

Nano-ilaç taşıma sistemleri ve toksikolojik değerlendirmeleri

Nano-drug delivery systems and their toxicological assessment

Özge MARANGOZ¹, Oğuzhan YAVUZ¹

ÖZET

Bilim ve teknoloji dünyasına 1960'lı yılların başından itibaren giren nanoteknoloji, nanometre boyutundaki parçacıkların bilimi olarak tanımlanmaktadır. Nanoteknoloji günümüzde organik kimya, moleküler biyoloji, endüstri, elektronik ve sağlık gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Nanoteknolojinin özellikle sağlık alanında kullanılması ile hastalıkların erken teşhisi, önlenmesi ve daha iyi takibi mümkün olabilmektedir. Beşeri ve veteriner hekimlikte ilaç etkin maddelerinin çeşitli nedenlerle etki yerinde istenen yoğunluğa ulaşamaması veya toksik düzeyin üstüne çıkması sıklıkla karşılaşılan istenmeyen durumlardır. Bu nedenle bütün dünyada etkin maddeyi hedef bölgeye yüksek yoğunluklarda ulaştıran ve istenmeyen etkileri mümkün olduğunca azaltan ilaç taşıma sistemleri elde edilmesi için çalışmalar yürütülmektedir. Bu amaçla son yıllarda nanoteknoloji yardımıyla geliştirilen nano-ilaç salınım sistemleri ile birlikte ilaç aktif maddeleri etki yerinde yeterli yoğunluğa ulaştırılabilmekte, sadece hedeflenen organ, doku ve hücrelerde etkin olabilmekte ve kullanılan doz ve doz aralığı azaltılarak istenmeyen etkilerin önüne geçilebilmektedir. Bunun gibi birçok avantaja sahip olmasına rağmen nano-ilaç komplekslerinin boyutları ve bileşenlerinin çok küçük olması nedeniyle, insan ve

ABSTRACT

Nanotechnology, which involved in the science and technology from beginning of 1960s, defined as science of nano-sized particles. Nanotechnology is used in many fields, such as organic chemistry, molecular biology, industry, electronic and medicine. Thanks to usage of nanotechnology in the health sector, early diagnosis, prevention and better monitoring of diseases can be possible. Lower access of drug active ingredients than desired concentrations and their higher accumulations than the toxic levels in the action point are usual adverse effects in human and veterinary medicine. Therefore, studies are performed worldwide on drug delivery systems for transferring active ingredients in high concentrations to the target place and for reducing adverse effects as much as possible. Owing to nano-drug delivery systems, active ingredients can be transported to the effect point; they can be effective only in the target organ, tissue and cells; dose and dose intervals can be reduced and adverse effects can be decreased. But, because of small sizes of nano-drug complexes, exposure risk of humans and domestic animals to these materials increased and their toxic effects became conflictive. Thus, toxicity

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Samsun



İletişim / Corresponding Author : Özge MARANGOZ

Ondokuz Mayıs Üni. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji A.D. Atakum 55139 Samsun - Türkiye

E-posta / E-mail : ozgemarangos@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 09.07.2019

Kabul Tarihi / Accepted : 12.07.2020

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.37790

Marangoz Ö, Yavuz O. Nano-ilaç taşıma sistemleri ve toksikolojik değerlendirmeleri.

Türk Hij Den Biyol Derg, 2020; 77(4): 509-526

evcil hayvanların bu yapılara maruziyet riski oldukça artmıştır ve toksik etkilerinin olup olmadığı tartışmalı hale gelmiştir. Bu nedenle nano-ilaç salınım sistemlerinin güvenliklerinin tespitine yönelik toksikolojik çalışmalar önem kazanmıştır. Yapılan araştırmalarda nanomateryallerin hücrelerde apoptoz, nekroz, otofaji, mitotik yıkılma gibi istenmeyen etkilere yol açtıkları rapor edilmiştir. Ancak bu tür sonuçların elde edildiği toksikolojik araştırmalar daha çok in vitro denemelerdir ve in vivo çalışmaların yetersizliğinden dolayı nano-ilaç ve nano-ilaç taşıma sistemlerinin canlı vücudu üzerindeki etkileri tam olarak ortaya konamamıştır. Bu nedenle nano-ilaçların toksisitesi konusunda ayrıntılı, sistematik ve uzun soluklu in vivo çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu derlemede, önemli nano-ilaç ve nano-ilaç taşıma sistemleri ile ilaç taşıma sistemlerinde kullanılan nanomateryallerin toksisitesi ve güvenli kullanımları değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nano-ilaç, taşıma sistemleri, toksisite

studies for determination of safety of nano-drug delivery systems are very imported. It was reported that nanomaterials caused adverse effects on cells, such as apoptosis, autophagy, mitotic catastrophe. However, toxicological researches are mainly based on in vitro experiments and due to lack of enough in vivo studies, exact effects of nano-drug delivery systems on live organisms are not clear. Therefore, detailed, systematic and long term in vivo studies regarding toxicity of nano-drugs, are needed. In this review, important nano-drug and nano-drug delivery systems and their toxicities were evaluated.

Key Words: Nano-drug, delivery systems, toxicity

GİRİŞ

Bilindiği gibi, bir ilaç etkin maddesinin istenilen etkiyi oluşturabilmesi için etki yerine ulaşması, etki yerinde belirli bir yoğunlukta olması ve etki yerinde belirli bir süre kalması gerekmektedir. Beşeri ve veteriner hekimlikte tedavi amacıyla kullanılan ilaçlar bu gereklilikleri sağlamak için hastalara genellikle sık aralıklarla ve tekrarlanan dozlarda uygulanır. Ancak çeşitli nedenlerle etkin maddenin etki yerinde istenen yoğunluğa ulaşamaması veya toksik düzeyin üstüne çıkması sıklıkla karşılaşılan istenmeyen durumlardır. Bu nedenle bütün dünyada daha düşük dozlarda ve daha uzun doz aralıklarında etkin maddeyi hedef bölgeye yüksek yoğunluklarda ulaştırılan ve istenmeyen etkileri mümkün olduğunca

azaltan ilaç taşıma sistemleri geliştirilmesi için çalışmalar yürütülmektedir. Farmakolojide ideal ilaç uygulamalarını karşılayan bu tür sistemlerden birisi son yıllarda üzerinde yoğun olarak durulan nano-ilaç taşıma sistemleridir (1).

Nano, Yunanca bir kelime olan 'nanos' yani 'cüce' anlamına gelir. Nanometre, metrenin milyarda biridir. Nanoteknoloji ise çok küçük maddelerin, yani nanometre (genellikle 1-100 nm) boyutundaki parçacıkların bilimi olarak adlandırılır. Nanoteknoloji, çeşitli disiplinler arasında birçok köklü etkiler oluşturmuş olup, en önemli uygulama alanlarından biri sağlık alanıdır. Nanotıp, patolojik süreçlerin erken saptanması, önlem alınması ve hedefe yönelik

tedaviler gibi tıbbi amaçlar için organik ya da sentezlenmiş nano-ölçekli materyallerin kimyasal, fiziksel, elektriksel, optik ve biyolojik özelliklerinden yararlanılması olarak tanımlanabilir. Günümüzde nanotıp uygulamalarının gelişmesine paralel olarak çeşitli şekillerde kullanılacak ilaç ve ilaç taşıyıcı nanopartikülleri üretmek mümkün hale gelmiştir. Nano-ilaçlar ve nano-ilaç taşıma sistemleri sayesinde biyoyararlanımı düşük olan ilaçları doğrudan istenen bölgeye hedeflendirme, tanıya yönelik daha verimli görüntüleme ve özellikle tümoral dokuların daha yüksek doğrulukta tespiti, kanserli hücrelere ilaçların yüksek yoğunluklarda ulaştırılması gibi önemli faydalar sağlanabilmektedir (2,3).

Son derece avantajlı özelliklerine karşın canlı üzerinde kullanılacak nanopartiküllerin fizyolojik olarak uyumlu (biyouyumlu) olması, fizyolojik ortamda parçalanabilmesi ve böbrek veya safra yoluyla atılma kabiliyeti gibi çeşitli özelliklere sahip olmaları gerekir. Ancak, aşağıda ayrıntılı şekilde açıklanacağı gibi, yapılan çalışmalar bazı nanopartiküllerin kompozisyonlarına ve boyutlarına bağlı olarak çeşitli şekillerde hücrelere geri dönüşümsüz hasar verdiklerini ortaya koymaktadır (2,4).

Bu nedenle, özellikle nano ilaç taşıyıcı sistemlerdeki nanopartiküllerin vücuttaki etkileri ve hasta için güvenilirlikleri, üzerinde özel olarak durulması gereken hususlardır. Bilindiği gibi bir ilacın tüketime sunulmadan önce etkinlik ve güvenliğinin ortaya konması, zehir potansiyeli olan kimyasal maddelerin zehirlilik profillerinin belirlenmesi son derece önem taşımaktadır. Bu amaçla bilgisayar programları ve matematiksel modeller yardımıyla gerçekleştirilen in siliko yöntemlerden başlayarak, in vitro ve in vivo birçok denemenin yapılması gerekmektedir (2,4). Buna rağmen, farmakolojide gittikçe önem kazanan nanopartiküllerin çevre, hayvan, insan sağlığı üzerindeki etkileri ve riskleri hakkında bilgiler halen çok yetersizdir ve yapılan çalışmaların önemli bölümünü in vitro denemeler oluşturmaktadır. Bu materyallerin ortamlardaki tespit çalışmalarının yanı sıra çevre ve canlılar üzerindeki

toksik etkilerinin belirlenmesi üzerine yapılan özellikle in vivo çalışmalar son derece sınırlıdır (1-4).

Bu derlemede, önemli nano-ilaç ve nano-ilaç taşıma sistemleri ile ilaç taşıma sistemlerinde kullanılan nanomateryallerin toksisitesi ve güvenli kullanımları değerlendirilmiştir.

