

**T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**

**ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN (ZNO-Np)'İN RATLARDA  
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ (MMP) MMP-2, MMP-3, MMP-5 VE  
MMP-9 GEN EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL VE  
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

**AYCAN CANLI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ**

**ARALIK-2018**

**KARS**

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**

**ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN (ZNO-Np)'İN RATLARDA  
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ (MMP) MMP-2, MMP-3, MMP-5 VE  
MMP-9 GEN EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSEL VE  
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

**AYCAN CANLI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**




**DANIŞMAN**  
**Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ**

**Bu tez çalışması 2017-FM-28 nolu proje ile Kafkas Üniversitesi Bilimsel  
Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.**

**ARALIK-2018**  
**KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Aycan CANLI'nın Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “Çinko Oksit Nanopartiküllerinin (ZnO-NP)'in Ratlarda Matris Metalloproteinaz (MMP) MMP-2, MMP-3, MMP-5 ve MMP-9 Gen Ekspresyonları Üzerine Etkisinin Deneysel ve Moleküler Karakterizasyonu” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ..birliğ..... ile ... kabul... edilmiştir.

03/12/ 2018

|               | Adı ve Soyadı                    | İmza  |
|---------------|----------------------------------|---|
| <b>Başkan</b> | : Doç. Dr. İlhami GÖK            |    |
| <b>Üye</b>    | : Dr. Öğr. Üyesi Abdülmelik ARAS |   |
| <b>Üye</b>    | : Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ       |  |

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .. / .. / 20.. gün ve ...  
.../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fikret AKDENİZ  
**Enstitü Müdürü**

## ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

03/12/2018

AYCAN CANLI



## ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

### ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN (ZNO-Np)'İN RATLARDA MATRİKS METALLOPROTEİNAZ (MMP) MMP-2, MMP-3, MMP-5 VE MMP-9 GEN EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN DENEYSSEL VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Aycan CANLI

Kafkas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik Anabilim Dalı

**Danışman:** Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ

Bu çalışmada, çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnO-Np)'in ratlarda Matriks Metalloproteinaz (MMP) MMP-2, MMP-3, MMP-5 ve MMP-9 gen ekspresyonları üzerine etkisinin moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlandı. Çalışmada, erkek sıçanlar (*Wistar albino*) her grupta 10 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı ve 14 gün süreyle şu şekilde uygulama yapıldı; I. grup (kontrol grubu, herhangi bir uygulama yapılmadı), II. grup (100 mg/kg ZnO-Np), III. grup (300 mg/kg ZnO-Np), VI. grup (600 mg/kg ZnO-Np). Deney süresi sonunda moleküler analiz için hayvanlardan karaciğer doku örnekleri alındı.

Genlerin ekspresyon seviyeleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre 100 mg/kg, 300 mg/kg ve 600 mg/kg dozlarda genlerin ekspresyon düzeylerinin düştüğü gözlemlendi. MMP-2, MMP-3, MMP-5 ve MMP-9 genlerinin kendi içlerinde ekspresyon düzeyleri değişiklik göstermemektedir. Ancak uygulanan dozlara göre incelendiğinde, doz artışına bağlı olarak gen ekspresyonlarının azaldığı görülmüştür. Sonuç olarak; yapılarında Zn<sup>+2</sup> bulunduran MMP'lerde, ZnO Np'nin bu bölgeye bağlanarak ve Zn iyonlarının yerine geçerek ekspresyonlarını inhibe ettiği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** ZnO-Np, Matriks Metalloproteinaz, gen ekspresyonu

**2018, 64 Sayfa**

## ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

### EXPERIMENTAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE EFFECT OF ZINC OXIDE NANOPARTICULES (ZNO-Np) ON THE MATRIX METALLOPROTEINASE (MMP) MMP-2, MMP-3, MMP-5 AND MMP-9 GEN EXPRESSIONS IN RATS

Aycan CANLI

Kafkas University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Bioengineering

**Supervisor:** Assist. Prof. Dr. Evren KOÇ

In this study, it was aimed to research the effect of zinc oxide nanoparticles (ZnO-Np) on matrix metalloproteinase (MMP) MMP-2, MMP-3, MMP-5 and MMP-9 gene expression in rats through molecular methods. In the study, male rats (Wistar albino) were divided into 4 groups and there were 10 rats in each group and for 14 days, the application was as follows: group I (control group, no application), group II (100 mg/kg ZnO-Np), group III (300 mg/kg ZnO-Np), group IV (600 mg/kg ZnO-Np). The liver tissue samples were collected from the animals for molecular analysis at the end of the experiment.

When the expression levels of the genes were examined, it was observed that the expression levels of the genes decreased at the doses of 100 mg/kg, 300 mg/kg and 600 mg/kg compared to the control group. The expression levels of MMP-2, MMP-3, MMP-5 and MMP-9 genes do not vary. However, when examined according to the doses administered, it was observed that the gene expression decreased due to dose increase. Consequently, it is thought that ZnO Np inhibits their expression by binding to this region and replacing Zn ions.

**Keywords:** ZnO-Np, Matrix Metalloproteinase, gene expression.

**2018, 64 pages**

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışma Kafkas Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Anabilim Dalında Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ danışmanlığında hazırlanmıştır.

Öncelikle çalışmalarımın her aşamasında desteğini ve yardımını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden her zaman yararlandığım tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ'a ve yardımlarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Cem ÖZİÇ'e, en içten dileklerle teşekkür eder, saygılarımı sunarım. Tez çalışmalarım esnasında yine bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Dr. Barış YILDIZ'a, Öğretim Görevlisi Muhlise CANLI'ya, doktora öğrencisi Ayşe AYDOĞAN'a ve her zaman yanımda olan manevi desteğini esirgemeyen Avukat Fırat YILMAZ'a, aralarında çalışmaktan mutluluk duyduğum Biyomühendislik Anabilim Dalındaki hocalarım ve arkadaşlarıma, yüksek lisans eğitimim süresince her türlü maddi ve manevi destekleri ile göstermiş oldukları sabırdan dolayı anneme ve tüm aileme teşekkür ederim.

AYCAN CANLI



## İÇİNDEKİLER

|   |     |
|---|-----|
| ETİK BEYAN  | III |
| ÖZET  | IV  |
| ABSTRACT  | V   |
| ÖNSÖZ   | VI  |
| SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ                             | IX  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ   | XI  |
| TABLolar DİZİNİ   | XII |
| 1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER                                  | 1   |
| 1.1. Çinko oksit  | 1   |
| 1.1.1. Tanımı   | 1   |
| 1.1.2. Kullanım alanları                                    | 2   |
| 1.1.3. Antibakteriyel etkisi                                | 4   |
| 1.2. Nanoteknoloji ve Nanoteknolojinin Tarihçesi            | 6   |
| 1.3. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları                     | 7   |
| 1.4. Nanoteknolojinin Yararları                             | 8   |
| 1.5. Küresel Özellikteki Taşıyıcılar                        | 8   |
| 1.5.1. Mikropartiküller                                     | 9   |
| 1.5.2. Nanopartikül   | 9   |
| 1.6. Matriks Metalloproteinazlar                            | 15  |
| 1.6.1. Matriks Metalloproteinaz Yapısı ve Sınıflandırılması | 15  |
| 2. MATERYAL VE METOT  | 24  |
| 2.1. Materyal   | 24  |
| 2.1.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar                        | 24  |
| 2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler     | 24  |



|   |    |
|---|----|
| 2.2. Metot  | 26 |
| 2.2.1. Hayvan Materyali   | 26 |
| 2.2.2. Deneysel Dizayn  | 26 |
| 2.2.3. TRI Reagent ile Total RNA İzolasyonu   | 26 |
| 2.2.4. RNA Örneklerinin NanoDrop ile Spektrofotometrik Olarak Miktar ve Kalite Tayini                 | 27 |
| 2.2.5. Total RNA Örneklerinden Geri Transkripsiyon (RT) yöntemi ile cDNA Kütüphanesinin Oluşturulması | 28 |
| 2.2.6. Kullanılan DNA Primerlerin Çoğaltılması  | 28 |
| 2.2.7. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroferezinde Yürütülmesi  | 29 |
| 2. BULGULAR   | 31 |
| 3.1. RNA izolasyonu ve cDNA'nın elde edilmesi   | 31 |
| 3.2. ZnO-NP maruziyetinde mRNA Seviyesinin Analizi  | 32 |
| 4. TARTIŞMA VE SONUÇ  | 34 |
| 5. KAYNAKLAR  | 38 |
| 6. ÖZGEÇMİŞ   | 51 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| <b>%</b>                          | : Yüzde                                     |
| <b>°C</b>                         | : Santigrat Derece                          |
| <b>µl</b>                         | : Mikrolitre                                |
| <b>Al</b>                         | : Alüminyum                                 |
| <b>Bp</b>                         | : Baz Çifti                                 |
| <b>CaO</b>                        | : Kalsiyum oksit                            |
| <b>cDNA</b>                       | : Komplementer DND                          |
| <b>cm</b>                         | : Santimetre                                |
| <b>cm<sup>3</sup></b>             | : Santimetreküp                             |
| <b>dH<sub>2</sub>O</b>            | : Distile Su                                |
| <b>DNA</b>                        | : Deoksiribonükleik Asit                    |
| <b>ESM</b>                        | : Ekstrasellüler matriks                    |
| <b>FESEM</b>                      | : Alan emisyon taramalı elektron mikroskobu |
| <b>g</b>                          | : Gram                                      |
| <b>Ga</b>                         | : Galyum                                    |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen peroksit                         |
| <b>HDPE</b>                       | : Polietilen                                |
| <b>Kg</b>                         | : Kilogram                                  |
| <b>Mg</b>                         | : Miligram                                  |
| <b>MgO</b>                        | : Magnezyum oksit                           |
| <b>mL</b>                         | : Mililitre                                 |
| <b>mm</b>                         | : Milimetre                                 |
| <b>MMP</b>                        | : Matriks metalloproteinazlar               |
| <b>mol</b>                        | : Mol                                       |
| <b>mRNA</b>                       | : Mitokondrial RNA                          |
| <b>MT-MMP</b>                     | : Membran tipi matriks metalloproteinaz     |
| <b>nm</b>                         | : Nanometre                                 |
| <b>NP</b>                         | : Nanopartikül                              |
| <b>NR</b>                         | : Nanoçubuk                                 |
| <b>NT</b>                         | : Nanotüp                                   |
| <b>NW</b>                         | : Nanotel                                   |

|            |                               |
|------------|-------------------------------|
| <b>O</b>   | : Oksijen                     |
| <b>PCR</b> | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| <b>PP</b>  | : Polipropilen                |
| <b>RNA</b> | : Ribonüleik Asit             |
| <b>ROS</b> | : Reaktif oksijen türleri     |
| <b>Rpm</b> | : Revolutions Per Minute      |
| <b>S</b>   | : Kükürt                      |
| <b>TAE</b> | : Tris-acetate-EDTA Tampon    |
| <b>TG</b>  | : Tiyogliserol                |
| <b>UV</b>  | : Ultraviolet                 |
| <b>V</b>   | : Volt                        |
| <b>W</b>   | : Watt                        |
| <b>Zn</b>  | : Çinko                       |
| <b>ZnO</b> | : Çinko oksit                 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 1: Çinko oksidin hekzagonal wurtzite kristal yapısı                        | 1  |
| Şekil 2: Çinko oksidin sahip olabileceği üç farklı kristal yapısı                | 2  |
| Şekil 3: ZnO'in toz halindeki görünümü   | 3  |
| Şekil 4: Nanoküre yapısının şematik gösterimi                                    | 10 |
| Şekil 5: Nanopartiküler yapı örnekler  | 11 |
| Şekil 6: NP'lerin kullanım alanları Şeması                                       | 12 |
| Şekil 7: Biyoparçalanabilir nanopartiküllerin çeşitleri                          | 14 |
| Şekil 8: MMP'lerin yapısal özellikleri ve sınıflandırılması                      | 16 |
| Şekil 9: Matriks metalloproteinaz 2 ve 9'un bölümleri                            | 20 |
| Şekil 10: Örneklerden elde edilen RNA izolasyonlarının agaroz jel görüntüsü      | 31 |
| Şekil 11: Kontrol grubunun gen ekspresyonlarının agaroz jel görüntüsü            | 32 |
| Şekil 12: 100 mg/kg verilmiş ratların gen ekspresyonlarının agaroz jel görüntüsü | 32 |
| Şekil 13: 300 mg/kg verilmiş ratların gen ekspresyonlarının agaroz jel görüntüsü | 33 |
| Şekil 14: 600 mg/kg verilmiş ratların gen ekspresyonlarının agaroz jel görüntüsü | 33 |

## **TABLULAR DİZİNİ**

|  |    |
|--|----|
| Tablo 1: Nanopartiküllerin genel medikal uygulamaları                    | 7  |
| Tablo 2: MMP enzimlerinin substrat özgüllüğüne göre kategorilendirilmesi | 17 |
| Tablo 3: Primer listesi  | 25 |
| Tablo 4: DNA örneklerine uygulanan PCR programı                          | 29 |
| Tablo 5: DNA'nın çoğaltılmasında kullanılan primerler                    | 29 |

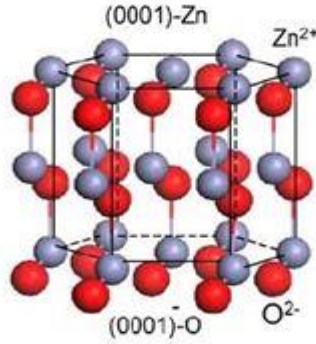


## 1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

### 1.1. Çinko oksit

#### 1.1.1. Tanımı

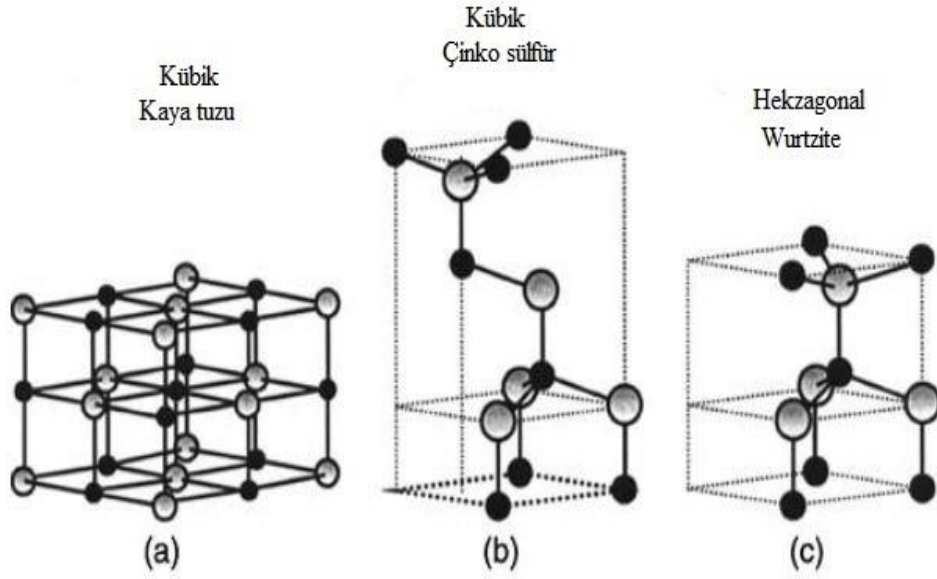
Çinko oksit (ZnO) su ve alkolde çözünmeyen fakat asit ve alkalide çözünen beyaz renkte pudra görünümlü, çinko (Zn) ve oksijen (O) atomlarını yapısında bulduran hekzagonal mineral kristal yapıda inorganik bir bileşiktir (Şekil 1). ZnO geleneksel yöntemle, diğer bir deyişle çinko buharının yanması ile elde edilen inorganik bir bileşiktir (Akın, 2011). Geleneksel yöntemler kullanılarak ZnO elde etmek oldukça karmaşık ve pahalı bir yöntem olduğu için, söz konusu yöntem genellikle sanayide kullanılmaktadır (Özgür ve ark., 2005).



Şekil 1: Çinko oksidin hekzagonal wurtzite kristal yapısı (Akyüz, 2017)

Çinko oksit; yüksek kırılma indisi, yüksek ısı iletkenliği, yüksek erime noktası, düşük genişleme katsayısına sahip olması ve anti bakteriyel etki göstermesi gibi birçok özelliğinden dolayı farklı endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır (Akyüz, 2017).

Kendine özgü birçok özelliğe sahip olan ve birçok alanda kullanılan ZnO'in sahip olabileceği üç farklı kristal yapı vardır. Bu yapılar Şekil 2'de gösterilmiştir (Özgür ve ark., 2005).



