

Nanoteknolojiden nanogenotoksikolojiye: kobalt-krom nanopartiküllerinin genotoksik etkisi

From nanotechnology to nanogenotoxicology: genotoxic effect of cobalt-chromium nanoparticles

Züla ATLI-ŞEKEROĞLU¹

ÖZET

Nanoteknoloji materyalleri nanometre seviyesinde ölçülebilecek düzeyde işleyen, pek çok araştırma alanını ya da disiplini birleştiren multidisipliner bir teknolojidir. Nanomateryaller; bilim, teknoloji, iletişim, elektronik, endüstri, eczacılık, tıp, çevre, tüketici ürünleri ve askeri alanlarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. Son zamanlara kadar nanomateryallerin insan sağlığı ve çevre üzerinde toksik ya da tehlikeli etkilere sahip olup olmadıkları hakkında çok az şey bilinmekteydi. Ancak çeşitli çalışmalar bazı nanomateryallere örneğin nanopartiküllere maruz kalmanın insanlarda ve hayvanlarda bazı olumsuz etkilere yol açabileceğini göstermiştir. Son yıllarda nanotoksikoloji konusuna yapılan yayınların sayısındaki nanomateryallerin genotoksitesisi hakkında hala bir boşluk bulunmaktadır. Üstün mekanik özelliklere sahip metal nanopartiküller ve alaşımları, iskelet-kas sisteminin mekanik koşullarına kolaylıkla uyum gösterebilen malzemelerdir. Kobalt-krom alaşımları eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak ortopedik uygulamalarda, çene cerrahisinde dolgularda ve diş implantlarında, kalp damar cerrahisinde özellikle stent uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Metal nanopartiküllerin insan üzerindeki sitotoksikite ve genotoksitesisi ile ilgili çalışmalar, bazı metal nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkilere sahip olduğu ve insanlar için tehlikeli olabileceklerini göstermiştir. Fakat kobalt-

ABSTRACT

Nanotechnology is a multi-disciplinary technology that processes the materials that can be measured at nanometer-level and combines many research fields and disciplines. Nanomaterials (NMs) are widely used in the fields of science, technology, communication, electronics, industry, pharmacy, medicine, environment, consumer products and the military. Until recently little has been known about whether or not nanomaterials have a toxic or hazardous effects on human health and the environment. However, several studies have indicated that exposure to some nanomaterials, e.g. nanoparticles, can cause some adverse effects in humans and animals. Over the last years the number of publications focusing on nanotoxicology has gained momentum, but, there is still a gap about the genotoxicity of nanomaterials. Metal nanoparticles and their alloys with excellent mechanical properties are the materials which can be easily adapted to the mechanical conditions of the musculoskeletal system. Cobalt-chromium alloys are widely used in orthopedic applications as joint prosthesis and bone regeneration material, fillings and dental implants in jaw surgery, and in cardiovascular surgery, especially stent applications. Studies about cytotoxicity and genotoxicity of metal nanoparticles on human indicate that some metal nanoparticles have cytotoxic and genotoxic effects and

¹ Ordu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ORDU

İletişim / Corresponding Author : Züla ATLI-ŞEKEROĞLU

Ordu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ORDU

Tel : +90 452 234 50 10/1667

E-posta / E-mail : zulalas@odu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 13.11.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 03.05.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.70298

Atlı-Şekeroğlu Z. Nanoteknolojiden nanogenotoksikolojiye: kobalt-krom nanopartiküllerinin genotoksik etkisi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(1): 33-42.

krom nanopartiküllerin genotoksik etkileri hakkında az sayıda çalışma rapor edilmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen bilgiler, kobalt-krom nanopartiküllerinin sitotoksik ve genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Protezleri kobalt-kromdan yapılmış bulunan hastalarda, protezlerin aşınması sonucu oluşan kalıntıların DNA ve kromozom hasarına neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kalça protezi uygulamasından sonra bu tip hastaların; mesane, üreter, böbrek ve prostat gibi üriner sistem kanserleri bakımından normal popülasyona göre yüksek risk taşıdıkları da bulunmuştur. Nanopartiküllerin uzun dönem etkileri hakkındaki biyoyumluluk ve toksisite testlerinin sınırlı olmasından ve nanogenotoksisiteye odaklanan az sayıda araştırma bulunmasından dolayı, nanopartiküllerin hücrelerdeki özellikle genetik materyal üzerindeki etki mekanizmaları henüz detaylı olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu nedenle nanopartiküllerin epigenetik etkileri ve nanopartikül tarafından indüklenen genotoksik olayların mekanizmasını anlamak için, hücre döngüsü ve DNA onarımını kapsayan iyi tasarlanmış çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu sayede gelecekte nanomateryallerin biyoyumluluklarının sağlanması, sağlık için zararlı etkilerinin en aza indirilmesi ve bilinçli tasarımların yapılmasını sağlayacak bilgiye sahip olabiliriz.