ÖNEMLİ NANO-İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER ve TOKSİKOLOJİK DEĞERLENDİRMELERİ

Nanoteknolojinin en önemli uygulama alanlarından birisi hedeflendirilmiş nano-ilaç taşıma sistemleridir. Özellikle kanser araştırmalarında ve aşı geliştirme çalışmalarında modifiye edilmiş ve fonksiyonlaştırılmış nano-ilaç taşıma sistemlerinin etkinliği konusunda umut verici çalışmalar yapılmıştır. Bu sayede ilaç molekülerinin ulaşması zor olan kanser dokusu, kan-beyin bariyeri gibi engelleri aşması sağlanmış ve tedavide başarılı sonuçlar alınmıştır. Nano-ilaç taşıma sistemleri lipozomlar ve misellerle başlamıştır. Günümüzde, bunların yanı sıra katı-lipit nanopartiküller, polimerik sistemler, dendrimerler, karbon nanotüpler, fullerener, metalik nanopartiküller, nano boyutlu yarı iletken kristal yapılar (kuantum noktaları), metaloksitler gibi birçok nano-ilaç sistemi kullanılmaktadır (1,4,5).

1. Lipozomlar

Lipozomlar ilk olarak geliştirilen öncü nano-ilaç taşıma sistemleri olarak kabul edilmektedir. Lipozomlar 50-200 nm büyüklüğünde, temel olarak hücre zarının yapısına benzeyen sistemlerdir. Aynı hücre zarlarında olduğu gibi içte ve dışta polar, arada ise apolar uçlara sahip çift tabaka fosfolipidlerden oluşurlar. Bu sayede lipozomların bükülebilen bir vezikül oluşturma kabiliyetleri vardır. Lipozomlar biyouyumlu olmalarının yanı sıra çok yönlü ve iyi ilaç bağlama verimliliğine sahip sistemlerdir (4,6).

Lipozomların ilaç taşıma sistemi olarak önemli avantaj ve dezavantajları avantajları vardır. Lipozomların önemli avantajları geri dönüşümlerinin mümkün olması, biyouyumlu ve non-iyonik olmaları, hem suda hem de yağda çözünebilir ilaçların

taşınilmesi, etkilerinin arttırılabilir olması, kapsülleme yoluyla stabiliteilerinin artması ve kapsüllemiş ajanların toksisiteilerinin azalmasını sağlamaları sayılabilir. Lipozomların dezavantajları ise üretim maliyetlerinin yüksek olması ile kapsüllemiş ilaç/moleküllerin sızma ve füzyon riskidir (7).

Lipozomlar en eski ilaç taşıma sistemlerinden olduğu için toksisiteilerine ilişkin geçmişten günümüze kadar yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur. Roursgaard ve ark. (2016), insan akciğer (A-549) ve karaciğer (HepG2) hücre hatlarında lipozom ve katyonik misel ilaç taşıma sistemlerinin doza bağımlı olarak mitokondriyal fonksiyonlarda ve membran bütünlüğünde bozukluklara yol açtıklarını, bunun yanında oksidatif stres belirteçlerinin ortaya çıktığını belirlemişlerdir. Ayrıca iki nano-taşıma sistemi karşılaştırıldığında, meydana gelen bu istenmeyen etkilerin lipozomlarda çok daha yüksek oranda görüldüğü tespit edilmiştir (8).

Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda lipozomların toksik olmadığı ve çeşitli konvansiyonel ilaçların toksisitesini de azalttıkları ortaya konmuştur. Yin ve ark. (2019), BALB/C farelere CT-26 (fare kolon kanseri) hücrelerinin deri altı yolla uygulanması ile bir ksenograf tümör modeli oluşturmuşlar ve tümör oluşan hayvanlara kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaç olan kabazitaksel'i tek başına ve PEG'lenmiş lipozom ile birlikte damar içi uygulamışlardır. Çalışma sonunda lipozomun ilacın in vivo olarak hem tümör hücreleri üzerindeki inhibe edici etkisini artırdığı, hem de ilaca bağlı sistemik toksisiteyi azalttığı ortaya konmuştur (9). Pippa ve ark. (2019) ise karbon nanotüp ve lipozom nanopartikül kombinasyonlarının fare embriyonik fibroblast hücre hattında in vitro toksisitesini incelemişler ve herhangi bir toksisite gözlemlenmemişlerdir (10). Abud ve ark. (2019) lipozom ile kapsüllemiş sirolimus (rapamisin) formülasyonlarının in vitro olarak ARPE-19 ve HRP hücre hatlarında ve in vivo olarak Yeni Zelanda tavşanlarında göz içi uygulama sonunda toksisite saptanmadığını bildirmişlerdir (11).

Zhang ve ark. (2018) ise farelerde melanoma modeli oluşturmuşlar ve sistemik olarak immün stimulan ajanlar olan anti-CD137 ve interlökin-2'yi lipozomal nano-taşıma sistemleri ile uygulamışlardır. İmmün stimulan ajanlar anti-tümör immünite sağlamada yararlı olmalarına rağmen önemli toksisitelere neden olabilmektedirler. Bu çalışma sonunda nano-taşıma sistemi ile uygulanan immün stimulan ajanların tümoral doku üzerinde tek başlarına verilmelerine eşit şekilde etkili oldukları, ancak herhangi bir sistemik toksisiteye yol açmadıkları bulunmuştur. Sonuçta lipozomal nano taşıma sistemlerinin immün agonistlerin uygulamasında genel bir yaklaşım olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir (12). Bunun yanında lipozomların sisplatin gibi kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan diğer ilaçların toksik etkilerini önemli ölçüde azalttığına dair bildirimler de bulunmaktadır (9-12).

Görüldüğü gibi lipozomlar genel anlamda güvenli nanomateryaller olarak değerlendirilse de bileşimleri, partikül büyüklüğü ve yüklerine bağlı olarak çeşitli toksik etkilerin ortaya çıkabileceği unutulmamalı ve lipozomlara bağlı bu istenmeyen etkiler lipozom-ilaç taşıma sistemleri tasarlanırken mutlaka göz önüne alınmalıdır (8-12).

2. Miseller

Miseller, lipozomlara benzeyen, ancak tek tabakalı olmaları ile ayrılan, lipid ya da polimer yapıda, boyutları 10 nm civarında olan sistemlerdir. Misellerin en önemli avantajları kolay elde edilebilmeleri, radyoaktif olarak işaretlenebilmeleri, hidrofilik ve hidrofobik gruplara sahip olmaları nedeniyle çözünürlüğü az olan vitaminler, enzimler, steroidler gibi etkin maddeleri çözünür hale getirerek emilimlerini arttırmalarıdır (5).

İlaç ve gen taşıma sistemi olarak kullanılan misellerin toksisiteilerine ilişkin çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Ancak, yapı olarak çok benzer olduklarından misellerin toksisitesinin lipozomlara benzer olduğu düşünülmektedir. Misellerin hücresel geçiş ve toksik potansiyelleri boyut, yapı ve yük durumlarına bağlı

olarak değişmektedir. Sıçanlarda polimerik yapıda farklı misel ve lipozomların damar içi yolla 7 gün süreyle uygulanarak tekrarlanan doz zehirlilikleri ve genotoksitesilerinin incelendiği bir çalışma sonunda her iki nano-taşıyıcı sistemin (lipozomlar ve miseller) düşük dozlarda toksik etkilere neden olmadığı, yüksek dozlarda ise muhtemelen katyonik yüzey yükleri nedeniyle çeşitli bozukluklar oluşturdukları görülmüştür. Aynı çalışmada genotoksitesite testleri sonunda misellerin sadece en yüksek dozda (100 mg/kg, 48 saat) genotoksik olduğu bildirilmiştir (13). Benzer bir çalışmada, misel ve lipozomların insan akciğer (A-549) ve karaciğer (HepG2) hücre hatlarında doza bağlı olarak mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna, membran bütünlüğünün kaybolmasına ve oksidatif strese yol açtıkları görülmüş ancak bu etkilerin misellerde lipozomlara göre daha az olduğu tespit edilmiştir (8). Bunun yanında katyonik polimerik misellerin akciğer, karaciğer, böbrek gibi organlarda birikebildiği ama diğer misel tiplerine göre daha az toksik olduğu belirlenmiştir. Örneğin Costamagna ve ark. (2019), polietilen glikol ile kaplanan polimerize (p-DA-PEG) ve polimerize edilmemiş (DA-PEG) misellerin RAW 264.7 makrofaj hücre hattı üzerinde toksisitesini incelemişler ve polimerik olmayan misellerin özellikle hücre zarında yüksek oranda birikip geçirgenliğini değiştirerek polimerik misellerden çok daha yüksek sitotoksitesite gösterdiğini ortaya koymuşlardır (14). Soodvilai ve ark. (2019) ise polimerik misellerin silimarin'in biyoyararlanımını arttırdığını ve sisplatin'e bağlı böbrek hasarını azalttığını göstermişlerdir (15).

3. Katı Lipit Nanopartiküller

Katı lipit nanopartiküller (Solid-lipid nanoparticles, SLN), oda ve vücut sıcaklığında katı olan lipitlerden yapılmış ve yüzey aktif maddeler ile dengelenmiş parçacıklardır. Bu yapılar yüksek oranda saflaştırılmış trigliseritler, kompleks gliserol karışımları, hatta balmumundan oluşabilirler. SLN'ler parenteral uygulamalar için mükemmel fiziksel stabiliteye sahiptir ve bu sayede eklenen kararsız ilaçların

bozunmaya karşı korunması sağlanırken, ekleme modeline bağlı olarak kontrollü ilaç salınımı (hızlı veya uzun süreli), iyi tolere edilebilirlik ve hastaya özgü hedeflenme gibi avantajlara sahiptir. Bununla birlikte yeterli düzeyde yükleme kapasitesinin olmaması, polimorfik geçiş sonrası ilaç atılımı ve dağılımda yüksek oranda su içeriğinin açığa çıkması (% 70-99.9) gibi dezavantajları gözlenmiştir. SLN'nin bu potansiyel zorluklarının üstesinden gelmek için nanoyapılı lipit taşıyıcılar (Nano lipid carriers, NLC) ve lipit ilaç konjugatları (Lipid-drug conjugates, LDC) gibi ilaç taşıma sistemleri geliştirilmiştir (16).

