



Model Organizma *Galleria mellonella* L.'da Bakır Nanopartiküllerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Benay TUNÇSOY

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Adana, Türkiye

Geliş/Received: 25.02.2021

Kabul/Accepted: 28.04.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

Atf yapmak için: Tunçsoy, B. (2021). Model Organizma *Galleria mellonella* L.'da Bakır Nanopartiküllerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(5), 278-284.

How to cite: Tunçsoy, B. (2021). Evaluation of the Effects of Copper Nanoparticles on Oxidative Stress in the Model Organism *Galleria mellonella* L. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(5), 278-284.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-4361-3475>

***Sorumlu yazarın:**

Benay TUNÇSOY
Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji
Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Biyomühendislik Bölümü, Adana, Türkiye
✉: btuncsoy@atu.edu.tr

Öz: Yapılan çalışmada farklı derişimlerdeki bakır oksit nanopartiküllerinin (10, 100 ve 1000 µg/mL) *Galleria mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon-s-transferaz (GST) ve asetilkolinesteraz (AChE) aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Farklı derişimlerdeki bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokularında tüm uygulama gruplarında CAT, SOD ve AChE aktivitelerinde azalma tespit edilirken, 100 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulaması yapılan grupta GPx aktivitelerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca GST aktivitesinde tüm uygulama gruplarında yağ dokuda azalma, orta barsakta ise artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Genel olarak, bu bulgular, *G. mellonella* larvalarında bakır oksit nanopartikülünün toksisitesi sonucunda reaktif oksijen türlerinin birikimi nedeniyle oksidatif stresin meydana geldiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan enzimler, bakır nanopartikülleri, *Galleria mellonella*.

Evaluation of the Effects of Copper Nanoparticles on Oxidative Stress in the Model Organism *Galleria mellonella* L.

Abstract: In this study, the effects of copper oxide nanoparticles at different concentrations (10, 100 and 1000 µg/mL) on catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-s-transferase (GST) and acetylcholinesterase (AChE) activities were investigated in the midgut and fat body of *Galleria mellonella* larvae. It was determined that GPx activities increased in the group exposed to 100 µg/mL copper oxide nanoparticles, whereas a decrease in CAT, SOD and AChE activities was observed in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to all copper oxide nanoparticles applied groups. Moreover, GST activity decreased in fat body in all applied groups, while an increased was observed in midgut of *G. mellonella* larvae when exposed to copper oxide nanoparticles. Overall, these findings indicate that oxidative stress occurs due to the accumulation of reactive oxygen species as a result of the toxicity of the copper oxide nanoparticle of *G. mellonella* larvae.

***Corresponding author's:**

Benay TUNÇSOY
Adana Alparslan Turkes Science and
Technology University,
Faculty of Engineering,
Department of Bioengineering, Adana,
Turkey.
✉: btuncsoy@atu.edu.tr

Keywords: Antioxidant enzymes, copper nanoparticles, *Galleria mellonella*.

GİRİŞ

Bakır nanopartikülleri biyosidal aktivite ve optik görüntüleme gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda önemli ölçüde ilgi görmekte, özellikle biyomedikal ve endüstriyel uygulamalarda sıklıkla bu nanopartiküllerden yararlanılmaktadır. Buna ek olarak, yüksek elektriksel ve sıcaklık iletkenliği gibi fizikokimyasal özelliklerinden dolayı termal, elektrikli cihazlarda ve sensörlerde kullanılmaktadır (Hannig vd., 2007; Nations vd., 2015; Zhou vd., 2016). Buna rağmen farklı deneysel model sistemlerde yüksek toksisiteye neden olduğu da bilinmektedir.

Metal oksit nanopartikülleri, oksidatif strese ve hücrel toksisiteye yol açan normal hücrel aktivitelerin dereglasyonuna neden olmaktadır. Bu nedenle, oksidatif stres nanotoksitenin en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilmekte ve nanopartiküllerin toksik etkilerinin değerlendirilmesinde biyoindikatör olarak kullanılmaktadır (Libralato vd., 2017).

