

## Demir Bazlı Manyetik Nanopartiküllerin Genotoksik Etkilerinin *Drosophila melanogaster*'de Araştırılması

Ayşen Yağmur Burgazlı<sup>1</sup>, Merve Güneş<sup>2</sup>, Burçin Yalçın<sup>2</sup>, Ghada Tagorti<sup>2</sup>,  
Bülent Kaya<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06500, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 7070, Antalya, Türkiye

### Öne Çıkanlar

- Çalışma kapsamında günümüzde yaygın kullanım alanına sahip manyetik nanopartiküllerin genotoksik potansiyelleri araştırılmıştır.
- Genotoksosite çalışmalarında sıklıkla tercih edilen bir model organizma olan *Drosophila melanogaster* ile çalışılmıştır.
- Araştırma kapsamında 4 farklı manyetik nanopartikülün 4'er farklı konsantrasyonunun genotoksik potansiyelleri değerlendirilmiştir.

### Makale Bilgileri

Geliş: 17/04/2024  
Kabul: 13/05/2024

### Anahtar Kelimeler

*Drosophila melanogaster*,  
Manyetik nanopartiküller,  
SMART yöntemi,  
Genotoksosite.

### Öz

Manyetik nanopartiküller (MNP'ler) günümüzde nanopartiküllerin yeni bir sınıfı olarak biyosensörler, tıbbi tanı ve tedavi, manyetik rezonans görüntüleme ve daha birçok alanda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. MNP'lerin kullanım alanları arasında özellikle insan üzerinde yaygın uygulama alanlarına sahip olmaları ve ayrıca potansiyel toksisiteyi hakkında literatürde bilgi eksikliği olması sebebiyle bu bileşiklerin kullanımı oldukça endişe uyandırıcı bir durum haline gelmiştir. Bu bağlamda MNP'lerin toksikolojik açıdan değerlendirilmeleri büyük bir önem taşımaktadır. Bu bağlamda çalışmamızda 4 farklı MNP'nin ( $Fe_3O_4$  NP,  $NiFe_2O_4$  NP,  $CoFe_2O_4$  NP ve  $MnFe_2O_4$  NP) genetik hasar oluşturma potansiyelleri, genotoksikoloji alanında sıklıkla kullanılan model organizmalardan biri olan *Drosophila melanogaster* ile kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) yöntemi çalışılarak araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan uygulama konsantrasyonları 1, 3, 5 ve 10 mM olarak belirlenmiştir. SMART yönteminden elde edilen verilere göre; toplam klon sayısı parametresi bakımından  $NiFe_2O_4$  MNP'lerinin en yüksek konsantrasyonunda (10 mM) ve  $CoFe_2O_4$  MNP'nin ise 3, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde genotoksiteyi indüklediği sonucuna ulaşılmıştır.

## Investigation of Genotoxic Effects of Iron-based Magnetic Nanoparticles in *Drosophila melanogaster*

### Highlights

- Within the context of the study, the genotoxic potential of magnetic nanoparticles, which are widely used today, was investigated.
- Drosophila melanogaster*, a frequently preferred model organism in genotoxicity studies, was studied.
- Within the scope of the research, the genotoxic potentials of 4 different concentrations of 4 different magnetic nanoparticles were evaluated.

### Article Info

Received: 17/04/2024  
Accepted: 13/05/2024

### Keywords

*Drosophila melanogaster*,  
Magnetic nanoparticles,  
SMART assay,  
Genotoxicity.

### Abstract

Magnetic nanoparticles (MNPs), as a new class of nanoparticles, have been frequently used in biosensors, medical diagnosis and treatment, magnetic resonance imaging and many other fields. Among the areas of use of MNPs, the use of these compounds has become a very worrying situation, especially because they have widespread application areas on humans and there is a lack of information in the literature about their potential toxicity. In this context, toxicological evaluation of MNPs is of great importance. In this context, the genetic damage potentials of 4 different MNPs ( $Fe_3O_4$  NP,  $NiFe_2O_4$  NP,  $CoFe_2O_4$  NP and  $MnFe_2O_4$  NP) were investigated by using the somatic mutation and recombination test (SMART) method with *Drosophila melanogaster*, one of the model organisms frequently used in genotoxicology. The application concentrations used in the study were determined as 1, 3, 5, and 10 mM. According to the data obtained from the SMART method, it was concluded that the highest concentration of  $NiFe_2O_4$  MNPs (10 mM) and 3, 5, and 10 mM concentrations of  $CoFe_2O_4$  MNPs induced genotoxicity in a statistically significant manner in terms of total clone number parameter.



Makale, Creative Commons 4.0 (CC BY NC SA) uluslararası lisansı altında açık erişim olarak yayımlanmaktadır.

\* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Bülent Kaya, bkaya@akdeniz.edu.tr



## 1. GİRİŞ

Nanoteknoloji kavramının ilk defa hayatımıza girişi 1959 yılında Richard Feynman adlı bilim insanı aracılığıyla olmasına rağmen bu kavramın ilk kez kullanılması 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından gerçekleştirilmiştir [1]. 21. yüzyılın başlangıcı itibariyle nanoteknoloji; mühendislik, paketleme teknolojileri, gıda teknolojisi, tıp, biyomedikal mühendisliği, bilgisayar ve robotik alanları gibi birçok alanda gelişmelerin oluşumunu desteklemiştir [2,3].

Nanopartiküller (NP'ler) olarak bilinen nanoteknoloji ürünleri en az bir boyutu 1-100 nm aralığında olması gereken materyaller veya kimyasal maddeler olarak tanımlanmaktadır [4]. NP'ler özellikle günümüzde yer alan çoğu uygulamaya yeni işlevler ve özellikler kazandırmaları sebebiyle birçok bilimsel alanda büyük bir etki yaratmıştır [5]. NP'lerin oldukça önemli materyaller olarak görülmesi, bilim insanlarının bir materyal veya maddenin sahip olduğu kimyasal, optik, elektriksel, mekanik ve özellikle boyutunun ilgili materyalin fizikokimyasal özellikleri üzerinde etkiye sahip olabileceğini keşfetmeleriyle mümkün olmuştur [4].

Manyetik nanopartiküller (MNP'ler), metal alaşımları, saf metaller veya metal oksitlerden oluşabilen bir NP çeşididir [6,7]. Ayrıca MNP'ler, sıklıkla kobalt, nikel, demir gibi manyetik özellik gösteren elementlerden türetilmiş ve bunlara ek olarak magnetit ( $Fe_3O_4$ ), maghemit ( $\gamma-Fe_2O_3$ ), kobalt ferrit ( $Fe_2CoO_4$ ) ve krom dioksit ( $CrO_2$ ) gibi oksitleri içeren, 100 nm'den daha küçük boyutlara sahip, harici bir manyetik alanın etkisiyle dışarıdan kontrol edilebilen mühendislik ürünleridir [8].

Manyetik malzeme (materyal) kullanımının tarihsel kökeni incelendiğinde; biyoloji alanında ilk kez kullanılması Heinz Lowenstam ile 1960'lı yıllarda başladığı ve bu durumu takiben günümüzde ise ilaç taşıma sistemlerinde, hücre ayrıştırmada, teranostik uygulamalarda, kontrast görüntüleme, biyosensörlerde ve hipertermi tedavilerinde kullanıldığı görülmektedir [9-13].

