

## Metal Oksit Nanopartiküllerin Genotoksik Etkileri

### *Genotoxic Effects of Metal Oxide Nanoparticles*

Yasemin SAYGILI<sup>1</sup> , Fatma ÜNAL<sup>1</sup> , Deniz YÜZBAŞIOĞLU<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06560, Ankara, Türkiye

#### Öz

Nanopartiküller (NP) (Nanomateriyaller-NM), hızla gelişen nanoteknolojide çığır açan partiküllerdir. Bu partiküllerin en az bir boyutu 1-100 nm aralığındadır. Metal oksit nanopartikülleri, nanomateriyallerin temel üyelerinden biri olup, tıp, kozmetik, boya, tekstil ve gıda ürünleri gibi çok çeşitli alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Metal oksit NP'lerinin yoğun kullanımı, insanların partiküllere inhalasyon, dermal ve oral yollar dahil çeşitli yollarla maruz kalmasına sebep olmaktadır. Diğer taraftan, nanopartiküllere böylesi yoğun maruziyet, partiküllerin olası toksisitesi konusunda endişelerin artmasına sebep olmuştur. Metal oksit nanopartiküllerin şekil ve ebatlarına ilave olarak diğer fizikokimyasal özellikleri de, NP'lerin toksik etkilerinde önemli rol oynamaktadır. Metal oksit nanopartiküllerinin toksisitesi konusunda yapılan araştırmalar, bazı partiküllerin genotoksik olduğunu ve dolayısıyla insanlar için de zararlı olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle bu çalışmada Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CeO<sub>2</sub>, CuO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub> ve ZnO nanopartiküllerinin genotoksik etkileri derlenmiştir. Makalede kromozom anomali analizleri ile Ames (bakteriyel geri mutasyon), mikronukleus ve komet testleri kullanılarak yürütülen bazı araştırmalar dikkate alınmıştır. Derlemenin sonunda, metal oksit nanopartiküllerinin genotoksik mekanizmaları konusunda ileri sürülen görüşler sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyel geri mutasyon testi, kromozom anormallikleri testi, mikronukleus testi, komet testi, sitotoksosite, mutajen, karsinojen.

#### Abstract

Nanoparticles (NPs) (nanomaterials-NMs) are at the cutting edge of the speedily advancing area of nanotechnology. At least one dimension of these particles is in the range of 1-100 nm. Metal oxide NPs are the main members of nanomaterials. They have been applied in various fields such as medicine, cosmetics, paints, textiles, and food products. However, extensive use of metal oxide NPs leads to exposure of humans in various ways including inhalation, dermal, and oral routes. On the other hand, such an exposure raises concerns about their potential toxicity. The physicochemical properties of metal oxide NPs such as shape and size play an important role in their toxic effects. Studies about genotoxicity of metal oxide NPs on humans indicate that some metal oxide nanoparticles have genotoxic effects and they may be hazardous for humans. Therefore, in this study, genotoxic effects of some widely used metal oxide nanoparticles such as Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CeO<sub>2</sub>, CuO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>, and ZnO were reviewed. Studies carried out using Ames (bacterial reverse mutation), chromosome aberration analysis, sister chromatid exchange, micronucleus, and comet assays were included. At the end, general mechanisms proposed for the genotoxic effects of metal oxide nanoparticles were presented.

**Keywords:** Bacterial reverse mutation test, kromozom aberration test, micronucleus test, comet assay, cytotoxicity, mutagen, carcinogen.

## I. GİRİŞ

Atom ve moleküllerin tek tek işlenip düzenlenmesi ile kullanışlı materyal, araç ve sistemlerin oluşturulduğu bilim dalı nanoteknoloji olarak isimlendirilmektedir [1]. Bu alanda ölçü birimi olarak kullanılan nanometre (nm), metrenin milyarda birine eşittir. Nanoteknolojide kullanılan nanopartiküller (NP) (nanomateriyaller-NM), genellikle 100 nm'den küçük partiküller olup [2], bu partiküller fiziksel ve kimyasal özellikleri dikkate alınarak özel olarak sentezlenmektedir [3]. Sahip oldukları eşsiz özelliklerinden dolayı NP'ler son yıllarda endüstriyel ve bilimsel alanlarda çok sık kullanılmaya başlanmıştır. Bu partiküllerin boyutu küçüldükçe yüzey alanı ve kuantum etkisi artış göstermekte böylece optik, elektrik ve manyetik özellikleri değişerek, daha reaktif özellikler kazanmaktadır [4-6]. NP'ler, fiziksel ve kimyasal yapılarındaki farklılıklar sebebiyle günümüzde biyoteknoloji, biyogörüntüleme, ilaç taşınması, otomotiv, tekstil, gıda, kozmetik, elektronik ve savunma sanayii gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Günümüzde, piyasada 1800'den fazla nano ürün bulunmakta ve bu ürünlerin %37'lik kısmını metal ve metal oksit türevi nanopartiküller oluşturmaktadır. Metal oksit nanopartikülleri, yapısında en az bir oksijen atomu bulunan metal içerikli bileşiklerdir. Bu partiküller arasında en çok kullanılan üçü sırasıyla TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> ve ZnO şeklinde sıralanmaktadır [7].

Nanopartiküller son yıllarda yaygın bir şekilde kullanılmalarına rağmen, bunların canlılardaki ve çevredeki toksik etkileri, özellikle genotoksik etkileri konusunda yeterli araştırma bulunmamaktadır. Yapılan araştırmalarda, bazı metal oksit nanopartiküllerinin herhangi bir toksik etkisinin olmadığı belirtilirken [8-16], bazı nanopartiküllerin ise genotoksik, mutajenik ve hatta karsinojenik etkilerinin olabileceğine dair veriler bulunmaktadır [17-26]. Bu derlemede, gelişen teknoloji ile kullanım alanları ve düzeyleri giderek artarken genotoksik, mutajenik ve karsinojen etkileri konusunda çelişkili sonuçların yer aldığı bazı metal oksit nanopartiküllerinin genotoksik etkilerini ele alan bazı araştırmalar derlenmiştir.

## II. METAL OKSİT NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİK ETKİLERİ

Nanopartiküller, daha ziyade üretimleri sırasında olmak üzere, kullanımları sırasında veya sonrasında ekosisteme salınmaktadır. Bu nedenle insanların ve diğer tüm canlıların bu partiküllere maruziyeti kaçınılmaz bir hale gelmeye başlamıştır. NP'ler deri, solunum, damar ve oral yollar ile vücuda alınıp, organ ve dokulara yerleşebilir [12, 27, 28]. Bu durum organizmada alerji ve fibrosis'in yanı sıra, organlarda birikmeye bağlı olarak doku ve organ hasarına, inflamasyona, sitotoksisiteye, reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna ve DNA hasarına sebep olabilir [29]. NP'lerin solunum yolu ile organizma içine girme potansiyelleri, daha büyük boyutta olan partiküllere kıyasla daha yüksek düzeyde olduğu gibi, toksik etkileri de daha fazladır. Vücutta astım ve bronşit gibi solunum yolu enfeksiyonlarına da neden olabilirler [30, 31]. Ayrıca kolon, akciğer ve karaciğer kanseri ile, Parkinson, Alzheimer ve kalp rahatsızlıkları gibi hastalıklara da sebep olabilirler [22, 32-34]. NP'ler bir kere vücuda girdikten sonra, yarılanma ömürleri uzun olduğundan, vücuttan atılmaları da oldukça zordur. Özellikle metal oksit NP'leri kolayca degrades olmamakta, çok yavaş parçalanmaktadır. Bu durumda NP'lerin birikimi, stres reaksiyonlarını başlatmakta, bu da inflamasyona sebep olarak, bir yandan oksidasyonun artmasına diğer yandan da antioksidan sistemin zayıflamasına sebep olmaktadır [20, 35, 36]. Biyolojik olaylar sırasında hücre ile etkileşime girebildikleri gibi, çeşitli biyolojik reaksiyonları da engelleyebilirler [32]. Gametogenezi etkileyerek üreme hücrelerinde hasarlara [37-39] ve hatta fetüste anormalliklere bile sebep olabilirler[40]. NP'lerin sebep olduğu tüm bu toksik etkiler, yine NP'lerin fizikokimyasal özelliklerinden kaynaklanmakta ve etkileşime girdikleri hücre tipine göre de etkilerinde farklılıklar gözlenmektedir. Bu nedenle bir NP'ün toksisitesinin belirlenmesinde başta NP'ün kimyasal yapısı olmak üzere onun şekil, boyut, yüzey yapısı, yüzey yükü, aglomerasyon durumu, fonksiyonel grupların varlığı ve çözünübilirlik gibi birçok özelliği önemli rol oynamaktadır [6, 41-50]. Dolayısıyla nanopartiküllerin toksisitesinin genel olarak en doğru

şekilde değerlendirilebilmesi için deneysel aşamada öncelikle farklı nanopartikül tiplerinin, farklı hücre, organ ve organizmalar üzerinde denenmesi gerekmektedir. İkinci aşamada ise tasarlanan deney, farklı testler kullanılarak tekrarlanmalı ve elde edilen sonuçlar bir biriyle kıyaslanmalıdır.

## III. GENOTOKSİTE TESTLERİ

Nanoteknolojide yaşanan gelişmeler ile nanopartiküllerin toksisitesine yönelik çalışmalar da artış göstermiştir. Bugün itibarıyla (6/2/2021) Web of Science'ta, "nanoparticles" terimi ile bir araştırma yapıldığında, karşımıza 749.130 çalışma çıkmaktadır. "Nanoparticles, toxicity" terimleri ile araştırdığımızda 42.132 çalışma, "nanoparticles, genotoxicity" terimleri ile araştırdığımızda da 2.659 çalışma olduğu görülmektedir.

Genotoksik etkilerin tespitinde daha ziyade kısa süreli genotoksisite testleri kullanılmaktadır. Bu testler, NP'ler de dahil olmak üzere, çeşitli fiziksel ve kimyasal maddelerin genotoksik potansiyellerinin ve güvenilirliklerinin araştırılmasında kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan testler, bakteriyel geri mutasyon (Ames), rodentlerde dominant letal, somatik mutasyon ve rekombinasyon (SMART), fare lenfoma, programlanmamış DNA sentezi (UDS), hipoksantin guanin fosforibozil transferaz (HPRT) gen mutasyonu, mikronükleus (MN), kromozomal anormallik (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD) ve komet testleridir [51-57]. Bu testlerden genotoksisite testlerinin uygulanmasıyla, organizmaların herhangi bir kimyasal maddeye verecekleri genetik cevap, maruz kalınan kimyasal maddenin sebep olduğu klinik belirtiler daha ortaya çıkmadan, önceden belirlenebilmekte ve gerekli önlemlerin alınması sağlanabilmektedir. Dolayısıyla genotoksisitenin tespiti başta insan sağlığı olmak üzere, diğer canlılar ve çevre açısından da büyük önem taşımaktadır.

