






Nanopartiküllerin Genotoksik Etkileri

Aleyna Halıcı , Açelya Seyrek , Kübra Aykan , Fatma Ünal* , Deniz Yüzbaşıoğlu 
Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06500, Ankara, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Nanopartiküller (NP), <100 nm, pek çok alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.
- NP'ler hem insanda ve hem de diğer canlılarda genetik riskler oluşturabilir.
- Kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi, mikronukleus ve komet önemli genotoksikite testleridir.
- Allium testi de nanopartiküllerin genotoksikitesinde kullanılan bir testtir.
- Birçok testte, NP'lerin hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda genotoksik olduğu bildirilmiştir.

Makale Bilgileri

Geliş: 30.09.2021
Kabul: 28.10.2021

Anahtar Kelimeler

Nanopartikül,
Genotoksik Etki,
İnsan Lenfositleri,
Allium cepa,
Vicia faba

Özet

Nanoteknolojinin amacı, nanopartikül (NP) olarak adlandırılan maddeleri endüstriyel amaçlarla tasarlamak ve sentezlemektir. Ebatları <100 nm olan nanopartiküller, küçük boyut ve geniş yüzey alanı, iletkenlik, güç, dayanıklılık ve reaktivite gibi yeni olağanüstü özellikler kazanır. Bu özelliklerinden dolayı NP'ler tıp, eczacılık, kozmetik, elektronik, tekstil, boya, endüstri ve gıda koruma gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat bu tür özellikler, nanopartiküllerin biyolojik ve toksikolojik özelliklerini de etkilemektedir. NP'ler önemli biyolojik bariyerleri ve zarları kolayca geçebilir ve organlar, hücreler ve genetik materyal ile etkileşime girebilir. NP'ler oksidatif strese, inflamasyona, sitotoksikite, genotoksikite ve apoptoza neden olabilir. Bu sebeple, nanopartiküllerin olası genotoksik etkileri, Kromozom Anormallikleri (KA), Kardeş Kromatid Değişimi (KKD), Mikronukleus (MN), kıvrıklı yıldız/Komet ve Allium testleri kullanılarak incelenmektedir. Bu çalışmanın amacı, yukarıda adı geçen testlerle incelenmiş olan bakır oksit (CuO), çinko oksit (ZnO), demir oksit (Fe₂O₃), gümüş (Ag), kobalt-krom (CoCr), silikon dioksit (SiO₂), titanyum dioksit (TiO₂) ve tungsten oksit (WO₃) nanopartiküllerinin insan lenfositlerinde ve bazı hücre hatlarında *in vitro* ve Allium cepa ve Vicia faba'daki *in vivo* genotoksik etkileri konusundaki bazı makaleleri derlemektir. Ayrıca, nanopartiküllerin genotoksik mekanizmaları konusunda ileri sürülen görüşleri derlemektir.

Genotoxic Effects of Nanoparticles

Highlights

- Nanoparticles (NPs), <100 nm, are widely used in many areas.
- NPs may induce genetic risks to both humans and other organisms.
- Chromosome aberration, sister chromatid exchange, micronucleus, and comet are important genotoxicity tests.
- Allium test is also crucial to determine the genotoxicity of nanoparticles.
- Genotoxic potential of NPs has been reported in many *in vitro* and *in vivo* tests.

Article Info

Received: 30.09.2021
Accepted: 28.10.2021

Keywords

Nanoparticle,
Genotoxic Effect,
Human Lymphocytes,
Allium cepa,
Vicia faba

Abstract

The goal of nanotechnology is to design and synthesize substances called nanoparticle-NP for industrial purposes. NPs, <100 nm in size, acquire new extraordinary features such as small size and large surface area, conductivity, strength, durability, and reactivity. Due to these features, NPs are extensively used in diverse fields such as medicine, pharmacy, cosmetics, electronics, textile, painting, industry, and food preservation. However, such characteristics also influence their biological and toxicological properties. Nanoparticles can easily cross biological barriers and membranes and interact with organs, cellular organelles, and genetic material. NPs might cause oxidative stress, inflammation, cytotoxicity, genotoxicity, and apoptosis. Therefore, possible genotoxic effects of NPs are widely investigated using Chromosome Aberration (CA), Sister Chromatid Exchange (SCE), Micronucleus (MN), Comet, and Allium tests. The aim of this study is to review some articles which were investigated the genotoxic effects of copper oxide (CuO), zinc oxide (ZnO), iron oxide (Fe₂O₃), silver (Ag), cobalt-chrome (CoCr), silicon dioxide (SiO₂), titanium dioxide (TiO₂), and tungsten oxide (WO₃) nanoparticles by the aforementioned tests on human lymphocytes and some cell lines and Allium cepa and Vicia faba as *in vitro* and *in vivo*, respectively. In addition, the genotoxicity mechanisms of nanoparticles were also compiled.



1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, nanopartikül (NP) veya nanomateryal (NM) olarak bilinen, yeni malzemeler geliştiren ve üreten, bilim ve teknolojiye çeşitli uygulamaları olan yeni bir araştırma alanıdır [1, 2]. Bu teknoloji, sıradan kimyasalları veya malzemeleri nano ölçekte tasarlayarak, bu malzemelere yeni ve benzersiz özellikler kazandırmaktadır. Kazandırılan özellikler arasında çok küçük ebat, çok büyük yüzey alanı, ultraviyole (UV) koruma, antimikrobiyal etki, artan güç, esneklik ve iletkenlik sayılabilir [3]. Nanopartiküller, Avrupa Komisyonu tarafından tanımlandığı gibi, boyutu 1-100 nm arasında değişen partiküller veya atomik agregalardır [4, 5]. Fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak NP'ler organik (dendrimer, lipozom), inorganik ve karbon (fulleren, grafen, karbon nanotüpleri) esaslı olarak sınıflandırılmaktadır. İnorganik NP'ler ise metal (alüminyum, kadmiyum) ve metal oksit (demir oksit, silikon dioksit, alüminyum oksit) olmak üzere iki ayrı alt grupta incelenir [6-9]. Nanomalzemeler, nanometrik ölçekteki yeni fizikokimyasal özellikleri nedeniyle tıp, eczacılık, elektronik, askeri, tarım, tekstil ve enerji gibi pek çok alanda çok büyük ilgi görmektedir [10-15].

Nanopartiküller ebatları küçüldükçe, daha büyük partiküllere kıyasla yüzey alanları da büyük artış göstermektedir. Daha da önemlisi, partikül yüzeyindeki molekül veya atom oranlarında ve dolayısıyla kimyasal reaktivitelerinde de artış meydana gelmektedir. Pek çok alanda tercih edilmelerine sebep olan bu özellikler, biyolojik sistemlerle etkileşimlerinde de büyük önem taşımaktadır. Nanopartiküllerin ve nanomalzemelerin boyut, şekil, kimyasal bileşim, fizikokimyasal stabilite, kristal yapı, yüzey alanı ve yüzey enerjisi gibi fizikokimyasal özellikleri genellikle bu nanomalzemelerin toksisite düzeylerini de etkilemektedir [16]. Örneğin, nanopartikül formundaki gümüş, aynı ağırlıktaki mikropartiküllere kıyasla daha fazla gümüş iyonu (Ag^+) salmaktadır. Salınan bu iyonlar, gümüşün antibakteriyel etki oluşturmasını sağlamaktadır [17]. Yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdikleri için gümüş nanopartikülleri başta sağlık olmak üzere, gıda, kozmetik, tekstil ve elektronik gibi birçok alanda kullanılmaktadır [18]. Gümüş nanopartikülleri mikrobiyal membranlarla reaksiyona giren, yapılarına zarar veren ve bakterileri inaktive eden reaktif oksijen türleri (ROT) üretirler. Bu reaktif türlerin düzeyi antioksidan kapasiteyi aşarsa, hücrelerin lipid, protein, DNA ve enzim gibi yapıları ile etkileşime girerek toksik etkiler ortaya çıkarırlar [19]. Örneğin lipid peroksidasyonu olarak bilinen, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, hücrelere oldukça hasar vericidir [20]. Yapılan bazı çalışmalarda 5, 10 ve 20 nm'lik Ag NP'lerinin, >40 nm'lik partiküllere kıyasla daha sitotoksik ve genotoksik olduğu gösterilmiştir [8]. Benzer şekilde TiO_2 NP'leri ökaryotik organizmalarda, antioksidan savunma sistemlerinin zayıflamasına ve buna bağlı olarak bölgesel inflamasyona, mitokondri hasarına, otofaji, apoptoz veya nekroza sebep olmaktadır [21]. Ag, Cu, ZnO ve TiO_2 nanopartikülleri ile yapılan birçok çalışmada, bunların sitotoksik ve genotoksik etkilere neden olabileceği rapor edilmiştir [22-24].

Nanoteknolojideki gelişmeler ve bu teknolojiye nanopartiküllerin giderek yaygın bir şekilde kullanılmasına bağlı olarak, nanopartiküllerin üretimi, kullanımı ve atıkları nedeniyle hem insanların ve hem de diğer tüm canlıların bu partiküllere maruziyeti de giderek artış göstermeye başlamıştır. Bu nedenle son yıllarda, bu partiküllerin toksik etkileri, özellikle genotoksik etkileri konusunda endişeler artmaya başlamıştır [11, 25]. Nanopartiküllerin genotoksik etkileri başta *in vitro* insan lenfositleri olmak üzere [25, 26], akciğer (A549) [27, 28], karaciğer (HepG2) [29-31], glial (A172) [31, 32] ve nöronlar (SH-SY5Y) [33] gibi çeşitli hücre hatlarında; Sprague-Dawley rat, Wistar rat [34, 35] gibi çeşitli memeli türlerinde; *Allium cepa* L., *Allium sativum*, *Glycine max*, *Triticum aestivum* L., *Lens culinaris* L. ve *Oryza sativa* [36-41] gibi çeşitli bitki türlerinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi, mikronukleus, Allium ve komet testi ile, ayrıca bakteriyel geri mutasyon testi-Ames testi [34, 42], gamma-H2AX testi [34, 43] gibi çeşitli test teknikleri ile araştırılmaya başlanmıştır. Nanopartiküllerin

genotoksik etkilerinin incelenmesinde son yıllarda özellikle mikronukleus (MN) ve komet (comet) (tek hücre jel elektroforez-SCGE) testleri kullanılmaktadır. Bunun yanında kromozom anormallikleri (KA) ve kardeş kromatid değişimi (KKD) testi de yaygın kullanılan testler arasındadır. Bu testler, insan lenfositlerinde uygulandığı gibi, Çin hamster ovaryum hücrelerinde [44], HT22 hücrelerinde [41], fare, sıçan veya tavşanlarda karaciğer [45, 46], kan veya kemik iliği hücrelerinde de [47] uygulanmaktadır [8, 48-50]. Nanopartiküllerin özellikle ekosistem üzerindeki etkilerini tespit etmek amacıyla, bitkilerdeki genotoksik etkileri de geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Bu alanda özellikle *Allium cepa*, *Vicia faba*, *Nicotiana tabacum* ve *Zea mays* en çok tercih edilen türlerdir [51].

