

# NANOPARTİKÜLLER: BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE TOKSİSİTESİ İLE İLGİLİ GÜNCEL YAKLAŞIMLAR-I

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Dilek AKYIL

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN



İKSAD  
Publishing House

# NANOPARTİKÜLLER: BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE TOKSİSİTESİ İLE İLGİLİ GÜNCEL YAKLAŞIMLAR-I

## EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Dilek AKYIL

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

## YAZARLAR

Prof. Dr. Recep LİMAN

Prof.Dr.İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Doç. Dr. Erman Salih İSTİFLİ

Doç. Dr. Dilek AKYIL

Doç.Dr. Arzu ÖZKARA

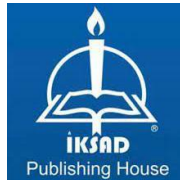
Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA

Uzm. Moleküler Biyolog Furkan TURAN

Doktora Öğr. Yudum Yeltekin UĞUR

YL. Öğr. Rana SARIKÖK



Copyright © 2025 by iksad publishing house  
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, distributed or transmitted in any form or by any means, including photocopying, recording or other electronic or mechanical methods, without the prior written permission of the publisher, except in the case of brief quotations embodied in critical reviews and certain other noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic Development and Social Researches Publications®  
(The Licence Number of Publicator: 2014/31220)  
TÜRKİYE TR: +90 342 606 06 75  
USA: +1 631 685 0 853  
E mail: iksadyayinevi@gmail.com  
www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.  
Iksad Publications – 2025©

**ISBN: 978-625-378-218-4**  
Cover Design: İbrahim KAYA  
April / 2025  
Ankara / Türkiye  
Size: 16x24cm

Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluğu da yazarlara aittir.

# İÇİNDEKİLER

## ÖNSÖZ

### BÖLÜM 1

#### NANOPARTİKÜLLER: SINIFLANDIRMA, YAPI VE ÖZELLİKLERİ

Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN .....3

### BÖLÜM 2

#### NANOPARTİKÜLLERİN MARUZİYET YOLLARI VE TOKSİSİTESİ

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA.....29

### BÖLÜM 3

#### NANOPARTİKÜL TOKSİSİTESİNİ DEĞERLENDİRMEK İÇİN BİR MODEL ORGANİZMA: *Allium cepa*

Doktora Öğr. Yudum YELTEKİN UĞUR

Prof. Dr. Recep LİMAN

Doç. Dr. Erman Salih İSTİFLİ.....49

### BÖLÜM 4

#### NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ

Doç. Dr. Arzu ÖZKARA .....71

### BÖLÜM 5

#### KANSER TEDAVİSİNDE İLAÇ DAĞITIM SİSTEMLERİ OLARAK NANOPARTİKÜLLER

Doç. Dr. Arzu ÖZKARA .....105

### BÖLÜM 6

#### HÜCRE HATLARI KULLANILARAK NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ .....131

## **BÖLÜM 7**

### **NANOTOKSİSİTE DEĞERLENDİRMEDE MODEL**

#### **ORGANİZMA *Caenorhabditis elegans***

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ .....161

## **BÖLÜM 8**

### **NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİSİTESİNİ ANLAMAK İÇİN**

#### **FARE MODELİ**

YL. Öğr. Rana SARIKÖK

Doç. Dr. Dilek AKYIL .....171

## **BÖLÜM 9**

### **BİYOLOJİ ALANI UYGULAMALARINDA**

#### **NANOSTABİLİTENİN ÖNEMİ**

Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN .....193

## **BÖLÜM 10**

### **NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTE**

#### **ARAŞTIRMALARINDA *EISENIA* TÜRLERİ: MODEL**

#### **ORGANİZMA OLARAK DEĞERLENDİRME**

Prof. Dr. Recep Liman

Doktora Öğr. Yudum Yeltekin Uğur

Doç. Dr. Erman Salih İstifli .....225

## **BÖLÜM 11**

### **METAL VE METAL OKSİT NANOPARTİKÜLLERİN**

#### **PROKARYOTİK MODEL ORGANİZMALAR ÜZERİNE**

#### **ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ**

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA .....241

## **BÖLÜM 12**

### **NANOPARTİKÜLLERİN İLAÇ DAĞITIMINDAKİ ROLÜ VE**

#### **HÜCRE HATLARI İLE TOKSİSİTE DEĞERLENDİRME**

#### **YÖNTEMLERİ**

Uzm. Moleküler Biyolog Furkan TURAN .....265

## ÖNSÖZ

**Nanopartiküller Biyolojik Aktiviteleri Ve Toksikitesi İle İlgili Güncel Yaklaşımlar-I'** isimli kitabımızda yer alan bölümler alanında uzman akademisyenler tarafından kaleme alınmıştır. Nanopartikül, en az bir boyutu 100 nanometre (nm)'den daha küçük olan herhangi bir malzemeyi tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Nanopartiküller, karakteristik özellikleri sayesinde kimyasal sensörler, antimikrobiyal aktivite, tıbbi görüntüleme, kanser tanı ve tedavisi, kozmetik uygulamalar, spesifik ilaç salınımı ve yara iyileşmesi gibi çeşitli uygulamalar için kullanılmaktadır.

Bu bileşiklerin benzersiz fizikokimyasal özellikleri tıp ve endüstri alanında geniş kullanım imkanları sağlamakla birlikte, çevresel ekosistemler ve canlı organizmalar üzerinde potansiyel toksik etkilere sahiptirler. Nanopartikül çalışmalarını içeren bu değerli kitabın oluşturulmasında büyük katkıları olan değerli akademisyenlerimize, ayrıca kitabın basımı ve yayınlanması aşamasında emeklerinden ötürü İKSAD yayınevi ve ekibine teşekkürü borç biliriz. Sunulan kitaptaki bölümler ile ilgili tüm akademik ve hukuki sorumluluğun yazarlara ait olduğunu ifade ederek, 12 bölümden oluşan kitabın bilim dünyasına katkı sağlamasını temenni ederiz.

*Mart, 2025*

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Dilek AKYIL

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN



## **BÖLÜM 1**

### **NANOPARTİKÜLLER: SINIFLANDIRMA, YAPI VE ÖZELLİKLERİ**

Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169436>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,  
Afyon, Türkiye, pdogan@aku.edu.tr ORCID ID: 0000-0003-4760-9182





## GİRİŞ

Nanoteknoloji ve nanobilim alanı son on yılda çok fazla ilgi görmüştür. Bu alanlardaki önemli ilerlemeler biyolojik bilimlerdeki kullanımlarına atfedilebilir (Liu, 2006). Nanoteknoloji geçen yüzyıldan beri bilinen bir araştırma alanıdır. Nobel ödüllü fizikçi Richard P. Feynman'ın 1959'daki meşhur "*There's Plenty of Room at the Bottom*" (Feynman, 1960) konferansında "nanoteknoloji" terimini kullanmasından bu yana, nanoteknoloji alanında devrim niteliğinde gelişmeler yaşanmıştır. Nanoteknoloji, nanoskala düzeyinde çeşitli tiplerde malzemeler üretilmesine olanak sağlamaktadır. Nanopartiküller (NP'ler), en azından bir boyutu 100 nm'den küçük olan parçacık maddeleri içeren geniş bir malzeme sınıfını oluşturmaktadır (Laurent ve ark., 2008).

## 1. NANOPARTİKÜLLERİN SINIFLANDIRILMASI

NP'lerin kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre düzenlenmesi ve sınıflandırılması, NP'lerin çeşitliliğini anlamak için esastır (Makhlof ve Barhoum, 2018). NP'ler genel olarak boyutsallık, morfoloji, durum ve kimyasal bileşimleri gibi kriterlere göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir (Gleiter, 2000). Öncelikle, NP'ler kökenlerine göre doğal ve antropojenik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Doğal nanomalzemeler, yerküreyi kaplayan atmosfer, hidrosfer, litosfer ve biyosferde ayrı ayrı ya da birkaç doğal prosesin birleşmesiyle, kimyasal, fotokimyasal, mekaniksel, ısı ve biyolojik yollarla oluşabilmektedir. Antropojenik nanomalzemeler ise oluşumlarının kasıtlı olup olmadığına bağlı olarak tesadüfi ve mühendislik ürünü nanomalzemeler olarak adlandırılmaktadır. Volkanik patlamalar, çöller, kum fırtınaları ve kozmik tozlar doğal nanomalzemelere örnek olarak verilebilir (Dolez, 2015; Ersöz ve ark., 2018).

Sentez şekline bağlı olarak, NP'lerin morfolojisi veya şekli değişmektedir. Morfolojinin temel özellikleri arasında düzlük, küresellik ve en boy oranı bulunmaktadır. Küçük en-boy oranı morfolojileri genellikle küresel, oval, kübik, prizma, sarmal veya sütun şeklindedir. Yüksek en-boy oranlı morfolojiler zikzak, heliks ve belt şeklini almaktadır (Sekunowo ve ark., 2015).

Boyutlarına göre NP'ler dört sınıfa ayrılmaktadır.

- **Sıfır Boyutlu Nanopartiküller (0D):** Tüm boyutları nano ölçekte, yani 100 nm'nin altında boyutlara sahip olan partiküllerdir. 0D, küp, nanoçubuk, çokgen, içi boş küre, metal, küresel NP'ler, çekirdek-kabuk NP'ler ve kuantum noktalarını (QD'ler) içermektedir.
- **Tek Boyutlu Nanopartiküller (1D):** Bir boyutu nano ölçekte olmayan, diğer iki boyutu nano ölçekte olan partiküllerdir. 1D metalik, polimerik, seramik, nanotüp ve nanoçubuk filamentleri veya fiberi, nanotelleri ve nanofiberleri içermektedir.
- **İki Boyutlu Nanopartiküller (2D):** Yalnızca bir boyutu nano ölçekte olup diğer iki boyutu nano ölçekte olmayan partiküllerdir. 2D, tek katmanlı ve çok katmanlı, kristal veya amorf, ince filmler, nano plakalar ve nano kaplamayı içermektedir (Saleh, 2020).
- **Üç Boyutlu Nanopartiküller (3D):** Nano ölçekte bir dış boyuta sahip olmamasına (100 nm üzerinde) rağmen nano ölçekte özellikler sergilemektedirler. 3D NP'lere nanotüpler, karbon nanotomurcuklar, lifler, polikristaller, fullerenler ve nanokompozitler örnek olarak verilebilir (Alkaç ve ark., 2021)

NP'ler kimyasal kompozisyonlarına dayalı olarak organik bazlı NP'ler ve inorganik bazlı NP'ler olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır (Makhlouf ve Barhoum, 2018; Rizwan ve ark., 2021).

## 1.1. İnorganik Nanopartiküller

İnorganik NP'ler arasında gümüş, altın, demir oksit, alaşım, manyetik ve kuantum noktaları bulunur (Orive ve ark., 2009).

### 1.1.1. Karbon Yapılı Nanopartiküller

Karbon nano ölçekli NP'ler bilim ve nanoteknolojide kilit rol oynamaktadır (Saleh ve Gupta, 2016). Karbon bazlı NP'lerde karbon ana elementtir (Makhlouf ve Barhoum, 2018). Karbon birkaç allotropik formda bulunmaktadır. Elmas, grafit ve buckminsterfulleren yaygın allotroplar arasında yer almaktadır (Smith ve ark., 2019). Karbon NP'lerin sentezinde sıklıkla karbon bazlı olan hidrokarbonlar, grafit, grafen ve kömür gibi malzemeler kullanılmaktadır. Kömürün diğer malzemelere kıyasla karbon nano yapılı malzeme üretimi için düşük maliyetli ve bol öncülerden biri olduğu keşfedilmiştir (Raj ve Manoj, 2022).

### 1.1.1.1. Fullerenler

Fullerenler (buckminsterfullerenler) 1985 yılında Kroto ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir (Kroto ve ark., 1985). Fullerenler, yüksek simetriye sahip beşgen ve altıgen kaynaşmış halkalarla küresel olarak düzenlenmiş moleküler karbon formlardır (Aich ve ark., 2012). Küresel bir yapıda organize edilmiş 60 karbon atomlu Fulleren, C<sub>60</sub> bileşiği ailesinin en geniş formunu temsil etmektedir. Moleküler yapı, her karbon atomunun sp<sup>2</sup> hibridizasyonu yoluyla diğer üç bitişik atoma bağlandığı yirmi altıgen halka ile ayrılmış on iki kaynaşmış beşgen halka içeren kesik bir ikosahedrondur (Diederich ve ark., 1994). C<sub>60</sub>, C<sub>70</sub> ve C<sub>76</sub> gibi farklı boyutlarda olabilmektedir ancak aralarında en bol bulunanı 60 karbon atomuna sahip olan C<sub>60</sub>'tır (Goodarzi ve ark., 2017).

Fulleren molekülü, çeşitli radikalleri bağlayabilen çift bağlar içerdiği için yüksek bir reaktif yeteneğe sahiptir. Yüksek antioksidan aktivite, lipit membranlara nüfuz etme ve iyonların zarlar arası taşınmasını düzenlemektedir. Bu moleküller, benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde bilim ve teknolojinin farklı alanlarında kullanılmaktadır (Goodarzi ve ark., 2017; Sharoyko ve ark., 2021). Bununla birlikte fullerenler, sulu çözeltilerde düşük çözünürlük göstermektedir. Bu nedenle fullerenlerin kullanımı zorlaşmaktadır. Bu sorun, fullerenlerin modifiye edilmesiyle ortadan kaldırılmıştır (Bosi ve ark., 2003; Goodarzi ve ark., 2017). Yapılan bir çalışmada, bir fulleren ve hekzametonyum kompleksi geliştirilmiştir ve tek başına hekzametonyum verme sistemi ile karşılaştırılmıştır. Fullerenler, ilaç dağıtım sisteminde 40 kat artırılmış bir etki göstermiştir (Piotrovskiy ve ark., 2016).

### 1.1.1.2. Grafen

Grafen, geniş spesifik yüzey alanı, yüksek elektronik ve termal iletkenliği gibi mükemmel fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı büyük ilgi görmektedir (Das ve ark., 2019; Kumar ve ark., 2021). Grafen, iki boyutlu düzlemsel yapıya sahip bir karbon nanomalzemedir. Çok kararlı bir yapıya sahip altıgen bir kafes içinde düzgün bir şekilde düzenlenmiş karbon atomlarından oluşmaktadır (Mayorov ve ark., 2011). Grafen, diğer grafit allotropların temel yapı taşıdır. Fullerenlere sarılabilmekte, 1D nanotüplere yuvarlanabilmekte ve 3D grafitte istiflenebilmektedir. Grafen, diğer tüm boyutlara sahip yeni grafit malzeme sınıflarının temel yapı taşı olduğu için "tüm grafit formların anası" olarak adlandırılmaktadır (Chakraborty ve ark., 2022). Grafen oksit (GO), grafene benzer altıgen bir karbon yapısı sergilemektedir. Ancak bu nedenle yüzeyi diğer birçok oksijen bazlı gruplarla birlikte hidroksil (-OH), epoksit (-O-), karboksil

(-COOH) fonksiyonel gruplarıyla da kaplanmış bir NP'dir (Foadin ve ark., 2020). Grafit, farklı boyut ve şekillerde gözenek yapısına sahip bir malzemedir (Liu ve ark., 2022). Termal ve kimyasal stabilite, iyi işlenebilirlik, düşük sürtünme katsayısı ve aşınma oranı gibi özelliklere sahiptir (Jones, 2004). Geniş yüzey-hacim oranı, iyi kimyasal/biyolojik stabilitesi ve iyi biyouyumluluğu nedeniyle, grafen NP'ler biyokimyasal, nörobiyoloji ve kimya gibi alanlarda kullanım için iyi bir NP olarak kabul edilmektedir (Kang ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada 2D grafen katmanlarından oluşan grafitler ciddi hücre zarı hasarına yol açan doğrudan temas nedeniyle gelişmiş bir antibakteriyel performans sergilemiştir (Seifi ve Kamali, 2021).

### 1.1.1.3. Karbon Nanotüpler

Karbon evrende en bol bulunan elementtir. Karbon nanotüpler (KNT), karbonun çok yönlü bir allotropudur. Sarılmış grafen tabakalarından oluşan silindirik ve uzun boru şeklinde bir yapıya sahiptir (Kaur ve ark., 2018). KNT'ler içsel mekanik, elektronik ve fiziko-kimyasal özellikleri nedeniyle son on yılda bilimsel olarak büyük ilgi çeken bir NP'dir (Saito ve ark., 2009). KNT'lerin yarı iletken, metalik ve süper iletken elektron taşıma ve yüksek bir elastikiyet yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir (Beg ve ark., 2011). KNT'lerin omurgası yalnızca grafen levhalar oluşturan benzen halkaları ile düzenlenmiş karbon atomlarından bütünleşmiş silindirler verecek şekilde sarılmıştır. Tek duvarlı (SWKNT'ler) ve çok duvarlı karbon nanotüpler (MWKNT'ler) olmak üzere iki ana KNT türü vardır. MWKNT'ler birkaç eş merkezli grafit tabakasından oluşmaktadır (Bianco ve ark., 2005).

KNT'lerin endüstri ve tıpta kullanımı, olağanüstü fiziksel ve biyolojik özelliklerinden dolayı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Ancak insanlarda KNT'lere maruziyet sonucu pulmoner inflamasyon, fibröz ve kronik granüloamatöz gibi hastalıklarda artış olduğu gözlemlenmiştir (Soliman ve ark., 2020). Zhang ve arkadaşları (2020) yaptıkları çalışmada Parkinson hastalığı biyobelirteci olan  $\alpha$ -sinükleini saptamak amacıyla tek duvarlı karbon nanotüpü bir antikör ile modifiye etmişlerdir ve biyobelirteğin saptanmasında 1000 kat artış olduğunu gözlemlenmişlerdir.

### 1.1.1.4. Nanoelmaslar

Elmas, yarı kararlı bir karbon allotropudur ve karbon atomları, yüzey merkezli kübik kristal yapının bir varyasyonunda düzenlenir (Shao ve ark., 2004). Nanoelmaslar (ND), biyouyumluluk, ayarlanabilir yüzey

işlevselleştirme, üstün optik, mekanik, elektriksel, termal özellikler, suda çözünme ve kararlı floresan gibi istenilen özelliklere sahip önemli bir nanokarbon sınıfıdır (Am ve ark., 2019). ND, bir elmas çekirdek ve amorf bir karbon kabuktan oluşmakta (Aleksenskii ve ark., 1999) ve spesifik çekirdek-kabuk yapısı ve yüzeyindeki fonksiyonel grupların bolluğu sayesinde çeşitli fonksiyonel uygulamalarda kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2018). ND'lerin kristal çekirdeği çok kararlı iken, yüzeyi kimyasal olarak değiştirilebilmektedir. Bu özellik parçacık dağılılabirliği, kimyasal işlevsellik ve hücre içi hedefleme için önemli bir faktördür (İkliptikawati ve ark., 2021).

ND'ler, canlı sistemlerle uyumlu karbonlardan oluşmaktadır. Fullerenler ve karbon nanotüpler gibi diğer karbon bazlı nanomalzemelerle karşılaştırıldığında ND'ler reaktivitesi oldukça düşük  $sp^3$  hibritleşmesi yapan karbondan oluştukları için en biyouyumlu formlardan biri olarak kabul edilmektedir (İkliptikawati ve ark., 2021). ND'lerin biyoloji ve tıpta uygulanması için sulu süspansiyonlarda iyi bir şekilde dağılması gerekmektedir. ND süspansiyonlarının stabilize edilerek ve agrega boyutu azaltılarak iyi bir şekilde dağılması sağlanmaktadır. Bunun için ultrasonikasyon ve ND yüzeyinin modifikasyonu yapılmaktadır. ND yüzeyinin kimyasal modifikasyonu oksidasyon/indirgeme yoluyla ya da organik bileşikler kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Sinolits ve ark., 2021). Yang ve arkadaşları (2020) yaptıkları çalışmada CRISPR-Cas9/nanoelmas bileşenlerini kullanarak X'e bağlı retinoskizis (XLRs) ile ilişkili RS1 genindeki mutasyonu tedavi etmişlerdir.

### **1.1.2. Metal Nanopartiküller**

Metal NP'ler (MNP'ler), nanoteknolojideki büyük potansiyelleri nedeniyle son yıllarda bilim adamlarının ilgi odağı olmuştur. Farklı boyutlarda, şekillerde ve çeşitli yüzey modifikasyonları ile sentez olasılığı, MNP'lerin antikorlarla, hedef ligandlarla ve ilaçlarla konjuge olmasına izin vermektedir. Bu özellikler sayesinde geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir (Khan, 2020).

#### **1.1.2.1. Altın Nanopartiküller**

Altın genellikle +1 (Au [I]) ve +3 (Au [III]) olmak üzere iki yaygın formda bulunmaktadır (Jain, ve ark., 2012). Altın NP'ler (AuNP), optik özellikleri nedeniyle, özellikle cam boyama için eski çağlardan beri teknolojik olarak, sistematik araştırmalar ve biyolojik uygulamalar için kullanılmaktadır (Sperling ve ark., 2008). Küçük altın parçacıklarının olağandışı optik

özellikleri, boyutlarına bağlı elektrokimyasaları ve yüksek kimyasal kararlılıkları, onları kendi kendine birleşme, biyolojik etiketleme, kataliz, elektron transfer teorileri, faz transferi, DNA erimesi ve tahlilleri ve kristal büyümesi dahil olmak üzere çok çeşitli fenomenleri keşfetmek için tercih edilen bir model sistem haline getirmiştir (Sardar ve ark., 2009).

AuNP'ler, benzersiz kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip olduğu için farmasötiklerin taşınması ve salınmasında kullanılmaktadır. Altın çekirdek esasen inerttir ve toksik değildir. İkinci bir avantaj, sentezlenmesi kolaydır. Monodispers NP'ler, 1 nm ila 150 nm arasında değişen çekirdek boyutlarında oluşturulabilmektedir (Ghosh ve ark., 2008). AuNP'ler hem kimyasal hem de biyolojik (yeşil sentez) olarak sentezlenmektedir. Günümüzde AuNP'lerin biyolojik sentezi sentetik tehlikeli indirgeyici ajanlar kullanılmadığı için daha çok kabul görmektedir. AuNP'lerin yüzeyleri moleküller veya maddelerle kolayca işlevselleştirilebilmektedir. Böylece AuNP'lerin stabilitesi ve organik ortamdaki dağılımı artmaktadır. Ayrıca, bu yüzey değiştiriciler, ilaçların hedef bölgeye ulaştırılması için hedefleme parçaları olarak kullanılabilir. AuNP'lerin yüzey modifikasyonu kolaydır ve böylece AuNP'ler ile pasif ve aktif hedefleme mekanizmaları kullanılarak kanserli dokular hedeflenmektedir (Khan, 2019).

### 1.1.2.2. Gümüş Nanopartiküller

Gümüş NP'ler (AgNP) ve biyomoleküller arasındaki etkileşimler, algılama, görüntüleme gibi birçok farklı uygulamada potansiyel öneme sahiptir (Fathima ve Mujeeb, 2021). İnorganik AgNP'ler iyi biyoyumluluk, yüksek termal stabilite, kimyasal reaktiviteye sahip toksik olmayan mükemmel bakterisid bir ajandır (Kumar ve ark., 2012). Ayrıca AgNP'ler, iyi antimikrobiyal, antifungal, antikanser, antiinflamatuvar, antidiyabetik ve yara iyileştirme aktivitelerine sahiptir (Sondi ve Salopek-Sondi, 2004; Khan, 2019). AgNP'ler tıp, biyoteknoloji, elektronik, mühendislik, manyetik alanlar ve ayrıca çevresel iyileştirmede kullanılmaktadır. Olağanüstü fizikokimyasal özellikleri nedeniyle, AgNP'ler, çeşitli hastalıkların tedavisi veya taranması için tek başına veya diğer farmakolojik ve tanısal ajanlarla kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Chen ve Schluesener, 2008).

### 1.1.2.3. Kuantum Noktaları

Temel olarak, kuantum noktaları (KN), malzemeyi yığın halinde göz önünde bulundurarak optoelektronik özelliklerinde belirgin farklılıklar gösteren nanometrik ölçekte yarı iletkenlerdir (Roduner, 2006). Kuantum

noktanın önemli özellikleri arasında büyük yüzey/hacim oranı, bant aralığındaki artış ve elektronik özellikteki değişim yer almaktadır (Nozik ve ark., 2010). Organik boyalar ve floresan proteinlerle karşılaştırıldığında, yarı iletken KN, benzersiz avantajlara ve uygulamalara sahip yeni bir floresan etiket sınıfını temsil etmektedir. Örneğin, KN'nın floresan emisyon spektrumları, partikül boyutu değiştirilerek sürekli olarak ayarlanabilmekte ve tüm farklı büyüklükteki KN'larının aynı anda uyarılması için tek bir dalga boyu kullanılabilir. Ayrıca, yüzey pasifleştirilmiş KN'ları fotoağarmaya karşı oldukça kararlıdır ve yarı maksimumda ~25-30 nm tam genişlikte dar, simetrik emisyon tepe noktalarına sahiptir. Parçacık boyutu küçüldükçe, kuantum hapsi genişlemekte, eksiton enerjisi artmakta ve sonuç olarak absorpsiyon ve emisyon dalga boyu azalmaktadır (Gao ve ark., 2002; Durán ve ark., 2014). Yarı iletken NP'ler, yalnızca boyuta göre ayarlanabilen özelliklerinden dolayı değil, aynı zamanda nükleik asitler ve proteinler gibi biyolojik makromoleküllerle boyutsal benzerliklerinden dolayı da büyük ilgi görmektedir. Bu benzerlik, nanomalzemelerin tıbbi teşhis, hedeflenen terapötikler ve yüksek verimli ilaç tasarlanmasında biyolojik moleküllerle entegrasyonuna izin vermektedir (Gao ve ark., 2002).

#### 1.1.2.4. Demir Oksit Nanopartiküller

Manyetik NP'ler olan demir oksitler doğada birçok formda bulunmakta olup manyetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), maghemit ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), hematit ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), wüstite ( $\text{FeO}$ ), demir (III) oksit ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\epsilon$  fazı), bernalit ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ) ve lepidokrosit ( $\delta\text{-FeOOH}$ ) bunlardan bazılarıdır (Teja ve Koh, 2009; Muzibur ve ark., 2011). Demir atomu, 3d orbitallerindeki eşleşmemiş dört elektron nedeniyle güçlü bir manyetik momente sahiptir. Ayrıca manyetik NP'lerin süperparamanyetik, yüksek zorlayıcılık, düşük Curie sıcaklığı, yüksek manyetik duyarlılık gibi birçok benzersiz manyetik özelliği bulunmaktadır (Wu ve ark., 2008; Teja ve Koh, 2009). Bu NP'ler, inorganik malzemelerden oluşan bir dış metalik kabuğa sahip iç demir oksit çekirdeğe sahiptir. Demir oksit NP'leri ( $\text{FeONP}$ ) silika, altın veya gadolinyum ile kaplanabilmektedir. Bu kaplamalar, NP'lerin stabilizasyonunu sağlamakla birlikte çeşitli biyomedikal uygulamalar için NP yüzeyine çeşitli biyolojik ligandların bağlanmasına da yardımcı olmaktadır (Gupta ve Gupta, 2005). Manyetik NP'ler, manyetik akışkanlar, veri depolama, kataliz, biyoygulamalar, manyetik rezonans görüntüleme için kontrast ajanlar ve kanser tedavisi için terapötik ajanlar gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Wu ve ark., 2008; Teja ve Koh, 2009).



## 1.2. Organik Nanopartiküller

Bu NP sınıfı, esas olarak karbonhidratlar, lipitler veya 10 nm ila 1 µm aralığındaki polimerler gibi organik bileşiklerden oluşan malzemeleri içermektedir. Polimerik NP'ler daha fazla yapısal stabilite, bütünlük ve kontrole sahip olduğu için araştırmacıların büyük ilgisini çekmektedir (Hadinoto ve ark., 2013). Organik NP'ler, olağanüstü fiziko-optik özellikleri ve kolay sentezleri nedeniyle son zamanlarda malzeme, algılama, biyotıp ve diğer alanlardaki çeşitli uygulama alanlarında artan bir ilgi görmektedir. Organik nanopartiküller arasında misel, lipozom, dendrimer ve polimerik ve albümin bağlı NP'ler bulunmakatadır (Choudhury ve Das, 2021).

### 1.2.1. Lipozomlar

Lipozomlar, sulu bir fazı içine alan bir lipid çift tabakasından oluşan kapalı küresel veziküllerdir (Igarashi, 2008). Lipozom çift tabakası, sentetik veya doğal fosfolipitlerden oluşabilmektedir (Bawarski ve ark., 2008). Lipid çift tabakası, su molekülleri ve fosfolipidlerin hidrofobik fosfat grupları arasındaki etkileşimler nedeniyle kendi üzerine kapanmaktadır. Bu lipozom oluşumu süreci kendiliğinden gerçekleşmekte ve amfilik fosfolipidler çift katmanlar halinde kendi kendine birleşmektedir (Qiu ve ark., 2008). Lipozomlar, yüksek biyoyumluluk, hedefe yönelme, düşük toksisite ve kontrollü ilaç salınımı gibi özelliklere sahip NP'lerdir (Bian ve ark., 2022). Lipozomlar hem aktif hem de pasif hedefleme stratejileri yoluyla spesifik dokulara hedeflenebilmektedir. Bunun nedeni, lipozomların, lipit çift tabakasının dış yüzeyine ilave moleküller eklenerek kolaylıkla manipüle edilebilmesidir. Lipozomların boyutu 400 nm civarında olduğundan, mononükleer fagositik sistem (MPS) tarafından hızla temizlenmektedir. Lipozomların opsonizasyonunun azaltılması nedeniyle MPS tarafından klirensi azaltılmakta ve dolaşımın yarı ömrünü arttırılmaktadır (Malam ve ark., 2009).

### 1.2.2. Dendrimerler

Dendrimerler sentetik monomerlerden oluşan polimerik NP'lerdir. Dendrimerler dikkatli bir şekilde bir araya getirilmiştir ve merkezi bir çekirdekten oluşan dallanmış monodispers polimerlerdir (Amariei ve ark., 2017; Mignani ve ark., 2021). Dendrimerler, simetrik ağaç benzeri mimarilere ve küresel şekillere sahiptir. Dallarının uçlarında çok sayıda yüzey uç grubu taşımaktadırlar (Amariei ve ark., 2017). Dendrimerlerin çok sayıda yüzey uç grubu bulundurması işlevselleştirme açısından onları çekici kılan bir özelliktir. Ek olarak, büyük iç boşluklara sahip oldukları için dikkate değer çekirdek

kapsülleme kapasiteleri ve çözünürlük artırma gibi özellikleri vardır (Malkoch ve ark., 2012). Dendrimerler ilaç olarak veya ilaçların nanotaşıyıcıları olarak kullanılabilir (Mignani ve ark., 2021). Yapılan bir çalışmada MRC9 akciğer fibroblast hücrelerine uygulanacak siRNA'nın kapsüllemesi için dendrimer NP'ler (Den-NP) kullanılmıştır. Den-NP serum varlığında hem siRNA'nın korunmasını hem de siRNA'nın endo-lizozomal kaçışını kolaylaştırmıştır ve kanser hücrelerinde hedef genin başarıyla susturulmasını sağladığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak Den-NP'leri ilaç salınımı için umut vaat etmektedir (Amreddy ve ark., 2018).

### 1.2.3. Nanojeller

3D nanojeller (NJ) şişen ve sıvı depolamak için iyi bir kapasiteye sahip olan çözünmeyen polimer ağlarının çapraz bağlanmasıyla oluşturulmaktadır. Nanojeller doğal, insan yapımı veya karışık polimerlerle yapılabilir. Nanojellerin gözeneklilik, boyut, yük, kırılma, amfifilik ve bozunabilirlik gibi özellikleri, jellerin madde organizasyonu değiştirilerek ayarlanabilir. Polimerik nanoparçacıklardan oluşan jellerin güvenilirlikleri değiştirilerek ve etkinlikleri genişletilerek görüntüleme testleri için taşıyıcılar olarak kullanılabilir (Nochi ve ark., 2010; Zha ve ark., 2011). NJ'ler, tümör, kardiyovasküler hastalıklar veya merkezi sinir sistemi bozuklukları gibi farklı patolojilerin tedavisi için ilaç dağıtım alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Pinelli ve ark., 2021). Yüksek su içeriği ve onlara biyouyumluluk ve biyobozunurluk kazandıran özel karbon bazlı bileşim nedeniyle biyolojik dokularla uyumludur. Ayrıca, NJ'ler yüksek özgül yüzeye, mükemmel ilaç kapsülleme kabiliyetine, dikkate değer bir yapı stabilitesine ve çevresel değişikliklere hızlı tepki veren önemli şişme davranışına sahip oldukları için seçici hedef iletimi için son derece uygundur (Liu ve ark., 2017; Hajebi ve ark., 2019).

### 1.2.4. Miseller

Miseller, basit ve küçük yüzey aktif maddelerden veya büyük amfifilik blok kopolimerlerden oluşturulabilir (Husseini ve Pitt, 2008). Temel olarak miseller, oluşumunu yönlendiren moleküller arası kuvvetlerin tipine göre hidrofobik olarak birleştirilmiş amfifilik miseller, poliyon-kompleks miseller ve metal komplekslerinden kaynaklanan miseller olmak üzere birkaç kategoriye ayrılmaktadır (Gaucher ve ark., 2005). Düşük konsantrasyonlarda, bu moleküller monomerler halinde bulunur, ancak konsantrasyon arttığında

hidrofobik kuyrukları sudan kaçınma eğilimi göstermektedir. Böylece hidrofobik kısımlar suya maruz kalmayacak şekilde korunan yapılarda toplanırken hidrofilik kısımlar suya maruz kalmaktadır. Bu işlem miselizasyon olarak adlandırılmaktadır (Tanbour ve ark., 2016).

Miseller tipik olarak 10 ila 100 nm arasında değişen çaplara sahiptir ve iç çekirdek, lipofilik ilaçların çözünmesi için bir kargo alanı oluşturan hidrofobik bölgelerin kümelenmesiyle oluşan bir çekirdek-kabuk mimarisi ile karakterize edilmektedir. Kabuk ise sulu ortama maruz bırakılan hidrofilik parçalardan oluşmaktadır. Miselin çekirdeği, az çözünen ilaçları çözebilirken, polar moleküller yüzeyde adsorbe edilmektedir (Letchford ve Burt, 2007; Tanbour ve ark., 2016). Diğer ilaç taşıyıcıları ile karşılaştırıldığında, miseller çok küçük boyutlu (10-100 nm) oldukları için katı tümörlere, özellikle zayıf vaskülarize tümörlere girebilme gibi kritik avantajlara sahiptir (Davis ve ark., 2008).

### **1.2.5. Nanoemülsiyon**

Nanoemülsiyonlar, yaklaşık olarak 10-100 nm aralığında damlacık çapına sahip yağ, yüzey aktif madde ve suyun izotropik karışımlarıdır (Khani ve ark., 2016). Nanoemülsiyonlar, iki karışmaz sıvının iki fazlı dağılımı olup ya yağ içinde su (W/O) ya da su içinde yağ (O/W) damlacıkları bir amfifilik yüzey aktif madde ile stabilize edilmektedir (Singh ve ark., 2017). Nanoemülsiyon oluşumu için ultra düşük negatif ara yüzey gerilimi gereklidir. Bu amaçla, bir yüzey aktif madde ile birlikte yardımcı yüzey aktif maddeler veya yardımcı çözücüler kullanılmaktadır. Nanoemülsiyon sistemlerinin formülasyonunda genellikle kullanılan yardımcı yüzey aktif maddeler veya yardımcı çözücüler polietilen glikol, propilen glikol, etanol, transkutol-P (dietilen glikol monoetil eter), etilen glikol, gliserin ve propanoldur (Khan ve ark., 2015; Singh ve ark., 2017). Nanoemülsiyonlar termodinamik olarak stabildirler ve ilaç taşıyıcıları olarak hızlı etki başlangıcı, hazırlama ve ölçek büyütme kolaylığı, hidrolize ve oksidasyona karşı ilaç koruması, ilaç etkinliğinin iyileştirilmesi ve gerekli toplam dozun yanı sıra yan etkilerin en aza indirilmesi gibi çeşitli avantajlara sahiptirler (Khani ve ark., 2016).

## 2. NANOPARTİKÜLLERİN YAPISI

NP'ler doğada genellikle kristal olmayan veya düşük simetrik bir formda bulunur. NP boyutu ve agregaların bileşimi temelinde, en kararlı formun belirlenmesi önemlidir ve bu da NP'lerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirleyecektir (Vinita ve ark. 2023). NP'lerin fizikokimyasal özelliklerini belirlemek ve yapı-işlev ilişkilerini keşfetmek günümüz bilim insanları için kritik bir zorluktur. Bu çaba, nanoölçekli alanı tam olarak araştırma yeteneğimizle sınırlı olup farklı karakterizasyon teknikleri farklı fiziksel özelliklere dayanmakta, bu nedenle de NP özelliklerinin yalnızca kısmi bir resmini sağlamaktadır. İşleri daha da zorlaştıran durum ise, karakterizasyon yöntemlerinin kendilerinin ölçülen miktarları doğrudan etkileyebilmesidir.

### 2.1. Yüzey

NP'lerin sulu bir ortamda çözünebilmesi için yüzeylerinin bir yüke sahip olması gerekmektedir. Bu yüklü yüzey, belirli yüklü fonksiyonel gruplara sahip biyomoleküllerle kovalent olarak bağlanarak elde edilebilmektedir. NP yüzeyinin biyomoleküller, metal iyonları ve polimerik maddelerle kovalent bağlanmasına NP yüzeyinin fonksiyonelleştirilmesi adı verilmektedir (Christian ve ark., 2008). NP'lerin üç boyutlu yapısı, koherent X-ışını kırınımı tekniği kullanılarak ölçülebilmektedir (Moyu ve ark., 2011). NP yüzeyindeki fonksiyonel gruplar, çözünürlük ve makromolekül ve hücre yüzeyi etkileşimleri gibi birçok önemli NP özelliğinin birincil belirleyicileridir. Tipik olarak, NP'lerin ortamdaki hücrelerle inkübasyonu, NP'lerin reseptör aracılı endositoz yoluyla hücrelere girişini indükleyen serum proteinlerinin yüzeylerine adsorpsiyonu ile sonuçlanır (Khan ve ark., 2007). Bununla birlikte, birçok uygulamada, hücre membranları veya diğer biyolojik makromoleküllerle etkileşime girmeyen NP'lerin üretilmesi de arzu edilmektedir. Örnek olarak, *in vivo* uygulamalar için, NP yüzeyinde proteinlerin spesifik olmayan adsorpsiyonu meydana gelebilmekte, bu da partikül aglomerasyonuna ve retiküler-endotelial sistemden temizlenmesine yol açabilmekte, bu durum da ilaçları/genleri hedef bölgeye iletme yeteneğini engellemektedir. Spesifik olmayan etkileşimler de NP'lerin hücre membranlarına ve hücre dışı matrise bağlanmasına yol açarak verimsiz etiketleme ve tespiti neden olabilir. Bu tür sorunları önlemek için NP'ler, proteinlerin benimsenmesine direnç gösterdiği iyi bilinen poli(etilen glikol) (PEG) gibi nötr bir ligand ile kaplanabilir (Xie ve ark., 2007).

## 2.2. Kabuk

Kabuk, çekirdek malzemeden kimyasal olarak farklı bir malzeme tabakasıdır. İnorganik bir NP'nin dış tabakası, bir NP'nin çekirdek kısmıyla karşılaştırıldığında farklı kimyasal ve yüzey özelliklerine sahip olabilir. Bu ayırt edici tabaka, bir NP'nin kabuğu olarak kabul edilmektedir. Ancak, kabuk terimi genellikle, parçacığın en üst tabakasında olmasından dolayı kimyada rastlantısal bir değişime zıt olarak, çekirdek malzemeninkinden tamamen farklı bir yapıya sahip ikinci bir tabaka için kullanılmaktadır. Bu malzemelerin bazı mükemmel örnekleri, kadmiyum selenid gibi bir malzemenin çekirdeğini ve çinko sülfür gibi başka bir malzemenin kabuğunu içeren çekirdek/kabuk kuantum noktalarıdır (Ding ve ark., 2017; Malik ve ark., 2002). Çekirdekte CdSe aşımını ve kabukta ZnS bulunan kuantum noktası NP'lerinin %50'den daha büyük bir kuantum verimi gösterdiği bilinmektedir (Ding ve ark., 2017). Bu tür NP'lerin kasıtlı olarak hazırlanması, onların tesadüfen oluşabilecekleri anlamı taşımamaktadır. Örneğin, FeNP'lerinin hazırlandıktan sonra yüzeylerinde hızla demir oksit katmanları oluşturduğu iyi bilinmektedir. Bu katmanların tüm parçacığa nüfuz etmesi gerekmez ve bu nedenle NP'nin kendisi saf bir demir NP'nin aksine bir çekirdek kabuk yapısı olabilmektedir (Santos ve ark. 2017). Bu NP'ler genellikle bilinçli olarak hazırlanmakta olup tesadüfen ortaya çıkmaları pek olası değildir.

## 2.3. Çekirdek

Çekirdek esasen NP'nin merkezidir ve genellikle NP'nin kendisine atıfta bulunmak için kullanılmaktadır. Bu eğilim, incelenmekte olan bir nanoparçacığın belirli özelliklerinin genellikle çekirdeğin veya bazı durumlarda çekirdek ve kabuğun bileşimiyle ilgili olduğu fiziksel bilimlerde yaygındır. Bununla birlikte, tüm nanoparçacığın tam bileşiminin genel özelliklerini doğru bir şekilde belirlemede örtük olduğunun gösterildiği örnekler de vardır (Wuister ve ark., 2004). Bir NP'nin sergilediği tüm özellikler çekirdeğin bileşimine atfedilebilir. Yine bir NP'nin sergilediği fizikokimyasal ve toksikolojik özelliklerin bir kısmı çekirdek bileşiminden kaynaklanmaktadır. Bir NP'nin hazırlanması sırasında, kesin bir faz formu makul görünmeyebilir çünkü inorganik bir NP farklı fazlarda var olabilir ve ortaya çıkan iki farklı faz ortak olabilir, bu da bir NP'nin fizikokimyasal özelliklerinin beklenenden tamamen farklı olmasını sağlayabilir (Christian ve O'Brien, 2005; Rempel ve ark., 2006).

### 3. NANOPARTİKÜLLERİN ÖZELLİKLERİ

NP'lerin üretim sırasındaki kararlılık miktarı ve herhangi bir işlemdeki verimliliği esas olarak, her biri kendi içinde önem taşıyan çeşitli özelliklerine bağlanabilir. Büyük yüzey alanı, mekanik olarak güçlü, optik olarak aktif ve kimyasal olarak reaktif gibi çeşitli özellikler NP'leri çeşitli uygulamalar için benzersiz ve uygun adaylar haline getirmektedir.

#### 3.1. Elektronik ve Optik Özellikler

Araştırmacılar optik absorbanansı ve diğer bu tür özellikleri ölçmek için spektrofotometreler kullanmışlardır (Rastar ve ark., 2012). NP'lerin optik ve elektronik özellikleri büyük ölçüde birbirine bağlıdır. Örneğin, soy metal NP'ler boyuta bağlı optik özelliklere sahiptir ve yığın metalin spektrumunda bulunmayan güçlü bir UV-görünür sönme bandı sergilemektedir. Bu uyarma bandı, gelen foton frekansı iletim elektronlarının kolektif uyarımı ile sabit olduğunda ortaya çıkmakta ve yerleştirilmiş yüzey plazma rezonansı (LSPR) olarak bilinmektedir. LSPR uyarımı, on floroforun verimliliğine eşdeğer ışın saçılması ve NP'lerin yüzeyine yakın gelişmiş yerel elektromanyetik alanlar ile son derece büyük molar uyarım katsayısı rezonanslı dalga boyu seçimi emilimiyle sonuçlanmaktadır. LSPR spektrumunun tepe dalga boyunun, NP'lerin boyutuna, şekline ve parçacıklar arası aralığına, ayrıca kendi dielektrik özelliklerine ve substrat, çözücüler ve adsorbatlar dahil olmak üzere ortamının özelliklerine bağlı olduğu bilinmektedir (Trindade ve ark., 2001; Eustis ve-El Sayed, 2006).

#### 3.2. Manyetik Özellikler

NP'lerde manyetik özellik, düzensiz elektronik dağılımdan kaynaklanmakta ve bir NP'nin boyutu 10-20 nm'den küçük olduğunda, parçacığın manyetik özelliği artmaktadır. Bu nedenle, bu NP'ler kataliz, biyotıp, veri depolama, su dekontaminasyonu ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi uygulamalar için faydalı olmaktadır (Arati ve ark., 2013; Qi ve ark., 2016). Önceki araştırmalar, NP'lerin boyutları kritik değer, yani 10-20 nm olduğunda en iyi performansı gösterdiğini ortaya koymuştur (Reiss ve Hütten, 2005). Bu kadar düşük ölçekte NP'lerin manyetik özellikleri etkili bir şekilde baskındır, bu da bu parçacıkları paha biçilmez kılmakta ve farklı uygulamalarda kullanılabilir hale getirmektedir (Reiss ve Hütten, 2005; Priyadarshana ve ark., 2015; Faivre ve Bennet, 2016).

### 3.3. Mekanik Özellikler

NP'lerin mekanik özellikleri ve her türlü yüzeyle etkileşimleri üzerinde iyi kontroller, yüzey kalitesini artırmak için hayati önem taşımaktadır. Bu alanlardaki verimli sonuçlar genellikle NP'lerin elastik modül ve sertlik, hareket yasası, sürtünme ve arayüzey yapışması gibi mekanik özelliklerinin temelleri ve boyuta bağlı özellikleri hakkında derin bir kavrayışa ihtiyaç duymaktadır (Guo ve ark., 2013).

### 3.4. Termal Özellikler

Metal NP'lerin ısı iletkenliği sıvılarla karşılaştırıldığında çok daha yüksektir. Bu avantaj, metal NP'lerin etilen glikol, yağlar, su gibi sıvılarda süspansiyon edilmesi ve nanofluidlerin hazırlanmasında kullanılabilir. Bu nanofluidler, ısı transferinin miktarı mevcut yüzey alanıyla orantılı olduğundan yüksek yüzey alanı/hacim oranının varlığı nedeniyle daha yüksek iletkenlik göstermekte olup bu da süspansiyonun genel kararlılığını da arttırmaktadır (Khan ve ark., 2019).

### 3.5. Termodinamik Özellikler

Bir NP'nin termodinamik durumunu belirleyen temel özelliklerden bazıları erime sıcaklığı, elastik modüller, erime entalpisi ve entropisi, özgül ısı kapasitesi olarak sayılabilir. Yüzey serbest enerji modeli kullanılıp Gibbs serbest enerjisi elde edilerek, NP yapılarının erime ve aşırı ısınma davranışı tahmin edilebilmektedir. NP ile nano boşluk arasındaki arayüzde atomların termal titreşiminin bastırılması nedeniyle aşırı ısınma tetiklenmektedir (Xiong ve ark., 2011).

## SONUÇ

Nanomalzemeler önemli bilimsel ve teknolojik faaliyetlerin merkezinde olan maddeler olup hem temel araştırmalarda hem de çeşitli uygulamalarda sıklıkla kullanılan nanomalzemeler bu bölümde kısaca açıklanmıştır. Nanomalzemeler, nanoteknolojilerin ve nanobilimlerin ruhudur, çünkü kimya, fizik, biyoloji ve mühendislikle benzersiz fizikokimyasal ve doğal ara yüzleri, bilim ve teknolojinin çeşitli alanları için çok çeşitli olasılıklar sağlamıştır. Bu ayrıcalıklı durum, günlük hayatımızın bir parçası haline gelen yeni özellikler içeren yeni ürünlerin geliştirilmesini sağlamaktadır. Bununla birlikte, endüstriyel ölçekli süreçler, biyosistemlerle etkileşimlerin anlaşılması

(insanlara ve çevreye etki) ve düzenleme sorunları gibi birçok önemli zorluğun hala üstesinden gelinmesi gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

- Aich, N., Flora, J. R., & Saleh, N. B. (2012). Preparation and characterization of stable aqueous higher-order fullerenes. *Nanotechnology*, 23(5), 055705.
- Aleksenskii, A. E., Baidakova, M. V., Vul', A. Y., & Siklitskii, V. I. (1999). The structure of diamond nanoclusters. *Physics of the solid state*, 41, 668-671.
- Alkaç, İ. M., Çerçi, B., Timuralp, C., & Şen, F. (2021). Nanomaterials and their classification. In *Nanomaterials for Direct Alcohol Fuel Cells* (pp. 17-33). Elsevier.
- Am, S., Kk, C., Sw, Z., Gx, X., Jl, Q., Coquet, P., ... & Xy, C. (2019). Nanocarbons for Biology and Medicine: Sensing, Imaging, and Drug Delivery.
- Amariei, G., Santiago-Morales, J., Boltes, K., Letón, P., Iriepa, I., Moraleda, I., ... & Rosal, R. (2017). Dendrimer-functionalized electrospun nanofibres as dual-action water treatment membranes. *Science of the Total Environment*, 601, 732-740.
- Amreddy, N., Babu, A., Panneerselvam, J., Srivastava, A., Muralidharan, R., Chen, A., ... & Ramesh, R. (2018). Chemo-biologic combinatorial drug delivery using folate receptor-targeted dendrimer nanoparticles for lung cancer treatment. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 14(2), 373-384.
- Arati GK, Andrew CJ, Dmitri L, Richard CW, Randall Lee T (2013) Tuning the magnetic proper ties of nanoparticles. *Int J Mol Sci*, 14:15977–16009.
- Bawarski, W. E., Chidlowsky, E., Bharali, D. J., & Mousa, S. A. (2008). Emerging nanopharmaceuticals. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 4(4), 273-282.
- Beg, S., Rizwan, M., Sheikh, A. M., Hasnain, M. S., Anwer, K., & Kohli, K. (2011). Advancement in carbon nanotubes: basics, biomedical applications and toxicity. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 63(2), 141-163.
- Bian, J., Girotti, J., Fan, Y., Levy, E. S., Zang, N., Sethuraman, V., ... & Lin, J. (2022). Fast and versatile analysis of liposome encapsulation efficiency by nanoParticle exclusion chromatography. *Journal of chromatography A*, 1662, 462688.
- Bianco, A., Kostarelos, K., Partidos, C. D., & Prato, M. (2005). Biomedical applications of functionalised carbon nanotubes. *Chemical Communications*, (5), 571-577.
- Bosi, S., Da Ros, T., Spalluto, G., & Prato, M. (2003). Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications. *European journal of medicinal chemistry*, 38(11-12), 913-923.

- Chakraborty, M., & Hashmi, M. S. J. (2018). Graphene as a material—an overview of its properties and characteristics and development potential for practical applications.
- Chen, X., & Schluesener, H. J. (2008). Nanosilver: a nanoparticle in medical application. *Toxicology letters*, 176(1), 1-12.
- Choudhury, P., & Das, P. K. (2021). Progress and trends in self-assembly driven fluorescent organic nanoparticles: A brief overview. *Journal of the Indian Chemical Society*, 98(9), 100123.
- Christian P, Von der Kammer F, Baalousha M, Hofmann T (2008). Structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicology*, 17:326–343.
- Christian, P., & O'Brien, P. (2005). A new route to nanorods of cadmium sulfide. *Chemical communications*, (22), 2817-2819.
- Das, P., Ganguly, S., Banerjee, S., & Das, N. C. (2019). Graphene based emergent nanolights: A short review on the synthesis, properties and application. *Research on Chemical Intermediates*, 45, 3823-3853.
- Davis, M. E., Chen, Z., & Shin, D. M. (2008). Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer. *Nature reviews Drug discovery*, 7(9), 771-782.
- Diederich, F., Isaacs, L., & Philp, D. (1994). Syntheses, structures, and properties of methanofullerenes. *Chemical Society Reviews*, 23(4), 243-255.
- Ding, Q., Liu, D., Guo, D., Yang, F., Pang, X., Che, R., ... & Gu, N. (2017). Shape-controlled fabrication of magnetite silver hybrid nanoparticles with high performance magnetic hyperthermia. *Biomaterials*, 124, 35-46.
- Dolez, P. I. (2015). Nanomaterials Definitions, Classifications, and Applications. *Nanoengineering: Global Approaches to Health and Safety Issues*, (3–40). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-444-62747-6.00001-4
- Durán, N., Guterres, S. S. ve Alves, O. L. (2014). *Nanomedicine and Nanotoxicology Nanotoxicology*.
- Ersöz, M., Işıtan, A. ve Balaban, M. (2018). Nanoteknoloji 1 - Nanoteknolojinin Temelleri.
- Eustis, S., & El-Sayed, M. A. (2006). Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical society reviews*, 35(3), 209-217.
- Faivre, D., & Bennet, M. (2016). Magnetic nanoparticles line up. *Nature*, 535(7611), 235-236.

- Fathima, R., & Mujeeb, A. (2021). Plasmon enhanced linear and nonlinear optical properties of natural curcumin dye with silver nanoparticles. *Dyes and Pigments*, 189, 109256.
- Feynman, R. P. (1960). There's plenty of room at the bottom. *Engineering and Science*, 23(5), 22-36.
- Foadin, C. S. T., Nya, F. T., Ejuh, G. W., Malloum, A., Conradie, J., & Ndjaka, J. M. (2020). DFT study of the influence of impurities on the structural, electronic, optoelectronic, and nonlinear optical properties of graphene nanosheet functionalized by the carboxyl group-COOH. *Journal of Molecular Modeling*, 26, 1-12.
- Gao, X., Chan, W. C., & Nie, S. (2002). Quantum-dot nanocrystals for ultrasensitive biological labeling and multicolor optical encoding. *Journal of biomedical optics*, 7(4), 532-537.
- Gaucher, G., Dufresne, M. H., Sant, V. P., Kang, N., Maysinger, D., & Leroux, J. C. (2005). Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery. *Journal of controlled release*, 109(1-3), 169-188.
- Ghosh, P., Han, G., De, M., Kim, C. K., & Rotello, V. M. (2008). Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced drug delivery reviews*, 60(11), 1307-1315.
- Gleiter, H. (2000). Nanostructured materials: basic concepts and microstructure. *Acta materialia*, 48(1), 1-29.
- Goodarzi, S., Da Ros, T., Conde, J., Sefat, F., & Mozafari, M. (2017). Fullerene: biomedical engineers get to revisit an old friend. *Materials Today*, 20(8), 460-480.
- Guo, D., Xie, G., Luo, J. (2013). Mechanical properties of nanoparticles: basics and applications. *Journal of physics D: applied physics*, 47(1), 013001.
- Gupta, A. K., Gupta, M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *biomaterials*, 26(18), 3995-4021.
- Hadinoto, K., Sundaresan, A., & Cheow, W. S. (2013). Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a new generation therapeutic delivery platform: a review. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 85(3), 427-443.
- Hajebi, S., Rabiee, N., Bagherzadeh, M., Ahmadi, S., Rabiee, M., Roghani-Mamaqani, H., ... & Hamblin, M. R. (2019). Stimulus-responsive polymeric nanogels as smart drug delivery systems. *Acta biomaterialia*, 92, 1-18.
- Husseini, G. A., & Pitt, W. G. (2008). Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 60(10), 1137-1152.

- Igarashi, E. (2008). Factors affecting toxicity and efficacy of polymeric nanomedicines. *Toxicology and applied pharmacology*, 229(1), 121-134.
- Ikliptikawati, D. K., Hazawa, M., So, F. T. K., Terada, D., Kobayashi, A., Segawa, T. F., ... & Wong, R. W. (2021). Label-free tomographic imaging of nanodiamonds in living cells. *Diamond and Related Materials*, 118, 108517.
- Jain, S., Hirst, D. G., & O'Sullivan, J. (2012). Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *The British journal of radiology*, 85(1010), 101-113.
- Jones, G. A. (2004). On the tribological behaviour of mechanical seal face materials in dry line contact: Part II. Bulk ceramics, diamond and diamond-like carbon films. *Wear*, 256(3-4), 433-455.
- Kang, P., Wang, M. C., & Nam, S. (2016). Bioelectronics with two-dimensional materials. *Microelectronic Engineering*, 161, 18-35.
- Kaur, A., Kaur, J., & Singh, R. C. (2018). Graphene aerogel based room temperature chemiresistive detection of hydrogen peroxide: A key explosive ingredient. *Sensors and Actuators A: Physical*, 282, 97-113.
- Khan, A. W., Kotta, S., Ansari, S. H., Sharma, R. K. ve Ali, J. (2015). Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of the poorly water-soluble grapefruit flavonoid Naringenin: Design, characterization, in vitro and in vivo evaluation. *Drug Delivery*, 22(4), 552-561. doi:10.3109/10717544.2013.878003
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
- Khan, J. A., Pillai, B., Das, T. K., Singh, Y., & Maiti, S. (2007). Molecular effects of uptake of gold nanoparticles in HeLa cells. *ChemBioChem*, 8(11), 1237-1240.
- Khan, S. A. (2020). Metal nanoparticles toxicity: role of physicochemical aspects. In *Metal nanoparticles for drug delivery and diagnostic applications* (pp. 1-11). Elsevier.
- Khani, S., Keyhanfar, F. ve Amani, A. (2016). Design and evaluation of oral nanoemulsion drug delivery system of mebudipine. *Drug Delivery*, 23(6), 2035-2043. doi:10.3109/10717544.2015.1088597
- Kroto, H. W., Heath, J. R., & O'Brien, S. C. O', Curl RF and Smalley RE 1985. *Nature*, 318, 162.
- Kumar, N., Salehiyan, R., Chauke, V., Botlhoko, O. J., Setshedi, K., Scriba, M., ... & Ray, S. S. (2021). Top-down synthesis of graphene: A comprehensive review. *FlatChem*, 27, 100224.
- Kumar, R., Roopan, S. M., Prabhakarn, A., Khanna, V. G., & Chakroborty, S. (2012). Agricultural waste Annona squamosa peel extract: biosynthesis of silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 90, 173-176.

- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., & Muller, R. N. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical reviews*, 108(6), 2064-2110.
- Letchford, K., & Burt, H. (2007). A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 65(3), 259-269.
- Liu WT (2006). Nanoparticles and their biological and environmental applications. *J Biosci Bioeng*, 102:1-7
- Liu, B., Zhao, H., Li, X., Yang, Z., Zhang, D., & Liu, Z. (2022). Effect of pore structure on the thermophysical and frictional properties of high-density graphite. *Microporous and Mesoporous Materials*, 330, 111613.
- Liu, M., Du, H., Zhang, W., & Zhai, G. (2017). Internal stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery: Design strategies and applications. *Materials Science and Engineering: C*, 71, 1267-1280.
- Makhlouf, A. S. H. ve Barhoum, A. (2018). Emerging Applications of Nanoparticles and Architecture Nanostructures. Emerging Applications of Nanoparticles and Architectural Nanostructures. *Current Prospects and Future Trends*. Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-323-51254-1.00012-9
- Malam, Y., Loizidou, M., & Seifalian, A. M. (2009). Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer. *Trends in pharmacological sciences*, 30(11), 592-599.
- Malkoch, M., Malmström, E., & Nyström, A. M. (2012). Dendrimers: properties and applications. In *Polymer Science: A Comprehensive Reference, 10 Volume Set* (pp. 113-176).
- Mayorov, A. S., Gorbachev, R. V., Morozov, S. V., Britnell, L., Jalil, R., Ponomarenko, L. A., ... & Geim, A. K. (2011). Micrometer-scale ballistic transport in encapsulated graphene at room temperature. *Nano letters*, 11(6), 2396-2399.
- Mignani, S., Shi, X., Guidolin, K., Zheng, G., Karpus, A., & Majoral, J. P. (2021). Clinical diagonal translation of nanoparticles: Case studies in dendrimer nanomedicine. *Journal of Controlled Release*, 337, 356-370.
- Moyu W, Rachel MK, Manuel V, Gabriel A, Yeong AS, Xiaowen S, Gang X, Xiaojing H, Ross H, Ian R (2011). Differential stress induced by thiol adsorption on faceted nanocrystals. *Nat Mater*, 10:862-866.
- Muzibur, M. R., Khan, S. B. , Jamal, A. , Faisal, M. , ve Aisiri, A. M. (2011). Nanomaterials.

- Nochi, T., Yuki, Y., Takahashi, H., Sawada, S. I., Mejima, M., Kohda, T., ... & Kiyono, H. (2010). Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines. *Nature materials*, 9(7), 572-578.
- Nozik, A. J., Beard, M. C., Luther, J. M., Law, M., Ellingson, R. J., & Johnson, J. C. (2010). Semiconductor quantum dots and quantum dot arrays and applications of multiple exciton generation to third-generation photovoltaic solar cells. *Chemical reviews*, 110(11), 6873-6890.
- Orive, G., Anitua, E., Pedraz, J. L., & Emerich, D. F. (2009). Biomaterials for promoting brain protection, repair and regeneration. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(9), 682-692.
- Pinelli, F., Pizzetti, F., Rossetti, A., Posel, Z., Masi, M., Sacchetti, A., ... & Rossi, F. (2021). Effect of surface decoration on properties and drug release ability of nanogels. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 614, 126164.
- Piotrovskiy, L. B., Litasova, E. V., Dumpis, M. A., Nikolaev, D. N., Yakovleva, E. E., Dravolina, O. A., & Bespalov, A. Y. (2016, May). Enhanced brain penetration of hexamethonium in complexes with derivatives of fullerene C 60. In *Doklady Biochemistry and Biophysics* (Vol. 468, pp. 173-175). Pleiades Publishing.
- Priyadarshana, G., Kottegoda, N., Senaratne, A., de Alwis, A., & Karunaratne, V. (2015). Synthesis of magnetite nanoparticles by top-down approach from a high purity ore. *Journal of Nanomaterials*, 2015(1), 317312.
- Qi, M., Zhang, K., Li, S., Wu, J., Pham-Huy, C., Diao, X., ... & He, H. (2016). Superparamagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles: synthesis by a solvothermal process and functionalization for a magnetic targeted curcumin delivery system. *New Journal of Chemistry*, 40(5), 4480-4491.
- Qiu, L., Jing, N., & Jin, Y. (2008). Preparation and in vitro evaluation of liposomal chloroquine diphosphate loaded by a transmembrane pH-gradient method. *International journal of pharmaceuticals*, 361(1-2), 56-63.
- Raj, A. M., & Manoj, B. (2022). Cost-effective route to nanodiamonds from low-rank coal and their fluorescent & dielectric characteristics. *Ceramics International*, 48(1), 887-895.
- Rastar A, Mohammad EY, Rashidi A, Bidoki SM (2012). Theoretical review of optical properties of nanoparticles. *J Eng Fiber Fabr*, 8(2):85-96.
- Reiss, G., & Hütten, A. (2005). Applications beyond data storage. *Nature materials*, 4(10), 725-726.
- Rempel, J. Y., Trout, B. L., Bawendi, M. G., & Jensen, K. F. (2006). Density functional theory study of ligand binding on CdSe (0001), (0001), and (1120) single crystal relaxed and reconstructed surfaces: implications for nanocrystalline growth. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(36), 18007-18016.

- Rizwan, M., Shoukat, A., Ayub, A., Razzaq, B., & Tahir, M. B. (2021). Types and classification of nanomaterials. In *Nanomaterials: synthesis, characterization, hazards and safety* (pp. 31-54). Elsevier.
- Roduner, E. (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chemical society reviews*, 35(7), 583-592.
- Saito, N., Usui, Y., Aoki, K., Narita, N., Shimizu, M., Hara, K., ... & Endo, M. (2009). Carbon nanotubes: biomaterial applications. *Chemical Society Reviews*, 38(7), 1897-1903.
- Saleh, T. A. (2020). Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101067.
- Saleh, T. A., & Gupta, V. K. (2016). Nanomaterial and polymer membranes: synthesis, characterization, and applications. Elsevier.
- Santos FSD, Fernanda RL, Lídia Y, Fabiana VF (2017). Synthesis and characterization of zero valent iron nanoparticles supported on SBA-15. *J Mater Res Technol*, 6(2):178–183.
- Sardar, R., Funston, A. M., Mulvaney, P., & Murray, R. W. (2009). Gold nanoparticles: past, present, and future. *Langmuir*, 25(24), 13840-13851.
- Seifi, T., & Kamali, A. R. (2021). Enhanced dispersion and antibacterial activity of mechanically exfoliated graphite flakes in the presence of n-hexane and NaCl. *Materials Letters*, 304, 130730.
- Sekunowo, O. I., Durowaye, S. I., & Lawal, G. I. (2015). An overview of nanoparticles effect on mechanical properties of composites. *International Journal of Mechanical, Aerospace, Industrial, Mechatronic and Manufacturing Engineering*, 9(1), 1-7.
- Sharoyko, V. V., Shemchuk, O. S., Meshcheriakov, A. A., Vasina, L. V., Iamalova, N. R., Luttsev, M. D., ... & Semenov, K. N. (2022). Biocompatibility, antioxidant activity and collagen photoprotection properties of C60 fullerene adduct with L-methionine. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 40, 102500.
- Singh, Y., Meher, J. G., Raval, K., Khan, F. A., Chaurasia, M., Jain, N. K. ve Chourasia, M. K. (2017, 28 Nisan). Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V. doi:10.1016/j.jconrel.2017.03.008
- Sinolits, A. V., Chernysheva, M. G., Popov, A. G., Egorov, A. V., & Badun, G. A. (2021). Hyaluronic acid adsorption on nanodiamonds: Quantitative characteristics and mechanism. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 618, 126461.
- Smith, A. T., LaChance, A. M., Zeng, S., Liu, B., & Sun, L. (2019). Synthesis, properties, and applications of graphene oxide/reduced graphene oxide and their nanocomposites. *Nano Materials Science*, 1(1), 31-47.

- Soliman, E., Elhassanny, A. E., Malur, A., McPeck, M., Bell, A., Leffler, N., ... & Thomassen, M. J. (2020). Impaired mitochondrial function of alveolar macrophages in carbon nanotube-induced chronic pulmonary granulomatous disease. *Toxicology*, *445*, 152598.
- Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of colloid and interface science*, *275*(1), 177-182.
- Sperling, R. A., Gil, P. R., Zhang, F., Zanella, M., & Parak, W. J. (2008). Biological applications of gold nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, *37*(9), 1896-1908.
- Tanbour, R., M Martins, A., G Pitt, W., & A Hussein, G. (2016). Drug delivery systems based on polymeric micelles and ultrasound: a review. *Current Pharmaceutical Design*, *22*(19), 2796-2807.
- Teja, A. S., & Koh, P. Y. (2009). Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles. *Progress in crystal growth and characterization of materials*, *55*(1-2), 22-45.
- Trindade, T., O'Brien, P., & Pickett, N. L. (2001). Nanocrystalline semiconductors: synthesis, properties, and perspectives. *Chemistry of Materials*, *13*(11), 3843-3858.
- Vinita, N. M., Devan, U., Durgadevi, S., Anitha, S., Govarthanan, M., Antony Joseph Velanganni, A., ... & Kumar, P. (2023). Impact of Surface Charge-Tailored Gold Nanorods for Selective Targeting of Mitochondria in Breast Cancer Cells Using Photodynamic Therapy. *ACS omega*, *8*(37), 33229-33241.
- Wu, W., He, Q., & Jiang, C. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale research letters*, *3*, 397-415.
- Wuister, S. F., de Mello Donegá, C., & Meijerink, A. (2004). Efficient energy transfer between nanocrystalline YAG: Ce and TRITC. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *6*(8), 1633-1636.
- Xie, J., Xu, C., Kohler, N., Hou, Y., & Sun, S. (2007). Controlled PEGylation of monodisperse Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles for reduced non-specific uptake by macrophage cells. *Advanced Materials*, *19*(20), 3163-3166.
- Xiong, S., Qi, W., Cheng, Y., Huang, B., Wang, M., & Li, Y. (2011). Universal relation for size dependent thermodynamic properties of metallic nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics*, *13*(22), 10652-10660.
- Yang, T. C., Chang, C. Y., Yarmishyn, A. A., Mao, Y. S., Yang, Y. P., Wang, M. L., ... & Chiou, S. H. (2020). Carboxylated nanodiamond-mediated CRISPR-Cas9 delivery of human retinoschisis mutation into human iPSCs and mouse retina. *Acta biomaterialia*, *101*, 484-494.
- Zha, L., Banik, B., & Alexis, F. (2011). Stimulus responsive nanogels for drug delivery. *Soft Matter*, *7*(13), 5908-5916.



- Zhang, R., Wang, S., Huang, X., Yang, Y., Fan, H., Yang, F., ... & Xin, T. (2020). Gold-nanourchin seeded single-walled carbon nanotube on voltammetry sensor for diagnosing neurogenerative Parkinson's disease. *Analytica Chimica Acta*, 1094, 142-150.
- Zhang, Y., Rhee, K. Y., Hui, D., & Park, S. J. (2018). A critical review of nanodiamond based nanocomposites: Synthesis, properties and applications. *Composites Part B: Engineering*, 143, 19-27.

## BÖLÜM 2

### NANOPARTİKÜLLERİN MARUZİYET YOLLARI VE TOKSİSİTESİ

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169440>

<sup>1</sup>Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Nevşehir, Türkiye, [sevvalozkaya@nevsehir.edu.tr](mailto:sevvalozkaya@nevsehir.edu.tr) ORCID ID: 0000-0002-3962-3411



## GİRİŞ

Nanoteknoloji, nanometre ölçeğinde moleküllerin sentezine dayalı uygulamaları içeren multidisipliner bir bilim dalıdır. “Nanoteknoloji” kavramı, Yunanca "nano" kelimesinden türetilmiştir ve bu kelime “cüce” anlamına gelmektedir. Malzeme bilimi açısından, nanomalzemeler kullanılarak yeni ürünlerin üretilmesi heyecan vericidir, çünkü partikül boyutu yaklaşık 100 nm'nin altına düştükçe parçacık özelliği büyük oranda değişiklik göstermektedir (Warheit ve ark., 2008). Bu benzersiz özelliklerinden dolayı nanopartiküllerin (NP) günümüz dünyasında geniş bir uygulama yelpazesi bulunmaktadır. Nanomalzemelerin kullanımında öngörülen artış, bu malzemelerin insan çevresinde daha fazla bulunmasına ve dolayısıyla insan maruziyetinin potansiyel olarak artmasına yol açmaktadır. NP'lerin çevrede yaygın olarak bulunması, deri, oral, solunum, olfaktör veya intravenöz/subkutan gibi yollarla maruz kalmaya neden olmaktadır. Fakat en etkili maruziyet yolu, yüksek emilim oranı, geniş alveolar yüzey alanı ve yüzey aktif maddelerle desteklenen bir mekanizma sunduğu için inhalasyon olarak bilinmektedir (Hoet ve ark., 2004).

Nanomalzemelerin toksikoloji çalışmaları özellikle maruziyet-konsantrasyon-etki ilişkisine odaklanmaktadır. Genellikle dış maruziyet, toksik madde veya kirleticilerin vücuda girmesine yol açmaktadır. Dolayısıyla, NP'lerin potansiyel toksisitesini belirleyen en önemli faktör NP maruziyet yoludur (Sahu ve Hayes, 2017). Günümüzde çeşitli kimyasal bileşiklerin güvenlik değerlendirmesi için kullanılan toksisite testleri, nanomalzemelerin değerlendirilmesi için uygun değildir ve nanomalzemelerin güvenlik değerlendirmesi amacıyla kullanılacak uluslararası düzeyde toksisite testleri veya doğrulanmış protokoller bulunmamaktadır (Slikker ve ark., 2012). Bu bölüm, NP'lere maruziyetin cilt, olfaktör, oral ve solunum gibi olası yollarının toksisitesini vurgulamaktadır.

### 1. ORAL YOLLA MARUZİYET

NP'lere oral maruziyet; gıda, su, kozmetikler, ilaçlar, gıda takviyeleri ve solunum gibi yollarla gerçekleşebilmektedir. Gıdalar içerisinde ise en yaygın bulunan NP'ler arasında gümüş (Ag), titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), silika (SiO<sub>2</sub>) ve çinko oksit (ZnO) sayılabilir. Örneğin; günlük olarak alınan gümüş partikül miktarının yaklaşık 1.8 mg/kg olduğu tahmin edilmektedir. Bu da 70 kg ağırlığındaki bir birey için yaklaşık 126 mg/gün anlamına gelmektedir (Dekkers ve ark., 2011). NP'ler giderek artan oranlarda gıdalarda kullanılmakta

olduğundan oral maruziyet sonrası NP'lerin toksisitesi, güvenliği sağlamak için dikkatle değerlendirilmelidir. Günümüze kadar birçok çalışma oral NP maruziyetinin, özellikle katı NP'lerin, hem *in vivo* hem de *in vitro* toksikolojik tepkilere neden olabileceğini göstermiştir. Ancak, çoğu toksikoloji çalışması yalnızca NP'leri oral maruziyet için kullanmış ve gerçek hayattaki NP'ler ile gıda bileşenleri arasındaki potansiyel etkileşimi göz ardı etmiştir (Cao ve ark., 2016).

İnsan sağlığı açısından düşük dozlarda günlük NP maruziyetinin potansiyel etkileri önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Farklı maruziyet yolları arasında, oral maruziyet en az belgelenmiş olanıdır, ancak NP'ler gıda katkı maddesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Özellikle NP'ler, gıda ve su ile temas eden ambalajlara dahil edilerek tekstüre edici, antimikrobiyal veya renklendirici olarak kullanılmaktadır. Oral ve gastrointestinal mukozalar, yutulan NP'lerle ilk temas eden bölgeler olup bu NP'ler biyolojik bariyerleri aşarak sistemik dolaşıma katılmaktadırlar. Bu durum da insan sağlığı açısından günlük hayatta maruz kalınan NP'lere karşı risk değerlendirmelerinin daha kapsamlı yapılmasını gerektirmektedir (Bettini ve Houdeau, 2014).

NP'lere oral maruziyetin demir emilimini etkileyebileceği yapılan bir pilot çalışma ile gösterilmiştir. *In vitro* koşullarda, polistiren NP'lerin CaCo<sub>2</sub> ve HT29-MTX ko-kültürlerine maruziyetinin bağırsak hücrelerinin zar yapısını bozarak demir alımını artırdığı görülmüştür. *In vivo* koşullarda ise, tavukların NP'lere akut maruziyeti demir emilimini önemli ölçüde azaltırken, kronik maruziyet bağırsak mikrovilluslarının yeniden şekillenmesine neden olmuştur ve dolayısıyla demir emilim yüzeyini artırmıştır. Bu çalışma sonucunda NP'lere oral maruziyetin bağırsak fonksiyonunu modüle ederek besin alımını etkileyebileceğine dair doğrudan kanıt sağlanmıştır (Mahler ve ark., 2012).