SLN'lerin toksisitesilerine ilişkin in vitro ve in vivo çalışmalar mevcuttur. Shahgaldian ve ark. (2003) ampifilik kaliks-aren türevi SLN'lerin insan eritrositleri üzerinde herhangi bir hemolitik etkisinin olmadığını bildirmişlerdir (17). Buna karşın Silva ve ark. (2012), farklı orijinli ve surfaktan eklenmiş SLN'lerin toksisitesini iki fibroblast hücre hattında (Vero ve MDCK) incelemiş ve 500 µg/mL maruziyet sonucunda özellikle vazelin ve tristearin içeren SLN'lerin oldukça yüksek toksisiteye sahip olduklarını belirlemişlerdir (18). Albuquerque ve ark. (2015) ise, romatoid artrit tedavisinde kullanılmak üzere metotreksat ve süperparamanyetik demir oksit'i SLN'ler ile kapsüle etmişler ve benzer şekilde THP-1 hücre hattında 500 µg/mL doza kadar hiçbir formülasyonun sitotoksitesiteye neden olmadığını göstermişlerdir (19). Mendonça ve ark. (2019) suda çözünürlüğü düşük bileşiklerin ve aynı zamanda genetik materyallerin iletimi için oldukça elverişli olan katyonik katı lipit nanopartikülleri erkek Wistar sıçanlara damar içi yolla uygulamışlardır. Çalışma sonunda dalak, karaciğer, akciğer ve böbreklerde hafif ve geçici olarak (<72 saat) hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler belirlemişlerdir. Ayrıca kan- beyin bariyerine zarar vermeden beyin parenkim hücrelerinde katı lipit nanopartikül sayısında artış olduğu görülmüştür (20). SLN'lerin düşük toksisiteye sahip olduklarına dair çalışmalar da mevcut olmasına karşın farklı yüzey aktif maddelerle birlikte uygulanan SLN'lerin kullanılan yüzey aktif maddesine bağlı

olarak toksisitelerinin değişebileceğine dair yayınlar da bulunmaktadır (18). Sonuç olarak, literatürdeki farklı in vitro ve in vivo bulgular, SLN'lerin insan ve hayvanlarda ilaç salınım sistemi olarak kullanılmasını sırasında dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir (18-20).

4. Polimerik Nanopartiküller

Polimerik nanopartiküller (PNP'ler), polikaprolakton, poliakrilamid ve poliakrilat gibi sentetik ve albümin gibi doğal polimerlerden oluşan, boyutları 10-100 nm olan yapılardır. Özellikle biyolojik olarak inert bir polimer olan polietilen glikol (PEG) nanopartiküllerin yüzeyine kovalent bağlanarak ilaç taşıma sistemlerinde yaygın olarak kullanılır. PEG ile kaplamanın, antijenik özelliği azalttığı, retikuloendotelial sistem (RES) tarafından nanopartiküllerin fagositozunu sınırladığı, beyin, bağırsaklar ve böbrekler gibi organlarda kan düzeylerinde artışa yol açtığı bildirilmiştir. Bunun yanında FDA, insan kullanımı için polilaktik asit (PLA) ve polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) gibi biyolojik olarak parçalanabilir polimerik nanopartikülleri onaylamıştır (21).

PNP'lerin kolay sterilize edilebilmeleri, fizyolojik ortamda parçalanabilmeleri ve parçalanma ürünlerinin toksik olmaması, etkin madde yüklem kapasitelerinin yüksekliği ve bu sayede etkin maddenin hücre içi dağılımının artması, ağız yoluyla uygulandığında etkin maddenin biyoyararlanımının yüksek olması, çok uzun süre (günler, hatta haftalarca) kontrollü ilaç salınımına olanak vermesi, diğer kolloidal taşıyıcı sistemlerle kıyaslandığında biyolojik sıvılarda çok daha yüksek stabiliteye sahip olmaları, küçük partikül boyutları sayesinde küçük kapillerlere girişin ve hücreler tarafından tutulmasının mümkün olması, yüksek hedeflendirme yetenekleri sayesinde diğer doku ve organlarda toksik etkileri azaltması, parenteral yolla uygulanmalarının kolay olması ve üretim tekniklerinin genel olarak basit olması gibi önemli avantajları vardır (21).

PNP'lerin tek başlarına toksisitesine bakıldığında

in vitro ve in vivo denemelerde genel olarak güvenli maddeler olduğu görülmektedir. In vitro çalışmalar çok yüksek dozlara kadar farklı PNP'lerin sitotoksik, mutajenik ve genotoksik olmadıklarını göstermektedir (22, 23). Ritter ve ark. (2019) bakteriyel akciğer enfeksiyonlarına karşı yeni tedavi seçeneklerinden biri olan yeni antimikrobiyal peptitler ile birlikte kullanılan PNP'lerin antimikrobiyal peptitlerden kaynaklanan toksisiteyi azalttığını bildirmiştir (22). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda da PNP'lerin sadece normal kullanımda uygulanan dozların çok üstünde (PEG için ortalama 600 kat) ve parenteral yollarla verildiğinde toksik etkilere yol açtığı bildirilmektedir. Patolojik incelemelerde de organ ve hücre düzeyinde kayda değer bir fonksiyon bozukluğu belirlenmemiştir (23).

Sonuç olarak normal terapötik dozlarda özellikle PEG ve diğer PNP'lerin çok düşük toksisiteye sahip oldukları, ayrıca nanopartiküllerin PNP'ler ile kaplanması in vitro ve in vivo toksisiteyi önemli düzeyde azalttığı bildirilmektedir. Ancak, nanopartikül üretiminde proteinlerin kullanımında antijenik reaksiyonların oluşması gibi olumsuz sonuçlar meydana gelirken, biyobozunur olmayan sentetik polimerlerin kullanımında bu polimerlerin toksik olma potansiyeli önemli bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle PNP'lerin yüzeyleri genellikle kimyasal gruplar arasındaki immünolojik ve moleküler etkileşimleri azaltmak için non-iyonik yüzey aktif maddelerle kaplanmaktadır (21,23,24).

5. Dendrimerler

"Dendrimer" ismi Yunancada ağaç anlamına gelen 'dendron' kelimesinden gelmektedir. Dendrimerler, çekirdek, çekirdek etrafındaki dallanma birimleri ve fonksiyonel grup olarak adlandırılan yüzey gruplarından oluşan polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Dendrimerlerin hem iç kısmındaki boşluğa hem de dallanmış yapılarındaki birçok fonksiyonel gruba ilaç bağlanması, kontrollü olarak salınması ve hedeflendirilmesi mümkündür. Bunun yanında dendrimer ilaç taşıma sistemleri küçük boyutları

sayesinde RES etkilerinden kurtulabilmektedir (25).

Dendrimerler tümör hücrelerine diğer küçük moleküllerden daha fazla permeabilite ve tutulma gösterebilirler. Bu yüzden genel olarak kanser tedavisinde ilaçların hedeflendirilmesinde kullanılmaktadırlar. Dendrimerik taşıyıcılar yaygın olarak doğrudan tümör dokusu içine veya sistemik olarak damar içi ya da diğer parenteral yollarla uygulanmaktadır. Uygun konjugasyon için bol miktarda primer amin ile aşırı yüklü yüzey grupları nedeniyle suda iyi çözünen poliamidoamin (PAMAM), ticari olarak temin edilebilen ve son yıllarda ilaç taşıma sistemlerinde yaygın olarak kullanılan dendrimerdir. PAMAM gibi dendritik yapıya sahip olan polimerlerin, bağırsak epitelini geçebilmeleri nedeniyle oral uygulamalar için de umut vaat ettiği bildirilmektedir (25).

Dendrimerler, son derece önemli hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcıları olmakla birlikte toksisite potansiyeline sahip maddelerdir. Dendrimerlerin toksisitesi katyonik yüzeylerinin negatif yüklü biyolojik zarlarla etkileşime girmeleri ile ilişkilidir. Dendrimerler ve biyolojik zarlar arasındaki etkileşim sonucu zarın parçalanması, incilmesi ve erozyona uğraması gerçekleşebilir. Biyolojik sistemlerde dendrimer toksisitesi genellikle hemolitik toksisite, sitotoksikite ve hematolojik toksisite şeklinde ortaya çıkmaktadır. PAMAM, PPI (peanut protein isolate) ve PLL (poly-L-lysine) gibi dendrimerlerin bu tür etkileri aşağıda belirtildiği gibi in vitro denemelerde görülmesine rağmen bu yönde in vivo kanıt çok azdır (26).

Yapılan in vitro denemelerde dendrimerlerin çevresinde bulunan serbest amin gruplarının konsantrasyonuna ve oluşumuna bağlı toksisite rapor edilmiştir. Amin, guanidin, karboksil, sülfonat veya fosfonat gibi yüzey gruplarına sahip katyonik melamin dendrimerlerinin sitotoksikitesi değerlendirildiğinde; katyonik dendrimerlerin, anyonik veya PEG'lenmiş dendrimerlerden çok daha sitotoksik olduğu sonucuna varılmıştır. (26). PAMAM dendrimerlerinin in vitro hücre canlılığı üzerine etkisini ortaya koymak için yapılan

çalışmalarda serbest oksijen türlerinin (Radical Oxygen Species, ROS) oluşumu, lizozomal aktivitenin artması, apoptozun indüksiyonu ile DNA hasarı belirlenmiştir. Bu etkilerin mitokondride PAMAM dendrimerlerinin lokalizasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Ayrıca fotosentetik mikroorganizmalar (yeşil algler ve siyanobakteriler) üzerinde yapılan çalışmalarda dendrimerlerin jenerasyona ve partikül yüzey alanına bağlı olarak sitotoksikite gösterdiği rapor edilmiştir. Zebra balığı embriyosunda yapılan çalışmalarda ise dendrimerin yüzey gruplarından kaynaklanan toksisitenin, jenerasyona bağlı toksisiteden daha fazla ve önemli olduğu gösterilmiştir. PAMAM ve PPI-DAB dendrimerlerinin RAW 264.7 sıçan makrofaj hücre hattında doza bağlı sitotoksikite meydana getirdiği ve apoptozu indüklediği görülürken, fare fibroblast (NIH/3T3) ve fare karaciğer (BNL CL.2) hücre hatlarında apoptozu indüklediği belirlenmiştir (27).