Şekil 2: Çinko oksidin sahip olabileceği üç farklı kristal yapı (Özgür ve ark., 2005)

### 1.1.2. Kullanım alanları

ZnO kullanımında ilk sırayı lastik sanayi almaktadır. ZnO lastiklerin kükürtle (S) sertleştirilmesi işleminde (vulkanizasyon) aktivatör olarak kullanılmakla birlikte lastikteki ısı birikimini azaltmakta, lastiğin dayanıklılık süresini uzatmakta ve metalik aksam ve lastik arasındaki bağlanmayı kolaylaştırıcı bir etki sağlamaktadır. (Heideman, 2004).

Çinko oksit; yüksek ısı kapasitesi, termal iletkenlik ve yüksek erime sıcaklığı gibi özelliklere sahip olduğundan seramik ve beton sanayisinde de yaygın olarak kullanılır. ZnO'nin emaye ve seramik üretiminde kullanılması, bu malzemelerin erime sıcaklığı ve optik özellikleri açısından olumlu etki göstermektedir (Porter, 1991). ZnO betonun suya karşı direncini arttırmışından dolayı, beton üretiminde de kullanılmaktadır (Klingshirn, 2007).

ZnO polimerlere eklendiğinde ısıya dayanıklılık, mekanik dayanıklılık, ateşe ve suya karşı dayanıklılık kazandırma gibi etkiler sağlar. Bu yüzden ZnO katkılı polipropilen (PP) ve yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) miğferlerde, stadyum koltuklarında, yalıtım malzemelerinde, fiber optik kablolarında kullanılmaktadır (Hong ve ark., 2007).

Fransız Süreci ile üretilmiş olan ZnO beyaz renk verme özelliğine sahip olduğu için renklendirici olarak da kullanılmaktadır (Moezzi ve ark., 2012). Bu özelliğinden dolayı ZnO çinko beyazı olarak da adlandırılmaktadır. Ayrıca UV ışınlarına karşı dayanıklı olması ve boyanın solmasını veya küflenmesini önlemesi sebebiyle bu inorganik bileşik, boya sektöründe cazip hale gelmiştir (Şekil 3) (Moezzi ve ark., 2012).



Şekil 3: ZnO'in toz halindeki görünümü (Moezzi ve ark., 2012)

ZnO enerji koruma amacıyla pencere üretiminde de kullanılır. Elektriksel iletkenlik ZnO Al, Ga gibi elementlerle birlikte uygulandığında düşmektedir; bu sayede de UV ışınları yansıtma özelliği kazanmaktadır (Moezzi ve ark., 2012).

Nano-oksitlerin içerisinde en önemli sayılabilecek olan maddelerden biri de nano-çinko oksittir. Bu nanoparçacıklar çok farklı endüstrilerde bulunan makromolekül çinko oksitin yerini alabilecekleri gibi son ürünlerde özel nitelikler de kazanabilmeleri mümkündür (Heinlaan ve ark., 2008). Çinko oksit nanopartiküllerinin şekil olarak küresel yapıya benzedikleri için ve son zamanlarda bilim dünyasındaki özellikle hayvan kullanılarak yapılan çalışmalarda çok fazla ilgi görülmesine neden olmuştur (Dawei ve ark., 2010). Ayrıca ZnO kullanılarak nemlendiriciler, makyaj malzemeleri, kremler, losyonlar, pudralar gibi kozmetik ürünleri de üretilmektedir. Bu alanda ZnO'in kozmetik ürünlerin deriye tutunmasını sağlayıcı etkisinden faydalanılmaktadır (Moezzi ve ark., 2012). Yarayı iyileştirme özelliğinden ve antimikrobiyal etkisinden dolayı ZnO medikal kremlerde de kullanılmaktadır. Diş tedavilerinde ise anti bakteriyel etkisinden



faaydalanmak amacıyla ZnO ve turevleri kullanılmaktadır (Aydin Sevinç ve Hanley, 2010).

Değişik sentetik madde üretimi ve kullanımının artması birçok organizmanın sağlığını olumlu veya olumsuz bir şekilde etkilediğini söylemek mümkündür. Nanopartiküller solunum, gıda ve cilt gibi farklı yollarla vücuda girer. ZnO Np vücudun koruyucu tabakalarından geçebileceği için buradan dolaşım sistemine girerek ciddi etkilere yol açar (Jones ve ark., 2008). Bireylerin yüksek dozda çinko oksit nanopartiküllere maruz kalmaları tromboza neden olduğu bildirilmektedir (Bystrzejewska-Piotrowska ve ark., 2009). ZnO-Np'ler UV'ye karşı yarı saydam özelliğe sahip olduklarından, güneş koruyucuları ve nemlendirici ürünlerinin önemli bir bileşimi olarak kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2013; Xu ve ark., 2014; El-Gharbawy ve ark., 2016; Abdelkarem ve ark., 2017). ZnO-Np'ler hayvan ve insan gıdalarında besin takviyesi olarak kullanıldığı gibi, boya ve kaplama malzemelerinin bir birleşeni olarak da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca UV ışınlarından uzun süreli koruma sağladığı için binaların kaplama malzemesi olarak da kullanılmaktadır (Cho ve ark., 2012; Osmond-McLeod ve ark., 2013).

### **1.1.3. Antibakteriyel etkisi**

Çinko oksitin etkileri konusunda temel oluşturabilecek ilk çalışmaları Sawai ve ark., (1998) yapmıştır. Sawai ve arkadaşları çalışmalarında; ZnO'in *E. coli* üzerindeki antibakteriyel etkisini ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in antibakteriyel etki mekanizmasındaki işlevini araştırmışlardır. Söz konusu çalışmada ZnO ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ayrı ayrı değişik konsantrasyon ve sürelerde uygulanmıştır. Çalışmada, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonu arttıkça öldürme etkisinin arttığı tespit edilmiştir. Çalışma sürecinde yapılan deneyler sonucunda ZnO ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in benzer etkiler gösterdiği gözlenmiştir. Bu da ZnO'in antibakteriyel etkisinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretme mekanizmasından kaynaklandığı görüşünü doğrulamaktadır. ZnO bakteri hücre membranına nüfuz ettiğinde H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> üreilmeye başlamaktadır (Sawai ve ark.1998).

Sawai ve ark., (1996) metal oksitlerin üretildiği aktif oksijen çeşitlerinin varlığını kanıtlamak için bir farklı çalışma yapmıştır. Söz konusu çalışmada magnezyum oksit (MgO), kalsiyum oksit (CaO) ve ZnO metal oksit olarak kullanılmıştır. Üretilen oksijeni belirlemek için oksijen elektrot analizi ve kimyasal ışıldaama analizi kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda; oksijen elektrot analizi ile ZnO tozlarından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretildiğini belirtmişlerdir (Sawai ve ark., 1996). Yamamoto ve ark., (2001) tarafından, değişik büyüklükteki ZnO partiküllerinin *E. coli* ve *S. aureus* üzerindeki etkisini araştırılmıştır. İlgili çalışmada 1400 °C'ye ısıtılan ZnO'in ezilmesiyle partikül büyüklüğü 0,1-0,8 µm arasında değişen ZnO tozları hazırlanmıştır. Elektriksel iletkenliğin ölçülmesi ile antibakteriyel aktivite belirlenmiştir. Gerçekleştirilen çalışma sonucunda partikülün boyutu küçüldükçe antibakteriyel aktivitenin arttığı tespit edilmiştir. Bu durumun sebebi de partikül büyüklüğü azaldıkça mikroorganizmalarla temas eden ZnO yüzey alanının artması olarak açıklanmıştır. ZnO yüzeyinden üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının artması olarak da açıklanabilir. ZnO partikül büyüklüğünün etkisinin ise *S. aureus* üzerinde daha az olduğu gözlemlenmiştir. Bunun nedeni de söz konusu olan iki bakteri hücre yüzeyinin kimyasal kompozisyonu ve yapısının farklı olmasına dayandırılmıştır. *S. aureus* hücre yüzeyinde yalnızca peptidoglikan tabakası bulunurken *E. coli* hücre yüzeyinde lipid A, lipopolisakkarit ve peptidoglikandan oluşan 3 katman bulunmaktadır (Yamamoto, 2001). Sirelkhatim ve ark., (2015), 700 °C'de 1 saat süren Fransız İşlemi ile üretilmiş olan 800 nm boyutundaki ZnO nanopartiküllerinin *E.coli*'ye karşı antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmadaki temel gaye antibakteriyel etki mekanizmasını incelemek ve ZnO nanopartiküllerinin gıda kaynaklı hastalıklarla mücadele amaçlı ve gıda ambalaj sektöründe kullanılabilirliğini değerlendirmektir. ZnO konsantrasyonu arttıkça bakteri inhibisyonunun arttığı gözlenmiştir. alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FESEM) görüntülerinde ZnO nanopartiküllerinin hücre membranının içine nüfuz etmediği ama bakteriyel büyümenin inhibe edildiği gözlenmiştir. ZnO'nun antibakteriyel etkisinin Reaktif Oksijen Türleri (ROS) üretimiyle doğrudan ilişkili olduğu anlaşılmıştır. ZnO nanopartiküllerinin toksik etkisinin yalnızca mikroorganizmalar için geçerli olduğu, gıda güvenliği açısından kullanılabilir olduğu anlaşılmıştır (Sirelkhatim ve ark., 2015).

Dutta ve ark., (2012), ıslak kimyasal yöntemle üretilmiş Tiyogliserol (TG) katkılı ZnO'nun Gram-negatif bir bakteri olan *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkisini incelemişlerdir. ZnO ve TG katkılı ZnO 8-55 mg/100 mL olacak şekilde uygulanmıştır. ZnO nanopartiküllerinin antibakteriyel etkisinin üretilen ROS'tan kaynaklandığını teyit etmek için çalışmalar histidin antioksidanı varlığında yapılmıştır. Histidinin, hikroksil radikali ve serbest oksijen temizleyicisi olduğu, ayrıca antibakteriyel etki göstermediği

bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda histidin miktarı azaldıkça antibakteriyel etkinin arttığı gözlemlenmiştir (Dutta ve ark., 2012).

## **1.2. Nanoteknoloji ve Nanoteknolojinin Tarihçesi**

‘Nano’ sözcük olarak, bir fiziksel büyüklüğün bir milyarda biri anlamına gelmektedir. Bir nanometre ise metrenin bir milyarda birine eşit bir uzunluk birimidir. Bir nanometre içine yan yana ancak 2-3 atom dizilebilmektedir; yaklaşık 100-1000 atom bir araya gelerek nano ölçeklerde bir nesneyi oluşturur (Çıracı ve ark., 2005).

Nanoteknolojinin en önemli özelliği nanometre boyutunda yapıların tasarlanmasıyla, bu ürünlerin boyutuna bağlı olarak gösterdikleri benzersiz kimyasal ve fiziksel özelliklerinin kullanıma olanak vermesidir (Sayar, 2010). İlk kez 1959 yılında Nobel Fizik Ödüllü Richard Feynman tarafından bilim felsefesiyle ilgili bir sohbeti sırasında Nanobilim kavramı ortaya çıkmıştır (Berk ve Akkurt, 2012). Konuşmasında Feynman; atom ve moleküler boyutta üretim olduğu takdirde birçok yeni alanda keşiflerin yapılabileceği gibi bu alanda öncelikle nano ölçekte özel ölçme ve üretim yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini söylemiştir (Seaton ve Donaldson, 2005).

1982 yılında yapılan bir çalışmada elektron mikroskopu ile görülmesi mümkün olmayan atom parçacıklarını yaklaşık olarak 2000 kez daha büyütme özelliği olan ve atomik ölçekte çözünürlük sağlayan Tarama Tünel Mikroskopunu (STM) bulmuştur (Binnig ve ark., 1982). Gerd Karl Binnig, STM keşfiyle Nobel fizik ödülünün sahibi olmuştur. 1991 yılında ise Japon bilim insanlarından olan Sumio Iijima, 1985 yılında keşfedilen karbon tüplerini üretmeyi başarmıştır (Hennig, 2014).

2006 yılında ise, kansere karşı ilaç dağıtımı için nanoparçacıkları kullanılarak vücudun belirli bölgelerine müdahale edebilme yöntemi geliştirmiştir. Özellikle Amerikalı ve Koreli bilim insanları nanoparçacıklarının kanser tedavisinde kullanılabileceğini göstermişlerdir. Nanoteknolojinin alanına yönelik olarak yapılacak yatırımların 2015’te 1 trilyon doları aşacağı düşünülürken bu tahminin 3 trilyon doları geçeceği ifade edilmeye başlanmıştır (Roco, 2005). Kısaca nanoteknoloji atom ve moleküllerin bir araya getirilmesi ile nanoölçeklerde işlevsel yapıların oluşturulması şeklinde özetlenmektedir.

### 1.3.Nanoteknolojinin Uygulama Alanları

Nanoteknoloji, biyosistemlerin değişimi için yeni çözümler sunduğu gibi birçok teknolojik alanda geniş bir saha sağlar; moleküler tıp, endüstri, bioproses (Bogunia-Kubik and Sugisaka, 2002), antienflamatuvar, antikanser, hastalık tanı ve teşhis (Roco, 2003) ve antiparaziter ilaçlarda, aşı ve tanı maddelerinde, protein ve peptitler için taşıyıcı sistemler gibi alanlarda aktif kullanılmaktadır (Panyam ve ark., 2003). Ayrıca ekotoksikolojik araştırmalarda (Borm, 2002); tarım sistemlerinin gelişmesi işleminde ve gıda alanlarında (Scott ve Chen, 2013); veteriner hekimlikte de diğer alanlarda olduğu gibi yaygın uygulama alanına sahiptir (Bozkir ve Saka, 2005). Veterinerlikte özellikle hayvanları parazitlere karşı korumak için içme suyu içinde verilen ve bağırsakta parçalanarak ilacı serbestleştiren nanopartiküller kullanılmaktadır ( Kaş, 2002; Çırpanlı, 2009). Antijenik özellikteki molekülleri taşıyan nanopartiküllerin ise immünolojide ümit verici sonuçlar verdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Alonso, 1996).

Tablo 1: Nanopartiküllerin genel medikal uygulamaları (Chen ve ark., 2008)

| Nanopartiküller               | Örnek   | Medikal uygulamalar  |
|-------------------------------|---|--|
| <b>Metal Nanopartikül</b>     | Altın Nanopartikül<br>Altın Nanoçubuk<br>Altın Nanokabuk<br>Kuantum Kristalleri | Hastalık tanı ve teşhisi<br>Biyosensör<br>Medikal görüntüleme<br>İlaç salımı |
| <b>Manyetik Nanopartikül</b>  | Süperparamanyetik demir oksitler  | MRI  |
| <b>Polimerik Nanopartikül</b> | PLGA<br>PLA-PGA   | İlaç salımı<br>Protein salımı<br>Gen ekspresyon vektörü                      |

Günümüzde nanoteknolojinin kanser tedavisinde beklenen önemli etkilerinin görülmesi demir nanoparçacıklar veya altın bombacıkların kullanılmasına yönelik çalışmalar etkili örnekler olarak görülmektedir. Tanı ve tedavi sürecinde kullanılan malzemelerin nano ölçek seviyede yeniden düzenlenmesi ile kanser tanı vakalarını geliştirerek kanserin başlangıç seviyesinde iken tespit edilmesine olanak verileceği ifade edilmektedir (Özer, 2008).

#### **1.4. Nanoteknolojinin Yararları**

- Nanoteknoloji daha az maliyetli daha çok üretim avantajı sağlar.
- Enerji kaynaklarında yapılan tasarruf ile enerji maliyetlerini azaltabilir.
- Üretim süreçlerini kısaltarak zamandan maliyetten kazanır ve rekabet gücünü artırmayı sağlar.
- Nanoteknolojik yöntemler kullanılarak elde edilen ürünler daha kalitelidir.
- Nanoteknolojik ürünler ile insanların yaşam standart ve kalitesi yükseltilerek daha sağlıklı ve daha güvenli bir yaşam olanağı sunar.
- Nanoteknoloji ulusal gelir düzeyinin yükselmesini sağlar (Usta, 2012)

#### **1.5. Küresel Özellikteki Taşıyıcılar**

Etken madde parçalanmasını ve kaybını en aza indirmek, zararlı yan etkilerini önlemek, biyoyararlanım ve etki yerlerinde bulunan oranlarını artırmak için çeşitli etken madde salım sistemleri ve hedefleme sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemlerden bazıları lipozomlar, nanopartiküller, etkin madde-polimer konjugatları ve polimerik misellerdir. Son yıllarda özellikle polimerik miseller üzerinde yapılan çalışmalar fazlaca ilgi görmektedir (Jones ve Leroux, 1999).

İlaç taşıyıcı sistemler; çözünürlüğü düşük etkin maddeleri çözünür hale getirmekte ve böylece biyoyararlanımlarını arttırmaktadırlar. Bunlar gerekli bölgede etkin maddenin toplanabilmesini sağlamak için vücutta yeterli derecede uzun bir süre kalabilmektedirler. İçlerindeki etken maddeyi biyolojik ortamda inaktivasyondan

koruyabilmektedirler ve istenmeyen yan etkiler gözlenmemektedir. Nanometre boyutlarında büyüklüğe sahip olmaları, onların zayıf damarlanmanın olduğu bölgelerde birikmelerine olanak sağlamaktadır (Torchilin, 2001).