Gümüş nanopartiküllerinin (AgNP'ler) antibakteriyel etkisi, bu partiküllerin sağlık, elektronik ve ev ürünlerinde geniş çapta kullanımını sağlamıştır. Ancak, AgNP'lere maruz kalan nüfus yeni uygulamalarla birlikte giderek artmaktadır ve AgNP'lerin biyolojik sistemlere olan toksisitesi, hala tartışmalı bir araştırma alanıdır. Özellikle, AgNP'lerin oral toksisitesi halk sağlığı ve tüketici sağlığını sağlamak adına önemlidir. Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada, 60 nm boyutundaki AgNP'lerin 28 gün süreyle Sprague-Dawley sıçanlarında oral toksisitesi Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD) test yönergesi 407 ve İyi Laboratuvar Uygulaması (GLP) kuralları çerçevesinde test edilmiştir. AgNP'ler ile yapılan maruziyetten sonra, mikronükleuslu

polikromatik eritrositler (MN PCEs) veya toplam eritrositler içindeki polikromatik eritrosit oranlarında kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmamıştır. Bu nedenle, mevcut AgNP'lerin erkek ve dişi sıçanların kemik iliğinde genetik toksisiteye neden olmadığı gösterilmiştir. Ek olarak AgNP'lerin doku dağılımı, tüm incelenen dokularda gümüş içeriğinin doz bağımlı bir şekilde biriktiğini göstermiştir. Özellikle, dişi sıçanların böbreklerinde gümüş birikiminin, erkek sıçanların böbrekleriyle karşılaştırıldığında iki kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Kim ve ark., 2008). Bazı çalışmalar bağırsak hücreleri tarafından partiküllerin emiliminin bağırsak fonksiyonlarını değiştirebileceğini ve bunun sonucunda besin emilimini etkileyerek uzun süreli maruziyet sonrası olumsuz sağlık etkilerine yol açabileceğini öne sürmüştür. Shahare ve arkadaşları (2013) yaptıkları çalışmada farelerin 3-20 nm boyut aralığındaki farklı boyutlarda ve konsantrasyonlarda AgNP'lere tekrar eden oral maruziyetinin doza bağlı olarak vücut ağırlığı kaybına neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca bu durum, AgNP'lerin bağırsak mikroviluslarına ve bezlerine zarar verdiğine dair gözlemlerle desteklenmiştir.

AgNP'lere maruz kalmanın, kemirgenlerde toksikolojik etkiler oluşturabileceği daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir. Örneğin, polivinil pirrolidon (PVP) kaplı AgNP'lerine (PVP-AgNP'ler) farklı dozlarda (50, 100 ve 200 mg/kg/gün) subkronik oral maruziyetin, epididimal sperm parametreleri üzerinde zararlı etkiler yaratıp yaratmayacağı araştırılmış ve sperm motilitesi, canlılık ve morfolojisi incelenmiştir. Ayrıca, testis ve epididimis histolojik değerlendirmesi de yapılmıştır. Çalışmanın sonucuna göre yüksek dozda PVP-AgNP'lerin, sperm morfolojisinde anormalliklere yol açtığı ancak diğer sperm parametrelerinde anlamlı olmayan değişiklikler gözlemlendiği bildirilmiştir. Dolayısıyla PVP-AgNP'lerine oral subkronik maruziyetin, sperm parametrelerinde hafif toksikolojik etkiler oluşturduğu öne sürülmektedir (Lafuente ve ark., 2016).

Oral yolla alınan metalik NP'lerin kardiyovasküler sistem üzerindeki toksik etkilerine yönelik çalışmaların sınırlı olduğu bilinmektedir. Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada TiO<sub>2</sub> ve ZnONP'leri, Wistar sıçanlarına 10 mg/kg vücut ağırlığı dozunda her iki günde bir, 90 gün boyunca özofagus kanülü kullanılarak oral olarak verilmiştir. NP'lere maruz kalan sıçanların kalplerinde önemli morfolojik değişiklikler meydana gelmiştir. Hücre içi sitokrom-C seviyeleri düşerken, TUNEL pozitif hücrelerin sayısında artış olduğu görülmüştür. Fakat inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda önemli bir değişiklik elde edilememiştir. Her iki NP, mitokondriyal fonksiyonu bozarak

kardiyak disfonksiyona neden olmuştur. Bu durum da artmış kalsiyum konsantrasyonlarıyla ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla NP'ler kan dolaşımına geçerek kardiyovasküler hasara yol açabildiği için bu iki katkı maddesini içeren gıdaların tüketimi konusunda dikkatli olunmalıdır (Herrera-Rodríguez ve ark., 2023).

Hamile kadınlar ve gelişmekte olan fetüsleri,  $TiO_2NP$ 'lerine çeşitli sebeplerden dolayı oral yolla maruz kalabilmektedir. Ancak, bu NP'lerin hamilelik sürecindeki olası etkileri hala tam olarak açığa çıkarılabilmemiş değildir ve vücuttaki dağılımları tam olarak araştırılmamıştır. Bu nedenle,  $TiO_2NP$ 'lerinin gebelik sırasında potansiyel etkileri ve vücutta nasıl dağıldıklarının incelendiği bir çalışmada Sprague-Dawley cinsi hamile sıçanlara gebelik günleri 6-19 arasında oral yolla 0, 100, 300 ve 1000 mg/kg/gün dozlarında  $TiO_2NP$ 'leri verilmiş ve gebeliğin 20. gününde sezeryanla doğum gerçekleştirilmiştir. Hamilelik sırasında  $TiO_2NP$ 'lerine oral maruziyet, annenin karaciğerinde, beyinde ve plasentasında titanyum konsantrasyonlarını artırmıştır. Ancak, bu seviyeler anne hayvanlarda belirgin bir toksisiteye neden olmamış ve embriyo-fetal gelişimini etkilememiştir. Ancak, farklı  $TiO_2NP$  boyutları ve karmaşık maruziyet ihtimallerinin de meydana gelebilme durumu düşünüldüğünde daha kapsamlı toksisite çalışmalarının yapılması gerekmektedir (Lee ve ark., 2019). Farklı bir çalışmada ise  $TiO_2NP$ 'lerinin farelerde oral maruziyet yoluyla kemik üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.  $TiO_2NP$ 'lerin kemik oluşumunu azalttığı, osteoklast aktivitesini ve lipogenezi artırdığı dolayısıyla da trabeküler kemiğin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca,  $TiO_2NP$ 'lerin, PI3K/AKT ve Wnt/ $\beta$ -katenin sinyal yollarını baskılayarak osteoblast farklılaşmasını inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği sonucuna varılmıştır (Xu ve ark., 2024).

Alüminyum oksit nanopartikülleri ( $Al_2O_3NP$ 'leri) ve ZnONP'ler endüstride kullanılmaktadır ve insan hayatının birçok bölümünde yaygın olarak bulunmaktadır. Dolayısıyla bu durum, NP'lerin potansiyel olarak zararlı etkileri konusunda endişelere yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda  $Al_2O_3NP$ 'ler ve ZnONP'lerin toksisiteleri iyi belgelenmiş olsa da, her iki NP'ye aynı anda maruziyetin etkileri hâlâ tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle yapılan bir çalışmada dört grup erkek Wistar sıçanı kullanılmış ve sıçanlara, 75 gün boyunca günlük olarak ilgili NP kombinasyonları uygulanmıştır. Her nanoparçacığın tek başına veya kombinasyon halinde etkileri değerlendirilerek kullanılan her NP'nin hepatorenal toksisiteleri tüm parametre seviyeleri ile doğrulanmış ve mtTFA ve PGC-1 $\alpha$  gen ekspresyonunun baskılandığı

gösterilmiştir. Her iki NP ile birlikte maruziyet, sinerjik etkiler sergilemiştir. Bu sonuçlardan,  $Al_2O_3N$  ve  $ZnONP$ 'lerine eş zamanlı maruziyetin, daha belirgin hepatorenal toksisiteye ve sistemik inflamasyona yol açtığı sonucuna varılmıştır (Yousef ve ark., 2019).

Seryum oksit nanopartiküllerinin ( $CeO_2NP$ 'lerinin) uzun vadeli toksik etkilerini anlamak önemlidir. Yapılan bir çalışmada, 30, 300 ve 600 mg/kg vücut ağırlığı (bw)/gün dozlarında nanoseryum ve  $CeO_2$  mikropartikülleri (MP'ler) ile yapılan 28 günlük tekrarlanan toksisite araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar  $CeO_2NP$ 'lerine maruziyetin, 300 ve 600 mg/kg bw/gün dozlarında serumda alkalin fosfat ve laktat dehidrojenaz aktivitesinde önemli değişiklikler oluşturduğunu ve karaciğer, böbrekler ve beyinde azalmış glutasyon içeriğini açığa çıkardığını ve bu etkilerin doz bağımlı bir şekilde ortaya çıktığını göstermiştir. Buna karşılık,  $CeO_2MP$ 'leri, belirgin bir toksikolojik değişiklik yaratmamıştır.  $CeO_2NP$ 'lerinin,  $CeO_2MP$ 'lerine göre çok daha yüksek bir emilim oranına ve önemli doku dağılımına sahip olduğu ve bu etkinin doz bağımlı olduğu gözlemlenmiştir (Kumari ve ark., 2014).

## 2. DERMAL YOLLA MARUZİYET

Deri, epidermis ve dermisten oluşan heterojen bir yapı olarak bilinmektedir. Ayrıca kıl folikülleri ile ter bezleri bu katmanlar arasında geçiş sağlamaktadır. Aslında epidermis, bazal tabakadan dış yüzeye doğru göç eden keratinositlerden oluşmaktadır ve en dıştaki savunma tabakası olan stratum korneum (korneum tabakası) oluşturmaktadır. Stratum korneum, mikroorganizmaların ve diğer zararlı kimyasalların girişini engelleyerek bir bariyer görevi görmektedir. Ancak bu bariyer tamamen geçirimsiz değildir ve hücrel ve/veya hücreler arası yollar aracılığıyla stratum korneumu difüze edebilen nispeten küçük moleküller (<100 nm) için geçirgenlik gösterebilmektedir (Bianco ve ark., 2016).

$NP$ 'lerin dermal toksisitesi ile ilgili çok sayıda çalışma rapor edilmiştir. Çinko oksit, yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu bir güneş koruyucudur fakat  $NP$  formunun güvenliği konusunda endişeler bulunmaktadır. Mohammed ve arkadaşları (2019) yaptıkları çalışmada, gönüllü kişilere 5 gün boyunca tekrar eden uygulama ile aglomere  $ZnONP$ 'lerinin güvenliğini ve  $ZnONP$ 'ler ile çinko iyonlarının cilt penetrasyonu ile lokal cilt toksisitesini değerlendirmiştir.  $ZnONP$  cilt penetrasyonunu ve canlı epidermisteki metabolik değişiklikleri doğrudan gözlemek için iki farklı mikroskopik teknik kullanılmıştır.  $ZnONP$ 'lerin cilt yüzeyinde ve cilt kıvrımları içinde biriktiği



görülmüştür ancak canlı epidermise girmedığı veya burada hücresele toksisiteye neden olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca insan derisinin canlı epidermisinde çinko iyonu konsantrasyonlarının hafifçe yükseldiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, çoğu güneş koruyucu ürünlerde kullanılan ZnONP'lerin cilde tekrarlayan uygulamalarının güvenli olduğu, canlı epidermise nüfuz etmediği ve bu tabakada toksisiteye yol açmadığı görülmüştür. Ne kadar çinko iyonlarının salınımı ve cilde penetrasyonu ile ilişkilendiriliyor olsa da bu durumun lokal toksisiteye neden olmadığı tespit edilmiştir.

Raju ve arkadaşları (2018), özellikle stratum korneum (SC) boyunca partikül boyutuna bağlı olarak altın nanopartiküllerin (AuNP'ler) kalın deriyi özellikle stratum korneumu (SC) aşma etkinliğini araştırmıştır. Bu araştırma da farklı boyutlardaki ( $22\pm 3$ ,  $105\pm 11$  ve  $186\pm 20$  nm) AuNP'lerin derinlik ve dağılımını belirlemek için sıçanların arka patilerindeki kalın deri kullanılmıştır. Sadece 3 saat boyunca 22 nm AuNP'lere maruz kalan çıkarılmış deri segmentlerinde, 105 ve 186 nm AuNP'lerin kıyasla daha yüksek penetrasyon sergilediği gözlemlenmiştir. Hayvan çalışmaları, erişkin sıçanların arka pati derisinin aynı süre boyunca AuNP solüsyonuna maruz kalmasının ardından, 4. günde NP'lerin kanda tespit edildiğini ve histolojik analizlerin SC'nin hemen altındaki epidermal katmanlarda AuNP'lerin bulunduğunu ancak belirgin bir doku tepkisinin olmadığını ortaya koymuştur. Kalın derinin NP penetrasyonuna izin verdiği ve başlangıçtaki maruziyet sona erdikten uzun süre sonra bile AuNP'leri dolaşıma salan bir depo görevi gördüğü sonucuna varılmıştır.

Gümüş metali, cilt ve mukozal yüzeylerle temas eden çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Sağlıklı bir cilt, gümüş emilimine karşı etkili bir bariyer oluşturmaktadır. Mukozal yüzeylerin daha az etkili bir bariyer olduğu gözlemlenmiş olup, zarar görmüş cilt genellikle zayıf bir bariyer işlevi görmektedir. Gümüş, insan vücudunda partiküller halinde birikerek argyriya olarak bilinen mavi-gri renk değişimine neden olmakta, aynı zamanda idrar ve dışkı yoluyla vücuttan atılımı yapılabilmektedir. Gümüşün cilt tahrişine yol açma potansiyelinin düşük olduğu belirtilmektedir. Göz tahrişi ve bazı alerjik kontakt dermatit vakaları bildirilmiştir. Gümüşün genotoksisiteye neden olabileceği öne sürülüyor olsa da, kanserojen potansiyelini değerlendirmek için ek verilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bildirilen diğer toksik etkiler arasında karaciğer, böbrek, sinir sistemi ve hematolojik etkiler yer almaktadır (Hadrup ve ark., 2018). Gümüş NP'leri, çapı onlarca ila yüzlerce nanometre arasında değişen boyutlarda, insan stratum korneumuna penetrasyon yapmıştır. Burada, daha derin katmanlarda agregatlar oluşturmuş ve bu, gümüşün canlı cilt

katmanlarına penetrasyonunu muhtemelen yavaşlatmıştır ancak Ag iyonlarının bir rezervuarını oluşturarak gümüşün ciltte daha uzun süre kalmasına neden olabileceğini de düşündürmektedir. Bu çalışmada kullanılan AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) ve SEM-EDX (Tarama Elektron Mikroskobu ve Enerji Dağılım X-Işını Analizi) kombinasyonu, NP'lerin cilt yoluyla penetrasyonunun karakterizasyonu için umut verici gibi görünmektedir (Bianco ve ark., 2016).

TiO<sub>2</sub>NP'üne ek olarak ZnONP'leri, UV radyasyona karşı koruyucu ajanlar olarak güneş kremi formülasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha önce yapılan çalışmaların çoğu, NP'lerin sağlıklı cilde nüfuz etmediğini belirtirken, hasar görmüş ciltlerin metal oksit NP penetrasyonunu biraz artırdığı sonucuna varmıştır. Ancak, ZnONP içeren güneş kremleri uygulamış tüketicilerin çevresel olarak anlamlı UVB dozlarına maruz kaldığında, olası toksik sonuçlar hakkında soru işaretleri de bulunmaktadır. Bu nedenle Pal ve arkadaşları (2016) tarafından, SKH-1 kısır farelerin topikal olarak %5 ve/veya %10 dozda ZnONP'lerine (<50 nm ve <100 nm) yalnızca veya UVB (50 mJ cm<sup>-2</sup>) ile birlikte maruz bırakıldığı bir çalışma yapılmıştır. Maruz kalan ciltte Zn iyonlarında önemli artışlar gözlenmiştir. ZnONP'leri ardından UVB'ye maruz kalan grupta, tüm üç zaman noktasında artmış ROS üretimi ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi de bulunmuştur. Benzer şekilde, ZnONP'leri ve UVB'ye maruz kalan grupta hiperplazi ve COX-2'nin aşırı ekspresyonu da ZnONP'leri ve yalnızca UVB'ye maruz kalan gruptan daha fazla olduğu bildirilmiştir. MAPK'lar ve transkripsiyon faktörleri NF-κB ile birlikte COX-2'nin ekspresyonu da ZnONP'leri ve UVB tedavi edilen grupta anlamlı şekilde artmıştır. Sonuç olarak, UVB'nin ZnONP penetrasyonunu fare cildinde artırdığı ve bu süreç sırasında muhtemelen ZnONP'lerinin çözülmesinin gerçekleştiği, bunun sonucunda önemli miktarda Zn iyonu üretimi meydana gelerek ROS üretimi yoluyla oksidatif strese neden olduğu, bu durumun ise MAPK-NF-κB sinyalini aktive ettiği ve COX-2 ve iltihaplanmayı artırdığı rapor edilmiştir.

Titanyum, 24 saatlik maruziyetten sonra epidermal tabakada (0.47±0.33 g/cm<sup>2</sup>) bulunmuş ve dermal tabakada konsantrasyonun tespit edilemeyecek kadar düşük seviyede olduğu rapor edilmiştir. HaCaT hücreleri üzerinde yapılan sitotoksikite çalışmaları, TiO<sub>2</sub>NP'lerinin yalnızca çok yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkiler oluşturduğunu ve yedi gün süren maruziyetin ardından hücre canlılığını azalttığını, EC<sub>50</sub> değerlerinin 8.8×10<sup>4</sup> M (MTT testi), 3.8×10<sup>5</sup> M (AlamarBlue® testi) ve 7.6×10<sup>4</sup> M (PI alımı, nekrotik hücre ölümünün bir göstergesi) olduğunu göstermiştir. Çalışmada,

TiO<sub>2</sub>NP'lerinin sağlam ve hasar görmüş ciltten geçemediği ve yalnızca stratum korneum ve epidermiste bulunabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, insan HaCaT keratinositlerinde gözlemlenen düşük sitotoksik etki, bu NP'nin yalnızca uzun süreli maruziyet sonrasında cilt seviyesinde potansiyel bir toksik etki gösterebileceğini düşündürmektedir (Crosera ve ark., 2015).

Günümüzde NP'lerin kullanımının artmasıyla birlikte, insan sağlığı üzerindeki kronik NP maruziyetinin uzun vadeli etkileri konusunda endişeler de artmaktadır. Fakat NP maruziyetinin mevcut ölçüm teknikleriyle değerlendirilmesi de zor bir durumdur. Yüksek dozda AuNP'leri enjekte edilen farelerin ciltleri gözle görülür şekilde mavi renk almış ve kuantum dot ile muamele edilen hayvanlar ultraviyole uyarılması altında floresan özelliği göstermişlerdir. Daha da önemlisi, çıkarılan cilt örneklerinin elemental analizi, enjekte edilen doz ile karaciğer ve dalakta nanoparçacık birikimi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Sykes ve ark., 2014).

Veriler, gelecekte NP'lere maruz kalan işçilerin ve tüketicilerin sayısının önemli ölçüde artacağını göstermektedir. NP'lerin dermal emilimi ve toksisitesi konusunda, üretilen NP'lerin işyerinde maruz kalan kişiler ve tüketiciler için insan ve çevreye yönelik risklerinin anlaşılmasında şu anda boşluklar bulunmaktadır. Sağlık ve çevre etkilerinin, nanoparçacıkların yaşam döngüsünün, insan maruziyet yollarının, nanoparçacıkların vücutta davranışlarının ve işçiler için riskin değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Özellikle, nanoparçacıkların dermal emilimi ve cilt penetrasyonu ile ilgili olarak, literatürde çok az ve çelişkili veriler bulunduğundan daha iyi bir değerlendirmeye ihtiyaç duymaktadır (Crosera ve ark., 2009).

### 3. SOLUNUM YOLUYLA MARUZİYET

NP'ler, üretim aşamasında veya kullanım sırasında insanları çoğunlukla dermal veya inhalasyon toksisitesi yoluyla etkilemektedir. Inhalasyon yoluyla alınan NP'ler, akciğerlere ulaşmakta ve alveolar bölgelerde birikime sebep olmaktadır. Özellikle küçük boyutları sebebiyle 10-100 nm arasındaki nanomalzemeler genellikle alveolar bölgelerde birikmektedir. Solunum sistemi, çoğu yabancı parçacığın hava yolu epiteline girmesini engelleyen bir bariyer oluşturmaktadır (Hayes ve Bakand, 2010). Solunum sonrası yabancı maddelerin sistemik dolaşıma geçişini sınırlamak amacıyla, solunum yolu epitelyum hücreleriyle kaplanmış olup bu hücreler sıkı bağlantılar oluşturmaktadır. Bu bağlantılar iki komşu epitel hücrelerinin arasındaki boşluğu

doldurarak partiküllerin epitel bariyerinden geçmesini engellemektedir. Bu bölgeye *in vivo* yöntemlerle erişim sağlamak, çok katmanlı dokuların karmaşıklığı ve akciğerdeki relatif konumları nedeniyle oldukça zordur, bu da partikül-hücre etkileşimlerinin bölgesel süreçlerini anlamayı sınırlamaktadır (Hayes ve Bakand, 2010).

Önceki bilimsel araştırmalar, AgNP'lerin detoksifikasyonundan sorumlu ana organın karaciğer olduğunu bildirmiştir. Karaciğer, aynı zamanda renin-anjiyotensin sistemi (RAS) ile ilişkili anahtar bir sinyal molekülü olan anjiyotensinojen (AGT) salgılanmasından sorumlu birincil organdır ve bu sistem, kardiyak debi ve vasküler basıncın korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Subhayu ve arkadaşları tarafından AgNP maruziyetinin RAS ile ilişkili gen sinyalizasyonunda, inflamatuvar yanıt ve hepatoselüler toksisite üzerindeki potansiyel değişikliklerini değerlendirmektedir. Bunun için 6 haftalık erkek Wistar sıçanları, AgNP'ler (200 ppb/gün, günde 4 saat, 5 gün boyunca) ile alt-akut inhalasyon maruziyetine tabi tutulmuş ve karaciğerleri; RAS bileşenlerindeki, inflamasyon ve oksidatif stresle ilgili değişiklikler bakımından analiz edilmiştir. Gerçek zamanlı qPCR analizi sonuçları AgNP maruziyetinin karaciğer AGT, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE)-1 ve ACE-2 mRNA ekspresyonunda önemli bir artışa yol açtığını göstermiştir. İnflamatuvar belirteçler olan interlökin (IL)-6, IL-1 $\beta$  ve tümör nekroz faktörü (TNF)- $\alpha$  da AgNP maruziyeti ile kontrol gruplarına kıyasla upregüle olmuştur. Ek olarak AgNP maruziyeti, karaciğerde katalaz ve süperoksit dismutaz ekspresyonunda ve oksidatif streste önemli bir artışa yol açmıştır (Nayek ve ark., 2022).

Kadmiyum NP'leri, hem endüstriyel hem de çevresel ortamlarda bir risk oluşturmaktadır ancak bu parçacıkların solunmasının uzun vadeli etkileri hakkında sınırlı bilgi rapor edilmiştir. Bir çalışmada fareler kadmiyum oksit (CdO) nanoparçacıklarına akut ve kronik maruziyetle 4 ila 72 saat (24 saat/gün, haftada 7 gün) arası bir süre boyunca maruz bırakılmıştır. Nanoparçacıkların büyük bir kısmının akciğerde tutulduğu ancak daha uzun maruziyetin daha fazla oranda böbrek, karaciğer ve dalak gibi ikinci derecedeki organlara, dağılımına yol açtığı bildirilmiştir. Cd birikimi, akciğer ve karaciğerde 24 saat sonra meydana gelirken, beyin, böbrek ve dalakta ise 72 saatlik maruziyetten sonra gözlemlenmiştir. Her iki maruziyet dozu arasında Cd birikimi ve etkileri bakımından önemli farklar tespit edilmiştir. Histolojik analizler, akciğer ve karaciğer morfolojisinde doz bağımlı değişiklikler ve dokularında hasar

olduğunu göstermiştir. Sonuçlar, kadmiyum NP'lerinin uzun süreli solunmasının riskli olduğunu vurgulamaktadır (Lebedová ve ark., 2016).

Akciğer, NP maruziyeti için ana hedef organlardan biri olarak bilinmektedir. İnsan hava yolu bariyerinden NP'lerin translokasyonunu incelemek için fizyolojik olarak ilgili bir ko-kültür modeli geliştirilmiştir. Model, insan bronşiyal epitelyum hücreleri (Calu-3), endotel hücreleri (EAhy926) ve makrofaj benzeri hücreleri (diferansiye Thp-1) içeren iki odacıklı bir sistemden oluşmaktadır. Tanik asit ile kaplanmış AgNP'ler örnek nanoparçacık olarak kullanılmış ve uygulanan doz seviyelerinde hafif sitotoksikite gözlemlenmiştir. Ayrıca interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) salgılanmasında azalma olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılara geliştirilen bu insan hava yolu modeli ile, aerosol kirleticilerinin veya nano-boyutlu ilaç taşıma sistemlerinin alımı, translokasyonu ve toksisitesinin daha ilgili bir *in vitro* formatta niceliksel değerlendirilmesi için alternatif bir yöntem sunulmaktadır (Zhang ve ark., 2019).

Sağlık sektöründe ve iş yerlerinde kullanılan bir nanomalzeme olan grafen, bu NP'nin toksisitesi ile ilgili bazı endişelere yol açmaktadır. Buna yönelik yapılan bir çalışma, grafen NP'lerinin (GNP'ler) insan akciğerinin A549 epitelyum hücreleri üzerindeki sitotoksitesini değerlendirmeyi amaçlamıştır. GNP'ler, modifiye Hummer yöntemiyle grafitten sentezlenmiştir. Elde edilen sonuçlar GNP'lerin insan akciğerinin A549 epitelyum hücreleri üzerindeki toksikolojik etkilerinin doz ve zamana bağlı olduğunu göstermiştir. GNP'ler, 72 saatlik maruz kalma süresi sonrası, 24 saatlik ve 48 saatlik maruz kalma sürelerine kıyasla daha sitotoksik etki sergilemiştir. IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 40.653.1 ve 0.059 mg/mL olarak belirlenmiştir. Fakat GNP'lerin toksikolojik mekanizmalarını belirlemek için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Nasirzadeh ve ark., 2019).

Srinivas ve arkadaşları (2012), Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>NP'leri (boyut:15–20 nm) ile yalnızca baş ve burun kısmına 4 saat süre boyunca inhalasyon maruziyeti sonrası sıçanlardaki toksik yanıtları değerlendirmiştir. Sıçanlar, 640 mg/m<sup>3</sup> konsantrasyonunda Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>NP'lere maruz bırakılmıştır. Maruziyet sonundaki sonuçlara göre bronkoalveolar lavaj sıvısının daki (BALF) laktat dehidrogenaz, toplam protein ve alkalin fosfataz seviyelerindeki artışla birlikte hücre canlılığında önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>NP'ler maruziyeti, malondialdehit konsantrasyonunu belirgin şekilde artırırken, akciğer

dokusunda intralöktör azaltılmış glutasyon ve antioksidan enzim aktivitelerinde önemli azalmalar gözlemlenmiştir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde  $Fe_3O_4NP$ 'lere inhalasyon maruziyetinin oksidatif stres yoluyla sitotoksositeye neden olabileceği ve Wistar sıçanlarında biphasik inflamatuvar yanıtları tetikleyebileceği gösterilmiştir.

Gosens ve arkadaşları (2010) tarafından nano ve submikron boyutlu altın partiküllerin aglomere olmuş ve tek parçacık suspansiyonlarının akciğerlerdeki inflamatuvar yanıt üzerindeki etkisi araştırılmıştır. İyi dağılmış 50 nm ve 250 nm partikülleri ile bunların aglomera olmuş hallerinin suspansiyonları, aynı kütle bazlı dozda az da olsa akciğer inflamasyonu üretmiştir. Çalışma verileri değerlendirildiğinde akciğer inflamasyonunun toksisite için bir belirteç olarak kullanıldığı durumlarda, tek başına 50 nm'lik altın parçacıklarının aglomera olmuş altın parçacıkları ya da biraz daha büyük altın parçacıklarından daha büyük akut tehlike oluşturmadığı rapor edilmiştir.

#### 4. OLFAKTÖR YOLLA MARUZİYET

Solunum sistemine giren ve hava kirliliği ve mesleki maruziyet yoluyla beyne ulaşan NP'lerin, nörodejenerasyona ve beyin hasarına yol açabileceği bilinmektedir. İn hale edilen NP'lerin beyine ulaşma yolu tam olarak bilinmemektedir fakat burun boşluğundaki koku alma bölgesine biriken NP'lerin beyne ve koku bulbuna doğru hareket edebileceğine dair raporlar bulunmaktadır (Hopkins ve ark., 2014).

Sudhakaran ve arkadaşları (2019) tarafından doğumdan sonraki 0-2 günlük sıçan yavrularından izole edilen birincil astrositler kullanılarak ZnONP'lerinin nörotoksik potansiyeli araştırılmıştır. Hüresel morfoloji, sitoskeletal düzenleme, lizozomal stabilite, mitokondriyal membran potansiyeli (MMP) ve kaspaz aktivasyonu gibi değişiklikler değerlendirilmiştir. Tüm testlerin sonucunda astrositlerde karakteristik işaretlerle birlikte önemli toksik etkiler olduğu ortaya çıkarılmıştır. ZnONP,  $ZnCl_2$  ve ZnO toplu formunun karşılaştırmalı toksisite çalışması yapılmış ve ZnONP'ünün spesifik toksisitesi doğrulanmıştır. Genel olarak çalışma değerlendirildiğinde ZnONP'lerinin, uzun süreli maruziyet sırasında fetal olarak ciddi nöral doku hasarlarına yol açabileceğine dair önemli bilgiler sunduğu sonucuna varılmaktadır.

Kobalt NP'leri (CoNP'ler), fiziksel, kimyasal ve manyetik özellikleri nedeniyle sanayide yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat CoNP'lerinin insanlarda nörolojik semptomlara yol açabileceğine dair bilgiler bulunmakla birlikte bu nanoparçacıkların toksisite mekanizmaları hala açığa çıkarılmamıştır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, CoNP'ler ve CoCl<sub>2</sub> (kobalt klorid) ile ilişkilendirilen toksik etkilerdeki farkları incelemek için erkek Wistar sıçanları kullanılmıştır. CoCl<sub>2</sub>'ye ve farklı boyutlarda olan 96 nm veya 123 nm CoNP'lere aynı konsantrasyonda maruz bırakıldığında, CoCl<sub>2</sub> grubundaki Co<sup>2+</sup> içeriği, beyin dokuları ve kanda CoNP gruplarındaki içeriğe göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır fakat karaciğerde daha düşük olduğu görülmüştür. Hem hipokampus hem de temporal lobun korteksinde önemli sinirsel hasar gözlemlenmiştir. PC12 hücrelerinde, NRF2'nin downregülasyonu hücre canlılığında azalmaya ve apoptoz oranında artmaya neden olmuştur. Çalışma sonucuna göre hem CoNP'ler hem de CoCl<sub>2</sub>, güçlü nörotoksik potansiyele sahip olduğu ve olumsuz sinirsel etkilere yol açtığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2019).

Hidrotermal sentezle üretilen manyetit nanoparçacıkları ile yapılan bir başka çalışmada hem kaplamasız (hidrofilik) hem de kaplamalı (hidrofobik) tekil nanoparçacıkların çapları 20 nm'nin altında ölçülmüştür. Bu boyut aralığındaki manyetit NP'lerinin süperparamanyetizma sergilediği tespit edilmiştir. Yeni sentezlenen NP'lerin nörotoksitesisi, iki memeli hücre hattı olan PC12 (rat feokromositoma) ve ReNcell VM (insan nöral kök hücreleri) ile test edilmiştir. Her iki hücre hattında NP maruziyeti sonrasında sitotoksisite profillerinde önemli ölçüde farklar gözlemlenmiştir (Ma ve ark., 2019).

Greish ve arkadaşları (2019) AgNP'lerin BALB/C farelerinin hafıza, öğrenme, sosyal davranış ve motor fonksiyonları üzerindeki etkisini araştırmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre AgNP ile muamele edilen gruplarda fonksiyonlarının bozulduğu öne sürülmüştür. Genel olarak elde edilen tüm veriler, sistemik AgNP maruziyetinin beyinsel bilişi değiştirebileceğini ve AgNP'lerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel nörotoksisite etkileri konusunda daha fazla araştırma yapılması gerektiğini desteklemektedir.

ZnONP'leri, çeşitli hücre tiplerinde oksidatif stres oluşturduğu ve inflamatuvar süreçleri modüle ettiği bilinen bir metal oksit NP'sidir. ZnONP'lerin çeşitli hücre tiplerinde sitotoksik etkileri değerlendirilmiş olsa da nörotoksik etkileri ile ilgili çok az araştırma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada ZnONP'lerinin

nörotoksik konsantrasyonlarını, maruziyet süresi ve doza göre incelenmesi ve ZnONP'lerinin neden olduğu nörotoksikite mekanizmalarını SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında araştırılması amaçlanmıştır. 15 µM dozda ZnONP uygulamasının, nöronal canlılıkta belirgin bir azalmaya ve farklı morfolojik bulgulara yol açtığı görülmüştür. Ayrıca ZnONP maruziyetinden 12 ve 24 saat sonra hücre organellerinin şiştiği ve sitoplazmik veya nükleer membranın yırtılması gibi tipik nekrotik özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2015).

## SONUÇ

NP'ler; kozmetik, ilaç, çevresel biyoremediasyon ve kimya endüstrisine kadar geniş bir uygulama alanına sahiptir ve insan sağlığı üzerinde potansiyel olarak ciddi toksik etkiler yaratabilmektedir. İnsanlar, NP'lere üretim aşamasında veya kullanım sırasında maruz kalmaktadırlar. Ayrıca, bu malzemeler gıda, kozmetikler ve kirli hava solunumu yoluyla vücuda girebilmektedir. Bu bölümde, NP'lerin olumsuz etkilerini tetikleyen sistemlere dair birçok çalışma yer almaktadır. NP'lerin toksik etkileri, boyutları, yüzey özellikleri ve kimyasal bileşimleri gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Gelecekte, NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimlerinin daha iyi anlaşılabilmesi ve toksisite değerlendirmelerinin yapılabilmesi için daha fazla sayıda araştırma yapılması gerekmektedir. Bu çalışmalar NP'lerin potansiyel mevcut tehlikelerini azaltarak, sağlık ve çevre üzerindeki olumsuz etkileri en aza indirmek için önem arz etmektedir.



## KAYNAKLAR

- Bettini, S., & Houdeau, E. (2014). Exposition orale aux nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>): du franchissement de l'épithélium buccal et intestinal au devenir et aux effets dans l'organisme. *Biologie Aujourd'hui*, 208(2), 167-175.
- Bianco, C., Visser, M. J., Pluut, O. A., Svetličić, V., Pletikapić, G., Jakasa, I., ... & Kezic, S. (2016). Characterization of silver particles in the stratum corneum of healthy subjects and atopic dermatitis patients dermally exposed to a silver-containing garment. *Nanotoxicology*, 10(10), 1480-1491.
- Cao, Y., Li, J., Liu, F., Li, X., Jiang, Q., Cheng, S., & Gu, Y. (2016). Consideration of interaction between nanoparticles and food components for the safety assessment of nanoparticles following oral exposure: A review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 46, 206-210.
- Crosera, M., Bovenzi, M., Maina, G., Adami, G., Zanette, C., Florio, C., & Filon Larese, F. (2009). Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. *International archives of occupational and environmental health*, 82, 1043-1055.
- Crosera, M., Prodi, A., Mauro, M., Pelin, M., Florio, C., Bellomo, F., ... & Larese Filon, F. (2015). Titanium dioxide nanoparticle penetration into the skin and effects on HaCaT cells. *International journal of environmental research and public health*, 12(8), 9282-9297.
- Dekkers, S., Krystek, P., Peters, R. J., Lankveld, D. P., Bokkers, B. G., van Hoeven-Arentzen, P. H., ... & Oomen, A. G. (2011). Presence and risks of nanosilica in food products. *Nanotoxicology*, 5(3), 393-405.
- Gosens, I., Post, J. A., de la Fonteyne, L. J., Jansen, E. H., Geus, J. W., Cassee, F. R., & de Jong, W. H. (2010). Impact of agglomeration state of nano- and submicron sized gold particles on pulmonary inflammation. *Particle and fibre toxicology*, 7, 1-11.
- Greish, K., Alqahtani, A. A., Alotaibi, A. F., Abdulla, A. M., Bukelly, A. T., Alsobyani, F. M., ... & Kamal, A. (2019). The effect of silver nanoparticles on learning, memory and social interaction in BALB/C mice. *International journal of environmental research and public health*, 16(1), 148.
- Hadrup, N., Sharma, A. K., & Loeschner, K. (2018). Toxicity of silver ions, metallic silver, and silver nanoparticle materials after in vivo dermal and mucosal surface exposure: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 98, 257-267.
- Hayes, A., & Bakand, S. (2010). Inhalation toxicology. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology: Volume 2: Clinical Toxicology*, 461-488.
- Herrera-Rodríguez, M. A., del Pilar Ramos-Godinez, M., Cano-Martínez, A., Segura, F. C., Ruiz-Ramírez, A., Pavón, N., ... & López-Marure, R.

- (2023). Food-grade titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles induce toxicity and cardiac damage after oral exposure in rats. *Particle and Fibre Toxicology*, 20(1), 43.
- Hoet, P. H., Brüske-Hohlfeld, I., & Salata, O. V. (2004). Nanoparticles—known and unknown health risks. *Journal of nanobiotechnology*, 2, 1-15.
- Hopkins, L. E., Patchin, E. S., Chiu, P. L., Brandenberger, C., Smiley-Jewell, S., & Pinkerton, K. E. (2014). Nose-to-brain transport of aerosolised quantum dots following acute exposure. *Nanotoxicology*, 8(8), 885-893.
- Kim, J. H., Jeong, M. S., Kim, D. Y., Her, S., & Wie, M. B. (2015). Zinc oxide nanoparticles induce lipoxygenase-mediated apoptosis and necrosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Neurochemistry international*, 90, 204-214.
- Kim, Y. S., Kim, J. S., Cho, H. S., Rha, D. S., Kim, J. M., Park, J. D., ... & Yu, I. J. (2008). Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation toxicology*, 20(6), 575-583.
- Kim, Y. S., Kim, J. S., Cho, H. S., Rha, D. S., Kim, J. M., Park, J. D., ... & Yu, I. J. (2008). Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation toxicology*, 20(6), 575-583.
- Kumari, M., Kumari, S. I., & Grover, P. (2014). Genotoxicity analysis of cerium oxide micro and nanoparticles in Wistar rats after 28 days of repeated oral administration. *Mutagenesis*, 29(6), 467-479.
- Lafuente, D., Garcia, T., Blanco, J., Sánchez, D. J., Sirvent, J. J., Domingo, J. L., & Gómez, M. (2016). Effects of oral exposure to silver nanoparticles on the sperm of rats. *Reproductive Toxicology*, 60, 133-139.
- Lebedová, J., Bláhová, L., Večeřa, Z., Mikuška, P., Dočekal, B., Buchtová, M., ... & Hilscherová, K. (2016). Impact of acute and chronic inhalation exposure to CdO nanoparticles on mice. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 24047-24060.
- Lee, J., Jeong, J. S., Kim, S. Y., Park, M. K., Choi, S. D., Kim, U. J., ... & Yu, W. J. (2019). Titanium dioxide nanoparticles oral exposure to pregnant rats and its distribution. *Particle and fibre toxicology*, 16, 1-12.
- Ma, W., Gehret, P. M., Hoff, R. E., Kelly, L. P., & Suh, W. H. (2019). The investigation into the toxic potential of iron oxide nanoparticles utilizing rat pheochromocytoma and human neural stem cells. *Nanomaterials*, 9(3), 453.
- Mahler, G. J., Esch, M. B., Tako, E., Southard, T. L., Archer, S. D., Glahn, R. P., & Shuler, M. L. (2012). Oral exposure to polystyrene nanoparticles affects iron absorption. *Nature nanotechnology*, 7(4), 264-271.

- Mohammed, Y. H., Holmes, A., Haridass, I. N., Sanchez, W. Y., Studier, H., Grice, J. E., ... & Roberts, M. S. (2019). Support for the safe use of zinc oxide nanoparticle sunscreens: lack of skin penetration or cellular toxicity after repeated application in volunteers. *Journal of Investigative Dermatology*, 139(2), 308-315.
- Nasirzadeh, N., Azari, M. R., Rasoulzadeh, Y., & Mohammadian, Y. (2019). An assessment of the cytotoxic effects of graphene nanoparticles on the epithelial cells of the human lung. *Toxicology and Industrial Health*, 35(1), 79-87.
- Nayek, S., Lund, A. K., & Verbeck, G. F. (2022). Inhalation exposure to silver nanoparticles induces hepatic inflammation and oxidative stress, associated with altered renin-angiotensin system signaling, in Wistar rats. *Environmental toxicology*, 37(3), 457-467.
- Pal, A., Alam, S., Chauhan, L. K., Saxena, P. N., Kumar, M., Ansari, G. N., ... & Ansari, K. M. (2016). UVB exposure enhanced the dermal penetration of zinc oxide nanoparticles and induced inflammatory responses through oxidative stress mediated by MAPKs and NF- $\kappa$ B signaling in SKH-1 hairless mouse skin. *Toxicology research*, 5(4), 1066-1077.
- Raju, G., Katiyar, N., Vadukumpully, S., & Shankarappa, S. A. (2018). Penetration of gold nanoparticles across the stratum corneum layer of thick-skin. *Journal of Dermatological Science*, 89(2), 146-154.
- Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2017). Toxicity of nanomaterials found in human environment: a literature review. *Toxicology Research and Application*, 1, 2397847317726352.
- Shahare, B., Yashpal, M., & Gajendra. (2013). Toxic effects of repeated oral exposure of silver nanoparticles on small intestine mucosa of mice. *Toxicology mechanisms and methods*, 23(3), 161-167.
- Slikker Jr, W., Miller, M. A., Valdez, M. L., & Hamburg, M. A. (2012). Advancing global health through regulatory science research: Summary of the Global Summit on Regulatory Science Research and Innovation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 62(3), 471-473.
- Srinivas, A., Rao, P. J., Selvam, G., Goparaju, A., Murthy, B. P., & Reddy, N. P. (2012). Oxidative stress and inflammatory responses of rat following acute inhalation exposure to iron oxide nanoparticles. *Human & experimental toxicology*, 31(11), 1113-1131.
- Sudhakaran, S., Athira, S. S., & Mohanan, P. V. (2019). Zinc oxide nanoparticle induced neurotoxic potential upon interaction with primary astrocytes. *Neurotoxicology*, 73, 213-227.
- Sykes, E. A., Dai, Q., Tsoi, K. M., Hwang, D. M., & Chan, W. C. (2014). Nanoparticle exposure in animals can be visualized in the skin and analysed via skin biopsy. *Nature communications*, 5(1), 3796.

- Warheit, D. B., Sayes, C. M., Reed, K. L., & Swain, K. A. (2008). Health effects related to nanoparticle exposures: environmental, health and safety considerations for assessing hazards and risks. *Pharmacology & therapeutics*, 120(1), 35-42.
- Xu, J., Ze, X., Zhao, L., Sheng, L., & Ze, Y. (2024). Titanium dioxide nanoparticles oral exposure induce osteoblast apoptosis, inhibit osteogenic ability and increase lipogenesis in mouse. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 277, 116367.
- Yousef, M. I., Mutar, T. F., & Kamel, M. A. E. (2019). Hepato-renal toxicity of oral sub-chronic exposure to aluminum oxide and/or zinc oxide nanoparticles in rats. *Toxicol Rep* 6: 336–346.
- Zhang, F., Aquino, G. V., Dabi, A., & Bruce, E. D. (2019). Assessing the translocation of silver nanoparticles using an in vitro co-culture model of human airway barrier. *Toxicology in Vitro*, 56, 1-9.
- Zheng, F., Luo, Z., Zheng, C., Li, J., Zeng, J., Yang, H., ... & Li, H. (2019). Comparison of the neurotoxicity associated with cobalt nanoparticles and cobalt chloride in Wistar rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 369, 90-99.



### BÖLÜM 3

## NANOPARTİKÜL TOKSİSİTESİNİ DEĞERLENDİRMEK İÇİN BİR MODEL ORGANİZMA: *Allium cepa*

Doktora Öğr. Yudum YELTEKİN UĞUR<sup>1</sup>,

Prof. Dr. Recep LİMAN<sup>1</sup>,

Doç. Dr. Erman Salih İSTİFLİ<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169445>

<sup>1</sup>Uşak Üniversitesi, 1 Eylül Kampüsü, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Uşak, Türkiye, yudum\_yeltekin01@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0003-3891-8717, recep.liman@usak.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-7944-4952

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana, Türkiye, ermansalih@gmail.com, Orcid ID: 0000-0003-2189-0703

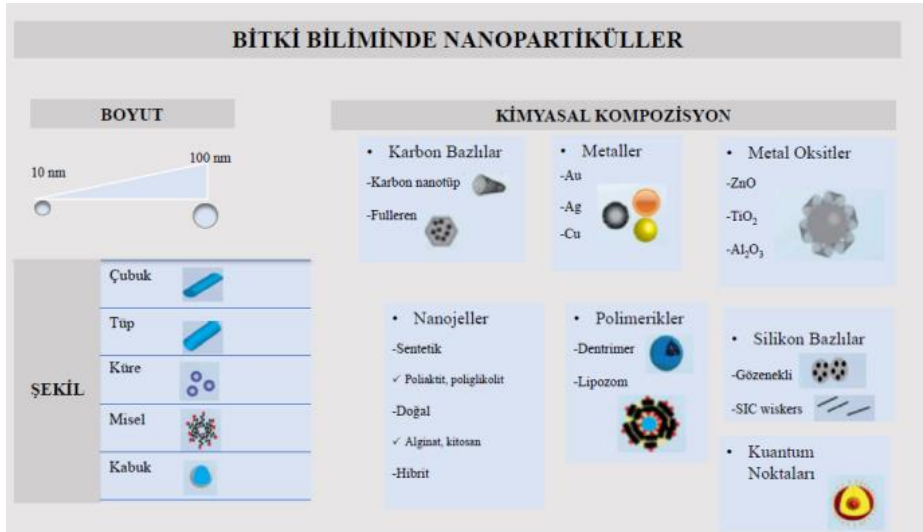
## GİRİŞ

Nanoteknoloji kavramı, 20. yüzyılın ortalarından itibaren bilimsel literatürde yer edinmiş ve özellikle son yıllarda biyoteknoloji, tıp, malzeme bilimi ve çevresel uygulamalar gibi birçok alanda devrim niteliğinde ilerlemelere yol açmıştır (Narayanan ve Sakthivel, 2010; Rao ve ark., 2016; Gebre ve Sendeku, 2019). Nano ölçekli yapıları sayesinde benzersiz kimyasal, optik ve manyetik özellikler sergileyen nanopartiküller (NP), biyomedikal alanından enerji depolamaya kadar birçok alanda yenilikçi uygulamalara olanak tanımaktadır (Huber, 2005; Yang ve ark. 2020). NP'ler, çeşitli şekillerde sınıflandırılırsalar da (Şekil 1), yaygın olarak, fizikokimyasal özelliklerine göre; organik, inorganik ve karbon bazlı yapılar şeklinde kategorize edilmekte olup, özellikle inorganik metal ve metal oksit türevleriyle geniş bir kullanım alanına sahiptir (Ealia ve Saravanakumar, 2017; Demirkan, 2019; Uyanıkgil ve Salmanoğlu, 2020; Can ve Gürel, 2023). Metal bazlı NP'ler, benzersiz fizikokimyasal özellikleri sayesinde biyomedikal, tarım, çevre ve teknoloji gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Singh ve ark., 2016; Farinha ve ark., 2021). Mühendislik yoluyla üretilen bu partiküllerin ekosistem, çevre ve canlılar üzerindeki potansiyel toksisite seviyeleri tam olarak bilinmediğinden, dikkatle incelenmeli ve olası çevresel ve biyolojik riskler açısından titizlikle değerlendirilmelidir (Ghodake ve ark., 2011). Bununla birlikte, bu yenilikçi materyallerin ekosistemlerde nasıl birikim gösterdiği, biyobozunurluk seviyeleri ve canlı organizmalar üzerindeki olası genotoksik ve sitotoksik etkileri gibi konular günümüzde halen araştırılmaktadır. Özellikle metal ve metal oksit bazlı NP'lerin bitkiler, mikroorganizmalar ve insan sağlığı üzerindeki uzun süreli (kronik) etkileri tam olarak anlaşılammış olup, çevresel riskler açısından kapsamlı değerlendirmelere ihtiyaç duyulmaktadır (Halıcı ve ark., 2021; Taşar, 2023).

Nanoteknolojinin yaygınlaşmasıyla birlikte, nanomalzemelerin biyolojik sistemler üzerindeki potansiyel etkileri önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Özellikle gelişmiş ülkelerde, nanomalzemelerin çevresel ve sağlık üzerindeki olası risklerine yönelik araştırmalar artış göstermiştir (Demir, 2014). Bu bağlamda, nanomalzemelerin toksik etkilerini değerlendirmek için farklı model organizmalar tercih edilmektedir. Hayvansal model organizmalar arasında *Caenorhabditis elegans* (Chatterjee ve ark., 2014), *Daphnia magna* (Santo ve ark., 2014), *Danio rerio* (Dedeş ve Ciutat, 2015) ve *Drosophila melanogaster* (Demir, 2014) yaygın olarak tercih edilirken, bitkisel model organizmalar da nanomalzemelerin çevresel biyobirikimi, genotoksik ve sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde önemli bir araç olarak kabul edilmektedir.

Bitkisel model organizmalar arasında *Allium cepa* (Akhoundnejad, 2019), *Vicia faba* (Thabet ve ark., 2019) ve *Lemna minor* (Dağlıoğlu ve Türkiş, 2017) türleri öne çıkmaktadır. Özellikle *A. cepa*, meristematik kök

hücrelerindeki yüksek mitotik aktivitesi ve indüklenen kromozomal anormalliklerin kolaylıkla belirlenebilmesi nedeniyle, nanomalzeme toksisitesinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak, depo edilmesinin ve kullanımının kolay olması, genotoksik maddelere karşı hızlı ve belirgin bir yanıt vermesi, kararlı bir karyotipe sahip olması, maliyet düşüklüğü *A. cepa*'yı sito-genotoksik çalışmalar için uygun bir model organizma yapmaktadır (Firbas, 2013; Kim ve ark., 2021; Dos Santos ve Franco, 2023). Bitkisel model organizmalar arasında *A. cepa*, nanomalzemelerin bitkiler üzerindeki potansiyel toksik etkilerini değerlendirmede güvenilir ve güçlü bir biyolojik gösterge olup, çevresel risklerin belirlenmesinde önemli bir rol üstlenmektedir (Collins, 2004).



Şekil 1: Nanopartiküllerin çeşitli kategorilerde gruplandırılması (Can ve Gürel, 2023).

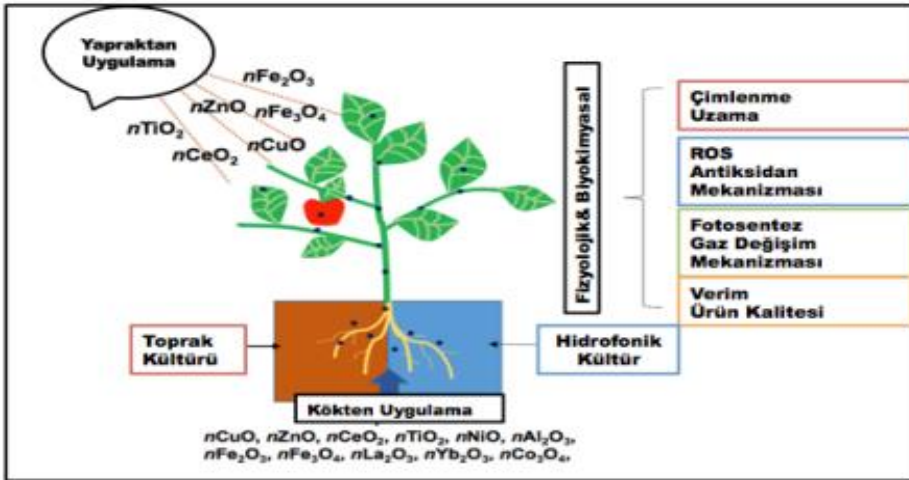
## 1. BİTKİLERDE NANOPARTİKÜL TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE MODEL ORGANİZMA OLARAK *A. CEPA*'NIN KULLANIMI

NP'lerin bitkiler üzerindeki toksik etkileri tam olarak anlaşılammış olup, ekosistem ve insan sağlığı üzerindeki riskleri halen araştırılmaktadır (Sanzari ve ark., 2019). Bununla birlikte, NP'lerin bitkilerle doğrudan temas ettiğinde çeşitli fizyolojik, morfolojik ve genetik değişimlere neden olabildiği bilinmektedir (Şekil 2). Genellikle kök veya yaprak yoluyla bitkilere alınan NP'ler, bitki yüzeyindeki stomalar, hidatodlar ve epidermal dokular gibi doğal



açıklıklardan difüze olarak iç dokulara ulaşabilmektedir (Eichert ve ark., 2008). Kök seviyesinde alım, kök ucu ve yan kök bağlantılarından gerçekleşirken, apoplastik ve simplastik yollarla bitkinin diğer bölgelerine taşınabilmektedir (Sanzari ve ark., 2019). Ancak bu taşınma mekanizması, partikül boyutu, yüzey yükü ve kimyasal kompozisyon gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Ranjan ve ark., 2017).

Bitkilerde NP toksisitesi, çeşitli fizikokimyasal özellikler ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişmektedir. NP'lerin boyutu küçüldükçe yüzey alanı/hacim oranı artmakta, bu durum reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini tetikleyerek oksidatif stresi artırmakta ve bitki hücrelerinde toksik etkilere neden olmaktadır. NP şekil faktörü de önem taşımakta olup, belirli NP morfolojileri hücrel etkileşimi ve biyoyararlanımı değiştirebilmektedir. Yüzey kimyası ve yük durumu, NP'lerin bitki hücre duvarı ve plazma zarından geçişini etkileyerek toksisite düzeyini belirlemektedir. Ayrıca, NP'lerin çözünürlüğü ve ortam pH'ına duyarlılığı metal iyonlarının salınımını artırarak bitkilerde stres tepkilerini tetikleyebilir. Agregasyon eğilimleri de NP'lerin toksisitesini etkilemekte olup, kümelenmiş NP'lerin kökler tarafından alımını ve taşınımını değiştirerek farklı fizyolojik ve moleküler yanıtların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu faktörler bir araya geldiğinde, NP'lerin bitki büyümesi, fotosentez ve hücrel metabolizma üzerindeki olumsuz etkileri daha belirgin hale gelmektedir (Kızılkaya ve ark., 2020).



**Şekil 2:** Farklı ortam ve uygulamaların NP taşınımı ile bitkinin fiziksel ve biyokimyasal içeriğine etkisi (Cinisi ve ark., 2019).

NP'lerin fitotoksitesisi genellikle oksidatif stres, genomik kararsızlık ve büyük oranda metabolik bozulmalarla ilişkilendirilmektedir. Metal bazlı NP'lerin aşırı birikimi, bitkilerde ROS'un artmasına yol açarak hücre membranı hasarı, protein oksidasyonu ve DNA mutasyonlarına neden olduğu bildirilmiştir (Dimkpa ve ark., 2013; Faisal ve ark., 2013). Bunun sonucunda, bitki büyümesi ve gelişimi olumsuz etkilenmektedir.

Bazı NP'lerin fotosentez mekanizmasını etkileyerek klorofil sentezini baskıladığı veya kloroplastlarda hasara neden olduğu bildirilmiştir. Örneğin, çinko oksit (ZnO) ve bakır (II) oksit (CuO) NP'lerin bitkisel hücrelerde aşırı birikmesi, kloroplast yapısını bozarak fotosentez verimliliğini düşürmektedir (Sanzari ve ark., 2019). Ayrıca, NP'lerin kök uzunluğunu azaltarak besin alım mekanizmalarını engellediği ve kök gelişimi üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu bilinmektedir (Miralles ve ark., 2012).

NP'ler, bitkilerin yenilebilir kısımlarında birikerek besin zincirine dahil olabilmekte ve insan sağlığı üzerinde potansiyel riskler oluşturabilmektedir. Özellikle, toprak ekosisteminde mikrobiyal toplulukları etkileyerek besin döngüsünde bozulmalara yol açabilecekleri bildirilmiştir (Saharan ve ark., 2016). Bunun yanı sıra pestisit ve gübrelere NP'lerin kullanımı, bitkilerin ihtiyaç duyduğu besin maddelerinin alımını optimize etmenin yanı sıra toprak ve su kaynaklarında toksik birikimlere de sebep olabilir (Liu ve Lal, 2015).

Bu nedenle, tarımsal uygulamalarda NP'lerin kullanımının düzenlenmesi ve uzun süreli etkilerinin detaylı olarak incelenmesi gerekmektedir.

*A. cepa* (soğan), genetik stabilitesi, büyük kromozom yapısı ( $2n = 16$ ) ve kök hücrelerindeki yüksek meristematik mitotik aktivitesi nedeniyle genotoksikite çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir bitkisel model organizmadır (Badr ve İbrahim, 1987). Kromozomlarının büyük ve kolay gözlemlenebilir olması, hücresel bölünme sürecinde meydana gelen yapısal ve sayısal kromozom anormalliklerinin tespit edilmesini kolaylaştırmaktadır (Oney Birol ve Gündüz, 2019). Ayrıca, düşük maliyetli olması, kolay yetiştirilebilmesi ve toksik maddelere karşı hızlı tepki vermesi nedeniyle ekotoksikoloji araştırmalarında güvenilir bir model organizma olarak kabul edilmektedir (Ünal ve ark., 2020; Halıcı ve ark., 2021).

*Allium testi*, hızlı, hassas ve güvenilir bir yöntem olması sebebiyle çeşitli kimyasal maddelerin, çevresel kirleticilerin, ilaçların, gıda katkı maddelerinin, pestisitlerin ve NP'lerin sitotoksik ve genotoksik etkilerini değerlendirmek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir *in vivo* test sistemidir (Pathiratne ve ark., 2015). Hayvan deneylerine bir alternatif olarak kabul edilmesi, etik kurul onayı gerektirmemesi ve uygulama kolaylığı sağlaması, bu testin önemli avantajları arasındadır. Ayrıca, içerdiği aktivasyon enzimleri sayesinde diğer ökaryotik test

sistemleriyle benzer sonuçlar üretebilmekte ve farklı toksisite çalışmaları için güvenilir bir test sistemi olarak değerlendirilmektedir (Ünal ve ark., 2020; Kızılkaya, 2021; Melo ve ark., 2024).

*A. cepa* model organizması ve *Allium* testi, NP'lerin genotoksisite ve sitotoksisite araştırmalarında kritik bir role sahiptir. Özellikle NP'lerin bitkilerde meydana getirdiği ağır toksik etkilerin belirlenmesinde, bu test sistemi güvenilir bir biyobelirteç (biyomarker) olarak öne çıkmaktadır. Bu bağlamda, *A. cepa* organizması, bitki sağlığı ve tarımsal sürdürülebilirlik açısından kolay uygulanabilirliği, hassas ve güvenilir sonuçlar vermesi ve hızlı değerlendirme olanağı sunması nedeniyle vazgeçilmez bir model organizma olarak ön plana çıkmaktadır.

## 2. ALLIUM CEPA KULLANILARAK NANOPARTİKÜL TOKSİSİTESİNİN BELİRLENMESİ

NP'lerin genotoksik ve sitotoksik etkilerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan *Allium* testi, güvenilir bir biyolojik test yöntemidir. NP'lerin genotoksik etkilerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmaların büyük bölümü memeli hücreleri ve bakteriler üzerinde yoğunlaşmış olsa da, *in vivo* testlerin sınırlı olması nedeniyle alternatif model organizmaların kullanımı giderek artmaktadır (Kızılkaya ve ark., 2020; Santonastaso ve ark., 2020; Ling ve ark., 2021). Tablo 1'de, çeşitli NP'lerin *A. cepa* üzerindeki sito-genotoksik potansiyelini gösteren çalışmalar ve sonuçları verilmiştir. Özellikle ökaryotik test sistemleri arasında yer alan ve klastojenik ve mutajenik etkilerin değerlendirilmesinde sıklıkla tercih edilen *Allium cepa* modeli, NP'lerin potansiyel genotoksik etkilerini belirlemede önemli bir biyolojik araç olarak görülmektedir (Özkara ve ark., 2014; Mehrian ve De Lima, 2016). *A. cepa* testi, biyolojik toksik ajanlar ile muamele sonucu oluşan hücre bölünmesi bozuklukları, kromozomal anormallikler ve DNA hasarı gibi etkilerin değerlendirilmesinde mikronükleus (MN) oluşumu ve mitotik indeks analizi gibi yöntemlerle desteklenerek uygulanmaktadır (Liman ve ark., 2019; Ünal ve ark., 2020; Halıcı ve ark., 2021; Macar, 2021).

**Tablo 1:** Farklı NP'lerin *A. cepa* Üzerindeki Etkileri Ve Bulguları.

NP tipi	Organizma	Sonuçlar	Kaynak
Metal oksit NP'ler; bakır oksit ve çinko oksit karışımı (CuO/ZnO-NP)	<i>A. cepa</i>	Artmış kromozomal hasar ve tüm örneklerde mitotik aktivite azalması	Jibunor ve Elebo, 2024
Bakır NP'ler (Cu NP)	<i>A. cepa</i>	<i>A. cepa</i> büyümesinde artış ve Cr alımının azalması	Naseem ve ark., 2024

Çinko NP'ler (ZnNP), Mangan NP'ler (MnNP) ve Bakır NP'ler (CuNP)	<i>A. cepa</i>	Çinko NP'lerin uygulanan konsantrasyonlarda güvenli bulunması, Mangan NP'lerin 50 ppm'de genotoksik etki göstermesi ve Bakır NP'lerin 50 ppm'de genotoksik ve sitotoksik etki göstermesi	Haydar ve ark., 2024
Bisfenol A (BPA) ile birlikte aminlenmiş polistiren nanoplastikler (PSNP)	<i>A. cepa</i>	Kromozomal anormalliklerde artış, oksidatif stres artışı ve hücre ölüm oranının artması	Giri ve ark., 2024
Nanodiamond/ Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP'ler	<i>A. cepa</i>	Kromozom yapısal değişimlerinin gözlenmesi	Chandra Sekhar Singh, 2022
Bakır oksit (CuO) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Bakır oksit NP'lerin doza bağımlı bir toksisite sergilemesi ve kontrol grubuna göre daha kısa sürgün uzunluklarının gözlemlenmesi	Sing ve Kaur, 2024
Demir oksit (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Yüksek NP konsantrasyonlarında, antioksidan enzimlerin miktarında artış	Jamal ve Jose, 2024
Hidroksiapatit (nHAs) NP'ler	<i>A. cepa</i>	<i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde genotoksik etkiler ve hücre ölümü	Güneş ve ark., 2024
Çinko oksit NP'ler (ZnO NP)	<i>A. cepa</i>	Yüksek konsantrasyonlarda kök büyümesinin inhibisyonu, kromozomal anormallikler ve hücre bölünmesinde bozulmalar	Al-Khazali ve ark., 2023
Nikel oksit NP'ler (NiO-NP)	<i>A. cepa</i>	Askorbat-glutasyon döngüsü (Asa-GSH döngüsü) üzerinde olumsuz etkiler, indirgenmiş glutasyon (GSH) ve oksitlenmiş glutasyon (GSSG) seviyelerinde bozulmalar ve reaktif oksijen türleri (ROS) seviyelerinde önemli artış	Manna ve Bandyop adhyay, 2023
Gümüş NP'ler (AgNP)	<i>A. cepa</i>	Mitoz bölünmenin inhibisyonu ve hücre bölünmesi üzerinde olumsuz etkiler	Ajaykumar ve ark., 2023
Demir oksit (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) NP'ler (NP) ve mikropartikülleri (MP)	<i>A. cepa</i>	Mitotik indekste (MI) düşüş ve kromozom anormalliklerinde artış	Kizilkaya ve ark., 2023

Grafen oksit (GO) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Mitotik indekste düşüş, ve kromozom anormalliklerinde artış	Christudoss ve ark., 2023
Titanyum dioksit (TiO <sub>2</sub> ) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde artış	Roy ve ark.,2021
Altın NP'ler (AuNP)	<i>A. cepa</i>	DNA hasarı ve genetik anormalliklerin oluşumu, kök hücrelerinde yüksek düzeyde altın birikimi	Arya ve ark., 2022
Gümüş NP'ler (AgNP) ve Nanoformülasyonlar (AgNP + Copaiba yağı + Tween 80)	<i>A. cepa</i>	AgNP'ler ile muamelede yüksek konsantrasyonlarda kök büyümesinin olumsuz etkilenmesi; Nanoformülasyonlar (AgNP + Copaiba yağı + Tween 80), ile muamelede tüm konsantrasyonlarda kök gelişiminin tamamen inhibe olması	Porto ve ark., 2022
Nikel oksit NP'ler (NiO-NP)	<i>A. cepa</i>	<i>A. cepa</i> kök hücrelerinde kromozomal bütünlüğün bozulduğu ve hücre döngüsü ilerlemesinin engellenmesi	Manna ve ark., 2022
Polistiren nanoplastikleri (PSNP)	<i>A. cepa</i>	Yüzey modifikasyonu yapılmamış PSNP'lerin konsantrasyona bağlı olarak hücre ölümü, ROS üretimi, lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitesinde (katalaz ve guaiacol peroksidaz) artışa yol açması	Giri ve Mukherjee, 2022
Superparamanyetik demir oksit NP (SPIONs-Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NP)	<i>A. cepa</i>	Kök uçlarındaki hücrelerde kromozomal sapmalar ve genetik bozuklukların gözlemlenmesi	Sivalingam ve ark., 2022
Biyojenik gümüş NP (AgNP)	<i>A. cepa</i>	<i>Aspergillus niger</i> 'den elde edilen NP'lerin (AgNPs-An) klastojenik (yapışkan uçlar, fragmentler, köprüler), mikrotübül polimerizasyonunun bozulması (C-metafaz) ve yanlış eşleşme (düzensiz anafaz) gibi genetik bozukluklara neden olması	Beatriz Andrioli ve ark., 2022
Gümüş NP (AgNP)	<i>A. cepa</i>	Hücre bölünme sürecinde bozulma ve kromozomal anormalliklerin artışı şeklinde kendini gösteren belirgin bir toksik etki	Palácio ve ark., 2021

Tungsten oksit NP (WO <sub>3</sub> NP)	<i>A. cepa</i>	Mitotik indeks (MI) düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, DNA hasarında ise belirgin bir artış	Liman ve ark., 2021
Titanyum dioksit NP (TiO <sub>2</sub> NP)	<i>A. cepa</i>	Kromozomal anormalliklerin (örn., anafaz ve telofaz köprüleri, laggard kromozomlar, binükleer hücreler vb.) tetiklenmesi	Roy ve ark., 2021
Çinko oksit NP (ZnO-NP)	<i>A. cepa</i>	ZnO-NP'ler, Zn <sup>2+</sup> iyonları ve katı partiküller ile muamele sonucunda kök büyümesinin inhibisyonu, Reaktif oksijen türleri (ROS) birikimi ve hücre döngüsü ilerleyişinde bozulmalar	Sampaio ve ark., 2021
Kadmiyum selenid kuantum NP (CdSe QDs)	<i>A. cepa</i>	Hücre canlılık oranı düşüşü ve mitotik frekansın azalması, DNA hasarları, kromozomal anormallikler ve mikronükleus oluşumları, oksidatif stresin tetiklenmesi ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesi	Banerjee ve ark., 2021
Gümüş NP (AgNP)	<i>A. cepa</i>	<i>A. cepa</i> tohumlarında genotoksisite ve oksidatif stres parametrelerinde biyokimyasal değişikliklerin meydana gelmesi; ayrıca ışık ve karanlık koşullarda yürütülen testlerde, ışık maruziyetinin kromozomal anormallikler ile mikronükleus oluşumunu azaltması	Souza ve ark., 2020
Titanium (TiO <sub>2</sub> ) ve çinko oksit (ZnO) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Kromozomal anormalliklerde (CA) artış, mitotik indekste (MI) düşüş, ancak TiO <sub>2</sub> karışımının anormal hücre sayısını azaltması	Fadoju ve ark., 2020
Çinko oksit (ZnO), titanyum dioksit (TiO <sub>2</sub> ) ve alüminyum oksit (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> NP'nin yüksek konsantrasyonlarda kromozomal anormalliklerde artış ve mitotik indekste önemli düşüşe yol açması, UV-B ışığı altında ZnO NP'ye maruz bırakılan hücrelerde en düşük mitotik indeks değerinin tespit edilmesi	Debnath ve ark., 2020
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> nano-kompozit (FeNC) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunda artış, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aktivitesinde azalma, ve yüksek dozda kanserojen potansiyelin gözlenmesi	Gantayat ve ark., 2020

Cerium oksit NP'ler (CeO <sub>2</sub> NP) ve mikroparçacıkları	<i>A. cepa</i>	Mitotik indekste düşüş, kromozom anormallikleri ve DNA hasarında artış	Liman ve ark., 2019
Gümüş NP'ler (100 nm boyutlu) (Ag-NP)	<i>A. cepa</i>	Gümüş NP'lerin genotoksik kirleticileri azaltma potansiyeline sahip olduğu; ayrıca artılmamış sıvı atık çamurlarında gözlenen kromozom aberasyonlarının, Ag-NP uygulamasıyla azalması	Khallef ve ark., 2019
Magnezyum oksit (MgO) nano-(NP) ve mikro-partikülleri	<i>A. cepa</i>	Mitotik aktivitenin baskılanması, kromozomal anormalliklerin, DNA hasarının ve oksidatif stres seviyelerinin artması	Mangala mpalli ve ark., 2018
Silika NP'ler (SiNP)	<i>A. cepa</i>	Artan konsantrasyonlarda mitotik indeksin azalması, kromozom anormalliklerinin indüklenmesi ve çimlenme oranı ile kök büyümesinin olumsuz yönde etkilenmesi	Da Silva ve Monteiro , 2017
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> NP'ler (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> NP)	<i>A. cepa</i>	Mitotik indekste konsantrasyona bağlı azalma ve kromozomal anormalliklerde artış	Rajeshwari ve ark., 2015
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (Krom (III) oksit) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Mitotik indekste konsantrasyona bağlı azalma, NP'lerin hücre içine alınması (internalizasyon) ve oksidatif stresin uyarılması	Kumar ve ark., 2015
TiO <sub>2</sub> (Titanyum dioksit) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Mitotik indekste konsantrasyona bağlı azalma ve kromozomal anormalliklerde artış	Pakrashi ve ark., 2014
Çinko Oksit (ZnO) ve Titanyum Dioksit (TiO <sub>2</sub> ) NP'ler	<i>A. cepa</i>	ZnO ve TiO <sub>2</sub> NP'ler tarafından DNA bütünlüğünün bozulması, potansiyel genotoksik riskin öngörülmesi	Demir ve ark., 2014
Titanium dioksit (TiO <sub>2</sub> ) ve silikon dioksit (SiO <sub>2</sub> ) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Kısa süreli maruziyetlerde belirgin bir toksik etkinin gözlenmemesi, ancak uzun süreli etkilerin değerlendirilmesi için daha kapsamlı fizyolojik analizlerin gerekliliği	Koce ve ark., 2014
Çinko oksit (ZnO) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Mitotik aktivitede azalma, mikronükleus ve kromozomal hasarlarda artış, lipid peroksidasyonu ve ROS üretimi nedeniyle hücre zarında hasar oluşumu	Kumari ve ark., 2011

Kobalt oksit (CoO) ve Çinko oksit (ZnO) NP'ler	<i>A. cepa</i>	Her iki NP tarafından kök gelişiminin inhibe edilmesi, ZnO NP'lerin hücrel ve kromozomal hasara yol açması, CoO NP'lerin daha çok kök sistemine bağlanarak toksik etki göstermesi	Ghodake ve ark., 2011
--	----------------	---	-----------------------

*A. cepa*, klastojenlere yüksek hassasiyeti nedeniyle, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından Genotoksik Program kapsamında değerlendirilen dokuz bitkiden biri olup, aynı zamanda Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP) tarafından çevresel kirleticilerin genotoksik etkilerini belirlemede kullanılan standart test sistemlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Grant, 1994). *Allium ana-telofaz testi*, *Allium cepa* kök meristem hücrelerinin belirli kimyasal ajanlara maruz bırakılmasını ve ardından mitotik indeks ile kromozomal anormalliklerin mikroskopik boyama teknikleriyle belirlenmesini içeren bir sitogenetik analiz yöntemidir (Rank ve Nielsen, 1993; Saxena ve ark., 2005). NP'lerin neden olabileceği sito-genotoksik etkilerin değerlendirilmesine imkân tanıyan bu test; anafaz-telofaz köprüleri, yapışkan kromozomlar, kutupsal sapmalar, kalgın kromozomlar, binükleer hücreler, poliploidi, c-metafaz ve mikronükleus gibi çeşitli kromozomal anormalliklerin tespit edilmesini sağlar (Oney Birol ve Gündüz, 2019; Ünal ve ark., 2020; Taşar, 2023).

