik olarak verilmesiyle toksisite için ana hedef organlar gibi görüldüğünü rapor etmişlerdir.

Karaciğer metabolizması, kirleticilerin biyokimyasal dönüşümü ve detoksifikasyonu için temel organdır. Dolayısıyla, toksisite çalışmalarında hepatositlerin histopatolojisi güvenilir biyobelirteçler olarak kullanılır. Balık karaciğeri, kirleticiler çevrede olduğundan çok büyük miktarlarda karaciğerde biriktiğinden ve histolojik lezyonlara neden olduğundan karaciğer kirletici maddelere karşı hassastır.

Isoda vd. (2013) partikül büyüklüğü ile toksisite arasındaki ilişkiyi üç farklı nanosilika partiküllerini (SP30, SP50, SP70) kullanarak araştırmışlar, SP30 ve SP50 uygulanmasından sonra hepatik hasarda doza bağlı artışlar gözlemişlerdir. SP30 ile SP50'nin daha düşük doz seviyelerinde bile SP70'e göre daha fazla akut karaciğer hasarına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, SP30'un toksisitesini kimyasal olarak indüklenmiş karaciğer hasarı varlığında (karbon tetraklorür, paraquat, sisplatin ve asetaminofen) araştırmışlar ve test edilen en küçük boyuttaki partiküllerin (SP30) karaciğer hasarına yol açan kimyasal maddelerle sinerjize olduğunu belirtmişlerdir. Bu verilerin silika nanoparçacıklarının büyüklüğünün (çapının) nanoparçacık kaynaklı karaciğer hasarının ciddiyetini etkilediğini, nanoteknoloji ve nanotoksikoloji alanında gelecekteki araştırmalar için yararlı olacağını belirten bir bulgu olduğunu rapor etmişlerdir.

Bir çalışmada tatlı su balıklarından *Oreochromis mossambicus* türü balıklar 96 saat ve 60 gün boyunca 12 mg/L SiO₂NP'lerine maruz bırakılmış, hepatositlerde segmentasyon ve iğ biçimli nükleus gibi histolojik değişikliklere rastlanmıştır. SiO₂NP'lerine 60 gün boyunca maruz kalan grupta ileri düzeyde vakuolleşme, çekirdek yokluğu ve tamamen düzensiz hepatositler gibi morfolojik doku hasarı ciddiyeatinin daha belirgin olduğu ifade edilmiştir (Vidya ve Chitra 2018).

Hepatositlerin sitoplazmasındaki vakuoller lipit ve glikojen içerir, bu da karaciğerin normal metabolik fonksiyonu ile ilgilidir (Camargo ve Martinez 2007). Dolayısıyla, hepatositlerin vakuolleşmesi, parankimal hücrelerde maddelerin sentez hızı ile sistemik dolaşıma salınım hızı arasındaki dengesizliği gösterir (Gingerich 1982). Yorumlarına katıldığımız bu araştırmacıların düşüncelerine ek olarak, hepatositlerde gözlediğimiz sitoplazmik vakuolizasyon ve piknotik nükleus oluşumu ve nükleuslarda boyanma farklılığına dayanarak, SiO₂NP'lerinin hepatik dokudaki protein ve enzimlerle etkileşime girdiğini, antioksidan savunma mekanizmalarını etkileyerek ve atrofiyi teşvik eden reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açtığını, bunun sonucunda da nekrozun geliştiğini söylemek mümkündür. Nitekim, Alarifi vd., (2013)'nin TiO₂ nanopartiküllerinin hepatik dokuya etkilerini inceledikleri çalışmalarında, hepatositlerdeki çekirdek ve sitoplazmik hasarın hücre içi mekanizmalarda meydana gelen bozulmalar sonucunda apoptoz ve nekroz olabileceğinden söz edilmektedir.

Seryum oksit nanopartiküllerinin (nanoceria) uygulanması sonrasında kültür göz merceği proteinlerinin kromatografik ve elektroforetik profillerinin değişmediği belirlenen çalışmada, nanoceria'nın göz merceği proteinleri üzerinde zararlı etkisi olmadığı açıklanmıştır (Pierscionek vd. 2010).

Jo vd., (2012) tarafından silika nanopartiküllerinin (SiNP) retina neovaskülarizasyonu üzerindeki antianjiyogenik etkisini göstermeyi amaçladıkları çalışmalarında, retina nöronal veya endotelial hücrelerinde doğrudan SiNP toksisitesi gözlenmediği ifade edilmiştir. Ayrıca SiNP'lerin intravitreal enjeksiyonunun, oksijene bağlı retinopati farelerinde anormal retinal anjiyojenezi etkili bir şekilde azalttığı, *in-vitro* vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) kaynaklı anjiyojenezi etkili bir şekilde inhibe ettiği rapor edilmiştir. SiNP'lerin ERK 1/2 aktivasyonunu bloke ettiğini belirttikleri çalışmalarında, SiNP'lerin VEGF'nin aracılık ettiği retina neovaskülarizasyonu inhibitörü olarak

kullanılabileceği ve anjiyogenezle ilişkili körlüğün tedavisinde gelecekteki uygulamalar için önerilebileceği sonucuna varmışlardır.

