

ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Drosophila melanogaster'de ZnOTiO₂ NANOKOMPOZİTİNİN
in vivo TOKSİK POTANSİYELİNE KARŞI OLEUROPEİN'İN
KULLANILMASI

Tuğba ATICI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERZİNCAN

2016

Her Hakkı Saklıdır

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

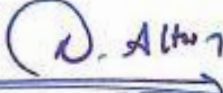
Adı-Soyadı: Tuğba ATICI


İmza :



Drosophila melanogaster'de ZnOTiO₂ Nanokompozitinin *in vivo* Toksik Potansiyeline Karşı Oleuropein'in Kullanılması adlı Yüksek Lisans tezi, Erzincan Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.


Tezi Hazırlayan
Tuğba ATICI


Danışman
Yrd. Doç. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK


Biyoloji ABD Başkanı
Prof. Dr. Salih DOĞAN

Yrd. Doç. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK danışmanlığında, Tuğba ATICI tarafından hazırlanan bu çalışma 22/06/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Biyoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

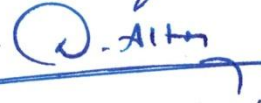
Başkan : Prof. Dr. Handan UYSAL

İmza: 

Üye : Doç. Dr. Sevgi SEVSAY

İmza: 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK

İmza: 

24/06/2016

Yukarıdaki sonucu onaylarım.



Prof. Dr. Ali SÜLÜN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Drosophila melanogaster'de ZnOTiO₂ NANOKOMPOZİTİNİN *in vivo* TOKSİK POTANSİYELİNE KARŞI OLEUROPEİN'İN KULLANILMASI

Tuğba ATICI

Erzincan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK

Teknolojinin hemen her alanında kullanılan nanopartiküllerin sağlığa etkileri son yıllarda dünya genelinde endişe yaratmakta ve bu durum hızla dikkat çekmektedir. Bu çalışmanın amacı, ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu, yaşama yüzdesi ve yavru birey sayısı üzerine olan olası toksik etkilerini ve bu etkilerin giderilebilmesinde zeytin yaprağından elde edilen ve güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olduğu bilinen Oleuropein'in (OLE) koruyucu rolünü araştırmaktır. Çalışmalarımız sonucunda, ZnOTiO₂ nanokompozitinin, konsantrasyon artışına paralel olarak hem dişi hem de erkek bireylerin ömür uzunluğu, larvaların hayatta kalma oranları ve ergin bireylerin yavru döl sayısı üzerinde kontrol grubuna göre düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ZnOTiO₂+OLE uygulama gruplarına ait değerlerin ise kontrole yaklaştığı görülmüştür. Elde edilen tüm sonuçlar Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0 paket programı kullanılarak varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir ($p < 0,05$).

2016, 77 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, Oksidatif stres, Oleuropein, Ömür uzunluğu, Yaşama yüzdesi, Yavru birey sayısı, ZnOTiO₂

ABSTRACT

Master Thesis

**USE OF OLEUROPEIN AGAINST THE *in vivo* TOXIC POTENTIAL OF
ZnOTiO₂ NANOCOMPOSITE ON *Drosophila melanogaster***

Tuğba ATICI

Erzincan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK

In recent years, the health effects of nanoparticles used in almost every area of technology raises the concerns worldwide and this situation quickly attracts attention. The aim of this study was to assess the possible toxic effects of ZnOTiO₂ nanocomposite on *Drosophila melanogaster*'s longevity, survival percentage, and number of offsprings and to investigate the protective role of Oleuropein (OLE), a powerful antioxidant obtained from olive leaves on them. Herein this study, it was investigated that in parallel with the increase in the ZnOTiO₂ nanocomposite concentration, both female and male population, survival rate of larvae, and number of offsprings decreased over the control group. It has been also seen that the obtained values from ZnOTiO₂+OLE application groups are closer to the control group. The results from our study were evaluated by using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0 software variance analysis (ANOVA) ($p < 0,05$).

2016, 77 pages**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, Longevity, Number of offsprings, Oleuropein, Oxidative stress, Survival percentage, ZnOTiO₂

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma, FEN-A-090614-0088 proje numarası ile Erzincan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiş olup, Erzincan Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Laboratuvarları'nda yürütülmüştür.

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, bilgisiyle, tecrübeleriyle, araştırma ve öğrenme aşkıyla bana yol gösteren değerli danışmanım Yrd. Doç. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi birikimlerinden, deneyimlerinden ve tavsiyelerinden yararlandığım Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı'nın birbirinden değerli öğretim elemanlarına teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince bana her türlü kolaylığı sağlayan başta Mustafa AYZ ve Nihat FIRAT olmak üzere İpekyolu Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi idarecilerine teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca yanımda olan ve desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

Son olarak, tanıştığımız ilk günden beri iyi ki varsın dediğim, can dostum, meslektaşım, güzel arkadaşım Serap ÖZEL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tuğba ATICI

Haziran, 2016

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR | vi |
| TABLolar LİSTESİ | vii |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | viii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Nanoteknoloji | 1 |
| 1.2. Nanopartiküller ve Kullanım Alanları..... | 3 |
| 1.3. Madalyonun Diğer Yüzü: Nanotoksikoloji | 4 |
| 1.4. Nanopartiküllerin Canlılardaki Toksik Etki Mekanizması | 6 |
| 1.5. Gelişim ve Yaşlanma..... | 7 |
| 1.5.1. Gelişim | 7 |
| 1.5.2. <i>Drosophila</i> 'da gelişim dönemleri ve yumurta verimini etkileyen faktörler.... | 8 |
| 1.5.2.a. Dış (çevresel) faktörler | 8 |
| 1.5.2.b. İç faktörler | 13 |
| 1.5.3. Yaşlanma | 16 |
| 1.6. Çalışmanın Amacı | 24 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ | 26 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM | 31 |
| 3.1. Materyal..... | 31 |
| 3.1.1. Kullanılan organizma | 31 |
| 3.1.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in sistematigi | 33 |
| 3.1.3. <i>Drosophila</i> 'da vücut yapısı | 33 |
| 3.1.4. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü..... | 35 |
| 3.1.5. Çalışmalarımızda kullanılan kimyasal maddeler..... | 39 |
| 3.1.6. Yararlanılan alet ve cihazlar | 40 |
| 3.2. Yöntem | 40 |
| 3.2.1. Besiyeri hazırlama | 40 |
| 3.2.2. Bayılma yöntemi | 41 |
| 3.2.3. Deney gruplarına uygulanan madde konsantrasyonlarının belirlenmesi..... | 41 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.4. ZnOTiO ₂ ve Oleuropein'in sulu süspansiyonlarının (test çözeltilerinin) hazırlanması..... | 42 |
| 3.2.5. Ergin sineklerin toplanması..... | 42 |
| 3.2.6. Ömür uzunluğu deneyleri..... | 42 |
| 3.2.7. Yavru döl sayısı deneyleri..... | 43 |
| 3.2.8. Yaşama yüzdesi (larval mortalite) deneyleri..... | 44 |
| 3.2.9. Mikrofotografi..... | 45 |
| 3.2.10. İstatistiksel yöntemler..... | 45 |
| 4. BULGULAR ve TARTIŞMA..... | 46 |
| 4.1. Bulgular..... | 46 |
| 4.1.1. Ömür uzunluğu deneylerinden elde edilen bulgular..... | 46 |
| 4.1.2. Yavru döl sayısı deneylerinden elde edilen bulgular..... | 50 |
| 4.1.3. Yaşama yüzdesi (larval mortalite) deneylerinden elde edilen bulgular..... | 52 |
| 4.2. Tartışma..... | 55 |
| 5. SONUÇ ve ÖNERİLER..... | 63 |
| KAYNAKLAR..... | 64 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 77 |

SİMGELER ve KISALTMALAR**Simgeler**

| | |
|------------------|---|
| ° | Derece |
| ♂ | Erkek |
| ♀ | Dişi |
| % | Yüzde |
| C | Santigrat |
| LD ₅₀ | Canlıların %50'sini öldüren letal konsantrasyon |
| TiO ₂ | Titanyum dioksit |
| ZnO | Çinko oksit |

Kısaltmalar

| | |
|-------|------------------------------|
| ANOVA | Varyans analizi |
| cc | Santimetreküp (= mililitre) |
| cm | Santimetre |
| dk | Dakika |
| g | Gram |
| mg | Miligram |
| mL | Mililitre |
| mm | Milimetre |
| µM | Mikromolar |
| nm | Nanometre |
| NP | Nanopartikül |
| OLE | Oleuropein |
| SDB | Standart Drosophila Besiyeri |

TABLULAR LİSTESİ**Sayfa**

Tablo 1. 1. Dünya nano materyal tüketimi (milyon \$) ve geleceğe yönelik tahminler 3

Tablo 4.1. ZnOTiO₂ ve OLE uygulanan *D. melanogaster*'in ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri.....47

Tablo 4.2. ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'in yavru döl sayısı üzerine etkisi51

Tablo 4.3. ZnOTiO₂'nin *D. melanogaster*'de yaşama yüzdesi üzerine etkileri..... 53



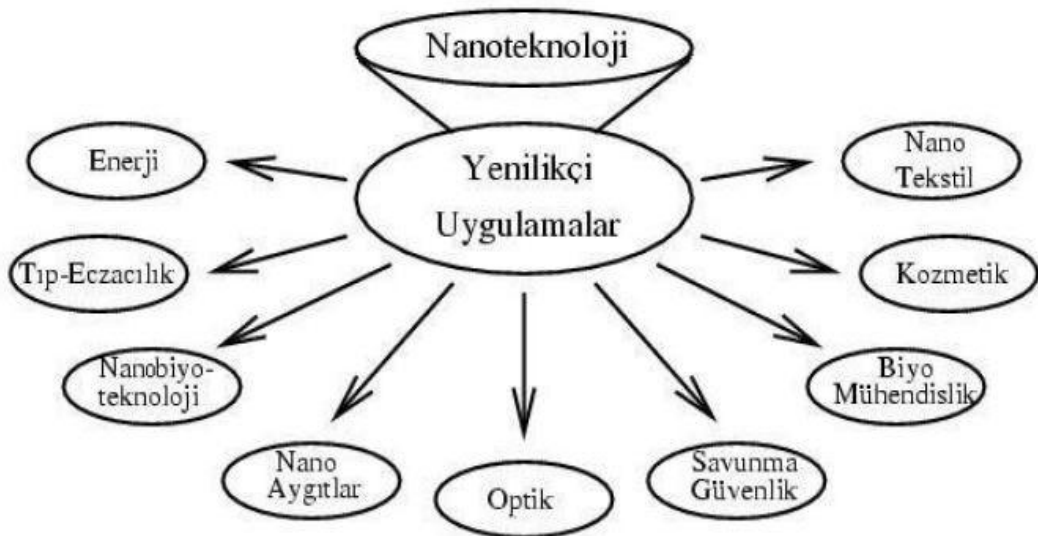
ŞEKİLLER LİSTESİ

| | Sayfa |
|--|--------------|
| Şekil 1. 1. Nanoteknoloji ve kullanım alanları | 1 |
| Şekil 1. 2. Nanopartiküllerin taşınım yolları | 5 |
| Şekil 3. 1. <i>Drosophila melanogaster</i> Oregon R soyu (yabanıl tip) erkek ve dişi bireylerinde eşeyssel dimorfizm | 34 |
| Şekil 3. 2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'de eşey tarağı | 35 |
| Şekil 3. 3. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü | 38 |
| Şekil 4. 1. Ergin yaşamları süresince farklı konsantrasyonlarda ZnOTiO ₂ içeren besiyerinde yaşayan <i>D. melanogaster</i> 'in dişi bireylerine ait hayatta kalış eğrileri..... | 48 |
| Şekil 4. 2. Ergin yaşamları süresince farklı konsantrasyonlarda ZnOTiO ₂ içeren besiyerinde yaşayan <i>D. melanogaster</i> 'in erkek bireylerine ait hayatta kalış eğrileri | 49 |
| Şekil 4. 3. ZnOTiO ₂ nanokompozitinin <i>D. melanogaster</i> 'in yavru döl sayısı üzerine etkisi | 52 |
| Şekil 4. 4. ZnOTiO ₂ 'nin <i>D. melanogaster</i> 'de yaşama yüzdesi oranları | 54 |

1. GİRİŞ

1.1. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji ismi, köken olarak ölçü birimi olan “nanometre” kelimesinden gelmektedir. Nanometre kavramı, metrenin milyarda birini ifade etmekte ve bir nanometre, düzlemine en fazla 3 tane atomun dizilebileceği kadar küçüktür (Konuk ve Oktay, 2007). Nanoteknoloji, 1- 100 nanometre uzunluğundaki partiküllerin kullanıldığı fizik, kimya, elektronik, enerji üretimi, biyoloji, tıp gibi geniş uygulama alanları bulunan yeni bir bilim dalıdır (Berk ve Akkurt, 2012). Kendi kendini temizleyen boyalardan, kirlenmeyen kumaşlara; esnek ama daha dayanıklı betondan, elmas kadar sert kaplamalara; kanserli hücrelerin vücuda zarar vermeden öldürülmesinden, günlerce etkisini kaybetmeyen kremlere; tek şarbon mikrobunu bile algılayabilen sensörlerden, bakterileri öldürdüğünden dolayı kokmayan çoraplara ve mikrop barındırmayan buzdolaplarına kadar hayatımıza girmeye başlayan nanoteknoloji bir teknoloji devrimi olarak algılanmaktadır (Bayındır, 2010) (Şekil 1.1).



Şekil 1. 1. Nanoteknoloji ve kullanım alanları (Erkoç, 2007)

Nanoteknoloji kavramı ilk kez 1959 yılında Nobel Fizik Ödülü sahibi Richard Feynman tarafından bilim felsefesiyle ilgili bir sohbet sırasında gündeme getirilmiştir. Feynman, o sohbette “Neden bir toplu iğne kafasına Britannica Ansiklopedisi’nin yirmi dört cildini yazamıyorum?” diye sorarak yeni bir bilim dalının doğmasına yol açmıştır (Kayır ve Baççıl, 2010). 1981 yılında taramalı elektron mikroskobunun (SEM), daha sonra 1985 yılında atomik kuvvet mikroskobunun (AFM) keşfi ile yüzeyde bulunan atomların ve moleküllerin gözlemlenmesine ve atomsal düzeyde tepkimelerin izlenmesine olanak tanınmıştır. Böylece 20. yüzyılın son çeyreğinde nanoteknolojiyle tanışılmış ve doğada bulunmayan yeni nano yapıların atomsal düzeyde sentezlenmesine başlanmıştır (Özkan, 2014). Nanoteknoloji bir yandan eski teknolojilere yeni bakış açıları getirirken diğer yandan da önceleri olanaksız gibi görünen yeni teknolojilere ve uygulamalara kapı aralamıştır (Bayındır, 2010).

Son yıllarda, dünya ülkeleri nanoteknoloji alanındaki yatırımlara oldukça yüklü kaynaklar ayırmaktadırlar. Bu ülkelerin başında ABD gelmekte, sırasıyla Japonya Rusya, Almanya, Fransa, Çin, Güney Kore, İngiltere, Hollanda ve Kanada takip etmektedir (Özkan, 2014). Yakın bir gelecekte, bir ülkenin nanoteknolojideki seviyesinin o ülkenin gücünün bir göstergesi olacağına inanılmaktadır. Bu yarışta geliştirilen ilk ve ikinci kuşak nano ürünler halen piyasada olup üçüncü ve dördüncü kuşak ürünlerin piyasaya girmesinin 2020 yılını bulacağı belirtilmektedir (Yılmaz Turgut, 2012). Nanoteknolojiye dayalı ekonominin 2015 yılında 1 trilyon doları aşacağı tahminleri yapılmaktayken, son zamanlarda bu beklentinin 3 trilyon doları bulabileceği ifade edilmeye başlanmıştır (Aydoğdu, 2011). Tablo 1.1’de dünyadaki nanomateryal tüketimi ve geleceğe yönelik tahminler verilmiştir.

Tablo 1. 1. Dünya nano materyal tüketimi (milyon \$) ve geleceğe yönelik tahminler (Süpürge vd., 2007)

| | 2003 | 2008 | 2020 | 2003-2020 arası tahmini artış (%) |
|------------------------------------|------|------|-------|-----------------------------------|
| ABD | 276 | 1490 | 37900 | 34 |
| Batı Avrupa | 225 | 1067 | 23100 | 31 |
| Asya-Pasifik | 215 | 1035 | 26700 | 33 |
| Diğer Bölgeler | 4 | 58 | 2300 | 45 |
| Dünya nanomateryal tüketimi | 720 | 3650 | 90000 | 33 |

Türkiye’de de nanoteknolojideki gelişmeleri takip edebilmek ve bu teknolojiyi üretir hale gelebilmek adına bazı adımlar atılmış ve bir yol haritası oluşturulmuştur. Nanoteknoloji Tübitak'ın 2023 Vizyon Programı'nda yer almıştır. Bu alandaki en önemli gelişme Bilkent Üniversitesi'nde Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi'nin (UNAM) kurulmasıdır. Bu merkezin amacı Türkiye'de nanoteknolojinin araştırma merkezi olmaktır (Aydoğdu, 2011). UNAM, nanoteknoloji konusunda araştırma yapan ana merkez olmakla beraber; ODTÜ, Anadolu Üniversitesi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü de bu konuda araştırma yapan merkezlere sahiptirler (Yalçın, 2010).

1.2. Nanopartiküller ve Kullanım Alanları

Nanoteknoloji uygulamaları geleneksel materyallerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değişmesine sebep olmaktadır. Bu değişiklikler, materyallerin boyutlarının nano ölçeklere indirgenmesiyle sonuçlanır (Özkan, 2014). Malzemenin boyutları nano ölçek düzeyine yaklaştıkça ortaya çıkan yeni özellikleri sayesinde, nanopartiküller endüstride geniş kullanım alanı bulmuş ve geliştirilen ürünler hızla gündelik yaşama girmiştir (Handy *et al.*, 2008). Bugün itibariyle, 1000’den fazla

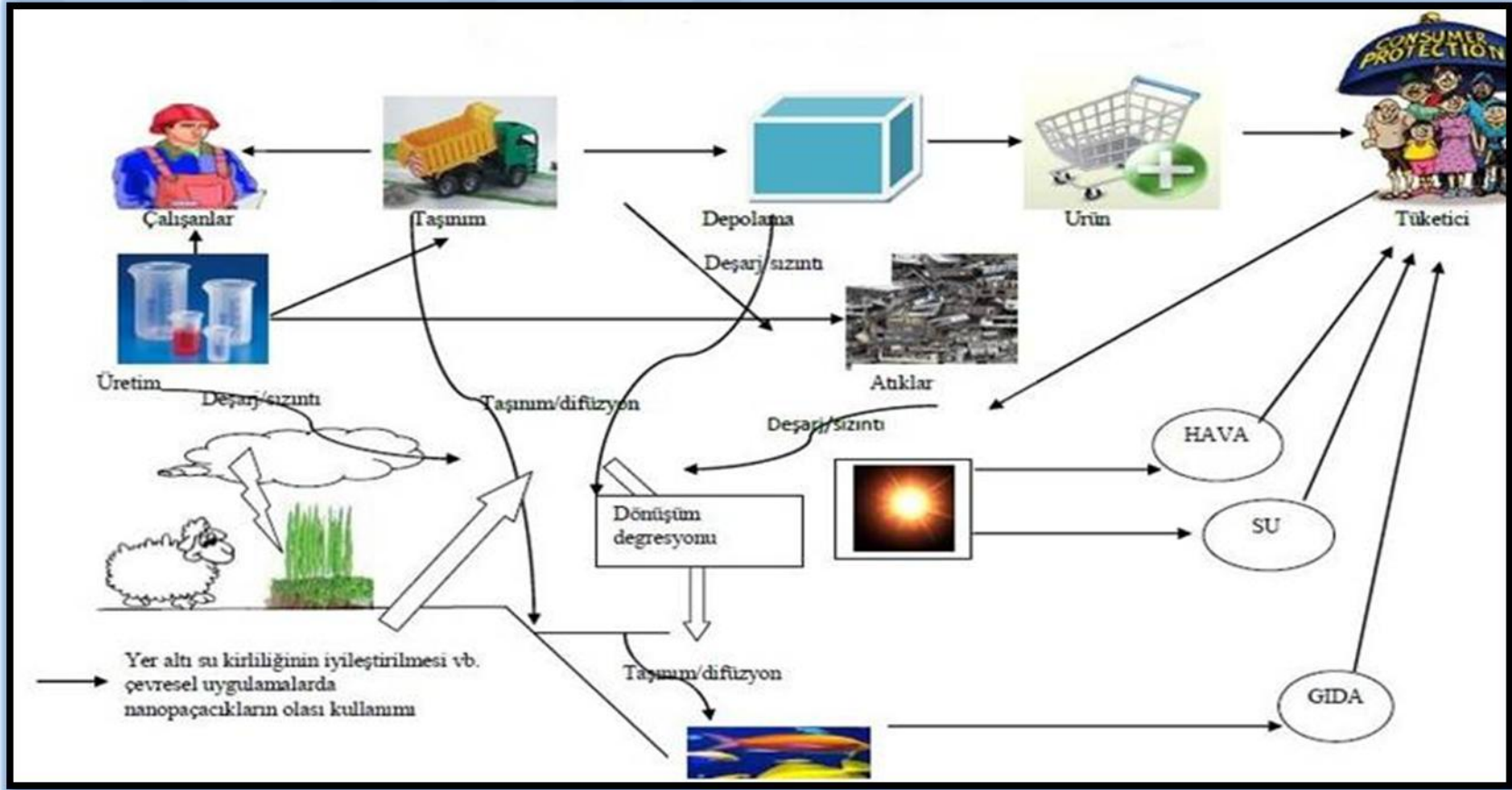
çeşit nanoteknoloji ürününün günlük kullanılan ürünler arasında yerlerini aldığı görülmektedir (Xue ve Hwang, 2011).

Nanoteknolojinin kullanıldığı alanlardan başlıcaları, tıp, halk sağlığı ve eczacılık; gıda ve biyoteknoloji; kişisel bakım ürünleri ve kozmetik; tekstil; elektronik ve bilgisayar; optik; çevresel iyileştirme ve kirliliği önleme; spor malzemeleri; güneş panelleri; otomobil sanayi; enerji; güvenlik ve uzaydır (Yılmaz Turgut, 2012).

Günümüzde, nanoteknoloji ve nanomateryaller biyolojik sistemlerde; tıp, moleküler biyoloji, genetik, histoloji ve immünoloji gibi pek çok alanda kullanılmaktadırlar. Fonksiyonelleşmiş nanotüplerin canlılarda protein taşınması, ilaç dağıtımı, nükleik asit dağıtımı ve sinirsel büyümede substrat olarak kullanımı, geleneksel kanser ilaçlarının yan etkilerini azaltan ve tedavi etkinliğini arttıran yeni nano ilaçlar, radyoterapiye duyarlılığı arttıran altın nanopartiküller ve termal ablasyon tedavisinde kullanılan nanopartiküller, nanobiyoteknoloji alanında kullanılan uygulamalardan sadece bazılarıdır (Atlı Şekeroğlu, 2013).

1.3. Madalyonun Diğer Yüzü: Nanotoksikoloji

Nanopartiküller; orman yangınları, volkanik patlamalar gibi olaylar tarafından doğal olarak ortaya çıkabildikleri gibi kaynak, metal erimesi, otomobil egzozu gibi endüstriyel süreçler sonucu da meydana gelebilirler (Nel, 2006). Oluşan nanopartiküller yaşam döngüsüne, ekosisteme ve tüm canlılara kolayca geçiş yapabilmektedir. Topraklarda ve sularda oluşacak nanobirikim öncelikle bitki ve hayvanlara buradan da besin zinciri, solunum ve temas yollarıyla insanlara ulaşmaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1. 2. Nanopartiküllerin taşınım yolları (<http://inovita.org>)

İnsanoğlu evrimsel aşamaları boyunca nano boyutlu parçacıklara maruz kalmasına rağmen, son yüzyılda nanoteknolojideki hızlı gelişmeler bu maruziyeti önemli ölçüde arttırmıştır (Chen *et al.*, 2006). Nanoteknolojinin kullanım alanının genişliği ve hızla gelişip yayılması göz önünde bulundurulduğunda, nanomalzemelerin ekotoksikolojik etkilerinin belirlenmesi çevre ve halk sağlığını korumada oldukça önemlidir (Moore, 2006). Bu sebepten nanopartiküllerin toksik etkileri üzerine yapılan araştırmalar hızla artmaktadır. Nanotoksikoloji, nanopartiküllerden kaynaklanan sağlığa zararlı etkilerin açıklandığı toksikolojinin yeni bir dalı olarak bu şekilde ortaya çıkmıştır (Donaldson *et al.*, 2004).