Günümüzde gelişen teknoloji ve nanoteknoloji alanı beraberinde ilgili alanlara, implante edilebilir malzeme üretimi, düşük sitotoksikite gösteren antikanser ilaçlarının keşfi ve nanoboyut düzeyinde yeni ilaçların üretimi gibi oldukça farklı yeniliklerin dâhil edilmesini sağlamıştır. Bu yenilikler sayesinde MNP'ler özellikle biyomedikal alanlarda kullanılmaya başlanmıştır [14,7]. MNP'lerin fizikokimyasal özellikleri, boyutları ve manyetik nitelikleri, harici manyetik alan gradyanlarıyla tedavi edilecek bölgelere yönlendirilebilme ve konumlandırılabilme özelliği kazandırmaktadır. Bu özellikler, MNP'leri ilaç dağıtımında ve farklı hastalıkların tedavi edilebilmesi için umut verici terapötik araçlar olarak değerlendirmeyi mümkün kılmaktadır [15-17]. Örneğin  $Fe_3O_4$  MNP'lerinin hipertermi reaktifleri olarak, manyetik alandan destek alan radyasyon tedavisi, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) için kontrast madde geliştirmede kullanılmaktadır [18].

NP'lerin, özellikle metal bazlı olanlarının, su, hava ve gıda ürünleri gibi doğal ortamlarda yer almaları veya ilgili NP'lerin beşeri alanlardaki artan kullanımı nedeniyle, insan maruziyetinin önemli ölçüde artmasıyla, bu ürünlerin potansiyel toksisitelerine ilişkin endişeler yaygınlaşmaktadır [19,20]. NP'lerin organizmada olası zararları, NP'lerin yüzey kaplaması, boyutu ve yapısı gibi önemli faktörlerden etkilenmektedir; bu durum, organizmaların NP'leri farklı şekillerde bünyelerine almaları sonucunda ortaya çıkan etkilerin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır [21,22]. Bu bağlamda gümüş NP'lerinin (10, 50 ve 100 nm) boyutlarına bağlı olarak sitotoksik potansiyellerinin araştırıldığı bir çalışmada en küçük boyuta sahip gümüş NP'lerinin (10 nm) MC3T3-E1 hücre hattında diğer NP boyutlarına göre apoptozu daha çok indüklediği sonucuna ulaşılmıştır [23].

NP'ler, oksidatif hasara sebep olabilmekte ve bu durum lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA zincir kırıklarının meydana gelmesine neden olabilmektedir [24]. Tüm bunlara ek olarak metal içerikli NP'lerden salınan metal iyonları, hücre zarı ve organellerde hasar yaratarak yıkıcı enzimlerin ortaya çıkmasına ve hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olabilmektedir. Aynı zamanda NP'ler hücre döngüsünde kritik görevlere sahip proteinlere müdahale edebilme, oksidatif hasar oluşturabilme ve hücrenin antioksidan dengesini etkileyebilme yeteneğine sahiptir [25,26]. Örneğin titanyum oksit ( $TiO_2$ ) NP'lerinin canlılığın hayatta kalmasında ve hücre bölünmesinde önemli görevlere sahip karbonik anhidraz,

laktoilglutasyon liyaz ve septin-5 proteinlerinin aktivitelerinde değişiklere neden olabileceği kapsamlı bir toksikoproteomik çalışmasıyla ortaya konmuştur [27]. *In vivo* ve *in vitro* araştırmalar, MNP'lerin *Danio rerio* (zebra balığı), tavuk, sıçanlarda ve çeşitli hücre kültürlerinde potansiyel toksik etkilere yol açabileceğini, bu etkiler arasında DNA hasarı, mitokondriyal hasar ve hatta hücre ölümünün bulunabileceğini ortaya koymuştur [28].

*Drosophila melanogaster*'in genom diziliminin açığa çıkartılmış olması, insanlarla genetik özellikler bakımından yüksek homoloji göstermesi ve kısa bir hayat döngüsüne sahip olması *Drosophila*'da kronik ve/veya akut genotoksitenin ölçülmesinde bir model organizma olarak kullanılmasına oldukça büyük avantajlar sağlamaktadır. Ayrıca nanomateryallerin genotoksik potansiyellerinin *in vivo* deneyler aracılığıyla incelenmesi için *Drosophila melanogaster* ideal bir model organizma olarak bildirilmiştir [29]. Bu bağlamda araştırmamızda MNP'lerin genotoksik potansiyellerinin ölçülmesi amacıyla model organizma olarak *Drosophila melanogaster* kullanılmıştır.

Ayrıca çalışmamız kapsamında kullanılan model organizma olan *Drosophila melanogaster* üzerinde de gerçekleştirilen literatür çalışmaları MNP maruziyetinin *Drosophila* bireylerinde ortalama yaşam süresini azaltabildiğini, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini tetikleyebildiğini ve DNA hasarını indükleyebileceğini göstermektedir [30-32].

Biyomedikal uygulamalarda MNP'lerin yaygın olarak kullanılmalrı, insanlar ve çevre için daha fazla maruziyet anlamına gelmektedir. Bu bağlamda, MNP'lerin potansiyel toksik etkilerinin detaylı bir analizi oldukça kritik bir konudur [33]. Gerçekleştirilen literatür taraması kapsamında MNP'lerin genotoksitate açısından değerlendirildiği makale sayısının oldukça kısıtlı olduğu tespit edilmiştir. Bu bağlamda çalışmamızda MNP'ler arasında yer alan ve sıklıkla biyomedikal alanlarda kullanıma sahip; *NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP*, *Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP*, *CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP* ve *MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP*'lerin *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) yöntemiyle mutajenik ve rekombinojenik potansiyelleri *in vivo* olarak araştırılmıştır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Kimyasallar

Çalışmamız kapsamında kullanılan; orto-fosforik asit (CAS No: 7664-38-2), agar (CAS No: 9002-18-0), propiyonik asit (CAS No: 79-09-4), gum arabik (CAS No: 9001-01-5), kloral hidrat (CAS No: 302-17-0), etil metansülfonat (CAS No: 62-50-0), eter (CAS No: 60-29-7) ve gliserol (CAS No: 56-81-5) kimyasalları Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

### 2.2. Çalışma Kapsamında Kullanılan Manyetik Nanopartiküller

Araştırma kapsamında test edilen MNP'ler olan; *Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP* (CAS No: 1317-61-9), *NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP* (CAS No: 12168-54-6), *CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP* (CAS No: 12052-28-7) ve *MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP*'leri (CAS No: 12063-10-4) NANOĞRAFİ (ODTÜ Teknokenti – Ankara) firmasından satın alınmıştır.

### 2.3. Nanopartikül Karakterizasyonu

Çalışmamız kapsamında test edilen MNP'lerin karakterizasyonu için SEM (Taramalı Elektron Mikroskopisi) görüntüleme analizi ve PSD (Partikül Boyut Dağılım) analizi yapılmıştır. *Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP*, *NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP*, *CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP* ve *MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP*'lerinin SEM görüntüleme analizi JEOL markalı 6400 model numaralı cihazıyla Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi (UNAM-Bilkent Üniversitesi/Ankara) firması aracılığıyla hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. PSD analizi ise Partica markalı LA-960V2 model cihazıyla NANOĞRAFİ (ODTÜ Teknokenti/Ankara) firması aracılığıyla hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

## 2.4. Çalışma Kapsamında Kullanılan *Drosophila* Hatları ve Kültür Koşulları

SMART kapsamında *Drosophila* multiple wing hair (*mwh*) ve flare-3 (*flr<sup>3</sup>*) hatları kullanılmıştır. Kullanılan hatlar Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi'nde yer alan *Drosophila* Genetiği laboratuvarında yer alan kültür stoklarından temin edilmiştir. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenebilmesi amacıyla yapılan ergin birey oluşturma başarısı deneyinde ise *Drosophila* yaban tip (Oregon R+) hattı ile çalışılmıştır. Kültür koşulları 25°C, %60 bağıl nem ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot olarak ayarlanmıştır [34]. *Drosophila* hatlarının kültür devamlılığında standart Lewis besin ortamı (agar, mısır unu, toz maya, toz şeker, asit karışımı distile su) kullanılmıştır. Lewis besin içeriğinde kullanılan ve besinin kontamine olmasını engelleyen asit karışımında ise orto-fosforik asit, propiyonik asit ve distile su kullanılmıştır [35]. Ayrıca kimyasal maruziyetinin uygulanması aşamasında *Drosophila* hazır besini (Carolina Biological Supply Şirketi, Burlington, NC, USA) kullanılmıştır.