Bakır maruziyetinin önemli ölçüde hücre içi reaktif oksijen türlerinin birikimine yol açtığı farklı hücre kültürü modelleri ile zebra balığı, karides gibi akuatik model organizmalarda da toksik etkilere neden olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Ivask vd., 2014). Buna ek olarak, A549 hücrelerinde bakır oksit nanopartiküllerinin oksidatif stresle ilişkili olan sistein, glutasyon, disülfür gibi metabolitlerin düzenlenmesini indüklediği ve GPx, SOD, GST, lipid peroksidasyon ve CAT gibi antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerinin aktivitelerinin fare hipokampal H122 hücrelerinde değişikliklere de neden olduğu bildirilmiştir (Boyles vd., 2016; Niska vd., 2015). Böceklerde ise, reaktif oksijen türlerinin oluşumunun artması, mideye alınan besinlerin absorpsiyonunu olumsuz etkilemekte ve orta barsak hücrelerinde de oksidatif zarara neden olabilmektedir (Bi & Felton, 1995).

Deneyde kullanılan büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella*, son yıllarda birçok alanda deneysel çalışmalarda model organizma olarak kullanılmaktadır. Tıp alanındaki deneysel çalışmalarda kullanılan farenin yetiştirilmesinin zor ve pahalı olması, ayrıca etik ve legal sorunlara yol açması model organizma olarak omurgasızların kullanılmasına olanak sağlamaktadır. *G. mellonella* gibi türler, üretimi basit ve pahalı olmamasından dolayı iyi bir model organizmadır. Ayrıca bu türe ait larvaların ticari yönden üretime uygun olması, oda sıcaklığında üretiminin kolaylıkla ve kısa sürede yapılabilmesi bu türü diğer omurgasız canlılardan da ayırt etmektedir. Bunun yanı sıra, *G. mellonella*'nın memelilerle benzer doğal bağışıklık sistemine sahip olması da onun uygun bir model organizma olabilmesini sağlamaktadır. Bu bilgiler ışığında, çalışmada kullanımı

hızla artan bakır oksit nanopartikülünün model organizma olarak kullanılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokularında antioksidan sistem üzerine etkilerinin belirlemek amacıyla SOD, CAT, GPx, GST ve AChE enzim aktivitelerinin tespit edilmesi hedeflenmektedir.

MATERYAL VE METOT

Deney Böceklerinin Elde Edilmesi: Bu çalışmada kullanılan *G. mellonella* kültürünün devamı, 30±1°C sıcaklık ve % 65±5 bağıl nem içeren böcek kültür odalarında, böceğin yumurtadan yeni çıkmış larvalarının yarı sentetik besin ile beslenmesiyle sağlanmıştır.

G. mellonella larvalarının beslenmesi için kepek, gliserin, bal, saf su ve petekten oluşan besin karışımı kullanılmıştır (Bronskill, 1961). Hazırlanan besin, bir litrelik kavanozlara yaklaşık 1/3 oranında konulduktan sonra, içerisine 10-15 adet ergin dişi ve erkek bireyler bırakılmıştır. Kavanozların kapaklarına dişilerin yumurta bırakmalarını sağlamak amacıyla bırakılan kâğıtlar, güneşini değiştirilerek içerisinde yeni besin bulunan farklı kavanozlara aktarılmıştır. Gelişimlerini üçüncü evreye kadar tamamlayan larvalar, besin ortamından alınarak deneylerde kullanılmıştır.

Bakır oksit nanopartiküllerinin karakterizasyonu: Deneylerde partikül büyüklüğü 50 nm'den küçük olan bakır oksit nanopartikülü (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Çalışmada *G. mellonella* larvalarına uygulanan bakır oksit nanopartiküllerinin karakterizasyonu, Portekiz'de Algarve University, Faculty of Science and Technology (CIMA)'da transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve dinamik ışık saçılımı (DLS) cihazı ile yapılmıştır. Karakterizasyon yöntemlerine ilişkin daha fazla ayrıntı önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Gomes vd., 2011; Sezer Tuncsoy vd., 2019; Sezer Tuncsoy, 2020).

Farklı derişimlerdeki bakır oksit nanopartiküllerinin uygulanması: Besin ortamından alınacak üçüncü evre larvalar, kontrol grubu ve uygulama grupları olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Uygulama gruplarındaki larvaların, bakır oksit nanopartiküllerinin 10, 100 ve 1000 µg/mL derişimlerini içeren besin içerisinde beslenmeleri sağlanmıştır. Uygulama yapılan her bir gruba 40 adet larva eklenmiştir. Deneyler değişik zamanlarda üçer kez tekrar edilmiş ve bir deney serisinde elde edilen veriler kontrol grubu ile karşılaştırmak suretiyle değerlendirilmiştir.

