



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ



**SİLİSYUM DİOKSİD NANOPARTİKÜLLERİNİN, AKDENİZ
MİDYESİ (*Mytilus galloprovincialis* LAMARCK, 1819) DOKULARI
ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Fatma Selin BASKIN

Biyoloji Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ANAkkALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİLİSYUM DİOKSİD NANOPARTİKÜLLERİNİN, AKDENİZ
MİDYESİ (*Mytilus galloprovincialis* LAMARCK, 1819) DOKULARI
ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma Selin BASKIN

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih:20/08/2019

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Sibel HAYRETDAG

ANAkkALE

Fatma Selin BASKIN tarafından Prof. Dr. Sibel HAYRETDAG̃ yönetiminde hazırlanan ve **20/08/2019** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Silisyum Dioksit Nanopartiküllerinin, Akdeniz Midyesi (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) Dokuları Üzerindeki Toksik Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Sibel HAYRETDAG̃

.....

Başkan

Prof. Dr. Figen ERKOÇ

.....

Üye

Prof. Dr. Herdem ASLAN

.....

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Fatma Selin BASKIN

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen tüm bilgi birikimleri ve tecrübelerini her daim paylaşan saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Sibel HAYRETDAG’a; deneylerim süresince gerekli olan laboratuvar araç-gereçlerini kullanmam için imkan sağlayan Prof. Dr. Cemal Varol TOK’a; çalışmam boyunca engin deneyimlerini benimle paylaşıp desteğini bir an olsun eksik etmeyen Doç. Dr. Mert GÜRKAN’a ve Arş. Gör. Dr. Selin ERTÜRK GÜRKAN’a; çalışmalarım boyunca tez materyalimin temininde bana destek olan Gelibolu Deniz Ürünleri İthalat İhracat San. ve Tic.Ltd.Şti.’ne; tez çalışmamda manevi desteğini esirgemeyen her daim bana yardımcı olan İlke KARAKAŞ’a ve Özge ÇAKMAK’a; her daim pozitif yaklaşımıyla manevi desteğini bir an olsun eksik etmeyen Taner TENEKECİ’ye ve hayatımın her evresinde maddi ve manevi bana destek olan annem Serap BASKIN ve babam Tahir BASKIN’a; sabırla her zaman beni dinleyen, destekleyen ve her daim yanımda olan ablam İlknur BAŞOĞUL’a ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Fatma Selin BASKIN
Çanakkale, Ağustos 2019

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
‰	Binde oranı
⁰ C	Santigrat derece
nm	Nanometre
NP	Nanopartikül
SiO ₂	Silisyum Dioksit
VBD	Veziküler bağ dokusu
ADG	Adipogranüler dokuları
FAO	BM Gıda ve Tarım Örgütü
ASW	Yapay deniz suyu
Cu	Bakır
Cd	Kadmiyum
Au	Altın
ZnO	Çinko oksit
TiO ₂	Titanyum dioksit
NCB	Nano karbon siyahı
GST	Glutasyon S-transferaz
µg	Mikrogram
ml	Mililitre
MDA	Malondialdehid
MN	Mikronükleus
LT ₅₀	Öldürme Zamanı
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar
cm	Santimetre
mm	Milimetre
mg	Miligram
SL	Solungaç lameli
H&E	Hematoksilen-Eozin
HP	Hiperplazi
M	Mide
BD	Bağ doku
T	Hepatopankreatik tübül

SK	Sekonder kanal
PK	Primer kanal
L	Lümen
E	Epitelyum
hi	Hemolitik infiltrasyon
eh	Epitel hücre
io	İnfilamasyon odakları
ROS	Reaktif oksijen türleri
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikali



ÖZET

SİLİSYUM DİOKSİD NANOPARTİKÜLLERİNİN, AKDENİZ MİDYESİ (*Mytilus galloprovincialis* LAMARCK, 1819) DOKULARI ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Fatma Selin BASKIN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sibel HAYRETDAG

20/08/2019, 49

Çalışmamızda; sucul ekosistemin önemli bir bileşeni olan *Mytilus galloprovincialis* (akdeniz midyesi) örneklerinin, silisyum dioksit (SiO_2) nanopartikülüne maruziyetinin olası toksik etkilerinin histopatolojik olarak ortaya konması amaçlanmıştır. *M. galloprovincialis* örnekleri 96 saat süreyle 3 farklı konsantrasyonda (0, 0,1, 1 ve 10 mg/l) SiO_2 nanopartikülüne maruz bırakıldıktan sonra histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Işık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucunda elde edilen sonuçlara göre SiO_2 nanopartikülüne maruz bırakılan midyelerin histolojik kesitlerinde: solungaçlarda lameller füzyon ve deformasyon, sindirim bezlerinde primer kanal, sekonder kanal ve hepatopankreatik tübüllerde hasar ve bunlara ait bağ dokusunda hemolitik infiltrasyon, mantodaki bağ dokuda doku parçalanması ve gonad dokusundaki veziküler bağ dokuda inflamasyon odakları tespit edilmiştir. Doz artışına bağlı olarak histopatolojik bulgular artış göstermiştir. Elde edilen sonuçlara göre; SiO_2 'in uygulanan dozlarda *Mytilus galloprovincialis* için toksik etkili olduğunu söylemek mümkündür.

Anahtar sözcükler: *Mytilus galloprovincialis*, Silisyum Dioksit, Histopatoloji, Nanopartikül, Biyomarkır, Ekotoksikoloji.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE TOXIC EFFECTS OF SILICON DIOXIDE NANOPARTICLES ON TISSUES OF THE MEDITERRANEAN MUSSEL (*Mytilus galloprovincialis* LAMARCK, 1819)

Fatma Selin BASKIN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biology Science

Advisor: Prof. Dr. Sibel HAYRETDAG

20/08/2019, 49

In our study; *Mytilus galloprovincialis* (Mediterranean mussel) was used as indicator species, which are an important component of the aquatic ecosystem, to reveal potential toxic effects of silicon dioxide (SiO₂) nanoparticles. Samples of *M. galloprovincialis* were evaluated histopathologically after exposure to SiO₂ nanoparticle at 3 different concentrations (0, 0.1, 1 and 10 mg/L) for 96 hours. According to the finding by light microscopy, the histological sections of the mussels exposed to SiO₂ nanoparticles showed: fusion and deformation of the lamellar gills, primary duct in the digestive glands, secondary duct and hepatopancreatic tubules, damage to the connective tissue and hemolytic infiltration, focal inflammation in the vesicular connective tissue. Histopathological findings increased, in a concentration dependent manner. In conclusion, it during 96 h has been proven. That SiO₂ is toxic to *Mytilus galloprovincialis* at the administered concentrations.

Keywords: *Mytilus galloprovincialis*, Silicon Dioxide, Histopathology, Nanoparticle, Biomarker, Ecotoxicology.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. <i>Mytilus galloprovincialis</i>	4
2.1.1. Akdeniz Midyesi Morfolojisi	5
2.1.2. Akdeniz Midyesi Biyolojisi.....	6
2.1.3. Akdeniz Midyesi Üreme Biyolojisi.....	8
2.1.4. <i>M. galloprovincialis</i> 'in Besin Değerleri.....	13
2.2. Nanopartiküller	13
2.2.1. SiO ₂ NP'lerinin Özellikleri	15
2.3. Midyeler ve Toksisite Çalışmaları	15
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Deney Hayvanı	20
3.1.2. SiO ₂ Nanopartikülü	20
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Deney Düzenekinin Kurulması	20
3.2.2. SiO ₂ NP' nün Midyelere Uygulanması.....	21
3.2.3. Histopatolojik İncelemeler	22
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	23
4.1. Histopatolojik Bulgular	23

4.2. Tartışma.....	33
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	I



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. <i>Mytilus galloprovincialis</i> kabuk kısmının genel görüntüsü (Özgün).	5
Şekil 2.2. Midye organlarının şematik gösterimi (Ergünden.,2012)	6
Şekil 2.3. Akdeniz midyesinin genel anatomisi (Özgün)	6
Şekil 2.4. Akdeniz midyesi genel solungaç görüntüsü (Özgün).....	7
Şekil 2.5. Midye beslenmesi (Aguascope, bt)	8
Şekil 2.6. <i>Mytilus galloprovincialis</i> morfolojik eşey tayini (Anonim).....	9
Şekil 2.7. Midyelerde ♀ gonad gelişimi (Duinker ve ark., 2008)	10
Şekil 2.8. Midyelerde ♂ gonad gelişimi (Duinker ve ark., 2008)	11
Şekil 2.9. Glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu (VBD) evreleri (Duinker ve ark., 2008)	12
Şekil 2.10. Protein ve lipid depolarına sahip adipogranüler dokusu (ADG) evreleri (Duinker ve ark., 2008)	12
Şekil 3.1. Deney düzeneği	21
Şekil 3.2. SiO ₂ Nanoparikülü ve ultrasonik banyoda sonifikasyonu (Özgün)	21
Şekil 3.3. Parafin bloklara alınan midye dokuları (Özgün)	22
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait midyelerin solungaç lamelleri (SL). H&E	24
Şekil 4.2. a.0,1 mg/l doz SiO ₂ NP uygulama grubunda solungaç lamelinde füzyon (*) ve solungaç lamellerinde deformasyon(ok). H&E b.1 mg/l doz SiO ₂ NP uygulama grubunda solungaç lamellerinde füzyon (*) ve solungaç lamellerinde deformasyon (ok). H&E.....	24
Şekil 4.3. a.10 mg/l doz SiO ₂ NP uygulama grubunda solungaç lamelinde füzyon (*) ve solungaç lamellerinde deformasyon (ok).H&E b.10 mg/l dozSiO ₂ NP uygulama grubunda solungaç epitelyum hücresinde hiperplazi (HP). H&E.....	25
Şekil 4.4. Kontrol grubuna ait midyelerin sindirim bezinin genel görüntüsü.Mide (M), midenin etrafını çevreleyen hepatopankreatik tübüller (T), bağ dokusu (BD*). H&E	26
Şekil 4.5. Kontrol grubuna ait midyelerin sindirim bezinde bulunan sekonder kanal sistemi (SK) ve çevresindeki hepatopankreatik tübüller (T). H&E	26
Şekil4.6. Kontrol grubuna ait midyelerin sindirim bezinde bulunan normal primer kanal görüntüsü (PK). H&E	27
Şekil 4.7. Kontrol grubu sekonder kanal sistemi (SK) , sekonder kanal lümeni (L) ve fırça kenarlı epitelyumun uç kısmındaki silli bölge (a). H&E	27
Şekil 4.8. 0,1 mg/l SiO ₂ NP uygulama grubundaki sindirim bezinde primer ve sekonder kanallarda dejenerasyon (PK, SK). Tübüllerdeki epitelyumda dejenerasyon ve nekroz (T ve eh). Bağ dokusunda hemositik infiltrasyon (+). H&E.....	28
Şekil 4.9. 1 mg/l SiO ₂ NP uygulama grubundaki sindirim bezinde sekonder kanalda dejenerasyon (SK). Tübüllerdeki epitelyumda dejenerasyon (T). Bağ dokusunda hemositikinfiltrasyon (+). H&E.....	28
Şekil 4.10. 10 mg/l SiO ₂ NP uygulama grubundaki sindirim bezinde sekonder kanalda dejenerasyon (SK). Tübüllerdeki epitelyumda dejenerasyon (T). Bağ dokusunda dejenerasyon (BD). H&E	29
Şekil 4.11. a.Kontrol grubu manto dokusu genel görüntüsü H&E b.Epitelyum (E) ve manto bağ dokusu (BD). H&E.....	29
Şekil 4.12. 0,1 mg/l SiO ₂ NP uygulama grubundaki manto dokusunda doku parçalanması (dp). Epitel hücre (eh) ve bağ dokusunda hemositik infiltrasyon (hi). H&E....	30
Şekil 4.13. 1 mg/l uygulama gurubundaki manto dokusunda doku parçalanması (dp). Epitel hücre (eh) ve bağ dokusunda hemositik infiltrasyon (hi). H&E	30

Şekil 4.14. 10 mg/l SiO ₂ NP uygulama grubundaki manto dokusunda epitel hücre (eh) ve bağ dokusunda hemositik infiltrasyon (hi). H&E	30
Şekil 4.15. a. Kontrol grubu midyelerde erkek gonad yapısının genel görüntüsü. H&E b. Kontrol grubu midyelerde erkek gonad evre 2 (E2) ve veziküler bağ dokusu (VBD). H&E	31
Şekil 4.16. a.0,1 mg/l SiO ₂ NP uygulama grubundaki erkek gonad dokusuna bakıldığında ise veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io). H&E. b. Erkek gonad evre 3 (E3) ve çoklu inflamasyon odakları (io). H&E	32
Şekil 4.17. a.1 mg/l SiO ₂ NP uygulama grubundaki erkek gonad yapısının veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io).H&E b.veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io). H&E	32
Şekil 4.18. a.10 mg/l SiO ₂ NP uygulama grubundaki erkek gonad yapısındaki veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io) ve evre 3 gonad (E3). H&E b.veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io). H&E	33



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. <i>Mytilus galloprovincialis</i> 'in taksonomik kategorisi (MolluscaBase, 2019).....	4
Çizelge 2.2. Nanopartiküller ve Kullanım Alanları (Senjen ve ark., 2009)	14
Çizelge 4.1. SiO ₂ Nanopartikülü Uygulanan Midyelerde Histopatolojik Bulguların Gözlenme Sıklığı	23



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Teknoloji ve endüstrinin son yıllarda hızla gelişmesi ile hava, toprak ve suda oluşan çevre kirliliği birçok olumsuz etkiyi de beraberinde getirmektedir. Kirleticiler genellikle su ortamlarına endüstriyel kaynak aracılığı ile kontamine olabilmektedir. Bunun yanında atmosferin de önemli bir kaynak olabileceği araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur (Geldiay ve Kocataş, 1972). Sucul ekosistemler birçok hayvansal ve bitkisel kökenli, yüzen veya sediment tabakasında yaşayan organizma gruplarına ev sahipliği yapmaktadır. Kirletici maddelerin besin zincirine dahil olması bu maddelerin suda çözünmesi, ortamda yaşayan organizmaya nüfus etmesi, ortamda birikmesi veya dibe çökmesiyle gerçekleşir (Taylan ve ark.,2007). Sucul ortamdaki kirliliğin belirlenmesinde genellikle suya ait kimyasal analizlerden elde edilen sonuçlar oldukça önemli olmakla birlikte; tek başına yeterli olmamasından dolayı, tamamlayıcı diğer analizlerin de yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Sudaki kirliliği en iyi sucul organizmalar yansıtmaktadır (Wang ve ark., 1999) Kirlilik, denizlerdeki ekolojik dengeyi bozarak bunun sonucunda denizel organizmaların popülasyonunu tehdit eder ve sonrasında besin zincirine ulaşır (Uysal, 1978; Tuncer, 1987; Solmaz ve ark., 2000).

Hızla gelişen nanoteknoloji, boyutları 1-100 nm arasında değişebilen malzemelerin dizaynedildiği önemli bir endüstri faaliyetidir. Bu teknolojinin ürünleri olan nanomalzemeler, her geçen gün artan bir biçimde, farklı alanlarda tüketicilerin kullanımına sunulmaktadır (Hanks ve ark. 2015). Endüstriyel olarak otomotiv sektöründe; güçlü, kimyasal ve sıcaklığa dayanıklı, hafif malzemelerin üretiminde; güneş,yakıt ya da piller aracılığı ile enerji üretilen sistemlerde; tıp ve sağlık alanında mikro-nano cerrahi ve hücre/doku hasarı belirlenmesinde ve ultraviole korumalı kozmetik ürünlerinde; gıda sektöründe tuz, hazır kahve, toz halindeki gıda ürünlerinde topaklanmayı önleyici olarak pek çok farklı alanda nanomalzemeler kullanılmaktadır (Zhang, 2003; Biswas ve Wu, 2005). Nanomalzemelerin kullanımın artması sonucunda yarattığı etkilerle ilgili sorunlar, bu ürünlerin insan yaşamında aktif bir yere sahip olmasıyla gün yüzüne çıkmaktadır (Colvin, 2003; Dagani, 2003; Dreher, 2004; Hoet ve ark., 2004). Nanoteknolojik ürünlerin geliştirilmesi sonucunda beklenen faydanın yanı sıra, olağandışı özellikleriyle ilişkili potansiyel toksisite ve ekotoksikolojik endişeler de giderek artış göstermektedir. Üretilen nanomalzemelerin güvenilirliği ile ilgili endişelerin artmasına sebep olan önemli iki unsur bulunmaktadır: ilki; bu nanomalzemelerin çeşitliğinin fazla olması ve mikro ölçeye sahip

her partikülden yapılabilir olmasıdır. Bu da bu kadar çeşitte üretilebilen nanomalzelerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki etki mekanizmalarının da çeşitlilik gösterebileceği düşünülmektedir. İkincisi ise; nanomalzemelerin boyutları sebebiyle organlara, dokulara ve hücrelere kolay yoldan etki edebilmesidir (Warheit ve ark., 2004; Wiench ve ark., 2009; Zhu ve ark., 2010).

Günümüzde her alanda yaygın bir şekilde maruz kalınan nanopartiküllerin (NP) biyolojik sistemler üzerindeki olası etkileri hakkında çalışmalar oldukça sınırlıdır (Roco, 2005; Dale, 2005; Chichiricco ve Poma, 2015; Srivastava ve ark., 2015). Bu nedenle pek çok çalışmada, nanomalzemelerin etkilerini ortaya koyan kapsamlı araştırmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır (Zhu ve ark., 2008; Wang ve ark., 2009; Soenen ve Cuyper, 2009; Nations ve ark., 2011; Garcia ve ark., 2011; Elle ve ark., 2013; Rinna ve ark., 2015; Heydrnejad ve ark., 2015). NP'lerin hem doğrudan hem de dolaylı yoldan hava, toprak ve su kaynaklarını kontamine ederek, tüm canlı grupları üzerinde bir tehdit unsuru olabileceği ile ilgili çevresel kaygılar söz konusudur (Nowack ve Bucheli, 2007; Oberdörster ve ark., 2005).

Değişik canlı grupları üzerine yapılan araştırmaların sonuçlarında gözlenen önemli farklılıklar; NP'lerin büyüklüğü, fiziko-kimyasal özellikleri ve türüne göre değişiklik göstermektedir. NP'lerin; fiziksel ve kimyasal özellikleri, sadece elementel bileşim göstermesine bağlı olmayıp; aynı zamanda yüzeyinin kaplandığı kaplamayla, çevresel koşullarla (sıcaklık, pH, oksidasyon ve ışığa maruz kalma) ve sentezleriyle de değişebilmektedir (Berg ve ark., 2009). Organizmaların bireysel toksisite toleransları da düşünüldüğünde, bu nanoparçacıkların farklı farklı canlılarda ve farklı çevresel koşullarda, değişik etki mekanizmalarının olabileceği açıktır. Bu nedenle, aynı nanopartiküllerin farklı organizma ve farklı çevre üzerindeki etkilerini saptamak için doğru olan toksikolojik modellerin kullanılması son derece önemlidir (Hoet ve ark., 2004).