Bu in vitro çalışmaların yanında sınırlı sayıda in vivo deneme mevcuttur. Zebra balığında (Danio rerio) yüzey amino gruplarına sahip katyonik PAMAM dendrimerlerin 24 saat inkübasyon sonrası % 100 ölüme neden olduğu, amino asit etanol yüzey gruplarına sahip nötr PAMAM dendrimerler ve süksinamik asit uç gruplarına sahip anyonik dendrimerlerin ise katyonik amin gruplu dendrimerlere göre daha az toksik olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında PAMAM dendrimerlerinin farelerde nazal maruziyetten sonra nöronal etkilere yol açabilecekleri öne sürülmüştür. Yine farelere farklı PAMAM tiplerinin farklı dozlarda tek ve 10 hafta süreyle uygulanması sonucunda, herhangi bir ağırlık kaybı ve davranış değişikliği görülmemiş, ancak bazı PAMAM tiplerinin değişik periyotlarda hayvanlarda ölüme ve karaciğer hücrelerinde çeşitli bozukluklara neden olduğu belirtilmiştir. Bunun yanında PAMAM ve PEG'lenmiş PAMAM bileşiklerinin kısa süreli maruziyet sonucu deney hayvanlarında önemli değişikliklere neden olmadığına dair çalışmalar bulunmaktadır. Ancak bu çalışmalardan elde edilen sonuçların doğrulanması için farklı doz ve sürelerde yapılmış daha detaylı denemelere ihtiyaç vardır (28).

Dendrimerlerden kaynaklanabilecek toksik etkilerin önlenmesi için biyoyumlu dendrimerlerin tasarlanması ve sentezlenmesi yoluna gidilmektedir. Bunun yanında dendrimerlerin çevresel yüklerinin PEG ile kaplanma, asetilasyon, karbonhidrat ve peptid bağlanması yoluyla nötralize edilmesi gibi uygulamalar toksisitenin azaltılmasında son derece yararlı olmaktadır (26). Bu konuda yapılan son çalışmalardan birinde Wang ve ark.(2020), yeni bir tiyoketal çekirdekli poliamidoamin dendrimeri (ROS-PAMAM) sentezlemişler ve yaygın olarak kullanılan polieterimid katyonik polimerler ile karşılaştırıldığında daha düşük sitotoksikite gösterdiğini bildirmişlerdir (27). Gorzkiewicz ve ark. (2020) ise iki yeni lizin bazlı dendritik makromolekülün (D3K2 ve D3G2) normal hücreler üzerinde önemli toksik etkiler göstermeden kanser hücre hattına karşı spesifik sitotoksikite gösterdiğini, bundan dolayı dendrimer nanopartiküllerin klinik uygulamaları için umut verici bir ilaç taşıma sistemi olduğunu belirtmişlerdir (29).

6. Karbon Nanotüpler

Karbon nanotüpler (Carbon nano tubes, CNT) uzunlukları 1-100 nm ve çapları 1 nm olan altıgen karbon atom ağlarıdır. Bugün kullanımda tek duvarlı ve çok duvarlı nanotüpler olmak üzere iki tip CNT bulunmaktadır. CNT'ler, mekanik, elektriksel ve yüzey özelliklerinden dolayı avantajlı sistemlerdir ve günümüzde otomobil imalatında, sprey boyalarda, plastik panellerde ve lityum iyon pillerde kullanılmaktadır. İğne benzeri şekillerinden ötürü zarlardan geçişleri kolaydır ve ilaç taşıma sistemi olarak da kullanılma potansiyelleri vardır. İlaçlar, CNT'lerin çekirdeğine dahil edilebilir veya kovalent olarak bağlanabilirler. İlaç uygulamaları için potansiyelleri umut verici olsa da canlıların bu bileşiklere toleransı bilinmemektedir ve aşağıda örnekleri görüleceği gibi çelişkili toksisite raporları bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda nanotüplerin akut toksiteye ve oksidatif stres yolu ile hücresel ölüme neden olabildiği gösterilmiştir. Tek ve çok duvarlı nanotüplerin uzunluk ve şekillerine bağlı

olarak farklı toksik etkileri vardır ve organlarda farklı birikim özelliği gösterirler. CNT'lerin toksik etkilerine en duyarlı organlar böbrek, akciğer, deri ve konjunktivadır (30).

CNT'lerin belirtilen toksik etkilerine dair genellikle in vitro çalışmalar bulunmaktadır. Lee ve ark. (2019) farklı karboksillenmiş karbon materyallerin hücre döngüsü ve apoptoz mekanizmasına etkilerini incelemişlerdir. Nanopartiküllere maruz kalan insan H1299 akciğer kanser hücrelerinin canlılığında önemli bir değişiklik gözlemlenmemiş olsa da, yüksek konsantrasyonda (50 µg/mL) tek duvarlı CNT'lerin normal gelişim göstermeyen hücrelerin çoğalmasına ve G2 fazında duraksamaya neden olduğu görülmüştür (31). Nahle ve ark. (2018) tek duvarlı ve çok duvarlı CNT'lerin sıçan alveol makrofaj hücrelerindeki toksik etkisini araştırmışlardır. Tek duvarlı CNT'ler apoptozu ve bozulmuş mitokondriyal fonksiyonu indüklerken, çok duvarlı CNT'lerin inflamasyonu indüklediği gözlemlenmiş ve çok duvarlı CNT'lerin daha toksik olduğu belirlenmiştir (32). Siegrist ve ark. (2019), farklı tip çok duvarlı CNT'lerin insan akciğer epitel hücrelerinde (BEAS-2B ve SAEC) çeşitli genotoksik etkilere neden olduğunu bildirmiştir (33).

CNT'lerin hücre kültürlerinde belirtilen toksisitesinin amorf karbon ve metalik nanopartiküller içermelerinden kaynaklandığı ve CNT'lerin toksisitesinin çapları, fonksiyonlaştırılmaları için kullanılan maddeler, ortamdaki diğer toksik bileşenlere bağlı olarak değişebildiği bildirilmektedir. Zhao ve ark. (2019) insan umbilical ven endotel hücre hattında (HUVEC) ticari olarak elde edilen üç farklı çapta (çaplarına göre küçükten büyüğe doğru XFM4, XFM22 ve XFM34) CNT'lerin toksisitesini araştırmış ve en küçük çaplı CNT'nin daha toksik olduğu görülerek sitokinlerin salınması, monositlerin yapışması ve ROS seviyelerinde artışın sadece XFM4 kullanımdan sonra arttığı sonucuna varılmıştır (34). Requardt ve ark. (2019) da iki farklı çok duvarlı CNT'lerin in vitro toksisitesini A549 akciğer epitel ve HepG2 karaciğer hücre hatlarında incelemişler, doza ve maruziyet

süresine bağlı olarak laktat dehidrojenaz (LDH) düzeyinde artış, hücre zarının bütünlüğünde bozulma ve hücre döngüsünde durma gözlemlenmiştir. Bu çalışmada ısıtma işlemi görmüş çok duvarlı nano karbon tüplerin ısıtma işlemi görmemişlere kıyasla daha toksik olduğu belirlenmiştir (35).

Yapılan çalışmalarda CNT'lerin fonksiyonelleştirilmesinin de toksisitesini değiştirdiği, özellikle oksitlenmiş ve PEG'lenmiş CNT'lerin in vitro toksisitesinde azalma meydana geldiği ortaya konmuştur (36). Mohammadiana ve ark. (2019), havada bulunan önemli bir kirletici olan benzo[a]piren (BaP) ile saf ve fonksiyonelleştirilmiş çok duvarlı CNT'lerin kombinasyon toksisitesini A549 akciğer hücre hattında araştırmışlar, CNT'lerin serbest oksijen radikali oluşumunu arttırdığını, ortamda BaP bulunmasının additif, sinerjistik ve antagonistik etkilere yol açabileceğini ve fonksiyonelleştirilmenin hem tek başına hem de kombine toksisiteyi azalttığını bulmuşlardır (37). Tian ve ark. (2020) ise kan proteinlerinin CNT'lere bağlanmasının hücreler arası etkileşim yollarını güçlü bir şekilde etkileyebileceği, sitotoksik etkilerini büyük ölçüde azaltabileceği ve böylece nanomalzemelerin biyouyumluluğunu artırabileceği hipotezi ile siğir serum albümini ile CNT'leri bağlamışlar ve bu bağlanma sonucunda CNT'lerin toksisitesinin HUVEC hücre hattında önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir (38).

CNT'lerin toksisitesine ait in vivo çalışmalar daha çok zebra balığı üzerinde yapılmış ve tek duvarlı CNT'lerin beyin dokusunda dopamin ve serotonin seviyelerinde 3 ila 6 kat oranında artış ve asetilkolin aktivitesinde önemli oranda azalmaya neden olduğu görülmüştür. Çok duvarlı CNT'lerin ise lokomotor aktivite, kalp atım hızında değişiklikler, davranış bozuklukları ve yüksek dozlarda embriyo ölümüne yol açtığı bildirilmiştir (39). Chowdhry ve ark. (2019) ise çok duvarlı CNT'lere karboksil ve amino gruplarının eklenmesinin zebra balıklarında oksidatif stresi azalttığını gözlemlenmiştir (40).

Pandey ve ark.(2020) mum isinden elde edilen karbon nanopartiküller ile karbon nanotüplerin toksisitesini *Drosophila melanogaster* larvaları üzerinde araştırmışlardır. Sonuçta organizmanın gelişiminde herhangi bir etki gözlenmezken, oksidatif stres parametrelerinin yükseldiği ve yalnızca yüksek dozlarda iç organlarda ve beyin gangliyonlarda çeşitli toksik etkiler meydana geldiği görülmüştür (41).

Semak ve ark. (2019) ise siğir serumu ile sulu çözeltisi hazırlanmış CNT'lerin kuşlardaki etkilerini incelemişlerdir. CNT'ler erkek Moskovskaya kuşlarında arka bacak ve pektoral kas içine enjekte edilmiş ve enjeksiyon bölgesinde lokal yangı oluştuğu, ancak bu yangının 100 gün sonra yapılan incelemede iyileştiği ve CNT'lerin kuşlar için görünürde önemli bir etki meydana getirmediği bildirilmiştir (42).