*Allium* testine ek olarak, mitotik döngüden bağımsız bir yöntem olan ve pratik uygulanabilirliği, hızı ve maliyet etkinliği gibi avantajlarıyla öne çıkan Komet testi de NP'lerin genotoksik etkilerinin belirlenmesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Ozel ve ark., 2022). Bu test, izole edilen tek hücre DNA'larının agaroz jele yüklenmesini takiben elektroforez uygulanarak DNA hasarının incelenmesi prensibine dayanmaktadır. Hasarlı DNA, sağlam DNA'ya kıyasla daha hızlı hareket eder ve floresan boyalar aracılığıyla mikroskop altında analiz edilebilir (Azqueta ve Collins, 2013; Hartmann ve ark., 2003). Komet testi, düşük seviyedeki DNA hasarlarını az miktarda hücre örneği ile tespit edebilmesi, genotoksinlerin DNA molekülü üzerindeki etki bölgelerinin belirlenebilmesi ve tüm ökaryotik hücre tiplerinde uygulanabilmesi gibi önemli avantajlara sahiptir (Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011). Ekotoksikoloji ve insan biyolojik izleme çalışmalarında, DNA'ya zarar veren ajanlara maruziyet sonucu ortaya çıkan nükleer hasarın gösterilmesine olanak tanıyan bir biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir (Costa-Amaral ve ark., 2019; Gajski ve ark., 2019). Bununla birlikte, laboratuvar ortamında



yürütülen çalışmalar aracılığıyla kimyasal bileşiklerin etki mekanizmalarının anlaşılmasına katkıda bulunarak tehlike değerlendirme süreçlerine ve risk analizlerine önemli bilimsel veriler sağlamaktadır (Cordelli ve ark., 2021).

## SONUÇ VE GELECEK PERSPEKTİFLERİ

NP'lerin bitki biliminde kullanımı, tarımsal verimlilik ve çevre dostu uygulamalar açısından önemli fırsatlar sunsa da oluşturduğu potansiyel toksik etkiler göz önünde bulundurulmalıdır. Yapılan çalışmalar, NP'lerin bitkilerde ROS üretimini artırarak oksidatif strese, hücrel membran hasarına, kromozomal anormalliklere ve DNA zincir kırıklarına neden olduğunu ortaya koymuştur (Dimkpa ve ark., 2013; Faisal ve ark., 2013; Sanzari ve ark., 2019). *A. cepa* model organizması, bu tür hasarların belirlenmesinde önemli bir biyolojik gösterge olarak öne çıkmakta olup, mitotik indeks, kromozomal aberasyonlar ve DNA hasarı gibi parametrelerin değerlendirilmesinde güvenilir sonuçlar sağlamaktadır. Özellikle, NP'lerin ekosistem üzerindeki uzun vadeli etkilerinin belirlenmesi için *Allium* testi gibi biyolojik yöntemlerin kullanımı yaygınlaştırılmalıdır. Gelecekte, çevre dostu ve biyoyumlu NP'lerin geliştirilmesi, toksik etkilerin azaltılmasına katkı sağlayabilir. NP'lerin bitkiler üzerindeki uzun vadeli etkilerini daha iyi anlamak için multidisipliner yaklaşımlar benimsenmeli ve kapsamlı risk değerlendirme çalışmaları yapılmalıdır (Sanzari ve ark., 2019).

## KAYNAKLAR

- Ajaykumar, A. P., Sabira, O., Binitha, V. S., Varma, S. R., Mathew, A., Jayaraj, K. N., ... & Aswathi. (2023). Bio-fabricated silver nanoparticles from the leaf extract of the poisonous plant, *Holigarna arnottiana*: Assessment of antimicrobial, antimitotic, anticancer, and radical-scavenging properties. *Pharmaceutics*, 15(10), 2468.
- Akhoundnejad, Y., (2019). Farklı Dozlardaki Gümüş Nanopartiküllerinin Taze Soğan (*Allium Cepa*) Üzerine Etkisi. *Şırnak Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1), 17-24.
- Al-Khazali, Z. K. (2023). Phytotoxic Nature of Different Concentrations of Zinc Oxide Nanoparticles on *Allium Cepa* L. Root Meristem Cells. *J Nanostruct* 13(4): 1168-1183.
- Arya, S. S., Rookes, J. E., Cahill, D. M., & Lenka, S. K. (2022). Reduced genotoxicity of gold nanoparticles with protein corona in *Allium cepa*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 849464.
- Azqueta, A., & Collins, A. R. (2013). The essential comet assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. *Archives of Toxicology*, 87(6), 949-68.
- Badr, A., & İbrahim, A. G. (1987). Effect of herbicide Glean on mitosis, chromosomes and nucleic acids in *Alium cepa* and *Vicia faba* root meristems. *Cytologia*, 52 (2): 293-302.
- Banerjee, R., Goswami, P., Chakrabarti, M., Chakraborty, D., Mukherjee, A., & Mukherjee, A. (2021). Cadmium selenide (CdSe) quantum dots cause genotoxicity and oxidative stress in *Allium cepa* plants. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 865, 503338.
- Beatriz Andrioli, N., Mendoza, G. S. S., Fernández, J. G., & Ferramola, M. I. S. (2022). Mitotic and chromosomal effects induced for biosynthesized nanoparticles from three mediators on *Allium cepa* root cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(44), 66716-66727.
- Can, B., & A. Gurel, (2023). Nanopartiküllerin Bitki Sistemlerinde ve Bitki Doku Kültürlerinde Uygulamalarına Yönelik Genel Bir Bakış. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*6(3): p. 335-370.
- Chandra Sekhar Singh, B. (2022). Toxicity Analysis of Hybrid Nanodiamond/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles on *Allium cepa* L. *Journal of Toxicology*, 2022(1), 5903409.

- Chatterjee, N, Eom H.J, & Choi J. (2014). Effects of silver nanoparticles on oxidative DNA damage-repair as a function of p38 MAPK status: A comparative approach using human Jurkat T cells and the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 55:122-133.
- Christudoss, A. C., Dimkpa, C. O., & Mukherjee, A. (2023). Eco-corona formation diminishes the cytogenotoxicity of graphene oxide on *Allium cepa*: Role of soil extracted–extracellular polymeric substances in combating oxidative stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 204, 108123.
- Cinisli, K. T., Uçar, S., & Dikbaş, N. (2019). Nanomateryallerin Tarımda Kullanımı. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 29(4), 817-831.
- Collins, A. R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Molecular biotechnology*, 26(3), 249-61.
- Cordelli, E., Bignami, M., & Pacchierotti, F. (2021). Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. *Toxicology Research (Cambridge)*, 10(1), 68-78.
- Costa-Amaral, I. C., Carvalho, L. V. B., Santos, M. V. C., Valente, D., Pereira, A. C., Figueiredo, V. O., . . . & Larentis, A. L. (2019). Environmental Assessment and Evaluation of Oxidative Stress and Genotoxicity Biomarkers Related to Chronic Occupational Exposure to Benzene. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(12), 2240.
- Da Silva, G. H., & Monteiro, R. T. R. (2017). Toxicity assessment of silica nanoparticles on *Allium cepa*. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 12(1), 25-31.
- Dağlıoğlu, Y., & Türkiş, S., (2017). Effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles application on photosynthetic pigment contents of duckweed (*Lemna minor* L.). *Acta Biologica Turcica* 30.4: 108-115.
- Debnath, P., Mondal, A., Sen, K., Mishra, D., & Mondal, N. K. (2020). Genotoxicity study of nano Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub> and ZnO along with UV-B exposure: An *Allium cepa* root tip assay. *Science of The Total Environment*, 713, 136592.
- Dedeh A, Ciutat A, Treguer-Delapierre M, & Bourdineaud JP. (2015). Impact of gold nanoparticles on zebrafish exposed to a spiked sediment. *Nanotoxicology*. 9:71-80.
- Demir, E. (2021). Nanomateryallerin Toksisite ve Genotoksisite Çalışmalarında

- Bir In Vivo Model Organizma Olarak *Drosophila melanogaster* (Meyve Sineği)'in Kullanılması. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 9(1), 01–11.
- 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*, 38:1, 4.
- Demirkan, A. (2019). Nanoteknolojinin insan sağlığına faydalı ve zararlı yönleri. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 9(2), 136-148.
- Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Britt, D. W., & Anderson, A. J. (2013). Antioxidant response and ROS-induced stress as mechanisms of nanoparticle toxicity in plants. *Environmental Pollution*, 174, 300-307.
- Dos Santos, C., & Franco, O. L. (2023). Pathogenesis-Related Proteins (PRs) with Enzyme Activity Activating Plant Defense Responses. *Plants (Basel)*, 12(11), 2226.
- Ealia, S.A.M., & 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.
- Eichert, T., Kurtz, A., Steiner, U., & Goldbach, H. E. (2008). Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water-suspended nanoparticles. *Physiologia plantarum*, 134(1), 151-160.
- Fadoju, O. M., Osinowo, O. A., Ogunsuyi, O. I., Oyeyemi, I. T., Alabi, O. A., Alimba, C. G., & Bakare, A. A. (2020). Interaction of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles induced cytogenotoxicity in *Allium cepa*. *The Nucleus*, 63, 159-166.
- Faisal, M., Saquib, Q., Alatar, A. A., Al-Khedhairi, A. A., & Al-Musayeib, N. M. (2013). Phytotoxic hazards of nanoparticles: Evidence from oxidative stress and genotoxicity response. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 91, 30-36.
- Farinha, P., Coelho, J. M., Reis, C. P. & Gaspar, M. M., (2021). A Comprehensive Updated Review on Magnetic Nanoparticles in Diagnostics. *Nanomaterials*, 11(12), 3432.
- Firbas, P. (2013). *Allium* Chromosome Aberration Test for Evaluation Effect of Cleaning Municipal Water with Constructed Wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 04(04), 1000189.
- Gajski, G., Žegura, B., Ladeira, C., Pourrut, B., Del Bo, C., Novak, M., . . . & Costa, S. (2019). The comet assay in animal models: From bugs to whales–(Part 1 Invertebrates). *Mutation Research/Reviews in Mutation*

- Research, 779, 82-113.
- Gantayat, S., Nayak, S. P., Badamali, S. K., Pradhan, C., & Das, A. B. (2020). Analysis on cytotoxicity and oxidative damage of iron nano-composite on *Allium cepa* L. root meristems. *Cytologia*, 85(4), 325-332.
- Gebre, S. H. & Sendeku, M. G., (2019). New frontiers in the biosynthesis of metal oxide nanoparticles and their environmental applications: an overview. *SN Applied Sciences*, 1 (8), 1-28.
- Ghodake, G., Deuk Seo, Y., Sung Lee, D. (2011). Hazardous phytotoxic nature of cobalt and zinc oxide nanoparticles assessed using *Allium cepa*, *Journal of Hazardous Materials*, 186,(1),952-955.
- Giri, S., & Mukherjee, A. (2022). Eco-corona reduces the phytotoxic effects of polystyrene nanoplastics in *Allium cepa*: emphasizing the role of ROS. *Environmental and Experimental Botany*, 198, 104850.
- Giri, S., Debroy, A., Nag, A., & Mukherjee, A. (2024). Evaluating the role of soil EPS in modifying the toxicity potential of the mixture of polystyrene nanoplastics and xenoestrogen, Bisphenol A (BPA) in *Allium cepa* L. *Journal of Hazardous Materials*, 477, 135252.
- Grant, W. F. (1994). The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 310(2), 175-85.
- Güneş, M., Yalcin, B., Kurşun, A. Y., Tagorti, G., Yavuz, E., Akarsu, E., ... & Kaya, B. (2024). The Effects of Rod and Round-Like Nanohydroxyapatites on *Allium cepa* Root Meristem Cells. *Gazi University Journal of Science*, 37(1), 16-28.
- Halıcı, A., Seyrek, A., Aykan, K., Ünal, F., & Yüzbaşıoğlu, D. (2021). Nanopartiküllerin genotoksik etkileri. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 2(2), 19-38.
- Hartmann, A., Agurell, E., Beevers, C., Brendler-Schwaab, S., Burlinson, B., Clay, P., . . . & Thybaud, V. (2003). Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis*, 18(1), 45-51.
- Haydar, M. S., Saha, P., Mandal, P., & Roy, S. (2024). Evaluating the impact of phytosynthesized micronutrient nanoparticles on the growth and propagation of mulberry cuttings: dose determination and toxicity concerns. *Environmental Science: Nano*, 11(3), 1179-1203.
- Huber DL (2005) Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. *Small*, 1:482-501.
- Jamal, R. K., & Jose, V. (2024). Biochemical changes and oxidative stress responses in *Allium cepa* L. affected by iron oxide nanoparticles. *The*

- Journal of Plant Science Research, 40(1), 103-111.
- Jibunor, V., & Elebo, A. (2024). The Study of the Cytotoxicity and Oxidative Impact of Metal Oxide Nanoparticle on *Allium cepa* L Root Cell. Preprints, 2024102570.
- Khallef, M., Benouareth, D. E., Konuk, M., Liman, R., Bouchelaghem, S., Hazzem, S., & Kerdouci, K. (2019). The effect of silver nanoparticles on the mutagenic and the genotoxic properties of the urban wastewater liquid sludges. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 18403-18410.
- Kızılkaya, D., Ünal, F., & Yüzbaşıoğlu, D. (2020). Demir Oksit (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) Nanopartiküllerinin *Allium cepa*'daki Genotoksik Etkisi. 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020).
- Kim, S.J., Park, J.S., Park, T., Lee, H.M., Choi, J.R., & Park, Y.D. (2021). Development of Molecular Markers Associated with Resistance to Gray Mold Disease in Onion (*Allium cepa* L.) through RAPD-PCR and Transcriptome Analysis. *Horticulturae*, 7(11).
- Kizilkaya, D., Unal, F., Beyzi, E., Kulahci, M. B., Calis Ismetoglu, G., Yuzbasioglu, D., & Suludere, Z. (2023). Comparative investigation of iron oxide nanoparticles and microparticles using the in vitro bacterial reverse mutation and in vivo *Allium* chromosome aberration and comet assays. *Journal of Nanoparticle Research*, 25(9), 173.
- Koce JD, Drobne D, Klančnik K, Makovec D, Novak S, Hočevnar M. (2014). Oxidative potential of ultraviolet-A irradiated or nonirradiated suspensions of titanium dioxide or silicon dioxide nanoparticles on *Allium cepa* roots. *Environ Toxicol Chem*. 33(4):858-67.
- Kumar D, Rajeshwari A, Jadon PS, Chaudhuri G, Mukherjee A, Chandrasekaran N, Mukherjee A. (2015). Cytogenetic studies of chromium (III) oxide nanoparticles on *Allium cepa* root tip cells. *J Environ Sci (China)*. December ;38:150-7.
- Kumari M, Khan SS, Pakrashi S, Mukherjee A, Chandrasekaran N. (2011). Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*. *J Hazard Mater*. 15;190(1-3):613-21.
- Liman, R., Acikbas, Y., & Ciğerci, İ. H. (2019). Cytotoxicity and genotoxicity of cerium oxide micro and nanoparticles by *Allium* and Comet tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 168, 408-414.
- Liman, R., Başbuğ, B., Ali, M. M., Acikbas, Y., & 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, 85-92.
- Ling, C., An, H., Li, L., Wang, J., Lu, T., Wang, H. & Liu, S. (2021). Genotoxicity evaluation of titanium dioxide nanoparticles in vitro: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Biological Trace Element Research*, 199(5), 2057-2076.
- Liu, R., & Lal, R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the total environment*, 514, 131-139.
- Macar, T. K. (2021). Investigation of cytotoxicity and genotoxicity of abamectin pesticide in *Allium cepa* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(2), 2391-2399.
- Mangalampalli B, Dumala N, Grover P. (2018). Allium cepa root tip assay in assessment of toxicity of magnesium oxide nanoparticles and microparticles. *J Environ Sci (China)*. 66:125-137.
- Manna, I., & Bandyopadhyay, M. (2023). The impact of engineered nickel oxide nanoparticles on ascorbate glutathione cycle in *Allium cepa* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 29(5), 663-678.
- Manna, I., Mishra, S., & Bandyopadhyay, M. (2022). In vivo genotoxicity assessment of nickel oxide nanoparticles in the model plant *Allium cepa* L. *The Nucleus*, 1-12.
- Mehrian, S. K. & De Lima, R. (2016). Nanoparticles cyto and genotoxicity in plants: Mechanisms and abnormalities. *Environmental Nanotechnology, Monitoring ve Management*, 6, 184-193.
- Melo, E. C. D., da Silva Pinheiro, R., Costa, B. S., Lima, R. M. T. D., Dias, A. C. S., de Jesus Aguiar dos Santos, T., ... & Oliveira Filho, J. W. G. D. (2024). Allium cepa as a Toxicogenetic Investigational Tool for Plant Extracts: A Systematic Review. *Chemistry & Biodiversity*, 21(12), e202401406.
- Miralles, P., Church, T. L., & Harris, A. T. (2012). Toxicity, uptake, and translocation of engineered nanomaterials in vascular plants. *Environmental Science & Technology*, 46(2), 922-931.
- Narayanan, K. B. & Sakthivel, N., (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes, *Advances in Colloid and Interface Science*, 156 (1-2), 1-13.
- Naseem, Z., Naveed, M., Asif, M., Alamri, S., Nawaz, S., Siddiqui, M. H., & Mustafa, A. (2024). Enhancing chromium resistance and bulb quality in onion (*Allium cepa* L.) through copper nanoparticles and possible health

- risk. *BMC Plant Biology*, 24(1), 777.
- Oney Birol, S., & Gündüz, F. (2019). L-karnitinin sitotoksik ve genotoksik etkilerinin *Allium cepa* kök ucu testi ile değerlendirilmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(4), 650-8.
- Ozel, C. A., Unal, F., Avuloglu-Yilmaz, E., Erikel, E., Mirici, S., & Yuzbasioglu, D.(2022). Determination of genotoxic damages of picloram and dicamba with comet assay in *Allium cepa* rooted in tissue culture and distilled water. *Molecular Biology Reports*, 49(12), 11273-80.
- Özkara, A., Akyıl, D., Eren, Y., Erdoğan, S. F., Konuk, M. & Sağlam, E. (2015). Assessment of cytotoxic and genotoxic potential of pyracarbolid by *Allium* test and micronucleus assay. *Drug and Chemical Toxicology*, 38(3), 337-341.
- Pakrashi S, Jain N, Dalai S, Jayakumar J, Chandrasekaran PT, Raichur AM, Chandrasekaran N, Mukherjee A. (2014). In vivo genotoxicity assessment of titanium dioxide nanoparticles by *Allium cepa* root tip assay at high exposure concentrations. *PLoS One*. 4;9(2):e87789.
- Palácio, S.M., de Almeida, J.C.B., de Campos, É.A. et al. (2021). Silver nanoparticles effect on *Artemia salina* and *Allium cepa* organisms: influence of test dilution solutions on toxicity and particles aggregation. *Ecotoxicology* 30, 836–850.
- Pathiratne, A., Hemachandra, C. K., & De Silva, N. (2015). Efficacy of *Allium cepa* test system for screening cytotoxicity and genotoxicity of industrial effluents originated from different industrial activities. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 1-12.
- Porto, A. S., da Silveira, L. B., & dos Santos, J. G. (2022). Silver nanoparticles synthesized by combustion reaction and toxicity studies by changes in radicular growth of *Allium cepa*. *Nanopartículas de prata sintetizadas por reação de combustão e estudos de toxicidade por alterações no crescimento radicular de Allium cepa*. *Brazilian Journal of Development*, 8(4), 28826-28837.
- Rajeshwari, A., Kavitha, S., Alex, S.A. et al. (2015). Cytotoxicity of aluminum oxide nanoparticles on *Allium cepa* root tip—effects of oxidative stress generation and biouptake. *Environ Sci Pollut Res* 22, 11057–11066.
- Ranjan, S., Dasgupta, N., Chinnappan, S., Ramalingam, C., & Kumar, A. (2017). A novel approach to evaluate titanium dioxide nanoparticle–protein interaction through docking: an insight into mechanism of action. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section*



- B: Biological Sciences*, 87, 937-943.
- Rank, J., & Nielsen, M. H. (1993). A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. *Hereditas*, 118(1), 49-53.
- Rao, T. N., Apparao, K., Murthy, S. & Naidu, T. M., (2016). Applications of zinc oxide nanoparticles as catalyst in dissipation kinetics of S-metolachlor herbicide in different pH waters under direct sun light, *Materials Today: Proceedings*, 3 (10), 3799-3804.
- Roy, B., Kadam, K., Krishnan, S. P., Natarajan, C., & Mukherjee, A. (2021). Assessing combined toxic effects of tetracycline and P25 titanium dioxide nanoparticles using *Allium cepa* bioassay. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 15, 1-12.
- Saharan, V., Kumaraswamy, R. V., Choudhary, R. C., Kumari, S., Pal, A., Raliya, R., & Biswas, P. (2016). Cu-chitosan nanoparticle mediated sustainable approach to enhance seedling growth in maize by mobilizing reserved food. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(31), 6148-6155.
- Sampaio, L. L. G., Boga, E. P. C., Neves, E. L., de MO Mendes, L., Araújo, É. F. L., Baia, M. O., ... & de Menezes, I. P. P. (2021). Zinc oxide nanoparticles at environmentally relevant concentrations cause cytotoxic and chromosomal damage to *Allium cepa* root cells. *Genet Mol Res*, 20(1), gmr18690.
- Santo N, Fascio U, Torres F, Guazzoni N, Tremolada P, Bettinetti R, Mantecchia P, & Bacchetta R. (2014). Toxic effects and ultrastructural damages to *Daphnia magna* of two differently sized ZnO nanoparticles: Does size matter? *Water Research*. 53:339-350.
- Santonastaso, M., Mottola, F., Iovine, C., Cesaroni, F., Colacurci, N. & Rocco, L. (2020). In vitro effects of titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>NPs) on cadmium chloride (CdCl<sub>2</sub>) genotoxicity in human sperm cells. *Nanomaterials*, 10(6), 1118.
- Sanzari, I., Leone, A., & Ambrosone, A. (2019). Nanotechnology in Plant Science: To Make a Long Story Short. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 120.
- Saxena, P., Chauhan, L., & Gupta, S. (2005). Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology*, 216(2-3), 244-52.
- Singh, D. & Rawat, D., (2016). Microwave-assisted synthesis of silver

- nanoparticles from *Origanum majorana* and *Citrus sinensis* leaf and their antibacterial activity: a green chemistry approach. *Bioresources and Bioprocessing*, 3 (1), 1-7.
- Sivalingam, S., Santhanakrishnan, M., & Parthasarathy, V. (2022). Synthesis, Characterization and In-Vitro Toxicity Assessment of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *Nano Biomedicine & Engineering*, 14(3).
- Souza, I. R., Silva, L. R., Fernandes, L. S., Salgado, L. D., de Assis, H. C. S., Firak, D. S., ... & Leme, D. M. (2020). Visible-light reduced silver nanoparticles' toxicity in *Allium cepa* test system. *Environmental Pollution*, 257, 113551.
- Şekeroğlu, Z. A., & Şekeroğlu, V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-9.
- Taşar, N. (2023). Demir oksit (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanopartikülünün *Allium tuncelianum* (Tunceli Sarımsağı) kök ucu hücrelerindeki mitotik etkisi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 24(2), 170-178.
- Thabet, Ahmad & Galal, Ola & El-Samahy, Magdy & Tuda, Midori. (2019). Higher toxicity of nano-scale TiO<sub>2</sub> and dose-dependent genotoxicity of nano-scale SiO<sub>2</sub> on the cytology and seedling development of broad bean *Vicia faba*. *SN Applied Sciences*. 1.
- Uyanıkgil, E.Ö.Ç. & Salmanoğlu, D.S., (2020). Metalik nanopartiküllerin hedeflendirilmesi. *Ege Tıp Dergisi*, 59 (1), 71-81.
- Ünal, F., Helvacı Tülek, N.D., Yüzbaşıoğlu, &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.
- Yang W., Wang L., Mettenbrink E.M., DeAngelis P.L., & Wilhelm S (2020) Nanoparticle toxicology. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 61.



## BÖLÜM 4

### NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ

Doç. Dr. Arzu ÖZKARA<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169455>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyon, Türkiye, arzuozkara@gmail.com ORCID ID: 0000-0002-7815-5366



## GİRİŞ

Son zamanlarda antimikrobiyal aktivite için kullanılan altın, gümüş, çinko oksit, bakır oksit, zirkonyum oksit, demir oksit ve itriyum oksit nanopartiküllerini (NP'ler) kapsayan nanoteknoloji ve uygulamaları son zamanlarda bilim dünyasında merak uyandıran konular arasında yer almaktadır. Akıllı metal NP'lerin aşağıdan yukarıya bir yaklaşımla çevre dostu sentezleri, normal hücrelere herhangi bir zarar vermeden hedeflenen hücrelere karşı daha fazla seçiciliğe ve biyolojik aktiviteye sahip olmalarını sağlamaktadır. Bu seçicilik ve biyouyumluluk, NP'lerin biyomedikal uygulamalarda ilaçların yerine kullanılması için gelecekte kullanımını mümkün kılan temel özellikleridir. Hücre bileşenlerine ve zarına zarar veren reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine, salınan metal iyonlarının proteinlerle etkileşimi enzim aktivitesinin ve fizyolojik süreçlerin inhibisyonuna neden olur. Bir diğer mekanizma ise oksidatif olmayan yoldur ki, bu mekanizmada metal NP'lerin antimikrobiyal aktivitesinin arkasındaki esas neden hücre apoptozudur (Chaudhary and Masram, 2020). NP'ler özellikle ilaç direnci geliştiren mikrobiyal türler için geleceğin antimikrobiyal ajanları olarak kullanılmaya potansiyeline sahip materyallerdir. NP'ler her ne kadar popüler bir konu olsa da bu alanda aydınlatılmayı bekleyen pek çok soru olduğu da unutulmamalıdır. Bu kitap bölümünde farklı biyolojik aktivitelere sahip olan NP'lerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde odaklanılmıştır.

## 1. NANOPARTİKÜLLER

NP'ler, nano boyutları nedeniyle benzersiz özelliklere (Hübler ve Osuagwu, 2010) sahip olup Avrupa Birliği, NP'leri parçacıkların %50'sinden fazlasının 1-100 nm'lik boyutlar arasında bulunan bir ya da daha çok dış boyuta sahip olduğu malzemeler olarak tanımlamaktadır (Avrupa Komisyonu, 2020). Nanoteknoloji son on yılda katlanarak ilerlemiş olup; NP'ler çeşitli uygulamalarda, endüstri, bilim, eczacılık, tıp, elektronik ve iletişim ürünlerinin de dahil olduğu farklı disiplinlerde kullanım alanı bulmaktadır. Dolayısıyla son yıllarda nano bazlı ürünlerin kullanımında bir hayli artış olmuştur ve ekonomik olarak küresel pazarda çok büyük oranda bir yer tutmaktadır (Çiğerci ve ark., 2024).

NP'lerin sentezi için bottom-up (aşağıdan yukarı) ve top-down (yukarıdan aşağı) olmak üzere iyi bilinen iki yaklaşım vardır. Bu iki yaklaşım altındaki yöntemlerden bazıları mikrodalga yöntemi (Selvanathan ve ark.,

2022), hidrotermal yöntem (Bharti ve Bharati, 2017), mikroemülsiyon yöntemi (Talebiana ve ark., 2013), solvotermal yöntem (Anžlovar ve ark., 2015), termal ayrıştırma (Kumar ve ark., 2013), sol-jel (Omria ve ark., 2014), çökeltme (Moharram ve ark., 2014), lazer ablasyon (Zamiri ve ark., 2012), sonokimyasal yöntem (Yadav ve ark., 2008), litografi, püskürtme, bilyalı öğütme, aşındırma, püskürtme pirolizi, kimyasal buhar biriktirme ve atomik/moleküler yoğunlaşmadır. NP'leri sentezlerken şekil ve boyut kontrolü, saflık, kümelenme kontrolü, NP'lerin kararlılığı ve parçacıkların seri üretimi gibi önemli özellikler dikkate alınmalıdır (Horikoshi ve Serpone, 2013). Bu fiziksel/kimyasal yöntemler farklı boyut ve morfolojilere sahip NP'leri sentezlemek için etkili olsa da, bu yöntemlerin, karmaşıklık ve tehlikeli organik çözücüler, biyolojik olarak parçalanmayan stabilizatörler, toksik reaktifler ve pahalı cihazlar ile uzun süreç kontrolü gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenle, NP'leri sentezlemek için basit, güvenli ve çevre dostu bir yöntem geliştirmeye yönelik büyük bir talep bulunmaktadır. Günümüzde, bilim camiasının yeni gözdesi daha çevre dostu bir teknik olan yeşil sentezdir. Bu yöntem, bitkilerin farklı kısımlarından (meyve, kök, yaprak ve çiçek gibi) elde edilen özütlerin herhangi bir metal tuzuyla uygun sıcaklıkta muamele edilmesi esasına dayanmaktadır. Yeşil sentez, düşük maliyetli, çevre dostu ve hızlı bir teknik olduğu için günümüzde NP sentezi için tercih edilmektedir. Ayrıca, yeşil sentez yöntemiyle elde edilen NP'lerin diğer tekniklere kıyasla kararlı yapılar sergilediği ve biyoyumlu olduğu bilinmektedir (Karnani ve Chowdhary, 2013; Yuvakkumar ve ark., 2014; Tailor ve ark., 2020). NP'lerin özelleşmiş boyutları onların canlı organizmaları oluşturan hücreler ile etkileşimlerini sağlamaktadır.

Hücreler, 10 µm'lik boyuta sahip canlı organizmanın en küçük yapı birimleridir. Oysa hücre organelleri, mikron altı seviyesinden çok daha küçüktür ve yaklaşık 5 nm'lik boyuta sahip NP'ler, bu hücre organelleriyle boyut olarak karşılaştırılabilir (Taton, 2002). Bu bağlamda, küçük boyutlarından dolayı metal NP'ler ve oksitleri, etkileşime girebileceği ve temas edebileceği biyolojik nesneye kolayca yaklaşabilmekte ve bu da NP'lerin biyolojik aktiviteye müdahale etmesine izin vermektedir. Bakır, nikel, gümüş, altın, titanyum gibi çeşitli metal NP'ler ve metal oksitler, sahip oldukları fizikokimyasal özellikler nedeniyle farklı biyolojik aktiviteler için kullanılmaktadır (Mamonova ve ark., 2015).

## 2. NANOPARTİKÜLLERİN YEŞİL SENTEZİ

NP'lerin yeşil sentezi, zararlı yan ürünlerin oluşmasını önleyerek, kirliliği ve atık üretimini en aza indirip çevreye zarar vermeyen sentetik bir yol oluşturmayı amaçlamaktadır. Bunun için, sentez sürecinde bakteri, mantar, maya, bitki ve bitki özleri gibi yeşil çözücüler ve doğal olarak oluşan kaynaklar kullanılmaktadır. Tüm yeşil yöntemler arasında genellikle bitki özleri kullanılarak metalik NP'lerin basit ve kolay sentezi yapılabilmektedir. Tüm bu bitki özleri, metal tuzlarının indirgenmesiyle metal NP'leri sentezleme potansiyeline sahip terpenoidler, flavonlar, aldehitler, ketonlar, karboksilik asitler, askorbik asitler, amidler ve fenoller gibi fitokimyasalları içermektedir (Doble ve ark., 2010). Bu bağlamda metal NP'lerinin sentezi için çeşitli biyolojik kaynaklar kullanılmaktadır.

Biyolojik yöntemler, hassas boyut ve şekillerde metal ve metal oksit NP'leri üretmek için uygulanabilir bir strateji olarak ortaya çıkmış ve bu sayede ekolojik olarak sürdürülebilir yollar kullanılarak çevre dostu özellikleri iyileştirilmiştir. Biyojenik kaynaklardan elde edilen biyosentez yoluyla metal NP'leri üretmek için mikroorganizmaların kullanılmasına yönelik artan bir ilgi vardır. Bahsedilen yeşil sentez yaklaşımları, geleneksel fiziksel ve kimyasal işlemlerle kıyaslandığında sürdürülebilir, uygun maliyetli ve daha güvenli bir alternatif sunmaktadır (Malik ve ark., 2023; Kim ve ark., 2024). Dahası, biyolojik sentez, çeşitli işlemlere uyum sağlamak için NP boyutlarının ve morfolojisinin titizlikle manipüle edilmesini sağlamaktadır. Çok sayıda mikroorganizmanın, hücrelerinin içinde veya dışında inorganik maddeler üretme yeteneğine sahip olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Araştırmacılar şu anda bakteri, alg, mantar, virüs, maya ve aktinomisetler gibi mikroorganizmaları, metal nanopartiküllerin sentezini azaltabilen veya stabilize edebilen ajanlar olarak incelemektedirler. Kadmiyum, gümüş, paladyum, altın, bakır, çinko, titanyum ve platin gibi bu NP'lerin endüstriyel ve biyomedikal alanlarda çeşitli uygulamaları bulunmaktadır (Stabnikova ve ark., 2023). Çeşitli mikroorganizmalar kullanılarak NP sentezi bildirilmiştir. Patojenik olmayan mikroorganizmalar kullanılarak NP üretimi uygun maliyetli, güvenli ve çevre dostudur; bu da kimyasal ve fiziksel yaklaşımların sınırlamalarını ortadan kaldırmaya yardımcı olmaktadır (Jamkhande ve ark., 2019; Salem ve Fouda, 2021).



## 2.1. Bakteriler

İlk kez 1980 yılında, HAuCl<sub>4</sub>'ün *Bacillus subtilis* ile muamele edilmesiyle altın NP sentezi bildirilmiştir (Vaseghi ve ark., 2018). Bakteriler, çeşitli alanlarda NP üretimi için biyojenik bir kaynak olarak önemli bir rol oynamaktadırlar. Bu yöntemin temel avantajlarından biri, metal iyonlarının indirgenmesini kolaylaştıran hem hücre içi hem de hücre dışı enzimlerin salgılanması ve böylece NP'lerin üretilmesidir (Alfryyan ve ark., 2022). Bakterilerin hızlı büyümesi, kültürünün kolay olması ve *in vitro* korunması, bu yaklaşımı nanoteknoloji uygulamaları için ekonomik hale getirmektedir. Ek olarak, NP sentezi sıcaklık, pH, metal iyon konsantrasyonu ve reaksiyon süresi gibi koşulları ayarlayarak hassas bir şekilde kontrol edilebilmekte olup bu da bakterileri biyosentetik NP üretimi için ideal bir araç haline getirmektedir (Morgan ve Aboshanab, 2024; Patel ve ark., 2024). Yıllar içinde, NP sentezi için; *Bacillus sp.*, *B. amyloliquifaciens*, *B. cereus*, *B. flexus*, *B. licheniformis*, *B. megateriu*, *B. mycoides*, *B. sphaericus JG-A12*, *B. subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus sp.*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus garvieae*, *Thermomonospora sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Rhodococcus sp.* ve *Shewanella sp.* gibi çeşitli bakteri suşları kullanılmıştır (Vaseghi ve ark., 2018; Pantidos ve Horsfall, 2014).

## 2.2. Mantarlar

Mantarlar yeşil sentezde kullanılan mikroorganizmalardan biridir. Mantarlar aracılığıyla gerçekleştirilen yeşil NP sentezi, basitlik ve amplifikasyon ve işleme kolaylığı, ekonomik uygulanabilirlik, biyokütle işleme, önemli yüzey mesafesi geri kazanımı ve optimum miselyum büyümesi dahil olmak üzere çok sayıda avantaja sahiptir. Sonuç olarak, mantarlar NP'lerin sentezinde muazzam bir vaat taşımaktadır (Osman ve ark., 2024). NP'lerin sentezi için; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus tubingensis*, *Colletotrichum spp.*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium semitectum*, *Phoma glomerata*, *Pediococcus pentosaceus*, *Penicillium sp.*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium purpurogenum*, *Volvariella volvacea*, *Neurospora crassa* ve *Verticillium sp.* kullanılan mantar türlerine örnek olarak verilebilir. (Vaseghi ve ark. 2018; Pantidos ve Horsfall, 2014).

### 2.3. Mayalar

Mayalar, fungusların Ascomycetes grubuna aittir ve NP'leri sentezlemek için güçlü bir potansiyele sahiptir (Qamar and Ahmad, 2021). Bunlardan birkaçı *Candida sp.*, MKY3, *Pichia pastoris*, *Rhodotorula sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, *Schizosaccharomyces*, *Schwanniomyces occidentalis* ve *Yarrowia lipolytica*'dır (Vaseghi ve ark., 2018, Shinto ve ark., 2020).

### 2.4. Bitkiler ve Bitki Özüleri

Farklı metal tuzları çözeltilerinin oda sıcaklığında farklı bitki özütlerine doğrudan eklenmesi NP'lerin sentezlenmesini sağlamaktadır. Bitki özlerindeki alkaloidler, fenoller, sitrik asit, polifenolik, terpenler, askorbik asit, flavonoidler ve diğer bileşenler gibi farklı biyoaktif moleküller, indirgeyici ajanlar olmak için önemli bir değere sahiptir (Halder ve ark., 2022). Bitkilerin ikincil metabolitlerinin (polifenoller) NP'lerin yeşil sentezinin ilerlemesinde çok önemli bir işlev gören esas önemli elementler olduğu kabul görmüş bir bakış açısidir. Yeşil sentez uygulaması diğer yöntemlere kıyasla daha gelişmiş, güvenli, uygun maliyetli ve kararlıdır (Vankudoth ve ark., 2022). Bunun için; *Acalypha indica*, *Allium sativum*, *Aloe vera*, *Azadirachta indica*, *Calypha indica*, *Coriolus versicolor*, *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon sp.*, *Cymbopogon flexuosus*, *Garcinia mangostana*, *Jatropha curcas latex*, *Magnolia kobus*, *Mentha piperita*, *Nelumbo nucifera*, *Nepheium lappaceum L.*, *Pyrus sp.*, *Rosa canina*, *Salvia officinalis*, *Tanacetum vulgare*, *Trifolium pratense*, *Vitex trifolia L.* ve *Zingiber officinale* gibi çeşitli bitki özleri kullanılmıştır (Pantidos ve Horsfall, 2014; Dobrucka ve Długaszewska, 2015; Jafarirad ve ark., 2015; Elumalai ve ark., 2015; Karnan ve Selvakumar, 2016; Zheng ve ark. 2016; Dönmez, 2020; Abomuti ve ark., 2021).

NP'ler sentezlerinde kullanılan organizmaya bağlı olarak şekil bakımından farklılık göstermektedir. Fungusların sentezlediği NP'ler küresel ve bazen üçgen; algler tarafından sentezlenenler çubuk ve küresel; bakteriler tarafından sentezlenen NP'ler altıgen, kübik ve genellikle küresel şekillere sahiptirler (Ali ve ark., 2024). Literatüre bakıldığında, gram pozitif veya gram negatif bakteriler tarafından sentezlenen NP'lerin küresel şeklinin baskın olduğunu (Fani ve ark., 2018; Torabian ve ark., 2019; Jubran ve ark., 2020; Dhandapani ve ark., 2021; El-Bendary ve ark., 2021; Jabbar ve Hussein, 2021), bunu altıgen (Pourali ve ark., 2017; Puja ve ark., 2022), kübik (Sunny ve

ark., 2022 ), üçgen (Nair ve Pradeep, 2002 ), eliptik (Mi ve ark., 2011 ), dikdörtgen, nanorod ve sekiz yüzlü (Yue ve ark., 2014 ) şekillerinin izlediği ortaya koyulmuştur.

### **3. NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK BİLEŞENLERLE ETKİLEŞİMLERİ**

NP'lerin biyolojik uygulamalardaki rolünü anlamak için NP'lerin hücreyle nasıl etkileşime girdiğini anlamak önemlidir. Biyo-nano arayüzü olarak bilinen dinamik fiziko-kimyasal etkileşim, biyolojik bileşenin yüzeyi ile NP'lerin yüzeyi arasında gerçekleşmektedir (Nel ve ark., 2009). NP'ler ile biyolojik bileşenler arasında solvasyon, elektrostatik kuvvetler, van der Waals kuvvetleri, solvofobik ve tükenme kuvvetleri gibi etkileşimler gerçekleşebilir (Min ve ark., 2010). Bu etkileşimlerin önemi, biyolojik bileşende uygun dağılım için NP'lerin kümelenmesinin nasıl önleneyeceğini anlamaktan geçmektedir. Elektrostatik kuvvetler itici kuvvetler kategorisine girerken, van der Waals kuvvetleri ve tükenme kuvvetleri çekici kuvvetler kategorisine girmektedir. Bu kuvvetler, NP'lerin hücre yüzeyiyle etkileşiminden ve hücreye pasif girişinden sorumludurlar (Geiser ve ark., 2005). NP'ler ve hücre zarları arasındaki etkileşimler, NP'lerin sitotoksitesini ve ilaç taşıyıcı araçlar veya terapötik ajanlar olarak potansiyel uygulamalarını belirlemede önemli bir rol oynamaktadır. Bu tür etkileşimlerin genellikle biyokimyasal değil, NP boyutu, hidrofobisite ve yüzey yük yoğunluğu gibi fizikokimyasal faktörler tarafından belirlendiği gösterilmiştir (Ginzburg ve Balijepalli, 2007). Pasif alımdan sonra NP'ler; hücrenin sitoplazma, dış zar, çekirdek, mitokondri, lipid veziküller, nükleer zar ve DNA'nın da dahil olduğu herhangi bir yerinde bulunabilmektedir. Hücredeki NP'ler hücre organellerine zarar vermekte ve bu da hücrenin ölümüne yol açmaktadır (Garcia-Garcia ve ark., 2005).

### **4. NANOPARTİKÜLLERİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİ**

Bakterilerin antibiyotik ilaç kullanımına karşı direnç geliştirdiği için antibiyotiklerden etkilenmemeye başladığı bilinmektedir. Hatta neredeyse tüm antibiyotiklere dirençli süper bakterilerin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (Hsueh, 2010). Hücre duvarı ve diğer hücre bileşenlerinin modifikasyonu (Jayaraman, 2009), enzimlerin etkisiyle antibiyotiğin modifikasyonu veya bozunumu (Poole, 2002) ve eflüks pompalarının ekspresyonu (Knetsch ve Koole, 2011) antibiyotiklere karşı direnç sağlayan çeşitli mekanizmalardır.

Bakteriyel direncin sürekli olarak ortaya çıkması bilim dünyasını yeni antibiyotik ajanları geliştirmeye zorlamaktadır. Bu yeni antibiyotik ajanlarının en umut verici olanları arasında, çok sayıda çalışmada güçlü antibakteriyel aktivite göstermiş olan metal NP'ler yer almaktadır. Yeni antibiyotikler piyasaya sürüldüğünde bile nispeten kısa bir süre içinde antibiyotik dirençli bakteriler ortaya çıkmaktadır. Ancak, antibakteriyel aktiviteye sahip NP'lerin, daha dirençli bakterilerin evrimini azaltma veya ortadan kaldırma potansiyeline sahip olduğu varsayılmaktadır çünkü NP'ler aynı anda birden fazla biyomolekülü hedef alarak dirençli suşların gelişimini önlemektedirler (Slavin ve ark., 2017). NP'ler hücre penetrasyonu olmadan doğrudan bakteri hücre duvarı ile temas ederler ve geniş bir antibakteriyel özellik yelpazesi gösterirler. Farklı NP'lerden AgNP'lerin *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya; ZnONP'lerin *P. aeruginosa*'ya karşı (Ramalingam ve ark., 2016) antimikrobiyal aktiviteleri gösterilmiştir. Antibakteriyel aktiviteyi göstermek için, NP'lerin hedef hücreyle temas halinde olması önemlidir. Van der Waals kuvvetleri (Armentano ve ark., 2014), elektrostatik çekim (Li ve ark., 2015) ve hidrofobik etkileşimler (Luan ve ark., 2016) NP'lerin temas etmesinin farklı yolları olarak bilinmektedir. Araştırmalara göre, NP'ler tarafından antibakteriyel aktivite için başlıca süreçler oksidatif stres (Gurunathan ve ark., 2012), oksidatif olmayan mekanizmalar (Leung ve ark., 2014) ve metal iyon salınımı şeklinde gerçekleşmektedir (Zakharova ve ark., 2015).

NP'lerin bakterisidal aktivitesi birçok farklı özelliğe atfedilebilir, ancak önemlisi ROS üretme yeteneği ve R-SH gruplarıyla yakın ilişki kurma afiniteleridir. Ag<sup>+</sup> veya Hg<sup>2+</sup> gibi yüksek atom numaralarına sahip temel olmayan geçiş metallerinin ağır metal iyonları, sistein gibi SH gruplarına kolayca bağlanabilir, bu da belirli enzimlerin işlevini doğrudan bozabilir veya katlanmış proteinlerin bütünlüğünü korumak için gerekli olan S-S köprülerini kırabilir, hücrenin metabolizması ve fizyolojisi üzerinde zararlı etkilere neden olabilir. ROS üretimi, bakteri hücreleri için özellikle yıkıcı olmaktadır (Slavin ve ark., 2017).

## 5. NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL UYGULAMASI

Yeşil sentez yöntemiyle farklı tuzlar kullanılarak elde edilen NP'ler çeşitli bakteri suşları üzerinde farklı antimikrobiyal özellikler sergilemektedirler. Antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların direnç geliştirmesi sebebiyle ilerleyen zamanlarda onların patojenik etkinliğine karşı

savunmasız kalınabilecek olunması yeni ilaç geliştirme çalışmalarının yapılmasının gerekliliğini doğurmuştur. Bu sebeple uzun yıllardır farklı NP'lerin antimikrobiyal özelliklerinin değerlendirmesine yönelik çalışmalar güncelliğini korumaktadır.

### 5.1. Gümüş Nanopartikülleri

Gümüş yüzyıllardır antimikrobiyal bir madde olarak kullanılmıştır; bu maddeye olan ilginin son zamanlarda yeniden canlanması, özellikle antibiyotiklerin kötüye kullanımından kaynaklanan artan antibiyotik direnci tehdidinde odaklanmaktadır (Rajathi ve ark., 2015). AgNP'lerin antibakteriyel özellikleri, AgNP'lerin biriktiği hücre duvarlarında gözenek oluşumuna neden olan ve hücre zarına erişilebilmesinde değişikliğe yol açan bakteri hücre duvarlarıyla etkileşimlerinden kaynaklanıyor olabilir (Gupta ve Ganjewala, 2015). Farklı bitki özütleri kullanarak elde edilen gümüş NP'lerinin antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirildiği pek çok çalışma bulunmaktadır.

Said ve arkadaşları (2024), *Lawsonia inermis* Linn. özütleri ile yeşil sentez yoluyla AgNP'leri elde etmişler ve bu NP'lerin antibakteriyel aktiviteleri incelendiğinde, idrar yolu enfeksiyonu oluşturan patojenlerin (*Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* ve *Staphylococcus arlettae*) biyolojik olarak sentezlenen AgNP'lere karşı çok hassas olduğunu rapor etmişlerdir. Mazumder ve arkadaşları (2024), *Vigna mungo* bitki atığı külünden hazırlanan alkali bir gıda katkı maddesi kullanılarak gümüş NP'lerini yeşil sentez ile hazırlamışlar ve agar kuyusu difüzyon yöntemi ile sırasıyla hem gram-pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*) hem de gram-negatif bakterilere (*Escherichia coli*) karşı dikkate değer antibakteriyel aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Moodley ve arkadaşları (2018), güneş ışığının varlığında AgNP sentezi için taze ve dondurularak kurutulmuş *Moringa oleifera* yaprağının özünü kullanmışlar ve sentezlenen AgNP'lerin hem antibakteriyel hem de antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçlarına bakıldığında, *Moringa oleifera* yaprak özütü kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal ajan olarak büyük potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Li ve arkadaşları (2024), yaptıkları çalışma ile *Phlebotomus portentosus*'un meyve gövdesi polisakkaritinden yeşil sentez yöntemiyle gümüş NP'lerini elde etmişler *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde antibakteriyel ve antifungal özelliklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen gümüş NP'lerinin klinik uygulamalar için yeni

olanaklar sağlamak amacıyla önemli antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik ve antikanser özellikleri nedeniyle terapötikleri iyileştirmeye yardımcı olabileceğini rapor etmişlerdir. Salayová ve arkadaşları (2021), yaptıkları çalışmada, beş farklı bitki özütü (*Capsella bursa-pastoris*, *Berberis vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Brassica nigra* ve *Origanum vulgare*) kullanarak gümüş NP'lerinin üretimi için yeşil sentez tekniği kullanmışlardır. Elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmek için beş farklı bakteri suşu (*Escherichia coli* CCM3988, *Listeria monocytogenes* CCM4699, *Pseudomonas aeruginosa* CCM3989, *Staphylococcus aureus* CCM4223 ve *Salmonella enterica ser. typhimurium* CCM7205) kullanmışlardır. Araştırmacılar sentezlenen tüm NP'lerin, antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ve en iyi sonuçların *B. nigra* ve *L. angustifolia* özleriyle hazırlanan AgNP'ler için gözlemlendiklerini bildirmişlerdir. Yine Otari ve arkadaşları (2017), AgNP'leri sentezlemek için *Canna edulis* yapraklarından elde edilen özü kullanmışlardır. Araştırmacılar sentezlenen AgNP'leri mikroorganizmalara karşı kullanıldığında, bazı mantar türleriyle birlikte bakterilere karşı da güçlü antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermişlerdir. Khalil ve arkadaşları (2014) zeytin yaprağı özütü kullanarak sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel potansiyelini, kuyu difüzyon yöntemi araştırmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışma ile 0.03-0.07 mg/ml AgNP'lerin çoklu ilaç dirençli *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı bakteri büyümesini önemli ölçüde engellediğini bildirmişlerdir. Zargar ve arkadaşları (2011) *Vitex negundo* L. özütü kullanılarak gümüş NP'leri sentezlemişler ve onların antimikrobiyal özelliklerini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda gümüş NP'lerinin *S. aureus* (gram pozitif) ve *E. coli* (gram negatif)'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

AgNP'lerin antibakteriyel etkisi yaygın olarak tanımlanmış olmasına rağmen etki mekanizmaları henüz tam olarak açıklanamamıştır. Bugüne kadar önerilen en yaygın toksisite mekanizmaları aşağıdaki gibi sıralanabilir.

(i) yüzey alanı/hacim oranı, yığın malzemeye kıyasla daha küçük boyuttaki malzemede artması, bunun da bakteri hücreleriyle etkileşimler için fırsatlar sağlaması,

(ii) AgNP'lerin hücrenin parçalanmasına, hücre zarı geçirgenliğinde değişikliklere, ATP sentezinin inhibisyonuna neden olması,

(iii) AgNP'lerin hücre zarının yüzeyine yapışması, bakterilere nüfuz etmesi ve hücre işlevini bozması,

(iv) AgNP'lerin amino asitler ve enzimlerle etkileşimleri (amino asitlerle bağlanma özellikle -SH grubuna), işlevlerini engellemesi,

(v): Solunum zincirindeki elektron hareketine etkisi, sitokromların inhibisyonu yoluyla enerji alımında engeller oluşturmaması,

(vi) DNA ve RNA ile etkileşimi,

(vii) ROS üretimi olarak sayılabilir (Franci ve ark., 2015; Mohammed, 2016).

Ayrıca hücreler çoğunlukla yumuşak bazlar olan kükürt ve fosfordan oluşmaktadır ve DNA'nın ana bileşenleri de kükürt ve fosfordur; AgNP'ler bu yumuşak bazlar üzerinde etki edebilir ve DNA'yı yok edebilir, bu da kesinlikle hücre ölümüne yol açmaktadır (Bose ve Chatterjee 2016).

## 5.2. Çinko Oksit Nanopartikülleri

Metal oksit NP'ler arasında çinko oksit NP'ler, yüksek mekanik ve termal kararlılık, piro ve piezo elektrik etkisi, ultraviyole absorban, biyouyumluluk, antimikrobiyal aktivite gibi birçok önemli yeni fiziksel ve kimyasal özelliğe sahiptir (Balcha ve ark., 2016). Yapılan araştırmalar ZnO'nun güçlü antibakteriyel etkisinin endüstride yaygın uygulama bulunduğunu göstermektedir. Ayrıca güvenli ve etkili bir antibiyotik alternatifi olarak hizmet etme potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir (Suresh ve ark., 2015, Ong ve ark., 2018, Krol ve ark., 2019).

MuthuKathija ve arkadaşları (2023), *Pisonia alba* yaprak özütünü çinko oksit NP'lerini (ZnONP) elde etmek için kullanmışlar ve *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar ZnONP'lerinin güçlü antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Imade ve arkadaşları (2022) yaptıkları çalışmada, muz kabuğu özütü kullanarak ZnONP'lerinin sentezlenmesini gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen ZnONP'lerin antimikrobiyal potansiyelini değerlendirmek için, *Bacillus cereus* MTCC430, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* ve *Staphylococcus aureus* 26923'ün patojenik suşlarına karşı agar kuyusu difüzyon testi kullanmışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlara göre, NP'lerin seçilen bakterilere karşı antimikrobiyal etkinliği en çoktan en aza doğru sırasıyla *S. aureus*, *B. cereus*, *K. pneumoniae*, *S. enterica* olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri bu sonuçlarla, muz kabuklarının, iyi antibakteriyel etkinliğe sahip ZnONP'lerin yeşil sentezi için

yararlı olabileceğini göstermiştir. Chandrasekaran ve arkadaşları (2022) yaptıkları çalışmada, kimyasal ve yeşil sentez ile elde edilen ZnONP'leri farklı biyolojik aktiviteler açısından karşılaştırmışlardır. Çalışmada yeşil sentez için *Vinca rosea* yaprak özütü kullanılmıştır. Çalışma sonucunda araştırmacılar yeşil sentez kullanılarak elde edilen ZnONP'lerinin kimyasal çökeltme yöntemlerine göre daha etkili antimikrobiyal, antidiyabetik ve antikanser aktivite gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Sasi ve arkadaşları (2022), ham *Garcinia cambogia* meyve özütü kullanılarak ZnONP'lerinin sentezlenmesini sağlamışlar karakterizasyonunu yaptıktan sonra antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Sentezlenen ZnONP'lerin antibakteriyel aktivitesi, iki gram negatif (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) ve iki gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus mutans*) bakteriye karşı agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak *in vitro* değerlendirilmiştir. Antibakteriyel çalışma sonuçları, ZnONP'lerinin patojenik bakterilere karşı önemli bir bakterisidal etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Yine Gomathi ve Suhana (2021) yaptıkları çalışmada *Artemisia pallens* bitki özütü kullanılarak yeşil sentez tekniğiyle ZnONP'leri sentezlemişlerdir. Araştırmacılar sentezlenen NP'lerin antibakteriyel aktivitesi, bölge inhibisyon yöntemi kullanılarak gram pozitif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve gram negatif *Escherichia coli*'ye karşı test etmişlerdir. *E. coli*, *S. aureus* ve *B. subtilis*'e karşı sentezlenen NP'nin inhibisyon bölgesinin sırasıyla 6 mm, 7 mm ve 12 mm'lik zon çapıyla antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu göstermişlerdir. Pachaiappan ve arkadaşları (2021) yaptıkları çalışma ile ZnONP'leri, öncül olarak çinko sülfat, çinko nitrat ve çinko asetat dihidrat ve indirgeyici ajan olarak *Justicia adhatoda* yapraklarının özütü kullanılarak yeşil sentezle üretmişlerdir. Sentezlenen ZnONP'leri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* bakteri suşlarına ve *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigates* ve *Aspergillus niger* mantar suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri açısından kontrol etmişler ve ZnONP'nin de çinko iyonlarının salınması ve reaktif oksijen türlerinin üretimi ve ardından mikroorganizmaların yok edilmesi yoluyla antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır.

Daha önce yapılan çalışmalarda antimikrobiyal aktivite sonuçları incelendiğinde, yeşil sentez yoluyla elde edilen ZnONP'lerin farklı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkilere sahip olduğu gösterilmektedir. ZnONP'lerin hidroksil radikalleri, süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşumu sebebiyle ROS üretimini arttıran etkilere sahip olduğu için yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bilinmektedir. Tüm bu



yollarla ZnONP'ler mikrobiyal hücre duvarlarının parçalanmasına, membran proteinlerinin hasar görmesine ve genomik instabiliteye neden olarak mikroorganizmaları inaktive edebilmektedir (Dutta ve Sugumaran, 2021). Daha önce yapılan farklı çalışmalarda, yeşil sentez yoluyla elde edilen ZnONP'lerin değişik mikroorganizma türleri üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri ve bu etkileri sebep olan çeşitli mekanizmalar gösterilmiştir (Ganesan ve ark., 2020, Sumanth ve ark., 2020, El-Belely ve ark., 2020).

### 5.3. Altın Nanopartikülleri

Altın NP'ler (AuNP), tüm metallerin içinde en yoğun şekilde araştırılan NP'lerdir (Sathiyaraj ve ark., 2021). AuNP'lerinin mikrobiyal enfeksiyonların büyümesini ortadan kaldırmada ve mevcut antibiyotiklere karşı antimikrobiyal direncin endişe verici zorluklarını azaltmada olası antimikrobiyal ajanlar olarak uygulanması önerilmiştir (Akintelu ve Folorunso, 2020; Akintelu ve ark., 2020).

Moosavy ve arkadaşları (2023) yaptıkları çalışmada *Mentha spicata* L. esansiyel yağı kullanılarak üretilen AuNP'lerinin ve gümüş NP'lerinin (AgNP) yeşil sentezini ve karakterizasyonunu gerçekleştirmişler ve ayrıca bunların antibakteriyel, antioksidan ve *in vitro* sitotoksik etkilerini araştırmışlardır. Sentezlenen her iki NP'nin de antibakteriyel, antioksidan ve *in vitro* sitotoksik aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Suriyakala ve arkadaşları (2022) yaptıkları çalışma ile *Jatropha integerrima* Jacq. çiçek özütünden AuNP'leri sentezlemişler ve bu NP'lerin *E. coli* ve *B. subtilis*'e karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlar ve antibakteriyel etkinliklerini *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus* ve *B. subtilis* için sırasıyla 2.5, 2.5, 10 ve 5 µg/mL olarak bulmuşlardır. Araştırmacılar elde edilen sonuçların ışığında bu NP'lerin ilaç dirençli patojenlere karşı etkinliğinin, onları umut verici bir terapötik aday yaptığını bildirmişlerdir. Akintelu ve arkadaşları (2021) yaptıkları çalışma ile *Garcinia kola* bitki özütü kullanarak AuNP'leri elde etmişler ve bu NP'lerin klinik olarak izole edilen dört bakteri suşu (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*) üzerinde antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışma sonucunda sentezlenen AuNP'lerin test edilen bakterilerin büyümesine karşı geniş spektrumlu inhibisyon gösterdiğini rapor etmişlerdir. Mandhata ve arkadaşları (2021) yaptıkları çalışmada, AuNP'lerinin yeşil sentezi için *Anabaena spiroides*'in hücresiz sulu özütünü kullanmışlardır. Elde edilen AuNP'leri, klinik örneklerden izole edilen dirençli patojenik iki bakteri suşuna (*Klebsiella*

*oxytoca*, *Streptococcus pyogenes*) karşı *in vitro* antibakteriyel aktiviteleri açısından değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda araştırmacılar elde edilen AuNP'lerin bu suşlara karşı antimikrobiyal aktivitesinin olduğunu belirlemişlerdir. Onitsuka ve arkadaşları (2019), *Camellia sinensis* yapraklarından elde edilen siyah ve yeşil çay özleri kullanılarak Au (~10 nm) ve Ag (~30 nm) NP'lerini sentezlemişler ve *S. aureus* ve *K. pneumonia* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Tüm NP'lerin *S. aureus*'a karşı yüksek antimikrobiyal aktivitesi olduğunu ancak siyah çay özütü kullanılarak sentezlenen AuNP'lerin *K. pneumonia* hariç diğer tüm suşlar için yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Yine Ding ve arkadaşları (2017) Au-AgNP'lerin *S. aureus*'a karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir. Bunun nedeninin, pozitif yüklü Au-AgNP'lerin negatif yüklü bakterileri hücre duvarı yüzeyiyle birleşerek güçlü iki fotonlu fotoluminesans üretebilmesi olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu durum güçlü bir fototermal etkisi oluşturmakta ve bu nedenle Au-AgNP'ler yakın kızılötesi radyasyon altında dört dakikada bir bakteriyel biyofilmin % 85'ini etkili bir şekilde ortadan kaldırmaktadır.

NP'lerin bakteri zarıyla etkileşime girme mekanizması tam olarak belirlenmemiştir, ancak yapılan çalışmalar, NP'ler bakterilerle reaksiyona girdiğinde zar morfolojisinin önemli ölçüde değiştiğini, bunun da plazma zarının geçirgenliğinde ve düzenli taşınmasında artışa neden olduğunu, ve sonunda bakteri hücrelerini uygun düzenlemeyi yapamayacak duruma getirerek hücre ölümüne yol açtığını göstermiştir (Ezhilarasi ve ark., 2020). Hücre duvarı hasarı (Panda ve ark., 2016), mitokondriyal hasar ve NP'ler tarafından oluşturulan DNA hasarı, antibakteriyel mekanizmalar olarak önerilmiştir (Perveen ve ark., 2018). NP'lerin bakteri hücrelerine benzer zararlara da aynı etkiye neden olduğuna dair daha önce yapılmış araştırmalar da mevcuttur (Bhushan ve ark., 2015; Veena ve ark., 2019). NP'lerin antibakteriyel etkinliği çoğunlukla partikül boyutu, hacim oranına göre yüksek yüzey alanı ve numune morfolojisi ile belirlenmektedir. NP'ler genellikle bakteri türlerine kıyasla oldukça küçüktür ve bu da hücreye kolayca girmelerini sağlamaktadır (Amanulla ve ark., 2019; Mobeen ve ark., 2019). Altın nanokompozitlerinin antibakteriyel etkileri olası mekanizmalarla birlikte araştırılmaktadır. Bu antibakteriyel mekanizmalar esas olarak sitoderm ve biyofilmlere zarar vermeyi, reaktif oksijen türleri üretmeyi ve bakteri hücrelerinde hasara neden olan metal iyonlarının salınmasını içermektedir (Gu ve ark., 2021).

## 5.4. Bakır Nanopartikülleri

Bakır; platin, gümüş ve altın gibi diğer metallere kıyasla kolay bulunabilmesi, düşük maliyeti ve uygun oksidasyon özellikleri nedeniyle sıklıkla optik, antibakteriyel ve elektriksel uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu uygulamalara ek olarak, bakırın memeliler için toksik olmadığı da bilinmektedir (Fleming ve Trevors, 1989). Ayrıca diğer tüm NP'ler arasında, bakır oksit NP'leri (CuONP) çok çeşitli uygulamaları nedeniyle oldukça ilgi görmektedir (Krishnan ve Mahalingam, 2017). CuONP'leri çeşitli özelliklere ve uygulamalara sahiptir. Bakır oksidin genel uygulamaları arasında biyomedikal (antimikrobiyal, kir önleyici, antifungal, antibiyotikler, antioksidanlar, ilaç dağıtım ve kanser önleyici), tekstil endüstrileri, termo algılama ve iletken malzemeler, gaz sensörleri, katalitik, inorganik-organik nano boyutlu kompozitlerin sentezi, manyeto dirençli malzemeler, yüksek sıcaklık süperiletkeni, çevresel iyileştirme vb. yer almaktadır (Chang ve ark., 2011; Devi ve Singh, 2014; Verma ve Kumar, 2019).

Alao ve arkadaşları (2022) yaptıkları çalışmada *Kigelia africana* meyvesi ile bakır NP'leri (CuNP) sentezlemişler ve bu NP'lerin antimikrobiyal aktivitelerini derğerlendirmişlerdir. CuNP'lerin *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella sp.* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde ümit verici antibakteriyel aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Ramzan ve arkadaşları (2021) CuONP'lerinin yeşil sentezi için, *Cedrus deodara* özütü kullanarak NP'leri sentezlemişler ve CuONP'lerinin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Sentezlenen CuONP'lerinin özellikle *E. coli*'ye karşı 29 mm'lik maksimum inhibisyon oluşturarak etkili antibakteriyel aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir. Rajesh ve arkadaşları (2018), *Syzygium aromaticum* (karanfil) tomurcuğu özütünden hazırlanan CuNP'lerin sentezinin seçili patojenlere karşı pozitif test sonuçları gösterdiğini bildirmiştir. Çalışma sonuçlarına göre biyosentezlenen CuNP'ler *Escherichia coli*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* ve *Staphylococcus sp.*'ye karşı belirgin bakterisidal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Biyo-CuNP'lerin antifungal aktiviteleri ise *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* ve *Penicillium sp.* fungal test patojenlerine karşı araştırılmış ve CuNP'lerin *Penicillium sp.*'ye karşı belirgin bir fungisidal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Mevcut çalışma, *A. niger* hariç tüm test organizmalarında daha yüksek inhibitör bölgelerini açıkça gösterdiğinden, *K. africana* tarafından sentezlenen CuNP'lerin mükemmel antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğunun varsayılabileceği sonucunu bildirmiştir. Yine Prakash ve arkadaşları (2018), yaptıkları çalışma ile *Cordia*

*sebestena*'nın çiçek özütünün de CuONP'lerini sentezlediğini bildirilmişlerdir. Sentezlenen NP'lerin küresel morfolojiye sahip olduğunu ve boyutlarının 20-40 nm olarak bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu NP'lerin antibakteriyel aktiviteleri farklı bakteri suşlarına karşı da değerlendirilmiş ve çalışma sonucunda CuONP'lerinin 75 µl konsantrasyonda farklı bakterilere karşı potansiyel antimikrobiyal aktivite sergilediği bildirilmiştir. Shende ve arkadaşları (2015), *Citrus medica* Linn kullanılarak sentezlenen CuNP'lerin bazı bakteri (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Propioni acnes*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhi*) ve 3 bitki patojenik mantarı (*Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* ve *Fusarium oxysporum*) türlerine karşı *in vitro* antimikrobiyal aktivitesini bildirmiştir.

CuNP'lerin antibakteriyel özelliği büyük ölçüde bakteri hücre duvarına elektrostatik çekimle bağlanan bakır iyonlarının ( $Cu^{++}$ ) salınmasının bir sonucudur (Rajesh ve ark., 2018). Ayrıca CuNP'leri, hücre zarı ile etkileşime girerek hücreye giren ve hücre zarındaki bozulma nedeniyle bakteriyel hücre büyümesinin inhibisyonuna neden olan ROS üretmekte ve bu durum da bakteriyel ölüme yol açmaktadır (Das ve ark., 2013). CuNP'leri, ROS üretimi veya doğrudan hücre hasarı yoluyla bakterilerin hücre zarını tahrip etmektedir. Çünkü metal oksit NP'leri (CuO) süperoksit ve hidroksil radikalleri üretmektedir (Sutradhar ve ark., 2014). CuNP'leri, ayrıca DNA ve protein hasarına neden olmakta, biyofilm üretimini engellemekte, proton çıkış pompalarına zarar vermekte ve bakteriyel hücrelerin, hücrel maddelerini oksitlemektedir (Akintelu ve ark., 2020; Waris ve ark., 2021).

## 5.5. Demir Nanopartikülleri

Demir nanopartikülleri (FeNP'ler), büyük bir yüzey alanına ve yüksek reaktiviteye sahip en küçük demir metal partikülleri olup toksisiteye sahip değildirler. FeNP'ler mükemmel boyutsal kararlılığa ve ayrıca yüksek termal ve elektriksel iletkenliğe, yüksek yüzey alanına sahip olup aynı zamanda oldukça manyetiklerdir. FeNP'ler suya veya havaya maruz kaldığında hemen oksitlenebilir ve serbest Fe iyonları üretir. FeNP'lerin yaygın kullanım alanları olmakla beraber en umut verici olanı ilaç iletimindeki rolleridir (Batool ve ark., 2021).

Al-Karagoly ve arkadaşları (2022) yaptıkları çalışmada *Nigella sativa* tohum özütü kullanılarak FeONP'leri sentezlemişler ve bu NP'lerin sitotoksik ve antibakteriyel özelliklerini araştırmayı amaçlamışlardır. Üretilen biyosentez

metal oksit NP'lerinin antibakteriyel aktivitesi, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Escherichia coli* (ATCC 35218) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) bakteri suşları üzerinde test edilmiş ve biyosentetik NP'lerin bu mikroorganizmalara karşı mükemmel antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Roy ve arkadaşları (2022), yaptıkları çalışma ile FeNP'lerini sentezlemek için *Catharanthus roseus* bitki özütü kullanmışlardır. Sentezlenen FeNP'lerinin antibakteriyel ve boya bozunma özellikleri araştırılmış ve bu NP'lerin *E. coli* üzerinde antibakteriyel etki ve metil turuncu boyaya karşı boya bozunma aktivitesi gösterdiği rapor edilmiştir. Batool ve arkadaşları (2021), *Phoenix dactylifera*'nın sulu özütü kullanılarak sentezlenen FeNP'lerin antimikrobiyal aktivitesini, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Micrococcus leutus*'a karşı değerlendirmişler ve yeşil sentezlenen FeNP'lerin potansiyel antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir. Dash ve arkadaşları (2019), *Peltophorum pterocarpum*'un bakla özütü kullanılarak manyetit NP sentezinin *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesini bildirmişlerdir. Devatha ve arkadaşları (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, araştırmacılar farklı oranlarda FeSO<sub>4</sub> tuzu ve *Azadirachta indica* yaprak özütü kullanarak sentezlenen FeNP'lerin *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesini değerlendirmişlerdir. Irshad ve arkadaşlarının (2017) yürüttükleri başka bir çalışmada, *Punica granatum* kabuk özütünden sentezlenen FeONP'lerinin antibakteriyel aktivitesi bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı maksimum inhibisyon zonunun (22 ± 0.5) olduğu rapor edilmiştir. Senthil ve Ramesh (2012), *Tridax procumbens* tarafından sentezlenen FeONP'lerinin gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğunu tespit etmişlerdir. Çok sayıda çalışmaya göre, FeNP'ler *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteric* ve *Streptococcus pyogenes* dahil olmak üzere farklı bakteri kültürlerine karşı belirgin antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiştir (Pankhurst ve ark., 2003; Huber, 2005).

Küçük boyutlu NP'ler, bakteri hücre DNA'sında konformasyonel değişikliklere sebep olarak sonuçta bakteri hücre ölümüne neden olan daha büyük bir yüzey alanına sahiptir. Bu, FeNP'lerin antibakteriyel potansiyelinde yer alan bir mekanizma da olabilir (Thomas ve ark., 2021). Bu durum FeNP'lerin farklı bakteri tipleri için farklı antibakteriyel potansiyele sahip

olmasının nedenini açıklayabilir; Gram (+) bakteriler kalın bir peptidoglikan zara sahip olduğundan, küçük boyutları nedeniyle organizmalar ve nanopartiküller arasında yüksek derecede temas olması muhtemeldir. Yalnız sitoplazmik bir zar yerine, gram (-) bakteriler sitoplazmik bir zara ve aralarında sadece ince bir peptidoglikan tabakası bulunan bir dış hücre zarına sahiptir. Bu durumda FeNP'lerin ince tabakaya nüfuz etmesi son derece zordur (Nwamezie, 2018). Bu da farklı bakteri suşlarında bu NP'lere karşı farklı antimikrobiyal aktiviteyi açıklayabilir. FeNP'lerin antibakteriyel aktivitesi için varsayılan bir diğer mekanizma ise, bakteri hücrelerinin içinde hidroksil radikallerinin ve ROS'un üretilmesidir. ROS, bakteri hücrelerinde oksidatif stres üretir ve bu da bakteriyel hücrenin ölümüyle sonuçlanır. FeNP'lerin antibakteriyel etki mekanizması çok net olmasa da, bu NP'lerin potansiyel antibakteriyel ajanlar olarak hareket edebileceğini açıklamaktadır (Cannon, 2006; Devatha ve ark., 2018).

## SONUÇ

Tüm bu çalışmalar göstermiştir ki akıllı NP'lerin boyut, şekil ve morfolojisinin kontrol edilebildiği bir metodoloji kullanılarak çevre dostu bir şekilde sentezlenmesiyle, bu NP'lerin normal hücrelere zarar vermeden hedef hücrelere karşı daha fazla seçiciliğe ve biyolojik aktiviteye sahip olacağı öngörülebilir. Seçicilik, biyomedikal uygulamalarda kullanılan NP'lerin temel özelliğini oluşturmaktadır. Bu bağlamda NP'lerin ilaç geliştirme çalışmaları için oldukça önemli materyaller olduğu görülmektedir. Mevcut bölüm, çevre dostu bir yolla metal NP'lerin sentezine ve antimikrobiyal aktivitede kullanımına odaklanmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin arkasındaki olası mekanizmanın, hücre bileşenlerine ve zarına zarar veren ROS türlerinin oluşumu ve bir diğerinin de hücrede proteinlerle etkileşime girerek enzim aktivitesinin ve fizyolojik süreçlerin inhibisyonuna neden olan metal iyonlarının salınması olduğu düşünülmektedir. Yine doğrudan bakteriyel hücre duvarları ile etkileşimi sonucu hücre duvarlarının yapısal bütünlüğünün bozulması da antimikrobiyal aktivitenin oluşturulmasını sağlamaktadır. Günümüzde oluşan antibiyotik direncinin önüne geçilmesi için yeni antimikrobiyal ajan arayışları yükselen bir ivmeyle devam etmekte olup NP'lerin bu eşsiz özellikleri onları geleceğin antimikrobiyal ajanları olabileceği yönünde bilim insanlarına umut vaat etmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abomuti, M. A., Danish, E. Y., Firoz, A., Hasan, N., & Malik, M. A. (2021). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *salvia officinalis* leaf extract and their photocatalytic and antifungal activities. *Biology*, 10(11), 1075.
- Akintelu, S. A., & Folorunso, A. S. (2020). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant extracts and its biomedical applications. *BioNanoScience*, 10(4), 848-863.
- Akintelu, S. A., Folorunso, A. S., Folorunso, F. A., & Oyebamiji, A. K. (2020). Green synthesis of copper oxide nanoparticles for biomedical application and environmental remediation. *Heliyon*, 6(7).
- Akintelu, S. A., Yao, B., & Folorunso, A. S. (2021). Green synthesis, characterization, and antibacterial investigation of synthesized gold nanoparticles (AuNPs) from *Garcinia kola* pulp extract. *Plasmonics*, 16(1), 157-165.
- Alao, I. I., Oyekunle, I. P., Iwuozor, K. O., & Emenike, E. C. (2022). Green synthesis of copper nanoparticles and investigation of its anti-microbial properties. *Advanced Journal of Chemistry-Section B*, 4(1), 39-52.
- Alfryyan, N., Kordy, M. G., Abdel-Gabbar, M., Soliman, H. A., & Shaban, M. (2022). Characterization of the biosynthesized intracellular and extracellular plasmonic silver nanoparticles using *Bacillus cereus* and their catalytic reduction of methylene blue. *Scientific Reports*, 12(1), 12495.
- Ali, A., Aasim, M., Çelik, K., Nadeem, M. A., & Baloch, F. S. (2024). Frontiers in bacterial-based green synthesized nanoparticles (nps): a sustainable strategy for combating infectious plant pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 103293.
- Al-Karagoly, H., Rhyaf, A., Naji, H., Albukhaty, S., AlMalki, F. A., Alyamani, A. A., ... & Aloufi, S. (2022). Green synthesis, characterization, cytotoxicity, and antimicrobial activity of iron oxide nanoparticles using *Nigella sativa* seed extract. *Green Processing and Synthesis*, 11(1), 254-265.
- Amanulla, A. M., Sundaram, R., & Kaviyarasu, K. (2019). An investigation of structural, magnetical, optical, antibacterial and humidity sensing of Zr (MoO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-ZrO<sub>2</sub> nanocomposites. *Surfaces and Interfaces*, 16, 132-140.