Nanopartiküllerin genotoksik potansiyellerinin tespit edilmesinde sıklıkla komet ve mikronükleus testleri tercih edilmektedir. Bunların dışında Ames, kromozom anormallikleri ve kardeş kromatit değişimleri testi de oldukça fazla kullanılmaktadır [24, 25, 57-61]. Komet testi veya diğer adıyla tek hücre jel elektroforez testi, DNA hasarı ve tamirinin tek hücre düzeyinde belirlenmesinde kullanılan çok yönlü, basit ve çeşitli hücre tiplerine adapte edilebilen bir testtir [62-65]. Komet, negatif yüklü DNA fragmentlerinin, agaroz jel ortamında uygulanan elektroforez sırasında kuyruklu yıldız benzer bir görüntü oluşturmasıyla bilinen bir testtir. Bu test, DNA'da tek zincir kırıklarının (zincir kırığı ve tamamlanmamış kesip çıkarma onarım bölgeleri), alkali-label bölgeleri ve çapraz bağlar gibi çeşitli DNA hasarlarının belirlenmesinde kullanılmaktadır [66]. Mikronükleus testi, uygulanması kolay ve hızlı sonuç alınan bir testtir. Mikronükleus testi genel olarak nükleustan koparak ayrılmış parçaları saptamaktadır. Örneğin, bölünmekte olan hücrelerde,

sentromer bulundurmeyen (asentrik) ve ana çekirdeğe katılmayan kromozom kırıklarından (klastojenik etki) ve/veya bölünme sırasında kutuplara ulaşamayan, sentromer bulunduran bütün bir kromozomdan (anöjenik etki) oluşan ve ana çekirdeğe katılmayan genetik yapıları tespit etmektedir. Telofazda geri kalmış kromozom veya kromozom parçalarının etrafında nüklear membran oluşumuyla meydana gelen mikronukleuslar, ana nükleustan daha küçük bir yapıdadırlar [67-69]. Kromozom anormallikleri testi, fiziksel, kimyasal ve biyolojik moleküllerin DNA düzeyindeki etkilerinin belirlenmesinde rol oynayan önemli ve faydalı bir biyogöstergedir. Kromozom kırıkları, DNA'da meydana gelen çift zincir kırıklarından oluşurken, yeniden düzenlenmiş kromozomlar ise DNA'daki zincir kırıklarının yanlış onarılmasından oluşmaktadır. Mikronukleus ve kromozom anormallikleri testlerinde elde edilen ve anomali varlığını doğrulayan sonuçlar kalp damar ve nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra, diyabet, kanser ve yaşlanma ile de ilişkilendirilmiştir; adı geçen hastalıkların tespitinde mikronukleus ve kromozom anomali testleri önemli biyogöstergeler olarak ifade edilmişlerdir [57, 69-73]. NP'lerin toksik açıdan değerlendirilerek, ciddi genotoksik risk taşıyanların belirlenmesi ve bunların kullanımı konusunda gerekli önlemlerin alınabilmesi için, üst metinde ifade edilen bu testlerin kullanılması hem insan ve diğer canlıların sağlığı hem de ekosistem açısından büyük önem taşımaktadır.

#### IV. METAL OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN GENOTOKSİK ETKİLERİ

Yaygın olarak kullanılan ve insanların maruz kalma potansiyeli oldukça yüksek olan metal oksit nanopartikülleri ve bu nanopartiküllerin genotoksik etkileri alfabetik sırayla  $Al_2O_3$ ,  $CeO_2$ ,  $CuO$ ,  $Fe_2O_3$ ,  $Fe_3O_4$ ,  $SiO_2$ ,  $TiO_2$  ve  $ZnO$  şeklinde Tablo 1'de özetlenmiştir. Bunlardan  $SiO_2$ , metal ve metal olmayanlar arasında özelliklere sahip olması nedeniyle teknik olarak metalloid olarak kabul edilmektedir [74]. Aynı zamanda  $SiO_2$  nanotoksikolojide bir dereceye kadar metal oksit olarak da sınıflandırılmaktadır [58, 75]. Bu nedenle çalışmamıza  $SiO_2$  de dahil edilmiştir.  $SiO_2$  NP'lerinin kristal formu 1. sınıf kanserojen olarak sınıflandırıldığından [76-77] bu çalışmanın kapsamı dışında tutulmuş ve sadece amorf formdaki  $SiO_2$  NP'lere ait yayınlanmış sonuçlar makaleimize dahil edilmiştir. Bu çalışmada incelediğimiz nanopartiküllerin özellikle ebat ve şekil bilgilerinin de erişilebilir olmasına dikkat edilmiştir. Tabloya, daha ziyade son on yılda memelilerde gerçekleştirilen MN, Komet, KA, KKD testleri ve bakterilerde uygulanan Ames testi kullanılarak araştırılmış olan 5-10 arasında genotoksisite çalışması dahil edilmiştir. Diğer çalışmalar kapsam dışında tutulmuştur.

Tablo 1'de, 4,17 nm ile 40 nm arasında değişen ebatlardaki  $Al_2O_3$  nanopartiküllerinin genotoksisitesi

konusunda yapılan araştırmalarda, genotoksik açıdan hem negatif ve hem de pozitif etkilerin ortaya çıktığı görülmektedir.  $Al_2O_3$ 'in 4,17 nm'lik en küçük formu insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri ve mikronukleus frekansında herhangi bir artış oluşturmazken [78]; 13 nm'lik küresel  $Al_2O_3$  NP'leri fare makrofaj hücre hattında komet testi ile belirlenen DNA hasarında anlamlı bir artışa sebep olmuştur [79]. Di Virgilio ve arkadaşlarının [79] Çin hamsteri ovaryum hücrelerine uyguladıkları ~28 nm'lik küresel yapıdaki  $Al_2O_3$  NP'lerinin de MN frekansını anlamlı düzeyde artırdığı rapor edilmiştir. Daha büyük ebat olan 39 nm'lik partiküllerin uygulandığı insan lenfositlerinde ise MN ve Komet testlerinin her ikisinde de negatif sonuçlar gözlenmiştir [80]. En büyük ebat olan 40 nm'lik partiküllerle muamele edilen *Salmonella typhimurium*'da da negatif sonuçlar bildirilmiştir [9]. Bu nanopartiküllerin genelde mitotik iğ yapısında fiziksel bozulmalara ve kromozom hasarından ziyade kromozom kaybına sebep olduğu belirtilmiştir [80]. Somatik dokulardaki kromozom kaybı özellikle kanser gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, mitoz sonucunda oluşan yavru hücrelere kromozom dağılımının uygun şekilde yapılması bir organizmanın hayatını sağlıklı bir şekilde sürdürmesi açısından şarttır [65, 69, 72]. Söz konusu partiküllerin havacılık, seramik endüstrileri ve özellikle biyomedikal alanlarında kullanıldığı dikkate alındığında, ilgili partiküllerin genotoksisiteleri konusunda daha detaylı araştırmaların yapılması gerektiği açıktır.

$CeO_2$ 'in 5,5 nm'den 148 nm'ye kadar olan farklı büyüklüklerdeki nanopartikülleri ile yapılan araştırmalarda, genotoksik etkilerinin daha ziyade pozitif olduğu fakat genotoksik açıdan negatif etkilerin de olduğu görülmektedir (Tablo 1). En düşük ebatlı olan 5,5 nm  $CeO_2$  NP'leri kullanılarak insan lens epitel hücreleri üzerinde yapılan Komet ve KKD testlerinde genotoksik etkiye rastlanmaması nedeniyle araştırmacılar, bu partiküllerin antioksidan etkili olduğunu ve bu nedenle kanser tedavisinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir [10]. 40 nm'lik küresel  $CeO_2$  nanopartiküllerinin ratlarda Komet ve MN testinde genotoksik olmadığı tespit edilmiştir [14]. İnsan nöroblastoma hücrelerine uygulanan ~25 nm ve ~3 µm ebatlarındaki  $CeO_2$  NP'lerinden sadece nano ebatların gerek Komet gerekse MN testinde genotoksik olduğu rapor edilmiştir [82]. 25 nm ve 148 nm'lik  $CeO_2$  NP'leri insan lenfositlerinde düşük konsantrasyonlarda dahi kromozom anormallikleri ve mikronukleus frekansında artışa sebep olmuştur [24]. Yapılan Komet testinde  $CeO_2$  NP'lerinin 33 nm'lik formunun A549 ve TK6 hücrelerinde DNA hasarı oluşturduğu, 140 µg/mL'lik konsantrasyonda ise sitotoksik olduğu belirlenmiştir [83].  $CeO_2$  nanopartiküllerinin genotoksik etkilerinin, oksidatif stres kaynaklı reaktif oksijen türlerinin hücredeki konsantrasyonlarının artışı ile glutatyon ve katalaz gibi hücreyi mutajen saldırılarından koruyan antioksidan enzim

seviyelerinin azalmasından kaynaklandığı vurgulanmıştır [82]. Araba egzozlarının verdiği zararı en aza indirmek için kullanılan  $\text{CeO}_2$  NP'lerinin solunmasının, hücre ölümüne neden olacak kadar sitotoksik ve genotoksik olduğu da rapor edilmiştir [83].  $\text{CeO}_2$  biomedikal, kozmetik ve cam sanayiinde yoğun olarak kullanıldığından, partikülün genotoksik etkileri konusunda detaylı çalışmalar yapılması gerektiği görülmektedir.