Antioksidan enzim aktivitelerinin tayini: Uygulamadan sonra kontrol ve uygulama gruplarından 10'ar adet larva diseksiyon için seçilmiştir. Larvalar buz üzerinde 2-3 dakika bekletildikten sonra, % 95 etil alkol ile dezenfekte edilmiştir. Larvalar sırt kısmı strafora gelecek şekilde sabitlenerek birinci çift torasik bacaklarının

önünden orta eksen boyunca uzunlamasına mikro makas (Bahadır, düz makas, 16 cm) yardımıyla kesilmiştir. İlk önce yağ doku (fat body) bir pens yardımıyla izole edilmiş, daha sonra ön, orta ve son barsak olmak üzere üç bölümden oluşan sindirim kanalından orta barsak ayrılmıştır. İzole edilen yağ doku ve orta barsak, içerisinde homojenizasyon tamponu (20 mM; pH 7.6) bulunan ependorf tüplere aktarılmıştır.

Daha sonra Ultra Torrax cihazında dokular homojenize edilmiştir. Yağ dokunun homojenizasyonunda ise, 50 W, 40-50 s' de ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonoplus. HD 2070, Berlin, Almanya) kullanılmıştır. Homojenatlar, 500xg' de 15 dakika (+4°C) santrifüj edilmiş daha sonra süpernatantlar, mitokondriyal fraksiyona katılmak için 45 dakika (4 °C) boyunca 12,000 x g' de yeniden santrifüj yapılmıştır. Sitosolik fraksiyon, düşük moleküler ağırlıklı proteinleri uzaklaştırmak için Sephadex® G-25 (PD10, Pharmacia) jel kolonları üzerinde saflaştırılmıştır (Gonzalez-Rey vd., 2014). Örnekler enzim aktivitelerinin tayini işlemlerine kadar -80°C' de bekletilmiştir.

Antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT ve GPx) sırasıyla McCord & Fridovich (1969), Greenwald, (1985) ve Lawrence & Burk (1976) 'a göre tespit edilmiştir. AChE aktivitesini belirlemek için, orta barsak ve yağ doku, % 10 Triton içeren Tris-HCl tamponu (100 mM, pH 8.0) içinde buz üzerinde homojenize edilmiştir. Daha sonra 12.000 x g' de 30 dakika (4 °C) santrifüj edilmiştir. AChE aktivitesi, Ellman vd. (1961) tarafından uygulanan metot kullanılarak belirlenmiştir. GST aktivitesi, Habig vd. (1974) yöntemine göre spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Protein miktarının tespitinde ise, substrat olarak Bovine serum albümini kullanılarak Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir.

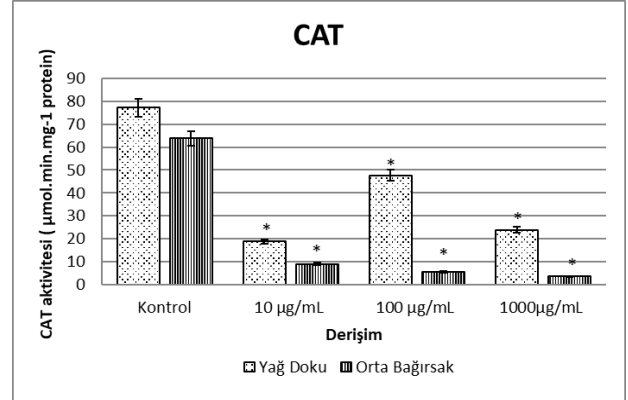
İstatistiksel analiz: Kontrol grubu ve bakır oksit nanopartikülleri uygulanmış gruplar arasındaki istatistiksel veriler SPSS 21 programında Student Newman Keul's (SNK) testi kullanılarak değerlendirilmiştir. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Bakır oksit nanopartiküllerinin karakterizasyonu: Çalışmada kullanılan bakır oksit nanopartikülleri boyut ve şekilsel analizleri TEM, DLS ve ELS yöntemleri ile belirlenmiştir. Karakterizasyona ait veriler Tunçsoy vd. (2019) ayrıntılı olarak verilmiştir.