- Anžlovar, A., Marinšek, M., Orel, Z. C., & Žigon, M. (2015). Basic zinc carbonate as a precursor in the solvothermal synthesis of nano-zinc oxide. *Materials & Design*, 86, 347-353.
- Armentano, I., Arciola, C. R., Fortunati, E., Ferrari, D., Mattioli, S., Amoroso, C. F., ... & Visai, L. (2014). The interaction of bacteria with engineered nanostructured polymeric materials: a review. *The Scientific World Journal*, 2014(1), 410423.
- Avrupa Komisyonu, European Commission: Etkileşim. (2020). Definition of a nanomaterial. Erişim adresi [https://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition\\_en.htm](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition_en.htm)
- Balcha, A., Yadav, O. P., & Dey, T. (2016). Photocatalytic degradation of methylene blue dye by zinc oxide nanoparticles obtained from precipitation and sol-gel methods. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 25485-25493.
- Batool, F., Iqbal, M. S., Khan, S. U. D., Khan, J., Ahmed, B., & Qadir, M. I. (2021). Biologically synthesized iron nanoparticles (FeNPs) from *Phoenix dactylifera* have anti-bacterial activities. *Scientific Reports*, 11(1), 22132.
- Bharti, D. B., & Bharati, A. V. (2017). Synthesis of ZnO nanoparticles using a hydrothermal method and a study its optical activity. *Luminescence*, 32(3), 317-320.
- Bhushan, M., Muthukamalam, S., Sudharani, S., & Viswanath, A. K. (2015). Synthesis of  $\alpha$ -Fe<sub>2-x</sub>Ag<sub>x</sub>O<sub>3</sub> nanocrystals and study of their optical, magnetic and antibacterial properties. *RSC advances*, 5(40), 32006-32014.
- Bose, D., & Chatterjee, S. (2016). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using guava (*Psidium guajava*) leaf extract and its antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Nanoscience*, 6(6), 895-901.
- Cannon, R. D. (2016). *Electron transfer reactions*. Butterworth-Heinemann.
- Chandrasekaran, S., Anusuya, S., & Anbazhagan, V. (2022). Anticancer, anti-diabetic, antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: A comparative analysis. *Journal of Molecular Structure*, 1263, 133139.
- Chang, M. H., Liu, H. S., & Tai, C. Y. (2011). Preparation of copper oxide nanoparticles and its application in nanofluid. *Powder technology*, 207(1-3), 378-386.



- Chaudhary, K., & Masram, D. T. (2020). Biological activities of nanoparticles and mechanism of action. Model organisms to study biological activities and toxicity of nanoparticles, 19-34.
- Ciğerci İH, Özkara A., Akyıl D. 2024. Nanopartiküller ve Su Ekosistemindeki Yeri, Biyolojide Güncel Konular Çördük, N. (Ed.). (2024). Biyolojide Güncel Çalışmalar. Livre de Lyon. e-ISBN: 978-2-38236-731-5 DOI: 10.5281/zenodo.13958409
- Das, D., Nath, B. C., Phukon, P., & Dolui, S. K. (2013). Synthesis and evaluation of antioxidant and antibacterial behavior of CuO nanoparticles. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 101, 430-433.
- Dash, A., Ahmed, M. T., & Selvaraj, R. (2019). Mesoporous magnetite nanoparticles synthesis using the *Peltophorum pterocarpum* pod extract, their antibacterial efficacy against pathogens and ability to remove a pollutant dye. Journal of Molecular Structure, 1178, 268-273.
- Devatha, C. P., Jagadeesh, K., & Patil, M. (2018). Effect of Green synthesized iron nanoparticles by *Azadirachta indica* in different proportions on antibacterial activity. Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management, 9, 85-94.
- Devi, H. S., & Singh, T. D. (2014). Synthesis of copper oxide nanoparticles by a novel method and its application in the degradation of methyl orange. Adv Electron Electr Eng, 4(1), 83-88.
- Dhandapani, P., AlSalhi, M. S., Karthick, R., Chen, F., Devanesan, S., Kim, W., ... & Aljaafreh, M. J. (2021). Biological mediated synthesis of RGO-ZnO composites with enhanced photocatalytic and antibacterial activity. Journal of Hazardous Materials, 409, 124661.
- Ding, X., Yuan, P., Gao, N., Zhu, H., Yang, Y. Y., & Xu, Q. H. (2017). Au-Ag core-shell nanoparticles for simultaneous bacterial imaging and synergistic antibacterial activity. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 13(1), 297-305.
- Doble, M., Rollins, K., & Kumar, A. (2010). Green chemistry and engineering. Academic Press.
- Dobrucka, R., & Długaszewska, J. (2016). Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract. Saudi journal of biological sciences, 23(4), 517-523.
- Dönmez S. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Zingiber officinale* root extract and their applications in glucose biosensor. El-Cezeri. 2020.7(3):1191-1200. <https://doi.org/10.31202/ecjse.729462>.

- Dutta, G., & Sugumaran, A. (2021). Bioengineered zinc oxide nanoparticles: Chemical, green, biological fabrication methods and its potential biomedical applications. *Journal of drug delivery science and technology*, 66, 102853.
- El-Belely, E. F., Farag, M. M., Said, H. A., Amin, A. S., Azab, E., Gobouri, A. A., & Fouda, A. (2021). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) using *Arthrospira platensis* (Class: Cyanophyceae) and evaluation of their biomedical activities. *Nanomaterials*, 11(1), 95.
- El-Bendary, M. A., Afifi, S. S., Moharam, M. E., Abo El-Ola, S. M., Salama, A., Omara, E. A., ... & Gawdat, N. A. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles using isolated *Bacillus subtilis*: characterization, antimicrobial activity, cytotoxicity, and their performance as antimicrobial agent for textile materials. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 51(1), 54-68.
- Elumalai, K., Velmurugan, S., Ravi, S., Kathiravan, V., & Raj, G. A. (2015). Bio-approach: Plant mediated synthesis of ZnO nanoparticles and their catalytic reduction of methylene blue and antimicrobial activity. *Advanced Powder Technology*, 26(6), 1639-1651.
- Ezhilarasi, A. A., Vijaya, J. J., Kaviyarasu, K., Zhang, X., & Kennedy, L. J. (2020). Green synthesis of nickel oxide nanoparticles using *Solanum trilobatum* extract for cytotoxicity, antibacterial and photocatalytic studies. *Surfaces and Interfaces*, 20, 100553.
- Fani, M., Ghandehari, F., & Rezaee, M. J. J. M. C. S. (2018). Biosynthesis of iron oxide nanoparticles by cytoplasmic extract of bacteria *Lactobacillus fermentum*. *J Med Chem Sci*, 1(2), 28-30.
- Fleming, C. A., & Trevors, J. T. (1989). May Beth Adams, J. Michael Kelly, and Nelson T. Edwards, 'Growth of *Pinus taeda* L. seedlings Varies with Family and Ozone Exposure Level', *Water, Air and Soil Pollut.* 38, 137. *Water, Air and Soil Pollution*, 42(447).
- Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G., & Galdiero, M. (2015). Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. *Molecules*, 20(5), 8856-8874.
- Ganesan, V., Hariram, M., Vivekanandhan, S., & Muthuramkumar, S. (2020). *Periconium sp.* (endophytic fungi) extract mediated sol-gel synthesis of ZnO nanoparticles for antimicrobial and antioxidant applications. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 105, 104739.
- Garcia-Garcia, E., Andrieux, K., Gil, S., Kim, H. R., Le Doan, T., Desmaële, D., ... & Couvreur, P. (2005). A methodology to study intracellular

- distribution of nanoparticles in brain endothelial cells. *International journal of pharmaceutics*, 298(2), 310-314.
- Geiser, M., Rothen-Rutishauser, B., Kapp, N., Schürch, S., Kreyling, W., Schulz, H., ... & Gehr, P. (2005). Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. *Environmental health perspectives*, 113(11), 1555-1560.
- Ginzburg, V. V., & Balijepalli, S. (2007). Modeling the thermodynamics of the interaction of nanoparticles with cell membranes. *Nano letters*, 7(12), 3716-3722.
- Gomathi, R., & Suhana, H. (2021). Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles using *Artemisia pallens* plant extract. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(12), 1663-1672.
- Gu, X., Xu, Z., Gu, L., Xu, H., Han, F., Chen, B., & Pan, X. (2021). Preparation and antibacterial properties of gold nanoparticles: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19, 167-187.
- Gupta, A. K., & Ganjewala, D. (2015). Synthesis of silver nanoparticles from *Cymbopogon flexuosus* leaves extract and their antibacterial properties. *Int. J. Plant Sci. Ecol*, 1(5), 225-230.
- Gurunathan, S., Han, J. W., Dayem, A. A., Eppakayala, V., & Kim, J. H. (2012). Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of nanomedicine*, 5901-5914.
- Haldar, A. G. M., Mahapatra, D. K., Dadure, K. M., & Chaudhary, R. G. (2022). *Jordan Journal of Physics*. *Jordan Journal of Physics*, 15(1), 67-79.
- Horikoshi, S., & Serpone, N. (Eds.). (2013). *Microwaves in nanoparticle synthesis: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
- Hsueh, P. R. (2010). New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-1 (NDM-1): an emerging threat among Enterobacteriaceae. *Journal of the Formosan Medical Association*, 109(10), 685-687.
- Huber, D. L. (2005). Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. *Small*, 1(5), 482-501.
- Hübler, A. W., & Osuagwu, O. (2010). Digital quantum batteries: Energy and information storage in nanovacuum tube arrays. *Complexity*, 15(5), 48-55.
- Imade, E. E., Ajiboye, T. O., Fadiji, A. E., Onwudiwe, D. C., & Babalola, O. O. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using plantain peel

- extracts and the evaluation of their antibacterial activity. *Scientific African*, 16, e01152.
- Irshad, R., Tahir, K., Li, B., Ahmad, A., Siddiqui, A. R., & Nazir, S. (2017). Antibacterial activity of biochemically capped iron oxide nanoparticles: A view towards green chemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 170, 241-246.
- Jabbar, R., & Hussein, N. N. (2021). Evaluation the antibacterial activity of biosynthesis silver nanoparticles by *Lactobacillus gasseri* bacteria. *Journal of Applied Sciences and Nanotechnology*, 1(3), 86-95.
- Jafarirad, S., Mehrabi, M., Divband, B., & Kosari-Nasab, M. (2016). Biofabrication of zinc oxide nanoparticles using fruit extract of *Rosa canina* and their toxic potential against bacteria: A mechanistic approach. *Materials Science and Engineering: C*, 59, 296-302.
- Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., & Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of drug delivery science and technology*, 53, 101174.
- Jayaraman, R. (2009). Antibiotic resistance: an overview of mechanisms and a paradigm shift. *Current science*, 1475-1484.
- Jubran, A. S., Al-Zamely, O. M., & Al-Ammar, M. H. (2020). A study of iron oxide nanoparticles synthesis by using bacteria. *Int. J. Pharm. Qual. Assur*, 11(01), 01-08.
- Karnan, T., & Selvakumar, S. A. S. (2016). Biosynthesis of ZnO nanoparticles using rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract and their photocatalytic activity on methyl orange dye. *Journal of molecular Structure*, 1125, 358-365.
- Karnani, R. L., & Chowdhary, A. (2013). Biosynthesis of silver nanoparticle by eco-friendly method. *Indian journal of Nanoscience*, 1(1), 25-31.
- Khalil, M. M., Ismail, E. H., El-Baghdady, K. Z., & Mohamed, D. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using olive leaf extract and its antibacterial activity. *Arabian Journal of chemistry*, 7(6), 1131-1139.
- Kim, H. Y., Sofo, J. O., Velegol, D., Cole, M. W., & Lucas, A. A. (2007). Van der Waals dispersion forces between dielectric nanoclusters. *Langmuir*, 23(4), 1735-1740.
- Knetsch, M. L., & Koole, L. H. (2011). New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. *Polymers*, 3(1), 340-366.

- Krishnan, B., & Mahalingam, S. (2017). Improved surface morphology of silver/copper oxide/bentonite nanocomposite using aliphatic ammonium based ionic liquid for enhanced biological activities. *Journal of Molecular Liquids*, 241, 1044-1058.
- Król, A., Railean-Plugaru, V., Pomastowski, P., & Buszewski, B. (2019). Phytochemical investigation of *Medicago sativa* L. extract and its potential as a safe source for the synthesis of ZnO nanoparticles: The proposed mechanism of formation and antimicrobial activity. *Phytochemistry Letters*, 31, 170-180.
- Kumar, S. S., Venkateswarlu, P., Rao, V. R., & Rao, G. N. (2013). Synthesis, characterization and optical properties of zinc oxide nanoparticles. *International Nano Letters*, 3, 1-6.
- Leung, Y. H., Ng, A. M., Xu, X., Shen, Z., Gethings, L. A., Wong, M. T., ... & Leung, F. C. (2014). Mechanisms of antibacterial activity of MgO: non-ROS mediated toxicity of MgO nanoparticles towards *Escherichia coli*. *Small*, 10(6), 1171-1183.
- Li, H. F., Pan, Z. C., Chen, J. M., Zeng, L. X., Xie, H. J., Liang, Z. Q., ... & Zeng, N. K. (2024). Green synthesis of silver nanoparticles using *Phlebopus portentosus* polysaccharide and their antioxidant, antidiabetic, anticancer, and antimicrobial activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127579.
- Li, H., Chen, Q., Zhao, J., & Urmila, K. (2015). Enhancing the antimicrobial activity of natural extraction using the synthetic ultrasmall metal nanoparticles. *Scientific reports*, 5(1), 11033.
- Luan, B., Huynh, T., & Zhou, R. (2016). Complete wetting of graphene by biological lipids. *Nanoscale*, 8(10), 5750-5754.
- Malik, A. Q., Mir, T. U. G., Kumar, D., Mir, I. A., Rashid, A., Ayoub, M., & Shukla, S. (2023). A review on the green synthesis of nanoparticles, their biological applications, and photocatalytic efficiency against environmental toxins. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(27), 69796-69823.
- Mamonova, I. A., Babushkina, I. V., Norkin, I. A., Gladkova, E. V., Matasov, M. D., & Puchin'yan, D. M. (2015). Biological activity of metal nanoparticles and their oxides and their effect on bacterial cells. *Nanotechnologies in Russia*, 10(1), 128-134.
- Mandhata, C. P., Sahoo, C. R., Mahanta, C. S., & Padhy, R. N. (2021). Isolation, biosynthesis and antimicrobial activity of gold nanoparticles produced

- with extracts of *Anabaena spiroides*. Bioprocess and Biosystems Engineering, 44, 1617-1626.
- Mazumder, D., Mittal, R., & Nath, S. K. (2024). Green synthesis of silver nanoparticles from waste *Vigna mungo* plant and evaluation of its antioxidant and antibacterial activity. Biomass Conversion and Biorefinery, 1-12.
- Mi, C., Wang, Y., Zhang, J., Huang, H., Xu, L., Wang, S., ... & Xu, S. (2011). Biosynthesis and characterization of CdS quantum dots in genetically engineered *Escherichia coli*. Journal of biotechnology, 153(3-4), 125-132.
- Min, Y., Akbulut, M., Kristiansen, K., Golan, Y., & Israelachvili, J. (2008). The role of interparticle and external forces in nanoparticle assembly. Nature materials, 7(7), 527-538.
- Mobeen, A., Magdalane, C. M., Shahina, S. J., Lakshmi, D., Sundaram, R., Ramalingam, G., ... & Kaviyarasu, K. (2019). Investigation on antibacterial and photocatalytic degradation of Rhodamine-B dye under visible light irradiation by titanium molybdate nanoparticles prepared via microwave method. Surfaces and Interfaces, 17, 100381.
- Moodley, J. S., Krishna, S. B. N., Pillay, K., Serphen, F., & Govender, P. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles from *Moringa oleifera* leaf extracts and its antimicrobial potential. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology, 9(1), 015011.
- Mohammed, A. E. (2016). Arta (*Calligonum comosum*, L'Her.) shoot extracts: bio-mediator in silver nanoparticles formation and antimycotic potential. Nano Biomed. Eng, 8(3), 128-135.
- Moharram, A. H., Mansour, S. A., Hussein, M. A., & Rashad, M. (2014). Direct precipitation and characterization of ZnO nanoparticles. Journal of Nanomaterials, 2014(1), 716210.
- Moosavy, M. H., de la Guardia, M., Mokhtarzadeh, A., Khatibi, S. A., Hosseinzadeh, N., & Hajipour, N. (2023). Green synthesis, characterization, and biological evaluation of gold and silver nanoparticles using *Mentha spicata* essential oil. Scientific Reports, 13(1), 7230.
- Morgan, R. N., & Aboshanab, K. M. (2024). Green biologically synthesized metal nanoparticles: biological applications, optimizations and future prospects. Future Science OA, 10(1), FSO935.

- MuthuKathija, M., Badhusha, M. S. M., & Rama, V. (2023). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Pisonia alba* leaf extract and its antibacterial activity. *Applied Surface Science Advances*, 15, 100400.
- Nair, B., & Pradeep, T. (2002). Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by *Lactobacillus strains*. *Crystal growth & design*, 2(4), 293-298.
- Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M., Somasundaran, P., ... & Thompson, M. (2009). Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature materials*, 8(7), 543-557.
- Nwamezie, O. U. I. F. (2018). Green synthesis of iron nanoparticles using flower extract of *Piliostigma thonningii* and their antibacterial activity evaluation. *Chem. Int*, 4(1), 60.
- Omria, K., Najeh, I., Dhahri, R., El Ghoul, J., & El Mir, L. J. M. E. (2014). Effects of temperature on the optical and electrical properties of ZnO nanoparticles synthesized by sol–gel method. *Microelectronic Engineering*, 128, 53-58.
- Onitsuka, S., Hamada, T., & Okamura, H. (2019). Preparation of antimicrobial gold and silver nanoparticles from tea leaf extracts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 173, 242-248.
- Ong, C. B., Ng, L. Y., & Mohammad, A. W. (2018). A review of ZnO nanoparticles as solar photocatalysts: Synthesis, mechanisms and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 81, 536-551.
- Osman, A. I., Zhang, Y., Farghali, M., Rashwan, A. K., Eltaweil, A. S., Abd El-Monaem, E. M., ... & Yap, P. S. (2024). Synthesis of green nanoparticles for energy, biomedical, environmental, agricultural, and food applications: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 22(2), 841-887.
- Otari, S. V., Pawar, S. H., Patel, S. K., Singh, R. K., Kim, S. Y., Lee, J. H., ... & Lee, J. K. (2017). *Canna edulis* leaf extract-mediated preparation of stabilized silver nanoparticles: characterization, antimicrobial activity, and toxicity studies. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(4), 731-738.
- Pachaiappan, R., Rajendran, S., Ramalingam, G., Vo, D. V. N., Priya, P. M., & Soto-Moscoco, M. (2021). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles by *Justicia adhatoda* leaves and their antimicrobial activity. *Chemical Engineering & Technology*, 44(3), 551-558.

- Panda, S. K., Mohanta, Y. K., Padhi, L., Park, Y. H., Mohanta, T. K., & Bae, H. (2016). Large scale screening of ethnomedicinal plants for identification of potential antibacterial compounds. *Molecules*, 21(3), 293.
- Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K., & Dobson, J. (2003). Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*, 36(13), R167.
- Pantidos, N., & Horsfall, L. E. (2014). Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 5(5), 1.
- Patel, B., Yadav, V. K., Desai, R., Patel, S., Amari, A., Choudhary, N., ... & Patel, A. (2024). Bacteriogenic synthesis of morphologically diverse silver nanoparticles and their assessment for methyl orange dye removal and antimicrobial activity. *PeerJ*, 12, e17328.
- Perveen, S., Safdar, N., Chaudhry, G. E. S., & Yasmin, A. (2018). Antibacterial evaluation of silver nanoparticles synthesized from lychee peel: individual versus antibiotic conjugated effects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34, 1-12.
- Poole, K. (2002). Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *Journal of applied microbiology*, 92(s1), 55S-64S.
- Pourali, P., Badiie, S. H., Manafi, S., Noorani, T., Rezaei, A., & Yahyaei, B. (2017). Biosynthesis of gold nanoparticles by two bacterial and fungal strains, *Bacillus cereus* and *Fusarium oxysporum*, and assessment and comparison of their nanotoxicity in vitro by direct and indirect assays. *Electronic Journal of Biotechnology*, 29, 86-93.
- Prakash, S., Elavarasan, N., Venkatesan, A., Subashini, K., Sowndharya, M., & Sujatha, V. (2018). Green synthesis of copper oxide nanoparticles and its effective applications in Biginelli reaction, BTB photodegradation and antibacterial activity. *Advanced Powder Technology*, 29(12), 3315-3326.
- Puja, A. M., Xu, X., Wang, R., Kim, H., & Kim, Y. J. (2022). Ginsenoside compound K-loaded gold nanoparticles synthesized from *Curtobacterium proimmune K3* exerts anti-gastric cancer effect via promoting PI3K/Akt-mediated apoptosis. *Cancer Nanotechnology*, 13(1), 27.
- Qamar, S. U. R., & Ahmad, J. N. (2021). Nanoparticles: Mechanism of biosynthesis using plant extracts, bacteria, fungi, and their applications. *Journal of Molecular Liquids*, 334, 116040.



- Rajathi, K., Suja, S., & Kannikaparameswari, N. (2015). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Basellarubra*Linn and their in-vitro cytotoxic studies. *Int. J. Chem. Pharm. Sci*, 3(4), 1633-1636.
- Rajesh, K. M., Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., Suneetha, Y., & Reddy, P. S. (2018). Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties. *Optik*, 154, 593-600.
- Ramalingam, B., Parandhaman, T., & Das, S. K. (2016). Antibacterial effects of biosynthesized silver nanoparticles on surface ultrastructure and nanomechanical properties of gram-negative bacteria viz. *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS applied materials & interfaces*, 8(7), 4963-4976.
- Ramzan, M., Obodo, R. M., Mukhtar, S., Ilyas, S. Z., Aziz, F., & Thovhogi, N. (2021). Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Cedrus deodara* aqueous extract for antibacterial activity. *Materials Today: Proceedings*, 36, 576-581.
- Roy, A., Singh, V., Sharma, S., Ali, D., Azad, A. K., Kumar, G., & Emran, T. B. (2022). Antibacterial and dye degradation activity of green synthesized iron nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 2022(1), 3636481.
- Said, A., Abu-Elghait, M., Atta, H. M., & Salem, S. S. (2024). Antibacterial activity of green synthesized silver nanoparticles using *Lawsonia inermis* against common pathogens from urinary tract infection. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(1), 85-98.
- Salayová, A., Bedlovičová, Z., Daneu, N., Baláž, M., Lukáčová Bujňáková, Z., Balážová, Ľ., & Tkáčiková, Ľ. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using various medicinal plant extracts: Morphology and antibacterial efficacy. *Nanomaterials*, 11(4), 1005.
- Salem, S. S., & Fouda, A. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *Biological trace element research*, 199(1), 344-370.
- Sasi, S., Fasna, P. F., Sharmila, T. B., Chandra, C. J., Antony, J. V., Raman, V., ... & Ramanathan, H. N. (2022). Green synthesis of ZnO nanoparticles with enhanced photocatalytic and antibacterial activity. *Journal of Alloys and Compounds*, 924, 166431.
- Sathiyaraj, S., Suriyakala, G., Gandhi, A. D., Babujanathanam, R., Almaary, K. S., Chen, T. W., & Kaviyarasu, K. (2021). Biosynthesis,

- characterization, and antibacterial activity of gold nanoparticles. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1842-1847.
- Selvanathan, V., Aminuzzaman, M., Tan, L. X., Win, Y. F., Cheah, E. S. G., Heng, M. H., ... & Aktharuzzaman, M. D. (2022). Synthesis, characterization, and preliminary in vitro antibacterial evaluation of ZnO nanoparticles derived from soursop (*Annona muricata* L.) leaf extract as a green reducing agent. *Journal of Materials Research and Technology*, 20, 2931-2941.
- Senthil, M., & Ramesh, C. (2012). BIOGENIC SYNTHESIS OF Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NANOPARTICLES USING TRIDAX PROCUMBENS LEAF EXTRACT AND ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITY ON *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB)*, 7(4).
- Shende, S., Ingle, A. P., Gade, A., & Rai, M. (2015). Green synthesis of copper nanoparticles by *Citrus medica* Linn.(Idilimbu) juice and its antimicrobial activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 865-873.
- Shinto, H., Takiguchi, M., Furukawa, Y., Minohara, H., Kojima, M., Shigaki, C., ... & Seto, H. (2020). Adhesion and cytotoxicity of positively charged nanoparticles toward budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* and fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Advanced Powder Technology*, 31(9), 3686-3694.
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Hñfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, 15, 1-20.
- Stabnikova, O., Khonkiv, M., Kovshar, I., & Stabnikov, V. (2023). Biosynthesis of selenium nanoparticles by lactic acid bacteria and areas of their possible applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(9), 230.
- Sumanth, B., Lakshmeesha, T. R., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Udayashankar, A. C., Shobha, B., ... & Almatroudi, A. (2020). Mycogenic synthesis of extracellular zinc oxide nanoparticles from *Xylaria acuta* and its nanoantibiotic potential. *International Journal of Nanomedicine*, 8519-8536.
- Sunny, N. E., Kaviya, A., & Kumar, S. V. (2022). Mechanistic approach on the synthesis of metallic nanoparticles from microbes. In *Agri-Waste and Microbes for Production of Sustainable Nanomaterials* (pp. 577-602). Elsevier.

- Suresh, D., Nethravathi, P. C., Kumar, M. P., Naika, H. R., Nagabhushana, H., & Sharma, S. C. (2015). Chironji mediated facile green synthesis of ZnO nanoparticles and their photoluminescence, photodegradative, antimicrobial and antioxidant activities. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 40, 759-765.
- Suriyakala, G., Sathiyaraj, S., Babujanarthanam, R., Alarjani, K. M., Hussein, D. S., Rasheed, R. A., & Kanimozhi, K. (2022). Green synthesis of gold nanoparticles using *Jatropha integerrima* Jacq. flower extract and their antibacterial activity. *Journal of King Saud University-Science*, 34(3), 101830.
- Sutradhar, P., Saha, M., & Maiti, D. (2014). Microwave synthesis of copper oxide nanoparticles using tea leaf and coffee powder extracts and its antibacterial activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 4, 1-6.
- Tailor, G., Yadav, B. L., Chaudhary, J., Joshi, M., & Suvalka, C. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Ocimum canum* and their antibacterial activity. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 24, 100848.
- Talebiana, N., Amininezhad, S. M., & Douidi, M. (2013). Controllable synthesis of ZnO nanoparticles and their morphology-dependent antibacterial and optical properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 120, 66-73.
- Taton, T. A. (2002). Nanostructures as tailored biological probes. *TRENDS in Biotechnology*, 20(7), 277-279.
- Thomas, M. D., Ewunkem, A. J., Boyd, S., Williams, D. K., Moore, A., Rhinehardt, K. L., ... & Graves Jr, J. L. (2021). Too much of a good thing: Adaption to iron (II) intoxication in *Escherichia coli*. *Evolution, medicine, and public health*, 9(1), 53-67.
- Torabian, P., Ghandehari, F., & Fatemi, M. (2019). Evaluating antibacterial effect of green synthesis oxide iron nanoparticles using cytoplasmic extract of *Lactobacillus casei*. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 21(1), 237-241.
- Vankudoth, S., Dharavath, S., Veera, S., Maduru, N., Chada, R., Chirumamilla, P., ... & Taduri, S. (2022). Green synthesis, characterization, photoluminescence and biological studies of silver nanoparticles from the leaf extract of *Muntingia calabura*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 630, 143-150.
- Vaseghi, Z., Nematollahzadeh, A., & Tavakoli, O. (2018). Green methods for the synthesis of metal nanoparticles using biogenic reducing agents: a review. *Reviews in Chemical Engineering*, 34(4), 529-559.

- Veena, S., Devasena, T., Sathak, S. S. M., Yarasve, M., & Vishal, L. A. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles from *Vitex negundo* leaf extract: characterization and in vitro evaluation of antioxidant–antibacterial activity. *Journal of Cluster Science*, 30, 1591-1597.
- Verma, N., & Kumar, N. (2019). Synthesis and biomedical applications of copper oxide nanoparticles: an expanding horizon. *ACS biomaterials science & engineering*, 5(3), 1170-1188.
- Waris, A., Din, M., Ali, A., Ali, M., Afridi, S., Baset, A., & Khan, A. U. (2021). A comprehensive review of green synthesis of copper oxide nanoparticles and their diverse biomedical applications. *Inorganic Chemistry Communications*, 123, 108369.
- Yadav, R. S., Mishra, P., & Pandey, A. C. (2008). Growth mechanism and optical property of ZnO nanoparticles synthesized by sonochemical method. *Ultrasonics sonochemistry*, 15(5), 863-868.
- Yue, L., Wu, Y., Liu, X., Xin, B., & Chen, S. (2014). Controllable extracellular biosynthesis of bismuth sulfide nanostructure by sulfate-reducing bacteria in water–oil two-phase system. *Biotechnology Progress*, 30(4), 960-966.
- Yuvakkumar, R., Suresh, J., Nathanael, A. J., Sundrarajan, M., & Hong, S. I. (2014). Novel green synthetic strategy to prepare ZnO nanocrystals using rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract and its antibacterial applications. *Materials Science and Engineering: C*, 41, 17-27.
- Zakharova, O. V., Godymchuk, A. Y., Gusev, A. A., Gulchenko, S. I., Vasyukova, I. A., & Kuznetsov, D. V. (2015). Considerable variation of antibacterial activity of Cu nanoparticles suspensions depending on the storage time, dispersive medium, and particle sizes. *BioMed research international*, 2015(1), 412530.
- Zamiri, R., Zakaria, A., Ahangar, H. A., Darroudi, M., Zak, A. K., & Drummen, G. P. (2012). Aqueous starch as a stabilizer in zinc oxide nanoparticle synthesis via laser ablation. *Journal of alloys and compounds*, 516, 41-48.
- Zargar, M., Hamid, A. A., Bakar, F. A., Shamsudin, M. N., Shameli, K., Jahanshiri, F., & Farahani, F. (2011). Green synthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. *Molecules*, 16(8), 6667-6676.

Zheng, Y., Wang, Z., Peng, F., & Fu, L. (2016). Application of biosynthesized ZnO nanoparticles on an electrochemical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> biosensor. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52, 781-786.

## BÖLÜM 5

### KANSER TEDAVİSİNDE İLAÇ DAĞITIM SİSTEMLERİ OLARAK NANOPARTİKÜLLER

Doç. Dr. Arzu ÖZKARA<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169459>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyon, Türkiye, arzuozkara@gmail.com ORCID ID: 0000-0002-7815-5366



## GİRİŞ

Kanser, karmaşık bir patofizyolojiye sahip önde gelen mortalite ve morbidite nedenlerinden biri olarak güncelliğini koruyan, insan ölümleri sebepleri arasında ikinci sırada yer alan ve üzerinde yoğun çalışmalar yürütülen bir hastalıktır. Kemoterapi, radyasyon tedavisi, cerrahi tedaviler, hedefli tedavi ve immünoterapi kanser tedavisinde kullanılan geleneksel tedavi yöntemleridir. Ancak, ilaçlardaki özgüllük eksikliği, çoklu ilaç direnci ve sitotoksosite gibi sınırlamalar, kanser tedavisinde önemli bir zorluk oluşturmaktadır.

Nanoteknolojinin ortaya çıkışı, kanser teşhisi ve tedavisi alanında devrim yaratmıştır. Nanopartiküller (1-100 nm), biyoyumluluk, azaltılmış toksisite, daha mükemmel stabilite, artırılmış geçirgenlik ve tutma etkisi ayrıca hassas hedefleme gibi özel avantajları nedeniyle kanseri tedavi etmek için kullanılabilen öngörülen materyallerdir. Nanopartiküller (NP'ler) farklı sınıflandırmalara tabi tutulmakla birlikte birkaç ana kategoriye ayrılmaktadır. NP ilaç dağıtım sistemleri oldukça özelleşmiş olup, tümör ve mikroçevresinin özgün özelliklerini kullanmaktadırlar. Ayrıca NP'lerin yalnızca geleneksel kanser tedavisinin sınırlamalarını ortadan kaldırmakla kalmayıp, aynı zamanda çoklu ilaç direncinin de üstesinden geleceği düşünülmektedir. Ek olarak, yeni çoklu ilaç direnci mekanizmaları incelenip anlaşıldıkça, NP'ler daha yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Nanoformülasyonların çeşitli terapötik etkileri, kanser tedavisi için yepyeni bakış açıları yaratmıştır. Ancak günümüzde yapılan araştırmaların çoğu *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla sınırlı kaldığı için onaylanmış nanoilaçların sayısı yıllar içinde beklenen düzeyde artış göstermemiştir. Bu bölüm, farklı NP çeşitlerini, hedefleme mekanizmalarını ve kanser tedavisinde onkolojik etkiler için onaylı nanoterapötikleri ele almaktadır. Ayrıca, klinik uygulamalarda mevcut bakış açısını, avantajları ve dezavantajlarını da özetlemektedir.

## 1. ÇAĞIMIZIN VEBASI: KANSER

Kanser, kontrolsüz, rastgele hücre bölünmesi ve invazivlik ile karakterize bir dizi hastalık için kullanılan genel bir terimdir. Yıllardır yapılan çalışmalar, kanser için çeşitli risk faktörlerini tespit etmeye odaklanmıştır. Bazı kanserler için etiyoloji, radyasyon ve kirlilik gibi belirli çevresel faktörler (edinilmiş faktörler) ile etkili bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Ancak, sağlıksız beslenme, tütün tüketimi, sigara içme, stres ve fiziksel aktivite eksikliği gibi sağlıksız bir yaşam tarzı, kanser riski belirlenmesini güçlü bir şekilde etkilemektedir (Quazi, 2022). Bu dış etkenler kanserin başlıca nedenleri olarak



kabul edilirken, proto-onkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin ve DNA onarımında yer alan genlerin çeşitli mutasyonları da göz önünde bulundurulduğunda kanser tahmin edilmesi güç bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Kanser vakalarının sadece %5-10'u kalıtsal olarak ortaya çıkmaktadır (Anand ve ark., 2008). İlerleyen yaş, birçok bireysel kanser türü için bir diğer önemli risk faktörünü oluşturmaktadır (Gavas ve ark., 2021).

Kanser, küresel çapta giderek artan bir sorun olup, 2040 yılına kadar kanser vakalarında %55'lik bir artış olacağı öngörülmektedir (Cancer Research, 2023). Kanser tedavisinde kullanılan geleneksel tedavi yaklaşımları arasında cerrahi, kemoterapi, radyasyon tedavisi, hedefli tedavi, immünoterapi ve hormon tedavisi yer almaktadır (Jovčevska ve Muiyldermans, 2020). Kemoterapi ve radyasyon tedavisi sitostaz ve sitotoksisite yeteneklerine sahip olsa da bu yaklaşımlar genellikle akut yan etkiler ve yüksek tekrarlama riski taşımaktadır (Zitvogel ve ark., 2008). En sık görülen yan etkiler arasında nöropatiler, kemik iliği baskılanması, gastrointestinal şikayetler, cilt rahatsızlıkları, saç dökülmesi ve yorgunluk sayılabilir. Bunun yanında, antrasiklinler ve bleomisin kaynaklı olan kardiyotoksisite ve pulmoner toksisite gibi ilaca özgü yan etkiler de görülmektedir (Chan ve İsmail, 2014). Dolayısıyla insan ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alan ve çağımızın vebasası olarak kabul edilen kanser için gerek ilaçların yan etkileri gerekse bu ilaçlara gelişen dirençlilik gibi sebeplerle, daha spesifik tedavi ajanları arayışı sürmekte ve bu konuda pek çok araştırmacı yoğun çalışmalar yürütmektedir.

## 2. GELENEKSEL KEMOTERAPİNİN SINIRLAMALARI

Lokalize ve metastaz yapmış kanserlerin tedavisi çoğunlukla intravenöz uygulanan kimyasal antineoplastik ilaçlar kullanılarak yapılmakta ve bu tedavi kemoterapi olarak adlandırılmakta olup birincil tedavi yaklaşımı olarak kabul edilmektedir. Kemoterapötik ilaçlar her ne kadar kanser tedavisinde birincil tedavi seçeneği olsa da bu ilaçların kullanımında farklı sınırlamalar bulunmaktadır (Kumari ve ark., 2016). Neoplastik dokulara yönelik özgülüğün eksikliği, kanserli olmayan diğer hücrelerde önemli hasara neden olarak mide bulantısı, mukozit, sekonder neoplazmalar, kemik iliği aktivitesinin baskılanması (immün ve miyelosupresyon) ve kısırlık gibi istenmeyen yan etkilere sebep olmaktadır. Ek olarak, tümörlere ilaç iletimini sağlamak için yüksek dağıtım hacminde kullanılan kemoterapötikler, sağlıklı dokularda antineoplastik ilaçlar bakımından anormal konsantrasyonlara neden olmaktadır (Giordano ve Jatoti, 2005).

Kemoterapötik ilaçların etki ettiği bölgede seçiciliğin az olması, geleneksel olarak uygulanan kemoterapi için büyük bir dezavantajdır. Çoğu kemoterapötik ilaç, kötü huylu hücrelere ait hücre içi farklı mekanizmalar yerine, hem normal hem de neoplastik hücrelerin her ikisine ait ortak mekanizmalar üzerinde etkili olmaktadır. Bu nedenle, bu ilaçlar tarafından indüklenen gerek sitotoksik gerekse sitostatik mekanizmalar kanserli olmayan sağlıklı dokuları da etkilemektedir. Hepatosit karsinomu (HCC) için kullanılan bir Antrasiklin türevidir olan Epirubisin (EPI), bölünme-birleşme dengesini bozarak ve DNA topoizomeras II kovalent komplekslerinin konsantrasyonunu artırarak DNA hasarına neden olmaktadır. Sonuç olarak, p53 DNA hasarı sensörü ve aktive edilmiş kaspazlar (proteazlar) tarafından aracılık edilen apoptozis meydana gelmektedir (Mays ve ark., 2010). Ancak, EPI'nin uzun süreli klinik kullanımı, özellikle reaktif oksijen türlerinin (ROS) intramiyokardiyal üretimiyle ilişkili kardiyak toksisite olmak üzere normal dokulara yönelik ciddi nonspesifik toksisite nedeniyle sınırlıdır. Retiküloendotelial sistem (RES) tarafından hızlı temizlenme oranı, EPI'nin tümör bölgesine ekstrasvazyonunu azaltmakta ve böylece ilacın etkinliğini de zayıflatmaktadır (Simunek ve ark., 2009).

Kemoterapötik ajanlar, düşük molekül ağırlıklı ilaçlar olup sitotoksisiteye sebep olabilmesi için yüksek farmakokinetik dağılım hacmi gerekmektedir. Organizmalarda tedavide kullanılan bu ajanlar düşük molekül ağırlıklı olmaları sebebiyle hızlı bir şekilde dışarı atılmaktadır. Bu nedenle, kanser hücrelerinde toksisite oluşturan bir terapötik etki için oldukça yüksek konsantrasyonlar gerekmektedir. Kemoterapötik ilaçların bu düşük terapötik indeksini aşabilmek için etkili tedavide kullanılan konsantrasyonlarının artırılması anlamına gelir ki bu durum da genellikle sistemik doza bağlı olası yan etkilere açıklık getirmektedir. Ayrıca az çözünen ilaçlar, çözünmeyen ilaçların birikmesi nedeniyle intravenöz enjeksiyon sırasında kan damarlarında embolizasyon meydana gelebilmekte ve genellikle biriktiği dokuda ilaç konsantrasyonlarının yükselmesi sonucu sadece bölgesel toksisiteye neden olmaktadır. Şu anda mevcut olan formülasyon paklitaksel, Cremophor EL (polietoksile hint yağı) ve dehidrate etanol içerir. Bununla birlikte, Cremophor EL'in toksik olduğu ve aşırı duyarlılık reaksiyonları, nefrotoksisite ve kardiyotoksisite dahil olmak üzere ciddi yan etkilere neden olduğu bilinmektedir (Brannon-Peppas ve Blanchette, 2012).

Kemoterapi deneyimi, güçlü doğuştan veya edinilmiş kemoterapi direnç mekanizmaları nedeniyle antikanser ilaçlarının sınırlı etkinliğini göstermektedir. Bir tümör dokusu arasındaki boşluklarda oldukça yüksek hidrostatik basınç mevcuttur ve bu yüksek basınç sebebiyle uygulanan ilaç normal dokulara kıyasla hızla tümör dokusundan uzaklaşan dışarıya doğru bir akışla doku dışına gönderilmektedir. Dahası, ilaç tümör interstisyumuna başarıyla iletilse bile, kanser hücrelerinin en önemli savunma mekanizmalarından biri olan çoklu ilaç direnci gelişmişse kullanılan ilacın etkinliği sınırlı olabilmektedir (Brigger ve ark., 2002). Çoklu ilaç direnci gelişen hücrelerde, plazma membran P-glikoproteininin (P-gp) ifade düzeyleri artış göstermekte bu durum da ilaçların hücrelerden uzak tutulmasına sebep olmaktadır. P-gp aracılı çoklu ilaç direnci geliştiren hücrelerde tedavinin etkili olabilmesi için hem P-gp inhibitörleri hem de NP içerisinde kapsüllenmiş ilaçların kombine olarak kullanılması gibi farklı stratejiler geliştirilmiştir (Krishna ve Mayer, 2000). Birçok lipofilik ilacın ilaç dış atım taşıyıcıları aracılığıyla dışa atılmasının, etki bölgesinde suboptimal terapötik ilaç konsantrasyonuna yol açması, kemoterapinin başarısının ardındaki engellerden biri olarak kabul edilir (Serpe, 2006). Yine geleneksel kemoterapi uygulamalarında ilaçların tümöre taşınması sırasında farklı zorluklarla karşılaşmaktadır. İlacın fizikokimyasal özellikleri, boyut, yüzey bileşimi ve yük, taşınmada önemli bir rol oynamaktadır (Park ve ark., 2008). Diğer engeller arasında tüm tümör kütesine düzgün bir ilaç iletimini engelleyen tümör dokusunun patofizyolojik açıdan heterojen yapısı sayılabilir. Ek olarak, tümör dokusunun daha asidik bir mikroçevre oluşturması, aside duyarlı olan ilaçların etkinlik göstermeden bozulmasına neden olmaktadır (Kumar, 2006).

Hedefli terapilerin uygulanmaya başlaması kanser tedavisinde önemli ilerlemeler sağlamıştır (Quazi, 2022) ve kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında, hedefe yönelik tedaviler en iyisi olarak kabul edilmekte olup bilim dünyasında son yıllarda kanser hücrelerine seçici olarak saldırmayı amaçlayan hedefli tedaviler geliştirmeye doğru bir yönelme meydana gelmiştir (Ferro ve ark., 2023 ). Çünkü hedefli terapiler, diğer klasik tedavi metotlarına göre daha etkili olması, daha yüksek dozlara olan ihtiyacın azalması, istenmeyen yan etkilerin daha az görülmesi, düşük terapötik göstergeler gibi daha az istenmeyen yan etkiye neden olmaktadır (Senapati ve ark., 2018). Ancak halen, terapötik etkinliği sınırlayan çoklu ilaç direnci gibi henüz ortadan kaldırılamayan yan etkiler bulunmaktadır (Chan ve İsmail, 2014). İmmünoterapötik ajanlar, yalnızca birincil kanseri tedavi etmekle

kalmayıp aynı zamanda uzak metastazı önleyerek ve tekrarlamaya oranını düşürerek umut verici sonuçlar sunmaktadır (Mahapatro ve Singh, 2011). Bununla birlikte, otoimmün hastalıklar immünoterapinin önemli bir yan etkisini oluşturmaktadır. Ek olarak, yapılan çalışmalar immünoterapinin solid tümörlere karşı daha az etkili olduğunu göstermektedir (Kroemer ve Zitvogel, 2018). Bu kanserler, bağışıklık hücrelerinin sızmasının oldukça zor olduğu alışılmadık bir ekstraselüler matriks (ECM) oluşturmaktadır (Rosenberg ve ark., 2008). Bu yeni geliştirilen hedefli tedaviler ve immünoterapiler, epidermis ve derminin normal homeostatik işlevlerinde hayati önem taşıyan sinyal yollarına müdahale etmekte ve dermatolojik yan etkilere sebep olmaktadır (Melero ve ark., 2014). Tüm bu detaylar göz önüne alındığında, son yıllarda kanser için kesin tedavi arayışına yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesinin gerekliliği açıktır. Bilinen geleneksel tedavi yaklaşımları kanser tedavisinde yetersiz kalmakta aynı zamanda tedavi sırasında görülen yan etkiler sebebiyle hastanın yaşam konforunu azaltmaktadır. Tüm bu nedenlerle kanser hastalığına karşı daha farklı tedavi yaklaşımlarının ortaya konulması bu hastalıkla olan savaşı kazanabilmek açısından oldukça önemli hale gelmiştir. Öngörülen farklı tedavi yöntemleri arasında son yıllarda pek çok alanda kullanım alanı bulan NP'ler bulunmaktadır.

NP'ler, nano boyutları nedeniyle benzersiz özelliklere sahiptir ve Avrupa Birliği, NP'leri 1-100 nm boyut aralığına giren bir veya daha fazla dış boyuta sahip olan malzemeler olarak tanımlamaktadır (Avrupa Komisyonu, 2020). Nanoteknoloji son on yılda katlanarak ilerlemiş olup; NP'ler çeşitli uygulamalarda; tıp, eczacılık, bilim, endüstri, elektronik ve iletişim ürünlerinin de dahil olduğu farklı disiplinlerde kullanım alanı bulmaktadır (Çiğerci ve ark., 2024). Son yıllarda yapılan çalışmalar, görüntüleme ajanı olarak kullanımı dışında NP'lerin tümörlerin tanı ve tedavisinde de çok sayıda avantaja sahip olduğunu göstermiştir (Petros ve DeSimone, 2010). NP'lerin eşsiz özellikleri, son yirmi yılda klinik deneylere birçok NP tabanlı tedavi olanağı oluşturmuştur (Bi ve ark., 2016). NP'ler kullanılarak mevcut terapötik yaklaşımların sınırlamalarını ortadan kaldırabilmek için son zamanlarda oldukça çaba sarf edilmiş ve NP bazlı ilaç verme sistemleri, iyi farmakokinetik, hassas hedefleme, azaltılmış ilaç direnci ve daha az yan etki göstererek kanser tedavisi için fayda sağlamıştır (Dadwal ve ark., 2018; Lacouture ve Sibaud, 2018). Nanoteknolojideki gelişmelerin hemen ardından, bir dizi nanoterapötik ilaç ticarileştirilmiş ve yaygın olarak pazarlanmaya başlanmış ve 2010 yılından bu yana çok daha fazla NP klinik aşamaya ulaşmıştır. Nanoterapötik ilaçlar, ilaç

kombinasyon terapisi ve ilaç direnci mekanizmalarının inhibisyonu için bir şans sağlayarak ilaç sistemleri ve anti-tümör çoklu ilaç direnci alanında önemli ilerlemeler kaydetmiştir (Palazzolo ve ark., 2018). Önümüzdeki yıllarda nanoteknolojinin pek çok alanda farklı başlıklar altında dikkat çekici bir bilim haline geleceği açıktır. Bu kitap bölümünde nanoteknolojinin kanser tedavisindeki kullanım alanlarına odaklanılmıştır.

### 3. İLAÇ DAĞITIM SİSTEMLERİ OLARAK NANOPARTİKÜLLER

Son zamanlarda, NP'ler ilaç taşıyıcıları olarak da dikkat çekmektedir. Nanotaşıyıcılar ilaçların farmakokinetik özelliklerini değiştirerek etkinliklerini artırmakta yan etkilerini ise azaltmaktadır (Karra ve Benita, 2012). Pek çok hastalığın tedavisinde kullanılan terapötik ajanın hedef bölgeye iletilmesi oldukça önemli bir sorun teşkil etmektedir. Kanser tedavisinde geleneksel ilaçlar uygulamaları; zayıf biyolojik dağılım, daha sınırlı etkinlik ve daha az seçiciliği ile karakterize edilen sınırlamalardır (Wilczewska ve ark., 2012). Bu sınırlamalar ve dezavantajlar ilaç iletimini kontrol eden mekanizmalar geliştirilerek aşılabılır. Kontrollü ilaç dağıtım sistemlerinde (İDS) ilaç etki yerine taşınır, böylece hayati dokular üzerindeki etkisi ve istenmeyen yan etkileri en aza indirilebilmektedir. Ek olarak, İDS ilacı hızlı bozunmadan veya temizlenmekten korumakta ve hedef dokulardaki ilaç konsantrasyonunu artırmakta olup, bu da tedavide daha düşük doz ilacın yeterli olmasını sağlamaktadır. İlaç dağıtımını için kullanılan NP'lerin yapısında polimerler, metal parçacıkları, lipitler gibi çeşitli malzemeler kullanılmaktadır. NP'ler yapısına göre farklı şekil ve boyutlarda üretilebilirler (De Jong ve Borm, 2008). Nanotaşıyıcılara bağımlı olan İDS dünya ilaç pazarına girmiş olup ilaç dağıtım sistemlerine yönelik uygulamalar her geçen gün artmaktadır. Gelecekteki araştırmaların, hedefli ilaç dağıtımını ve eş zamanlı görüntüleme gibi NP'lerin çoklu işlevlerine yönelik olacağı öngörülmektedir (Jarzyna ve ark., 2010; Kumar, 2010; Aghebatı-Maleki ve ark., 2020).

Hücreye özgü hedefleme, ilaçları ayrı ayrı tasarlanmış taşıyıcılara bağlayarak elde edilebilmektedir. Nanoteknolojideki son gelişmeler, ilaç taşıyıcıları olarak nanoparçacıkların büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Wilczewska ve ark., 2012). İlaç dağıtım sistemleri ilaçların tıbbi ve terapötik özelliklerini iyileştirme amacıyla oluşturulmuştur. Genellikle ilaçları bir depo gibi kendi içlerinde depolamaktadırlar (Karra ve Benita, 2012). Bu sistemler ilacı doğru yerde ve doğru zamanda serbest bırakmakta ve bu

nedenle, vücudun farmakokinetiğini ve ilaç dağıtım süreçlerini etkilemektedirler (Tiwari ve ark., 2012). NP'lerin ilaç dağıtım sistemlerinde geniş uygulamaları bulunmakta olup son zamanlarda bu konuda ilgi odağı haline gelmişlerdir. Yapıları, terapötik ilaçların etkinliğini artırabilen bazı önemli özelliklere sahiptir (De Jong ve Borm, 2008); bu özellikler, ilaçların vücutta salınım sürecini kontrol etme, farmasötik molekülleri koruma, hücrelerden daha küçük olma, ilacı hedeflenen yere ulaştırmak için biyolojik engelleri aşma, kan akışında ilacın dayanıklılığını artırma, hedeflenen ilaç iletimi ve biyoyumluluk olarak sıralanabilir. Son yarım yüzyıl boyunca, polimer, kimya, biyoloji, mekanik ve fizik alanlarındaki çok sayıda gelişme, nano taşıyıcıların değişkenliğini etkilemiştir. Bu nedenle, benzersiz özelliklere sahip farklı tipte taşıyıcılar tıbbi bilimlere kazandırılmıştır (Khan ve ark., 2019).

#### 4. İLAÇ NANOTAŞIYICILARININ SINIFLANDIRILMASI

İlaç taşıma sistemleri genel olarak, organik taşıyıcılar ve inorganik taşıyıcılar olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Ana yapıları organik parçacıklar olan ilaç taşıyıcıları ilk grupta kategorize edilirken, merkezi çekirdekleri mineral parçacıklar olan ilaç taşıyıcıları ikinci grupta yer almaktadırlar. Lipozomlar, dendrimerler, karbon nanotüpler, emülsiyonlar, aptamerler, katı lipit NP'leri, nanobodiler ve diğer polimerler organik parçacıklar olarak kabul edilmektedir (Wesolowski ve ark., 2009; Aghebatı-Maleki ve ark., 2020).

##### 4.1. Lipozomlar

Lipozom ilk olarak 1961 yılında Alec D. Bangham tarafından keşfedilmiştir. Genel olarak lipozomlar, hidrofilik kısmı bir veya daha fazla fosfolipid çift tabakasıyla tamamen çevrili küre biçimli mikroskobik veziküllerdir (Anwekar ve ark., 2011). Bu çift katmanlı veziküller, doğal veya sentezlenmiş fosfolipitler içeren çift katmanlı bir lipit zarındaki izole edilmiş bir sıvı kısımdan oluşmaktadır. Bu yapılar, kolay yüzey modifikasyonlarına sahip amfifilik ve canlı bir yapıya sahip olduklarından dolayı ilaç iletimi için uygun bir yapı oluşturmaktadırlar (Ahmed ve ark., 2019). Lipozomların *in vivo* ve *in vitro* kararlılığı, lipid bileşimi, boyut, yük, lamel sayısı ve yüzey modifikasyonları gibi fiziksel ve kimyasal özellikleriyle kontrol edilebilmektedir (Yan ve ark., 2020). Şimdiye kadar, nanomedikal alanındaki önemleri nedeniyle lipozomlarla ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Lipozomlara yüklenen ilaçlar, çok çeşitli kanser karşıtı ilaçlar, antibiyotikler,

küçük girişimci RNA'lar (siRNA), antisens oligonükleotidler ve terapötik genler taşıyan bakteriyel plazmidleri içermektedir (Fenske ve Cullis, 2008). Fosfolipidlerin hücre zarına benzerliği, lipozomun dokularda dağıtım ve eliminasyon organlarından uzaklaştırılması için bazı zar bariyerlerinden geçişini kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, lipozomların çeşitli ligandlar ve polimerlerle modifikasyonu, ilaç alımını iyileştirmekte ve ilacın kanda dolaşım süresini arttırmaktadır (Hossen ve ark., 2019).

Lipozomlar, kanser tedavisi, anti-enfektif tedavi, protein veya peptit ilaç dağıtımı, gen dağıtımı, makrofaj aktivasyonu ve aşılama gibi birçok tıbbi tedavi alanında kullanılmaktadır (Darace ve ark., 2016; Abu Lila ve Ishida, 2017). 1995 yılında ABD FDA tarafından PEG'lenmiş lipozomal doksorubisinin (Doxil®) ilk nanoilaç olarak klinik onayının ardından (Patil ve Jadhav, 2014), lipozomal formülasyon çeşitli hastalıkların tedavisi için klinik olarak onaylanmıştır. Bununla birlikte, bunların stabilitesi, kontrollü ve öngörülebilir farmakokinetiği ve farmakodinamiği ile büyük ölçekte tekrarlanabilir üretimi konusunda iyileştirme gerektiren önemli endişeler bulunmaktadır (He ve ark., 2019; Yan ve ark., 2020). Lipozomların klinik kullanımda uygulanmasındaki zorluklardan biri lipozom bileşenlerinin bağışıklık sistemiyle etkileşimidir. Lipozom bileşenleri antikor üretimini indükleyebilmekte bu da etkinliklerinin azalmasına yol açmaktadır (Sercombe ve ark., 2015). Ayrıca, lipozomların büyük ölçekli üretimi için yerleşik tekniklerin ve tümör heterojenliğini tam olarak taklit eden uygun modellerin eksikliği, lipozomların klinik gelişimi için sayılabilecek sınırlamalardır (Belfiore ve ark., 2018; Abbasi ve ark., 2022).

## 4.2. Niozom

Niozom, sulu bir fazda iyonik olmayan yüzey aktif maddelerinin kendi kendine birleşmesiyle oluşan bir moleküler küme sınıfıdır. Niozomun benzersiz yapısı onu, hem lipofilik hem de hidrofilik ilaçları yükleme yeteneğine sahip olup farklı ajanlar için yeni bir ilaç dağıtım sistemi olarak kullanıma sunmaktadır. Niozomlar, biyolojik olarak parçalanabilen, nispeten toksik olmayan, daha kararlı ve ucuz olan ve iyonik olmayan yüzey aktif maddelerden oluşan veziküller olup lipozomlara alternatif olarak kabul edilmektedirler. Niozomlar, canlılarda lipozomlar gibi davranarak hapsolmuş ilacın dolaşımını uzatmakta, organ dağılımını ve metabolik stabilitesini değiştirmektedir. Lipozomlarda olduğu gibi, niozomların özellikleri çift katmanın bileşimine ve üretim yöntemine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Çift katmanlara kolesterolün eklenmesinin formülasyon sırasında hapsolme hacmini ve

dolayısıyla hapsolma verimliliğini azalttığı bildirilmiştir (Bhatia ve Bhatia, 2016).

Ancak, lipozomlar ve niozomlar arasında farklılıklar vardır, lipozomlar nötr ya da yüklü çift zincirli fosfolipitlerden hazırlanırken niozomlar genellikle yüksüz tek zincirli yüzey aktif madde ve kolesterolden hazırlanmaktadır. Yine lipozomlardaki kolesterol miktarı niozomlarla karşılaştırıldığında çok daha fazla olduğu bilinmektedir. Buna bağlı olarak da, lipozomların ilaçları tutma kabiliyeti niozomlarla kıyaslandığında bu kabiliyetin daha az olduğu görülmektedir. Ayrıca, lipozomlar daha pahalıdır ve fosfolipitler gibi bileşenleri oksidatif bozunmaya yatkınlıkları nedeniyle kimyasal olarak kararsızdır. Yine lipozomlar özel depolama gerektirir ve doğal fosfolipitlerin saflığı da değişkenlik göstermektedir. AIDS, kanser ve viral hastalıklara karşı kullanılan toksik ilaçları kapsülleme ve niozomların biyomoleküllerin iletiminde kullanılmasına yönelik güncel görüşler yetersizdir. Niozomlar, diğer toksik olan iyonik ilaç taşıyıcılarına kıyasla daha umut verici sistemler olarak kabul edilmektedir. Ancak niozomlarda kullanılan teknoloji hala geliştirme aşamasındadır. Bu nedenle, umut vadeden hedefli bir ilaç dağıtım sistemi olduğundan dolayı büyük üretim basamağına ulaşılabilmesi adına bir teknoloji geliştirmek için araştırmalar devam etmektedir (Bhatia ve Bhatia, 2016).

### 4.3. Katı Lipit Nanopartikülleri

Lipit NP'lerinin bir diğer biçimi, trigliseritler, lipitler, yağ asitleri, steroidler ve mumlar içeren katı lipit NP'leridir. Bu parçacıkların sürdürülebilirliğini artırmak için formülasyonlarında yüzey aktif madde bileşikleri kullanılmaktadır. Bu NP'ler sulu ortamlarda çok düşük çözünürlüğe sahip ilaç taşıyıcıları olarak çalışabilmektedirler. Bu ilaç taşıma sistemleri belirli bir zamanda salınabilmekte ve yiyecekler, enjeksiyonlar yoluyla hedeflenen yere iletilebilmektedirler (Mukherjee ve ark., 2009). Katı lipit NP'leri, kontrollü ilaç dağıtımı için kolloidal bir taşıyıcı sistem olarak lipozomlara, polimerik NP'lere ve emülsiyonlara alternatif bir taşıyıcı sistem olarak geliştirilmiştir. Katı lipit NP'leri, lipozomlar ve polimerik NP'ler gibi diğer taşıyıcı sistemlerden farklı yapan belirgin avantajlara sahiptir. Bu tip NP'ler, ortalama çapı 1 µm'nin altında olan katı lipit matrisi oluşturmakta ve ilaç bu matrise dahil edilmektedir. Bu NP'ler ayrıca yüksek basınçlı homojenizasyonla da üretilebilmektedir. İlaç taşıma sistemlerinde agregasyonu önlemek ve dispersiyonu stabilize etmek için farklı yüzey aktif maddeler kullanılmaktadır (Bhatia ve Bhatia, 2016).



#### 4.4. Dendrimerler

Dendrimerler benzersiz bir polimer sınıfıdır, boyutları ve şekilleri hassas bir şekilde kontrol edilebilen, aşırı dallanmış, ağaç benzeri yapılar olup bölmeli kimyasal polimere sahip taşıyıcı sistemlerdir. Dendrimerler büyüme polimerizasyonu kullanılarak monomerlerden üretilmektedirler. Bu düzenli dallanan polimerik nano yapıların boyutu, kontrol edilebilen dallanma sayısına bağlı olarak değişmektedir. Bu nano yapılar, polimerizasyon yoluyla küresel bir yapı şeklinde çekirdekten birkaç dal halinde ortaya çıkmakta ve dendrimer molekülü içinde ilaç taşınması için kullanılabilen boşlukların oluşmasıyla sonuçlanmaktadır. Dendrimerin serbest uçları, konjugasyon veya diğer moleküllere bağlanma için kullanılabilir dolayısıyla bu uç grupları farklı gereksinimlere göre uyarlanabilmektedir. Bu tür birbirine bağlanan ağlar, bağlı molekülleri istenen yere taşımakta bu da dendrimerlere çeşitli işlevsel uygulamalar sağlamaktadır (Moghimi ve ark., 2005).

Dendrimerlerin yüzeyleri kimyasal reaksiyonlar ve fiziksel müdahalelerle değiştirilebilmektedir. İlaç molekülleri dendrimerlere kompleks veya kapsül formlarında bağlanmaktadır (Matsumura ve ark., 2004). 1970'lerde Fritz Vögtle ve Donald Tomalia, dendrimer sentezini deneyen ve monomerleri birbirine konjuge ederek ağaç benzeri yapılar oluşturan ilk kişilerdir (Buhleier ve ark., 1978; Siepmann ve ark., 2019). Vivagel®, farmasötik pazara sunulan ilk dendrimer NP taşıma sistemidir. Vivagel® ürünleri, insan immün yetmezlik virüsü ve herpes virüsünün bulaşmasını önlemek için lokal antiviral ilaçlar olarak kullanılmaktadır. Dendrimer yapısına göre, bu ürün virüsün konakçı vücuda yapışmasını önlemektedir (Mariyam ve ark., 2018).

#### 4.5. Polimer Nanopartiküller

En yaygın NP ilaç taşıyıcıları polimerlerdir. İlaçların kontrollü salınımında kullanılan polimerler, oldukça biyouyumlu ve toksik olmayan bileşiklerdir. Aynı zamanda ilaç taşıma sistemlerinde kullanılan bu polimerler uygun bir yarı ömre ve fiziksel olarak da uygun bir yapıya sahip olmalıdırlar. Polimer NP'lerin yapısında kullanılan polimerler doğal veya sentezlenmiş olabilmektedir. Polimer NP'ler çoğunlukla biyolojik olarak parçalanabilir formlar olarak seçilmektedir. Polimer NP'lerin en önemli avantajları yüksek stabilite ve seri üretimleridir. Polimer NP'ler; veziküller (nanokapsüller) ve matris sistemleri (nanoküreler) içermektedir. Nanokapsüllerde kullanılacak olan ilaç bir polimer depoda saklanmaktadır. Ancak nanokürelerde ilaç polimer

matris üzerinde dağılmış olarak bulunmaktadır (Hickey ve ark., 2015; Elmowafy ve ark., 2017). Abraxane, 2005 yılında ilaç pazarına giren ilk polimer nanoilaçtır. Albümine bağlı olan paklitaksel ilacının NP'lerini içermektedir. Bu formülasyon kromoforelektrolüminesan bileşiği içermemektedir. Kromoforelektrolüminesan paklitakselin çözünürlüğünü artırmaktadır. Bu nedenle bazı hastalarda şiddetli alerjilere ve ölümcül semptomlara neden olmaktadır (Weissig ve ark., 2014).

#### 4.6. Karbon Bazlı Yapılar

Karbon nano tüpler, 1991 yılında keşfedilen karbon bazlı tübüler yapılardır (Iijima ve Ichihashi, 1993). Bu yapılar, bir silindire sarılmış, bir veya iki ucu kapatılmış bir grafit levha gibi düzenlenmiştir. Bunlar, bir nanometre çapında ve 1-100 nm uzunluğunda altıgen karbon atomu ağlarıdır. Bu karbon ağları, bir silindire sarılmış düzenlenmiş grafit katmanlarıdır. Son zamanlarda çok ilgi gören tek duvarlı nanotüpler (SWNT'ler) ve çok duvarlı nanotüpler (MWNT'ler) olmak üzere iki farklı karbon bazlı konfigürasyon vardır. Bunlara ek olarak C60 fullerenleri de yaygın konfigürasyonların bir parçasıdır. Bu makromoleküllerin boyutu, geometrisi ve yüzey özellikleri, dikkate değer fiziksel özellikleri, onları ilaç taşıyıcı sistemlerinde kullanımı için çekici hale getirmektedir. SWNT'ler ve C60 fullerenleri 1-2 nm aralığında iç çaplara sahiptir. Bu boyut, ortalama DNA sarmalının çapının yaklaşık yarısına eşdeğerdir, oysa MWNT'lerin çapları birkaç nanometreden onlarca nanometreye kadar değişir ve yapıdaki duvar sayısına bağlı olarak MWNT katmanları arasında 0.36 nm mesafe bulunmaktadır. Boyutları, uzunluklarına göre bir ila birkaç mikrometre arasında değişebilmektedir (Reilly, 2007). Mimarileri söz konusu olduğunda, fullerenler ve karbon nanotüpler tipik olarak lazer ablasyonu, kimyasal buhar biriktirme, elektrik ark deşarji veya yanma işlemleri kullanılarak üretilmektedir. Bu eşmerkezli formların karakterizasyonu, kararlı ilaç taşıyıcıları olarak kullanılabilmesi için güçlerine ve kararlılıklarına dayanmaktadır. Nanotüplerin hücre girişi, endositoz veya hücre zarından yerleştirme yoluyla sağlanabilmektedir. Fullerenler ayrıca ilaç hedefleme yeteneği de göstermektedirler. Fulleren yapıları kullanılarak doku seçici hedefleme ve mitokondrinin hücre içi hedeflenmesi gösterilmiştir. Ayrıca, fullerenlerle yapılan deneyler, bunların antioksidan ve antimikrobiyal davranış sergilediğini de bildirmektedir (Bhatia ve Bhatia, 2016).

#### 4.7. Metalik ve Manyetik Nanopartiküller

Metalik NP'lerin 1971'de keşfinden bu zamana kadar, çeşitli metal bazlı NP'ler ile ilgili klinik deneylerde ilerlemeler kaydedilmiştir. Metal NP'ler, hücrenel bileşenleri görselleştirmede kullanılan elektron mikroskobu için problemler, ilaç, protein ve peptitleri iletmek için taşıyıcı sistemler gibi farklı biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır (Goldman ve ark., 2004). Gümüş ya da altın gibi metalik NP'ler, boyutlarından ve bileşimlerinden kaynaklanan çeşitli optik ve elektronik özelliklere sahip maddelerdir. Altın NP'ler, kimyasal bir sensör gibi görev yapabilirler ve bunu tamamlayıcı DNA ipliklerini renk değişimleriyle görünür hale getiren belirli oligonükleotidlerle konjüge olarak başarılar (Mirkin ve ark., 1996). Altın NP'leri, antikorlar, enzimler ve nükleotidler gibi prob moleküllerinin yanı sıra ilaçlarla da kolayca işlevselleştirilebilmektedirler (Loo ve ark., 2005). Günümüzde manyetik NP'ler, yüzey fonksiyonelleştirme yeteneğine sahip benzersiz manyetik özelliklere sahip olmaları sebebiyle bu özelliklerinden yararlanılarak manyetik rezonans görüntüleme (MRI) kontrast madde olarak ve ilaç taşıyıcıları olarak umut verici oldukları için önemli ilgi görmektedirler (Corot ve ark., 2006).

#### 4.8. Kuantum Noktaları

Kuantum noktaları (QD'ler), yaklaşık 2-10 nm ölçülerinde, yarı iletken inorganik bir çekirdekte (CdSe), optik özellikleri iyileştirmek için sulu organik kaplamalı bir kabuktan (örneğin, ZnS) oluşan ve ışıkla uyarıldığında floresan hale getirilebilen yarı iletken malzemelerin nanokristalleridir. Kuantum noktaları, sulu tamponlardaki çözünürlüklerini iyileştirmelerini sağlayan bir başlığa sahiptir. Bunlar ne atomik ne de toplu yarı iletkenlerdir. QD'lerin çekirdeği yayılan rengi belirler ve dış sulu kabuk biyomoleküllerle konjugasyonda görev yapmaktadır. QD'lerin biyomoleküler konjugasyonu, çeşitli biyobelirteçleri hedeflemeye göre değiştirilebilmekte olup (Iga ve ark., 2007) bu özellikleri, yarıçapı 2 ila 10 nm arasında değişen fiziksel boyutlarından kaynaklanmaktadır. Dar emisyonları, parlak floresansları, yüksek fotostabiliteleri ve geniş UV uyarımları nedeniyle QD'ler, uzun süreli hücre içi süreçlerin izlenmesi, *in vitro* biyolojik görüntüleme ve gerçek zamanlı izleme için uygulama alanları bulmuştur. Dolayısıyla QD'ler, biyomoleküllerin *in vitro* ve *in vivo* tespiti ve analizi, immünolojik analizler, DNA hibridizasyonu, tanı araçları (manyetik rezonans görüntüleme, MRI), dokuların zaman kademeli floresan görüntülemesi, gen terapisi için viral olmayan vektörlerin geliştirilmesi, hücrelerin etiketlenmesi, kanser tedavisi için

terapötik araçlar ve DNA, protein, ilaçlar veya hücreler için taşıma araçları başta olmak üzere çeşitli tıbbi alanlarda tanı ve tedavide kullanılmaktadır (Bailey ve ark., 2004).

## 5. NANOPARTİKÜLLER İLE TÜMÖR HEDEFLEME

Genel olarak, NP'ler ilaç taşıma sürecini aktif ve pasif olmak üzere iki mekanizma ile gerçekleştirmektedirler (Singh ve Lillard, 2009). Pasif hedeflemede, sistemler fiziksel-anatomik koşulların yardımıyla hedeflenen yere iletilmektedir (Kumar Khanna, 2012). 100 nm'den küçük NP'ler retiküloendotelial sistemin kılcal damarlarından kolayca hareket edebilmekte ve hepatik/dalak makrofajlarına ulaşabilmektedir. Bu bağlamda hepatik ve dalak rahatsızlığı olan hastalar etkili bir şekilde tedavi edilebilir. NP'ler başlangıçta, ilaç etkinliğini göstermek için makrofaja girmekte ve orada birirmektedirler. Daha sonra, bu makrofajlar hepatik ve dalak hastalıklarının tedavisinde bir savunma sistemi olarak çalışmaktadır (Pillai, 2014; Khodabandehloo ve ark., 2016). Başka bir örnek, karsinoid tümörlerde (sarkomlar) defektli lenfatik ve vasküler sistemlerin vasküler geçirgenliği görülebilmektedir. Bu tür hastalıklarda lenfatik sistemde bir defekt olduğundan, kan dolaşım sisteminden çıktıktan sonra tümörlü bölgelere giren ilaçlar, terapötik etkilerini indüklemek için orada daha uzun süre birirmektedirler. Lipozomlar ve polimer partikülleri, ilaçları dokulara iletmede bu yöntemden yararlanmaktadır (Manthe ve ark., 2010). Dahası, bu yöntem karsinoid dokuların çevresel koşullarını değiştirmektedir. Karsinoid dokuda, sıcaklık daha yüksektir (40°'den yüksek) ve pH, bitişik dokulardan daha düşüktür (neredeyse 5.4). Bu özellikler, pH ve sıcaklığa duyarlı inaktif ilaç verme yöntemlerinde yararlı olabilmektedir (Larson ve Ghandehari, 2012). Aktif ilaç taşıma yönteminde, pasif hedefleme yöntemine kıyasla, hücre ve dokulara daha hedefli ilaç taşıma olanağı bulunmaktadır (Grumezescu, 2018 ).

## 6. NANOPARTİKÜLLERİN GÖRÜNTÜLEME SİSTEMLERİ VE KANSER TEDAVİSİNDE KULLANIMI

Lipid bazlı, inorganik, viral, polimer bazlı ve ilaç konjugeli NP'ler gibi çok çeşitli NP platformları kanser terapisi için nanotaşıyıcılar olarak araştırılmaktadır. Ek olarak, bu NP platformlarından bazıları klinikte kullanım için de onaylanmıştır. Nanotıp, kanser tedavisinin geliştirilmesinde büyük umut vaat eden ve ileri stratejilerden birini oluşturmaktadır (Singh ve ark., 2017). Çoğu bilimsel araştırma, nanotıp terapötiklerinin hem *in vitro* hem de *in vivo* kanser tedavisinde etkili olduğunu öne sürmektedir. Kanser karşıtı ajanların

taşıyıcıları olarak NP'lerin temel avantajı, tümöre hedefli iletim olasılığı, tümör görüntüleme, binlerce ilaç molekülünü depolama ve çözünürlük, kararlılık ve direnç sorunlarının üstesinden gelme yetenekleridir (Hua ve ark., 2018). Ayrıca, NP'lerle ilişkili olan ve klinik testlerle analiz edilen birden fazla tanı ve tedavi ajanı onaylanmıştır. Daunoxome, Doxil, Depocyt, Abraxane ve Oncaspar, FDA tarafından da onaylanan NP türleridir. Bu ilaçlar yumurtalık, meme, akciğer ve böbrek gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde etkilidirler (Pillai, 2014).