## 2.5. Çalışma Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Gerçekleştirilen çalışma kapsamında potansiyel genotoksitesi araştırılan MNP'lerin çalışma konsantrasyonlarının belirlenebilmesi amacıyla literatür çalışmaları dikkate alınarak geniş bir konsantrasyon aralığı seçilmiştir [30-32]. Bu amaç doğrultusunda diğer test edilecek MNP'lerde de ortak bir grup olarak bulunan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'nin 0.2, 0.5, 1, 3, 5 ve 10 mM olmak üzere 6 farklı konsantrasyonunun *Drosophila* üzerindeki ergin birey oluşturma başarısı ölçülmüştür. Deney başlangıcında yaban tip *Drosophila* hattından 8 saat süresince yumurta toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Toplanan yumurtalar 72±4 saatlik (üçüncül larval evre) süreye geçtiklerinde larvalar toplanarak distile su yardımıyla yıkanmıştır. Uygulama tüplerine 4,5'er gram *Drosophila* hazır besini eklenerek, besinler uygulama kimyasalının 9 mL'si ile ıslatılmıştır. Uygulama kimyasalları ile ıslatılan *Drosophila* hazır besini içeren tüplerin her birine 50'er larva eklenmiştir. Her konsantrasyon grubu için 3 uygulama tüpü kullanılmıştır. Kimyasal uygulamasının ardından uygulama tüpleri kültür koşulları altına alınmıştır. *Drosophila* larvalarının ergin birey oluşturma kadar geçen süreç içerisinde kimyasal maruziyet gerçekleştirilmiştir. Ergin birey çıkışı tamamlandıktan sonra bireyler toplanmış ve sayım gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen çalışma sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda en yüksek konsantrasyonun seçimi için en az %50 birey çıkışı görünen konsantrasyon grubu seçilmiştir. Negatif kontrol grubu olarak distile su kullanılmıştır [36].

## 2.6. *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi

*Drosophila* SMART yöntemine *Drosophila* standart besini içeren kültür şişelerine 40 adet ergin *mwh* erkek bireyleri ve 40 adet virjin (çiftleşmemiş) ergin dişi *flr<sup>3</sup>* bireylerinin konularak 24-48 saatlik süreç boyunca çaprazlanmanın gerçekleştirilmesiyle başlanmıştır. Çaprazlanma tamamlandıktan sonra ebeveyn *mwh* ve *flr<sup>3</sup>* bireyleri yeni *Drosophila* standart besini içeren kültür şişelerine aktarılarak 8 saat boyunca yumurta bırakmaları için besin ortamında bekletilmiştir. 8 saatin sonundan ebeveynler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kültür şişeleri içerisine toplanan yumurtalar 72±4 saatlik larva aşamasına geldiklerinde (üçüncü larval evre başlangıcı) musluk suyu kullanılarak ve elek yardımı ile toplanarak uygulama kimyasalının 9 mL'si ile ıslatılan *Drosophila* hazır besini içerisine mikrospatül yardımıyla (yaklaşık 1000 larva) aktarılmıştır. Bireyler ergin hale gelene kadar uygulama kimyasalına kronik olarak maruz bırakılmıştır. Oluşan ergin bireyler uygulama tüplerinden toplanarak eter yardımıyla bayıltılmış ve bu işlemin hemen ardından bireyler içerisnde %70'lik etil alkol bulunan tüplere aktarılmıştır. Etil alkol içerisine alınan *Drosophila* bireyleri preparat hazırlama aşamasına kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir. Deney kapsamında negatif kontrol grubu (distile su) ve pozitif kontrol grubu (1 mM etil metansülfonat/EMS) kullanılmıştır [37,38]. SMART preparatlarının hazırlanması aşamasında toplanan transheterozigot ergin bireyler distile sudan geçirilerek faure solüsyonu (gum arabik, kloral hidrat, gliserol ve distile su) içerisnde kanatları koparılarak lam üzerine konulmuş ve preparasyon işlemi tamamlanmıştır. Hazırlanan kanat preparatları 40X büyütme oranında ışık mikroskobu yardımıyla çalışmanın objektif olabilmesi açısından tek bir kişi tarafından gerçekleştirilmiştir. Sayım aşamasında MNP uygulama konsantrasyonları ve distile su grubunda 80 kanat sayılarak değerlendirme yapılmıştır. Sayım parametreleri olarak toplam klon sayısı, ikiz klon sayısı, toplam *mwh* klon sayısı, küçük ve büyük tek tip klon sayıları dikkate alınmıştır [39,40].

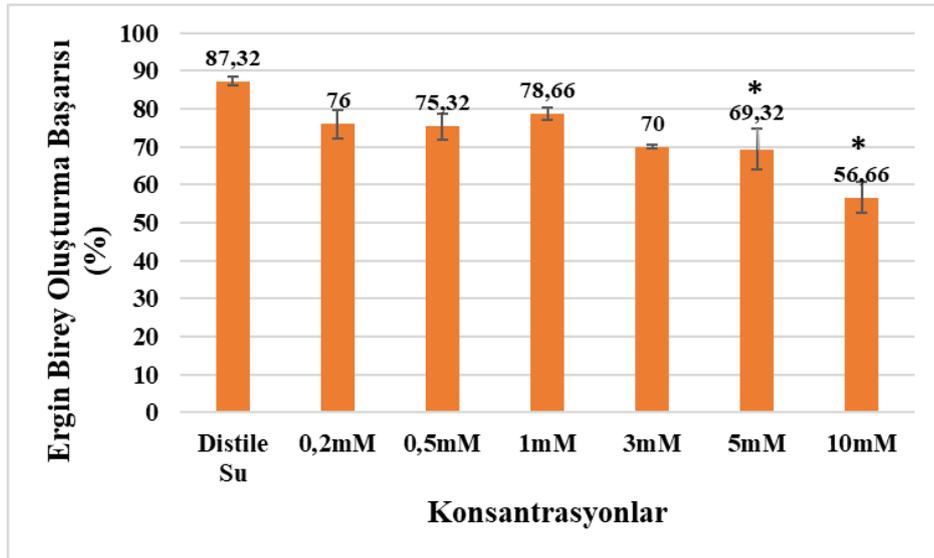
## 2.7. İstatistiksel değerlendirme

Araştırma kapsamında gerçekleştirilen *Drosophila* SMART yönteminden elde edilen sonuç verileri MICROSTA paket programı içerisinde bulunan Kastenbaum ve Bowman (1970) binominal koşullu test kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen ergin birey oluşturma başarısı deneyinden elde edilen veriler ise IBM SPSS 20 paket programında ANOVA aracılığıyla Dunnet çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir.