Bakır oksit nanopartiküllerinin antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi: Bakır oksit nanopartiküllerinin farklı derişimlerinin *G. mellonella* larvalarının yağ doku ve orta barsağındaki CAT aktivitesi üzerine etkileri Şekil 1' de gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre hem yağ doku hem de orta barsaktaki tüm

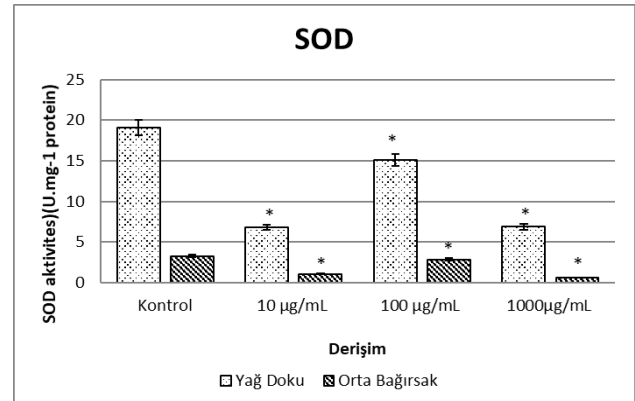
uygulama gruplarında (10, 100 ve 1000 µg/mL) CAT aktivitesinde önemli bir azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Orta barsak ve yağ dokuda 10 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan gruplarda CAT aktivitesi sırasıyla % 85,8 ve % 75,5 oranlarında azalırken, 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikül uygulaması yapılan gruplarda bu azalma sırasıyla % 94,2 ve % 69 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 1. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki CAT aktivitesi. SNK testine göre "*" ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur. ($P < 0,05$).

Figure 1. CAT activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with "*" ($P < 0,05$).

Elde edilen verilere göre bakır oksit nanopartikülünün farklı konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki SOD aktivitesine olan etkileri Şekil 2' de verilmiştir.



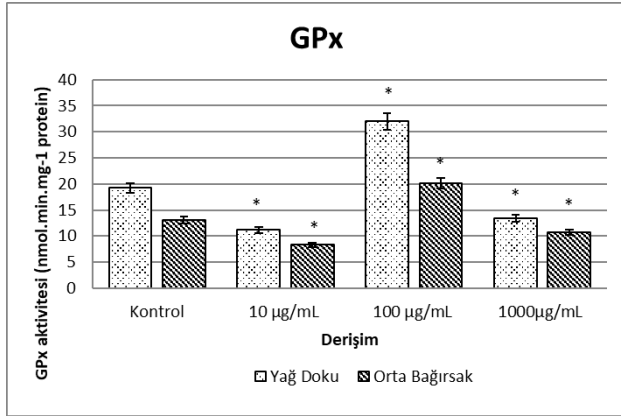
Şekil 2. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki SOD aktivitesi. SNK testine göre "*" ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur ($P < 0,05$).

Figure 2. SOD activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with "*" ($P < 0,05$).

İstatistiksel verilere göre larvaların her iki dokusundaki SOD aktivitesi de tüm uygulama gruplarında

(10, 100 ve 1000 µg/mL) kontrole göre istatistiki olarak anlamlı bir azalma göstermiştir. Orta barsak ve yağ dokuda 10 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan gruplarda SOD aktivitesi sırasıyla % 68 ve % 64,5 oranlarında azalırken, 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikül uygulaması yapılan gruplarda bu azalma sırasıyla % 80,6 ve % 64,2 olarak belirlenmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan bakır oksit nanopartikülünün *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki GPx aktivitesindeki değişimler Şekil 3’ de verilmiştir. Elde edilen istatistiki verilere göre 10 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan gruplarda kontrole göre orta barsak ve yağ dokuda sırasıyla % 36,2 ve % 42 oranlarında önemli bir azalma gözlenirken, 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan gruplarda bu azalma sırasıyla % 18,2 ve % 30,5 olarak belirlenmiştir. 100 µg/mL uygulama grubunda ise her iki dokuda da sırasıyla % 54,3 ve % 66,6 oranlarında anlamlı bir artış meydana geldiği tespit edilmiştir.



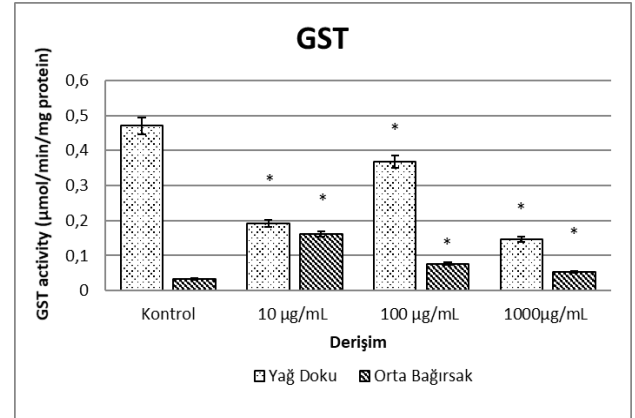
Şekil 3. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki GPx aktivitesi. SNK testine göre “*” ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur. (P <0,05).