Nanoteknolojinin sağlık üzerine etkileri konusunda bu alanda ilerlemiş ülkeler de hassasiyetlerini farklı derecelerde göstermektedir. Özellikle ABD ve Avrupa'da çok sayıda kuruluş bu ürünlerin risk haritasını ortaya çıkarma çalışmalarına başlamıştır (Wiesner *et al.*, 2006).

1.4. Nanopartiküllerin Canlılardaki Toksik Etki Mekanizması

Canlı sağlığına yönelik risklerin varlık ve derecesi; nanopartiküllerin çeşit ve özelliklerine, vücuda girme şekillerine (solunum, sindirim yolu ve deri teması), vücutta ve çevrede biyolojik yığılmalarına, ekosistemdeki kimyasallarla temasları halinde gözükecek fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkileşimlerine ve bunlara maruziyetin miktar ve süresine göre değişmektedir (Yılmaz Turgut, 2012).

Günümüzde pek çok nanopartikülün toksisiteleri ve organizma üzerindeki etkileri henüz tam olarak belirlenmemiştir. Yapılan araştırmalar nanopartiküllerin canlı hücre içerisindeki hücresel bileşenlerle etkileşime girip, hücresel fonksiyonları bozabildiğini veya değiştirebildiğini göstermiştir. Nanopartiküllerin mitokondri ve hücre çekirdeği ile etkileşime girmelerinin toksisitenin temel kaynaklarından biri olduğu düşünülmektedir. Bunun sonucunda da oluşan hücresel DNA hasarı, hücre döngüsünde aksama, mutagenез ve apoptozis zehirlenmenin ana kaynağını teşkil eder (Unfried *et al.*, 2007). Bununla birlikte *in vivo* nanotoksisitenin ana moleküler

mekanizması olarak, nanopartiküllerin serbest radikal oluşumunu arttırıp hücrelerde oksidatif strese neden olması düşünülmektedir (Lanone ve Boczkowski, 2006). Oksidatif stres, hücrel inflamasyonun oluşması ve artmasında önemli rol oynamaktadır. (Rahman, 2000; Rahman *et al.*, 2005; Lanone ve Boczkowski, 2006). Serbest radikaller, antioksidan madde miktarının yetersiz olması, geçiş metallerinin varlığı, çevresel faktörler ve bazı nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri gibi birkaç farklı faktörden meydana gelebilmektedir (Lanone ve Boczkowski, 2006). Nanopartiküllerin ürettiği potansiyel serbest radikallerin yavaş temizlenmesi ve dokularda birikim oluşturması hücreleri oksidatif stresin ana hedefi haline getirmektedir. Nanopartiküllerin bir diğer toksisite mekanizmasının da buldukları ortamla çok hızlı bir etkileşime girmeleri olduğu düşünülmektedir. Nanopartiküller dolaşım sistemine girdiklerinde kan bileşenleriyle etkileşime girerek hemoliz ve trombozise sebep olabilmektedir. Bununla birlikte, nanopartiküllerin bağışıklık sistemi ile etkileşimi sonucunda canlılarda immünotoksisiteyi arttırdıkları da tespit edilmiştir (Dobrovolskaia ve Mc Neil, 2007).

1.5. Gelişim ve Yaşlanma

1.5.1. Gelişim

Gelişim, döllenmiş bir yumurtanın bölünme ve farklılaşma ile zaman içindeki biyolojik değişimi sonucu, oldukça karmaşık ve bağımsız organlar sistemine dönüşmesini içine alan bir kavramdır. Diğer bir deyişle gelişim, bir organizmanın büyümesi sırasında artan kompleksliğe yol açan düzenli değişimler dizilimidir. Gelişim biyolojisi, uzun yıllardan beri çeşitli organizmalar kullanılarak araştırılmaktadır. Bu organizmalardan bazıları *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, *Mus musculus* ve *Arabidopsis thaliana*'dır (Atlı, 2010). *D. melanogaster*, çok sayıda yavru döl vermesi, kısa ömürlü olması, kullanım kolaylığı ve küçük yapılı olması gibi nedenlerden dolayı gelişim biyolojisi çalışmalarında en sık kullanılan organizmalardan biridir.

1.5.2. *Drosophila*'da gelişim dönemleri ve yumurta verimini etkileyen faktörler

Drosophila'nın yaşam döngüsü ve ömür uzunluğunu etkileyen faktörler Linst ve Lints (1971) tarafından iç (anasal yaş, yaş, yumurta üretimi, eşey ve genetik yapı) ve dış (sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu, ışık, nem ve radyasyon) faktörler olmak üzere, iki sınıfa ayrılarak incelenmiştir.

1.5.2.a. Dış (çevresel) faktörler

Sıcaklık: Böcekler soğukkanlı olduklarından metabolizma hızları çevresel sıcaklıklardan etkilenmektedir. Belli sıcaklık sınırları içerisinde yaşayabilen soğukkanlı hayvanların metabolizma hızları çevresel sıcaklığın yükselmesi ile artmakta, düşmesi ile azalmaktadır (Bağcı, 1983). Sıcaklığın öncelikli etkisi gelişim süresi üzerinedir. *D. melanogaster*'de 25°C'de zigotun ergine dönüşmesi 9- 10 gün sürer. Daha yüksek sıcaklıklar bu süreyi kısaltırken daha düşük sıcaklıklarda gelişim süresinin uzadığı görülmüştür (Economos ve Lints, 1984; Ashburner, 1989). Al-Saffar ve arkadaşları (1995, 1996), düşük sıcaklıklarda embriyonik, larval ve pupal gelişimin uzadığını rapor etmişlerdir. Sıcaklık azaldığında canlılardaki biyosentez reaksiyonları yavaşlar ve gelişim süreleri uzar. Bununla beraber düşük sıcaklıklarda larvaların beslenme periyodu uzar. Bunun nedeni besinin etkili bir şekilde kullanılamamasıdır (Economos ve Lints, 1984). Gelişim sıcaklığının, günlük ortalama yumurta verimi üzerine olan etkileri araştırıldığında en yüksek yumurta veriminin 25°C'de olduğu gözlenmiştir. Daha yüksek ve daha düşük sıcaklıklarda günlük ortalama yumurta veriminin azaldığı belirtilmektedir (Lints ve Lints, 1971). Huey ve arkadaşları (1995), *D. melanogaster*'in yumurta veriminin, sıcaklıktan nasıl etkilendiğini araştırmış ve 25°C'de tutulan sineklerin 18°C'de tutulanlara göre daha erken ve daha fazla yumurta bıraktığını gözlemişlerdir. Başka bir çalışmada sıcaklığın ömür uzunluğu üzerine etkisi incelenmiştir. Buna göre sıcaklık artışı sineklerin metabolik aktivitesini, solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu artırarak hücresel hasara ve ömür uzunluğunda azalmaya neden olmaktadır. Yani, yaşamaya izin veren sıcaklık sınırları içerisinde sıcaklık arttıkça ısı üretimi ve oksijen harcanması artmakta, buna karşılık ömür uzunluğu kısalmaktadır (Setsini et

al. 1991). Lints ve Lints (1971); 16, 19, 22, 25, 28 ve 31°C'lerde gelişimlerini tamamlayan bireylerin ömür uzunluklarını 25°C'de ölçmüş ve düşük sıcaklıklarda gelişimini tamamlayan bireylerin ömür uzunluğunun yüksek sıcaklıklarda gelişenlere göre daha fazla olduğunu bulmuştur.

Ayar ve arkadaşları (2009), soğuk şokunun (-3°C'de) *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarında ömür uzunluğu üzerine etkisini araştırarak hem Oregon R yabanıl hem de *Vestigial* mutant soylarının dişi ve erkek popülasyonlarında artan uygulama sürelerine (1, 2 ve 3 saat) paralel olarak ortalama ömür uzunluklarının kısaldığını bildirmişlerdir. Yapılan benzer bir çalışmada ise *D. melanogaster*'in Oregon R yabanıl ve *Vestigial* mutant soylarına sıcak şoku uygulanmış (39°C'de) ve her iki soyda da artan uygulama sürelerine (1, 2 ve 3 saat) paralel olarak ortalama ömür uzunluklarının yine kısaldığı gözlenmiştir (Ayar vd., 2012).

Bağcı ve arkadaşları (1990) tarafından *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada, minimum sıcaklık dalgalanmalarının ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Yeni besiyerine transfer sırasında etüvde tutulan ve dışarı çıkarılan bireylerin ömür uzunlukları karşılaştırıldığında, transfer sırasında 28°C'deki etüvden 10 dakika için 20-22°C'ye çıkarılan bireylerin daha uzun yaşadığı saptanmıştır. Bu bulgu sıcaklığın ömür uzunluğu üzerinde oldukça etkili olduğunu göstermesi açısından önemlidir.

Beslenme: Böceklerde beslenme gelişimi etkileyebilmektedir. Uygun olmayan besiyeri gelişim süresini uzatır ve vücut büyüklüğünü azaltır (Ashburner, 1989). Özellikle larval yoğunluğun fazla olduğu ortamlarda, nitrojenli artıkların özellikle de amonyağın birikimi ile ortam koşulları fizyolojik stres yaratır ve beslenme azalır. Böylece yeteri kadar beslenemeyen larvaların pupalaşma için gerekli eşik ağırlığa ulaşması gecikir ve gelişim süresi uzar (Foley ve Luckinbill, 2001). Beslenmenin yumurta verimi üzerine de etkisi vardır. Protein bulunmayan ortamlarda, örneğin sukrozlu besiyerinde, uzun süre tutulan *Drosophila*'larda yumurta veriminin azaldığı ya da durduğu rapor edilmiştir (Ashburner, 1989). Acosta ve Goni (2000), dişilerin

fekunditesinin besin ortamından etkilendiğini ve yumurtlama süreci boyunca dişileri iyi beslemenin çok önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda, besinsel kısıtlamanın ömür uzunluğuna etkisi araştırılmıştır. Chippindale ve arkadaşlarının (1993) yaptığı bir çalışmada, *Drosophila* besiyerinde maya miktarını azaltarak besinsel kısıtlama uygulanmış ve besinsel kısıtlamaya maruz kalan bireylerin kontrol gruplarına göre daha uzun ömürlü olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber, besinsel kısıtlama altındaki bireylerin kontrole göre açlık stresine daha dayanıklı olduğu da saptanmıştır. Good ve Tatar (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, şeker/maya diyetinden mayanın çıkarılmasının *Drosophila*'nın yumurta bırakmasını engellediği rapor edilmiştir. Sadece sukroz+agar'la beslenen *D. subobscura* popülasyonunun standart ortamda beslenenlerden yaklaşık %50 daha kısa ortalama ömür uzunluğuna sahip oldukları bulunmuştur (Bozcuk, 1970). Benzer bir çalışmada, *Drosophila*'nın besi ortamındaki maya miktarı değiştirilmiş (%1, %2, %4, %8, %16) ve bireylerin ömür uzunlukları belirlenmiştir. Besi ortamındaki maya miktarı %2'den %16'ya doğru arttıkça ortalama ömür uzunluğunun azaldığı bulunmuştur. %1 maya eksik beslenmeye (açlık) neden olduğu için değerlendirilmeye alınmamıştır (Min ve Tatar, 2006). Yine, *Drosophila*'da çok düşük derişimlerde (%1) agar içeren besin ortamlarında gelişimin normal olduğu ve ölüm hızının düşük düzeyde kaldığı ancak erginlerin hemen hemen hiç yumurta bırakmadıkları ve uzun yaşamadıkları bildirilmiştir. Oysa %8'lik derişimde erkeklerin en uzun yaşadıkları ve eşeyler arasındaki ömür uzunluğunda en az farklılığın ortaya çıktığı ileri sürülmektedir (David *et al.*, 1971).

Bir liken türü olan *Usnea longissima* likeninin su ekstresinin (Ule) *D. melanogaster* popülasyonlarına ait ömür uzunluğu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma sonucunda, düşük konsantrasyonlu Ule ile beslenen bireylerin ömür uzunluğunda artış, yüksek konsantrasyonlu Ule ile beslenen bireylerin ömür uzunluğunda ise azalma gözlenmiştir (Altun, 2007). Başka bir liken türü ile yapılan çalışmada ise *Lobaria pulmonaria* likeninin metanol, kloroform ve su ekstraktlarının *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda,

tüm ekstrelerin konsantrasyon artışına paralel olarak ömür uzunluğunu arttırdığı, ancak metanol ekstresinin diğerlerine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Uysal vd., 2009). Ayrıca, özellikle soya ve ürünlerinde bol miktarda bulunan ve östrojenik aktivitesinden dolayı alternatif tıpta da yaygın bir şekilde kullanılmakta olan genistein maddesi de *D. melanogaster*'de artan konsantrasyonlarda ömür uzunluğunu önemli ölçüde azaltmıştır (Altun vd., 2011).

Populasyon yoğunluğu: Gelişim üzerine larval yoğunluğun etkisini araştıran çalışmalarda, yoğunluğun rekabeti artırarak gelişimi yavaşlattığı ve vücut büyüklüğünü azalttığı rapor edilmektedir (Economos ve Lints, 1984; Yonemura *et al.*, 1991; Foley ve Luckinbill, 2001). Artan populasyon yoğunluğu *Drosophila* ve *Musca*'da larval ve pupal yaşayabilirliği de azaltmaktadır. Populasyon yoğunluğunun fazla olduğu ortamlarda larvalar, pupalaşma için gereken eşik ağırlığa ulaşamazlar ve larval ölümler gerçekleşir. Bununla beraber, kalabalık ortamlarda gelişen larvalar pupalaşmalar bile yeteri kadar besin depo edemedikleri için pupal ölümler de meydana gelebilmektedir (Ashburner, 1989; Mc Intyre ve Gooding, 2000). Larval populasyon yoğunluğuna bağlı olarak günlük ortalama yumurta verimi de değişmektedir. Larval yoğunluk arttığında, bu larvalardan gelişen erginlerin yumurta verimi de azalmaktadır (Lints, 1971).

Populasyon yoğunluğundaki fazlalıktan kaynaklanan larva büyümesindeki gecikme, ergin bireylerde ömür uzunluğunu artırıcı bir etkiye sebep olmaktadır (Miller ve Thomas, 1958). Örneğin standart bir üreme tüpündeki yumurta sayısı 7'den 480'e yükseltildiğinde ortalama ergin ömrünün %60 oranında arttığı kaydedilmiştir. Populasyon yoğunluğunun artışına bağlı olarak *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin gelişimleri daha geç ve vücut büyüklükleri daha küçük olduğu için bireylerin normal bireylere göre daha uzun yaşadıkları belirlenmiştir (Lints, 1963). Bu çalışmaların aksine Graves ve Mueller (1993) yaptıkları çalışmada, artan populasyon yoğunluğunun ortamdaki besin miktarını azaltacağını bunun sonucunda ise fiziksel çevrenin değişeceğini ve hastalık gibi birçok faktörü etkileyeceğinden ömür uzunluğunun azalacağını belirtmişlerdir.

Nem oranı: *Drosophila* larva ve pupalarının neme olan duyarlılığı soylar ve türler arasında çeşitlilik göstermesine rağmen birçok *Drosophila* türünün normal gelişimi için yüksek nem oranı gereklidir (Ashburner, 1989). Al-Saffar ve arkadaşları (1995, 1996) yaptıkları çalışmalarda, pupaların yaşayabilmesi ve normal olarak gelişebilmesi için nemin %55'in altına inmemesi ve en uygun nem oranının %60-100 arasında olması gerektiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca kademeli olarak değişen nemin *D. melanogaster*'in gelişim süresi üzerine bir etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir. Larvaların beslendiği ortamın nem içeriği, ergin *D. melanogaster* ve *D. hydei*'nin vücut büyüklüğünü, pupal yaşayabilirliği ve bireylerin gelişim süresini etkilemektedir (Hodge, 2001). Bu çalışmada, çok kuru ve çok nemli ortamlarda pupaların yaşayabilirliğinin azaldığı ve larvaların gelişim süresinin kısaldığı tespit edilmiştir.

Radyasyon: Böcekler radyasyona oldukça dayanıklı canlılardır. Örneğin, ergin *Drosophila*'nın iyonize radyasyona duyarlılığı oldukça azdır (Bozcuk, 1972). Fakat yapılan bazı çalışmalarda, yüksek dozdaki radyasyonun somatik mutasyon birikimine neden olarak ömür uzunluğunu kısalttığı, düşük dozdaki radyasyonun ise ömrü uzatıcı etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Ömür uzunluğundaki bu artış, muhtemelen bazı enfeksiyonların radyasyon etkisiyle azalması ya da sineğin çevresel direncinin artması sonucudur (Ashburner ve Wright, 1978). Ergin sineklerin somatik hücrelerinin bölünerek yenilenmemesi (Bozcuk, 1972) radyasyona dayanıklılık nedenlerinden birisidir.

Işık: Fotoperiyodun *D. melanogaster*'in yumurta ve pupadan çıkış süresinde (Qiu ve Hardin 1996), metabolik hızında (Lanciani *et al.*, 1991) ve ömür uzunluğunda (Sheeba *et al.*, 2000) etkili olduğu tespit edilmiştir. *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalarda, belirli sıcaklıkta, aynı besin tipiyle beslenen, fakat farklı fotoperiyot şartlarına maruz kalan bireylerde, metabolik hızın farklı olduğu, genel olarak kısa gün şartlarına maruz kalanlarda metabolik hızın, uzun gün şartlarına maruz kalanlardan daha yüksek olduğu, dolayısıyla kısa gün şartlarında gelişmenin daha hızlı gerçekleştiği ifade edilmiştir (Lanciani *et al.*, 1991). Farklı *Drosophila* türleri

ile yapılan çalışmalarda, sürekli ışıklı ortamın ergin ömür uzunluğunu kısalttığı (Allemand *et al.*, 1973; Klarsfeld ve Rouyer, 1998), buna karşın sürekli karanlık ortamda yaşatılan *D. melanogaster* erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43'e varan ömür uzunluğu artışının olduğu gözlenmiştir (Allemand *et al.*, 1973; Bağcı ve Bozcuk, 1991).

1.5.2.b. İç faktörler

Genetik yapı: Bir organizmanın yaşam periyodu ve toplam yumurta verimi onun sahip olduğu genetik özellikler ve organizmanın etrafını çeviren çevresel etkenlerin etkileşimi ile belirlenir. Çevre kontrol edildiğinde, organizmanın değişik soylarında görülen gelişim periyotları ve yumurta verimlerindeki çok belirgin farklar genetik etmenlere bağlanır (Keller ve Mitchell, 1964; Mc Millan *et al.*, 1970; Lints ve Lints, 1971; Yeşilada, 1988). *D. melanogaster*'de ömür uzunluğuna gen kombinasyonlarının ve spesifik mutant genlerin etkisinin olduğunu ilk olarak Gonzales (1923) ortaya koymuştur. Bu çalışmada, beş mutant genin bir arada bulunduğu bireylerin, bu genlerin ayrı ayrı bulunduğu bireylerden daha kısa ömür uzunluğuna sahip oldukları gözlenmiştir. Öte yandan, melez genotipin ömür uzunluğunun denetiminde çok etkili olduğu ve melezlerin arı döl ebeveynlerden daha uzun yaşadıkları belirlenmiştir (Pearl *et al.*, 1923). Yapılan diğer çalışmalarda, farklı *Drosophila* türlerinin gelişim dönemleri, yavru döl sayıları ve yumurta verimleri incelenmiş ve incelenen türler arasında ölçülen özellikler bakımından farklılıklar gözlenmiştir. Bu sonuçlar türlerin farklı genetik özelliklerine bağlanmıştır (Yeşilada, 1988; Yeşilada ve Bozcuk, 1991). Gelişim hızı ve yumurta verimi üzerine genetik özelliklerin etkisini araştıran bir çalışmada, heterozigotluk arttığında gelişimin hızlandığı ve yumurta veriminin arttığı tespit edilmiştir (Keller ve Mitchell, 1964). Orr ve Sohal (1994) tarafından *Drosophila* ile yapılan bir çalışmada, reaktif oksijen türevlerini (ROS) ortadan kaldıran süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz enzimlerini kodlayan genlerin aktarıldığı transgenik bireylerde ömür uzunluğunun arttığı saptanmıştır. Lin ve arkadaşlarının (1998) yaptığı bir çalışmada ise çeşitli streslere dayanıklı hale getirilmiş *Drosophila* mutantında (*methuselah (mth)*) ömür uzunluğunun %35 oranında arttığı gözlenmiştir.

Yaş: *Drosophila*'nın günlük yumurta üretimi yaşam boyu sabit kalmamaktadır. David ve arkadaşları (1975), *D. melanogaster*'de yumurta üretiminin yaşa bağlı olarak düşüş gösterdiğini ve bu düşüşün yaşlanmaya bağlı olarak hücre bölünmesinin yavaşlaması nedeniyle ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Yapılan başka bir araştırmada, yaşlı dişi sineklerin yavrularının genç dişilerinkilere oranla daha düşük bir yaşayabilirlik oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, genç dişilere ait yumurtaların %88,3'ünün açıldığı ancak yaşlı dişilere ait olanlarda bu oranın %76,6 olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca yaşlı bireylerden meydana gelen larvaların gelişim hızının genç bireylerden meydana gelenlere göre daha yavaş olduğu da belirtilmiştir (Mc Intyre ve Gooding, 2000).

Anasal yaş: Anasal yaşın yavru dölün ömür uzunluğunda önemli bir etken olduğu ilk kez rotiferlerden *Philodina citrina* türü ile yapılan deneyle belirlenmiştir (Lansing, 1952). Deneyde kullanılan yaşlı bireyin bıraktığı yumurtalardan gelişen bireyler birkaç nesil boyunca izlenmiştir. Sonuçta, yaşlı bireylerin yumurtasından gelişen bireylerin ömür uzunluklarının gittikçe azaldığı görülmüştür. Daha sonra, bilim dünyasında "Lansing etkisi" veya "Anasal etki" olarak adlandırılan bu hipoteze göre, anne yaşının ömür uzunluğuna etkisi genetik değildir ama kuşaktan kuşağa yumurtadaki sitoplazmik faktörler ile ya da epigenetik (DNA dizi değişimleri dışındaki faktörlerle oluşan, gen ifadesindeki tüm değişiklikler) olarak aktarılmaktadır (Lints, 1971). Hercus ve Hoffman (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, anasal yaşın yaşayabilirlik üzerine olan etkisi *D. serrata*'da araştırılmıştır. Yavru dölün yaşayabilirliğinin artan anasal yaş ile azaldığı saptanmıştır. Bu çalışmada, farklı çevrelerin ömür uzunluğuna etkisi de incelenmiş ve genç annelerin yavru dölllerinin çevresel strese (besinsel kısıtlama ve soğuk uygulaması) yaşlı annelerinkinden daha dayanıklı olduğu ve daha uzun yaşadığı belirlenmiştir. Kern ve arkadaşları (2001), anasal yaş arttıkça yavru döl ömür uzunluğunun azalmasını, annede geç yaşlarda etkili olan zararlı mutasyonların etkisine bağlamışlardır. Bu çalışmaların aksine Yılmaz ve arkadaşları (2008) tarafından *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada, annenin yaşı ile yavru dölün ömür uzunluğu arasında bir ilişki olmadığı ve tipik bir Lansing etkisinin bulunmadığı saptanmıştır.

Yumurta üretimi (Fekundite): Çiftleşme ve yumurta üretimi yaşlanmayı etkileyen faktörlerdendir. Genel olarak, çiftleşme ve yüksek seviyelerdeki yumurta üretiminin dişilerin hayatta kalış oranını düşürdüğü belirtilmektedir (Tatar ve Promislow, 1997). Smith (1958), ovaryumları indirgenmiş mutant dişilerin üreme yapılarının eksikliğine bağlı olarak ömür uzunluğunun arttığını bulmuştur. Üreme ve ömür uzunluğu arasındaki bu ilişki, antagonistik pleiotropi teorisini de desteklemektedir (Finch, 1990). Yapılan diğer deneylerde, yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, yumurta üretimi düşük bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür (Gowen ve Johanson, 1946). *D. melanogaster* erkekleriyle yapılan bir çalışmada, üremenin mortalite oranını etkilediği bulunmuştur. Bu çalışmaya göre üreyen erkeklerin mortalite oranı üremeyen erkeklerinkine göre daha fazladır (Miyo ve Charlesworth, 2004). Diğer bir çalışmada ise çiftleşmenin *D. melanogaster*'in yabanıl tip Oregon (OR) ve Canton S (CS) soylarının ömür uzunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Çiftleşmiş CS erkekleri çiftleşmemiş olanlara göre daha uzun yaşarken, çiftleşmiş dişiler virjin olanlara göre daha kısa ömürlü olarak belirlenmiştir. Benzer sonuçlar OR dişileri için de saptanırken erkeklerde herhangi bir fark bulunmamıştır (Iliadi *et al.*, 2009).