## 3. BULGULAR

### 3.1. Çalışma Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

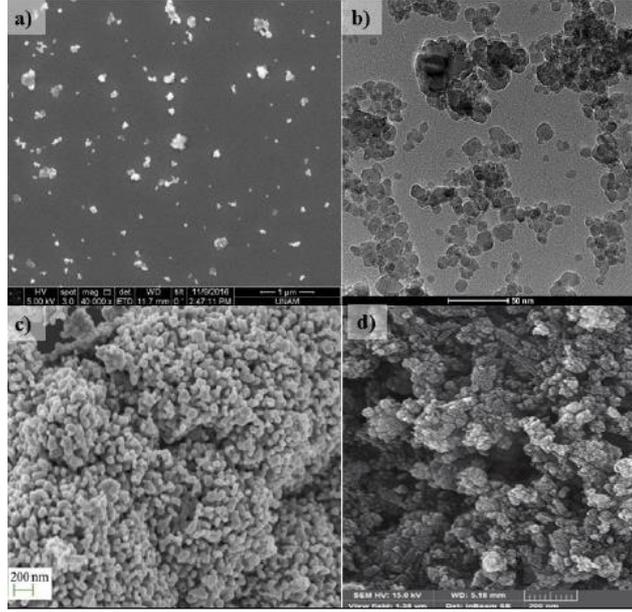
Araştırma kapsamında çalışılacak konsantrasyonların belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen ergin birey oluşturma başarısı deneyinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesine göre 10 mM ( $p=0,011$ ) ve 5 mM ( $p=0,034$ ) konsantrasyonlarının ergin birey oluşturma başarısını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde indirgediği sonucuna ulaşılmıştır. Deney sonucunda ergin birey oluşturma başarısı doğrultusunda larval popülasyonun ~%57'sinin hayatta kaldığı konsantrasyon olan 10 mM'lık konsantrasyon en yüksek konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Araştırma kapsamında kullanılacak diğer konsantrasyonlar sırasıyla 5 mM (%69,32), 3 mM (%70) ve 1 mM (%78,66) olarak belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyeti sonrası ergin birey oluşturma başarısı deney sonuçları

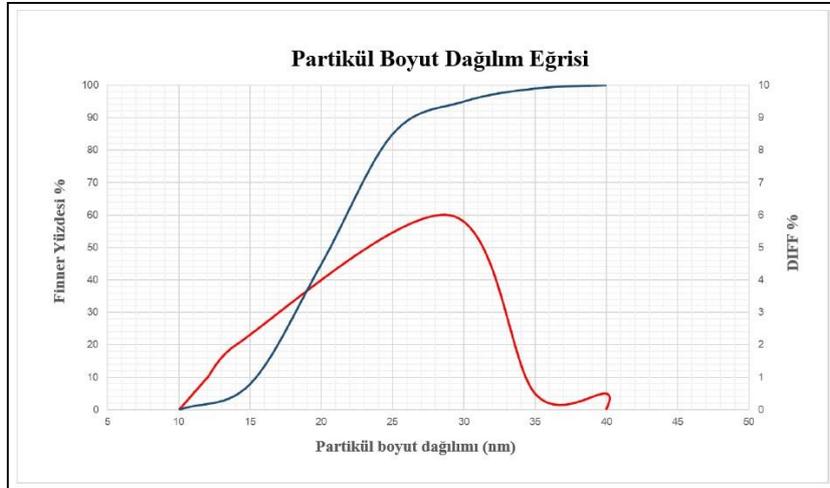
### 3.2. Nanopartikül Karakterizasyonu

Araştırma kapsamında test edilen MNP'lerin SEM analiz görüntüleri Şekil 2'de gösterilmiştir.

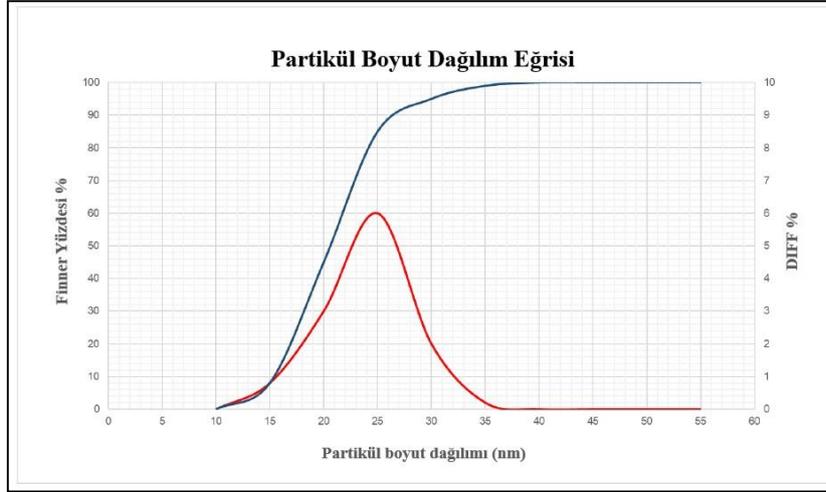


**Şekil 2.** Test edilen MNP'lerin SEM analiz sonuçları; a) NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP, b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP, c) CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP ve d) MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP

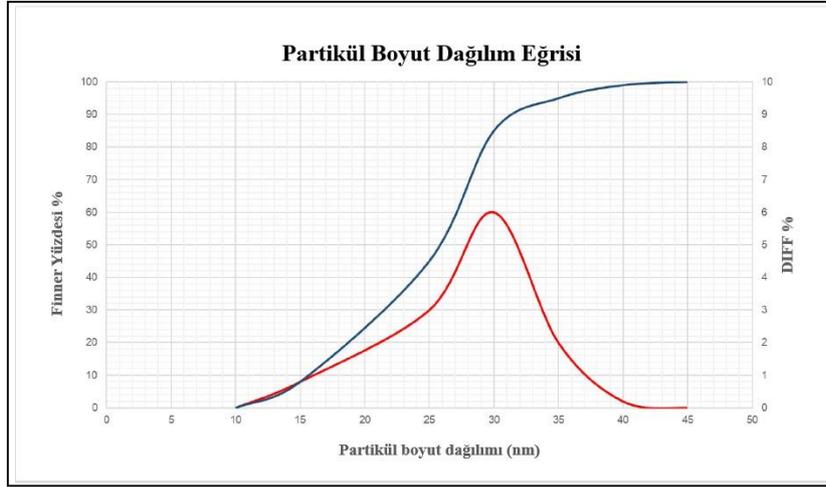
PSD analizi sonucunda elde edilen verilerin incelendiğinde araştırma kapsamında kullanılan MNP'lerin partikül boyut dağılımları Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP için 14-29 nm, NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP için 25 nm, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP için 30 nm ve MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP için 55 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 3-6).



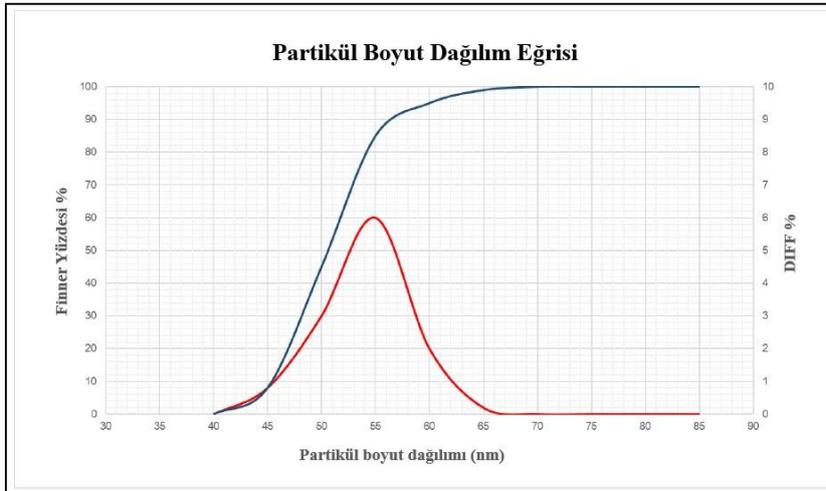
**Şekil 3.** Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP (14-29 nm) partikül boyut dağılım grafiği



Şekil 4.  $NiFe_2O_4$  NP (25 nm) partikül boyut dağılım grafiği



Şekil 5.  $CoFe_2O_4$  NP (30 nm) partikül boyut dağılım grafiği



Şekil 6.  $MnFe_2O_4$  NP (55 nm) partikül boyut dağılım grafiği

### 3.2. *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi

Araştırma kapsamında genotoksik potansiyelleri ölçülen MNP'lerin homojen bir solüsyon haline getirilmesi amacıyla kullanılan ve aynı zamanda çalışmamızda negatif kontrol grubu olarak yer alan distile su uygulamasında toplam klon sayısı 16 olarak tespit edilmiştir. Araştırmamızda pozitif kontrol grubu olarak uygulaması gerçekleştirilen EMS (1 mM) uygulamasında ise toplam klon sayısı 105 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda EMS'nin tüm parametreler bakımından (büyük tek tip klon, küçük tek tip klon, toplam klon, ikiz klon, toplam *mwh* klon sayıları) negatif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde genotoksisiteyi indüklediği görülmüştür (Çizelge 1).