Figure 3. GPx activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with “*” (P <0.05).

Bakır oksit nanopartikülünün *G. mellonella* larvalarının yağ doku ve orta bağırsağındaki GST enzim aktivitesindeki değişimler Şekil 4’ de gösterilmiştir. GST aktivitesinde 100 ve 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikül uygulaması sonucunda istatistiki açıdan önemli bir artış meydana gelirken, yağ dokuda tüm uygulama gruplarında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Orta barsakta meydana gelen GST aktivitesindeki artış 100 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan grupta % 133,3, 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan grupta ise % 60,6 oranında artmıştır.

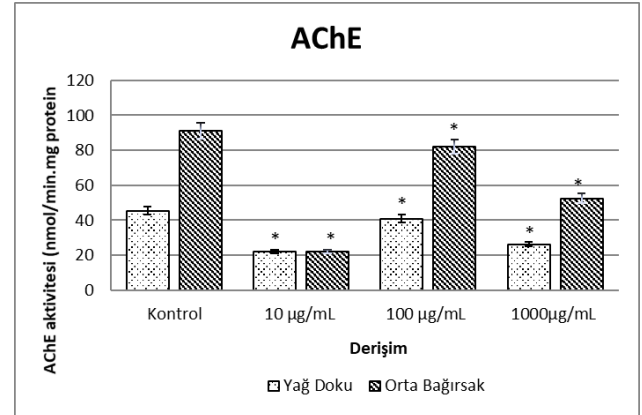
AChE aktivitesinde istatikselsel olarak her iki dokuda da kontrole göre tüm uygulama gruplarında (10, 100 ve 1000 µg/mL) azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 5). Bu azalma orta barsakta tüm

uygulama gruplarında sırasıyla % 76, % 10 ve % 42,4 olarak tespit edilirken, yağ dokuda ise sırasıyla % 51,7, % 9,78 ve % 42,1 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki GST aktivitesi. SNK testine göre “*” ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur. (P <0,05).

Figure 4. GST activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with “*” (P <0.05).



Şekil 5. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki AChE aktivitesi. SNK testine göre “*” ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur. (P <0,05).

Figure 5. AChE activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with “*” (P <0.05).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyolojik zarlardan kolaylıkla geçebilen metal nanopartiküller, DNA hasarı, oksidatif stres, membran hasarı ve moleküler düzeyde organ, doku ve hücrede protein yanlış katlanması gibi olumsuz etkilere neden olabilmektedirler (Aschberger vd., 2011; Schrand vd., 2010). Serbest radikaller, vücutta sürekli olarak oluşan ve antioksidan savunma sistemi tarafından yok edilen moleküllerdir ve canlılardaki bu zararlı radikallere karşı

vücutta gelişen bazı enzimatik sistemler vardır. SOD, CAT, GPx gibi enzimler, ağır metal toksisitesinin neden olduğu serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı vücudu korumaktadır. Bu gibi biyokimyasal parametreler metal toksisitesi için iyi birer biyomarkırdır. Yapılan çalışmada *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusunda uygulanan tüm derişimlerde SOD ve CAT aktivitesinde azalma meydana gelirken, orta barsakta GST aktivitesinde artış meydana geldiği gözlenmiştir. GPx aktivitesinde ise, 100 µg/mL derişiminin uygulandığı grupta artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Bakır oksit nanopartikül toksisitesinin antioksidan SOD ve CAT seviyelerini azaltarak larvanın orta barsak ve yağ dokusunda reaktif oksijen türlerinin birikmesine neden olmuş olabileceği düşünülmektedir. Assadian vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada bakır oksit nanopartiküllerinin in vitro sitotoksik etkisi sonucunda oksidatif stres indüksiyonu ile hücre içi reaktif oksijen türlerinin seviyelerinde önemli bir artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. *Musca domestica* ile yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda gümüş ve kitosan nanopartikülleri uygulanması sonucunda larvaların SOD, CAT, GPx ve GST aktivitesinin maruz kalma süresine bağlı olarak değiştiğini tespit etmişlerdir (Ramadan vd., 2020). *S. litura* ve *A. janata* ile yapılan bir çalışmada, gümüş nanopartikülü uygulaması sonucunda SOD, CAT ve GPx aktivitesinin derişime bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir (Yasur & Pathipati, 2015). Apis mellifera ile yapılan bir çalışmada ise, arıların 10 gün boyunca çinko oksit nanopartiküllerine ve çinko klorüre maruz bırakılmasından sonra GST aktivitesinde artış meydana geldiğini bildirilmiştir (Milivojevic vd., 2015). Böceklerde nanopartiküller dış iskelete ve hücre içi boşluğa girebilir ve daha sonra nanopartikül iyonları sitoplazmaya salınır ve kükürt proteinlerine bağlanır, böylece reaktif oksijen türlerinin seviyelerinin artmasına ve dolayısıyla hücrel fonksiyonların hasarına ve bunun sonucunda da hücre ölümüne neden olabilmektedir (Benelli, 2018; Mir vd., 2020). Elde edilen bulgular sonucunda bakır oksit nanopartiküllerinin neden olduğu oksidatif stres sonucunda dokularda biriken reaktif oksijen türlerinin GPx ve GST enzimleri vasıtasıyla ortadan kaldırılmaya çalışıldığı düşünülmektedir.