Mikropartiküller büyüklükleri 1-1000  $\mu\text{m}$  arasında değişen (Couvreur and Puisieux, 1993), nanopartiküller ise boyutları ise 10 nm – 1000 nm arasında değişen ve makromoleküler maddeleri içeren kolloidal, katı partiküllerdir (Singh ve ark., 2007).

### **1.5.1. Mikropartiküller**

Etken maddelerin moleküller düzeyde ya da mikroskopik partiküller halinde olan birkaç um den mm boyutlarına kadar değişik çaplara sahip, küresel, katı, partiküller şeklindeki kontrollü salım sağlayan ilaç taşıyıcı sistemlerine mikropartiküller denir. ‘Kontrollü salım’ kelimesi; etken maddenin hızının ve vücuttaki biyolojik dağılımının kontrol edilmesi anlamına gelmektedir. . Dolayısıyla mikropartiküller, hem oral hem parental yolla sürekli etki elde edilmesi, bölgesel kontrollü etken madde salımı, kan dolaşımına enjeksiyonla etken maddenin etki yerine hedeflendirilmesi için kullanılabilir. Böylece etken maddenin dozunun düşürülmesi ve yan etkilerinin azaltılması amaçlanmaktadır (Gürsoy, 1989).

### **1.5.2. Nanopartikül**

#### **1.5.2.1. Tanım**

Yunanca “cüce” anlamına gelen “nanos” kelimesinden Nano kavramı türetilmiştir (Buzea ve ark., 2007). 1 nanometre; “nm” ile ifade edilmektedir. 1 nanometre, metrenin milyarda biri (10<sup>-9</sup> nm) ölçülerindedir. Hangi ölçekteki materyalin söz konusu sınıfta tanımlanacağı ise günümüzde önemli tartışma konusudur. Öyle ki, kimi araştırmacılar 50 nm’ye kadar olan aralıklardaki maddeleri nanomateryal olarak sınıflandırırken (Kittelson, 2001), bazı araştırmacılar da 100 nm ve 1 mikron ( $\mu$ ) şeklinde üst sınır koymaktadırlar. (Borm ve ark., 2006; Buzea ve ark., 2007).

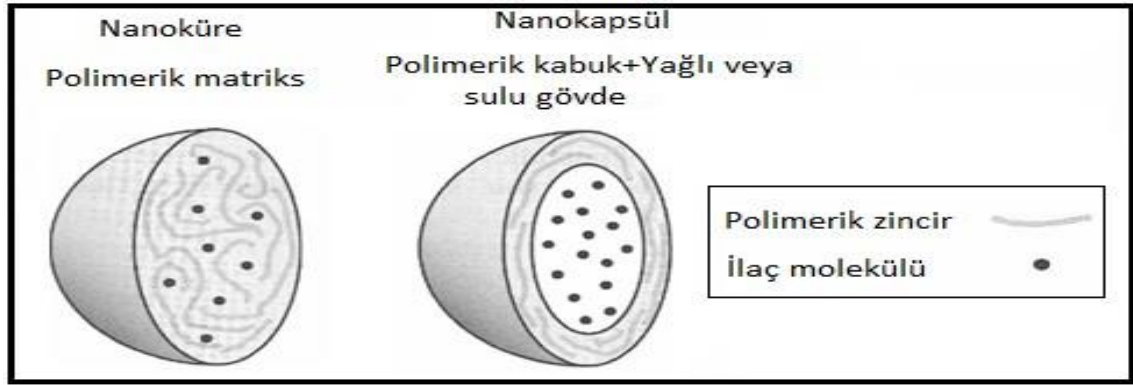
İnsanlığa yeni materyaller ve aygıtlar oluşturabilme avantajı veren nanoteknoloji askeri, endüstriyel, tıp ve elektronik gibi çok çeşitli ve birbirlerinden farklı alanlarda kullanılmaktadır. Fakat nanoteknolojik ürünlerin üretiminin bu derece yüksek olması,

çeşitli endişeleri de beraberinde getirmektedir. Bu tedirginliklerin başında, çevresel davranışların ve canlılar üzerinde oluşturabilecekleri potansiyel toksik etkilerinin tam anlamıyla anlaşılammış olması gelmektedir (Buzea ve ark., 2007).

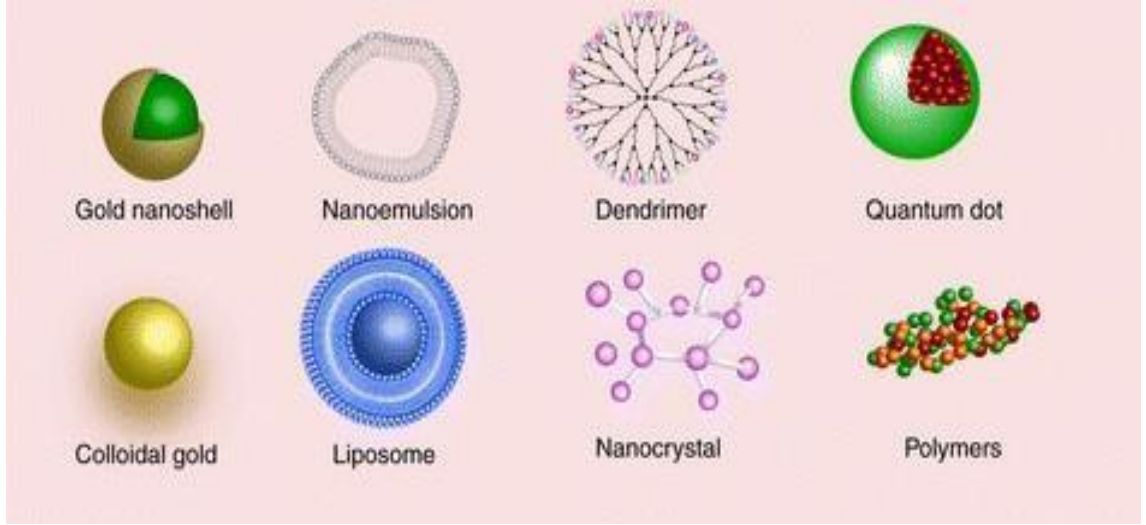
NP'lerin kural olarak bazı sınıflandırılma özellikleri vardır. Bu kriterler; boyut, morfoloji, kompozisyon, kararlılık ve kümelenme eğilimleri gibi çeşitli faktörlere göre şekillenir. Bir NP'nin sınıflandırılmasında ve etkilerinin tahmin edilmesinde kullanılan önemli bir kriter boyuttur. NP'ler, genel olarak tek boyutlu, iki boyutlu ve üç boyutlu olarak sınıflandırılırlar (Demir, 2013).

### 1.5.2.2. Nanopartikülün Kullanım Alanı

Nanoteknoloji içerisinde nanokristaller, nanoçubuklar, nanotüpler, nanoteller, nanopartiküller, nanoküre ve nanokapsül (Şekil 4) gibi birçok materyaller pek çok alanı kapsamaktadır. Yeşil sentez sürecinde bitkilerden yararlandığı gibi üretimlerde polimerik materyaller de kullanılmaktadır. Bunun gibi farklı yollarla elde edilen nano yapılar; eczacılık, tıp, biyolojik, kimya, genetik teknoloji alanlarında ve birçok mühendislik alanıyla ilişki olduğu bilinmektedir (Şekil 5) (Nalcı,2017).



Şekil 4: Nanoküre yapısının şematik gösterimi (Derman Acar, 2012)



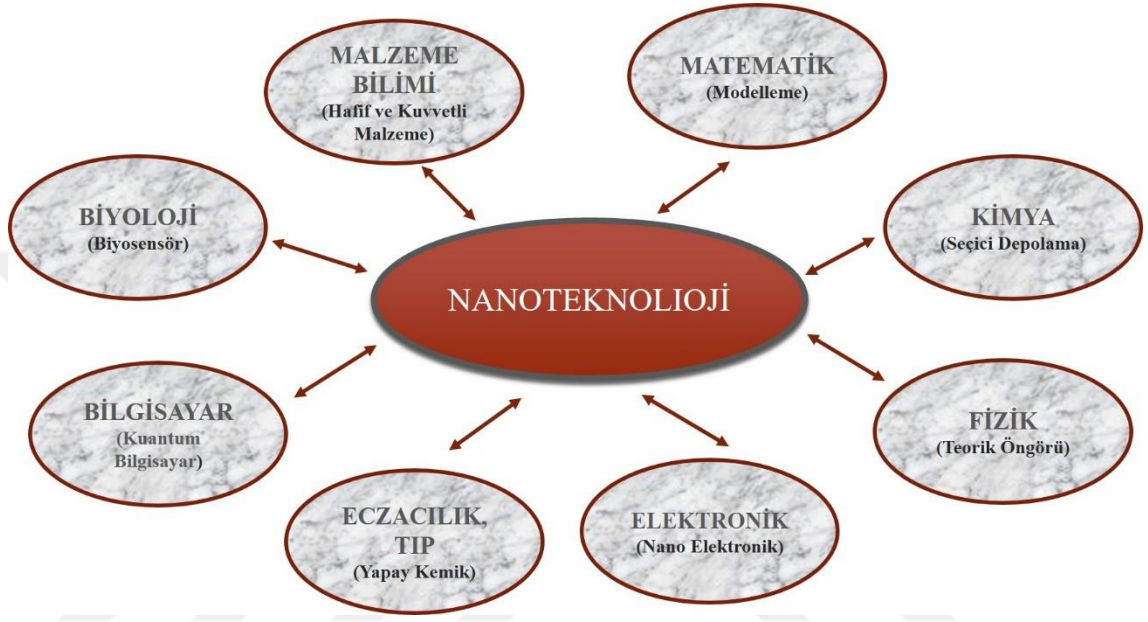
Şekil 5: Nanopartiküler yapı örnekleri (Randall ve ark., 2007)

Günümüzde popüler olan yenilenebilir enerjiler başta olmak üzere biyomedikal, tekstil, tarım, sağlık hizmetleri, endüstri, elektronik ve çevre gibi birçok alanda aktif kullanım fırsatı yakalamaktadır. Nanoteknolojinin alt başlığı halinde düşündüğümüzde; ilaç taşıma kanser terapisi ilaç salınımı ıslanmaya ve gaz geçişine dayanaklı kıyafetlerin yapılması, yiyeceklerin paketlenmesi, nano pigmentler, artık suların temizlenmesi hidrojen üretimi ve depolama yapılarının üretimi, UV ışığını engelleme potansiyele sahip kıyafetlerin üretimi yoğunlukta bilgi depolama, nano boyutta elektrik devrelerin üretimi, kendi kendini temizleyebilen yüzeyler ve yüksek hassasiyete sahip olan sensörlerin yapımı gibi birçok alanda uygulama imkânın bulunduğunu söylememiz mümkündür. Son dönemlerin gözde bilim dalı olan nanoteknoloji, özellikle kaliteli bir yaşam standardı sağlamanın ilk koşulu olan sağlığın kazanılması noktasında; hastalıklar için moleküler tedavi yaklaşımlarından, hastalıkların daha hızlı ve doğru bir şekilde teşhis edilmesine kadar pek çok açıdan hizmet imkânı sunmaktadır. Bunun yanında biyosensörler, kontrollü salım sistemleri ile patojenlerle mücadelede ve ayrıca bitkilerin besinleri daha kolay kullanabilme yeteneğinin artırılması yönünde, gıda ve tarım alanında da devrim niteliğinde gelişmeler sunmaktadır (Şekil 6) (Nalcı, 2017). Yapılan çoğu çalışmalar hücre kültürü çalışmalarına dayanmaktadır. Hücre kültürü yöntemleri hayvan modellerinin kullanıldığı testlere göre etkileri doğrudan doğruya olduğundan kısa sürede sonuç vermesi, istatistiki olarak hayvan deneyleriyle karşılaştırılmayacak kadar fazla hücre kullanılabilmesi ve çok sayıda hayvanın deney amacıyla öldürülmesinin önlenmesi avantajlarını taşıdığı için dünyada yaygın bir kullanıma sahip olmuştur. Bu nedenden



dolayı hücre kültürü çalışmalarında moleküller, kök hücre, doku ve deri mühendisliği gibi birçok alanda kullanılmasına neden olmuştur (Gad, 2000; Putnam ve ark., 2002).

Hücre canlılığı, hücrelerin çoğalması ve hücre metabolizma gibi toksisiteyi belirleyen gösterge parametrelerin ölçülmesi *in vitro* sitotoksikite testlerine dayanmaktadır (Gad, 2000).



Şekil 6: NP'lerin kullanım alanları Şeması ( Nalcı, 2017)

Özellikle belirtebileceğimiz medikal amaçlı Np'lerin kullanım alanları hastalıkların daha kolay tanı konulması ve daha etkili tedavi yöntemleri geliştirilmesini mümkün kılmaktadır. Np'lerin tıp alanında kullanımları gen terapilerinin kanser gibi tehlikeli hastalıkların erken teşhis ve tedavisine dönük ilaç taşımını mümkün kılması birçok bilim insanının çalışmalarının hedeflerine ulaşmasını kolaylaştırmıştır (Mboniyiyuze ve ark., 2015).

Np'ler tıp alanının yanı sıra; mobil iletişim sistemlerinde, elektronik cihazlarda, bataryalarda, bilgisayar vb. birçok mühendislik alanında da etkili bir biçimde kullanılmaktadır (Mboniyiyuze ve ark., 2015). NP'ler tekstilde, inşaat malzemeleri materyallerinin üretiminde, otomotiv sektöründe, birçok endüstriyel alana yönelik malzemelerinin üretimi ve uygulamalarında da kullanılmaktadır. Np'ler gıda ve tarım sektöründe de bizlere birçok kolaylık ve imkân sağlamaktadır. Özellikle gıda sektöründe, işlem görmüş ürünlerin paketlenmesinde kullanılan mini sensör benzeri yapılar gıda

ürünlerinin raf ömrünün belirlenmesi açısından NP'lerin kullanımını artırmıştır. Bunun yanında Np'leri ayrıştırılarda kullanılması yeraltı sularının ve tarlaların temizlenmesi amacıyla da kullanılmasına imkân sağlamıştır (Erol-Demirbilek, 2015). Özellikle NP'lerin kullanıldığı artık su artıma teknolojisinin gelişimi dünya genelinde artan su kirliliği sorunlarına farklı bir seçenek olarak yer almaktadır. Bir seri arıtma teknolojileri arasında fotokatalist ve arıtma teknolojisi karşımıza çıkmaktadır (Venkatesh ve ark., 2012).

Nanoteknojinin pozitif bir etkisi de yenilebilir enerji kaynakları ile temiz enerji üreterek çevrenin kirlenmesine neden olan yapıların önüne geçip onları yok ederek daha temiz bir çevrenin oluşumunda çok önemli bir rol üstlenmesidir (Hagiwara ve ark. , 2002) Tüm bu bilgiler ışığı altında günümüz dünyasında nano taneciklerin pek çok alanda aktif kullanılarak üretildiklerini, çalışmalara konu olduklarını söylebileceğimiz gibi önümüzdeki dönemlerde de nanoteknolojinin bilimsel anlamda birçok alanda aktif rol üstleneceği açıkça görülmektedir.