Knudsen ve ark. (2018), dişi C57BL/6N BomTac farelerde 11 iyi karakterize edilmiş çok duvarlı CNT'leri intratrakeal uyguladıktan 1 yıl sonra akciğer ve karaciğer dokusundaki histolojik değişiklikleri incelemişlerdir. İnce ve karmaşık çok duvarlı CNT'ler lenfositik agregat, granülom ve makrofaj infiltrasyonu oluşumunu indükleyerek akciğer yangısına neden olurken, kalın ve düz çok duvarlı CNT'lerin böyle bir etkisi gözlemlenmemiştir. Ayrıca akciğerlerde ve pleurada fibroz veya tümör oluşumu görülmemiş, ince ve karmaşık çok duvarlı CNT'lerin karaciğerde DNA zincir kopmalarına neden olduğu belirtilmiştir (43). CNT'ler ile ilgili tavşan, kobay ve gönüllü insanlarda yapılmış sınırlı sayıda diğer çalışmalarda ise CNT maruziyetinin cilt tahrişi veya alerji riski bulunmazken, güç solunum ve akciğer dokusunda çeşitli patolojilerin indüklenmesinde kritik rol oynadığı gösterilmiştir. Ayrıca fonksiyonlaştırılmış CNT'lerin deney hayvanlarında akciğer hava yollarında yangı ve fibrotik reaksiyonlara neden olduğu rapor edilmiş ve bu etkinin tek veya çok duvarlı olup olmadıklarına göre değiştiği belirtilmiştir (44). Tek duvarlı CNT'lerin akut pulmoner toksisiteye, çok duvarlı CNT'lerin ise apoptozu belirleyen, ROS artışı, hücre döngüsü durması, mitokondriyal membran potansiyelindeki

düşüşe neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (44). Bütün bu çalışmaların aksine CNT'lerin toksik olmadığına, hatta çok duvarlı CNT'lere akut ve düşük dozlarda 6 ay boyunca sürekli maruziyetten sonra bile in vitro hücre ölümünü uyardıklarına dair yayınlar da bulunmaktadır (44).

7. Fullerenler

Fullerenler, CNT'lere benzeyen, ancak karbon sayıları farklı (28->100) küresel kafesler olarak tanımlanmaktadır. İlk olarak 1985 yılında sentezlenmiş fullerenlerin en yaygın formu 60 karbon atomu içeren C60'dır. Fullerenler birbirine bağlı karbon beşgenleri veya altıgenlerden oluşan futbol topuna benzeyen içi boş kürelerdir. Kimyasal olarak değiştirilmiş fullerenler nöroprotektif, antiviral, antibakteriyel, antitümoral, antiapoptik ve antioksidan maddeler için tek başlarına veya CNT'lere bağlanarak ilaç salınım sistemleri olarak kullanılmaktadır (45).

Saf C60'ın fare derisine topikal olarak akut ve subakut maruz bırakılmasının ardından, epidermisde toksik etki gözlenmediği rapor edilmiştir. Ayrıca su içinde süspansiyon C60'ın insan keratinosit hücre hattında herhangi bir akut toksisitesinin olmadığı bildirilmiştir. Escherichia coli PQ37 suşu kullanılarak in vitro ve Drosophila melanogaster larvalarının somatik hücreleri üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda C60'ın mutajenik toksisitesi olmadığı da gözlemlenmiştir. Sonuç olarak yapılan çalışmalar saf C60'ın bakteri, mantar, insan lökositleri üzerinde ve ayrıca Drosophila'lar, fareler, sıçanlar ve kobaylarda akut veya subakut toksisiteye sahip olmadığını göstermiştir (45). Son yıllarda yapılan çalışmalar C60 nanopartiküllerin tedavi sırasında çok önemli toksik etkilere neden olan antineoplastik ilaçların toksisitesinin azaltılmasında da oldukça yararlı olduğunu göstermektedir. Elshater ve ark. (2020) sıçanlarda in-vivo olarak C60 nanopartiküllerin bir kemoterapötik ajan olan siklofosamid'in hepaotoksitesine etkilerini incelemişlerdir. Siklofosamid'e fulleren eklenmesi ile hematolojik parametreler, karaciğer enzimleri, oksidatif

stres ve antioksidan sistem parametreleri ile histopatolojik inceleme sonuçları göz önüne alınarak oluşan karaciğer toksisitesinin normalize edildiği görülmüştür. Böylece, fullerenin gelecekte toksik kemoterapötiklerin klinik uygulamalarında güvenli bir yol olacağı sonucuna varılmıştır(46).

Saf C60 toksik olmasa da, çeşitli işlemlere maruz bırakılarak modifiye edilmiş fullerenlerin toksisite potansiyeli vardır. Biby ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada, sulu çözeltilerde stabilitesinin artırılması için dekstran eklenen C60 moleküllerinin, C6 gliyal hücre hattında doza bağımlı olarak toksisitesinin arttığı görülmüştür. Bunun yanında, ışığa maruz kalma durumunda, oksijen şekillenmesi ile karanlıkta toksik olmayan C60 fulleren moleküllerinin, yüksek derecede toksik olabileceği ortaya konmuştur. Bu nedenle modifiye C60 fulleren molekülleri kullanımında ve çevreye salınımında son derece dikkatli olunması gerektiği belirtilmektedir (45,47).

8. Metalik Nanopartiküller

Metalik nanopartiküller, nano aralıktaki metal elementlerden oluşur. Metalik nanopartiküller küçük boyutları ve yüzey modifikasyonları nedeniyle, dolaşımda uzun süre kalabilirler ve öncelikli olarak tümör bölgelerini hedefleyerek etkili olabilirler. Ayrıca metalik nanopartiküllerin bir alt tipi olan manyetik nanopartiküller, manyetik rezonans görüntüleme için kontrast ajanlar olarak kullanılabilir. Metalik nanopartiküller içerisinde özellikle altın ve gümüş nanopartiküller ilaç taşıma sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bunların güvenlik ve etkinlikleri hala tartışılmaktadır (48).

8.1. Altın nanopartiküller

Altın nanopartiküller, sentezlerinin kolaylığı, kimyasal stabilite ve gelişmiş optik özellikleri nedeniyle bilimsel ve teknolojik anlamda umut verici inorganik nanomateryallerden birisidir. Altın nanopartiküllerin bu özellikleri onları kanser teşhis ve tedavisinde çekici hale getirmektedir. Bununla birlikte yaygın klinik uygulamadan önce altın

nanopartiküllerin toksisite riskini incelemek için artan sayıda çalışmalar, toksisitenin sentez yöntemlerine ve bunun sonucunda altın nanopartikül büyüklüğü, şekli, yüzey kimyası ve yüzey yüküne büyük ölçüde bağlı olduğunu göstermektedir (48).

Altın nanopartiküllerin boyuta (0.8-15 nm) bağlı toksisitesi dört farklı hücre hattında araştırılmış, test edilen en küçük nanopartiküllerden birinin (1.4 nm), 15 nm'ye kadar olan diğer altın nanopartiküllerle karşılaştırıldığında en yüksek toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir (49). Ayrıca, külçe altının buharlaştırılması ve öğütülmesiyle ortaya çıkan küresel altın nanopartiküllerin toksik olduğu ve daha küçük altın nanopartiküllerin interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü (TNF- α) ekspresyonunu indüklediği bildirilmiştir (49). Yine yapılan çalışmalar CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) kaplı altın nanopartiküllerin küresel altın nanopartiküllerden (\approx 30 nm) HaCat (human keratinocyte cell line) hücre hattında daha toksik olduğunu göstermiştir (49,50). Akciğer fibroblastları üzerinde yapılan çalışmalarda ise 20 nm boyutunda altın nanopartiküllerin toksik olmadığı, ancak önemli miktarda oksidatif DNA hasarı oluşturduğu yönünde bulgular elde edilmiştir. Ayrıca dermal fibroblast hücre hattında altın nanopartiküller nedeniyle anormal aktin ve hücre dışı matriks oluştuğu tespit edilmiştir (49). Sıçanlarda yapılan deri çalışmalarında, daha küçük boyutlu altın nanoparçacıklarının derinin daha derin bölgesinde biriktiği, daha büyük parçacıkların ise çoğunlukla epidermis ve dermiste yoğunlaştığı gözlemlenmiştir (48,49). Son yapılan ilginç çalışmalardan birinde Barkur ve ark. (2020), 10-100 nm arasındaki farklı boyutlardaki altın ve gümüş nanopartiküllerin eritrositler ile etkileşimini Mikro-Raman spektroskopisi ile incelemiş ve her iki nanopartikülün boyuta bağlı olmaksızın hemoglobinin oksijen bağlamasını bozduğu ve gümüş nanopartiküllerin oksidatif strese yol açarak daha toksik olduğunu bildirmişlerdir (50).

Sentez metodunun altın nanopartiküllerin toksisitesini değiştiren önemli bir faktör olduğu

bildirilmektedir. Birçok çalışmada, çeşitli bitkiler, bal, propiyonik asit gibi biyolojik kaynaklardan ve yeşil sentez yöntemleri ile elde edilen altın nanopartiküllerin genel olarak sitrat gibi moleküllerden kimyasal sentez yoluyla elde edilen altın nanopartiküllere göre hem in vitro, hem de in vivo olarak daha güvenli olduğu rapor edilmiştir (51). Bu nedenle biyolojik ve yeşil sentez yoluyla elde edilen nanopartiküllerin daha düşük toksisiteye ve daha iyi biyoyoumluluğa sahip olduğu düşünülse de Hernandez-Adame ve ark. (2019)'nın yaptığı çalışmada *Yarrowia lypolitica* D1 mayasından izole edilen β -D-glukanlar kullanılarak elde edilen altın nanopartiküllerin sitotoksitesisi fare dalak hücrelerinde araştırılmış ve beklenenin aksine β -D-glukan/altın nanopartikül kompleksinin oksidatif stresi arttırdığı ve toksik olduğu görülerek biyomedikal uygulamalar için uygun bir aday olmadığı sonucuna varılmıştır (52). Bailly ve ark. (2019) ise alternatif bir sentez yöntemi olarak sulu dekstran çözeltisinden lazer ablasyon yoluyla altın nanopartikülleri üretmişler ve farelere damar içi yolla uygulayarak dağılım, farmakokinetik ve güvenlik açısından değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda hayvanların vücut ağırlığında bir değişme görülmemiş, nanopartiküllerin çok hızlı dağılıp elimine edildiği ve özellikle karaciğer ve dalakta akümüle oldukları gözlemlenmiştir. Histopatolojik incelemelerde böbrek, dalak ve karaciğerde toksisite verilerine rastlanmamış ve lazer yardımıyla elde edilen nanopartiküllerin biyomedikal uygulamalar için yararlı olacağı belirtilmiştir (53).

Son yıllarda yapılan çalışmaların geneline bakıldığında altın nanopartiküllerin toksisitelerinin düşük olduğu kanısında varılmakta ise de özellikle yüksek dozlarda zebra balıklarında davranış değişikliklerine, genetik farklılıklara ve oral uygulama sonrası ratlarda hemen tüm organlarda histopatolojik değişikliklere yol açtığını bildiren yayınlar da vardır (54). Wang ve ark. (2019) ise altın nanopartikülleri BALB/c farelere 7 gün süreyle oral yolla vererek bağırsak mikrobiyotası üzerine etkileri incelemiş ve ilk 3 günde bir değişiklik gözlenmezken, 7. günde

bağırsak mikrobiyatasında önemli değişiklikler oluştuğu belirlenmiştir (55).