Farklı derişimlerdeki bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan larvalarda ise her iki dokuda da AChE aktivitesinde azalma meydana gelmiştir. Bakırın sülfür verici gruplara olan yüksek afinitesi, tiyol kalıntılarına bağlanarak AChE inhibisyonuna neden olabilmektedir (Gomes vd., 2011). AChE enzim aktivitesindeki değişiklikler, bakır dahil çeşitli metal ve organofosforlu pestisitlere maruz kalındığının bir göstergesidir (Bebiaanno vd., 2004; Lehtonen & Leiniö 2003; Regoli & Principato 1995). Böceklerde AChE aktivitesi genellikle beyin, göğüs ve karın bölgeleri ile

abdominal ganglionlarda düzenlenmektedir (Thany vd., 2010). AChE aktivitesi, bir organizmanın sinir sisteminin kolinerjik fonksiyonlarını belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca, farklı türlerle yapılan çalışmalarda da AChE aktivitesindeki değişikliklerin oksidatif stres, hücre sinyalindeki düzensizlik veya nörotransmisyonadaki bozukluktan kaynaklandığı bildirilmiştir (Gonçalves vd., 2012; Milivojevic vd., 2015).

Böcekler, karasal ekosistemin büyük bir popülasyonunu oluşturan canlı gruplarıdır. Metal nanopartiküllerinin biyoakümülyasyonu ve biyomagnifikasyonu bu canlı gruplarında büyük önem taşımaktadır. Nanomalzemelerin biyoakümülyasyonu, organizmada nanopartiküllerin birikmesiyle başlamakta ve daha sonra besin zinciri yoluyla diğer organizmalara aktarılmaktadır. Bu nedenle böcekler bu zincirin önemli bir parçasını oluşturmakta ve böceklerin model organizma olarak kullanıldığı çalışmalar önem taşımaktadır. Sonuç olarak yapılan çalışmada da elde edilen veriler, farklı derişimlerde bakır nanopartiküllerine maruz kalan *G. mellonella* larvalarının antioksidan enzimlerinde önemli değişiklikler meydana getirdiği belirlenmiştir. Bakır oksit nanopartiküllerinin etkisi sonucunda reaktif oksijen türlerinin dokularda artması nedeniyle larvaların orta barsak ve yağ dokularında oksidatif stres meydana geldiği düşünülmektedir. *G. mellonella'* da bakır nanopartiküllerinin etkisinde incelenen antioksidan savunma sistemi parametrelerindeki değişikliklerin metal kirliliğinin bir göstergesi olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aschberger, K., Micheletti, C., Sokull-Klüttgen, B. & Christensen, F.M. (2011).** Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health-Lessons learned from four case studies. *Environment International*, **37**, 1143-1156. DOI: [10.1016/j.envint.2011.02.005](https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.005)
- Assadian, E., Zarei, M.H., Gilani, A.G., Farshin, M., Degampanah, H. & Pourahmad, J. (2018).** Toxicity of copper oxide (cuo) nanoparticles on human blood lymphocytes. *Biological Trace Element Research* **184**(2), 350-357.
- Bebiaanno, M.J., Géret, F., Hoarau, P., Serafim, M.A., Coelho, M.R., Gnassabarelli, M. & Roméo, M. (2004).** Biomarkers in *Ruditapes decussatus*: a potential bioindicator species. *Biomarkers*, **9**(4-5), 305-330. DOI: [10.1080/13547500400017820](https://doi.org/10.1080/13547500400017820)
- Benelli, G. (2018).** Mode of action of nanoparticles against insects. *Environmental Science and Pollution Research*, **25**, 12329-12341. DOI: [10.1007/s11356-018-1850-4](https://doi.org/10.1007/s11356-018-1850-4)
- Bi, J.L. & Felton, G.W. (1995).** Foliar oxygen stress and insect herbivory: primary compounds, secondary