Eşey: *Drosophila*'da erkek ve dişi bireyler farklı ömür uzunluklarına sahiptir. Yapılan çalışmalarda, çoğunlukla dişilerin erkeklerden daha uzun ömürlü oldukları gözlenmiştir. Dişilerin metabolizması erkeklerin metabolizmasından çok farklı olabilmektedir. Örneğin, *D. melanogaster* erkek ve dişilerinde DNA, RNA ve protein seviyeleri tayin edildiğinde, dişilerde bu moleküllerin erkeklere oranla çok daha fazla oldukları gözlenmiştir (Samis *et al.*, 1971). Iliadi ve arkadaşlarının (2009) yaptığı bir çalışmada, *D. melanogaster*'in Oregon soyu dişilerinin erkeklerine göre daha uzun ömürlü olduğu saptanmıştır. Ancak araştırılan Canton S soyunda böyle bir fark gözlenmemiştir. Ünlü (1991) tarafından yapılan bir çalışmada ise, Oregon soyu erkekler dişilerden daha uzun yaşarken *Vermilion* ve *Miniature* mutantlarının dişileri erkeklerden daha uzun yaşamıştır.

1.5.3. Yaşlanma

Yaşlanma, insanoğlu için en güncel konulardan birisi olmasına rağmen bu olayın mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Yaşlanma biyolojisi ile uğraşan bilim insanları (gerontologlar), yaşlanma olayını değişik açılardan ele alarak bazı tanımlar yapmışlardır. Bozcuk (1981), yaşlanma sürecini “genetik bir program ile düzenlenen, organizmayı yapısal ve işlevsel değişikliklerle ölüme götüren olaylar toplamıdır” şeklinde tanımlamaktadır. Yaşlanma, aslında döllenme ile başlayan, zaman akışı içinde normal olarak ortaya çıkan tüm değişimlerin toplamı olarak da tanımlanmaktadır. Ömür uzunluğu, esas olarak kalıtsal denetim mekanizması ile kontrol edilmektedir; fakat genom ile çevrenin etkileşimi de bu süreçte önemli bir rol oynamaktadır (Demirsoy ve Bozcuk, 1997).

Yaşlanma olayının her ne kadar genetik programa dayanmakta olduğu kabul edilse de, çevresindeki diğer olaylardan bağımsız olduğu düşünülemez. Gerontologlar, yaşlanmanın bir bireyde olup olmadığını deneysel olarak göstermek amacıyla bir ilke benimsemişlerdir (Bozcuk, 1976) Buna göre, yaşlanmayı gösterebilmek için bir canlının içinde bulunduğu popülasyonla hayat tablosu yapılmaktadır. Eğer hayat tablosuna göre çizilen hayatta kalış eğrisi dikdörtgensel ise, yani “ölüm oranı” denilen “belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı”, kronolojik zamana bağlı olarak artıyorsa o popülasyon yaşlanmaktadır (Pearl *et al.* 1927; Smith, 1958). Hayat tablosu, canlıda yer alan tüm yaşlanma olay ve süreçlerinin kaba bir ölçüsü ve yansımasıdır (Smith, 1966). Hayat tablosunun şekli, verilen bir popülasyonda hayatta kalış süresinin, yani ömür uzunluğunu etkileyen genetik yapı ve çevrenin ortak bir ifadesidir (Smith, 1958).

Yaşlanma sürecini tanımlamak için farklı model organizmalar ve onların yaşam öyküsü karakterleri kullanılmaktadır. Bu karakterler başlıca; vücut büyüklüğü, gelişim süresi, yumurta verimi (fekundite), hayatta kalma başarısı ve ömür uzunluğudur. Canlının uyum bileşenleri olarak da tanımlayabileceğimiz bu özelliklerden ömür uzunluğu, yaşlanmaya nicel bir veri olarak bakabilmemizi

sağlamaktadır. Bunun yanında yumurta verimi ve hayatta kalabilirlik, yaşlanma süresi boyunca ve yaşa bağlı olarak değişkenlik gösteren uyum bileşenleridir. Bu süreç boyunca bu özelliklerde gözlenen değişiklikler, yaşlanmanın izini sürmek için oldukça kullanışlıdır (Güler, 2014).

Yaşlanma ile ilgili bilim çevreleri tarafından kabul gören teoriler aşağıda özetlenmiştir:

Somatik mutasyon teorisi: Somatik mutasyon teorisinde, DNA hasarına hücresel cevap kapasitesinin, yaşlanma olayında önemli bir belirleyici olduğu bildirilmiştir (Slijepcevic, 2008). Bu teoriye göre, somatik hücrelerde yaşam boyu biriken mutasyonlar birçok hastalığa neden olmaktadır (Curtis, 1966).

Radyasyon sonucu oluşan mutasyonların etkisiyle de farklı *Drosophila* türleri ve farelerde ömür uzunluğunun azaldığı ve buna bağlı olarak DNA onarımının arttığı bildirilmiştir (Miquel *et al.*, 1972; Lindop ve Rotblat, 1962).

Antagonistik pleiotropizm teorisi: Williams (1957) tarafından ortaya atılan antagonistik pleiotropizm teorisine göre, yaşamın erken dönemlerinde yararlı etkileri olan genler, geç dönemlerde zararlı etkiler gösterebilmektedirler (Rose, 1985). Çünkü genlerin ifadeleri her zaman olumlu ya da her zaman olumsuz olmayabilir. Erken yaşta uyum karakterleri üzerinde olumlu etkileri olan aleller, pozitif doğal seçim sonucu seçilmişlerdir. Yalnızca ileri yaşlarda ortaya çıkabilecek negatif etkili bir mutasyon, üreme periyodunu etkilemeyecek ve dolayısıyla doğal seçilimin etkisi geç dönemde zayıf kalacaktır (Partridge ve Barton 1993; Zwaan *et al.*, 1995). Ancak artan yaşla birlikte azalan doğal seçim baskısı, aynı genlerin olumsuz etkisini baskılayamadığında uyum bileşenlerinin gücünün azalması söz konusudur (Ünver,2015). Örneğin, erken fekundite gösteren *Drosophila* soylarında ömür uzunluğunda azalma gözlenirken (Luckinbill *et al.*, 1984; Zwaan, 1999; Partridge, 2001), erken fekunditesi bastırılmış soylarda yaşlanmanın ertelendiği ve dolayısıyla ömrün uzadığı saptanmıştır (Rose ve Charlesworth, 1980, 1981; Rose, 1984). *D.*

melanogaster ile yapılan birçok çalışma bu teoriyi destekler niteliktedir. Partridge (2001)'e göre, antagonistik pleiotropinin yaşlanma üzerine etkisi mutasyon birikiminden daha fazladır. Sokal (1970) tarafından *Tribolium castaneum* (un biti) ile yapılan bir çalışmada, *Drosophila* üzerinde yapılan çalışmalar ile benzer sonuçlar ortaya çıkmış ve erken yaşlardaki üremenin *Tribolium*'un ömrünü kısalttığı bulunmuştur. Tüm bu sonuçlar, azalmış erken fekundite ile ertelenmiş yaşlanma arasında pleiotropik bir etkileşim olduğunu ortaya koymakta ve bu teoriyi desteklemektedir.

Mutasyon birikimi teorisi: Yaşlanma teorileri içinde en güçlü görüşlerden birisi mutasyon birikimi teorisidir. Bu teoriye göre, genç yaşlardaki zayıf doğal seleksiyonlar, tekrarlanan zararlı mutasyonların etkisiyle hayatta kalış ve üremeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Medawar, 1952; Charlesworth, 1994). Yaşlanmanın evrimsel teorileri için anahtar nokta, doğal seçim gücünün artan yaşla birlikte azaldığıdır. Genç organizmada ifade edilen negatif etkili bir mutasyon, tüm üreme periyodunu etkileyecektir, dolayısıyla mutasyonun etkisine karşı seleksiyon güçlü olacaktır. Yalnızca ileri yaşlarda ifade edilen negatif etkili bir mutasyon erken üreme periyodunu etkilemeyecektir, dolayısıyla geç ortaya çıkan bir mutasyon üzerine seleksiyonun etkisi daha zayıf olacaktır (Partridge ve Fowler, 1992; Partridge ve Barton, 1993; Tower, 1996; Zwaan, 1999; Kirkwood, 2002). Populasyonda yaşlı bireylerin sayısının artması, bireyler arasındaki varyasyonun yüksek olması anlamına gelmektedir (Hughes ve Charlesworth, 1994). Geç yaşlarda ifade olmaya başlayan mutasyonlarla birlikte alel çeşitliliğindeki artış populasyonun genetik yapısını da değiştirmektedir. Bu nedenle mutasyon birikimi teorisi, populasyonların genetik değişimleri konusunda da tahminde bulunmaktadır. Bunlardan birisi; genç bireylerin artan yaşla birlikte ebeveynlerine benzemesidir. Çünkü yumurta verimi ve hayatta kalabilirlik, kalıtılabilir yaşam öyküsü karakterleridir. Yaşlanan bireylerin, populasyonda oluşturduğu varyasyon, bir süreliğine sabit kalır çünkü erginleşen genç bireyler de aynı varyasyon aralığındadırlar. Geç dönem mutasyonlarının sayısı arttıkça, populasyonun genetik çeşitliliğinin artış göstermesi beklenir. Ancak *D. melanogaster*'de bu çeşitlilik tam olarak belirlenememiştir (Promislow *et al.*, 1996).

Mutasyon birikimi teorisinin bir diğere tahmini ise, kendileşme çöküntüsüdür (inbreeding depression). Yaşlanmayla birlikte uyum bileşenlerindeki düşüş aslında popülasyonla da ilgili bir sonuçtur. Yani sürekli aynı bireyler arasında meydana gelen gen akışı, popülasyonun genetik çeşitliliğinin azalmasına ve artan yaşla birlikte daha çok olumsuz etkili mutasyonun birikimine neden olmaktadır (Pletcher *et al.*, 1998). Yaşla birlikte devamlı artan genetik varyansın en büyük nedeni, mutasyon birikimi olabilir (Tatar *et al.*, 1996). Bu birikim, artan yaşla birlikte doğal seleksiyon baskısını azaltırken, zararlı mutasyonların elemine edilme ya da frekanslarını düşürme olasılığını azaltmakta ya da yok etmektedir (Rose, 1999). Böylece oluşan mutasyon birikimi genetik varyansı arttırmaktadır. Bu yüzden, yaşlanma ile genetik varyansın artması üzerinde mutasyon birikiminin önemli bir etkisi olduğu düşünülmektedir (Tatar *et al.*, 1996). Aynı şekilde, *Drosophila*'da mortalite de genetik varyansın sürekliliği ile ilişkilendirilmekte ve bu da yaşlanma mekanizması için geçerli olan mutasyon birikimi teorisi ile desteklenmektedir (Pletcher *et al.*, 1998).

Nöroendokrin teori: Nöroendokrin teoride, yaşlanmanın sadece nöronal ve nöronlarla ilgili hormonal mekanizmalarda fonksiyonel azalmaya bağlı olarak geliştiği savunulur. Bu teorisinin temelinde, hormonal denge sistemimizi hayat boyu yöneten hipotalamus bulunmaktadır. Bu teori hipofizektomi (hipofiz bezinin çıkartılması) yapılmış farelerde de test edilmiş ve doğrulanmıştır (Mobbs, 1996). Yine bu teoriye göre yaşlanma, vücudun maruz kaldığı çeşitli kimyasal maddeleri engelleme ve dışarı atma mekanizmasında hassasiyetin azalması sonucu oluşmaktadır. Biyolojik yaşlanmayı endokrin disfonksiyonu ile açıklayan bu görüşe göre, 25 yaşından sonra endokrin bezlerde anatomik değişikliklerin meydana gelişinin yanı sıra hormon sentezi, transportu, salgılanması, reseptör ve/veya reseptör sinyal iletimi mekanizmasının bozulması söz konusudur. Benzer şekilde yaşla birlikte büyüme hormonu, östrojen, testosteron, progesteron gibi steroid hormonların sentez ve salıverilmeleri de azalmaktadır. Yaşa bağlı olarak meydana gelen arteriosklerozis (arteriosclerosis=damar sertleşmesi), cilt yaşlanması ve immün

disfonksiyon gibi süreçler genellikle östrojen eksikliğine bağlıdır. Ancak artan oksidatif stres ve glutatyon eksikliğinde bu süreçte etkili olmaktadır.

Genetik yaşlanma teorisi: Kişilerin yaşam süresini soy, cins ve ırktan gelen DNA programlarına dayandıran bir teoridir. Örneğin, dünya çapında kadınların erkeklere göre beklenen yaşam süresi daha uzundur. Yaşlanmanın genetik teorisi (yaşlanmanın moleküler saat teorisi) yaşlanma prosesini, gittikçe ilerleyen arterioskleroz gibi bozukluklara neden olan genetik ön karakter değişimlerine bağlamaktadır. Bu teoriyi savunan bilim adamları, yaşlanmanın nedeninin genetik şifremizde yazılı olduğunu, yani bizim ne zaman yaşlanacağımızın belli olduğunu ileri sürmektedirler. Bu bilim adamlarına göre, erken dönemdeki büyüme ve gelişmenin bir program izlemesi gibi, olgunluk, yaşlanma ve ölüm de bir program izlemektedir (Jazwinski, 1996).

Hücre yaşlanması teorisi: Bu teoriye göre, hücre çoğalmasını kontrol eden genler yaşlanmanın sebeplerindedir. Kromozom uçlarında bulunan telomer bölgesindeki DNA kayıpları hücre yaşlanmasının bir nedenidir. Son zamanlarda özellikle klonlamadaki olası genetik yan etkilerin ortaya konmasındaki rolleri ile telomerler genel ilgiyi üzerlerine çekmişlerdir. Tüm hücresel siklustaki kromozomal telomerlerin kısalması ile yaşlanma arasındaki ilişki ciddi bir şekilde ortaya konmuştur. Yaşla birlikte gelişen telomer kısalma fenomeni, hücrelerin büyüme potansiyelleri için kurulu bir saat gibi çalışmaktadır. Yaşla birlikte telomerlerin boyu, özellikle lenfositlerde kısalırken, kök hücrelerde bir değişiklik olmamaktadır (Hemann *et al.*, 2001).

İmmünolojik teori: Bu teoriye göre, yaşlanmanın nedeni, yaş ile birlikte bazı hormonların düzeyindeki azalma ya da bağışıklık sistemindeki zayıflamadır. Bu teorinin esası, T- lenfositlerin kalite ve miktarca zayıflamasına dayanmaktadır. Bu azalma timüs bezinin işlevlerindeki bozulmayla ilgilidir. Hücresel bağışıklık için çok önemli bir görevi olan timüs bezinin ergenlikten sonra fonksiyonlarında önemli oranda azalma olması, yaşlanmada timüs bezinin önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Yaşlanma ile birlikte, vücudumuzun hastalıklarla savaşan

bağışıklık sisteminin fonksiyonları azalmakta, virüs, bakteri ya da diğer hastalık yapıcı etkenlere giriş yolu açılmaktadır. Ayrıca, vücudun yaşlanma ile beraber yabancı ile kendi vücut elemanlarını tanıma (yabancıyı ayırma) yeteneği azalmaktadır. Yani, immün sistemin yaşlanmasıyla, vücut kendi dokuları ile yabancı maddeler arasındaki farkı tanıma yeteneğini kaybetmeye başlar. Bu nedenle, immün sistem, eskiden istila eden organizma ile savaşırken, yaşlanmayla birlikte kendi vücuduna saldırıp hastalık oluşturmaktadır (Walford, 1974).

Endokrin teori: Bu teoriye göre, endokrin bezlerin hormon salgılamalarındaki düzensizlik veya yetersizlik yaşlanmayı başlatmaktadır. Pineal bezden salgılanan, uyku uyanıklık döneminin düzenlenmesinde önemli rolü olan “melatonin” hormonunun yaşlanmanın nedeni olduğunu söyleyenlerin (Reiter *et al.*, 1994) yanı sıra, böbrek üstü bezinden salgılanan “dehidroepiandrosteron” (DHEA)’un azalmasının yaşlanma nedeni olduğunu söyleyenler de (Barrou *et al.*, 1997) bulunmaktadır. Bu nedenle, DHEA preparatları ve melatonin hapları, yaşlanmayı geciktirici kimyevi maddeler olarak pazarlanmakta ve tamamlayıcı tıpta kullanılan maddeler arasında yerini almış bulunmaktadır. Bununla birlikte, over foliküllerinin ve oositlerin kısıtlı depolarının bitmesi ile meydana gelen menopoz olayı da endokrin teoriye örnek olarak verilmektedir.

Serbest radikal teorisi ve antioksidan savunma sistemleri: Yaşlanma teorileri içerisinde en çok kabul gören ve incelenen teori serbest radikal teorisi. Harman (1956)’a göre, yaşlanmanın sebebi, her biri serbest radikal formu olan oksidatif fosforilasyon ürünlerinin birikimidir. Serbest radikaller, en dış elektron yörüngesinde bir elektron kaybetmiş ve dolayısıyla bu elektron açığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışan atomlardır. Serbest radikaller, aerobik solunum yapan tüm canlılarda metabolizmanın doğal bir sonucu olarak üretilmektedir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalleridir. Serbest radikal yaratan kaynaklar arasında radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliği yaratan fosil kökenli yakıtların yanma

sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda ortaya çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları sayılabilir. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir (Tükenmez, 2011). Hücrelerde serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, bunları yakalama, stabilize etme ve yok etme yeteneğine sahip maddelere "antioksidan" adı verilir (Onat vd., 2002). Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" olarak adlandırılır. Antioksidan savunma sistemleri vücut tarafından üretilen süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve redükte (indirgenmiş) glutatyon (GSH) gibi antioksidanlar ile dışarıdan besinlerle alınan A, C ve E gibi vitaminlerden oluşmaktadır.

Serbest radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme olması durumunda serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması durumunda oksidatif stres meydana gelir ve sonuçta doku hasarına yol açılır (Mercan, 2004). Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (Halliwell, 1994). Bu radikallerin birikimi, lipitlerden proteinlere tüm biyomoleküllere zarar vermektedir. Ayrıca yaşam boyu sürekli serbest radikallere maruz kalınması sonucunda hücre hasarı oluşmakta, hücrelerin büyüme, gelişme ve farklılaşma fonksiyonlarında bozulma, kanser veya ölüm meydana gelmektedir (Ames *et al.*, 1993).

Canlıların vücutlarında oksidan-antioksidan oranlarının iyi ayarlanması, sağlıklı yaşam ve verim fonksiyonları açısından son derece önemlidir (Altun Çolak *et al.*, 2014). Böceklerde ve insanlarda, SOD, GPx ve GSH gibi enzimlerin ifadelerindeki artışa bağlı olarak ömür uzunluğunda artış gözlenmiştir (Sohal ve Weindruch, 1996).

Bilim insanları, serbest radikalleri etkisiz hale getiren enzimleri kodlayan genlerin, hücrelere aktarılmasının gerçekleştirilmesi halinde yaşlanmanın olumsuz etkilerinin en aza indirilebileceğini belirtmektedir.

Son yıllarda özellikle Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere, kronik hastalıklarda mortalite oranları ile antioksidan içerikli sebze-meyve alımı arasındaki ters ilişkiye dikkat çeken çok sayıda epidemiyolojik çalışma bulunmaktadır. Akdeniz diyetinin önemli bir bileşeni olan zeytinyağının özellikle antioksidan içeriğinin bu ilişkiadaki rolüne dikkat çekilmektedir (Armutcu vd., 2013).

Çalışmamızda kullandığımız Oleuropein son yıllarda yüksek oranda antioksidan özelliği olduğu belirlenen bir maddedir. Yapılan çalışmalar, Akdeniz ikliminin en önemli öğelerinden olan ve yüzyıllarca yaşayabilme özelliğine sahip olan zeytin ağacının yapraklarında bol miktarda Oleuropein ve diğer fenolik bileşiklerin olduğunu göstermiştir (Lee *et al.*, 2009). Zeytin ağacının yapısında bulunan Oleuropein'in antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antiviral aktiviteler dahil olmak üzere çok sayıda farmakolojik özelliğe sahip olduğu ortaya konulmuştur (Yıldız ve Uylaşer, 2011).

Sağlığa yararlı etkileri ile uzun zamandır bilinen bu bileşikler insan sağlığı için zararlı olan oksidasyon ürünlerinin oluşmasını engellemektedir. İnsanlarda karaciğer, prostat ve meme kanseri üzerinde Oleuropein'in antitümör etkisi araştırıldığında, Oleuropein'in hücre büyümesi ve yayılımını inhibe ettiği saptanmıştır (Köçkar vd., 2010). Ayrıca, Oleuropein antioksidan özelliği sayesinde LDL kolesterolünün okside olmasını önlemekte ve damar sertliği oluşumunu azaltmakta, toplam kolesterol ve trigliserid miktarını düşürmektedir. Damarlarda trombositlerin birleşip kümeleşmesini engelleyerek, anjiyotensin dönüştürücü enzimleri de inaktive ederek kalbin çalışmasında ve kalp yetmezliğinin tedavisinde yararlı etki göstermektedir. Atardamarların kasılmasıyla gerçekleşen düzensiz kalp atışı olayını da önlemektedir. Kalp krizi riskini de azaltıcı özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (Andreadou *et al.*, 2007).

Oleuropein, şeker hastalarında kan şekerini ayarlayıcı ve antioksidan etki göstermektedir. Şeker hastalarında, oksidatif strese ve serbest radikallere maruz kalma sonucunda retinopati, nefropati ve nöropati gibi komplikasyonlar gelişmektedir. Oleuropeinin serum insülinini artırırken, oksidatif strese bağlı bu diyabetik komplikasyonları antioksidan özelliği sayesinde azalttığı gözlenmiştir (Jemai *et al.*, 2009).

Menendez ve arkadaşları (2008), Oleuropein'in birçok bakteri (*Staphylococcus aureus*), küf (*Aspergillus niger*), maya (*Saccharomyces uvarum*) ve mantarı inhibe ettiği tespit etmiştir. Ayrıca, Oleuropein'in hidrolizi ile oluşan elenolik asit bileşiğinin birçok virüs türünü güçlü bir şekilde inhibe edici özelliğe sahip olduğunu da göstermiştir.

1.6. Çalışmanın amacı

Nanopartiküller oldukça fazla miktarda üretilmelerine rağmen, *in vivo* çalışmalarda toksik etkileri hakkında oldukça az bilgi mevcuttur. Nanopartiküller içerisinde en fazla kullanım alanı olanlar metal oksitlerdir.

TiO₂ nanopartikülleri doğada yoğun olarak bulduklarından ve geniş kullanım alanlarından dolayı insan sağlığı açısından potansiyel riski olan maddelerdir. Bu partiküller boya, kağıt ve gıda ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanılır (Mohammadipour *et al.*, 2014). İnsan vücuduna deriden nüfuz ederek, enjeksiyon yoluyla, solunum yoluyla ya da besin yoluyla girebilirler (Liu ve Yang, 2013). ZnO nanopartikülleri kozmetik, boya, tekstil ürünlerinde, gıdalarda katkı maddesi olarak ve kişisel hijyen ürünlerinde kullanılmaktadır. Özellikle translüsen ve ultraviyole A ve B'ye karşı yüksek koruma sağladığından güneş kremleri ve nemlendiricilerin vazgeçilmezlerindedir (Berk ve Akkurt 2012). Pek çok alanda oldukça yaygın kullanıldıklarından dolayı ZnO ve TiO₂ partikülleri çalışmamızın temelini oluşturmuştur.

Yaşlanma, sürekli devam eden biyolojik bir süreçtir. Fizyolojik kapasitede azalma ve çevresel stresler, aerobik canlı metabolizmasının doğal sonucu olarak oluşan serbest radikallerin artışına neden olmaktadır. Bütün bu etkenler yaşla birlikte canlıda ölüm riskinin artışına yol açmaktadır. Diyetle yeterli miktarda alınan antioksidan özellikli maddelerin, organizmada serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon sonucu oluşan doku hasarlarını önlemede etkili olacağı ve dolayısıyla yaşam süresini uzatabileceği de düşünülmektedir. Bu noktadan hareketle, bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda ZnOTiO₂ nanokompozitinin, ömür uzunluğu, yaşama yüzdesi ve yavru döl sayısı deneyleri ile *D. melanogaster* üzerinde toksik etkilerinin belirlenmesi ve zeytin yaprağından elde edilen ve güçlü antioksidan özelliği olduğu bilinen Oleuropein ile olası toksik etkilerin giderilmesi üzerine araştırmalar yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bu bölümde, *Drosophila melanogaster*'in gelişim parametreleri üzerine yapılan çalışmalar, nanopartiküllerin toksik etkileri ve detoksifikasyon sistemler üzerine Oleuropein'in etkileri ile ilgili olarak yapılan çalışmalardan bazıları kronolojik sırayla verilmiştir.

D. melanogaster'de gen kombinasyonlarının ve spesifik mutant genlerin ömür uzunluğu üzerine etkisini ilk olarak Gonzales (1923) ortaya koymuştur.