CuO'nun 1-100 nm şekilsiz, 7 nm küresel, 7 nm x 40 nm çubuk, 1200 nm x 270 nm x 30 nm iç şeklindeki alternatif partiküllerinin, çok düşük konsantrasyonlarda dahi periferik kan lenfositlerinde uygulanan Komet testinde ve fare makrofaj hücre hattında uygulanan MN testinde genetik hasarlar oluşturduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak araştırmacılar, CuO NP'lerinin nanotoksikoloji çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılabilirliğini öne sürmüşlerdir [17]. Benzer şekilde, 27-95 nm'lik CuO NP'lerinin farelerde mikronukleus frekansında anlamlı artışa sebep olduğu, bu artışların en çok 48 saatlik uygulamada ortaya çıktığı belirtilmiştir [84]. CuO'nun ~35 nm'lik partiküllerinin Komet testi kullanılarak yapılan denemelerinde, Caco-2 ve HepG2 hücrelerinin her ikisinde de DNA hasarında anlamlı artışlara sebep olduğu bildirilmiştir. İlave olarak, aynı nanopartikülün Caco-2 hücreleri üzerindeki toksik etkisinin, HepG2 hücreleri üzerindeki etkisinden daha güçlü olduğu vurgulanmıştır [26]. Çubuk şekilli CuO NP'leri de SK-Hep-1 ve HepG hücrelerinde DNA hasarında anlamlı artışlara sebep olmuştur [20]. Yapılan bir çalışmada <50 nm ve <10 µm ebatlı CuO nanopartiküllerinin BEAS-2B hücrelerinde DNA hasarının yanı sıra mikronukleus frekansında da artışa sebep olduğu bildirilmiş, nanometre ebatındaki partiküllerin, mikron boyutundaki partiküllerden daha genotoksik olduğu da belirlenmiştir [25]. İncelenen makalelerden sadece ~55 nm ebatlarındaki CuO NP'lerinin, insan kolorektal adenokarsinom HT29 hücrelerindeki genotoksik etkisinin Komet testinde negatif sonuç verdiği bildirilmiştir (85). Araştırmalardan elde edilen veriler, CuO NP'lerinin mitokondride yapısal hasar oluşturduğunu ve bu hasarın diğer birçok nanopartikülde olduğu gibi ROT'ni artırdığını göstermektedir. ROT'nin artışı ile DNA'da oluşan hasar arasında da pozitif bir korelasyon olduğu ifade edilmiştir [26]. CuO NP'leri, yüz spreylere, metalik kaplamalarda ve mürekkeplerde katkı maddesi olarak kullanılırken, özellikle gıdaların paketlenmesinde antimikrobiyal ajan, lityum iyon pillerinde anod materyali olarak tercih edilmekte ve buna benzer birçok alanda çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Bu nedenle CuO NP'lerinin önce çevreye oradan da dermal yoldan veya yiyecek, su ve hatta toprak vasıtasıyla insan dahil diğer canlılara kontaminasyonu kolayca gerçekleşmektedir. Bu nedenle bu nanopartiküllerin de detaylı bir şekilde incelenerek risk değerlendirmelerinin yapılması büyük önem taşımaktadır.

Biomedikal alanda yoğun olarak kullanılan  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  ve  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerinin genotoksik etkileri konusunda varılan sonuçlar da birbirleriyle çelişir durumdadır. Buna göre bazı yayınlarda söz konusu partiküller genotoksik olarak nitelendirilirken başka yayınlarda genotoksik olmadığına dair sonuçlar göze çarpmaktadır (Tablo 1). 4-8 nm ebatlarındaki  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  nanopartiküllerinin *Salmonella typhimurium*'da mutajenik olmadığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada, maymun böbrek hücre hattında gerçekleştirilen MN ve Komet testlerinde de genotoksik etki tespit edilmemiştir [9]. Bunun tersine, 14 nm ve 30 nm'lik  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  NP'lerinin insan nöroblastoma hücrelerinde Komet testiyle belirlenen DNA hasarında anlamlı artışlara sebep olduğu ve dolayısıyla genotoksik olduğu rapor edilmiştir [23]. Aynı nanomateryallerin küresel ve ~44 nm'lik partiküllerinin de insan lenfositleri kullanılarak yürütülen Komet testi ve kromozom anormallikleri testlerinin ikisinde birden genotoksik olduğu belirlenmiştir [81]. Farede *in vivo* olarak incelenen 60-100 nm'lik  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  NP'lerinin mikronukleus frekansında anlamlı artışa sebep olduğu belirlenmiş ve genotoksik olarak nitelendirilmiştir. MN frekansındaki en yüksek artışın, uzun süreli uygulamada gerçekleştiği ifade edilmiştir [84]. Benzer genotoksik etkiler  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NP'leri için de gözlenmiştir. Örneğin, küresel şekilli ve ~8 nm'lik  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NP'leri insan periferik lenfositlerinde ve HEK-293 hücre hatlarında genotoksik etkili olup, bu etki zamana bağlı şekilde bir artış göstermiştir. Aynı nanopartiküller *Salmonella typhimurium*'da Ames testinde de pozitif sonuçlar göstermiştir [86]. ~25 nm ve çokgen şekilli  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanopartiküllerinin Komet testi ile incelendiği çalışmada A549 ve A431 hücrelerinde DNA hasarında anlamlı artışlar saptanmıştır [87]. 80 nm'lik  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NP'leri de farede MN frekansında anlamlı artışlara sebep olmuştur. En yüksek artış 48 saatlik uygulamada tespit edilmiştir [84].

Nanopartiküller tek başına kullanılabilirlikleri gibi, partiküllere daha farklı özellikler kazandırmak amacıyla, farklı materyaller ile kaplanarak da kullanılabilirler. Bu şekilde kaplanan nanopartiküller tıp, eczacılık, savunma sanayii, otomotiv ve gıda endüstrisi gibi çeşitli alanlarda kullanıldıklarından genotoksik etkileri araştırılmaktadır (Tablo 1). Dekstran, magnetik nanopartiküllerin bir yandan aglomerasyonunu engellemek diğer yandan toksik etkisini azaltmak amacıyla, özellikle biyomedikal uygulamalarda yaygın bir şekilde kullanılan biyoyumlu bir materyaldir. Dekstran kaplı ve kaplı olmayan, ~10 nm ebatlı, genelde küresel fakat çok azı çubuk şeklinde olan  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  NP'lerinin çeşitli dozlarının MCL-5 insan lenfoblastoid hücre hatlarına uygulanması sonucunda, dekstran kaplı  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  NP'lerinin MN frekansında artışa sebep olduğu anlaşılmıştır. Diğer yandan dekstran kaplı olmayan  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  NP'leri ile, dekstran kaplı ve kaplı olmayan  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NP'lerinin MN frekansında bir artış oluşturmadığı rapor edilmiştir [19]. Oleik asit,

biyomedikal uygulamalarda, nanopartikülleri stabilize ederek yüzeyinin fonksiyonel hale gelmesini sağlamak ve nanopartiküller arasındaki etkileşimi azaltmak amacıyla kullanılan, iyonik olmayan ve yağda çözünebilen bir kaplama materyalidir. Kaplama materyali NP'lerin monodispersiyon oluşturması ve biyoyumuluğunda büyük önem taşımakta, nanopartiküllerin kan beyin bariyerini geçmesi, beyine hedefli ilaç taşınması ve hipertermia gibi uygulamalarda da büyük önem taşımaktadır. 11 nm boyutunda ve oleik asit kaplı Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'leri insan A172 hücrelerinde serum içeren ve içermeyen ortamlarda primer DNA hasarı oluştururken, MN testinde toksik etki oluşturmamıştır. Bu durum, hücrelerin DNA hasarını tamir ettiği ve bu nedenle kromozom hasarı gözlenmediği şeklinde açıklanmıştır. Çalışmada nanopartiküllerin hücre döngüsüne katıldığı ve döngüyü S fazında duraksattığı hatta apoptoza neden olduğu da bildirilmiştir [88].

Bu derlemede incelenen beş farklı SiO<sub>2</sub> NP'ün de gerek *in vivo* gerekse *in vitro* koşullarda, genotoksik açıdan pozitif ve negatif etkiler oluşturduğu görülmektedir (Tablo 1). 10-100 nm'lik SiO<sub>2</sub> NP'leri, insan ven endotel hücrelerinde ve fare makrofaj hücre hattında DNA hasarının yanısıra MN frekansında da artışa sebep olmuştur [22, 79]. SiO<sub>2</sub> NP'lerinin iki farklı boyutunun insan periferik lenfositlerinde *in vitro*da MN frekansını artırmadığı fakat Wistar ratlarda *in vivo* koşullarda DNA hasarını da mikronukleus frekansını da artırdığı tespit edilmiştir [89]. 17 nm'lik küresel SiO<sub>2</sub> NP'leri ise insan lenfositlerinde genotoksik etki oluşturmamıştır [81]. Kaplı olmayan, vinil kaplı ve aminopropil vinil kaplı farklı boyutlardaki SiO<sub>2</sub> NP'lerinin hiç birinin kromozom anormallikleri oluşturmadığı fakat kaplanmamış NP'lerin Komet testinde DNA hasarı oluşturduğu belirlenmiştir. Bu farklılık, SiO<sub>2</sub> NP'lerinin genotoksik etkisinin, oksidatif DNA hasarı oluşturabilecek kadar güçlü fakat çift zincir DNA kırıklarından kaynaklanan kromozom hasarını artıracak kadar güçlü olmamasıyla açıklanmıştır. Aynı zamanda söz konusu farklılık, kullanılan NP'lerin G1/S noktasında hücre döngüsünü durdurmasıyla da bağlantılı olabilir. Kaplı ve kaplı olmayan nanopartiküllerin farklı genotoksik etki göstermesinin, NP'lerin kaplandıkları maddeler nedeniyle, yüzey yükü ve zeta potansiyelinde meydana gelen farklılıklardan veya hücre ile etkileşimlerindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği rapor edilmiştir [90]. Yapılan bir çalışmada, silika NP'lerinin inflamatuvar hücre kaynaklı oksidanların serbest bırakılması ile sekonder genotoksisiteyi başlattığı bildirilmiştir. Sekonder genotoksisitede NP'ler *in vitro* test sistemlerinde genotoksik potansiyel göstermeyebilirken, *in vivo* koşullarda kronik bağışıklık yanıtını artırarak genotoksik etki oluşturabilir. NP'lerin, yangıya bağlı olarak artan nötrofilik sızma ile karaciğerde hücre ölümüne neden olduğu, yangı belirteci olan TNF (tümör nekrozu faktör) ve IL-6 (interlökin-6) miktarlarını plazmada

artırmak suretiyle genetik hasarlar oluşturduğu düşünülmektedir [88]. SiO<sub>2</sub> NP'leri gıda katkı maddesi olmalarının yanında biyobelirteç olarak da kullanılan partiküller olduklarından, sebep olabilecekleri genotoksik etkiler yönünden incelenmeleri insan sağlığı araştırmaları açısından oldukça önemlidir.