## 7. NANOTEKNOLOJİK İLAÇ DAĞITIM SİSTEMLERİNİN AVANTAJLARI

Nanoteknoloji, kanser teşhisi ve tedavisi için NP kullanan yeni bir tedavi platformudur (Ferrari, 2005; Farokhzad, 2009). NP'ler, genel olarak 1-1000 nm arasındaki benzersiz boyutları veya tercihen ilaç verme uygulamaları için uygun 5-200 nm aralığında olmaları nedeniyle kanser tedavisinde kullanılmaktadırlar. Nano aralıklı boyut, büyük yüzey-hacim oranları ve yüzey fonksiyonelleştirme yeteneği, *in vivo* biyolojik dağılımında önemli bir rol oynar. Kemoterapötiklerin taşınmasında nanotaşıyıcıların en yaygın örnekleri arasında lipozomlar, polimerik NP'ler, dendrimerler, nano-kabuklar, inorganik, nükleik asit bazlı ve manyetik NP'ler yer almaktadır (Cho ve ark., 2008). Nanoteknolojik ilaç dağıtım sistemleri aşağıdaki nedenlerden dolayı kanser tedavisinde serbest ilaç uygulamasına kıyasla belirgin avantajlar sunmaktadır:

- Konvansiyonel dozaj formlarıyla verilen ilaçlara kıyasla yüklü kemoterapötik ajanların terapötik indeksini iyileştirmek.
- Uzun bir süre boyunca ilaçların sabit terapötik seviyelerine ulaşarak ilaç etkinliğini artırmak.
- Kontrollü ilaç salınımı sayesinde ilaç toksisitesini azaltmak ve ilacın çözünürlüğünü ve stabilitesini artırarak ilacın farmakokinetiğini iyileştirmek.

Ayrıca, antikanser ajanları içeren NP'ler, ilaçların etkisine karşı kemoterapi direncini en aza indirebilir, böylece ilaçların kanser hücrelerine karşı seçiciliğini artırabilir ve normal hücrelere karşı toksisitesini azaltabilir. Ek olarak, tümör ilişkili antijenlerin (TAA) ve tümöre özgü antijenlerin (TSA) belirli epitoplarını tanıyan spesifik antikorlar vasıtasıyla yüzeylerinin işlevselleştirilmesi yoluyla nanotaşıyıcıların kanser hücrelerine yönelik seçiciliği artmaktadır (Gullotti ve Yeo, 2009) Tümör dokularına nihai birikmeden sonra, nanotaşıyıcılar tümör bölgesindeki lenfatik

temizlenmelerinin bozulması nedeniyle tümör interstisyumunda tutulurlar (Ozawa ve ark., 2008). Tümöral interstisyuma ilaç salınımı, NP yapısının (örneğin kullanılan polimer ve NP'yi kaplayan polimer duvar kalınlığı) modüle edilmesiyle kontrol edilebilir ve bu da büyük avantajlar sunar (Kumari ve ark., 2016).

## 8. KANSER TEDAVİSİNDE NANOPARTİKÜLLERİN KARŞILAŞTIĞI ZORLUKLAR

NP'lerin geliştirilmesi kanser tedavisi için umut verici bir strateji olarak kabul edilmesine rağmen, çeşitli dezavantajlar bu sistemlerin başarılı bir şekilde uygulanmasını sınırlamaktadır (Cairns ve ark., 2006). Öncelikle, nanotaşıyıcı aracılı ilaç iletimi, nanotaşıyıcılardan yetersiz ve gecikmiş ilaç salınımı nedeniyle kanser hücrelerinde ilaç direnci geliştirebilir (Biswas ve ark., 2013). Çoklu ilaç direncinin gelişimine olan eğilimin yanı sıra, sistemik dolaşımdaki nanotaşıyıcıların fiziko-kimyasal özelliklerindeki değişiklikler, örneğin parçacık boyutundaki değişiklik, agregasyon davranışı ve erken ilaç salınımı, terapötik uygulamaların başarısını sınırlayabilir. Organik polimerler ve altın, gümüş oksit, silika NP'ler, karbon nanotüpler gibi inorganik malzemeler de dahil olmak üzere yeni malzemelerden yapılan nanotaşıyıcılar, bu taşıyıcıları oluşturan malzemelerin toksisitesi nedeniyle klinik uygulama için sorun teşkil etmektedir. Yeni malzemeler geliştirmenin veya her bir özel tedavi için uygun malzemeleri seçmenin yanı sıra, kanser hedefli ilaç iletimi için verimli nanotaşıyıcılar tasarlamak amacıyla diğer parametrelerin de araştırılması gerekmektedir. Bu faktörler arasında parçacık boyutu, şekli, sedimentasyon, ilaç kapsülleme etkinliği, istenen ilaç salınım profilleri, vücuttaki dağılım, dolaşım ve maaliyet yer almaktadır. Örneğin, 10 nm'den küçük parçacık boyutuna sahip küçük NP'lerin temizlenme oranı yüksektir. Ek olarak, sistemik dolaşımdaki NP'lerin çoğunluğu retikülo-endotelial sistem tarafından tanınmakta ve karaciğer ve dalakta birikerek diğer organlarda toksisiteye yol açmaktadır. Öte yandan, daha büyük çaplı nanotaşıyıcılar, tümör damar yapısının sızdırmazlığına bağlı olarak tümörde birikmez (Torchilin, 2011). Bu nedenle, doğru malzemelerin ve parçacık boyutunun seçilmesi, kanser tedavisinde hedeflenen NP'lerde bir diğer önemli hususu oluşturmaktadır. Yeni hedefli nanotaşıyıcılar geliştirmek için yapılan kapsamlı araştırma çabalarına rağmen, bunlardan yalnızca birkaçı, DaunoXome®, Doxil®, Myocet™ ve Onco-TCS® dahil olmak üzere, FDA tarafından klinik kullanım için şu ana kadar onaylanmıştır (Barenholz, 2012). Etkili hedeflenen

nanotaşıyıcıların yavaş geliştirilmesinin en büyük dezavantajı, oral veya intravenöz uygulamalardan sonra hedeflenen nanoparçacıkların dağılımı ve konumu hakkında bilgi eksikliği olabilir. Çoğu çalışma, nanoparçacıkların gerçek zamanlı *in vivo* hedefleme etkinliğini incelememiştir, bu sebeple hassas biyo-dağılım ve ardından terapötik etkiler iyi bilinmemektedir. Vücuttaki kanser hücrelerini tespit etmek ve tedavi etkinliğini gerçek zamanlı olarak izlemek, kanser tedavisi için etkili hedeflenen nanotaşıyıcı sistemi geliştirmek için üstesinden gelinmesi gereken büyük bir zorluktur (Kumari ve ark., 2016).

## SONUÇ

Son yıllarda geliştirilen ve halen de üzerinde yoğun çalışmalar süren nanotaşıyıcıların keşfiyle bu taşıyıcı sistemlere yüklenen terapötiklerin gerek pasif gerek aktif olarak hastalık bölgesine ulaştırılmasının sağlanması hedeflenmiştir. Çok farklı tiplerde geliştirilen bu taşıyıcı sistemler özellikle kanserde geleneksel kemoterapinin sınırlamalarını ortadan kaldırarak, sağlıklı dokulara olan toksisiteyi azaltmış ve serbest ilacın çözünürlüğünün artması ve hedeflenen bölgeye ulaşması sağlanmıştır. Yine doğru bir biçimde tasarlanan nanotaşıyıcılar böbreklerin temizlemesinden kaçabilmekte ve böylelikle bu taşıyıcıların daha uzun süre sistemlerde dolaşabilmeleri sağlanabilmektedir.

Antikanser ilaçların sınırlamaları nanotaşıyıcıların kullanımıyla her ne kadar iyileştirilmiş olsa da; beraberinde yeni zorlukları da getirmiştir. Optimum reseptör-ligand etkileşiminin sağlanması, ilaç taşıyıcı NP'lerin kararlılığı, NP-ilaç yükleme verimliliği, hedeflenen reseptörün ekspresyon süresi bu zorluklar arasında sayılabilir. Bunlara ek olarak anti kanser ilaçların hedeflenmesinde kullanılan bu nanotaşıyıcı sistemlerde kullanılan NP'lerin potansiyel toksisiteleri ile ilgili faktörler de sağlıklı dokularda çeşitli istenmeyen etkiler oluşturabilir. Tüm bu olumsuz etkilerine rağmen klinikte kanser başta olmak üzere pek çok hastalığın tanı ve tedavisinde NP tabanlı taşıyıcı sistemler başta olmak üzere diğer taşıma sistemleri de büyük ümit vaat etmekte olup, gelecekte pek çok hastalığın tedavisinde bu sistemlerden yararlanılacağı öngörülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Ahmed, K. S., Hussein, S. A., Ali, A. H., Korma, S. A., Lipeng, Q., & Jinghua, C. (2019). Liposome: Composition, characterisation, preparation, and recent innovation in clinical applications. *Journal of drug targeting*, 27(7), 742-761.
- Abbasi, H., Kouchak, M., Mirveis, Z., Hajipour, F., Khodarahmi, M., Rahbar, N., & Handali, S. (2022). What we need to know about liposomes as drug nanocarriers: an updated review. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 13(1), 7.
- Abu Lila, A. S. A., & Ishida, T. (2017). Liposomal delivery systems: design optimization and current applications. *Biological and pharmaceutical bulletin*, 40(1), 1-10.
- Aghebbati-Maleki, A., Dolati, S., Ahmadi, M., Baghbanzhadeh, A., Asadi, M., Fotouhi, A., ... & Aghebbati-Maleki, L. (2020). Nanoparticles and cancer therapy: Perspectives for application of nanoparticles in the treatment of cancers. *Journal of cellular physiology*, 235(3), 1962-1972.
- Anand, P., Kunnumakara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Tharakan, S. T., Lai, O. S., ... & Aggarwal, B. B. (2008). Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical research*, 25(9), 2097-2116.
- Anwekar, H., Patel, S., & Singhai, A. K. (2011). Liposome-as drug carriers. *International journal of pharmacy & life sciences*, 2(7).
- Bailey, R. E., Smith, A. M., & Nie, S. (2004). Quantum dots in biology and medicine. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 25(1), 1-12.
- Barenholz, Y. C. (2012). Doxil®—The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned. *Journal of controlled release*, 160(2), 117-134.
- Belfiore, L., Saunders, D. N., Ranson, M., Thurecht, K. J., Storm, G., & Vine, K. L. (2018). Towards clinical translation of ligand-functionalized liposomes in targeted cancer therapy: Challenges and opportunities. *Journal of controlled release*, 277, 1-13.
- Bhatia, S., & Bhatia, S. (2016). Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. *Natural polymer drug delivery systems: Nanoparticles, plants, and algae*, 33-93.



- Bi, Y., Hao, F., Yan, G., Teng, L., J Lee, R., & Xie, J. (2016). Actively targeted nanoparticles for drug delivery to tumor. *Current drug metabolism*, 17(8), 763-782.
- Biswas, S., Deshpande, P. P., Navarro, G., Dodwadkar, N. S., & Torchilin, V. P. (2013). Lipid modified triblock PAMAM-based nanocarriers for siRNA drug co-delivery. *Biomaterials*, 34(4), 1289-1301.
- Brannon-Peppas, L., & Blanchette, J. O. (2004). Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Advanced drug delivery reviews*, 56(11), 1649-1659.
- Brigger, I., Dubernet, C., & Couvreur, P. (2012). Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 24-36.
- Buhleier, E., Wehner, W., & Vögtle, F. (1978). " Cascade"-and" nonskid-chain-like" syntheses of molecular cavity topologies. *Synthesis*, 1978(02), 155-158.
- Cairns, R., Papandreou, I., & Denko, N. (2006). Overcoming physiologic barriers to cancer treatment by molecularly targeting the tumor microenvironment. *Molecular Cancer Research*, 4(2), 61-70.
- Cancer Research UK. Worldwide cancer incidence statistics [cited 2023 september]. [https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/worldwide-cancer/incidence#:~:text=It%20is%20predicted%20there%20will,fe%20males%20\(48.8%25%20increase\).2023](https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/worldwide-cancer/incidence#:~:text=It%20is%20predicted%20there%20will,fe%20males%20(48.8%25%20increase).2023)
- Chan, H. K., & Ismail, S. (2014). Side effects of chemotherapy among cancer patients in a Malaysian General Hospital: experiences, perceptions and informational needs from clinical pharmacists. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(13), 5305-5309.
- Cho, K., Wang, X. U., Nie, S., Chen, Z., & Shin, D. M. (2008). Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clinical cancer research*, 14(5), 1310-1316.
- Ciğerci İH, Özkara A., Akyıl D. 2024. Nanopartiküller ve Su Ekosistemindeki Yeri, Biyolojide Güncel Konular (Ed: Nurşen ÇÖRDÜK). Livre de Lyon. e-ISBN: 978-2-38236-731-5 DOI: 10.5281/zenodo.13958409
- Corot, C., Robert, P., Idée, J. M., & Port, M. (2006). Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Advanced drug delivery reviews*, 58(14), 1471-1504.
- Dadwal, A., Baldi, A., & Kumar Narang, R. (2018). Nanoparticles as carriers for drug delivery in cancer. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(sup2), 295-305.

- Daraee, H., Etemadi, A., Kouhi, M., Alimirzalu, S., & Akbarzadeh, A. (2016). Application of liposomes in medicine and drug delivery. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 381-391.
- De Jong, W. H., & Borm, P. J. (2008). Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *International journal of nanomedicine*, 3(2), 133-149.
- Elmowafy, M., Samy, A., Abdelaziz, A. E., Shalaby, K., Salama, A., Raslan, M. A., & Abdelgawad, M. A. (2017). Polymeric nanoparticles based topical gel of poorly soluble drug: formulation, ex-vivo and in vivo evaluation. *Beni-Suef University journal of basic and applied sciences*, 6(2), 184-191.
- Farokhzad, O. C., & Langer, R. (2009). Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS nano*, 3(1), 16-20.
- Fenske, D. B., & Cullis, P. R. (2008). Liposomal nanomedicines. *Expert opinion on drug delivery*, 5(1), 25-44.
- Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nat Rev Cancer* 2005;5:161–71.
- Ferro, Y., Maurotti, S., Tarsitano, M. G., Lodari, O., Pujia, R., Mazza, E., ... & Montalcini, T. (2023). Therapeutic Fasting in Reducing Chemotherapy Side Effects in Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 15(12), 2666.
- Gavas, S., Quazi, S., & Karpiński, T. M. (2021). Nanoparticles for cancer therapy: current progress and challenges. *Nanoscale research letters*, 16(1), 173.
- Giordano, K. F., & Jatoi, A. (2005). The cancer anorexia/weight loss syndrome: therapeutic challenges. *Current oncology reports*, 7, 271-276.
- Goldman, E. R., Clapp, A. R., Anderson, G. P., Uyeda, H. T., Mauro, J. M., Medintz, I. L., & Mattoussi, H. (2004). Multiplexed toxin analysis using four colors of quantum dot fluororeagents. *Analytical Chemistry*, 76(3), 684-688.
- Grumezescu, A. M. (Ed.). (2018). *Nanostructures for the engineering of cells, tissues and organs: From design to applications*. William Andrew.
- Gullotti, E., & Yeo, Y. (2009). Extracellularly activated nanocarriers: a new paradigm of tumor targeted drug delivery. *Molecular pharmaceutics*, 6(4), 1041-1051.
- He, H., Lu, Y., Qi, J., Zhu, Q., Chen, Z., & Wu, W. (2019). Adapting liposomes for oral drug delivery. *Acta pharmaceutica sinica B*, 9(1), 36-48.

- Hickey, J. W., Santos, J. L., Williford, J. M., & Mao, H. Q. (2015). Control of polymeric nanoparticle size to improve therapeutic delivery. *Journal of Controlled Release*, 219, 536-547.
- Hossen, S., Hossain, M. K., Basher, M. K., Mia, M. N. H., Rahman, M. T., & Uddin, M. J. (2019). Smart nanocarrier-based drug delivery systems for cancer therapy and toxicity studies: A review. *Journal of advanced research*, 15, 1-18.
- Hua, S., De Matos, M. B., Metselaar, J. M., & Storm, G. (2018). Current trends and challenges in the clinical translation of nanoparticulate nanomedicines: pathways for translational development and commercialization. *Frontiers in pharmacology*, 9, 790.
- Iga, A. M., Robertson, J. H., Winslet, M. C., & Seifalian, A. M. (2007). Clinical potential of quantum dots. *BioMed Research International*, 2007(1), 076087.
- Iijima, S., & Ichihashi, T. (1993). Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *nature*, 363(6430), 603-605.
- Jarzyna, P. A., Gianella, A., Skajaa, T., Knudsen, G., Deddens, L. H., Cormode, D. P., ... & Mulder, W. J. (2010). Multifunctional imaging nanoprobe. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2(2), 138-150.
- Jovčevska, I., & Muyldermans, S. (2020). The therapeutic potential of nanobodies. *BioDrugs*, 34(1), 11-26.
- Karra, N., & Benita, S. (2012). The ligand nanoparticle conjugation approach for targeted cancer therapy. *Current drug metabolism*, 13(1), 22-41.
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
- Khodabandehloo, H., Zahednasab, H., & Hafez, A. A. (2016). Nanocarriers usage for drug delivery in cancer therapy. *Iranian journal of cancer prevention*, 9(2).
- Krishna, R., & Mayer, L. D. (2000). Multidrug resistance (MDR) in cancer: mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *European journal of pharmaceutical sciences*, 11(4), 265-283.
- Kroemer, G., & Zitvogel, L. (2018). The breakthrough of the microbiota. *Nature Reviews Immunology*, 18(2), 87-88.
- Kumar, C. S. (Ed.). (2006). *Nanomaterials for cancer therapy* (Vol. 6). Weinheim, Germany:: Wiley-VCH.

- Kumar Khanna, V. (2012). Targeted delivery of nanomedicines. *International Scholarly Research Notices*, 2012(1), 571394.
- Kumar, C. S. (2010). Nanotechnology tools in pharmaceutical R&D. *Materials Today*, 12, 24-30.
- Kumari, P., Ghosh, B., & Biswas, S. (2016). Nanocarriers for cancer-targeted drug delivery. *Journal of drug targeting*, 24(3), 179-191.
- Lacouture, M., & Sibaud, V. (2018). Toxic side effects of targeted therapies and immunotherapies affecting the skin, oral mucosa, hair, and nails. *American journal of clinical dermatology*, 19(Suppl 1), 31-39.
- Larson, N., & Ghandehari, H. (2012). Polymeric conjugates for drug delivery. *Chemistry of Materials*, 24(5), 840-853.
- Loo, C., Hirsch, L., Lee, M. H., Chang, E., West, J., Halas, N., & Drezek, R. (2005). Gold nanoshell bioconjugates for molecular imaging in living cells. *Optics letters*, 30(9), 1012-1014.
- Mahapatro, A., & Singh, D. K. (2011). Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines. *Journal of nanobiotechnology*, 9, 1-11.
- Manthe, R. L., Foy, S. P., Krishnamurthy, N., Sharma, B., & Labhasetwar, V. (2010). Tumor ablation and nanotechnology. *Molecular Pharmaceutics*, 7(6), 1880-1898.
- Mariyam, M., Ghosal, K., Thomas, S., Kalarikkal, N., & Latha, M. S. (2018). Dendrimers: general aspects, applications and structural exploitations as prodrug/drug-delivery vehicles in current medicine. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 18(5), 439-457.
- Matsumura, Y., Hamaguchi, T., Ura, T., Muro, K., Yamada, Y., Shimada, Y., ... & Watanabe, N. (2004). Phase I clinical trial and pharmacokinetic evaluation of NK911, a micelle-encapsulated doxorubicin. *British journal of cancer*, 91(10), 1775-1781.
- Mays, A. N., Osheroff, N., Xiao, Y., Wiemels, J. L., Felix, C. A., Byl, J. A. W., ... & Grimwade, D. (2010). Evidence for direct involvement of epirubicin in the formation of chromosomal translocations in t (15; 17) therapy-related acute promyelocytic leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 115(2), 326-330.
- Melero, I., Rouzaut, A., Motz, G. T., & Coukos, G. (2014). T-cell and NK-cell infiltration into solid tumors: a key limiting factor for efficacious cancer immunotherapy. *Cancer discovery*, 4(5), 522-526.
- Mirkin, C. A., Letsinger, R. L., Mucic, R. C., & Storhoff, J. J. (2020). A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic

- materials. In *Spherical Nucleic Acids* (pp. 3-11). Jenny Stanford Publishing.
- Moghimi, S. M., Hunter, A. C., & Murray, J. C. (2005). Nanomedicine: current status and future prospects. *The FASEB journal*, 19(3), 311-330.
- Mukherjee, S., Ray, S., & Thakur, R. S. (2009). Solid lipid nanoparticles: a modern formulation approach in drug delivery system. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 71(4), 349.
- Ozawa, M. G., Zurita, A. J., Dias-Neto, E., Nunes, D. N., Sidman, R. L., Gelovani, J. G., ... & Pasqualini, R. (2008). Beyond receptor expression levels: the relevance of target accessibility in ligand-directed pharmacodelivery systems. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 18(4), 126-133.
- Palazzolo, S., Bayda, S., Hadla, M., Caligiuri, I., Corona, G., Toffoli, G., & Rizzolio, F. (2018). The clinical translation of organic nanomaterials for cancer therapy: a focus on polymeric nanoparticles, micelles, liposomes and exosomes. *Current medicinal chemistry*, 25(34), 4224-4268.
- Park, J. H., Lee, S., Kim, J. H., Park, K., Kim, K., & Kwon, I. C. (2008). Polymeric nanomedicine for cancer therapy. *Progress in polymer science*, 33(1), 113-137.
- Patil, Y. P., & Jadhav, S. (2014). Novel methods for liposome preparation. *Chemistry and physics of lipids*, 177, 8-18.
- Petros, R. A., & DeSimone, J. M. (2010). Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nature reviews Drug discovery*, 9(8), 615-627.
- Pillai, G. (2014). Nanomedicines for cancer therapy: an update of FDA approved and those under various stages of development. *SOJ Pharm Pharm Sci* 1 (2): 13. *Nanomedicines for Cancer Therapy: An Update of FDA Approved and Those under Various Stages of Development*, 1.
- Quazi, S. (2022). Telomerase gene therapy: A remission toward cancer. *Medical Oncology*, 39(6), 105.
- Reilly, R. M. (2007). Carbon nanotubes: potential benefits and risks of nanotechnology in nuclear medicine. *Journal of Nuclear Medicine*, 48(7), 1039-1042.
- Rosenberg, S. A., Restifo, N. P., Yang, J. C., Morgan, R. A., & Dudley, M. E. (2008). Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 8(4), 299-308.

- Senapati, S., Mahanta, A. K., Kumar, S., & Maiti, P. (2018). Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal transduction and targeted therapy*, 3(1), 7.
- Sercombe, L., Veerati, T., Moheimani, F., Wu, S. Y., Sood, A. K., & Hua, S. (2015). Advances and challenges of liposome assisted drug delivery. *Frontiers in pharmacology*, 6, 286.
- Serpe, L., Guido, M., Canaparo, R., Muntoni, E., Cavalli, R., Panzanelli, P., ... & Zara, G. P. (2006). Intracellular accumulation and cytotoxicity of doxorubicin with different pharmaceutical formulations in human cancer cell lines. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 6(9-10), 3062-3069.
- Siepmann, J., Faham, A., Clas, S. D., Boyd, B. J., Jannin, V., Bernkop-Schnürch, A., ... & Leroux, J. C. (2019). Lipids and polymers in pharmaceutical technology: Lifelong companions. *International journal of pharmaceutics*, 558, 128-142.
- Simunek, T., Štěřba, M., Popelová, O., Adamcová, M., Hrdina, R., & Geršl, V. (2009). Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. *Pharmacological reports*, 61(1), 154-171.
- Singh, R., & Lillard Jr, J. W. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and molecular pathology*, 86(3), 215-223.
- Singh, V. K., Saini, A., & Chandra, R. (2017). The implications and future perspectives of nanomedicine for cancer stem cell targeted therapies. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 4, 52.
- Tiwari, G., Tiwari, R., Sriwastawa, B., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P., & Bannerjee, S. K. (2012). Drug delivery systems: An updated review. *International journal of pharmaceutical investigation*, 2(1), 2.
- Torchilin, V. (2011). Tumor delivery of macromolecular drugs based on the EPR effect. *Advanced drug delivery reviews*, 63(3), 131-135.
- Weissig, V., Pettinger, T. K., & Murdock, N. (2014). Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. *International journal of nanomedicine*, 4357-4373.
- Wesolowski, J., Alzogaray, V., Reyelt, J., Unger, M., Juarez, K., Urrutia, M., ... & Koch-Nolte, F. (2009). Single domain antibodies: promising experimental and therapeutic tools in infection and immunity. *Medical microbiology and immunology*, 198, 157-174.

- Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H., & Car, H. (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological reports*, 64(5), 1020-1037.
- Yan, W., Leung, S. S., & To, K. K. (2020). Updates on the use of liposomes for active tumor targeting in cancer therapy. *Nanomedicine*, 15(3), 303-318.
- Zitvogel, L., Apetoh, L., Ghiringhelli, F., & Kroemer, G. (2008). Immunological aspects of cancer chemotherapy. *Nature reviews immunology*, 8(1), 59-73.

## BÖLÜM 6

### HÜCRE HATLARI KULLANILARAK NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169467>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye, cigerci@aku.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-3626-7730





## GİRİŞ

Nanoteknoloji ve nanobilim alanı son on yıldır büyük ilgi görmektedir. Bu alanlardaki önemli ilerlemeler biyolojik bilimlerde kullanılmalarına bağlanabilir (Liu, 2006). Nanopartiküllerin (NP) biyomedikal araştırmalarda kullanılması fikri, NP'lerin benzersiz işlevler ve bileşimler elde etmek için kolayca tasarlanabilmesi ve böylece biyolojik araştırmalar için yararlı yeni araçlar ve teknikler sunması nedeniyle büyük ilgi ve dikkat çekmiştir (Wang ve Wang, 2014). Çeşitli alanların ilerlemesi için yararlı farklı nanomalzemeler üretmek üzere atomik, moleküler ve supramoleküler seviyelerde maddenin manipülasyonu ve ardından mühendisliği kapsamlı bir şekilde nanoteknoloji olarak adlandırılmaktadır. Biyoloji ve nanoteknolojinin birleşmesi, kimyasal işlemlerle karşılaştırıldığında ekonomik ve çevre dostu bir şekilde NP üretmek için bakteri, mantar, maya ve bitkiler dahil olmak üzere farklı organizmaların kullanımını içeren nanobiyoteknoloji adlı yeni bir alan yaratmıştır (Shah ve ark., 2015). Bu NP'ler biyolojik bilimlerden mekaniğe kadar çeşitli uygulamalarda önemli bir rol oynamaktadır. NP'lerin kullanımındaki artış, bu partiküllerin istenen sonuçları elde etmek için tasarlandığı ve işlendiği biyoloji, tıp biyomedikal gibi alanların yanı sıra nanobiyoteknoloji ve biyonanoteknoloji gibi yeni alanların evrimine yol açmıştır (Anirudh ve ark., 2018).

## 1. NANOPARTİKÜL-BİYOMOLEKÜL ETKİLEŞİMLERİ

NP'ler, kimyaları, şekilleri, boyutları ve yüzey özellikleriyle ilgili özelliklerden yararlanmak için neredeyse sınırsız kombinasyonlarda üretilmektedir (Rauscher ve ark., 2013). Yüksek yüzey serbest enerjileri nedeniyle NP'ler biyolojik ve/veya abiyotik ortamlarla temas halinde (biyo)molekülleri adsorbe ederek (biyo)molekül korona adı verilen yapıyı oluştururlar (Monopoli, 2011; Monopoli, 2012; Tenzer ve ark., 2020). Böylece, NP'lerin fiziko-kimyasal özellikleri ve davranışları teknik olarak stabil, korumalı ortamlarda, örneğin teknik ürünlerde tasarlanabilir ve kontrol edilebilirken, karmaşık fizyolojik veya doğal ortamlarda artık durum böyle değildir. Bu tür "karmaşık ortamlar" sadece insanlar da dahil olmak üzere basit ve daha yüksek organizmalar tarafından değil, aynı zamanda NP'lerin teknik uygulamaları sırasında ve/veya insanların amaçlanan/amaçlanmayan maruziyetinden ve ekosisteme salınmasından sonra maruz kaldıkları karmaşık katı ve sıvı arayüzler tarafından da temsil edilmektedir. Dahası, karmaşık organizmalar ayrıca organlar ve hücreler gibi çeşitli ek "karmaşık mikro

ortamlardan” oluşur ve bunlar da fiziko-kimyasal bileşimlerinde oldukça büyük farklılıklar gösterir (Docter ve ark., 2015).

NP’lerin uygulanması, tümör hücrelerinin neden olduğu birçok hastalığın teşhis ve tedavi edilme şeklini her zaman iyileştirebilir. Ayrıca akciğer ve kalp hastalıklarının tedavisinde de ümit verici sonuçlar gösterirler. Her şey NP ve biyomolekülün etkileşimine veya arayüzüne, NP’lerin biyolojik bileşenlerle temas ettiği yere bağlıdır. Bazı biyolojik bileşenlere örnek olarak proteinler, DNA, fosfolipitler, organeller ve diğer biyolojik zarlar verilebilir (Ghosh ve Paria, 2012). Nano-biyo arayüzü, biyolojik bileşenlerin yüzeyi ile NP’lerin yüzeyi arasındaki çeşitli fizikokimyasal etkileşimleri, kinetikleri ve ayrıca termodinamik değişiklikleri içerir. NP’lerin insan sağlığı yararları için kullanımıyla ilgili keskin bir anlayış elde etmek için arayüzde meydana gelen bu etkileşimleri incelemek son derece önemlidir. Arayüzdeki etkileşimlere katkıda bulunan üç ana bileşen vardır:

(a) Nanopartikülün yüzeyi.

(b) Katı partikülün çevredeki sıvı ortamlarla etkileşimi, katı sıvı arayüzünün oluşumu.

(c) Katı sıvı arayüzünün biyolojik yüzeyle etkileşimi.

Tüm bu etkileşimler NP’lerin yüzey özellikleri tarafından belirlenir. NP’lerin yüzey özellikleri, proteinleri ve çeşitli iyon moleküllerini adsorbe ederek, ortamda çözünerek ve son olarak çift tabaka oluşturarak NP’ün ortamlarla etkileşimine yardımcı olur (Gilbert ve ark., 2004). NP’lerin süspansiyon edildiği ortam asitler ve bazlar, su molekülleri, deterjanlar, iyonlar, tuzlar ve diğer bazı büyük moleküllerden oluşabilir. NP herhangi bir ortama yerleştirildiğinde, malzemenin özellikleri büyük ölçüde değişir ve daha sonra metastabil durumda olan bir arayüz oluştururlar. Bu arayüz ayrıca, çevredeki ortamın bileşimindeki belirli değişikliklerle birlikte birçok değişikliğe uğrayan oldukça kararsız bir nano-biyo arayüzünün oluşumuna yol açacaktır. Örneğin, ortama herhangi bir biyolojik ürünün salınmasıyla, NP ürünle etkileşime girer ve arayüzü etkileyecek bazı değişikliklere uğrar. Nano-biyo arayüzündeki etkileşim birçok kuvvet türünü içerir. Van der Waals kuvvetleri, elektrostatik veya iyonik kuvvetler gibi kuvvetler esas olarak kolloidal parçacıklar arasında meydana gelir ancak hafif bir değişiklik gösterir (Min ve ark., 2008).

Silikon dioksit gibi bireysel NP'ler suya yerleştirildiğinde ikisi arasındaki etkileşim sırasında, dipol momentinin karşılıklı indüksiyonu nedeniyle çekici van der Waals kuvvetleri oluşur. Yüzey negatif yükü nedeniyle, doğası gereği itici olan elektrostatik kuvvetler meydana gelir. Çözünme kuvvetleri, su molekülleri partiküllerin yüzeyinde yapışmalarını geciktiren ve böylece partikülü sabitleyen katmanlar oluşturduğunda ortaya çıkar. Buna karşılık, aynı NP canlı bir hücreyle etkileşime girmeye başladığında, tüm temel kuvvetler küçük farklılıklarla yeniden tanımlanacaktır; örneğin (a) hücre zarının sert olmadığı için deforme olma şansı vardır, (b) yüzeydeki düzensiz yük yüzeyin enerjisini değiştirebilir ve (c) hücre zarının pasif olmayan doğası silikon dioksit partiküllerinin hareketini engelleyebilir (Dobrovolskaia ve McNeil, 2007). Biyolojik sistemlerde meydana gelen değişiklikler nedeniyle, bu etkileşimlerin karmaşık ve ayrıca tahmin edilmesi zor olduğu varsayılmaktadır. NP'lerin hücrelerle nasıl etkileşime girdiğini açıkça araştırmak ve bilgi edinmek için, insan monositik hücre hattı (THP-1) gibi çeşitli hücre hatları deneyler yürütmek için model olarak kullanılmıştır. THP-1 tümör hücreleri, akut monosit lösemi hastalarından toplanır ve polistiren NP'lerini test etmek için kullanılır. Bu NP'ler kolayca bozulmaz ve boyutları yaklaşık 110 nm'dir. Bu partiküllerin, makrofajlar ve monositler gibi fagositik hücreler tarafından fagositozlanan 50 nm boyutundaki NP'lerle karşılaştırıldığında, pinositoz yoluyla hücre hatları tarafından çok iyi içselleştirildiği belirlenmiştir (Loos ve ark., 2014). Polistiren NP'leri gibi, altın NP'lerde etkileşimleri incelemek için kullanılır. Altın NP'lerinin boyutu ve şekli, çalışma alanına göre kolayca değiştirilebilir. Bununla birlikte, altının eylemsizliği araştırmacıların onu çeşitli çalışmalarda kullanmasını sağlamıştır (Alkilany ve ark., 2013). Rahim ağzı kanseri hücreleri (HELA) ve memeli hücreleri gibi birçok farklı hücre hattı da nano-biyo arayüzünde meydana gelen etkileşimleri anlamak için kullanılır. Bu etkileşimler ayrıca NP'lerin farklı hücre hatları tarafından alınmasını, taşınmasını ve sitotoksitesini etkileyecektir.

## 2. NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK ETKİLERİ

NP'lerin canlı hücreler ve biyomoleküllerle etkileşimleri çeşitli biyolojik etkilerin öncüleri olarak hizmet eder. Bir NP hücre zarından geçerek nano-biyo arayüzündeki tüm engelleri aştığında ve sitozole ulaştığında çok sayıda tepkiye neden olur. Bu biyolojik etkiler insan sağlığı için hem yararlı hem de zararlıdır. Kanser şu anda önde gelen yaşamı tehdit eden hastalıktır ve çok sayıda ölüm meme karsinomu nedeniyle meydana gelmiştir. Krisin yüklü PLGA-PEG gibi

biyolojik olarak parçalanabilir NP'ler meme kanseri hücrelerine karşı test için kullanılır. PLGA, poliglikolik asit ve polilaktik asidin bir kopolimeridir. Krisin, hücre apoptozunu indükleyen bir kanser karşıtı ilaçtır. Bu ilaç PLGA-PEG NP'lerine yüklenir ve meme kanseri hücre hatlarına karşı test edilir. Bu, sadece krisinin neden olduğu etkiyle karşılaştırıldığında gelişmiş bir inhibe edici etkiyle sonuçlanmıştır (Makadia ve Siegel, 2011). Kanser vakalarının artmasıyla radyasyon tedavisi her geçen gün önem kazanmakta ve tümör hücrelerini yok etmek için daha yüksek dozda radyasyona ihtiyaç duyulmaktadır, ancak sağlıklı dokular bunu tolere edememektedir. Bu nedenle altın NP'lerin (AuNP'ler) kullanıldığı bir alternatif geliştirilmiştir. Dozaj seviyesi nispeten azaltıldığında, çok sayıda hücrenin öldüğü bulunmuştur. Benzer şekilde, bakır, altın ve gümüşten oluşan metalik NP'ler de organizmalar içinde bazı önemli biyolojik tepkiler göstermiştir. Bakır NP'leri stabildir ve polimerlerle çok kolay bir şekilde karıştırılabilir. CuNP'ler, akciğer kanseri hücrelerinin apoptozunda etkili olan bitki lateksinden sentezlenen NP'lerden biridir (Mayur ve ark., 2011).

İnsan kemikleri ve dişleri, protezlerin üzerinde bir kaplama olarak kullanılan ve ayrıca birçok biyomedikal uygulamaya sahip olan hidroksiapatitten oluşur. Başlangıçta mikro boyutlu hidroksiapatit partikülleri (m-HAP) hazırlanır ve MG-63 hücreleri gibi osteoblast hücreleri ile test edilir. Daha sonra nano boyutlu HAP sentezlenip aynı test tekrarlandığında nano-HAP'ın MG-63 hücre hatlarında büyümeyi teşvik etmede ve apoptozu engellemede çok daha etkili olduğu bulundu (Shi ve ark., 2009). Ayrıca, çevreleyen ortamda glutamik asit bulunması nedeniyle, sinir hücrelerinin içinde reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir ve bu ROS'un varlığı hücre ölümüne yol açar. Bunu önlemek için serbest radikalleri azaltmak gerekmektedir ki bunun için de antioksidanlar kullanılır. Seryum oksit ve itriyum oksitten yapılmış NP'ler, antioksidan doğalarını test etmek için HT22 hücre hattı gibi sinir hücreleriyle reaksiyona sokulduğunda itriyum oksit parçacıklarının nano boyutları, seryum oksitle yapılanlara kıyasla oksidatif stresi azaltmada daha iyi sonuçlar gösterdi (Schubert ve ark., 2006).

Gümüş NP'ler (AgNP'ler), birçok virüse karşı antimikrobiyal aktiviteleriyle iyi bilinmektedir. Anti-tümör aktivitelerini değerlendirmek için Dalton lenfoma asitleri (DLA) hücre hatlarında analizler yapılmıştır. AgNP'ler, nükleer parçalanma ile doğrulanmış tümör hücrelerinin apoptozuna neden olan Kaspaz-3 (Cas-3) adı verilen bir enzimi indüklemiştir. Bu NP'ler ayrıca kanserden etkilenen farelerde asetik sıvının azaltılmasına yardımcı olmuştur ve

bu da vücut ağırlıklarının normale dönmesini sağlamıştır (Sriram ve ark., 2010). Ek olarak AgNP'lerin kolon kanseri hücrelerine karşı etkili olduğu kanıtlanmıştır.  $\beta$ -sitosterol aracılı sentezlenen AgNP'ün HT-29 hücrelerinde konsantrasyona bağlı sitotoksositeye neden olduğu gözlemlenmiştir. AgNP tedavileri ayrıca HT-29 hücrelerinde tümör baskılayıcı protein p53 ekspresyonunu ve dolayısıyla erken apoptozu indüklemiştir (Shathviha ve ark., 2021). Manyetik NP'lerin kullanımı, kolayca değiştirilebildikleri için önem kazanmıştır. Metal NP'ler, yeni nesil kanser karşıtı tedaviler olarak aktif biçimde araştırılmaktadır. Birkaç çalışma, kanser tedavisindeki potansiyellerini doğrulamıştır ve metal NP'lerin farklı formülasyonları hali hazırda klinik öncesi ve klinik geliştirme aşamalarında. Ancak, klinik uygulamalarından önce, hazırlama yöntemleri, tekrarlanabilirlik, kararlılık, doz, hedef ve hedef dışı bölgede birikim derecesi ve en önemlisi toksikoloji konuları dahil olmak üzere üretim ve kullanımlarıyla ilgili çeşitli faktörlerin dikkate alınması gerekir.

### 3. NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİK ETKİLERİ

NP'lerin boyutu, hücre zarından kolayca geçmelerini ve biyolojik tepkiler uyandırarak önemli işlevler gerçekleştirmelerini sağlayan temel karakteristik özelliğidir. Bu biyolojik etkilerin entegrasyonu insan vücudu için hem avantajlı hem de zararlı olabilir. NP toksisitesine neden olan çok sayıda mekanizma vardır. Genellikle farklı organlarda çok az miktarda ROS üretilir ve bunların seviyesi antioksidan enzimlerin ve glutatyonun etkisiyle geri kazanılır. Ancak NP'ler solunduğunda bu ROS'ların üretimi akciğerler gibi organlarda kademeli olarak artar. Bu süreçte glutatyon oksitlenir ve hücredeki denge düzenleyicisi olan glutatyonun oksitlenmiş glutatyona oranı azalır ve ROS'un tükenmesi üzerinde hiçbir etkisi olmaz. Oksidatif stres orta seviyelerde olduğunda, MAPK ve NF-kB kaskadları aktive olur ve bu da inflamatuvar tepkilere neden olur. Yüksek stres durumunda elektron transferi bozulur ve hücrelerin apoptozu gerçekleşir. Bu, NP'lerin insan vücudunda toksisiteye neden olduğu mekanizmadır. Bu toksisite, hücrelerin programlanmış hücre ölümüne zorlandığı sitotoksosite veya DNA ve RNA gibi genetik materyalin etkilendiği genotoksosite olabilir. Bu, NP'ler tarafından kullanılan temel mekanizma olmasına rağmen, farklı tipteki nanomalzemelere göre değişiklik gösterir. Karbon nanotüpler, birçok benzersiz özelliğiyle bilinen bir nanomalzeme türüdür. Bunlar iki tiptir: tek ve çok duvarlı karbon nanotüpler. Her ikisi de farklı toksisite mekanizmalarını takip eder. Tek duvarlı karbon nanotüpler, oksidatif stres üretmek için insan keratinositlerindeki CN-KB'yi

aktive ederken, çok duvarlı karbon nanotüpler T hücrelerinin apoptozuyla sonuçlanır (Oberdorster, 2004). Metal NP hücre içi toksisiteye neden olur ve bundan sorumlu mekanizma birçok deneyde bulunmuştur. Hücrenin lizozomal bölmesi doğası gereği asidiktir, bu nedenle parçacıklar içselleştirilir ve iyonların salınımı gerçekleşir ve hücre içi toksisiteye yol açar. Bu mekanizmaya genellikle “lizozom destekli Truva atı etkisi” denir (Stefania ve ark., 2014). Endoplazmik retikulum oksidatif stres nedeniyle kalsiyum iyonlarını serbest bırakır ve mitokondriyal deformasyona ve hücre ölümüne neden olur. ZnO’ya maruz kalındığında kalsiyum iyon salınımında önemli bir artış olmuştur (Xia ve ark., 2008). Gümüş NP’lerin altında yatan mekanizma, NP yüzeyinin oksijen molekülleri tarafından oksidasyonunu ve hücre için toksik olan gümüş iyonlarının salınmasını içerir (McShan ve ark., 2014). Akciğer epitel hücreleri silika NP’lerine maruz kaldığında, ROS üretimi nedeniyle lipid peroksidasyonu meydana gelir ve bu da transkripsiyon faktörünün aktivasyonunun artmasına ve interlökin 6, 8 ve MMP-9’un düzenlenmesine yol açar ve son olarak kaspaz-3 kullanılarak PCD’ye neden olur (McCarthy ve ark., 2012).

#### 4. NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİSİTE ÇALIŞMASINDA HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN TANITIMI

Hayvan hücre kültüründe sistemik varyasyonların yokluğunda bu hücrelerin davranışlarını araştırmak için bir yöntem olarak deneyler ilk olarak yirminci yüzyılın başlarında Ross Harrison, Alexis Carrel ve diğerlerinin öncü çalışmalarıyla tasarlanmıştır (Russell, 1969). Hücre kültürünün kullanımı, esas olarak bir deneyin stresi altında *in vivo* deneylerde olabilecek değişiklikleri en aza indirmek için başlıca bir avantaja sahiptir. Bu araştırma aracı ilk olarak doku parçalarıyla geliştirilmiştir. Hücre büyümesi, hücrelerin doku parçasından göç etmesiyle veya kültürün cerrahi olarak bölünmesiyle sınırlıyken hücre kültürü teknolojisinin geliştirilmesiyle, çeşitli tanımlanmamış ve tanımlanmış kültür ortamlarının genişlemesi ve alt kültürleme için tripsin kullanımı sayesinde artık mümkün hale gelmiştir. Hücrelerin tutulduğu atmosferdeki ayarlamalar, fizyolojik pH’ı korumak için sodyum bikarbonatla birlikte karbondioksit konsantrasyonunda değişiklikler içermektedir. Gerçekten de tanımlanmış ortama antibiyotiklerin eklenmesi, uzun vadeli hücre hattı yayılımına izin vermiştir (Freshney, 2005). Hücre kültürü, farmakoloji (bir ilacın biyolojik aktivitesi, ilaç metabolizması ve direnci, reseptör etkileşimleri, vb.), hücre-hücre etkileşimi (hücre çoğalması, hücre adezyonu, invazyon ve metastaz), toksikoloji (sitotoksikite, karsinogenez, inflamasyon, vb.), genomik

ve doku mühendisliği gibi çeşitli uygulamalara sahiptir (Olabisi ve ark., 2010; Yang ve ark., 2011; Polchow ve ark., 2012; Ayaki ve ark., 2012). Hücre kültüründeki ilerlemeler, antiviral aşuların üretilmesini ve neoplazi yayılımının anlaşılmasında ilerlemeler sağlamıştır. Bu alanlara ek olarak, genetik manipülasyon ve hücre füzyon tekniklerindeki ilerlemeler, hücre kültürü prosedürlerine büyük ölçüde bağımlı olan araştırma alanları olarak gösterilebilir (Harris, 2012). Özetle, kültürlenmiş hücreler biyokimya ve fonksiyonel hücre biyolojisi, ilaç ve ilaçların hücre fizyolojisi üzerindeki etkileri, hücre ölümü ve yaşlanmasını tetikleyen yollar ve süreçler, beslenme çalışmaları ve hastalığa neden olan maddeler ile hücreler arasındaki korelasyonlar üzerinde çalışmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Freshney, 2005; Machana ve ark., 2011; Pintus ve ark., 2012; Fukazawa ve ark., 2012; Acosta ve ark., 2013).

Son yıllarda, deneysel testlerde hayvanları hücre kültürüyle değiştirme fikri, yalnızca hayvan hakları toplulukları tarafından benimsenen insani nedenlerle değil, aynı zamanda doku kültürünün avantajları nedeniyle de dünya çapında araştırmacılar tarafından desteklenmektedir (Balls, 2012; Breheny ve ark., 2011; Costin ve ark., 2011). Hücre kültürünün başlıca faydaları fizikokimyasal ortamın (pH, sıcaklık, ozmotik basınç ve O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> gerginliği) ve fizyolojik koşulların (hormonların ve besin konsantrasyonlarının korunması, hücre hattı homojenliği, tekrarlanabilir analizler, vb.) kontrolüdür (Freshney, 2005). Doku kültürü teknolojisi tıpta ve genel endüstrilerde, özellikle ilaç ve kozmetik alanlarında kullanılmıştır. Kozmetik geliştirmede kamuoyu deney hayvanlarının yaygın kullanımından endişe duymakta ve bu tür faaliyetleri ahlaki bir gerekçelendirme olmadan değerlendirmektedir (Combes ve Balls, 2011). Tıbbi kullanımda, gebeliklerin işlenmesinde amniyotik sıvı hücrelerinin yetiştirilmesiyle kromozomal analiz genetik bozuklukları ortaya çıkarabilir; ayrıca ilaç, kozmetik ve çevre kirleticilerinin toksik etkileri de hücre kültürü analizleriyle doğrulanabilir.

Nanoteknoloji, nanoskaladaki malzemeler kullanılarak hastalıkların önlenmesi ve mücadelesinde yeni bakış açıları oluşturmak için kullanılır. Bu nanomalzemeler küçük boyutları nedeniyle yeni özellikler kazanır ve tıp dahil birçok alanda kullanılabilir. Biyoloji alanında öngörülen uygulamalar arasında ilaç dağıtımı, *in vitro* ve *in vivo* tanı, nutrasötikler ve biyoyumlu malzemelerin üretimi gibi birçok araştırma yer alır (De Jong ve Borm, 2008). Ancak NP'ler, esas olarak *in vitro* deneylerde (örneğin, mitokondriyal hasar, oksidatif stres, makrofaj fagositozunda değişiklikler, trombosit agregasyonu) büyük



partiküllerde görülmeyen yeni tipte etkilere de neden olabilir (Møller ve ark., 2010; Frohlich, 2012; You ve ark., 2012). NP'lerin sitotoksitesi morfoloji, yüzey yükleri ve boyut gibi çeşitli parametrelere bağlıdır. Hidrofobisite ve gözeneklilik gibi bazı özellikler reaktif oksijen türlerinin üretimini indükler ve toksik etkilere katkıda bulunan reseptörler için bağlanma yerlerini belirler (Frohlich, 2012). Bununla birlikte, sitotoksik analizlerde kullanılan hücre tipi ve maruz kalma protokolleri (örneğin hücre yoğunluğu, partikül konsantrasyonu, fetal serum eklenmesini içeren ortam bileşimi) gibi biyolojik yönler de sitotoksisiteye yol açar (De Jong ve Borm, 2008). Yeni bir malzeme biyomedikal uygulama olarak kullanılmadan önce biyoyumluluk ve toksisitenin araştırılması gerekir. NP toksisitesinin taranması için yeterli sistemler oluşturan hücre kültürü modelleri, tehlikeli oldukları kanıtlandığı için bu parçacıkların insanlarda güvenli bir şekilde kullanımı hakkında bir gösterge sağlayabilir. Birkaç NP bazı hücre tiplerinde toksik etkiler gösterir ve bu aktiviter kanser hücrelerinde inhibitör ajanlar olarak kullanılabilir (Gao ve ark., 2012). Kök hücre araştırması biyomedikal alanda baş döndürücü bir şekilde genişlemiştir, ancak terapötik ajan olarak uygulanabilirliği çok daha yavaş ilerlemiştir. Yetişkin veya fetal doku donörlerinin normal hücrelerini kullanma olasılıkları, esas olarak yeni organlar sağlayan pluripotent bir kök hücre olasılığı olmak üzere doku mühendisliğinde perspektifler oluşturmuştur. İnsan klonlama prosedürleri hakkındaki tartışma, kök hücrenin kullanımıyla ilgili etik soruları araştırmayı sınırlayarak beraberinde getirmiştir (Brunt ve ark., 2012). Kök hücre tedavisinin teknik uygulanabilirliği ve bu araştırma alanındaki çeşitli olasılıklar, hasarlı organların yenilenmesinde, diyabet, Parkinson gibi kronik ve nöral hastalıkların tedavisinde büyük beklentiler oluşturmuştur (Jang ve ark., 2012; Clover ve ark., 2012). Hücre kültürünün başlıca sınırlamaları, hücre hatlarının stabilitesi, numune hazırlama ve değerlendirilen analizdir. Kültür prosedürleri, sıkı aseptik koşullar altında gerçekleştirilmelidir ve kültürde hücre elde etmenin maliyeti, hayvan dokusu kullanmaya kıyasla daha üstündür. Bununla birlikte, mikro ölçekli yöntemin avantajı, azaltılmış manipülasyon süreleri, hacimler ve kolayca otomatikleştirilebilmesiyle ilişkili düşük maliyettir (Harris, 2012). Bir popülasyon içinde farklılaşma kapasitesi nedeniyle bir pasajdan diğerine değişkenlik bulunabilir. Bu değişkenleri azaltmak için, hücre hatlarının karakterizasyonunda karotip, hücre yüzeyine özgü antijen, gen ifadesinin analizi ve hücre morfolojisi gibi çeşitli kriterler araştırılır. Hücre morfolojisinin gözlemlenmesi kolaydır ve hücreleri tanımak için kullanılan en doğrudan tekniktir (Freshney, 2005). Bununla birlikte hücre kültüründe bulunan yaygın

bir sorun olan çapraz kontaminasyondan kaçınmak gerekir. 1960'ların sonlarında, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki hücre hatlarının çoğunun HeLa hücreleriyle çapraz kontaminasyona uğradığı gösterilmiştir, bu nedenle bir hücre hattının kimlik doğrulaması, karakterizasyonunu sağlamak ve işlevselliğini belirlemek çok önemlidir (Capes-Davis ve ark., 2010).

## 5. NANOPARTİKÜLLERİN GENOTOKSİSİTESİ

NP'lerin genotoksitesisi kromozomal değişikliklere, DNA ipliklerinin kırılmasına ve mutasyonlara yol açar. Genotoksitesite uygulanan mekanizmaya bağlı olarak doğrudan veya dolaylı olabilir. Doğrudan genotoksitesitede, NP'ler nükleer gözeneklerden geçerek doğrudan hücrelere girer ve interfaz sırasında kromozomlarda bulunan DNA ile etkileşime girer. NP DNA'ya bağlanarak transkripsiyon sürecini kesintiye uğratar (Jin ve ark., 2011). Dolaylı yöntemde, NP'ler DNA ile doğrudan etkileşime girmez, ancak aşağıdaki şekillerde toksitesiteye neden olurlar: (a) mitotik iğ ile etkileşim, (b) nükleer proteinlerle etkileşim, (c) hücre döngüsü kontrol noktalarını bozma, (d) ROS üretimi ve (e) antioksidan aktivitenin inhibisyonu (Magdolenova ve ark., 2014). İnsan epidermal hücreleri titanyum dioksit NP'lerine maruz bırakıldığında, hücreler tarafından kolayca alınır ve 6 saatlik maruziyetten sonra DNA'da önemli bir hasar meydana gelir. NP'lerin konsantrasyonu ile DNA hasarı arasında da doğrudan bir ilişki vardır (Shukla ve ark., 2011). Benzer şekilde, ZnONP'lerin insan vücuduna girişi, insan karaciğer hücreleri HepG2'de oksidatif stresi indükleyerek DNA hasarına neden olur (Sharma ve ark., 2011). İnsan meme kanseri (MCF-7) hücreleri gümüş NP'ye maruz bırakıldığında DNA hasarına neden olduğu gözlemlenmiştir (Alkan ve ark., 2022). Bakır oksit NP'leri, kısa bir süre maruz kaldıklarında A549 insan akciğer hücrelerinde DNA hasarına neden olma potansiyeline sahiptir (Ahamed ve ark., 2010). Gümüş NP'lerinin genotoksitesisi, kuyruklu yıldız testi ve sitokinez blok mikronükleus sitom testi kullanılarak incelenmiştir. Mitoz sırasında kromozomlarda bulunan mikronükleuslar mitotik iğ ile birleşemez. Comet deneyinde DNA hasarının boyutu gösterilmiştir. Kanser hücrelerinde, NP konsantrasyonundaki artışla birlikte DNA hasarında artış meydana gelmiştir. Ancak fibroblast hücrelerinde, hasar belirli bir NP konsantrasyonunun ötesinde önemli olmadığı gösterilmiştir (AshaRani ve ark., 2009). Nikel oksit NP'leri, insan epitel akciğer hücre hatlarında proteinlerin nükleer translokasyonuna neden olmuştur (Capasso ve ark., 2014). Bir çalışmada, metal kobalt NP'leri insan periferik kan kanseri hücre hatları tarafından kolayca alınmıştır ve genotoksik doğasını ortaya çıkaran ciddi DNA parçalanmasına neden olmuştur.

## 6. SİTOTOKSİSİTE TARAMASININ GEREKÇESİ

NP'ler, çok küçük boyutları nedeniyle elektronik, biyoteknoloji, tıp vb. alanlarda kullanılır. NP'ler insan vücuduna çok kolay girebilir ve ciddi hasara neden olabilir. Bu nedenle, NP'lerin güvenliğini test etmek için çeşitli yöntemler önerilmiştir. ABD FDA, NP toksisitesi sorununu ele almış ve bunların insanlar için tamamen zararsız veya güvenli olmadığını ve her ürünün düzenlemeye tabi tutulması gerektiğini yayınlamıştır (Bahadar ve ark., 2016). Fitzgerald ve arkadaşları (2011), *in vitro* kan uyumluluğu çalışmaları da dahil olmak üzere, nanomalzemelerin kardiyovasküler uygulamalarda uygunluğunu incelemek için kullanılacak farklı analizler sunmuştur. NP kaynaklı hemoliz, spektrofotometri ile değerlendirilebilir, trombosit aktivasyonu ve kompleman aktivasyonu tromboelastografi ile değerlendirilebilir. İnsan akciğer hücrelerinde (A549) aerosol NP'lerinin toksisite değerlendirmesi, MTT testi kullanılarak hücre canlılığı, LDH testi ile membran hasarının derecesi ve dinamik ışık saçılması tekniği kullanılarak silikon NP'lerin boyut dağılımının ölçülmesiyle zamansal doz tepkisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Irfan ve ark., 2014).

Ayrıca yeni bir terapötik ilacın keşfi ve geliştirilmesi önemli miktarda finansal destek gerektirir ve on yıldan fazla araştırma çabası gerektirebilir. İlaç geliştirme süreci erken keşiften klinik çalışmalara kadar olmak üzere ikiye ayrılabilir. Yeni farmasötik ilaçlar, para açısından yüksek maliyet nedeniyle etkinlik ve toksisite açısından onaylanmalıdır; evreleri belirleme ve azaltma yeteneği, verimliliği artırarak, araştırma süresini azaltarak ve maliyetleri düşürerek ilaç geliştirme sürecini hızlandırabilir (McKim, 2010). Hücre tabanlı testler, yalnızca sitotoksosite testleri için değil, aynı zamanda terapötik ajan olarak olası kullanımı olabilecek çeşitli maddelerin yüksek verimli taraması için de ilaç endüstrisi için giderek daha önemli hale gelmektedir (Chandler ve ark., 2011). Hücre kültürü modelleri, farmakolojik ve çevresel özelliklerle ilişkili toksikolojik özelliklerin araştırılmasında temel olup, biyolojik ve/veya terapötik ile toksikolojik etkilerin değerlendirilmesinde güçlü bir araçtır (Pernot ve ark., 2011; Fang ve Al-Suwayeh, 2012). Bu şekilde, toksisite değerlendirmesinde *in vitro* modellerin birincil amacı, özellikle insan toksisitesi olmak üzere *in vivo* toksisiteyi tahmin etmek olabilir. *In vitro* tarama, ilaçların farmakokinetiği ve biyoyararlanımı hakkında bilgi edinmek için farklı maddelerin metabolizmasının ve biyokimyasal reaksiyonlarının incelenmesine izin verir (Mahato ve ark., 2011; Fang ve Al-Suwayeh, 2012; Shahbazi ve Santos, 2013).

Biyoyararlanım, kimyasal ve metabolik stabilite ve geçirgenlik hakkındaki çalışmalar, insan toksisitesini tahmin etmeye yardımcı olan gerekli *in vitro* tarama modelleridir (Xin ve ark., 2011). NP'ler içeren farklı formülasyonlar için iyi biyoyararlanım, biyokimyasal (fizikokimyasal ve metabolik) stabilite ve ayrıca kontrollü salım parametreleri hakkında ilginç sonuçlar sunan birkaç çalışma sunulmuştur (Xin ve ark., 2011). Bununla birlikte, *in vitro* tarama modellerinin geliştirilmesi, insan vücudunun toksisitesini tahmin etmek için büyük ilgi görecektir. Toksikite, metabolik bozukluklara kadar hücre ölümü dahil olmak üzere çeşitli etkiler gösteren karmaşık bir olaydır. Nöro-, karaciğer ve/veya böbrek toksisitesi, hücre ölümüyle bağlantılı olmayan işlevsel değişikliklere örnektir. Bu kanıtlar nedeniyle, *in vitro* sitotoksikite analizlerinin hücre biyokimyasındaki farklı parametreleri kullanması gerekir. *In vitro* analizler, kimyasal maddeler tarafından tetiklenen sitotoksik etkiler hakkındaki bilgiyi artırmak ve insanlardaki toksisiteyi tahmin etmek için önemli araçlardır (Roguet ve ark., 1993; Melo ve ark., 2002).

Birçok farmakolojik madde, terapötik tedavilerde kullanımını zorlaştırabilecek biyolojik sistemlerde kararsızlık gösterir. Diğerlerinin normal hücrelerde yan etkileri vardır. Toksikite, ilaç kullanımında sınırlayıcı bir faktördür; bu nedenle, bir bileşiğin terapötik aktivitesine karşı toksisite değerlendirmesi, terapötik bir madde olarak uygulanabilirliğini belirlemek için çok önemlidir. Etik ve finansal sorular, başlangıçtaki toksikolojik çalışmalarda hayvanlar yerine *in vitro* testleri desteklemektedir (Costin ve ark., 2011; Combes ve Balls, 2011; Balls, 2012). *In vitro* hücre kültürü modeli kurulması ve hücre hatlarının geliştirilmesi, farklı zamanlarda aynı hücre popülasyonunun kullanılması mümkün olduğundan testlerin tekrarlanabilirliğini artırmıştır. Hücre kültürü testlerinin araştırmada hızlı sonuçlar, azaltılmış maliyet ve kullanılacak az miktarda madde gibi avantajları vardır (Melo ve ark., 2002). Bunun yanı sıra, bu modeller, çok kademeli *in vitro* tarama modelleri oluşturmak için daha kesin sonuçlar elde etmek amacıyla insanlar da dahil olmak üzere hayvanlardaki toksisiteyi tahmin edebilir (McKim, 2010). Bu modeller tam olarak karakterize edilmeli ve daha az yanlış pozitif/yanlış negatif sonuç insidansı ile *in vivo* etkileri tahmin etmelidir. *In vitro* hücre bazlı toksisite analizleri, yeni potansiyel ilaçların araştırılmasında potansiyel güvenlik kullanımını değerlendirmek ve yapı, toksisite ve biyolojik aktivite arasındaki korelasyonu incelemek için kullanılabilir ve ilaç benzeri özellikleri iyileştirmek

amacıyla yapı kimyasalında veya formülasyonda değişikliklere izin verir (Yang ve ark., 2011).

Önceki çalışmalar, klasik sitotoksosite analizlerinin nanomalzeme toksisitesini araştırmak için yeterli olmayabileceğini, çünkü bunların reaktiflerle etkileşime girerek membran geçirgenliğinde değişikliklere neden olabileceğini ve/veya oksidasyon-redüksiyon süreçlerini değiştirebileceğini göstermiştir, çünkü bu özellikler nötral kırmızı tutulum ve MTT redüksiyon testi kullanılarak hücre canlılığını belirlemek için önemlidir (Kroll ve ark., 2011). Ayrıca, *in vivo* modellerde NP konsantrasyonu doku konsantrasyonlarından çok daha yüksek olduğunda hücreler üzerinde çelişkili etkiler belirlenmiştir. Bundan dolayı, *in vitro* ile *in vivo* çalışmaların karşılaştırmaları çok az korelasyon göstermiştir (L'azou ve ark., 2008; Sayes ve ark., 2009; Warheit ve ark., 2009). Bu nedenle, NP geçirgenlik parametrelerinin belirlenmesi için hücre kokültür modelleri gibi daha uygun *in vitro* yöntemlerin hücre canlılığı analizleriyle birlikte geliştirilmesi nanotoksikoloji alanları için ilgi çekicidir.

## 7. IN VİTRO ANALİZ SİSTEMİ

*In vitro* toksisite analizleri için çeşitli hücre modelleri ve *in vitro* sitotoksosite analizleri mevcuttur. Güvenilir sonuçlar elde etmek için her modelin olumlu ve olumsuz yönlerini anlamak önemlidir (Freshney, 2005).

### 7.1. Primer Kültürler

Primer kültürün tanımı, ilk alt kültürden önce ve izolasyondan sonraki kültür aşamasıdır. Hücreler, kültür şişesine ekilen dokunun diseksiyonu veya parçalanmasıyla elde edilebilir. Dokunun parçalanması, substrata bağlanacak bir süspansiyon üreterek mekanik veya enzimatik olarak işlenebilir; bu, hematopoitik hücreler hariç çoğu transforme olmayan hücre için gerekli görünen bir olaydır (Freshney, 2005; Harris, 2012). Primer hücre kültürleri, birincil dokuya daha çok benzeyen biyokimyasal ve morfolojik teknik özellikleri korur, ancak elde edilen sonuçlar her zaman tekrarlanabilir değildir. Primer kültürün başlıca avantajı, farklı organlardan ve hayvan türlerinden alınan bazı özel hücrelerin karşılaştırmalı çalışmalarında kullanılmasıdır.

Önceki çalışmalar, nanomalzemelerle tedaviden sonra sitotoksik tepkilerin bireysel hücre hatlarında farklılık gösterdiğini ve ölümsüzleştirilmiş hücrelerin genellikle primer hücrelerden daha hassas olduğunu göstermiştir

(Kroll ve ark., 2011). Primer hücre kültürü, Alzheimer hastalığında mikrogial biyolojiyi araştırmak için kullanılabilir, çünkü birincil mikrogia kültürleri, fenotipteki benzerlikler nedeniyle nöro-inflamatuar çalışmalarda çok baskındır. Karaciğer enzimlerinin inhibisyonu veya indüksiyonu ile yan veya olumsuz etkileşimlere dahil olma potansiyeli olan bileşikler primer kültürlerde araştırılabilir (LeCluyse ve ark., 2012). Kim ve arkadaşları (2010) primer kültürlü sıçan alveolar epitel hücrelerini çinko oksit NP'lerine maruz bırakarak alveolar epitel hasarını araştırmıştır ve bu hücrelerde ciddi hasar gözlemlenmiştir. Sitotoksik etkiler doza ve zamana bağlı olarak mitokondriyal disfonksiyona ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olmuştur.

## 7.2. Hücre Hatları

Primer kültürde bir geçiş olduğunda veya alt kültür yapıldığında, hücre hattı olarak adlandırılır. Seçimden sonra, klonlama, fiziksel ayırma veya başka bir teknikle, kültürde belirli özellikler gösteren hücre hattı olarak bilinir. Bir hücre hattı seçerken analiz edilecek birkaç parametre vardır: sonlu veya sürekli, normal veya transforme olmuş, tür, büyüme özellikleri, bulunabilirlik, doğrulama, fenotip ifadesi ve kararlılık (Freshney, 2005). Önemli sayıda literatür, çeşitli hücre hatlarında farklı nanomalzemeler tarafından indüklenen sitotoksikite ile ilgili bazı içgörüler sunar. Lanone ve arkadaşları (2009) tarafından aynı deneysel protokolda karşılaştırmalı olarak yirmi dört NP incelemiştir. İnsan alveolar epitel ve makrofaj hücre hatlarında (A549 ve THP-1) MTT indirgeme ve nötr kırmızı alım deneyleriyle test edilen bazı NP'lerin toksik etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Bu iki hücre hattı, inhalasyondan sonra NP'lerin *in vivo*'daki ana hedefleri oldukları için seçilmiştir. Bu deneysel modelde, bakır ve çinko bazlı NP'ler en toksik etkiyi gösterirken tungsten karbür için hiçbir toksisite gözlemlenmemiştir.

Sayes ve arkadaşları (2007) ve Lanone ve arkadaşları (2009) tarafından yürütülen çalışmalarda farklı NP'lerle tedavi edilen sıçan akciğer epitel (L2 hücre hattı) ve primer alveolar makrofajların, canlılık testleri ve inflammatuar yanıtla değerlendirilen farklı sitotoksikite gösterdiği bildirilmiştir. Kroll ve arkadaşları (2011), on farklı standart hücre hattında 23 farklı tasarlanmış NP'yi değerlendirmiştir. Altı hücre hattı hayvansal kökenli seçilmiştir: akciğer epitel hücreleri (RLE-6TN), fibroblastlar (NIH-3T3), makrofajlar (RAW264.7) ve ikincil hedef organ olarak temsili olan böbrek kökenli üç farklı epitel hücre hattı (MDCK, MDCK II, NRK52E). Standart hücre hatlarından dördü insan kökenli seçilmiştir ve NP'ler solunum yoluyla (akciğer: A549, CaLu3), dermal

maruziyete (cilt: HaCaT) veya yutmaya (kolon: CaCo2) maruz kaldıktan hemen sonra etkilenen organlardan türetilmiştir. Sonuçlara göre NP tedavisine karşı duyarlılığın sadece hücre tipi özgü olmadığını, aynı zamanda kullanılan partikül tipinin yanı sıra analiz edilen sitotoksik son nokta ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir. Dahası, inflamatuvar yanıt veya genotoksisite gibi diğer biyobelirteçler, ilgi duyulan patolojik yollara bağlı olarak değerlendirilebilir. Pujalte' ve arkadaşları (2011), farklı NP'lerin insan böbrek hücreleri üzerinde tetiklediği sitotoksisite ve oksidatif stresi araştırmıştır: IP15 (glomerüler mezanjiyal) ve HK-2 (epitelyal proksimal) hücre hatları. Ölçülen sitotoksik etkiler, analiz edilen NP'lerin fizikokimyasal parametreleri ve kullanılan hücre tipi ile ilişkilendirilmiştir (Liang ve ark., 2008). Bu nedenle araştırmacılar, ZnO ve CdS NP'lerinin metal bileşimi, partikül boyutu ve metal çözünürlüğü ile ilgili toksik etkilere neden olduğunu göstermiştir. Reaktif oksijen türlerinin üretimi, nefrotoksik tepkileri tetikleyen oksidatif strese neden olmuştur.

## 8. NANOPARTİKÜLLER ÜZERİNDE SİTOTOKSİK ÇALIŞMALAR İÇİN AYIRT EDİCİ METODOLOJİLER

ATP içeriği, enzim salınımı veya aktiviteleri (sırasıyla laktat dehidrogenaz ve fosfataz), hücre morfolojisi, kaplama verimliliği, tripan mavisi testi kullanılarak canlı hücre sayımı, boya alımı, protein ve asit nükleik içeriği vb. yoluyla hücre canlılığını araştıran *in vitro* sitotoksisiteyi değerlendirmek için çok sayıda analiz geliştirilmiştir. Bu çalışmaların amacı, *in vitro* sitotoksisite sonuçlarını kullanarak *in vivo* akut toksisite testi için optimum başlangıç dozlarını tahmin etmek veya geniş ölçekte istenen ilaç özelliklerini araştırarak ilaç geliştirme sürecini iyileştirmek yoluyla hayvan kullanımını azaltmaktır (Spielmann ve ark., 1999).

Sitotoksisite, hücre çoğalması, hayatta kalma ve normal biyokimyasal/fizyoloji gibi hücre bakımı için önemli olan yapı ve/veya süreçlerle reaksiyonlardan kaynaklanan olumsuz etkiler olarak tanımlanabilir. Bu olumsuz etkiler, hücre metabolizmasında; hücresel bileşenlerin sentezinde, bozunmasında veya salınmasında; zarın bütünlüğünde; ve/veya sitoskeletoonda, hücre ölümünde olduğu kadar çok sayıda değişiklik içerebilir. Genellikle, toksisite için bazı temel mekanizmalar araştırılmıştır. Bunlara bazal, seçici ve hücreye özgü işlev toksisiteleri dahildir. Bazal veya genel sitotoksisite, organel işlevlerinde veya zar bütünlüğünde değişiklikler gibi tüm hücre türlerine özgü süreçlerde veya yapılar da değişiklikler anlamına gelir. Seçici sitotoksisite, farklı metabolik reaksiyonlar (örneğin, hepatositlerde) ve reseptörler

(nöronlarda) gibi hücre özgüllüklerinin varlığına bağlıdır. Bu özellikler, farklı *in vitro* yöntemlere duyarlılık açısından sitotoksik yanıtı etkileyebilir.

Hücreye özgü işlev sitotoksitesisi hücreleri doğrudan etkilemeyebilir, ancak bazı toksik maddeler organizmanın bir bütün olarak etkileşime girebilir, örneğin, toksisite hormonlar ve nörotransmitterler tarafından indüklenen hücre sinyalleme değişikliklerinden kaynaklanabilir. *İn vitro* sitotoksisite testleri, geçen yüzyılın ortalarından bu yana dünya çapındaki araştırmacılar tarafından standartlaştırılmış ve kullanılmıştır. Bununla birlikte, *in vitro* analizler *in vivo* toksisiteyi tahmin etmede tamamen güvenilir değildir. *İn vitro* analizlerde tam olarak ele alınmayan bazı faktörler, spesifik proteinlere bağlanma, metabolik reaksiyonlar, metabolit üretimi ve metabolik stabiliteyi içerir (Sittampalam ve ark., 2007).

### 8.1. Hücre Canlılığı

Hücrelerin bir kimyasal toksinle temasından sonra ilk ve en kolay gözlemlenen etki, hücre morfolojisindeki değişikliklerin gözlemlenmesidir. Bu nedenle, morfolojik değişiklikler bir toksisite biyobelirteci olarak faydalıdır. Hücre morfolojisindeki kaba değişiklikler, zarda kabarcık oluşumu, hücre hacminde kayıp veya artış, vakuolizasyon, sitoplazmik ve/veya mitokondriyal şişme ve plazmatik zar yırtılmasını içerebilir (Freshney, 2005; Harris, 2012). Hücresel büyümedeki değişiklikler de toksik bir etki olarak belirlenebilir. Kimyasal toksisiteler, hücrelerin bir maddenin varlığında kültürden 15 gün sonra koloniler oluşturma yeteneğini değerlendiren ve hücrenin hayatta kalma ve üreme yeteneğini işaret eden kaplama verimliliği adı verilen bir deneyle değerlendirilebilir. Hücrelerin çoğalma yeteneğini değerlendiren ve hücrelerin %50'sinin çoğalmadığı madde konsantrasyonunu belirleyen başka bir deney, medyan inhibitör dozları (ID<sub>50</sub>) olarak adlandırılır. Canlılık testleri, zar geçirgenliğindeki değişiklikler veya hücre sağkalımı veya hücre çoğalmasıyla bağlantılı belirli metabolik yollardaki değişiklikler gibi ani veya kısa vadeli bir yanıttan sonra canlı hücrelerin yüzdesini ölçmek için kullanılır. Nötr kırmızı alımı adlı canlılık testi, toplam hücre sayısını değil, boyayı alabilen ve lizozomlarda hapsedebilen canlı hücreleri ölçer. Bu nedenle, canlı hücre kaybıyla ilişkili emilimde bir azalma gösterir. Canlı hücrelerin lizozomlardaki supravital nötr kırmızı boyayı bünyesine katma ve bağlama yeteneğine dayanır. Parçacıklar lizozomotropik maddeler olarak bilinir ve bu tür ajanlar lizozomal işlev bozukluğuna neden olabilir. Hücreler tarafından nötr kırmızı alımındaki değişikliklerin değerlendirilmesi gerekir çünkü lizozomal bozukluklar akciğer,



karaciğer ve böbrek toksisiteleriyle ilişkilidir (De Duve ve ark., 1974; Schneider ve ark., 1997; Stern ve ark., 2012). Lizozom membran geçirgenliği, nano ölçekli cam yünü ve altın NP'leriyle muamele edilen midyelerde tespit edilmiştir. Hemolenfteki nötr kırmızı tutulumunu incelemek için yapılan deneyde, lizozomlardan sitozole boya kaybı gözlemlenmiştir (Tedesco ve ark., 2010). Titanyum dioksit NP'leriyle muamele edilen RTG-2 hücrelerinde (gökkuşaklı alabalığı gonadal dokusu) aynı sonuçlar gözlemlenmiştir (Vevers ve Jha, 2008). Başka bir hücre canlılığı deneyi, canlı hücreler tarafından sarı suda çözünür tetrazolyum tuzunun sulu mor çözünmeyen bir ürüne indirgenmesine dayanan MTT indirgemesidir.