Anahtar Sözcükler: Nanomateryaller, metal nanopartiküller, krom-kobalt alaşımı, genotoksisite

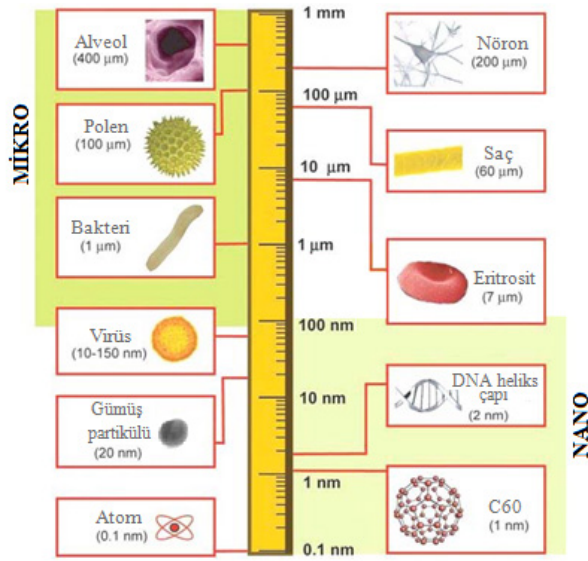
they may be hazardous for humans. However, a few studies have been reported concerning the genotoxic effects of cobalt-chromium nanoparticles. The data from these studies indicate that cobalt-chromium nanoparticles have cytotoxic and genotoxic effects. It has been stated that the wear debris from implants cause DNA and chromosome damage in patients with cobalt-chromium replacements. It was also found that the risk of urinary cancers such as bladder, ureter, kidney and prostate in patients after hip replacement was higher than among the wider population. Because there are few biocompatibility and toxicity tests on the long-term effects of nanoparticles and limited amount of research focused on nanogenotoxicity, the effect mechanisms of nanoparticles on cells, especially genetic material, are not yet elucidated in detail. For this reason the well designed experiments including cell-cycle and DNA repair are required to understand the epigenetic effects of nanoparticles and mechanisms of nanoparticle-induced genotoxic events. Thus we may have information that will allow making informed designs, ensuring biocompatibility of nanomaterials and minimising their adverse effects for health in the future.

Key Words: Nanomaterials, metal nanoparticles, cobalt-chromium alloy, genotoxicity

GİRİŞ

Günümüzde bilimlerdeki hızlı gelişmelerin en heyecan verici ve ilgi uyandıran kısmı olan nanoteknoloji, yapı taşları olarak atom veya moleküllerin kullanımıyla insan yapımı 1-100 nm boyutundaki yapıların işlevsel olarak tasarlanarak imal edilmesi olarak tanımlanmaktadır (1-4). Bahsedilen boyut gerçekte maddenin temel yapı taşları ve moleküllerin sahip olduğu büyüklüğü temsil etmektedir (Şekil 1). Biyolojik bilgiyi taşıyan ve çeşitli görevleri olan protein, DNA gibi biyolojik yapılar da fiziksel boyut açısından nanoteknolojinin içinde yer almaktadır (5). Nanoteknoloji vizyonunun ortaya çıkışı, 1959 yılında fizikçi Richard Feynman'ın malzeme ve

cihazların moleküler boyutlarda üretilmesi üzerine yapmış olduğu 'küçük boyutlarda yapılabilecek çok şey var' ifadesinin geçtiği ünlü konuşmasına kadar dayandırılabilir. 1981 yılında atomların doğrudan görüntülerini veren taramalı tünelleme mikroskobunun ve 1986 yılında atomik kuvvet mikroskobunun keşfi ile biyolojik materyallerin de nano ölçüde yüzey özelliklerinin incelenmesi mümkün olmuş ve bu gelişmeler bilim adamlarının nanometre boyutlarında bilime yönelmelerini ve bu bilimin ivme kazanmasını teşvik etmiştir. 20. yüzyılın son çeyreğinde ise doğada bulunmayan yeni nano yapıların atomsal düzeyde tasarlanarak sentezlenmesi devri başlamıştır (3, 6, 7).



Şekil 1. Nanopartiküller ile bazı biyolojik yapıların karşılaştırıldığı uzunluk ölçeği

Günümüzde nanoteknoloji, birçok gelişmiş ülke tarafından en önemli, öncelikli ve kritik uğraş alanı olarak kabul edildiği için büyük yatırımlar yapıldığı, araştırma merkezlerinin kurulduğu ve en çok desteklenen projeler arasında yerini almıştır. Bu yeni teknoloji ile maddenin daha önce bilinmeyen ve tahmin edilemeyen özellikleri keşfedilmiş ve elde edilen bulgular çok geniş alanlarda kullanılarak yeni cihaz ve sistemler geliştirilmiştir (2, 8). 1999 yılında ABD’de nanoteknoloji alanında yürütülen araştırma, geliştirme ve ticarileştirme faaliyetlerinin hızını artırma amacını taşıyan ilk resmi hükümet programından sonra, 2001 yılında Avrupa Birliği Çerçeve Programına nanoteknoloji çalışmaları öncelikli alan olarak dahil edilmiştir. 2000 yılında Amerikan Ulusal Nanoteknoloji Grubu kurulmuş ve nanoteknolojiye verilen maddi destek artırılmıştır. Ülkemizde de bu yeni teknoloji ile paralel olarak bazı üniversitelerde nanoteknoloji anabilim dalları ve araştırma merkezleri kurulmaya başlamıştır. Ayrıca nanoteknoloji, TÜBİTAK tarafından hazırlanan Vizyon 2023 Programı’nda öncelikli alanlardan biri olarak belirtilmiştir (9). Akademik çevreler de nanoteknolojiyi geleceğin bilimi yapma konusunda

hızla ileriye götürmektedir. Nanoteknolojiyi içeren çalışmaların yayımlandığı dergilerin yayın hayatına başlamasıyla bu alanda yayınlanan makalelerin sayısı da her geçen gün artmaktadır.

Metaller, yarı iletkenler, seramik, organik moleküler topluluklar, polimerik ya da kompozit gibi malzemelerden oluşabilen nanomateryallerin; bilişim ve iletişim, elektronik, biyoteknoloji, ilaç, biyomedikal, tıp, savunma ve güvenlik, kozmetik, tekstil, gıda, enerji, çevre, makine ve inşaat endüstrileri gibi çok geniş alanlarda kullanımı her geçen yıl artmış ve artık insan hayatının vazgeçilmez haline gelmiştir (2, 4, 10-15).