SiNP'lerin insan kornea epitel hücreleri (HCEC) gibi oküler yüzey hücreleri üzerindeki toksisitesi hakkında çok az şey bilindiğinden söz edilen çalışmada, kültür HCEC'lerde 50, 100 ve 150 nm boyutlarında SiNP'nin indüklediği sitotoksosite değerlendirilmiş, bu nanopartiküllerin HCEC'lerde anlamlı sitotoksosite indüklediği tespit edilmiştir. 48 saat muamele sonrasında SiNP'lerin HCEC'ler tarafından alındığı ve hücre sel reaktif oksijen türlerinin oluşumunun doza bağlı olarak hafifçe yükseldiği, ancak üç farklı büyüklükteki SiNP için 100 ug/ml konsantrasyonlarına kadar hücre sel canlılıklarında önemli bir azalma gözlenmediği görülmüştür (Park vd., 2016).

Ja-Yeon Kim vd.,'nin (2017) raporuna göre; insan kornea endotel hücre (HCEC) hattında (B4G12) SiNP' nin üç farklı boyut (50, 100 ve 150nm) ve üç farklı dozda (0, 25, 50 ve 100 ug/ml) 48 saat maruz kalma durumunda transmiyon elektron mikroskop düzeyinde SiNP'lerin hücre içine alındığı fakat mitokondriyal yapısal hasar gözlenmediği, hem hücre sel yaşayabilirlik hem de LDH seviyesinin 100 ug/mL dozda değişmeden kaldığı, otofajinin belirgin doza bağımlı bir aktivasyon gösterdiği, ancak mTOR (rapamisin) aktivasyonunun değişmeden kaldığı söylenmektedir. 72 saat boyunca 100 ug/ml SiNP konsantrasyonunda, insan kornea dokusu kültürünün belirgin endotel toksisite göstermediği de ifade edilmektedir. Aynı raporda bulgularına dayanarak 50, 100 ve 150nm SiNP'lerin, kornea endotelyal hücrelerinde 100 ug/mL' ye kadar konsantrasyonlarda akut belirgin sitotoksositeyi indüklediği, bununla birlikte SiNP'lerin uzun süreli toksisitesi bilinmediği vurgulanmaktadır.

Primer insan korneal epitel hücrelerinin (hCEC) ultra ince (30 ve 40nm) SiO₂NP'lerine 24 saat süre ile *in-vitro* maruz kalması durumunda hücre zarı hasarı, hücre ömrünün azalması, hücre ölümü ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu gibi değişimler oluşturduğu, aynı nanoparçacıklara *in-vivo* maruz kalma durumunda da gözlenebilir kornea hasarı tespit edilmiştir. Bu etkilerin ultra ince (100 ve 150 nm) SiO₂NP'lerden daha şiddetli olduğu ve yaygın kullanılan antioksidan bileşiklerin korneayı SiO₂NP'nin neden olduğu hasardan korumadığı bildirilmiştir (Dayu vd., 2018).

Dayu vd., (2018)'nin sonuçlarına benzer şekilde, bu tez çalışmasında balıklarda 50 mg deney grubunda lens kapsülünde kayıp, 100 mg/L grubunda kornea tabakasında yer yer incelme, lens epitelinde ayrılma, lens primer liflerinde çözülme, 200 mg/L uygulama grubunda ise lens fibrillerinin ileri düzeyde parçalanma saptanmıştır. Bütün deney gruplarında retina ve optik sinir ve bölgesinde herhangi bir yapısal değişim olmadığı, sadece 100 mg/L uygulanan grupta optik diskte çökme olduğu belirlenmiştir.

Elektron mikroskop düzeyinde yapılan bir çalışmada sıçanlarda 6, 20, 50 nm boyutunda ve 150 mg/mL dozunda SiO₂NP'lerinin karaciğer, böbrek, beyinde oksidatif strese neden olduğu ve yapısal hasara yol açtığı gösterilmiş, özellikle beyinde nörotoksik etki ile uyumlu yapısal değişikliklere neden olmasından dolayı, SiO₂NP'lerin etkilerinin insanlarda kullanılmadan önce iyice araştırılması gerektiği vurgulanmıştır (Çömelekoğlu vd., 2019).

Teleost beyni nöropile gömülü nöroglial ve diğer nöronal hücrelerin uzantılarını içeren kendine özgü nöron tabakalarından oluşur (Butler, 2011). Vidya ve Chitra (2018) çalışmasında kısa süreli SiO₂NP uygulanan balıkların beyin dokusunda hafif dejenerasyon gözlenirken, uzun süreli maruz kalma durumunda koroid pleksusta ciddi nörodejenerasyon, vakuolizasyon oluşumu, beyin ödemi, nörofibriller bölgenin nekrozu ve lezyon tespit edilmiştir. Koroid pleksus, beyin ventriküllerinin lümenine salgılanan, beyin omurilik sıvısını (BOS) sentezler (Ferguson 2006). Nanopartiküllerin koroid pleksusta sebep olduğu lezyonların balıklarda sublethal nörolojik rahatsızlığa neden olabilecek patolojik beyin hasarını gösterdiği, bu lezyonların maruz kalma durumunun ortadan kalkmasından sonra bile korunduğu belirtilmiştir (Vidya ve Chitra (2018)).