Bu çalışmanın amacı, nanoteknolojide ve bu teknolojinin çokça kullanıldığı kozmetik, askeri, tıp, tarım, eczacılık, boya ve gıda endüstrisi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılan Bakır Oksit (CuO), Çinko Oksit (ZnO), Demir (III) Oksit (Fe₂O₃), Gümüş (Ag), Kobalt-Krom (CoCr), Silisyum Dioksit (SiO₂), Titanyum Dioksit (TiO₂) ve Tungsten Oksit (WO₃) nanopartiküllerinin genotoksik ve sitotoksik etkilerinin özellikle Kromozom Anormalliği, Kardeş Kromatid Değişimi, Mikronukleus, Komet ve Allium Testleri ile incelendiği bazı *in vitro* ve *in vivo* araştırmaları ve bunların sonuçlarını derlemektir. Bu amaçla nanopartiküllerin özellikle farklı primer insan hücreleri/hücre hatları üzerindeki etkileri olmak üzere, *A. cepa* ve *V. faba* üzerindeki etkilerine yoğunlaşmıştır. Bunlardan örneğin insan lenfositleri, hem genotoksisite hem de sitotoksisite çalışmalarında kullanılan, dolaşım sisteminde genellikle bölünme geçirmeyen fakat mitojenlerle bölünmeye teşvik edilebilen, kolay elde edilen ve *in vivo* koşullardakine benzer sonuçlar veren ökaryotik bir hücre olması nedeniyle tercih edilmiştir. İnsan lenfositlerinde, genetik hasarlardaki artış düzeyi ile kanser oluşma riski arasında bir bağlantı bulunması da bu tercihte önemli rol oynamıştır [52, 53]. Lenfositler dışında akciğer hücre hattı [27, 28] ve karaciğer hücre hattı [29-31] gibi çeşitli hücre hatlarındaki bazı çalışmalar da derlemeye dâhil edilmiştir. Bu tür hücreler de ucuz, hızlı ve genotoksinlere karşı etkili şekilde cevap verdikleri için yaygın bir şekilde kullanıldıklarından dolayı bu çalışmaya dâhil edilmişlerdir. *A. cepa*, bir yandan mutfakların vazgeçilmesi olan bir besin iken diğer yandan yetiştirmesi kolay, ucuz, genotoksinlere iyi cevap veren, az sayıda ve büyük kromozomları olan ve genetik toksikoloji çalışmalarında model organizma olarak kullanılan bir tür olduğundan tercih edilmiştir [52]. *V. faba* da önemli bir karbohidrat kaynağı olması nedeniyle önemli bir besin maddesi olmasının yanında, ekotoksikoloji araştırmalarında da oldukça yaygın kullanılan model bir bitki olması sebebiyle değerlendirmeye katılmıştır [54].

Hedeflenen amaca ulaşmak için kaynak taraması iki veri tabanından yapılmıştır (Web of Science ve Google Scholar). Taramalar, veri tabanlarında “nanopartikül”, “genotoksik etki”, “insan lenfositleri”, “*Allium cepa*”, “*Vicia faba*” anahtar kelimeleri ve bunların kombinasyonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda özellikle 2008-2021 tarihleri arasında yayınlanan ve yukarıda adı geçen nanopartiküller ve testlerle ilgili rastgele seçilen en az 4 en fazla 30 makale olacak şekilde derlenmiştir. Çalışmanın sonunda, makalelerden elde edilen verilere dayanarak, nanopartiküllerin genotoksik mekanizması konusunda ileri sürülen görüşler de derlenmiştir.

2. GENOTOKSİSİTE TESTLERİ

2.1. Kromozom Anormalliği Testi

Kromozom anormalliği testi, fiziksel ve/veya kimyasal ajanların, kromozomlarda meydana getirdiği yapısal ve sayısal anormallikleri belirlemek amacıyla kullanılan önemli bir testtir [4]. Kullanılan ajanın etki mekanizmasına bağlı olarak bunlardan birinde veya diğerinde veya her ikisinde artış meydana gelebilir. Yapısal anormallikler, bir veya daha fazla kromozomun yeniden düzenlenmesiyle meydana

gelmektedir. Çoğu yapısal anormallik, kromozomlar arasındaki eşit olmayan değişimden veya kromozomların kırılıp anormal biçimde tekrar birleşmesinden kaynaklanmaktadır. Mikroskop altında kolayca ayırt edilebilen anormallikler arasında kromatid kırığı, kromozom kırığı, fragment, disentrik kromozom ve halka kromozomlar sayılabilir. Bantlama teknikleri uygulanmak suretiyle belirlenebilen daha kompleks anormalliklere delesyon, translokasyon, inversiyon, duplikasyon ve izokromozomlar örnek verilebilir [55-57]. Sayısal kromozom anormallikleri, normal diploid sayıdan farklı olan kromozomal sapmaları kapsar. Bu kategoride tek tek kromozomlar eksik veya kopyalanmış olabileceği gibi, bütün haploid kromozom setinin eksikliği veya fazlalığı da ortaya çıkabilmektedir. *In vitro* KA testi ile memeli hücre kültürlerinde, *in vivo* KA testi ile genellikle kemik iliği hücrelerinde kromozom anormallığı frekansı değerlendirilebilmektedir [58].

2.2. Kardeş Kromatid Değişimi Testi

Bu test, çeşitli ajanların mutajenik ve karsinojenik etkilerinin araştırılmasında ve kardeş kromatidler arasındaki fiziksel DNA değişimini görsel olarak tespit etmek için kullanılan güçlü bir genotoksisite testidir [58, 59]. Kardeş kromatid değişimi, mitotik kromozomların kardeş kromatidleri arasındaki değişim mekanizmasını gösterir [60]. İnsan lenfositlerinde KKD sayısı genellikle *in vitro* çalışmalarla belirlenmektedir. İnsan lenfositlerinde, *in vivo* sitostatik alkilleyici ajanlar KKD oluşumunu ciddi şekilde artırmaktadır. KKD sayısı Bloom sendromu gibi patolojilerde veya tümör hücrelerinde de artış göstermektedir [61].

2.3. Mikronukleus Testi

Mikronukleus, hücrelerin sitoplazmasında görülebilen, ana çekirdeğe benzeyen fakat ondan daha küçük olmasıyla ayırt edilebilen, zarla çevrili olan fakat ana çekirdeğin dışındaki diğer genetik materyalleri ifade etmektedir. Mitoz sırasında kutuplara ulaşamayan ve ana çekirdeğe katılamayan kromozom parçalarından veya hasar görmemiş bütün kromozomlardan kaynaklanmaktadır. MN'ların DNA hasarından veya genomik dengesizlikten kaynaklandığı düşünülmektedir. Oluşumlarının ana nedenleri arasında, kromozom veya DNA'daki kırılmalar, tüm kromozomlarda işlevsel sentromer eksikliği ve kromozomları düzgün bir şekilde ayırmada başarısız olan mitotik sistemin bir veya daha fazla proteinindeki kusurlar sayılabilir. MN, metabolizma veya yaşlanma gibi doğal süreçlerin bir sonucu olarak ortaya çıkabileceği gibi, birçok çevresel faktör, tehlikeli alışkanlıklar ve farklı hastalıklar tarafından da tetiklenebilmektedir [62]. İnsanlarda MN testleri, olumsuz çevresel, yaşam tarzı ve mesleki faktörlerin genotoksik etkilerini araştırmak, DNA hasarına genetik yatkınlığı araştırmak ve hızlanmış yaşlanma riskini, gelişimsel bozuklukları ve kanser gibi genomik dengesizlikten etkilenen hastalıkları belirlemek amacıyla da kullanılmaktadır [63].

2.4. Komet Testi

Tek hücre jel elektroforez testi olarak da bilinen Komet testi, çeşitli fiziksel ve kimyasal ajanların etkisi ile DNA'da meydana gelen tek ve çift zincir kırıklarının yanı sıra, alkali-hassas bölgeleri, oksidatif hasar görmüş DNA bazlarını ve tamamlanmamış kesip çıkarma onarım bölgelerini ölçmektedir. Testin basitliği, hızlı sonuç vermesi ve her türlü ökaryotik hücre tipine kolayca uygulanabilmesi, birçok alanda kullanımını artırmıştır. Bu test, insan biyo-izleme çalışmaları dahil olmak üzere, genetik toksikoloji, eko-genotoksisite, moleküler epidemiyoloji, nanomateryal genotoksisitenin değerlendirilmesi, mezenkimal kök hücre ve spermatozoidlerde DNA bütünlüğünün değerlendirilmesi gibi farklı alanlarda *in vitro* ve *in vivo* şekilde başarıyla kullanılmaktadır [3, 4, 15, 64].

2.5. Allium testi

Bitkiler, çevresel mutajenlerin etkilerinin incelenmesinde önemli genetik modellerdir. Ökaryotik organizma olduklarından, hayvan ve insanlardakine benzer kromozom morfolojisine, mutasyon mekanizmalarına ve hücre bölünme şekillerine sahiptir. Ancak, tek veya kompleks karışım şeklindeki mutajenlerin ve toksik bileşiklerin çok düşük konsantrasyonlardaki etkilerinin dahi tespit edilmesindeki hassasiyetleri nedeniyle, diğer sistemlerden daha büyük avantajlara sahiptir. Bitkilerden özellikle *A. cepa* (mutfak soğanı)'nın kullanıldığı Allium testi, hem DNA ve hem de kromozom düzeyinde bilgi sağlayan, ucuz, hassas, uygulaması kolay ve hızlı bir testtir. Birçok avantajları nedeniyle *A. cepa* ve *V. faba* kök ucu kromozom anormallikleri testi, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Kimyasal Güvenlik Uluslararası Programı, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Programı (USEPA) ve Uluslararası Çalışma Örgütü tarafından, kimyasalların taranması ve *in situ* (yerinde) genotoksik etkilerinin değerlendirilmesinde geçerliliği kanıtlanmış bir testtir [28]. Kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin belirlenmesinde kök uçlarında c-metafaz, geri kromozom, kromozom köprüsü, kromatid ve kromozom kırığı ve mikronükleus gibi oluşumlar değerlendirilmektedir. Sítotoksik etkilerin tespit edilmesinde de mitotoik indeks dikkate alınmaktadır [40, 51-52].

3. NANOPARTİKÜLLERİN GENOTOKSİK ETKİLERİ

Nanopartiküllerin genotoksik etkileri konusunda yapılan araştırmalardan bazıları, bu partiküllerin genetik materyalde hasara sebep olabileceğini ve dolayısıyla genotoksik olabileceğini gösterirken, diğer bazı çalışmalar herhangi bir genotoksik etki oluşturmadıklarını belirtmektedir. Aşağıda her iki şekilde etki gösterme potansiyeline sahip olan bazı nanopartiküllerle ilgili araştırma sonuçları verilmiştir.

3.1. Nanopartiküllerin Farklı İnsan Hücreleri Üzerindeki Etkileri

Son zamanlarda nanopartiküllerin insan lenfositleri üzerindeki genotoksik etkileri konusunda yapılan çalışmalar, bu partiküllerin DNA'da hasara ve hücre kinetik parametrelerinde değişikliklere neden olabileceğini ortaya çıkarmıştır. Farklı konsantrasyonlarda ve farklı boyutlardaki birçok nanopartikülün, kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi, mikronükleus ve DNA'da hasarlara neden olduğunu göstermiştir [65].

Bakır oksit nanopartikülleri, iletkenlikleri ve biyosidal karakterleri nedeniyle özellikle tıp, mühendislik ve teknolojiye, katalist, yarı iletken, sensör ve pigment şeklinde, antibakteriyel kumaş üretimi ve enfeksiyonların önlenmesi gibi çok çeşitli tüketici ürünlerinde kullanılan partiküllerdir [25, 66]. Bu kadar yaygın kullanılmaları nedeniyle bu partiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkileri konusunda çeşitli türlerde ve hücre hatlarında araştırmalar yürütülmüştür. CuO NP'lerinin 25, 50, 75 ve 100 µg/mL'lik konsantrasyonlarının insan lenfositlerine uygulanması ve hasarların komet testi ile incelenmesi sonucunda, primer DNA hasarında artış olduğu ve sonuçta komet kuyruk yoğunluğu ve kuyruk uzunluğunda da anlamlı artışlar meydana geldiği rapor edilmiştir [26]. Lenfositlere farklı CuO NP'lerinin (toz, sferik, çubuk ve iğne) uygulandığı bir çalışmada, komet testi sonucunda DNA zincir kırıklarına ve oksidatif hasara rastlanmıştır. Primer DNA hasarının doza bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde MN testinde mikronükleuslu binükleat hücre sayısını artırdığı ve MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid) testinde ise hücre canlılığını azalttığı rapor edilmiştir [67]. CuO NP'lerinin 0,1, 0,5, 1, 2 ve 5 mM konsantrasyonlarda, insan lenfositlerinde hücre ölümüne neden olduğu ve bu ölümün nanopartiküllerin oluşturduğu oksidatif strese kaynaklandığı bildirilmiştir. Hücre için çok önemli organel olan mitokondri ve lizozomlarda da toksik etkiler

oluşturması nedeniyle, bu partiküllerin insanlarda da lenfositlerde ölüme sebep olmak suretiyle immün sistemi baskılayabileceği belirtilmiştir [25].