8.2. Gümüş nanopartiküller

Gümüş nanopartiküller, kozmetik ürünler, ayakkabılar, deterjanlar, diyet takviyeleri, solunum maskeleri, oyuncaklar, dizüstü bilgisayarları, su filtreleri gibi birçok üründe kullanılmaktadır. Gümüş nanopartiküller ayrıca, güçlü antibakteriyel etkileri nedeniyle tekstil, tıbbi cihazlar, kontraseptifler ve oda spreyi gibi ürünlerin içeriğinde de yer almaktadır. Bunların yanında, gümüş nanopartiküllerden yara ve yanıkların tedavisi amacıyla yararlanır. Gümüş genel olarak memelilerde toksik etkili bir madde değildir. Ancak gümüş elementine kronik mesleki maruziyetin deri, mukozolar ve konjunktivada renk değişikliği ile karakterize argyria (argrozis) bozukluğuna neden olduğu bilinmektedir. Bu yüzden gümüş nanopartiküllerin canlılar üzerindeki etkileri dikkatle değerlendirilmelidir. Ayrıca, altın nanopartiküllerle kıyaslandığında özellikle oksidatif stres mekanizmaları aracılığıyla gümüş nanopartiküllerin daha toksik oldukları bildirilmektedir (49).

Gümüş nanopartiküllerin toksisitesini değerlendirmek için yapılan çalışmaların önemli bir bölümü diğer nano-taşıyıcılarda olduğu gibi in vitro denemelerdir. Sıçan karaciğer hücrelerinde gümüş nanopartiküllerin düşük dozlarda bile oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olduğu belirlenmiştir. Gümüş nanopartiküllerin ayrıca hücre zarının potasyum ve sodyum iyonlarına geçirgenliğinde değişiklikler meydana getirdiği bildirilmiştir. Gümüş nanopartiküllerin erkek üreme sistemi üzerinde ciddi toksik etkiler gösterdiği de bilinmektedir. Araştırmalar, gümüş nanopartiküllerin kan-testis bariyerini geçebileceğini ve sperm hücrelerini olumsuz etkileyerek testislerde birikebileceğini göstermektedir. Gümüş nanopartikülleri uygulanan akciğer hücre hattında boyuta bağlı toksisite meydana gelmiş ve 10 nm boyutundaki gümüş nanopartiküllerin daha büyük boyuttaki partiküllere göre daha toksik olduğu gösterilmiştir (56).

Gümüş nanopartiküllerle ilgili in vivo çalışmalarda, *Drosophila*'larda oksidatif strese; *Daphnia magna* üzerinde ise doza bağlı olarak çeşitli olumsuz etkilere yol açtıkları belirlenmiştir. Farelerde gümüş nanopartiküllerin oral toksisitesi üzerine yapılan az sayıdaki in vivo çalışma hedef organın karaciğer olduğunu göstermiştir. Ayrıca, gümüş nanopartiküllerin farelerde oral yolla kullanımının mikrovillusların tahrip olması nedeniyle ince bağırsak mukozasının işlevinin engellenmesine neden olduğu bildirilmiştir (56). Mozafari ve ark. (2019) oral yolla uygulanan gümüş nanopartiküllerin farelerde gebelik üzerine etkilerini incelemişler ve 1 mg/kg/gün dozda 7 ve 14 gün süreyle uygulanan gümüş nanopartiküllerin fetal vücut kitle indeksinde azalma, fetüslerin büyümesinde kısıtlanma, fetüslerde eksansefal, baş, toraks ve gövdede anormalliklere ve orta beyinde fibroz ve nekroza neden olduklarını ortaya koymuşlardır (57).

9. Kuantum Noktaları

Kuantum noktaları (Quantum dots, QD), 2-10 nm boyutlarındaki yarı iletken kristallerdir. QD'ler çok küçük boyutlara sahip olması ve yüksek parlaklık, fotostabilite, ayarlanabilir emisyon spektrumu ve fonksiyonel gruplara bağlandığında spesifik biyoaktivite gibi benzersiz fotokimyasal ve fotofiziksel özelliklere sahip olduklarından birçok kullanım alanına sahiptirler. QD'ler biyomedikal sahada görüntülemelerde kontrast madde ve özellikle küçük moleküllü hidrofobik ilaçlar için taşıma sistemi olarak kullanılmaktadır (58).

Yaygın kullanımları nedeniyle QD'lerin toksisitesinin incelenmesi önem taşımaktadır. QD çekirdeği kadmiyum içermektedir ve toksik etkileri genellikle kadmiyum ile ilişkilendirilmektedir (59). Sıçan hepatositleriyle inkübe edilen QD'lerin yüzey oksidasyonu yoluyla kadmiyumu serbest bıraktığını ve partikül çekirdeklerinin biyolojik ortamda bozunabileceği ortaya çıkarılmıştır (59). Sıçan feokromositoma hücrelerinde (PC12) 1 µg/mL konsantrasyonda QD'lerin sitotoksik olduğu ve kromatin

yoğunlaşması ile membran parçalanması dahil olmak üzere apoptoz benzeri hücre ölümünün indüklediği gösterilmiştir. Bunun yanında, keratinositlerin QD'lere maruz bırakılması ile IL-1b, IL-6 ve IL-8'in önemli ölçüde arttığı ve buna bağlı deri üzerinde toksisite olduğu ortaya konmuştur (59). Ayrıca kadmiyumlu QD'lerin fare mikrogliya hücrelerinde (BV2) DNA hasarını indüklediği belirlenmiş, ancak bu değişikliklerin ekzojeni azaltılmış glutasyon uygulamasıyla tersine çevrilebildiği bildirilmiştir. Çinko ve kadmiyum ile kaplı QD'lerin toksisitesi zebra balığı üzerinde tek tek ve kombine halde incelenmiş ve QD'lerde bulunan çinko ve kadmiyumun balıklarda biriktiği ve kombinasyon uygulamasının oksidatif stres enzimlerini ve ısı şok proteinlerini (HSP70) artırarak daha yüksek toksisiteye neden olduğu belirlenmiştir (60).

Kadmiyum yerine farklı metallere birleşim halindeki QD'lerle yapılan çalışmalarda, mangan bağlanmış çinko sülfür QD nedeniyle 6-8 haftalık erkek BALB/c farelerde hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde dozdan bağımsız olarak değişiklikler meydana geldiği, ancak organ işleyişinde ve histopatolojisinde bozukluk olmadığı belirlenmiştir (61). PEGlenmiş bakır indiyum sülfür ve çinko sülfür QD'lerin DC2.4 (fare dendritik) hücre hattında ve BALB/c farelerde immunotoksitesini araştırılmış ve QD'lerin in vitro çeşitli değişikliklere neden olmasına rağmen in vivo toksisite saptanmamıştır (62). Aynı şekilde Singh ve ark. (2018), biyomedikal görüntüleme alanında yaygın olarak kullanılan azotlu karbon QD'lerin insan serviks kanser hücre hattında (HeLa) ve Swiss albino farelerde herhangi bir toksik etkiye yol açmadıklarını rapor etmiştir (63).

10. Metal Oksit Nanopartiküller

Metal oksitler, kimya, fizik ve malzeme bilimlerinin birçok alanında önemli rol oynayan maddelerdir. Metal oksit nanoparçacıkları kozmetik ürünlerde, farmasötik preparatlarda ve gıdalarda renklendirici olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Metal oksit nanopartiküller, ilaçlar ve görüntüleme ajanları için

taşıma sistemi olarak da kullanılmaktadır. Metal oksitler içerisinde en yaygın olarak kullanılanlar titanyum dioksit (TiO₂) ve çinko oksit (ZnO)'dir. Bu iki madde birçok ilaç, kozmetik ürün, UV kaynaklı cilt hasarına karşı güneş koruyucuları ve gıdaların içerisinde opaklık ve beyazlık sağlamak amacıyla yer almaktadır (48).

Genellikle stabil ve biyoyumlu olarak kabul edilen bu maddelerin toksisiteleri ile ilgili tartışmalar uzun süredir devam etmektedir. Bu çözünür olmayan metal oksit nanopartiküllerin neden olduğu potansiyel sitotoksikite mekanizması hala tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda bu nanopartiküllerin immunotoksikite ve genotoksikiteyi indüklediği belirtilmiştir (28,30). Yapılan çalışmalarda bu nanopartiküllerin fototoksikiteye neden olduğu ve oluşan fototoksikite ile partikül boyutu arasında karşılıklı bir ilişki olduğunu görülmüştür. UV ışığı ile fotoaktivasyondan sonra 10 nm boyuttaki TiO₂ nanopartiküllerin hücrelerin mortalitesinin, daha büyük partiküllere (20 ve 100 nm) kıyasla daha fazla artırdığı ortaya konmuştur (48). TiO₂ nanopartiküllerin fototoksik etkilerini değerlendirmek için zebra balığında birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonunda TiO₂ maruziyetinin fototoksik etkisini oksidatif hasar yoluyla meydana getirdiği, kuluçka randımanı, canlılık ve malformasyon oranını etkilemezken larvaların yüzme parametrelerinde değişikliğe neden olduğu, kan-beyin bariyerini kolayca geçerek nörotoksikite oluşturduğu ve subkronik maruziyette üreme bozukluklarına neden olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, 100 nm'den küçük olan TiO₂ nanopartiküllerinin farklı insan ve hayvan hücre hatlarında apoptotik hücre ölümünü tetiklediği, büyüklüğe bağlı keratinosit hücre hattında hücre ölümü mekanizmasını etkilediği ve büyüklükten bağımsız bir şekilde nekroz oluşturduğu gösterilmiştir (64).