Nanoteknolojik uygulamalarda önemli bir yere sahip olan silisyum dioksit nanoparçacıkları (SiO_2 NP) tekstil ve boya endüstrisi, gıda, kozmetik, tıbbi görüntüleme, ilaç taşıyıcı sistemler ve kırtasiye ürünlerinde (ofis malzemesi) sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca SiO_2 NP'leri, cam ve yarı iletken malzemelerin üretiminde en çok tercih edilmektedir (Watanabe ve ark., 2002; Liu ve ark., 2010). Bu NP ile yapılan bazı çalışmalar, organizmalara çeşitli yollarla maruziyeti (oral, dermal, inhalasyon, intraperitoneal, subkutanöz, intravenöz gibi) sonucunda kardiyotoksik, sitotoksik, genotoksik etkiler meydana getirebileceğini göstermektedir (Yu ve ark., 2016; Niu ve ark., 2016; Shamsi ve ark., 2017).

Besin ağıının alt basamaklarında olan bivalv mollusklar özellikle suyu filtrasyonla beslendiklerinden, kirliliğe en çok maruz kalan omurgasız hayvan grubu arasında yer almaktadır. Tatlı su, nehir ağzı ve deniz ortamlarında geniş bir dağılım gösteren bu canlılar farklı kirletici maddelerin etkilerini değerlendirmede sıklıkla kullanılan ekolojik bir gruptur. Sesil olarak yaşayan midyeler, beslenme şekillerinden dolayı sudaki birçok bileşiği (pestisitler, hidrokarbonlar, metaller, vb.) de dokularında biriktirmektedirler. Midyelerin beslenme (süzme) hızları; midyenin ve partiküllerin boyutuna, etrafta bulunan partiküllerin konsantrasyonuna ve tipine, suyun sıcaklığı ile akıntı hızına göre değişmektedir (Bayne, 1976). Normal boyutlardaki bir midye günde 20-40 litre arasındaki suyu filtre edebildiğinden, biyolojik izleme çalışmalarında kirlilik göstergesi indikatör türler olarak yaygın kullanılmaktadır (Örs, 2008).

Ülkemizde fazla sayıda bulunması, kolay örneklenmesi, geniş bir coğrafik alanda dağılışı göstermesi ve teşhis probleminin nispeten az olması gibi özellikleri dolayısıyla, denizel midyeler arasında kirlilik indikatörü olarak en çok tercih edilen türlerden birisi olan *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819(Kara midye veya Akdeniz Midyesi), bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir organizmadır (Aksoy ve ark., 1999).Bu özelliklerin yanı sıra, besin ağıının alt basamaklarında yer alması, diğer pek çok canlının da besinini oluşturmasından dolayı ekolojik öneme sahiptir. Bu gerekçe ile çalışmamızda;test organizması olarak seçilen *M. galloprovincialis* örnekleri laboratuvar ortamında, kullanımı oldukça yaygın olan SiO₂ NP'lerine maruz bırakılıp, histopatolojik olarak değerlendirilerek, doku seviyesinde toksisitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan literatür araştırmasında bu şekilde bir çalışmaya rastlanmadığından, elde edilen bulguların ekotoksikolojik ve nanotoksikolojik olarak önemli bir katkı sağlayacağı ve daha sonra yapılacak çalışmalar için yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

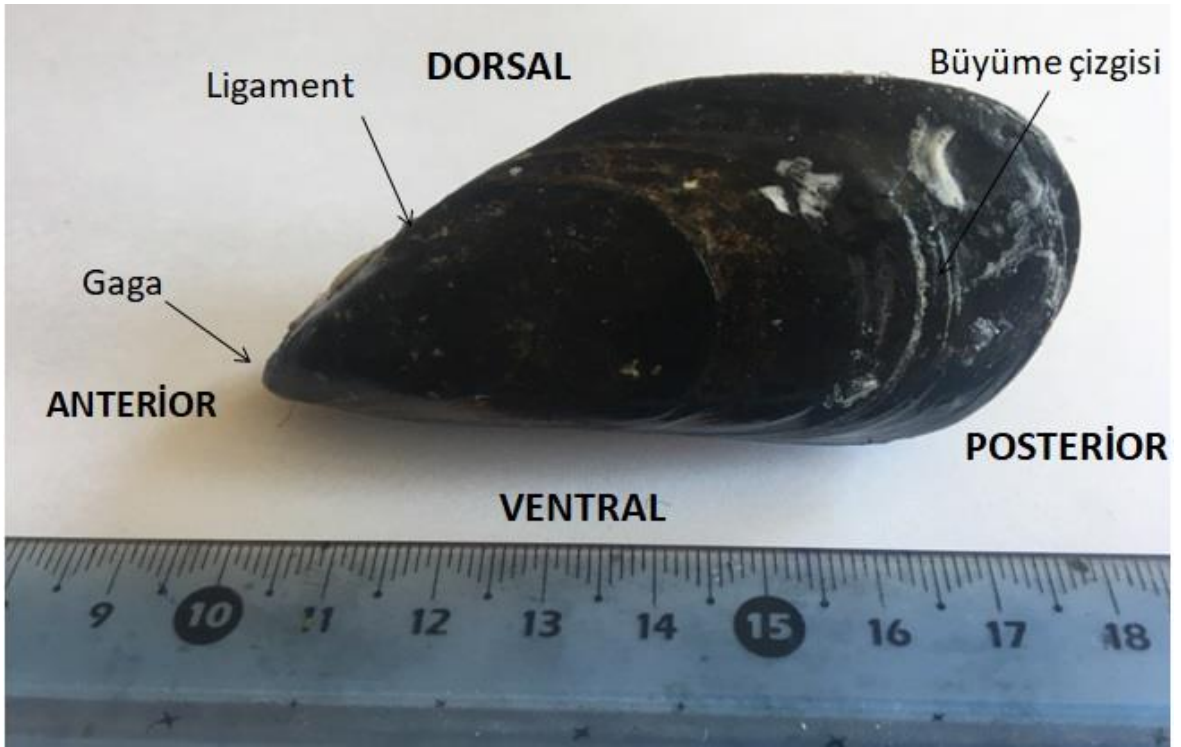
2.1. *Mytilus galloprovincialis*

Mytilidae familyasının en önemli türlerinden bir olan ve taksonomik kategorisi Çizelge 2.1.'de verilen *Mytilus galloprovincialis* (Kara midye veya Akdeniz midyesi) ülkemiz denizlerinde yaygın dağılışı gösteren, ekonomik açıdan da öneme sahip değerli bir türdür. Geniş bir sıcaklık (2-300C) ve tuzluluk (%5-40) toleransına sahip olan bu midyeler için optimum sıcaklık ve tuzluluk değerleri sırasıyla 10-20°C ve %15-25 arasındadır (Uysal, 1970).

Çizelge 2.1. *Mytilus galloprovincialis*'in taksonomik kategorisi (MolluscaBase, 2019)

Regnum	Animalia
Phylum	Mollusca
Class	Bivalvia
Subclass	Pteriomorphia
Order	Mytilida
Superfamily	Mytiloidea
Family	Mytilidae
Subfamily	Mytilinae
Genus	<i>Mytilus</i>
Species	<i>Mytilus galloprovincialis</i>

2.1.1. Akdeniz Midyesi Morfolojisi

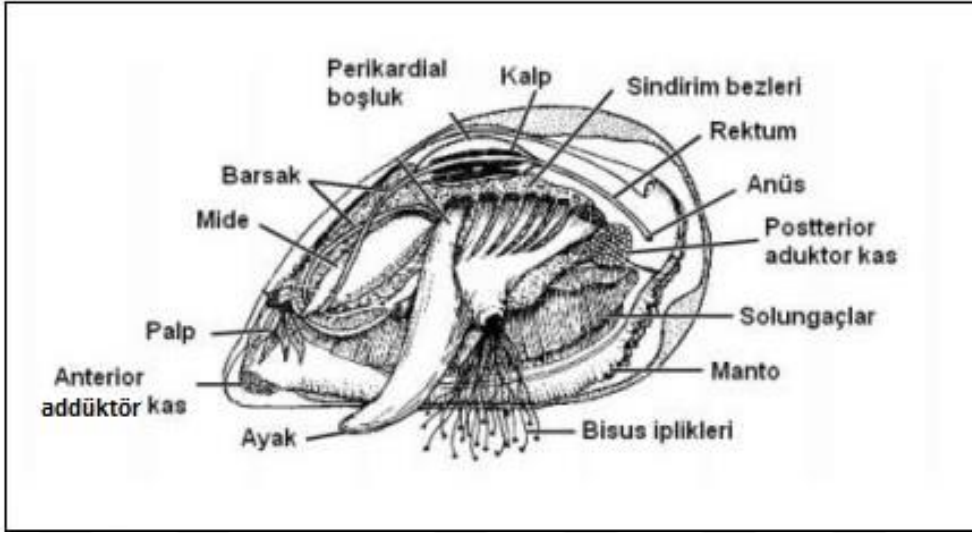


Şekil 2.1. *Mytilus galloprovincialis* kabuk kısmının genel görüntüsü (Özgün).

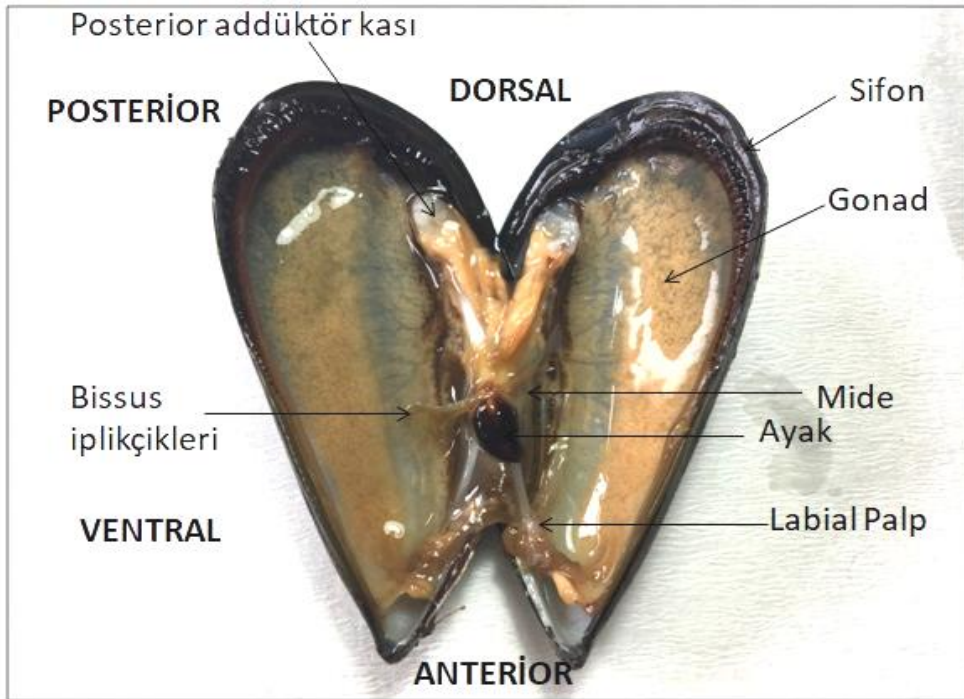
Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*) kabukları eşit iki parça şeklinde olup; ön (anterior), arka (posterior), ventral ve dorsal kenar olmak üzere dört kısma kolayca ayırt edilebilir. Ön kenar oldukça kısa olup kabuklar burada birbirlerine bağlantılıdır (Tosyalı, 2005). Kabuğun dış kısmı mor-siyah ve kahverengi gibi çeşitli tonlarda olurken, içi ise sedef parlaklığındadır. Bu türün yaygın boy uzunluğu 7-8 cm olmasına rağmen maksimum 10-11 cm kadar olabilir. Kabuklar bissus deneni ipliklerle kendilerini bir nesnede sabitler. Kabuğun ventralinde bulunan bissus yarığı, periostrakum kıvrımlarıyla örtülmüştür ve bunlar, kabuklar kapandığında bissus iplikleri yardımıyla aralanan kısımdan su ve yabancı cisim girişi engellenmiş olur (Aslan, 2010).

Kabukların üst kısımdan eliptik daireler şeklinde başlayan ve kenara paralel yönde oluşan büyüme çizgileri bulunmaktadır. Büyüme çizgilerindeki anormal sıklaşma midyenin uygun olmayan ekolojik şartlar altında kaldığının göstergesidir; bu yukarı doğru kabarma veya aşağıya doğru çökme şeklinde görülür. Midyelerde kabuk yüksekliğine bakıldığında sağ kabuk sol kabuktan 1 mm kadar daha yüksektir (Uysal, 1970).

2.1.2. Akdeniz Midyesi Biyolojisi



Şekil 2.2. Midye organlarının şematik gösterimi (Ergünden.,2012)



Şekil 2.3. Akdeniz midyesinin genel anatomisi (Özgün)

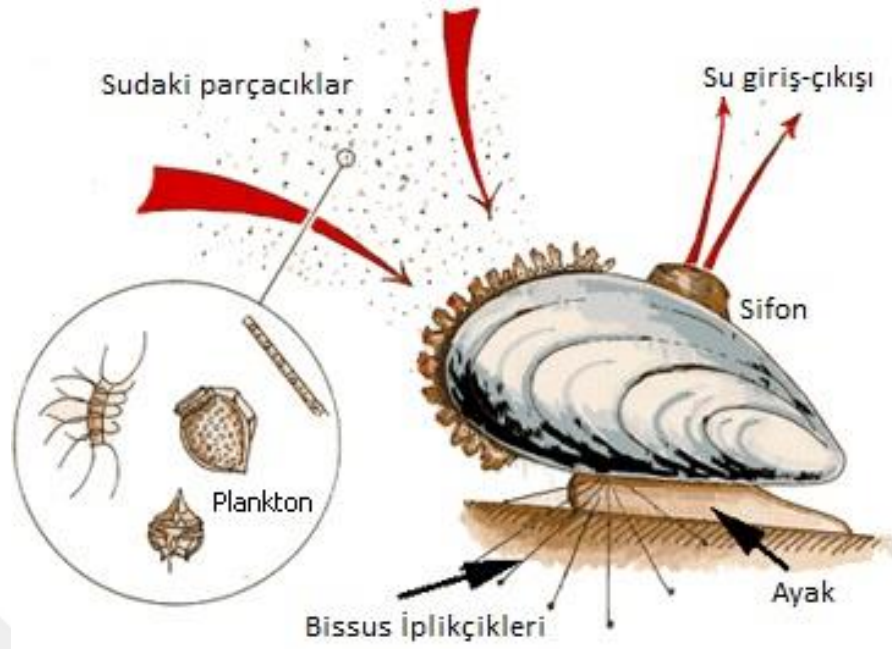
Kabuklar addüktör kası kesilerek açıldığında ilk olarak görülen kısım manto boşluğudur. Bu boşlukta yer alan kısımlar isekabuk içerisine sıkı bir şekilde bağlanmış olan manto ve suyun manto boşluğuna süzülmesini sağlayan sifon, ligament ekseni üzerinde ince yarık halinde bulunan bir ağız ve etrafında altta ve üstte birer çift halinde bulunan labial palptir. Labial palplerin birbirine bakan kısımları oluklu olup. Bu oluğun alt

kısımında mide, üst kısmında kıvılcımsı koyu kahve renkte ayak bulunur. Ayağın bulunduğu kısmın hemen yanında bissus ipliklerinin çıktığı bissogen bezleri konumlanmıştır. Gonadlar ise mantoda geniş bir alanı kaplamaktadır (Uysal,1970; Gosling,1992; Seed ve Suchanek, 1992).



Şekil 2.4. Akdeniz midyesi genel solungaç görüntüsü (Özgün)

Midyelerde iki çift solungaç bulunur. Solungaçlar vücut duvarına bağlı, uçları serbest birçok filamentten oluşur ve kitap yaprağı şeklindedir. Suyun akışı solungaçlar ve mantonun iç yüzeyiyle sağlanır. Bu nedenle solunumda manto epitelide görev almaktadır. Üreme, boşaltım ve anüs açıklıkları, solungaç bantları ile posteriyör kapama kası arasında yer alır. Perikard boşluğu ve bu boşlukta bulunan kalp ise dorsalde ligamentin bittiği yerden posteriyöre doğru uzanan kısımda bulunmaktadır (Uysal,1970; Gosling,1992; Seed ve Suchanek, 1992).



Şekil 2.5. Midye beslenmesi (Aguascope, bt)

Bivalvlerde beslenme, genellikle iki şekilde yapılır. İlk olarak alınan besin parçacıkları suyun akımıyla hayvanın ön tarafına (anterior) gelir ve burada çökerek depolanır. Depolayarak beslenenlerde, besin parçaları solungaçlar vasıtasıyla labial palplere (ağız çıkıntıları) ulaştırılır ve ağza iletilir (Morse ve Zardus, 1997). Diğer bir beslenme şekli de; suda süspansiyon halinde bulunan besin parçaları, solungaçların besin oyuklarından süzülerek alınır ve solungaçlarda bulunan mukositlerden salgılanan mukus sıvısı yardımı ile ilerleyerek ağız çıkıntılarına, oradan da ağza getirilir (Owen, 1966; Salman, 2004). Ağza iletilmiş olan besin parçaları, kısa bir özofagusla mideye geçer (Morse ve Zardus, 1997). Mideye gelen besin parçalarından uygun büyüklükte olanlar ise, kristal çubuğun midedeki dönüşüyle seçilir. Seçilen besin parçaları, enzimler aracılığıyla midede hücre dışında sindirilir. Sonra sillerin oluşturduğu akıntılar yardımıyla hücre dışı sindirimi gerçekleşmiş besin parçaları, sindirim bezindeki primer kanallara ve daha sonra da sekonder kanallara geçer. Sekonder kanallardan geçerek sindirim tübüllerin gelen besin parçaları, sindirim hücreleri tarafından absorbe edilir ve burada besinlerin hücre içi sindirimi gerçekleşmiş olur (Owen, 1955).

2.1.3. Akdeniz Midyesi Üreme Biyolojisi

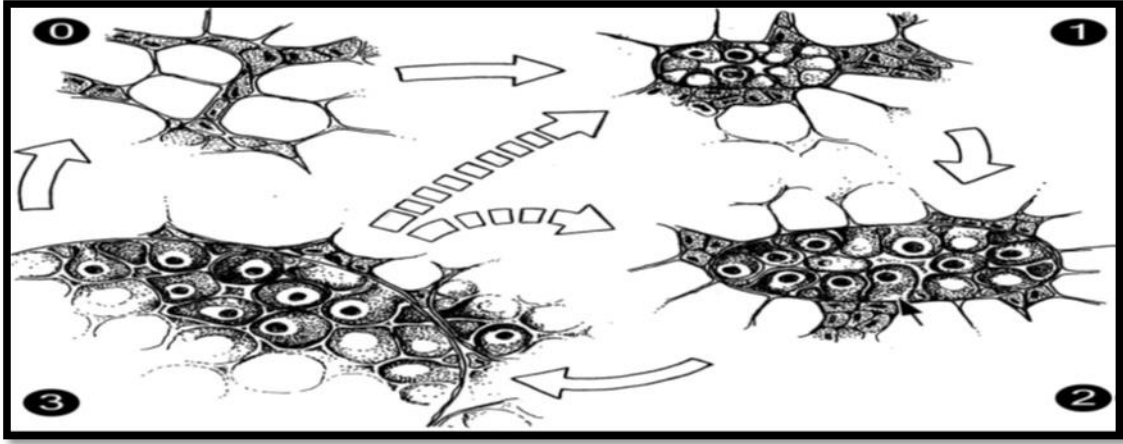
Midyelerde üreme sistemi genel olarak solungaçlar, kaslar ve ayak hariç vücudun tamamına yayılmış halde bulunur. Üreme sistemi kanal ve kanalcıklardan oluşur, bu

kanalların uçları ise bağ dokusunda ve genital organlarda son bulur. Üreme zamanlarında genital organın yerleşmiş olduğu manto dokusu tamamen üreme hücreleriyle dolar. Bu hücreler mesosomada, perikardial boşluğun hemen altındaki dokulara kadar yayılır (Seed ve Suchanek, 1992). Dişi üreme organları portakal sarısı, erkek üreme organları krem renklidir (Şekil 2.6.). Manto dokusunda gelişen ve atılmaya hazır hale gelen yumurta veya sperm hücreleri genital kanallardaki silller vasıtasıyla dışarıya atılır. Üreme hücrelerinin atılması 2-3 saat ya da 2-3 gün kadar sürebilir (Field,1922).