Demir, bakır ve alüminyumdan sonra en çok kullanılan metal “çinko (Zn)”dur. Son yıllarda dünyada yılda 10 milyon ton civarında çinko kullanıldığı belirtilmektedir [68]. ZnO NP’leri, güneş kremleri, kozmetik, boya, lastik, kumaş boyaması ve atık suların iyileştirilmesi gibi oldukça farklı alanlarda kullanılmaktadır [69]. Çinko oksit nanopartikülleri antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar özelliklerinden dolayı büyük ilgi görmeye başlamıştır. Bu nanopartiküller fotokatalizde, kompozit malzemelerde, kimyasal, gaz, buhar ve nem sensörlerinde ve boyaya duyarlı güneş pillerinde kullanılmaktadır [70]. Bu nedenle insanlar günlük yaşamda bu nanopartiküllere yüksek düzeyde maruz kalmaktadır. ZnO NP’lerinin giderek artış gösteren kullanımı insan sağlığı açısından sorunlara yol açabilmektedir [71]. ZnO nanopartiküllerinin, insan periferik kan lenfosit hücrelerinde en düşük konsantrasyonlarda bile genotoksik etki oluşturduğu ve lenfositlerde sitotoksositeye neden olduğu rapor edilmiştir [72]. ZnO ile TiO₂ nanopartiküllerinin beraber uygulandığı bir çalışmada 0, 12,5, 25, 50, 100 ve 125 µg/mL’lik konsantrasyonların periferik lenfositlerde başta kromatid kırığı olmak üzere birçok kromatid tipi anormallik oluşturduğu bildirilmiştir [73]. Çubuk ve küresel formların insan periferik kan mononükleer hücreleriyle muamele edildiği bir çalışmada, çubuk ZnO NP’lerinin küresele oranla daha fazla reaktif oksijen türü ürettiği bildirilmiştir. Benzer şekilde çubuk formun daha ciddi DNA hasarına sebep olduğu, sitokinez blok mikronükleus ve komet testi ile ortaya konmuştur [74]. *In vitro* ortamda ZnO NP’lerinin 50, 100, 250 ve 500 ppm’lik konsantrasyonları sitotoksikite ve genotoksikite açısından değerlendirildiğinde, 250 ppm’lik konsantrasyonun eritrositler için sitotoksik olduğu ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve ROT’lerinin doza bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir [75]. Bir başka çalışmada, TiO₂ ve ZnO nanopartiküllerinin hem farklı insan bağışıklık hücrelerini ve hem de hücreden hücreye iletişimde önemli role sahip nano boyutlu veziküller olan eksozom üretimini etkileyip etkilemediği incelenmiştir. Sonuçta, farklı konsantrasyonlardaki TiO₂ veya ZnO nanoparçacıklarının birincil insan periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBMC) canlılığını etkilemediği bulunmuştur. Buna karşılık, monosit türevli dendritik hücrelerin (MDDC), TiO₂ nanoparçacıklarına bir tepki vermediği fakat ZnO NP’lerine karşı hücre ölümü ve kaspaz aktivitesinde doza bağlı bir tepki verdiği görülmüştür. Diğer yandan TiO₂ veya ZnO nanoparçacıklarının, eksozomlar içinde tespit edilemediği ve eksozom oluşumuyla ilişkilendirilemediği bildirilmiştir [76].

Demir oksit (Fe₂O₃) nanopartiküllerinin insan periferik lenfositlerinde 39,062; 78,125; 156,250 ve 312, 500 µg/mL’lik konsantrasyonlarının komet testi uygulaması sonucunda primer DNA hasarını artırdığı belirlenmiştir [26]. Bir başka çalışma, NP’lerin insan kan hücrelerinde oluşturduğu oksidatif hasar ile genotoksik ve sitotoksik etkisinin, kullanılan doza bağlı şekilde artış gösterdiğini ortaya koymuştur [65]. Fe₂O₃ NP’lerinin 1-10 mM’lik konsantrasyonlarının hücre canlılığını doza bağlı şekilde önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir [77]. Bu nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik risklerinden dolayı daha detaylı araştırılması gerektiği görülmektedir.

Gümüş nanopartikülleri (AgNP), kremlerde, pillerde, ambalaj paketlerinde, boyalarda ve endüstriyel ürünlerde katkı maddesi olarak yaygın kullanımlarından dolayı insan sağlığı için genotoksik bir risk taşıma potansiyeline sahiptir [78]. Yapılan bir çalışmada, AgNP’lerinin, insan periferik kan mononükleer hücrelerinde genotoksik etki sergilediği belirtilmiştir. Bu nanopartiküllerin reaktif oksijen türlerinin üretimini ve mitokondriyal membran hasarını arttırdığı bildirilmiştir [79]. Lenfositler ve insan T hücreli akut lenfoblastik lösemi hücre hattı (HPB-ALL), 24 saat boyunca AgNP’lerine maruz bırakılmıştır. Hücre proliferasyonunu değerlendirmek için kullanılan MTT testi sonucunda, AgNP’lerinin insan lenfositlerinde sitotoksik etkilere neden olabileceği rapor edilmiştir [80]. İnsan TK6

hücreleri, genotoksisitenin ve oksidatif stres oluşumunun değerlendirilmesi için 5 nM AgNP'leri ve gümüş nitrat (AgNO₃) ile muamele edilmiştir. Mikronukleus testi sonucunda, her iki partikülün benzer konsantrasyonlarda (1,00 ve 1,75 µg/mL) sitotoksik ve genotoksik olduğu ve her ikisinin de hücrelerde gen ekspresyonunu ve reaktif oksijen türlerini artırarak oksidatif stres oluşturduğu belirtilmiştir [81]. 90-180 nm ebatlarındaki ve 25 µg/mL'lik AgNP'leri insan lenfositlerinde apoptoza ve DNA zincir kırıklarına sebep olabilmektedir [82]. Gümüş nanopartiküllerinin *Pinus roxburghii* iğnelerinin biyoaktif fraksiyonu aracılığıyla basit, uygun maliyetli ve çevre dostu bir yeşil kimya yöntemi kullanılarak sentezlendiği bir çalışmada, PNB-AgNP'leri, insan göğüs epitel hücrelerinde (fR2) ve insan periferel kan lenfositlerinde (PBL) toksik bir etki oluşturmazken, A549 ve prostatik küçük hücreli karsinomlara (PC-3) karşı önemli bir sitotoksik etki sergilemiştir [83]. Diğer yandan, sitrat kaplı koloidal AgNP'lerinin (30 nm), 100 µg/mL'lik dozunun sitotoksisitesinin ve genotoksisitesinin sırasıyla MTT testi ve Komet testi ile değerlendirildiği bir çalışmada, gümüş nanopartiküllerinin insan keratinositleri üzerinde toksik etkilere neden olmadığı bildirilmiştir [84].

Kobalt-krom nanopartiküllerinin de insan hücrelerinde toksik etkileri olabileceği görülmüştür. Kobalt ile muamele edilen insan lenfosit hücrelerinde serbest radikal oluşumu, DNA hasarı ve anöploidi oluşumunda artış gözlenmiştir [85]. Kobalt oksit (CoO) NP'lerinin *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda ROT'ları artırarak kaspaz reaksiyonlarını aktive ettiği ve hücre ölümünü tetiklediği bildirilmiştir [86]. Kobalt (II, III) oksit (Co₃O₄) NP'lerinin hücre canlılığını azaltırken, hücre membran hasarını artırdığı rapor edilmiştir. 100 µg/mL'lik konsantrasyonda kromozomal anormallikler ve mitokondriyal bozulma gözlenmiştir [87]. Kobalt ferrit NP'leri (CoFe₂O₄), 8 µg/mL'lik konsantrasyonda ROT oluşumunu artırmaktadır. Aynı şekilde nekrotik hücre ölümünün konsantrasyona bağlı olarak arttığı da tespit edilmiştir [88]. Metal nanopartiküller (MNP'ler) optik, manyetik ve elektriksel aktivite açısından benzersiz özellikler sergilemektedir. İnorganik nanopartiküller, ilaç/gen dağıtımı, hücre görüntüleme, biyoalgılama ve kanser tedavisindeki uygulamalar için umut verici malzemelerdir [87]. Bu yüzden bu partiküllerin genotoksik etkileri konusunda daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiği görülmektedir.

Silika-silikon dioksit (SiO₂) nanopartiküllerinin insan periferel lenfositlerinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi ve mikronukleus oluşumlarına sebep olduğu belirlenmiştir [26]. *In vitro* ortamda SiO₂ NP'lerinin insan lenfositleri üzerinde, komet testinde kuyrukta % DNA düzeyinde ve kromozom anormalliği frekasında artışa sebep olduğu rapor edilmiştir [87]. Farklı boyutlardaki (6, 20, 50 nm) SiO₂ NP'lerinin kültürlenmiş insan periferel kan lenfositlerindeki genotoksisitesinin değerlendirilmesi sonucunda KKD frekansı ve DNA hasarında artış olduğu bildirilmiştir [89]. İnsan periferel lökositlerinde, nanopartikül konsantrasyonuna ve boyutuna bağlı olarak, 100 µg/mL'lik dozdaki tüm nanopartiküllerin, önemli bir sitotoksik etki ürettiği tespit edilmiştir [90]. Başka bir çalışmada, SiO₂ NP'lerinin lenfositlerin proliferasyonunu etkilemediği fakat mitotik indeks değerinde azalmaya ve sitotoksik etkiye yol açtığı bildirilmiştir. Yüksek dozlarda ise genotoksik (DNA kırığı) özellik sergilemiştir. SiO₂ NP'lerinin yüzey reaktivitelerinin yüzey modifikasyonu ile değiştirilebiliyor olması nedeniyle ilaç dağıtımında, gen terapisinde ve moleküler görüntüleme geniş bir kullanım alanına sahiptir [91]. Bu faydalarına rağmen, insanların SiO₂ NP'lerine maruz kalmasının önemli olumsuz sağlık etkilerine neden olabileceği dikkate alınmalı ve bunlarla ilgili daha detaylı araştırmalar yapılmalıdır.

TiO₂ NP'leri endüstriyel açıdan oldukça önemli partiküller olup, geniş uygulama alanlarına sahiptir. Boyaların ve farmasötik ilaçların toksisitesini azaltmada, atık su arıtmada, ipekböceği üretiminde, uzay uygulamaları ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır [92]. TiO₂ NP'leri ile muamele edilen insan lenfositlerinde mikronukleus frekasında bir artış olmadığı fakat uygulama süresindeki artışa paralel

olarak DNA hasarında artış meydana geldiği bildirilmiştir [49]. TiO₂ nanopartikülünün iğne ve küresel formlarının, *in vitro* insan periferik lenfositlerine uygulanması sonucunda, kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi ve mikronukleus testleri açısından zayıf sitotoksik, zayıf genotoksik, zayıf klastojenik ve zayıf mutajenik olduğu sonucuna varılmıştır [93]. İnsan lenfosit hücrelerine uygulanan TiO₂ NP'leri mitokondriyal dehidrojenaz aktivitesinde önemli bir azalmaya sebep olmuştur. DNA hasarı ve apoptoz, TiO₂ nanoparçacıklarının doz artışına bağlı bir şekilde artış göstermiştir. Ancak membran bütünlüğünün nanoparçacık muamelesinden etkilenmediği rapor edilmiştir [94]. Anataz formu TiO₂ NP'leri, kısa tek duvarlı karbon nanotüpleri (SWCNT'ler) ve kısa çok duvarlı karbon nanotüplerinin (MWCNT'ler) kullanıldığı bir çalışmada, insan lenfositleri, 6,25-300 mg/mL'lik nanomalzemeler ile 24, 48 ve 72 saat muamele edilmiştir. 48 saatlik uygulamada, kromozom ve kromatid tipi anormalliklerde doza bağlı bir artış gözlenmiştir [95]. TiO₂'in anataz, rutil ve her ikisinin karışımının, insan periferik kan mononükleer hücrelerinde, DNA zincir kırıklarına ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuna sebep olduğu rapor edilmiştir [96]. Bu çalışmaların tam tersi veriler de vardır. Örneğin, TiO₂ nanopartiküllerinin, insan akciğer fibroblast (IMR-90) hücrelerinde herhangi bir genotoksositeye neden olmadığı da bildirilmiştir [97]. TiO₂ NP'lerinin çoğu alanda olduğu gibi klinik uygulamalarda kullanımı da giderek artması nedeniyle, insan sağlığı üzerindeki potansiyel risklerinin detaylı araştırılması gerekmektedir.