Çalışmamızda tüm deney gruplarında telensefalon, mesensefalon, metensefalon, medulla oblongata ve spinal kordun yapısal olarak kontrollere benzer yapıda olduğu gözlenmesine rağmen, sadece yüksek doz grubunda olfactory bölgenin anterior kısmı, medulla oblongata ve spinal kord gibi farklı bölgelerde astrositlerin yoğun olarak bulunduğu saptanmıştır. Astrositler, bilindiği üzere, nöronları koruyan sinir sisteminin yıldız biçimli glial hücreleridir. Bu anlamda, yüksek doz grubunda bu hücrelere sıklıkla rastlanması SiO₂NP'lerinin kan beyin bariyerini geçebileceğini akla getirmektedir.

Kim vd. (2014)' nin farklı büyüklüklerde (20 ve 100 nm) ve farklı dozlarda (550-1000-2000 mg/Kg) kolloidal silika nanoparçacıkların toksik etkisini araştırdıkları çalışmalarında, sıçanlara oral yolla 90 gün uygulama sonrasında, deney gruplarının hiçbirinde klinik değişiklik ve histopatolojik bulguların belirlenmediği, herhangi bir hayvan ölümünün olmadığı, deney süresince haftalık olarak ağırlıkları tartılan sıçanların ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu, bu nedenle NOAEL (No-observed-adverse-effect level) değerinin 2.000 mg/kg'dan fazla olması gerektiği ifade edilmiştir. Kim vd., (2014)' nin bu çalışmalarına benzer şekilde, bizim çalışmamızda da kontrollere kıyasla doz artışına bağlı olarak balıkların büyümelerinde makroskobik olarak gözlenen artış, bize SiO₂NP'lerinin canlıların büyüme ve gelişmeleri üzerinde olumlu bir etkisinin de olabileceğini düşündürmüştür.

Yukarıdaki çalışmalardan da anlaşılabacağı üzere, nanopartiküllerin canlı sistemler üzerine olumlu ya da olumsuz etkileri sadece partikülün fiziksel, kimyasal özellikleri ile ilgili değil aynı zamanda partiküle maruz kalan canlı sisteminin özellikleri, maruz kalma şekli, dozu ve süresi ile de ilgilidir. Bu nedenle nanopartiküllerin yarar ve zararlarının kesin olarak belirlenebilmesi için bunlar göz ardı edilmemelidir.

Doğada kendiliğinden oluşabilen ya da endüstriyel olarak sentezlenen nanopartiküllerin, sanayide kullanılmasıyla birlikte çevredeki konsantrasyonlarının artması kaçınılmazdır. Bu alan, yeni ürünler geliştirme isteği ile sürekli bir değişim içerisinde bulunmakta ve laboratuvar ortamlarında yapılan çalışmalar sonucu farklı nanopartiküller üretilmektedir. Her geçen gün artan nano üretim ile yeni yeni nanomalzemeler yapılmakta, nanomalzemelerin çoğalması da ekolojik sistemin nanopartiküllere daha fazla maruz kalması anlamına gelmektedir.

Nanopartiküller çevreye salınmış veya gıdaya dolaylı yollarla bulaşmış olabileceği gibi insanlar nanopartiküllere deri, solunum ya da sindirim yoluyla da maruz kalabilirler. Ancak, bu partiküllerin vücuda alındıktan sonra ne olacağı ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır.

Nanopartiküllerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki etkileri ve riskleri kesin olarak bilinmediğinden bu alandaki boşluğu doldurmak için yoğun çalışmalar yapılması gerekmektedir. Nitekim, günümüzde bu etkilerin önceden tespit edilip gerekli önlemlerin alınması zorunluluğu ortaya çıkmıştır. Bu sebeple, canlılar üzerindeki

toksik etkilerinin belirlenmesi üzerine yapılacak çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Bu anlamda, elde ettiğimiz sonuçlar balıkların düşük doz ve kısa süreli SiO₂NP'ne maruz kalmasının bile potansiyel risk oluşturabileceğinin mümkün olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızın, hedef organizmalarda veya hedef olmayan organizmalarda SiO₂NP kullanımının güvenliği ve potansiyel riskleri hakkında faydalı, çevre kirlenmesi ve insan sağlığı göz önüne alındığında ileri araştırmalar için yararlı olacağını, kaliteli yaşam ve ekonomik kaybın önlenmesi anlamında da büyük katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.

EKLER

Ek 5-1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Raporu



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 13.Haziran. 2017

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2017 Yılı VI. Oturum

Sayı : 64583101/2017/046

Proje Başlığı :Silikon Dioksitin Larval Dönem *Labidochromis Caeruleus* (Sarı prenses) Üzerine Histopatolojik Etkileri.

Proje Yürütücüsü : Yücel KOCA

Proje Ekibi :Ümran ÇINAR

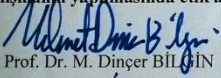
Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

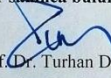
- İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
- İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
- Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması :İnsanlarda araştırma

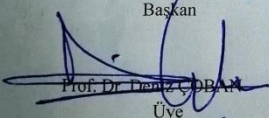
- İnsan olmayan primatların kullanılması
- Transgenik hayvanların kullanılması
- Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır


 Prof. Dr. M. Dinçer BİLGE
Başkan


 Prof. Dr. Turhan DOĞST
Başkan Yardımcısı

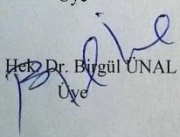
(Yıllık İzinli)
 Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