Şekil 2.6. *Mytilus galloprovincialis* morfolojik eşey tayini (Anonim)

M. galloprovincialis örneklerinde yumurtlama ve sperm bırakımının, Mayıs-haziran ayından Eylül sonundan kadar, iki periyot halinde devam ettiği bildirilmektedir (Rayment, 1955; Lubet, 1957, 1959 ve 1963; Renzoni, 1961). Yumurta bırakma miktarı ve süresi bulundukları ortamdaki tuzluluk ve su sıcaklığına, besin türlerine ve bolluğuna, bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu nedenle Kuzey denizlerindeki formlarda yumurtlama yaz aylarında olur (Lubet, 1959). Midyeler ayrı eşeyli olsalarda çok nadir hermofrodit olanlarına rastlanır (Renzoni, 1961).



Şekil 2.7. Midyelerde ♀ gonad gelişimi (Duinker ve ark., 2008)

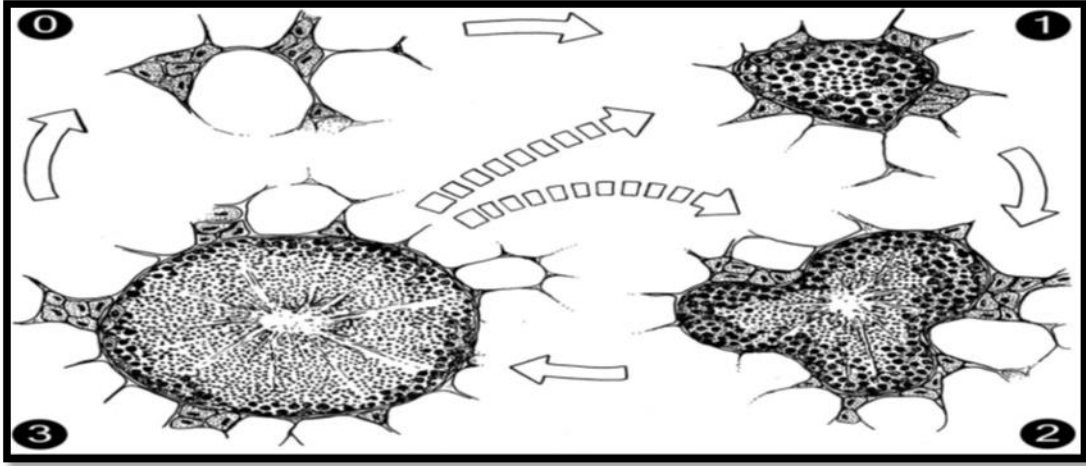
Dişi (♀) Gonad Gelişim Evreleri

EVRE 0 (boş): Bu evrede mantoda bağ dokusu baskındır. Gonadal doku miktarı çok azdır. En erken aşamadır ve cinsiyet henüz belirlenemez. Ancak kısmende olsa tanınabilen dişilerde asini previtellogenik aşamalarındaki oositlere sahiptir.

EVRE 1 (erken doldurma): Bu evrede asini kolayca tanınır. Tüm bireylerde cinsiyet belirlenebilir. Çoğu oosit vitellogeneze başlamış ve bazıları olgunlaşmışlardır. Bazı bireylerde olgun gametler de görülebilir.

EVRE 2 (doldurma): Bu evrede çoğu oositin vitellusu sarımsı renkte, granülleri ve vitellin kılıfları mevcuttur. Ancak yine de oositler asinus duvarlarına bağlıdır ve geç vitelogenez evresindedir. Oositlerin çok azı ayrılmış ve tamamen olgunlaşmıştır

EVRE 3 (olgun): Bu evre, morfolojik olarak evre 2'ye çok benzerdir. Ancak asinuslardaki olgun gametlerin oranı daha yüksektir ve bağ dokusuna göre gonad dokusunun oranı genellikle daha yüksektir (Field 1922; Dohmen 1983; Hodgson ve Bernard 1986; Pipe ve Wourms 1987).



Şekil 2.8. Midyelerde ♂ gonad gelişimi (Duinker ve ark., 2008)

Erkek (♂) Gonad Gelişim Evreleri

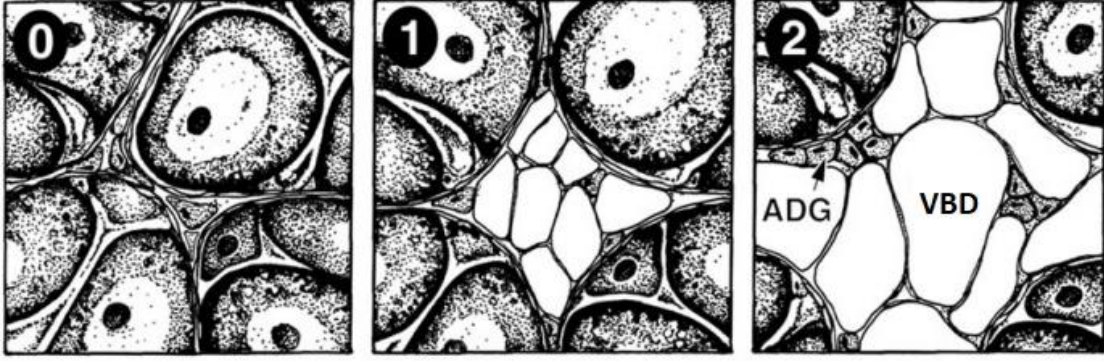
EVRE 0 (boş): Bu evrede asinusta sperm hücrelerinin sadece erken aşamaları vardır. Spermatidler ve/veya spermatozoa yoktur.

EVRE 1 (erken doldurma): Bu evrede erkek asinustaki henüz tam olarak olgunlaşmamış sperm hücreleri, asinus yarıçapının yarısını veya biraz daha fazlasını doldurur.

EVRE 2 (doldurma): Bu evrede daha fazla spermatid bulunur, ancak yine de bol miktarda olgunlaşmamış sperm hücresi vardır ve sonuncusu, tipik olarak beş kat hücre veya daha fazlası olan asinus yarıçapının en az dörtte birini doldurur.

EVRE 3 (olgun): Bu evre, morfolojik olarak evre 2'ye benzerdir, ancak asinustaki olgun gametlerin oranı daha yüksektir ve bağ dokusuna göre gonad dokusunun oranı genellikle daha yüksektir (Field 1922; Dohmen 1983; Hodgson ve Bernard 1986; Pipe ve Wourms 1987).

Buna ek olarak gametlerin aralarını dolduran depolama dokularının aşamalarının sınıflandırılması ise; glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu (VBD), protein ve lipid depolarına sahip adipogranüler dokularının (ADG) her biri üç evrede kategorize edilmiştir.

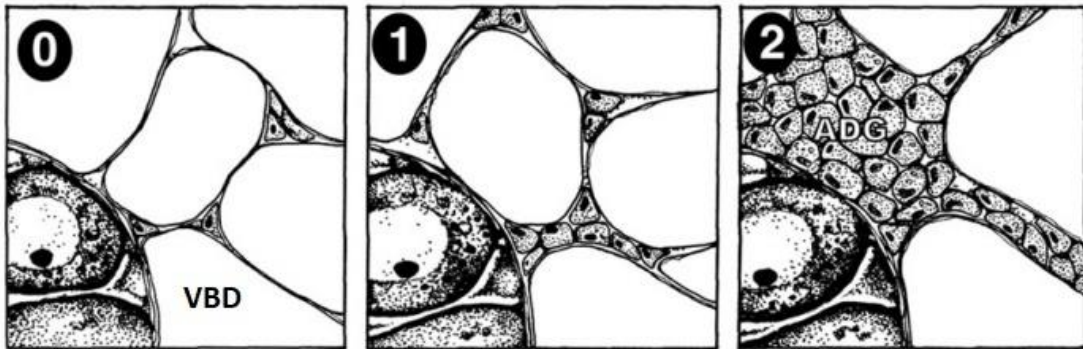


Şekil 2.9. Glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu (VBD) evreleri (Duinker ve ark., 2008)

EVRE 0: Bu evrede doldurulmuş glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu (VBD) hücresi yoktur.

EVRE 1: Bu evrede doldurulmuş glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu (VBD) hücreleri asini arasında birikir ve manto epiteline doğrudur, ancak asiniyi çevreleyen sürekli bir ağ oluşturmaz.

EVRE 2: Bu evre doldurulmuş glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu (VBD) hücreleriyle doldurulur ve neredeyse tamamen asiniyi içine alacak şekilde çevreleyen bir katman oluşur (Gabbott, 1976; Pipe, 1987b; Mathieu ve Lubet, 1993).



Şekil 2.10. Protein ve lipid depolarına sahip adipogranüler dokusu (ADG) evreleri (Duinker ve ark., 2008)

EVRE 0: Bu evre doldurulmuş protein ve lipid depolarına sahiptir ve adipogranüler dokusu (ADG) hücresi yoktur.

EVRE 1: Bu evrede glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu hücresi (VBD) arasında kısmen doldurulmuş protein ve lipid depolarına sahip adipogranüler (ADG) hücreleri görülür.

Alternatif olarak, daha az doldurulmuş glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu (VBD) hücreleri arası protein ve lipid depolarına sahip adipogranüler dokusu (ADG) hücreleri arasında bir ağ oluşturur.

EVRE 2: Bu evrede doldurulmuş protein ve lipid depolarına sahip adipogranüler dokusu (ADG) hücreleri ile glikojen depolarına sahip veziküler bağ dokusu (VBD) hücreleriyle arasında bir ağ oluşturur (Field, 1922; Dohmen, 1983; Hodgson ve Bernard 1986; Pipe ve Wourms 1987).

2.1.4. *M. galloprovincialis*'in Besin Değerleri

İnsanların hayvansal protein ihtiyaçlarını karşılamak için tükettikleri yumuşakça türünden biri olan midyeler, içerdiği yağ, çeşitli vitaminler, protein, ve karbonhidrat (glikojen) nedeniyle değerli bir besin türüdür (Algan ve ark., 1999).

Midye etinde:

%80 su

%9-13 protein

%0-2 yağ

%1-7 karbonhidrat bulunmaktadır (Göğüş ve ark., 1992).

Tüm dünyada sevilerek tüketilen değerli besin kaynağı olan bu türün, Uzakdoğu, İspanya, Fransa, Hollanda ve Danimarka gibi ülkelerde ticari açıdan üretimi yapılmaktadır. FAO verilerine göre İspanya'daki yıllık üretim miktarı 100.000 tonu aşmış durumdadır (FAO, 2019).

2.2. Nanopartiküller

Son yıllarda NP'ler askeriye, boya sanayi, elektronik, gıda sektörü, kozmetik, tekstil, tıp ve otomotiv sanayi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Özdoğan ve ark., 2006). Günlük yaşantımızda yaygın olarak kullanılan NP'ler gümüş (Ag), titanyum dioksit (TiO₂), çinko oksit (ZnO) ve silisyum dioksit (SiO₂)'dir. Bu NP'ler ve kullanım alanları Çizelge 2.2.'de belirtilmiştir.

Çizelge 2.2. Nanopartiküller ve Kullanım Alanları (Senjen ve ark., 2009)

Nanopartikül	Kullanım Alanları
Gümüş	Çorap, saç fırçaları, sıvalar, gıda ambalajı, gıda takviyeleri
Karbon	Spor malzemeleri, filtrasyon ve depolama aygıtları, kozmetik bilgisayar donanımı
Titanyum dioksit	Boyalar, güneş koruyucu, antibakteriyel kaplamalar, temizlik ürünleri
Çinko oksit	Güneş koruyucu
Silisyum dioksit	Boyalar, temizlik ürünleri, kozmetik, gıda takviyeleri, spor malzemeleri, tekstil
Altın	Kozmetik, kişisel bakım ürünleri, yakıt katalizörleri, gıda takviyeleri

Bu NP'ler çevrede hava, su kaynakları, atık madde ve toprak gibi ortamlarda bulunurlar. Bulunma oranı ve bulundukları ortamlar NP'lere göre değişiklik göstermektedir. TiO_2 , ZnO ve Au hava, su kaynakları ve atık maddelerde bulunurken, silisyum dioksit hava, su kaynakları ve toprakta bulunmaktadır (Senjen ve ark., 2009). NP'lerin küçük boyutta olmaları; doku, hücre, organellere ve fonksiyonel biyomoleküler yapılara (DNA, ribozom vb.) kolayca girmelerine olanak sağlamaktadır. Nano ölçekli yapılar diğer maddelere oranla oldukça küçüktür ve bu boyut farklı NP'lerin penetrasyonunda artışa sebep olmaktadır. NP'ler vücuda, oral, dermal, inhalasyon, intraperitonel, subkutanöz, intravenöz gibi yollarla girişleri mümkündür. Bu giriş yollarından sonra karşılaştıkları ilk biyolojik komponent (protein, hücre) tarafından absorbe edilirler ve vücutta çeşitli organlara dağılımı sağlanır. Buralarda yüksek reaktif özelliklerinden dolayı modifiye olabilir veya metabolize edilebilirler. Nüfuz ettikleri, dokulardaki miktarı ve burada kalacakları süre henüz bilinmemektedir. Biyolojik yapı, NP ile karşılaştığında, etkilenme düzeyi NP'nin, toksisitesi ve aktifliği gibi birtakım fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır (Fischer ve ark., 2007). NP'nin, normal işleyiş gösteren hücre ve dokular ile temaslarında biyouyumluluk (biyokompatibilite), biyodağılım, biyolojik parçalanma (biyodegradasyonu), inflamasyon gibi özellikler o yapının toksitesini etkileyen diğer faktörlerdir (Casals ve ark., 2008).

2.2.1. SiO₂ NP'lerinin Özellikleri

Birçok inorganik/organik hibrid malzemeler arasında, silika-polimer hibrid malzemeler literatürde en çok geçen NP'lerdendir. Kolay sentezlenmeleri ve geniş kullanım alanla sahip olmaları tercih edilme sebeplerindendir. NP'ler içerisinde gümüş, titanyum dioksit, çinko oksit ve altınla birlikte silisyum dioksit gibi çeşitli metaller de sıklıkla kullanılmaktadır (Donaldson ve ark., 2010; Xie ve ark., 2010). Silisyum NP'leri; boyalar, kauçuk ürünler ve plastik bağlayıcıların üretiminde dolgu maddesi olarak tercih edilirler. Organik değiştiricilerle kaplı silisyum NP'leri sabit kromatografi fazları, heterojen destekli katalizörler içeren uygulamalarda ve otomotiv, elektronik, beyaz eşya, tüketim ürünleri, havacılık ve sensör endüstrilerinde kullanılmaktadır (Mittal, 1983; Mathew ve ark., 1992; Hommel ve ark., 1993; Wei ve ark., 1997; Hideyove ark., 1999).

2.3. Midyeler ve Toksikite Çalışmaları

Çift kabuklular içerisinde yer alan mytilidler geniş bir coğrafik dağılıma sahiptir. Çevresel kirleticilerin belirlenmesinde, kirlilik belirteci ve model organizma olmaları araştırmacılar tarafından tercih edilme nedenlerindendir. Bu türler sıklıkla; toksisite, sitoksisite, genotoksisite ve son zamanlarda ise nanotoksisite çalışmalarında kullanılmaktadır (Singh ve ark., 2009).

Midyeler metal birikimin izlenmesinde kullanılan canlılar arasındadır. Yapılan çalışma sonuçlarına bakıldığında midye dokularındaki birikim kirlilik belirteci olarak gösterilmektedir.

Küçüksezgin ve ark. (2007) yapmış olduğu çalışmada, midye (*Mytilus galloprovincialis*) kimyasal (Hg, Cd, Pb, Cr, Cu), biyokimyasal-süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), tiyobarbitürik asit reaktif maddeler arasındaki olası ilişkileri tespit edilmiştir. İzmir Körfezi'nin nispeten temiz alanından (Orta Körfez) ve çok kirli alanlardan (İç Körfez) kirletici maddeler içerdiği belirtilmiştir. Midye örnekleme Mayıs 2004'ün başında yapılmıştır. Midyenin sindirim bezleri biyokimyasal analizler için kullanılmıştır. İz metal içeriği, standart prosedürler kullanılarak atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir. Kirli alanda toplanan midyelerde metal içeriği, körfezin orta kısmına göre arttığı belirlenmiştir. Metaller ve SOD enzim aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon varken, metaller ve GPx enzim aktivitesi arasında negatif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. SOD enzim aktivitesinde bir artış ve körfezin iç kısmında GPx enzim aktivitesinde bir azalma gözlenmiştir.

Aslan (2010) yapmış olduğu çalışmada İnciraltı bölgesinden mevsimsel olarak alınan

Mytilus galloprovincialis ve bazı balık türleri incelenmiştir. ^{210}Po konsantrasyonu ile lipid peroksidasyonu (LPO), H_2O_2 ve prolin seviyeleri midye ve balıkların farklı organ (karaciğer ve solungaç) ve dokularında (kas dokusu) incelenmiş ve en yüksek ^{210}Po aktivite konsantrasyonları sırasıyla midye ve balıkların karaciğerinde $105,6 \pm 4,6$ ile $247,9 \pm 14$ Bq kg⁻¹ olarak bulunmuştur. Lipid peroksidasyonu (LPO), H_2O_2 ve prolin seviyeleri midye ve balıkların karaciğerlerinde sırasıyla 50-150 nmol g⁻¹ (yaş ağırlık), 16-40 ve 300-370 $\mu\text{mol g}^{-1}$ (yaş ağırlık) arasında değiştiği tespit edilmiştir.

İngiltere’de bulunan Tamar Nehri boyunca farklı istasyonlardan toplanan midye örneklerinde (*Mytilus*) nehirdeki kirlilik boyutunu histopatolojik olarak değerlendirildiği çalışmada; gözlenen sonuçlar; inflamatuvar lezyonların, çevresel kontaminasyonun artmasının göstergesi olduğu bildirilmektedir. Tamar Nehri içerisindeki farklı bölgelerdeki midye popülasyonları arasında gelişim farklılıkları gözlenmiş ve kıyı bölgeleriyle karşılaştırıldığında, Tamar’da örneklenen midyelerde, kuzeyden güneye doğru gidildikçe artan inflamatuvar lezyon sıklığı belirlenmiştir (Bignell ve ark., 2011).

Raftopoulou ve Dimitriadis 2011 yılında yaptıkları çalışmalarında; *M. galloprovincialis*’te bakır ve civanın midyelerin sindirim sistemi ve solungaçlarında biyobirikimini ve detoksifikasyonunu histolojik ve analitik bazı tekniklerle karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Araştırmacılar, midyelerin sindirim sistemlerinin ve solungaçlarının civa birikiminde hedef organlar olduğunu belirtmişlerdir.