NANOTIP

Tıp biliminde nanoteknolojinin kullanım alanı “nanotıp” olarak isimlendirilmektedir ve tanı, tedavi, hastalık ve travmatik yaralanmaların önlenmesi, ağrının giderilmesi ve insan sağlığının korunup geliştirilmesi amaçlı vücudun moleküler bilgileri ile moleküler araçların kullanılmasını içermektedir (3, 4, 16, 17). Nanopartiküller 100 nm’den küçük ve boyutlarına özgül özellikleri nedeniyle biyolojik sistemlere kolayca entegre olabildikleri için biyomedikal ve tıp alanlarında; akıllı ilaç taşıyıcıları, görüntüleme, biyosensörler, nanomakineler (biyrobotlar), nükleik asit analizleri, biyoinformatik ve genomik uygulamalar için DNA çiplerinin nanofabrikasyonu, kök hücre bazlı organ mühendisliği uygulamaları, implant materyalleri, yapay doku ve nanocerrahi gibi pek çok alanda kullanılmaktadırlar (3, 4, 7, 18, 19).

NANOTEKNOLOJİNİN GÖRÜNMEYEN TEHLİKESİ

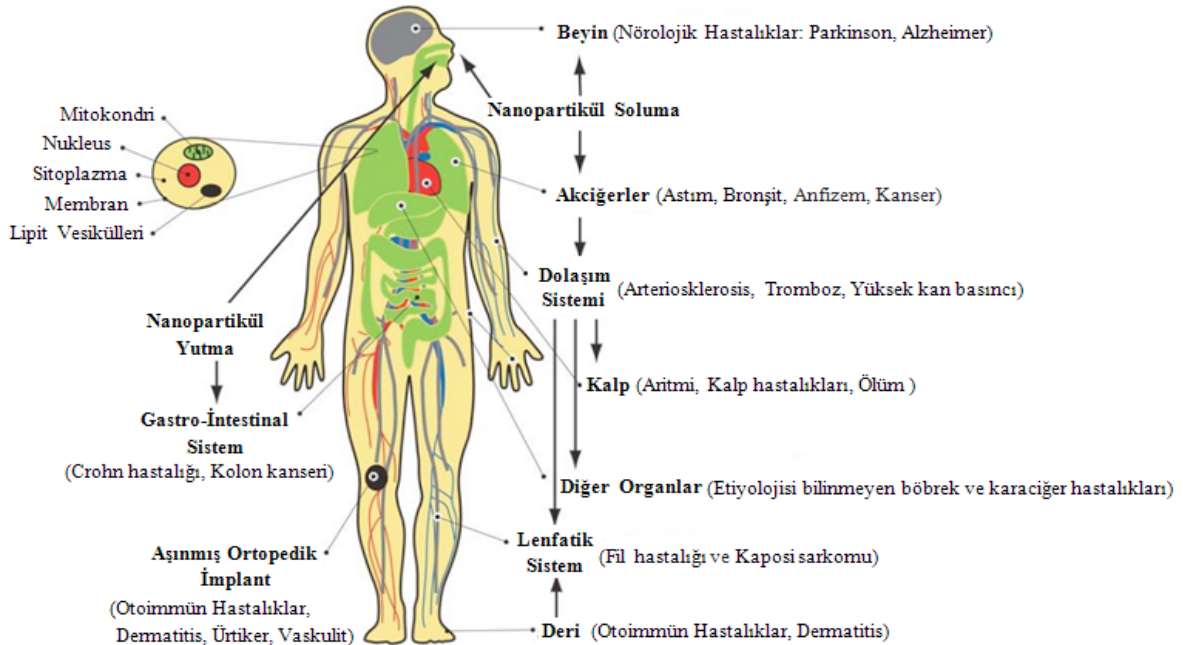
2002 yılında Amerika’da Ulusal Bilim Vakfı tarafından desteklenen ve nanoteknolojiye yaklaşım ve beklentileri içeren bir çalışma, nanoteknolojinin getireceği yeni imkanların ve uygulamaların insanları heyecandırıyor olmasının yanında çok az kimsenin bu yeni bilimin tehlikeleri konusunda endişeler taşıdığına dikkat çekmiştir (7, 20, 21). Nano ürünlerin birçok alanda kullanımının yanında, insan sağlığı ya

da çevreye olabilecek zararlı etkileri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Her ne kadar nanoteknolojik ürünler pazarda yerini alsada toksikyan etkileri hakkındaki bilgi ve literatür oldukça sınırlıdır (2, 3, 11, 12, 14, 21-24). İnsanlarda bu parçacıkların solunum, beslenme ve deri yoluyla vücuda alındığı ve kolaylıkla kana karışabildiği bilinmektedir. Değişik yollarla alınan ve kana karışan nanopartiküllerin, vücutta pekçok organı etkileyerek bazı hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabileceği için insan sağlığı bakımından zararlı olduğu vurgulanmıştır (Şekil 2) (24-27). Bu sonuç nanomateryallerin canlılar üzerinde olumsuz etkilerinin olup olmayacağını ortaya çıkarmak için yapılacak araştırmaların, en az nanoteknoloji uygulamalarının sağlık problemlerini gidermek amacıyla kullanımlarını hedefleyen çalışmalar kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle nanoteknolojinin potansiyel uygulama alanları keşfedilirken, nanopartiküllerin canlılar ve çevre üzerinde ortaya çıkarabileceği riskler ve belirsizlikler göz ardı edilmemelidir. Son zamanlarda bu konunun önemi giderek artmış ve ayrıntılı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (11,

12, 24, 27). Amerika Ulusal Nano Girişim Programı; nanoteknolojinin çevresel, sosyal ve insan sağlığına etkileri konusundaki bilgilerin artmasının çok önemli olduğunu belirtmiştir (28). Avrupa Komisyonu, Avrupa'nın strateji taslağında nanomateryallerin insan sağlığı için potansiyel riskleri ve bu alanda ihtiyaç duyulan araştırmalar ile ilgili önlemleri vurgulamıştır. Çevre Koruma Örgütü (Environment Protection Agency - EPA) ve çok sayıda laboratuvar nanoteknolojinin potansiyel fayda ve risklerini ortaya koymaya yönelik araştırmalar yapmaktadır. Bazı bilim adamları ise güvenlik açısından önlemler alınmasını ve ürünlerin içinde nanopartikül bulunduğuna dair uyarı konulması gerektiğini düşünmektedir (5).