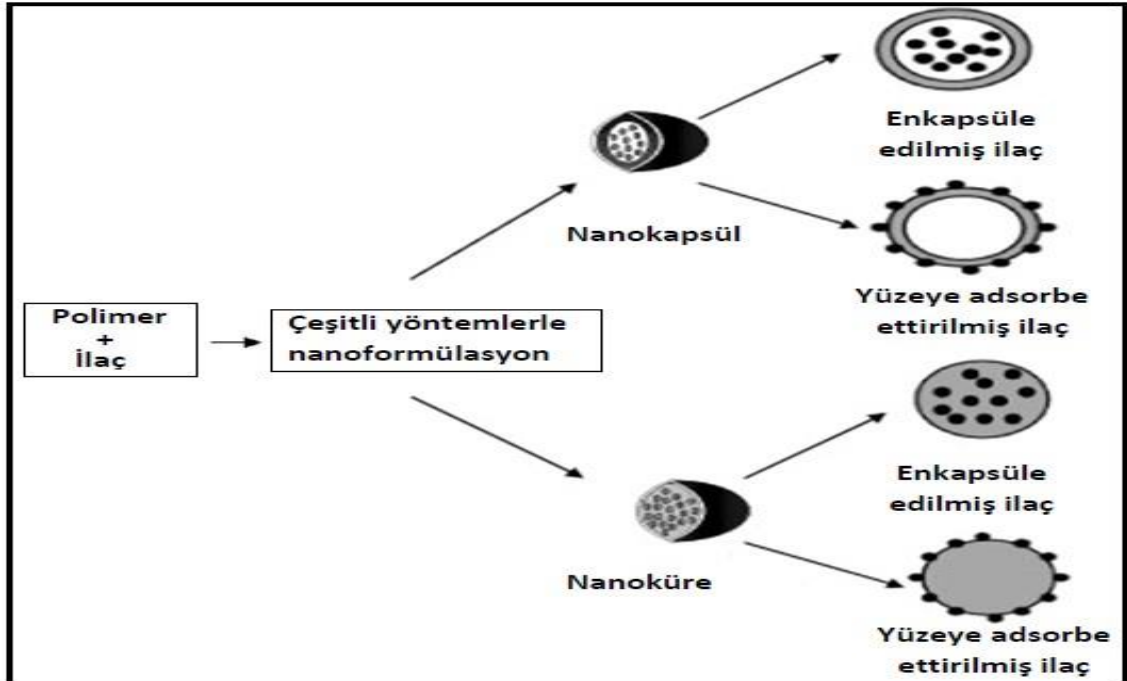
### **1.5.2.3. Nanopartiküllerin Sağladığı Avantajlar**

Doğal ya da sentetik polimerlerin kullanılması ile oluşturulan ilaçların dışında peptitler, genlerin ve proteinleri de ilgili dokuya hedeflendirilmeleri amacıyla kullanılan NP'lerin sağladığı avantajları ile iki temel özellikten oluşmaktadır. Birinci özellik olarak NP'lerin çok küçük yapıya sahip olmasını söylenebilir. Bu özelliklerden dolayı küçük kapiler dediğimiz yapılardan geçerek hücrelere rahatlıkla alınıp ,hedef bölgelere ulaşarak etkili etkin madde akümülayonunu sağlarlar (Derman Acar, 2012; Panyam ve ark., 2003). İkinci bir özellik ise NP'lerin hazırlanmasında biyobozunur materyallerin kullanılmasıdır. Biyobozunur malzemeler günlerce süren periyotlarda hedef dokuda kontrollü etkin madde salınımı uygulanmaktadır. Bu özelliklere ek olarak NP'lerin ilaçların, proteinlerin veya peptid yapıların stabilitesinin yükselmesini sağlarlar (Soppimath ve ark., 2001).

### **Np' lerin diğer avantajları**

- 1- NP'ler rahatça strelize edilebilirler.
- 2- Fizyolojik alanlarda parçalanabilirler ve parçalanan ürünler toksik olmazlar (Şekil 7).

- 3- Hücrenin dağılımını artıran etkin madde yükleme kapasitelerini yükseltir.
- 4- İlaç olarak verilen NP'lerin oral yolla verimi ilacın salınımı ve biyo yararlarını yükseltir.
- 5- Biyomerik yapılarından dolayı etkin maddenin hedeflenmesi, salımının kontrollü ve sürdürülmesini kolaylıkla sağlar.
- 6- Farklı kollu ideal taşıyıcı sistemlerle kıyaslandığında polimerik NP'ler biyolojik sıvılarda çok daha yüksek stabiliteye sahiptirler.
- 7- Çok küçük yapıları NP'lerin küçük kapiller ile penetrasyonuna imkân verir ve hücre tarafından tutulmaları mikro partiküllere kıyasla daha dolaydır.
- 8- Aktif maddenin hedef bölgede salımını sağladıkları için, aktif maddenin, diğer organ ve dokular üzerindeki sistemik toksisitesini azaltırlar.
- 9- Üretim şekilleri kolay ve basittir.
- 10- NP'ler ilacın katı dozaj şekillerinde ilave saklama şartlarına gerek duymaksızın uzun süre saklanmasına olanak verirler (Çırpanlı, 2009; Şengel-Türk ve ark., 2007).



Şekil 7: Biyoparçalanabilir nanopartiküllerin çeşitleri (Kumari ve ark., 2010)

## 1.6. Matriks Metalloproteinazlar

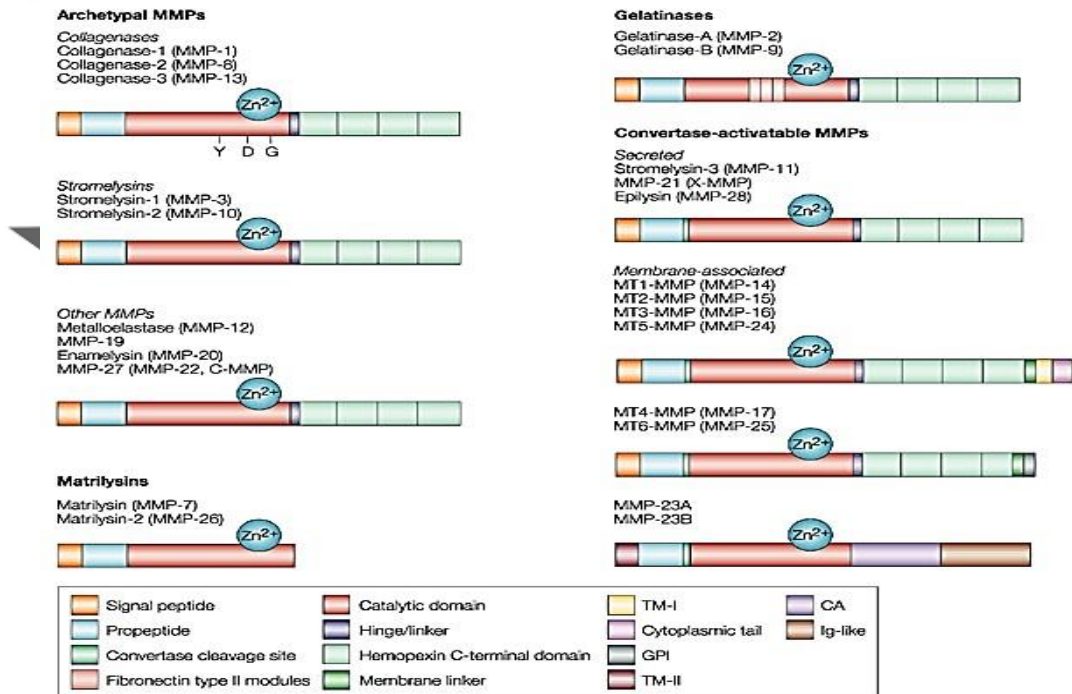
Ekstrasellüler matriks (ESM) komponentlerin hidrolizi olayından sorumlu olan proteolitik enzimler hücre matriks etkileşimleri düzenlenir. Bu yapıya sahip olan enzimler ESM yapısının birleşimi ve bütünlüğünü düzenlediği gibi matriks molekülleri tarafından oluşturulan sinyallerin denetlenmesi, hücre farklılaşması, çoğalması ve ölümü gibi birçok hücre içi olaylarında temel rol oynar. Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) enzim sistemleri içinde önemli bir role sahiptir. Matriks metalloproteinazlar, ekstrasellüler matriks bileşinlerini yıkıma uğramasını sağlayan  $Ca^{++}$  ve  $Zn^{++}$  bağımlı endopeptidaz ailesine mensuptur. Türlerine göre bakılacak olursa makrofajlar, fibroblastlar, T lenfositler, endotel hücreleri, trombositler, keratinositler, kondrositler, damar düz kas hücreleri, epitel hücreleri, nötrofiller, mezenşimal hücreler, osteoblastlar ve trofoblastlar gibi çok farklı hücre tipleri tarafından üretilirler (Reel, 2006).

### 1.6.1. Matriks Metalloproteinaz Yapısı ve Sınıflandırılması

Ekstrasellüler matriks (ESM) içerisinde proteinler ve proteoglikonlar içerir. Bu da organizmalarda yapısal destek, hücre proliferasyonu, göç ve farklılaşma gibi olaylarda önemli işlevlere sahip olmasına neden olur (Kuo ve ark., 2017). Ekstrasellüler bazal lamina degradasyonu ve matriks; proteazlar, aspartin, serin proteazlar sistein ve metalloproteazlar olmak üzere 4 farklı enzim grubu tarafından oluşur. Kanserde invazyon ve metastaz aktivitesinde en etkili MMP'ler, serin proteazlar ve proteazlardır (Dollery ve ark., 1995). 1962 yılında Jerome Gross ve Charls Lapier MMP'leri ilk kez tanımlamıştır (Krizkova ve ark., 2011). En başta stromalinler, membran tipi MMP'ler, jelatinazlar, kollejenazları ve sınıflandırılmayan MMP'ler olmak üzere 5 alt grupta toplamış olup (Hidalgo ve Eckhardt, 2001), günümüzde ise insana ait toplam 24 MMP 'Archetypal', 'Matrilysin', 'Gelatinases' ve 'Convertes-activatable MMPs' olmak üzere toplam 4 grup altında toplamışlardır (Overall ve López-Otín, 2002). MMP'ler propeptit, çinko bağlayıcı katalizör bölümü, hemopeksin benzeri kısım, sinyal peptit ve hemopeksin kısmını katalizöre bağlayan kısım olmak üzere 5 ana bölümden oluşmaktadır. İlk bölge kısmı sinyal peptid olup, molekülü sekresyon için hedefleyen sonrasında uzaklaştıran ve inaktif latent enzimde bulunmayan yaklaşık 80-90 aminoasit içeren aminoterminal propeptid dizisinden oluşur. Propeptid domain enzim kısmı aktif olduğundan çıkarılan yüksek derecede korunmuş PRCGVDPV dizisi içeren bölümden oluşmaktadır. Sistein

kalıntıları ise enzimin latent formunun korunmasında fonksiyonel olduğu ileri sürülmektedir. Bu kısmın çıkarılması enzimin aktif forma dönüşmesini sağlamaktadır (Bourboulia ve Stetler-Stevenson, 2010; Overall ve López-Otín, 2002).

Histidin kalıntıları içeren katalitik bölge, fonksiyonel stabilitenin korunmasından sorumlu çinko iyonu içeren alandır. Hemopeksin benzeri kısım hem bağlayan molekülere benzerliği sebebiyle hemopeksin olarak isimlendirilir. Bu bölge N ve C terminal bölgelerini bağlayan disülfid bağlarını barındırır. Prolin bakımından zengin 5-10 civarında aminoasitlik bölge ile bağlanmaktadır. Matrilizinlerin yapısı hariç bütün aile üyelerini (kollajennazlar, jelatinazlar, stromelisinler, membran tipi) içermektedir (Şekil 8). Fonksiyonel olarak hücre yüzey reseptör alanın tanınmasında etkin özellik taşıdığı düşünülmektedir (Bourboulia ve Stetler-Stevenson, 2010; Overall ve López-Otín, 2002). MMP'ler yapısal bütünlüğü düzenleme özelliklerinden dolayı bazı fizyolojik olaylarda (apoptozis, kemiğin yeniden yapılanması, trombosit işlevlerinin düzenlenmesi, embriyonik gelişim, yara iyileşmesi, hücre göçü, blastokist gömülmesi, sinir büyümesi, organ yapısının gelişimi, doku rezorpsiyonu, ovulasyon, anjiogenez, servikal genişleme, endometrial döngü) büyük önem taşırlar (Jones ve ark., 2008; Nagase ve Woessner, 1999).



Şekil 8: MMP'lerin yapısal özellikleri ve sınıflandırılması (Bourboulia ve Stetler-Stevenson, 2010)

Fizyolojik koşullarda MMP etkinliği transkripsiyon düzeyinde (Torchilin, 2001) etkinleşmesi ve bazı hücre dışı matriks içeriği ile MMP'nin etkileşime girmesi ile düzenlenir. MMP etkinlik denetiminin kaybolması sonucunda artrit, kanser, ülser, anevrizma, ateroskleroz ve fibrozis gibi hastalıklara yakalanma olasılığında artış görülmektedir. Matriks metalloproteinazi (TIMP) dokulardaki MMP'lerin bölgesel etkinliğini düzenler. Günümüzde 24 farklı MMP tanımlanmış olup bunların 23 tanesi insanda bulunmaktadır (Visse ve Nagase, 2003). Substrat özgüllüğü, sekans benzerliği ve domain içeriği bakımından veri tabanlarındaki MMP'ler 6 gruba ayrılırlar;

Kollajenazlar (MMP 1, MMP 8, MMP 13, MMP 18)

Jelatinazlar (MMP 2, MMP 9)

Stromelisinler (MMP 3, MMP 10, MMP 11)

Matrilizinler (MMP 7, MMP 26)

Membran tipi (MMP 14, MMP 15, MMP 16, MMP 17, MMP 24, MMP 25)

Herhangi bir gruba dahil edilmeyen matriks metalloproteinazlar (MMP 7, MMP 12, MMP 19, MMP 20, MMP 21, MMP 23, MMP 26, MMP 27, MMP 28) olarak sınıflandırılır (Hidalgo ve Eckhardt, 2001).

Tablo 2: MMP enzimlerinin substrat özgüllüğüne göre kategorilendirilmesi (Evans ve ark.,1997; Nagase ve Woessner, 1999; Sethi ve ark., 2000)

| Grup                 | Üye                     | Kod   | Hedefsubstrat(lar)                   |
|----------------------|-------------------------|-------|--------------------------------------|
| <b>Kollajenazlar</b> | İnterstitial kollajenaz | MMP1  | Fibriler kollajenler                 |
|                      | Nötrofil kollajenaz     | MMP8  | Fibriler kollajenler                 |
|                      | Kollajenaz 3            | MMP13 | Fibriler kollajenler                 |
|                      | Kollajenaz 4            | MMP?  | Bilinmiyor                           |
| <b>Jelatinazlar</b>  | Jelatinaz A             | MMP2  | Jelatin,Kollajen tip 4-5,fibronektin |

|                       |                |       |   |
|-----------------------|----------------|-------|---|
|                       | Jelatinaz B    | MMP9  | Jelatin,Kollajen tip 4-5,fibronektin  |
| <b>Stromelizinler</b> | Stromelizin-1  | MMP3  | Laminin, non fibriler, kollajen, fibronektin                                    |
|                       | Stromelizin-2  | MMP10 | Laminin, non fibriler, kollajen,fibronektin                                     |
|                       | Matrilsin      | MMP7  | Laminin, non fibriler, kollajen, fibronektin                                    |
|                       | Stromelizin-3  | MMP11 | Laminin, non fibriler, kollajen, fibronektin<br>a,1 proteinaz inhibitör(serpin) |
| <b>MT-MMP'ler</b>     | MT-1 MMP       | MMP14 | Pro-MMP2, kollajenler,jelatin   |
|                       | MT-2 MMP       | MMP15 | Pro-MMP2,kollajenler,jelatin  |
|                       | MT-3MMP        | MMP16 | Pro-MMP2,kollajenler,jelatin  |
|                       | MT-4 MMP       | MMP17 | Pro-MMP2,kollajenler,jelatin  |
| <b>Diğerleri</b>      | Metalloelastaz | MMP12 | Elastin   |
|                       | Enamelsin      | MMP?  | Bilinmiyor  |

### 1.6.1.1.Kollajenler

MMP-1, MMP-8, MMP-13 ve MMP-18 bu grupta bulunurlar ve bu enzimlerin ana özelliği, hücreler arası alanında tip I, II, III kollajenlerini parçalayabilme yeteneğine sahip olmasıdır (Visse ve Nagase, 2003). MMP-1ler insanda bulunan keratinosit, fibroblast, mono makrofaj, sinovyal tarafından oluşur. Fizyolojik olarak pH ve ısıda interstisyel kollajen tip 1, tip 2 ve tip 3 ü parçalar. Bunların yanı sıra filamentlerdeki kollajen 7'yi, 9 ve 10'da bölerler. Plazma antiproteazları gibi baz kollajen olmayan substratları da bölerler. İnsan nötrofil interstistisyel kollojenazı olan MMP-8, MMP-1 e çok benzer bir yapıya sahiptir. Çözülebilme yeteğine sahip olan tip 1kollajeni daha hızlı, tip 3 kollajenini daha yavaş bölerler. Kollajenaz 3 olarak bilinen MMP-13 farklı olarak özelliğe sahip olup tip 2 kollajen üzerine daha çok etkiye sahiptir. Özellikle tip 2 kollajeni parçalaması ve kondristler tarafından üretilmesinden dolayı osteoartrit patogenezinde rolü olabileceği ileri sürülmektedir (Tüzün ve ark., 2008).