- metabolites and reactive oxygen species as components of induced resistance. *Journal of Chemical Ecology*, **21**, 1511-1530. DOI: [10.1007/BF02035149](https://doi.org/10.1007/BF02035149)
- Boyles, M.S., Ranninger, C., Reischl, R., Rurik, M., Tessadri, R., Kohlbacher, O., Duschl, A. & Huber, C.G. (2016).** Copper oxide nanoparticle toxicity profiling using untargeted metabolomics. *Particle and Fibre Toxicology*, **13**, 49. DOI: [10.1186/s12989-016-0160-6](https://doi.org/10.1186/s12989-016-0160-6)
- Bradford, M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254. DOI: [10.1006/abio.1976.9999](https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999)
- Bronskill, J. (1961).** A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). *Journal of the Lepidopterists Society*, **2**, 102-104.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **7**, 88-95. DOI: [10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Gomes, T. (2012).** Effects of nanoparticles exposure in the mussel *Mytilus Galloprovincialis*. Thesis, *Faculdade De Ciências E Tecnologia, Universidade do Algarve, Portugal*.
- Gonçalves, J.F., Nicoloso, F.T., da Costa, P., Farias, J.G., Carvalho, F.B., da Rosa, M.M., Gutierrez, J.M., Abdalla, F.H., Pereira, J.S., Dias, G.R., Barbosa, N.B., Dressler, V.L., Rubin, M.A., Morsch, V.M. & Schetinger, M.R. (2012).** Behavior and brain enzymatic changes after long-term intoxication with cadmium salt or contaminated potatoes. *Food and Chemical Toxicology*, **50**, 3709-3718. DOI: [10.1016/j.fct.2012.07.016](https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.07.016)
- Gonzalez-Rey, M., Mattos, J.J., Piazza, C.E., Bainy, A.C.D. & Bebianno, M.J. (2014).** Effects of active pharmaceutical ingredients mixtures in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, **153**, 12-26. DOI: [10.1016/j.aquatox.2014.02.006](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.02.006)
- Greenwald, R.A. (1985).** Handbook of methods for oxygen radical research. CRC Press: Boca Raton, Florida, United States of America, s. 447. DOI: [10.1201/9781351072922](https://doi.org/10.1201/9781351072922)
- Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B. (1974).** Glutathione S-transferases: The first enzymatic step mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249**, 7130-7139. DOI: [10.1042/bj2150617](https://doi.org/10.1042/bj2150617)
- Hannig, M., Kriener, L., Hoth-Hannig, W., Becker-Willinger, C. & Schmidt, H. (2007).** Influence of nanocomposite surface coating on biofilm formation in situ. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **7**, 4642-4648. DOI: [10.1166/jnn.2007.005](https://doi.org/10.1166/jnn.2007.005)
- Ivask, A., Juganson, K., Bondarenko, O., Mortimer, M., Aruoja, V., Kasemets, K., Blinova, I., Heinlaan, M., Slaveykova, V. & Kahru, A. (2014).** Mechanisms of toxic action of Ag, ZnO and CuO nanoparticles to selected ecotoxicological test organisms and mammalian cells in vitro: A comparative review. *Nanotoxicology*, **8**, 57-71. DOI: [10.3109/17435390.2013.855831](https://doi.org/10.3109/17435390.2013.855831)
- Lawrence, R.A. & Burk, R.F. (1976).** Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **71**(4), 952-958. DOI: [10.1016/0006-291x\(76\)90747-6](https://doi.org/10.1016/0006-291x(76)90747-6)
- Lehtonen, K.K. & Leiniö, S. (2003).** Effects of exposure to copper and malathion on metallothionein levels and acetylcholinesterase activity of the mussel *Mytilus edulis* and the clam *Macoma balthica* from the Northern Baltic Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **71**, 489-496. DOI: [10.1007/s00128-003-8853-6](https://doi.org/10.1007/s00128-003-8853-6)
- McCord, J.M. & Fridovich, I. (1969).** Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, **244**(22), 6049-6055.
- Milivojevic, T., Glavan, G., Bozic, J., Sepcic, K. & Mesaric, T. (2015).** Neurotoxic potential of ingested ZnO nanomaterials on bees. *Chemosphere*, **120**, 547-554. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2014.07.054](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.07.054)
- Mir, A.H., Qamar, A., Qadir, I., Naqvi, A.H. & Begum, B. (2020).** Accumulation and trafficking of zinc oxide nanoparticles in an invertebrate model, *Bombyx mori*, with insights on their effects on immuno-competent cells. *Scientific Reports*, **10**, 1617. DOI: [10.1038/s41598-020-58526-1](https://doi.org/10.1038/s41598-020-58526-1)
- Nations, S., Long, M., Wages, M., Maul, J.D., Theodorakis, C.W. & Cobb, G.P. (2015).** Subchronic and chronic developmental effects of copper oxide (CuO) nanoparticles on *Xenopus laevis*. *Chemosphere*, **135**, 166-174. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2015.03.078](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.078)
- Libralato, G., Galdiero, E., Falanga, A., Carotenuto, R., de Alteriis, E. & Guida, M. (2017).** Toxicity effects of functionalized quantum dots, gold and polystyrene nanoparticles on target aquatic biological models: a review. *Molecules*, **22**, 1439. DOI: [10.3390/molecules22091439](https://doi.org/10.3390/molecules22091439)
- Niska, K., Santos-Martinez, M.J., Radomski, M.W. & Inkielewicz-Stepniak, I. (2015).** CuO nanoparticles induce apoptosis by impairing the antioxidant defense and detoxification systems in the mouse hippocampal HT22 cell line: Protective effect of crocetin. *Toxicology in Vitro*, **29**, 663-671. DOI: [10.1016/j.tiv.2015.02.004](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.02.004)
- Ramadan, R.H., Abdel-Meguid, A.D. & Emara, M.M. (2020).** Effects of synthesized silver and chitosan nanoparticles using *Nerium oleander* and *Aloe vera* on antioxidant enzymes in *Musca domestica*. *International Journal on Environmental Sciences*, **21**, 9-14. DOI: [10.21608/CAT.2020.20921.1036](https://doi.org/10.21608/CAT.2020.20921.1036)