Tungsten (VI) oksit NP'leri, günlük hayatta elektrokromik pencereler veya akıllı pencereler, X-ray ekranı ve gaz sensörleri başta olmak üzere daha birçok amaç için kullanılmaktadır. Tungsten (WO₃) NP'lerinin genotoksik potansiyeli, kültürlenmiş insan lenfositlerinde mikronukleus (MN) testi ve komet testi kullanılarak incelenmiştir. İzole edilmiş insan lenfositleri, 37°C'de 72 saat boyunca 0-500 µM arasında değişen konsantrasyonlarda WO₃ nanoparçacıklarına maruz bırakılmıştır. 400 ve 500 µM WO₃ nanoparçacık muamelesinin, kültürlenmiş insan lenfositlerinde MN frekansında hafif artışlara neden olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, nanopartiküllerin 200 µM'nin üzerindeki konsantrasyonları da, lenfositlerde DNA hasarının artmasına neden olmuştur [98]. Korozyona ve suya dayanıklılığı nedeniyle, madencilik tezgâhlarında ve talaşsız şekillendirmede kullanılan tungsten karbür-kobalt (WC-Co) NP'lerinin *in vitro* mikronukleus testinde 24 saatlik uygulamadan sonra mikronukleuslu binükleat hücrelerin sayısında artışa sebep olduğu, sentromer boyamaları sonucunda, bu oluşumların hem klastojenik hem de anöjenik etkilerden ortaya çıktığı tespit edilmiştir [99].

3.2. Nanopartiküllerin *Allium cepa* Üzerindeki Etkileri

Nanopartiküllerin kullanımı her geçen gün artış göstermesi nedeniyle, bunların olası genotoksik etkileri başta insan lenfositleri olmak üzere farklı diğer memeli primer hücreler, hücre hatları ve *in vivo* olarak farklı doku ve hücreler kullanılarak araştırılmaktadır. Ancak, nanopartiküllerin genotoksik etkileri konusunda bitkilerde yapılan araştırmalar daha azdır. Bitkiler, neredeyse tüm canlıların besin maddeleri oldukları, ekosistemde önemli rollere sahip oldukları ve genotoksikite araştırmalarında önemli model organizmalar olduklarından bunlar üzerindeki genotoksik araştırmalar da bu derlemenin kapsamına dâhil edilmiştir [52, 53].

Bakır oksit nanopartiküllerinin genotoksik etkilerini araştırmak amacıyla yüzey aktif madde içermeyen bakır oksit nanopartikülleri ve yüzey aktif madde olan sürfaktan setiltrimetil amonyum bromür (CTAB) ile sentezlenen CuO nanopartiküllerinin *A. cepa*'daki toksik potansiyelleri analiz edilmiştir. Nanopartiküllerin mitotik indekste azalma ve sitotoksik parametrelerde doza bağlı bir artış meydana getirdiği tespit edilmiştir. CuO nanopartiküllerinin katalitik aktivitesinin, yüzey aktif madde CTAB ilavesiyle daha da arttığı ve daha toksik olduğu bildirilmiştir [100]. Test materyali olarak *A. cepa*'ya

farklı dozlarda uygulanan silikon dioksit ve bakır oksit nanopartikülleri de çeşitli anormallikler meydana getirmiştir. Her iki nanopartikül de *A. cepa* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünmenin değişik fazlarında yapışıklık, geri kalmış kromozom, ileri gitme, multipolarite, poliploidi, C-metafaz, fragment ve binükleat gibi anormallikler oluşturmuştur. Bütün bu anormalliklerin, daha sonra başka mutasyonlara ve malign transformasyonlara dönüşmesi nedeniyle, insan sağlığı açısından risk taşıdığı belirtilmektedir [101].

Sun ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, çinko oksit NP'lerinin *A. cepa*'da toksik olduğu, çünkü kök ucunda büyümede gerilemeye, membran bütünlüğünde bozulmaya, metabolik aktivitede azalmaya, DNA hasarında artışa ve hücre ölümüne sebep olduğu bildirilmiştir. Bu etkinin sadece Zn^{+2} iyonlarından değil, aynı zamanda ZnO NP'lerinin kendilerinden de kaynaklandığı rapor edilmiştir [69]. Benzer şekilde Ghodake ve arkadaşları, ZnO NP'lerinin bitki kök sisteminde birikmesi nedeniyle *A. cepa*'da büyümeyi engellediğini ve aynı zamanda hücre ve kromozom düzeyinde hasarlara sebep olduğunu vurgulamışlardır [102]. ZnO NP'lerinin 4 farklı konsantrasyonunda (1,5, 360, $7,6 \times 10^5$ ve 1×10^8 ng/L) 48 saat bekletilen soğan kök uçlarında da mitotik indekste ve kromozom anormalliklerinde doza bağlı anlamlı değişiklikler tespit edildiğinden, ZnO NP'lerinin soğan kök uçlarında genotoksik olduğu belirtilmiştir [103].

Son yıllarda demir oksit nanopartikülleri radyolojik teşhis ve tedavi uygulamalarında, biyolojik sıvıların detoksifikasyonunda, immünotestlerde ve ilaç taşınması gibi pek çok işlevde yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Bu kadar yaygın kullanım nedeniyle, demir oksit (Fe_2O_3) nanopartiküllerinin farklı ebatları ile (<50 nm ve <100 nm), *A. cepa*'da yürütülen ve 0,001, 0,01, 0,1, 1 ve 10 mM'lık konsantrasyonların kullanıldığı bir çalışmada, mitotik indekste anlamlı düşüşler ve kromozom anormalliklerinde ise anlamlı artışlar tespit edilmiştir. Komet testinde de DNA hasarında hem konsantrasyona ve hem de uygulama süresine paralel şekilde bir artış bildirilmiştir. <50 nm Fe_2O_3 NP'lerinin, <100 nm Fe_2O_3 NP'lerine kıyasla daha toksik olduğu vurgulanmıştır [53].

Son yıllarda gümüş nanopartiküllerinin ticari ürünlerdeki kullanımı her geçen gün arttığından ve insan maruziyeti de giderek yükseldiğinden, bir grup araştırmacı, bu partiküllerin *A. cepa*'daki sitotoksik ve genotoksik etkilerini araştırmıştır. *A. cepa* kök uçları, 10, 20, 51 ve 73 nm ebatındaki TiO_2 NP'leri ve mikron ebatlı gümüş partiküllerinin 100 mg/mL'lik konsantrasyonu ile muamele edilmiş ve takiben çimlenme indeksi (Çİ), kök uzunluğu (KU), mitotik indeks (Mİ), nükleer anormallik (NA) ve mikronükleus indeksi (MNİ) değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, nanopartiküllerin köklerdeki meristematik hücrelerden içeriye penetre olduğunu ve ayrıca Mİ, Çİ, NA ve MNİ değerlerinde de değişikliklere sebep olduğunu göstermiştir. Bu değerlerin, nanopartiküllerin ebatlarına göre değiştiği, partikül ebatı küçüldükçe hücrelerde gözlenen sitotoksik ve genotoksik etkilerin arttığı vurgulanmıştır [104].

Silikon dioksit nanopartikülünün *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki uygulamaları sonucunda, muamele süresi arttıkça, mitotik indeks düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. Aynı şekilde ZnO ve CuO nanopartiküllerinin farklı uygulama sürelerinin tüm dozlarda mitotik indeksi kontrole kıyasla azalttığı vurgulanmıştır. Elde edilen veriler ışığında, *A. cepa*'ya uygulanan bu nanopartiküllerin, kontrole göre mitotik indeksi anlamlı şekilde düşürdüğü ve anafaz köprüsü, yapışıklık, kırılma, gecikmeli kromozom, düzensiz dağılım ve binükleat hücreler gibi kromozomal anormalliklere sebep olduğu belirlenmiştir [105]. Bir diğer çalışmada, silikon dioksit nanopartiküllerinin sitotoksitesisi ve genotoksitesisi *Allium* anafaz-telofaz ve komet testleri ile değerlendirilmiştir. SiO_2 NP'lerine maruziyetin, mitotik indekste doza bağlı artışa sebep olduğu ve bu nedenle daha yüksek konsantrasyonların daha fitotoksik olduğu

rapor edilmiştir. SiO₂ NP'lerinin *A. cepa* kök ucu anafaz-telofaz hücrelerinde, kontrol grubuna göre, kromozom anormalliklerini anlamlı şekilde artırdığı belirtilmiştir. Bu partiküllerin bozulmuş anafaz-telofaz, kalgın kromozom, yapışıklık ve anafaz köprüsü gibi anormallikleri tetiklediği vurgulanmıştır. Sonuç olarak, SiO₂ NP'lerinin *A. cepa* kök meristem hücreleri üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkilere neden olduğu belirtilmiştir [106]. Farklı boyutlardaki titanyum dioksit ve çinko oksit nanopartiküllerinin komet testi ile incelenmesi sonucunda da birincil DNA hasarı oluşturabileceği rapor edilmiştir. Bu sonuçlar nedeniyle araştırmacılar, ZnO NP'lerinin *A. cepa* kök ucu hücrelerinde klastojenik, genotoksik ve sitotoksik bir ajan olabileceğini bildirmiştir [107]. Nanopartiküllerin *A. cepa*'da genotoksik risk oluşturduğunu belirten araştırmaların yanında, bunun tam tersi, genotoksik risk taşımadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır. SiO₂ nanopartiküllerinin *A. cepa*'daki sitotoksik etkilerin değerlendirildiği bir incelemede, yüksek doz SiO₂ NP'lerinin, *A. cepa*'nın meristematik hücrelerinde sitotoksik etkilere neden olduğu ancak genotoksik etkilere neden olmadığı belirtilmiştir [108].

TiO₂ NP'leri, *A. cepa*'da tohum çimlenmesi ve meristematik kök hücrelerinde mitoz bölünmenin bir miktar baskılanmasına sebep olmuştur. Aynı zamanda konsantrasyon artışına bağlı bir şekilde ciddi DNA hasarları (KA ve MN) da meydana getirmiştir [109]. TiO₂ NP'lerinin dört farklı süspansiyonu (12,5, 25, 50 ve 100 µg/mL) ile gerçekleştirilen bir araştırmada, mitotik indekste doza bağlı azalma, kromozom anormalliklerinde ise belirgin bir artış gözlenmiştir. Optik, floresan ve konfokal tarama mikroskoplarıyla kromozomlarda kırık, yapışık kromozom, multipolar ve geri kromozom ve ayrıca mikronukleus oluşumları tespit edilmiştir. Bu hasarlar aynı zamanda komet testi ile de doğrulanmıştır. Bütün bu hasarların TiO NP'lerinin hücre içine alınmasından kaynaklandığı, bu nedenle hücrede reaktif oksijen türleri oluşturduğu ve sonuçta DNA hasarlarına sebep olduğu ve genotoksik bir etki sergilediği belirtilmiştir [110].

Titanyum dioksit ve silikon dioksit nanopartiküllerinin ultraviyole A ile ışınlanmış veya ışınlanmamış süspansiyonlarındaki etkisini incelemek amacıyla *A. cepa*'da yürütülen bir araştırmada, fotokatalitik potansiyele sahip TiO₂ nanopartiküllerinin reaktif potansiyeli, aynı ebatlarda fakat fotokatalitik olmayan SiO₂ nanopartikülleri ile karşılaştırılmıştır. SiO₂ ve TiO₂ nanopartiküllerinin yüksek maruziyet konsantrasyonlarında bile tek tek önemli biyolojik etkiler göstermediği ve kısa maruziyetten sonra oksidatif durumda önemli değişikliklere neden olmadığı vurgulanmıştır. Bu durumun, bitkilerin hücre duvarı nedeniyle nanopartiküllere karşı korunmasından kaynaklandığı ifade edilmiştir [111].