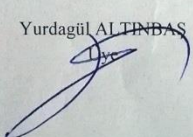

 Prof. Dr. Deniz ÇOBAN
Üye

(Değerlendirmede Bulunmadı)
 Prof. Dr. Yücel KOCA
Üye


 Doç. Dr. Evrim DERELİ FIDAN
Üye


 Vet. Hek. Serdar AKTAŞ
Üye


 Vet. Hek. Dr. Biğül ÜNAL
Üye


 Yurdagül ALTINBAŞ
Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir

KAYNAKLAR

- Ahamed, M. 2013. Silica nanoparticles-induced cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis in cultured A431 and A549 cells. **Human&Experimental Toxicology**, 32: 186-195.
- Alarifi, S., Ali, D., Al-Doaiss, A.A., Ali, B.A., Ahmed, M., Al-Khedhairi, A.A. 2013. Histologic and apoptotic changes induced by titanium dioxide nanoparticles in the livers of rats. **International Journal of Nanomedicine**, 8: 3937-3943.
- Alexandre, M., Dubois, P.2000. Polymer-layered silicate nanocomposites: Preparation, properties and use of a new class of materials. **Material Sciences Engineering**, 28: 1-63.
- Al-Rawi, M., Diabate, S., Weiss, C. 2011. Uptake and intracellular localization of submicron and nano-sized SiO₂ particles in hela cells. **Archives of Toxicology**, 85: 813-826.
- Andreotti, F., Mucha, A.P., Caetano, C., Rodrigues, P., Rocha Gomes, C., Almeida, C.M.R.. 2015. Interactions between salt marsh plants and Cu nanoparticles-Effects on metal uptake and phytoremediation processes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 120:303-309.
- Anonim 1, (www.wikizero.biz/index.php). (Erişim Tarihi: 08.07.2019)
- Anonim 2, (<http://www.uralakbulut.com.tr>). (Erişim Tarihi: 15.05.2017)
- Anonim 3, (<http://www.food-info.net/tr/>). (Erişim Tarihi: 06.05.2017)
- Anonim 4, (https://en.wikipedia.org/wiki/Sarı_Prensler). (Erişim Tarihi: 09.07.2019)
- Anonim 5, (<https://www.cichlid-forum.com>). (Erişim Tarihi 09.07.2019)
- Anonim 6, (<http://bio324vertzoo.blogspot.com/2011/02/>). (Erişim Tarihi 08.10.2019)
- Anonim 7, (<https://www.necropsymanual.net/en/teleosts-anatomy/nervous-system-and-the-sensory-organ/>). (Erişim Tarihi 18.10.2019)
- Anonim 8, (<https://en.wikipedia.org/wiki/Nanoparticle>). (Erişim Tarihi 19.07.2019)

- Anonim 9, (<http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/nanobilimve-nanoteknoloji-nanoteknoloji.html>). (Erişim Tarihi 27.10.2019)
- Anonim 10, (<https://www.shutterstock.com/tr/search/sio2>). (Erişim Tarihi 27.10.2019)
- Arora, S., Rajwade, J. M., & Paknikar, K. M. 2012. Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 258:151-165.
- ASTM. 2006. Standard Terminology Relating to Nanotechnology, ASTM International, E2456-06, West Conshohocken, PA.
- Asztemborska, M., Steborowski, R., Kowalska, J., Bystrzejewska-Piotrowska, G. 2015. Accumulation of platinum nanoparticles by *Sinapis alba* and *Lepidium sativum* plants. **Water, Air, and Soil Pollution**, 226:126.
- Balasubramanyam, A., Sailaja N., Mahbob, M., Rahman M.F., Misra, S., Sabre M, Hussain., Paramjit, Grover. 2009. Evaluation of genotoxic effects of oral exposure to aluminum oxide nanomaterials in rat bone marrow. **Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 676, (1-2):41-47.
- Bancroft, JD., Cook, H.C. 1994. Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application. Churchill Livingstone, p. 457, London.
- Barik, TK., Sahu, B., Swain, V. 2008. Nanosilica-from medicine to pest control. **Journal of Parasitology Research**, 103(2):253-258.
- Barlas, N. 1999. Yukarı Sakarya havzasında yaşayan sazan balıklarının (*Cyprinus carpio* L. 1758) solungaç, karaciğer ve böbrek dokularının histopatolojik olarak incelenmesi. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 2: 277-284.
- Başımoğlu Koca, Y., Koca, S., Yıldız, Ş., Gürcü, B., Osañç, E., Tunçbaş, O., Aksoy, G. 2005. Investigation of histopathological and cytogenetic effects on *Lepomis gibbosus* (Pisces: Perciformes) in the Çine stream (Aydın/Turkey) with determination of water pollution. **Environmental Toxicology**, 20(6): 560- 571.