- Regoli, F. & Principato, G. (1995).** Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, **31**, 143-164. DOI: [10.1016/0166-445X\(94\)00064-W](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00064-W)
- Schrand, A.M., Rahman, M.F., Hussain, S.M., Schlager, J.J., Smith, D.A. & Syed, A.F. (2010).** Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology*, **2**, 544-568. DOI: [10.1002/wnan.103](https://doi.org/10.1002/wnan.103)
- Sezer Tuncsoy, B., Tuncsoy, M., Gomes, T., Sousa, V., Teixeira, M.R., Bebianno, M.J. & Ozalp, P. (2019).** Effects of copper oxide nanoparticles on tissue accumulation and antioxidant enzymes of *Galleria mellonella* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **102**, 41-346. DOI: [10.1007/s00128-018-2529-8](https://doi.org/10.1007/s00128-018-2529-8)
- Sezer Tuncsoy, B. (2020).** Bakır oksit nanopartiküllerinin *Galleria mellonella* larvaları üzerine immün ve metabolik etkileri. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, **10** (1), 53-60. DOI: [10.7212/zkufbd.v10i1.1526](https://doi.org/10.7212/zkufbd.v10i1.1526)
- Thany, S.H., Tricoire-Leignel, H. & Lapied, B. (2010).** Identification of cholinergic synaptic transmission in the insect nervous system. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **683**, 1-10. DOI: [10.1007/978-1-4419-6445-8_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6445-8_1)
- Yasur, J. & Pathipati, U.R. (2015).** Lepidopteran insect susceptibility to silver nanoparticles and measurement of changes in their growth, development and physiology. *Chemosphere*, **124**, 92-102. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2014.11.029](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.029)
- Zhou, M., Tian, M. & Li, C. (2016).** Copper-based nanomaterials for cancer imaging and therapy. *Bioconjugate Chemistry*, **27**, 1188-1199. DOI: [10.1021/acs.bioconjchem.6b00156](https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00156)