Pearl (1927), düşük metabolik aktiviteye sahip hayvanların, daha az O₂ kullanarak yüksek metabolik aktiviteye sahip hayvanlardan daha uzun yaşadıklarını göstererek metabolik aktivite ile ömür uzunluğu arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir.

D. melanogaster'de yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları gözlemlenmiştir (Gowen ve Johanson, 1946).

Mutasyon birikimi teorisine göre, genç yaşlardaki zayıf doğal seleksiyonlar tekrarlanan zararlı mutasyonların etkisiyle hayatta kalış ve üremeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Medawar, 1952).

Anasal yaşın yavru dölün ömür uzunluğunda önemli bir etken olduğu ilk kez rotiferlerden *Philodina citrina* türü ile yapılan deneyle belirlenmiştir (Lansing, 1952).

Harman (1956), moleküler oksijenin (O₂) kullanıldığı metabolik faaliyetlerin azaltılarak ömür uzunluğunun arttırılabileceğini ifade etmektedir.

Yaşlanmayla ilgili olan antagonistik pleiotropi teorisine göre, viabilite ve fekunditeyi düzenleyen aleller ilerleyen yaşlarda ömür uzunluğu üzerinde negatif bir etkiye sahiptir (Williams, 1957).

Smith (1958), hayat tablosuna göre çizilen hayatta kalış eğrisinin dikdörtgensel olması halinde, yani ölüm oranının “belirli bir süre içinde ölen birey sayısının, o sürenin başlangıcındaki birey sayısına oranı” kronolojik zamana bağlı olarak artması durumunda o popülasyonun yaşlandığını ifade etmektedir.

Smith (1958), ovaryumları indirgenmiş mutant *D. melanogaster* dişilerinin üreme yapılarının eksikliğine bağlı olarak, ömür uzunluğunun arttığını bulmuştur.

Sadece sukroz+agar’la beslenen *D. subobscura* popülasyonunun standart ortamda beslenenlerden yaklaşık %50 daha kısa ömür uzunluğuna sahip olduğu bulunmuştur (Bozcuk, 1970).

Lints ve Lints (1971), ömür uzunluğunu etkileyen faktörleri iç (anasal yaş, eşleşme durumu, yumurta üretimi (=fekundite), eşey ve genetik yapı) ve dış (sıcaklık, beslenme, popülasyon yoğunluğu, ışık, nem ve radyasyon) faktörler olmak üzere iki sınıfa ayırarak incelemiştir.

D. melanogaster erkek ve dişilerinde DNA, RNA ve protein seviyeleri tayin edildiğinde, dişilerde bu moleküllerin erkeklere oranla çok daha fazla oldukları gözlenmiştir (Samis *et al.*, 1971).

Sürekli karanlık ortamda yaşatılan *Drosophila melanogaster* erkeklerinde %20, dişilerinde ise %43’e varan ömür uzunluğu artışı gözlenmiştir (Allemand *et al.*, 1973).

Drosophila’da ergin dönemdeki sıcaklık değişimlerinin ömür uzunluğunu etkilediği ve yüksek sıcaklıklarda daha kısa ömür uzunluğuna sahip oldukları belirlenmiştir (Economos ve Lints, 1984).

D. melanogaster ile yapılan bir çalışmada, belirli sıcaklıkta aynı besin tipiyle beslenen, fakat farklı fotoperiyot şartlarına maruz kalan bireylerde, metabolik hızın

farklı olduğu, genel olarak kısa gün Şartlarına maruz kalanlarda metabolik hızın, uzun gün Şartlarına maruz kalanlardan daha yüksek olduğu, dolayısıyla kısa gün Şartlarında gelişmenin daha hızlı gerçekleştiği ifade edilmiştir (Lanciani *et al.* 1991).

nl (1991), *Drosophila*'da ömür uzunluğunun, farklı türlerde, aynı türün eŐeylerinde ve mutantlar arasında farklılık göstereceği gibi aynı genotipe sahip popülasyonların farklı çevresel koşullarda farklı ömür uzunluklarına sahip olabileceğini ifade etmiştir.

Altı farklı memeli türünde karşılaştırmalı olarak yapılan bir çalışmada katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon aktivitelerindeki azalıŐın yani, antioksidan savunma mekanizmasındaki indirgenmenin maksimum ömür uzunluğu potansiyeli ile belirgin bir iliŐkisinin olmadığı, buna karşılık memelilerde ve böceklerde mitokondriyal hidrojen peroksit ve süperoksit anyonlarının oksidatif stres ve yaşlanma sonucu arttığı bildirilmiştir. Ayrıca türler arasında oksidan üretiminin farklı oluŐunun, türlerin yaşlanma süreçlerinin de farklılaŐmasına neden olduğunu ve yaşlanma-oksidan rimi arasındaki iliŐkinin, yaşlanma antioksidan savunma mekanizmasının indirgenmesi arasındaki iliŐkiden daha önemli olduğu da ileri srlmŐtir (Orr ve Sohal, 1994).

Ames ve arkadaşları (1993), canlıların vücutlarında oksidan-antioksidan oranlarını iyi ayarlanmasının sağlıklı yaşam ve verim fonksiyonları açısından son derece önemli olduğunu savunmaktadır. Bu teoriye göre, yaşam boyu sürekli serbest radikallere maruz kalınması sonucunda hücre hasarı oluşmakta, hücrelerin büyüme, gelişme ve farklılaşma fonksiyonlarında bozulma, kanser veya ölüm meydana gelmektedir.

Tatar ve arkadaşları (1996), mutasyon birikiminin genetik varyansı artırmasından dolayı yaşlanma ile genetik varyansının artması arasında mutasyon birikiminin önemli bir etkisinin olduğunu düŐünmektedirler.

Giamarellos ve arkadaşları (2006), Oleuropein'in, bağışıklık sistemini düzenleyici bir bileşen olarak kullanıldığını; kanda ve organlarda bakteri gelişimini azaltarak, toplam antioksidan kapasitesini korumak suretiyle bağışıklık sisteminin güçlenmesinde de etkin rol oynadığını bildirmiştir.

Federici ve arkadaşları (2007), TiO₂ nanopartiküllerine maruz kalan gökkuşağı alabalıklarının beyinlerinde herhangi bir hasar oluşmamasına rağmen, solungaçlarında oksidatif stres kaynaklı hasarlar tespit etmişlerdir.

Oleuropein'in antioksidan ve kolesterol düşürücü etkisi üzerine yapılan *in vivo* bir çalışmada, Wistar fareleri üzerinde OLE ile zenginleştirilmiş zeytin yaprağı ekstraktlarının etkileri araştırılmış olup, OLE'nin kolesterol düşürücü etkisinin yanı sıra lipid peroksidasyon sürecini yavaşlattığı ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir (Jemai *et al.*, 2008).

Uysal ve arkadaşları (2009), *Lobaria pulmonaria* likeninden elde edilen metanol, kloroform ve su ekstraktlarının *D. melanogaster*'in erkek ve dişi populasyonlarının ömür uzunluğu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda, *L. pulmonaria*'nın metanol, kloroform ve su ekstraktlarına maruz bırakılan her iki populasyonda da ömür uzunluğunun konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı gözlenmiştir. Metanol ekstraktının kloroform ve su ekstraktına göre daha etkili olduğu, su ekstraktının ise metanol ve kloroform ekstraktlarına göre daha az etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Sycheva ve arkadaşları (2011) tarafından fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, comet assay testi ile 40-1000 mg/kg'lık doz aralığında TiO₂ (33 nm) nanopartikülünün genotoksik etkilerini araştırarak fare karaciğer ve kemik dokularında genotoksik veriler elde edilmiştir.

Demir ve arkadaşları (2014), *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde comet assay testi ile ZnO (35 nm ve 50 nm) ve TiO₂ (21 nm ve 50 nm) nanopartiküllerinin DNA üzerine etkisini araştırmışlardır. Üç farklı doz kullandıkları bu çalışmada, ZnO ve

TiO₂ nanopartiküllerinin sebep olduğu DNA kırıklarının kontrole göre önemli olduğunu belirlemişlerdir.

Hong ve arkadaşları (2014), hamile sıçanlara 0, 100, 200 ve 400 mg/kg/gün dozlarda ZnO (20 nm) nanopartikülü uyguladıkları çalışmalarında 15 gün boyunca oral uygulama ile kontrole göre uygulama gruplarında embriyonik gelişimde bozulmalara, korpus luteum ve plasenta miktarında azalmaya ve fetüs ölümlerine rastladıklarını ifade etmişlerdir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan organizma

Drosophila melanogaster, 19. yüzyılda Dipteryoloji'nin babası olarak bilinen Johann Wilhem Meigen (1764- 1845) tarafından 1830 yılında tanımlanmıştır (Keller, 2007). Halk arasında meyve sineği veya sirke sineği olarak bilinen *D. melanogaster*, 1910 yılında Müller'in eşeye bağlı resesif letal mutasyon testini (SLRLT) bilim dünyasına kazandırmasıyla genetik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Şahin, 2014). Deneylerimizde *D. melanogaster*'in Oregon R (Meigen, 1830) yabancı soyuna ait larva ve erginler kullanılmıştır. *D. melanogaster* Oregon R soyu normal, yuvarlak-kırmızı gözlü ve mutant bir karakter içermeyen yabancı tip (w.t.= wild type) soydur. Bu soy, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda 1988'den beri kendileştirilen ve genetik olarak ileri derecede homojen olan stoklardan elde edilmiş olup, bu stoklar 2014 yılından bu yana Erzincan Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarları'nda kendileştirilmektedir.

İlk olarak Thomas Hunt Morgan (1910) tarafından genetik çalışmalarda kullanılan *D. melanogaster*, günümüzde sitogenetik, populasyon genetiği gibi genetiğin çeşitli alt dallarında ve moleküler biyoloji alanında gerçekleştirilen çalışmalarda en çok tercih edilen model organizmalardan biridir (Çakır ve Sarıkaya, 2004).

Drosophila'nın model organizma olarak tercih edilmesini sağlayan birçok özelliğinden bazıları şunlardır (Uysal vd., 2006):

1) *Drosophila* pek çok doğal ya da yapay varyasyonların gözlemlenebildiği bir organizmadır. Mutant bireylerde kıl tipi, göz şekli, göz rengi, vücut rengi, kanat şekli

gibi farklı fenotipik özellikleri çıplak gözle ya da binoküler mikroskop altında görebilmek mümkündür.

2) *Drosophila*'nın hayat devri çok kısadır. Yumurtadan ergine gelişme süresi, $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ve %40- 60 bağıl nemde, yaklaşık 9-10 gündür.

3) Dişi bir *Drosophila* günde ortalama 40-50 yumurta bırakır. 10 günlük bir gelişim süresinde yaklaşık 400-500 yumurta bırakılması, *Drosophila*'nın genetiksel özellikleriyle ilgili bilginin doğru tespit edilmesi ve sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir.

4) Laboratuarda bakımı kolaylıkla yapılabilir ve besinlerin maliyeti oldukça ekonomiktir.

5) Az sayıda ve kolay incelenebilen kromozom yapısına sahiptir. Üçüncü evre larvalarının tükürük bezlerinde dev kromozomların (Politen kromozomlar) bulunması, kromozom haritaları ve kromozom fonksiyon analizlerinin yapılmasına olanak sağlar.

6) Arı döl olarak saklanabilmelerinin yanı sıra kontrollü çaprazlamalarında yapılabildiği en uygun organizmalardan biridir. Kontrollü çaprazlama, genetik çalışmalarda kullanılan yöntemler arasında olup bir organizmanın genetiğinin incelenebilmesinde kolaylık sağlar.

7) Sinekler basit düzenekler hazırlanarak eterle ya da karbondioksit düzeneği ile kolayca bayılabilir.

8) Omurgalı merkezi sinir sisteminde olduğu gibi yaklaşık 200 000 sinir içeren bir beyne sahiptir. Beynin fonksiyonel alt birimleri olan nöronların şekilleri ve sinaptik bağlantıları insanlarınki ile çok benzerdir.

9) *Drosophila* özellikle Alzheimer, Parkinson, Bipolar ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıkların araştırılmasında büyük bir başarı ile kullanılmaktadır.

10) Memeli ve *Drosophila* sodyum ve potasyum kanalları benzer şekilde bloke olmaktadır.

11) *Drosophila*'nın homeotik seçici genlerinin (sineğin tüm vücut planını kontrol eden genler) memelilerdeki eş değer genlerle yakın ilişkili olduğu keşfedilmiştir.

3.1.2. *Drosophila melanogaster*'in sistematigi

Şube: Arthropoda (=Eklem bacaklılar)

Alt Şube: Mandibulata-Antennata

Sınıf: Insecta-Hexapoda (=Böcekler-Altı bacaklılar)

Alt Sınıf: Pterygota (=Kanatlı böcekler)

Üst Takım: Mecopteroidea-Panorpoidea (=Uzun kanatlılar)

Takım: Diptera (=Çift kanatlılar)

Alt Takım: Brachycera (=Sinekler-Kısa antenliler)

Aile: Drosophilidae (=Sirke sinekleri-Meyve sinekleri)

Cins: *Drosophila*

Tür: *Drosophila melanogaster*

3.1.3. *Drosophila*'da vücut yapısı

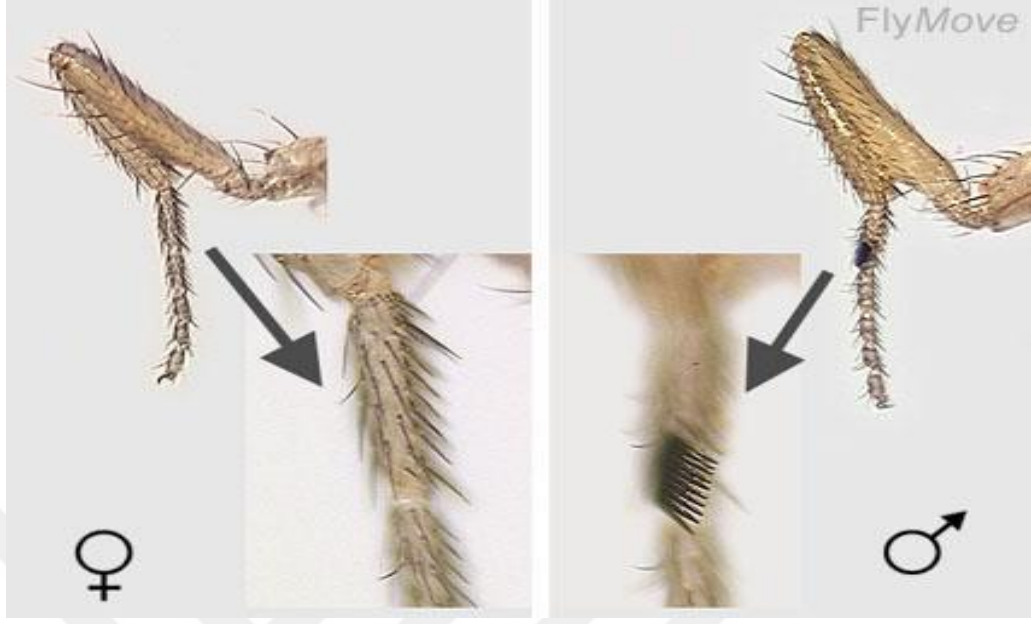
Drosophila'da vücut yapısı; baş (kaput), göğüs (toraks) ve karın (abdomen) olmak üzere üç kısma ayrılır. Baş ve toraks, büyük sert kıllar (makroseta) ve ufak yumuşak kıllar (mikroseta) ile örtülüdür. Bunların her iki türü de duyu organı olarak görev yaparlar. Altı segmentten oluşan başın iki yanında petek gözler, tepesinde üç tane basit göz ile ağız ve iki anten bulunur. Toraks üç segmentten oluşur ve her segmentte bir çift bacak bulunur. İkinci segmentte bir çift kanat yer alırken üçüncü segmentteki kanatlar körelmiş ve bunlar halter organına dönüşmüştür. Abdomen dişi ve erkek

bireylerde farklılık göstermektedir. Dişi bireylerin abdomeninin ucu uzun ve sivri, erkek bireylerinki daha kısa, yuvarlak (küt) ve siyahtır (Şekil 3.1). Dişilerin yaşlanmasıyla birlikte abdomenleri yumurtalarla dolar ve buna bağlı olarak genişler. Ayrıca, dişinin abdomeninde 7, erkeğin abdomeninde ise 5 tane görülebilir segment mevcuttur.



Şekil 3. 1. *Drosophila melanogaster* Oregon R soyu (yabanıl tip) erkek ve dişi bireylerinde eşeyel dimorfizm (<http://flymove.uni-muenster.de>, 2016)

Bu özellikler cinsiyetin belirlenmesi için yeterlidir ancak bazı durumlarda çok genç erkeklerde, abdomendeki pigmentasyon yoğun olmadığından cinsiyet belirlemede hatalar olabilir. Bu nedenle cinsiyetin tam olarak belirlenebilmesi için erkeklerin birinci çift bacağındaki eşey tarağı olarak adlandırılan koyu renkli sıra sıra kıllar karakteristiktir (Şekil 3.2). Bu yapı, çiftleşme sırasında erkeğin dişiye kavraması için gereklidir ve dişilerde yoktur (Uysal vd., 2006).



Şekil 3. 2. *Drosophila melanogaster*'de eşey tarağı (<http://flymove.uni-muenster.de>, 2016)

3.1.4. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü

Tam başkalaşım (holometabol) gösteren *Drosophila* diploid kromozom sayısına sahip olup dört çift kromozom taşımaktadır. *D. melanogaster* embriyosu sırasıyla üç larva, prepupa, pupa evreleri geçirir (Şekil 3.3). Diğer böceklerde olduğu gibi, *Drosophila*' da da gelişme iki aşamada olur. Birincisi embriyonik dönemdir. Bu dönem, yumurtanın döllenmesi ile başlar ve birinci evre larvanın yumurtadan çıkmasına kadar devam eder. Bütün embriyonik gelişmeler yumurta zarları içinde meydana gelir. İkinci dönem ise post-embriyonik dönemdir. Birinci evre larvadan ergin birey oluncaya kadar geçen süreyi içine alır (Özata, 2006)

D. melanogaster yumurtalarının, ventral yüzü yuvarlak, dorsal yüzü ise daha düzdür ve yaklaşık 0,5 mm boyunda, 0,2 mm eninde oval şekillidirler. Dorsal bölgenin ön ucunda yumurtaların ıslak besiyerine batmasını engelleyen ve yaşamsal öneme sahip oksijenin alınmasından sorumlu iki adet koryon uzantısı olan filament bulunur (Tyler, 2010). Koryonun içinde, yumurtaya süt beyazı görüntüsünü veren ışık yansımalarına neden olan hava ile dolu süngerimsi bir tabaka vardır.

Spermatozomların yumurtaya anterior tarafta bulunan koni şeklinde bir çıkıntının ucundaki mikropil adı verilen bir delikten girerler. Normal olarak bunlardan bir tanesi döllenme için zorunlu olduğu halde, yumurtaya birçok sperm girebilir. Döllenme zamanına kadar spermatozomlar dışı tarafından depo edilirler. Bunlardan tek birinin yumurtaya girmesinin hemen arkasından sperma çekirdeği ile yumurta çekirdeği birleşir. Bu şekilde oluşam zigotta birinci segmentasyon bölünme başlar. Yumurthanın içine sperma girer girmez dışı tarafından yumurtlanır (Benli, 2013).

Yumurtalar $25\pm^{\circ}\text{C}$ ' de 22-24 saat içinde açılır ve 1. evre larva çıkar (Ashburner, 1989). Yumurta açılmasını takiben çıkan birinci evre larva, pupa oluşumuna kadar iki defa deri değiştirir (gömlek değiştirme) ve böylece üç larva dönemi geçirilmiş olur. Larva, üçüncü döneminde yaklaşık 4- 4,5 mm uzunluğunda olabilir. Üçüncü evre larvanın en önemli özelliği tükrük bezlerinde dev (politen) kromozomların bulunmasıdır. Larvanın her deri değiştirmesinde kutikula, özel yapıları ile (ağız dahil) birlikte değişir. *D. melanogaster* larvaları, normal gelişimleri boyunca, ağırlıklarının yaklaşık 3-5 katı kadar beslenirler. Larvaların pupalaşmaya geçebilmeleri için belirli bir ağırlığa ulaşmaları gerekmektedir. Larvalar beslenmelerini tamamlayıp yaklaşık 0,3 mg'lık eşik ağırlığa ulaştıklarında besiyerini terk ederek pupalaşma için kuru bir yere (kültür şişesinin duvarına) geçerler ve burada koyu sarı-kahve renkte ilk önce prepupaya, yaklaşık 4 saat kadar sonrada pupaya gelişirler.

Ergin bireye ait metamorfoz evresi pupa içinde tamamlanır. Larval doku ve organlar parçalanır, tükrük bezleri, yağ doku, bağırsak ve kaslar tamamen ayrışır. Beyin ve malpigi tüplerinde ayrışma olmaz fakat yapısal olarak değişikliğe uğrarlar. *D. melanogaster* larvalarında, pupasyon sırasında başkalaşım geçirerek ergin bireydeki vücut yapılarını oluşturmak için özelleşmiş ve sürekli mitotik bölünmeler geçiren hücre grupları vardır. Embriyonik evreden köken alan bu yapılara "imajinal disk" adı verilir (Graf ve Schaik, 1992). Farklılaşmamış hücre grupları (histoblastlar) ve imajinal disklerden ergin vücut yapıları oluşur (Ashburner, 1989).

Gelişimin tamamlanması ile ergin sinekler pupa kılıfının anteriorunu delerek dışarı çıkarlar. Yeni çıkan ergin bireyler ilk önce açık renkli, uzun vücutludur. Fakat birkaç saat içinde koyulaşırlar. Başlangıçta kırışık olan kanatları açılır ve normal ergin görünümüne ulaşırlar. Türler göre değişmekle birlikte virjin dişiler, pupadan çıktıktan yaklaşık 8 saat sonra eşeyssel olgunluğa erişebilir ve 12 saat sonra ise yumurtlayabilirler. Erkekler ise pupadan çıktıktan birkaç saat sonra çiftleşebilirler. İdeal yaşam koşulları olan $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve %40- 60 bağıl nemde olgunlaşma süreci 9- 10 gün olan *Drosophila*'nın yaşam döngüsü ve evrelerde geçirdiği süreler şöyle özetlenebilir:

Embriyonik gelişim: 1 gün

Birinci larval evre (L1): 1 gün

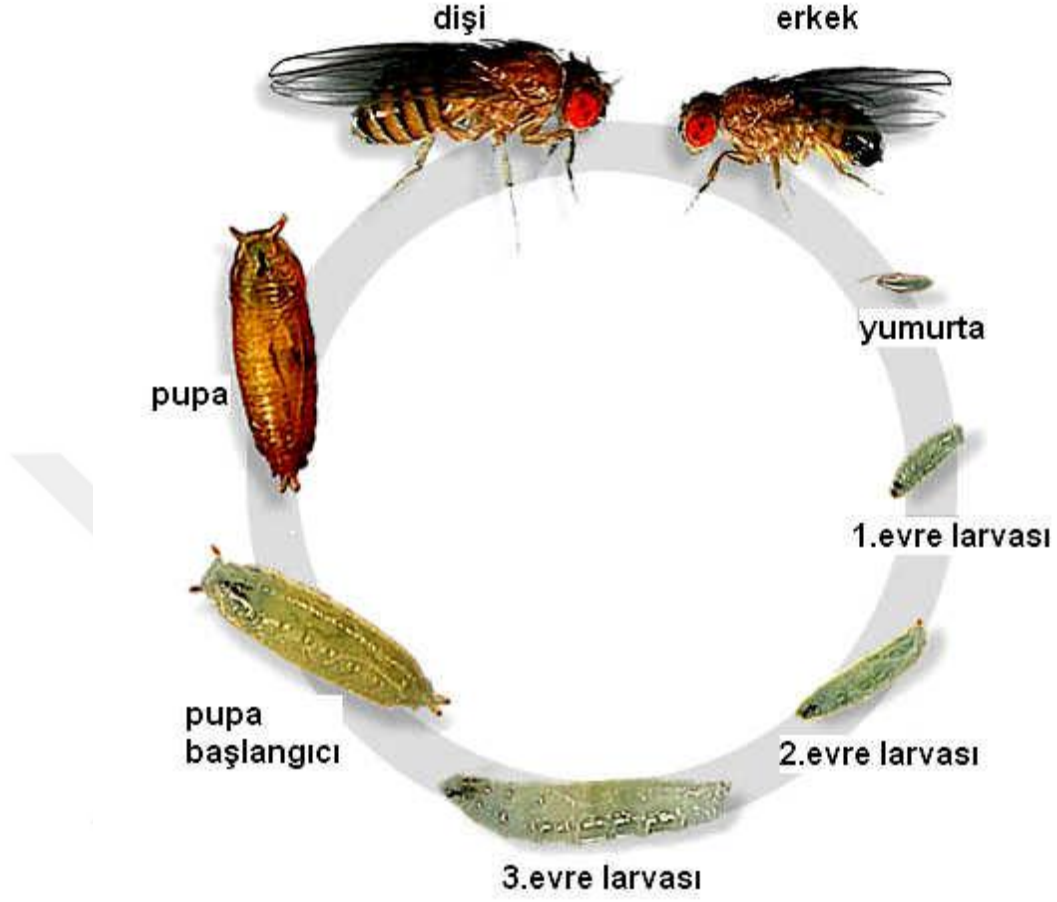
İkinci larval evre (L2): 1 gün

Üçüncü larval evre (L3): 2 gün

Prepupa evresi: 4 saat

Pupa evresi: 4,5 gün

Yetişkin evresi: 40-50 gün



Şekil 3. 3. *Drosophila melanogaster*'in yaşam döngüsü
(<http://flymove.unimuenster.de>, 2016)

Drosophila'da embriyo gelişimini kontrol eden genler ya maternal etkili genler (anneden gelen etkili genler) ya da zigotik genlerdir. Maternal etkili genler, ürünleri (mRNA ve proteinler) oogenez sırasında gelişmekte olan yumurta içinde depolanan genlerdir. Zigotik genler ise, zigotun gelişimini sağlayan genlerdir. Embriyoyu birçok segmente bölen, her segmentin polaritesini, büyüklüğünü ve sayısını tayin eden genlere de segmentasyon genleri denir. Bu genler segmentlerin ve parasegmentlerin orjinini ve son durumunu belirler (Benli, 2013).