Metal oksit nanopartiküllerin toksisitelerinin önemli araçlarından biri oksidatif strestir. Yapılan birçok çalışmada TiO₂ nanopartiküllerin balıklarda, farelerde ve sıçanlarda ROS oluşumunu indüklediği

ve oksidatif stres parametrelerinde değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında TiO₂ nanopartiküllerin memelilerde lipit, karbonhidrat ve protein metabolizmasına zarar verdiği gösterilmiştir. Ayrıca hücre dışına aşırı glutamat salınımına yol açarak nöronal disfonksiyona ve nörodejeneratif hastalıklara neden olabileceği bildirilmiştir. TiO₂ maruziyeti, karaciğerde detoksifikasyon tepkimelerinde çok önemli bir rolü olan glutatyon seviyesinde azalmaya neden olabilmektedir. Yapılan diğer toksisite çalışmalarında TiO₂'in erkek C5Bl/6 farelerine 8 hafta süreyle 2 mg/kg dozlarda orofaringeal aspirasyon yoluyla uygulanması sonrasında akciğerde yangı, BEAS-2B akciğer normal hücrelerinde pulmoner toksisite, erkek Wistar sıçanlarda böbreklerde üre ve ürik asit seviyelerinde değişiklikler ve ICR farelerde WBC (beyaz kan hücresi) sayısında artışa neden olduğu görülmüştür (65,66).

ZnO partikülleri ile yapılan çalışmalara bakıldığında, Franz tipi difüzyon hücreleri kullanarak deri üzerindeki etkilerinin elektron mikroskobu ile incelenmesi sonucunda, alt stratum corneum ve epidermiste ZnO parçalarına rastlanmamış, bu partiküllerin deriyi çok az miktarda geçebildiği saptanmıştır (65,66). Zebra balığında yapılan çalışmalar ZnO nanopartiküllerin kuluçka geriliği, mortalitede artış ve ROS oluşumuna neden olduğunu göstermiş, kitosan ve PEG ile kaplamanın bu etkileri azalttığı bildirilmiştir. ROS artışı hücre kültürü çalışmalarında da görülmüş ve çeşitli hücre hatlarında sitotoksikite rapor edilmiştir. ZnO nanopartiküllerin foto-genotoksik potansiyeli ise, hamster yumurtalık hücre hattında incelenmiş ve ZnO nanopartiküllerinin, eş zamanlı olarak radyasyon öncesi ve UV ışınlama koşulları altında uygulandığında kromozomal sapmalara ve klastojenisiteye neden olabildiği gösterilmiştir (65). Yousef ve ark.(2019) alüminyum ve çinko oksit nanopartiküllerin erkek Wistar sıçanların subkronik maruziyetinden sonra karaciğer ve böbrek toksisitesine neden olduğunu göstermiştir. Her iki nanopartikülün birlikte kullanılması ise sinerjistik etkilere neden olmuştur (66). Bu toksisite

verilerine karşın, Hassan ve ark. (2019) birçok alanda yaygın olarak kullanılan ve Sınıf IIB karsinojen bir madde olan potasyum bromat (PB)'ın sıçanlarda oluşturduğu zararlı etkilerin ZnO nanopartiküller ile azaltılabileceğini ortaya koymuşlardır (67).

SONUÇ

Hayatımızın her alanına büyük bir hızla girmekte olan nanopartiküllerin özellikle ilaç salınım sistemlerinde kullanılması, kanser başta olmak üzere birçok hastalık için umut verici sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır. Yaygın kullanımlarına karşın nanopartiküllerin toksik etki mekanizmaları halen tam olarak bilinmemektedir. Yapılan birçok çalışmada nanomateriyallerin toksisitesi fizikokimyasal özelliklerine yani küçük boyutlarına ve yüzey alanına bağlanmaktadır. Bu nedenle geleneksel toksikolojiden farklı olarak, belirli bir nanopartikülün güvenlik/toksisite değerlendirmesi, o nanopartikülün biyolojik etkilerinin yalnızca kimyasal içeriği esas alınarak değil, aynı zamanda büyüklüğü, yüzey yapısı, şekli vb. özellikleri ile birlikte incelenmek durumundadır (4,6,11).

Bu veriler ışığında özellikle insan ve hayvanlarda ilaç taşıma sistemleri, görüntüleme vb. medikal uygulamalar için kullanılacak nanopartiküllerin toksik etkilerinin göz önüne alınması ve son derece dikkatli olunması gerektiği ortadadır. Hali hazırda nanopartiküllere ilişkin elde edilen toksisite verilerinin önemli bir kısmı in vitro deneme sonuçlarına dayanmakta ve birbiri ile çelişen birçok yayın bulunmaktadır. In vitro çalışmalar, ilaçların etkilerinin ve güvenliklerinin değerlendirilmesinde ilk basamak olmaları, standardize ve valide edilmiş in vitro çalışmaların çok önemli veri kaynağı olmaları ve deney hayvanı kullanımının azaltılması yönünde çok önemli bir role sahip olmalarına rağmen organizmayı tam olarak temsil etmediklerinden elde edilen sonuçların in vivo denemeler ile doğrulanması gerekmektedir. Bu nedenle, nanopartiküllerin yerel ve sistemik toksisite mekanizmaları ile toksikokinetiklerine ilişkin geniş kapsamlı in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Tüylek Z. İlaç taşıyıcı sistemler ve nanoteknolojik etkileşim. *Bozok Tıp Derg*, 2017; 7(3): 89-98.
2. Lamprecht A. *Nanotherapeutics: Drug Delivery Concepts in Nanoscience*. Singapore: Pan Stanford, 2016.
3. Yavuz O, Marangoz Ö. Farmakoloji ve toksikolojide in siliko yöntemlerin kullanımı. In: Güvenç D, ed. *İlaç Araştırma, Geliştirme ve Toksikolojik Çalışmalarda Kullanılan Alternatif Yöntemler*, 1. Baskı. Ankara. Türkiye Klinikleri, 2018: 35-42.
4. Marangoz Ö. Nano ilaç ve nano ilaç taşıma sistemleri. *Doktora Semineri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 2018.
5. Vural GU, Özer AY. Nükleer tıpta ilaç taşıyıcı sistemler ve teranostik kullanımları. *Nükleer Tıp Seminerleri*, 2015; (2): 109-19.
6. Sayiner Ö, Çomoğlu T. Nanotaşıyıcı sistemlerde hedeflendirme. *Ankara Ecz Fak Derg*, 2016; 40(3): 62-79.
7. Bhargav E, Madhuri N, Ramesh K, Anand M, Ravi V. Targeted drug delivery-A review. *World J Pharm Pharm Sci*, 2013; 3(1): 150-9.
8. Roursgaard M, Knudsen KB, Northeved H, Persson M, Christensen T, Kumar PE et.al. In vitro toxicity of cationic micelles and liposomes in cultured human hepatocyte (HepG2) and lung epithelial (A549) cell lines. *Toxicology in Vitro*, 2016; 36: 164-71.
9. Yin X, Luo L, Li W, Yang J, Zhu C, Jiang M et.al. A cabazitaxel liposome for increased solubility, enhanced antitumor effect and reduced systemic toxicity. *Asian J Pharm Sci*, 2019; 14(6): 658-67.
10. Pippa N, Stangel C, Kastanas I, Triantafyllopoulou E, Naziris N, Stellas D et.al. Carbon nanohorn/ liposome systems: Preformulation, design and in vitro toxicity studies. *Materials Sci Engin C*, 2019; 105: 110114.
11. Abud MB, Louzada RN, Isaac DLC, Souza LG, Dos Reis RG, Lima EM et.al. In vivo and in vitro toxicity evaluation of liposome-encapsulated sirolimus. *Intern J Retina Vitreous*, 2019; 5(1): 35.
12. Zhang Y, Li N, Suh H, Irvine DJ. Nanoparticle anchoring targets immune agonists to tumors enabling anti-cancer immunity without systemic toxicity. *Nature Commun*, 2018; 9(1): 1-15.
13. Knudsen KB, Northeved H, Kumar PE, Permin A, Gjetting T, Andresen TL et al. In vivo toxicity of cationic micelles and liposomes. *Nanomed*, 2015; 11(2): 467-77.
14. Costamagna F, Hillaireau H, Vergnaud-Gauduchon J, Jamgotchian L, Loreau O, Denis S et.al. Nanotoxicology at the particle/micelle frontier: Influence of core-polymerization on the intracellular distribution, cytotoxicity and genotoxicity of polydiacetylene micelles. *Nanoscale*, 2020; 12: 2452-63.
15. Soodvilai S, Tipparos W, Rangsimawong W, Patrojansophon P, Soodvilai S, Sajomsang W et.al. Effects of silymarin-loaded amphiphilic chitosan polymeric micelles on the renal toxicity and anticancer activity of cisplatin. *Pharm Develop Technol*, 2019; 24(8): 927-34.
16. Patil P, Harak K, Saudagar R. The solid lipid nanoparticles, a review. *JDDT*, 2019; 9(3): 525-30.
17. Patrick S, Eric DS, Anthony WC. A first approach to the study of calixarene solid lipid nanoparticle (SLN) toxicity. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, 2003; 46(3-4): 175-7.