NANOGENOTOKSİKOLOJİ

Dünya genelinden nanotoksikoloji alanında yeterince uzman bulunmamakta ve bilgi eksikliği nedeniyle bu konuda büyük belirsizlikler bulunmaktadır. Bazı otoriteler tarafından sunulan raporlarda bu boşluğa dikkat çekilmiş ve nanomalzemelerin insan sağlığı ve çevre için risklerinin belirlenerek kontrollü olarak kullanılmasına yönelik araştırmaların gerekliliği



Şekil 2. İnsan vücudunun nanopartiküllere maruz kalma yolları, etkilenen organlar ve ortaya çıkabilecek hastalıklar

vurgulanmıştır. Bu gereklilikten dolayı da çevresel toksikoloji alanına gelecekte daha fazla yatırım yapılacağı ileri sürülmektedir.

Özellikle biyomedikal ve tıp alanlarında oldukça hızlı bir gelişme gösteren nanoteknoloji, bilim dünyasına sunduğu imkanların yanında bazı riskleri de beraberinde getirmektedir. Nanopartiküllerin insan ve çevredeki akıbetinin ne olduğu kesin olarak bilinmemektedir ve bu konu ile ilgili endişeler her geçen gün artmaktadır (3, 7, 12, 13, 15, 24, 29). Ayrıca; nanopartiküllerin canlılardaki uygulamalarının uzun dönem etkileri hakkındaki biyoyumculuk ve toksisite testlerinin sınırlı olmasından, yakın zamana kadar nanoteknolojiyle ilgili risklere odaklanan çok az araştırma yapılmasından ve halen nanogenotoksosite ile ilgili çalışmaların literatürde sınırlı sayıda yer almasından dolayı, nanopartiküllerin hücrelerdeki özellikle genetik materyal üzerindeki etki mekanizmaları henüz detaylı olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

Son yıllarda biyolojik etkileri tam olarak bilinmeyen maddelerin sayılarının ve kullanımlarının hızla artması, pek çok maddenin kanserojenik ya da mutajenik potansiyelleri yönünden test edilmeleri gerektiğini ortaya çıkarmış ve beraberinde genetik toksikolojinin önemi her geçen gün artmıştır. Hücreler için genotoksik potansiyele sahip ajanların aynı zamanda kanserojenik potansiyele de sahip olabileceği düşünülürse, özellikle insan sağlığı bakımından konunun önemi daha da dikkat çekmektedir. Nanopartiküllerin hücreleri ve genetik materyali nasıl etkilediğini öğrenmeye yönelik çalışmalar nanotoksikolojinin yeni ve kapsamlı bir alanıdır. Her geçen gün insanların nanopartiküllere maruziyetleri giderek arttığı için, bu partiküllerin olası sitotoksik ve genotoksik etkilerinin ortaya çıkarılmasını sağlayan nanogenotoksikolojik çalışmaların yapılması, başta kanser olmak üzere bazı hastalıkların, pek çok üreme ve gelişim anormalliklerinin kontrol altına alınmasına önderlik edebilir. Bu nedenle son zamanlarda yurt dışındaki bazı üniversitelerde bu alanla ilgili araştırmalar yapan fakülteler, bölümler veya anabilim

dalları kurulmaya başlanmıştır.

Bazı nanopartiküllerin beklenen dağılım kompartımanlarının dışına çıkmaları, proteinlerin yapılarını modifiye ederek inflamatuvar ve toksik etki ortaya çıkarmaları ve vücutta birikim ihtimalleri olduğundan canlılar için birtakım riskler taşıdığı vurgulanmıştır (4, 11, 12, 27, 29, 30). Bu nedenle nanopartiküllerin insan üzerindeki etkilerinin incelenmesi için sağlık otoriteleri yeni çerçeveler kurulları belirlemeye çalışmaktadır. Bu doğrultuda, klasik farmasötik kimya ve biyoteknolojinin kullandığı ve ruhsatlandırma için gerekli olan testlere ek olarak farklı testlerin de yapılması ve standart hale getirilmesinin bir ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (7, 11, 12, 23, 24, 30, 31). Bu açıdan bakıldığında nanopartiküllerin genetik toksikoloji testleri ile olası etkilerinin kontrol edilmesi kanser vakalarındaki artış göz önünde bulundurulursa son derece önem taşımaktadır. Çünkü genetik toksisite testlerinden alınan pozitif sonuçlar genotoksik olan birçok maddenin aynı zamanda kanserojenik de olduğunu göstermektedir (11, 32, 33). Bu nedenle nanomateryallerin vücutta kullanılmadan önce genotoksisite testleri ile DNA üzerindeki olası etkilerinin değerlendirilmesi, bunu takiben klinik denemelerle biyogüvenilirliğinin tespit edilmesi sağlık açısından son derece önemlidir.