**Çizelge 1.**  $Fe_3O_4$  NP,  $NiFe_2O_4$ ,  $MnFe_2O_4$  NP ve  $CoFe_2O_4$  NP'lerinin *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon test yönteminden elde edilen sonuçlar

Derişimler	Kanat				Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre)			Büyük tek tip klonlar (>2 hücre)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam <i>mwh</i> klonlar (m=2)			Toplam klonlar (m=2)			Klon İndüsyon Frekansı (10 <sup>5</sup> hücre)
	Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (>2 hücre) (m=5)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam <i>mwh</i> klonlar (m=2)			Toplam klonlar (m=2)						
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	
<b>Normal Kanat</b>																				
Distile Su	80	14	0,18		2			0			15			16						0,77
EMS (1mM)	20	72	3,60	+	26	1,30	+	6	0,3	+	92	4,6	+	105	5,25	+				4,71
<b><math>Fe_3O_4</math> NP (14-29 nm)</b>																				
1 mM	80	16	0,20	i	6	0,08	i	0	0,00	i	21	0,26	i	22	0,28	i				1,08
3 mM	80	14	0,18	-	5	0,06	i	2	0,03	i	20	0,25	i	21	0,26	i				1,02
5 mM	80	21	0,26	i	2	0,03	i	0	0,00	i	21	0,26	i	23	0,29	i				1,08
10 mM	80	17	0,21	i	3	0,04	i	2	0,03	i	21	0,26	i	21	0,26	i				1,08
<b><math>NiFe_2O_4</math> NP (25 nm)</b>																				
1 mM	80	14	0,18	-	4	0,05	i	1	0,01	i	19	0,24	i	19	0,24	i				0,97
3 mM	80	23	0,29	i	3	0,04	i	1	0,01	i	27	0,34	+	27	0,34	i				1,38
5 mM	80	17	0,21	i	2	0,03	i	1	0,01	i	20	0,25	i	20	0,25	i				1,02
10 mM	80	24	0,30	i	8	0,10	i	1	0,01	i	33	0,41	+	33	0,41	+				1,69
<b><math>CoFe_2O_4</math> NP (30 nm)</b>																				
1 mM	80	14	0,18	-	5	0,06	i	1	0,01	i	20	0,25	i	20	0,25	i				1,02
3 mM	80	20	0,25	i	8	0,10	i	2	0,03	i	30	0,38	+	30	0,38	+				1,54
5 mM	80	23	0,29	i	5	0,06	i	2	0,03	i	27	0,34	+	31	0,39	+				1,58
10 mM	80	38	0,48	+	3	0,04	i	2	0,03	i	43	0,54	+	43	0,54	+				2,20
<b><math>MnFe_2O_4</math> NP (55 nm)</b>																				
1 mM	80	14	0,18	-	0	0,00	-	1	0,01	i	15	0,19	-	15	0,19	-				0,77
3 mM	80	18	0,23	i	8	0,10	i	0	0,00	i	25	0,31	i	26	0,33	i				1,28
5 mM	80	23	0,29	i	3	0,04	i	0	0,00	i	26	0,33	i	26	0,33	i				1,33
10 mM	80	17	0,21	i	7	0,09	i	2	0,03	i	22	0,28	i	26	0,33	i				1,12

Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m= çarpım faktörü; olasılık düzeyi=0.05.

Çalışma kapsamında genotoksik potansiyelleri araştırılan MNP'lerden  $Fe_3O_4$  NP ve  $MnFe_2O_4$  NP'lerinin SMART deneyinden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri yapıldığında istatistiksel anlamlı bir pozitif sonuç gözlenmemiştir (Çizelge 1).

$CoFe_2O_4$  NP'lerinin 10 mM'lık konsantrasyonunun toplam *mwh* klon, küçük tek tip klon ve toplam klon sayısı parametrelerinden elde edilen veriler istatistiksel olarak incelendiğinde genotoksisiteyi indüklediği sonucunda ulaşılmıştır. Ayrıca  $CoFe_2O_4$  NP'lerinin 5 mM'lık konsantrasyonu toplam klon sayısı ve 3 mM'lık konsantrasyonunun ise sadece toplam *mwh* klon sayısı bakımından istatistiksel olarak pozitif sonuç verdiği gözlenmiştir (Çizelge 1).

$NiFe_2O_4$  NP'lerinin 3 mM'lık konsantrasyonunun *Drosophila* bireylerinde sadece toplam klon sayısı parametresi bakımından istatistiksel pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 10 mM konsantrasyonunda ise  $NiFe_2O_4$  NP'leri toplam klon sayısı ve toplam *mwh* klon sayısı parametrelerinde istatistiksel değerlendirmede pozitif sonuç vererek genotoksisiteyi indüklediği belirlenmiştir (Çizelge 1).

#### 4. TARTIŞMA

Yeni bir bilim dalı olarak nanoteknolojinin ortaya çıkışını takiben meydana gelen yenilikler ve gelişmeler, tıp alanında yer alan çeşitli uygulamaları destekleyerek, ilaç dağıtımı, tıbbi tanılama ve biyolojik tespit gibi birçok alanın gelişmesine olanak sağlamıştır. Özellikle demir oksit grubu yapılarında bulunduran NP'ler, fizikokimyasal kararlılıkları, canlı bünyesine uyumluluk göstermeleri sayesinde klinik uygulamalarda kullanımlarının önünü açmıştır [11]. Ancak metal grup içeren NP'lerin oldukça farklı alanlarda kullanımlarının yaygınlaşması, ilgili NP'lerin insan sağlığı açısından potansiyel toksisitesi bakımından oldukça büyük bir endişe kaynağı olmaktadır [22]. Özellikle MNP'lerin organlara dağılarak birikim göstermeleri göz önüne alındığında MNP'lerin toksikolojik değerlendirmelerinin yapılması oldukça önemlidir [25]. Bu bağlamda literatür çalışmalarının incelenmesi ve literatürde yer alan eksikliklerin giderilmesi gerekmektedir.

Ucar vd. (2023) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP maruziyetinin *Oncorhynchus mykiss* akuatik canlısı üzerinde potansiyel toksisitesini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda araştırmacılar Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> MNP maruziyetinin SOD, CAT, GSH ve GPx antioksidanlarında zamana bağlı bir aktivite düşüşünü takiben mikronükleus artışı ve hücre ölümünün uyarıldığını tespit etmişlerdir [41]. Hussain vd. (2005) gerçekleştirmiş oldukları bir *in vitro* çalışmada Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin (30 ve 47 nm) sıçan karaciğer hücre hattında (BRL 3A hücre hattı) düşük konsantrasyona (10–50 µg/ml) sahip maruziyetlerin mitokondriyal fonksiyonlara herhangi bir zarar vermediğini, ancak yüksek konsantrasyonların (100–250 µg/mL) mitokondriyal bozuklukları indükleyebileceği sonucuna ulaşmışlardır [42]. Bu durum Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin potansiyel toksisitesinin konsantrasyona bağlı olarak değişebileceğini düşündürmektedir. Farklı bir *in vitro* çalışmadan elde edilen veriler incelendiğinde Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin insan astrosit hücreleri olan D384 ve SH-SY5Y (nöroblastoma hücreleri) hücre hatlarında mitokondri fonksiyonunu etkileme potansiyelinde farklılıklar olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [43]. Bu durum ise Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin farklı hücre hatları üzerinde Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin toksisitenin değişebileceğini ortaya çıkarmaktadır. Gerçekleştirilen bir sitotoksikite çalışmasında Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin A431 (insan epidermoid karsinoma) ve A549 (insan alveoler tip II) hücre hatlarında ROS oluşumu, lipid peroksidasyonu ve glutatyon enziminin tükenmesi nedeniyle oksidatif stresi indükleyebileceği sonucuna ulaşılmıştır [44]. Szalay vd. (2012) *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* üzerinde gerçekleştirmiş oldukları bakteriyel geri mutasyon testi (AMES) sonuçlarına göre Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin (<50 nm) (petri başına 6,9 µg, 20,06 µg, 61,7 µg, 185,2 µg, 555,6 µg, 1666,7 µg ve 5000 µg) mutajenik bir etkiye sahip olmadığını göstermişlerdir [45]. *Drosophila* üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'leri ile beslenen *Drosophila* bireylerinde Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin ROS seviyesini indirgeyerek oksidatif stres sonucu meydana gelen hasarın indirgenebildiği keşfedilmiştir. Bu doğrultuda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin *Drosophila*'da katalaz enzimine benzer bir potansiyele sahip olabileceği ve bu sayede canlıya toksik etkiler göstermeyebileceği düşünülmüştür [46]. Kakavoulia vd. (2022) gerçekleştirmiş oldukları *in vitro* çalışma kapsamında Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP (50-1000 µg/mL) maruziyetinin sitotoksik potansiyele sahip olmadığını ortaya koymuşlardır [47]. Bu bağlamda çalışmamızdan elde ettiğimiz SMART verileri Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin toksik potansiyele sahip olmadığını gösteren literatür çalışmalarını destekler nitelik taşımaktadır.