- Bharali, D.J., Klejbor, I., Stachowiak, E.K., Dutta, P., Roy, I., Kaur, N., Bergey, E.J., Prasad, P.N., Stachowiak, M.K. 2005. Organically modified silica nanoparticles: A nonviral vector for *in vivo* gene delivery and expression in the brain. **Proceedings of the National Academy of Science**, 102: 11539-11544.
- Borm, P.J., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, W., Lademann, J. 2006. The potential risks of nanomaterials: A review carried out for ecetoc. **Particle and Fibre Toxicology**, 3- 11.
- Bouwmeester, H., Dekkers, S., Noordam, M.Y., Hagens, W.I., Bulder, A.S., De Heer, C., Ten Voorde, S.E., Wijnhoven, S.W., Marvin, H.J., Sips, A.J. 2009. Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 53: 52-62.
- Butler, AB. 2011. Brain and nervous system, functional morphology of the nervous system: An introduction. Encyclopedia of fish physiology, from genome to environment. Academic Press. Waltham, Massachusetts, p.1-5, USA.
- Camargo, M.M.P., Martinez, C.B.R. 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a neotropical fish caged in an urban stream. **Neotropical Ichthyology**, 5(3):327-336.
- Cerqueira, C.C.C., Fernandes, M.N. 2002. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 52(2): 83-91.
- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., Aitken, R., Watkins, R. 2008. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. **Food Additives and Contaminants**, 25: 241-258.
- Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G. 2006. Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*. **Toxicology Letters**, 163: 109-20.
- Çömelekoğlu, Ü., Ballı, E., Yalın, S., Eroğlu, P., Bayrak, G., Yaman, S., Söğüt, F. 2019. Effects of different sizes silica nanoparticle on the liver, kidney and brain in rats: Biochemical and histopathological evaluation. **Journal of Research in Pharmacy**, 23(3): 344-353.

- Dayu, S., Linji, G., Jing, X., Xianliang, G., Yijian, L., Qinglin, C., Qiyu, L., Luodan, A., Zhanjun, G., Haiwei, X. 2018. Toxicity of silicon dioxide nanoparticles with varying sizes on the cornea and protein corona as a strategy for therapy. **Science Bulletin**, 63(14): 907-916.
- Dobrovolskaia, M.A., McNeil, S.E. 2007. Immunological properties of engineered nanomaterials. **Nature Nanotechnology**, 2(8):469-478.
- Donaldson, K., Murphy, F.A., Duffin, R., Poland, C.A. 2010. Asbestos, carbon nanotubes and the pleural mesothelium: a review of the hypothesis regarding the role of long fibre retention in the parietal pleura, inflammation and mesothelioma. **Particle and Fibre Toxicology**, 7: 5.
- Duan, J., Yu, Y., Yu, Y., Li, Y., Wang, J., Geng, W., Jieng, L., Li, Q., Zhou, X., Sun, Z. 2014. Silica nanoparticles induce autophagy and endothelial dysfunction via the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. **International Journal of Nanomedicine**, 9: 5131-5141.
- Ersöz, Ç., Altun Çolak, D. 2018. Meyve sineği larvalarında SiO₂ nanopartiküllerine bağlı toksisitenin araştırılması. **Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 11(2): 255-262.
- Fanta, E., Rios, F.S.A., Romão, S., Vianna, A.C.C., Freiburger, S. 2003. Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 54(2): 119-130.
- Ferguson, H.W. 2006. Systemic pathology of fish. A Text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. Scotian Press, London, p.64-89, UK.
- Fernandes, M.N., Mazon, A.F. 2003. Environmental pollution and fish gill morphology. **Fish Adaptations**, 203-231.
- Frohlich, E., Roblegg, E. 2012. Models for oral uptake of nanoparticles in consumer products. **Toxicology**, 291: 10-17.
- Gemeinhart, R.A., Luo, D., Saltzman, W.M. 2005. Cellular fate of a modular DNA delivery system mediated by silica nanoparticles. **Biotechnology Progress**, 21: 532-537.

- Genten, F., Terwinghe, E., Danguy, A. 2009. Atlas of Fish Histology. Sience Publishers, Enfield, NH. 978, USA.
- Gingerich, W.H. 1982. Hepatic toxicology of fishes. In: Aquatic toxicology. Weber LJ, (Ed.), Raven Press, pp.55-105, New York.
- Gupta, Y.R., Sellegounder, D., Kannan, M., Deepa, S., Senthilkumaran, B., Basavaraju, Y. 2016. Effect of copper nanoparticles exposure in the physiology of the common carp (*Cyprinus carpio*): Biochemical, histological and proteomic approaches. **Aquaculture and Fisheries**, 15-23.
- Gürcü, B., Yıldız, Ş., Başımoğlu Koca, Y., Koca, S. 2010. Investigation of histopathology and cytogenetic effects of heavy metals pollution on *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) in the Gölarmara Lake, Turkey. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9(4):798-808.
- Gürmen, S., Ebin, B. 2008. Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri – **1. Metalurji Dergisi**, 150: 31-38.
- Handy, R. D., Henry, T. B., Scown, T. M., Johnston, B. D., & Tyler, C. R. 2008. Manufactured nanoparticles: Their uptake and effects on fish-a mechanistic analysis. **Ecotoxicology**, 17: 396-409.
- Handy, R. D., Al-Bairuty, G., Al-Jubory, A., Ramsden, C. S., Boyle, D., Shaw, B. J., et al. 2011. Effects of manufactured nanomaterials on fishes: A target organ and body systems physiology approach. **Journal of Fish Biology**, 79: 821-853.
- Hanks, N.A., Caruso, J.A., Zhang, P. 2015. Assessing *Pistia stratiotes* for phytoremediation of silver nanoparticles and Ag(I) contaminated waters. **Journal of Environmental Management**, 164: 41-45.
- Haverkamp, R.G., Marshall, A.T., Van Agterveld D. 2007. Pick your carats: nanoparticles of gold–silver–copper alloy produced in vivo. **Journal of Nanoparticle Research**, 9(4): 697-700.
- Haverkamp, R.G., Marshall, A.T. 2009. The mechanism of metal nanoparticle formation in plants: Limits on accumulation. **Journal of Nanoparticle Research**, 11(6):1453-1463.