METAL NANOPARTİKÜLLER VE GENOTOKSİK ETKİLERİ

Metal nanopartiküller kolaylıkla sentezlenebilmeleri ve kimyasal açıdan kolaylıkla modifiye edilebilmeleri nedeniyle tüketim ürünlerinde, endüstriyel ürünlerde, makine sanayinde, askeri uygulamalarda ve özellikle tıpta geniş ölçüde kullanılmaktadır. Kristal yapıları ve çok güçlü metalik bağlar nedeniyle üstün mekanik özellikler taşıyan metal nanopartiküller ve alaşımları, iskelet-kas sistemimizin mekanik koşullarına en iyi uyum gösteren malzemelerin başında gelirler (34). Bu biyomalzemelerden çelik, 1900'li yılların başında önemli ölçüde kullanılırken, çelikteki oksidasyondan dolayı daha sonraları paslanmaz çelik, kobalt, krom

ve kobalt-krom alaşımları kullanılmaya başlanmıştır. Aslında biyomalzemeler bazı testlerden geçtikten sonra kullanım alanına girmektedirler. Fakat bu testlere rağmen biyomalzemelerin vücutta alerjik, immün, inflamatuvar, mutajenik ve karsinojenik etkileri ortaya çıkabilmektedir (4, 24, 29, 35, 36). Bu nedenle, nanopartiküllerin dokulara karşı alerjik reaksiyon özellikleri, biyolojik uyumluluğu ve genetik açıdan toksisitesi mutlaka tespit edilmelidir.

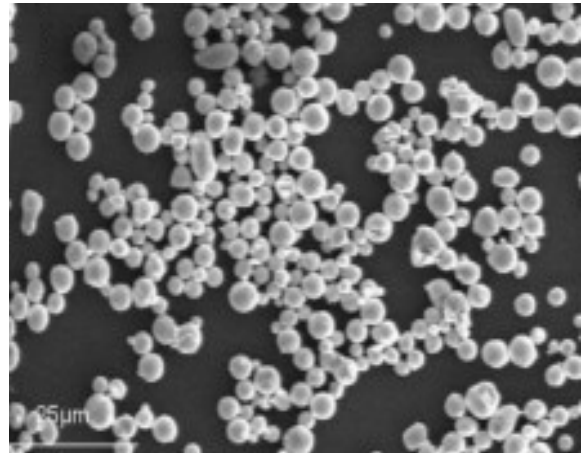
Son yıllarda metal nanopartiküllerin insan üzerindeki sitotoksosite ve genotoksitesini araştırmak amacıyla yapılan çalışma sayısının giderek arttığı gözlenmektedir. Metalleri de kapsayan çeşitli nanopartiküllerin insanlar için sitotoksik ve genotoksik potansiyele sahip olduğu bazı çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmaların çoğunda nanopartikül konsantrasyonunun artışına paralel bir DNA hasar artışı saptanmıştır (34, 37, 38). Küçük boyutlarından dolayı doğrudan hücreye ve çekirdeğe girebilen metal nanopartiküllerin; hücrede serbest radikal oluşumuna yol açarak ve DNA'ya bağlanarak genetik hasara neden olabileceği vurgulanmıştır (4, 24, 31, 34). İçerisinde metal nanopartiküllerin de bulunduğu 21 genotoksosite çalışmasından 16 tanesinde pozitif sonuçlar elde edilmiştir (38). Çeşitli memeli hücre kültürleri üzerinde bazı nanopartiküllerini genotoksitesinin mikronükleus (MN) testi ile gösterildiği çalışma sonucunda; alimünyum oksit, kobalt, kobalt-krom, demir oksit, gümüş ve titanyum dioksitin DNA hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. Çeşitli sitotoksosite ve genotoksosite testleri ile farklı hücre kültürlerinde etkileri incelenen gümüş, altın, krom, kobalt, bakır oksit, çinko oksit, alimünyum oksit ve titanyum dioksit nanopartiküllerinin de sitotoksik ve genotoksik potansiyellerinin bulunduğu belirtilmiştir (34, 39).

Genellikle metal nanopartiküllerin genotoksitesini ile ilgili özellikle memelilerde in vivo genotoksosite çalışmaları oldukça sınırlıdır. Nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri ile toksik etkileri arasında bağlantı kurabilmek için o partikülün canlı sistemlerde ve hücrelerdeki tutulumunun ve birikiminin çok iyi

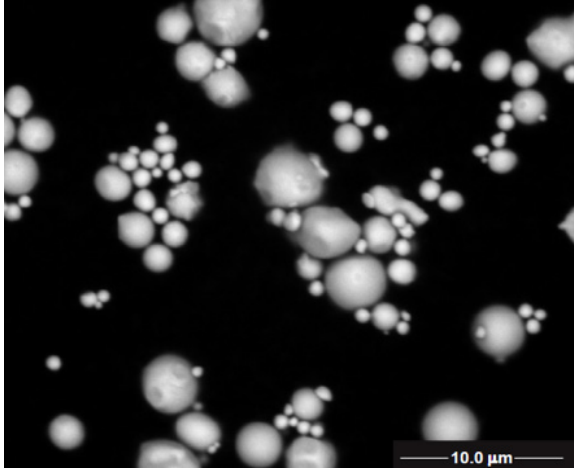
bilinmesi gerekir (34). Bu nedenle farklı tür canlılar üzerinde farklı doz ve maruziyet sürelerini kapsayan in vivo çalışmaların yapılması da oldukça önemlidir.