Midye hemolenfiyle ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında ise; ticari NP’lerin (1, 5, 10 g/ml’de C60 fulleren, TiO_2 ve SiO_2) *Mytilus* hemositleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada kullanılan NP’lerin hiçbiri, lizozomal membran stabilitesini önemli ölçüde etkilememiş bu da önemli toksik etkinin olmadığını göstergesi olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, tüm NP süspansiyonları, konsantrasyona ve NP tipine bağlı olarak, farklı derecelerde ve farklı zaman dilimlerinde lizozim salınımı, hücre dışı oksidikal ve nitrik oksit üretimini indüklemiştir. NP’lerin inflamatuvar etkilerine ek olarak stresle aktive olan p38 mapk’nın hızlı aktivasyonu aracılık etmiştir. Sonuçlara ek olarak, kabuklu deniz canlılarında bağışıklık sisteminin NP’ler için önemli bir hedefi temsil ettiği hipotezini desteklemektedir (Canesi ve ark., 2010a).

Midyelerle yapılan bir başka çalışmada; Nano karbon siyahı (NCB), C60 fullerene, Nano-titanyum dioksit (n-TiO_2) ve Nanosilikanın (n-SiO_2) NP’lerin in vivo maruziyetin olası etkileri araştırılmıştır. Midyeler 24 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda (0,05–0,2–1–5 mg/l) NP süspansiyonlarına maruz bırakılmış ve farklı biyomarkırlar hemositlerde, sindirim bezlerinde ve solungaçlarda değerlendirilmiştir. Yapay deniz suyu kullanılmış,

NP süspansiyonlarının karakterizasyonu, farklı tiplerde NP'ler için nano-mikromolar aralığındaki farklı boyutlardaki aglomeraların oluşumunu göstermiştir. Sonuçlar, NCB C60> n-TiO₂,> n-SiO₂tüm NP süspansiyonlarının hem hemosit hem de sindirim bezinde önemli lizozomal membran destabilizasyonuna neden olduğunu göstermiştir. Sindirim bezinde, tüm NP'ler, lizozomal lipofuskin birikimini sadece NP tipine bağlı olarak farklı bir dereceye kadar test edilen en yüksek konsantrasyonlarda indüklemiştir. NCB, TiO₂ ve SiO₂ ayrıca lizozomal nötral lipid birikimini de uyardığı bildirilmiştir. Ayrıca, tüm NP'ler n-SiO₂> NCB ~ = TiO₂> C60 ile antioksidan enzim katalaz aktivitesini arttırmıştır; NCB ve n-TiO₂ de glutatyon transferazını (GST) stimüle etmiştir. Katalaz ve GST aktivitelerindeki değişikliklerde, NP tipi ve konsantrasyonuna bağlı olarak hem artış hem de azalmalar gözlenmiştir. Sonuçlar ise, midyelerin farklı NP süspansiyonlarına maruziyete tepkilerinin sindirim bezindeki lizozomal ve oksidatif stres biyomarkır değişiklikleri içerdiğini ve bunun esas olarak sindirim sistemi yoluyla NP aglomeraların alındığını düşündürmektedir (Canesi ve ark., 2010b).

Midyelerdeki savunma mekanizmasının fagositik hücrelere bağlı olduğu bilinmektedir. Fakat doğuştan var olan bu hücresel savunmanın düzenlenmesi humoral komponentlerin desteği ile sağlanmaktadır (Van Der Knaap ve ark., 1994). Deniz kabuklularının hemolenfinde bulunan humoral faktörler; lizozomal orjinli enzimler, lektinler, aglutininler, hemolizinler ve antimikrobiyal maddelerdir. Bu faktörler protein veya glikoprotein yapıda olup, hemolenf içine hemositler tarafından salınmaktadır (Chu, 1988; Hardy ve ark., 1976; Hartland ve Timoney, 1979; Olafsen, 1988; Ratcliffe ve ark., 1985).

Bakır oksit nanoparçacıkların (CuO NP), *Mytilus edulis* (mavi midye) örnekleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığını çalışmada; biyokimyasal, fizyolojik ve histolojik bulgular bakımından toksik etkilere rastlanmıştır. *M. edulis* örneklerine 400, 700 ve 1000 ppb dozlarında CuO NP'leri uygulanmıştır. Absorbe edilen bakır ağırlıklı olarak solungaç dokusunda ve az miktarda sindirim bezinde bulunmuştur. Elde edilen histolojik sonuçlara göre; CuO NPs ağırlıklı olarak manto ve solungaç kenarı boyunca yer alan aynı zamanda sindirim kanalları ve sinüslerin bir kısmını kaplayan bağ dokusu boyunca ve addüktör kasında biriktiği belirlenmiştir (Hu ve ark., 2014).

Katsumiti ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışmada; Au, ZnO ve SiO₂ NP'lerin potansiyel iyonik etkilerini, ilgili iyonik ve bulk formları NP'lerin preparasyonlarında kullanılan katkı maddeleri ile paralel olarak farklı boyutlarda ve şekillerde değerlendirmek için midye hemositleri ve solungaç hücreleri kullanılmıştır. Sitotoksiste (nötral kırmızı ve

MTT analizleri) çok çeşitli konsantrasyonlarda taranmış ve LC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Hemositler tarafından 27 nm floresan etiketli SiO₂ NP alımı da araştırılmıştır. Au, ZnO ve SiO₂ NP'leri, karşılık gelen iyonik biçimlerden daha az toksik, ancak bulk biçimlerinden daha toksik olduğu bulunmuştur. Genel bir sonuç olarak, çözünürlüğün NP hücrelerine toksisitesinde önemli bir rol oynadığı görülmektedir.

Nanomalzemelerin sucul ekosisteme karışması bu sistemde yaşayan organizmalarında maruziyetine neden olmaktadır. Biyolojik sistemlerde, besin zincirini oluşturan en önemli organizmalardan birisi balıklardır. Balıkların insanlar tarafından, besin maddesi olarak tüketilmesi suyla taşınan nanoparçacıklara maruz kalabilme olasılığını arttırmaktadır (Oberdörster, 2004). *Oreochromis niloticus* (Nil Tilapiası) ile yapılan çalışmada yarı statik koşullar altında 14 gün boyunca küçük boyutlu (40-60 nm) ve büyük boyutlu (80-100 nm) Zn NP'lerin 1 ve 10 mg/l süspansiyonlarına maruz bırakılmıştır. Bağırsak, karaciğer, böbrek, solungaç, kas dokusu ve beyindeki toplam Zn seviyeleri ölçülmüştür. Kan serumu ile yapılan analizler Zn NP'lerin neden olduğu fizyolojik rahatsızlıkları aydınlatmak için incelemişlerdir. Maruz kalmayla ilişkili etkileribelirlemek için solungaçlar, karaciğer ve böbrek dokularının patolojik incelemeleri yapılmıştır. Bağırsak, karaciğer, böbrek ve solungaç dokularındaönemli bir birikim gözlemişlerdir. Zn birikim seviyelerinin organlarda zamana ve konsantrasyona bağlı artış gösterdiğini belirtmişlerdir veböbrekteki birikme ise parçacık büyüklüğüne bağlı değiştiğini bununda küçük boyuttaki Zn NP'ler, büyük boyuttaki Zn NP'lerden daha etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Beyinde anlamlı bir birikim olmadığını (p>0.05), kas dokusundaki Zn seviyeleri sadece marjinal olarak arttığını (p 0.05) belirtmişlerdir. Böbrekteki histopatolojik bulgular tübülerde deformasyonlar ve mononükleer hücre infiltrasyonlarının olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuç ise; Zn NP'lere maruz kalmanın kan biyokimyasında olumsuz etkilere neden olabileceğini ve *O. niloticus*'un dokularında histopatolojik bulgulara neden olabileceğini göstermiştir (Kaya ve ark.,2016).

Kullanılmayan veya son kullanma tarihi geçmiş ilaçlar içeren evsel atıklar da önemli bir çevresel kirlenici kaynağı olarak kabul edilir (Bound ve Voulvoulis, 2005; Gilbert, 2012; Kookana ve ark., 2014; Schwarzenbach ve ark., 2007). Yaygın olarak evsel atık olarak sınıflandırılan Buscopan Plus ve Mesulid gibi iki adet süresi geçmiş ticari ilacinetkileri üzerine yapılan çalışmada; *Mytilus galloprovincialis*'in hemositleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Midye hemositlerinin lizozomal membran stabilitesi (nötral kırmızı tutma testi açısından), süperoksit anyonu ve nitrit oksit üretimi, lipid peroksidasyonu (malondialdehit ve MDA içeriğine bakılarak) ve nükleer anomali oluşumu (mikronükleus

ve MN testi kullanılarak) her ilacın uygun miktarlarıyla 7 gün boyunca maruz bırakılan midye hemositlerinde değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, her iki ticari ilaçla muamele edilmiş midyelerde, yüksek oranda nükleer anomalilerin yanı sıra, NRRT değerlerinde anlamlı azalma, O_2^- , NO ve MDA düzeylerinde artış gözlemlenmiştir. Bu etkiler, hemen hemen tüm örneklerde, tedavi sonrası ve iyileşme döneminden sonra ciddi bir azalma göstermiştir. Üstelik midyelerin hayatta kalma kabiliyetini tahmin etmek için yaygın olarak uygulanan “stresle stres” yöntemi, kontrol grubu midyelerde gözlenen değerlere kıyasla, uygulama grubu midyelerde LT_{50} değerlerinde belirgin bir düşüş göstermiştir. Buscopan plus içerisinde bulunan TiO_2 ve SiO_2 gibi yardımcı maddelerin olası etkileri ortaya konulmuştur. Daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen, mevcut bulgular, süresi geçmiş ticari ilaçların çevresel etkilerini göstermektedir, bu nedenle evsel tıbbî atıkların uygun şekilde bertaraf edilmesine duyulan ihtiyaç ortaya konulmuştur (Politakisa ve ark., 2018).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanı

Bu çalışmada kullanılan Mytilidae familyasının en önemli türlerinden biri olan *Mytilus galloprovincialis*, Çanakkale ilinin Gelibolu ilçesinde faaliyet gösteren Gelibolu Su Ürünleri tesisinden temin edilmiştir. *M. galloprovincialis* örnekleri polietilen filelerle paketlenerek Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Araştırma Laboratuvarına getirilmiş ve akvaryumlara yerleştirilmiştir.

3.1.2. SiO₂ Nanopartikülü

Çalışmada kullanılan SiO₂ (10-30 nm) nanoparçacığı Skyspring Nanomaterials Inc., Houston, TX, USA'dan temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Düzenekinin Kurulması

Bu çalışmada kullanılan *M. galloprovincialis* örnekleri 12 stok akvaryumda 15gün boyunca, gerekli su kalitesi niteliklerini (çözünmüş oksijen 7.80-8.30, pH 7.0-7.4) taşıyan havalandırılmalı ortamda adaptasyonu sağlanmıştır. Her biri 45x28x80 cm boyutlarında olan cam akvaryumlarda 0 ;0,1; 1 ve 10 mg/l konsantrasyonlara maruz bırakılarak dörtgrup oluşturulmuştur. Her bir gruba toplam 10'ar midye şeklinde dağıtılıp 3 tekrarlı deneme düzenekği oluşturulmuştur. Midyeler 12/12 saat aydınlık/karanlık periyodunda ve uygun sıcaklıkta (18-21⁰C) tutulmuştur. Akvaryum temizliği günlük olarak yapılmıştır. Denemelerde midyeler, kontrol grubu (sadece denizsuyu) ve 0,1; 1 ve 10 mg/l konsantrasyonlarında SiO₂ NP'lerine 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Test süresi boyunca su kalitesi, sıcaklık ve oksijen değerleri korunmuştur.



Şekil 3.1. Deney düzeneği

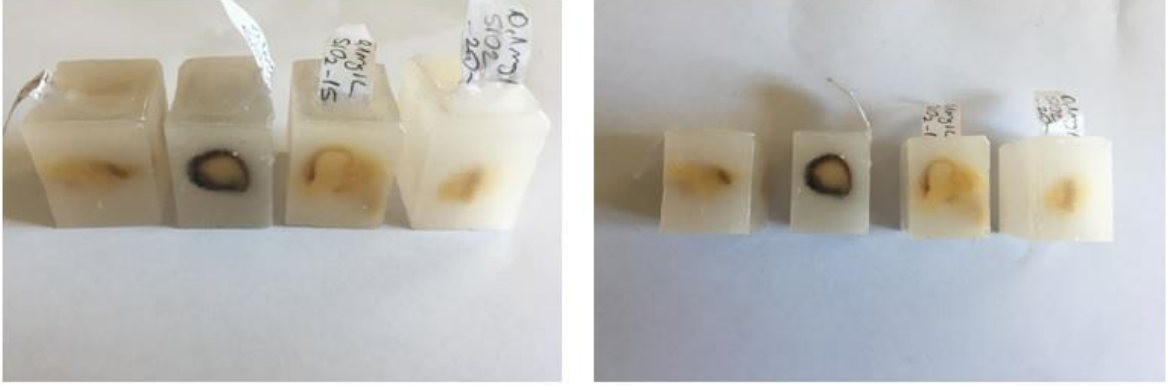
3.2.2. SiO₂ NP' nün Midyelere Uygulanması



Şekil 3.2. SiO₂ Nanoparikülü ve ultrasonik banyoda sonifikasyonu (Özgün)

SiO₂ NP' nün stok süspansiyonları, %10'luk (kütle/hacim) olacak şekilde deniz suyu içinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Maksimum nanoparçacık dağılımını elde etmek için çözelti yaklaşık 30 dakika boyunca bir ultrasonik banyoda sonifikasyona tabi tutulmuştur (Wang ve ark., 2009). Stok süspansiyonlardan, her bir deney grubunun konsantrasyon oranına bağlı olarak otomatik pipet yardımıyla uygun hacimlerde akvaryum ünitelerine transfer edilmiş ve midyelerin nanopartiküle maruz kalması sağlanmıştır.

3.2.3. Histopatolojik İncelemeler



Şekil 3.3. Parafin bloklara alınan midye dokuları (Özgün)

Histolojik incelemeler için disekte edilmiş midyeler Davidson's fiksatifinde 24 saat süre ile tespit edilmiş ve ardından preperasyonun yapılacağı güne kadar %70 etil alkol içerisinde güneş almayan ve serin bir ortamda saklanmıştır. Daha sonra örnekler; alkol, ksilen ve parafin serilerinden geçirilerek parafin bloklara alınmıştır. Bu parafin bloklardan mikrotom ile alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen&Eosin ile boyanarak ışık mikroskobunda incelenmiştir. Preparatlar, Olympus marka CH20 ışık mikroskobuna adapte edilmiş kamera ataçmanı kullanarak fotoğraflanmıştır.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

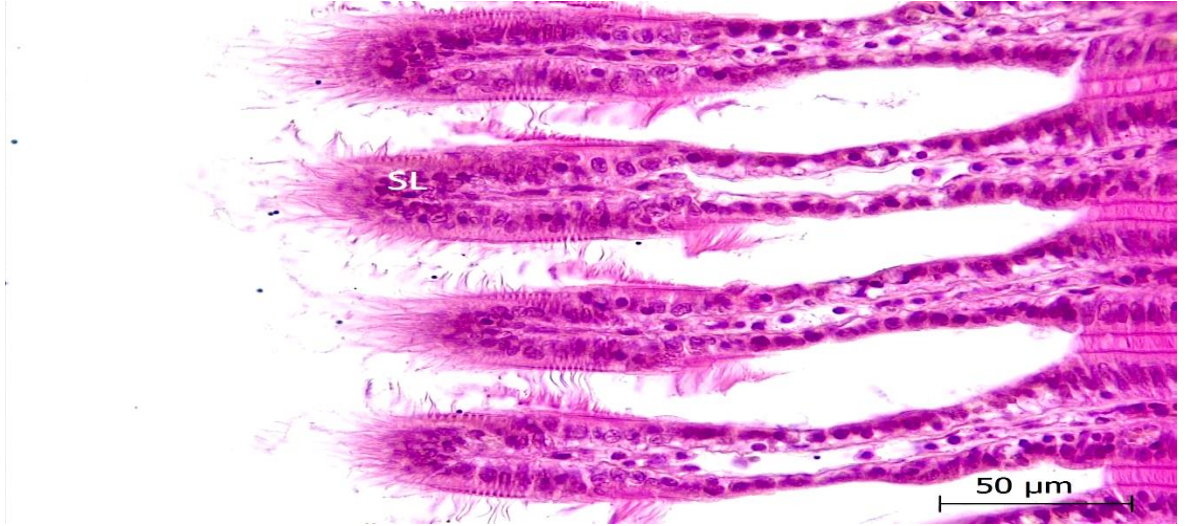
4.1. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik incelemeler sonucunda *Mytilus galloprovincialis* türünde Kontrol grubu ile karşılaştırılarak gözlemlenen bulguların, doza bağlı olarak görülme sıklığı Çizelge 4.1. 'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. SiO₂ Nanopartikülü Uygulanan Midyelerde Histopatolojik Bulguların Gözlenme Sıklığı

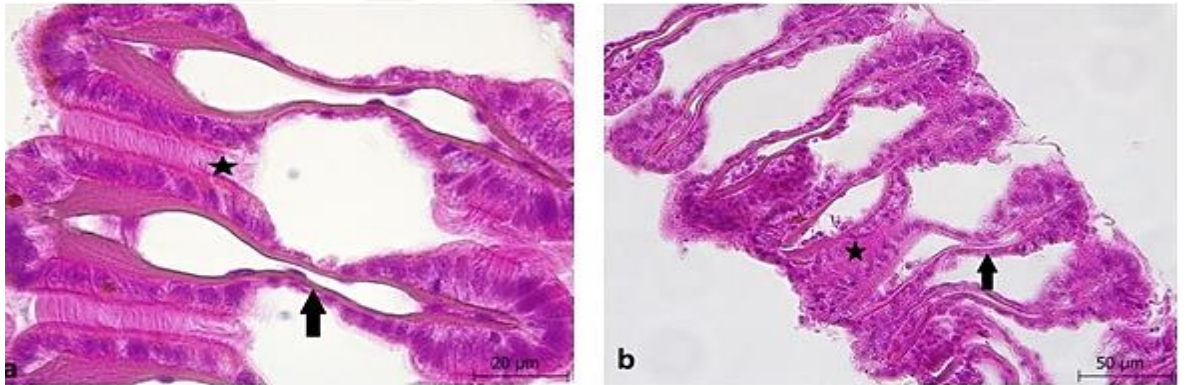
		Kontrol Grubu	0.1 mg/l SiO ₂ NP	1 mg/l SiO ₂ NP	10 mg/l SiO ₂ NP
Solungaç	Lameller füzyon	0/10	4/10	6/10	8/10
	Lameller deformasyon	0/10	5/10	7/10	8/10
	Lamel epitelyum hücresinde hiperplazi	0/10	0/10	0/10	5/10
Sindirim Bezi	Tübüllerde dejenerasyon ve nekroz	0/10	5/10	6/10	8/10
	Bağ dokusunda hemositik infiltrasyon	0/10	5/10	6/10	7/10
Manto	Doku parçalanması	0/10	4/10	5/10	5/10
	Hemositik infiltrasyon	0/10	6/10	7/10	8/10
Gonad	Veziküler bağ dokusunda infilamasyon odakları	0/10	2/10	5/10	7/10

Midyelerin solungaçları, histopatolojik olarak incelendiğinde; kontrol grubuna ait solungaçlar tüm örneklerde normal görünümde (Şekil.4.1.)