A. cepa köklerinin tungsten oksit (WO₃) nanopartiküllerinin beş farklı konsantrasyonunda (12,5, 25, 50, 75 ve 100 mg/L) 4 saat bekletildiği bir araştırmada, mitotik indekste konsantrasyona bağlı azalma, kromozomal anormalliklerde ve DNA hasarında ise anlamlı artışlar olduğu görülmüştür. Bu sebeplerle, WO₃ NP'lerinin *A. cepa* meristematik hücreleri üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkili olduğu sonucuna varılmıştır [111].

3.3. Nanopartiküllerin *Vicia faba* Üzerindeki Etkileri

Çok çeşitli mutajen ve klastojenlerin değerlendirilmesinde bitki biyotestleri son 40 yıldır yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. *V. faba*, kromozom anormalliklerinin tayin edilmesinde önemli faydalar sağladığından ve analizi kolay olan az sayıda (2n=12, 6 çift) kromozoma sahip olduğundan, çevresel kirleticilerin *in situ* değerlendirilmesi için basit, hassas, ucuz ve güvenilir bir biyotest olarak kullanılmaktadır [113].

Çinko oksit NP'lerinin 50,00 ve 37,50 µg/mL'lik konsantrasyonlarının *V. faba* bitkisinde, 4 ve 24 saat uygulaması sonucunda, mitotik ve mayotik bölünme esnasında oluşturduğu genotoksik etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, konsantrasyon ve muamele sürelerinin artışına bağlı olarak, oluşturduğu hasarların frekansında da artışlar olduğu bildirilmiştir. Konsantrasyon arttıkça genetik kalıp stabilitesi (Genetic Template Stability-GTS) değerlerinde bir azalma gözlenmiştir. Yüksek GTS değeri, genomun DNA'sında daha kararlı bir yapıyı gösterirken, düşük GTS değeri, daha fazla DNA değişikliği olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, ZnO NP'lerinin *V. faba* bitkisinde, mitotik ve mayotik bölünmeyi engelleyerek ve kromozomal hasarları artırarak oluşturduğu sitotoksik ve genotoksik etkileri, DNA bant profilleri üzerindeki etkileri ile de doğrulanmıştır. Daha yüksek konsantrasyonlardaki çinko oksit nanopartiküllerinin, dolaylı olarak insan populasyonları için de sağlık risklerine neden olabilecek genotoksik etkiler oluşturabileceği vurgulanmıştır [113].

Ticari ürünler nedeniyle kullanımı son yıllarda önemli ölçüde artış gösteren gümüş nanopartiküllerinin, memeli ve insan hücre dizilerindeki toksik etkilerini belirlemek için bazı çalışmalar yapılmış olsa da ekosistemde hayati bir rol oynayan bitkiler hakkında çok az bilgi vardır. Patlolla ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada *V. faba* kök uçları, Ag NP'lerinin dört farklı süspansiyonu ile (12,5, 25, 50 ve 100 µg/mL) muamele edilmiştir. Meristematik hücrelerde yapılan incelemeler sonucunda, gümüş nanopartiküllerinin kromozom anormallikleri ve mikronukleus frekansını anlamlı şekilde artırdığı ve mitotik indeksi anlamlı düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir. Nanopartiküllerin, kromatid kırığı, izokromatid kırığı, asentrik fragment, translokasyon ve gap şeklinde anormallikler oluşturduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak Ag NP'lerinin kök meristematik hücrelerine penetre olduğu, hücre döngüsünde mitoz esnasında toksik etki gösterdiği ve bitki hücrelerinde genotoksik olduğu vurgulanmıştır. DNA ve kromozomlarda hasara sebep olan ajanların genomik kararsızlığa ve takiben kanser gelişimine yatkınlık oluşturması nedeniyle daha detaylı araştırmalar yapılması gerektiği belirtilmiştir [112].

Başka bir çalışmada da AgNP'lerinin 20, 50 ve 65 nm'lik partiküllerinin 50 ppm'lik dozları, 6, 12 ve 24 saat süreyle *V. faba* kök uçlarına uygulanmıştır. Çimlenme yüzdesi etkilenmemekle birlikte, kök uzunluğu, mitotik indeks ve kromozom morfolojileri bu uygulamalardan ciddi şekilde etkilenmiştir. Ebat küçüldükçe ve muamele süresi uzadıkça, mitotik indeks ve kök uzunluğunda düşüş ve anormal hücre sayısında artış tespit edilmiştir. Metafaz ve anafazda düzensiz kromozomlar, geri kromozomlar, köprü, yapışıklık ve mikronukleus oluşumları gözlenmiştir [114]. Nanopartiküllerin *V. faba*'da genotoksik risk oluşturduğunu belirten araştırmaların yanında, bunun tam tersi herhangi bir genotoksik risk taşımadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır. AgNP'lerinin (19,8 nm) toksik etkisinin incelendiği bir çalışmada, partiküllerin incelenen konsantrasyonlarda çimlenme yüzdesi, çimlenme katsayısı, hızı ve ortalama çimlenme süresi açısından *V. faba* tohum çimlenmesi üzerinde hiçbir toksik etki göstermediği bildirilmiştir [115].

Titanyum dioksit ve silikon dioksit nanopartiküllerinin *V. faba* üzerindeki genotoksik etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (25, 50 ve 75 mg/L) bekletilen *V. faba*'da, kontrole kıyasla farklı sonuçlar meydana geldiği gözlenmiştir. TiO₂ NP'lerinin incelenen tüm konsantrasyonlarda sürgünlerin boyunda ve canlılık indeksinde azalmaya sebep olduğu fakat çimlenme yüzdesi ve kök uzunluğunda herhangi bir etki oluşturmadığı bildirilmiştir. Diğer yandan, toplam kromozomal anormalliklerin, nano-SiO₂ uygulamasında doza bağlı olarak, nano-TiO₂'te dozdan bağımsız olarak arttığı belirtilmiştir. İncelenen konsantrasyonlarda, *V. faba*'da erken bitki gelişimi ve kromozomlardaki hasar açısından nano-TiO₂'in nano-SiO₂'den daha toksik olduğu ifade edilmiştir [54]. Laboratuvarında sentezlenen ve 60-300 nm ebatlarındaki TiO₂ NP'leri ile (15, 30, 60, 120 ve 240 mg/L

veya 1,5, 3, 6, 12 ve 24 mg/L) muamele edilen *V. faba*'da, mayotik aktivitede önemli değişiklikler olduğu, bu değişikliklerin de sonuçta bitkinin üreme hücrelerinde kromozomal anormalliklerde anlamlı artışlara sebep olduğu bildirilmiştir. Metafazda, yapışıklık ile birlikte univalentler ve bivalent kromozomların ayrılması gibi çeşitli mayotik anormallikler gözlenmiştir. Polen ana hücrelerinin %95'inde, diyakinez/metafaz-I'deki univalent kromozom sayısının 2-12 arasında değiştiği ve kiazma sayısında anlamlı düşüşler olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, mitotik anormalliklere benzer şekilde kromozom kırıkları, gap, köprü, düzensiz metafaz ve hücre duvarında bozulma gibi çeşitli anormallikler de tespit edilmiştir [116]. TiO₂ NP'leri ile yapay yaşlandırma işlemine tabi tutulan *V. faba* bitki modelinde nanopartikül sıvı fazda test edilmiştir. 48 saat boyunca üç farklı konsantrasyona maruz bırakılan bitkide, büyümenin ve genotoksisitenin kontrollere kıyasla değişiklik göstermediği ve oksidatif stres biyobelirteçlerinin sürgünlerde değişmeden kaldığı gözlenmiştir [117]. Bütün bu sonuçlar, nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik potansiyelleri konusundaki araştırmaların bir yandan yetersiz olduğunu diğer yandan da halen çelişkili olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkileri konusunda halen detaylı çalışmalar yapılması gerektiği görülmektedir.

4. NANOPARTİKÜLLERİN GENOTOKSİK ETKİ MEKANİZMALARI

Yapılan kaynak taramalarına göre, nanopartiküller hücrelerde sitotoksik ve genotoksik etkiler oluşturabilmektedir. Nanopartiküllerin genetik materyal ile etkileşimi ve sonuçları, hücrenin interfaz veya mitozda olmasına göre farklılıklar göstermektedir. Nanopartiküllerin etki mekanizmaları tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte iki önemli mekanizmadan söz edilmektedir. Bunlar primer (birincil) ve sekonder (ikincil) mekanizmalardır. Primer genotoksisite, doğrudan (direkt) veya dolaylı (indirekt) etki mekanizmaları ile ortaya çıkmaktadır. Doğrudan genotoksik mekanizma, nanopartiküllerin ya difüzyon ya da endositoz yoluyla hücre zarını ve çekirdek zarını geçmesinden sonra, DNA ile fiziksel veya kimyasal etkileşimleri sonucunda (DNA bazları arasında bağlanma düzeyini, fosforilasyonu, DNA'da eklenti oluşumunu etkileyerek veya gen ekspresyonu/regülasyonunu değiştirerek) ortaya çıkmaktadır [119]. Nanopartiküller, interfaz esnasında çekirdeğe ve DNA'ya ulaşır ve etkileşime girerse, replikasyon veya transkripsiyonda değişimler veya DNA'nın yapısında mekanik veya kimyasal değişimler oluşturabilirler. NP'ler eğer mitoz esnasında hücreye ulaşırsa, kromozomlarla mekanik veya kimyasal şekilde etkileşime girer ve klastojenik (kromozom kırığı) veya anöjenik (iğ iplikleri üzerinde-kromozom kaybı) etkiler oluşturur [27]. Dolaylı genotoksik mekanizmada, nanopartiküller, DNA ile veya doğrudan mekanizmalardaki hedeflerle değil, çekirdek proteinleri ile mekanik veya kimyasal etkileşime girerek hücre döngüsündeki kontrol noktalarının işleyişini bozabilir, antioksidan enzimlerle etkileşime girebilir, reaktif oksijen türleri oluşturabilir ve hatta hücre döngüsündeki proteinlerin aktivitesini engelleyerek hücre döngüsünde bozulmaya sebep olabilir. NP'lerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri de DNA onarım fonksiyonlarında bozulma veya azalmaya, oksidatif strese artışa, mitokondri veya hücre membranında bozulmaya, antioksidanların azalmasına ve değişmiş gen ekspresyonlarına sebep olabilir. Reaktif oksijen türleri hem DNA hasarına ve hem de hücre ölümüne sebep olmaktadır [27, 118-119]. Sekonder genotoksik mekanizma, nanopartiküllerin sebep olduğu inflamasyonu takiben, inflamatuvar yanıtı uyarması, oluşan inflamasyon sonucunda bölgeye nötrofil ve makrofajların toplanması ve bu hücrelerin aşırı ROT oluşumunu tetiklemesiyle meydana gelir. Bu ROT'leri de sonuçta genetik materyalde ve kromozomlarda yapısal hasarlara neden olabilmektedir [93]. Nanopartikül tarafından tetiklenen hasarın cinsi ve düzeyinde hem nanopartikülün fizikokimyasal özellikleri hem de maruziyet ortamı önemli rol oynamaktadır [120-122].