KOBALT-KROM NANOPARTİKÜLLERİNİN GENOTOKSİSİTESİ

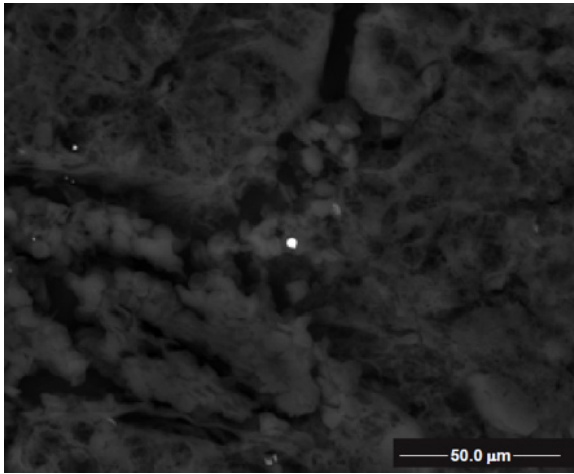
Kobalt-krom alaşımları ortopedik uygulamalarda eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak çene cerrahisinde dolgularda ve diş implantlarında, kalp damar cerrahisinde özellikle stent uygulamalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Buna rağmen kobalt-krom alaşımı nanopartiküllerin sitotoksitesini ve genotoksitesini üzerinde yapılmış sınırlı sayıda bilimsel araştırma bulunmaktadır. Bu nedenle bu alaşımla ilgili genotoksosite araştırmalarına daha geniş bir yer verilecektir. Kromun özellikle suda çözünmeyen formunun karsinojenik potansiyele sahip olduğu ve insanda özellikle akciğer kanserini tetikleyebileceği bilinmektedir (11). Kobalt-krom alaşımı nanopartiküllerin (Şekil 3) vücutta uygulandığı bölgeden vücudun diğer kısımlarına hareketi ve dağılımı ile ilgili olarak yapılan bazı çalışmalarda, kobalt-krom alaşımı implantların uygulandığı hastalarda ve bazı deney hayvanlarında bir süre sonra bu nanopartiküllere, yakın lenf nodları, dalak, karaciğer, kemik iliği, kan, üre ve saçlarda da rastlanmıştır (Şekil 4 ve Şekil 5) (11, 37).



Şekil 3. Kobalt-krom alaşımı nanopartiküller



Şekil 4. İnsana ait bir implant yenileme cerrahisinde implanta bitişik dokuda görülen krom-kobalt partiküllerinin (0.3-5 µm) SEM görüntüsü



Şekil 5. Femur kemik iliği implantasyonu sonucu tavşan karaciğerinde görülen bir mikropartikül (ortada) ve nanopartiküllerin (sol üst köşeye yakın) SEM görüntüsü

Aşınmış kobalt-krom alaşımı kalça protezleri yenilenen hastalarda, implanta yakın fibroblast hücrelerinde DNA çift zincir kırıkları, kemik iliği hücrelerinde artmış kromozom anormalliği ve periferik kan lenfositlerinde artmış kromozom hasarları gözlenmiştir (11, 40). Kromun insan bronşial hücre kültürlerinde DNA hasarına yol açtığı tek hücre jel elektroforezi (comet) testi ile belirlenmiştir (41). Kobalt ile muamele

edilen fare fibroblast hücreleri ve insan lenfosit hücreleri ile ortopedik implant olarak kullanılan kobalt-krom alaşımı nanopartiküller ile muamele edilen insan dermal fibroblast hücrelerinde serbest radikal oluşumu, DNA hasarı ve anöploidi oluşumunda artma gözlemlendiği için bu nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır (42-44). Papagerogiou ve ark. (42); kobalt-krom alaşımı nanopartiküller (29,5 nm) ile muamele edilen insan dermal fibroblast hücrelerinde DNA çift zincir kırıklarının, 8 hidroksi guanozin (8-Oh-dG) ürünlerinin ve kullanılan nanopartikül dozuna paralel olarak MN frekansının arttığını belirtmişlerdir. Krom-kobalt nanopartikülleri ile muamele edilen insan fibroblast hücrelerinde de bu nanopartiküllerin sitotoksik etkiye sahip olduğu ve bu hücrelerde kromozom hasarı meydana getirdiği rapor edilmiştir (45, 46). Parry ve ark. (45); comet ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) teknikleri ile 29,5 nm ve 2,9 µm çapındaki kobalt-krom nanopartiküllerinin insan deri fibroblast hücrelerinde DNA zincir kırıklarını, kromozom anormalliklerini ve tetraploidiyi artırdığını belirlemişlerdir. Tsousi ark. (46); MN ve FISH tekniklerini kullanarak 560 nm'den daha büyük kobalt-krom nanopartiküllerinin insan fibroblast hücrelerinde DNA zincir kırıkları, anöploidi ve erken kardeş kromatit ayrılması olaylarını artırdığını, kromozom kaybı ve kazancına yol açtığını vurgulamışlardır.

Kobalt ve kromdan yapılmış kalça protezleri bulunan hastalarda, bu metallerin giderek artan miktarlarda vücutta uzun süre kaldığı ve gastrointestinal, üriner, lenf, deri ve kan dokuya ait çeşitli kanserlere yol açtığı belirtilmiştir (47, 48). Ayrıca bu tip hastaların mesane, üreter, böbrek ve prostat gibi üriner sistem kanserleri bakımından normal popülasyona göre yüksek risk taşıdıkları da ifade edilmiştir. Bu metaller üre yoluyla vücuttan uzaklaştırıldığı ve bu tip hastalarda üriner sistemde yüksek oranda kobalt-krom partikül ve nanopartikülleri bulunduğu için bu olası mekanizma nedeniyle bu tip hastalarda özellikle üriner sisteme spesifik kanserlerin görülme sıklığının yüksek olduğu açıklanmıştır (47, 49, 50).