Nano teknolojik alanda, özellikle güneş kremleri ile gıda ve ilaç gibi ürünlerin renklendirilmesinde kullanılan TiO<sub>2</sub> NP'leri ile yapılan çalışmaların neredeyse tamamına yakınında genotoksik sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 1). ~20 nm ebatlarındaki TiO<sub>2</sub> NP'leri, özellikle yüksek konsantrasyonlarda, insan lenfositlerinde DNA hasarı ve kromozom anormallikleri oluşturmuştur [21]. 19-101 nm boyutundaki partiküllerin farede MN frekansını artırdığı [84], Çin hamster ovarium hücresinde bazı konsantrasyonlarda sitotoksik, bazılarında da KKD ve MN frekansında artışa sebep olduğu belirtilmiştir [80]. 100 nm'nin altındaki TiO<sub>2</sub> NP'leri insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri ve kardeş kromatid değişim frekansında artışlara ve kullanıldıkları en yüksek konsantrasyonlarda DNA hasarında artışa sebep olurken, MN frekansında bir değişiklik oluşturmamıştır [57]. A549 ve TK6 hücrelerine uygulanan ~110 nm'lik TiO<sub>2</sub> NP'leri ile [82], HT29 hücrelerine uygulanan ~27 nm'lik partiküllerin [85] DNA hasarı oluşturduğu tespit edilmiştir. Ebatları 20-150 nm arasında değişen küresel, şekilsiz ve yassı partiküller BEAS-2B hücrelerinde DNA hasarı oluştururken, bipiramit ve çubuk şeklindeki partiküller DNA hasarı oluşturmamıştır [91]. 40 nm'lik partiküller de *Salmonella typhimurium* da mutajenik etki göstermemiştir [15]. TiO<sub>2</sub> nanopartikülleri, ya direk DNA'ya bağlanarak veya alternatif olarak hücrede oksidatif strese artışa sebep olup ROT oluşturarak dolaylı şekilde genotoksik etki göstermektedir. TiO<sub>2</sub> NP'lerinin DNA ve kromozom düzeyinde oluşturduğu hasarların, partiküllerin DNA'ya bağlanma kapasitesinin yüksek olmasından ve direkt olarak DNA ile etkileşime girmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir [21]. Diğer hücre kültürlerinden farklı olarak insan akciğer epitellerinde de genotoksik etki gösteriyor olması, tehlikenin farklı bir boyutuna da işaret etmektedir [83].

Kozmetik, ilaç sanayii, biomedikal ve elektronik gibi birçok endüstriyel alanda yoğun olarak kullanılan ZnO nanopartikülleri ile yapılan çalışmalarda genotoksik anlamda çoğunlukla negatif sonuçlar gözlenmekle beraber, pozitif sonuçların elde edildiği araştırmalar da mevcuttur (Tablo 1). ZnO'nin 20-70 nm'lik partiküllerin, Çin hamsteri akciğer (CHL) fibroblast hücresinde, ratlarda ve farelerde DNA hasarı, kromozom anormallikleri ve mikronukleus frekansında artışa sebep olmadığı, *Salmonella typhimurium* da Ames testinde de mutajenik olmadığı belirlenmiştir [13]. ~58 nm ebatlı ZnO NP'lerinin de HT29 hücrelerinde Komet testi ile negatif etkili olduğu bulunmuştur [85]. Diğer yandan, 10-50 nm aralığındaki

ZnO nanopartikülleri ile sıçan böbrek epiteli NRK-52E hücrelerinde Komet testi ile yapılan çalışmada en yüksek konsantrasyonun DNA hasarını artırdığı, bu hasarın, nanopartiküllerin membran geçirgenliğini etkileyerek mitokondri ve lizozomun yapısını bozmasıyla ortaya çıktığı ifade edilmiştir [92]. Periferik insan lenfositlerinde 19,8 nm boyutundaki NP'ler ile yapılan KA ve MN testleri ile de pozitif sonuçlar gözlenirken yüksek konsantrasyonlarda sitotoksikite tespit edilmiştir. ZnO NP'lerinin lipid peroksidasyonunu ve oksidatif stresi artırarak, DNA kırıkları ve apoptoza sebep olduğu vurgulanmıştır [78]. ZnO <100 nm'lik nanopartiküllerin insan lenfositlerinde 48 saatlik uygulamasında, nanopartikülün uygulanan tüm konsantrasyonlarının kromozom anormalliklerinde artışa sebep olduğu, 24 saatlik uygulamada ise en yüksek konsantrasyonlarda artış olduğu gözlenmiştir. Saptanan KKD sayısı ve komet testi ile belirlenen DNA hasarında da nanopartikülün uygulanan konsantrasyonu ile doğru orantılı sonuçlar elde edilmiştir [57]. A549 ve TK6 hücrelerine uygulanan ~147 nm'lik ZnO NP'leri de DNA hasarında artış ve yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermiştir [83]. Shalini ve arkadaşlarının [92] yaptığı çalışmada, 187 nm-küresel-NP'lerin insan periferik lenfositlerinde DNA hasarı oluşturduğu, diğer yandan 670 nm-çubuk-NP'lerinin, 683 nm-küresel-MP (mikropartikül) ve 1039 nm-mikroçubukların DNA hasarı oluşturmadığı gözlenmiştir. Küçük yapıları ve şekilleri nedeniyle küresel nanopartiküllerin, nanoçubuk, mikropartikül ve mikroçubuklara kıyasla hücreye daha kolay girdiği, daha yüksek düzeyde ROT oluşturduğu ve sonuçta daha genotoksik olduğu bildirilmiştir. Buradan da anlaşılacağı üzere nanomateryal toksisitesinde

nanopartikülün şekli kadar ebatlarının da önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Aynı çalışmada, nanopartiküllerin oluşturduğu toksik etkiye karşı çeşitli antioksidanların etkileri de incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre apocyninin küresel NP ve MP'ler ile beraber kullanımında DNA hasarında artış gözlenirken, diğer formlarda DNA hasarını düşürdüğü gözlenmiştir. Ayrıca tüm C vitamini ve kuersetin uygulamalarının nanopartikül kaynaklı genotoksik hasarı düşürdüğü ifade edilmiştir. Sonuç olarak, antioksidan alımının, NP kaynaklı toksisiteyi iyileştirebildiği de vurgulanmıştır [93].

İncelenen araştırmaların çoğunda, metal oksit NP'lerin genotoksik potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca, aynı partikülün normal ebatlı formlarına kıyasla nanopartikül formlarının genotoksik etkilerinin genelde daha yüksek olduğu vurgulanmaktadır. Nanopartiküllerin belirlenen toksik etkilerinde boyut, şekil ve yüzey kaplama özellikleri gibi fizikokimyasal nitelikleri kadar, nanopartiküllerin uygulandıkları canlı türü, hücre tipi, kullanıldığı ortam ve çalışmada yararlanılan genetik toksisite testi de önemli rol oynamaktadır. Tüm bu parametrelere ilave olarak nanopartiküllerin teste kullanılan konsantrasyonları ile hücre/dokuların nanopartiküllere maruziyet süreleri de önemli parametrelerdir (Tablo 1). Metal oksit NP'lerin genotoksik etkileri sadece Tablo 1'de belirtilen memeli ve bakteri türleri ile sınırlı değildir. Yapılan çalışmalar metal ve metal oksit türevi NP'lerin yüksek yapılı bitkilerden planktonlara, omurgalılardan omurgasızlara kadar diğer birçok canlı türünde de genotoksik etkilerinin olabileceğini göstermektedir [94-99]. Ancak söz konusu araştırmalar bu derlemenin kapsamı dışında tutulmuştur.

**Tablo 1:** Metal oksit nanopartiküllerinin genotoksik etkileri

NP	Karakterizasyon	Hücre tipi	Test	Maruziyet	Sonuç	Kaynak
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4,17 nm	PBL	KA MN	1, 12,5, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000 µg/mL, 72s	- -	[78]
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	13 nm, küresel	Fare makrofaj hücre hattı	Komet	200, 400 µg/mL, 24 s	+	[79]
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	~28 nm, küresel	Çin hamster ovaryum hücresi	KKD MN	1, 5, 10, 25 µg/mL, 24 s 0,5, 1, 5, 10 µg/mL, 24 s	- +	[80]
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	39 nm, küresel	PBL	Komet KA	100 µg/mL, 24 s 100 µg/mL, 24 s	- -	[81]
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	40 nm	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i>	Ames MN	50, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 µg/petri, 72 s	- -	[9]
		Maymun böbrek hücre hattı	Komet	10, 25, 50, 100 µg/mL, 24 s	-	
CeO <sub>2</sub>	5,5 nm	İnsan lens epitel hücresi	Komet KKD	5, 10 µg/mL, 24 s	- -	[10]
CeO <sub>2</sub>	~25 nm ~3 µm	İnsan nöroblastoma hücresi	Komet MN	10, 20, 50, 100, 200 µg/mL 24 s	+(sadece NP, 200 µg/mL) +(sadece NP, 100 ve 200 µg/mL)	[82]
CeO <sub>2</sub>	25 nm NPs	PBL	KA	0,78, 1,56, 3,125, 6,25,	+	[24]

	148 nm		MN	12,5, 50 µg/mL, 72 s	+	
CeO <sub>2</sub>	33 nm	A549	Komet	0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 75 µg/cm <sup>2</sup>	+	(30, 75 µg/cm <sup>2</sup> , 3s) [83]
		TK6	Komet	0,14, 0,42, 1,4, 4,2, 14, 42, 140 µg/mL, 3 ve 24 s	+	(140 µg/mL, 3s) sitotoksik + (140 µg/mL, 24s) sitotoksik
CeO <sub>2</sub>	40 nm, küresel	Rat	Komet	0,1, 0,3, 1, 3 mg/m <sup>3</sup> 24 s	-	[14]
			MN		-	
CuO	1-100 nm şekilsiz, 7 nm küresel, 7x40 nm çubuk, 1200 nm x 270 nm x 30 nm iğ	PBL fare makrofaj hücre hattı	Komet	0,1, 1, 10 µg/mL, 2 ve 24 s	+	[17]
			MN	0,1, 1, 10 µg/mL 48 s	+	
CuO	27-95 nm	<i>In vivo</i> fare	MN	1, 3 mg/fare, 24, 48, 72 s	+	(en yüksek artış 48s) [84]
CuO	~35	Caco-2	Komet	5, 10, 15, 20 µg/mL, 24 s	+	(daha toksik) [26]
		HepG2			+	
CuO	50-70 nm çubuk	SK-Hep-1	Komet	25 µg/mL, 24 s	+	[20]
		HepG2			+	
CuO	<50 nm <10 µm	BEAS-2B	Komet	2, 10, 20, 30, 40 µg/cm <sup>2</sup> , 3, 6, 24 s	+	(nm daha toksik) [25]
			MN	5, 25, 50, 75, 100 µg/cm <sup>2</sup> , 48 s	+	(nm daha toksik)
CuO	~55	HT29	Komet	2, 4, 6, 8, 10 µg/mL, 24 s	-	[85]
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4-8 nm	<i>Salmonella typhimurium</i>	Ames	50, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 µg/petri 72 s	-	[9]
		Maymun böbrek hücre hattı	MN	10, 25, 50, 100 µg/mL, 24 s	-	
			Komet	5, 10, 25, 50, 100 µg/mL, 3 s	-	
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	~8 nm, küresel	PBL Hek-293 <i>Salmonella typhimurium</i>	Komet	10, 30, 70 µg/mL 30 dakika, 1 s	+	(zamana bağlı artış) [86]
			AMES	10, 30, 70 µg/petri	+	(zamana bağlı artış) +(70 µg/petri)
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	14 nm	İnsan nöroblastoma hücresi	Komet	50, 200 µg/mL, 24s	+	[23]
	30 nm				+	
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	~25 nm çokgen	A549	Komet	25, 50, 100 µg/mL, 24s	+	[87]
		A431			+	
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	~ 44 nm, küresel	PBL	Komet	100 µg/mL, 24 s	+	[81]
			KA		+	
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	60-100 nm	<i>In vivo</i> fare	MN	1, 3 mg/fare, 24, 48, 72 s	+	(en yüksek artış 48s) [84]
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	80 nm	<i>In vivo</i> fare	MN	1, 3 mg/fare, 24,48,72 s	+	(en yüksek artış 48s) [84]
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> dekstran kaplı	~10 nm, küresel ve çok azı çubuk şeklinde	MCL-5	MN	1-100 µg/mL, 24 s	+	> 4 µg/mL [19]
					-	
kaplı olmayan					-	
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> dekstran kaplı	~10 nm, küresel	MCL-5	MN	1-100 µg/mL, 24 s	-	[19]
					-	
kaplı olmayan					-	

Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> oleik asit kaplı, serumlu ortam (S+)	~11 nm, küresel	A172	Komet	5, 25, 50, 100 µg/mL, 3 s, 24 s	+ (S+); - (S-) + (S+); - (S-)	[88]
serumsuz ortam (S-)			MN	5, 25, 50, 100 µg/mL, 3 s + 48 s, 24 s + 48 s	- (S+, S-) - (S+, S-)	
SiO <sub>2</sub>	10 nm 25 nm 50 nm 100 nm	İnsan endotel hücreleri	ven Komet	1, 5, 25 µg/mL, 4 s	+ (boyut azaldıkça)	[22]
			MN	1, 5, 25 µg/mL, 24 s	+ (boyut azaldıkça)	
SiO <sub>2</sub>	~12 nm	Fare makrofaj hücre hattı	Komet	200, 400 µg/mL, 24 s	+	[79]
SiO <sub>2</sub>	15 nm 55 nm	PBL	MN	31,6, 100, 316, 1000 µg/mL, 24 s	-	[89]
		Rat	Komet	25, 50, 125 mg/kg, 4, 24, 48 s	+	
			MN		+	
SiO <sub>2</sub>	17 nm, küresel	PBL	Komet	100 µg/mL, 24 s	-	[81]
			KA	100 µg/mL, 24s	-	
SiO <sub>2</sub> kaplı olmayan, vinil kaplı, aminopropil vinil kaplı	10-50 nm aralığında, küresel	PBL	Komet	10, 25, 50, 100 µg/mL, 2 ve 24 s	+(kaplı olmayan)	[90]
					-	
			KA	0, 10, 25, 50, 100 µg/mL, 50 s	-/-/-	
TiO <sub>2</sub>	~20 nm	PBL	Komet	25, 75, 125 µM, 24 s	+(75 ve 125 µM)	[21]
			KA		+(75 ve 125 µM)	
TiO <sub>2</sub>	~20 nm	Çin hamster ovaryum hücresi	KKD	1, 5, 10, 25 µg/mL, 48 s	+(10 ve 25 µg/mL sitotoksik)	[80]
			MN	0,5, 1, 5, 10 µg/mL, 24 s	+(10 µg/mL sitotoksik)	
TiO <sub>2</sub>	19-101 nm	<i>In vivo</i> fare	MN	1, 3 mg/fare, 24, 48, 72 s	+(en yüksek artış 48s)	[84]
TiO <sub>2</sub>	<100 nm	PBL	KA	20, 40, 60, 80, 100 µg/mL, 24 s, 48 s	+(24s, tüm dozlar) +(48s, 20 ve 40 µg/mL)	[57]
			KKD		+	
			MN	48 s	-	
			Komet	1 s	+(100 µg/mL, kuyruk uzunluğu)	
TiO <sub>2</sub>	~110 nm	A549 TK6	Komet	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 75 µg/cm <sup>2</sup>  0.14, 0.42, 1.4, 4.2, 14, 42, 140 µg/mL, 3 ve 24 s	3 s (+), 75 µg/cm <sup>2</sup> sitotoksik 24 s (-), 75 µg/cm <sup>2</sup> sitotoksik 3 s (+), 24 s (+) 140 µg/mL	[83]
TiO <sub>2</sub>	~20 nm küresel ~150 nm şekilsiz ~50 nm bipiramit ~108 nm cubuk ~75 nm yassı	BEAS-2B	Komet	20, 50, 80, 120, 160 µg/mL, 24 s	+	[91]
					+	
					-	
					-	
					+	
TiO <sub>2</sub>	~27 nm	HT29	Komet	2, 4, 6, 8, 10 µg/mL, 24 s	+(8, 10 µg/mL)	[85]
TiO <sub>2</sub>	40 nm	<i>Salmonella Typhimurium</i>	AMES	78, 156, 312, 625, 1250 µg/petri	-	[15]
ZnO	10-50 nm	NRK-52E	Komet	12.5, 25, 32.5, 50 µg/mL, 24s	+(50 µg/mL)	[92]
ZnO	19,8 nm	PBL	KA	1, 12.5, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000 µg/mL, 72 s	+	[78]
			MN		+	
					500, 1000, 2000 µg/mL sitotoksik	



ZnO	20 nm ve 70 nm	CHL akciğer	KA	3,75, 7,5, 15 µg/mL 24 s	-	[13]
		Rat	Komet	500, 1000, 2000 mg/kg, 24 ve 45 s	-	
		Fare	MN	500, 1000, 2000 mg/kg, 24 s	-	
		<i>Salmonella typhimurium</i>	Ames	312,5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/petri, 48-72 s	-	
ZnO	~58 nm	HT29	Komet	2, 4, 6, 8, 10 µg/mL, 24 s	-	[85]
ZnO	<100 nm	PBL	KA	1, 5, 10, 20, 30 µg/mL, 24 s, 48 s	+ (24 s, 20, 30 µg/mL) + (48 s)	[57]
			KKD		+ (24 s, 10, 20, 30 µg/mL) + (48 s, 20, 30 µg/mL)	
			MN	48 s	-	
			Komet	1 s	+ (30 µg/mL, kuyruk yoğunluğu) + (5, 20 µg/mL, kuyruk uzunluğu, momenti)	
ZnO	~147 nm	A549	Komet	0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 75 µg/cm <sup>2</sup> , 3 ve 24 s	3 s (+), 75 µg/cm <sup>2</sup> sitotoksik 24 s (+), 75 µg/cm <sup>2</sup> sitotoksik	[83]
		TK6		0,14, 0,42, 1,4, 4,2, 14, 42, 140 µg/mL, 3 ve 24 s	3 s (+), 42, 140 µg/mL sitotoksik 24 s (+), 14, 42, 140 µg/mL sitotoksik	
ZnO	187 nm, küresel NP	PBL	Komet	25, 50, 100 µg/mL, 4s	+	[93]
	670 nm, çubuk-NP				-	
	683 nm, küresel MP	PBL +Apocynin	Komet	25 µg/ml (NP), 4s	+	
	1039 nm, çubuk MP	(2 s)		25 µg/mL (NP), 4s	-	
				50 µg/mL (MP), 4s	+	
				50 µg/mL (MP), 4s	-	
		PBL+C vitamin (2 s)	Komet	25 µg/mL (NP), 4s	-	
				25 µg/mL (NP), 4s	-	
				50 µg/mL (MP), 4s	-	
				50 µg/mL (MP), 4s	-	
		PBL+Kuersetin (2 s)	Komet	25 µg/mL (NP), 4s	-	
				25 µg/mL (NP), 4s	-	
				50 µg/mL (MP), 4s	-	
				50 µg/mL (MP), 4s	-	

A172: İnsan glioblastoma, A531: İnsan deri epitel hücresi, A549: İnsan alveolar epitel hücresi, Ames: Bakteriyal geri mutasyon testi, BEAS-2B: İnsan bronşial epitel hücresi, Caco-2: Kolorektal adenokarsinom hücresi, CHL: Çin Hamster akciğer hücresi, HEK-293: Embriyonik böbrek hücresi hattı, HepG2: Farklılaşmış hepatosellüler karsinom hücresi, HT29: İnsan kolorektal adenokarsinom hücresi, KA: Kromozomal anormallik testi, KKD: Kardeş kromatit değişimi testi, MCL-5: İnsan lenfoblastoid hücre hattı, MN: Mikronükleus testi, MP: Mikropartikül, NP: Nanopartikül, NRK-52E: Sıçan böbrek epitel hücresi, PBL: İnsan periferik kan lenfositleri, s: saat, SK-Hep-1: Farklılaşmamış hepatosellüler karsinom hücresi, TK6: Lenfoblastoid hücresi.

## V. METAL OKSİT NANOPARTİKÜLLERİN GENOTOKSİK MEKANİZMALARI

Metal oksit nanopartiküllerin oluşturduğu genetik hasarlar, primer (direkt, indirekt) ve sekonder olmak üzere iki farklı mekanizma ile açıklanmaktadır. Primer

etki iki farklı şekilde gözlenebilmektedir. Birinci senaryoda, nanopartiküller direkt olarak DNA üzerine etkiye bulunur. İkinci senaryoda ise nanopartikül indirekt olarak, aracı biyomoleküller (protein, enzim gibi) ile etkileşime girerek oksidatif strese bağlı reaktif oksijen türleri oluşturarak genotoksisiteye sebep olduğu belirtilmektedir [57-60, 100]. Primer indirekt etkinin mekanizması ise şu şekilde açıklanmaktadır: ROT artışına bağlı olarak oluşan oksidatif hasarı önlemek için hücrel antioksidanlar kullanılarak, ROT'lerinin etkisi yok edilmeye çalışılmaktadır. Fakat ROT'lerinin oluşumu ve hücredeki antioksidan düzeyi arasında bir dengesizlik bulunması durumunda hücrede oksidatif stres düzeyi yükselmekte, buna bağlı olarak da DNA hasarında artış meydana gelmektedir. Benzer şekilde antioksidan sistemin bloke edilmesi de ROT'lerinin oluşumunu artırarak indirekt DNA hasarına neden olmaktadır [36, 100]. Genotoksik etkinin sekonder mekanizması ise genellikle bir nanopartikülün *in vivo* koşullarda kronik bağışıklık yanıtını tetiklemesiyle oluşmaktadır. İnflamasyon sonucunda maruziyet bölgesine gelen nötrofil ve

makrofajlar tarafından ROT'leri oluşturulmakta, sekonder yolla genotoksik hasarlar tetiklenmektedir [57-60, 89, 100]. Normal fizyolojik şartlarda savunma sistemi toksik ajanlara karşı vücudu korumak amacıyla nötrofil ve makrofajları hasar bölgesine göndermek şeklinde bir immün yanıt vermektedir. Ancak söz konusu immün yanıt kronik inflamasyona, buna bağlı olarak oksidatif stres artışına sonuçta ise hücrelerde sekonder hasara neden olmaktadır [101]. Metal oksit nanopartiküllerinin temel toksisite mekanizması çoğunlukla oksidatif stres oluşumuna bağlı olarak gerçekleşmektedir. Oksidatif stres oluşumu ile ROT üretimi artmakta ve bu durum normal hücresel aktiviteleri etkileyerek genotoksisiteye sebep olmaktadır [20, 22, 36, 81, 102-107].