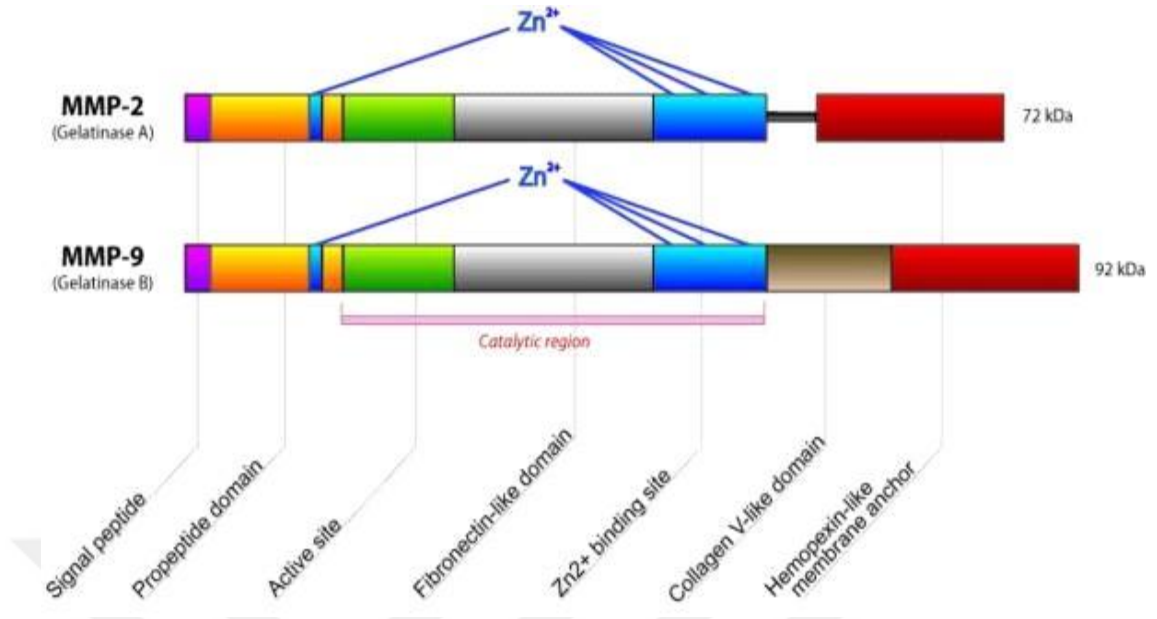
### 1.6.1.2. Jelatinazlar

Jelatinaz A (MMMP-2) ve jelatinaz B (MMP-9) jelatinaz grubunda yer alırlar (Şekil 9). Özellikle bu grup, denature olmuş kollajenler ve jelatinleri kolayca sindirme özelliğine sahip olup, kollajen laminin ve jelatine bağlanan katalik bölgenin içine yerleşmiş ve üç defa tekrarlanmış tip 2 fibronektin bölgesine sahiptirler. Bu alanda jenatinazların, jelatin ve kollajene yüksek ilgi ile bağlanmalarını sağlayıp proteolitik etkinliklerini artmasına neden olurlar. Elastolitik etkinlik için bu özellik temeldir (Murphy ve ark., 1994).

MMP-9'dan farklı olarak MMP-2; tip 1, tip 2 ve tip 3 kollajeni parçalar. MMP 2 si olmayan farelerde belirgin bir anormali gelişmezken, MMP-2'si mutasyona uğramış insanlarda etkin enzim eksikliği ile etkilenmiş kemiklerde yıkımla sonuçlanan otozomal resesif bir genetik hastalık olan multisentrik osteolizis ortaya çıkar. MMP-2'nin bu özelliği insanlardaki kemik oluşumunda önemli rol üstlendiğini göstermektedir (Visse ve Nagase, 2003).

Tip 4 kollajen, bazal membranların ana bileşeni olup, bazal membran toplam proteininin %40-60 ini oluşturmaktadır. İnterstisyel kollajenazlar ise tip 4 kollajeni parçalama özelliğine sahip değillerdir. Tip 4 kollajenin helikal bölümünü parçalayan ilk kollajenaz fare melanoma hücre kültürlerinde görülmüştür. İlerleyen zamanlarda bunun insan fibroblast jelatinaz-A ile aynı olduğu saptanmıştır. Jelatinaz-A genel olarak interstisyel kollajenazların başlattığı kollajen yıkımını tamamlar. İnsanın makrofaj, keratinosit, granülosit ve diğer bazı hücre türleri bir glikoprotein olan jelatinaz-B yi ürettiği bilinmektedir (Tüzün ve ark., 2008).





Şekil 9: Matriks metalloproteinaz 2 ve 9'un bölümleri (Visse ve Nagase, 2003)

Matriks metalloproteinaz-2 ve matriks metalloproteinaz-9 enzimleri 5 bölümden oluşur.

- Sinyal Peptit
- Propeptit
- Katalizör bölümü
- Hemopeksine benzer bölüm (substrat çeşitliğini belirleyen bölümdür)
- Hemopeksine benzer bölüm (Bourboulia ve Stetler-Stevenson, 2010).

### 1.6.1.3. Stromelizinler

MMP-3 (Stromelizin 1) ve MMP-10 (stromelizin 2 benzer özgüllüğüne sahip olurken, MMP-3, MMP-10 a proteolitik etkinliği daha yüksektir. MMP-11, tromelizin 3 olarak da adlandırılır fakat diğer MMP'ler içinde sınıflandırılır zira substrata özgüllüğü ve sekansı MMP-3'ün MMP-10' dan farklıdır (Visse ve Nagase, 2003).

Fibroblastlardan pro-stromelizin-1 üreten stromelizin-1 çok sayıdaki substratı parçalama özelliğine sahiptir. Başlıca substratları proteoglikanlar, tip 4 kollajen, laminin ve

fibronektinler olarak sıralanır. Jelatin ve kazeine göre daha az ilişki gösterir, ayrıca tip3 ve 4 kollajeni de bir telopeptidaz gibi kesebilir. Bunun yanında hücresel fibrinolizde de önemli işlevi olduğu düşünülmektedir. Stromelizin-2, stromelizin-1 ile aynı substratları parçalar ama buldukları dokular farklıdır. Örneğin keratinositlerde yalnızca stromelizin-2 uyarılırken romatoid sinoviyal sıvıda yalnızca stromelizin-1 bulunur. Yara iyileşmesi olayında ise keratinositlerde her ikisi de eksprese edilir. Stromelizin-3 diğerlerinin ESM substratlarını parçalamazken özgül olarak a1-tripsin inhibitörünü parçalama özelliği gösterir.fizyolojik rolü kesin olarak bilinmemekle birlikte, epitel tümörlerin stromasında çok miktarda bulunduğu için serin proteaz inhibitörlerini baskılayarak plazmin gibi enzimlerin matriks proteinlerini parçalamasına neden olduğu düşünülmektedir (Tüzün ve ark., 2008).

#### **1.6.1.4. Matrilizinler**

Matrilizinler hemopeksin bölgesinin yokluğu ile karakterize özelliği gösterir. Aminoasit yapısı bakımından metalloelastaza benzerlik gösterirler. MMP-7 ve MMP-26 matrilizin-1, matrilizin-2 olarak ve endometazlar olarak da isimlendirilirler. MMP-7, ESM içeriklerine ilaveten hücre yüzey moleküllerinden pro-a-defensin, TNF- $\alpha$ , fas-ligand ve E-cadherin üzerine de etki etmektedirler (Visse ve Nagase, 2003).

Matrilizinler, matriks metalloproteinazların en küçük yapısıdır ve çok sayıdaki substratı parçalar. Kollajen, entaktin, fibronektin, agrekanelastin ve b4 integrin olmak üzere başlıca 4 tipi vardır. Matrilizinlerde özel olarak glandüler yapıların epitelinde monosit kökenli makrofajlar da yer alır. Duktal yapılardan lümenine salınımı olmaktadır ve bu esas işlevinin duktusların tıkanmasını önleyici olduğu sanılmaktadır. Prodefensinleri etkin form olan defensinlere parçalayarak epitelyal bağışıklıkta önemli rol almaktadırlar ve ayrıca hava yolları epitelininin tamirinde önemli rol oynar. Özellikle tümör adalarında saptanmış olmakla birlikte, çoğu karsinomda matrizin tespit edilmiştir. Fakat diğer MMP'ler ise genellikle tümörü kuşatan stromada tespit edilmiştir. İlk defa matrilizin-2 endometriyumda tespit edilmiştir ve matrilizin-1 e benzer geniş spektrumlu olup jelatinaz-B yi etkinleştirme özelliğine sahiptir (Tüzün ve ark., 2008).

### **1.6.1.5. Membran Tipi Matriks Metalloproteinazlar**

Diğer matriks metalloproteinazlar (MMP) hücre dışı alana proenzim olarak salınırken MT-MMP (membran tipi matriks metalloproteinazlar) hücre membranına bağlı olarak bulunurlar. Yapı olarak birbirlerine benzer özellikler gösterirler. Çok sayıda substratları olan güçlü matriks metalloproteinazlarıdır ve başlıca substratları fibronektin, prooglikanlar kolajenlerdir. MT-MMP altı tane olarak bulunmaktadır. Dördü MMP 14, MMP 15, MMP 16 ve MMP 24 tip 1 transmembran proteini ikisi MMP 17 ve MMP 25 glikozilfosfatidilinositole bağlı proteinlerdir (Tüzün ve ark., 2008).

Membran tip- matriks Metalloproteinaz 4 hariç MT-MMP'lerin hepsinin proMMP-2'yi etkinleştirme özelliğini bulunmaktadır. Bu enzimler ESM moleküllerinden çoğunu sindirebilmekle birlikte MT1-MMP, kollajen tipleri olan 1, 2 ve 3'ü parçalayabilme özelliği göstermektedir. MT1-MMP olmayan farelerde doğum sonrasında iskelet anomalilerinin görülme nedeninin, kolajenolitik etkinlikten kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Visse ve Nagase, 2003). MT1-MMP'nin bir diğer özelliği anjiyogenezde önemli görev almasıdır. MT1-MMP'leri özellikle tümör adaları çevresindeki fibroblastik hücrelerde ve kanser hücre membranlarında görülmüştür (Tüzün ve ark., 2008). MT5-MMP ise merkezi sinir sistemine özgü olup, esas olarak beyincikte ifade edilir. MMP-25 (MT6-MMP) ise kan dolaşımındaki anaplastik astrositoma, lökositler ve glioblastomalarda eksprese edilir (Visse ve Nagase, 2003).

### **1.6.1.6. Diğer Matriks Metalloproteinazlar**

Bu gruptaki MMP'ler yukarıda sayılan gruplar içinde yer almaz. MMP-12 (Metalloelastazlar) genellikle makrofajlarda ifade edilirler ve makrofajların göçünde önemli rol üstlenirler. Periferel kan monositlerinden yer almazlar. Akciğerdeki patolojik elastin yıkımında en büyük yeri alırlar. Yine plazmini parçalayarak anjiyostatin oluşmasına neden olurlar. Anjiyostatin endotel hücre çoğalmasını baskılayarak anjiyogenezi engeller. MMP-20 (Enamelizin) ise diş katmanlarında yer alır. Mine matriksinin ana bileşiği olarak bilinen amelogenini parçalar. MMP-19 ve MMP-28 birbirleri ile yakın ilişkiindedirler ve çok sayıda dokuda bulunmaktadır. Bu kadar yaygın olmaları normal doku dönüşümünde görevleri olduğunu düşündürmektedir. MMP-19 bazı bazal membran proteinlerini hidroliz eder. Herhangi bir hasar sırasında MMP-28

keratinositlerce eksprese edilir. Over testis ve prostat dokusunda özellikle MMP-23 ekspre edilir (Tüzün ve ark., 2008).

Bu araştırmada, organizmada fizyolojik olarak birçok yapısal aktivitenin düzenlenmesinden sorumlu olan ve yetersizliği durumunda artrit, kanser, anevrizma, ateroskleroz gibi hastalıklara yakalanma olasılığının arttığı belirtilen ve katalitik bölgelerinde çinko iyonu içeren bazı MMP (2,3,5,9) enzimlerinin gen ekspresyonları üzerine ZnO-Np'nin etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



## **2. MATERYAL VE METOT**

### **2.1. Materyal**

#### **2.1.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar**

- Homojenizatör (Scilogex, D160)
- Hassas terazi (Precisa, 205A SCS)
- Vortex (ISO Lab, MX-S)
- Derin dondurucu (Beko, 3400 CF)
- Thermalcycler (GenePro, TC-E-96G)
- Yatay Elektroforez (CBS Scientific, WSGE-014)
- Nanodrop spektrofotometre (UVS-99)
- UV-Jel görüntüleme cihazı (DNR, MiniLumi)
- Mikrodalga Fırın (Beko, MD 1610)
- Mikrosantrifüj (Scanspeed, mini)
- 0,5-2,5µl, 2-20µl, 100-1000µl ayarlanabilir otomatik pipetler (Eppendorf)

#### **2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler**

- Eter
- ZnO-Np
- TRI Reagent (Sigma)
- Kloroform (Sigma)
- İzopropanol (Sigma)
- Nuclease Free H<sub>2</sub>O (AppliChem)

- Etanol (Sigma)
- Agar (peqlab)
- 50X TAE Elektroforez Tamponu (ThermoFisher)
- Etidyumbromür (MP Bio)
- 100 bp Marker (Promega)
- DNA Yükleme Boyası (Thermo Scientific)
- RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific)
- Taq Polimeraz Seti (Sigma)
- dNTP Seti (Thermo Scientific)

Primer listesi Primer3-PCR primer design tool kullanılarak dizayn edilmiştir (Primer 3).

Tablo 3: Primer listesi

|       |  |
|-------|--|
| MMP-2 | F: AAAGGAGGGCTGCATTGTGAA<br>R: CTGGGGAAGGACGTGAAGAGG           |
| MMP-3 | F: CTG GAA TGG TCT TGG CTC AT<br>R: CTG ACT GCA TCG AAG GAC AA |
| MMP-5 | F: TGC TTT GTC CTT TGA TGC AG<br>R: GTC TCG GGA AGC CTT TAT CC |
| MMP-9 | F: AGGTGCCTCGGATGGTTATCG<br>R: TGCTTGCCCAGGAAGACGAA            |

## 2.2. Metot

### 2.2.1. Hayvan Materyali

Bu araştırmada 250-300 g ağırlığında sahip 4-5 aylık 40 adet Wistar albino rat kullanıldı. Araştırma için Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından çalışma izni alındı (2017/35). Hayvanlar deney öncesi ve deney esnasında  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta, % 60-65 düzeyinde nemli ortamlarda ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsünün sağlandığı koşullarda, ad libitum olarak beslendi.

### 2.2.2. Deneysel Dizayn

Hayvanlar her grupta 10 adet rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

I. gruptaki hayvanlar kontrol grubu olarak belirlendi ve 14 gün boyunca oral gavaj ile 0.2 ml... serum fizyolojik verildi.

II. gruptaki hayvanlara 14 gün boyunca 100 mg/kg ZnO-Np oral gavaj ile uygulandı

III. grupta ki hayvanlara 14 gün boyunca 300 mg/kg ZnO-Np oral gavaj ile uygulandı

IV. gruptaki hayvanlara da 14 gün boyunca gruba 600 mg/kg ZnO-Np oral gavaj ile uygulandı (Tang ve ark., 2016).

14 günlük süre sonunda denekler eter anestezi altında servikal dislokasyon yöntemi ile öldürülerek karaciğer dokuları alındı ve laboratuvar analizlerinin yapılacağı güne kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### 2.2.3. TRI Reagent ile Total RNA İzolasyonu

- $-80^{\circ}\text{C}$ 'de alınan karaciğer dokularından 2 gram alınarak oda ısısına gelmesi beklemeden 1 ml TRI Reagent içerisinde homojenize edildi.
- 1 mL TRI reagent içerisinde konulan dokular, homojenizasyonun ardından sürekli pipetlenerek TRI reagent'in dokulara iyice nüfus etmesi amaçlanmıştır.
- 5 dk. oda sıcaklığında bekletilen homojenatlar ardından  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de bir gece bekletilmiştir.

- Bir gece bekletilen homojenatlar buz üzerinde çözdürülerek her 1mL TRI reagent için 200 µl kloroform eklenmiş ve 15 saniye boyunca hızlı bir şekilde çalkalanmıştır.
- Karışım 10 dk. boyunca oda ısısında bekletilmiş ve bu süre sonunda 15 dakika boyunca 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonunda oluşan üst faz, orta ve alt fazın alınmamasına dikkat edilerek yeni bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır.
- Yeni tüpe aktarılan üst fazın üzerine, kullanılan 1 mL TRI reagent için 500 µl izopropanol eklenerek 10 dk. boyunca oda ısısında bekletilmiştir.
- Karışım, süre sonunda 8 dk. boyunca 13.000 rpm'de santrifüje edilmiştir.
- Santrifüj sonunda karışım yavaş bir şekilde dökülerek pelet elde edilmiştir.
- Elde edilen peletin üzerine, kullanılan 1 mL TRI reagent için 1 mL %75'lik etanol eklenerek vortexlenmiş ve peletin etanol içerisinde çözünmesi sağlanmıştır.
- Vortexlenen karışım 5 dk. boyunca 7.500 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonunda karışım yavaş bir şekilde dökülerek tekrar pelet elde edilerek tüpler ters çevrilmiş ve 15-20 dk. boyunca oda ısısında tüplerin kuruması sağlanmıştır.
- Kurutma işleminin ardından pelet, 80 µl DNase/RNase içermeyen dH<sub>2</sub>O ile iyice çözülerek homojenize edilmiştir.