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Nanoteknolojinin temelini oluşturan nanopartiküller, nano boyutları sayesinde yeni kazandıkları boyut, şekil, yüzey alanı, yüzey yükü ve çözünürlük gibi pek çok fizikokimyasal özellikleri nedeniyle, hayatımızın birçok alanında yer edinmeye başlamıştır. Nanopartiküller, sahip oldukları üstün özellikleri nedeniyle, elektronik, tekstil, boya sanayii, askeri malzemeler, gıda, biyomedikal ve otomotiv sektörleri gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin yaygın şekilde üretilmesi ve kullanılması ile bir yandan insanların maruziyetinin giderek artış göstermesi, diğer yandan bunların atıklarında da artışlar olması hem insanlarda hem de ekosistemde bulunan tüm canlılarda doğrudan veya dolaylı sağlık riskleri oluşturmaktadır. Bütün bu sebeplerden dolayı, nanopartiküllerin toksik, özellikle genotoksik etkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Bakır oksit, çinko oksit, demir oksit, gümüş, kobalt-krom, silisyum, titanyum ve tungsten nanopartikülleri, antimikrobiyal, yüksek biyolojik reaktivite ve biyosidal özelliklerinden dolayı tıp, mühendislik, eczacılık, tarım, gıda, boya ve tekstil alanlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu nedenle bu partiküllere maruziyet her geçen gün artış göstermektedir.

Maruz kalınan kimyasal maddelerin genotoksik risk taşıyıp taşımadığını belirlemek amacıyla kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi, mikronukleus ve komet testleri en yaygın kullanılan testlerdir. Bu testler *in vitro* insan lenfositlerinde uygulandığı gibi, *A. cepa* ve *V. faba* gibi bazı bitki türlerinde *in vivo* olarak da uygulanmaktadır.

Bazı çelişkili sonuçlar bulunmakla beraber, elde edilen verilere göre, nanopartiküllerin ebatları küçüldükçe ve konsantrasyonu ve maruziyet süresi arttıkça, genelde toksik etkilerinde de artışlar olduğu görülmektedir. Bu da bir yandan hücre döngüsü ve mitotik indekste değişimlere, diğer yandan kromozom ve kromatid kırığı, fragment, yapışıklık, köprü, geri kromozom ve mikronukleus gibi belirgin anormalliklere sebep olmaktadır. Eğer hücrede DNA onarım mekanizmaları bu anormallikleri uygun şekilde onaramazsa, sonuçta genetik materyal kaybına ve mutasyonlara bunlar da başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir. Bu nedenle, nanopartiküllerin neden olduğu hasarların genetik ve epigenetik mekanizmalarını anlayabilmek için, farklı partiküller, konsantrasyonlar, uygulama süreleri, organizmalar, hücreler, hücre hatları ve test sistemleri kullanılarak daha detaylı *in vitro* ve *in vivo* araştırmalar yapılması gerekmektedir.

Yapılan araştırmalardan elde edilen bulgulara göre, bazı sonuçlar, nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik olduğunu gösterirken, diğer bazı araştırma sonuçları bu maddelerin hiçbir toksik etki sergilemediğini göstermektedir. Bunlar da nanopartiküllerin toksik ve genotoksik etkilerinin hâlen tartışmalı bir konu olduğunu desteklemektedir. Yapılan araştırmalar, nanopartikül kaynaklı genotoksisitenin birincil ya da ikincil genotoksisite mekanizmalarıyla ortaya çıkabileceğini vurgulamaktadır [123]. Birincil genotoksisite, parçacıklar ve genomik DNA arasındaki doğrudan fiziksel etkileşimden ve iltihaplanma yokluğunda ROT aracılı DNA hasarını ifade eder. İkincil genotoksisite, reaktif oksijen türlerinin ve reaktif nitrojen türlerinin (RNT) yanı sıra partikül kaynaklı iltihaplanma ve akut faz tepkisi sırasında oluşan diğer ikincil araçların (sitokinler, kemokinler) etkisinin bir sonucu olarak DNA hasarını ifade eder [124].

Bütün bu bilgiler, nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkileri konusunda hâlâ tartışmaların ve çelişkilerin olduğunu, bu nedenle çok farklı organizmalar, hücreler ve testler ile daha detaylı araştırmalar

yapılması gerektiğini göstermektedir. Böylece bir yandan nanopartiküllerin toksik etkilerinden korunurken, diğer yandan onlardan en sağlıklı şekilde yararlanma imkânı sağlanabilecektir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Oleszczuk, P., and Winiarska-Mieczan, A. (2020). Effects of titanium dioxide nanoparticles exposure on human health. *Biological Trace Element Research*, 193, 118-129.
- [2] Yin, I.X., Zhang, J., Zhao, I.S., Mei, M.L., Li, Q., and Chu, C.H. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 2555-2562.
- [3] Ahamed, A., Liang, L., Lee, M.Y., Bobacka, J., and Lisak, G. (2021). Too small to matter? Physicochemical transformation and toxicity of engineered nTiO₂, nSiO₂, nZnO, carbon nanotubes, and nAg. *Journal of Hazardous Materials*, 124107.
- [4] Kohl, Y., Rundén-Pran, E., Mariussen, E., Hesler, M., El Yamani, N., Longhin, E.M., and Dusinska, M. (2020). Genotoxicity of nanomaterials: advanced *in vitro* models and high throughput methods for human hazard assessment. *Nanomaterials*, 10, 1-25.
- [5] AlQuraidi, A.O., Mosa, K.A. and Ramamoorthy, K. (2019). Phytotoxic and genotoxic effects of copper nanoparticles in coriander (*Coriandrum sativum*-Apiaceae). *Plants*, 8(1), 19.
- [6] Ealia, S.A.M., and Saravanakumar, M.P. (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263, 032019.
- [7] Edebali, S. ve Ersöz, M. (2018). Seramik nanopartiküller. *Nanoteknolojinin Temelleri*, 181-186.
- [8] Rodriguez-Garraus, A., Azqueta, A., Vettorazzi, A., and Lopez de Cerain, A. (2020). Genotoxicity of silver nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(2), 251.
- [9] Uyanıkgil, E.Ö.Ç. ve Salmanoğlu, D.S., (2020). Metalik nanopartiküllerin hedeflendirilmesi. *Ege Tıp Dergisi*, 59 (1), 71-81.
- [10] Demirkan, A. (2019). Nanoteknolojinin insan sağlığına faydalı ve zararlı yönleri. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 9(2), 136-148.
- [11] Giorgetti, L. (2019). Effects of nanoparticles in plants: phytotoxicity and genotoxicity assessment. *Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms*, 65-87.
- [12] Martínez, G., Merinero, M., Pérez-Aranda, M., Pérez-Soriano, E.M., Ortiz, T., Begines, B., and Alcudia, A. (2020). Environmental impact of nanoparticles' Application as an Emerging Technology. *Materials*, 14(1), 1-26.
- [13] Cornu, R., Béduneau, A., and Martin, H. (2020). Influence of nanoparticles on liver tissue and hepatic functions. *Toxicology*, 430, 152344.
- [14] Raja, G., Jang, Y.K., Suh, J.S., Kim, H.S., Ahn, S.H., and Kim, T.J. (2020). Microcellular environmental regulation of silver nanoparticles in cancer therapy. *Cancers*, 12, 664.
- [15] García-Rodríguez, A., Rubio, L., Vila, L., Xamena, N., Velázquez, A., Marcos, R. and Hernández, A. (2019). The comet assay as a tool to detect the genotoxic potential of nanomaterials. *Nanomaterials*, 9(10), 1385.
- [16] Gattoo, M.A., Naseem, S., Arfat, M.Y., Dar, A.M., Qasim, K., and Zubair, S. (2014). Physicochemical properties of nanomaterials: Implication in associated toxic manifestation. *BioMed Research International*, 498420.
- [17] Schneider, G. (2017). Antimicrobial silver nanoparticles-regulatory situation in the European Union. *Materials Today: Proceedings*, 4, S200-S207.
- [18] Beykaya, M., ve Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16, 035403, 631-641.
- [19] Eraslan, T. (2020). *Daphne oleoides*'den Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Necmettin Erbakan Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya. 99.

- [20] Altınar, A., Atalay, H., and Bilal, T. (2018). Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. *Bahkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 51-55.
- [21] Fresegna, A.M., Ursini, C.L., Ciervo, A., Maiello, R., Casciardi, S., Iavicoli, S., Cavallo, D. (2021). Assessment of the influence of crystalline form on cyto-genotoxic and inflammatory effects induced by TiO₂ nanoparticles on human bronchial and alveolar cells. *Nanomaterials*, 11, 253.
- [22] Chang, X., Wang, X., Li, J., Shang, M., Niu, S., Zhang, W., Li, Y., Sun, Z., Gan, J., Li, W., Tang, M., and Xue, Y. (2021). Silver nanoparticles induced cytotoxicity in HT22 cells through autophagy and apoptosis via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111696.
- [23] Mecwan, M., Das, M., Thakore, S., Bakshi, S.R. (2021). *In-vitro* study on genotoxicity of green synthesized silver nanoparticles. *Nano Biomedicine and Engineering*, 13(1), 72-81.
- [24] Agnihotri, R., Gaur, S., and Albin, S. (2020). Nanometals in dentistry: applications and toxicological implications. *Biological Trace Element Research*, 197, 70-88.
- [25] Assadian, E., Zarei, M.H., Gilani, A.H., Farshin, M., Degampanah, H., and Pourahmad, J. (2018). Toxicity of copper oxide (CuO) nanoparticles on human blood lymphocytes. *Biological Trace Element Research*, 184, 350-357.
- [26] Saygılı, Y. (2015). Bazı nanopartiküllerin (SiO₂, CuO, Fe₂O₃) *in vitro* periferal insan lenfositlerinde genotoksik etkileri. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 125.
- [27] Barillet, S., Jugan, M.L., Laye, M., Leconte, Y., Herlin-Boime, N., Reynaud, C., and Carrière, M. (2010). *In vitro* evaluation of SiO nanoparticles impact on A549 pulmonary cells: Cyto-genotoxicity and oxidative stress. *Toxicology Letters*, 198(3), 324-330.
- [28] Foldbjerg, R., Dang, D. A., and Autrup, H. (2011). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549. *Archives of Toxicology*, 85(7), 743-750.
- [29] Wang, J., Che, B., Zhang, L. W., Dong, G., Luo, Q., and Xin, L. (2017). Comparative genotoxicity of silver nanoparticles in human liver HepG2 and lung epithelial A549 cells. *Journal of Applied Toxicology*, 37(4), 495-501.
- [30] Sharma, V., Anderson, D., and Dhawan, A. (2011). Zinc oxide nanoparticles induce oxidative stress and genotoxicity in human liver cells (HepG2). *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 7(1), 98-99.
- [31] Brandão, F., Fernández-Bertólez, N., Rosário, F., Bessa, M.J., Fraga, S., Pásaro, E., and Costa, C. (2020). Genotoxicity of TiO₂ nanoparticles in four different human cell lines (A549, HEPG2, A172 and SH-SY5Y)”. *Nanomaterials*, 10(3), 412.
- [32] Fernández-Bertólez, N., Costa, C., Bessa, M.J., Park, M., Carriere, M., Dussert, F., Teixeira, J.P., Pásaro, E., Laffon, B., and Valdiglesias, V. (2019). Assessment of oxidative damage induced by iron oxide nanoparticles on different nervous system cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 845, 402989.
- [33] Fernández-Bertólez, N., Brandão, F., Costa, C., Pásaro, E., Teixeira, J. P., Laffon, B., and Valdiglesias, V. (2021). Suitability of the *in vitro* cytokinesis-block micronucleus test for genotoxicity assessment of TiO₂ nanoparticles on SH-SY5Y cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8558.
- [34] Chen, Z., Wang, Y., Ba, T., Li, Y., Pu, J., Chen, T., and Jia, G. (2014). Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles *in vivo* and *in vitro*. *Toxicology Letters*, 226 (3), 314-319.
- [35] Meena, R., Kajal, K., and Paulraj, R. (2015). Cytotoxic and genotoxic effects of titanium dioxide nanoparticles in testicular cells of male wistar rat. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175(2), 825-840.
- [36] Ghosh, M., Ghosh, I., Godderis, L., Hoet, P. and Mukherjee, A. (2019). Genotoxicity of engineered nanoparticles in higher plants. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 842, 132-145.
- [37] López-Moreno, M. L., de la Rosa, G., Hernández-Viezcas, J. Á., Castillo-Michel, H., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L. (2010). Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environmental Science and and Technology*, 44(19), 7315-7320.
- [38] Shaymurat, T., Gu, J., Xu, C., Yang, Z., Zhao, Q., Liu, Y. and Liu, Y. (2012). Phytotoxic and genotoxic effects of ZnO nanoparticles on garlic (*Allium sativum* L.): A morphological study. *Nanotoxicology*, 6(3), 241-248.