Maternal etkili genler: Embriyonun ön (anterior), arka (posterior) ve uç (terminal) kısmını oluşturan genlerdir. Anterior genlerden en önemlisi bicoid genidir. Bu

gendeki bir mutasyon için homozigot olan anneden gelişen embriyoda baş, göğüs bulunmaz ve karın bölgesinin ilk dört segmentinde anormallikler görülür. Embriyonun posterior kısmını oluşturan posterior genler ise 8 tanedir. Bu genler bakımından mutant olan embriyo da benzeri fenotipik anormallikler meydana gelir. Gövdenin posterior kısmı kısadır ve karın segmentleri oluşmaz. Terminal genler de embriyonun anterior- posterior ekseninin oluşmasını kontrol ederler.

Zigotik genler: Bunlar boşluk (gap), çift- kural (pair- rule) ve segment polarite genleridir. Boşluk (gap) genlerinin transkripsiyonu ile embriyo, baş, göğüs ve karın olmak üzere geniş bölgelere ayrılır. Bu genlerde mutasyon meydana gelirse embriyonun segmentasyon profilinde büyük boşluklar görülür. Çift- kural (pair- rule) genleri, boşluk genlerinin oluşturduğu geniş bölgeleri yaklaşık bir segment büyüklüğünde parçalara böler. Çift- kural genlerindeki mutasyonlar, iki segmentten birinde, segment büyüklüğünce bölgelerin yapıdan çıkmasına neden olur. Segment polarite genlerinden sentezlenen ürünler, segment içindeki hücrel kimliği kontrol eder ve her bir segmentin sınırları oluşturulur.

Seçici (selektör) genler: Segment sınırları, segmentasyon genlerinin (boşluk genleri, çift- kural genleri ve segment polarite genleri) etkisiyle oluşturulurken seçici genler aktive olur. Bu genlerin aktiviteleleri ile anten, ağız kısmı, bacak, kanat, göğüs ve karın gibi her bir vücut segmentinin son durumu belirlenir. Bu genlerin mutantları ise homeotik genler olarak tanımlanmıştır. Sonuçta segmentlerden birinin özelliği diğeri ile aynı olacak şekilde değişime uğrar. Meyve sineğinin döllenmiş yumurta hücresinden segmentli ergin birey meydana gelir. Erginin baş kısmı üç, toraksı üç ve abdomeni de sekiz segmentlidir. Meyve sineği her biri bir segmentin yarısı ile sonraki segmentin ilk yarısına karşılık gelen, toplam 14 parasegmente sahiptir.

3.1.5. Çalışmalarımızda kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmalarımızda, ticari olarak satın alınmış anastaz formundaki TiO_2 (44 nm) nanopartikülüne yüklenen çinko oksit (ZnO) Karadeniz Teknik Üniversitesi'nden

temin edilmiştir. İyileştirici madde olarak kullanılan Oleuropein (SIGMA-12247) ise ticari ambalajında Amerika Birleşik Devletleri'nden sağlanmıştır. Ayrıca deneyler sırasında bayılma işleminde dietil eter ve besiyeri hazırlanırken kontaminasyonu önlemek amacıyla da propionik asit kullanılmıştır.

3.1.6. Yararlanılan alet ve cihazlar

Çalışmalar esnasında aşağıdaki alet ve cihazlardan yararlanılmıştır:

| Cihaz adı | Marka-model |
|----------------------------|---------------------|
| Hassas terazi | AXIS AGN 220 |
| Manyetik karıştırıcı | WISESTIR MSH-20A |
| Buzdolabı(derin dondurucu) | ARÇELİK 8820 SBS NF |
| Etüv | WISECUBE |
| Binoküler mikroskop | NIKON SMZ25 |
| Titreşimli su banyosu | BANDELIN SONOREX |

3.2. Yöntem

3.2.1. Besiyeri hazırlama

Deney kültürleri Standart Drosophila Besiyeri'nde (SDB) tutulmaktadır (Bozcuk, 1976) 9 g agar, 60 g toz şeker, 19 g bira mayası, 50 g mısır unu, 565 cc saf su ve 3-3,5 cc propionik asittir. 440 cc saf su temiz bir beherde kaynatılır. Kaynamaya başlayan saf suya önce 9 g agar, daha sonra 60 g şeker ilave edilip bir cam bağıt yardımıyla iyice karıştırılır. Bir başka beher içinde 125 cc saf suda 50 g mısır unu ve 19 g bira mayası ezilir. Karıştırılarak ezilen bu karışım kaynayan şeker-agar karışımına ilave edilerek karıştırmaya devam edilir. Karışım kaynamaya başladıktan sonra karıştırma işlemine 15 dk daha kısık ateşte devam edilmelidir. Bu safhada

karışımın kıvamına dikkat etmek gerekir. Eğer karışım çok sıvı olursa besin ortamı soğuduğu zaman çok katılaşmayacak ve sinekler besin ortamına yapışacaktır. Karışım çok katılaşır ise hem şişelere doldurmak hem de sineklerin beslenmesi güçleşecektir. Bu durumlar göz önüne alınarak hazırlanan besin ortamı ateşten indirilir. Karışım biraz soğuduktan sonra küf inhibitörü olarak kullanılan 3- 3,5 cc propionik asit (Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA)) ilave edilip hazırlanan besin ortamı henüz sıcakken 250 mL'lik kültür şişelerine 2- 3 cm yüksekliğinde olacak şekilde dökülür ve üzerleri temiz kurutma kağıdıyla kapatılarak bir gün oda sıcaklığında soğumaları için bekletilir. Besiyerleri soğuyup, katılaşmışta şişelerin ağzları hidrofob pamuk ve gazlı bezden yapılmış tıkaçlarla kapatılır. Besiyerleri kullanılmaya dek buzdolabında saklanır.

3.2.2. Bayılma yöntemi

Drosophila'lar, negatif olarak geotropik (yerçekiminin tersine) ve pozitif olarak fototropik (ışığa doğru) yönelim (davranış) gösterdiklerinden eterize edilirler (Doane, 1967). Denelerimizde ekonomik oluşu ve çalışma kolaylığı nedeniyle dietil eter (Sigma Chemical Co. (St.Louis, Mo, USA)) kullanılmıştır. Bayılma işlemi için basit bir düzenek hazırlanmıştır. Bir erlen mayere bir miktar eter konularak cam kroze erlenin içine yerleştirilmiş ve krozenin ağzı bir petri kabı ile kapatılmıştır. Krozenin tabanında bulunan torf gözeneklidir ve bu sayede eter krozenin içine buharlaşır. Krozenin gövdesinde bulunan sinekler bu şekilde bayılmış olur. Bayılma (eterizasyon) işlemi, ana-baba stoklarının kurulması, uygulama gruplarını oluşturmak için erginlerin toplanması, F₁ nesline ait bireylerin sayımlarının yapılması için kullanılmıştır. Ömür uzunluğu deneylerindeki transfer işlemleri sırasında eterizasyon yapılmamıştır.

3.2.3. Deney gruplarına uygulanan madde konsantrasyonlarının belirlenmesi

ZnOTiO₂ nanokompozitinin ve OLE'nin *D. melanogaster* üzerine LD₅₀ dozunu belirlemek amacıyla çeşitli konsantrasyon aralıklarında (0,005 -2 mg/mL) 24 saatlik

uygulamalar yapılmıştır. Uygulamalar sonucunda ZnOTiO₂ için tespit edilen LD₅₀ dozuna (1,25 mg/mL) göre, çalışma konsantrasyonları 0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde iyileştirici olarak kullanılacak Oleuropein'in doz miktarı da 100 µM olacak şekilde belirlenmiştir.

3.2.4. ZnOTiO₂ ve Oleuropein'in sulu süspansiyonlarının (test çözeltilerinin) hazırlanması

Çalışmalarda uygulanan konsantrasyonlar ZnOTiO₂ nanokompoziti için 0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL; OLE için ise 100 µM olarak belirlenmiş olup stok çözeltiler deiyonize su ile hazırlanmıştır. ZnOTiO₂ ve OLE'nin suda çözünmesini arttırarak maksimum dağılımını sağlamak için ultra sonik su banyosu kullanılmıştır. Su banyosunda 48 saat bekletilen stok çözeltiler daha sonra +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.5. Ergin sineklerin toplanması

Deneylelerimizde kullandığımız bütün sinekler, *D. melanogaster*' in Oregon R soyuna ait dişi ve erkek bireylerdir. Bu amaçla, sineklerin toplanabilmesi için standart Drosophila besiyeri (SDB) içeren kültür şişelerinde 5 ♀♀ X 5 ♂♂ şeklinde çaprazlamalar yapılarak ön stoklar oluşturulmuştur. Pupadan çıkan aynı yaşlı (1- 3 günlük) çiftleşmemiş dişi ve erkek sinekler, her deney grubu ve bunlara ait kontrol grupları için ayrı ayrı toplanmış ve deneylelerimiz için kullanılacak bütün sinekler hazırlanmıştır. Çalışmalar sırasında sinekler sadece, eşleştirme, aktarma, virjin toplama, larva toplama işlemleri için aydınlık ortama alınmıştır. Stokların yenilenme işlemi, ortalama her 15 günde bir tekrarlanmıştır.

3.2.6. Ömür uzunluğu deneyleleri

ZnOTiO₂ nanokompozitinin ve OLE'nin *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkisi dişi ve erkek popülasyonlarında ayrı ayrı çalışılmıştır. Bu amaçla pupadan çıkan aynı yaşlı (1- 3 günlük) çiftleşmemiş (virjin) dişi ve erkeklerden her grup için

ortalama 100 birey toplanmıştır. Toplanan bireyler boş kültür şişelerine alınarak uygulamadan önce 2 saat aç bırakılmıştır. Daha sonra bu bireyler farklı konsantrasyonlarda (0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL) hazırlanmış ZnOTiO₂, OLE (100 µM) ve ZnOTiO₂+OLE içeren kültür şişelerinde 2 saat beslenmiştir. Bu beslenme için her bir kültür şişesine 2 kat kurutma kağıdı konulmuş ve hazırlanan ZnOTiO₂ ve OLE (100 µM) çözeltilerinden pipet yardımıyla 2,5 mL alınarak bu kağıtlara emdirilmiştir. Bu kültür şişelerinde 2 saat beslenen bireyler, sürenin sonunda Standart Drosophila Besiyeri içeren kültür şişelerine aktarılmıştır ve 25±1°C ve %40- 60 bağıl neme sahip etüvlere alınmıştır. Deney boyunca etüvde muhafaza edilen kültür şişeleri takip edilerek haftada iki kere besiyeri değişimi yapılmıştır. Sinekler sadece besin değişimi yapıldığında aydınlık ortama çıkarılmıştır. Birey sayıları her uygulama günü başlangıcı ve sonunda kontrol edilerek ölen bireyler kaydedilmiş ve ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarında sayım ve besiyeri değişimine son birey ölene kadar devam edilmiştir. Deneyler üç kez tekrar edilmiştir.

3.2.7. Yavru döl sayısı deneyleri

ZnOTiO₂ nanokompozitinin ve OLE'nin dişi ve erkek bireylerde yavru döl sayısı üzerine olan etkileri ömür uzunluğu deneylerinde olduğu gibi dişi ve erkek popülasyonlarında ayrı ayrı çalışılmıştır. Kontrol ve uygulama grupları 0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL ZnOTiO₂; OLE ve ZnOTiO₂+OLE için 5 ♀♀ X 5 ♂♂ bireyin kullanıldığı deney setleri oluşturulmuştur. Her uygulama grubunda, bir deney setinde sadece dişi bireylere kimyasal uygulanırken, aynı uygulama grubuna ait diğer deney setinde yalnızca erkek bireylere kimyasal uygulanmıştır. Kimyasal uygulaması yapılırken; taze hazırlanmış 25 mL besiyerlerine, 0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL'lik ZnOTiO₂ ve 100 µM'lık OLE çözeltilerinden pipet yardımıyla 2,5 mL alınarak karıştırılmıştır. Aynı şekilde ZnOTiO₂+OLE uygulaması için 2,5 mL OLE ve 2,5 mL ZnOTiO₂ (1 mg/mL) içeren besiyeri hazırlanmıştır. Kimyasala maruz bırakılmayan deney setindeki bireyler ise Standart Drosophila Besiyerine alınmıştır. Tüm uygulama gruplarına ait kültür şişeleri, 25±1°C ve %40- 60 bağıl neme sahip etüvde 5 gün

aydınlığa çıkarılmadan bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda, her uygulama grubunda; önce kimyasalda beslenen dişilerle Standart *Drosophila* Besiyerinde beslenen erkekler daha sonra da kimyasalda beslenen erkeklerle Standart *Drosophila* Besiyerinde beslenen dişiler, taze besiyerlerine alınarak çiftleştirilmiştir. Çiftleştirme işleminde 5 ♀♀ X 5 ♂♂ birey kullanılmıştır. 5 gün sonra ebeveynler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Tekrar etüve alınan kültür şişelerindeki pupa gelişimi takip edilerek, ilk ergin bireyin çıktığı andan itibaren, sinekler 7 gün boyunca eşeylerine göre ayrılarak sayım yapılmıştır. Deneyler 3 kez tekrar edilmiştir.

3.2.8. Yaşama yüzdesi (larval mortalite) deneyleri

Yaşama yüzdesi deneyleri için önceden stok halinde elde edilmiş 1-3 günlük çiftleşmemiş *Drosophila* bireyleri 5 ♀♀ X 5 ♂♂ olacak şekilde taze besiyerlerine aktararak 3 gün boyunca $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ve %40- 60 bağıl neme sahip etüve tutulmuştur. 3. günün sonunda larvaları toplamak için ebeveynler besiyerinden uzaklaştırılmıştır. Daha sonra temiz bir petri kabına distile su konularak, 3. evre larvalarını (72 ± 4 saatlik) barındıran besiyerlerinden bir parça alınarak distile suda larvaların ayrılması sağlanmıştır. Kontrol ve uygulama grupları için 100 larva sayılmıştır. Kültür ortamları; 25 mL besiyerlerine, 0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL'lik ZnOTiO_2 çözeltilerinden pipet yardımıyla 2,5 mL alınarak karıştırılıp hazırlanmıştır. OLE'nin iyileştirici etkisini gözlemlemek için hazırlanan iki uygulama grubunda birinci besiyerine ise 2,5 mL OLE ve 2,5 mL ZnOTiO_2 (1 mg/mL), ikinci besiyerine ise sadece 2,5 mL OLE eklenmiştir. Daha sonra sayılan larvalar bu kültür ortamlarına gömülmüştür. Kontrol grubundaki larvalar ise Standart *Drosophila* Besiyerine gömülmüştür. Şişelerin ağızları pamuk tıkaçlarla kapatılmış ve etüvlere konularak larvaların ergin hale ulaşması sağlanmıştır. Bu süreçte tüm deney grupları her gün kontrol edilerek kültür şişelerinde görülen ilk ergin sinek çıkışından itibaren 7 gün sayım yapılmıştır. Sayım, günde iki kez, dişi ve erkek ayrımı yapılarak not edilmiştir. Tüm deneyler 3 kez tekrar edilmiştir.

3.2.9. Mikrofotografi

Çalışmalarımızda, ergin bireylerin fenotiplerinin incelenmesi için Nikon SMZ25 mikroskop kullanılmıştır.

3.2.10. İstatistiksel yöntemler

Gelişim parametreleri ve ömür uzunluğu deneylerinden elde edilen verilerle ilgili istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 15.0 programı ile yapılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarının ortalama ömür uzunluğu değerlerini karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmelerde $p < 0,05$ ve $p < 0,01$ değeri dikkate alınmıştır. Hayatta kalış eğrileri ile F_1 nesillerine ait birey sayılarını gösteren grafikler de Microsoft Windows Office- Excel programı kullanılarak çizilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışma iki aşamalı olarak planlanmıştır. İlk aşamada, ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu, yavru döl sayısı ve yaşama yüzdesi üzerine etkileri araştırılmıştır. İkinci aşamada ise ZnOTiO₂ nanokompozitinin olası toksik etkilerinin OLE ile giderilmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır.

4.1. Bulgular

4.1.1. Ömür uzunluğu deneylerinden elde edilen bulgular

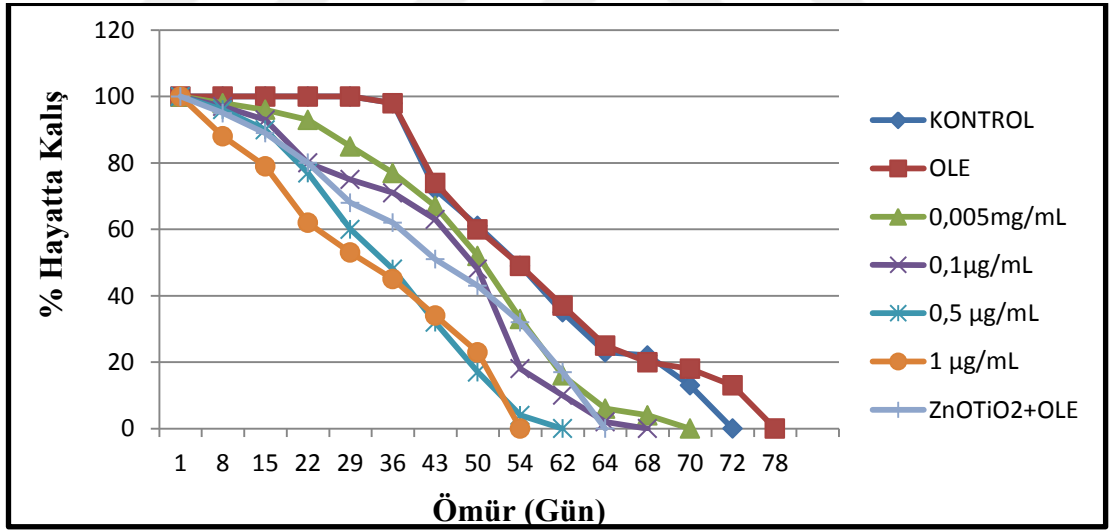
ZnOTiO₂ nanokompozitinin maksimum ömür uzunluğu ile ortalama ömür uzunluğu üzerine etkisinin belirlenmesi Bölüm 3.2.6.'da anlatılan prosedüre göre çalışılmış olup elde edilen değerler Tablo 4.1'de verilmiştir. Ayrıca ortalama ömür uzunlukları bakımından dişi ve erkeklerde yine ayrı ayrı olmak üzere uygulama gruplarının hem kontrol grubu ile hem de kendi aralarında ikili karşılaştırmaları sonucu elde edilen ortalamalar arası farkların önem kontrolleri de belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. ZnOTiO₂ ve OLE uygulanan *D. melanogaster*'in ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunlukları ve gruplar arası önem kontrolleri

| Grup (µg/mL) ve Grup No | ♀♀ N | Max. Ömür | Ortalama Ömür Uzunluğu±SH | Gruplar arası | | Max. Ömür | Ortalama Ömür Uzunluğu±SH | Gruplar arası önem kontrolü (sadece anlamsız farklar) | |
|---|---------|--------------|---------------------------------|---------------|---------|--------------|---------------------------------|--|------|
| | | | | ♀♀ N | ♂♂ N | | | | |
| KONTROL- 1 | 100 | 72 | 56,58±1,10 | | | 100 | 74 | 55,79±1,12 | |
| OLE (100 µM)- 2 | 100 | 78 | 57,64±1,23 | | | 100 | 76 | 55,51±1,17 | 1-2* |
| 0,005 mg/mL- 3 | 100 | 70 | 49,48±1,45 | 1-2* | | 100 | 71 | 44,12±1,84 | 3-4* |
| 0,1 mg/mL- 4 | 100 | 68 | 45,17±1,59 | 4-7* | | 100 | 66 | 41,03±1,85 | 3-7* |
| 0,5 mg/mL- 5 | 100 | 62 | 35,41±1,29 | 5-6* | | 100 | 60 | 39,11±1,70 | 4-5* |
| 1 mg/mL- 6 | 100 | 54 | 34,19±1,65 | | | 100 | 51 | 35,50±1,45 | 4-7* |
| ZnOTiO₂+OLE (1 mg/mL+100 µM)- 7 | 100 | 64 | 43,77±1,79 | | | 100 | 62 | 43,80±1,69 | 5-6* |

Max.: Maksimum, SH: Standart hata, N: Birey sayısı *:Gruplar arasındaki fark $p>0,05$ düzeyinde önemsizdir.

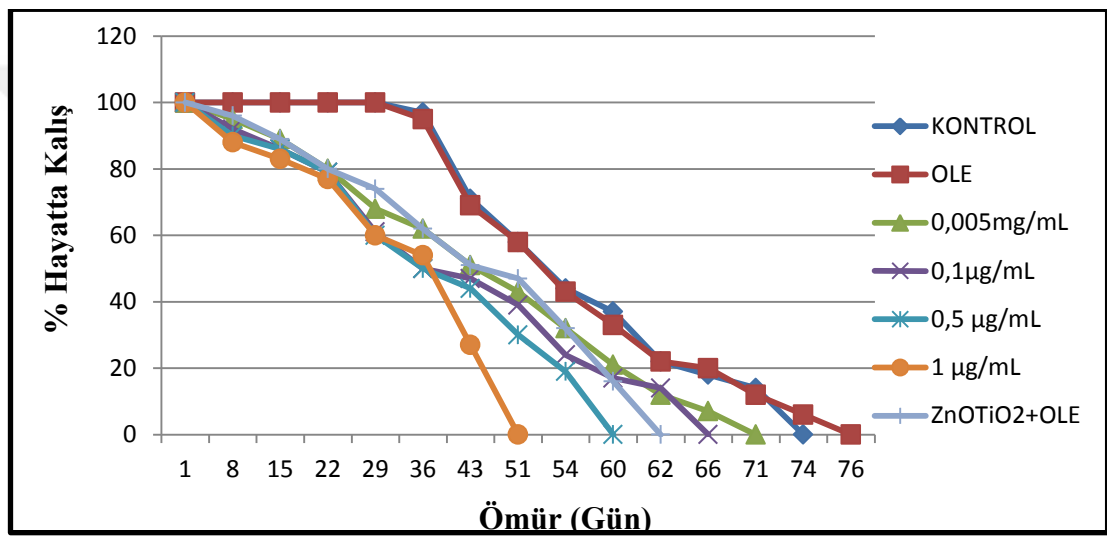
Bu sonuçlara göre, Tablo 4.1’de görüldüğü gibi kontrol ve OLE grubuna ait dişilerde maksimum ömür uzunluğu sırasıyla 72 ve 78 gün olarak bulunmuştur. Ancak diğer uygulama grupları, kontrol ve OLE grubuyla karşılaştırıldığı zaman $ZnOTiO_2$ konsantrasyon artışına bağlı olarak ortalama ömür uzunluğunun 78 günden 54 güne kadar düştüğü görülmektedir. Bu süre 0,005 mg/mL uygulama grubunda 70, 0,1 mg/mL uygulama grubunda 68, 0,5 mg/mL uygulama grubunda 62 ve 1 mg/mL uygulama grubunda 54 gün olarak bulunmuştur. $ZnOTiO_2$ +OLE grubunda ise maksimum ömür uzunluğu 64 gündür. Dişi populasyonun tüm gruplarına ait hayat tablosu verilerinden yararlanılarak çizilen hayatta kalış eğrileri Şekil 4.1’de verilmiştir. Dişi bireylere ait ömür uzunluğu sonuçları birbirleriyle ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman, en uzun ortalama ömür OLE grubunda $57,64 \pm 1,2$, en kısa ortalama ömür ise 1 mg/mL uygulama grubunda $34,19 \pm 1,65$ gün olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 1. Ergin yaşamları süresince farklı konsantrasyonlarda $ZnOTiO_2$ içeren besiyerinde yaşayan *D. melanogaster*'in dişi bireylerine ait hayatta kalış eğrileri

Farklı konsantrasyonlarda $ZnOTiO_2$ ve OLE'nin *D. melanogaster*'in erkek populasyonlarına ait maksimum ve ortalama ömür uzunlukları üzerine etkisi de belirlenmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre, kontrol ve OLE grubuna ait erkeklerde maksimum ömür uzunluğu 74 ve 76 gün olarak bulunmuştur (Tablo 4.1).