## 8.2. Hücre Ölümü

Hücre ölümü önemli bir hücresel mekanizmadır ve apoptozis, nekroz ve otofaji dahil olmak üzere çeşitli türlere ayrılır. Her ölüm yolu ile belirli morfolojik özellikler ve biyokimyasal karakteristikler belirlenebilir (Zhivotovsky, 2004). Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü, çok hücreli organizmalarda birçok fizyolojik ve patolojik süreçte meydana gelen genetik olarak kontrol edilen ve evrimsel olarak korunan bir hücre ölümü biçimidir. Apoptozis yoluyla hücre ölümü, sırasıyla reseptör aracılı veya mitokondri aracılı içsel veya dışsal yollarla tetiklenebilir. Apoptoziste meydana gelen morfolojik olaylar iyi organize edilmiştir ve sırayla tetiklenir. Benzersiz olaylar arasında, internükleozomal parçalardaki kromatinin parçalanması, hücre hacminde azalma ve plazma membranında kabarcık oluşumu yer alır. Daha sonra, plazma membranında fosfatidilserinin dışsallaştırılması nedeniyle tanınan ve komşu hücreler veya makrofajlar tarafından yutulan apoptotik cisimler adı verilen zarla çevrili parçalara ayrılır. Morfolojik değişikliklere ek olarak, apoptozis ayrıca endonükleaz aktivasyonu ve kaspaz enzim ailesinin aktivasyonu ile indüklenen DNA parçalanmasıyla da karakterize edilir. Kaspazlar, birkaç yüz proteinin parçalanmasını sağlayan ve ayrıca DNase'ı aktive ederek nükleozomlarda karakteristik bir merdiven halinde kromatin bozunmasını indükleyen aspartat-spesifik sisteinil proteazlardır. Yapı ve işleve göre, kaspazlar iki gruba ayrılabilir: kaspaz-8 veya-9 gibi başlatıcılar ve kaspaz 3,-6 ve-7 gibi efektör kaspazlar (Wlodkowick ve ark., 2011). Galluzzi ve arkadaşları (2012) *in vitro* ve *in vivo* durumlara uygulanan ve ölçülebilir biyokimyasal belirteçlerle tanımlanan hücre ölümü alt rutinlerini önermiştir.

Birkaç *in vitro* deney, NP'le tedavi edilen hücrelerde toksisitenin ilk faktörü olarak reaktif oksijen türlerinin oluşumunun arttığını göstermiştir.

Hücrelerin TiO<sub>2</sub> NP'lerine maruz kalması lipid peroksidasyonuna, DNA hasarına, mikronükleus oluşumunu tetikleyen kaspaz aktivasyonuna, kromatin yoğunlaşmasına ve apoptoz yoluyla hücre ölümüne yol açar (Park ve ark., 2008; Yang ve ark., 2011). Öte yandan nekroz, sitoplazmanın ve organellerin geri döndürülemez şişmesi nedeniyle membran bütünlüğünün kaybıyla karakterizedir. Nekroz yoluyla hücre ölümü genellikle hücrelerde şiddetli bir hasara neden olarak hücre lizisine ve komşu hücrelerin hücre ölümünü tetikleyen inflamatuvar bir yanıtı teşvik eden zararlı hücrenel bileşenlerin salınmasına bağlı olarak meydana gelir. Birkaç başka hücre ölümü biçimi bilinmektedir; Bunlardan biri, apoptozdan önce evrimleştiği düşünülen otofajik hücre ölümüdür. Otofajik hücre ölümü terimi, hücrenel organel, proteinler ve patojenler gibi yüklerin otofagozom adı verilen çift zarlı yapılara hapsedilmesini içeren hücrenel kendi kendini sindirimi gösteren büyük bir sitoplazmik vakuolizasyonla birlikte görülen hücre ölümünü belirtmek için kullanılmıştır. Otofaji sürecinin erken adımlarının bir biyobelirteci olan mikrotübül ilişkili protein 1 hafif zincir 3 (LC3), süreç sırasında parçalanarak 18 kDa proteinden (LC3-I) zarla bağlı 16 kDa protein (LC3-II) oluşturur. LC3-II ile LC3-I arasındaki oran, otofaji aktivitesini veya otofaji akışındaki artışı karakterize eder (Mizushima, 2004; Tsai ve ark., 2012). Literatür verileri, hücre içi NP'lerin otofajik sekestrasyona maruz kalabileceğini ve otofaji disfonksiyonunun NP toksisitesinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Stern ve ark., 2012). Ayrıca birkaç NP'ün otofaji yolunda değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir ve bu, toksisite mekanizmalarında rol oynayabilir (Stern ve Johnson, 2008).

Apoptoz ve otofaji, hücre ölümünü ve sağ kalımını düzenlemede kritik işlevler gören hücre ölümü biçimleridir; bu nedenle, önemli proteinler ve enzimler tarafından güçlü bir şekilde düzenlenirler. Apoptoz olarak otofaji, hem pro- hem de anti-sağ kalım araçlarına sahiptir ve bu, hücrenin apoptoz yoluyla boyanma yeteneğine bağlıdır. Bu şekilde, kusurlu apoptoz ve otofajiye sahip hücreler, hücrenel ölüm için bir strateji veya nekroz gibi diğer ölüm biçimlerini tetiklemek için bir mekanizma olarak hizmet edebilir (Frohlich, 2012).

## SONUÇ

NP'ler kullanılarak üretilen ürünler elektronik, sağlık, kimyasallar, kozmetikler ve enerji gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. NP'lerin avantajlarının yanı sıra, sağlığa yönelik toksisitesi nedeniyle sınırlamaları da bulunmaktadır. Bir ürün toksik NP'ler içeriyorsa, yaşam döngüsünün tüm

aşamalarında sağlık ve güvenlik riskleri yaratabilmektedir. Hücredeki NP'lerin biyo- veya toksik etkileri sadece NP miktarına değil aynı zamanda bu partiküllerin boyutuna, morfolojisine ve yüzey alanına da bağlıdır. Nano-biyo arayüzü, nanoyapılı malzemeler ile biyolojik sistemler arasındaki arayüzü, başlangıçta proteinlerle, sonra membran lipitleriyle ve son olarak hücreyle araştırılmaktadır. Nanotoksikoloji, nanomalzemelerin toksik aktivitelerle ilgili biyoetkilerini incelemektedir. Değerlendirme, organizmaların organizasyonunun çeşitli seviyelerinde NP'lerin biyolojik aktivitesini ve toksik potansiyellerini değerlendirmek için *in vitro* ve *in vivo* modeller kullanılarak gerçekleştirilir. Ayrıca, yeni nesil nanomedikallerin zamanla güvenli bir şekilde pazara girmesini sağlamak da gereklidir.

## KAYNAKLAR

- Acosta, S. A., Tajiri, N., Shinozuka, K., Ishikawa, H., Grimmig, B., Diamond, D., ... & Borlongan, C. V. (2013). Long-term upregulation of inflammation and suppression of cell proliferation in the brain of adult rats exposed to traumatic brain injury using the controlled cortical impact model. *PLoS one*, 8(1), e53376.
- Ahamed, M., Siddiqui, M. A., Akhtar, M. J., Ahmad, I., Pant, A. B., & Alhadlaq, H. A. (2010). Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in human lung epithelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 396(2), 578-583.
- Alkan, H., Çiğerci, İ. H., Ali, M. M., Hazman, O., Liman, R., Colă, F., & Bonciu, E. (2022). Cytotoxic and genotoxic evaluation of biosynthesized silver nanoparticles using *Moringa oleifera* on MCF-7 and HUVEC cell lines. *Plants*, 11(10), 1293.
- Alkilany, A. M., Lohse, S. E., & Murphy, C. J. (2013). The gold standard: gold nanoparticle libraries to understand the nano–bio interface. *Accounts of chemical research*, 46(3), 650-661.
- Anirudh, K. V. S., Bottu, M. V., & Sarvamangala, D. (2018). Production of TiO<sub>2</sub> nanoparticles by green and chemical synthesis—a short review. *Int J Sci Eng Res*, 9(11), 1633-1648.
- AshaRani, P. V., Low Kah Mun, G., Hande, M. P., & Valiyaveetil, S. (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS nano*, 3(2), 279-290.
- Ayaki, M., Iwasawa, A., & Niwano, Y. (2012). Cell viability score as an integrated indicator for cytotoxicity of benzalkonium chloride-containing antiglaucoma eyedrops. *Biocontrol science*, 17(3), 121-128.
- Bahadar, H., Maqbool, F., Niaz, K., & Abdollahi, M. (2016). Toxicity of nanoparticles and an overview of current experimental models. *Iranian biomedical journal*, 20(1), 1.
- Balls, M. (2012). The conflict over animal experimentation: is the field of battle changing?. *Alternatives to Laboratory Animals*, 40(4), 189-191.
- Breheny, D., Oke, O., & Faux, S. P. (2011). The use of in vitro systems to assess cancer mechanisms and the carcinogenic potential of chemicals. *Alternatives to Laboratory Animals*, 39(3), 233-255.
- Brunt, K. R., Weisel, R. D., & Li, R. K. (2012). Stem cells and regenerative medicine—future perspectives. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 90(3), 327-335.

- Capasso, L., Camatini, M., & Gualtieri, M. (2014). Nickel oxide nanoparticles induce inflammation and genotoxic effect in lung epithelial cells. *Toxicology letters*, 226(1), 28-34.
- Capes-Davis, A., Theodosopoulos, G., Atkin, I., Drexler, H. G., Kohara, A., MacLeod, R. A., ... & Freshney, R. I. (2010). Check your cultures! A list of cross-contaminated or misidentified cell lines. *International journal of cancer*, 127(1), 1-8.
- Chandler, K. J., Barrier, M., Jeffay, S., Nichols, H. P., Kleinstreuer, N. C., Singh, A. V., ... & Knudsen, T. B. (2011). Evaluation of 309 environmental chemicals using a mouse embryonic stem cell adherent cell differentiation and cytotoxicity assay. *PLoS One*, 6(6), e18540.
- Clover, A. J., Lane O'Neill, B., & Kumar, A. H. (2012). Analysis of attitudes toward the source of progenitor cells in tissue-engineered products for use in burns compared with other disease states. *Wound repair and regeneration*, 20(3), 311-316.
- Combes, R. D., & Balls, M. (2011). Integrated testing strategies for toxicity employing new and existing technologies. *Alternatives to Laboratory Animals*, 39(3), 213-225.
- Costin, G. E., Raabe, H. A., Priston, R., Evans, E., & Curren, R. D. (2011). Vaginal irritation models: the current status of available alternative and in vitro tests. *Alternatives to Laboratory Animals*, 39(4), 317-337.
- De Duve, C., De Barsey, T., Poole, B., Trouet, A., Tulkens, P., & Van Hoof, F. (1974). Commentary: lysosomotropic drugs. *Biochem. Pharmacol*, 23, 2495-2531.
- De Jong, W. H., & Borm, P. J. (2008). Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *International journal of nanomedicine*, 3(2), 133-149.
- Dobrovolskaia, M. A., & McNeil, S. E. (2007). Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature nanotechnology*, 2(8), 469-478.
- Docter, D., Westmeier, D., Markiewicz, M., Stolte, S., Knauer, S. K., & Stauber, R. H. (2015). The nanoparticle biomolecule corona: lessons learned—challenge accepted?. *Chemical Society Reviews*, 44(17), 6094-6121.
- Fang, J. Y., & Al-Suwayeh, S. A. (2012). Nanoparticles as delivery carriers for anticancer prodrugs. *Expert opinion on drug delivery*, 9(6), 657-669.
- Fitzgerald, K. T., Holladay, C. A., McCarthy, C., Power, K. A., Pandit, A., & Gallagher, W. M. (2011). Standardization of models and methods used to assess nanoparticles in cardiovascular applications. *Small*, 7(6), 705-717.

- Freshney, R.I. (2005). Culture of animal cells: a manual of basic technique. Wiley, Hoboken, NJ, 649.
- Frohlich, E. (2012). The role of surface charge in cellular uptake and cytotoxicity of medical nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 5577-5591.
- Fukazawa, H., Suzuki, T., Wakita, T., & Murakami, Y. (2012). A cell-based, microplate colorimetric screen identifies 7, 8-benzoflavone and green tea gallate catechins as inhibitors of the hepatitis C virus. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 35(8), 1320-1327.
- Galluzzi, L., Vitale, I., Abrams, J. M., Alnemri, E. S., Baehrecke, E. H., Blagosklonny, M. V., ... & Kroemer, G. (2012). Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death & Differentiation*, 19(1), 107-120.
- Gao, W., Lai, J. C., & Leung, S. W. (2012). Functional enhancement of chitosan and nanoparticles in cell culture, tissue engineering, and pharmaceutical applications. *Frontiers in physiology*, 3, 321.
- Ghosh Chaudhuri, R., & Paria, S. (2012). Core/shell nanoparticles: classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. *Chemical reviews*, 112(4), 2373-2433.
- Gilbert, B., Huang, F., Zhang, H., Waychunas, G. A., & Banfield, J. F. (2004). Nanoparticles: strained and stiff. *Science*, 305(5684), 651-654.
- Han, X., Corson, N., Wade-Mercer, P., Gelein, R., Jiang, J., Sahu, M., ... & Oberdörster, G. (2012). Assessing the relevance of in vitro studies in nanotoxicology by examining correlations between in vitro and in vivo data. *Toxicology*, 297(1-3), 1-9.
- Harris, C. (2012). Overview of in vitro models in developmental toxicology. *Developmental Toxicology: Methods and Protocols*, 105-113.
- Irfan, A., Cauchi, M., Edmands, W., Gooderham, N. J., Njuguna, J., & Zhu, H. (2014). Assessment of temporal dose-toxicity relationship of fumed silica nanoparticle in human lung A549 cells by conventional cytotoxicity and <sup>1</sup>H-NMR-based extracellular metabolomic assays. *Toxicological sciences*, 138(2), 354-364.
- Jang, J., Yoo, J. E., Lee, J. A., Lee, D. R., Kim, J. Y., Huh, Y. J., ... & Kim, D. W. (2012). Disease-specific induced pluripotent stem cells: a platform for human disease modeling and drug discovery. *Experimental & molecular medicine*, 44(3), 202-213.

- Jin, P., Chen, Y., Zhang, S. B., & Chen, Z. (2012). Interactions between Al<sub>12</sub>X (X= Al, C, N and P) nanoparticles and DNA nucleobases/base pairs: implications for nanotoxicity. *Journal of molecular modeling*, 18, 559-568.
- Kim, Y. H., Fazlollahi, F., Kennedy, I. M., Yacobi, N. R., Hamm-Alvarez, S. F., Borok, Z., ... & Crandall, E. D. (2010). Alveolar epithelial cell injury due to zinc oxide nanoparticle exposure. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 182(11), 1398-1409.
- Kroll, A., Dierker, C., Rommel, C., Hahn, D., Wohlleben, W., Schulze-Isfort, C., ... & Schnekenburger, J. (2011). Cytotoxicity screening of 23 engineered nanomaterials using a test matrix of ten cell lines and three different assays. *Particle and fibre toxicology*, 8, 1-19.
- Lanone, S., Rogerieux, F., Geys, J., Dupont, A., Maillot-Marechal, E., Boczkowski, J., ... & Hoet, P. (2009). Comparative toxicity of 24 manufactured nanoparticles in human alveolar epithelial and macrophage cell lines. *Particle and fibre toxicology*, 6, 1-12.
- L'azou, B., Jorly, J., On, D., Sellier, E., Moisan, F., Fleury-Feith, J., ... & Ohayon-Courtès, C. (2008). In vitro effects of nanoparticles on renal cells. *Particle and fibre toxicology*, 5, 1-14.
- LeCluyse, E. L., Witek, R. P., Andersen, M. E., & Powers, M. J. (2012). Organotypic liver culture models: meeting current challenges in toxicity testing. *Critical reviews in toxicology*, 42(6), 501-548.
- Liang, X. J., Chen, C., Zhao, Y., Jia, L., & Wang, P. C. (2008). Biopharmaceutics and therapeutic potential of engineered nanomaterials. *Current drug metabolism*, 9(8), 697-709.
- Liu, W. T. (2006). Nanoparticles and their biological and environmental applications. *Journal of bioscience and bioengineering*, 102(1), 1-7.
- Loos, C., Syrovets, T., Musyanovych, A., Mailänder, V., Landfester, K., Nienhaus, G. U., & Simmet, T. (2014). Functionalized polystyrene nanoparticles as a platform for studying bio-nano interactions. *Beilstein journal of nanotechnology*, 5(1), 2403-2412.
- Machana, S., Weerapreeyakul, N., Barusrux, S., Nonpunya, A., Sripanidkulchai, B., & Thitimetharoch, T. (2011). Cytotoxic and apoptotic effects of six herbal plants against the human hepatocarcinoma (HepG2) cell line. *Chinese medicine*, 6, 1-8.
- Magdolenova, Z., Collins, A., Kumar, A., Dhawan, A., Stone, V., & Dusinska, M. (2014). Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in

- vivo studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8(3), 233-278.
- Mahato, R., Tai, W., & Cheng, K. (2011). Prodrugs for improving tumor targetability and efficiency. *Advanced drug delivery reviews*, 63(8), 659-670.
- Makadia, H. K., & Siegel, S. J. (2011). Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers*, 3(3), 1377-1397.
- Mayur, P., & Harris, A. (2011). Comparison of antidepressant effects between brief and ultrabrief pulse unilateral electroconvulsive therapy: brief report of a randomized double-blind trial. *The Journal of ECT*, 27(4), e59-e60.
- McCarthy, J., Inkielewicz-Stepniak, I., Corbalan, J. J., & Radomski, M. W. (2012). Mechanisms of toxicity of amorphous silica nanoparticles on human lung submucosal cells in vitro: protective effects of fisetin. *Chemical research in toxicology*, 25(10), 2227-2235.
- McKim, J., & James, M. (2010). Building a tiered approach to in vitro predictive toxicity screening: a focus on assays with in vivo relevance. *Combinatorial chemistry & high throughput screening*, 13(2), 188-206.
- McShan, D., Ray, P. C., & Yu, H. (2014). Molecular toxicity mechanism of nanosilver. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 116-127.
- Melo, P. S., Durán, N., & Haun, M. (2002). Derivatives of dehydrocrotonin, a diterpene lactone isolated from *Croton cajucara*: cytotoxicity in rat cultured hepatocytes and in V79 cells. *Human & experimental toxicology*, 21(5), 281-288.
- Min, Y., Akbulut, M., Kristiansen, K., Golan, Y., & Israelachvili, J. (2008). The role of interparticle and external forces in nanoparticle assembly. *Nature materials*, 7(7), 527-538.
- Mizushima, N. (2004). Methods for monitoring autophagy. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 36(12), 2491-2502.
- Møller, P., Jacobsen, N. R., Folkmann, J. K., Danielsen, P. H., Mikkelsen, L., Hemmingsen, J. G., ... & Loft, S. (2010). Role of oxidative damage in toxicity of particulates. *Free radical research*, 44(1), 1-46.
- Monopoli, M. P. (2012). C. berg, A. Salvati, KA Dawson. *Nat. Nanotechnol*, 7, 779-786.
- Monopoli, M. P., Bombelli, F. B., & Dawson, K. A. (2011). Nanoparticle coronas take shape. *Nature nanotechnology*, 6(1), 11-12.



- Oberdorster, E. (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environmental health perspectives*, 112(10), 1058-1062.
- Olabisi, R. M., Lazard, Z. W., Franco, C. L., Hall, M. A., Kwon, S. K., Sevick-Muraca, E. M., ... & West, J. L. (2010). Hydrogel microsphere encapsulation of a cell-based gene therapy system increases cell survival of injected cells, transgene expression, and bone volume in a model of heterotopic ossification. *Tissue Engineering Part A*, 16(12), 3727-3736.
- Park, E. J., Yi, J., Chung, K. H., Ryu, D. Y., Choi, J., & Park, K. (2008). Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology letters*, 180(3), 222-229.
- Pernot, M., Vanderesse, R., Frochot, C., Guillemin, F., & Barberi-Heyob, M. (2011). Stability of peptides and therapeutic success in cancer. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 7(7), 793-802.
- Pintus, F., Floris, G., & Rufini, A. (2012). Nutrient availability links mitochondria, apoptosis, and obesity. *Aging (Albany NY)*, 4(11), 734.
- Polchow, B., Keibel, K., Schmiedeknecht, G., Reichardt, A., Henrich, W., Hetzer, R., & Lueders, C. (2012). Cryopreservation of human vascular umbilical cord cells under good manufacturing practice conditions for future cell banks. *Journal of translational medicine*, 10, 1-17.
- Pujalté, I., Passagne, I., Brouillaud, B., Tréguer, M., Durand, E., Ohayon-Courtès, C., & L'Azou, B. (2011). Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Particle and fibre toxicology*, 8, 1-16.
- Rauscher, H., Sokull-Klüttgen, B., & Stamm, H. (2013). The European Commission's recommendation on the definition of nanomaterial makes an impact. *Nanotoxicology*, 7(7), 1195-1197.
- Roguet, R., Cotovio, J., Gaetani, Q., Dossou, K. G., & Rougier, A. (1993). Cytotoxicity of 28 MEIC chemicals to rat hepatocytes using two viability endpoints: correlation with acute toxicity data in rat and man. *Alternatives to Laboratory Animals*, 21(2), 216-224.
- Russell, K. (1969). Tissue culture, a brief historical review. *Clio Med*, 4, 109-119.
- Sayes, C. M., Reed, K. L., & Warheit, D. B. (2007). Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles. *Toxicological sciences*, 97(1), 163-180.

- Sayes, C. M., Reed, K. L., Subramoney, S., Abrams, L., & Warheit, D. B. (2009). Can in vitro assays substitute for in vivo studies in assessing the pulmonary hazards of fine and nanoscale materials?. *Journal of Nanoparticle Research*, 11, 421-431.
- Schneider, P., Korolenko, T. A., & Busch, U. (1997). A review of drug-induced lysosomal disorders of the liver in man and laboratory animals. *Microscopy research and technique*, 36(4), 253-275.
- Schubert, D., Dargusch, R., Raitano, J., & Chan, S. W. (2006). Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective. *Biochemical and biophysical research communications*, 342(1), 86-91.
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S. K., & Poinern, G. E. J. (2015). Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8(11), 7278-7308.
- Shahbazi, M. A., & A Santos, H. (2013). Improving oral absorption via drug-loaded nanocarriers: absorption mechanisms, intestinal models and rational fabrication. *Current drug metabolism*, 14(1), 28-56.
- Sharma, V., Anderson, D., & Dhawan, A. (2011). Zinc oxide nanoparticles induce oxidative stress and genotoxicity in human liver cells (HepG2). *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 7(1), 98-99.
- Shathviha, P. C., Ezhilarasan, D., Rajeshkumar, S., & Selvaraj, J. (2021).  $\beta$ -sitosterol mediated silver nanoparticles induce cytotoxicity in human colon cancer HT-29 cells. *Avicenna journal of medical biotechnology*, 13(1), 42.
- Shi, Z., Huang, X., Cai, Y., Tang, R., & Yang, D. (2009). Size effect of hydroxyapatite nanoparticles on proliferation and apoptosis of osteoblast-like cells. *Acta biomaterialia*, 5(1), 338-345.
- Shukla, R. K., Sharma, V., Pandey, A. K., Singh, S., Sultana, S., & Dhawan, A. (2011). ROS-mediated genotoxicity induced by titanium dioxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicology in vitro*, 25(1), 231-241.
- Sittampalam, G. S., Gal-Edd, N., Arkin, M. (eds) (2007). Assay guidance manual. *Eli Lilly & Company*, Bethesda, MD.
- Spielmann, H., Genschow, E., Liebsch, M., & Halle, W. (1999). Determination of the starting dose for acute oral toxicity (LD50) testing in the up and down procedure (UDP) from cytotoxicity data. *Alternatives to Laboratory Animals*, 27(6), 957-966.

- Sriram, M. I., Kanth, S. B. M., Kalishwaralal, K., & Gurunathan, S. (2010). Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model. *International journal of nanomedicine*, 753-762.
- Stern, S. T., & Johnson, D. N. (2008). Role for nanomaterial-autophagy interaction in neurodegenerative disease. *Autophagy*, 4(8), 1097-1100.
- Stern, S. T., Adisheshaiah, P. P., & Crist, R. M. (2012). Autophagy and lysosomal dysfunction as emerging mechanisms of nanomaterial toxicity. *Particle and fibre toxicology*, 9, 1-17.
- Tedesco, S., Doyle, H., Blasco, J., Redmond, G., & Sheehan, D. (2010). Oxidative stress and toxicity of gold nanoparticles in *Mytilus edulis*. *Aquatic toxicology*, 100(2), 178-186.
- Tenzer, S., Docter, D., Kuharev, J., Musyanovych, A., Fetz, V., Hecht, R., ... & Stauber, R. H. (2020). Rapid formation of plasma protein corona critically affects nanoparticle pathophysiology. In *Nano-enabled medical applications* (pp. 251-278). Jenny Stanford Publishing.
- Tsai, T. L., Hou, C. C., Wang, H. C., Yang, Z. S., Yeh, C. S., Shieh, D. B., & Su, W. C. (2012). Nucleocytoplasmic transport blockage by SV40 peptide-modified gold nanoparticles induces cellular autophagy. *International journal of nanomedicine*, 5215-5234.
- Vevers, W. F., & Jha, A. N. (2008). Genotoxic and cytotoxic potential of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles on fish cells in vitro. *Ecotoxicology*, 17, 410-420.
- Wang, E. C., & Wang, A. Z. (2014). Nanoparticles and their applications in cell and molecular biology. *Integrative biology*, 6(1), 9-26.
- Warheit, D. B., Sayes, C. M., & Reed, K. L. (2009). Nanoscale and fine zinc oxide particles: can in vitro assays accurately forecast lung hazards following inhalation exposures?. *Environmental science & technology*, 43(20), 7939-7945.
- Wlodkovic, D., Telford, W., Skommer, J., & Darzynkiewicz, Z. (2011). Apoptosis and beyond: cytometry in studies of programmed cell death. *Methods in cell biology*, 103, 55-98.
- Xia, T., Kovoichich, M., Liang, M., Madler, L., Gilbert, B., Shi, H., ... & Nel, A. E. (2008). Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS nano*, 2(10), 2121-2134.
- Xin, G. Z., Qi, L. W., Shi, Z. Q., Li, P., Hao, H. P., Wang, G. J., & Shang, J. (2011). Strategies for integral metabolism profile of multiple compounds in herbal medicines: pharmacokinetics, metabolites

- characterization and metabolic interactions. *Current drug metabolism*, 12(9), 809-817.
- Yang, D., Van, S., Liu, J., Wang, J., Jiang, X., Wang, Y., & Yu, L. (2011). Physicochemical properties and biocompatibility of a polymer-paclitaxel conjugate for cancer treatment. *International journal of nanomedicine*, 2557-2566.
- You, C., Han, C., Wang, X., Zheng, Y., Li, Q., Hu, X., & Sun, H. (2012). The progress of silver nanoparticles in the antibacterial mechanism, clinical application and cytotoxicity. *Molecular biology reports*, 39, 9193-9201.
- Zhivotovsky, B. (2004). Apoptosis, necrosis and between. *Cell cycle*, 3(1), 63-65.



## BÖLÜM 7

### NANOTOKSİSİTE DEĞERLENDİRMEDE MODEL ORGANİZMA *Caenorhabditis elegans*

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169489>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye, [cigerci@aku.edu.tr](mailto:cigerci@aku.edu.tr), Orcid ID: 0000-0002-3626-7730



## GİRİŞ

Nanotoksosite, nanopartiküllerin (NP) neden olduğu toksisitedir. Nanopartiküllerin çeşitli bilim dallarında pek çok avantajı olmakla birlikte bazen iyileştirilmesi gereken zararlı etkileri de olabilmektedir. NP'lerin kullanımının artması nedeniyle, toksisite oranı sürekli artmaktadır. Maruz kalınan NP'lerin oranı, şekil, boyut ve diğerleri dahil olmak üzere birçok faktör nanotoksositeyi etkiler. Farklı NP'ler, toksik etki oluşturmak için farklı mekanizmalar kullanır. *Caenorhabditis elegans* nanotoksosite çalışmalarında güçlü model organizmalar olup, nanotoksitenin canlılarda davranış ve gelişim üzerindeki etkilerini göstermek üzere birçok çalışmada yer almıştır. Nanotoksosite riskinin ortaya çıkması nedeniyle çevrenin kalitesi de bozulmaktadır. Nanotoksositeyi azaltmak için çeşitli yöntemler keşfedilmiştir, ancak bilgi eksikliği, biyolojik sistemlere veya çevreye zarar vermeyen toksik olmayan malzemeler üretmenin önünde bir engeldir. NP'lerin özelliklerine ilişkin çalışmalar, etkili bir iyileştirme yolu bulmaya yardımcı olabilir.

## 1. NANOPARTİKÜLLER VE NANOTOKSİSİTE

Boyutları 0.2 ile 100 nm ye kadar olabilen NP'ler yüksek yüzey-hacim oranı nedeniyle hücrelerle kolaylıkla etkileşime girebilirler. Hem organik hem inorganik olabilen NP'leri karakterize etmek için düşük çözünürlüklü ve yüksek çözünürlüklü transmisyon elektron mikroskopileri (TEM) kullanılır. Gümüş (Ag), altın (Au), Ag oksit (Ag<sub>2</sub>O), çinko oksit (ZnO), titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), kalsiyum oksit (CaO), bakır oksit (CuO), magnezyum oksit (MgO) ve silisyum dioksit (SiO<sub>2</sub>) gibi nanotoksikolojide sık rastladığımız NP'ler arasında gelmektedir (Maleki Dizaj ve ark., 2015).

Nanotoksosite, nanomalzemelerin canlı organizmalar üzerindeki olumsuz etkilerini inceleyen bir alan olup son yıllarda bu alanla ilgili çalışmaların sayısı bir hayli artmıştır (Çiğerci ve ark., 2015, Kaygisiz ve Çiğerci, 2017). NP kaynaklı toksitenin, en yaygın altta yatan mekanizmaları oksidatif stres, inflamasyon, immünotoksosite ve genotoksitedir (Magdolenova ve ark., 2014).

NP'ler, tüm organizma boyunca hareket etme potansiyelleri daha yüksek olduğundan biyolojik sistemlerde hücreler, dokular ve organlarla etkileşime girer (Senapati ve ark., 2015). Hedef organlarda birikmeleriyle sitotoksositeye veya genotoksositeye yol açabilir (Çiğerci ve ark., 2018). NP'ler ayrıca, birikme yerlerinden biyolojik sistemde yeniden dağılıma ve zararlı etkilere neden olma



yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, NP'lerin biyolojik sistemlerdeki kaderini anlamak ve açıklık getirmek son derece önemli olacaktır.

## 2. CAENORHABDİTİS ELEGANS VE NANOTOKSİSİTE

*Caenorhabditis elegans*, yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır ve toksikoloji araştırmalarında oldukça önemli bir rol oynar. Nanotoksosite, nanomalzemelerin canlı organizmalar üzerindeki olumsuz etkilerini incelerken model organizma *C. elegans*, bu tür çalışmalarda çeşitli avantajlar sunar (Mahesh ve Suchiang, 2020).

**Gelişmiş Genetik Araçlar:** *C. elegans*, genetik olarak manipüle edilebilir bir organizma olduğundan, belirli genlerin ve biyolojik yolların nanotoksositeye yanıtını incelemek mümkündür. İnsanlarla %60-%80 oranında homolog genleri paylaşırlar.

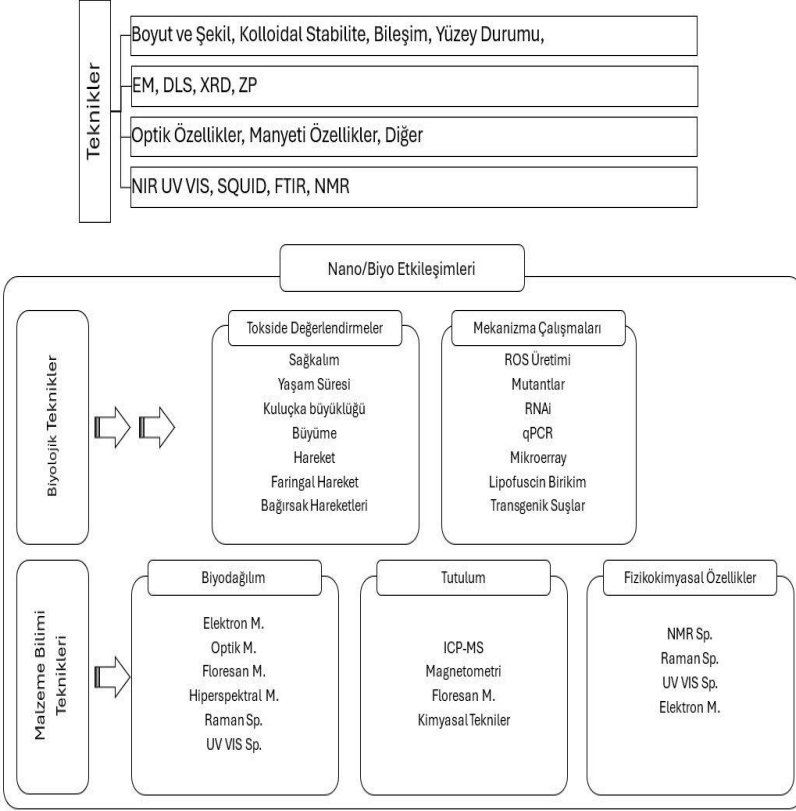
**Hızlı Üreme ve Kısa Yaşam Döngüsü:** *C. elegans*'ın kısa yaşam döngüsü ve hızlı üreme oranı, toksisite çalışmalarında hızlı sonuçlar elde edilmesine olanak tanır. Kolay kültüre edilebilirler.

**Basit Anatomik Yapı:** *C. elegans*, şeffaf görünümde olup sadece 959 hücreden oluşur ve bu sayede toksik etkilerin hücresel düzeyde değerlendirilmesi mümkündür.

**Nöral ve Kas Fonksiyonları:** *C. elegans*'ın sinir sistemi, kas sistemi ve diğer organ sistemlerinin basit yapısı, toksik materyallerin etkilerini izlemek için faydalıdır.

NP'ler, hücrelerin makromolekülleri üzerinde şaşırtıcı bir şekilde hem yararlı hem de toksik etkilere sahip olabilir. *C. elegans*'taki NP aracılı toksisite, farklı standart yöntemler ve protokoller kullanılarak değerlendirilebilir. Örneğin, solucanın büyümesini, ölüm oranını, üreme yeteneğini ve lokomotif değişikliklerini belirleyen analizler, daha yüksek memeli sistemlerine uygulandığında doğru ölçümler ve öngörülebilirlik sağlayabilir. Farklı *in vitro* analizlerle karşılaştırıldığında, *C. elegans*'taki toksisite analizleri tekrarlanabilir. Farklı dokulara ve organ sistemlerine sahip sağlam ve metabolik olarak aktif bir hayvanın farklı öldürücü ve öldürücü olmayan uç noktalarından bilimsel veriler kolayca üretilebilir.

*C. elegans*'ta NP'lerin nano-biyo etkileşimlerini değerlendirmek için kullanılan yaygın yöntemler ve deneyler Şekil 1' de verilmiştir (Mahesh ve Suchiang, 2020).



**Şekil 1.** *C. elegans*'ta nanopartiküllerin nano-biyo etkileşimlerini değerlendirmek için yaygın yöntemler ve deneyler (m. mikroskopiye, sp. spektroskopisini, EM elektron mikroskopunu, DLS dinamik ışık saçılımını, XRD X-ışını kırınımını, ZP zeta potansiyelini, SQUID süperiletken kuantum girişim aygıtını, FTIR Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisini, NMR nükleer manyetik rezonans spektroskopisini ifade eder)

Nanotoksitesite ile ilgili araştırmalar, genellikle belirli nanoparçacıkların *C. elegans* üzerindeki etkilerini, yaşamsal işlevleri (örneğin, hareket, üreme ve metabolizma) ve bunların moleküler mekanizmalarını incelemektedir (Tablo 1). Bu tür çalışmalar, nanoparçacıkların insan sağlığı ve çevre üzerindeki potansiyel risklerini değerlendirmede önemli veriler sunabilir.

**Tablo 1.** *C. elegans* 'ta Nanotoksosite İle İlgili Çalışmalar

Nanopartikül	Sonuçlar	Kaynak
Ag	Metabolik süreçlerdeki bozukluklar Stres aracılı mitokondriyal ve DNA hasarı Dermal etkiler Hücrel hasar Erken endosom oluşumu	Scharf ve ark., 2016 Starnes ve ark., 2015 Ellegaard-Jensen ve ark.,2012 Ahn ve ark., 2014 Kim ve ark., 2012 Maurer ve ark., 2016
SiO <sub>2</sub>	Yaşlanma fenotipik değişiklikleri	Scharf ve ark., 2013 Pluskota ve ark., 2009
CeO <sub>2</sub>	Beslenme üzerindeki inhibisyona bağlı büyüme kusurları	Arnold ve ark., 2013
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Nörotoksik etkiler ve davranışsal değişiklikler	Li ve ark., 2012
Au	Hareket ve aksonal nöron büyümesi	Hu ve ark., 2018
CuO	Isı tepkisi ve protein katlanma foksiyonu Üreme toksisitesi ve gen ekspresyonu	Mashock ve ark., 2016 Wei ve ark., <a href="#">2020</a>
ZnO	Metal toksisitesine karşı koruma Kombine stres etkisi	Ma ve ark., 2009 Cochran ve ark., 2023
TiO <sub>2</sub>	Ölümcül etki; vücut uzunluğunun, baş hareketinin ve vücut eğriliğinin azalması; germ hattında apoptozun artması, ROS üretiminin artması ve ilgili gen ekspresyonu	Li ve ark., <a href="#">2020</a>

## SONUÇ

Nanotoksosite riskinin ortaya çıkması nedeniyle çevrenin kalitesi de bozulmaktadır. Nanotoksositeyi azaltmak için çeşitli yöntemler keşfedilmiştir, ancak bilgi eksikliği, biyolojik sistemlere veya çevreye zarar vermeyen toksik olmayan malzemeler üretmenin önünde bir engeldir. NP'lerin özelliklerine ilişkin çalışmalar, etkili bir iyileştirme yolu bulmaya yardımcı olabilir. *Caenorhabditis elegans* nanotoksosite çalışmalarında güçlü bir model organizma olup, nanoparçacıkların toksik etkilerini anlamak için değerli bilgiler sağlamaktadır.

## KAYNAKLAR

- Ahn, J. M., Eom, H. J., Yang, X., Meyer, J. N., & Choi, J. (2014). Comparative toxicity of silver nanoparticles on oxidative stress and DNA damage in the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, *108*, 343-352.
- Arnold, M. C., Badireddy, A. R., Wiesner, M. R., Di Giulio, R. T., & Meyer, J. N. (2013). Cerium oxide nanoparticles are more toxic than equimolar bulk cerium oxide in *Caenorhabditis elegans*. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *65*, 224-233.
- Ciğerci, İ. H., Ali, M. M., Kaygısız, Ş. Y., Kaya, B., & Liman, R. (2018). Genotoxic assessment of different sizes of iron oxide nanoparticles and ionic iron in earthworm (*Eisenia hortensis*) coelomocytes by comet assay and micronucleus test. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, *101*, 105-109.
- Ciğerci, İ. H., Liman, R., Özgül, E., & Konuk, M. (2015). Genotoxicity of indium tin oxide by Allium and Comet tests. *Cytotechnology*, *67*, 157-163.
- Cochran, J. P., Unrine, J. M., Coyne, M., & Tsyusko, O. V. (2023). Multiple stressor effects on a model soil nematode, *Caenorhabditis elegans*: Combined effects of the pathogen *Klebsiella pneumoniae* and zinc oxide nanoparticles. *Science of The Total Environment*, *865*, 161307.
- Ellegaard-Jensen, L., Jensen, K. A., & Johansen, A. (2012). Nano-silver induces dose-response effects on the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and environmental safety*, *80*, 216-223.
- Hu, C. C., Wu, G. H., Lai, S. F., Muthaiyan Shanmugam, M., Hwu, Y., Wagner, O. I., & Yen, T. J. (2018). Toxic effects of size-tunable gold nanoparticles on *Caenorhabditis elegans* development and gene regulation. *Scientific reports*, *8*(1), 15245.
- Kaygısız, Ş. Y., & Ciğerci, İ. 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), 802-809.
- Kim, S. W., Nam, S. H., & An, Y. J. (2012). Interaction of silver nanoparticles with biological surfaces of *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and environmental safety*, *77*, 64-70.
- Li, D., Ji, J., Yuan, Y., & Wang, D. (2020). Toxicity comparison of nanopolystyrene with three metal oxide nanoparticles in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, *245*, 125625.

- Li, Y., Yu, S., Wu, Q., Tang, M., Pu, Y., & Wang, D. (2012). Chronic Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-nanoparticle exposure causes neurotoxic effects on locomotion behaviors by inducing severe ROS production and disruption of ROS defense mechanisms in nematode *Caenorhabditis elegans*. *Journal of hazardous materials*, 219, 221-230.
- Ma, H., Bertsch, P. M., Glenn, T. C., Kabengi, N. J., & Williams, P. L. (2009). Toxicity of manufactured zinc oxide nanoparticles in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(6), 1324-1330.
- Magdolenova, Z., Collins, A., Kumar, A., Dhawan, A., Stone, V., & Dusinska, M. (2014). Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in vivo studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8(3), 233-278.
- Mahesh, R., & Suchiang, K. (2020). *Caenorhabditis elegans*: A Model Organism to Decipher Biological Activities of Nanoparticles. *Model Organisms to Study Biological Activities and Toxicity of Nanoparticles*, 139-175.
- Maleki Dizaj S, Mennati A, Jafari S et al (2015) Antimicrobial activity of carbon-based nanoparticles. *Adv Pharm Bull* 5:19–23. <https://doi.org/10.5681/apb.2015.003>
- Mashock, M. J., Zanon, T., Kappell, A. D., Petrella, L. N., Andersen, E. C., & Hristova, K. R. (2016). Copper oxide nanoparticles impact several toxicological endpoints and cause neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One*, 11(12), e0167613.
- Maurer, L. L., Yang, X., Schindler, A. J., Taggart, R. K., Jiang, C., Hsu-Kim, H., ... & Meyer, J. N. (2016). Intracellular trafficking pathways in silver nanoparticle uptake and toxicity in *Caenorhabditis elegans*. *Nanotoxicology*, 10(7), 831-835.
- Pluskota, A., Horzowski, E., Bossinger, O., & von Mikecz, A. (2009). In *Caenorhabditis elegans* nanoparticle-bio-interactions become transparent: silica-nanoparticles induce reproductive senescence. *PLoS One*, 4(8), e6622.
- Scharf, A., Gührs, K. H., & Von Mikecz, A. (2016). Anti-amyloid compounds protect from silica nanoparticle-induced neurotoxicity in the nematode *C. elegans*. *Nanotoxicology*, 10(4), 426-435.
- Scharf, A., Piechulek, A., & Von Mikecz, A. (2013). Effect of nanoparticles on the biochemical and behavioral aging phenotype of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *ACS nano*, 7(12), 10695-10703.

- Senapati, V. A., Kumar, A., Gupta, G. S., Pandey, A. K., & Dhawan, A. (2015). ZnO nanoparticles induced inflammatory response and genotoxicity in human blood cells: A mechanistic approach. *Food and Chemical Toxicology*, 85, 61-70.
- Starnes, D. L., Unrine, J. M., Starnes, C. P., Collin, B. E., Oostveen, E. K., Ma, R., ... & Tsyusko, O. V. (2015). Impact of sulfidation on the bioavailability and toxicity of silver nanoparticles to *Caenorhabditis elegans*. *Environmental Pollution*, 196, 239-246.
- Wei, C. C., Yen, P. L., Chaikritsadakarn, A., Huang, C. W., Chang, C. H., & Liao, V. H. C. (2020). Parental CuO nanoparticles exposure results in transgenerational toxicity in *Caenorhabditis elegans* associated with possible epigenetic regulation. *Ecotoxicology and environmental safety*, 203, 111001.



## BÖLÜM 8

### NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİSİTESİNİ ANLAMAK İÇİN FARE MODELİ

YL. Öğr.Rana SARIKÖK<sup>1</sup>,

Doç. Dr. Dilek AKYIL<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169546>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyon, Türkiye,  
ranasarikok@gmail.com, ORCID ID: 0009-0007-1435-0369  
dilekakyil9@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-7048-3808





## GİRİŞ

Nanoteknoloji, bilim ve teknoloji uygulamalarının çoğunluğunu kapsayan yenilikçi ve umut vadeden ve bir çok alanda büyüme imkanı olan moleküler teknoloji biliminin güncel bir dalı (Moore, 2006) olup, 0.1-100 nm çapında olan yani nanometre düzeyindeki materyalleri anlamaya çalışan bir bilim dalıdır (Royal Academy, 2004). Günümüzde bulunan nano ürünlerinin %37'lik kısmını metal nanopartiküller ya da metal oksit türevi nanopartiküller oluşturmaktadır. Yapısında en az bir tane oksijen atomu bulunduran metal içerikli bileşikler metal oksit nanopartikülleri (MNOP) olarak tanımlanır ve en çok tercih edilen metal nanopartiküller sırasıyla SiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub> ve ZnO olarak bilinir (Vance ve ark., 2015).

Nanopartiküllerin (NP) fizikokimyasal özellikleri ve biyolojik işlevleri her ne kadar onları oldukça kullanışlı malzemeler haline getirirse de aynı zamanda bu NP'ler toksisite ile ilgili sorunları da ortaya koymaktadır. *In vitro* çalışmalar esas olarak hücresel hasara, yani oksidatif strese, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna, hücre çoğalmasına, hücre sitoplazmasının degranülasyonuna, DNA hasarına ve hücre ölümüne (nekroz ve apoptoz) odaklanır. NP'ler, doğalarına bağlı olarak dokuları ve organları etkileyerek insan vücudu üzerinde zararlı sağlık etkilerine neden olabilmektedir. Cilt bariyerini aşarak kan sistemi içinde dolaşan NP'ler buradan çeşitli vücut organlarına ulaşabilmekte ve hedef bölgelerde hücresel hasara ve organel yapı hasarına neden olabilmektedir (Yah ve ark., 2011). NP'ler damar, deri, oral yollar ya da solunum gibi bir çok yoldan vücuda alınarak dokulara ya da organlara yerleşebilmektedir (Balasubramanyam ve ark., 2009; Singh ve ark., 2013; Peters ve ark., 2020). Bu durum ise organizmada doku ve organ hasarına, sitotoksositeye, inflamasyona, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna, alerji ve fibrosise ve DNA bozulmalarına yol açabilmekte (Rahi ve ark., 2015), aynı zamanda NP'ler hücresel metabolizmayı etkileyerek erken hücre apoptozunu ve inatçı hücre çoğalmasını engellemektedir. NP'nin oral yollarla vücuda girişi mitokondriyal yıkıma, dalak ve akciğer gibi genişlemiş nefritik organlara safra sıvısının sınırlı akışına ve böbrek yetmezliğine yol açabilmektedir (Siddharda ve ark., 2020). Hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar, NP'lerin solunum yoluyla ve oral maruziyet yoluyla akciğerlere ve gastrointestinal sisteme ek olarak karaciğere, kalbe, dalağa ve beyne dağıldığını göstermiştir (Nemmar ve ark., 2002; Hagens ve ark., 2007). İnsan akciğerlerindeki NP'lerin tahmini yarı ömrü yaklaşık 700 gündür ve solunum sistemi için sürekli bir tehdit oluşturmaktadır. Metabolizma sırasında, NP'lerin bir kısmı karaciğer

dokularında toplanır (*Vishwakarma* ve ark., 2010; Pourmand ve Abdollahi, 2012). NP'ler aynı kimyasal maddenin büyük boyutlu parçacıklarına kıyasla insan sağlığı için daha toksiktir ve genellikle toksisitelerin NP'lerin boyutuyla ters orantılı olduğu öne sürülür (*Yang ve Watts*, 2005; Mostafalou ve ark., 2013).

Bugüne kadar, NP'lerle etkileşimin sitotoksisite, solunum sistemi, bağışıklık sistemi, kardiyovasküler sistem, hematolojik sistem, renal veya böbrek yetmezliği ve lenfatik sistemle ilgili toksikolojik profille rapor edildiği bilinmektedir. NP'lerin toksikolojik özellikleri için rutin uygulamalara salınmadan önce incelenmesi, durumun üstesinden gelmek için oldukça gereklidir. Gelişimsel toksisite, fenotipik anormallikler ve epigenetik potansiyelde yer alan mekanizmanın daha iyi anlaşılması için fareler model organizmalar arasında en çok tercih edilenidir. Nanotoksikolojik profil, NP toksisitesinin olası mekanizmasını, fiziksel özelliklerine (boyut, şekil ve yüzey modifikasyonu) ve kimyasal (katyon veya anyon) ve farklı organlardaki (hepatik, renal, pulmoner, hematolojik, kardiyovasküler, bağışıklık sistemleri) biyolojik özelliklerine dayanarak vurgular. Farklı biyolojik sistemlerdeki karakteristik fizikokimyasal özellikleri nedeniyle, NP'lerin öngörülemez sağlık sonuçları bilim insanları için oldukça önemlidir. Bu nedenle, bu bölümde bu alandaki bilgi boşluğunu kapatmak ve NP'lerle ilgili toksisite sorunlarını ele almak için model organizma olarak farelerin kullanımı ele alınacaktır.

## 1. NANOTOKSİSİTEYİ ANLAMAK İÇİN FARE MODELİNİN ÖNEMİ

Fareler ve sıçanlar, genetik olarak insanlara benzer organ sistemlerine ve biyolojik süreçlere sahip olmaları nedeniyle toksikoloji çalışmalarında çok sık kullanılan model organizmalar arasında yer almaktadır. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar kullanılarak yapılan nanotoksisite çalışmaları, belirli NP'lerin toksisite profili hakkında sınırlı bilgi sağlayarak doğru bilgiyi daraltmaktadır. *In vivo*, fare modeli, olumsuz etki riskini azaltmak için ilaçlar, antikorlar veya NP'ler için güvenli dozu belirlemek üzere gerçek yorumlamayı sağlamak üzere tasarlanmakta ve böylece verilerin güvenilirliğini sağlamaktadır (*Yoshida* ve ark., 2013; *Adamcakova-Dodd* ve ark., 2014; *Hernandez- Adame* ve ark., 2019). Fare modeli, insan anatomisi ve fiziko-kimyasal parametrelerinin bir kopyası olarak işlev görmekte ve bu da bilim insanlarının hücresel metabolik mekanizma, kan dolaşım sistemi, kalp ve beyin fonksiyonu, akciğer sistemi, karaciğer sistemi ve bağışıklık tepkisinin özgülüğünü anlamalarına yardımcı

olmaktadır. *In vivo* çalışmalar her ne kadar uzun soluklu araştırmalar olsa da doğru verilere ulaşmak açısından bu uygulamalar pek çok araştırmacı tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır (Almeida ve ark., 2011; Akkoyun, 2012; Akkoyun ve ark., 2018; Akkoyun ve ark., 2020; Ekin ve ark., 2022; Akkoyun ve ark., 2023; Abbak ve ark., 2024; Yaman ve ark., 2024; Yaman ve ark., 2025).

Fare modelinin bir avantajı da insan vücut sistemini taklit ederek NP'lerle tedavi sırasında meydana gelen değişiklikleri doğrudan insan fizikokimyasal parametreleriyle ilişkilendirilebilen farklılıkları izleyebilmesidir. Canlı analiz iki ana mekanizmayı içermektedir. Birincisi, doku yapısal modifikasyonu, programlanmış hücre ölümü ve pro-immünomodülatör elementlerin infiltrasyonunu içeren organ sistemindeki morfolojik değişiklikler ve ikinci olarak, toksik madde temizliği için hepatik sinüzoid (Cengiz ve ark., 2015) ve Kupffer hücreleri (Jamshidzadeh ve ark., 2015) aracılığıyla NP'nin sistem boyunca biyo-dağılımına yol açan belirli hücrelerin katılımı. Tüm bunların yanı sıra NP'lerin davranışları ve potansiyel toksisitesi; partikül yükü, partikül sayısı, partikül boyutu ve partikül boyutunun dağılımı, yüzey alanı, yapısı ve şekli ya da kimya ve reaktivitesi, agregasyon durumu ve benzeri çok farklı faktörlerden etkilenme olasılığı yüksektir (Pal ve ark., 2007; Tiede ve ark., 2008).

## **2. FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİN NANOPARTİKÜL TOKSİSİTESİNE KATKILARI**

### **2.1 Doz/Konsantrasyon/Maruz Kalma Süresi**

NP'lerin şekilleri ve boyutları pek çok fiziksel ve kimyasal faktöre bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Reaksiyon karışımının sıcaklığı, metal iyon konsantrasyonu ve pH'ı nanoparçacık sentezinde büyük rol oynamaktadır. NP'ler; sıcaklık, pH, boyut, substrat konsantrasyon ya da substratın etkisinde kalma süresi gibi sentez değişkenlerinden etkilenebilmektedir (Verma ve Mehata, 2016). Metal nanomalzemelerin şekilleri ve boyutları fonksiyonel moleküller ya da çevresel faktörler tarafından değiştirilebilmektedir (Mohamed ve ark., 2019). Ayrıca NP'lerin toksik etki gösterip hücreleri hasara uğrattığı doz; NP'nin özelliklerine, çeşidine, doku, hücre ve organizma türüne göre farklılık gösterebilmektedir. Bazı araştırmalara göre, aşırı yüksek dozlardaki partiküller az ya da çok sağlığa zararlı etki gösterebilmektedir (Forbe ve ark., 2011). Jeng ve Swanson (2006) farelerin nöroblastom hücreleri

üzerinde çinko oksit nanopartikülleriyle (ZnONP) yapmış oldukları çalışmada, ZnONP'ye maruz bırakılan fare nöroblastom hücre hattının anormal morfolojide olduğunu ve hücresel büzülmelerin gerçekleştiğini rapor etmişlerdir.

Farklı bir çalışmada ise, ZnONP'ler farelerde pulmoner toksisiteyi indükleme etkinliği bakımından araştırılmıştır. Yapılan çalışmada fareler, 13 hafta boyunca toplam 10.9 mg/kg dozla ZnONP'lere maruz bırakılmış ve çalışma sonunda biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir. Sonuç olarak, ZnONP'lere uzun süreli maruz kalma, akciğer hücreliliğini ve toplam protein miktarındaki çeşitliliği, bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında pro-inflamatuar sitokinlerle artan laktat dehidrogenaz aktivitesini artırmıştır. Çalışmada 2 hafta ile 13 hafta arasında oluşan değişimler karşılaştırılmış ve ZnONP dozu ve maruz kalma süresinin ciddi subakut ve subkronik toksisiteden sorumlu olduğu kanıtlanmıştır (Adamcakova-Dodd ve ark., 2014). Kong ve arkadaşlarının (2022) yaptıkları çalışmada ise titanyum dioksit nanopartiküllerinin (TiO<sub>2</sub>NP) farelerde akciğer tümörü ve kronik enflamasyon oluşumuna sebep olduğu gözlenmiştir. TiO<sub>2</sub>NP'lerin doza bağlı olarak değişkenlik göstererek hidroksil radikali oluşumuna sebep olduğu saptanmıştır.

Dişi C57BL/6JBomTac (C57) fareleri üzerinde yapılan başka bir deney ZnONP toksisitesinin doza bağlı bir şekilde meydana geldiğini ve ciddi pulmoner disfonksiyona neden olabileceğini öne sürmüştür. Histopatolojik inceleme, 2 µg/ml ZnONP konsantrasyonunda bronşiyol epitelyumunun deskuamasyonu ile hepatosit sitoplazmasının hafif vakuolizasyonunun meydana geldiğini göstermiştir. 6 µg/ml ZnONP konsantrasyonunda, pulmoner sistem konjesyon, ödem ve hepatositlerin genişlemesini göstermiştir (Jacobsen ve ark., 2006). Yapılan bir inhalasyon çalışmasında ise 18 µg/ml ZnONP'lerin en yüksek konsantrasyonunda, fare akciğer dokusunda konjesyon, dolaşım sisteminde lenfosit infiltrasyonu, bronşiyol epitelinin soyulması ve hepatositlerin büyümesi ve tek hepatositlerin nekrozu gibi ciddi morfolojik değişiklikler rapor edilmiştir (Saptarshi ve ark., 2015).

## 2.2 Parçacık Boyutu/Şekli/Yüzey Alanı

Şekil, yüzey kimyası, boyut, kimyasal bileşenler, oksidatif stres fonksiyonları ve doz gibi bazı parçacık nitelikleri nanotoksistide büyük rol oynamaktadır. Parçacıkların bu önemli nitelikleri üzerinde kontrolü sağlayıp zararlı etkilerini en az seviyeye düşürmek mümkün olabilmektedir. Böylelikle

belirli şartlarda bu malzemelerin tüketimi konusundaki risk faktörleri en düşük seviyeye indirgenebilmektedir (Ai ve ark., 2011).

NP'ler, farklı en boy oranlarında toksisite profil seviyelerine sahip olan boyut ve şekle bağlı bir toksisite gösterirler (Sharifi ve ark., 2012). Küresel ve çubuk şeklindeki titanyum, fare modellerinde akciğer dokularında farklı morfolojik değişiklikler gösterir. Bu hipotez Balb/c fareleri kullanılarak doğrulanmıştır. Toluidin mavisi boya ile boyanan akciğer dokuları, morfolojik değişiklikler ve inflamatuvar hücrelerin ve fibrin molekülünün interalveolar boşluğa göç ettiğini göstermiştir. Hem küresel hem de çubuk şeklindeki doku, hücrelere nüfuz etme olasılığında farklılıkla dokuda kan damarı infiltrasyonu göstermiştir (Oosthuizen ve ark., 2012). Cho ve arkadaşları (2011) çinko oksit nanopartikülünü intratrakeal olarak farelere inhalasyonla uyguladıklarında fare akciğerlerinin bronkoalveoler sıvı ve histopatolojik incelemelerinde; eozinofili, hava yolu epitel hücre proliferasyonu, goblet hücre hiperplazisi, pulmoner parankimal ve interstisyel fibrozis geliştiğini saptamışlardır.

Yoshida ve arkadaşları (2013) 7 gün boyunca intranasal maruziyet yoluyla nanosilika parçacıkları (nSP30, nSP70 veya nSP100) ve geleneksel mikro ölçekli silika parçacıkları (mSP300 veya mSP1000) ile atanan sayısal çapları 500 µg/fare olan farelere maruz bırakmışlar ve karaciğer dokusunun histolojik incelemesi boyunca, küçük patolojik anormalliklerle birlikte inflamatuvar yanıtlar saptamışlardır. Büyük çaplı nanoparçacıklarla (nSP300 ve nSP1000) karşılaştırıldığında, küçük nanoparçacıklar pıhtılaşma analizinde trombosit sayısında büyük bir değişiklik göstermiş ve bu nanoparçacıklar kısmi tromboplastinin aktivasyonunu ve bu da pıhtılaşma kaskadı başlatılmasına (pıhtılaşma faktörü XII'yi aktive ederek) ve inflamatuvar sitokinlerin ve interferonların daha fazla toplanmasına yol açmıştır. Tüm bu yapılan çalışmalar; toksisitenin sentez yöntemlerine, NP şekline, yüzey alanına ve boyutuna büyük ölçüde bağlı olduğunu göstermektedir.

### **2.3. Yüzey Fonksiyonelleştirme/Kaplama/Kristal Yapı**

Nanobiyoteknoloji, kimya, malzemeler, fizik ve biyolojinin kesiştiği noktada ortaya çıkan yeni ve gelecek vaat eden bir bilim alanıdır. Özellikle, nanomalzemelerin biyolojik sistemlerde kullanımı en hızlı büyüyen ve en heyecan verici alanlardan biri olarak kabul edilmiş ve kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Drake ve ark., 2007; He ve ark., 2010). Bu bağlamda, nanobiyoteknoloji için boyut, şekil ve yüzey kimyası dahil olmak üzere iyi

tanımlanmış fizikokimyasal özelliklere sahip nanomalzemeler inşa etmek kritik öneme sahiptir. Nanofabrikasyon tekniklerindeki son gelişmeler, çeşitli nanoyapıları başarıyla yaratmış, nanobiyoteknolojinin araştırma ve geliştirilmesine ivme kazandırmış ve biyolojik çalışmalarda yeni yollar açmıştır. NP'nin toksisite profili, o NP'nin *in vivo* modelde konak sistem içindeki hareketini ve kritik oksidasyon süreçlerini büyük ölçüde etkileyen yüzey özelliklerine bağlıdır. NP'lerin yüzey özelliklerini değiştirmek, NP'lerin kaymasını artırmak ve biyolojik işlevlerini de büyütmek için yüzey kaplaması gereklidir (Siddharda ve ark., 2020).

TiO<sub>2</sub>, rutil, anataz ve brookite olarak bilinen üç farklı morfolojik formda bulunur. Silika kaplı TiO<sub>2</sub> kullanılarak yürütülen deney, Balb/C farelerinde pulmoner toksisite açısından daha fazla incelenmiştir. Rapor, silika kaplı TiO<sub>2</sub>NP'nin özellikle pulmoner sistemi etkilediği ve bağışıklık düzenleyici profil üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu sonucuna varmıştır (Rossi ve ark., 2010).

### 3. FARE MODELİ: NANOPARTİKÜL TOKSİSİTE ÇALIŞMALARI

Nanotoksikoloji alanında yapılan çalışmalar, nano boyutlu malzemelerle ilişkili hücresel alım, dağıtım, birikim, bağışıklık sistemi aktivasyonu ve protein ortamı etkileşimlerinin benzersiz zorluklarını ele almak için analizler geliştirmeyi amaçlamaktadır (Hillegass ve ark., 2010). Bu alanda *in vitro* yapılan çalışmaların yanı sıra *in vivo* uygulamalar da yaygın olarak kullanılmakta olup en çok fareler üzerinde denemeler kurulmaktadır.

NP'ler veya nanomalzemeler kimya, gıda endüstrisi, biyoremediasyon, biyosensör, ilaç dağıtımı ve tıbbi görüntüleme gibi pek çok alanda kullanılmakta olmakla beraber bunlar insan ve çevre için toksisite nedeniyle sınırlamalara sahiptir. Reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi, insan hücre hatlarında toksisite için bildirilen ve toksisite profilini araştırmak için daha fazla değerlendirilen ana süreçlerden biridir. Küçük NP'lerin hücre zarına nüfuz ettiği ve hücre sistemini manipüle ettiği, bunun da mitokondriyal solunum sürecinde değişikliklere, hızlı ROS üretimine ve NADPH'ye bağımlı sistemde enzim dengesizliğine yol açtığı bildirilmiştir (Kumar ve ark., 2017). Bu bağlamda bu bölüm, sitotoksisite, hepatotoksisite, nefrotoksisite, inhalasyon toksisitesi, dermal toksisite, immünotoksisite, gen ifadesi (genotoksisite), organ

tepkisi, kardiyotoksosite ve etkileşimli toksisite gibi fare modelinde NP toksisitesinin değerlendirilmesi hakkında ayrıntılı bir rapor sunacaktır.

### 3.1. Sitotoksosite

Han ve arkadaşlarının (2016) CD1 fareleri kullanarak sentezlenen ZnONP'lerin sırasıyla Leydig hücreleri (LC) ve Sertoli hücreleri (SC) üzerinde *in vitro* ve *in vivo* sitotoksitesini araştırdığı bir çalışmada membran bütünlüğünün kaybı, DNA hasarı (nükleer ve mitokondriyal), mitokondriyal membranın gevşemesi, ROS üretiminin artması ve 5 ila 20 µg/ml konsantrasyon aralığında doza bağımlı bir şekilde apoptoz gibi tipik toksisite semptomları gösterdiği saptanmıştır. CD1 erkek farelerin testisleri üzerinde tek dozla *in vivo* çalışma yürütülmüş ve sperm hücreleri üzerinde toksisite gösterdiği de rapor edilmiştir. Seminifer epitel kalınlığında ve seminifer tübüllerin çapında yapısal dönüşüm, sperm morfolojisindeki anormalliklerle birlikte gözlemlenmiştir. Sentezlenen NP'lerin yüzey modifikasyonu, biyolojik özellikleri, yani biyoyumluluğu ve konakçı sistem üzerindeki etkilerini artırabilir. Yapılan bir diğer çalışmada PPIDAB ve PAMAM dendrimerlerinin RAW 264.7 fare makrofaj hücre hattında doza bağlı olarak sitotoksosite oluşturduğu ve apoptozu indüklediği görülmüştür. Bunun yanı sıra fare karaciğer (BNL CL.2 ve fare fibroblast (NIH/3T3) ve) hücre hatlarında hücre ölümünü indüklemediği belirlenmiştir (Wang ve ark., 2020). Hernandez-Adame ve arkadaşları (2019) *Yarrowia lipolytica* D1 mayasından izole edilen β-d-glukanlar kullanarak biyolojik olarak altın nanopartikülleri (AuNP'ler) sentezledikleri çalışmada fare dalak lökositleri üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Sonuç olarak AuNP'lerin veya β-d-glukanların tek başına lökositleri etkilemediğini ancak AuNP-β-d-glukan kompleksinin etkilediğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar 10-50 nM boyutundaki AuNP-β-d-glukan komplekslerinin fare dalak hücrelerinde hidrojen peroksit üretimini uyararak oksidatif stresi artırdığını bulmuşlardır. Aynı zamanda AuNPs-β-d-glukan maruziyetinde pro-inflamatuar sitokinlerin ve nitrik oksitin artan üretimi kaydedilmiş ve sentezlenen AuNP'lerin sitotoksosite nedeniyle biyomedikal alanda uyumsuzluğunu göstermişlerdir.

Nabeshi ve arkadaşları (2011), AgNP'nin yüzey modifikasyonunun rolünü ve fare makrofaj hücre hattı (RAW264.7) üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada amin (N) grubu, nSP70-N ve karboksil (C) grubu, nSP70-C ile modifiye edilmiş AgNP'ler (nSP70) hazırladılar ve farklı konsantrasyonlarda hücresel değişiklikleri izlemek için sitotoksosite çalışması



yürüttüler. Çalışma sonucunda 121,5 µg/ml'lik daha düşük konsantrasyonda, nSP70, 1000 µg/ml konsantrasyonunda modifiye edilmiş NP'lerin, nSP70-N ve nSP70-C'ye kıyasla daha yüksek sitotoksosite gösterdiği saptanmıştır. Değiştirilmemiş nSP70 daha yüksek hücresel hasar, yani DNA sentezinin inhibisyonu, lipozomal destabilizasyon, apoptoz ve mitokondriyal membranda düzensizlikler göstermiştir. Bu rapor, AgNP'nin yüzey modifikasyonunun NP'lerin yüzey stabilitesini artırabileceğini ve toksik etkileri en aza indirebileceğini öne sürmüştür. Fare beyin hücrelerinde farklı büyüklükteki partiküllerin etkisi incelendiğinde ise küçük boyutlu (20 nm) NP'lerin hücre kültüründe büyük boyutlu (100 nm) NP'lerden daha çok hassasiyet yarattığı; değişik suşlarda (C57BL/6 ve A/J) ise benzer sitotoksik etki gözlemlendiği ancak hücre içine alım mekanizmalarının farklı olduğu tespit edilmiştir (Weldon ve ark., 2018).

### 3.2. Hepatotoksosite

Karaciğer, vücuttaki toksik maddelerin temizlenmesine yardımcı olan ve sistemin düzgün çalışması için detoks eden hayati bir vücut organıdır. Kupffer hücreli hepatik sinüzoid metabolizmada önemli bir rol oynar ve hücresel metabolizmadaki değişiklikler, karaciğer hücrelerinin toksik maddelere karşı duyarlılığı nedeniyle belirteç olarak kullanılabilir (Cengiz ve ark., 2015). Hepatotoksosite, immünohistokimya ve serum enzimoloji analizi kullanılarak tespit edilebilen karaciğer hasarıyla koordineli bir olgudur. Karaciğer iltihabı ve doku hasarı, kemirgen modelinde hepatotoksosite için yaygın semptomlardır. Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP) ve C-glutamil transferaz (C-GT) gibi serumda bulunan enzimler, fare modelinde karaciğer disfonksiyonu için belirteç olarak kullanılabilir (Yang ve ark., 2017).

Heydrnejad ve arkadaşları (2015) erkek ve dişi farelerde (*Mus musculus*) AgNP'nin lokalizasyonunu değerlendirdikleri ve biyokimyasal testler ve histopatolojik parametreler kullanarak toksisiteyi inceledikleri bir çalışma yapmışlar ve biyokimyasal rapor tam kan sayımında, yani kırmızı kan hücresi sayısında, hematokrit ve beyaz kan hücresi sayısında önemli bir değişiklik görülmediğini rapor etmişlerdir. Ayrıca Serumdaki aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) biyobelirteçlerinin yüksek seviyesi AgNP'lerin toksisitesini desteklemiştir. Histopatolojik rapor, cinsiyetlerinden bağımsız olarak AgNP'lerle tedavi edilen farelerde hepatik sinüzoidlerde

hepatosit nekrozu, granüler dejenerasyon ve inflamasyon gibi morfolojik değişiklikler göstermiştir.

Endoplazmik retikulum (ER), protein katlanmasını, protein montajını, translyasyon sonrası modifikasyonu, veziküllerdeki mikro besin trafiğini ve vücut organı boyunca kalsiyum kanalını düzenleyen önemli bir hücrel organel birimidir. Hepatositler, detoksifikasyon süreci sırasında toksik elementlerin atılmasından sorumlu olan bol miktarda ER'ye sahiptir. Yüksek ROS üretimi ve oksidatif stres nedeniyle işlevsiz ER, hücrel dengeye neden olabilir ve akut karaciğer hasarı olan karaciğer hepatik hücrelerinde ölüm sinyallerine yol açabilir. Yang ve arkadaşları (2015), 90 günlük bir süre boyunca çinko oksit nanopartiküllerine maruz kaldıktan sonra erkek C57BL/6 farelerinde karaciğer hasarını araştırmışlar ve hepatosit nekrozu, ALT ve AST serumunun yükseldiği karaciğer dokusu hasarı, kontrolle karşılaştırıldığında ER stres ilişkili genlerin (grp78, grp94, xbp-1, pdi-3) ve ER stres ilişkili proteinin (p-PERK, PERK, p-eIF2 $\alpha$ , eIF2 $\alpha$ ) yükseldiği maruz kalan farelerde gösterilmiştir. Chen ve arkadaşları (2018) ise yaptıkları çalışmada, 7 gün boyunca nadir toprak nanopartiküllerine (RENP) maruz kaldıktan sonra farelerde hepatotoksisite bildirmişlerdir. RENP'nin karaciğer dokusunda lokalize olduğu ve ALT (64.20  $\pm$  15.50 U/l), AST ve kreatinin (27.80  $\pm$  3.56  $\mu$ mol/l) üretiminin artmasıyla hepatik hücre nekrozu ve inflamasyonuna neden olduğu bulunmuştur. Patlolla ve arkadaşları (2019) Sprague-Dawley sıçanlarında polietilen glikol kaplı (PEG kaplı) ve kaplanmamış altın nanopartikül (kaplanmamış GNP'ler) kaynaklı hepatotoksisite ve oksidatif stresi incelemek için bir çalışma yürütmüşlerdir. Hem PEG kaplı hem de kaplanmamış GNP'ler oksidatif strese bağlı karaciğer hasarı göstermiş ve aşırı biyobelirteç ALT, AST ve ALP üretimi gözlemlenmiştir. PEG kaplı olanlar kaplanmamış GNP'lerden daha az toksisite göstermiş, bu da toksisiteyi azaltmak ve biyoyumluluğu artırmak için NP'nin PEGilasyonuna işaret etmiştir.

### 3.3. Nefrotoksisite

Nefrotoksisite, renal glomerulus dejenerasyonu gibi renal morfolojideki histopatolojik değişikliklerle doğrulanmış yabancı madde veya toksik maddeden kaynaklanan renal veya böbrek yetmezliğini ifade eder. Glomerüloskleroz ve kollajenöz tubulointerstisyel matris, biyobelirteçler, yani dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$ 1, interferon-6, tip I kollajen, fibronektin ve vimentin aracılığıyla

kantitatif olarak belirlenebilen renal fonksiyondaki patolojik değişiklikleri gösterir (Yang ve ark., 2017).

Hong ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (2015) farelere intragastrik yolla TiO<sub>2</sub>NP uygulamış ve idrardaki (böbrek hasarı molekülü-1, kümeleme, osteopontin, β2-mikroglobulin ve sistatin) ve kan serumundaki (ürük asit, kan üre azotu, kreatinin ve idrar proteini) biyobelirteç salgılanma seviyesini değerlendirmişlerdir. Raporda TiO<sub>2</sub>NP'nin idrar ve kan biyobelirteç seviyesinin üretimini artırdığı ve ayrıca mikroskopik gözlemlerde böbrek tübüllerinde böbrek fibrozu ve şişmesi gösterdiği rapor edilmiştir. Jamshidzadeh ve arkadaşları (2015) erkek İsviçre albino farelerine gentamisin ve gentamisin nanopartikülleri uygulayarak fonksiyonel ve morfolojik değişiklikleri kaydetmiştir. Aminoglikozit antibiyotik uzun süreli kullanıldığında konakçı vücut üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Yapılan çalışma sonucunda mikroskopik analizde tıkalı böbrek yapısıyla kan idrar azotu ve kreatinin üretiminde artış gözlemlendi.