- [39] Rafique, S., Zahra, Z., Virk, N., Shahid, M., Pinelli, E., Park, T.J., Kallerhoff, J., and Arshad, M. (2018). Dose-dependent physiological responses of *Triticum aestivum* L. to soil applied TiO₂ nanoparticles: Alterations in chlorophyll content, H₂O₂, production, and genotoxicity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 255, 95-101.
- [40] Bellani, L., Muccifora, S., Barbieri, F., Tassi, E., Castiglione, M.R., Giorgetti, L. (2020). Genotoxicity of the food additive E171, titanium dioxide, in the plants *Lens culinaris* L. and *Allium cepa* L. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental. *Mutagenesis*, 849, 503142.
- [41] Waani, S.P.T., Irum, S., Gul, I., Yaqoob, K., Khalid, M.U., Ali, M.A., Manzoor, U., Noor, T., Ali, S., Rizwan, M., and Arshad, M. (2021). TiO₂ nanoparticles dose, application method and phosphorous levels influence genotoxicity in Rice (*Oryza sativa* L.), soil enzymatic activities and plant growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 213, 111977.
- [42] Kim, H.R., Park, Y.J., Da Young Shin, S.M.O., and Chung, K.H. (2013). Appropriate *in vitro* methods for genotoxicity testing of silver nanoparticles. *Environmental Health and Toxicology*, 28, e2013003.
- [43] Cao, Y., Li, S., and Chen, J. (2020). Modeling better *in vitro* models for the prediction of nanoparticle toxicity. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31(1), 1-17.
- [44] Di Virgilio, A.L., Reigosa, M., Arnal, P.M., and Fernández Lorenzo de Mele, M. (2010). Comparative study of the cytotoxic and genotoxic effects of titanium oxide and aluminium oxide nanoparticles in Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1-3), 711-718.
- [45] Azim, S.A.A., Darwish, H.A., Rizk, M.Z., Ali, S.A., and Kadry, M.O. (2015). Amelioration of titanium dioxide nanoparticles-induced liver injury in mice: Possible role of some antioxidants. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 67, 305-314.
- [46] Martins Jr, A.D.C., Azevedo, L.F., de Souza Rocha, C.C., Carneiro, M.F.H., Venancio, V.P., de Almeida, M.R., Antunes, L.M.G., Hott, R.C., Rodrigues, J.L., Ogunjimi, A.T., Adeyemi, J.A, and Barbosa Jr, F. (2017). Evaluation of distribution, redox parameters, and genotoxicity in Wistar rats co-exposed to silver and titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 80(19-21), 1156-1165.
- [47] Patlolla, A. K., Hackett, D., and Tchounwou, P. B. (2015). Genotoxicity study of silver nanoparticles in bone marrow cells of Sprague-Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*, 85, 52-60.
- [48] Golbamaki, A., Golbamaki, N., Sizochenko, N., Rasulev, B., Leszczynski, J., and Benfenati, E. (2018). Genotoxicity induced by metal oxide nanoparticles: A weight of evidence study and effect of particle surface and electronic properties. *Nanotoxicology Informa UK Limited, Trading as Taylor and Francis Group*, 12, 1113-1129.
- [49] Kazimirova, A., Baranokova, M., Staruchova, M., Drlickova, M., Volkovova, K., and Dusinska, M. (2019). Titanium dioxide nanoparticles tested for genotoxicity with the comet and micronucleus assays *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo*. *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 843, 57-65.
- [50] Nadaroğlu, H., Alaylı, A., Çeker, S., Ögütçü, H., and Agar, G. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles and investigation of genotoxic effects and antimicrobial activity. *International Journal of Nano Dimension*, 11, 158-167.
- [51] Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H. M., He, X., Mbarki, S. and Brestic, M. (2017). Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers In Chemistry*, 5, 78.
- [52] Ünal, F., Helvacı Tülek, N.D., Yüzbaşıoğlu, ve D., Çelik, M. (2020). Methidathion insektisit/akarisitinin sitotoksik ve genotoksik potansiyelinin *Allium* testi ile incelenmesi. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 1 (1-2), 1-12.
- [53] Kaygisiz, S.Y., and Cigerci, I.H. (2017). Genotoxic evaluation of different sizes of iron oxide nanoparticles and ionic form by SMART, *Allium* and comet assay. *Toxicology and Industrial Health*, 33(10), 802-209.
- [54] Galal, A.O., Thabet, F.A., Tuda, M., and El-Samahy, F.M. (2020). RAPD Analysis of Genotoxic Effects of Nano-Scale SiO₂ and TiO₂ on Broad Bean (*Vicia faba* L.). *Journal-Faculty of Kyushu University*, 65 (1), 57-63.
- [55] Karkucak, M. (2016). Kromozom anomalileri ve fertilité problemleri. *Androloji Bülteni*, 18(64), 33-39.
- [56] Abdel-Khalek, A. A., Al-Quraishy, S., and Abdel-Gaber, R. (2021). Silver nanoparticles induce time- and tissue-specific genotoxicity in oreochromis niloticus: Utilizing the adsorptive capacities of fruit peels to minimize genotoxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1-9.
- [57] Di Giampaolo, L., Zaccariello, G., Benedetti, A., Vecchiotti, G., Caposano, F., Sabbioni, E., Groppi, F., Manenti, S., Niu, Q., Poma, A.M.G., Gioacchino, M.D., and Petrarca, C. (2021). Genotoxicity and immunotoxicity of titanium dioxide-embedded mesoporous silica nanoparticles (TiO₂@ msn) in primary peripheral human blood mononuclear cells (PBMC). *Nanomaterials*, 11(2), 270.

- [58] Şekeroğlu, Z. A., ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229.
- [59] Tumini, E., and Aguilera, A. (2021). The sister-chromatid exchange assay in human cells. *In Homologous Recombination*, 383-393.
- [60] Kwasniewska, J., and Bara, A. (2020). EdU-based step-by-step method for the detection of sister chromatid exchanges for application in plant genotoxicity assessment. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1146.
- [61] Mourelatos, D. (2016). Sister chromatid exchange assay as a predictor of tumor chemoresponse. *Mutation Research*, 803-804, 1-12.
- [62] Sommer, S., Buraczewska, I., and Kruszewski, M. (2020). Micronucleus assay: the state of art, and future directions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1534
- [63] Fenech, M., Knasmueller, S., Bolognesi, C., Holland, N., Bonassi, S., and Kirsch-Volders, M. (2020). Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 786, 108342.
- [64] Araldi, R.P., de Melo, T.C., Mendes, T.B., de Sá Júnior, P.L., Nozima, B. H.N., Ito, E. T., Carvalho, R.F., Souza, E.B., and Stocco, R.C. (2015). Using the comet and micronucleus assays for genotoxicity studies: A review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 72, 74-82.
- [65] Antonoglou, O., Lafazanis, K., Mourdikoudis, S., Vourlias, G., Lialiaris, T., Pantazaki, A., and Dendrinou-Samara, C. (2019). Biological relevance of CuFeO₂ nanoparticles: Antibacterial and antiinflammatory activity, genotoxicity, DNA and protein interactions. *Materials Science and Engineering*, 99, 264-274.
- [66] Soria, N.G.C., Aga, D.S., and Gokcumen, G.E.A. (2019). Lipidomics reveals insights on the biological effects of copper oxide nanoparticles in a human colon carcinoma cell line. *Molecular Omics*, 15, 30-38.
- [67] Di Bucchianico, S., Fabbrizi, M. R., Misra, S. K., Valsami-Jones, E., Berhanu, D., Reip, P., Bergamaschi, E., and Migliore, L. (2013). Multiple cytotoxic and genotoxic effects induced *in vitro* by differently shaped copper oxide nanomaterials. *Mutagenesis*, 28(3), 287-299.
- [68] Ekman Nilsson, A., Macias Aragonés, M., Arroyo Torralvo, F., Dunon, V., Angel, H., Komnitsas, K., and Willquist, K. (2017). A review of the carbon footprint of Cu and Zn production from primary and secondary sources. *Minerals*, 7(9), 168.
- [69] Sun, Z., Xiong, T., Zhang, T., Wang, N., Chen, D., and Li, S. (2019). Influences of zinc oxide nanoparticles on *Allium cepa* root cells and the primary cause of phytotoxicity. *Ecotoxicology*, 28(2), 175-188.
- [70] Azem, N.F.A., ve Birlik, I. (2018). Sol-jel yöntemi ile hazırlanmış ZnO nanopartiküllerin optimizasyonu. *Fen ve Mühendislik Dergisi*, 20(58), 121-127.
- [71] Saber, M., Hayaei-Tehrani, R. S., Mokhtari, S., Hoorzad, P., and Esfandiari, F. (2021). *In vitro* cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles in mouse ovarian germ cells. *Toxicology In Vitro*, 70, 105032.
- [72] Akbaba, G.B., and Türkez, H. (2018). Investigation of the genotoxicity of aluminum oxide, β tricalcium phosphate, and zinc oxide nanoparticles *in vitro*. *International Journal of Toxicology*, 37(3), 216-222.
- [73] Yılmaz, H.Ö., Yılmaz, O., and Dağlıoğlu, Y. (2019). Determination of genotoxic effects *in vitro* of ZnO TiO₂ nanoparticles on human peripheral lymphocytes. *Journal of International Environmental Application and Science*, 14(1), 7-12.
- [74] Bhattacharya, D., Santra, C.R., Ghosh, A.N., and Karmakar, P. (2014). Differential toxicity of rod and spherical zinc oxide nanoparticles on human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 10(4), 707-716.
- [75] Khan, M., Naqvi, A.H., and Ahmad, M. (2015). Comparative study of the cytotoxic and genotoxic potentials of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles. *Toxicology Reports*, 2, 765-774.
- [76] Andersson-Willman, B., Gehrmann, U., Cansu, Z., Buerki-Thurnherr, T., Krug, H.F., Gabrielsson, S. and Scheynius, A. (2012). Effects of subtoxic concentrations of TiO₂ and ZnO nanoparticles on human lymphocytes, dendritic cells and exosome production. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 264(1), 92-103.
- [77] Assadian, E., Dezhampannah, H., Seydi, E., and Pourahmad, J. (2019). Toxicity of Fe₂O₃ nanoparticles on human blood lymphocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33(6), e22303.
- [78] Seçkin, H. (2020). Gümüş-kalay alaşım nanopartiküllerinin insan akciğer epitel hücreler üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Uludağ Üniversitesi. 57.
- [79] Vuković, B., Milić, M., Dobrošević, B., Milić, M., Ilić, K., Pavičić, I., Šerić, V., and Vrček, I.V. (2020). Surface stabilization affects toxicity of silver nanoparticles in human peripheral blood mononuclear cells. *Nanomaterials*, 10, 1390.