#### **2.2.4. RNA Örneklerinin NanoDrop ile Spektrofotometrik Olarak Miktar ve Kalite Tayini**

Nanodrop cihazı ile RNA örneklerinin, RNA çözeltilerinin hazırlanmış olduğu 1 µl RNA dH<sub>2</sub>O kör olarak okutularak, 280 nm dalga boyunda ortaama 1502 ng/µl RNA ölçülmüştür.



### 2.2.5. Total RNA Örneklerinden Geri Transkripsiyon (RT) yöntemi ile cDNA Kütüphanesinin Oluşturulması

- cDNA kütüphanesinin oluşturulması için Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit kullanılmıştır. Yürütülen tüm basamaklar kit protokolünde belirtilen yönergeler doğrultusunda yapılmıştır.
- RNA örneklerinden eşit yoğunlukta alınması için gereken miktar belirlenmiştir.
- RNA örnekleri bir pipet yardımıyla buz üzerinde tekrardan homojenize edilmiş ve 1. basamakta hesaplanan örnek miktarları PCR tüplerine aktarılmıştır.
- PCR tüplerine aktarılan örneklerin üzerine 1 µl Oligo (dT) primeri eklenerek son hacim steril dH<sub>2</sub>O ile 12 µl'ye tamamlanmıştır.
- Karışım pipet yardımı ile homojenize edilerek santrifüj edilmiştir (Tek spin).
- Spinlemeden sonra karışım, 65°C'de 5 dk. boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyonun ardından her tüpe 2 µl dNTP (10mM) mix, 1 µl RiboLock RNase Inhibitor (20 U/µl), 4 µl 5x Reaction Buffer ve 1 µl RevertAid M- MuLV RT (200 U/µl) eklendi.
- Son olarak karışım sırasıyla 42°C'de 60 dk. ve 70°C'de 5 dk. boyunca bekletilerek reaksiyonların tamamlanması sağlanmıştır.

### 2.2.6. Kullanılan DNA Primerlerin Çoğaltılması

cDNA içeren tüplerin her birinden 1 µl örnek DNA, 2,5µl 10X tampon, 2,5 µl MgCl<sub>2</sub> buffer, 2 µl dNTP, 2,5 µl MMP-primer-F, 2,5 µl MMP-primer R, 0,5 µl Taq DNA Polimeraz son olarak toplam hacmi 25 µl tamamlamak için 11,5 µl ddH<sub>2</sub>O eklenerek tüpler PCR cihazına yerleştirildi ve Tablo 5'de gösterilen PCR programları uygulandı. Elde edilen ürünler -20 °C'ye alındı.

Tablo 4: DNA örneklerine uygulanan PCR programı

94°C’de, 2dk  
94°C’de 1 dk,  
60°C’de, 1dk, } X 40  
72 °C’de 1 dk  
72°C’de 5dk  
4°C’de 5 dk

Tablo 5: DNA’nın çoğaltılmasında kullanılan primerler

|       |  |
|-------|--|
| MMP-2 | F: AAAGGAGGGCTGCATTGTGAA<br>R: CTGGGGAAGGACGTGAAGAGG           |
| MMP-3 | F: CTG GAA TGG TCT TGG CTC AT<br>R: CTG ACT GCA TCG AAG GAC AA |
| MMP-5 | F: TGC TTT GTC CTT TGA TGC AG<br>R: GTC TCG GGA AGC CTT TAT CC |
| MMP-9 | F: AGGTGCCTCGGATGGTTATCG<br>R: TGCTTGCCCAGGAAGACGAA            |

### 2.2.7. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrezinde Yürütülmesi

Tüm PCR ürünleri %1’lik agaroz jel elektrofrezde 60 dakika boyunca 90V’da yürütülerek UV görüntülemeleri yapılmıştır.

- 2 mL 50x TAE tamponu, dH<sub>2</sub>O ile 100mL’ye tamamlanmıştır.
- 1gr agaroz tartılarak 1. basamaktaki karışımın üzerine eklendi ve mikrodalga fırında agaroz eriyinceye dek, karışım aralıklarla karıştırılarak ısıtılmıştır.
- Homojen olarak çözünen agaroz çözeltisinin her 20 mL için 1 mL Etidyumbromür karışıma eklenerek elektrofrez kasetlerine dökülmüş ve jelin oluşması için 30 dakika bekletilmiştir.
- Elektrofrez kasetlerine takılan taraklar jel oluşumunun ardından nazikçe çıkartılarak elektrofrez tankının içerisine konulmuştur.

- Elektroforez tankının içerisine, elektrik iletkenliğinin sağlanması için 50x TAE tamponundan, dH<sub>2</sub>O yardımıyla 1x TAE çözeltisi hazırlanarak agaroz jelin üzerini yaklaşık 1cm aşacak şekilde eklenmiştir.
- Agaroz jel kuyucuklarının en başına ve en sonuna 1µl 100bp'lik marker + 2µl yükleme boyası, örnek kuyucuklarına ise 10µl PCR ürünü + 2µl yükleme boyası pipetlenerek konulmuştur.
- Tüm jel yürütmeleri 60 dakika boyunca 90V'de koşturulup ve son olarak UV görüntüleme sisteminde bant fotoğrafları çekilmiştir (Yıldız, 2017).

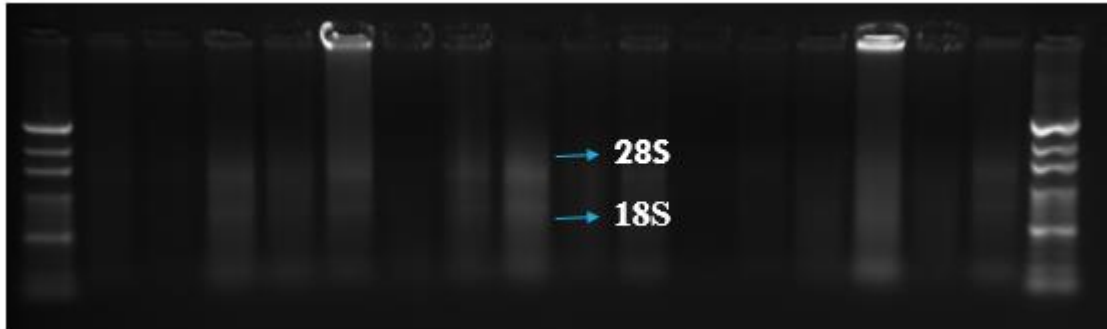


### 3. BULGULAR

Çinko Oksit Nanopartikülleri (ZnO-Np) kozmetik, tıp, antibakteriyel ajan ve katalizör olarak uygulamaları nedeniyle üretimi sürekli artış gösteren nano ölçekli malzemeler arasındadır. ZnO-Np, evsel ve endüstriyel atıksular yoluyla sudaki ekosistemlere salınması, balıklar ve diğer organizmalar üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Genotoksik, mutajenik veya sitotoksik etkiler gibi biyolojik etkilerde ZnO-Np'lerin çeşitli özellikleri (örneğin ebat, şekil, yüzey şarjı ve aglomerasyon durumu) merkezi bir rol oynamaktadır. Genel olarak, ZnO-Np maruz kalan hayvanlarda, Zn iyonları biyoakümüasyonu, histopatolojik, oksidatif ve hücresel stres ile hematolojik değişiklikler bildirilmiştir. Mevcut araştırmada ise ZnO-Np'nin vücutta metal tutucu özellik gösteren MMP'lerin (MMP-2, MMP-3, MMP-5 ve MMP-9) ekspresyonları üzerine etkileri belirlenmeye çalışılarak yapılacak diğer çalışmalar için kaynak teşkil edecektir. Aşağıda bu tez çalışması esnasında elde edilen bulguların tanımlaması yapılmıştır.

#### 3.1. RNA izolasyonu ve cDNA'nın elde edilmesi

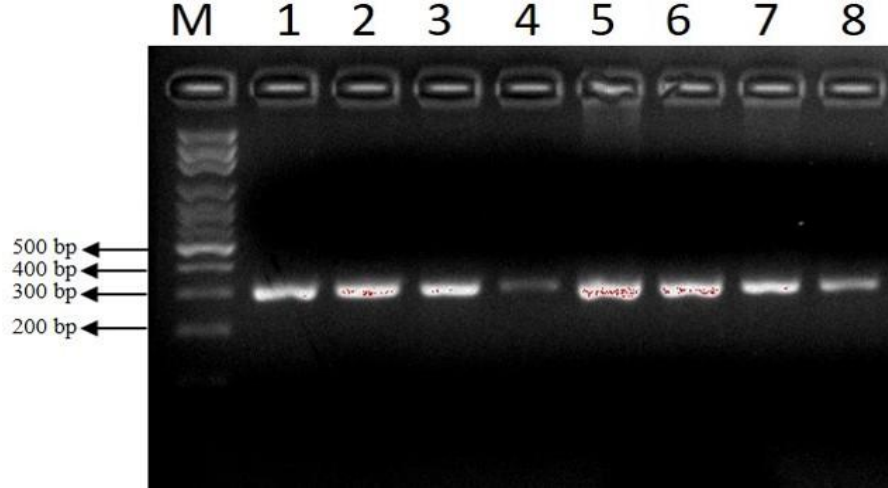
Ratlardan sırasıyla, total RNA izolasyonu ve RT deneyleri yukarıda belirtilen protokollere göre yapılmıştır. Buna göre deney sonuçları Şekil 10'da belirtilmiştir. TRI reagent kullanılarak elde edilen total RNA izolasyon ürünlerinin spektrofotometrik ölçümleri yapıldığında örneklerin yoğunluğu ortalama 1500 ng/ µl ve saflığı ortalama 2 olarak belirlenmiştir. cDNA eldesi için kullanılan toplam RNA yoğunluğunun 5 µg olması için gerekli RNA miktarı ortalama 4 µl olarak hesaplanmış ve Revert Aid First Strand cDNA synthesis Kit (#1622) kullanılarak cDNA eldesi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 10: Örneklerden elde edilen RNA izolasyonlarının agaroz jel görüntüsü

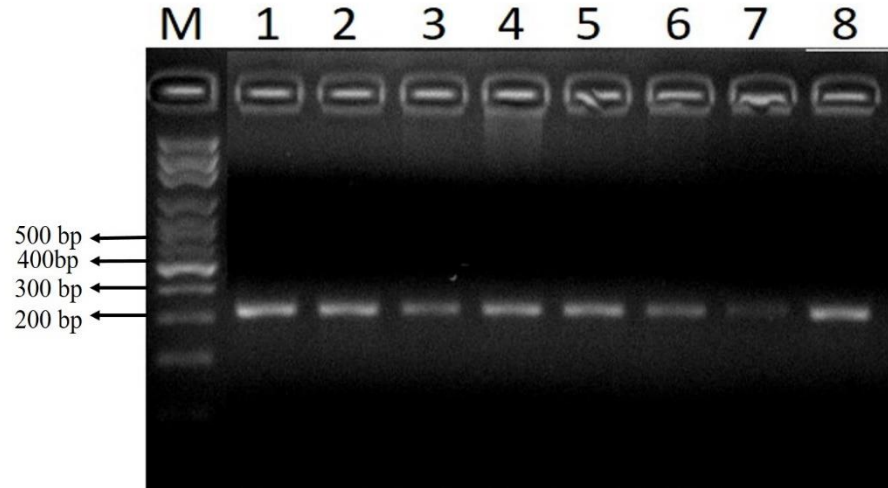
### 3.2. ZnO-Np maruziyetinde mRNA Seviyesinin Analizi

Serum fizyolojik verilmiş olan ratlarda MMP-2, MMP-3, MMP-5 ve MMP-9'da gen ekspresyonlarında yaklaşık olarak aynı düzeyde olduğu belirlendi (Şekil 11).



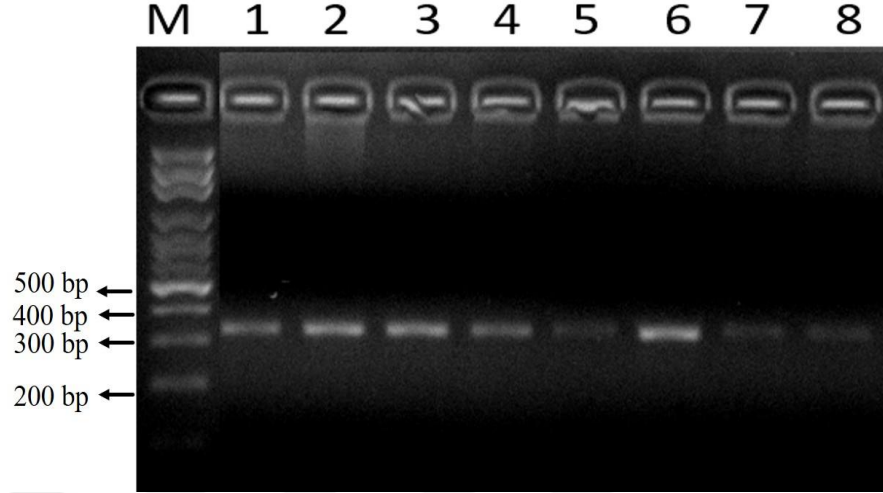
Şekil 11: Kontrol grubunun gen ekspresyonlarının agaroz jel görüntüsü. M: Marker (100 bp promega), 1,2: MMP-2, 3,4: MMP-3, 5,6: MMP-5, 7,8: MMP-9

100 mg/kg verilmiş olan ratlarda MMP-2, MMP-3, MMP-5 ve MMP-9 da gen ekspresyonlarında hemen hemen aynı düzeyde azalış olduğu belirlendi (Şekil 12).



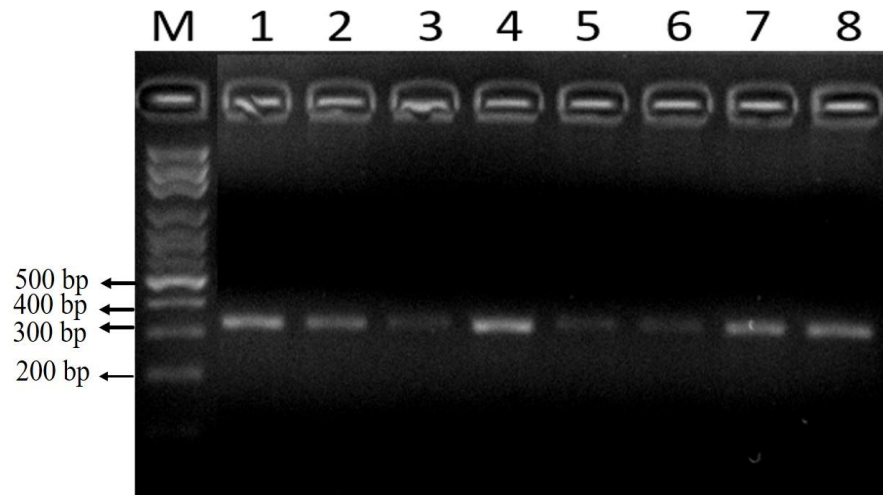
Şekil 12: 100 mg/kg verilmiş ratların gen ekspresyonlarının agaroz jel görüntüsü. M: Marker (100 bp promega) 1,2: MMP-2, 3,4: MMP-3, 5,6: MMP-5, 7,8: MMP-9

300 mg/kg verilmiş olan ratlarda MMP-2, MMP-3, MMP-5 gen ekspresyonlarında hemen hemen aynı düzeyde azalış olduğu, MMP-9 da ise diğer MMP'lere göre daha çok azalma olduğu belirlendi (Şekil 13).



Şekil 13: 300 mg/kg verilmiş ratların gen ekspresyonlarının agaroz jel görüntüsü. M: Marker (100 bp promega) 1,2: MMP-2, 3,4: MMP-3, 5,6: MMP-5, 7,8: MMP-9

600 mg/kg ZnO Np verilmiş olan ratlarda MMP-2, MMP-3, MMP-9 gen ekspresyon seviye hemen hemen aynı düzeyde azalış olduğu, MMP-5 de ise diğer MMP'lere göre daha çok azalma olduğu belirlendi (Şekil 14).



Şekil 14: 600 mg/kg verilmiş ratların gen ekspresyonlarının agaroz jel görüntüsü. M: Marker (100 bp promega)1,2: MMP-2, 3,4: MMP-3, 5,6: MMP-5, 7,8: MMP-9

#### 4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Birçok fizyolojik etkiye sahip olan ve yapısında  $Zn^{+2}$  bulunduran matriks metalloproteinazların (MMP 2, 3, 5, 9) ekspresyonlarının ZnO Np uygulamasına bağlı olarak nasıl etkilendiğinin araştırıldığı bu çalışmada farklı dozlarda ZnO Np uygulamasına bağlı olarak MMP enzimlerinin gen ekspresyonlarının inhibe olduğu belirlenmiştir.