18. Silva AH, Filippin-Monteiro FB, Mattei B, Zanetti-Ramos BG, Creczynski-Pasa TB. In vitro biocompatibility of solid lipid nanoparticles. *Sci Total Environ*, 2012; 432: 382-8.
19. Albuquerque J, Moura CC, Sarmiento B, Reis S. Solid lipid nanoparticles: A potential multifunctional approach towards rheumatoid arthritis theranostics. *Molecules*, 2015; 20(6): 11103-18.
20. Mendonça MCP, Radaic A, Garcia-Fossa F, Da Cruz-Höfling MA, Vinolo MAR, De Jesus MB. The in vivo toxicological profile of cationic solid lipid nanoparticles. *Drug Deliver Translation Res*, 2020; 10(1): 34-42.
21. Derman S, Kızılbey K, Akdeste ZM. Polymeric nanoparticles. *Sigma*, 2013; 31: 107-20.
22. Ritter D, Knebel J, Niehof M, Loinaz I, Marradi M, Gracia R et.al. In vitro inhalation cytotoxicity testing of therapeutic nanosystems for pulmonary infection. *Toxicol in Vitro*, 2020; 63: 104714.
23. Yıldırım L, Thanh N, Loizidoua M, Seifalian MA. Toxicological considerations of clinically applicable nanoparticles. *Nano Today*, 2011; (6): 585-607.
24. Hering I, Eilebrecht E, Parnham MJ, Günday-Türel N, Türel AE, Weiler M et.al. Evaluation of potential environmental toxicity of polymeric nanomaterials and surfactants. *EnvironToxicol Pharmacol*, 2020; 76: 103353.
25. Karabulut B, Kerimoğlu O, Uğurlu T. Dendrimerler-ilaç taşıyıcı sistemler. *MÜSBED*, 2015; 1(1): 31-40.
26. Jain K, Kesharwani P, Gupta U, Jain NK. Dendrimer toxicity: Let's meet the challenge. *Int J Pharm*, 2010; 394(1-2): 122-42.
27. Wang Y, Li C, Du L, Liu Y. A reactive oxygen species-responsive dendrimer with low cytotoxicity for efficient and targeted gene delivery. *Chine Chem Lett*, 2020; 31(1): 275-80.
28. Jain K, Mehra NK, Jain NK. Nanotechnology in drug delivery: Safety and toxicity issues. *Curr Pharm Des*, 2015; 21(29): 4252-61.
29. Gorzkiewicz M, Konopka M, Janaszewska A, Tarasenko II, Sheveleva NN, Gajek A et.al. Application of new lysine-based peptide dendrimers D3K2 and D3G2 for gene delivery: Specific cytotoxicity to cancer cells and transfection in vitro. *Bioorganic Chem*, 2020; 95: 103-504.
30. Monterio-Riviere NA, Tran CL. *Nanotoxicology: Characterization, Dosing and Health Effects*. New York: Informa Healthcare, 2007.
31. Lee KC, Lo PY, Lee GY, Zheng JH, Cho EC. Carboxylated carbon nanomaterials in cell cycle and apoptotic cell death regulation. *J Biotechnol*, 2019; 296: 14-21.
32. Nahle S, Safar R, Grandemange S, Foliguet B, Lovera-Leroux M, Doumandji Z et.al. Single wall and multiwall carbon nanotubes induce different toxicological responses in rat alveolar macrophages. *J App Toxicol*, 2019; 39(5): 764-72.
33. Siegrist KJ, Reynolds SH, Porter DW, Mercer RR, Bauer AK, Lowry D, Salisbury JL. Mitsui-7, heat-treated, and nitrogen-doped multi-walled carbon nanotubes elicit genotoxicity in human lung epithelial cells. *Particle Fibre Toxicol*, 2019; 16(1): 36.
34. Zhao X, Chang S, Long J, Li J, Li X, Cao Y. The toxicity of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) to human endothelial cells: The influence of diameters of MWCNTs. *Food Chem Toxicol*, 2019; 126: 169-77.
35. Requardt H, Braun A, Steinberg P, Hampel S, Hansen T. Surface defects reduce carbon nanotube toxicity in vitro. *Toxicol in Vitro*, 2019; 60: 12-8.
36. Liu Y, Jiang H, Liu C, Ge Y, Wang L, Zhang B et.al. Influence of functional groups on toxicity of carbon nanomaterials. *Atmosph Chem Physics*, 2019; 19(12): 8175-87.

37. Mohammadian Y, Rezazadeh Azari M, Peirovi H, Khodaghali F, Pourahmad J, Omidi M et.al. Combined toxicity of multi-walled carbon nanotubes and benzo [a] pyrene in human epithelial lung cells. *Toxin Rev*, 2019; 38(3): 212-22.
38. Tian R, Long X, Yang Z, Lu N, Peng YY. Formation of a bovine serum albumin diligand complex with rutin and single-walled carbon nanotubes for the reduction of cytotoxicity. *Biophysic Chem*, 2020; 256: 106268.
39. Falinski MM, Garland MA, Hashmi SM, Tanguay RL, Zimmerman JB. Establishing structure-property-hazard relationships for multi-walled carbon nanotubes: The role of aggregation, surface charge, and oxidative stress on embryonic zebrafish mortality. *Carbon*, 2019; 155: 587-600.
40. Chowdhry A, Kaur J, Khatri M, Puri V, Tuli R, Puri S. Characterization of functionalized multiwalled carbon nanotubes and comparison of their cellular toxicity between HEK 293 cells and zebra fish in vivo. *Heliyon*, 2019; 5(10): 02605.
41. Pandey H, Saini S, Singh SP, Gautam NK, Singh S. Candle soot derived carbon nanoparticles: An assessment of cellular and progressive toxicity using *Drosophila melanogaster* model. *Compar Biochem Physiol Part C: Toxicol Pharmacol*, 2020; 228: 108646.
42. Semak AE, Cherepanova NG, Komarchev AS, Ichkitidze LP, Sokolova DK. Toxicity Study of Solid Carbon Nanotube-Based Composites. In: 2019 IEEE Conference of Russian Young Researchers in Electrical and Electronic Engineering, 2019; 2272-4.
43. Knudsen K. B, Berthing T, Jackson P, Poulsen SS, Mortensen A, Jacobsen NR et. al. Physicochemical predictors of multi-walled carbon nanotube-induced pulmonary histopathology and toxicity one year after pulmonary deposition of 11 different multi-walled carbon nanotubes in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2019; 124(2): 211-27.
44. Khalid P, Hussain MA, Suman VB, Arun AB. Toxicology of carbon nanotubes-A review. *Int J Appl Eng Res*, 2016; 11(1): 148-57.
45. Kolosnjaj TJ, Baati T, Szwarc H, Moussa F. Toxicity studies of [60] fullerene and carbon nanotubes: State of the art. In: D'Souza F, Kadish KM, eds. *Handbook of Carbon Nano Materials*. Singapore. World Sci, 2012; 49-75.
46. Namadr F, Bahrami F, Bahari Z, Ghanbari B, Shahyad S, Mohammadi MT. Fullerene C60 nanoparticles decrease liver oxidative stress through increment of liver antioxidant capacity in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Reactive Oxygen Species*, 2020; 9(26): 70-80.
47. Biby TE, Prajitha N, Ashtami J, Sakthikumar D, Maekawa T, Mohanan PV. Toxicity of dextran stabilized fullerene C60 against C6 Glial cells. *Brain Res Bull*, 2020; 155: 191-201.
48. Fard JK, Jafari S, Eghbal MA. A review of molecular mechanisms involved in toxicity of nanoparticles. *Adv Pharm Bull*, 2015; 5(4): 447-54.
49. Bondarenko O, Juganson K, Ivask A, Kasemets K, Mortimer M, Kahru A. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: A critical review. *Arch Toxicol*, 2013; 87(7): 1181-200.
50. Barkur S, Lukose J, Chidangil S. Probing nanoparticle-cell interaction using Micro-Raman Spectroscopy: Silver and gold nanoparticle-induced stress effects on optically trapped live red blood cells. *ACS Omega*, 2020; 5(3): 1439-47.
51. Selvaraj T, Thirunavukkarasu A, Rathnavelu SM, Kasivelu G. In Vivo non-toxicity of gold nanoparticles on wistar rats. *J Cluster Sci*, 2019; 30(2): 513-19.
52. Hernandez-Adame L, Angulo C, Delgado K, Schiavone M, Castex M, Palestino G et.al. Biosynthesis of β -d-glucan-gold nanoparticles, cytotoxicity and oxidative stress in mouse splenocytes. *Intern J Biol Macromol*, 2019; 13:, 379-89.
53. Bailly AL, Correard F, Popov A, Tselikov G, Chaspoul F, Appay R et.al. In vivo evaluation of safety, biodistribution and pharmacokinetics of laser-synthesized gold nanoparticles. *Sci Reports*, 2019; 9(1): 1-12.

54. Elbehiry A, Al-Dubaib M, Marzouk E, Moussa I. Antibacterial effects and resistance induction of silver and gold nanoparticles against *Staphylococcus aureus*-induced mastitis and the potential toxicity in rats. *Microbiol Open*, 2019; 8(4): e00698.
55. Wang L, Zhang C, Zhi X, Hou W, Li T, Pan S, Cui D. Impact of short-term exposure of AuNCs on the gut microbiota of BALB/c mice. *J Biomed Nanotec*, 2019; 15(4): 779-89.
56. Sukumaran P, Eldho KP. Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *Int Nano Lett*, 2012; 2(1): 32.
57. Mozafari M, Khoradmehr A, Danafar A, Miresmaeili M, Kalantar SM. Toxic effects of maternal exposure to silver nanoparticles on mice fetal development during pregnancy. *Birth Defects Res*, 2020; 112(1): 81-92.
58. Giovanni L, Emilia G, Annarita F, Rosa C, Elisabetta A, Marco G. Toxicity effects of functionalized quantum dots, gold and polystyrene nanoparticles on target aquatic biological models: A review. *Molecules*, 2017; 22(9): 1439.
59. Rzigalinski BA, Strobl JS. Cadmium-containing nanoparticles: Perspectives on pharmacology and toxicology of quantum dots. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009; 238(3): 280-8.
60. Matos B, Martins M, Samamed AC, Sousa D, Ferreira I, Diniz MS. Toxicity evaluation of quantum dots (ZnS and CdS) singly and combined in zebrafish (*Danio rerio*). *Intern J Environ Res Public Health*, 2020; 17(1): 232.
61. Yang Y, Lv S, Wang F, An Y, Fang N, Zhang W et.al. Toxicity and serum metabolomics investigation of Mn-doped ZnS quantum dots in mice. *Intern J Nanomed*, 2019; 14: 6297.
62. Chen T, Li L, Lin X, Yang Z, Zou W, Chen Y et.al. In vitro and in vivo immunotoxicity of PEGylated Cd-free CuInS₂/ZnS quantum dots. *Nanotoxicol*, 2020; 1-16.
63. Singh V, Kashyap S, Yadav U, Srivastava A, Singh AV, Singh RK et.al. Nitrogen doped carbon quantum dots demonstrate no toxicity under in vitro conditions in a cervical cell line and in vivo in Swiss albino mice. *Toxicol Res*, 2019; 8(3): 395-406.
64. Bai C, Tang M. Toxicological study of metal and metal oxide nanoparticles in zebrafish. *J App Toxicol*, 2020; 40(1): 37-63.
65. Hou J, Wang L, Wang C, Zhang S, Liu H, Li S, Wang X. Toxicity and mechanisms of action of titanium dioxide nanoparticles in living organisms. *J Environ Sci*, 2019; 75: 40-53.
66. Yousef MI, Mutar TF, Kamel MAE. Hepatorenal toxicity of oral sub-chronic exposure to aluminum oxide and/or zinc oxide nanoparticles in rats. *Toxicol Reports*, 2019; 6: 336-46.
67. Hassan I, Husain FM, Khan RA, Ebaid H, Al-Tamimi J, Alhazza IM et.al. Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles against potassium bromate-mediated toxicity in Swiss albino rats. *Environ Sci Pollut Res*, 2019; 26(10): 9966-80.