Metal oksit NP'lerinin genotoksik mekanizması kısaca özetlenecek olursa, NP'ler oksidatif stresi artırarak hücrede inflamasyon oluşturabilmekte, genetik materyalde hasara [17, 108] ve gen ekspresyonunda değişime sebep olabilmektedir [109, 110]. Yeteri kadar küçük olduklarında nükleer membrandan geçerek DNA ile direkt etkileşime girebilmektedirler [36, 79]. Nanopartiküllerin sebep olduğu hasar onarılamayacak düzeyde olduğunda hücre apoptoza uğramaktadır [34, 36, 111, 112]. Hasarın uygun bir şekilde tamir edilemediği ve apoptozun gerçekleşmediği senaryoda ise, genomik kararsızlık ortaya çıkmakta, yaşlanma, nörodejeneratif hastalıklar ve çeşitli kanserler gelişebilmektedir [4, 60, 100, 113].

## VI. SONUÇ ve TARTIŞMA

Nanoteknolojide yaşanan hızlı gelişmeler insan sağlığı ve hayatı konusunda birçok avantaj sağlarken, nanopartiküllerin kontrolsüz kullanımları da aynı şekilde problemlere sebep olmaktadır. Ortaya çıkan problemlerden ise insanlar kadar diğer canlılar da etkilenmekte ve sonuçta toksik, özellikle genotoksik etkiler gözlenmektedir. Farklı genetik testler ile yapılan araştırmalar, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CeO<sub>2</sub>, CuO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub> ve ZnO gibi metal oksit nanopartiküllerin genellikle genotoksik etkili olduğunu dolayısıyla insan sağlığı açısından risk oluşturduğunu göstermektedir. Her ne kadar bazı araştırmalarda genotoksik etki gözlenmemiş ise de bu partiküllerin potansiyel zararlı olabileceği yönündeki bulgular daha fazladır. Nanopartiküller doğrudan nükleusa ulaşarak veya hücre bölünmesi esnasında DNA ve kromozomlar ile direk etkileşime girmek yoluyla etki gösterebildiği gibi benzer etkilere dolaylı şekilde de sebep olabilmektedir. Diğer etki şekilleri ise, hücrelerin savunma sistemini devre dışı bırakarak genetik hasarlara neden olmak şeklinde ortaya çıkmaktadır. Nanopartiküllerin, başta beyin olmak üzere, çeşitli organlarda birikebileceğinin gösterilmesi de organizma için zararlar oluşturabileceğinin kanıtıdır. Çalışmalardan elde edilen birbirine zıt sonuçlar, nanopartiküllerin genotoksik etkilerinin değişik test sistemlerinden yararlanılarak farklı hücre tipleri üzerinde *in vitro* koşullarda ve hatta değişik organizmalarda *in vivo* şartlarda detaylı bir

şekilde incelenmesi gerektiğini göstermektedir. Zira nanopartiküllerden mümkün olan en güvenli şekilde daha fazla yararlanmanın ancak bu şekilde mümkün olduğu kanaatindeyiz.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, 05/2011-74 numaralı Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi kapsamında kısmen desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Colvin, V. L. (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*, 21(10), 1166-1170.
- [2] Wang, F., Gao, F., Lan, M., Yuan, H., Huang, Y., & Liu, J. (2009). Oxidative stress contributes to silica nanoparticle-induced cytotoxicity in human embryonic kidney cells. *Toxicology In Vitro*, 23(5), 808-815.
- [3] Oberdörster, G., Oberdörster, E., & Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), 823-839.
- [4] Lanone, S., & Boczkowski, J. (2006). Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Current Molecular Medicine*, 6(6), 651-663.
- [5] Choi, H. S., Kim, Y. J., Song, M., Song, M. K., & Ryu, J. C. (2011). Genotoxicity of nano-silica in mammalian cell lines. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 3(1), 7-13.
- [6] Wahrheit, D. B. (2018). Hazard and risk assessment strategies for nanoparticle exposures: how far have we come in the past 10 years? *F1000Research*, 7.
- [7] Vance, M. E., Kuiken, T., Vejerano, E. P., McGinnis, S. P., Hochella Jr, M. F., Rejeski, D., & Hull, M. S. (2015). Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6(1), 1769-1780.
- [8] Jin, Y., Kannan, S., Wu, M., & Zhao, J. X. (2007). Toxicity of luminescent silica nanoparticles to living cells. *Chemical Research in Toxicology*, 20(8), 1126-1133.
- [9] Sadiq, R., Khan, Q. M., Mobeen, A., & Hashmat, A. J. (2015). *In vitro* toxicological assessment of iron oxide, aluminium oxide and copper nanoparticles in prokaryotic and eukaryotic cell types. *Drug and Chemical Toxicology*, 38(2), 152-161.
- [10] Pierscionek, B. K., Li, Y., Yasseen, A. A., Colhoun, L. M., Schachar, R. A., & Chen, W. (2009). Nanoceria have no genotoxic effect on human lens epithelial cells. *Nanotechnology*, 21(3), 035102.
- [11] Figuerola, A., Di Corato, R., Manna, L., & Pellegrino, T. (2010). From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based

- inorganic materials designed for biomedical applications. *Pharmacological Research*, 62(2), 126-143.
- [12] Singh, S. P., Rahman, M. F., Murty, U. S. N., Mahboob, M., & Grover, P. (2013). Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 266(1), 56-66
- [13] Kwon, J. Y., Lee, S. Y., Koedrih, P., Lee, J. Y., Kim, K. M., Oh, J. M., & Seo, Y. R. (2014). Lack of genotoxic potential of ZnO nanoparticles in *in vitro* and *in vivo* tests. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 761, 1-9.
- [14] Cordelli, E., Keller, J., Eleuteri, P., Villani, P., Ma-Hock, L., Schulz, M., & Pacchierotti, F. (2017). No genotoxicity in rat blood cells upon 3-or 6-month inhalation exposure to CeO<sub>2</sub> or BaSO<sub>4</sub> nanomaterials. *Mutagenesis*, 32(1), 13-22.
- [15] Du, X., Gao, S., Hong, L., Zheng, X., Zhou, Q., & Wu, J. (2019). Genotoxicity evaluation of titanium dioxide nanoparticles using the mouse lymphoma assay and the Ames test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 838, 22-27.
- [16] Cabellos, J., Gimeno-Benito, I., Catalán, J., Lindberg, H. K., Vales, G., Fernandez-Rosas, E., & Janer, G. (2020). Short-term oral administration of non-porous and mesoporous silica did not induce local or systemic toxicity in mice. *Nanotoxicology*, 28: 1-18.
- [17] Di Bucchianico, S., Fabbri, M. R., Misra, S. K., Valsami-Jones, E., Berhanu, D., Reip, P., & Migliore, L. (2013). Multiple cytotoxic and genotoxic effects induced *in vitro* by differently shaped copper oxide nanomaterials. *Mutagenesis*, 28(3), 287-299.
- [18] Sun, T., Yan, Y., Zhao, Y., Guo, F., & Jiang, C. (2012). Copper oxide nanoparticles induce autophagic cell death in A549 cells. *PloS one*, 7(8), e43442.
- [19] Singh, N., Jenkins, G. J., Nelson, B. C., Marquis, B. J., Maffei, T. G., Brown, A. P., & Doak, S. H. (2012). The role of iron redox state in the genotoxicity of ultrafine superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, 33(1), 163-170.
- [20] Kung, M. L., Hsieh, S. L., Wu, C. C., Chu, T. H., Lin, Y. C., Yeh, B. W., & Hsieh, S. (2015). Enhanced reactive oxygen species overexpression by CuO nanoparticles in poorly differentiated hepatocellular carcinoma cells. *Nanoscale*, 7(5), 1820-1829.
- [21] Patel, S., Patel, P., & Bakshi, S. R. (2017). Titanium dioxide nanoparticles: an *in vitro* study of DNA binding, chromosome aberration assay, and comet assay. *Cytotechnology*, 69(2), 245-263.
- [22] Zhou, F., Liao, F., Chen, L., Liu, Y., Wang, W., & Feng, S. (2019). The size-dependent genotoxicity and oxidative stress of silica nanoparticles on endothelial cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(2), 1911-1920.
- [23] Askri, D., Cunin, V., Béal, D., Berthier, S., Chovelon, B., Arnaud, J., & Lehmann, S. G. (2019). Investigating the toxic effects induced by iron oxide nanoparticles on neuroblastoma cell line: an integrative study combining cytotoxic, genotoxic and proteomic tools. *Nanotoxicology*, 13(8), 1021-1040.
- [24] Arslan, K., & Akbaba, G. B. (2020). *In vitro* genotoxicity assessment and comparison of cerium (IV) oxide micro- and nanoparticles. *Toxicology and Industrial Health*, 36(2), 76-83.
- [25] Siivola, K. M., Suhonen, S., Hartikainen, M., Catalán, J., & Norppa, H. (2020). Genotoxicity and cellular uptake of nanosized and fine copper oxide particles in human bronchial epithelial cells *in vitro*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 856, 503217.
- [26] Abudayyak, M., Guzel, E., & Özhan, G. (2020). Cupric oxide nanoparticles induce cellular toxicity in liver and intestine cell lines. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 10(2), 213.
- [27] Balasubramanyam, A., Sailaja, N., Mahboob, M., Rahman, M. F., Misra, S., Hussain, S. M., & Grover, P. (2009). Evaluation of genotoxic effects of oral exposure to aluminum oxide nanomaterials in rat bone marrow. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 676(1-2), 41-47.
- [28] Peters, R. J., Oomen, A. G., van Bommel, G., van Vliet, L., Undas, A. K., Munniks, S., & van der Lee, M. (2020). Silicon dioxide and titanium dioxide particles found in human tissues. *Nanotoxicology*, 14(3), 420-432.
- [29] Rahi, A., Sattarahmady, N., & Heli, H. (2015). Toxicity of nanomaterials-physicochemical effects. *SSU Journals*, 22(6), 1737-1754.
- [30] Soto, K., Garza, K. M., & Murr, L. E. (2007). Cytotoxic effects of aggregated nanomaterials. *Acta Biomaterialia*, 3(3), 351-358.
- [31] Lu, X., Zhu, T., Chen, C., & Liu, Y. (2014). Right or left: the role of nanoparticles in pulmonary diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(10), 17577-17600.
- [32] Naseem, S., Gato, M. A., Dar, A. M., & Qasim, K. (2014). *In vivo* toxicity of nanoparticles: Modalities and treatment. *European Chemical Bulletin*, 3(10), 992-1000.
- [33] Valdiglesias, V., Kiliç, G., Costa, C., Fernández-Bertólez, N., Pásaro, E., Teixeira, J. P., &