Son zamanlarda geliştirilen nanomateryaller, biyoteknoloji ve yaşam bilimleri için analitik araçların yeni tiplerinin oluşturulmasında çok ilgi çekici bir etkiye sahiptir (Cui ve ark., 2001; Taton ve ark., 2000). Nanomateryaller, yeni kimyasal fonksiyonel ve fiziksel özelliklere sahip nano boyutta benzersiz araçların üretilmesinde katkı sunmaktadır (Colvin, 2003; Oberdörster, 2004). Nanoteknoloji, elektronik, plastik ve kozmetik gibi tüketici ürünlerinde kullanılan endüstrinin hızla büyüyen bir alanına sahiptir (Auffan ve ark., 2009; Monteiro-Riviere ve ark., 2009; Vippola ve ark., 2009). Günümüzde nano boyutlu tozların kullanımında büyük bir artış gözlenmektedir. Bu da insanların farklı yollarla biyolojik sistemlerine giren nanomalzemelere yoğun oranda maruz kalma riskini artırmaktadır (Donaldson ve ark., 2006; Johnston ve ark., 2010; Kroll ve ark., 2009; Oberdörster ve ark., 2005). Nanoboyutlu çinko oksit (ZnO) de elektronik ve optoelektronik özelliklerinden dolayı fotokatalist (Wang ve ark., 2007), güneş kremleri, optik araçlar, birçok kozmetik üründe ve buna benzer alanlarda kullanılmaktadır (Huang ve ark., 2010; Johnston ve ark., 2010). Yapılan bazı çalışmalarda nanopartiküllere maruz kalmanın istenmeyen yan etki oluşturduğunu doğrulamıştır (Igarashi, 2008; Nel ve ark., 2006; Nielsen ve ark., 2008; Reeves ve ark., 2008; Sharma ve ark., 2009). Nanopartiküllerin güvenliği ve toksisitesi hakkındaki bilgiler zamanla giderek artış göstermesine rağmen, elde edilen bilgiler hala yeterli olmadığı gibi çok sınırlıdır ve bu sebeple de bu alanda yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır (Auffan ve ark., 2009; Johnston ve ark., 2010; Kroll ve ark., 2009; Monteiro-Riviere ve ark., 2009; Sharma ve ark., 2009). Nanotoksikoloji alanında yapılan çalışmalar genelde farklı nanopartiküllerin toksisitesinin değerlendirilmesi empirik yöntemler üzerine yoğunlaşmıştır ancak nanopartikül özellikleri (şekil, dağılım, kimyasal kompozisyon, kümelenme, boyut) ve toksisite üzerindeki çalışmalar yeterli oranda değildir (Hu ve ark., 2009). Küçük boyutlu olmaları ve geniş yüzey alanına sahip olmalarından dolayı metal oksit nanopartikülleri

yüksek kimyasal reaktivite ve intrinsik toksiteye sahiptirler. Son zamanlarda nanotoksikoloji çalışmalarının çoğu nanoboyutlu metal oksit nanopartikülleri üzerine yoğunlaşmıştır (Hu ve ark., 2009). Yine ZnO nanopartiküllerin patolojik değişikliklere etki edip etmediğinin araştırıldığı başka bir çalışmada, ZnO nanopartiküllerinin fagozom içersinde hızlı, pH bağımlı çözünmesinin ZnO Np'nin neden olduğu çeşitli progresif ciddi akciğer hasarlarının ana sebebi olduğunu ileri sürmüşlerdir (Cho ve ark., 2011). Faddah ve ark. (2012) iki farklı tozdaki ZnO nanopartikül tarafından quercetin (Qur) ve arginin (Arg) ile tedavi edilen nefrotoksisite üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada Qur'un ZnO nanopartiküllerin oksitatif stresi ile ilgili vasküler komplikasyonlara karşı yararlı bir etkiye neden olduğu ve Arg ile kompinyasyonunun ZnO nefrotoksisitesini azalttığını ortaya koymuşlardır (Faddah ve ark., 2012). Diyabetik hayvanlarda ZnO ve gümüş nanopartiküllerin etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada da ZnO ve şerit nanoparçacıkların güçlü antidiyabetik ajanlar olarak işlev gördüğü bulunmuştur (Alkaladi ve ark., 2014). Afifi ve ark. (2015) ZnO nanopartiküllerin diyabetik sıçanların testis dokusundaki oksitatif durumu ve spermilerin üzerindeki etkiyi incelediklerinde ZnO nanopartikül uygulanan diyabetik sıçanların testis dokusunda GSH'nin arttığı, insülinle kompinyasyon halinde ise diyabetin neden olduğu oksitatif strese karşı testis dokusunu ve sperm motilitesini artırdığı ortaya koymuşlardır (Afifi ve ark., 2015). Espanani ve ark. (2015)'da farklı dozlarda çinko oksit verdikleri ratlarda lenfosit ve trombosit sayısında azalma olduğunu fakat lökosit, hemoglobin ve hemotokrit sayısında belirligin bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Espanani ve ark., 2015). Fukui ve ark. (2015) askorbit asitin ZnO Np aracılı olarak rat akciğerleri üzerinde indüklenmiş akut oksitatif stresi artmış LDH ve IL-6 konsantrasyonunu azalttığını ortaya konmuşlardır (Fukui ve ark., 2015). Hassan ve ark. (2017) hepotosit üzerinde yaptıkları hepatosolüler karsinom (HCC) karşı ZnO nanopartikül uygulamışlardır. Uygulamada ZnO nanopartiküllerin HCC'de ümit verici bir prelinik çalışmalardır. Anti-kanser etkinliğinin olduğunu ve HCC tedavisi için yeni bir strateji olabileceğini ortaya koymuşlardır (Hassan ve ark., 2017).

Matriks Metalloproteinaz (MMP) ekstraselüler matriks ile bazal membran komponentlerin parçalama yeteneği yapısına sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren, kalsiyuma bağımlı homolog bir enzim grubudur (Moldovan, 2005). Matriks metalloproteinazlar proteinazların 5 alt sınıfından biri olan metalloproteinazlar enzim



ailesindedir. Büyük oranlarda bağ dokusu hücreleri ile inflamatuvar fagositler tarafından salınmaktadır. Matriks metalloproteinazlar yara iyileşmesi, doku yenilenmesi, morfogenez ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik durumlarda önemli olması yanında kanser invazyonu, anjiyogenezis ve metastaz gibi patolojik süreçlerde önemli yer almaktadırlar (Moldovan, 2005; Wiseman ve ark., 2003). Fizyolojik şartlarda, matriks metalloproteinazlar embriyonik büyüme dokusu olan morfogenez ve büyümenin devamlılığı için bağ dokusunda üretilmektedir. Bu üretim menstürel siklus, doku tahribatının tamiri ve yara iyileşmesi gibi birçok fizyolojik olayda önem arz etmektedir (Maskos, 2005; Moldovan, 2005). Doku hasarının yeniden yapılandırılmasında MMP'lerin önemini gösteren birçok çalışma mevcuttur (Hägglund ve ark., 1999; Pilcher ve ark., 1997; Wiseman ve ark., 2003). Matriks metalloproteinaz genlerinin, menstrüel siklus, uterus, prostat ve meme involusyonu sırasında yüksek düzeyde eksprese edildiği ortaya çıkarılmıştır (Curry Jr ve Osteen, 2003; Hulboy ve ark., 1997). Ayrıca gonadotropinin indüklediği ovulasyonda MMP genlerinin eksprese olduğu ve MMP'lerin folliküler duvar yıkımına neden olduğu belirtilmiştir (Curry Jr ve Osteen, 2003; Hägglund ve ark., 1999). Liu ve ark., 2017) çalışmalarında nikotinin matriks metalloproteinaz (MMP-2 ve MMP-9 ) üzerindeki etkisini incelediklerinde, nikotin ile uyarılan MMP-2 ve MMP-9 sekresyonlarını belirgin bir şekilde azaldığını belirtmişlerdir. Çinko'nun Fetal büyüme kısıtlaması (FGR) üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, çinkonun MMP-2 ve MMP-9 aktivitesini artırarak trofoblast hücre invazyonunu ve migrasyon kabiliyetlerini bariz şekilde artırdığını ve MMP-2, MMP-9 ekspresyon seviyelerinin doza bağımlı olan çinko ile trofoblast hücrelerinde buna uygun olarak arttığı belirtilmiştir (Zong ve ark., 2017). Boumiza ve ark. (2017) obezite ve MMP-1, MMP-3, MMP-7 ve MMP-12 arasındaki ilişkiyi incelemek için 168 obez bireyin biyokimyasal ve mikrovasküler parametrelerini değerlendirmiş ve MMP-3, MMP-7 ve MMP-12 polimorfizmleri obezite riski ve şiddeti ile ilişkili olduğuna kanaatine varmışlardır (Boumiza ve ark., 2017). Farklı dozlarda naringenin artritik sıçanlardaki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da matriks metalloproteinaz (MMP-3, MMP-9) enzimlerinin ekspresyonlarının azaltıldığı belirtilmiştir (Fan ve ark., 2017). Kang ve ark. (2017) tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada oleik asitin doğrudan artiküler kondrositlere etki ettiği ve MMP-3'ün aktivitesini, sekresyonunu ve gen ekspresyonunu düzenleyebileceğini ileri sürmüşlerdir

(Kang ve ark., 2017). Çinko oksitin MMP zerine etkisi ile ilgili olarak fazla bir araştırma bulunmamakla birlikte, Fetal büyüme kısıtlaması (FGR) zerine  $Zn^{+2}$  etkisinin araştırıldığı bir çalışmada,  $Zn^{+2}$  uygulamasına bağlı olarak MMP-2 ve MMP-9'un ekspresyonlarının arttığı belirtilmektedir (Zong ve ark., 2017). Mevcut araştırmada da genlerin ekspresyon seviyeleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre 100, 300 ve 600 mg/kg dozlarda ZnO Np verilen ratların gen ekspresyon düzeylerinin düştüğü görülmüştür. Bunun sebebinin ise yapılarında (katalitik alan) Zn'nin bulunduran MMP'lerin ZnO Np kullanıldığında bu bölgeye bağlanması ve Zn iyonlarının yerine geçerek ekspresyonlarını inhibe ettiği düşünülmektedir. Bununla birlikte; doz miktarı artıkça gen ekspresyonlarının düştüğü görülmüştür ancak, MMP-2, MMP-3, MMP-5 ve MMP-9 genlerinin kendi içlerinde ekspresyon düzeyleri değişkenlik göstermemektedir. Bunun sebebinin ise, aynı gen ailesine ait olan MMP'lardaki moleküler yapılarındaki büyük benzerliklerden kaynaklandığı kanısındayız.

## 5. KAYNAKLAR

- Abdelkarem, H.M., Fadda, L.H., El-Sayed, E.M., Radwan, O.K., (2017). Potential Role of L-Arginine and Vitamin E Against Bone Loss Induced by Nano-Zinc Oxide in Rats. *Journal of Dietary Supplements*, 1–11.
- Afifi, M., Almaghrabi, O.A., Kadasa, N.M., (2015). Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on antioxidants and sperm characteristics in streptozotocin-induced diabetic rat testes. *BioMed Research International*, 2015, Article ID 153573, 6 pages.
- Akın, M.B., (2011). Çinko oksit kristalizasyonunun polielektrolitlerle kontrolü (Doktora Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Akyüz, T., (2017). Çinko Oksitin Antibakteriyel Etkisi (Yüksek Lisans Tezi). Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çankırı.
- Alkaladi, A., Abdelazim, A.M., Afifi, M., (2014). Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 2015–2023.
- Alonso, M.J., (1996). Nanoparticulate drug carrier technology. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, 77, 203–242.
- Auffan, M., Rose, J., Wiesner, M.R., Bottero, J.-Y., (2009). Chemical stability of metallic nanoparticles: a parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro. *Environmental Pollution*, 157, 1127–1133.
- Aydin Sevinç, B., Hanley, L., (2010). Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research*, 22–31.
- Berk, S., Akkurt, İ., (2012). Nanopartikül: Geleceğin korkulu rüyası. *Tuberk Toraks*, 60, 180–4.

- Binnig, G., Rohrer, H., Gerber, C., Weibel, E., (1982). Surface studies by scanning tunneling microscopy. *Physical Review Letters*, 49, 57.
- Bogunia-Kubik, K., Sugisaka, M., (2002). From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *Biosystems*, 65, 123–138.
- Borm, P.J., (2002). Particle toxicology: From coal mining to nanotechnology. *Inhalation Toxicology*, 14, 311-324.
- Borm, P.J., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, W., Lademann, J., (2006). The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology*, 3, 11.
- Boumiza, S., Bchir, S., ben Nasr, H., Abbassi, A., Jacob, M.-P., Norel, X., Tabka, Z., Chahed, K., (2017). Role of MMP-1 (-519A/G,-1607 1G/2G), MMP-3 (Lys45Glu), MMP-7 (-181A/G), and MMP-12 (-82A/G) Variants and Plasma MMP Levels on Obesity-Related Phenotypes and Microvascular Reactivity in a Tunisian Population. *Disease Markers*, 2017, Article ID 6198526, 16 pages.
- Bourboulia, D., Stetler-Stevenson, W.G., (2010). Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion, in: *Seminars in Cancer Biology*, 20(3), 161–168.
- Bozkir, A., Saka, O.M., (2005). Formulation and investigation of 5-FU nanoparticles with factorial design-based studies. *II Farmaco*, 60 (10), 840–846.
- Buzea, C., Pacheco, I.I., Robbie, K., (2007). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17–MR71.
- Bystrzejewska-Piotrowska, G., Golimowski, J., Urban, P.L., (2009). Nanoparticles: their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Management*, 29, 2587–2595.
- Chen, H., Kou, X., Yang, Z., Ni, W., Wang, J., (2008). Shape-and size-dependent refractive index sensitivity of gold nanoparticles. *Langmuir*, 24, 5233–5237.

- Cho, W.-S., Duffin, R., Howie, S.E., Scotton, C.J., Wallace, W.A., MacNee, W., Bradley, M., Megson, I.L., Donaldson, K., (2011). Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles; the role of Zn<sup>2+</sup> dissolution inside lysosomes. *Particle and Fibre Toxicology*, 8, 27.
- Cho, W.-S., Duffin, R., Poland, C.A., Duschl, A., Oostingh, G.J., MacNee, W., Bradley, M., Megson, I.L., Donaldson, K., (2012). Differential pro-inflammatory effects of metal oxide nanoparticles and their soluble ions in vitro and in vivo; zinc and copper nanoparticles, but not their ions, recruit eosinophils to the lungs. *Nanotoxicology*, 6, 22–35.
- Çıracı, S., Özbay, E., Gülseren, O., Demir, H.V., Bayındır, M., Oral, A., Senger, T., Aydınlı, A., Dana, A., (2005). Türkiye’de Nanoteknoloji. TÜBİTAK Bilim Ve Teknik Dergisi.
- Çırpanlı, Y., (2009). Kamptotesin içeren polimerik ve oligosakkarit bazlı nanopartiküler formülasyonların geliştirilmesi ve in vitro-in vivo değerlendirilmesi. (Doktora Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Colvin, V.L., (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*, 21, 1166.
- Couvreur, P., Puisieux, F., (1993). Nano-and microparticles for the delivery of polypeptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 10, 141–162.
- Cui, Y., Wei, Q., Park, H., Lieber, C.M., (2001). Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species. *Science*, 293, 1289–1292.
- Curry Jr, T.E., Osteen, K.G., (2003). The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocrine Reviews*, 24, 428–465.
- Dawei, A.I., Zhisheng, W., Anguo, Z., (2010). Protective effects of nano-ZnO on the primary culture mice intestinal epithelial cells in in vitro against oxidative injury. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6, 149–153.