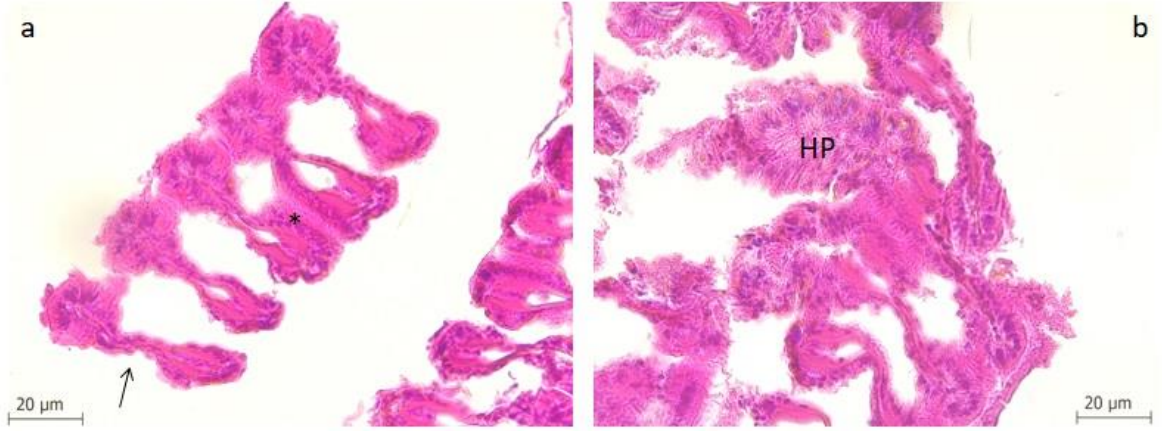


Şekil 4.1.Kontrol grubuna ait midyelerin solungaç lamelleri (SL). H&E

Kontrol grubu ile uygulama grupları karşılaştırıldığında 0,1-1 ve 10 mg/l SiO_2 NP'leri uygulanan midyelerde; solungaç lamellerinde doza bağlı artış gösteren lameller füzyon (lamellerde birleşme) ve lamellerde deformasyon görülmüştür. En yüksek doz olan 10 mg/l SiO_2 NP'leri uygulanan midye solungaçlarında lameller füzyona ve deformasyona ek olarak solungaç epitel hücrelerinde hiperplaziye rastlanmıştır (Şekil 4.3.b).



Şekil 4.2. a.0,1 mg/l doz SiO_2 NP uygulama grubunda solungaç lamelinde füzyon (*) ve solungaç lamellerinde deformasyon(ok). H&E b.1 mg/l doz SiO_2 NP uygulama gurubunda solungaç lamellerinde füzyon (*) ve solungaç lamellerinde deformasyon (ok). H&E

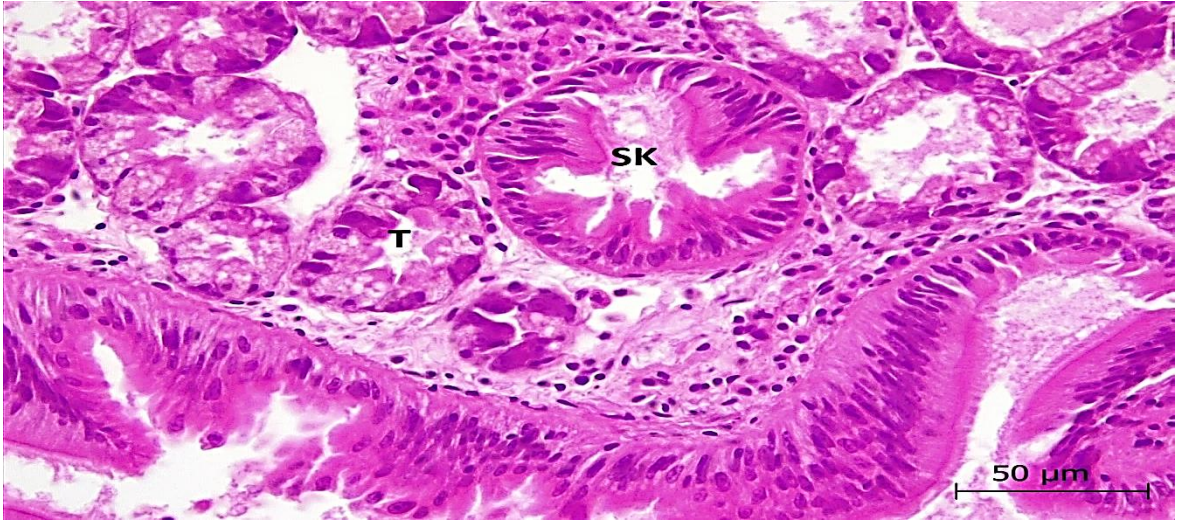


Şekil 4.3. a.10 mg/l doz SiO₂ NP uygulama grubunda solungaç lamelinde füzyon (*) ve solungaç lamellerinde deformasyon (ok).H&E b.10 mg/l doz SiO₂ NP uygulama grubunda solungaç epitelyum hücrelerinde hiperplazi (HP). H&E

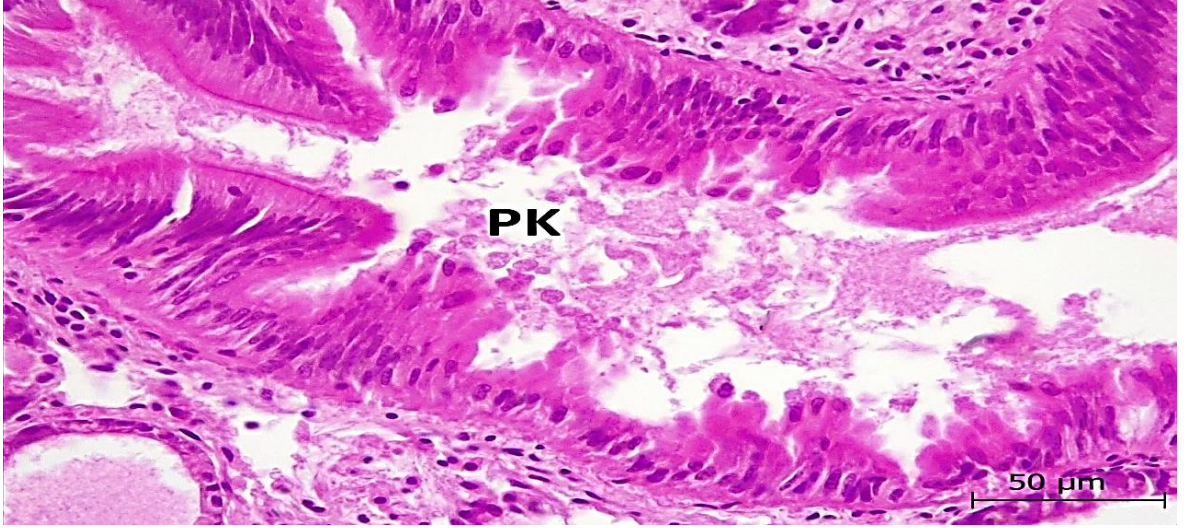
Mytilus galloprovincialis türünün sindirim bezi dallanmış kanal yapısına sahiptir. En küçük birimden itibaren sıralandığında hepatopankreatik tübüller, sekonder ve primer kanal sisteminden oluşmaktadır (Şekil 4.4.). Bu yapıların zeminini oluşturan kısım ise bağ dokusudur ve kanal sistemi burada gömülü halde bulunmaktadır (Şekil 4.4.). Mide ile bağlantılı olan primer kanal ve sekonder kanal çaplarına bakıldığında, primer kanal çapı sekonder kanal çapından büyüktür (Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.). Sindirilen maddelerin mideye iletilmesinde görev olan bu kanal sistemlerinin epitel dokusu fırça kenarlı epitelyum ve uç kısımları ise belirgin bir silli bölge içermektedir (Şekil 4.7.). Midyelerin sindirim sistemi, histopatolojik olarak incelendiğinde; kontrol grubuna ait sindirim sistemindeki tüm örneklerde normal görünümde (Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.).



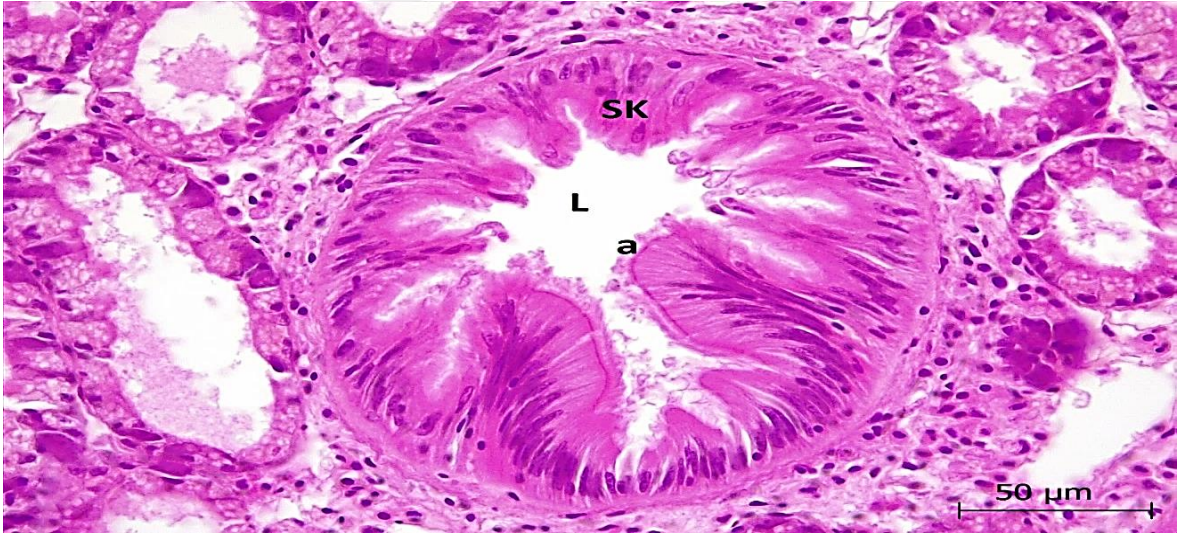
Şekil 4.4. Kontrol grubuna ait midyelerin sindirim bezinin genel görüntüsü. Mide (M), midenin etrafını çevreleyen hepatopankreatik tübüller (T), bağ dokusu (BD*). H&E



Şekil 4.5. Kontrol grubuna ait midyelerin sindirim bezinde bulunan sekonder kanal sistemi (SK) ve çevresindeki hepatopankreatik tübüller (T). H&E

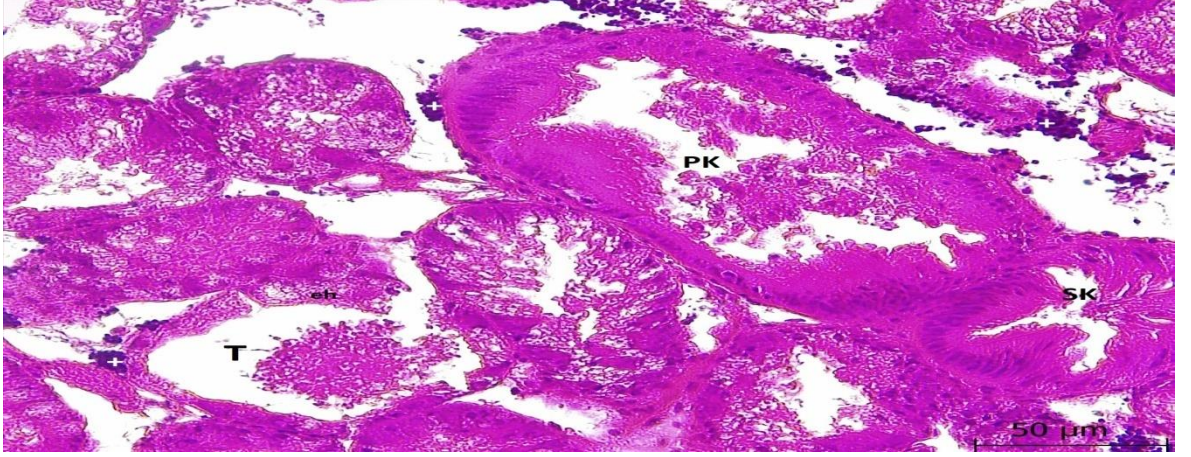


Şekil4.6. Kontrol grubuna ait midyelerin sindirim bezinde bulunan normal primer kanal görüntüsü (PK). H&E



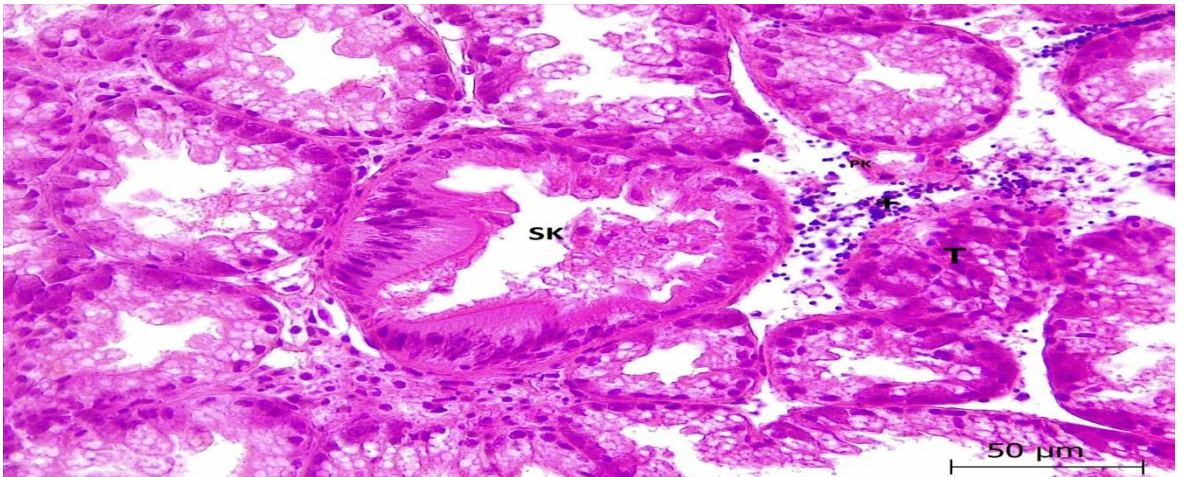
Şekil 4.7. Kontrol grubu sekonder kanal sistemi (SK) , sekonder kanal lümeni (L) ve fırça kenarlı epitelyumun uç kısmındaki silli bölge (a). H&E

Kontrol grubu ile uygulama grupları karşılaştırıldığında en düşük doz olan 0,1 mg/l SiO₂ NP uygulama grubun sindirim bezindeki bulgulara primer ve sekonder kanal sistemindeki epitelyum hücrelerde dejenerasyon görülmüştür. Bu kanal sisteminin etrafını saran hepatopankreatik tübüllerde de aynı şekilde dejenerasyon ve nekroz tespit edilmiş, bu yapıların gömülü halde bulunduğu bağ dokusunda ise dokunun savunulmasına tepki olduğunu gösteren hemositik infiltrasyonun meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.8.).



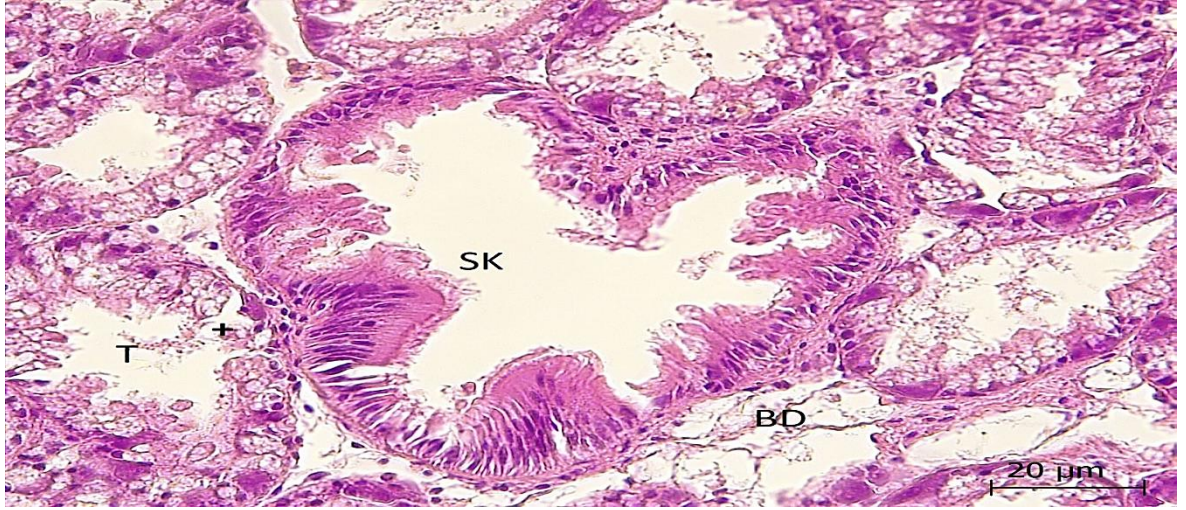
Şekil 4.8. 0,1 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki sindirim bezinde primer ve sekonder kanallarda dejenerasyon (PK, SK). Tübüllerdeki epitelyumda dejenerasyon ve nekroz (T ve eh). Bağ dokusunda hemositik infiltrasyon (+). H&E

İkinci doz olan 1 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki sindirim bezinde bulgulara; sekonder kanal sistemindeki epitelyum hücrelerde dejenerasyon görülmüştür. Bu kanal sisteminin etrafını saran hepatopankratik tübüllerde de aynı şekilde dejenerasyon ve nekroz tespit edilmiş olup, bu yapıların gömülü halde bulunduğu bağ dokusunda ise hemositik infiltrasyona rastlanmıştır.



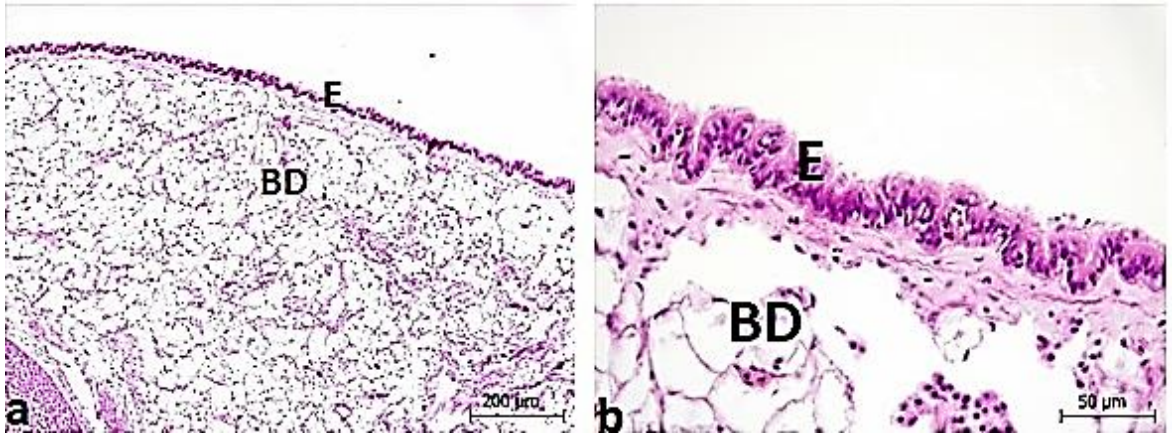
Şekil 4.9. 1 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki sindirim bezinde sekonder kanalda dejenerasyon (SK). Tübüllerdeki epitelyumda dejenerasyon (T). Bağ dokusunda hemositikinfiltrasyon (+). H&E

En yüksek doz olan 10 mg/l SiO₂ NP'sinin uygulandığı grupta canlıların %80'de tübüllerde dejenerasyon ve nekroza , %70'inde ise bağ dokusunda hemositik infiltrasyon tespit edilmiştir.