- Laffon, B. (2015). Effects of iron oxide nanoparticles: cytotoxicity, genotoxicity, developmental toxicity, and neurotoxicity. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 56(2), 125-148.
- [34] Wang, W., Zeng, C., Feng, Y., Zhou, F., Liao, F., Liu, Y., & Wang, X. (2018). The size-dependent effects of silica nanoparticles on endothelial cell apoptosis through activating the p53-caspase pathway. *Environmental Pollution*, 233, 218-225.
- [35] Fahmy, B., & Cormier, S. A. (2009). Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells. *Toxicology In Vitro*, 23(7), 1365-1371.
- [36] Wang, Z., Li, N., Zhao, J., White, J. C., Qu, P., & Xing, B. (2012). CuO nanoparticle interaction with human epithelial cells: cellular uptake, location, export, and genotoxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 25(7), 1512-1521.
- [37] Braydich-Stolle, L., Hussain, S., Schlager, J. J., & Hofmann, M. C. (2005). *In vitro* cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicological Sciences*, 88(2), 412-419.
- [38] Wang, R., Song, B., Wu, J., Zhang, Y., Chen, A., & Shao, L. (2018). Potential adverse effects of nanoparticles on the reproductive system. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 8487-8506.
- [39] Lee, J., Jeong, J. S., Kim, S. Y., Lee, S. J., Shin, Y. J., Im, W. J., Yu, & W. J. (2020). Safety assessment of cerium oxide nanoparticles: Combined repeated-dose toxicity with reproductive/developmental toxicity screening and biodistribution in rats. *Nanotoxicology*, 14(5), 696-710.
- [40] Brohi, R. D., Wang, L., Talpur, H. S., Wu, D., Khan, F. A., Bhattarai, D., & Huo, L. J. (2017). Toxicity of nanoparticles on the reproductive system in animal models: a review. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 606.
- [41] Warheit, D. B. (2008). How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization? *Toxicological Sciences*, 101(2), 183-185.
- [42] Brown, S. C., Kamal, M., Nasreen, N., Baumuratov, A., Sharma, P., Antony, V. B., & Moudgil, B. M. (2007). Influence of shape, adhesion and simulated lung mechanics on amorphous silica nanoparticle toxicity. *Advanced Powder Technology*, 18(1), 69-79.
- [43] Brunner, T. J., Wick, P., Manser, P., Spohn, P., Grass, R. N., Limbach, L. K., & Stark, W. J. (2006). *In vitro* cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environmental Science & Technology*, 40(14), 4374-4381.
- [44] Misra, S. K., Nuseibeh, S., Dybowska, A., Berhanu, D., Tetley, T. D., & Valsami-Jones, E. (2014). Comparative study using spheres, rods and spindle-shaped nanoplatelets on dispersion stability, dissolution and toxicity of CuO nanomaterials. *Nanotoxicology*, 8(4), 422-432.
- [45] Lee, J. H., Ju, J. E., Kim, B. I., Pak, P. J., Choi, E. K., Lee, H. S., & Chung, N. (2014). Rod-shaped iron oxide nanoparticles are more toxic than sphere-shaped nanoparticles to murine macrophage cells. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(12), 2759-2766.
- [46] Liu, Y., Xia, Q., Liu, Y., Zhang, S., Cheng, F., Zhong, Z., & Xiao, K. (2014). Genotoxicity assessment of magnetic iron oxide nanoparticles with different particle sizes and surface coatings. *Nanotechnology*, 25(42), 425101.
- [47] Yang, L., Kuang, H., Zhang, W., Aguilar, Z. P., Xiong, Y., Lai, W., & Wei, H. (2015). Size dependent biodistribution and toxicokinetics of iron oxide magnetic nanoparticles in mice. *Nanoscale*, 7(2), 625-636.
- [48] Corradi, S., Gonzalez, L., Thomassen, L. C., Bilaničová, D., Birkedal, R. K., Pojana, G., & Kirsch-Volders, M. (2012). Influence of serum on in situ proliferation and genotoxicity in A549 human lung cells exposed to nanomaterials. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 745(1-2), 21-27.
- [49] Gonzalez, L., De Santis Puzzonina, M., Ricci, R., Aureli, F., Guarguaglini, G., Cubadda, F., & Kirsch-Volders, M. (2015). Amorphous silica nanoparticles alter microtubule dynamics and cell migration. *Nanotoxicology*, 9(6), 729-736.
- [50] Ghosh, S., Ghosh, I., Chakrabarti, M., & Mukherjee, A. (2020). Genotoxicity and biocompatibility of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Influence of surface modification on biodistribution, retention, DNA damage and oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*, 136, 110989.
- [51] Zeiger E. (2010). Genetic Toxicology Testing. *Comprehensive Toxicology*. 2nd (Ed CA McQueen), Chapel Hill USA, s.139-158.
- [52] Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D., Yılmaz, S., Akıncı, N., & Aksoy, H. (2011). Genotoxic effects of chlorophenoxy herbicide diclofop-methyl in mice *in vivo* and in human lymphocytes *in vitro*. *Drug and Chemical Toxicology*, 34(4), 390-395.
- [53] Yüzbaşıoğlu, D., Yılmaz, E. A., & Fatma, Ünal (2016). Antidepresan ilaçlar ve genotoksisite. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 9(1), 17-28.
- [54] Dusinska, M., Tulinska, J., El Yamani, N., Kuricova, M., Liskova, A., Rollerova, E., & Smolkova, B. (2017). Immunotoxicity, genotoxicity and epigenetic toxicity of nanomaterials: new strategies for toxicity testing? *Food and Chemical Toxicology*, 109,

- 797-811.
- [55] Elespuru, R., Pfuhler, S., Aardema, M. J., Chen, T., Doak, S. H., Doherty, A., & Tanir, J. Y. (2018). Genotoxicity assessment of nanomaterials: Recommendations on best practices, assays, and methods. *Toxicological Sciences*, 164(2), 391-416.
- [56] Avuloglu-Yilmaz, E., Yuzbasioglu, D., & Unal, F. (2020). *In vitro* genotoxicity assessment of monopotassium glutamate and magnesium diglutamate. *Toxicology in Vitro*, 65, 104780.
- [57] Unal, F., Demirtaş Korkmaz, F., Suludere, Z., Erol, O., & Yuzbasioglu, D. (2021). Genotoxicity of Two Nanoparticles: Titanium Dioxide and Zinc Oxide. *Gazi University Journal of Science*, DOI: 10.35378/gujs.826911.
- [58] Golbamaki, N., Rasulev, B., Cassano, A., Robinson, R. L. M., Benfenati, E., Leszczynski, J., & Cronin, M. T. (2015). Genotoxicity of metal oxide nanomaterials: review of recent data and discussion of possible mechanisms. *Nanoscale*, 7(6), 2154-2198.
- [59] Magdolenova, Z., Collins, A., Kumar, A., Dhawan, A., Stone, V., & Dusinska, M. (2014). Mechanisms of genotoxicity. A review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8(3), 233-278.
- [60] Huang, R., Zhou, Y., Hu, S., & Zhou, P. K. (2019). Targeting and non-targeting effects of nanomaterials on DNA: challenges and perspectives. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 18(4), 617-634.
- [61] Yazdimamaghani, M., Moos, P. J., Dobrovol'skaia, M. A., & Ghandehari, H. (2019). Genotoxicity of amorphous silica nanoparticles: Status and prospects. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 16, 106-125.
- [62] McArt, D. G., McKerr, G., Saetzler, K., Howard, C. V., Downes, C. S., & Wasson, G. R. (2010). Comet sensitivity in assessing DNA damage and repair in different cell cycle stages. *Mutagenesis*, 25(3), 299-303.
- [63] Collins, A. R. (2014). Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(2), 794-800.
- [64] Azqueta, A., Langie, S. A., Boutet-Robinet, E., Duthie, S., Ladeira, C., Møller, P., & Godschalk, R. W. (2019). DNA repair as a human biomonitoring tool: Comet assay approaches. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 781, 71-87.
- [65] Erikel, E., Yuzbasioglu, D., & Unal, F. (2020). Genotoxic and antigenotoxic potential of amygdalin on isolated human lymphocytes by the comet assay. *Journal of Food Biochemistry*, 44(10), e13436.
- [66] Langie, S. A., Azqueta, A., & Collins, A. R. (2015). The comet assay: past, present, and future. *Frontiers in Genetics*, 13(6):266. doi: 10.3389/fgene.
- [67] Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 2(5), 1084.
- [68] Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A. T., Surrallés, J., Crott, J. W., Parry, J., & Thomas, P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), 125-132.
- [69] Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W. P., Holland, N., & Fenech, M. (2007). An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*, 28(3), 625-631.
- [70] Boffetta, P., Van Der Hel, O., Norppa, H., Fabianova, E., Fucic, A., Gundy, S., & Bonassi, S. (2007). Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from Central Europe. *American Journal of Epidemiology*, 165(1), 36-43.
- [71] Vodenkova, S., Polivkova, Z., Musak, L., Smerhovsky, Z., Zoubkova, H., Sytarova, S., & Vodicka, P. (2015). Structural chromosomal aberrations as potential risk markers in incident cancer patients. *Mutagenesis*, 30(4), 557-563.
- [72] Adhikari, A. (2019). Micronuclei (MN), an Important Cancer Biomarker. *Edelweiss Cancer*. 1(1):37-42.
- [73] Wang, H., Wang, Y., Kota, K. K., Sun, B., Kallakury, B., Mikhail, N. N., & Zheng, Y. L. (2017). Strong associations between chromosomal aberrations in blood lymphocytes and the risk of urothelial and squamous cell carcinoma of the bladder. *Scientific Reports*, 7(1), 1-10.
- [74] Vernon, R. E. (2013). Which elements are metalloids? *Journal of Chemical Education*, 90(12), 1703-1707.
- [75] Ju-Nam, Y., & Lead, J. R. (2008). Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Science of the total Environment*, 400(1-3), 396-414.
- [76] Durnev, A. D., Solomina, A. S., Shreder, E. D., Nemova, E. P., Shreder, O., Daugel'-Dauge, N., & Seredenin, S. (2010). *In vivo* study of genotoxicity and teratogenicity of silica nanocrystals. *International Journal of Biomedical Nanoscience and Nanotechnology*, 1(1), 70-86.
- [77] Napierska, D., Thomassen, L. C., Lison, D., Martens, J. A., & Hoet, P. H. (2010). The nanosilica hazard: another variable entity. *Particle and Fibre Toxicology*, 7(1), 1-32.