- Demir, Z., (2013). Kristal alan varlığında nanoparçacığın manyetik özelliklerinin büyüklüğe bağlı olarak incelenmesi. (Doktora Tezi). Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Derman Acar, S., (2012). Canine parvovirus'e ait antijenik özellikli sentetik peptidlerin sentezi ve biyokonjugatlarının geliştirilmesi (Doktora Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Dollery, C.M., McEwan, J.R., Henney, A.M., (1995). Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circulation Research*, 77, 863–868.
- Donaldson, K., Aitken, R., Tran, L., Stone, V., Duffin, R., Forrest, G., Alexander, A., (2006). Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. *Toxicological Sciences*, 92, 5–22.
- Dutta, R.K., Nenavathu, B.P., Gangishetty, M.K., Reddy, A.V.R., (2012). Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 94, 143–150.
- El-Gharbawy, R.M., Emara, A.M., Abu-Risha, S.E.-S., (2016). Zinc oxide nanoparticles and a standard antidiabetic drug restore the function and structure of beta cells in Type-2 diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 810–820.
- Erol-Demirbilek, M., (2015). Tarımda ve Gıdada Nanoteknoloji. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi. Journal of Food Science and Technology*, 15, 46–53.
- Espanani, H.R., Faghfoori, Z., Izadpanah, M., Babadi, V.Y., (2015). Toxic effect of nano-zinc oxide. *Bratislavske lekarske listy*, 116, 616–620.
- Evans, J.D., Ghaneh, P., Kawesha, A., Neoptolemos, J.P., (1997). Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion*, 58, 520–528.
- Faddah, L.M., Baky, N.A.A., Al-Rasheed, Nouf M., Al-Rasheed, Nawal M., Fatani, A.J., Atteya, M., (2012). Role of quercetin and arginine in ameliorating nano zinc

oxide-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 1062.

Fan, R., Pan, T., Zhu, A.-L., Zhang, M.-H., (2017). Anti-inflammatory and anti-arthritic properties of naringenin via attenuation of NF- $\kappa$ B and activation of the heme oxygenase (HO)-1/related factor 2 pathway. *Pharmacological Reports*, 69, 1021–1029.

Fukui, H., Iwahashi, H., Endoh, S., Nishio, K., Yoshida, Y., Hagihara, Y., Horie, M., (2015). Ascorbic acid attenuates acute pulmonary oxidative stress and inflammation caused by zinc oxide nanoparticles. *Journal of Occupational Health*, 57, 118–125.

Gad, S.C., (2000). *In vitro toxicology*. CRC Press.

Gürsoy, A., (1989). *Kontrollu ilaç serbestleştirilen sistemler*. Marmara Üniversitesi, İstanbul.

Hägglund, A.-C., Ny, A., Leonardsson, G., Ny, T., (1999). Regulation and localization of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in the mouse ovary during gonadotropin-induced ovulation. *Endocrinology*, 140, 4351–4358.

Hagiwara, K., Hikasa, K., Nakamura, K., Tanabashi, M., Aguilar-Benitez, M., Amsler, C., Barnett, Rm., Burchat, P.R., Carone, C.D., Caso, C., (2002). Review of particle physics. *Physical Review D*, 66, 100011–10001958.

Hassan, H.F.H., Mansour, A.M., Abo-Youssef, A.M.H., Elsadek, B.E., Messiha, B.A.S., (2017). Zinc oxide nanoparticles as a novel anticancer approach; in vitro and in vivo evidence. *Clinical and Experimental Pharmacology*, 44, 235–243.

Heideman, G., (2004). Reduced zinc oxide levels in sulphur vulcanisation of rubber compounds-mechanistic aspects of the role of activators and multifunctional additives.

Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H.-C., Kahru, A., (2008). Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and

- crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71, 1308–1316.
- Hennig, J., (2014). *Bildpraxis: visuelle Strategien in der frühen Nanotechnologie*. transcript Verlag.
- Hidalgo, M., Eckhardt, S.G., (2001). Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. *Journal of the National Cancer Institute*, 93, 178–193.
- Hong, R.Y., Chen, L.L., Li, J.H., Li, H.Z., Zheng, Y., Ding, J., (2007). Preparation and application of polystyrene-grafted ZnO nanoparticles. *Polymers for Advanced Technologies*, 18, 901–909.
- Hu, X., Cook, S., Wang, P., Hwang, H., (2009). In vitro evaluation of cytotoxicity of engineered metal oxide nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 407, 3070–3072.
- Huang, C.-C., Aronstam, R.S., Chen, D.-R., Huang, Y.-W., (2010). Oxidative stress, calcium homeostasis, and altered gene expression in human lung epithelial cells exposed to ZnO nanoparticles. *Toxicology in Vitro*, 24, 45–55.
- Hulboy, D.L., Rudolph, L.A., Matrisian, L.M., (1997). Matrix metalloproteinases as mediators of reproductive function. *Molecular Human Reproduction*, 3, 27–45.
- Igarashi, E., (2008). Factors affecting toxicity and efficacy of polymeric nanomedicines. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 229, 121–134.
- Johnston, H.J., Semmler-Behnke, M., Brown, D.M., Kreyling, W., Tran, L., Stone, V., (2010). Evaluating the uptake and intracellular fate of polystyrene nanoparticles by primary and hepatocyte cell lines in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 242, 66–78.
- Jones, M.-C., Leroux, J.-C., (1999). Polymeric micelles—a new generation of colloidal drug carriers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 48, 101–111.



- Jones, N., Ray, B., Ranjit, K.T., Manna, A.C., (2008). Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 279, 71–76.
- Kang, D.-G., Lee, H.J., Kim, K.T., Hwang, S.-C., Lee, C.J., Park, J.S., (2017). Effect of oleanolic acid on the activity, secretion and gene expression of matrix metalloproteinase-3 in articular chondrocytes in vitro and the production of matrix metalloproteinase-3 in vivo. *The Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 21, 197–204.
- Kaş, H.S., (2002). İlaç taşıyıcı partiküler sistemler. *Kontrollü Salım Sist.* Eds Gürsoy A 82–88.
- Kittelson, D.B., (2001). Recent measurements of nanoparticle emissions from engines. *Controlled Diesel Exhaust and Allergen Coexposure*, 451–457.
- Klingshirn, C., (2007). ZnO: From basics towards applications. *physica status solidi*, 244, 3027–3073.
- Krizkova, S., Zítka, O., Masarik, M., Adam, V., Stiborova, M., Eckschlager, T., Hubalek, J., Kizek, R., (2011). Clinical importance of matrix metalloproteinases. *Bratislavské lekárske listy*, 112, 435–440.
- Kroll, A., Pillukat, M.H., Hahn, D., Schnekenburger, J., (2009). Current in vitro methods in nanoparticle risk assessment: limitations and challenges. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, 370–377.
- Kumari, A., Yadav, S.K., Yadav, S.C., (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75, 1–18.
- Kuo, C.-H.S., Pavlidis, S., Loza, M., Baribaud, F., Rowe, A., Pandis, I., Hoda, U., Rossios, C., Sousa, A., Wilson, S.J., (2017). A transcriptome-driven analysis of epithelial brushings and bronchial biopsies to define asthma phenotypes in U-BIOPRED. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 195, 443–455.

- Liu, L., Wu, H., Cao, Q., Guo, Z., Ren, A., Dai, Q., (2017). Stimulation of Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Attenuates Nicotine-Induced Upregulation of MMP, MCP-1, and RANTES through Modulating ERK1/2/AP-1 Signaling Pathway in RAW264.7 and MOVAS Cells. *Mediators of Inflammation*, 2017.
- Maskos, K., (2005). Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors. *Biochimie*, 87, 249–263.
- Mbonyiryivuze, A., Zongo, S., Diallo, A., Bertrand, S., Minani, E., Yadav, L.L., Mwakikunga, B., Dhlamini, S.M., Maaza, M., (2015). Titanium dioxide nanoparticles biosynthesis for dye sensitized solar cells application. *Physics and Materials Chemistry*, 3 (1), 12-17.
- Moezzi, A., McDonagh, A.M., Cortie, M.B., (2012). Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications. *Chemical Engineering Journal*, 185, 1–22.
- Moldovan, N.I., (2005). Angiogenesis, l'enfant terrible of vascular biology is coming to age. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 9, 775–776.
- Monteiro-Riviere, N.A., Inman, A.O., Zhang, L.W., (2009). Limitations and relative utility of screening assays to assess engineered nanoparticle toxicity in a human cell line. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 234, 222–235.
- Murphy, G., Willenbrock, F., Crabbe, T., O'SHEA, M., Ward, R., Atkinson, S., O'CONNELL, J., Docherty, A., (1994). Regulation of matrix metalloproteinase activity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 732, 31–41.
- Nagase, H., Woessner, J.F., (1999). Matrix metalloproteinases. *Journal of Biological Chemistry*, 274, 21491–21494.
- Nel, A., Xia, T., Mädler, L., Li, N., (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *science* 311, 622–627.

- Nielsen, G.D. ard, Roursgaard, M., Jensen, K.A., Poulsen, S.S., Larsen, S.T., (2008). In vivo biology and toxicology of fullerenes and their derivatives. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 103, 197–208.
- Oberdörster, E., (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environmental Health Perspectives*, 112, 1058.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., Oberdörster, J., (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113, 823.
- Osmond-McLeod, M.J., Osmond, R.I., Oytam, Y., McCall, M.J., Feltis, B., Mackay-Sim, A., Wood, S.A., Cook, A.L., 2013. Surface coatings of ZnO nanoparticles mitigate differentially a host of transcriptional, protein and signalling responses in primary human olfactory cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 10, 54.
- Overall, C.M., López-Otín, C., (2002). Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nature Reviews. Cancer*, 2, 657.
- Özer, Y., (2008). Nanobilim ve nanoteknoloji: ülke güvenliği/etkinliği açısından doğru modelin belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi ). Kara Harp Okulu Savunma Bilimleri Enstitüsü Teknoloji Önetimi Ana Bilim Dalı, Ankara.
- Özge Balpınar Nalcı, (2017). ZnO,CuO ve Fe3O4 Nanopartiküllerin yeşil sentezi ve Buğday Genotipleri Üzerindeki etkilerinin Doku Kültüründe Araştırılması. (Doktora Tezi). Atatürk üniversitesi, Erzurum.
- Özgür, Ü., Alivov, Y.I., Liu, C., Teke, A., Reshchikov, Ma., Doğan, S., Avrutin, V., Cho, S.-J., Morkoc, H., (2005). A comprehensive review of ZnO materials and devices. *Journal of Applied Physics*, 98, 11.
- Panyam, J., Sahoo, S.K., Prabha, S., Bargar, T., Labhasetwar, V., (2003). Fluorescence and electron microscopy probes for cellular and tissue uptake of poly (D, L-lactide-co-glycolide) nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 262, 1–11.

- Pilcher, B.K., Dumin, J.A., Sudbeck, B.D., Krane, S.M., Welgus, H.G., Parks, W.C., (1997). The activity of collagenase-1 is required for keratinocyte migration on a type I collagen matrix. *The Journal of Cell Biology*, 137, 1445–1457.
- Porter, F.C., (1991). *Zinc handbook: properties, processing, and use in design*. Crc Press.
- Putnam, K.P., Bombick, D.W., Doolittle, D.J., (2002). Evaluation of eight in vitro assays for assessing the cytotoxicity of cigarette smoke condensate. *Toxicology in Vitro*, 16, 599–607.
- Randall, D.A., Wood, R.A., Bony, S., Colman, R., Fichet, T., Fyfe, J., Kattsov, V., Pitman, A., Shukla, J., Srinivasan, J., (2007). Climate models and their evaluation, in: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the IPCC (FAR)*. Cambridge University Press, pp. 589–662.
- Reel, B., (2006). Matriks metalloproteinaz enzimleri ve ateroskleroz. *Academic Journals*, 26, 527–537.
- Reeves, J.F., Davies, S.J., Dodd, N.J., Jha, A.N. (2008). Hydroxyl radicals (OH) are associated with titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticle-induced cytotoxicity and oxidative DNA damage in fish cells. *Mutat Res Fund Mol Mech Mutagen*, 640, 113–122.
- Roco, M.C., (2005). International perspective on government nanotechnology funding in 2005. *Journal of Nanoparticle Research*, 7, 707–712.
- Roco, M.C., (2003). Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 337–346.
- Sawai, J., Kawada, E., Kanou, F., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., Shimizu, M., (1996). Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 29, 627–633.

- Sayar, F., (2010). Production of Nanoparticles and Their Applications in Nanomedicine (Doktora Tezi). Hacettepe University, Chemical Engineering Department and Bioengineering Division, Turkey.
- Scott, N., Chen, H., (2013). Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. *Industrial Biotechnology*, 9, 17–18.
- Seaton, A., Donaldson, K., (2005). Nanoscience, nanotoxicology, and the need to think small. *The Lancet* 365, 923–924.
- Şengel-Türk, C.T., Hasçıçek, C., gönül, N., (2007). Nanoparticulate drug delivery systems for targeting the drugs to the brain. *Journal of Neurological Sciences*, 30(34); 235-239
- Sethi, C.S., Bailey, T.A., Luthert, P.J., Chong, N.H.V., (2000). Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *British Journal of Ophthalmology (BJO)*, 84, 654–666.
- Sharma, V., Shukla, R.K., Saxena, N., Parmar, D., Das, M., Dhawan, A., (2009). DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicology Letters*, 185, 211–218.
- Singh, M., Chakrapani, A., O’Hagan, D., (2007). Nanoparticles and microparticles as vaccine-delivery systems. *Expert Review of Vaccines*, 6, 797–808.
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N.H.M., Ann, L.C., Bakhori, S.K.M., Hasan, H., Mohamad, D., (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7, 219–242.
- Soppimath, K.S., Kulkarni, A.R., Aminabhavi, T.M., (2001). Chemically modified polyacrylamide-g-guar gum-based crosslinked anionic microgels as pH-sensitive drug delivery systems: preparation and characterization. *Journal of Controlled Release*, 75, 331–345.

- Tang, H.-Q., Xu, M., Rong, Q., Jin, R.-W., Liu, Q.-J., Li, Y.-L., (2016). The effect of ZnO nanoparticles on liver function in rats. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 4275.
- Taton, T.A., Mirkin, C.A., Letsinger, R.L., (2000). Scanometric DNA array detection with nanoparticle probes. *Science* 289, 1757–1760.
- Torchilin, V.P., (2001). Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems *Journal of Controlled Release*, 73, 137–172.
- Tüzün, Y., Güler, M., Oğuz, O., Aksungur, V., (2008). *Dermatoloji*, 3rd ed. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Usta, M., (2012). Biokütle destekli nanopartiküllerin sentezi ve karakterizasyonu (Doktora Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Venkatesh, V., Thong, J.Y., Xu, X., (2012). Consumer acceptance and use of information technology: extending the unified theory of acceptance and use of technology. *MIS Quarterly*, 36(1), 157–178.
- Vippola, M., Falck, G.C.M., Lindberg, H.K., Suhonen, S., Vanhala, E., Norppa, H., Savolainen, K., Tossavainen, A., Tuomi, T., (2009). Preparation of nanoparticle dispersions for in-vitro toxicity testing. *Human & Experimental Toxicology*, 28, 377–385.
- Visse, R., Nagase, H., (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Research*, 92, 827–839.
- Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T., Ma, Y., Jia, G., Gao, Y., Li, B., Sun, J., (2007). Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology Letters*, 168, 176–185.
- Wang, Y.-L., Gao, Y.-L., Wang, P.-P., Shang, H., Pan, S.-Y., Li, X.-J., (2013). Sol-gel molecularly imprinted polymer for selective solid phase microextraction of organophosphorous pesticides. *Talanta*, 115, 920–927.

- Wiseman, B.S., Sternlicht, M.D., Lund, L.R., Alexander, C.M., Mott, J., Bissell, M.J., Soloway, P., Itohara, S., Werb, Z., (2003). Site-specific inductive and inhibitory activities of MMP-2 and MMP-3 orchestrate mammary gland branching morphogenesis. *The Journal of Cell Biology*, 162, 1123–1133.
- Xu, J., Futakuchi, M., Alexander, D.B., Fukamachi, K., Numano, T., Suzui, M., Shimizu, H., Omori, T., Kanno, J., Hirose, A., (2014). Nanosized zinc oxide particles do not promote DHPN-induced lung carcinogenesis but cause reversible epithelial hyperplasia of terminal bronchioles. *Archives of Toxicology*, 88, 65–75.
- Yamamoto, O., (2001). Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *International Journal of Inorganic Materials*, 3, 643–646.
- Yıldız, B., (2017). K r farelerde hipoksi ve normoksinin TRAIL aracılı Hücre  l m nde rol oynayan ligand, resept r ve anti-apoptotik yapılar üzerindeki etkilerinin araştırılması ve DR4, DR5, DcR1, DcR2, OPG, cIAP-1, cIAP-2, XIAP ve FLIP genlerinin moleküler karakterizasyonu. (Doktora Tezi). Kafkas Üniversitesi, Kars.
- Zong, L., Wei, X., Gou, W., Huang, P., Lv, Y., (2017). Zinc improves learning and memory abilities of fetal growth restriction rats and promotes trophoblast cell invasion and migration via enhancing STAT3-MMP-2/9 axis activity. *Oncotarget*, 8, 115190.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Aycan CANLI

Doğum Yeri ve Tarihi : Sur - 1987

Yabancı Dili : İngilizce

İletişim (e-posta) : aycancanli0108@gmail.com

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Melik Ahmet Lisesi – Diyarbakır - 2006

Lisans : Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji  
Bölümü - 2012.

Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,  
Biyomühendislik AD. 2016-Devam ediyor.

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl :

Yayımları (SCI ve diğer) :

Diğer konular