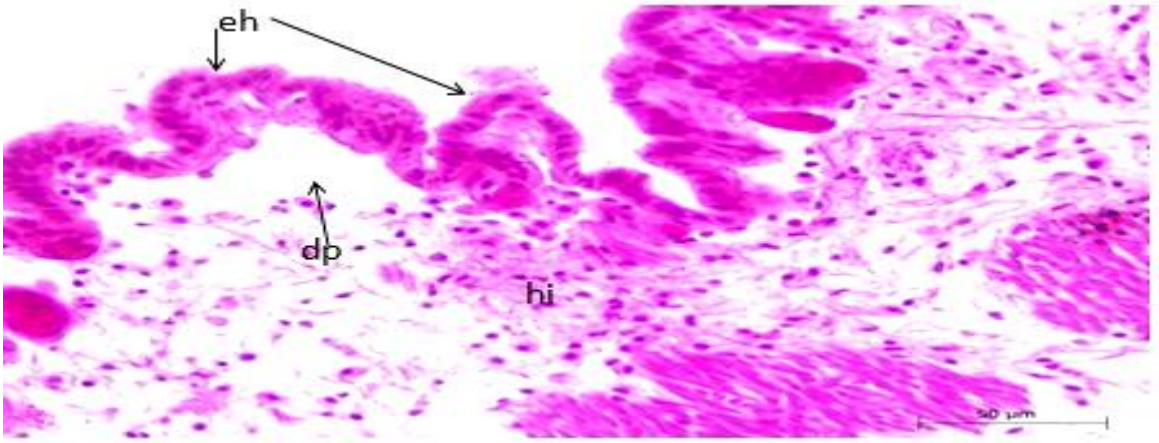
Şekil 4.10. 10 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki sindirim bezinde sekonder kanalda dejenerasyon (SK). Tübüllerdeki epitelyumda dejenerasyon (T). Bağ dokusunda dejenerasyon (BD). H&E

Midyelerde kabuğun her ikisinde kabuğa bağlı manto bulunur. Mantonun iç yüzeyinde suyun akışını sağlayan manto boşluğu sayesinde suyun solungaçlara erişimi sağlanmaktadır. Midyelerin manto dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde; kontrol grubuna ait manto dokusundaki tüm örneklerde normal görünümündedir (Şekil 4.11.).

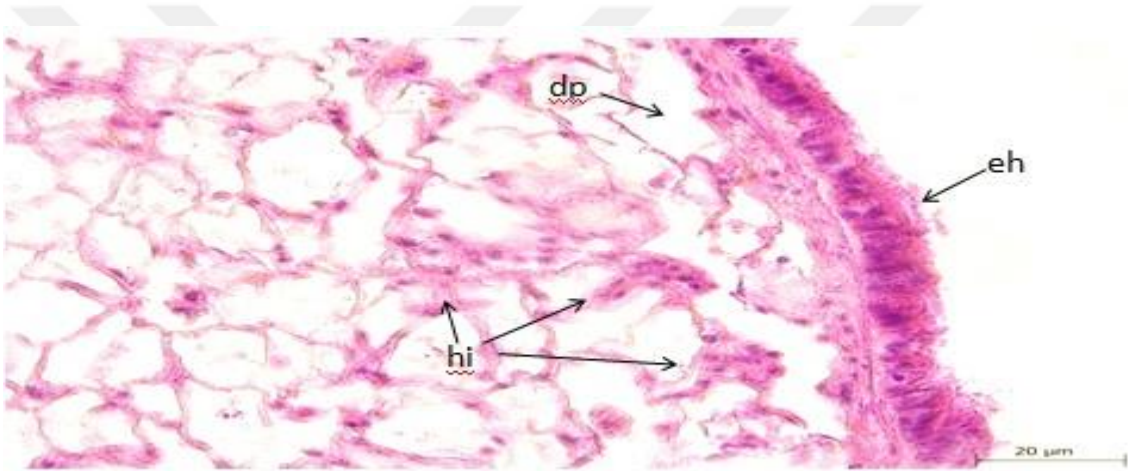


Şekil 4.11. a.Kontrol grubu manto dokusu genel görüntüsü H&E b.Epitelyum (E) ve manto bağ dokusu (BD). H&E

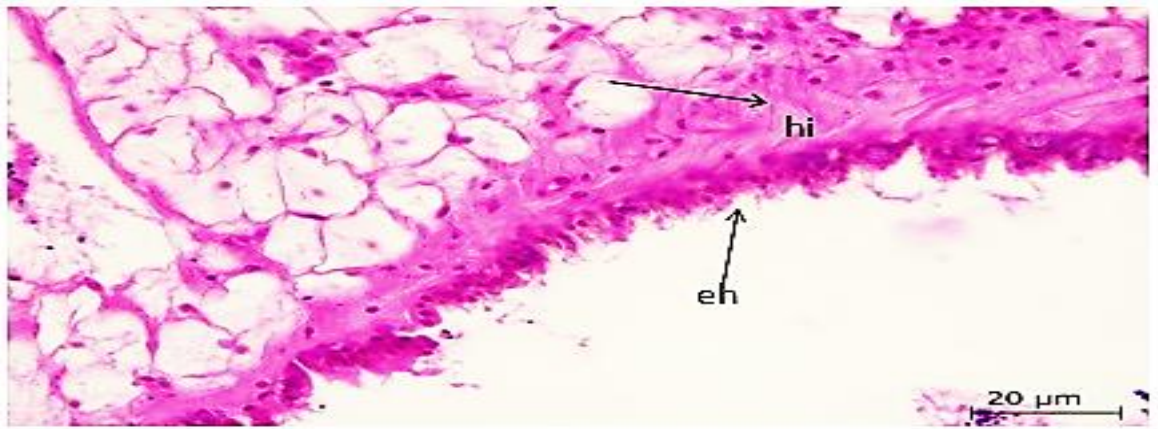
Kontrol grubu ile uygulama grupları karşılaştırıldığında manto dokusundaki bulgular bağ dokusunda doku parçalanması ve hemolitik hücre infiltrasyonu görülmüştür (Şekil 4.12., Şekil 4.13. ve Şekil 4.14.).



Şekil 4.12. 0,1 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki manto dokusunda doku parçalanması (dp). Epitel hücre (eh) ve bağ dokusunda hemositik infiltrasyon (hi). H&E



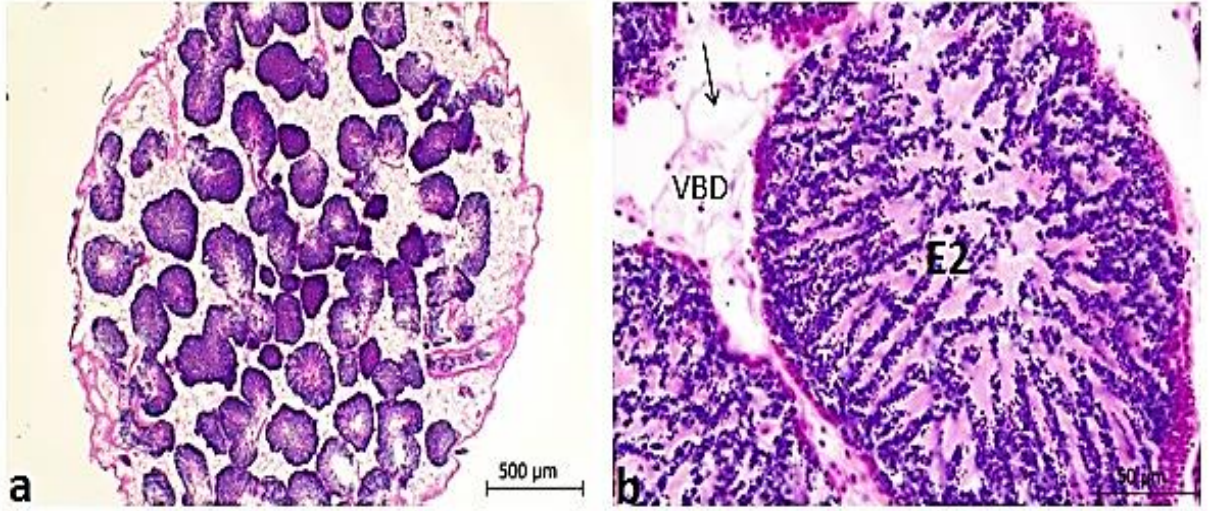
Şekil 4.13. 1 mg/l uygulama grubundaki manto dokusunda doku parçalanması (dp). Epitel hücre (eh) ve bağ dokusunda hemositik infiltrasyon (hi). H&E



Şekil 4.14. 10 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki manto dokusunda epitel hücre (eh) ve bağ dokusunda hemositik infiltrasyon (hi). H&E

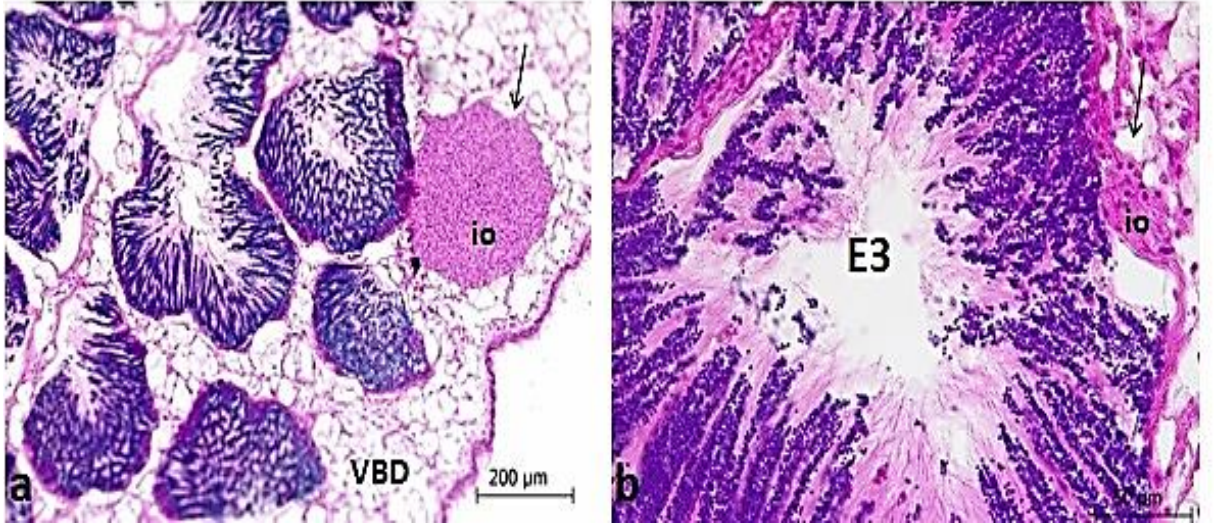
Doza bağılı hemositik hücre infiltrasyonunda artış gözlenmiştir. En yüksek doz olan 10 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki canlıların %80'inde bu bulguya rastlanmıştır.

Gonad yapısı manto dokusunda gömülü halde görülür. Birer folikül halinde bulunan gonad yapısı ve her bir folikül arası ise vesiküler bağ dokusu tarafından çevrelenmiş haldedir (Şekil 4.15.). Midyelerin erkek gonadları histopatolojik olarak incelendiğinde; kontrol grubuna ait erkek gonadlar tüm örneklerde normal görünümündedir (Şekil 4.16.).

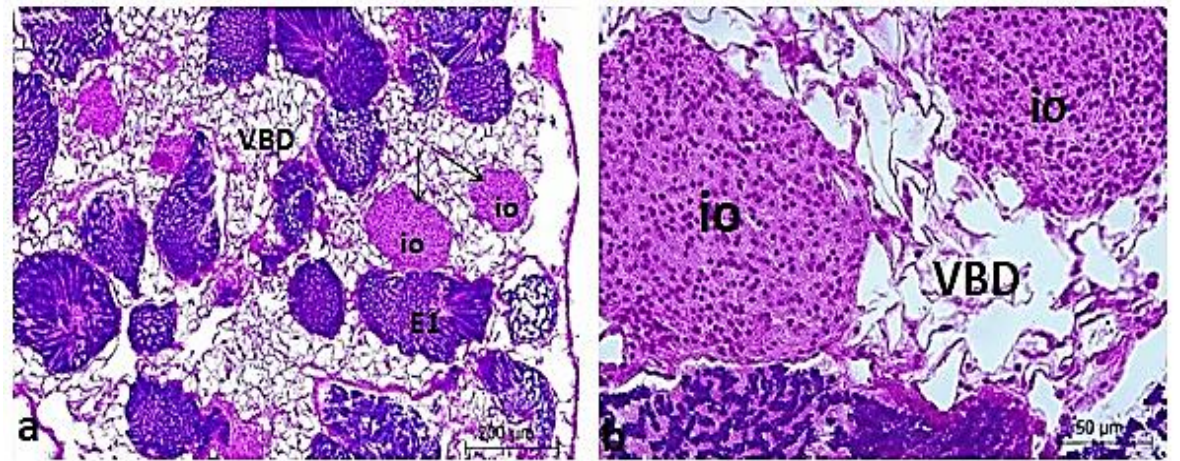


Şekil 4.15. a. Kontrol grubu midyelerde erkek gonad yapısının genel görüntüsü.H&E b. Kontrol gurubu midyelerde erkek gonad evre 2 (E2) ve veziküler bağ dokusu (VBD). H&E

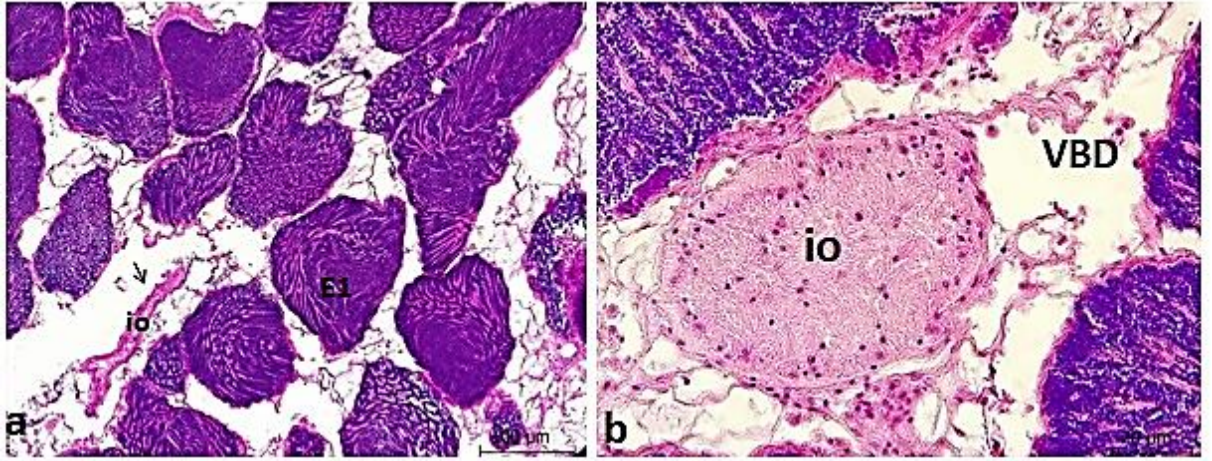
Kontrol grubu ile uygulama grupları karşılaştırıldığında 0,1 mg/l, 1 mg/l ile 10 mg/l doza bağılı artış gösteren çoklu inflamasyon odaklarının olduğu görülmüştür (Şekil 4.16., Şekil 4.17. ve Şekil 4.18.).



Şekil 4.16. a.0,1 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki erkek gonad dokusuna bakıldığında ise veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io). H&E. b. Erkek gonad evre 3 (E3) ve çoklu inflamasyon odakları (io). H&E



Şekil 4.17. a.1 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki erkek gonad yapısının veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io). H&E b.veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io). H&E



Şekil 4.18. a.10 mg/l SiO₂ NP uygulama grubundaki erkek gonad yapısındaki veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io) ve evre 3 gonad (E3). H&E b.veziküler bağ dokusunda (VBD) çoklu inflamasyon odakları (io). H&E

4.2. Tartışma

Son yıllarda, nanoteknoloji, günlük hayatımızda birçok malzemenin özelliklerini değiştirmede kullanılmaktadır. Bu değişimler, elektronik, biyomedikal, ilaç, kozmetik, enerji, çevre gibi çeşitli alanlarda uygulama kapasitesini arttırmasıyla büyük ilgi görmüştür (Tiede ve ark., 2009). Oldukça yaygın kullanım alanının olması dolayısıyla, nano boyuttaki maddelerin çevresel kaynaklara ulaşması ve karışması kaçınılmazdır. Değişken yapıda olan birçok kirleticiler gibi nanopartiküllerde yer altı ve yer üstü su sistemlerine karışmakta ve burada yaşayan organizmaları etkilemektedir. Bu karışma sonucunda NP'lerin ortamda bulunan canlı organizmalara; inhalasyon, oral, dermal, intravenöz ve intraperitonealyol ile vücut içerisine girmeleri söz konusudur. NP'lerin hücresel proteinlere ve bileşenlere benzer büyüklükte olması nedeniyle, biyolojik sistemlerdeki bazı engelleri kolaylıkla aşabildikleri bilinmektedir. Hücre zarı seçici geçirgen yapıya sahiptir. Bu da moleküllerin hücre içinde ve dışında hareketini kontrol edilmesini sağlamaktadır (Paur ve ark., 2011). NP'lerin hücre alım mekanizmaları tam olarak anlaşılmamasına rağmen, bu parçacıkların çok çeşitli hücre tipleri (prokaryotik ve ökaryotik) tarafından alındığına ve hücrenin içinde biriktiğine kanıtlar mevcuttur (Morones ve ark., 2005; Griffitt ve ark., 2008; Canesi ve ark., 2012). Bu birikim fizikokimyasal özelliklerine (örneğin kimyasal bileşim, boyut/geometri, yüzey yükü, kaplama/ligandlar ve toplanma durumu), maruz kalan hücre tipine (örneğin fagositler, kanser hücreleri) ve ayrıca mikro-ortama bağlıdır. NP'ler için şimdiye kadar bilinen hücre alım mekanizmaları fagositoz, pinositoz, endositoz ve membran bileşenlerinin bozulması yoluyla doğrudan penetrasyondur (Moore,

2006; Paur ve ark., 2011). Bu etkilerin sonucunda da organizmalar üzerinde nanotoksosite görülebilmektedir. Balık, rat ve insanlar üzerinde yapılmış olan nanotoksosite çalışmaları; bu malzemelerin ROS üretimi, DNA hasarı, mitokondriyal hasar, enflamasyon, retikuloendotelial sistem tarafından alım, protein denatürasyonu, nükleer etki, endotel disfonksiyonu, kana etkisi ve hücre döngüsü regülasyonunda değişiklikler gibi etkiler oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Rahi ve ark., 2014).