- [80] Farahani, Z., Parivar, K., Hayati Roodbari, N., and Farhadi, M. (2020). Comparative study of the cytotoxic effect of silver nanoparticles on human lymphocytes and HPB-ALL cell line: As an *in vitro* study. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 22(2).
- [81] Li Y., Qin, T., Ingle, T., Yan, J., He, W., Yin, J., and Chen, T. (2017). Differential genotoxicity mechanisms of silver nanoparticles and silver ions. *Archives of Toxicology*, 91, 509-519.
- [82] Ghosh, M., Manivannan, J., Sinha, S., Chakraborty, A., Mallick, S.K., Bandyopadhyay, M., and Mukherjee, A. (2012). *In vitro* and *in vivo* genotoxicity of silver nanoparticles. *Mutation Research*, 749, 60-69.
- [83] Kumari, R., Saini, A.K., Kumar, A., and Saini, R.V. (2020). Apoptosis induction in lung and prostate cancer cells through silver nanoparticles synthesized from *Pinus roxburghii* bioactive fraction. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 25, 23-37.
- [84] Lu, W., Senapati, D., Wang, S., Tovmachenko, O., Singh, A. K., Yu, H., and Ray, P. C. (2010). Effect of surface coating on the toxicity of silver nanomaterials on human skin keratinocytes. *Chemical Physics Letters*, 487(1-3), 92-96.
- [85] Şekeroğlu, A.T. (2013). Nanoteknolojiden nanogenotoksikolojiye: Kobalt-Krom nanopartiküllerinin genotoksik etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(1), 33-42.
- [86] Chattopadhyay, S., Dash, S. K., Tripathy, S., Das, B., Mandal, D., Pramanik, P., and Roy, S. (2015). Toxicity of cobalt oxide nanoparticles to normal cells; an *in vitro* and *in vivo* study. *Chemico-Biological Interactions*, 226, 58-71.
- [87] Rajiv, S., Jerobin, J., Saranya, V., Nainawat, M., Sharma, A., Makwana, P., Gayathri, C., Bharath, L., Singh, M., Kumar, M., Mukherje, A., and Chandrasekaran, N. (2016). Comparative cytotoxicity and genotoxicity of cobalt (II, III) oxide, iron (III) oxide, silicon dioxide, and aluminum oxide nanoparticles on human lymphocytes *in vitro*. *Human and Experimental Toxicology*, 35(2), 170-183.
- [88] Lojk, J., Strojjan, K., Miš, K., Bregar, B. V., Bratkovič, I. H., Bizjak, M., Pirkmajerb, S., and Pavlin, M. (2017). Cell stress response to two different types of polymer coated cobalt ferrite nanoparticles. *Toxicology Letters*, 270, 108-118.
- [89] Battal, D., Çelik, A., Güler, G., Aktaş, A., Yıldırımcan, S., Ocakoğlu, K., and Çömelekoğlu, Ü. (2015). SiO₂ nanoparticle-induced size-dependent genotoxicity-an *in vitro* study using sister chromatid exchange, micronucleus and comet assay. *Drug and Chemical Toxicology*, 38(2), 196-204.
- [90] Andreeva, E.R., Rudimov, E.G., Gornostaeva, A.N., Beklemyshev, V.I., Makhonin, I.I., Mauergeri, U.O.G., and Buravkova, L. B. (2013). *In vitro* study of interactions between silicon-containing nanoparticles and human peripheral blood leukocytes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 155(3), 396-398.
- [91] Lankoff, A., Arabski, M., Wegierek-Ciuk, A., Kruszewski, M., Lisowska, H., Banasik-Nowak, A., Rozga-Wijas, K., Wojewodzka, M., and Slomkowski, S. (2012). Effect of surface modification of silica nanoparticles on toxicity and cellular uptake by human peripheral blood lymphocytes *in vitro*. *Nanotoxicology*, 7(3), 235-250.
- [92] Waghmode, M.S., Gunjal, A.B., Mulla, J.A., Patil, N.N., and Nawani, N.N. (2019). Studies on the titanium dioxide nanoparticles: Biosynthesis, applications and remediation. *SN Applied Sciences*, 1(4), 1-9.
- [93] Akkurt, K. (2019). Titanyum dioksit (TiO₂) nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının *in vitro* insan periferik lenfositlerindeki genotoksik etkilerinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 100.
- [94] Ghosh, M., Chakraborty, A., and Mukherjee, A. (2013). Cytotoxic, genotoxic and the hemolytic effect of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on human erythrocyte and lymphocyte cells *in vitro*. *Journal of Applied Toxicology*, 33(10), 1097-1110.
- [95] Catalán, J., Järventaus, H., Vippola, M., Savolainen, K., and Norppa, H. (2012). Induction of chromosomal aberrations by carbon nanotubes and titanium dioxide nanoparticles in human lymphocytes *in vitro*. *Nanotoxicology*, 6(8), 825-836.
- [96] Andreoli, C., Leter, G., De Berardis, B., Degan, P., De Angelis, I., Pacchierotti, F., Crebelli, R., Barone, F., and Zijno, A. (2018). Critical issues in genotoxicity assessment of TiO₂ nanoparticles by human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Applied Toxicology*, 38(12), 1471-1482.
- [97] Bhattacharya, K., Davoren, M., Boertz, J., Schins, R. P., Hoffmann, E., and Dopp, E. (2009). Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress and DNA-adduct formation but not DNA-breakage in human lung cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 6(1), 1-11.

- [98] Akbaba, B. G., Tükez, H., Sönmez, E., Akbaba, U., Aydın, E., Tatar, A., Turgut, G., and Cerig, S. (2016). *In vitro* genotoxicity evaluation of tungsten (VI) oxide nanopowder using human lymphocytes. *Biomedical Research*, 27(1), 229-234.
- [99] Moche, H., Chevalier, D., Barois, N., Lorge, E., Claude, N., and Nesslany, F. (2014). Tungsten carbide-cobalt as a nanoparticulate reference positive control in *in vitro* genotoxicity assays. *Toxicological Sciences*, 137(1), 125-134.
- [100] Singh, Z., and Singh, I. (2019). CTAB surfactant assisted and high pH nano-formulations of CuO nanoparticles pose greater cytotoxic and genotoxic effects. *Scientific Reports*, 9(1), 1-13.
- [101] Çalbay, Ö. (2014). Bakır oksit ve silikon dioksit nanopartiküllerinin *Allium cepa*'daki genotoksik etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 118.
- [102] Ghodake, G., Seo, Y.D., and Lee, D.S. (2011). Hazardous phytotoxic nature of cobalt and zinc oxide nanoparticles assessed using *Allium cepa*. *Journal of Hazardous Materials*, 186(1), 952-955.
- [103] Sampaio, L.L.G., Boga, É.P.C., Neves, E.L., de Mo Mendes, L., Araújo, É.F.L., Baia, M.O., Silva, J.O., Malafaia, G., and de Menezes, I.P.P. (2021). Zinc oxide nanoparticles at environmentally relevant concentrations cause cytotoxic and chromosomal damage to *Allium cepa* root cells. *Genetics and Molecular Research*, 20 (1), gmr18690
- [104] Scherer, M.D., Sposito, J.C.V., Falco, W.F., Grisolia, A.B., Andrade, L.H.C., Lima, S.M., Machado, G., Nascimento, V.A., Gonçalves, D.A., Wender, H., Oliveira, S.L., and Caires, A.R.L. (2019). Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles on meristematic cells of *Allium cepa* roots: A close analysis of particle size dependence. *Science of the Total Environment*, 660, 459-467.
- [105] Atacı, G. Ve Türkoğlu, Ş. (2020). The investigation of toxic, genotoxic and cytotoxic effects of various nanoparticles in *Allium cepa* and *Caenorhabditis elegans* test systems. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 5(1), 016-035.
- [106] Liman, R., Acikbas, Y., Ciğerci, İ.H., Ali, M.M., and Kars, M.D. (2020). Cytotoxic and genotoxic assessment of silicon dioxide nanoparticles by *Allium* and comet tests. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104(2), 215-221.
- [107] Demir, E., Kaya, N., Kaya, B. (2014). Genotoxic effects of Zinc oxide and Titanium dioxide nanoparticles on root meristem cells of *Allium cepa* by comet assay. *Turkish Journal of Biology*, 38, 31-39.
- [108] Da Silva, G.H., and Monteiro, R.T.R. (2017). Toxicity assessment of silica nanoparticles on *Allium cepa*. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 12(1), 25-31.
- [109] Filho, R.D.S., Vicari, T., Santos, S.A., Felisbino, K., Mattoso, N., Santos, B., Cestari, M.M., and Leme, D.M. (2019). Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles and triggering of defense mechanisms in *Allium cepa*. *Genetics and Molecular Biology*, 42, 2, 425-435.
- [110] Pakrashi, S., Jain, N., Dalai, S., Jayakumar, J., Chandrasekaran, P.T., Raichur, A.M., Chandrasekaran, N., and Mukherjee, A. (2014). *In vivo* genotoxicity assessment of titanium dioxide nanoparticles by *Allium cepa* root tip assay at high exposure concentrations. *Plos One*, 9(2), e87789.
- [111] Liman, R., Başbuğ, B., Ali, M. M., Acikbas, Y., and Ciğerci, İ. H. (2021). Cytotoxic and genotoxic assessment of tungsten oxide nanoparticles in *Allium cepa* cells by *Allium* ana-telophase and comet assays. *Journal of Applied Genetics*, 62(1), 85-92.
- [112] Patlolla, A.K., Berry, A., May, L., and Tchounwou, P.B. (2012). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Vicia faba*: A pilot study on the environmental monitoring of nanoparticles. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(5), 1649-1662.
- [113] Mahmoud, H. (2019). Molecular and cytogenetic assessment of Zinc nanoparticles on *Vicia faba* plant cells. *The Egyptian Journal of Experimental Biology (Botany)*, 15(1), 39-49.
- [114] Abdel-Azeem, E.A., and Elsayed, B.A. (2013). Phytotoxicity of silver nanoparticles on *Vicia faba* seedlings. *New York Science Journal*, 6(12), 148-156.
- [115] Thabet, A.F., Galal, O.A., Tuda, M., El-Samahy, M. F., and Helmy, E.A. (2020). Toxicity evaluation of nano silver on faba bean germination and seedling development. *Journal of the Faculty of Agriculture*, 65(2), 263-268.
- [116] Kuswah, K.S., and Patel, S. (2020). Effect of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) on Faba bean (*Vicia faba* L.) and induced asynaptic mutation: A meiotic study. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39, 1107-1118.

- [117] Foltête, A.S., Masfaraud, J.F., Bigorgne, E., Nahmani, J., Chaurand, P., Botta, C., Labille, J., Rose, J., Féraud, J.F., and Cotelle, S. (2011). Environmental impact of sunscreen nanomaterials: Ecotoxicity and genotoxicity of altered TiO₂ nanocomposites on *Vicia faba*. *Environmental Pollution*, 159(10), 2515-2522.
- [118] Wang, H., Wu, F., Meng, W., White, J.C., Holden, P.A., and Xing, B. (2013). Engineered nanoparticles may induce genotoxicity. *Environmental Science and Technology*, 47, 13212-13214.
- [119] Barnes, C.A., Elsaesser, A., Arkusz, J., Smok, A., Palus, J., Lesniak, A., Salvati, A., Hanrahan, J.P., Jong, W.H., Dziubałtowska, E., Stepnik, M., Ryzdzynski, K., McKerr, G., Lynch, I., Dawson, K.A., and Howard, C.V. (2008). Reproducible comet assay of amorphous silica nanoparticles detects no genotoxicity. *Nano Letters*, 8(9), 3069-3074.
- [120] Saygılı, Y., Yüzbaşıoğlu, D. ve Ünal, F. (2021). Metal oksit nanopartiküllerin genotoksik etkileri. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 33(3), 429-443.
- [121] Evans, S.J., Clift, M.J., Singh, N., Wills, J.W., Hondow, N., Wilkinson, T.S., Burgum, M.J., Brown, A.P., Jenkins, G.J., and Doak, S.H. (2019). *In vitro* detection of *in vitro* secondary mechanisms of genotoxicity induced by engineered nanomaterials. *Particle and Fibre Toxicology*, 16(1), 1-14.
- [122] Magdolenova, Z., Collins, A., Kumar, A., Dhawan, A., Stone, V., and Dusinska, M. (2014). Mechanisms of genotoxicity a review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8(3), 233-278.
- [123] Åkerlund, E., Islam, M.S., McCarrick, S., Moreno, E.A., Karlsson, H.L. (2019). Inflammation and (secondary) genotoxicity of Ni and NiO nanoparticles. *Nanotoxicology*, 13(8), 1060-1072.
- [124] Modrzynska, J., Berthing, T., Ravn-Haren, G., Jacobsen, N.R., Weydahl, I., K., Loeschener, K., Mortensen, A., Saber, A. T., Saber, A. T., and Vogel, U. (2018). Primary genotoxicity in the liver following pulmonary exposure to carbon black nanoparticles in mice. *Particle and Fibre Toxicology*, 15(1), 2.