### 3.4. İmmünotoksisite

İmmünotoksisite, bağışıklık tepkisi belirleyicilerinin (sitokinler ve transkripsiyonel düzenleyiciler), bağışıklık organ sisteminin (dalak, karaciğer ve akciğerler) ve dolaşım sisteminin düzeyindeki işlevsel ve morfolojik değişiklikleri ifade eder. Wang ve arkadaşlarının (2016) yaptıkları bir çalışmada makrofajlarda, lenfositlerde ve Balb/C farelerinde sentezlenen CdSe/ZnS kuantum noktalarının (QD'ler) toksisitesini incelemişler ve CdSe/ZnS kuantum noktalarıyla tedavi edilen makrofajların, artan bir ROS üretimi ve artan hücre apoptozu seviyesi gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, 14 gün boyunca 25, 50 ve 100 mg/kg (va)/gün dozlarında dişi Balb/C farelerine 3-MCPD verip immünotoksisite taraması yapılmış ve antijen-özümlü bağışıklık, hematolojik, lenfositlerde proliferatif değişiklikler, histopatolojik ve doğal öldürücü hücrelere bakılmıştır. Çalışma sonucunda ise dişi sıçanlarda 100 mg/kg (va)/gün konsantrasyonda immünotoksik etki görülmüştür. Makrofajlar, hücre canlılığının, nanopartiküle karşı azalan fagositik aktivitenin ve TNF-α ve IL-6 üretiminin azaldığını göstermiştir. NP'lere maruz kalan lenfositler, TNF-α ve IL-6 üretiminin artmasıyla birlikte hücre canlılığının arttığını göstermiştir. Balb/C farelerinde hücre canlılığında azalma, CD3ε<sup>+</sup>-T lenfosit üretiminde azalma ve CD19<sup>+</sup>-B lenfositleri ile bağışıklık tepkisi molekülleri IL-6 ve TNF-α'nın salınımında

artış gözlenmiştir (Lee ve ark., 2004). Bir diğer çalışmada ise farelerde intratrakeal boşluğa bizmut selenid ( $\text{Bi}_2\text{Se}_3$ ) nanopartikülleri uygulanmış ve bunların sistemik ve dolaşım sistemi üzerindeki etkilerini kaydedilmiştir. NP'ler her iki sistemde de kısmi etkiler göstermiştir; apoptotik hücre ölümünü ve pro-inflamatuar sitokinlerin salınımını destekleyen ROS elementlerinin üretimini arttırmıştır. Artan bağışıklık tepkisi elementleri, IL-1 $\beta$ , MIP-2, IL-6 ve IL-8 seviyeleri,  $\text{Bi}_2\text{Se}_3$ 'ün neden olduğu immünotoksisteyi tanımlayan nötrofil infiltrasyonu ve oksidatif stres olasılığını arttırmıştır (Mishra ve ark., 2017). Yapılan başka bir çalışmada fare testisi  $\text{TiO}_2$  ile tehdit edildi ve farede TAM/TLR aracılı sinyal yolunun aktivasyonunu veya inhibisyonunu incelemek için gözlem altında tutuldu (Hong ve ark., 2016). Çalışma, erkek farelerin spermatozoidlerinde ve Sertoli hücrelerinde pro-inflamatuar hücrenin dolaşım sistemine göçünü içeren  $\text{TiO}_2$ 'nin olumsuz etkilerine ışık tutuyor (Hong ve ark., 2016).

### 3.5. Kardiyovasküler Toksikite

Kardiyovasküler toksisite; kalp ritim bozukluğu, iletim gecikmeleri ve düşük tansiyona bağlı olarak gelişir. Çocuklarda bunlara ilaveten ajitasyon, bilinç kaybı, ve diğer antikolinergik belirtiler (ağız kuruluğu, gözbebeklerinde genişleme, hipertermi) görülebilir (Penny, 2009). İlaçların yanlış kullanımı ve ağır metallerin olumsuz etkileri, temelde kalpte elektrofizyolojik işlev bozukluğu olan kardiyak toksisiteye neden olabilir. Elektrofizyolojik işlev bozukluğu, miyokardiyal nekroz, venöz tromboz, kardiyak apoptoz ve kalp yetmezliğini destekleyen hasarlı hemostatik sistemden oluşur (Sangomla ve ark., 2018).

Farelerde NP maruziyeti, serumda baskın olan faktörler olan troponin T, miyogloblin, TNF- $\alpha$ , IL-6, NO, IgG, VEGF, serum glukoz ve kalsiyumun yanı sıra C-reaktif protein ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminde artışa neden olur ve kalp hücresinin hücresel metabolizması üzerinde aşırı etkilere sebep olur. Kardiyak işlev bozukluğu, kalsiyum kanalının tıkanmasına, hücre uzunluğunun kesilmesine ve mitokondriyal membran yapısında değişikliğe yol açar (Sangomla ve ark., 2018). Yapılan bir çalışmada kardiyak fonksiyon ve miyokardiyal doku üzerindeki olumsuz etkiyi değerlendirmek için erkek Wistar sıçanlarının trakeal boşluğuna silika nanopartiküller uygulanmıştır. Bu çalışmada, silika nanopartiküllerinin Wistar sıçanlarına uygulanmasının mitokondriyal yol aracılığıyla kardiyak miyosit apoptozis şansını artırdığı sonucuna varılmıştır. Bu kardiyomiyositlerde Bax, Bcl-2 ve kaspaz-3 protein

ekspresyonunun yüksek seviyesi gözlemlenmiştir. Tedavi edilen sıçanlardaki kardiyomiyositlerde fizyolojik değişiklikler fark edilmiş ve elektron mikroskopik gözlem, genişlemiş hücreler arası boşluk, parçalanmış kardiyak kas lifleri ve kardiyomiyosit membranının genişlemesini göstermiştir (Du ve ark., 2019).

## SONUÇ

Nanoteknoloji kısaca maddenin 1-100 nm boyutlarındaki işlevlerini anlama ve kontrol etme bilimidir. Nanoteknoloji; biyomedikal, ilaç, kozmetik, gıda güvenliği ve ekoloji gibi geniş uygulamalarla insan günlük yaşamı üzerinde büyük etkiye sahiptir. Birçok alanda çoklu kullanımlara dayanarak, insanların hem kasıtlı hem de kasıtsız olarak NP'lere maruz kalması kaçınılmazdır. İnsan vücudu temas ettiği yeni maddelere karşı doğal bağışıklık oluşturamaz bu da birçok olumsuz sağlık sorunlarına nedendir. Bu yüzden yapılan çalışmalara dikkat edilmelidir ve kullanılan nanomalzemeler, insanlarda nanotoksosite riskini azaltmak için sistematik biyogüvenlik değerlendirmesiyle izlenmelidir. Toksikolojik çalışmalar, hem insan hem de çevrenin korunması için bir temel sağlar. Bu nedenle, mevcut deneysel modellere dayanarak, daha değerli NP'lerden bazılarını biyolojik sistemler için daha toksik olarak listelemek zor olabilir ve bunun tersi de geçerlidir. NP'lerin birçok alandaki potansiyel uygulamaları göz önünde bulundurulduğunda ve bilgi boşluğunu gidermek için, NP'lerin ilgili toksik etkileri, hayati sistemleri hedef alan, uluslararası olarak kabul görmüş önyargısız *in vivo* toksikolojik modellerden yararlanılarak değerlendirilmelidir. Fare modeli, insanlarla birçok fizyolojik ve genetik benzerliğe sahip olduğu olduğu için model organizma olarak nanotoksikolojide sıklıkla kullanılır. Ancak tüm bunlara ek olarak, gelecekte toksisite testleri, maruziyet yolu, kaplama malzemesi ve NP'lerin sterilitesi ve hücre kültürü tipleri için bu tür yeni modellerin tasarlanması, uyarlanması ve doğrulanmasının dikkatlice değerlendirilmesi gerektiği görüşündeyiz.

## KAYNAKLAR

- Abbak, N., San Dagli Gul, A., Gormus, M., Turan, H., AKKOYUN, M. B. A., & Arihan, O. (2024). Effects of Subacute Carvacrol Administration on Behavioral and Oxidative Stress Parameters During NaF Exposure. *Fluoride*, 57(4), 1-11.
- Adamcakova-Dodd, A., Stebounova, L. V., Kim, J. S., Vorrink, S. U., Ault, A. P., O'Shaughnessy, P. T., ... & Thorne, P. S. (2014). Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models. *Particle and fibre toxicology*, 11, 1-15.
- Ai, J., Biazar, E., Jafarpour, M., Montazeri, M., Majdi, A., Aminifard, S., ... & Rad, H. G. (2011). Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs. *International journal of nanomedicine*, 1117-1127.
- Akkoyun, H. T. (2012). Fötal dönemde nikotine maruz kalan sıçanlarda oluşan böbrek hasarının engellenmesinde ellagic asitin koruyucu etkilerinin incelenmesi.
- Akkoyun, H. T., Bengu, A. S., Ulucan, A., Akkoyun, M. B., Ekin, S., Temel, Y., & Çiftçi, M. (2018). Effect of astaxanthin on rat brains against oxidative stress induced by cadmium: biochemical, histopathological evaluation. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 8(4), 33-39.
- Akkoyun, H. T., Bengu, A. Ş., Akkoyun, M. B., Ulucan, A., Izgi, M. S., Sahin, Ö., ... & Melek, Ş. (2020). Investigation of Protecting Effect of Boric Acid against Mercury II Chloride Toxicity in Rat Brain Tissue. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9(2), 127-133.
- Akkoyun, H. T., Uyar, A., Bayramoglu Akkoyun, M., Bengü, A. Ş., Melek, Ş., Karagözoğlu, F., ... & Erdem, S. A. (2023). The protective effect of arbutin against potassium bromate-induced oxidative damage in the rat brain. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 37(2), e23248.
- Almeida, J. P. M., Chen, A. L., Foster, A., & Drezek, R. (2011). In vivo biodistribution of nanoparticles. *Nanomedicine*, 6(5), 815-835..
- Balasubramanyam, A., Sailaja, N., Mahboob, M., Rahman, MF, Misra, S., Hussain, SM, & Grover, P. (2009). Sıçan kemik iliginde alüminyum oksit nanomalzemelerine oral maruziyetin genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi. *Mutasyon Araştırması/Genetik Toksikoloji ve Çevresel Mutagenesi*, 676 (1-2), 41-47.

- Drake, S. Deshpande, D. Bera and S. Seal: 'Metallic nanostructured materials based sensors', *Int. Mater. Rev.*, 2007, 52, 289–317.
- Cengiz M, Kutlu HM, Burukoglu DD, Ayhanci A (2015) A comparative study on the therapeutic effects of Silymarin and Silymarin-loaded solid lipid nanoparticles on D-GaIN/TNF- $\alpha$ -induced liver damage in Balb/c mice. *Food Chem Toxicol* 77:93–100
- Chen, J. P., Shi, S. S., Liu, G. F., Chen, Y., Zheng, S. S., Wang, X. B., ... & Lin, C. H. (2018). Potential clinical risk of inflammation and toxicity from rare-earth nanoparticles in mice. *Chinese Medical Journal*, 131(13), 1591-1597.
- Cho, W. S., Duffin, R., Howie, S. E., Scotton, C. J., Wallace, W. A., MacNee, W., ... & Donaldson, K. (2011). Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles; the role of Zn 2+ dissolution inside lysosomes. *Particle and fibre toxicology*, 8, 1-16.
- Du, Z., Chen, S., Cui, G., Yang, Y., Zhang, E., Wang, Q., ... & Shao, H. (2019). Silica nanoparticles induce cardiomyocyte apoptosis via the mitochondrial pathway in rats following intratracheal instillation. *International Journal of Molecular Medicine*, 43(3), 1229-1240.
- Ekin, S., Yildirim, S., Akkoyun, M. B., Gok, H. N., Arihan, O., Oto, G., ... & Aslan, S. (2022). Theophylline attenuates bleomycin-induced oxidative stress in rats: The role of IL-6, NF- $\kappa$ B, and antioxidant enzymes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e20804.
- Forbe, T., García, M., & Gonzalez, E. (2011). Potential risks of nanoparticles. *Food Science and Technology*, 31, 835-842.
- Hagens, W. I., Oomen, A. G., de Jong, W. H., Cassee, F. R., & Sips, A. J. (2007). What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body?. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 49(3), 217-229.
- Han, Z., Yan, Q., Ge, W., Liu, Z. G., Gurunathan, S., De Felici, M., ... & Zhang, X. F. (2016). Cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on mouse testicular cells. *International journal of nanomedicine*, 5187-5203.
- He, Y., Fan, C., & Lee, S. T. (2010). Silicon nanostructures for bioapplications. *Nano Today*, 5(4), 282-295.
- Hernandez-Adame, L., Angulo, C., Delgado, K., Schiavone, M., Castex, M., Palestino, G., ... & Reyes-Becerril, M. (2019). Biosynthesis of  $\beta$ -d-glucan-gold nanoparticles, cytotoxicity and oxidative stress in mouse

- splenocytes. *International journal of biological macromolecules*, 134, 379-389.
- Heydrnejad, M. S., Samani, R. J., & Aghaeivanda, S. (2015). Toxic effects of silver nanoparticles on liver and some hematological parameters in male and female mice (*Mus musculus*). *Biological trace element research*, 165, 153-158.
- Hillegass, J. M., Shukla, A., Lathrop, S. A., MacPherson, M. B., Fukagawa, N. K., & Mossman, B. T. (2010). Assessing nanotoxicity in cells in vitro. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2(3), 219-231.
- Hong, F., Hong, J., Wang, L., Zhou, Y., Liu, D., Xu, B., ... & Sheng, L. (2015). Chronic exposure to nanoparticulate TiO<sub>2</sub> causes renal fibrosis involving activation of the Wnt pathway in mouse kidney. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(5), 1639-1647.
- Hong, F., Wang, Y., Zhou, Y., Zhang, Q., Ge, Y., Chen, M., ... & Wang, L. (2016). Exposure to TiO<sub>2</sub> nanoparticles induces immunological dysfunction in mouse testitis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(1), 346-355.
- J.M. Hillegass, A. Shukla, S.A. Lathrop, M.B. MacPherson, N.K. Fukagawa, B.T. Mossman Assessing nanotoxicity in cells in vitro Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2 (3) (2010), pp. 219-231
- Jacobsen, N. R., Stoeger, T., Van Den Brûle, S., Saber, A. T., Beyerle, A., Vietti, G., ... & Møller, P. (2015). Acute and subacute pulmonary toxicity and mortality in mice after intratracheal instillation of ZnO nanoparticles in three laboratories. *Food and Chemical Toxicology*, 85, 84-95.
- Jamshidzadeh, A., Heidari, R., Mohammadi-Samani, S., Azarpira, N., Najbi, A., Jahani, P., & Abdoli, N. (2015). A comparison between the nephrotoxic profile of gentamicin and gentamicin nanoparticles in mice. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 29(2), 57-62.
- Jeng, H. A., & Swanson, J. (2006). Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 41(12), 2699-2711.
- Kong, L., Barber, T., Aldinger, J., Bowman, L., Leonard, S., Zhao, J., & Ding, M. (2022). ROS generation is involved in titanium dioxide nanoparticle-induced AP-1 activation through p38 MAPK and ERK pathways in JB6 cells. *Environmental toxicology*, 37(2), 237-244.



- Kumar, V., Sharma, N., & Maitra, S. S. (2017). In vitro and in vivo toxicity assessment of nanoparticles. *International Nano Letters*, 7(4), 243-256.
- Lee, J. K., Byun, J. A., Park, S. H., Kim, H. S., Park, J. H., Eom, J. H., & Oh, H. Y. (2004). Evaluation of the potential immunotoxicity of 3-monochloro-1, 2-propanediol in Balb/c mice: I. Effect on antibody forming cell, mitogen-stimulated lymphocyte proliferation, splenic subset, and natural killer cell activity. *Toxicology*, 204(1), 1-11.
- Mishra, V., Baranwal, V., Mishra, R. K., Sharma, S., Paul, B., & Pandey, A. C. (2017). Immunotoxicological impact and biodistribution assessment of bismuth selenide (Bi<sub>2</sub>Se<sub>3</sub>) nanoparticles following intratracheal instillation in mice. *Scientific reports*, 7(1), 18032.
- Mohamed, A. A., Fouda, A., Abdel-Rahman, M. A., Hassan, S. E. D., El-Gamal, M. S., Salem, S. S., & Shaheen, T. I. (2019). Fungal strain impacts the shape, bioactivity and multifunctional properties of green synthesized zinc oxide nanoparticles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19, 101103.
- Moore, M. N. (2006). Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment?. *Environment international*, 32(8), 967-976.
- Mostafalou, S., Mohammadi, H., Ramazani, A., & Abdollahi, M. (2013). Different biokinetics of nanomedicines linking to their toxicity; an overview. *Daru journal of pharmaceutical sciences*, 21, 1-4.
- Nabeshi, H., Yoshikawa, T., Arimori, A., Yoshida, T., Tochigi, S., Hirai, T., ... & Tsutsumi, Y. (2011). Effect of surface properties of silica nanoparticles on their cytotoxicity and cellular distribution in murine macrophages. *Nanoscale research letters*, 6, 1-6.
- Nemmar, A., Hoet, P. H., Vanquickenborne, B., Dinsdale, D., Thomeer, M., Hoylaerts, M. F., ... & Nemery, B. (2002). Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation*, 105(4), 411-414.
- Oosthuizen, M. A., Oberholzer, H. M., Scriba, M. R., van der Spuy, W. J., & Pretorius, E. (2012). Evaluation of the morphological changes in the lungs of BALB/c mice after inhalation of spherical and rod-shaped titanium nanoparticles. *Micron*, 43(8), 863-869.
- Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 73(6), 1712-1720.

- Patlolla, A. K., Kumari, S. A., & Tchounwou, P. B. (2019). A comparison of poly-ethylene-glycol-coated and uncoated gold nanoparticle-mediated hepatotoxicity and oxidative stress in Sprague Dawley rats. *International journal of nanomedicine*, 639-647.
- Penny L, Moriarty T. Poisoning in children. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain* 2009; 9 (4): 109-13.
- Peters, R. J., Oomen, A. G., van Bommel, G., van Vliet, L., Undas, A. K., Munniks, S., ... & van der Lee, M. (2020). Silicon dioxide and titanium dioxide particles found in human tissues. *Nanotoxicology*, 14(3), 420-432.
- Pourmand, A., & Abdollahi, M. (2012). Current opinion on nanotoxicology. *Daru journal of pharmaceutical sciences*, 20, 1-3.
- Rahi, A., Sattarahmady, N., & Heli, H. (2014). Toxicity of nanomaterials-physicochemical effects. *Austin J Nanomedicine Nanotechnol*, 2(6).
- Rossi, E. M., Pykkänen, L., Koivisto, A. J., Vippola, M., Jensen, K. A., Miettinen, M., ... & Alenius, H. (2010). Airway exposure to silica-coated TiO<sub>2</sub> nanoparticles induces pulmonary neutrophilia in mice. *Toxicological Sciences*, 113(2), 422-433.
- Royal Society And The Royal Academy Of Engineering, 2004.
- Sangomla, S., Saifi, M. A., Khurana, A., & Godugu, C. (2018). Nanoceria ameliorates doxorubicin induced cardiotoxicity: Possible mitigation via reduction of oxidative stress and inflammation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 47, 53-62.
- Saptarshi, S. R., Feltis, B. N., Wright, P. F., & Lopata, A. L. (2015). Investigating the immunomodulatory nature of zinc oxide nanoparticles at sub-cytotoxic levels in vitro and after intranasal instillation in vivo. *Journal of nanobiotechnology*, 13, 1-11.
- Sharifi, S., Behzadi, S., Laurent, S., Forrest, M. L., Stroeve, P., & Mahmoudi, M. (2012). Toxicity of nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 41(6), 2323-2343.
- Siddhardha, B., Dyavaiah, M., & Kasinathan, K. (Eds.). (2020). *Model organisms to study biological activities and toxicity of nanoparticles*. Singapore:: Springer.
- Singh, S. P., Rahman, M. F., Murty, U. S. N., Mahboob, M., & Grover, P. (2013). Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment. *Toxicology and applied pharmacology*, 266(1), 56-66.

- Tiede, K., Boxall, A. B., Tear, S. P., Lewis, J., David, H., & Hassellöv, M. (2008). Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food additives and contaminants*, 25(7), 795-821.
- Vance, M. E., Kuiken, T., Vejerano, E. P., McGinnis, S. P., Hochella Jr, M. F., Rejeski, D., & Hull, M. S. (2015). Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein journal of nanotechnology*, 6(1), 1769-1780.
- Verma, A., & Mehata, M. S. (2016). Controllable synthesis of silver nanoparticles using Neem leaves and their antimicrobial activity. *Journal of radiation Research and applied sciences*, 9(1), 109-115.
- Vishwakarma, V., Samal, S. S., & Manoharan, N. (2010). Safety and risk associated with nanoparticles-a review. *J. Miner. Mater. Charact. Eng*, 9(5), 455-459.
- Wang, X., Tian, J., Yong, K. T., Zhu, X., Lin, M. C. M., Jiang, W., ... & Lin, G. (2016). Immunotoxicity assessment of CdSe/ZnS quantum dots in macrophages, lymphocytes and BALB/c mice. *Journal of nanobiotechnology*, 14, 1-12.
- Wang, Y., Li, C., Du, L., & Liu, Y. (2020). A reactive oxygen species-responsive dendrimer with low cytotoxicity for efficient and targeted gene delivery. *Chinese Chemical Letters*, 31(1), 275-280..
- Weldon, B. A., Park, J. J., Hong, S., Workman, T., Dills, R., Lee, J. H., ... & Faustman, E. M. (2018). Using primary organotypic mouse midbrain cultures to examine developmental neurotoxicity of silver nanoparticles across two genetic strains. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 354, 215-224.
- Yah, C. S., Iyuke, S. E., & Simate, G. S. (2012). A review of nanoparticles toxicity and their routes of exposures: transdermal delivery of insulin. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 299-314.
- Yaman, T., Akkoyun, H. T., Bayramoğlu Akkoyun, M., Karagözoğlu, F., Melek, Ş., Keleş, Ö. F., & Bengü, A. Ş. (2025). Assessment of the effect of sodium tetraborate on oxidative stress, inflammation, and apoptosis in lead-induced nephrotoxicity. *Drug and Chemical Toxicology*, 48(1), 150-162.
- Yaman, T., Akkoyun, T., Keleş, Ö. F., & Akkoyun, M. B. (2024). Effect of bee bread (perga) on histopathological changes and immunohistochemical

- expression of apoptosis markers in the kidney of rats exposed to cadmium. *Van Veterinary Journal*, 35(2), 101-108.
- Yang, L., & Watts, D. J. (2005). Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicology Letters*, 158(2), 122-132.
- Yang, X., Shao, H., Liu, W., Gu, W., Shu, X., Mo, Y., ... & Jiang, M. (2015). Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress are involved in ZnO nanoparticle-induced hepatotoxicity. *Toxicology Letters*, 234(1), 40-49.
- Yang, Y., Qin, Z., Zeng, W., Yang, T., Cao, Y., Mei, C., & Kuang, Y. (2017). Toxicity assessment of nanoparticles in various systems and organs. *Nanotechnology Reviews*, 6(3), 279-289.
- Yoshida, T., Yoshioka, Y., Tochigi, S., Hirai, T., Uji, M., Ichihashi, K. I., ... & Tsutsumi, Y. (2013). Intranasal exposure to amorphous nanosilica particles could activate intrinsic coagulation cascade and platelets in mice. *Particle and Fibre Toxicology*, 10, 1-12.



## BÖLÜM 9

### BİYOLOJİ ALANI UYGULAMALARINDA NANOSTABİLİTENİN ÖNEMİ

Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169590>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyon, Türkiye, [pdogan@aku.edu.tr](mailto:pdogan@aku.edu.tr) ORCID ID: 0000-0003-4760-9182



## GİRİŞ

"Nanopartikül (NP) stabilitesi", agregasyon, bileşim, kristallik, şekil, boyut ve yüzey kimyası gibi belirli bir nanoyapı özelliğinin korunmasını tanımlamak için yaygın olarak kullanılan bir terimdir (Phan ve Haes, 2019). NP'ler yüksek yüzey enerjileri nedeniyle denge durumundan uzakta bulunurlar. Bu nedenle nanopartiküller son derece kararsızdır ve bazı durumlarda nispeten stabil bir duruma ulaşmak için kendilerini kolayca değiştirir veya aktif maddelerle reaksiyona girerler. Bu nedenle, NP fazları metastabil, yani makroölçekli malzemelere göre kısa ömürlü bir enerjik durumda kabul edilebilir. Bu durum, NP'lerde istenen veya istenmeyen değişikliklere sebep olur ve böylece yüksek bir reaktivite ve zayıf bir stabilite sergilemelerine neden olur. NP'lerin bu ikili doğası (zayıf kararlılık ve yüksek reaktivite), nanopartikül işleme için hem olumsuz hem de olumlu etkilere neden olabilir (Levard ve ark., 2012).

NP'lerin stabilitesi değerlendirilirken, uygulamaları ve kullanımlarıyla doğrudan ilişkili olan statik ve dinamik olmak üzere her iki şekilde de ele alınmalıdır. Stabilitenin etkisi, NP'lerin fizikokimyasal özellikleri ve bir hücre, doku, organ ve/veya tüm bir organizmanın fizyolojisi ve yapısındaki etkileşimler ile belirlenebilir. Tek bir nano türün nanotoksitesini, yalnızca o türün etkileşimini değil, aynı zamanda nanomalzeme bileşenlerinin biyolojik sistemlerle etkileşimini de içerir. Tüm resmi analiz etmek için, stabilite ile ilgili *in vitro* ve *in vivo* nanotoksitesite çalışmaları şarttır. NP'lerin fizikokimyasal özelliklerinden sonra, hücresel kaderi belirleyen ilk ilgili faktör boyut, ikincisi ise yüzey yüküdür. NP'ler boyutu, yapısı ve yüzey özellikleri protein ve diğer moleküllerin etkileşimleri için önemlidir. NP'lerin serum proteinleriyle bağlanması biyolojik ayrışabilirliğini, temizlenmesini ve toksitesini etkiler. Stabilite, bir nano türün değişime, bozulmaya ve/veya yer değiştirmeye karşı direnç ve sabit özellikler, yani güvenilirlik göstermesi anlamına gelmektedir. NP türünün kendine has özelliklerinin yanı sıra, dikkate alınması gereken başka hususlar da vardır: NP'lerin üretimindeki bir hatadan kaynaklanan potansiyel olarak toksik atık ürünleri veya üretimde kaçınılmaz olarak oluşan yan ürünleri gidermek için yetersiz arıtma nedeniyle veya metalik implantların aşınması veya yıpranması nedeniyle NP'ler vücuda istem dışı salınabilir ve bu durumun bazı olumsuz etkilere neden olduğu bilinmektedir. Bu istem dışı salınan NP'lerin özellikleri şimdiye kadar nitelendirilmemiştir (Hahn ve ark. 2012). Örneğin, implante edilen NP'lerin ömrü ve çözünme davranışı, NP türüne ve vücuttaki yerel ortama bağlı olarak farklı olabilir. NP'lerin sitotoksitesisiyle



ilgili çalışmaların çoğu literatürde bildirilmiştir, ancak NP'lerin çeşitliliği ve biyo-nano arayüzündeki etkileşimleri belirleyen mekanizmaların karmaşıklığı nedeniyle NP toksisitesiyle ilgili ifadeler daha dikkatlice incelenmelidir (Nel ve ark., 2009).

Resmin bütünü analiz etmek için, *in vitro* ve *in vivo* nanotoksosite çalışmaları gerekli olup bu bağlamda, nanopartiküllerin *in vivo* ve *in vitro* davranışları stabilite ile ilişkili olarak incelenmelidir. *In vivo* olarak, NP'ler organdan organa sürekli olarak taşınıyor gibi görünürken, *in vitro* olarak NP'ler sınırlı bir alanda bulunur. Bu nedenle, *in vivo* ve *in vitro* deneyler arasındaki farklı toksisite en azından maruz kalma konsantrasyonu ve süresine (kinetik) bağlı olabilir. NP'lerin *in vivo* davranışına ilişkin birçok soru cevapsız kalmaktadır. Örneğin, protein opsonizasyonu NP'lerin kinetiğini nasıl etkiler? NP'ler nasıl metabolize edilir? NP'lerin uzun vadeli akıbeti nedir? Nanomalzemelerin fizikokimyasal özellikleri *in vivo* biyo-dağılım davranışlarını nasıl etkiler? Nano-nesnelere ne kadar bozunabilir? Nano-nesnelere bozunması ne kadar sürer? Bozunma yan ürünleri toksik midir? Detoksifikasyon süreçlerinde yer alan ana metabolik hücreler/dokular/organlar nerededir? Bu soruları ele almak önemli olacaktır çünkü biyomalzemelerin tasarımını iyileştirmenin tek yolu biyolojik sistemler içindeki etkilerini, dönüşümlerini ve nihai kaderlerini tam olarak aydınlatmaktır (Albanese ve ark., 2012).

*In vivo* ve *in vitro* nanotoksisiteyi oluşturan yöntemler, imalat ve tıpta daha yaygın hale geldikçe nanomalzemelere maruz kalmayla ilişkili faydalardan potansiyel risklere ve sağlık tehlikelerine kadar olası etki spektrumlarını güvenilir bir şekilde tahmin etmeli ve değerlendirmelidir. Böyle bir değerlendirme rejimi, bu malzemelerin hem çeşitli imal edilmiş formlarında hem de yeni teknolojilere dahil edilmiş hallerinde risk-fayda analizlerinin yapılmasında titiz fizikokimyasal karakterizasyon (Warheit, 2008a) ve çeşitli fizyolojik reaktivite seviyeleri (örneğin moleküler, hücresel, doku, organ toksisitesi) ile ilişkilendirilebildikleri için doz-yanıt, akut ve kronik maruziyete yönelik geleneksel farmakoloji ve toksikoloji yaklaşımlarını en iyi şekilde dikkate alacaktır (Nel ve ark., 2006).

Bir nanomateryalin boyutu, şekli ve ligand yoğunluğuna ek olarak, yüzey yükü de hücresel kaderi belirlemede önemlidir. Yapılan çalışmalarda hücre zarının hafif bir negatif yüke sahip olduğu ve hücre alımının elektrostatik çekimler tarafından yönlendirilebileceği öne sürülmüştür (Jin ve ark. 2009;

Wang ve ark., 2010). Bu gibi durumlarda, NP'ler hücre yüzeyi membranı ile birden fazla senaryoda etkileşime girebilir. NP'ye bağlı ligandlar ve hücresele reseptörler arasındaki etkileşimler, bir nanomateryalin tasarlanmış geometrisine ve ligand yoğunluğuna bağlıdır.

Araştırmacılar her seferinde bir nanoyapı parametresini inceleyerek NP tasarımı ile belirli bir biyolojik yanıt arasında korelasyon kurabilmektedir. Toplanan veriler daha sonra NP'lerin özellikle biyolojik sistemde nasıl davrandığına dair öngörücü modeller ve yazılımlar geliştirmek üzere veri tabanlarını doldurmak için kullanılabilir. Bu tür veriler, yeni nesil nano ölçekli cihazların mühendisliğine rehberlik edebilir. Yeni nesil nano yapıların tasarımı, istenmeyen yan etkileri olsun ya da olmasın, vücutta gezinebilen, hücreleri enfekte edebilen ve dönüştürebilen nano yapıların mühendisliğinden oluşacaktır. Bu nedenle, bir nanopartikülün fizikokimyasal özelliklerinin biyolojik sistemlerle nasıl etkileşime girdiğini tahmin etmek, stabilitesini değerlendirmek ve gelecekteki toksik etkilerini öngörmek için sistematik modeller geliştirmek gerekmektedir.

## 1. STATİK VE DİNAMİK STABİLİTE

NP stabilitesi, bir yandan statik (veya içsel) stabilitelerini belirleyecek fizikokimyasal özelliklerini içeren karmaşık bir dizi olguyu içerir. NP'lerin stabilitesi, bir hücre, doku, organ ve/veya bütün bir organizmanın izole bir yapısında üretilebilen bu tür NP'lerin fiziksel ve/veya kimyasal özellikleri ve/veya etkileşimleri ve/veya etkileri incelenerek ölçülebilir. Ayrıca, NP'lerin proteinler, ligandlar ile ek ve beklenmedik etkileşimleri ve metabolizma ürünlerinin toksik etkileri *in vivo* yöntemlerle değerlendirilebilir. Bu anlamda statik stabilite *in vitro* yöntemlerle, dinamik stabilite ise *in vivo* yaklaşımla incelenebilir.

### 1.1. *In Vitro* Stabilite

NP özelliklerinin ve/veya sulu ortamda içsel kolloidal kararsızlık ve agregasyon olayları, çevre veya dokularda biyolojik birikim, kirlenici adsorpsiyonu ve taşınımı gibi etkilerin biyolojik sistemlere nüfuz edip etmeyeceği, bu sistemlerde kalıcı olup olmayacağı ve biyolojik sistemleri etkileyip etkilemeyeceği sorusu henüz belirlenmemiştir. Biyolojik veya fizyolojik sistemlerde NP özelliklerini ve reaktivitesini yeterince izleyebilen bazı araçlar ve yöntemler mevcuttur. Önemli olarak, bu yöntemler bugüne kadar öncelikle *in vitro* deneylerdir ve ilgili malzemeler için yapılan birçok

biyoyoumluluk testinde olduğu gibi, *in vivo* malzeme toleransı ile çok az korelasyon veya doğrulamaya sahip olabilir (Jones ve Grainger, 2009). NP yüzey ve yığın özelliklerini ve biyolojik reaktiviteyi *in vitro* sistem modellerinde değerlendirmek için literatürde yaygın olarak kullanılan bazı yöntemler tanımlanmıştır. Bu analizler NP uygulamalarında NP stabilitesini karakterize etmek için önemlidir. Bu yöntemler prebiyolojik malzeme karakterizasyonunu içerir: yüzey kirliliği, partikül boyutlandırma ve agregasyon, *in vitro* biyolojik testler (hücre tipleri, seçimi ve kullanımı) ve diğerlerinin yanı sıra hücre bazlı *in vitro* toksisite deneyleri. Bu bağlamda, *in vitro* stabilitenin değerlendirilmesi *in vivo* davranışın tahmin edilmesine yardımcı olabilir, çünkü bir NP'nin tek başına veya organizmanın bazı moleküler bileşenleriyle etkileşime girerek agregasyon eğilimi immün sistemi aktive edebilir veya dolaşım sisteminde tıkanıklığa neden olabilir (örn. tromboz). Boyut, şekil, yüzey alanı, yüzey kimyası ve NP yükündeki değişikliklere ek olarak, hücre süspansiyonu değişkenleri ve partikülün proteinler, amino asitler ve tuzlardan oluşan bu karmaşık ortamda nasıl davrandığı da dikkate alınmalıdır. Bu anlamda, serum/ortam bileşimi NP'lerin sitotoksitesini etkileyebilir. NP'lerin yüksek yüzey reaktivitesi nedeniyle NP'lerin yüzeyine protein emilimi beklenir ve daha sonra bu fenomen NP'leri hücrelerden maskeleyebilir (Casey ve ark., 2007a). Örneğin, albümin varlığında karbon nanotüpler (CNT'ler), protein içermeyen kontrollere kıyasla dağılım ve sitotoksisite açısından farklılıklar göstermiştir (Elgrabli, 2007).

Fenol kırmızısı gibi diğer medya bileşenlerinin varlığı da sitotoksisite değerlendirmesini etkiler; çünkü NP'lerle etkileşim, spektroskopik analiz sırasında absorbansı etkileyebilir (Casey ve ark., 2007b). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, hücre-NP etkileşimlerini tam olarak anlamak için ilgili tüm değişkenlerin uygun şekilde kontrol edilmesinin gerekli olduğunu göstermektedir. Ayrıca, *in vivo* ortamın taklit edilmesi, daha sonra canlı doku ve organlara uygulanabilecek temsili sonuçlar elde etmek için çok önemlidir. Son olarak, NP'lerin statik ve dinamik kararlılığı dikkate alınarak söz konusu hücresel tepkiyi doğru bir şekilde ölçmek için uygun testler yapılmalıdır. Ancak, doğaları gereği karmaşık özellikleri nedeniyle *in vivo* çalışmalarla ilişkili bireysel değişkenleri kontrol etmek zordur (Schulze ve ark., 2008).

Diğer ilgili husus ise NP'ler arasındaki etkileşimdir. Birçok NP kolloidaldır ve/veya van der Waals gibi çekici kuvvetlerin varlığında zayıf su çözünürlüğü gösterir; bu NP'ler toplanabilir ve sonuç olarak özelliklerinde ciddi değişiklikler gözlemlenebilir. NP'lerin toplanma süreci, potansiyel

kullanım göz önünde bulundurularak kontrol edilmeli ve denetlenmelidir. Ek olarak, NP'lerin agregasyonunu önlemek/azaltmak ve sulu dispersiyonu artırmak için yaygın olarak kapama ajanları olarak adlandırılan stabilize edici moleküller gereklidir. Kapaklama maddeleri genellikle küçük moleküller veya polimerlerdir (Lowry ve ark., 2012). Ancak, şu anda altın nanorodları sentezlemek ve stabilize etmek için kullanılan CTAB gibi stabilize edici ajanlar, nanorodların sitotoksitesini büyük ölçüde artırdığı bilinen güçlü deterjanlardır (Takahashi ve ark., 2006). Bu nedenle, NP çözeltilerindeki dağıtıcı ajanların seçimi dikkatle değerlendirilmeli ve NP'li ve NP'siz kapama moleküllerinin varlığında toksisiteyi karşılaştırmak için uygun çalışmalar yapılmalıdır.

NP konsantrasyonunun standardizasyonu zor bir görev olmaya devam etmektedir; şu anda literatürdeki en yaygın konsantrasyon ifadesi kütle/hacim oranıdır. Çalışmalar arasında karşılaştırma yapmak zordur çünkü partikül, boyut, şekil ve yüzey kimyasındaki farklılıklar tekdüze olmayan konsantrasyonlar üretir. Bu anlamda, boyut, şekil ve konsantrasyonun hem kütle-hacim hem de mililitre başına düşen partikül sayısı açısından yayınlanması önerilmektedir (Gormley ve Ghandehari, 2009). NP'lerin stabilitesini etkileyen bir diğer önemli değişken de inkübasyon süresidir. Bu değişken çalışmadan çalışmaya büyük farklılıklar göstermektedir. Çalışmaların çoğu sadece akut toksisiteyi (24 saat) araştırmaktadır, ancak NP'lerin hücre döngüsü ve çoğalması üzerindeki etkisini görmek için daha uzun inkübasyon süreleri gereklidir. Hücre hatlarının seçimi, daha sonra *in vivo* olarak uygulanabilecek tekrarlanabilir ve temsili sonuçlar elde etmek amacıyla *in vitro* deneylerin tasarımı için önemli bir karardır. Örneğin, belirli bir NP'nin aerosol formunda salınması bekleniyorsa, bulunduğu potansiyel toksisiteyi değerlendirmek için en iyi hücre modelini elde etmek üzere alveolar epitel ve makrofaj hücre hatları seçilmelidir (Gormley ve Ghandehari, 2009). NP'leri *in vitro* olarak incelemek için kullanılan en yaygın hücre hatları ve deneyleri HeLa, makrofajlar, epitel hücreleri, fibroblastlar ve diğerlerinin yanı sıra karaciğer ve böbrek hücreleridir. Bununla birlikte, NP'lerin sürekli hücre hatlarıyla etkileşiminin yanıtı, hücre nesilleri ile genetik profillerin ve metabolik yolların ciddi şekilde değişmesi nedeniyle ihtiyatlı bir şekilde ayrıntılı olarak analiz edilmelidir.

## 1.2. *In Vivo* Stabilite

NP'lerin ve/veya nano türlerin riski vücutta birkaç farklı mekanizma aracılığıyla değerlendirilebilir. Nanomalzemelerin farklı tür ve tasarımlarının kullanımını içeren araştırmalar, ilaç dağıtımı, tıbbi görüntüleme, teşhis ve mühendislik teknolojisi gibi alanlarda *in vivo* uygulamalar için nanoteknolojinin büyümesiyle gelişmeye devam etmektedir (Aillon ve ark., 2009).

Nanotoksosite çalışmalarının çoğu, soluma, deri yoluyla temas veya yutma yoluyla ultra ince (kasıtsız olarak üretilen) partiküllere maruz kalmanın sağlık üzerindeki etkilerine odaklanmıştır (Jones ve Grainger, 2009). Bu çalışmalar öncelikle partikül inhalasyonundan sonra akciğer toksisitesi gibi yerel etkilere odaklanmaktadır. NP'ler oldukça karmaşık olduğundan ve çelişkili çalışmalar kullanımları ve güvenlikleri hakkında farklı görüşlere yol açtığından, *in vivo* toksisitenin karakterizasyonu göz korkutucu bir görev olmuştur. Bu durum toksisitenin önemli yönlerinin değerlendirilmesini, genelleştirilmesini ve tahmin edilmesini zorlaştırmaktadır (Warheit, 2008b). Nanoboyutlu partiküller akciğer, bağırsak ve deri gibi bazı organlara girebilir ve nüfuz edebilir. Bazıları derinin en derin katmanlarına (dermis) nüfuz edebilir. Penetrasyonları boyutlarına ve NP yüzey özelliklerine bağlıdır. *In vivo* testler yapılmadan önce NP toksisitesi üzerinde *in vitro* testler yapılması gerektiği unutulmamalıdır. NP'lerden kaynaklanan akut toksosite çalışmaları sonucunda ratların ağızlarında, toksisitenin NP'lerin boyutuna, kaplamasına ve kimyasal bileşenine bağlı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, NP'lerin sistemik etkileri farklı organ ve dokularda gösterilmiştir. İnflamatuar ve immünolojik sistemler üzerindeki etkiler akciğerler, karaciğer, kalp ve beyinde oksidatif stres veya pre-inflamatuar sitotoksin aktivitesini içerebilir. Dolaşım sistemi üzerindeki etkiler tromboz öncesi etkileri ve kalp fonksiyonu üzerindeki paradoks etkileri içerebilir. NP'lerin etkileri sonucunda genotoksosite, karsinojenisite ve teratojenisite ortaya çıkabilir. Bazı NP'ler kan-beyin bariyerini geçebilir ve beyin toksisitesine neden olabilir (Ai ve ark., 2011). Nano yapıların deri gibi ilaç dağıtım uygulamalarında epitelyal taşınımı söz konusu olduğunda, sağlam bariyerin aşılması zor olabilir. Penetrasyonu etkileyen faktörler arasında hayvan modeli seçimi, kıl foliküllerinin varlığı gibi cilt yapısı ve NP'lerin fizikokimyasal özellikleri yer almaktadır (Ryman-Rasmussen ve ark., 2007).

Hem *in vitro* hem de *in vivo* doğrudan kanıtlar bu partiküllerin alınımının mümkün olduğunu gösterse de (Kitchens ve ark., 2005), gastrointestinal kanal epitel hücre bariyerleri boyunca translokasyon, sıkı boşluk bağlantıları nedeniyle nano boyutlu yapılar için de zor olabilir. Nanopartiküllerin taşınması para-hücreyel yollar, endositoz taşıma veya Peyer yamaları yoluyla gerçekleşebilir (Norris ve ark., 1998) ve tüm bu mekanizmalar NP'lerin fizikokimyasal özelliklerinden etkilenir, aynı şekilde bağırsak mukus tabakası ve bağırsak boyunca transitöz yoluyla taşınma da etkilenir (Hussain ve ark., 1997); bu anlamda, daha önemli faktörler NP'lerin boyutu ve yüzey yüküdür. Partikül maddelerin solunmasının astım ve kanser dahil olmak üzere çeşitli solunum yolu hastalıklarına neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca, solunan NP'lerin toksisitesini incelerken fizikokimyasal özellikler gibi birikim, taşıma ve temizleme gibi çeşitli faktörler göz önünde bulundurulmalıdır (Borm ve Kreyling, 2004).

Kan veya diğer biyolojik sıvılarla temas ettiğinde, nano nesnelere yüzeylerini kaplayacak proteinleri emebilir. Bu olgu tüm NP'lerin stabilitesini değiştirir ve *in vivo* NP davranışının incelenmesindeki en büyük zorluklardan birini temsil eder. Potansiyel serbest radikal üreten NP'lerin yavaş temizlenmesi ve doku birikimi ile endotelial retikulum sistemi (ERS) organlarında çok sayıda fagositik hücrenin yaygınlığı, karaciğer ve dalak gibi organları oksidatif stresin ana hedefleri haline getirmektedir. Ayrıca, böbrekler ve akciğerler gibi NP'lere maruz kalan yüksek kan akışına sahip organlar da etkilenebilir. Hücre kültürü çalışmaları tüm nanotoksikolojik araştırmaların çoğunluğunu oluşturmaktadır; ancak, *in vitro* deneylerden elde edilen veriler çeşitli nedenlerle yanıltıcı olabilir ve bu nedenle *in vivo* (hayvan) deneylerinden doğrulama gerektirecektir (Fischer ve Chan, 2007).

## 2. BAĞLANMA VE STABİLİTE ARASINDAKİ İLİŞKİ

Son yıllarda biyolojik ve tıbbi uygulamalar için NP'lerin kullanımı büyük ilgi görmüştür. Bu durum, nanoteknolojinin biyomedikal amaçlar için kullanımını bildiren yayınlardaki büyük artışla açıkça gösterilmiştir (Etheridge ve ark., 2013; Singh ve ark., 2016; Santi ve ark., 2017; Shirai ve ark., 2017). Bu da nano ölçekten kaynaklanan üç ana özellikte özetlenebilir: (i) biyomakromoleküllere benzer boyut, NP'lerin hücreler ve biyomoleküllerle (nükleik asitler, proteinler, lipid membranlar, vb.) daha iyi etkileşimine olanak tanır (Koo Lee, 2009); (ii) yüksek NP yüzeyi: hacim oranı, yüksek yoğunlukta fonksiyonel bileşiklerin dahil edilmesini kolaylaştırır (Henriksen-Lacey ve

ark., 2017); (iii) nano ölçek boyutundan türetilen benzersiz fizikokimyasal özellikler (optik, elektrik ve manyetik). NP bileşimini, boyutunu ve/veya şeklini değiştirerek bu özellikleri isteğe göre uyarlama imkânı, çok özel harici elektromanyetik uyarılara karşı duyarlı malzemeler elde edilmesini sağlar (Ariga ve ark., 2016; Jessl ve ark., 2018). Tüm bu özellikler, MRI görüntüleme (Na ve ark., 2009), uzaktan tetiklenen ilaç dağıtımı (veya hipertermi) ile hücresel ve hücre altı düzeylerde hassas tedavi (Anselmo ve Mitragotri, 2015; Henriksen-Lacey ve ark., 2017) bulaşıcı hastalıkların ve kanserin erken teşhisi (Pazos-Perez ve ark., 2016), genetik mutasyonların tespiti (Gisbert-Quilis ve ark., 2017) veya antibakteriyel aktivite ile implant performansının iyileştirilmesi (Ferraris ve ark., 2015) gibi birçok potansiyel uygulamada kullanılabilir. Bu nedenle, biyolojik ortamlardaki NP'lerin özelliklerinin ve davranışlarının tam olarak anlaşılması kritik öneme sahiptir. Geleneksel yollar için, bu tür karmaşık ortamlardaki koloidal stabilite genellikle tehlikeye girer ve bu da agregasyon ve flokülasyona neden olur (Rausch ve ark., 2010; Moore ve ark., 2015).

Birçok çalışma, NP'lerin serum proteinleri (veya diğer biyolojik sıvılar) ve hücre zarı reseptörleri ile etkileşime girdiğini ve bu etkileşimin NP tasarımı tarafından belirlendiğini, aslında hücre alımını, gen ifadesini ve toksisiteyi etkilediğini göstermiştir (Albanese ve ark., 2012). NP'lerin boyutu, yapısı ve yüzey özellikleri protein etkileşimleri için önemlidir; daha yüksek boyutlu NP, belirli bir proteinle daha yüksek etkileşimler sağlar. Bu, yüksek hacimli NP'nin spesifik proteinin birkaç molekülü ile etkileşime girebileceği anlamına gelir. Bu özellik NP'lerin faydalı etkisini artırabilir ancak aynı zamanda beklenmedik ve istenmeyen etkiler de yaratabilir. NP'ler vücuda girdiğinde bazı olaylar gerçekleşebilir. İmmün sistem NP'leri yabancı antijenler olarak tanıyarak bunlara karşı tepki verebilir ve bir immün tepki ortaya çıkabilir (Dobrovolskaia ve McNeil, 2007). Böyle bir durumda partiküller hedeflenerek çok hızlı bir şekilde uzaklaştırılacaktır. Bir başka istenmeyen olay da NP'lerin agregasyonu ile ortaya çıkar; bu da arterleri ve damarları tıkalı hale getirecek pıhtılar oluşturabilir. Aynı zamanda, spesifik olmayan etkileşimler için nanotoksosite üretilebilir; böylece, NP'ler farklı proteinlerle beklenmedik ve kontrolsüz bir şekilde etkileşime girerek istenmeyen yan etkilere neden olabilir. NP yüzeyinde adsorbe edilen bu proteinlerin mimarisi karmaşıktır ancak sert ve yumuşak korona tabakaları olarak tanımlanabilir. Sert korona tabakası NP yüzeyine güçlü bir şekilde adsorbe olan proteinleri içerir ( $K_d \approx 10^{-6}$  ila  $10^{-8}$  M) (Lacerda ve ark., 2009), yumuşak korona tabakası ise sert korona tabakası ile zayıf

etkileşime giren serum proteinlerini içerir. Bu en dıştaki tabakanın dinamik olması ve NP'lerin *in vivo* yaşamı boyunca değişebilmesi muhtemeldir. Fibronektin ve albümin gibi proteinler birçok materyal yüzeyine yüksek afiniteye sahiptir ve bu reaksiyonlardan sonra yüzeylerini biyolojik olarak tanınmayan bir materyalden tanınan bir materyale dönüştürür. Bu anlamda, bir kez absorbe edildikten sonra, bu NP'ler biyolojik olarak yayılabilirliklerini, temizlenmelerini ve toksisitelerini etkileyecek yeni yüzey özellikleri kazanırlar. Böylece, NP'lerin statik ve dinamik stabilitesi biyolojik proteinleri absorbe ettikçe değişecektir. NP'lerin bozunmaya karşı direnci nedeniyle fagosite edildikten sonra vücuttan tamamen temizlenmesi mümkün olmayabilir. Protein emilim kapasitesi NP yüzeyinin yüküne ve hidrofobikliğine bağlıdır (Lück ve ark., 1998). Yüksek yüzey yükü yoğunluğuna sahip lateks NP'lerin, benzer boyut ve hidrofobikliğe sahip olanlara göre proteinleri daha büyük ölçüde adsorbe ettiği bulunmuştur (Gessner ve ark., 2002). Aynı zamanda NP'lerin hidrofobikliğindeki azalma protein adsorpsiyonunda da azalmaya neden olur. Boyut ve şekil gibi diğer malzeme parametreleri protein adsorpsiyonunu etkiler. Bu nedenle, silika NP'lerin eğriliğinin adsorbe edilen proteinlerin ikincil yapısını büyük ölçüde etkilediği bulunmuştur; bu özellik genel stabiliteyi ve dolayısıyla bu proteinlerin NP yüzeyine adsorpsiyonunu belirler. Bu, söz konusu silika NP'lerin dinamik kararlılığının tahmin edilmesinin daha da zor olduğu anlamına gelmektedir. Maruz kalınan sonuçlar analiz edildiğinde, protein-NP etkileşimlerinin incelenmesi toksikolojik etkilerin bir yönü olarak da vazgeçilmezdir. Bu bağlamda, serum proteinine maruz kalmadan önce ve sonra NP yüzey karakterizasyonu gereklidir. Tek proteinli çözeltilerde veya kompleks bir karışımda adsorpsiyon kinetiği çalışmaları, protein-NP reaksiyonlarında afinite verileri sağlayacaktır. Protein adsorpsiyonunu önlemek amacıyla NP'lerin yüzeyini stabilize etmek için bazı çabalar sarf edilmiştir. Stratejilerden biri NP yüzeyini PEG gibi uzun polimer zinciriyle kaplamaktır (Otsuka ve ark., 2003). PEG hidrofilikliği ve diğer moleküllerin sterik iticiliği, fibronektin gibi proteinlerin biyomateryal yüzeylerine adsorbe olmasını önler. Benzer şekilde, sakkaritler, lipidler, doğal proteinler ve nükleik asitler gibi diğer yüzeye immobilize biyomoleküller, spesifik olmayan protein adsorpsiyonunu ve dolayısıyla NP'lerin istenmeyen biyo-tanınmasını azaltmak için kullanılabilir.

Nano-biyo arayüzünde NP-hücre etkileşimlerini etkileyebilecek pek çok faktör bulunmaktadır. NP'lerin boyutu, şekli ve yükü; ligand yoğunluğu, reseptör ifade seviyeleri; içselleştirme mekanizması ve hücre özellikleri (fenotiplerin konumu) bu faktörler arasında sayılabilir. Ligand kaplı NP'ler



membrandaki reseptörlere bağlanır ve hücre içine girmeden bir sinyal kaskadını indükler. Ligand kaplı NP'ler ayrıca vezikülü hiç terk etmeden hücre tarafından içselleştirilebilir ve ekzositoz yapılabilir. Membran reseptörüne bağlanırlar, hücrelere girerler ve sonra hücreden çıkarlar (Albanese ve ark., 2012). Ayrıca, NP'ler hücre yüzeyi membranı ile spesifik olmayan bir şekilde etkileşime girebilir; bu anlamda, NP'lerin öngörülemeyen etkileri ve dolayısıyla dinamik stabilitede değişiklikler beklenir. NP'ye bağlı ligandlar ve hücresele reseptörler arasındaki etkileşimler, bir nanomateryalin tasarlanmış geometrisine ve ligand yoğunluğuna bağlıdır. NP, tasarımı reseptör hedefiyle etkileşime giren ligand sayısını belirleyen bir iskele görevi görür. NP üzerindeki birden fazla ligand hücre üzerindeki birden fazla reseptörle etkileşime girdiğinde çok değerlikli bir etki ortaya çıkar. Kompleks halindeki ligandların bağlanma gücü, bireysel afinitelerin toplamından daha fazladır ve tüm kompleks için avidite olarak ölçülür. Bu olgu, Herceptin'in ErbB2 reseptörüne bağlanma afinitesinin çözeltide  $10^{-10}$  M, 10 nm nanopartikül üzerinde  $5,5 \times 10^{-12}$  M ve 70 nm nanopartikül üzerinde  $1,5 \times 10^{-13}$  M olarak analiz edilmesiyle örneklendirilebilir (Jiang ve ark., 2008). Bu örnek, NP yüzeyindeki daha yüksek protein yoğunluğu nedeniyle bir ligandın bağlanma afinitesinin bir NP'nin boyutuyla orantılı olarak nasıl arttığını göstermektedir. Benzer şekilde, reseptöre özgü peptitler bir NP yüzeyine konjuge edildiklerinde anjiyogenezi indüklemeye yeteneklerini geliştirmiştir (Kanas ve ark., 2011). Peptidin yapılandırılmış bir iskele üzerinde sunulması, reseptör aracılı sinyallemeyle ilgili olan anjiyogenezi artırmıştır. Bu bulgular, bir ligandın çözeltide serbest olmasına kıyasla bir NP'ye bağlı olmasının avantajlarını vurgulamaktadır. NP yüzeyi, aviditeyi ve potansiyel olarak hücre sinyallemesini artıran yüksek oranda konsantrasyonlu ligand bölgesi oluşturur.

NP-ligand kompleksleri ile ilgili ek bir endişe, tasarlanmış yüzeye bağlandığında proteinlerin potansiyel denatürasyonudur. Bir proteinin denatürasyonu, reseptörüne bağlanmasını etkileyebilir, spesifik olmayan etkileşimleri artırabilir veya iltihaplanmaya neden olabilir. Örneğin lizozim, altın NP'lere bağlandığında denatüre olur ve diğer lizozim molekülleriyle etkileşime girerek protein-NP agregatları üretir (Zhang ve ark., 2009). Fibrinojen de poliakrilik asit kaplı altın NP'lerin yüzeyine bağlandığında açılır. Denatüre fibrinojen daha sonra integrin reseptörü Mac-1'e bağlanabilir ve inflamasyona yol açabilir (Deng ve ark., 2011). NP'leri kaplamak için hangi ligandın kullanıldığı da aşağıdaki biyolojik tepkileri etkileyecektir. NP'ler reseptörlerine bağlandıktan sonra tipik olarak reseptör aracılı endositoz yoluyla

hücreye girecektir (Albanese ve ark., 2012). NP-ligand konjugatının reseptöre bağlanması Gibbs serbest enerjisinde lokalize bir düşüşe neden olur ve bu da membranın kapalı bir vezikül yapısı oluşturmak üzere NP'nin etrafını sarmasına yol açar (Gao ve ark., 2005). Örneğin, NP'ler aynı reseptörü hedef alan iki farklı proteinle kaplandığında NP'lerin alımı ve sitotoksitesisi önemli ölçüde değişir (Wang ve ark., 2010). NP'lerin hücre içi boşluktaki lokalizasyonu, mitokondriyal lokalizasyon dizisi gibi peptitler kullanılarak yönlendirilebilir. Bir NP endolizozomal sistemden kaçacak şekilde tasarlanmışsa, sitozole girebilir ve burada çok sayıda organelle etkileşime girmekte serbesttir ve hücre davranışını etkileyebilir. Sitozole girdikten sonra NP'ler, mitokondriyal işlevi bozarak, reaktif oksijen türlerinin üretimini ve oksidatif stres aracılı sinyalleme kaskadının aktivasyonunu tetikleyerek biyolojik tepkiler ortaya çıkarabilir (AshaRani ve ark., 2008).

NP'lerin bağlanmasının rolü hakkında bazı örnekler açıklanabilir. Amfifilik lipitlerin dendrimerlerle bağlanması hücre zarının yapısını bozarak hücre içi moleküllerin sızmasına neden olabilir. Dendrimer bazlı NP'lerin günlük uygulanması protein konsantrasyonunu azaltabilir ve akut hipoalbuminemiye yol açabilir. Dendrimer ve nükleik asitler arasındaki etkileşimler hücre döngüsünde ve protein sentezinde müdahalelere neden olabilir. Bir dendrimerin moleküler toksisitesi büyük ölçüde yüzey işlevselliğine bağlıdır (Cheng ve ark., 2011). Bazı enzimler asetilkolinesteraz gibi poliamidoamin (PAMAM) dendrimerlerine bağlandıklarında konformasyonel değişiklikler gösterebilir (Shcharbin ve ark., 2006). Glukoz oksidaz, amin sonlandırılmış PAMAM dendrimerleri nedeniyle katalitik aktivitesinin neredeyse %50'sini kaybetmiştir (Miller ve ark., 2006), buna karşın streptokinaz, enzim bir karboksilat sonlandırılmış PAMAM dendrimerine bağlandığında protein aktivitesinin %80'ini koruduğu gözlemlenmiştir (Wang ve ark., 2007). Karboksilat sonlandırılmış bir poli(fenilen sülfür) dendrimerine konjuge edilen lipaz, 20 kez geri dönüşümden sonra bile orijinal aktivitesinin %90'ını korumuştur (Yemul ve Imae, 2005). Bununla birlikte, yapılan bir çalışmada, poli(benzil eter) ve poli(etilen glikol) (PEG)'den oluşan bir dendritik polimer, lakkazın immobilizasyonu için dostça bir ortam oluşturmuştur ve hatta bağlı enzimin katalitik aktivitesini iyileştirdiği bildirilmiştir (Gitsov ve ark., 2008).

### 3. İlaç Nanopartiküllerin Stabilitesi

İlaç NP'lerin benzersiz özellikleri, oral, parenteral, oküler, pulmoner, dermal ve diğer özel dağıtım sistemleri dahil olmak üzere çeşitli dozaj formlarında kapsamlı bir şekilde uygulanmalarını sağlamıştır (Patravale ve ark., 2004; Rabinow, 2004; Murthy, 2007; Gao ve ark., 2008; Yang ve ark., 2008). Farklı dozaj formları sedimantasyon, partikül aglomerasyonu veya kristal büyümesi gibi bazı ortak stabilite sorunlarını paylaşabilse de bunların ilaç ürünleri üzerindeki etkileri oldukça farklıdır. Örneğin, partikül aglomerasyonu pulmoner ilaç dağıtımında önemli bir sorun olabilir çünkü birikme miktarını/yerini ve dolayısıyla ilaç etkinliğini etkiler. Öte yandan, intravenöz formülasyonlarda aglomerasyon kan kılcal damarlarının tıkanmasına ve kan akışının engellenmesine neden olabilir. Ayrıca, stabilizatörlerin seçimi de dispersiyon ortamı, dozaj formu ile yakından ilgilidir ve FDA düzenlemeleri tarafından sıkı bir şekilde yönetilmektedir. Bugüne kadar, oral dozaj formu için onaylanmış stabilizatörlerde çok çeşitli seçenekler varken, inhalasyon için izin verilen yardımcı maddeler çok sınırlıdır (Rogueda, 2005).

İlaç NP'leri nihai ilaç ürünlerinde ya kuru toz ya da süspansiyon formunda bulunur. Kuru toz formuna örnek olarak kuru toz inhaler, enjeksiyon için liyofilize toz ve oral tabletler veya kapsüller verilebilir. Katı dozaj formları genellikle iyi depolama stabilite profillerine sahiptir, bu nedenle nanosüspansiyon stabilitesini artırmak için yaygın bir strateji süspansiyonu katı forma dönüştürmektir (Abdelwahed ve ark., 2006; Van Eerdenbrugh ve ark., 2008). Rapor edilen stabilite endişelerinin çoğu, ilaç NP'lerinin stabilizatör içeren veya içermeyen bir ortamda dağıldığı nanosüspansiyonlardan kaynaklanmaktadır. Buna ek olarak, küçük ve büyük biyomolekül formülasyonlarının stabilitesinde rol oynayan mekanizmalar, moleküler yapı farklılıkları nedeniyle farklıdır. Küçük moleküllü bir ilaç düşük molekül ağırlıklı polimerik olmayan organik bir bileşik olarak tanımlanırken, büyük biyomoleküller protein/peptid gibi büyük biyoaktif molekülleri ifade eder. Protein/peptid stabilitesi ile ilgili en önemli konulardan biri, biyolojik aktivitesini korumak için ikincil ve üçüncül yapı gibi 3 boyutlu moleküler konformasyonu korumaktır, oysa küçük organik moleküller için böyle bir endişe yoktur (Banga, 2005; Koppenol, 2007).

Nanosüspansiyonlarla ilişkili stabilite sorunları geniş çapta araştırılmıştır ve fiziksel ve kimyasal stabilite olarak kategorize edilebilir. Yaygın fiziksel

stabilite sorunları arasında çökelme/kremleşme, aglomerasyon, kristal büyümesi ve kristallik durumunun değişimi yer almaktadır. İlaç partikülleri, ortam yoğunluklarına bağlı olarak formülasyon ortamında çökebilir veya kremleşebilir (Kim, 2004; Nutan ve Reddy, 2010). Partikül boyutunu küçültmek, partikül çökmesini azaltmak için kullanılan en yaygın stratejidir. İlaç partiküllerinin yoğunluğunu ortamla eşleştirmek veya ortam viskozitesini artırmak, sedimentasyon sorunlarını hafifletmek için yaygın olarak kullanılan diğer yaklaşımlardır (Ali ve Lehmussaari, 2006; Nutan ve Reddy, 2010).

NP'lerin geniş yüzey alanı, termodinamik olarak elverişsiz olan yüksek toplam yüzey enerjisine neden olur. Buna göre, partiküller yüzey enerjisini en aza indirmek için aglomere olma eğilimindedir. Aglomerasyon nanosüspansiyonlar için hızlı çökelme/kremleşme, kristal büyümesi ve tutarsız dozajlama gibi çeşitli sorunlara neden olabilir. Bu sorunun üstesinden gelmek için en yaygın strateji formülasyona stabilizatörler eklemektir. Güvenlik ve düzenleme hususlarına ek olarak, stabilizatörlerin seçimi, partiküllerin yüzeyine ıslatma sağlama ve NP'lerin aglomere olmasını önlemek için bir bariyer sunma yeteneklerine dayanmaktadır (Gao ve ark., 2008; Van Eerdenbrugh ve ark., 2008).

Stabilizatörler sadece nanosüspansiyonlar için stabilite sağlamak için değil, aynı zamanda parçacık üretimi sırasında nanokristallerin başarılı bir şekilde oluşması ve stabilizasyonunu sağlamak için de kullanılır. Lee ve arkadaşları, hidrofobik bölümler olarak alanin, fenilalanin veya lösin ile hidrofilik bölümler olarak lizin içeren çeşitli amino asit kopolimerleri tasarlamış ve sentezlemiştir (Lee ve ark., 2005). Hidroksipropil selüloz (HPC) ve amino asit kopolimerleri varlığında naproksen nanosüspansiyonları üretmek için ıslak ufalama kullanılmıştır. Alanin ile lizin kopolimeri mikron altı partiküller üretmezken, fenilalanin ve lösin ile diğer kopolimerler NP'leri oluşturabilmiştir. Nanokristallerin boyutunun 1 aylık depolama süresince sabit olduğu kanıtlanmış ve ıslak ufalama işleminden sonra kristallikliğinin korunduğu da gösterilmiştir. Ayrıca, kopolimerlerin hidrofobikliği, hidrofobik ilaç yüzeylerine güçlü polimer adsorpsiyonuna atfedilen stabil nanosüspansiyonların elde edilmesinde kilit faktör olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma kopolimerlerin ilaç nanopartikülleriyle nasıl etkileşime girdiğine dair derinlemesine bir tartışma sunmasa da stabil bir nanosüspansiyon üretimini kolaylaştırmak için çapa grubunun (ilaç yüzeyine bağlı olan) dikkatli bir şekilde seçilmesinin önemini göstermiştir.

Kristal hal, ilaç stabilitesini, çözünürlüğünü, çözünmesini ve etkinliğini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Kristal hal değişimi ile ilgili temel sorun amorf ve kristal hal arasındaki dönüşümdür. Yüksek enerjili yukarıdan aşağıya üretim teknikleri kısmen amorf nanosüspansiyonlar oluşturma eğilimindedir ve bazı aşağıdan yukarıya teknikler tamamen amorf partiküller oluşturabilir. Yüksek enerjili amorf partiküller kararsızdır ve zaman içinde düşük enerjili kristal haline dönüşmeye meyillidir. Bu dönüşüm sıcaklık, dispersiyon ortamı, stabilizatörler ve kristal partiküllerin varlığı gibi farklı parametrelere bağlı olarak gerçekleşir. Lindfors ve arkadaşları (2007), sonikasyon altında anti-solvent çökeltme yoluyla Felodipin amorf nanosüspansiyonları üretmiştir.

Amorf NP'lerin az miktarda kristal partikül varlığında oldukça kararsız olduğunu göstermişlerdir. Bu durum, Ostwald olgunlaşmasına benzer bir difüzyon süreci başlatarak amorf NP'lerin hızlı bir şekilde kristal hale dönüşmesine yol açan amorf ve kristal NP'ler arasındaki doyumluk çözünürlüğü farklılıklarına bağlanmıştır. Amorf partiküllerin çoğunun kararsız olduğu gösterilmiş olsa da, birkaç amorf nanosüspansiyonun belirli bir süre boyunca kararlı olduğu gösterilmiştir. Mikroakışkan reaktörler kullanılarak aşağıdan yukarıya nanopresipitasyon tekniğiyle üretilen amorf hidrokortizon nanosüspansiyonlarının oda sıcaklığında 3 ay depolandıktan sonra stabil kaldığı bulunmuştur (Ali ve ark., 2009). Anti-solvent çökeltme tekniği ile hazırlanan amorf all-trans retinoik asit nanosüspansiyonlarının da 4 °C'de 6 ay boyunca depolandıktan sonra stabil olduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2006).

#### 4. İMMÜN SİSTEM VE STABİLİTE

İmmün tepki, immün sisteminin hücreleri ve molekülleri tarafından düzenlenen, konağın yabancı maddelere verdiği tepkidir. İmmün sisteminin görevi, vücuttan istenmeyen yabancı maddeleri ortadan kaldırmak ve homeostazı korumaktır (Abbas ve ark., 2014). 400 milyon yıldan uzun süren evrim, immün sisteminin günümüzdeki oldukça karmaşık ve uyarlanabilir savunma mekanizmasına dönüşmesiyle sonuçlanmıştır (Pezutto ve Burmester, 2003). Daha iyi tanı veya tedavi sonuçları için immün sistemi düzenlemeye yönelik ihtiyaç devam etmektedir. Bu düzenleme, immün sistemin yeni enfeksiyonlara karşı aktivasyonu veya vücudu terapötik müdahaleleri almaya hazırlamak için baskılanması üzerine olabilir. NP'ler, terapötik ajanlar için bir taşıyıcı sınıftır. Ayrıca, doğal olarak terapötik veya görüntüleme sistemleri olarak da hareket edebilirler. NP'lerin *in vitro* ve *in vivo* kaderini ve ilgili

immün toksisitelerini anlamak, terapötik ve tanı uygulamaları için seçimlerini bilgilendirmek açısından çok önemlidir.

NP'ler, immün sisteminin tanınmasından kaçınmak ya da immün sistem tepkilerini spesifik olarak engellemek veya geliştirmek üzere tasarlanabilir (Zolnik ve ark., 2010). Bu nedenle, tüm yeni kimyasal ve biyolojik varlıkların endüstride, biyolojide ve tıpta kullanılmadan önce immün sistem ile etkileşimlerinin yeterli şekilde araştırılması gerekmektedir. Bir NP ile immün sistem arasındaki etkileşim, enflamatuvar ve otoimmün bozukluklar için aşılardan veya terapötikler gibi çeşitli faydalı tıbbi uygulamalara olanak sağladığında arzu edilen bir durum olarak kabul edilir. NP tabanlı dağıtım sistemleri aşağıdaki potansiyel avantajları sunmaktadır: (1) ilaçların, peptitlerin ve genlerin bölgeye özgü dağıtımı; (2) geliştirilmiş *in vitro* ve *in vivo* stabilite ve (3) azaltılmış yan etki profili.

NP'ler ve immün hücreler arasındaki ilişki oldukça dinamiktir. İmmün sistem hücreleri içindeki NP'lerin ayrıntılı yaşam döngüsü ve bunlara karşı hücre tepkisi hala yeterince anlaşılmamıştır. Vücuda yabancı bir madde olarak NP'lerin uygulanması, istenen (örneğin, aşı adjuvanı olarak bağışıklık tepkisinin aktivasyonu) veya istenmeyen (örneğin, otoimmünite veya alerjik reaksiyon) immün reaksiyonlarına yol açabilen konakçının immün tepkisini aktive eder (Ilinskaya ve Dobrovolskaia, 2016). Bununla birlikte, NP'ler genellikle ilk olarak immün sistemin fagositik hücreleri (örneğin makrofajlar) tarafından alındığından, NP'ler ve immün sistem arasında immün stimülasyon veya immün supresyon gibi istenmeyen etkileşimler olabilir, bu da enflamatuvar veya otoimmün bozuklukları teşvik edebilir veya konağın enfeksiyonlara ve kansere yatkınlığını artırabilir. Sonuç olarak, NP'lerin immün hücreler tarafından yanlışlıkla yabancı olarak tanınması, NP'lere karşı çok düzeyli bir immün tepkiyle sonuçlanabilir ve nihayetinde konakçıda toksisiteye ve/veya terapötik etkinliğin eksikliğine neden olabilir. Örneğin, CNT'lere maruz kalan hayvanların akciğerlerinde, derilerinde ve plevral astarlarında granülom oluşumu gözlenmiştir (Poland ve ark., 2008). Bununla birlikte, NP'ler kendiliğinden tanındığında veya immün tanıma olmadığında, bu durum ilaç dağıtımı alanında önemli bir ilgi alanını temsil etmektedir. PAMAM dendrimerler, PEGile dendrimerler ve N-(2-hidroksipropil) metakrilamid (HPMA) gibi bazı polimerik NP'ler, diğerlerinin yanı sıra, minimum toksisite üreten yüksek stabilite, azaltılmış immünojenite ve sulu ve çoğu organik çözeltilerde mükemmel çözünürlük sunar (Yang ve Lopina, 2006). NP'lerin biyo-dağıtılabilişirliğinin diğer birçok yönü gibi, NP'ye maruz

kalındığında immün tepkilerin ortaya çıkma derecesi de NP'nin fizikokimyasal özellikleri tarafından yönetilmektedir (Vonarbourg ve ark., 2006). NP boyutu, yüzey yükü, hidrofobiklik/hidrofiliklik ve partikül kaplamasının sterik etkileri gibi özelliklerin immün sistem ile NP uyumluluğunu belirleyebileceği kabul edilmektedir (Dobrovolskaia ve McNeil, 2007). İmmün sistem doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık olarak adlandırılan iki farklı ve birbirine bağlı sisteme ayrılabilir. İlk koruma hattı doğuştan gelen bağışıklıktan oluşur, ancak NP'lerin immün tepkisinin önemli bir yönü hümmoral adaptif bağışıklığı (antikorlar) içerir. Antikorların IgG olarak opsonizasyonu, doğal öldürücü hücreleri (NK) ve kompleman sistemini uyararak NP'lere karşı hümmoral immün yanıtı aktive edebilir (Salvador-Morales ve ark., 2006). Son olarak, bu NP'ler antijen sunan hücreler tarafından fagosite edilecek ve retikülo-endotelial sistem (RES) tarafından uzaklaştırılacaktır. Hem opsonizasyon (bir antijenin bağışıklık sistemi hücreleri tarafından modifikasyon ve yıkım için işaretlendiği bir süreç) hem de fagositoz (yabancı cismin fagosit adı verilen bağışıklık sistemi hücreleri tarafından yutulduğu bir endositoz şekli) mühendislik ürünü biyomalzemelerin terapötik etkinliğinde önemli bir sorun teşkil edebilir (Pantic, 2011). Aşı geliştirme stratejilerinde olduğu gibi bazı durumlarda bu süreçler faydalı olabilir, çünkü NP'nin belirli fagositik yollara ulaşmasını sağlar ve böylece aşı etkinliğini artırır. Bununla birlikte, NP'ler ilaç dağıtım ortamı olarak kullanıldığında, opsonizasyon ve fagositoz hedef dokulardaki konsantrasyonları ve terapötik yüklerini önemli ölçüde azaltabilir, yarılanma ömrünü ve kullanılabilirliklerini sınırlayabilir.