M. galloprovincialis solungaç dokularındaki histopatolojik incelemeler sonucunda; solungaç dokusunda lamellar füzyon, deformasyon ve hiperplazi tespit edilmiştir. Yavaşoğlu ve ark. (2016) *M. galloprovincialis* ile yaptıkları çalışmada kirletici maruziyetinin midye solungaç dokusunda lamellar füzyona ve dejenerasyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir başka çalışmada; bakır ve cıvanın *M. galloprovincialis* solungaçlarında biyoakülümülasyonu ve detoksifikasyonunu histolojik ve analitik bazı tekniklerle karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Araştırmacılar, midyelerin solungaçlarının cıva birikiminde hedef organ olduğunu belirtmişlerdir (Raftopoulou ve Dimitriadis 2011). Hu ve ark. (2014) CuO NP süspansiyonları etkisi *M. edulis*'da histopatolojik olarak incelenmiştir. Ağırlıklı solungaç kenarı boyunca yer alan epitel hücrelerinde CuO NP'ye cevaben hasar oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak sucul canlıların çevresel kirleticilere maruz kalması, su ile ilk temasta bulunan organ olan solungaçlarda meydana gelen histopatolojik bulguların önem arz ettiği vurgulanmaktadır. Sucul organizmaların kirletici maruziyetine bağlı olarak, solungaç lamellerinde meydana gelen füzyonun en önemli nedeni solungaçlara daha sağlam bir yapı kazandırmak ve kirleticilerin vücut içerisine girişini engellemek için oluşturduğu bir mekanizmadır (Mallat, 1985). *M. galloprovincialis* gibi suyu filtre eden organizmalar kirleticilerde olduğu gibi NP maruziyeti içinde önemli hedef organizmalar olduğu desteklemektedirler (Canesi ve ark., 2010b). Bu canlıların sucul ortamda nano-ekotoksikolojiyi değerlendirmek için uygun türler olduğu bilinmektedir. Midye solungaçlarının NP'lerden metallere güçlü bir oksidatif yanıt verdiği için filtrasyonda daha hassas oldukları bildirilmiştir (Colvin, 2003; Handy ve Shaw, 2007; Handy ve ark., 2008a). Çalışmamızda SiO₂ NP'lerine maruziyet sonucunda solungaç lamellerinde gözlenen füzyon ve deformasyonların benzer nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Solungaç dokularında gözlenen bir diğer patolojik oluşum ise 1 mg/l ve 10 mg/l uygulama grubu epitelyum hücrelerinde oluşan hiperplazidir. Solungaç epitelinde oluşan hiperplazi, ortamda bulunan kirleticilerin aşırı etkisinden korunma amaçlıdır (Mallat, 1985).

Çalışmamızda değerlendirilen sindirim bezi ve manto dokusunda hepatopankreatik tübüllerde hasara, sindirim tübüllerinde deformasyona, hepatopankreatik tübüllerin etrafını saran bağ dokuda hemositik infiltrasyon, hepatopantreatik tübüllerde nekroza rastlanmıştır. Manto dokusundaki incelemelerde doku parçalanması ve hemositik infiltrasyon tespit edilmiştir. Moore ve ark. tarafında 1997 yılında *Mytilus edulis*'e sükröz poliester nanopartikülü uygulanan çalışmada sindirim hücrelerinde endositotik bulguya rastlanmıştır (Moore ve ark.,1997). Benzer bir çalışmada *Mytilus edulis*'e Au NP'sinin sindirim bezinde nanopartikül birikiminin artışına ve hepatopankreatik tübüllerde hasara yol açtığını bildirmişlerdir (Tedesco ve ark., 2010a). Kullanılan NP'yi temsil eden Cd nanomalzemesinin *Mytilus galloprovincialis* türündeki etkisine bakıldığı çalışma sonucunda sindirim bezinde histopatolojik değişikliğe rastlanmışlardır. Bu değişiklikler hepatopankreatik tübüllerin etrafını saran bağ dokusunda hemositik infiltrasyon olarak tespit edilmiştir (Rocha ve ark., 2016). Raftopoulou ve Dimitriadis 2011 yılında bakır ve civanın midyelerin sindirim bezindeki biyoakümülyasyon ve detoksifikasyonunu histolojik ve analitik bazı tekniklerle karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Araştırmacılar, midyelerin sindirim bezinin civa birikiminde hedef organ olduğunu belirtmişlerdir (Raftopoulou ve Dimitriadis 2011). Sindirim bezindeki bir diğer bulguda nekrozdur. Çevresel kirletici maruziyetinin belirlendiği çalışmada sindirim bezindeki hepatopankreatik tübüllerinin epitel hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz, çevresini saran bağ dokusunda ise hemositik infiltrasyona rastlanmışlardır (Yavaşoğlu ve ark., 2016). Hu ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada CuO NP süspansiyonlarının etkisinin *M. edulis*'da sindirim tübüllerinin etrafını saran bağ dokusunda hemositik infiltrasyona oluştuğunu tespit etmişlerdir. Bhosale (2017) yapmış olduğu çalışmada *Corbicula striatella*'ya 20 gün boyunca sisplatin kronik dozuna maruz bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlarda ise manto dokusunda doku parçalanması, sindirim tübüllerinde deformasyon ve sindirim bezinde hemositik infiltrasyon olarak tespit edilmiştir. CuO NP süspansiyonlarının *M. edulis*'e üzerinde etkilerinden biride manto kenarı boyunca yer alan epitel hücrelerinde CuO NP'ye cevaben hasar oluşturduğununtespit edilmesidir (Hu ve ark.,2014). Sucul organizmaların birçoğu için su ile ilk temas eden organ solungaçlar olsada, manto, sindirim kanalı vehepatopankreatik tübüller gibi epitel sınırlar arasında doğrudan sindirilmesi veya geçmesi nanopartikül maruziyetinin ana yollarıdır (Barber ve ark., 2009; Moore, 2006). Midye türlerinde NP alımı ve iletimi, zaman ve dokuya bağlı olarak değişmektedir. Bu değişim NP süspansiyon ve çözünürlüğüne yığın oluşturmaya bağlı olmaktadır. Depolamada ana doku olan sindirim bezi solungaçlara göre daha dayanıklıdır. NP'lerin

büyük bir kısmının, sindirim bezi tübüllerine yönlendirildiğini ve potansiyel olarak endositoz yoluyla sindirim hücreleri tarafından alındığı yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir (Ward ve Kach 2009). Midyelerin partiküller yapıdaki maddelerin, çözünabilir maddelere göre daha verimli bir şekilde filtrelediğini *M. galloprovincialis*'e 1-10 mg/l ZnO NP'leri ve CeO₂ NP'lerine maruz bırakılmasıyla doğrulanmıştır. Dört gün boyunca 1-10 mg/l dozlarında ZnO NP'leri ve CeO₂ NP'lerinin uygulanması sonucunda ZnO NP'leri midyenin yumuşak dokusunda biriktiğini ve CeO₂ NP'lerinin ise sindirim sisteminde biriktiği kanıtlanmıştır, bu farklılığın ise çözünme hızı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Montes ve ark., 2012). Çalışmamızdaki sindirim bezi ve manto dokusunda tespit edilen bu histopatolojik değişimler solungaçlardan sonra hedef organların sindirim bezi ve manto dokusu olduğunu destekler niteliktedir ve SiO₂ NP'sinin nanotoksik etkisinin kanıtı olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda histopatolojik olarak değerlendirilen bir diğer doku çeşidi gonadlardır. *M. galloprovincialis*'in morfolojik olarak cinsiyet tayini yapılamadığından, örnekler içerisinde en çok rastladığımız (12 örnekten 10 erkek örnek) erkek örnekler olduğu için sadece bu bireylere ait üreme organı değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler neticesinde erkek gonad yapısında veziküler bağ dokusunda çoklu inflamasyon odaklarına rastlanmıştır. Literatür taramalarında nanopartikül maruziyeti ve midye gonadlarına ait histopatolojik çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Cd uygulan *Mytilus edulis*'in erkek gonadlara etkisinin incelendiği bir çalışmada foliküllerin etrafını saran veziküler bağ dokusunda çoklu inflamasyon odakları tespit edilmiştir (Sheir ve ark., 2013). Bir başka çalışmada ise PAH kirleticilere maruz kalan *Mytilus edulis* gonadlarındaki veziküler bağ dokusunda çoklu inflamasyon odaklarına rastlanmıştır (Aarab ve ark., 2011). Kirletici maruziyeti sonucunda toksik etkiye cevaben çoklu inflamasyon odaklarının oluşması midyenin savunma mekanizması olarak düşünülmektedir (Cuevas ve ark., 2015). SiO₂ NP'lerinin maruziyeti gonadlarda oluşturduğu nanotoksik etki sonucunda benzer bulguların gözlemlendiği düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarımız hipotezimizi desteklemekte; midyelerin NP'lere hassas olduğu ve toksik etkiye maruz kaldığı görülmektedir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda çevresel kirliliğinin muhtemel etkileri araştırılarak ekosistem hakkında dikkat çekici bir ilgi ve çevreye duyarlılık bilinci şekillenmiştir (Adedej ve ark., 2012). Giderek artan çevre kirliliği sonucunda biyolojik dengenin bozulacağı, yerkürenin yaşanmaz hale geleceği düşüncesi her geçen gün artmaktadır. Bu sebeple, bu kirliliğin izlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Aslanhan, 2012).

Çevresel kirliliği izlemede geleneksel metod olarak, kimyasal analiz metotları kabul edilmiştir. Ancak bu metotlarla elde edilen veriler ortamda bulunan kirletici maddelerin varlığını gösterirken, bu maddelerin aynı ortamda yaşayan canlılar üzerindeki toksik etkileri hakkında bir fikir vermemektedir (Taylan ve Özkoç, 2007). Ayrıca nano materyalleri bilinen analitik metodlarla tayin etmek her zaman mümkün olmamaktadır. Bu olumsuzluğu ortadan kaldırmak için, son yıllarda yapılan çalışmalar, toksik maddeleri vücutlarında biriktiren “biyoindikatör” veya “biyomonitor” canlılar üzerine odaklanmış durumdadır. Böylece biyoindikatör canlılarda toksik madde analizleri yapılarak maddenin toprak, su ve havadaki düzeyleri hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir (Gadzała-Kopciuch ve ark., 2004; Aslanhan, 2012). Biyoindikatörlerin en önemli kullanıma sebepleri; dokularında akümüle ettikleri kontaminantların analiz edilmesiyle çevre kirliliğine sebep olan bu maddelerin canlıların yaşadığı ortamdaki etkilerini açığa çıkarmasıdır (Tataruch ve Kierdorf, 2003). Bu sebeple çalışmamızda kullanılan biyoindikatör canlı olan *M. galloprovincialis*’in denizel ortamdaki kirliliği ve toksikolojik etkiyi en iyi şekilde gösterebileceği düşünülmüştür.

Dünyanın varoluşundan günümüze dek volkanik patlamalar vb. farklı nedenler ile meydana gelen doğal nanopartiküller bulunmaktadır. Canlı organizmalar doğal nanopartiküllere adapte olabilmek için çeşitli adaptasyon süreçleri geçirmişlerdir. İnsan faaliyetleri ile oluşan endüstriyel işlemler de (egzos ve kaynak gazları vb.) nanopartiküllerin oluşmasına neden olmaktadır. Kendiliğinden oluşan nanopartiküller haricinde amaca yönelik yapay olarak üretilen nanopartiküller de bulunmaktadır. Nanomalzemeler özgünlükleri, geniş yüzey alanına sahip olmaları ve yüksek reaksiyon aktivitesi sergilemeleri sebebiyle artan bir öneme sahiptir. Bu durum özellikle sucul ekosistemleri önemli derecede tehdit etmektedir. SiO₂ NP’leri kolay sentezlenmeleri ve geniş kullanım alanlarına sahip olmaları nedeniyle çok tercih edilen NP’lerdendir (Xie ve ark., 2010). SiO₂ NP’lerinin *M. galloprovincialis* üzerine etkilerinin araştırıldığı

alışmalar olmasına rağmen bu türe ait histopatolojik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan araştırmamızın literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışmamızda 96 saat süre ile SiO₂ NP'lerinin maruziyetinin nanotoksik etkileri olarak çoğunlukla geri dönüşümlü hasarlara rastlanmıştır. Gerekli önlemlerin alınmasıyla geri dönüşümlü hasarların iyileştirilebileceği kanısına varılmaktadır; fakat bu maruziyetin daha uzun sürede olmasıhasarların geri dönüşümsüz olabileceği bu etkinin ise; türü, bulunduğu çevreyi ve onunla beslenen canlıları olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmektedir. Ağır metallerin bu canlılar ve diğer organizmalar üzerindeki toksik etkisi bilinmektedir. Fakat NP'lerin canlı organizmalardaki nanotoksik etkisi hakkında net bilgiler bulunmadığı için besin maddesi olarak tüketilen bu sucul organizmaların insan vücuduna olası etkileri hakkında endişeler giderek artmaktadır. Bu konu hakkındaki çalışmaların genişletilmesi ve biyolojik sistemlere etki mekanizmasının araştırıldığı çalışmalara önem verilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Aarab N., Godal B. F., Bechmann R. K., 2011. Seasonal Variation of Histopathological and Histochemical Markers of PAH Exposure in Blue Mussel (*Mytilus edulis* L.). Marine Environmental Research, 71(3), 213-217.
- Aksoy A., Hale W. H., Dixon J. M., 1999. *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic. as a Biomonitor of Heavy Metals. Science of the Total Environment, 226(2-3), 177-186.
- Algan O., Gazioğlu C., Çağatay N., Yücel Z.Y., Gönençgil B., 1999. Sediment and Water Influxes into the Black Sea by Anatolia Rivers. Zeitschrift für Geomorphologie 43(1): 61-79.
- Aquascope.(b.t.), 20.05.2019.
http://www.molluscs.at/bivalvia/index.html?/bivalvia/common_mussel.html
- Aslan E., 2010. İzmir Körfezindeki Kara Midyelerinin (*Mytilus galloprovincialis*) ve Bazı Balık Türlerinin Farklı Organve Dokularındaki ²¹⁰Po Konsantrasyonu ile Lipid Peroksidasyonu (LPO), H₂O₂ ve Prolin Arasındaki Korelasyonunun İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Türkiye.
- Aslanhan E., 2012. Çevresel Kirliliklerin Takibinde Kullanılacak Yeni Biyomonitör Bitkiler. Türkiye Cumhuriyeti Yüksek Lisans Tezi, Ahi Evran Üniversitesi, Türkiye.
- Barber D.S., Denslow N.D., Griffitt R.J., Martyniuk C.J., 2009. Sources, Fate and Effects of Engineered Nanomaterials in the Aquatic Environment. in: Sahu, S.C.; Casciano, D.A. (Eds.). Nanotoxicity. John Wiley and Sons, Ltd, Chichester, UK, pp. 227–246.
- Bayne B. L., Bayne B. L., 1976. Marine Mussels: their Ecology and Physiology (Vol. 10). Cambridge University Press.
- Bhosale P.A., 2017. Histopathological Effect of Cisplatin on Mantle, Digestive Gland and Foot Tissue of Freshwater Bivalve, *Corbicula striatella* (Deshaiesh 1900). Journal of Pharmacognecy and Phytochemistry, 6, 391-393.
- Bignell J. P., Stentiford G. D., Taylor N. G. H., Lyons B. P., 2011. Histopathology of Mussels (*Mytilus* sp.) from the Tamar Estuary, UK. Marine environmental research, 72(1-2), 25-32.

- Biswas P., Wu P., 2005. Nanoparticles and the Environment. Journal of the Air and Waste Management Association.55:708–746.
- Bound J.P., Voulvoulis N., 2005. Household Disposal of Pharmaceuticals as a Pathway for Aquatic Contamination in the United Kingdom. Environ. Health Perspect. 113,1705–1711.
- Canesi L., Ciacci C., Fabbri R., Marcomini A., Pojana G., Gallo G., 2012. Bivalve Molluscs as a Unique Target Group for Nanoparticle Toxicity. Marine Environmental Research. 76: 16–21.
- Canesi L., Fabbri R., Gallo G., Vallotto D., Marcomini A., Pojana G., 2010a. Biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* Exposed to Suspensions of Selected Nanoparticles(Nano carbon black, C60 fullerene, Nano-TiO₂, Nano-SiO₂). Aquatic Toxicology, 100(2), 168-177.
- Canesi L., Fabbri R., Vallotto D., Marcomini A., Pojana G., 2010b. Biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* Exposed to Suspensions of Selected Nanoparticles (Nano carbon black, C60 fullerene, Nano–TiO₂, Nano–SiO₂). Aquatic Toxicology. 100: 168–177.
- Casals E., Bastus N., Vázquez S., Varon M., Comenge J., Puentes V., 2008. Inorganic Nanoparticles and Biolog. Cont Scien; 4 (2): 171-176.
- Chichiricco G., Poma A., 2015. Enetration and Toxicity of Nanomaterials in Higher Plants. Nanomaterials 5: 851-873.
- Chu F.L., 1988. Humoral Defence Factors in Marine Bivalves. American Fisheries Society Special Publication, 18:178-188.
- Colvin V.L., 2003. The Potential Environmental Impact of Engineered Nanomaterials. Nature Biotechnology. 21: 1166–1170.
- Cuevas N., Zorita I., Costa P. M., Franco J., Larreta J., 2015. Development of Histopathological Indices in the Digestive Gland and Gonad of Mussels: Integration with Contamination Levels and Effects of Confounding Factors. Aquatic toxicology, 162, 152-164.
- Çömelekoğlu Ü., Söğüt F., Uzun C., Yalin S., Yaman S., 2017. Silisyum Dioksit Nanoparçacıklarının Sıçan Kortikal Kemik Biyomekanik Üzerine Etkileri:Deneysel

- Dagani R., 2003. Nanomaterials: Safe or Unsafe. Chem&Eng News 28: 30-33.
- Dale L., 2005. Synthesis, Properties, and Applications of Iron Nanoparticles. Small Nano Micro 1: 482-501.
- Dohmen M.R., 1983. Gametogenesis. In Verdonk N.H., Tompa A.S. and van de Biggelaar J.A.M. (eds) The Mollusca, Volume 3. Development. New York: Academic Press, pp. 1–49.
- Donaldson K., Poland C.A., Schins R.P.F., 2010. Possible Genotoxic Mechanisms of Nanoparticles: Criteria for Improved Test Strategies. Nanotoxicology, 4(4), 414-420.
- Dreher K.L., 2004. Health and Environmental Impact of Nanotechnology: Toxicological Assessment of Manufactured Nanoparticles. Toxicological Sciences 77: 3-5.
- Duinker A., Håland L., Hovgaard P., Mortensen S., 2008. Gonad Development And Spawning in One and Two Year Old Mussels (*Mytilus Edulis*) From Western Norway. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 88(7), 1465-1473.
- Ergüden C., 2012. İzmir Körfezi'nde Su Kalitesi ve Organoklorlu Pestisitlerin Midye (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) Dağılımına Etkisi (Doctoral dissertation, DEÜ , Türkiye).
- FAO.20.05.2019,
http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mytilus_galloprovincialis/en#tcNA00EA
- Field I. A., 1922. Biology and Economic Value of the Sea Mussel *Mytilus edulis*. Bull. U. S. Bur. of Fisheries, Vol: 38, pp. 127-259, Washington.
- Fischer HC., Chan CW., 2007. Nanotoxicity: the Growing Need for in vivo Study. Current Opinion in Biotechnology Volume 18, Pages 565-571
- Gabbott P.A., 1976. Energy Metabolism. In Bayne B.L. (ed.) Marine Mussels: their Ecology and Physiology. Cambridge, UK: Cambridge University Press, pp. 293–355.
- Gadzała-Kopciuch R., Berecka B., Bartoszewicz J., Buszewski B., 2004. Some Considerations About Bioindicators in Environmental Monitoring. Polish Journal of

- Environmental Studies, 13(5): 453-462.
- Garcia A., Espinosa R., Delgado L., Casals E., Gonzalez E., 2011. Acute Toxicity of Cerium Oxide, Titanium Oxide and Iron Oxide Nanoparticles Using Standardized Tests. *Desalination* 269: 136-141.
- Geldiay R., Kocataş A., 1972. Denizlerde Polulasyon. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, İzmir/ Türkiye.
- Gilbert N., 2012. Drug-Pollution Law all Washed up. *Nature* 491 (7425), 503–504. Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.S., Tannenbaum, S., 1982. Analysis of Nitrate, Nitrite, and (^{15}N) Nitrate in Biological Fluids. *Anal. Biochem.* 126, 131–138.
- Gosling E.(ed.). The Mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture, Elsevier, New York, pp. 1–17.
- Gosling E.M., 1992. Systematics and Geographic Distribution of *Mytilus*. in: Gosling, E.(ed.). The mussel *Mytilus*: Ecology, physiology, genetics and culture. Elsevier, New York, pp. 1-17.
- Göğüş A. K., Kolsarıcı N., 1992. Su Ürünleri Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, No: 358, Ankara, 281 s.
- Griffitt R.J., Hyndman K., Denslow N.D., Barber D.S., 2009. Comparison of Molecular and Histological Changes in Zebra Fish Gills Exposed to Metallic Nanoparticles. *Toxicological Sciences*. 107(2):404–415.
- Handy R. D., Owen R., Valsami–Jones E., 2008a. The Ecotoxicology of Nanoparticles and Nanomaterials: Current Status, Knowledge Gaps, Challenges, and Future Needs. *Ecotoxicology*. 17: 315–325.
- Handy R.D., Shaw B.J., 2007. Toxic Effects of Nanoparticles and Nanomaterials: Implications for Public Health, Risk Assessment and the Public Perception of Nanotechnology. *Health, Risk and Society*. 9(2): 125–144.
- 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.