Araştırma kapsamında gerçekleştirmiş olduğumuz literatür taraması kapsamında NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin genotoksisitesinin araştırıldığı çalışma sayısının oldukça kısıtlı olduğu tespit edilmiştir. NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik, oksidatif stres oluşturma ve apoptotik potansiyellerinin araştırıldığı bir çalışmada, NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin doza bağlı olarak ROS oluşumuna, glutatyon antioksidan enziminde azalmaya bağlı olarak da apoptozu indükleyerek sitotoksik potansiyele sahip olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [48]. Bu çalışmaya benzer şekilde NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin insan meme hücreleri hattı olan MCF-7 ve karaciğer hücre hattı HepG2 hatlarında uygulama konsantrasyonuna bağlı bir şekilde oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve sitotoksisitenin indüklendiği tespit edilmiştir [49]. Bu çalışmalar dikkate alındığında NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin genotoksisiteyi ROS üretimi ve lipid peroksidasyonu aracılığıyla gerçekleştirebileceği sonucuna varılabilmektedir. Yin vd. (2005) gerçekleştirdikleri sitotoksikite araştırmasında NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyet sonucu oluşan sitotoksisitenin uygulanan NP'lerin boyutlarıyla ilişkili olmadığı tespit edilmiştir [50].

Nas ve Çolak (2020) mevcut çalışmamıza benzer bir çalışma gerçekleştirerek NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin (26 nm) *Drosophila*'da SMART yöntemi ile genotoksik potansiyellerini araştırmışlardır. Araştırmacılar en yüksek çalışma konsantrasyonları olan 200 µg/mL'lik konsantrasyonda genotoksitenin indüklendiği sonucuna ulaşmışlardır [51]. Ancak NP'lerin farklı boyutlarının veya farklı uygulama konsantrasyonlarının farklı araştırma sonuçlarına neden olabileceği göz önüne alındığında çalışmamız *Drosophila*'da NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin genotoksik potansiyelinin SMART yöntemiyle araştırıldığı diğer çalışmadan farklılıklar taşımaktadır [52].

CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin potansiyel toksisitelerinin kaynağı hakkında literatürde farklı canlılar üzerinde farklı test yöntemleri uygulanmıştır. Bu çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde toksisitenin birden fazla farklı mekanizmalar aracılığıyla gerçekleşebileceğini söylemek mümkündür. Örneğin CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'leri toksisitelerini biyolojik sistem içerisine geçtikten sonra yapılarından ayrılan Co (kobalt) iyonları aracılığıyla, DNA üzerindeki oksijen ve fosfat atomları ile bağlanma göstererek veya hücre içi ROS üretimini teşvik ederek gerçekleştirebilmektedir [53]. CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin farklı boyutlarının (5,6 nm, 10 µm ve 120 µm) insan lenfositlerinde genotoksisitelerinin araştırıldığı bir çalışmanın sonuçlarına göre küçük boyutlara sahip NP'lerin genotoksik potansiyellerinin büyük boyuttaki CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'lerine kıyasla daha yüksek olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [52]. Aşık vd. (2016) MDA-MB-231 (metastatik meme kanseri hücreleri) ve MCF-10A (normal meme hücreleri) hatları üzerinde gerçekleştirmiş oldukları KOMET (alkali tek hücre jel elektroforezi) ve CBMN (sitokinez bloke mikronükleus test) yöntemlerinden elde ettikleri verilere göre CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin indüklediği genotoksitenin doza bağlı olarak artabileceğini ortaya koymuştur [54]. Abudayyak vd. (2017) NRK-52E (sıçan böbrek proksimal tübüler epitel hücreleri) hücre hattı üzerinde gerçekleştirdikleri *in vitro* çalışma kapsamında CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin meydana getirebileceği genotoksiteyi geniş bir konsantrasyon aralığında (0,1-1000 µg/mL) değerlendirmişlerdir. Gerçekleştirdikleri genotoksite çalışmasından elde edilen veriler incelendiğinde CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin sadece 100 µg/mL'lik konsantrasyondan daha düşük konsantrasyonlarda istatistiksel olarak pozitif sonuca ulaşabildiklerini belirtmişlerdir [55]. Çalışmamız literatürü destekler nitelikte olup CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP maruziyetinin *Drosophila*'da 4 uygulama konsantrasyonundan (1, 3, 5 ve 10 mM) 3, 5 ve 10 mM'luk konsantrasyonlarda istatistiksel değerlendirmede anlamlı pozitif sonuçlar gözlenmiştir.

MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'leri üzerine gerçekleştirilen literatür taraması kapsamında, literatürde toksikoloji alanında mevcut bir araştırmanın olmadığı belirlenmiştir. Ancak yapısında mangan (Mn) grubu barındıran çeşitli NP'lere ait az sayıda da olsa birkaç literatür çalışması mevcuttur. Örneğin Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin *Pseudokirchneriella subcapitata* (bir mikroalg çeşidi) üzerinde ROS oluşumu aracılığıyla sitotoksiteyi indükleyebileceği, MnO NP'lerinin *Physcomitrella patens* (bir çeşit toprak yosunu) üzerinde benzer şekilde ROS üretimi ile indüklenen bir DNA hasarına yol açabileceği, MnO<sub>2</sub> NP'lerinin ise sıçanlar üzerinde kromozomal aberasyonları ve DNA hasarını indükleyebileceği literatürde yer alan bilgilerdir [56-58]. Literatür araştırması kapsamında MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> NP'lerinin potansiyel toksisiteleri hakkında herhangi bir çalışmanın bulunmaması araştırmamız kapsamında gerçekleştirilen SMART verilerini oldukça önemli kılmaktadır. Çalışmamız kapsamında Mn yapısına eklenen demir oksit grubunun antioksidan potansiyeli ile Mn toksisitesini indirgeyebilme potansiyeli olabileceğini düşündürmektedir [59].

Sonuç olarak çeşitli kimyasal maddelerin vücut içerisinde sergilemiş oldukları davranışlar ve vücudun bu gibi durumlara karşı sergiledikleri savunma mekanizmaları dikkate alındığında çalışma kapsamında potansiyel genotoksisiteleri araştırılan MNP'lerin genetik alanında sıklıkla kullanılan bir model organizma olan *D. melanogaster* üzerinde *in vivo* test yöntemi olan SMART ile gerçekleştirilmiş olması büyük önem taşımaktadır. Ancak bir kimyasal ajanın genotoksik potansiyelinin belirlenebilmesi ve bunu hangi mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştirildiğinin tespit edilebilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç duyulması manyetik nanopartiküller üzerine farklı araştırmalar yapılması gerektiğine oldukça dikkat çekmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2021-5714.