- [78] Akbaba, G. B., & Türkez, H. (2018). Investigation of the genotoxicity of aluminum oxide,  $\beta$ -tricalcium phosphate, and zinc oxide nanoparticles *in vitro*. *International Journal of Toxicology*, 37(3), 216-222.
- [79] Hashimoto, M., & Imazato, S. (2015). Cytotoxic and genotoxic characterization of aluminum and silicon oxide nanoparticles in macrophages. *Dental Materials*, 31(5), 556-564.
- [80] Di Virgilio, A. L., Reigosa, M., Arnal, P. M., & De Mele, M. F. L. (2010). Comparative study of the cytotoxic and genotoxic effects of titanium oxide and aluminium oxide nanoparticles in Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1-3), 711-718.
- [81] Rajiv, S., Jerobin, J., Saranya, V., Nainawat, M., Sharma, A., Makwana, P., & Chandrasekaran, N. (2016). Comparative cytotoxicity and genotoxicity of cobalt (II, III) oxide, iron (III) oxide, silicon dioxide, and aluminum oxide nanoparticles on human lymphocytes *in vitro*. *Human Experimental Toxicology*, 35(2), 170-183.
- [82] Kumari, M., Singh, S. P., Chinde, S., Rahman, M. F., Mahboob, M., & Grover, P. (2014). Toxicity study of cerium oxide nanoparticles in human neuroblastoma cells. *International Journal of Toxicology*, 33(2), 86-97.
- [83] El Yamani, N., Collins, A. R., Rundén-Pran, E., Fjellsbø, L. M., Shaposhnikov, S., Zienolddiny, S., & Dusinska, M. (2017). *In vitro* genotoxicity testing of four reference metal nanomaterials, titanium dioxide, zinc oxide, cerium oxide and silver: towards reliable hazard assessment. *Mutagenesis*, 32(1), 117-126.
- [84] Song, M. F., Li, Y. S., Kasai, H., & Kawai, K. (2012). Metal nanoparticle-induced micronuclei and oxidative DNA damage in mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 50(3):211-216.
- [85] Schneider, T., Westermann, M., & Gleis, M. (2017). *In vitro* uptake and toxicity studies of metal nanoparticles and metal oxide nanoparticles in human HT29 cells. *Archives of Toxicology*, 91(11), 3517-3527.
- [86] Gomaa, I. O., Kader, M. H. A., Eldin, T. A. S., & Heikal, O. A. (2013). Evaluation of *in vitro* mutagenicity and genotoxicity of magnetite nanoparticles. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 7(3), 116-123.
- [87] Ahamed, M., Alhadlaq, H., Alam, J., Khan, M., Ali, D., & Alarafi, S. (2013). Iron oxide nanoparticle-induced oxidative stress and genotoxicity in human skin epithelial and lung epithelial cell lines. *Current Pharmaceutical Design*, 19(37), 6681-6690.
- [88] Fernández-Bertólez, N., Costa, C., Brandão, F., Duarte, J. A., Teixeira, J. P., Pásaro, E., & Laffon, B. (2019). Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity induced by oleic acid-coated iron oxide nanoparticles in human astrocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 60(9), 816-829.
- [89] Downs, T. R., Crosby, M. E., Hu, T., Kumar, S., Sullivan, A., Sarlo, K., & Pfuhler, S. (2012). Silica nanoparticles administered at the maximum tolerated dose induce genotoxic effects through an inflammatory reaction while gold nanoparticles do not. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 745(1-2), 38-50.
- [90] Lankoff, A., Arabski, M., Wegierek-Ciuk, A., Kruszewski, M., Lisowska, H., Banasik-Nowak, A., & Slomkowski, S. (2012). Effect of surface modification of silica nanoparticles on toxicity and cellular uptake by human peripheral blood lymphocytes *in vitro*. *Nanotoxicology*, 7(3), 235-250.
- [91] Gea, M., Bonetta, S., Iannarelli, L., Giovannozzi, A. M., Maurino, V., Bonetta, S., & Schilirò, T. (2019). Shape-engineered titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NPs): cytotoxicity and genotoxicity in bronchial epithelial cells. *Food and Chemical Toxicology*, 127, 89-100.
- [92] Uzar, N. K., Abudayyak, M., Akcay, N., Algun, G., & Özhan, G. (2015). Zinc oxide nanoparticles induced cyto- and genotoxicity in kidney epithelial cells. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 25(4), 334-339.
- [93] Shalini, D., Senthilkumar, S., & Rajaguru, P. (2018). Effect of size and shape on toxicity of zinc oxide (ZnO) nanomaterials in human peripheral blood lymphocytes. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 28(2), 87-94.
- [94] Ghosh, M., Ghosh, I., Godderis, L., Hoet, P., & Mukherjee, A. (2019). Genotoxicity of engineered nanoparticles in higher plants. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 842, 132-145.
- [95] Park, C. B., Jung, J. W., Baek, M., Sung, B., Park, J. W., Seol, Y., & Kim, Y. J. (2019). Mixture toxicity of metal oxide nanoparticles and silver ions on *Daphnia magna*. *Journal of Nanoparticle Research*, 21(8), 1-13.
- [96] Hou, J., Wu, Y., Li, X., Wei, B., Li, S., & Wang, X. (2018). Toxic effects of different types of zinc oxide nanoparticles on algae, plants, invertebrates, vertebrates and microorganisms. *Chemosphere*, 193, 852-860.
- [97] Zhu, Y., Wu, J., Chen, M., Liu, X., Xiong, Y., Wang, Y., & Wang, X. (2019). Recent advances in the biotoxicity of metal oxide nanoparticles: impacts on plants, animals and microorganisms. *Chemosphere*, 237, 124403.
- [98] Rajput, V., Minkina, T., Sushkova, S., Behal, A., Maksimov, A., Blicharska, E., & Barsova, N. (2020). ZnO and CuO nanoparticles: a threat

- to soil organisms, plants, and human health. *Environmental Geochemistry and Health*, 42(1), 147-158.
- [99] Surendhiran, D., Cui, H., & Lin, L. (2020). Mode of Transfer, Toxicity and Negative Impacts of Engineered Nanoparticles on Environment, Human and Animal Health. The ELSI Handbook of Nanotechnology: Risk, Safety, ELSI and Commercialization, s.165-204.
- [100] Doak, S. H., Liu, Y., & Chen, C. (2012). Genotoxicity and cancer. Adverse Effects of Engineered Nanomaterials; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, s. 243-261.
- [101] Kryston, T. B., Georgiev, A. B., Pissis, P., & Georgakilas, A. G. (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 711(1-2), 193-201.
- [102] Gong, C., Tao, G., Yang, L., Liu, J., He, H., & Zhuang, Z. (2012). The role of reactive oxygen species in silicon dioxide nanoparticle-induced cytotoxicity and DNA damage in HaCaT cells. *Molecular Biology Reports*, 39(4), 4915-4925.
- [103] Könczöl, M., Weiß, A., Gminski, R., Merfort, I., & Mersch-Sundermann, V. (2013). Oxidative stress and inflammatory response to printer toner particles in human epithelial A549 lung cells. *Toxicology Letters*, 216(2-3), 171-180.
- [104] Laha, D., Pramanik, A., Maity, J., Mukherjee, A., Pramanik, P., Laskar, A., & Karmakar, P. (2014). Interplay between autophagy and apoptosis mediated by copper oxide nanoparticles in human breast cancer cells MCF7. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(1), 1-9.
- [105] Bulcke, F., Thiel, K., & Dringen, R. (2014). Uptake and toxicity of copper oxide nanoparticles in cultured primary brain astrocytes. *Nanotoxicology*, 8(7), 775-785.
- [106] Canlı, E. G. (2020). Bakır Oksit Nanopartikülü Etkisinde Kalan Memelilerde (*Rattus norvegicus* var. *albinos*) Bazı Metabolik Tepkilerin İncelenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(2), 304-315.
- [107] Paunovic, J., Vucevic, D., Radosavljevic, T., Mandić-Rajčević, S., & Pantic, I. (2020). Iron-based nanoparticles and their potential toxicity: Focus on oxidative stress and apoptosis. *Chemico-biological interactions*, 316, 108935.
- [108] Singh, N., Manshian, B., Jenkins, G. J., Griffiths, S. M., Williams, P. M., Maffei, T. G., & Doak, S. H. (2009). NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*, 30(23-24), 3891-3914.
- [109] Choi, A. O., Brown, S. E., Szyf, M., & Maysinger, D. (2008). Quantum dot-induced epigenetic and genotoxic changes in human breast cancer cells. *Journal of molecular medicine*, 86(3), 291-302.
- [110] Athinarayanan, J., Periasamy, V. S., Alsaif, M. A., Al-Warthan, A. A., & Alshatwi, A. A. (2014). Presence of nanosilica (E551) in commercial food products: TNF-mediated oxidative stress and altered cell cycle progression in human lung fibroblast cells. *Cell Biology and Toxicology*, 30(2), 89-100.
- [111] Marano, F., Hussain, S., Rodrigues-Lima, F., Baeza-Squiban, A., & Boland, S. (2011). Nanoparticles: molecular targets and cell signalling. *Archives of Toxicology*, 85(7), 733-741.
- [112] Guichard, Y., Schmit, J., Darne, C., Gaté, L., Goutet, M., Rousset, D., & Binet, S. (2012). Cytotoxicity and genotoxicity of nanosized and microsized titanium dioxide and iron oxide particles in Syrian hamster embryo cells. *Annals of Occupational Hygiene*, 56(5), 631-644.
- [113] AshaRani, P. V., Low Kah Mun, G., Hande, M. P., & Valiyaveetil, S. (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS nano*, 3(2), 279-290.