- Heydrnejad M.S., Samani R.J., Aghaeivanda S., 2015. Toxic Effects of Silver Nanoparticles on Liver and some Hematological Parameters in Male and Female Mice (*Mus musculus*). Biol Trace Elem Res 165:153-158.
- Hideyo M., Yutaka S., Sumio T., Yasubumi T., 1999. Polypropylene Resin Composition for Automobile Component Parts. Japanese Patent JP 9165478 A. (b)Mizutani, Y., Nago, S. J., Appl. Polym. Sci., 72, 1489.
- Hodgson A.N., Bernard R.T.F., 1986. Ultrastructure of the Sperm and Spermatogenesis of 3 Species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia). Gamete Research 15, 123–135.
- Hoet P. H., Brüske-Hohlfeld, I., Salata O. V., 2004. Nanoparticles Known and Unknown Health Risks. Journal of Nanobiotechnology, 2(1), 12.
- Hommel H., Touhami A., Legrand A. P., Balard H., Papirer E. 1993. Segmental Mobility of Model Compounds for Rubber Reinforcement. Die Makromolekulare Chemie, 194(3), 879-889.
- Hu W., Culloty S., Darmody G., Lynch S., Davenport J., Ramirez-Garcia S., Dawson K., A., Lynch, I., Blasco, J., Sheeha D., 2014. Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles in the Blue Mussel, *Mytilus edulis*: A redox proteomic investigation. Chemosphere 2014, 108 , 289–299.
- Katsumiti A., Arostegui I., Oron M., Gilliland D., Valsami-Jones E., Cajaraville M. P. 2016. Cytotoxicity of Au, ZnO and SiO₂ NPs Using in Vitro Assays with Mussel Hemocytes and Gill Cells: Relevance of Size, Shape and Additives. Nanotoxicology, 10(2), 185-193.
- Kaya H., Duysak M., Akbulut M., Yılmaz S., Gürkan M., Arslan Z., Ateş M. 2017. Effects of Subchronic Exposure to Zinc Nanoparticles on Tissue Accumulation, Serum Biochemistry, and Histopathological Changes in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Environmental toxicology, 32(4), 1213-1225.
- Kocataş A., 1978. İzmir Körfezi Kayalık Sahillerinin Bentik Formları Üzerinde Kalitatif ve Kantitatif Araştırmalar. E.Ü. Fen Fak. Monog. Ser. 12. 1-93.
- Kookana R., Williams, M., Boxall A., Larsson J., Gaw S., Choi K., Yamamoto H., Thatikonder S., Zhu Y.-G., Carriquiriborde P., 2014. Potential Ecological Footprints

- of Active Pharmaceutical Ingredients: an Examination of Risk Factors in Low-, Middle-, and High-income Countries. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 369, 20130586.
- Küçüksezgin F., Kayatekin B. M., Uluturhan E., Uysal N., Acikgoz O., Gonenc S., 2008. Preliminary Investigation of Sensitive Biomarkers of Trace Metal Pollution in Mussel (*Mytilus galloprovincialis*) from Izmir Bay (Turkey). *Environmental monitoring and assessment*, 141(1-3), 339-345.
- Lubet P.E., 1959. Recherches Surle Cycle Sexuel Et L'Emission Des Gamates Chez Les Mytilidae Et Les Pectinidae (Moll. Bivalves). *Revue des travaux de L; Office (scientifique et technologique) des Peches maritimes* 23, 387-548.
- Lubet P. E., 1963. *Physiologie des Moules*. Imprimerie Emmanuel Vitte, 177, Avenue, Felix-faure, Lyon 3.
- Lubet P. E., 1957. Cycle Sexuel De *Mytilus edulis* L. Et De *Mytilus galloprovincialis* L. Dans Le Bassin D'Arcachan (Gironde). *L'Annee Biologique*, 3 me serie, Tome, 33.
- Lubet P.E., 1959. Recherches Surle Cycle Sexuel et L'emission des Gamates Chez les Mytilidae et les Pectinidae (Moll. Bivalves). *Revue des travaux de L; Office (scientifique et technologique) des Peches maritimes* 23, 387-548.
- Mallat J., 1985. Fish Gill Structural Changes Induced by Toxicants and Other Irritants, A Stastical Review. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* 42: 630-648.
- Mathew J. P., Srinivasan M., 1992. Silica Supported Polymer Palladium Complexes as Catalysts for the Reduction of Nitro and Azo Groups. *Polymer international*, 29(3), 179-184.
- Mathieu M., Lubet P., 1993. Storage Tissue Metabolism and Reproduction in Marine Bivalves a Brief Review. *Invertebrate Reproduction and Development* 23, 123–129.
- Mittal K. L., 2012. *Adhesion Aspects of Polymeric Coatings*. Springer Science & Business Media.
- MolluscaBase ., 2019. MolluscaBase. *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819. Accessed through: World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=140481> on 2019-08-02

- Moore M.N., 2006. Do Nanoparticles Present Ecotoxicological Risks for the Health of the Aquatic Environment. *Environmental International*. 32: 967–976.
- Moore M.N., Lowe D.M., Soverchia C., Haigh S.D., Hales S.G., 1997. Uptake Of A Non-Calorific, Edible Sucrose Polyester Oil and Olive Oil by Marine Mussels and Their Influence on Uptake and Effects of Anthracene. *Aquatic Toxicology*. 39: 307–20.
- Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramírez J.T., Yacamán J.M. 2005. The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles. *Nanotechnology*. 16:2346–2353.
- Morse M. P., Zardus J. D., 1997. *Microscopic Anatomy of Invertebrates 6A Mollusca II*, Wiley-Liss, Inc., New York, 0-471-15447-4.
- Niu M., Zhong H., Shao H., Hong D., Ma T., Xu K., Chen X., Han J.; Sun J., 2016. Shape-Dependent Genotoxicity of Mesoporous Silica Nanoparticles and Cellular Mechanisms. *J Nanosci Nanotechnol*; 16(3):2313-18.
- Oberdörster E., 2004. Manufactured Nanomaterials (Fullerenes, C₆₀) Induce Oxidative Stress in the Brain of Juvenile Largemouth Bass. *Environmental Health Perspectives* 112: 1058-1062.
- Olafsen J.A., 1988. Role of Lectins in Invertebrate Humoral Defence. *American Fisheries Society Special Publication*, 18: 189-205.
- Owen G., 1955. Observations on the Stomach and Digestive Diverticula of the Lamellibranchia I. The Anisomyaria and Eulamellibranchia, *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 96 (4), 517-537.
- Owen G., 1966, *Physiology of mollusca II*, Academic Press, New York.
- Örs A., 2008, “Önce Deniz Sonra Midyeler Kirlendi”, *yi_2014.pdf* (Erişim Tarihi: 08.05.2015)
- Özdoğan E., Demir A., Seventekin N., 2006. Nanoteknoloji ve tekstil uygulamaları. *Tekstil ve Konfeksiyon*, (3): 159-168.
- Paur H.R., Cassee F.R., Teeguarden J., Fissan H., Diabate S., Aufderheide M., Kreyling W.G., Hänninen O., Kasper G., Riediker M., Rutishauser B., Schmid O., 2011. In-Vitro Cell Exposure Studies for the Assessment of Nanoparticle Toxicity in the Lung

- A Dialog Between Aerosol Science and Biology. Journal of Aerosol Science. 42: 668–692.
- Pellerin J., Amiard J. C., 2009. Comparison of Bioaccumulation of Metals and Induction of Metallothioneins in Two Marine Bivalves (*Mytilus edulis* and *Mya arenaria*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 150(2), 186-195.
- Pipe R.K., 1987a. Oogenesis in the Marine Mussel *Mytilus edulis* an Ultrastructural Study. Marine Biology 95, 405–414.
- Pipe R.K., 1987b. Ultrastructural and Cytochemical Study on Interactions Between Nutrient Storage Cells and Gametogenesis in the Mussel *Mytilus edulis*. Marine Biology 96, 519–528.
- Politakis N., Belavgeni A., Efthimiou I., Charalampous N., Kourkouta C., Dailianis S., 2018. The Impact of Expired Commercial Drugs on Non-Target Marine Species: a Case Study with the Use of a Battery of Biomarkers in Hemocytes of Mussels. Ecotoxicology and Environmental Safety, 148, 160-168.
- Raftopoulou E. K., Dimitriadis V. K., 2011. Comparative Study of the Accumulation and Detoxification of Cu (essential metal) and Hg (nonessential metal) in the Digestive Gland and Gills of Mussels *Mytilus galloprovincialis*, Using Analytical and Histochemical Techniques. Chemosphere, 83(8), 1155-1165.
- Rahi A., Sattarahmady N., Heli H., 2014. Toxicity of Nanomaterials-Physicochemical Effects. Austin JNanomed Nanotechnol, 2 (6): 1034
- Ratcliffe N.A., Rowley A.F., Fitzgerald S.W., Rhodes C.P., 1985. Invertebrate Immunity: Basic Concepts and Recent Advances. International Review of Cytology, 97: 213-273.
- Rayment G. E., Barry G., 2000. Indicator Tissues for heavy Metal Monitoring - Additional Attributes. Marine Pollution Bulletin, 41, 353-358.
- Renzoni A., 1961. Variazioni Istologiche Stagionali Del Gano Di *Mytilus galloprovincialis* Lamk. In Rapporto Al Ciclo Riproduttivo. Rivista di Biologia, 54.
- Rinna A., Magdolenova Z., Hudecova A., Kruszewski M., Refsnes M., Dusinska M., 2015.

- Effect of Silver Nanoparticles on Mitogen-Activated Protein Kinases Activation: Role of Reactive Oxygen Species and Implication in DNA Damage. *Mutagenesis* 30:59-66.
- Roco M.C., 2005. International Perspective on Government Nanotechnology Funding in 2005. *J Nanopart Res* 7: 707-12.
- Salman S., 2004. Omurgasız Hayvanlar Biyolojisi, Palme yayıncılık, İstanbul, 975-8982-04-4.
- Schwarzenbach R.P., Escher B.I., Fenner K., Hofstetter T.B., Johnson C.A., von Gunten U., Wehrli B., 2007. The Challenge of Micropollutants in Aquatic Systems. *Science* 313, 1072–1077.
- Seed R., Suchanek T.H., 1992. Population and Community Ecology of *Mytilus*. In: Gosling, E.(ed.). *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture*, Elsevier, New York, pp. 87–157.
- Senjen R., Hontelez J., 2009. Nanotechnologies in the 21st Century-Nanomaterials-Health and Environmental Concern. Wiley Vch, 2.
- Shamsi A., Ahmed A., Bano B., 2017. Structural Transition of Kidney Cystatin Induced by Silicon Dioxide Nanoparticles: an Implication for Renal Diseases. *Int J Biol Macromol*;94 (PtB):754-61.
- Sheir S. K., Handy R. D., Henry T. B., 2013. Effect of Pollution History on Immunological Responses and Organ Histology in the Marine Mussel *Mytilus edulis* Exposed to Cadmium. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 64(4), 701-716.
- Singh N., Manshian B, Jenkins G.J.S., Griffiths S.M., Williams P.M., Maffei T.G.G., 2009. Nanogenotoxicology: the DNA Damaging Potential of Engineered Nanomaterials. *Biomaterials*, 30 (23-24): 3891–914.
- Solmaz S.K.A., Yonar T., Üstün G.E., 2000. Gemlik Körfezi’nde Karasal Kaynaklı Kirlilik Envanteri. Marmara Denizi Sempozyumu.
- Srivastava V., Gusain, D., Sharma Y.C., 2015. Critical Review on the Toxicity of Some Widely Used Engineered Nanoparticles. *Ind. Eng. Chem. Res.* 54: 6209-6233.
- Stentiford G. D., Bignell J.P., Lyons B.P., Feist S.W., 2009. Site-Specific Disease Profiles

- in Fish and their Use in Environmental Monitoring. Marine Ecology Progress Series, 381, 1-15.
- Tataruch F., Kierdorf H., 2003. Mammals as Biomonitors. V: Markert, Ba, Breure, Am/Zechmeister, Hg (ur.). Bioindicators & biomonitors: Principles, Concepts and Applications.
- Taylan Z.S., Böke - Özkoç, H., 2007. Potansiyel Ağır Metal Kirliliğinin Belirlenmesinde Akuatik Organizmaların Biokullanılabilirliği, Baü Fbe Dergisi, Cilt:9, Sayı:2, 17-33.
- Tedesco S., Doyle H., Blasco J., Redmond G., Sheehan D., 2010. Oxidative Stres and Toxicity of Gold Nanoparticles in *Mytilus edulis*. Aquat. Toxicol. 100, 178–196.
- Tiede K., Hassellöv M., Breitbarth E., Chaudhry Q., Boxall, A.B.A., 2009. Considerations For Environmental Fate and Ecotoxicity Testing To Support Environmental Risk Assessments For Engineered Nanoparticles. Journal of Chromatography A. 1216 (3): 503–509.
- Tuncer S., 1987. Recherches Des Parametres Physico-Chimiques et Des Sels Nutritifs Dans Les Baies D “İzmir et D” Aliaga (Turquie). Revue Internationale d'Océanographie Medicale, 75-83.
- Uysal H., 1970. Türkiye Sahillerinde Bulunan Midyeler (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck) Üzerine Biyolojik Ve Ekolojik Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi İlmi Yayınları, No:79.
- Uysal H., 1978. The Effects of Some Pollutants on *Mytilus galloprovincialis* and *Paracentrotus lividus* in the Bays of Izmir and Aliğa. IV es Journés Etud. Pollutions, C.I.E.S.M, 313-317.
- Van der Knaap W.P.W., Adema C.M., Neelman A.P., Sminia T., 1994. Invertebrate Internal Defence Systems: the Backbone of the Vertebrate Immune System. Developmental and Comparative Immunology, 18: 107-108.
- Wang B., Feng W.Y., Zhu M.T., Wang Y., Wang M., 2009. Neurotoxicity of Low-Dose Repeatedly Intranasal İnstillation of Nano and Submicron-sized Ferric Oxide Particles in Mice. J Nanopart Res 11: 41-53.
- Wang W.X., Fisher N.S., 1999. Delineating Metal Accumulation Pathways for Marine

- Invertebrates. *Science of the Total Environment*, 237, 459-472.
- Warheit D.B., Laurence B.R., Reed K.L., Roach D.H., Reynolds G.A.M., Webb T.R., 2004. Comparative Pulmonary Toxicity Assessment of Single Wall Carbon Nanotubes in Rats. *Toxicological Sciences* 77: 117-125.
- Wei Y., Fan L.M., Chen L.R., 1997. Effect of Different Pore Diameter Silica Based Polymer-Bonded Phases and Mobile Phase on Separation of Proteins. *Chromatographia*, 46 (11-12), 637-640.
- Wiench K., Wohlleben W., Hisgen V., Radke K., Salinas E., Zok S., Landsiedel R., 2009. Acute and Chronic Effects of Nano and Non Nano Scale TiO₂ and ZnO Particles on Mobility and Reproduction of the Freshwater Invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere* 76: 1356-1365.
- Wourms J.P., 1987. Oogenesis. In Giese A.C., Pearse J.S. and Pearse V. (eds) *Reproduction of Marine Invertebrates*, Volume 9. California: Blackwell/Boxwood, pp. 50–178.
- Xie G., Sun J., Zhong G., Shi, L., Zhang D., 2010. Biodistribution and Toxicity of Intravenously Administered Silica Nanoparticles in Mice. *Archives of Toxicology*, 84(3), 183-190.
- Yavaşoğlu A., Özkan D., Güner A., Katalay S., Oltulu F., Yavaşoğlu N. Ü. K., 2016. Histopathological and Apoptotic Changes on Marine Mussels *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) Following Exposure to Environmental Pollutants. *Marine Pollution Bulletin*, 109(1), 184-191.
- Yu X., Hong F., Zhang YQ., 2016. Bio Effect of Nanoparticles in the Cardiovascular System. *J Biomed Mater Res A*; 104(11):2881-97.
- Zhang W., 2003. Nanoscale Iron Particles for Environmental Remediation: an Overview. *Journal of Nanoparticle Research*. 5: 323–332.
- Zhu M.T., Feng W.Y., Wang B., Wang T.C., Gu Y.Q., 2008. Comparative Study of Pulmonary Responses to Nano and Submicron Sized Ferric Oxide in Rats. *Toxicology* 247: 102-111.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fatma Selin BASKIN

Doğum Yeri : Kırklareli

Doğum Tarihi : 23/05/1994

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi / Fen Edebiyat

Fakültesi/ Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Bölümü

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI -Diğer

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

Baskin F.S., Gürkan M., Ertürk S., Hayrettaş S., "Çanakkale Boğazı'ndan Toplanan Akdeniz Midyesi (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) Örneklerinde Ağır Metal Birikimleri ve Histolojik İncelemeler ", Second Rating Academy Congress On Hope, Çanakkale, Türkiye, 19-21 Nisan 2018, pp.118-11

Gürkan M., Ertürk S., Baskin F.S., "Gamma Demir Oksit (Fe_2O_3) Nanopartiküllerinin Gökkuşuğu Alabalıklarındaki (*Oncorhynchus mykiss*) Bazı Toksik Etkileri ve Birikiminin Araştırılması ", Second Rating Academy Congress On Hope, Çanakkale, Türkiye, 19-21 Nisan 2018, pp.116-116

İLETİŞİM

E-posta Adresi : fselinbaskin@gmail.com