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında, “*Drosophila melanogaster*’de DEMİR BAZLI METALİK-MANYETİK NANOPARTİKÜLLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” isimli yüksek lisans tezinden türetilmiştir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

## YAZAR KATKI ORANLARI

**Ayşen Yağmur Burgazlı:** Metadoloji, Makalenin yazımı, Araştırma. **Merve Güneş:** Metadoloji, Makalenin yazımı, Araştırma, Makalenin yazımı-İnceleme ve Düzenleme. **Burçin Yalçın:** Metadoloji, Makalenin yazımı-İnceleme ve Düzenleme. **Ghada Tagorti:** Metadoloji. **Bülent Kaya:** Metadoloji, Makalenin yazımı-İnceleme ve Düzenleme, Danışman.

## KAYNAKLAR

- [1] Singh, S.P. (2016). Nanotechnology: A Journey towards finding solutions. *Journal of Materials Science Research*, 5(1), 61-76.
- [2] Kaur, R. and Kaur, K. (2024). Scope of Nanotechnology in Food Packaging. *Advances in Sustainable Food Packaging Technology*. Apple Academic Press. 135-160.
- [3] Barik, T.K., Mandal, S.M., Mitra, S., Maity, G.C., Roymahapatra, G., and Santra, T.S. (2020). Prospect of nanotechnology: A brief review. *Journal of Indian Chemical Society*, 97(11b), 2372-2384.
- [4] Saleh, T.A. (2020). Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*, 20(2020), 1-16.
- [5] Yang, H., Zhang, C., Shi, X., Hu, H., Du, X., Fang, Y., Ma, Y., Wu, H., and Yang, S. (2010). Water-soluble superparamagnetic manganese ferrite nanoparticles for magnetic resonance imaging. *Biomaterials*, 31(13), 3667-3673.
- [6] Selim, M.M., El-Safty, S., Tounsi, A., and Shenashen, M. (2024). A review of magnetic nanoparticles used in nanomedicine. *APL Materials*, 12(1), 1-14.
- [7] Zhang, L., Gu, F.X., Chan, J.M., Wang, A.Z., Langer, R.S., and Farokhzad, O.C. (2008). Nanoparticles in medicine: Therapeutic applications and developments. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(5), 761-769.
- [8] Shahri, M.M. (2020). Harnessing Nanoscale Surface Interactions. *Magnetic Materials and Magnetic Nanocomposites for Biomedical Applications*. Elsevier Inc. All. 77-95.
- [9] Kettering, M., Zorn, H., Bremer-Streck, S., Oehring, H., Zeisberger, M., Bergemann, C., Hergt, R., Halbhuber, K.J., Kaiser, W.A., and Hilger, I. (2009). Characterization of iron oxide nanoparticles adsorbed with cisplatin for biomedical applications. *Physics in Medicine & Biology*, 54(17), 5109-5121.
- [10] Ghazanfari, M.R., Kashefi, M., Shams, S.F., and Jaafari, M.R. (2016). Perspective of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles role in biomedical applications. *Biochemistry Research International*, 2016, 1-32.
- [11] Arias, L.S., Pessan, J.P., Viera, A.P.M., Toito de Lima, T.M., Delbem, A.C.B., and Monteiro, D.R. (2018). Iron oxide nanoparticles for biomedical applications: A perspective on synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity. *Antibiotics (Basel)*, 7(2), 1-32.
- [12] Ansari, S.A.M.K., Ficiara, E., Ruffinatti, F.A., Stura, I., Argenziano, M., Abollino, O., Cavalli, R., Guiot, C., and D’Agata, F. (2019). Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, characterization and functionalization for biomedical applications in the central nervous system. *Materials (Basel)*, 12(3), 1-24.
- [13] Katz, E. (2019). Synthesis, properties and applications of magnetic nanoparticles and nanowires-A brief introduction. *Magnetochemistry*, 5(4), 1-15.
- [14] Cattaneo, A.G., Gornati, R., Sabbioni, E., Chiriva-Internati, M., Cobos, E., Jenkins, M.R., and Bernardini, G. (2010). Nanotechnology and human health: risks and benefits. *Journal of Applied Toxicology*, 30(8), 730-744.
- [15] Jiang, Z., Shan, K., Song, J., Liu, J., Rajendran, S., Pugazhendhi, A., Jacob, J.A., and Chen, B. (2019). Toxic effects of magnetic nanoparticles on normal cells and organs. *Life Sciences*, 220, 156-161.

- [16] Dandamudi, S. And Campbell, R.B. (2007). The drug loading, cytotoxicity and tumor vascular targeting characteristics of magnetite in magnetic drug targeting. *Biomaterials*, 28(31), 4673-4683.
- [17] Lübbe, A.S., Bergemann, C., Brock, J., and McLure, D.G. (1999). Physiological aspects in magnetic drug-targeting. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194(1-3), 149-155.
- [18] Shen, L., Li, B., and Qiao, Y. (2018). Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles in targeted drug/gene delivery systems. *Materials*, 11(2), 324.
- [19] Wang, Y., Lee, Y., Chou, C., Chang, Y., Liu, W., and Chu, H. (2024). Oxidative stress and potential effects of metal nanoparticles: A review of biocompatibility and toxicity concerns. *Environmental Pollution*, 346(1).
- [20] Mahmoud, A., Ezgi, Ö., Merve, A., and Özhan, G. (2016). *In Vitro* toxicological assessment of magnesium oxide nanoparticle exposure in several mammalian cell types. *International Journal of Toxicology*, 35(4), 429-437.
- [21] Bhatt, I. and Tripathi, B.N. (2011). Interaction of engineered nanoparticles with various components of the environment and possible strategies for their risk assessment. *Chemosphere*, 82(3), 308-317.
- [22] Baker, T.J., Tyler, C.R., and Galloway, T.S. (2014). Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms. *Environmental Pollution*, 186, 257-271.
- [23] Kim, T., Kim, M., Park, H., Shin, U.S., Gong, M., and Kim, H. (2012). Size-dependent cellular toxicity of silver nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 100A(4), 1033-1043.
- [24] Huang, Y., Wu, C., and Aronstam, R.S. (2010). Toxicity of Transition Metal Oxide Nanoparticles: Recent insights from *in vitro* studies. *Materials (Basel)*, 3(10), 4842-4859.
- [25] Carmona, E.R., Inostroza-Blancheteau, C., Obando, V., Rubio, L., and Marcos, R. (2015). Genotoxicity of copper oxide nanoparticles in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 791, 1-11.
- [26] Carmona, E.R., Inostroza-Blancheteau, C., Rubio, L., and Marcos, R. (2016). Genotoxic and oxidative stress potential of nanosized and bulk zinc oxide particles in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology and Industrial Health*, 32(12), 1987-2001.
- [27] Jeon, Y., Park, S., and Lee, M. (2011). Toxicoproteomic identification of TiO<sub>2</sub> nanoparticle-induced protein expression changes in mouse brain. *Animal Cells and Systems*, 15(2), 107-114.
- [28] Malhotra, N., Lee, J., Liman, R.A.D., Ruallo, J.M.S., Villaflores, O.B., Ger, T., and Hsiao, C. (2020). Potential toxicity of iron oxide magnetic nanoparticles: A Review. *Molecules*, 25(14), 1-26.
- [29] Ong, C., Yung, L.L., Cai, Y., Bay, B., and Baeg, G. (2015). *Drosophila melanogaster* as a model organism to study nanotoxicity. *Nanotoxicology*, 9(3), 396-403.
- [30] Vecchio, G., Galeone, A., Malvindi, M.A., Cingolani, R., and Pompa, P.P. (2013). Ranking the *in vivo* toxicity of nanomaterials in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Nanoparticle Research*, 15, 1-7.
- [31] Demir, E. (2020). An *in vivo* study of nanorod, nanosphere, and nanowire forms of titanium dioxide using *Drosophila melanogaster*: Toxicity, cellular uptake, oxidative stress, and DNA damage. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 83(11-12), 456-469.
- [32] Ertuğrul, H., Yalçın, B., Güneş, M., and Kaya, B. (2020). Ameliorative effects of melatonin against nano and ionic cobalt induced genotoxicity in two *in vivo* *Drosophila* assays. *Drug and Chemical Toxicology*, 43(3), 279-286.
- [33] Jacob, J.A., Salmani, J.M.M., and Chen, B. (2016). Magnetic nanoparticles: Mechanistic studies on the cancer cell interaction. *Nanotechnology Reviews*, 5(5), 481-488.
- [34] Flagg, R.O. (1988). *Carolina Drosophila Manual*. Carolina Biological Supply Company, North Carolina.
- [35] Lewis, E.B. (1960). A new standard food medium. *Drosophila Information Service*, 34, 118-119.
- [36] Kurşun, A.Y., Yalçın, B., Güneş, M., Tagorti, G., and Kaya, B. (2021). MgO nanopartiküllerinin *Drosophila melanogaster* üzerindeki davranışsal toksisitesinin değerlendirilmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 21(6), 1283-1294.
- [37] Güneş, M., Yalçın, B., Burgazlı, A.Y., Tagorti, G., Yavuz, E., Akarsu, E., Kaya, N., Marcos, R., and Kaya, B. (2023). Morphologically different hydroxyapatite nanoparticles exert differential genotoxic effects in *Drosophila*. *Science of The Total Environment*, 904, 1-15.
- [38] Yalçın, B., Güneş, M., Kurşun, A.Y., Kaya, N., Marcos, R., and Kaya, B., (2022). Genotoxic hazard assessment of cerium oxide and magnesium oxide nanoparticles in *Drosophila*. *Nanotoxicology*, 16(3), 393-407.
- [39] Graf, U., Wurgler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juon, H., Hall, C.B., and Kale, P.G. (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental mutagenesis*, 6(2), 153-188.
- [40] Marcos, R. and Carmona, E.R. (2013). The wing-spot and the comet tests as useful assays detecting genotoxicity in *Drosophila*. *Methods in Molecular Biology*, 1044, 417-427.
- [41] Ucar, A., Arslan, M.E., Yeltekin, A.C., Ozgeris, F.B., Yıldırım, O.C., Parlak, V., Alak, G., Turkez, H., and Atamanalp, M. (2023). Neutralization of iron oxide magnetic nanoparticle aquatotoxicity on *Oncorhynchus mykiss* via supplementation with ulexite. *Drug and Chemical Toxicology*, 5, 1-13.