0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL uygulama gruplarında sırasıyla bu süre 71, 66, 60 ve 51 gün olup dişilerde olduğu gibi kontrole göre ömür uzunluğunda azalma olduğu tespit edilmiştir. ZnOTiO₂+OLE grubunda ise maksimum ömür uzunluğu 62 gündür. Erkekler için hayatta kalış eğrileri Şekil 4.2'de görülmektedir. Erkek bireylere ait en uzun ortalama ömür, kontrol grubunda 55,79±1,12 ve en kısa ortalama ömür 1 mg/mL uygulama grubunda 35,50±1,45 gün olarak saptanmıştır (Tablo 4.1).



Şekil 4. 2. Ergin yaşamları süresince farklı konsantrasyonlarda ZnOTiO₂ içeren besiyerinde yaşayan *D. melanogaster*'in erkek bireylere ait hayatta kalış eğrileri

D. melanogaster'in dişi ve erkek bireylere ait ortalama ömür uzunluğu birbiriyle karşılaştırıldığı zaman (Tablo 4.1), kontrol ve tüm deney gruplarında dişi bireylerin erkek bireylerden daha uzun ömürlü olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak ömür uzunluğundaki bu farklılık önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Hem dişi hem erkek bireylerin ömür uzunlukları ile ZnOTiO₂ konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon olduğu da görülmektedir. Bu korelasyon değeri dişiler için $r = -0,420$ iken erkekler için ise $r = -0,335$ 'dir ($p < 0,01$).

4.1.2. Yavru döl sayısı deneylerinden elde edilen bulgular

Çalışmanın bu aşamasında, yalnızca SDB içeren kontrol, OLE (100 µM), farklı konsantrasyonlarda (0,005 mg/mL; 0,1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 1 mg/mL) ZnOTiO₂, ve ZnOTiO₂+OLE içeren uygulama grupları için Bölüm 3.2.7’de anlatıldığı gibi, 5 dişi ile 5 erkek çaprazlaması yapılmıştır. Çaprazlamanın yapıldığı tarihten itibaren gelişim evreleri (yumurtadan- ergine) günlük olarak izlenmiş ve 5 gün sonra ebeveynler ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Pupadan çıkan ergin bireyler eterize edilerek günlük olarak sayılmış ve toplam yavru birey sayısı dişi ve erkek olarak ayrı ayrı kaydedilmiştir. Kayıt işlemine 7 gün boyunca devam edilmiştir. Elde edilen verilere göre sadece dişi bireylere farklı konsantrasyonlarda (0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL) ZnOTiO₂ uygulamasının yapıldığı tüm deney setlerinde toplam yavru döl sayısının kontrole göre düşüş gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca OLE uygulamasına maruz bırakılan dişilerde yavru döl sayısının kontrolden daha fazla olduğu, ZnOTiO₂+OLE uygulamasına maruz bırakılan dişilerde ise yavru döl sayısının kontrole yaklaştığı görülmüştür. Birey sayısındaki bu farklılık, hem kontrol grubu ile deney grupları hem de deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur (Tablo 4.2). Dişilerde en fazla yavru döl sayısının 232 birey ile OLE grubuna ait olduğu, en az yavru döl sayısının ise 108 birey ile 1 mg/mL’lik uygulama grubuna ait olduğu görülmektedir.

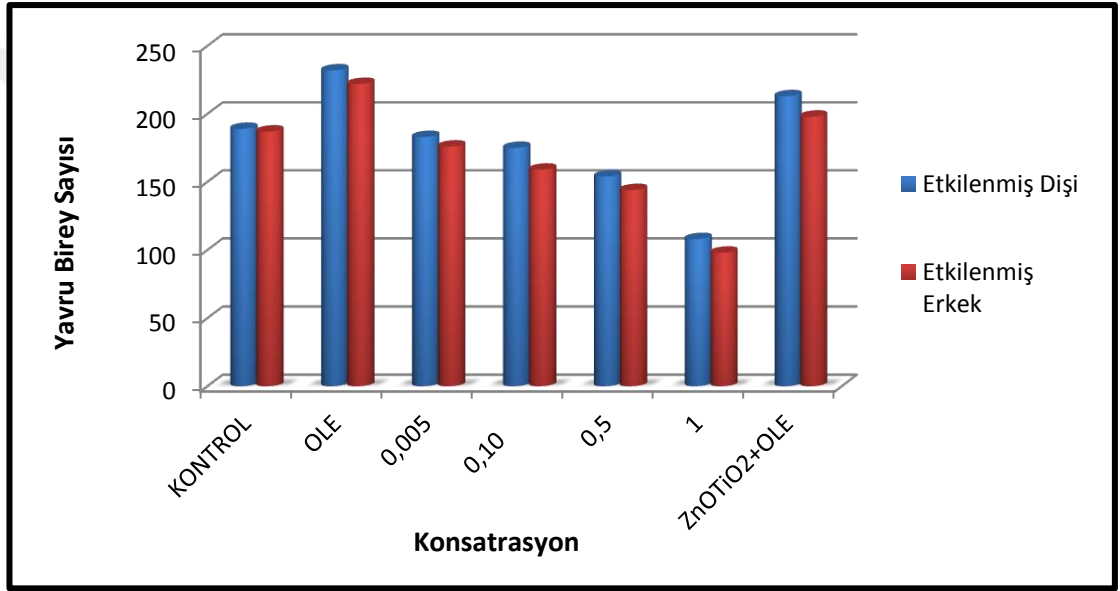
Sadece erkek bireylere ZnOTiO₂ uygulamasının yapıldığı deney setlerinde de yavru döl sayısının ZnOTiO₂ konsantrasyonuna paralel olarak kontrol grubuna göre düşüş gösterdiği saptanmıştır (Tablo 4.2). Aynı şekilde OLE grubundaki yavru döl sayısının kontrolden fazla olduğu, ZnOTiO₂+OLE grubuna ait yavru döl sayısının ise kontrole yaklaştığı görülmüştür. Erkek bireylerde en fazla yavru döl sayısı OLE grubunda 222 birey olarak ölçülmüşken en az yavru döl sayısı ise 1 mg/mL’lik uygulama grubunda 98 birey olarak ölçülmüştür.

Tablo 4. 2. ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'in yavru döl sayısı üzerine etkisi

| Konsntrasyon | Etkilenmiş Dişi Populasyon | | | Etkilenmiş Erkek Populasyon | | |
|--------------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|
| | ♀♀ Birey Sayısı | ♂♂ Birey sayısı | Toplam Birey Sayısı | ♀♀ Birey Sayısı | ♂♂ Birey sayısı | Toplam Birey Sayısı |
| KONTROL | 96±0,577 ^a | 93±1,155 ^a | 189±0,577 ^a | 96±1,155 ^a | 93±0,577 ^a | 189±0,577 ^a |
| OLE | | | | | | |
| (100 µM) | 122±1,732 ^g | 110±2,309 ^e | 232±1,732 ^b | 114±1,732 ^g | 108±1,732 ^e | 222±2,309 ^b |
| 0,005 mg/mL | 93±1,155 ^{ab} | 90±1,155 ^a | 183±1,732 ^c | 89±1,155 ^b | 86±1,453 ^b | 176±1,155 ^c |
| 0,1 mg/mL | 90±2,309 ^c | 85±1,732 ^b | 175±1,155 ^d | 83±1,732 ^c | 76±2,309 ^c | 159±2,309 ^d |
| 0,5 mg/mL | 79±1,155 ^d | 75±1,732 ^c | 154±0,577 ^e | 71±0,577 ^d | 73±1,155 ^c | 144±0,577 ^e |
| 1 mg/mL | 55±1,732 ^e | 53±1,732 ^d | 108±1,732 ^f | 53±1,732 ^e | 45±1,732 ^d | 98±1,732 ^f |
| ZnOTiO₂ +OLE | | | | | | |
| (1 mg/mL+100 µM) | 105±1,732 ^f | 108±0,577 ^e | 213±1,155 ^g | 101±1,732 ^f | 97±1,155 ^a | 198±1,155 ^b |

^{a-g}: : Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Şekil 4.3’de dişi ve erkek bireyler karşılaştırıldığında erkek bireylerin ZnOTiO₂ nanokompozitinden daha fazla etkilendiği görülmektedir ($p < 0,05$). Ayrıca yalnızca etkilenmiş dişi populasyon ve yalnızca etkilenmiş erkek populasyona ait deney setlerinden elde edilen toplam yavru birey sayısı ile ZnOTiO₂ konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon olduğu görülmektedir. Bu değerler yalnızca etkilenmiş dişi populasyon için $r = -0,392$ ve yalnızca etkilenmiş erkek populasyon için $r = -0,481$ olarak belirlenmiştir ($p < 0,01$).



Şekil 4. 3. ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'in yavru döl sayısı üzerine etkisi

4.1.3. Yaşama yüzdesi (larval mortalite) deneylerinden elde edilen bulgular

Bu aşamada ZnOTiO₂ nanokompozitinin ve OLE'nin larvadan ergine gelişebilen birey sayısını belirten hayatta kalış oranı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, 72 saatlik 100'er adet larva hem kontrol hem de farklı konsantrasyonlarda (0,005 mg/mL, 0,1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL) ZnOTiO₂, OLE (100 µM) ve ZnOTiO₂+OLE içeren uygulama gruplarına ait besiyerlerine konulmuştur. Tüm gruplarda larvadan ergine gelişebilen bireyler dişi ve erkek olarak ayrı ayrı

sayılmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre hayatta kalış oranları Tablo 4.3 ve Şekil 4.4’de verilmiştir.

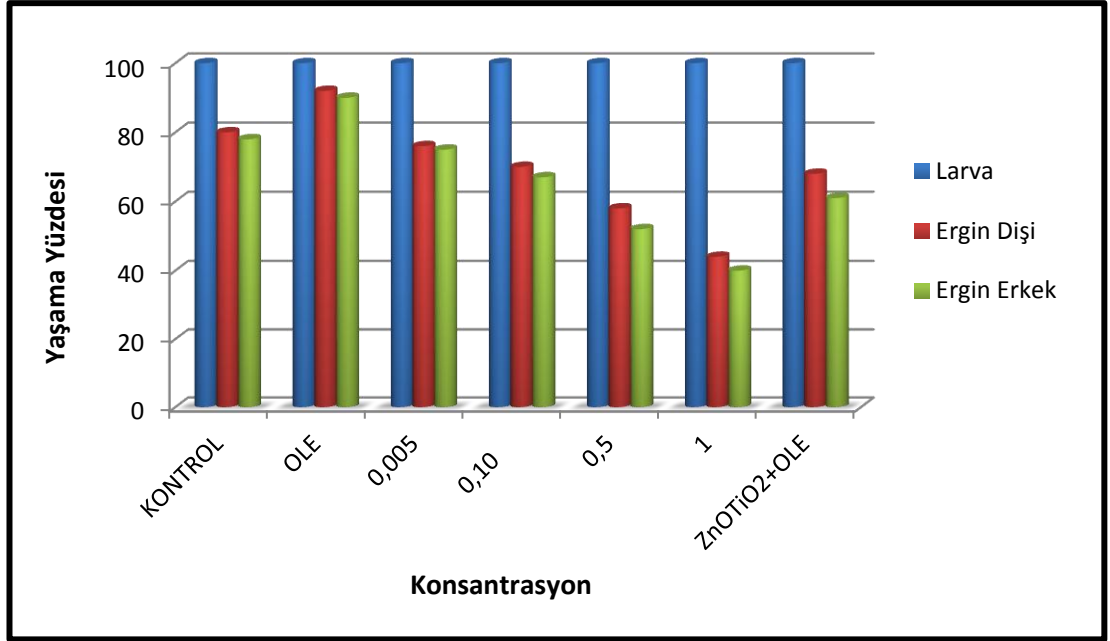
Tablo 4. 3. ZnOTiO₂’nin *D. melanogaster*’de yaşama yüzdesi üzerine etkileri

| Konsantrasyon | Ortalama Yaşama Yüzdesi±Standart Hata | |
|---|---------------------------------------|-------------------------|
| | ♂♂ Populasyon | ♀♀ Populasyon |
| KONTROL | 33±1,155 ^{ab} | 39 ±0,577 ^{ab} |
| OLE (100 µM) | 35 ±2,309 ^a | 44±1,155 ^a |
| 0,005 mg/mL | 34±1,155 ^a | 38 ±1,732 ^b |
| 0,1 mg/mL | 29 ±1,732 ^{bc} | 35 ±0,577 ^{bc} |
| 0,5 mg/mL | 27±0,577 ^c | 31 ±1,155 ^c |
| 1 mg/mL | 17±1,732 ^d | 18±2,887 ^d |
| ZnOTiO₂ +OLE (1 mg/mL+100 µM) | 28±0,577 ^c | 31±2,309 ^c |

^{a-d}: Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Yaşama yüzdesi deneylerinden elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubunda erginleşen birey sayısı 72 olup bu bireylerden 33’ü erkek 39’u dişidir. OLE grubunda ise erginleşen birey sayısı 79 olup bu bireylerden 35’i erkek 44’ü dişidir. Tablo 4.3 incelendiğinde, 0,005 mg/mL’lik uygulama grubunda erginleşen birey sayısı 72 olup bunlardan 34’ü erkek 38’i dişidir. 0,1 mg/mL’lik uygulama grubunda erginleşen birey sayısı 64 iken bu bireylerin 29’u erkek 35’i dişidir. 0,5 mg/mL’lik uygulama grubunda erginleşen birey sayısı 58 olup bu bireylerden 27’si erkek 31’i dişidir. En

yüksek konsantrasyon olan 1 mg/mL'lik uygulama grubunda erginleşen birey sayısı 17'si erkek 18'i dişi olmak üzere toplam 35 bireydir. Son olarak ZnOTiO₂+OLE grubundan çıkan birey sayısı 59 olup bu bireylerin 28'i erkek 31'i dişidir. Sonuç olarak, ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'e ait larvaların yaşama yüzdesi üzerinde konsantrasyon artışına paralel olarak toksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca OLE grubundaki yaşama yüzdesinin kontrol grubundan fazla, ZnOTiO₂+OLE grubundaki yaşama yüzdesinin ise kontrol grubuna yakın olduğu da gözlenmiştir. İstatistiksel değerlendirmeye göre de kontrol ve deney grupları arasındaki bu fark $p < 0,05$ düzeyinde anlamlıdır. Larvadan ergine gelişebilen hem dişi hem erkek birey sayıları ile ZnOTiO₂ konsantrasyonu arasında da negatif bir korelasyon olduğu istatistiksel olarak bulunmuş ve bu değerlerin dişiler için $r = -0,735$ iken erkekler için ise $r = -0,686$ olduğu görülmüştür ($p < 0,01$).



Şekil 4. 4. ZnOTiO₂ 'nin *D. melanogaster* 'de yaşama yüzdesi oranları

4.2. Tartışma

Bu çalışmada, ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'in çeşitli gelişim parametreleri üzerine olan toksik etkileri ve bu etkilerin OLE ile giderilmesi üzerine araştırmalar yapılmıştır.

İlk aşamada, ZnOTiO₂ nanokompoziti ile antioksidan özelliğe sahip OLE'nin maksimum ömür uzunluğu ve ortalama ömür uzunluğu üzerine etkisi dişi ve erkek populasyonlarda ayrı ayrı çalışılmıştır. ZnOTiO₂ uygulamasına maruz bırakılan hem dişi hem de erkek uygulama gruplarında konsantrasyon artışına paralel olarak ortalama ömür uzunluğu düşerken ZnOTiO₂+OLE içeren uygulama grupları için bu değerlerin kontrole yaklaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol ve tüm uygulama gruplarında dişi bireylerin erkek bireylerden daha uzun ömürlü olduğu da belirlenmiştir.

İkinci aşamada; OLE (100 µM), farklı konsantrasyonlarda (0,005 mg/mL; 0,1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 1 mg/mL) ZnOTiO₂, ve ZnOTiO₂+OLE içeren uygulama grupları için yavru döl sayıları tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre, sadece dişi bireylere ve sadece erkek bireylere ZnOTiO₂ uygulamasının yapıldığı tüm deney setlerinde toplam yavru döl sayısının kontrole göre düşüş gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca OLE uygulamasına maruz bırakılan dişi ve erkek bireylerde yavru döl sayısının kontrolden daha fazla olduğu, ZnOTiO₂+OLE uygulamasına maruz bırakılan dişi ve erkek bireylerde ise yavru döl sayısının kontrole yaklaştığı görülmüştür.

Üçüncü aşamada ise, ZnOTiO₂ nanokompozitinin ve OLE'nin larvadan ergine gelişebilen birey sayısını belirten hayatta kalış oranı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Yaşama yüzdesi deneylerinden elde edilen sonuçlara göre, ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'e ait larvaların yaşama yüzdesi üzerinde konsantrasyon artışına paralel olarak toksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca OLE grubundaki yaşama yüzdesinin kontrol grubundan fazla, ZnOTiO₂+OLE grubundaki yaşama yüzdesinin ise kontrol grubuna yakın olduğu da gözlenmiştir.

Yapılan çalışmalar, besin çeşidinin *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunu önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. *Drosophila*'da çok düşük oranlarda (%1) agar içeren besin ortamlarında gelişimin normal ve ölüm hızının düşük olduğu, buna karşın %8'lik agar içeren besin ortamında erkeklerin en uzun ömre sahip oldukları ve eşeyler arasındaki ömür uzunluğu farklılığının en az oranda olduğu gözlenmiştir (David *et al.*, 1975). Çalışmamızda, besin çeşidi ve oranlarından doğabilecek farklılıkları önlemek için deney süresince taze hazırlanan SDB kullanılmıştır.

Yüksek yumurta üretimi olan çiftleşmiş dişilerin, yumurta üretimi düşük bakire (virjin) dişilerden daha kısa ömürlü oldukları görülmüştür (Tatar ve Promislow, 1997). Çalışmamızda, tüm dişi bireylerin virjin olması için pupadan çıkan bireyler çiftleşme yeteneği kazanmadan dişi ve erkek olmak üzere ayrı ayrı şişelerde toplanmışlardır. Böylece hem erkek hem de dişilerin aynı yaşlı, çiftleşmemiş bireyler olması sağlanmış ve anasal yaşın ömür uzunluğunu etkileyici bir faktör olması da önlenmiştir (Lansing, 1952).

Simmons ve Bradley (1997), on farklı *Drosophila* popülasyonu ile yaptıkları çalışmada, bira mayası içeren besin ortamında metabolik atıkların olmaması halinde ömür uzunluğunun arttığını tespit etmişlerdir. Dolayısıyla besin ortamının sık sık yenilenmesi ile atık maddelerin ömür uzunluğu üzerindeki negatif etkisi de giderilmiştir. Bu amaçla çalışmalarımızda tüm grupların besin ortamı haftada iki kez değiştirilerek metabolik atıkların ortamdaki uzaklaşması sağlanmıştır. Yaş farkından doğabilecek etkiyi de ortadan kaldırmak için tüm uygulama gruplarında aynı yaşlı (1-3 günlük) bireyler kullanılmıştır.

Çalışmamızda ZnOTiO₂ ve OLE maruziyeti dışında dişi ve erkek sineklerin gelişimini ve ömür uzunluğunu etkileyebilecek iç ya da dış faktörlerin tamamı uygulama ortamında stabil tutulmuştur. Bu koşullarda tutulan aynı genotipli sineklerin gelişim parametreleri ve ömür uzunluğundaki değişikliklerin besiyerine ilave edilen ZnOTiO₂ ve OLE kaynaklı olduğunu söyleyebiliriz.

ZnOTiO₂ ve OLE'nin *D. melanogaster*'in gelişimi üzerine etkisiyle ilgili direkt sonuçlara literatürde rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışma sonucu elde edilen bulgular, literatürde yer alan ZnOTiO₂ ve bileşenlerinin farklı organizmalar üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ışığında değerlendirilmiştir.

Kumar ve arkadaşları (2011) tarafından sentetik ZnO ve TiO₂ nanopartikülleriyle yapılan bir çalışmada, bu metal oksitlere maruz bırakılan *E.coli* hücrelerinde oksidatif stres artışına bağlı olarak genotoksik ve sitotoksik etkiler gözlenmiştir (Kumar *et al.*, 2011).

Wang ve arkadaşları (2016), *Arabidopsis* ile yaptıkları bir çalışmada 200 ve 300 mg/L'lik ZnO (<50 nm) uygulamasının bitki büyümesini kontrole göre %20- 80 oranında inhibe ettiğini göstermişlerdir. Aynı zamanda, 300 mg/L'lik uygulamada fotosentez hızının %50 oranında düştüğü ve fotosentezde görevli genlerin ekspresyonlarının da azaldığı saptanmıştır.

Mukherjee ve arkadaşları (2016) ise *Pisum sativum L.* üzerinde, ZnO (10 nm) ve Alüminyum (Al) yüklenmiş ZnO (15 nm) nanopartiküllerini karşılaştırmalı olarak çalışmışlardır. Al yüklenmiş ZnO nanopartiküllerinin 1000 mg/kg uygulama dozunda sadece ZnO uygulamasına göre bitkide daha çok toksik etki gösterdiği bulunmuştur. Bu toksik etkilerin özellikle tohum gelişimi ve fotosentez pigmentleri üzerinde olduğu gözlenmiştir.

Allium cepa kök meristem hücrelerinde Demir ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, comet assay testi ile ZnO (35 nm ve 50 nm) ve TiO₂ (21 nm ve 50 nm) nanopartiküllerinin DNA üzerine etkisini araştırmışlardır. Üç farklı doz kullandıkları (10, 100 ve 1000 µg/mL) bu çalışma sürecinde ZnO nanopartikülünün her üç dozunda da DNA kırıkları oluştururken, TiO₂ nanopartikülünün sadece en yüksek dozunda meydana gelen DNA kırıklarının kontrole göre önemli olduğu belirlenmiştir.

Nanopartiküllerin sulara yaşayan canlılar üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir. 14 gün boyunca TiO_2 nanopartiküllerine maruz bırakılan Zebra balıklarının canlı embriyo sayısında düşüş olduğu gözlenmiştir (Ramsden *et al.*, 2013).

Gökkuşuğu alabalıkları üzerinde yapılan bir çalışmada, TiO_2 nanopartiküllerine maruz kalan beyinlerinde herhangi bir hasar oluşmamasına rağmen, solungaçlarında oksidatif stres kaynaklı hasarlar tespit edilmiştir (Federici *et al.*, 2007).

Aynı nanopartikülün farklı boyutlarının farklı şiddette toksisite gösterebilmeleri açısından önem taşıyan bir çalışmada, embriyonik zebra balıkları üzerinde boyut ve yüzey özellikleri değişik 17 farklı ZnO nanopartikülü kullanılarak balıklarda 0,016-250 mg/L doz aralıklarında farklı şiddette gelişimsel, davranışsal ve morfolojik anormallikler saptanmıştır (Zhou *et al.*, 2015).

Orazizadeh ve arkadaşları (2015), sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, derialtı yağ dokularından elde edilen hücrelere 10, 50 ve 100 $\mu g/mL$ 'lik dozlarda 48 saatlik ZnO nanopartikülü uygulaması sonrasında hücrelerde yaşayabilirlik oranının azaldığını, apoptozis artışı olduğunu ve morfolojik değişikliklerin meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Diğer taraftan, Jugan ve arkadaşları (2012) nano boyuttaki TiO_2 'nin geniş yüzey alanı ve yüksek aktivite oranı nedeni ile normal boyuttaki TiO_2 'den daha çok toksik etki oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise, mikron ve nano boyutlardaki TiO_2 'ye maruz bırakılan sıçanlarda makrofajların mikron boyuttaki (3-6 μm) TiO_2 'yi temizleyebildikleri ancak nano boyuttaki (20 nm) TiO_2 'yi temizleyemedikleri tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, nano boyuttaki TiO_2 verilen sıçanlarda epitel hücreleri ve fibroblastların sitoplazmalarında serbest radikal oranının arttığı da görülmüştür (Geiser *et al.*, 2008).