- He, Q., Gao, Y., Zhang, L., Zhang Z., Gao, F., Ji, X., Li, Y., Shi, J. 2011. A pH-responsive mesoporous silica nanoparticles-based multi-drug delivery system for overcoming multi-drug resistance. **Biomaterials**, 32(30): 7711-7720.
- Hussain, S.M., Javorina, A., Schrand, A.M., Duhart, H., Ali, S.F., Schlager, J.J. 2006. The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion. **Toxicological Sciences**, 92: 456-63.
- Isoda, K., Tetsuka, E., Shimizu, Y., Saitoh, K., Ishida, I., Tezuka, M. 2013. Liver injury induced by thirty- and fifty-nanometer-diameter silica nanoparticles. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 36(3): 370-375.
- İşisağ, Ü.S., Önen, Ö., Ergen, G., Üreten, M., Boz, E., Seferoğlu, K., Gökçe, B. 2010. Dioktil adipat'ın (DOA) *Labidochromis caeruleus*'un (Fryer, 1956)(Cichlidae, Teleostei) solungaç histolojisi üzerine etkileri. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 16 (2): 343-346.
- Jo, D.H., Kim, J.H., Yu, Y.S., Lee, T.G., Kim, J.H. 2012. Antiangiogenic effect of silicate nanoparticle on retinal neovascularization induced by vascular endothelial growth factor. **Nanomedicine**, 8(5): 784-91.
- Kaewamatawong, T., Shimada, A., Okajima, M., Inoue, H., Morita, T., Inoue, K., Takano, H. 2006. Acute and subacute pulmonary toxicity of low dose of ultrafine colloidal silica particles in mice after intratracheal instillation. **Toxicologic Pathology**, 34: 958-965.
- Karaman, Z., Dörücü, M. 2017. Balıklarda bağışıklık sistemi organları ve histolojisi. **International Journal of Pure and Applied Sciences**, 3(1): 65-74.
- Kim, JY., Park, JH., Kim, M., Jeong, H., Hong, J., Roy, S., Park, CCY. 2017. Safety of nonporous silica nanoparticles in human corneal endothelial cells. **Scientific Reports**, 7: 14566, DOI:10.1038/s41598-017-15247-2.
- Kim, Y.R., Lee, S.Y., Lee, E.J., Park, S.H., Seang, N.W., Seo, H.S., Shin, S.S., Kim, S.J., Meang, E.H., Park, M.K., Kim, M.S., Kim, C.S., Kim, S.K., Son, S.W., Seo, Y.R., Kong, B.H., Han, B.S., An, S.S., Lee, B.J., Kim, M.K. 2014. Toxicity of colloidal silica nanoparticles administered orally for 90 days in rats. **International Journal of Nanomedicine**, 9(2) 67-68.

- Koca, S., Başimoğlu Koca, Y., Yıldız, Ş., Gürcü, B. 2008. Genotoxic and histopathological effects of water pollution in the Buyuk Menderes River (Aydin/Turkey) on two fish species (*Barbus capito pectoralis* and *Chondrostoma nasus* – Pisces: Perciformes) with determination of water pollution. **Biological Trace Element Research**, 122 (3): 276-291.
- Kuru, M. 2009. Omurgalı Hayvanlar Sistematigi. Palme Yayınları, 841 s, Ankara.
- Lam, C-W., James, J.T., McCluskey R., Hunter R.I. 2004. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. **Toxicological Sciences**, 77: 136-134.
- Lewinski, N., Colvin, V., Drezek, R. 2008. Cytotoxicity of nanoparticles. **Literature Review in Small**, 4: 26-49.
- Lin, W.S.; Huang, Y.W.; Zhou, X.D.; Ma, Y.F. 2006. *In vitro* toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 217: 252-259.
- Lomer, M.C.; Thompson, R.P.; Powell, J.J. 2002. Fine and ultrafine particles of the diet: Influence on the mucosal immune response and association with Crohn's disease. **Proceeding of the Nutrition Society**, 61: 123-130.
- Long, T.C., Saleh, N., Tilton R.D., Lowry G.V., Veronesi, B. 2006. Non-photoactivated titanium dioxide nanoparticles produce reactive oxygen species in immortalized mouse microglia (BV2). **Environmental Sciences and Technology**, 40: 4346-52.
- Ma, L., Zhao, J., Wang, J., Liu, J., Duan, Y., Liu, H., Li, K., Yan, J., Ruan, J., Wang, H., Hang, F. 2009. The acute liver injury in mice caused by nano-anatase TiO₂. **Nanoscale Research Letters**, 4 (11):1275-85.
- Mallatt, J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 42: 630-648.
- Martinez, C. B. R., Nagae, M. Y., Zaia, C. T. B. V., Zaia, D. A. M. 2004. Morphological and physiological acute effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Brazilian Journal of Biology**, 64 (4): 797-807.