Araştırmalardan elde edilen sonuçlar; kobalt-krom nanopartiküllerinin DNA kırıklarına, yapısal ve sayısal kromozom anormalliklerine neden olduğunu ve DNA hasarına yol açtığını göstermektedir. Nanopartiküllerin ya doğrudan DNA'ya bağlanarak ya da DNA'ya bağlı proteinlerle etkileşime geçerek replikasyon, transkripsiyon ve translasyon olaylarını önleyebilecekleri, diğer hücrel proteinlere bağlanarak hücre bölünmesi sürecini etkileyebilecekleri, oksidatif strese, anormal sinyal oluşumuna ve anormal tepkiye neden olabilecekleri ve sonuçta hücrel hasara yol açabilecekleri düşünülmektedir (11). Bu nedenle, nanopartiküllerin neden olduğu DNA hasarı ve genetik kararsızlığa ait mekanizmanın tam olarak anlaşılabilmesi için hücre döngüsü ve kontrol noktalarındaki değişimler ve DNA tamiri konularını kapsayan detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Çünkü DNA tamir hataları, genomik kararsızlıkla karakterize bazı sendromlara ve kansere yol açmaktadır.

SONUÇ

Nanoteknolojideki başdöndürücü ve hızlı gelişmeler göz önüne alındığında, nanoteknolojinin insan sağlığı için bir nanotehlike olmasını önlemek amacıyla ülkemizde de nanogenotoksikoloji alanında bilimsel araştırmaların yapılması zorunlu hale gelmiştir. Nanopartiküllerin neden olduğu genetik hasarın karsinogeneze yol açabileceği düşünülürse, nanopartiküllerinin olası epigenetik etkilerini ve etki mekanizmalarını anlayabilmek için, hücre döngüsü ve DNA tamiri konularını da kapsayan detaylı *in vivo* ve *in vitro* sitotoksikite ve genotoksikite araştırmalarının yapılması insan sağlığı bakımından önem arz etmektedir. Araştırmalar sonucunda elde edilen veriler ile bu nanopartiküllerin güvenilirliği test edilecek, tedavide bu nanopartiküllerin kullanıldığı bireylerin karsinogenite açısından ne ölçüde risk taşıdığı değerlendirilebilecek ve nanopartiküllerin kullanımına dair uygulamalara yön verilebilecektir.

TEŞEKKÜR

Araştırmacı olarak bulunduğum 'Kobalt-Krom Nanopartiküllerin İnsandaki Genotoksisitesi' adlı proje kapsamındaki yurt dışı desteği nedeniyle TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Thrall JH. Nanotechnology and medicine. *Radiology*, 2004; 230: 315-8.
2. Kuzma J, Priest S. Nanotechnology, risk, and oversight: learning lessons from related emerging technologies. 2010; *Risk Anal*, 30 (11): 1688-98.
3. Gupta J. Nanotechnology applications in medicine and dentistry. *J Investig Clin Dent*, 2011; 2: 81-8.
4. Syed S, Zubair A, Frieri M. Immune response to nanomaterials: implications for medicine and literature review. *Curr Allergy Asthm Rep*, 2013; 13 (1): 50-7.
5. Gök H. Fiziksel tıp ve rehabilitasyon uzmanlarının nanoteknolojiden beklentileri. *Türk Fiz Tıp Rehabilitasyon Derg*, 2007; 53 (2): 13-7.
6. Drexler KE. Nanotechnology: from Feynman to Funding. *Bull Sci Technol Soc*, 2004; 24 (1): 21-7.
7. Kocaefe Ç. NANOTIP: Yaşam bilimlerinde nanoteknoloji uygulamaları. *Hacettepe Tıp Derg*, 2007; 38: 33-8.
8. Fu L, Cao L, Liu Y, Daoban Z. Molecular and nanoscale materials and devices in electronics. *Adv Colloid Interface Sci*, 2004; 111: 133-57.
9. http://www.tubitak.gov.tr/tubitak_content_files/vizyon, 2023 (14.02.2012).
10. Koch CC. Nanostructured materials processing, properties, and applications. 2nd ed. New York: William Andrew, 2000.