TiO_2 nanopartiküllerinin etkisini ölçmek amacıyla 14 gün boyunca oral yoldan sürekli TiO_2 nanopartikülleri verilen farelerde hepatik enzimlerin miktarının büyük

ölçüde arttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada farelerin karaciğer hücrelerinde oksidatif strese bağlı DNA hasarları da gözlenmiştir (Shukla *et al.*, 2014). Erkek farelerle yapılan başka bir çalışmada, farelere 21 gün boyunca aynı dozda oral yolla TiO₂, ZnO ve Al₂O₃ metal oksitleri verildiğinde metal oksitlerin farelerin eritrosit, karaciğer ve beyin hücrelerinde önemli oranda oksidatif strese neden oldukları saptanmıştır. Ayrıca, antioksidan enzim aktivitelerinde de değişiklikler gözlenmiştir (Shrivastava *et al.*, 2014).

Oral yoldan TiO₂ ve gümüş nanopartiküllerine maruz bırakılan *D. melanogaster* ve CD 1 farelerinin üreme ve gelişim parametreleri incelendiğinde, 100 ya da 1000 mg/kg'lık tek doz TiO₂ verilmesinden sonra farelerde gelişimin yavaşladığı, fetal deformasyonların ve ölümlerin arttığı saptanmıştır. Benzer şekilde, *Drosophila* dişilerinde de yumurta verimini düşürerek döl sayısında önemli ölçüde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Philbrook *et al.*, 2001).

Farelere 5 gün boyunca oral yoldan 2 doz ZnO nanopartiküllerinin verildiği bir çalışmada bu partiküllerin toksik etkisi araştırıldığında, DNA hasarları ve kardiyak doku lezyonları saptanmıştır (Baky *et al.*, 2013). ZnO nanopartiküllerinin farelerde eşey hormonları üzerinde ve serumda etkili olduğu, hepatik lezyonlara sebep olan enzimlerin miktarını ise büyük ölçüde arttırdığı görülmüştür (Esmacillou *et al.*, 2013). Hong ve arkadaşları (2014), hamile sıçanlara 0, 100, 200 ve 400 mg/kg/gün dozlarda ZnO (20 nm) nanopartikülü uyguladıkları çalışmalarında ise, 15 gün boyunca oral uygulama ile kontrole göre uygulama gruplarında emrionik gelişimde bozulmalara, korpus luteum ve plasenta miktarında azalmaya ve fetüs ölümlerine rastladıklarını ifade etmişlerdir.

Kozmetik, ilaç sanayi, güneş ürünleri gibi çeşitli kullanım alanı olan metal oksitlerin (ZnO, TiO₂, Al₂O₃, CuO₂) insan plazmasında bulunan albumin, globulin ve fibrinojen gibi önemli proteinlerin modifikasyon geçirmelerine ve bunun sonunda fonksiyon bozukluklarına sebep oldukları da bilinmektedir. (Simón-Vázquez *et al.*, 2014).

Yine, 10, 100, 500 ve 1000 µg/mL dozlarında ZnO nanopartikülü ile 45, 90 ve 180 dakika boyunca muamele edilen insan spermelerinin konsantrasyon ve süre artışına bağlı olarak hücre yaşayabilirliğinin azaldığı belirlenmiştir (Barkhordari *et al.*, 2013). Benzer şekilde, insan karaciğer ve embriyonik böbrek hücrelerinde 5, 10, 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik dozlarda 4, 12 ve 24 saatlik ZnO nanopartikülü uygulaması sonucunda doza ve süreye bağlı olarak bu hücrelerde DNA kırıkları ile oksidatif stres göstergelerinde artış ve hücre yaşayabilirliğinde azalma olduğu bulunmuştur (Guan *et al.*, 2012).

Zhang ve arkadaşları (2011) tarafından insan embriyonik akciğer fibroblastları kullanılarak yapılan başka bir çalışmada, aynı boyutta (20 nm) dört farklı metal nanopartikülünün (ZnO, TiO₂, SiO₂ ve Al₂O₃) toksik etkileri karşılaştırılmıştır. Konsantrasyon aralığı 0,25- 1,50 mg/mL olarak belirlenen bu çalışmada, mitokondri fonksiyon testi (MTT) ile hücre yaşayabilirliği, apoptozis ve hücre morfolojisi incelenmiş ve en fazla toksik etkinin ZnO nanopartikülü tarafından oluşturulduğu, bu nanopartikülü sırasıyla TiO₂, SiO₂ ve Al₂O₃ nanopartiküllerinin izlediği de tespit edilmiştir.

Chen ve arkadaşları (2014), TiO₂ nanopartikülünün comet assay testi ile genotoksik etkilerini araştırdıkları *in vitro* bir çalışmada, insan mide epitel hücrelerinin 50 mg/mL ve 100 mg/mL'lik dozlarda 24 ve 48 saatlik TiO₂ (21 nm) nanopartikülüne maruziyeti sonrasında DNA hasarı gözlemişlerdir. Ayrıca, insan lenfositleri ve embriyonik böbrek hücrelerinin 1 mg/mL, 10 mg/mL ve 100 mg/mL'lik TiO₂ (2,3 nm) maruziyeti sonucunda da DNA kırıkları olduğunu göstermişlerdir. İnsan amniyon epitel hücrelerinin 6 saat süre ile 20 mg/mL dozunda TiO₂ (30 nm) partiküllerine maruz bırakıldığı bir başka çalışmada comet assay testi sonucunda önemli derecede DNA hasarları saptanmıştır (Saqib *et al.*, 2012). Benzer şekilde, Sycheva ve arkadaşları (2011) farelerde yaptıkları bir çalışmada, comet assay testi ile 40-1000 mg/kg'lık doz aralığında TiO₂ (33 nm) nanopartikülünün genotoksik etkilerini araştırarak fare karaciğer ve kemik dokularında genotoksik veriler elde etmişlerdir.

İnsan epidermal hücrelerinin 50 nm anatase TiO₂ (0,008- 80 mg/mL) nanopartiküllerine maruz bırakıldığı başka bir çalışmada önemli ölçüde DNA hasarları tespit edilmiştir (Shukla *et al.*, 2011). Benzer şekilde, Trouiller ve arkadaşları (2009), farelerde yaptıkları bir çalışmada TiO₂ (500 mg/kg) nanopartiküllerinin DNA'da tek ve çift zincir kırıklarına ve kromozomal hasarlara sebep olduğunu bildirmişlerdir.

ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin toksik etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (Karahalil, 2013). Bu nanopartiküllerin toksisite nedeni olarak, mitokondri hasarı, iyon salınımı, oksidatif stres, membran ya da sitoplazma proteinlerine bağlanma şeklinde görüşler olmakla birlikte yapılan genotoksik ve sitotoksik araştırmalar sonucunda bu nanopartiküllerin reaktif oksijen türevlerini arttırarak oksidatif strese, inflamasyona ve hücre ölümüne neden olduğu görüşü ağır basmaktadır (Nel *et al.*, 2006; Deng *et al.*, 2009; Lin *et al.*, 2009).

Oleuropein'in antioksidan ve kolesterol düşürücü etkisi üzerine yapılan *in vivo* bir çalışmada, Wistar fareleri üzerinde OLE ile zenginleştirilmiş zeytin yaprağı ekstraktlarının etkileri araştırılmıştır. OLE'nin kolesterol düşürücü etkisinin yanı sıra lipid peroksidasyon sürecini yavaşlattığı ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı da gösterilmiştir (Jemai *et al.*, 2008).

Anter ve arkadaşları (2011), *Drosophila melanogaster*'de yaptıkları bir çalışmada H₂O₂'den kaynaklanan oksidatif stres oluşumunun Oleuropein (555 µM) tarafından %73,7 oranında azaltıldığını saptamışlardır.

Serbest radikalleri temizleyen ve güçlü antioksidan olarak kabul edilen OLE'nin, LDL oksidasyonunu inhibe etmekte ve mikro-mol aralığında doza bağımlı aktivite gösterdiği bilinmektedir. Antioksidan aktivitesi, endojen E vitamini ile eksojen DMSO ve BHT gibi antioksidanlardan daha güçlü olan Oleuropein'in, hidrojen peroksit, hipokloröz asit ve süperoksit gibi çeşitli oksidanlar ve serbest radikalleri süpürüp temizlediği gösterilmiştir (Visioli ve Galli, 1998; Owen *et al.*, 2000; Tuck ve

Hayball, 2002). Yine, süperoksit radikallerin güçlü temizleyicileri olan sızma zeytinyağındaki polifenol bileşenlerin (Hidroksitirozol ve Oleuropein) LDL oksidasyonunu inhibe etmenin yanında, LDL kolesterolün içeriğini modifiye edebildikleri de bildirilmiştir (Fitó *et al.*, 2000; Granados *et al.*, 2010; Perona *et al.*, 2011).

Oleuropein, bağışıklık sistemini düzenleyici bir bileşen olarak da kullanılmaktadır. Kanda ve organlarda bakteri gelişimini azaltarak, toplam antioksidan kapasitesini korumak suretiyle bağışıklık sisteminin güçlenmesinde de etkin rol oynamaktadır (Giamarellos *et al.*, 2006).

Araştırma bulgularından elde edilen sonuçların literatür ile örtüştüğü görülmektedir. Artan ZnOTiO₂ konsantrasyonu ile gözlenen bu toksik etkinin, muhtemelen oluşan serbest radikallerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ayrıca, ZnOTiO₂+OLE uygulama gruplarında ömür uzunluğu, yavru döl sayısı ve yaşama yüzdesi bakımından gözlenen değerlerin kontrol grubuna yaklaşmasının muhtemel sebebinin ise, OLE'nin kuvvetli antioksidan özellik göstermesine bağlı olarak iyileştirici etkiye sahip olduğu kanaatindeyiz.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde en yeni teknolojilerden biri olan nanoteknolojinin çıkış noktasında yaşamı kolaylaştırma, bireysel mutluluğu arttırma düşüncesi ve sağlanacak yararlarla odaklanma vardır. Her teknolojiye olduğu gibi nanoteknolojide de madalyonun öbür yüzü olan riskler sonradan ele alınmaktadır. Biyoteknoloji kapsamında, dünya nüfusu için açlığa çözüm ile gıda geleceğinin güvencesi olarak kucak açılan, genetiği değiştirilmiş ürünlerin (GDO), insan-çevre sağlığındaki riskleri de yine çok geçmeden görülmüş olup bu sorun halen gündemdedir (Yılmaz Turgut, 2012). Aynı tablo bu kez nanoteknoloji bağlantılı riskleri gösteren nanokirillik nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Buradaki riskleri diğerlerinden daha önemli kılan gerçek ise nanoürünlerin insan yaşamının çok yaygın alanlarında kullanıma sunulması ve yepyeni, karmaşık riskler içermesidir. Bu nedenle nanopartiküllerin muhtemel olumsuz etkilerinin daha fazla araştırılması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında, ZnOTiO₂ nanokompozitinin *D. melanogaster*'in çeşitli gelişim parametreleri üzerine olan toksik etkileri ve bu etkilerin OLE ile giderilmesi üzerine araştırmalar yapılmıştır. Çalışma, etkileri araştırılmış olan maddelerin *D. melanogaster* üzerinde ilk kez çalışılıyor olması ve bu açıdan konuyla ilgili yapılması düşünülen başka çalışmalara öncülük edecek olması sebebiyle de önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

Acosta, M., Goni, B., “A technique for collecting and examining a large number of eggs”, *Drosophila Information Service*, 83: 174- 175 (2000).

Allemand, R., Cohet, Y., and David, J., “Increase in the longevity of adult *D. melanogaster* kept in permanent darkness”, *Experimental Gerontology*, 8: 279- 283 (1973).

Al-Saffar, Z. Y., Grainger, J. N. R., and Aldrich, J., “The development rates of the egg and pupal stages of *Drosophila melanogaster* (Meigen) under changing conditions of temperature and humidity”, *Journal of Thermal Biology*, 20 (5): 399- 404 (1995).

Al-Saffar, Z. Y., Grainger, J. N. R., and Aldrich, J., “Temperature and humidity affecting development, survival and weight loss of the pupal stage of *Drosophila melanogaster*, and the influence of alternating temperature on the larvae”. *Journal of Thermal Biology*, 21 (5): 389- 396 (1996).

Altun, D., “*Usnea longissima* Ach. likeninin *Drosophila melanogaster*’ in çeşitli gelişim parametreleri ve ömür uzunluğu üzerine etkileri”, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (2007).

Altun, D., Uysal, H., Aşkın, H., and Ayar, A., “Determination of the effects of genistein on the longevity of *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera;Drosophilidae)”, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86 (1): 120-123 (2011).

Altun Çolak, D., Ayar, A.,and Uysal, H., “ The effects of *Punica granatum* L. ethanol extract including the antioxidant flavonoids on *Drosophila melanogaster* lifespan”, *Journal of Applied Biological Sciences*, 8 (3): 6- 9 (2014).

Ames, B. N., Shigenaga, M. K., and Hagen, T. M., “Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90 (17): 7915- 7922 (1993).

Andreadou, I., Sigala, F., Iliodromitis, E. K., Papaefthimiou, M., Sigalas, C., Aligiannis, N., Savvari, P., Gorgoulis, V., Papalabros, E., and Kremastinos, D. T., “Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress”, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 42 (3): 549- 558 (2007).

Anter, J., Fernández-Bedmar, Z., Villatoro-Pulido, M., Demyda-Peyras, S., Moreno-Millán, M., Alonso-Moraga, Á., Muñoz-Serrano, A., de Castro, M. D. L., “A pilot study on the DNA-protective, cytotoxic, and apoptosis-inducing properties of olive-leaf extracts”, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 723 (2): 165- 170 (2011).

Armutcu, F., “Zeytinyağı ve sağlık: biyoaktif bileşenleri, antioksidan özellikleri ve klinik etkileri”, *Konuralp Tıp Dergisi*, 1: 60- 68 (2013).

Ashburner, M., Wright, T. R. F., “The Genetics and Biology of *Drosophila*”, *Academic Press*, London and New York, 604, (1978).

Ashburner, M., “*Drosophila* a Laboratory Handbook”, *Cold Spring Harbor Press*, New York, 689, (1989).

Atlı, E., “Bazı çevresel östrojenlerin *Drosophila melanogaster*’de gelişim biyolojisi ve ömür uzunluğuna etkilerinin incelenmesi”, Yayınlanmış Doktora Tezi, *Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (2010).

Atlı Şekeroğlu, Z., “Nanoteknolojiden nanogenotoksikolojiye: kobalt- krom nanopartiküllerinin genotoksik etkisi”, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70 (1): 33-42 (2013).

Ayar, A., Uysal, H. and Altun, D., “The effects of cold shock on the longevity in Oregon R wild *Vestigial* mutant of *Drosophila melanogaster* (Diptera:Drosophilidae)”. *Ekoloji*, 19 (74): 38- 44 (2009).

Ayar, A., Uysal, H., Altun, D. and Aşkın, H., “The effects of heat shock on the longevity in some strains of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)”. *Journal of Applied Biological Sciences*, 6 (1): 51- 55 (2012).

Aydoğdu, E., “Nanoteknoloji, nanobilim ve analitik kimyadaki kullanım alanları”, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, *Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kütahya, 4- 5 (2011).

Baky, N. A., Faddah, L. M., Al-Rasheed, N. M., Fatani, A. J., “Induction of inflammation, DNA damage and apoptosis in rat heart after oral exposure to zinc oxide nanoparticles and the cardioprotective role of α -lipoic acid and vitamin E”, *Drug Research*, 63 (5): 228- 236 (2013).

Bağcı, G., “*Drosophila*’da ömür uzunluğu-sıcaklık etkileşiminin araştırılması”, Yayınlanmış Doktora Tezi, *Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 166, (1983).

Bağcı, G., Bağcı, H., Bozcuk, A. N., “Minimum sıcaklık dalgalanmalarının ömür uzunluğuna etkisi”, *Doğa- Tr. Journal of Biology*, 14: 1- 5 (1990).

Bağcı, G. ve Bozcuk, A.N., “Ergin *Drosophila*’nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi”, *Doğa-Turkish Journal of Biology*, 15: 124- 131 (1991).

Barkhordari, A., Hekmatimoghaddam, S., Jebali, A., Khalili, M. A., Talebi, A., and Noorani, M., “Effect of zinc oxide nanoparticles on viability of human spermatozoa”, *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 11 (9): 767- 771 (2013).

Barrou, Z., Charru, P., and Lidy, C., “Dehydroepiandrosterone (DHEA) and aging”, *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 24 (3): 233- 241 (1997).

Bayındır, M., “Nanoteknoloji hayatımızda”, *Bilim ve Ütopya*, 12- 18, (2010).

Benli, D., “Bazı gıda koruyucularının *D. melanogaster*’in yaşama yüzdesi ve ömür uzunluğu üzerine etkisinin araştırılması”, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, *Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sivas, (2013).

Berk, S., and Akkurt, İ., “Nanopartikül: geleceğin korkulu rüyası”, *Tuberk Toraks*, 60 (2): 180- 184 (2012).

Bozcuk, A. N., "Molecular turnover and ageing in *Drosophila subobscura*", PhD Thesis, *University of Sussex*, United Kingdom, (1970).

Bozcuk, A. N., "DNA synthesis in the absence of somatic cell division associated with ageing in *Drosophila subobscura*", *Experimental Gerontology*, 7 (3): 147- 150 (1972).

Bozcuk, A. N., "*Drosophila melanogaster* Meig. (Diptera: Drosophilidae) yaşlanması ve Orgel hipotezi üzerinde araştırmalar", Doçentlik Tezi, *Hacettepe Üniversitesi. Fen Fakültesi*, Ankara, (1976).

Bozcuk, A. N., "Genetics of longevity in *Drosophila* V. The specific and hybridised effects of Rolled, Sepia, Ebony and Eyeless autosomal mutants", *Experimental Gerontology*, 16: 415- 427 (1981).

Charlesworth, B., "Evolution in Age-Structured Populations", (Vol. 2). *Cambridge University Press*, Cambridge, (1994).

Chen, T., Yan, J., and Li, Y., "Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles", *Journal of Food and Drug Analysis*, 22 (1): 95- 104 (2014).

Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G., Wang, T., Ye, C., Zhao, F., Chai, Z., Zhu, C., Fang, X., Ma, B., Wan, L., "Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vitro*", *Toxicology Letters*, 163: 109- 120 (2006).

Chippindale, A. K., Leroi, A. M., Kim, S. B., and Rose, M. R., "Phenotypic plasticity and selection in *Drosophila* life-history evolution. I. Nutrition and the cost of reproduction", *Journal of Evolutionary Biology*, 6 (2): 171- 193 (1993).

Curtis, B.A., "Ca fluxes in single twitch muscle fibers", *Journal of General Physiology*, 50: 255 (1966).

Çakır, Ş. ve Sarıkaya, R., "Bazı organik fosforlu insektisitlerin *Drosophila melanogaster*'in yaşama yüzdesi üzerine etkisi", *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24 (3): 71- 80 (2004).

David, J., Van Herrewege, J., and Fouillet, P., "Quantitative under feeding of *Drosophila* effects on adult longevity and fecundity", *Experimental Gerontology*, 6: 249- 257 (1971).

David, J., Cohet, Y., and Fouillet, P., "The variability between individuals as a measure of senescence: A study of the number of eggs laid and the percentage of hatched eggs in the case of *Drosophila melanogaster*", *Experimental Gerontology*, 10 (1): 17- 25 (1975).

Demir, E., Kaya, N., Kaya, B., "Genotoxic effects of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles on root meristem cells of *Allium cepa* by comet assay", *Turkish Journal of Biology*, 38 (1): 31- 39 (2014).

Demirsoy, A., ve Bozcuk, A. N., "Ölümün Evrimsel Öyküsü: Geriatri", Ed. Gökçe-Kutsal, Y., Çakmakçı, M., Ünal, S., *Hekimler Yayın Birliği, MedicoGraphics* Ankara, 1- 6 (1997).

Deng, X., Luan, Q., Chen, W., Wang, Y., Wu, M., Zhang, H., and Jiao, Z., "Nanosized zinc oxide particles induce neural stem cell apoptosis", *Nanotechnology*, 20 (11): 115101 (2009).

Doane, W. W., “Quantitation of amylases in *Drosophila* separated by acrylamide gel electrophoresis”, *Journal of Experimental Zoology*, 164 (3): 363- 377 (1967).

Dobrovolskaia, M. A. and Mc Neil, S. E., “Immunological Properties of Engineered Nanomaterials”, *Nature Nanotechnology*, 2: 469- 478 (2007).

Donaldson, K., Stone, V., Tran, C., Kreyling, W., Borm, P. J. A., “Nanotoxicology”, *Occupational and Environmental Medicine*, 61: 727- 728 (2004).

Economos, A. C., and Lints, F. A., “Growth rate and life span in *Drosophila*. I. Methods and mechanisms of variation of growth rate”, *Mechanisms of Ageing and Development*, 27 (1): 1- 13 (1984).

Erkoç, Ş., “Nanobilim ve Nanoteknoloji”, 2. Baskı, *ODTÜ Yayınclık*, Ankara, (2007).

Esmaeillou, M., Moharamnejad, M., Hsankhani, R., Tehrani, A. A., Maadi, H. “Toxicity of ZnO nanoparticles in healthy adult mice”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35 (1): 67- 71(2013).

Federici, G., Shaw, B. J., and Handy, R. D., “Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects”, *Aquatic Toxicology*, 84: 415- 430 (2007).

Finch, C.E., “Longevity, Senescence and the Genome”, *University of Chicago Press*, Chicago, USA, (1990).

Fitó, M., Covas, M. I., Lamuela-Raventós, R. M., Vila, J., Torrents, J., de la Torre, C., and Marrugat, J., “Protective effect of olive oil and its phenolic compounds against low density lipoprotein oxidation”, *Lipids*, 35 (6): 633- 638 (2000).

Foley, P. A. and Luckinbill, L. S., “The effects of larval behavior on adult lifehistory features in *Drosophila melanogaster*”, *Evolution*, 55 (12): 2493- 2502 (2001).

Geiser, M., Casaulta, M., Kupferschmid, B., Schulz, H., Semmler-Behnke, M., and Kreyling, W., “The role of macrophages in the clearance of inhaled ultrafine titanium dioxide particles”, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 38 (3): 371- 376 (2008).

Giamarellos-Bourboulis, E. J., Geladopoulos, T., Chrisofos, M., Koutoukas, P., Vassiliadis, J., Alexandrou, I., Tsaganos, T., Sabracos, L., Karagianni, V., Pelekanou, E., Tzepi, I., Kranidioti, H., Koussoulas, V., and Giamarellou, H., “Oleuropein: a novel immunomodulator conferring prolonged survival in experimental sepsis by *Pseudomonas aeruginosa*”. *Shock*, 26 (4): 410- 416 (2006).

Gonzalez, B. M., “Experimental studies on the duration of life. VIII. The influence upon duration of life of certain mutant genes of *Drosophila melanogaster*”, *The American Naturalist*, 57 (651): 289- 325 (1923).

Good, T. P., and Tatar, M., “Age-specific mortality and reproduction respond to adult dietary restriction in *Drosophila melanogaster*”, *Journal of Insect Physiology*, 47 (12): 1467- 1473 (2001).

Gowen, J.W., and Johanson, L.E., "On the mechanism of heterosis. I. metabolic capacity of different races of *Drosophila melanogaster* for egg production", *The American Naturalist*, 80: 149- 179 (1946).

Graf, U., van Schaik, N., "Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*", *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 271 (1): 59- 67, (1992).

Granados-Principal, S., Quiles, J. L., Ramirez-Tortosa, C. L., Sanchez-Rovira, P., and Ramirez-Tortosa, M. C., "Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials", *Nutrition Reviews*, 68 (4): 191- 206 (2010).

Graves, J.L., Mueller, L.D., "Population density effects on longevity", *Genetica*, 91: 99- 109 (1993).

Guan, R., Kang, T., Lu, F., Zhang, Z., Shen, H., and Liu, M., "Cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity in human hepatocyte and embryonic kidney cells exposed to ZnO nanoparticles", *Nanoscale Research Letters*, 7 (1): 1- 7 (2012).

Güler, P., "*Drosophila melanogaster*'de larval ve ergin dönem besin kısıtlamasının ömür uzunluğu üzerine etkisinin araştırılması", Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (2014).

Halliwell, B., "Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?" *Lancet*, 344 (8924):721- 724 (1994).

Handy, R. D., Owen, R., Valsami-Jones, E., "The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs", *Ecotoxicology*, 17: 315- 325 (2008).

Harman, D., "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry", *Journal of Gerontology*, 2, 298- 300 (1956).

Hemann, M. T., Strong, M. A., Hao, L. Y., and Greider, C. W., "The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability", *Cell*, 107 (1): 67- 77 (2001).