- Medina, C., Santos-Martinez, M.J., Radomski, A., Corrigan, O.I., Radomski, M.W. 2007. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. **British Journal of Pharmacology**, 150: 552-8.
- Megep. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı. 2006. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi. Denizcilik, Balıklar, p:30, Ankara.
- Morioka, S., Matsumoto, S. 2008. A note on the hatching period and growth in juvenile *Brycinus imbari* (Pisces: Alestiidae) in the shallow habitats of Lake Malawi. **African Journal of Ecology**, 46(4): 690-962.
- Mu, Q., Hondow, N.S., Krzeminski, L., Brown, A.P., Jeuken, L.J., Routledge, M.N. 2012, Mechanism of cellular uptake of genotoxic silica nanoparticles. **Particle and Fibre Toxicology**, 9: 29.
- Murugadoss, S., Lison, D., Godderis, L., Brule, S.V.D., Mast, J., Brassinne, F., Sebaihi, N., Hoet, P.H. 2017. Toxicology of silica nanoparticles: an update. **Archives of Toxicology**, 91: 2967-3010.
- Nishimori, H., Kondoh, M., Isoda, K., Tsunoda, S., Tsutsumi, Y., Yagi, K. 2009. Histological analysis of 70-nm silica particles-induced chronic toxicity in mice. **European Journal of Pharmaceutics Biopharmaceutics**, 72(3):626-629.
- Oberdörster, G. 2010. Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: concepts of nanotoxicology. **Journal of Internal Medicine**, 267: 89-105.
- OECD, 1992. Ready Biodegradability, Test Guideline No. 301, Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris.
- Olanow, C.W. 2004. Manganese-induced parkinsonism and Parkinson's disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 1012: 209-23.
- Oliveira Ribeiro, C.A., Pelltier, E., Pfeiffer, W.C., Rouleau, C. 2000. Comparative uptake, bioaccumulation, and gill damages of inorganic mercury in tropical and nordic freshwater fish. **Environmental Research**, 83(3): 286-92

- Panas, A., Marquardt, C., Nalcaci, O., Bockhorn, H., Baumann, W., Paur, H.R., Mulhopt, S., Diabate, S., Weiss, C. 2013. Screening of different metal oxide nanoparticles reveals selective toxicity and inflammatory potential of silica nanoparticles in lung epithelial cells and macrophages. **Nanotoxicology**, 7: 259-273.
- Panas, A., Comouth, A., Saathoff, H., Leisner, T., Al-Rawi, M., Simon, M., Seemann, G., Dossel, O., Mulhopt, S., Paur, H.R. 2014. Silica nanoparticles are less toxic to human lung cells when deposited at the air-liquid interface compared to conventional submerged exposure. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, 5: 1590-1602.
- Park, J.H., Jeong, H., Hong, J., Chang, M., Kim, M., Chuck, R.S., Lee, J.K., Park, C.Y. 2016. The Effect of Silica Nanoparticles on Human Corneal Epithelial Cells. **Scientific Reports**, 6: 37762.
- Pierscionek, B.K., Keenan, J., Yasseen, A., Colhoun, L.M., Li, Y.B., Schachar, R.A., Chen, W. 2010. CeO₂ nanoparticles have no detrimental effect on eye lens proteins. **Current Analytical Chemistry**, 6: 172-176.
- Qaranjiki, A. 2017. Sarı prenses çiklit (*Labidochromis caeruleus* Fryer;1956) balığında embriyolojik ve larval gelişimi morfometrik ve histolojik inceleme. Ankara Üni. Fen Bilimleri Ens. Su Ürünleri Anabilim Dalı YL Tezi, Ankara.
- Qhobosheane, M., Santra, S., Zhang, P., Tan, W. 2001. Biochemically functionalized silica nanoparticles. **Analyst**, 126: 1274-1278.
- Roco, M.C. 2005. International perspective on government nanotechnology funding in. **Journal of Nanoparticles Research**, 7: 707-12.
- Rosety-Rodríguez, M., Ordoñez, F. J., Rosety, M., Rosety, J. M., Ribelles, A., Carrasco, C. 2002. Morpho-histochemical changes in the gills of turbot, *Scophthalmus maximus* L., induced by sodium dodecyl sulfate. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 51: 223-228.
- Roy, I., Ohulchanskyy, T.Y., Bharali, D.J., Pudavar, H.E., Mistretta, R.A., Kaur, N., Prasad, P.N. 2005. Optical tracking of organically modified silica nanoparticles as DNA carriers: A nonviral, nanomedicine approach for gene delivery. **Proceeding National Academy of Sciences**, 102: 279-284.

- Santra, S., Wang, K., Tapeç, R., Tan, W. 2001a. Development of novel dye-doped silica nanoparticles for biomarker application. **Journal of Biomedical Optics**, 6: 160-166.
- Santra, S., Zhang, P., Wang, K., Tapeç, R., Tan, W. 2001b. Conjugation of biomolecules with luminophore-doped silica nanoparticles for photostable biomarkers. **Anal. Chem**, 73: 4988-4993.
- Saygı, T. 2009. Akvaryum balıklarından sarı prensesin (*Labidochromis caeruleus*, Fryer 1956) üretilmesi üzerine bir araştırma. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Shankar, S., Kruthika, M., Vinay, S., Hidayathulla, S. 2011. Comparative study to evaluate the effectiveness of silica nano particle and calcium carbonate as abrasive in dentrifice in reducing plaque-A randomized controlled trial. **Journal of Indian Academy of Dental Specialist**, 2: 1-3.
- Singh, N.N., Das, K.V., Srivastava, A.K. 2002. Insecticides and ionic regulation in teleosts: a review. **Zoologica Poloniae**, 47(3-4): 21- 36.
- Siripattanakul-Ratpukdi, S., Ploychankul, C., Limpiyakorn, T., Vangnai, A.S, Rongsayamanont, C., Khan, E. 2014. Mitigation of nitrification inhibition by silver nanoparticles using cell entrapment technique. **Journal of Nanoparticle Research**, 16: 2218.
- Sonia, M., Jerry, H., Charlie, S., John, M., Beth, M., Vicki, B. 2007. Fish Histology and Histopathology. Fish and Wildlife Service. 357s, U.S.
- Stone, R.C., Fellows, B.D., Gi, B., Trebatoski, D., Jenkins, B., Raval, Y., Tzeng, T.R., Bruce, T.F., Mcnealy, T., Austin, M.J., Monson, T.C., Huber, D.L., Mefford, O.T. 2015. Highly stable multi-anchored magnetic nanoparticles for optical imaging within biofilms. **Journal of Colloid and Interface Science**, 459:175-182
- Tanyolaç, A. 1999. Özel Histoloji. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti. 213s, Ankara.
- Tarantini, A., Lancelur, R., Mourot, A., Lavault, M.T., Casterou, G., Jarry, G., Hogeveen, K., Fessard, V. 2015. Toxicity, genotoxicity and proinflammatory effects of amorphous nanosilica in the human intestinal Caco-2 cell line. **Toxicology In Vitro**, 29: 398-407.