11. Singh N, Manshian B, Jenkins GJS, Griffiths SM, Williams PM, Maffei TGG, et al. Nanogenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*, 2009; 30 (23-24): 3891-914.
12. Doak SH, Griffiths SM, Manshian B, Singh N, Williams PM, Brown AP, et al. Confounding experimental considerations in nanogenotoxicology. *Mutagenesis*, 2009; 24 (4): 285-93.
13. Conti J, Satterfield T, Harthorn BH. Vulnerability and social justice as factors in emergent US. nanotechnology risk perceptions. *Risk Anal*, 2011; 31 (11): 1734-48.
14. Khare P, Sonane M, Pandey R, Ali S, Gupta KC, Satish A. Adverse effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil nematode, *Caenorhabditis elegans*. *J Biomed Nanotechnol*, 2011; 7 (1): 116-7.
15. Al-Subiai SN, Arlt VM, Frickers PE, Readman JW, Stolpe B, Lead JR, et al. Merging nanogenotoxicology with eco-genotoxicology: an integrated approach to determine interactive genotoxic and sub-lethal toxic effects of C60 fullerenes and fluoranthene in marine mussels, *Mytilus sp.* *Mutat Res*, 2012; 745(1-2): 92-103.
16. Freitas RA. What is nanomedicine? *Nanomedicine*, 2005; 1(1): 2-9.
17. Yula E, Deveci Ö. Nanotıp, mikrodizilimler ve klinik mikrobiyolojide kullanımları. *Dicle Tıp Derg*, 2010; 37 (4): 422-8.
18. Tomalia DA, Reyna LA, Svenson S. Dendrimers as multipurpose nanodevices for oncology drug delivery and diagnostic imaging. *Biochem Soc Trans*, 2007; 35: 61-7.
19. Portakal O. Biyolojik ölçümler ve nanopartiküller. *Türk Biyokimya Derg*, 2008; 33 (1): 35-8.
20. Bainbridge WS. Perceptions of science essay. privacy and property on the net: research questions. *Science*, 2003; 302: 1686-7.
21. Scholz RW, Siegrist M. Low risks, high public concern? the cases of persistent organic pollutants (POPs), heavy metals, and nanotech particles. IED Working Paper 5, Institute for Environmental Decisions, Zurich, 2008.
22. Lanone S, Boczkowski J. Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Curr Mol Med*, 2006; 6: 651-63.
23. Logothetidis S. Nanotechnology in medicine: the medicine of tomorrow and nanomedicine. *Hippokratia*, 2006; 10 (1): 7- 21.
24. Gonzalez L, Lison D, Kirsch-Volders M. Genotoxicity of engineered nanomaterials: a critical review. *Nanotoxicol*, 2008; 2 (4): 252-73.
25. Hoet P, Hohlfeld I, Salata O. Nanoparticles-known and unknown health risks. *J Nanobiotechnology*, 2004; 2: 1-15.
26. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2007; 2 (4): 17-71.
27. Shatkin JA, Abbott LC, Bradley AE, Canady RA, Guidotti T, Kulinowski KM, et al. Nano risk analysis: advancing the science for nanomaterials risk management. *Risk Anal*, 2010; 30 (11): 1680-7.
28. <http://www.nano.gov> (14.02.2012).
29. Pfuhrer S, Elespuru R, Aardema MJ, Doak SH, Donner EM, Honma M, et al. Genotoxicity of nanomaterials: refining strategies and tests for hazard identification. *Environ Mol Mutagen*, 2013; 54 (4): 229-39.
30. Lacerda L, Bianco A, Prato M, Kostarelos K. Carbon nanotubes as nanomedicines: from toxicology to pharmacology. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006; 58: 1460-70.
31. Donaldson K, Poland CA, Schins RPF. Possible genotoxic mechanisms of nanoparticles: criteria for improved test strategies. *Nanotoxicol*, 2010; 4 (4): 414-20.
32. Zeiger E. History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal, view. *Environ Mol Mutagen*, 2004; 44: 363-71.
33. Atlı Şekeroğlu Z, Şekeroğlu V. Genetik toksisite testleri. *Tübav Bil Derg*, 2011; 4 (3): 221-9.
34. Xie H, Mason MM, Wise Sr, JP. Genotoxicity of metal nanoparticles. *Rev Environ Health*, 2011; 26 (4): 251-68.
35. Mantovani D. Shape memory alloys: properties and biomedical applications. *JOM*, 2000; 52 (10): 36-44.
36. Niinomi M. Recently metallic materials for biomedical applications. *Metall Mater Trans A*, 2002; 33 (3): 477-86.
37. Revell PA. The biological effects of nanoparticles. *Nanotechnol Percept*, 2006; 2: 283-98.
38. Gonzalez L, Sanderson BJS, Kirsch-Volders M. Adaptations of the in vitro MN assay for the genotoxicity assessment of nanomaterials. *Mutagenesis*, 2011; 26 (1): 185-91.

39. Ishikawa Y, Nakagawa K, Satoh Y, Kitagawa T, Sugano H, Hirano T, et al. Characteristics of chromate workers' cancers, chromium lung deposition and precancerous bronchial lesions: an autopsy study. *Br J Cancer*, 1994; 70: 160-6.
40. Doherty AT, Howell RT, Ellis LA, Bisbinas I, Learmonth ID, Newson R, et al. Increased chromosome translocations and aneuploidy in peripheral blood lymphocytes of patients having revision arthroplasty of the hip. *J Bone Joint Surg*, 2001; 83: 1075-81.
41. Xie H, Wise SS, Holmes AL, Xud B, Wakemond TP, Pelsue SC, et al. Carcinogenic lead chromate induces DNA double-strand breaks in human lung cells. *Mutat Res*, 2005; 586: 160-72.
42. Papageorgiou I, Brown C, Schins R, Singh S, Newson R, Davis S, et al. The effect of nano- and micron-sized particles of cobalt-chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 2007; 28: 2946-58.
43. Colognato R, Bonelli A, Ponti J, Farina M, Bergamaschi E, Sabbioni E, et al. Comparative genotoxicity of cobalt nanoparticles and ions on human peripheral leukocytes in vitro. *Mutagenesis*, 2008; 23: 377-82.
44. Ponti J, Sabbioni E, Munaro B, Broggi F, Marmorato P, Franchini F, et al. Genotoxicity and morphological transformation induced by cobalt nanoparticles and cobalt chloride: an in vitro study in Balb/3T3 mouse fibroblasts. *Mutagenesis*, 2009; 24: 439-45.
45. Parry MC, Bhabra G, Sood A, Machado F, Cartwright L, Saunders M, et al. Thresholds for indirect DNA damage across cellular barriers for orthopaedic biomaterials. *Biomaterials*, 2010; 31 (16): 4477-83.
46. Tsaousi A, Jones E, Case CP. The in vitro genotoxicity of orthopaedic ceramic (Al_2O_3) and metal (CoCr alloy) particles. *Mutat Res*, 2010; 697 (2): 1-9.
47. Signorello LB, Ye W, Fryzek JP, Lipworth L, Fraumeni JF Jr, Blot WJ, et al. Nationwide study of cancer risk among hip replacement patients in Sweden. *J Natl Cancer Inst*, 2001; 93: 1405-10.
48. Goldacre MJ, Wotton CJ, Seagroatt V, Yeates D. Cancer following hip and knee arthroplasty: record linkage study. *Br J Cancer*, 2005; 92: 1298-1301.
49. MacDonald SJ. Can a safe level for metal ions in patients with metal-on-metal total hip arthroplasties be determined? *J Arthroplasty*, 2004; 19 (8): 71-7.
50. Smith AJ, Dieppe P, Porter M, Blom AW. Risk of cancer in first seven years after metal-on-metal hip replacement compared with other bearings and general population: linkage study between the National Joint Registry of England and Wales and hospital episode statistics. *BMJ*, 2012; 344: 2383.