- [42] Hussain, S.M., Hess, K.L., Gearhart, J.M., Geiss, K.T., and Schlager, J.J. (2005). *In vitro* toxicity of nanoparticles BRL 3A rat liver cells. *Toxicology In Vitro*, 19(7), 975-983.
- [43] Coccini, T., Caloni, F., Cando, L.J.R., and De Simone, U. (2017). Cytotoxicity and proliferative capacity impairment induced on human brain cell cultures after short- and long-term exposure to magnetite nanoparticles. *Journal of Applied Toxicology*, 37(3), 361-373.
- [44] Ahamed, M., Alhadlaq, H.A., Alam, J., Khan, M.A.M., Ali, D., and 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.
- [45] Szalay, B., Tatrai, E., Nyiro, G., Vezer, T., and Dura, G. (2012). Potential toxic effects of iron oxide nanoparticles in *in vivo* and *in vitro* experiments. *Journal of Applied Toxicology*, 32(6), 446-453.
- [46] Zhang, Y., Wang, Z., Li, X., Wang, L., Yin, M., Wang, L., Chen, N., Fan, C., and Song, H. (2016). Dietary Iron Oxide Nanoparticles Delay Aging and Ameliorate Neurodegeneration in *Drosophila*. *Advanced Materials*, 28(7), 1387-1393.
- [47] Kakavoulia, M., Karakota, M., Kaloyianni, M., Halevas, E., Sagnou, M., Galliou, P.A., and Koliakos, G. (2022). The cytotoxicity effect of a bis-MPA-based dendron, a bis-MPA-PEG dendrimer and a magnetite nanoparticle on stimulated and non-stimulated human blood lymphocytes. *Toxicology In Vitro*, 82.
- [48] Ahamed, M., Akhtar, M.J., Siddiqui, M.A., Ahmad, J., Musarrat, J., Al-Khedhairi, A.A., AlSalhi, M.S., and Alrokayan, S.A. (2011). Oxidative stress mediated apoptosis induced by nickel ferrite nanoparticles in cultured A549 cells. *Toxicology*, 283(2-3), 101-108.
- [49] Ahamed, M., Akhtar, M.J., Alhadlaq, H.A., Khan, M.A.M., and Alrokayan, S.A. (2015). Comparative cytotoxic response of nickel ferrite nanoparticles in human liver HepG2 and breast MCF-7 cancer cells. *Chemosphere*, 135, 278-288.
- [50] Yin, H., Too, H.P., and Chow, G.M. (2005). The effects of particle size and surface coating on the cytotoxicity of nickel ferrite. *Biomaterials*, 26(29), 5818-5826.
- [51] Nas, B. And Çolak, D.A. (2020). Genotoxic analysis of nickel-iron oxide in *Drosophila*. *Toxicology and Industrial Health*, 36(11), 835-843.
- [52] Colognato, R., Bonelli, A., Bonacchi, D., Baldi, G., and Migliore, L. (2007). Analysis of cobalt ferrite nanoparticles induced genotoxicity on human peripheral lymphocytes: comparison of size and organic grafting dependent effects. *Nanotoxicology*, 1(4), 301-308.
- [53] Marmorato, P., Ceccone, G., Gianoncelli, A., Pascolo, L., Ponti, J., Rossi, F., Salome, M., Kaulich, B., and Kiskinova, M. (2011). Cellular distribution and degradation of cobalt ferrite nanoparticles in Balb/3T3 mouse fibroblasts. *Toxicology Letters*, 207(2), 128-136.
- [54] Aşık, E., Akpınar, Y., Güray, N.T., İşcan, M., Demircigil, G.Ç., and Volkan, M. (2016). Cellular uptake, genotoxicity and cytotoxicity of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in human breast cells. *Toxicology Research*, 5(6), 1649-1662.
- [55] Abudayyak, M., Gurkaynak, T.A., and Özhan, G. (2017). *In vitro* evaluation of cobalt oxide nanoparticle-induced toxicity. *Toxicology and Industrial Health*, 33(8), 646-654
- [56] Sousa, C.A., Soares H.M.V.M., and Soares, E.V. (2019). Chronic exposure of the freshwater alga *Pseudokirchneriella subcapitata* to five oxide nanoparticles: Hazard assessment and cytotoxicity mechanisms. *Aquatic Toxicology*, 214, 1-10.
- [57] Ghosh, I., Sadhu, A., Moriyasu, Y., Bandyopadhyay, M., and Mukherjee, A. (2019). Manganese oxide nanoparticles induce genotoxicity and DNA hypomethylation in the moss *Physcomitrella patens*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 842, 146-157.
- [58] Singh, S.P., Kumari, M., Kumari, S.I., Rahman, M.F., Kamal, S.S.K., Mahboob, M., and Grover, P. (2013). Genotoxicity of nano- and micron-sized manganese oxide in rats after acute oral treatment. *Mutation Research*, 754(1-2), 39-50.
- [59] Kurşun, A.Y. (2022). *Drosophila melanogaster*'de Demir Bazlı Metalik-Manyetik Nanopartiküllerin Etkilerinin Araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Antalya. 81.