Hercus, M. J., Hoffman, A. A., "Maternal and grandmaternal age influence offspring fitness in *Drosophila*", *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 267 (1457): 2105- 2110 (2000).

Hodge, S., "The effect of pH and water content of natural resources on the development of *Drosophila melanogaster* larvae", *Drosophila Information Service*, 84: 38- 43 (2001).

Hong, J. S., Park, M. K., Kim, M. S., Lim, J. H., Park, G. J., Maeng, E. H., Shin, J. H., Kim, M. K., Jeong, J., Park, J. A., Kim, J. C., and Shin H. C., "Prenatal development toxicity study of zinc oxide nanoparticles in rats", *International Journal of Nanomedicine*, 9 (2): 159 (2014).

<http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/MaleFemale/MaleFemalePict/Wildtype.jpg>, (2016).

http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/LifeCycle/LifeCyclePict/life_cycle.jpg, (2016).

<http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/MaleFemale/MaleFemalePict/sexcombs.jpg>, (2016).

https://inovita.org/eski/docs/1337684995Artemis%20Karaali%20Nano%20G_da.pdf. (2004).

Huey, R. B., Wakefield, T., and Crill, W. D., “Within-and between-generation effects of temperature on early fecundity of *Drosophila*”, ***Heredity***, 74: 216- 223 (1995).

Hughes, K. A., and Charlesworth, B., “A genetic analysis of senescence in *Drosophila*”, ***Nature***, 367 (6458). 64-66 (1994).

Iliadi, K.G., Kamyshev, N. G., Popov, A.V., Iliadi, N. N., Rashkovetskaia, E. L., Nevo, E., and Korol, A. B., "Peculiarities of the courtship song in the *Drosophila melanogaster* populations adapted to gradient of microecological conditions", ***Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology***, 45 (5): 579- 588 (2009).

Jazwinski, S. M., “Longevity, genes, and aging”, ***Science***, 273 (5271): 54- 59 (1996).

Jemai, H., Bouaziz, M., Fki, I., El Feki, A., and Sayadi, S., “Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from *Chemlali* olive leaves”, ***Chemico-Biological Interactions***, 176 (2): 88- 98 (2008).

Jemai, H., El Feki, A., Sayadi, S., “Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats”, ***Journal Agricultural Food Chemistry***, 57 (19): 8798- 8804 (2009).

Jugan, M. L., Barillet, S., Simon-Deckers, A., Herlin-Boime, N., Sauvaigo, S., Douki, T., and Carriere, M., “Titanium dioxide nanoparticles exhibit genotoxicity and impair DNA repair activity in A549 cells”, ***Nanotoxicology***, 6 (5): 501- 513 (2012).

Karahalil, B., “Gıda endüstrisinde nanoteknolojinin kullanılması ve güvenlik sorunu”, ***GIDA/The Journal of FOOD***, 38 (1): 39- 46 (2013).

Kayır, Z., Baççıl, E., “Nanoteknoloji nedir?”, ***15. Uluslararası Metalurji ve Malzeme Kongresi***, İstanbul, (2010).

Keller, E. C., and Mitchell, D. F., “Interchromosomal genetic interactions in *Drosophila* II. an analysis of viability characters”, ***Genetics***, 49: 293- 307 (1964).

Keller, A., “*Drosophila melanogaster*' s history as a human commensal”, ***Current Biology***, 17 (3): 77- 81 (2007).

Kern, S., Ackermann, M., Searns, S. C., Kawecki, T. J., “Decline in offspring viability as a manifestation of aging in *Drosophila melanogaster*”, ***Evolution***, 55 (9): 1822- 1831 (2001).

Kirkwood, T. B., “Evolution of ageing”, ***Mechanisms of Ageing and Development***, 123 (7): 737- 745 (2002).

- Klarsfeld, A., and Rouyer, F., "Effects of circadian mutations and LD periodicity on the lifespan in *Drosophila melanogaster*", **Journal of Biological Rhythms**, 13: 471- 478 (1998).
- Konuk, M., Oktay, S., "Biyolojik sistemlerde uygulamalara yeni bir yaklaşım: nanoteknoloji ve nanomateryaller", **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, 23- 34 (2007).
- Köçkar, F., Türkoğlu Aydoğan, S., Aydın, M., "Oleuropein'in Prostat (PC-3), Meme (MCF-7) ve hepatoma (HEP3B) kanser hücrelerinde anti-tümör etkisinin belirlenmesi", **Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi (BİBAD)**, 3 (2): 185-190 (2009).
- Kumar, A., Pandey, A. K., Singh, S. S., Shanker, R., Dhawan, A., "Cellular uptake and mutagenic potential of metal oxide nanoparticles in bacterial cells", **Chemosphere**, 83: 1124-1132 (2011).
- Lanciani, C. A., Anderson, J. F., and Giesel, J. T., "Effect of photoperiod on metabolic rate in a subtropical population of *Drosophila melanogaster*", **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, 100 (2): 347- 348 (1991).
- Lanone, S. and Boczkowski, J., "Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms", **Current Molecular Medicine**, 6: 651- 663 (2006).
- Lansing, A. I., "Crowdry's Problems of Ageing", **Williams and Wilking Company Ltd.**, Ed. Baltimore, M., (1952).
- Lee, O. H., Lee, B. Y., Lee, J., Lee, H. B., Son, J. Y., Park, C. S., Shetty, K., Kim, Y. C., "Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities", **Bioresource Technology**, 100 (23): 6107- 6113(2009).
- Lin, W., Xu, Y., Huang, C. C., Ma, Y., Shannon, K. B., Chen, D. R., and Huang, Y. W., "Toxicity of nano- and micro-sized ZnO particles in human lung epithelial cells", **Journal of Nanoparticle Research**, 11 (1): 25- 39 (2009).
- Lin, Y. J., Seroude, L., Benzer, S., "Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *methuselah*," **Science**, 282: 943- 946 (1998).
- Lindop, P. J., and Rotblat, J. I., "The age factor in radiation sensitivity in mice", **The British Journal of Radiology**, 35 (409): 23- 31 (1962).
- Lints, F. A., "Size in relation to development time and egg density in *Drosophila melanogaster*", **Nature**, 197: 1128- 1130 (1963).
- Lints, F. A., "Life span in *Drosophila*", **Gerontologia**, 17: 33- 51 (1971).
- Lints, F. A., and Lints, L.V., "Influence of preimaginal environment on fecundity and ageing in *Drosophila melanogaster* hybrids. III. developmental speed and life span", **Experimental Gerontologia**, 6: 427- 445 (1971).
- Liu, S., Yang, Z., "Evaluation of the effect of acute and subacute exposure to TiO₂ nanoparticles on oxidative stress", **Methods Molecular Biology**, 1028: 135- 145 (2013).
- Luckinbill, L. S., Arking, R., Clare, M. J., "Selection for delayed senescence in *Drosophila melanogaster*", **Evolution**, 38 (5): 996- 1003 (1984).

- Menendez, J. A., Vazquez-Martin, A., Garcia-Villalba, R., Carrasco-Pancorbo, A., Oliveras-Ferraro, C., Fernandez-Gutierrez, A., Segura-Carretero, A., “tabAnti-HER2 (erbB-2) oncogene effects of phenolic compounds directly isolated from commercial extra-virgin Olive Oil (EVOO)”, *BMC Cancer*, 8 (1): 377 (2008).
- Mc Intyre, G. S., and Gooding, R. H., “Effects of maternal age on larval competitiveness in house flies”, *Heredity*, 85 (5): 480- 489 (2000).
- Mc Millan, I., Fitz-Earl, M. and Rabson, D.S., “Quantitative genetics of fertility I. life time egg production of *Drosophila melanogaster*”, *Theoretical Genetics*, 65: 349- 353 (1970).
- Medawar, P. B., “An unsolved problem of biology”, Ed. Lewis, H. K., *College*, London, pp. 1- 55 (1952).
- Mercan, U., “Importance of free radicals in toxicology”, *Yüzüncü Yıl University Veterinary Faculty Journal*, 15: 91- 96 (2004).
- Miller, R. S., Thomas, J. L., “The effects of larval crowding and body size on the longevity of *Drosophila melanogaster*”, *Ecology*, 39: 118- 125 (1958).
- Min, K. J., and Tatar, M., “*Drosophila* diet restriction in practice: do flies consume fewer nutrients?”, *Mechanisms of Ageing and Development*, 127: 93- 96 (2006).
- Miquel, J., Bensch, K. G., Philpott, D. E., Atlan, H., “Natural aging and radiation-induced life shortening in *Drosophila melanogaster*”, *Mechanisms of Ageing and Development*, 1: 71- 97 (1972).
- Miyo, T., Charlesworth, B., “Age-specific mortality rates of reproducing and non-reproducing males of *Drosophila melanogaster*”, *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 271 (1556): 2517- 2522 (2004).
- Mobbs, C. V., “Neuroendocrinology of Ageing”, Eds. Schneider, E. L., Rowe, J.W., Handbook of the Biology of Aging, *Academic Press*, San Diego, USA, 234-282 (1996).
- Mohammadipour, A., Fazel, A., Haghiri, H., Motejaded, F., Rafatpanah, H., Zabihi, H., Hosseini, M., Bideskan, A. E., “Maternal exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy; impaired memory and decreased hippocampal cell proliferation in rat offspring”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37 (2): 617- 625 (2014).
- Moore, M. N., “Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment”, *Environmental International*, 32: 967- 976 (2006).
- Mukherjee, A., Sun, Y., Morelius, E., Tamez, C., Bandyopadhyay, S., Niu, G., White, J. C., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L., “Differential toxicity of bare and hybrid ZnO nanoparticles in green pea (*Pisum sativum* L.): a life cycle study”, *Frontiers in Plant Science*, 6: 1242 (2016).
- Nel, A., Xia, T., Mädler, L., and Li, N., “Toxic potential of materials at the nanolevel”, *Science*, 311 (5761): 622- 627 (2006).

Onat, A., Ceyhan, K., Başar, Ö., Erer, B., Toprak, S., and Sansoy, V., “Metabolic syndrome: major impact on coronary risk in a population with low cholesterol levels- a prospective and cross-sectional evaluation”, *Atherosclerosis*, 165 (2): 285- 292 (2002).

Orazizadeh, M., Khodadadi, A., Bayati, V., Saremy, S., Farasat, M., and Khorsandi, L., “*In vitro* toxic effects of zinc oxide nanoparticles on rat adipose tissue-derived mesenchymal stem cells”, *Cell Journal (Yakhteh)*, 17 (3): 412 (2015).

Orr, W. C. and Sohal, R. S., “Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*”, *Science*, 263: 1128- 1131 (1994).

Owen, R. W., Giacosa, A., Hull, W. E., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalder, B., and Bartsch, H., “Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants”, *The Lancet Oncology*, 1 (2): 107- 112 (2000).

Özata, L., “Bazı tekstil boyaalarının *Drosophila melanogaster* üzerinde toksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması”, Yayınlanmış Doktora Tezi, *İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Malatya, (2006).

Özkan, Y., “*Artemia salina*’da TiO₂, AgTiO₂ ve ZnOTiO₂ nanopartiküllerinin sulu süspansiyonlarının toksisitesi, birikimi ve kümeleşmesinin belirlenmesi”, Yayınlanmış Doktora Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Trabzon, 3-4, (2014).

Partridge, L., and Fowler, K., “Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*”, *Evolution*, 76- 91 (1992).

Partridge, L. and Barton, N.H., “Optimally, mutation and the evolution of ageing”, *Nature*, 362: 305- 311 (1993).

Partridge, L., “Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms”, *Experimental Gerontology*, 36 (4): 641- 650 (2001).

Pearl, R., Parker, S. L., and Gonzalez, B. M., “Experimental studies on the duration of life. VII. The Mendelian inheritance of duration of life in crosses of wild type and quintuple stocks of *Drosophila melanogaster*”, *American Naturalist*, 153- 192 (1923).

Pearl, R., Minner, J. R., and Parker, S. L., “Experimental studies on the duration of life. XI. density of population and the life duration in *Drosophila*”, *American Naturalist*, 61: 289- 318 (1927).

Perona, J. S., Fitó, M., Covas, M. I., Garcia, M., and Ruiz-Gutierrez, V., “Olive oil phenols modulate the triacylglycerol molecular species of human very low-density lipoprotein. A randomized, crossover, controlled trial”, *Metabolism*, 60 (6): 893- 899 (2011).

Philbrook, N. A., Winn, L. M., Afrooz, A. N., Saleh, N. B., and Walker, V. K., “The effect of TiO₂ and Ag nanoparticles on reproduction and development of *Drosophila melanogaster* and CD-1 mice”, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 257 (3): 429- 436 (2011).

- Pletcher, S. D., Houle, D., and Curtsinger, J. W., "Age-specific properties of spontaneous mutations affecting mortality in *Drosophila melanogaster*", **Genetics**, 148 (1): 287- 303 (1998).
- Promislow, D. E., Tatar, M., Khazaeli, A. A., and Curtsinger, J. W., "Age-specific patterns of genetic variance in *Drosophila melanogaster*. I. mortality." **Genetics**, 143 (2): 839- 848 (1996).
- Rahman, I., "Regulation of nuclear factor- κ b, activator protein-1, and glutathione levels by tumor necrosis factor- α and dexamethasone in alveolar epithelial cells", **Biochemical Pharmacology**, 60: 1041- 1049 (2000).
- Rahman, I., Biswas, S. K., Jimenez, L. A., Torres, M., and Forman, H. J., "Glutathione, stress responses, and redox signaling in lung inflammation", **Antioxidants & Redox Signaling**, 7: 42- 59 (2005).
- Ramsden, C. S., Henry, T. B., & Handy, R. D., "Sub-lethal effects of titanium dioxide nanoparticles on the physiology and reproduction of zebrafish", **Aquatic Toxicology**, 126: 404- 413 (2013).
- Reiter, A., Schrappe, M., Ludwig, W. D., Hiddemann, W., Sauter, S., Henze, G., Zimmermann, M., Lampert, F., Havers, W., and Niethammer, D., "Chemotherapy in 998 unselected childhood acute lymphoblastic leukemia patients. results and conclusions of the multicenter trial ALL-BFM 86". **Blood**, 84 (9): 3122- 3133 (1994).
- Rose, M. R., "Life history evolution with antagonistic pleiotropy and overlapping generations", **Theoretical Population Biology**, 28: 342- 358 (1985).
- Rose, M. R., and Charlesworth, B., "A test of evolutionary theories of senescence", **Nature**, 287: 141- 142 (1980).
- Rose, M. R., and Charlesworth, B., "Genetics of life history in *Drosophila melanogaster*. II. exploratory selection experiments", **Genetics**, 97 (1): 187- 196 (1981).
- Rose, M. R., "Laboratory evolution of postponed senescence in *Drosophila melanogaster*", **Evolution**, 38 (5): 1004- 1010 (1984).
- Rose, M. R., "Genetics of ageing in *Drosophila*", **Experimental Gerontology**, 34: 577-585, (1999).
- Qiu, J., and Hardin, P. E., "*per* mRNA cycling is locked to lights-off under photoperiodic conditions that support circadian feedback loop function", **Molecular and Cellular Biology**, 16: 4182- 4188 (1996).
- Saquib, Q., Al-Khedhairi, A. A., Siddiqui, M. A., Abou-Tarboush, F. M., Azam, A., and Musarrat, J., "Titanium dioxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in human amnion epithelial (WISH) cells", **Toxicology in vitro**, 26 (2): 351- 361 (2012).

Samis, H. V., Erk, F. C. and Baird, M. B., "Senescence in *Drosophila*- I. sex differences in nucleic acid, protein and glycogen levels as a function of age", *Experimental Gerontology*, 6: 9- 18 (1971).

Setsini, E. A., Carlson, J. C., Allsopp, R., "The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*", *Experimental Gerontology*, 26: 385- 395 (1991).

Sheeba, V., Sharma, V.K., Shubha, K., Chandrashekar, M. K., and Joshi, A., "The effect of different light regimes on adult life span in *Drosophila melanogaster* is partly mediated through reproductive output", *Journal of Biological Rhythms*, 15: 380- 392 (2000).

Shrivastava, R., Raza, S., Yadav, A., Kushwaha, P., and Flora, S. J. "Effects of sub-acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain", *Drug Chemical Toxicology*, 37 (3): 336- 347 (2014).

Shukla, R. K., Sharma, V., Pandey, A. K., "ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells", *Toxicology In Vitro*, 25: 231- 241 (2011).

Shukla, R. K., Kumar, A., Vallabani, N. V., Pandey, A. K., Dhawan, A., "Titanium dioxide nanoparticle-induced oxidative stress triggers DNA damage and hepatic injury in mice", *Nanomedicine*, 9 (9): 1423- 1434 (2014).

Simón-Vázquez, R., Lozano-Fernández, T., Peleteiro-Olmedo, M., González-Fernández Á., "Conformational changes in human plasma proteins induced by metal oxide nanoparticles", *Colloids Surf B Biointerfaces*, 113: 198- 206 (2014).

Simmons, F. H., and Bradley, T. J., "An analysis of resource allocation in response to dietary yeast in *Drosophila melanogaster*", *Journal of Insect Physiology*, 43 (8): 779- 788 (1997).

Slijepcevic, P., "DNA damage response, telomere maintenance and ageing in light of the integrative model", *Mechanisms of Ageing and Development*, 129 (1-2): 11-16 (2008).

Smith, J. M., "The effects of temperature and of egg-laying on the longevity of *Drosophila subobscura*", *Journal of Experimental Biology*, 35 (4): 832- 842 (1958).

Smith, J. M., "Sympatric speciation", *American Naturalist*, 637- 650 (1966).

Sohal, R. S., and Weindruch, R., "Oxidative stress, caloric restriction, and aging", *Science*, 273 (5271): 59- 63 (1996).

Sokal, R. R., "Senescence and genetic load: evidence from *Tribolium*", *Science*, 167 (3926): 1733- 1734 (1970).

Süpürge, G., Kanat, Z. E., Çay, A., Kırıcı, T., Gülümser, T., Tarakçıoğlu, A. I., "Nano Lifter" Bölüm 1, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 17 (1): 15- 17 (2007).

Sycheva, L. P., Zhurkov, V. S., Iurchenko, V. V., Dauge-Dauge, N. O., Kovalenko, M. A., Krivtsova, E. K., and Durnev, A. D., "Investigation of genotoxic and cytotoxic effects of micro-and nanosized titanium dioxide in six organs of mice *in vivo*", *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 726 (1): 8- 14 (2011).

Şahin, N., “Tekstil endüstrisinde kullanılan bazı tekstil boyaalarının *Drosophila melanogaster*’de toksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması”, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, *Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sivas, (2014).

Tatar, M., Promislow, D. E., Khazaeli, A. A., and Curtsinger, J. W., “Age-specific patterns of genetic variance in *Drosophila melanogaster*. II. fecundity and its genetic covariance with age-specific mortality”, *Genetics*, 143 (2): 849- 858 (1996).

Tatar, M. and Promislow, D. E. L., “Fitness costs of female reproduction”, *Evolution*, 51 (4). 1323- 1326 (1997).

Tower, J., “Aging mechanisms in fruit flies”, *BioEssays*, 18 (10). 799- 807 (1996).

Trouiller, B., Reliene, R., Westbrook, A., Solaimani, P., and Schiestl, R. H. “Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability *in vivo* in mice”, *Cancer Research*, 6 (22): 8784- 8789 (2009).

Tuck, K. L. and Hayball, P. J., “Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects”, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13 (11): 636- 644 (2002).

Tükenmez, Ü. G., “Meyve sineğinde (*Drosophila melanogaster*) çeşitli anestezi ajanlarının ömür uzunluğu, fertilité ve oksidatif stres üzerine etkileri”, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (2011).

Tyler, M. S., “Developmental Biology: A Guide for experimental study”, 3rd Edition, *Sinauer Associates Inc.*, Massachusetts, (2010).

Unfried, K., Albrecht, C., Klotz, L. O., Von Mikecz, A., Grether-Beck, S., and Schins, R. P. F., “Cellular response to nanoparticles: target structures and mechanisms”, *Nanotoxicology*, 1: 52- 71 (2007).

Uysal, H., Şişman, T., ve Aşkın, H., “*Drosophila* Biyolojisi ve Çaprazlama Yöntemleri”, *Atatürk Üniversitesi, Yayınları*, Erzurum, (2006).

Uysal, H., Altun, D., and Aslan, A., “*Drosophila melanogaster*’de *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. likeninin ömür uzunluğu üzerine etkisi”, *Tübav Bilim Dergisi*, 2 (3): 271- 276, (2009).

Ünlü, H., “*Drosophila melanogaster* ömür uzunluğunda yellow alellerinin heterozis etkisinin farklı backgroundlarda incelenmesi”, *Doğa-Tr. J. of Biology*, 15: 98- 109 (1991).

Ünver, S., “Bazı neolitikoid insektisitlerin *Drosophila melanogaster*’de ömür uzunluğu ile asetilkolinesteraz enzimi üzerine etkileri ve olası toksik etkilerin çeşitli bitki ekstraktları kullanılarak iyileştirilmesi üzerine araştırmalar”, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (2015).

Visioli, F. and Galli, C., “Olive oil phenols and their potential effects on human health”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (10): 4292- 4296 (1998).

Walford, R. L., “Immunologic theory of aging: current status”, *In Federation Proceedings*, 33 (9): 2020 (1974).

- Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W., Hou, C., Gao, X., Wang, S., and Wang, S., "Zinc oxide nanoparticles affect biomass accumulation and photosynthesis in *Arabidopsis*", *Frontiers in Plant Science*, 6: 1243 (2016).
- Wiesner, M. R, Lowry, G. V, Alvarez, P., Dionysiou, D., Biswas, P., "Assessing the risks of manufactured nanomaterials", *Environmental Science & Technology*, 40: 4336- 4345 (2006).
- Williams, G.C., "Pleiotropy, natural selection and the evolution of senescence", *Evolution*, 11: 398- 411 (1957).
- Xue, A., Hwang, D., "Nanotechnology funding: corporations grab the reins", *Lux Research*, (2011).
- Yalçın, K. A., "Nanoteknoloji ve gıda sanayinde uygulama alanları", Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, *Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 1- 3, (2010).
- Yeşilada, E., "*Drosophila melanogaster*'in Malatya ve Oregon Soyu, *Drosophila virilis* ve *Drosophila erecta*'nın gelişim dönemlerinin ve yumurta verimlerinin karşılaştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Malatya, 60, (1988).
- Yeşilada, E., ve Bozcuk, A. N., "*Drosophila melanogaster* (Oregon ve Malatya soyları) ile *D. erecta* ve *D. virilis*'in çeşitli gelişimsel özellikler açısından karşılaştırılması", *Doğ-Turkish Journal of Biology*, 15: 114- 123 (1991).
- Yıldız, G., Uylaşer, V., "Doğal bir antimikrobiyal: Oleuropein", *Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 25 (1): 131-142, (2011).
- Yılmaz, M., Özsoy, E. D., Bozcuk, A. N., "Maternal age effects on longevity in *Drosophila melanogaster* populations of different origin", *Biogerontology*, 9: 163- 168 (2008).
- Yılmaz Turgut, N., "Çevre Politikası ve Hukuku", 2. Baskı, *İmaj Yayınevi*, Ankara, 199-388 (2012).
- Yonemura, I., Motoyama, T., Hasekura, H., Boettcher, B., "Relationship between genotypes of longevity genes and developmental speed in *Drosophila melanogaster*", *Heredity*, 66: 143- 149 (1991).
- Zhang, X. Q., Yin, L. H., Meng, T. A. N. G., and Pu, Y. P., "ZnO, TiO₂, SiO₂, and Al₂O₃ nanoparticles-induced toxic effects on human fetal lung fibroblasts", *Biomedical and Environmental Sciences*, 24 (6): 661- 669 (2011).
- Zhou, Z., Son, J., Harper, B., Zhou, Z., and Harper, S., "Influence of surface chemical properties on the toxicity of engineered zinc oxide nanoparticles to embryonic zebrafish", *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6 (1): 1568- 1579 (2015).
- Zwaan, B. S., Bijlsma, R. and Hoekstra, R. F., "Direct selection on life span in *Drosophila melanogaster*", *Evolution*, 49 (4): 649- 659 (1995).
- Zwaan, R. A., "Embodied cognition, perceptual symbols, and situation models", *Discourse Processes*, 28:81-88(1999)

ÖZGEÇMİŞ

16.08.1982 tarihinde Erzincan'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İzmir'de tamamladı. 2001 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandı. 2005 yılında aynı bölümden mezun oldu. 2005-2007 yılları arasında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Tezsiz Yüksek Lisans programını bitirdi. 2009 yılında Milli Eğitim Bakanlığı'na Biyoloji Öğretmeni olarak atandı. Halen bu görevini sürdürmektedir. Öğretmenlik mesleğinin yanı sıra 2013 yılında kabul edildiği Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Tezli Yüksek Lisans öğrencisi olarak öğrenimine devam etmektedir.