- Timur, G, 2013. Balık Histolojisi ve Embriyolojisi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 15: 275, İstanbul.
- Uskoković, V. 2015. When $1 + 1 > 2$: Nanostructured composites for hard tissue engineering applications. **Materials Science and Engineering C**, 57: 434-451.
- Üçüncü, S.İ., Ergen, G., Önen, Ö., Tekkan, B.K., Üreten M., Boz E., Gökçe, B. 2010. Dioktiladipat'ın (DOA) *Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956 (Cichlidae Teleostei) karaciğer histolojisi üzerindeki etkileri. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 16: 197-203.
- Üçüncü Tunca, E. 2015. Nanoteknolojinin temeli nanopartiküller ve nanopartiküllerin fitoremediasyonu. **Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi**, 5(2): 23-34.
- Venkatesan, N., Yoshimitsu, J., Ito, Y., Shibata, N., Takada, K. 2005, Liquid filled nanoparticles as a drug delivery tool for protein therapeutics. **Biomaterials**, 26: 7154-7163.
- Vidya, P.V. Asifa, K.P. Chitra, K.C. 2016. Effect of silica-nanoparticles (SiO₂-NPS) on oxygen consumption in freshwater fish, *Oreochromis mossambicus* (PETERS, 1852). **Jornal of Global Biosciences**, 5(1): 3611-3614.
- Vidya, P.V. Chitra, K.C. 2018. Sublethal effects of silicon dioxide nanoparticles on the structure of gill, liver and brain tissues in the fish, *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852). **International Journal of Applied Research**, 4(4): 228-232.
- Wittig, A., Gehrke, H., Del Favero, G., Fritz, E.M., Al-Rawi, M., Diabaté, S., Weiss, C., Sami, H., Ogris, M., Marko, D. 2017. Amorphous silica particles relevant in food industry influence cellular growth and associated signaling pathways in human gastric carcinoma cells. **Nanomaterials**, 7:18.
- Yáñez-Sedeño, P., Pingarrón, J.M. 2005. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 382 (4):884-886.

- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H., Xi, Z. 2009. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: The role of particle size, shape and composition. **Journal of Applied Toxicology**, 29: 69-78.
- Yang, Y.X., Song, Z.M., Cheng, B., Xiang, K., Chen, X.X., Liu, J.H., Cao, A., Wang, Y., Liu, Y., Wang, H. 2014. Evaluation of the toxicity of food additive silica nanoparticles on gastrointestinal cells. **Journal of Applied Toxicology**, 34: 424-435.
- Ye, Y.Y. Liu, J.W. Xu, J.H., Sun, L.J; Chen, M.C.; Lan, 2010. M.B. Nano-SiO₂ induces apoptosis via activation of p53 and bax mediated by oxidative stress in human hepatic cell line. **Toxicology In Vitro**, 24: 751-758.
- Yıldız, Ş., Gürcü, B., Başımoğlu Koca, Y., Koca, S. 2010. Histopathological and genotoxic effects of pollution on *Anguilla anguilla* in the Gediz River (Turkey). **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9(23): 2890-2899.
- Zhang, F.F., Wan, Q., Li, C.X., Wang, X.L., Zhu, Z.Q., Xian, Y.Z., Jin, L.T., Yamamoto, K. 2004. Simultaneous assay of glucose, lactate, L-glutamate and hypoxanthine levels in a rat striatum using enzyme electrodes based on neutral red-doped silica nanoparticles. **Analitical and Bioanalytical Chemistry**, 380: 637-642.
- Zhu, K., Wu, M., Lai, H., Guo, C., Li, J., Wang, Y., Chen, Y., Wang, C., Shi, J. 2016. Nanoparticle-enhanced generation of gene-transfected mesenchymal stem cells for *in vivo* cardiac repair. **Biomaterials**, 74: 188-199.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ümran ÇİNAR

Doğum Yeri Ve Tarihi : Sivaslı / 20.03.1983

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü A.B.D.

Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

A) Bildiriler

- Jeotermal Atıksuyun *Labidochromis caeruleus* (Sarı Prens) Kas Dokusuna Histopatolojik Etkileri. Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi Adnan Menderes Üniversitesi, 26-28 Ekim, 2018.

İLETİŞİM

E-Posta Adresi : umran.cinar@saglik.gov.tr

Tarih :20/11/2019