NP'lerin fagositozu genellikle karaciğerde (Kupffer hücreleri tarafından) gerçekleşir, ancak dalak ve kemik iliği makrofajları da önemli rol oynayabilir. Bazı araştırmacılar, hidrofobik, negatif yüklü NP'lerin opsonizasyonunun, plazma proteinlerinin NP yüzeyinde artan adsorpsiyonu nedeniyle hidrofilik, nötr NP'lerden daha hızlı ve verimli bir şekilde gerçekleştiğini bulmuşlardır (Shan ve ark., 2009). Yaygın olarak kullanılan bir teknik, NP'lerin etilen oksidin polimerizasyonu ile hazırlanan bir polietilen bileşiği olan PEG ile konjugasyonudur. PEGilasyon prosedürü uzun yarı ömür, daha yüksek stabilite, suda çözünürlük ve daha düşük antijenite ve immünojenite ile sonuçlanarak spesifik hücre hedeflemesini çok daha kolay ve etkili hale getirir (Ryan ve ark., 2008). PEG zincirleri bir bariyer tabakası oluşturarak kan serumu opsoninlerinin yapışmasını önler ve partikülleri mononükleer fagositik sistem hücreleri için görünmez hale getirir (Owens ve Peppas, 2006). PEG veya diğer polimerler NP'leri immün sistemi tarafından tanınmaktan korusa da PEG kaplı

lipozomların uygulanmasından sonra PEG'e özgü antikörlerin oluştuğunu gösteren veriler de vardır (Ishida ve ark., 2007). Sonuç olarak, bu antikörler PEG lipozomlarının kandan temizlenmesinin hızlanmasına yol açmış ve enjekte edilen sonraki PEG lipozom dozlarının farmakokinetik profilinin değişmesine katkıda bulunmuştur (Ishida ve ark., 2006). Bu nedenle, partiküle özgü antikörlerin üretilmesinin NP tabanlı terapötiklerin etkinliğini ve güvenliğini etkileyebileceği unutulmamalıdır. NP'ler ayrıca antijen sunan hücrelerin doğrudan immün stimülasyonu ya da antijenin spesifik hücresel kompartmanlara iletilmesi yoluyla bir immün yanıt ortaya çıkarmak üzere tasarlanabilir (Kalkanidis ve ark., 2006).

NP'lerin belirli türlerde immün tepkiyi uyarma yeteneğine immünojenite denir (Ilinskaya ve Dobrovolskaia, 2016). NP immünojenitesi ilgi çekmektedir çünkü NP'lerin konjuge zayıf antijenlerin antijenitesini iyileştirdiği ve böylece adjuvan görevi gördüğü ve bazı NP'lerin kendilerinin antijenik olduğu gösterilmiştir. İlk özelliğin parçacık boyutuna ve yüzey yüküne bağlı olduğu gösterilmiştir (Manolova ve ark., 2008; Zolnik ve ark., 2010) ve iyileştirilmiş aşı formülasyonlarının geliştirilmesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir. Çok sayıda rapor farklı NP'lerin immünojenitesini incelemiştir. Bu raporlar, NP'lerin monositler, makrofajlar, dendritik hücreler, B ve T lenfositleri ve doğal öldürücü hücreler dahil olmak üzere farklı immün hücrelerin yanı sıra mast hücreleri ve endotel hücreleri dahil olmak üzere diğer immün fonksiyon hücreleri ile etkileşime girdiğini göstermiştir. Etkileşimin ardından NP'ler bu hücreler tarafından alınıp işlenir. Bu durum immün hücrelerin kaderini ve işlevini etkilemektedir (Lappas, 2015; Dykman ve Khlebtsov, 2017; Chen ve ark., 2018; Galbiati ve ark., 2018; Shah ve Dobrovolskaia, 2018). Partikül boyutunun, NP'lere yüklenen antijenlerin tip I (interferon- $\gamma$ ) veya tip II (IL-4) sitokinleri indükleyip indüklediğini belirlemede önemli bir faktör olduğu ve böylece immün tepkinin türüne katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Mottram ve ark., 2007). Nanoteknoloji odaklı formülasyonların aşı geliştirmede neden etkili olduğuna dair önde gelen bir hipotez, çözünmeyen NP'lerin antijenlerin kontrollü, yavaş salınımını sağlayarak enjeksiyon bölgesinde bir depo oluşturması ve istikrarsızlaştırıcı *in vivo* ortamda koruma sağlamasıdır (O'Hagan ve De Gregorio, 2009). Öte yandan, NP'lerin antijenikliği daha az tahmin edilebilir. Bazı çalışmalar, bir protein taşıyıcı olan BSA'ya konjuge edilmiş C60 fulleren türevleri bağışıklama için kullanıldığında partiküle özgü antikörlerin oluştuğunu göstermiştir (Chen ve ark., 1998). Farklı fulleren türevleri, altın kolloidler ve katyonik poliamidoamin ve polipropilenimin



dendrimerleri kullanılarak yapılan diğer çalışmalar, güçlü adjuvanların varlığında bile partiküle özgü immün yanıtın olmadığını bildirmiştir (Agashe ve ark., 2006). Bununla birlikte, sığır serum albüminine (BSA) konjuge edilen PAMAM dendrimerler artan antijenik özellikler göstermiş ve sonuç olarak *in vivo* olarak dendrimere özgü antikor gözlenmiştir (Lee ve ark., 2004). NP'ye özgü antikorların üretildiği bu çalışmaların tümünde antijenin bir protein taşıyıcı olan BSA ile konjuge edilmiş NP'lerden oluştuğunu belirtmek önemlidir. Dolayısıyla, bu sınırlı veriler suda çözünen bazı NP'lerin hapten gibi davranabileceğini, yani muhtemelen küçük boyutlarının bir sonucu olarak protein taşıyıcıya bağlanana kadar antijenik olmadıklarını düşündürebilir. NP'lere karşı immün tepkiyi artırabilecek bir diğer faktör de bu partiküllerin serum proteinini bağlama kapasitesidir ve protein yapısındaki değişiklik nedeniyle bir antijen gibi davranır.

Nanoemülsiyonlar, damlacık boyutu nanometre ölçeğinde olan emülsiyonlardır. Emülsiyon, emülsifiye edici bir maddenin varlığıyla stabilize edilmediği sürece, biri diğer sıvı faz (devam eden faz) içinde kürecikler halinde dağılmış (dağılmış faz) en az iki karışmayan sıvı fazdan oluşan termodinamik olarak kararsız bir sistemdir (Matrin, 1993). Emülsiyonlar geleneksel olarak aşılarda kullanılmaktadır. Nano-ölçekli emülsiyonların burun mukozasına nüfuz edebildiği ve antijeni antijen sunan hücrelere daha büyük boyutlu emülsiyonlardan daha verimli bir şekilde taşıyabildiği bildirilmiştir. Nano-ölçekli emülsiyon bazlı intranazal aşılar hepatit B, HIV, influenza ve şarbon için araştırılmıştır (Makidon ve ark., 2008). Bu tür bir uygulamanın bir örneği, şu anda Amerika Birleşik Devletleri'nde faz 1 klinik deneyleri devam eden nanoemülsiyon bazlı mevsimsel influenza aşısı NB-1008'dir. NP'ler tarafından başlatılan birçok immüno-stimülatör reaksiyona inflamatuvar sitokinlerin üretimi aracılık etmektedir. Çeşitli çalışmalarda farklı tipte NP'ler (altın kolloidler, dendrimerler, polimerler, lipid NP'ler, vb) tarafından sitokin indüksiyonu bildirilmiştir (Fifis ve ark., 2004; Mottram ve ark., 2007). Örneğin, CNT'lerin uzunluğunun *in vivo* olarak CNT tarafından indüklenen subkutanöz (sc) inflamasyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, birkaç çalışma sitokinlerin NP'ler tarafından değil, formülasyonda bulunan yüzey aktif maddeler veya bakteriyel endotoksinler tarafından indüklendiğini göstermiştir (Schöler ve ark., 2001). Bu nedenle, NP'lerin enflamatuvar özelliklerinin analizinden önce kimyasal (yan ürün oluşumu) ve biyolojik (endotoksin) kontaminantların varlığını ölçmek önemlidir. NP aracılı immün stimülasyon ile alerjik reaksiyonların ortaya çıkarılması hakkında çok az çalışma vardır.

Örneğin hem tek duvarlı hem de çok duvarlı CNT'ler, farelerde intranasal veya sc yollarla uygulandığında yumurta albümininin alerjenitesini artırmıştır. Bu gelişmiş alerjenite mekanizmasının CNT aracılı akut enflamatuar yanıt indüksiyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (Nygaard ve ark., 2009). NP'lerin üretimi sırasında mesleki maruziyet alerjik reaksiyonlarla ilişkilendirilmiştir. Dendrimer sentezi yaparken dendrimerlerin ara veya nihai ürünlerine yüksek düzeyde maruz kalan bir kimyagerde toksik epidermal nekroliz benzeri dermatit gözlemlenmiştir (Toyama ve ark., 2008). Ancak, dermatite NP'lerin mi yoksa sentezlerinde kullanılan reaktif türlerin mi neden olduğu açık değildir. Bundan dolayı NP'lerin insanlarda alerjiye neden olup olamayacağını anlamak için iyi karakterize edilmiş NP'ler ile ilgili hayvan modelleri ve NP uygulama yollarını içeren daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

NP'ler, doğuştan gelen veya adaptif bağışıklık tepkilerini uyarma yeteneklerine dayalı olarak immün stimülatör potansiyelleri açısından değerlendirilir. Kompleman kaskadının aktivasyonu, partiküllerin yanlışlıkla ya da tasarlanarak sistemik dolaşıma girmesi halinde zararlı olabilir çünkü bu durum aşırı duyarlılık reaksiyonlarına ve anafilaksiye yol açabilir (Chanan-Khan ve ark., 2003). Ayrıca tümör bölgelerinde kompleman sisteminin aktivasyonunun tümörle ilişkili immün hücreleri uyardığı, bunların tümör destekleyici bir fenotipe dönüşmesini teşvik ettiği ve böylece kanserin ilerlemesini uyardığı gösterilmiştir (Markiewski ve ark., 2008). Bu tür bir yanıt, kanser teşhisi veya tedavisine yönelik NP formülasyonlarının terapötik etkinliğini etkileyebilir. Öte yandan, partiküller subkutan veya intradermal uygulama için tasarlanmışsa, partiküller tarafından kompleman aktivasyonu aşırı etkinliğine fayda sağlayabilir. Birçok soru hala cevaplanmamış olsa da kompleman aktivasyonunun NP toksisitesi ve tıbbi uygulamalar için nanoteknoloji tabanlı formülasyonların geliştirilmesi ile nasıl ilişkili olduğunun aydınlatılması önemlidir.

## SONUÇ

Özetle, mevcut çalışmalar nanoteknolojinin gelişmiş stabilite, olumlu biyodağılım profilleri, daha yavaş ilaç salım kinetiği, daha düşük immün toksisite ve spesifik hücre popülasyonlarını hedefleme gibi pek çok avantaj sunduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, nanopartikül stabilitesini tanımlamak için, bu konu hakkında giderek artan sayıda önceki çalışmayla kanıtlandığı gibi, nanopartikül çeşidi ve boyuta bağlı özellikleri önem arz etmektedir. Bununla birlikte stabilite, dozaj formu (nanosüspansiyon ve kuru katı), dispersiyon

ortamı (sulu ve susuz), uygulama yolu (oral, inhalasyon, IV veya diğer yollar), üretim tekniği (yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya) ve ilacın doğası (küçük moleküller ve büyük biyomoleküller) gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Dahası, NP'ler doğası gereği oldukça karmaşık olduğundan, biyolojik bileşenlerle birçok beklenmedik etkileşim (toplu özelliklere dayalı) ortaya çıkabilir. Önümüzdeki on yılda, NP'lerin fizikokimyasal özelliklerinin ve yan ürünlerinin hücre altı organelleri, hücreleri, dokuları ve organizmalarla nasıl etkileşime girdiğini açıklamak çok önemli olacaktır. Bu, NP içeren yeni nesil toksik olmayan ürünleri tasarlama yeteneğimizi büyük ölçüde etkileyecektir. İyi yürütülen temel çalışmaların yayınlanması, *in vitro* ve *in vivo* başarılı NP tabanlı stratejiler için tasarım kriterleri sağlayacaktır. Son yıllarda NP'lerin immün sistem bileşenleriyle etkileşimine ilişkin anlayışımız gelişmiş olsa da birçok soru hala daha kapsamlı bir araştırma ve daha derin bir anlayış gerektirmektedir. NP'lerin immün sistem üzerindeki etkilerini tanımlayan fizikokimyasal parametrelerine ilişkin anlayışımızı geliştirmek için partikül immün modülatör etkilerini araştıran daha fazla mekanik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Stabilizatör taramasıyla ilişkili önemli zorluklara rağmen, bir stabilizatör veya stabilizatör kombinasyonu eklemek, nanostabiliteyi artırmak için hala en yaygın kullanılan ve tercih edilen yaklaşımdır. NP içindeki parçacık-parçacık etkileşimlerinin daha iyi anlaşılması ve yüksek verimli stabilizatör tarama araçlarının geliştirilmesi, verimli stabilizatör seçimini kolaylaştırmak için esastır. Kendiliğinden stabilize olan NP'lerin geliştirilmesi, şu anda çok karmaşık ve zor olarak görülse de parçacık mühendisliği alanındaki sürekli ilerlemeyle birlikte büyümesi beklenmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2014). *Cellular and Molecular Immunology E-Book: Cellular and Molecular Immunology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: formulation, process and storage considerations. *Advanced drug delivery reviews*, 58(15), 1688-1713.
- Agashe, H. B., Dutta, T., Garg, M., & Jain, N. K. (2006). Investigations on the toxicological profile of functionalized fifth-generation poly (propylene imine) dendrimer. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 58(11), 1491-1498.
- Ai, J., Biazar, E., Jafarpour, M., Montazeri, M., Majdi, A., Aminifard, S., ... & Rad, H. G. (2011). Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs. *International journal of nanomedicine*, 1117-1127.
- Aillon, K. L., Xie, Y., El-Gendy, N., Berkland, C. J., & Forrest, M. L. (2009). Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity. *Advanced drug delivery reviews*, 61(6), 457-466.
- Albanese, A., Tang, P. S., & Chan, W. C. (2012). The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. *Annual review of biomedical engineering*, 14(1), 1-16.
- Ali, H. S., York, P., & Blagden, N. (2009). Preparation of hydrocortisone nanosuspension through a bottom-up nanoprecipitation technique using microfluidic reactors. *International journal of pharmaceutics*, 375(1-2), 107-113.
- Ali, Y., & Lehmuusaari, K. (2006). Industrial perspective in ocular drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 58(11), 1258-1268.
- Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2015). A review of clinical translation of inorganic nanoparticles. *The AAPS journal*, 17, 1041-1054.
- Ariga, K., Minami, K., Ebara, M., & Nakanishi, J. (2016). What are the emerging concepts and challenges in NANO? Nanotectonics, hand-operating nanotechnology and mechanobiology. *Polymer journal*, 48(4), 371-389.
- AshaRani, P. V., Low Kah Mun, G., Hande, M. P., & Valiyaveetil, S. (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS nano*, 3(2), 279-290.

- Banga, A. K. (2005). Structure and analysis of therapeutic peptides and proteins. *Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing and Delivery Systems (second Edition)*. pp. 33-66. Taylor & Francis.
- Borm, P. J., & Kreyling, W. (2004). Toxicological hazards of inhaled nanoparticles—potential implications for drug delivery. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 4(5), 521-531.
- Casey, A., Davoren, M., Herzog, E., Lyng, F. M., Byrne, H. J., & Chambers, G. (2007a). Probing the interaction of single walled carbon nanotubes within cell culture medium as a precursor to toxicity testing. *Carbon*, 45(1), 34-40.
- Casey, A., Herzog, E., Davoren, M., Lyng, F. M., Byrne, H. J., & Chambers, G. (2007b). Spectroscopic analysis confirms the interactions between single walled carbon nanotubes and various dyes commonly used to assess cytotoxicity. *Carbon*, 45(7), 1425-1432.
- Chanan-Khan, A., Szebeni, J., Savay, S., Liebes, L., Rafique, N. M., Alving, C. R., & Muggia, F. M. (2003). Complement activation following first exposure to pegylated liposomal doxorubicin (Doxil®): possible role in hypersensitivity reactions. *Annals of Oncology*, 14(9), 1430-1437.
- Chen, B. X., Wilson, S. R., Das, M., Coughlin, D. J., & Erlanger, B. F. (1998). Antigenicity of fullerenes: antibodies specific for fullerenes and their characteristics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(18), 10809-10813.
- Chen, L., Liu, J., Zhang, Y., Zhang, G., Kang, Y., Chen, A., ... & Shao, L. (2018). The toxicity of silica nanoparticles to the immune system. *Nanomedicine*, 13(15), 1939-1962.
- Cheng, Y., Zhao, L., Li, Y., & Xu, T. (2011). Design of biocompatible dendrimers for cancer diagnosis and therapy: current status and future perspectives. *Chemical Society Reviews*, 40(5), 2673-2703.
- Deng, Z. J., Liang, M., Monteiro, M., Toth, I., & Minchin, R. F. (2011). Nanoparticle-induced unfolding of fibrinogen promotes Mac-1 receptor activation and inflammation. *Nature nanotechnology*, 6(1), 39-44.
- Dobrovolskaia, M. A., & McNeil, S. E. (2007). Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature nanotechnology*, 2(8), 469-478.
- Dykman, L. A., & Khlebtsov, N. G. (2017). Immunological properties of gold nanoparticles. *Chemical science*, 8(3), 1719-1735.
- Elgrabli, D. A. N., Abella-Gallart, S., Aguerre-Chariol, O., Robidel, F., Rogerieux, F., Boczkowski, J., & Lacroix, G. (2007). Effect of BSA on

- carbon nanotube dispersion for in vivo and in vitro studies. *Nanotoxicology*, 1(4), 266-278.
- Etheridge, M. L., Campbell, S. A., Erdman, A. G., Haynes, C. L., Wolf, S. M., & McCullough, J. (2013). The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 9(1), 1-14.
- Ferraris, S., Bobbio, A., Miola, M., & Spriano, S. (2015). Micro- and nano-textured, hydrophilic and bioactive titanium dental implants. *Surface and Coatings Technology*, 276, 374-383.
- Fifis, T., Gamvrellis, A., Crimeen-Irwin, B., Pietersz, G. A., Li, J., Mottram, P. L., ... & Plebanski, M. (2004). Size-dependent immunogenicity: therapeutic and protective properties of nano-vaccines against tumors. *The Journal of Immunology*, 173(5), 3148-3154.
- Fischer, H. C., & Chan, W. C. (2007). Nanotoxicity: the growing need for in vivo study. *Current opinion in biotechnology*, 18(6), 565-571.
- Galbiati, V., Cornaghi, L., Gianazza, E., Potenza, M. A., Donetti, E., Marinovich, M., & Corsini, E. (2018). In vitro assessment of silver nanoparticles immunotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 363-374.
- Gao, H., Shi, W., & Freund, L. B. (2005). Mechanics of receptor-mediated endocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(27), 9469-9474.
- Gao, L., Zhang, D., & Chen, M. (2008). Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system. *Journal of Nanoparticle Research*, 10, 845-862.
- Gessner, A., Lieske, A., Paulke, B. R., & Müller, R. H. (2002). Influence of surface charge density on protein adsorption on polymeric nanoparticles: analysis by two-dimensional electrophoresis. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 54(2), 165-170.
- Gisbert-Quilis, P., Masetti, M., Morla-Folch, J., Fitzgerald, J. M., Pazos-Perez, N., Garcia-Rico, E., ... & Guerrini, L. (2017). The structure of short and genomic DNA at the interparticle junctions of cationic nanoparticles. *Advanced Materials Interfaces*, 4(17), 1700724.
- Gitsov, I., Hamzik, J., Ryan, J., Simonyan, A., Nakas, J. P., Omori, S., ... & Tanenbaum, S. W. (2008). Enzymatic nanoreactors for environmentally benign biotransformations. 1. Formation and catalytic activity of

- supramolecular complexes of laccase and linear- dendritic block copolymers. *Biomacromolecules*, 9(3), 804-811.
- Gormley, A. J., & Ghandehari, H. (2009). Evaluation of toxicity of nanostructures in biological systems. *Nanotoxicity: John Wiley & Sons, Ltd*, 115-59.
- Hahn, A., Fuhlrott, J., Loos, A., & Barcikowski, S. (2012). Cytotoxicity and ion release of alloy nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research*, 14, 1-10.
- Henriksen-Lacey, M., Carregal-Romero, S., & Liz-Marzán, L. M. (2017). Current challenges toward in vitro cellular validation of inorganic nanoparticles. *Bioconjugate chemistry*, 28(1), 212-221.
- Hussain, N., Jani, P. U., & Florence, A. T. (1997). Enhanced oral uptake of tomato lectin-conjugated nanoparticles in the rat. *Pharmaceutical research*, 14, 613-618.
- Ilnskaya, A. N., & Dobrovolskaia, M. A. (2016). Understanding the immunogenicity and antigenicity of nanomaterials: Past, present and future. *Toxicology and applied pharmacology*, 299, 70-77.
- Ishida, T., Atobe, K., Wang, X., & Kiwada, H. (2006). Accelerated blood clearance of PEGylated liposomes upon repeated injections: effect of doxorubicin-encapsulation and high-dose first injection. *Journal of controlled release*, 115(3), 251-258.
- Ishida, T., Wang, X., Shimizu, T., Nawata, K., & Kiwada, H. (2007). PEGylated liposomes elicit an anti-PEG IgM response in a T cell-independent manner. *Journal of controlled release*, 122(3), 349-355.
- Jessl, S., Tebbe, M., Guerrini, L., Fery, A., Alvarez-Puebla, R. A., & Pazos-Perez, N. (2018). Silver-Assisted Synthesis of Gold Nanorods: the Relation between Silver Additive and Iodide Impurities. *Small*, 14(20), 1703879.
- Jiang, W., Kim, B. Y., Rutka, J. T., & Chan, W. C. (2008). Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent. *Nature nanotechnology*, 3(3), 145-150.
- Jin, H., Heller, D. A., Sharma, R., & Strano, M. S. (2009). Size-dependent cellular uptake and expulsion of single-walled carbon nanotubes: single particle tracking and a generic uptake model for nanoparticles. *ACS nano*, 3(1), 149-158.
- Jones, C. F., & Grainger, D. W. (2009). In vitro assessments of nanomaterial toxicity. *Advanced drug delivery reviews*, 61(6), 438-456.

- Kalkanidis, M., Pietersz, G. A., Xiang, S. D., Mottram, P. L., Crimeen-Irwin, B., Ardipradja, K., & Plebanski, M. (2006). Methods for nano-particle based vaccine formulation and evaluation of their immunogenicity. *Methods*, 40(1), 20-29.
- Kanaras, A. G., Bartczak, D., Sanchez-Elsner, T., Millar, T. M., & Muskens, O. L. (2011, February). Gold nanoparticles in biomedical applications. In *Colloidal Quantum Dots/Nanocrystals for Biomedical Applications VI* (Vol. 7909, pp. 87-95). SPIE.
- Kim, C. J. (2004). Surface chemistry and colloids. *Advanced pharmaceuticals, physicochemical principles*. CRC Press: Boca Raton.
- Kitchens, K. M., El-Sayed, M. E., & Ghandehari, H. (2005). Transepithelial and endothelial transport of poly (amidoamine) dendrimers. *Advanced drug delivery reviews*, 57(15), 2163-2176.
- Koo Lee, Y. E., Smith, R., & Kopelman, R. (2009). Nanoparticle PEBBLE sensors in live cells and in vivo. *Annual review of analytical chemistry*, 2(1), 57-76.
- Koppenol, S. (2007). Physical considerations in protein and peptide stability. In *Protein formulation and delivery* (pp. 61-90). CRC Press.
- Lacerda, S. H. D. P., Park, J. J., Meuse, C., Pristiniski, D., Becker, M. L., Karim, A., & Douglas, J. F. (2010). Interaction of gold nanoparticles with common human blood proteins. *ACS nano*, 4(1), 365-379.
- Lappas, C. M. (2015). The immunomodulatory effects of titanium dioxide and silver nanoparticles. *Food and chemical toxicology*, 85, 78-83.
- Lee, J., Lee, S. J., Choi, J. Y., Yoo, J. Y., & Ahn, C. H. (2005). Amphiphilic amino acid copolymers as stabilizers for the preparation of nanocrystal dispersion. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(5), 441-449.
- Lee, S. C., Parthasarathy, R., Botwin, K., Kunneman, D., Rowold, E., Lange, G., ... & Voliva, C. F. (2004). Biochemical and immunological properties of cytokines conjugated to dendritic polymers. *Biomedical Microdevices*, 6, 191-202.
- Levard, C., Hotze, E. M., Lowry, G. V., & Brown Jr, G. E. (2012). Environmental transformations of silver nanoparticles: impact on stability and toxicity. *Environmental science & technology*, 46(13), 6900-6914.
- Lindfors, L., Skantze, P., Skantze, U., Westergren, J., & Olsson, U. (2007). Amorphous drug nanosuspensions. 3. Particle dissolution and crystal growth. *Langmuir*, 23(19), 9866-9874.



- Lowry, G. V., Gregory, K. B., Apte, S. C., & Lead, J. R. (2012). Transformations of nanomaterials in the environment.
- Lück, M., Paulke, B. R., Schröder, W., Blunk, T., & Müller, R. H. (1998). Analysis of plasma protein adsorption on polymeric nanoparticles with different surface characteristics. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials*, 39(3), 478-485.
- Makidon, P. E., Bielinska, A. U., Nigavekar, S. S., Janczak, K. W., Knowlton, J., Scott, A. J., ... & Baker Jr, J. R. (2008). Pre-clinical evaluation of a novel nanoemulsion-based hepatitis B mucosal vaccine. *PloS one*, 3(8), e2954.
- Manolova, V., Flace, A., Bauer, M., Schwarz, K., Saudan, P., & Bachmann, M. F. (2008). Nanoparticles target distinct dendritic cell populations according to their size. *European journal of immunology*, 38(5), 1404-1413.
- Markiewski, M. M., DeAngelis, R. A., Benencia, F., Ricklin-Lichtsteiner, S. K., Koutoulaki, A., Gerard, C., ... & Lambris, J. D. (2008). Modulation of the antitumor immune response by complement. *Nature immunology*, 9(11), 1225-1235.
- Matrin, A. (1993). Physical pharmacy: physical chemical principles in the pharmaceutical sciences.
- Miller, S. A., Hong, E. D., & Wright, D. (2006). Rapid and efficient enzyme encapsulation in a dendrimer silica nanocomposite. *Macromolecular bioscience*, 6(10), 839-845.
- Moore, T. L., Rodriguez-Lorenzo, L., Hirsch, V., Balog, S., Urban, D., Jud, C., ... & Petri-Fink, A. (2015). Nanoparticle colloidal stability in cell culture media and impact on cellular interactions. *Chemical Society Reviews*, 44(17), 6287-6305.
- Rausch, K., Reuter, A., Fischer, K., & Schmidt, M. (2010). Evaluation of nanoparticle aggregation in human blood serum. *Biomacromolecules*, 11(11), 2836-2839.
- Mottram, P. L., Leong, D., Crimeen-Irwin, B., Gloster, S., Xiang, S. D., Meanger, J., ... & Plebanski, M. (2007). Type 1 and 2 immunity following vaccination is influenced by nanoparticle size: formulation of a model vaccine for respiratory syncytial virus. *Molecular pharmaceutics*, 4(1), 73-84.

- Murthy, S. K. (2007). Nanoparticles in modern medicine: state of the art and future challenges. *International journal of nanomedicine*, 2(2), 129-141.
- Na, H. B., Song, I. C., & Hyeon, T. (2009). Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents. *Advanced materials*, 21(21), 2133-2148.
- Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M., Somasundaran, P., ... & Thompson, M. (2009). Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature materials*, 8(7), 543-557.
- Nel, A., Xia, T., Madler, L., & Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *science*, 311(5761), 622-627.
- Norris, D. A., Puri, N., & Sinko, P. J. (1998). The effect of physical barriers and properties on the oral absorption of particulates. *Advanced drug delivery reviews*, 34(2-3), 135-154.
- Nutan, M. T., & Reddy, I. K. (2010). General principles of suspensions. *Pharmaceutical suspensions: from formulation development to Manufacturing*, 39-65.
- Nygaard, U. C., Hansen, J. S., Samuelsen, M., Alberg, T., Marioara, C. D., & Løvik, M. (2009). Single-walled and multi-walled carbon nanotubes promote allergic immune responses in mice. *Toxicological Sciences*, 109(1), 113-123.
- O'Hagan, D. T., & De Gregorio, E. (2009). The path to a successful vaccine adjuvant–‘the long and winding road’. *Drug discovery today*, 14(11-12), 541-551.
- Otsuka, H., Nagasaki, Y., & Kataoka, K. (2003). PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications. *Advanced drug delivery reviews*, 55(3), 403-419.
- Owens III, D. E., & Peppas, N. A. (2006). Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *International journal of pharmaceutics*, 307(1), 93-102.
- Pantic, I. (2011). Nanoparticles and modulation of immune responses. *Science progress*, 94(1), 97-107.
- Patravale, V. B., Date, A. A., & Kulkarni, R. M. (2004). Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 56(7), 827-840.
- Pazos-Perez, N., Pazos, E., Catala, C., Mir-Simon, B., Gómez-de Pedro, S., Sagales, J., ... & Alvarez-Puebla, R. A. (2016). Ultrasensitive multiplex optical quantification of bacteria in large samples of biofluids. *Scientific reports*, 6(1), 29014.

- Pezzutto, A., & Burmester, G. R. (2003). *Color Atlas of Immunology*. Thieme Medical Publishers, Incorporated.
- Phan, H. T., & Haes, A. J. (2019). What does nanoparticle stability mean?. *The Journal of Physical Chemistry C*, 123(27), 16495-16507.
- Poland, C. A., Duffin, R., Kinloch, I., Maynard, A., Wallace, W. A., Seaton, A., ... & Donaldson, K. (2008). Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nature nanotechnology*, 3(7), 423-428.
- Rabinow, B. E. (2004). Nanosuspensions in drug delivery. *Nature reviews Drug discovery*, 3(9), 785-796.
- Rogueda, P. (2005). Novel hydrofluoroalkane suspension formulations for respiratory drug delivery. *Expert opinion on drug delivery*, 2(4), 625-638.
- Ryan, S. M., Mantovani, G., Wang, X., Haddleton, D. M., & Brayden, D. J. (2008). Advances in PEGylation of important biotech molecules: delivery aspects. *Expert opinion on drug delivery*, 5(4), 371-383.
- Ryman-Rasmussen, J. P., Riviere, J. E., & Monteiro-Riviere, N. A. (2007). Surface coatings determine cytotoxicity and irritation potential of quantum dot nanoparticles in epidermal keratinocytes. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(1), 143-153.
- Salvador-Morales, C., Flahaut, E., Sim, E., Sloan, J., Green, M. L., & Sim, R. B. (2006). Complement activation and protein adsorption by carbon nanotubes. *Molecular immunology*, 43(3), 193-201.
- Santi, M., Maccari, G., Mereghetti, P., Voliani, V., Rocchiccioli, S., Ucciferri, N., ... & Signore, G. (2017). Rational design of a transferrin-binding peptide sequence tailored to targeted nanoparticle internalization. *Bioconjugate chemistry*, 28(2), 471-480.
- Schöler, N., Olbrich, C., Tabatt, K., Müller, R. H., Hahn, H., & Liesenfeld, O. (2001). Surfactant, but not the size of solid lipid nanoparticles (SLN) influences viability and cytokine production of macrophages. *International journal of pharmaceutics*, 221(1-2), 57-67.
- Schulze, C., Schulze, C., Kroll, A., Schulze, C., Kroll, A., Lehr, C. M., ... & Wohlleben, W. (2008). Not ready to use—overcoming pitfalls when dispersing nanoparticles in physiological media. *Nanotoxicology*, 2(2), 51-61.
- Shah, A., & Dobrovolskaia, M. A. (2018). Immunological effects of iron oxide nanoparticles and iron-based complex drug formulations: Therapeutic

- benefits, toxicity, mechanistic insights, and translational considerations. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 14(3), 977-990.
- Shan, X., Liu, C., Yuan, Y., Xu, F., Tao, X., Sheng, Y., & Zhou, H. (2009). In vitro macrophage uptake and in vivo biodistribution of long-circulation nanoparticles with poly (ethylene-glycol)-modified PLA (BAB type) triblock copolymer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 72(2), 303-311.
- Shcharbin, D., Jokiel, M., Klajnert, B., & Bryszewska, M. (2006). Effect of dendrimers on pure acetylcholinesterase activity and structure. *Bioelectrochemistry*, 68(1), 56-59.
- Shirai, H., Nguyen, M. T., Čempel, D., Tsukamoto, H., Tokunaga, T., Liao, Y. C., & Yonezawa, T. (2017). Preparation of Au/Pd bimetallic nanoparticles by a microwave-induced plasma in liquid process. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 90(3), 279-285.
- Singh, P., Kim, Y. J., Zhang, D., & Yang, D. C. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in biotechnology*, 34(7), 588-599.
- Takahashi, H., Niidome, Y., Niidome, T., Kaneko, K., Kawasaki, H., & Yamada, S. (2006). Modification of gold nanorods using phosphatidylcholine to reduce cytotoxicity. *Langmuir*, 22(1), 2-5.
- Toyama, T., Matsuda, H., Ishida, I., Tani, M., Kitaba, S., Sano, S., & Katayama, I. (2008). A case of toxic epidermal necrolysis-like dermatitis evolving from contact dermatitis of the hands associated with exposure to dendrimers. *Contact Dermatitis (01051873)*, 59(2).
- Van Eerdenbrugh, B., Van den Mooter, G., & Augustijns, P. (2008). Top-down production of drug nanocrystals: nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products. *International journal of pharmaceutics*, 364(1), 64-75.
- Vonarbourg, A., Passirani, C., Saulnier, P., & Benoit, J. P. (2006). Parameters influencing the stealthiness of colloidal drug delivery systems. *Biomaterials*, 27(24), 4356-4373.
- Wang, S., & Dormidontova, E. E. (2010). Nanoparticle design optimization for enhanced targeting: Monte Carlo simulations. *Biomacromolecules*, 11(7), 1785-1795.
- Wang, X., Inapagolla, R., Kannan, S., Lieh-Lai, M., & Kannan, R. M. (2007). Synthesis, characterization, and in vitro activity of dendrimer-Streptokinase conjugates. *Bioconjugate chemistry*, 18(3), 791-799.

- Warheit, D. B. (2008a). How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization?. *Toxicological sciences*, 101(2), 183-185.
- Warheit, D. B., Sayes, C. M., Reed, K. L., & Swain, K. A. (2008b). Health effects related to nanoparticle exposures: environmental, health and safety considerations for assessing hazards and risks. *Pharmacology & therapeutics*, 120(1), 35-42.
- Yang, H., & Lopina, S. T. (2006). In vitro enzymatic stability of dendritic peptides. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 76(2), 398-407.
- Yang, W., Peters, J. I., & Williams III, R. O. (2008). Inhaled nanoparticles—a current review. *International journal of pharmaceutics*, 356(1-2), 239-247.
- Yemul, O., & Imae, T. (2005). Covalent-bonded immobilization of lipase on poly (phenylene sulfide) dendrimers and their hydrolysis ability. *Biomacromolecules*, 6(5), 2809-2814.
- Zhang, D., Neumann, O., Wang, H., Yuwono, V. M., Barhoumi, A., Perham, M., ... & Halas, N. J. (2009). Gold nanoparticles can induce the formation of protein-based aggregates at physiological pH. *Nano letters*, 9(2), 666-671.
- Zhang, X., Xia, Q., & Gu, N. (2006). Preparation of all-trans retinoic acid nanosuspensions using a modified precipitation method. *Drug development and industrial pharmacy*, 32(7), 857-863.
- Zolnik, B. S., González-Fernández, Á., Sadrieh, N., & Dobrovolskaia, M. A. (2010). Minireview: nanoparticles and the immune system. *Endocrinology*, 151(2), 458-465.

## BÖLÜM 10

### NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTE ARAŞTIRMALARINDA *EISENIA* TÜRLERİ: MODEL ORGANİZMA OLARAK DEĞERLENDİRME

Prof. Dr. Recep Liman<sup>1</sup>,

Doktora Öğr. Yudum Yeltekin Uğur<sup>1</sup>,

Doç. Dr. Erman Salih İstifli<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169648>

<sup>1</sup>Uşak Üniversitesi, 1 Eylül Kampüsü, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Uşak, Türkiye.

recep.liman@usak.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-7944-4952

yudum\_yeltekin01@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0003-3891-8717

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana, Türkiye,  
ermansalih@gmail.com, Orcid ID: 0000-0003-2189-0703



## GİRİŞ

Nanomalzemeler en az bir boyutu 100 nm'den küçük olan malzemeler olarak tanımlanırken, nanoteknoloji 1 ila 100 nm aralığındaki boyutlardaki maddenin anlaşılması ve işlenmesi olarak tanımlanır. Nanomateryaller, büyük parçacıklara kıyasla daha yüksek yüzey/hacim oranına sahiptir. Malzeme boyutu küçüldükçe, yüzeydeki atom sayısı artar ve bu durum malzemenin çevresiyle olan etkileşimini önemli ölçüde değiştirir. Nanopartiküller (NP), makro ölçekli benzerlerine göre daha üstün özellikler sergileyebileceği gibi tamamen farklı özellikler de gösterebilir. Nano boyuttaki malzemeler, daha yüksek reaktivite ve mekanik dayanıklılığın yanı sıra daha gelişmiş elektriksel ve termal özelliklere sahiptir. Ayrıca, kuantum etkileri nedeniyle optik, manyetik ve elektriksel açıdan farklı davranışlar sergileyebilirler. Nanomalzemeler gıda, sağlık, kozmetik, giyim, ulaşım, görüntüleme, enerji, elektronik ve savunma gibi çok çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Sarno, 2020; Abed ve Jawad, 2022; Gupta ve ark., 2022; Mohammad ve ark., 2022; Payal ve Pandey, 2022; Shah ve ark., 2022). Çevrede ve günlük tüketici ürünlerinde NP'lerin bolluğu, insan ve diğer canlıların bu materyallere maruz kalmasını kaçınılmaz hale getirmektedir. Bununla birlikte, NP'lerin hedef dışı organizmalar için oluşturabileceği olası akut ve kronik toksik etkileri yeterince araştırılmamış ve anlaşılmamıştır.

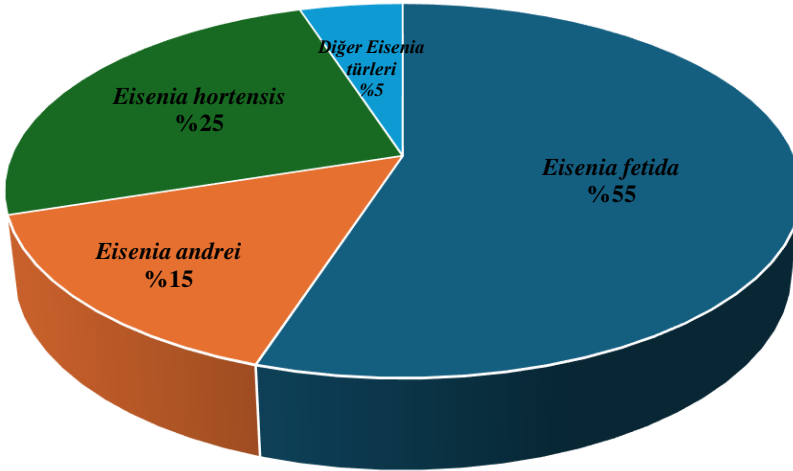
NP'lerin üretiminin artması ve ticari kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte, bu partiküllerin bertaraf edilmesine ilişkin düzenlemelerin eksikliği, toksisite riskini artırmaktadır. Hem doğal hem de insan kaynaklı nanomalzemeler, hava, su, çamur, tortu ve toprak gibi çeşitli çevresel matrislerde bulunabilir ve özellikle toprak, çamur ve su havzalarında birikme potansiyeline sahiptir. Nanomalzemelerin biyoakümüülasyonu, organizmada NP'lerin birikimi ile başlayıp, ardından besin zinciri aracılığıyla diğer organizmalara transfer edilmesiyle devam etmektedir.

NP'lerin toprakta yaşayan omurgasızlar üzerindeki etkilerini gösteren çalışmalar daha yaygındır; ancak deneysel organizma olarak tahtakuruları ve solucanların kullanıldığı çalışmalarda son yıllarda ön plana çıkmaya başlamıştır. Solucanlar, ekosistemin önemli bileşenlerinden biri olup besin zincirinde kilit bir rol üstlenmektedir. Toprak içinde tünel açma davranışları sayesinde havalanmayı artırarak toprak yapısını iyileştirip su tutma kapasitesini artırır. Aynı zamanda, ölü ve çürümekte olan bitki materyallerini tüketerek ayrıştırıcı işlevi görürler. Solucanların dışkıları, toprağa azot, fosfor ve



potasyum gibi temel besin maddelerini kazandırarak biyolojik zenginleşmeye de katkı sağlar (Erdoğan ve Arpaz, 2019; Dikilitaş, 2024). Doğrudan toprakla temas halinde olmaları nedeniyle, solucanlar topraktaki kirleticilere yüksek miktarlarda maruz kalmaktadır. Ekonomik olarak kolay temin edilebilmeleri, toprak ekosisteminde yaygın bulunmaları ve organik ve inorganik kirleticileri yüksek oranda biriktirme kapasiteleri göz önüne alındığında, solucanlar karasal ekotoksikoloji çalışmalarında model organizmalar olarak değerlendirilmektedir (Corp ve Morgan, 1991; Spurgeon ve ark., 2003; Becquer ve ark., 2005; Zhao ve ark., 2022; Bedell ve ark., 2023).

*Eisenia* türleri, toprak ekosistemlerinde organik madde dönüşümünde önemli rol oynayan toprak solucanlarıdır. Şekil 1, *Eisenia* türlerinin nanotoksikoloji çalışmalarındaki kullanım oranlarını göstermektedir. *Eisenia fetida*, %55 ile en çok kullanılan türdür, ardından *E. andrei* (%25) ve *E. hortensis* (%15) gelmektedir. Diğer türler ise toplamın %5'ini oluşturmaktadır. Nanotoksikoloji çalışmalarında sıklıkla kullanılan *Eisenia* türlerinin avantajları ve dezavantajları şöyle sıralanabilir.



Şekil 1. *Eisenia* türlerinin nanotoksikoloji çalışmalarında kullanım oranları

## 1. AVANTAJLARI

**Geniş Ekolojik Dağılım:** *Eisenia* türleri, farklı toprak tiplerinde yaşayabildiği için çevresel toksisite testlerinde kullanıma uygundur (Unrine ve ark., 2010). *Eisenia* türleri, çeşitli çevresel koşullara hızlı uyum sağlama

yeteneğine sahip olduğundan, farklı nanomalzeme türleri ve konsantrasyonları ile yapılan deneylerde kullanılabilir. *Eisenia* türünün bu yeteneği araştırmaların geniş bir yelpazede uygulanabilirliğini artırır (Bourdineaud ve ark., 2021).

**Yüksek Üreme Kapasitesi:** *Eisenia* türleri, laboratuvar koşullarında kolayca yetiştirilebilir. Bu, deneylerin kontrol altında gerçekleştirilmesini sağlar ve yüksek sayıda örnek elde edilmesine olanak tanır. Bu türlerin kısa yaşam döngüleri ve hızlı üreme yetenekleri, araştırmalarda tekrarlanabilirlik sağlar (OECD, 2004; Yang ve ark., 2022).

**Biyolojik Gösterge Olarak Uygunluk:** Solucanlar, toprakta biriken kirleticilere karşı hassas olup, biyobelirteç olarak kullanılabilir (Gomes ve ark., 2015). Örneğin, OECD tarafından önerilen toprak solucanı üreme testi, bu türler için standart bir yöntemdir (OECD, 2004). Ayrıca nanomateryal maruziyeti sonrasında *Eisenia* türlerinin davranışsal değişiklikleri gözlemlenebilir. Bu değişiklikler, solucanların beslenme ve hareketlilik gibi temel davranışlarını etkileyebilir. Davranışsal değişikliklerin izlenmesi, toprak sağlığı ve ekosistem üzerindeki potansiyel etkileri değerlendirmek için önemlidir (Santos ve ark., 2020).

**Düşük Bakım Maliyeti:** Laboratuvar koşullarında kolay yetiştirilebilir ve uzun süre canlı tutulabilir (Bilej ve ark., 2000).

**Dışkılama Yoluyla Toksik Madde Birikimi Takibi:** Solucan dışkısı analiz edilerek NP'lerin solucan vücudunda birikimi incelenebilir (Bergin ve Witzmann, 2013).

## 2. DEZAVANTAJLARI

**Duyarlılık Farklılıkları:** Farklı *Eisenia* türleri, NP'lere karşı değişken duyarlılıklara sahiptir, bu da karşılaştırmalı çalışmaları zorlaştırabilir (Bodó ve ark., 2020).

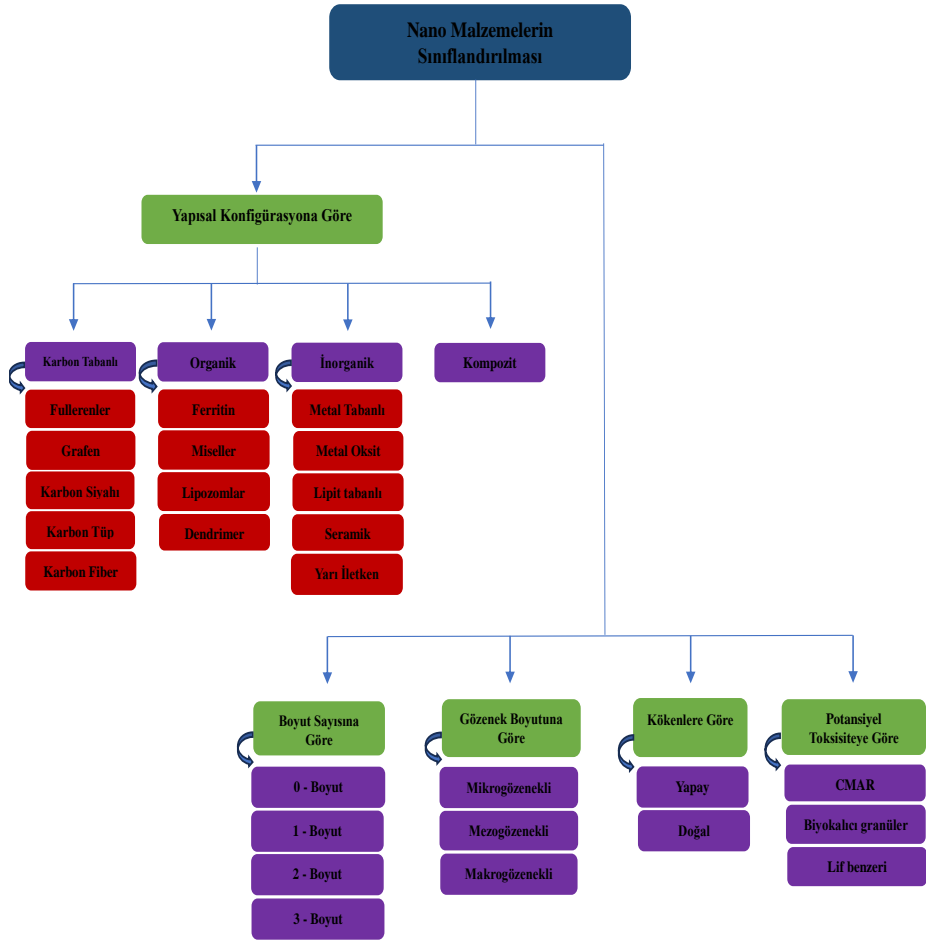
**Gerçek Ekosistem Karmaşıklığını Yansıtamama:** Laboratuvar ortamları doğadaki farklı çevresel faktörlerin oluşturduğu karmaşık etkileri tam olarak simüle edemez (Nahmani ve ark., 2007).

**Moleküler Yanıt Çalışmalarının Sınırlı Olması:** *Eisenia* türleri üzerine yapılan genetik ve moleküler biyoloji çalışmaları diğer model organizmalara kıyasla daha sınırlıdır (He ve ark., 2024).

### 3. NANOPARTİKÜLLERİN *EISENIA* TÜRLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Tablo 1, nanomalzemelerin boyutlarına, kökenlerine, yapılarına, gözenek boyutlarına ve potansiyel toksisitelerine bağlı olarak beş kategoriye nasıl ayrılabileceğini göstermektedir.

**Tablo 1.** Nanomalzemelerin genel sınıflandırılması (Mekuye ve Abera, 2023).



Bazı nanomalzemelerin *Eisenia* türleri üzerine etkileri Tablo 2’de verilmiştir. Küçük NP’ler (<100 nm) endositoz veya hücre zarı boyunca difüzyon yoluyla hücrelere alınırken daha büyük parçacıklar (>100 nm) genellikle endozomlara alınamayacak kadar büyüktür ve bunun yerine fagositoz yoluyla alınabilir. Hücrenin içine girdikten sonra, NP’ler ve hücresel

bileşenler arasında moleküler etkileşim, protein konformasyonel değişimi ve protein disfonksiyonu gibi belirli olumsuz hücrel etkileşimler meydana gelebilir (Cameron ve ark., 2022). Histopatolojik incelemeler, taramalı elektron mikroskopu ve transmisyon elektron mikroskopu, NP maruziyetinin etkilerini belirlemek için değerli göstergeler olan dokulardaki morfolojik ve patolojik değişiklikleri gözlemek için toksikolojik çalışmalarda kullanılır. Enzimler, protein ve gen ifadesi ve metabolit seviyeleri, NP'lerin etkilerini ve olası toksisite mekanizmalarını analiz etmek için moleküler biyobelirteçler olarak kullanılabilir (Adeel ve ark., 2019; Adeel ve ark., 2021a; Zhao ve ark., 2022). Genel olarak, NP'ler toprak solucanlarında büyüme inhibisyonuna, antioksidan kapasitesinin azalmasına, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı birikmesine, genotoksisiteye ve immünotoksisiteye yol açmaktadır. ROS üretiminin mekanizması her NP için farklıdır ve bugüne kadar ROS üretiminin tam olarak altında yatan hücrel mekanizma tam olarak anlaşılmamıştır. Metal bazlı NP'lerin çoğu Fenton tipi reaksiyonlar yoluyla serbest radikal aracılı toksisiteye neden olurken, karbon bazlı NP'ler genellikle mitokondriyal hasar oluşturarak ROS miktarını artırmaktadır. NP maruziyetinden kaynaklanan mitokondri yapısal hasarının ardından mitokondriyal membran bütünlüğünün kaybı, geçirgenlik geçiş gözeneginin açılması, ROS üretimi ve hücre ölümü meydana gelebilir. Bununla birlikte birkaç çalışmada ROS'a neden olmadan NP'lerin doğrudan toksisitesine neden olduğu da gösterilmiştir (Horie ve Tabei, 2021; Fatima ve ark., 2024). NP'lere maruz kalmanın neden olduğu aşırı oksidatif stres antioksidan sistemini bozarak proteinler, lipitler ve nükleik asitler dahil olmak üzere biyolojik moleküllerin oksidasyonuna yol açar. Parçacık boyutu, özgül yüzey alanı, agregasyon durumu, çözünürlük ve adsorpsiyon kabiliyeti gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal özellikler, NP'lerin neden olduğu hücrel etkilerle ilişkilidir (Tourinho ve ark., 2012; Horie ve Tabei, 2021). Bununla birlikte NP'lerin maruziyetinin oksidatif stres biyobelirteçlerinde önemli bir artış gözlenmediği çalışmalar da mevcuttur (Pacheco ve ark., 2022).

**Tablo 2.** Nanopartiküllerin Model Organizma Olan *Eisenia* Türleri Üzerine Biyolojik Etkileri

Nanopartikül adı	Nanopartikül çeşidi	<i>Eisenia</i> türü	Sonuçlar	Kaynak
Karbon siyahı İndirgenmiş grafen oksit Tek duvarlı karbon nanotüp	Karbon bazlı	<i>E. fetida</i>	Karbon nanomalzemelerin biyobelirteçler üzerinde morfoloji ve doza bağlı etkiler	Xu ve ark. 2021

Modifiye edilmiş nano karbon siyahı	Karbon bazlı	<i>E. fetida</i>	Biyokütle ve sağkalımının azalması, oksidatif stresin indüklenmesi	Zhao ve ark. 2017
Çok duvarlı karbon nanotüp	Karbon bazlı	<i>E. fetida</i>	Bağışıklık hücrelerinin morfolojik değişiklikleri, lizozomal membran destabilizasyonu, asetilkolinesteraz inhibisyonu ve metalotiyonin doku konsantrasyonu değişiklikleri, üreme değişikliği	Calisi ve ark. 2016
Çok duvarlı karbon nanotüp	Karbon bazlı	<i>E. veneta</i>	Üreme (koza üretimi) yeteneğinin azalması	Scott-Fordsmann ve ark. 2008
Grafen oksit	Karbon bazlı	<i>E. fetida</i>	Lipid peroksidasyonu, lizozomal membran stabilitesinin azalması ve DNA hasarı	Zhao ve ark. 2021
Grafen oksit	Karbon bazlı	<i>E. fetida</i>	Büyüme hızı ve üreme hızının yavaşlaması, cilt ve bağırsak toksisitesi	Duo ve ark. 2022
<sup>14</sup> C <sub>60</sub>	Karbon bazlı	<i>E. fetida</i>	Biyoakümülyasyon	Li ve ark. 2010
C <sub>60</sub>	Karbon bazlı	<i>E. fetida</i>	Serbest amino asitlerdeki önemli azalmalar	Lankadurai ve ark. 2015
Sodyum dodeasil sülfat/didodeasil dimetilamonyum bromür nano-veziküller	Organik	<i>E. andrei</i>	DNA hasarı	Correia ve ark. 2017
Titanyum Silisyum oksit	İnorganik	<i>E. andrei</i>	DNA hasarı	Correia ve ark. 2017
Seryum oksit	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Vücut duvarından kütikula kaybı, bağırsak epitel bütünlüğünde kayp	Lahive ve ark. 2014
Gümüş	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Biyobirikim	Shoultz-Wilson ve ark. 2011
Titanyum dioksit Çinko oksit	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Oksidatif stres, selüloz aktivitesinin inhibisyonu, DNA hasarı ve mitokondri hasarı	Hu ve ark. 2010
Titanyum dioksit	İnorganik	<i>E. andrei</i>	Hem hücre hem de moleküler düzeyde sölomositler üzerinde güçlü bir etki göstermedi	Navarro Pacheco ve ark. 2021

Molibden oksit	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Orta derecede toksisite, LDH aktivitesinde azalma ve mitokondriyal işlev bozuklukları	Lebedev ve ark. 2016
Demir oksit	İnorganik	<i>E. hortensis</i>	DNA hasarı, mikronükleus oluşumu	Çiğerci ve ark. 2018
Nikel oksit	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Hayatta kalma ve üreme oranının azalması, DNA hasarı, bağırsak epiteli ve cilt yapısının zarar görmesi	Adeel ve ark. 2019
Altın ve gümüş	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Biyobirikim, gen ifadesi değişiklikleri, oksidatif stres ve DNA hasarı	Bourdinea ud ve ark. 2021
Gümüş sülfür	İnorganik	<i>E. andrei</i>	Vücut kütesinin azalması	Pacheco ve ark. 2022
Gümüş	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Oksidatif hasar	Gomes ve ark. 2015
Gümüş, altın	İnorganik	<i>E. fetida</i> , <i>E. andrei</i>	Apoptozis, DNA hasarı, Gen ifadesi değişiklikleri	Bodó ve ark. 2020
Demir oksit	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Süperoksit dismutaz, katalaz, asit fosfataz, alkalın fosfataz ve toplam protein aktivesinde farklılıklar, histopatolojik değişiklikler	Premnath ve ark. 2025
Seryum oksit Magnezyum oksit	İnorganik	<i>E. hortensis</i>	DNA hasarı	Güneş ve ark. (2022)
Bakır oksit Çinko oksit	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Oksidatif hasar	Li ve ark. 2020
Alüminyum oksit	İnorganik	<i>E. fetida</i>	Süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivesinde farklılıklar	Yausheva ve ark. 2017

## Sonuç

*Eisenia* türleri, nanomalzemelerin toksik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesinde etkili bir model organizma olarak kullanılmakta olup, bu çalışmalar, çevresel risklerin değerlendirilmesinde önemli bilgiler sunmaktadır. Tasarlanmış nanomalzemeler için özellikler (örneğin tip, boyut, yüzey özellikleri ve kristal kimyası vb.) ve maruz kalma koşulları (örneğin konsantrasyon, süre ve toprağın fizikokimyasal özellikleri vb.) toksik bileşene karşı verilen cevap üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Ancak yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğu laboratuvar ortamında letal olmayan dozlarla gerçekleştirildiği için NP'lerin dispersiyonuna veya agregasyonuna yol açabilen yağış veya kuraklık gibi çevresel faktörler modellenememiştir. Laboratuvar çalışmalarıyla sınırlı kalmaksızın, doğal habitat koşullarında

yapılacak gözlemler ve deneyler daha gerçekçi veri setleri elde edilmesine olanak tanıyacaktır. Ayrıca NP'lerin kullanımının artması, toprakta yaşayan *Eisenia* türleri gibi organizmaların olumlu veya olumsuz etkileyebilecek nanopartikül miktarının da önemli ölçüde artmasına neden olabilir. Dolayısıyla oluşabilecek bu etkilerin uzun süreli toksisite deneyleri ile araştırılması gerekmektedir. Gelecekteki çalışmalar ayrıca, üreme kapasitesinin azalması veya genotoksisite ve sonraki nesillerde epigenetik etkiler gibi olumsuz sonuçlara yol açan moleküler seviyedeki inisiyator olayların tanımlanmasına odaklanmalıdır (Adeel ve ark., 2021b). Farklı NP türleri arasında karşılaştırmalı analizler yaparak hangi özelliklerin *Eisenia* türleri üzerinde daha belirgin etkiler yarattığı tespit edilmelidir. Aynı zamanda, bu çalışmalarda kullanılan metodolojilerin standardize edilmesi, farklı araştırmaların sonuçlarının daha kolay kıyaslanabilmesine imkân tanıyacaktır. Ekosistemde genellikle birden fazla organik kirletici bir arada bulunmakta, bu da solucanların ekosistemdeki birden fazla kirleticiye aynı anda maruz kalmasına neden olmaktadır. Dolayısı ile hedef organizmalarda söz konusu bileşenlere birleşik maruz kalma çalışmalarına da ihtiyaç duyulduğu açıktır.

## KAYNAKLAR

- Abed, M. S., & Jawad, Z. A. (2022). Nanotechnology for defence applications. *In Nanotechnol Sci Appl* (pp. 187-205). Springer.
- Adeel, M., Ma, C., Ullah, S., Rizwan, M., Hao, Y., Chen, C., Jilani, G., Shakoor, N., Li, M., & Wang, L. (2019). Exposure to nickel oxide nanoparticles insinuates physiological, ultrastructural and oxidative damage: A life cycle study on *Eisenia fetida*. *Environ Pollut.* 254, 113032.
- Adeel, M., Shakoor, N., Ahmad, M. A., White, J. C., Jilani, G., & Rui, Y. (2021a). Bioavailability and toxicity of nanoscale/bulk rare earth oxides in soil: physiological and ultrastructural alterations in *Eisenia fetida*. *Environ Science Nano.* 8(6), 1654-1666.
- Adeel, M., Shakoor, N., Shafiq, M., Pavlicek, A., Part, F., Zafiu, C., Raza, A., Ahmad, M. A., Jilani, G., & White, J. C. (2021b). A critical review of the environmental impacts of manufactured nano-objects on earthworm species. *Environ Pollut.* 290, 118041.
- Becquer, T., Dai, J., Quantin, C., & Lavelle, P. (2005). Sources of bioavailable trace metals for earthworms from a Zn-, Pb-and Cd-contaminated soil. *Soil Biol and Biochem.* 37(8), 1564-1568.
- Bedell, J.-P., Roques, O., & Bayard, R. (2023). From the importance of organic carbon in reproduction tests with *Eisenia fetida*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 104, 104297.
- Bergin, I. L., & Witzmann, F. A. (2013). Nanoparticle toxicity by the gastrointestinal route: evidence and knowledge gaps. *Int J Biomed Nanosci Nanotechnol.* 3(1-2), 163-210.
- Bilej, M., De Baetselier, P., & Beschin, A. (2000). Antimicrobial defense of the earthworm. *Folia Microbiol.* 45, 283-300.
- Bodó, K., Hayashi, Y., Gerencsér, G., László, Z., Kéri, A., Galbács, G., Telek, E., Mészáros, M., Deli, M. A., & Kokhanyuk, B. (2020). Species-specific sensitivity of *Eisenia* earthworms towards noble metal nanoparticles: a multiparametric in vitro study. *Environ Science Nano*, 7(11), 3509-3525.
- Bourdineaud, J.-P., Štambuk, A., Šrut, M., Radić Brkanac, S., Ivanković, D., Lisjak, D., Sauerborn Klobučar, R., Dragun, Z., Bačić, N., & Klobučar, G. I. (2021). Gold and silver nanoparticles effects to the earthworm *Eisenia fetida*—the importance of tissue over soil concentrations. *Drug and Chem Toxicol.* 44(1), 12-29.



- Calisi, A., Grimaldi, A., Leomanni, A., Lionetto, M. G., Dondero, F., & Schettino, T. (2016). Multibiomarker response in the earthworm *Eisenia fetida* as tool for assessing multi-walled carbon nanotube ecotoxicity. *Ecotoxicol.* 25, 677-687.
- Cameron, S. J., Sheng, J., Hosseinian, F., & Willmore, W. G. (2022). Nanoparticle effects on stress response pathways and nanoparticle-protein interactions. *Int J Mol Sci.* 23(14), 7962.
- Ciğerci, İ. H., Ali, M. M., Kaygısız, Ş. Y., Kaya, B., & Liman, R. (2018). Genotoxic assessment of different sizes of iron oxide nanoparticles and ionic iron in earthworm (*Eisenia hortensis*) coelomocytes by comet assay and micronucleus test. *Bull Environ Contam Toxicol*, 101, 105-109.
- Corp, N., & Morgan, A. (1991). Accumulation of heavy metals from polluted soils by the earthworm, *Lumbricus rubellus*: Can laboratory exposure of 'control' worms reduce biomonitoring problems? *Environ Pollut.* 74(1), 39-52.
- Correia, B., Lourenco, J., Marques, S., Nogueira, V., Gavina, A., da Graça Rasteiro, M., Antunes, F., Mendo, S., & Pereira, R. (2017). Oxidative stress and genotoxicity of an organic and an inorganic nanomaterial to *Eisenia andrei*: SDS/DDAB nano-vesicles and titanium silicon oxide. *Ecotoxicol Environ Saf.* 140, 198-205.
- Dikilitaş, S. (2024). Maneb fungusitinin *Eisenia fetida* üzerindeki biyokimyasal ve genotoksik etkileri, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi.
- Duo, L., Wang, Y., & Zhao, S. (2022). Individual and histopathological responses of the earthworm (*Eisenia fetida*) to graphene oxide exposure. *Ecotoxicol Environ Saf.* 229, 113076.
- Erdoğan, C., & Arpaz, E. (2019). *Eisenia fetida* türü toprak solucanlarının kimyasal gübre kullanılmış topraklar üzerine etkisi. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2(2), 231-237.
- Fatima, N., Singh, P. K., Singh, A., & Singh, K. (2024). Impact of nanoparticles on the environment and earthworms: A comprehensive review. *Munis Entomol Zool.* 19, 711-726.
- Gomes, S. I., Hansen, D., Scott-Fordsmand, J. J., & Amorim, M. J. (2015). Effects of silver nanoparticles to soil invertebrates: oxidative stress biomarkers in *Eisenia fetida*. *Environ Pollut.* 199, 49-55.
- Gupta, V., Mohapatra, S., Mishra, H., Farooq, U., Kumar, K., Ansari, M. J., Aldawsari, M. F., Alalawi, A. S., Mirza, M. A., & Iqbal, Z. (2022).

- Nanotechnology in cosmetics and cosmeceuticals—a review of latest advancements. *Gels*, 8(3), 173.
- Güneş, M., Yalçın, B., Ali, M. M., Ciğerci, İ. H., & Kaya, B. (2022). Genotoxic assessment of cerium and magnesium nanoparticles and their ionic forms in *Eisenia hortensis* coelomocytes by alkaline comet assay. *Microsc Res Tech*. 85(9), 3095-3103.
- He, F., Shi, H., Guo, S., Li, X., Tan, X., & Liu, R. (2024). Molecular mechanisms of nano-sized polystyrene plastics induced cytotoxicity and immunotoxicity in *Eisenia fetida*. *J Hazard Mater*. 465, 133032.
- Horie, M., & Tabei, Y. (2021). Role of oxidative stress in nanoparticles toxicity. *Free Radic Res*. 55(4), 331-342.
- Hu, C., Li, M., Cui, Y., Li, D., Chen, J., & Yang, L. (2010). Toxicological effects of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles in soil on earthworm *Eisenia fetida*. *Soil Biol Biochem*. 42(4), 586-591.
- Lahive, E., Jurkschat, K., Shaw, B. J., Handy, R. D., Spurgeon, D. J., & Svendsen, C. (2014). Toxicity of cerium oxide nanoparticles to the earthworm *Eisenia fetida*: subtle effects. *Environ Chem*. 11(3), 268-278.
- Lankadurai, B. P., Nagato, E. G., Simpson, A. J., Simpson, M. J. (2015). Analysis of *Eisenia fetida* earthworm responses to sub-lethal C<sub>60</sub> nanoparticle exposure using 1H-NMR based metabolomics. *Ecotoxicol Environ Saf*. 120, 48-58.
- Lebedev, S., Yausheva, E., Galaktionova, L., & Sizova, E. (2016). Impact of molybdenum nanoparticles on survival, activity of enzymes, and chemical elements in *Eisenia fetida* using test on artificial substrata. *Environ Sci Pollut Res*. 23(18), 18099-18110.
- Li, D., Fortner, J. D., Johnson, D. R., Chen, C., Li, Q., & Alvarez, P. J. (2010). Bioaccumulation of <sup>14</sup>C<sub>60</sub> by the earthworm *Eisenia fetida*. *Environm Sci Technol*. 44(23), 9170-9175.
- Li, M., Xu, G., Yang, X., Zeng, Y., & Yu, Y. (2020). Metal oxide nanoparticles facilitate the accumulation of bifenthrin in earthworms by causing damage to body cavity. *Environl Pollut*. 263, 114629.
- Mekuye, B., & Abera, B. (2023). Nanomaterials: An overview of synthesis, classification, characterization, and applications. *Nano Select* 4(8), 486-501.
- Mohammad, Z. H., Ahmad, F., Ibrahim, S. A., & Zaidi, S. (2022). Application of nanotechnology in different aspects of the food industry. *Discover Food* 2(1), 12.

- Nahmani, J., Hodson, M. E., & Black, S. (2007). A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environ Pollut.* 145(2), 402-424.
- Navarro Pacheco, N. I., Roubalova, R., Semerad, J., Grasserova, A., Benada, O., Kofronova, O., Cajthaml, T., Dvorak, J., Bilej, M., & Prochazkova, P. (2021). In vitro interactions of TiO<sub>2</sub> nanoparticles with earthworm coelomocytes: immunotoxicity assessment. *Nanomaterials* 11(1), 250.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2004). Guidelines for the testing of chemicals No. 222. Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*). Paris, France.
- Pacheco, N. I. N., Semerad, J., Pivokonsky, M., Cajthaml, T., Filip, J., Busquets-Fité, M., Dvorak, J., Rico, A., & Prochazkova, P. (2022). Effects of silver sulfide nanoparticles on the earthworm *Eisenia andrei*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 257, 109355.
- Payal, & Pandey, P. (2022). Role of nanotechnology in electronics: A review of recent developments and patents. *Recent Pat Nanotechnol.* 16(1), 45-66.
- Premnath, B. J., Alamelu, S., Rajendran, G. R., Bichandarkoil Jayaram, P., Krishnan, H., Kamaraj, S. K., Thirumurugan, A., Alshehri, M. A., Sayed, S., & Srinivasan, M. K. (2025). Evaluation of immunotoxicity of iron oxide nanoparticles on coelomocytes of *Eisenia fetida*. *Drug Chem Toxicol*, 48(2), 440-450.
- Santos, J., Barreto, Â., Nogueira, J., Daniel-da-Silva, A. L., Trindade, T., Amorim, M. J., & Maria, V. L. (2020). Effects of amorphous silica nanopowders on the avoidance behavior of five soil species—a screening study. *Nanomaterials*, 10(3), 402.
- Sarno, M. (2020). Nanotechnology in energy storage: The supercapacitors. *In Studies in surface science and catalysis* (Vol. 179, pp. 431-458). Elsevier.
- Scott-Fordsmand, J. J., Krogh, P. H., Schaefer, M., & Johansen, A. (2008). The toxicity testing of double-walled nanotubes-contaminated food to *Eisenia veneta* earthworms. *Ecotoxicol Environ Saf.* 71(3), 616-619.
- Shah, M. A., Pirzada, B. M., Price, G., Shibiru, A. L., & Qurashi, A. (2022). Applications of nanotechnology in smart textile industry: A critical review. *J Adv Res.* 38, 55-75.
- Shoults-Wilson, W. A., Reinsch, B. C., Tsyusko, O. V., Bertsch, P. M., Lowry, G. V., & Unrine, J. M. (2011). Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (*Eisenia fetida*). *Nanotoxicology*, 5(3), 432-444.

- Spurgeon, D. J., Svendsen, C., Weeks, J. M., Hankard, P. K., Stubberud, H. E., & Kammenga, J. E. (2003). Quantifying copper and cadmium impacts on intrinsic rate of population increase in the terrestrial oligochaete *Lumbricus rubellus*. *Environ Toxicol Chem.* 22(7), 1465-1472.
- Tourinho, P. S., Van Gestel, C. A., Lofts, S., Svendsen, C., Soares, A. M., & Loureiro, S. (2012). Metal-based nanoparticles in soil: Fate, behavior, and effects on soil invertebrates. *Environ Toxicol Chem.* 31(8), 1679-1692.
- Unrine, J. M., Hunyadi, S. E., Tsyusko, O. V., Rao, W., Shoultz-Wilson, W. A., & Bertsch, P. M. (2010). Evidence for bioavailability of Au nanoparticles from soil and biodistribution within earthworms (*Eisenia fetida*). *Environ Sci Technol.* 44(21), 8308-8313.
- Xu, K., Wang, X., Lu, C., Liu, Y., Zhang, D., & Cheng, J. (2021). Toxicity of three carbon-based nanomaterials to earthworms: Effect of morphology on biomarkers, cytotoxicity, and metabolomics. *Sci Total Environ.* 777, 146224.
- Yang, X., Zhang, X., Shu, X., Zhang, W., Kai, J., Tang, M., Gong, J., Yang, J., Lin, J., & Chai, Y. (2022). Effects of multi-walled carbon nanotubes in soil on earthworm growth and reproduction, enzymatic activities, and metabolomics. *Ecotoxicol Environ Saf.* 246, 114158.
- Yausheva, E., Sizova, E., Gavrish, I., Lebedev, S., & Kayumov, F. (2017). Effect of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles on soil microbiocenosis, antioxidant status and intestinal microflora of red Californian worm (*Eisenia foetida*). *Agric Biol.* 52(1), 191-199.
- Zhao, S., He, L., Lu, Y., & Duo, L. (2017). The impact of modified nano-carbon black on the earthworm *Eisenia fetida* under turfgrass growing conditions: Assessment of survival, biomass, and antioxidant enzymatic activities. *J Hazard Mater.* 338, 218-223.
- Zhao, S., Wang, Y., & Duo, L. (2021). Biochemical toxicity, lysosomal membrane stability and DNA damage induced by graphene oxide in earthworms. *Environ Pollut.* 269, 116225.
- Zhao, W., Teng, M., Zhang, J., Wang, K., Zhang, J., Xu, Y., & Wang, C. (2022). Insights into the mechanisms of organic pollutant toxicity to earthworms: advances and perspectives. *Environ Pollut.* 303, 119120.



## BÖLÜM 11

### METAL VE METAL OKSİT NANOPARTİKÜLLERİN PROKARYOTİK MODEL ORGANİZMALAR ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169701>



## GİRİŞ

Nanoteknoloji, 1 ile 100 nm arasındaki nano boyutlu parçacıklarla ilgilenen çok yönlü bir bilim alanı olup sağlık, tarım, enerji üretimi ve gıda endüstrisi gibi bilim ve teknoloji alanlarında yaygın bir şekilde kullanılan çok çeşitli nanopartiküller (NP'ler) mevcuttur (Dasgupta ve ark., 2017; Singh ve ark., 2018; Girigoswami ve ark., 2021). NP'lerin sentezi için fiziksel ve kimyasal teknikler bulunmaktadır, fakat bu konvansiyonel NP sentez yöntemleri yüksek enerji veya çeşitli zararlı kimyasalların kullanımını gerektirmektedir (Namakka ve ark., 2023). Bu nedenle hem düşük maliyetli hem de bitkiler, mantarlar ve mikroorganizmalar gibi doğal kaynaklar kullanılarak çevre dostu olan yeşil sentez alternatif bir sentez yolu olarak günümüzde tercih edilen bir yöntemdir (Ramrakhiani ve Ghosh, 2018; Namakka ve ark., 2023).

Yukarıdan aşağıya ya da aşağıdan yukarıya yaklaşımları kullanılarak neredeyse tüm metaller NP formunda elde edilebilir. NP sentezi için en çok kullanılan metaller arasında altın (Au), gümüş (Ag), demir (Fe), alüminyum (Al), kadmiyum (Cd), kobalt (Co), bakır (Cu) ve çinko (Zn) bulunmaktadır (Ealias ve Saravanakumar, 2017). Bu metaller arasında gümüş, geniş bir mikroorganizma yelpazesine karşı güçlü toksisite göstermektedir. Yapılan araştırmalar oksitlendiklerinde nanoparçacıklardan salınan gümüş iyonlarının bakteriler için öldürücü olduğunu göstermektedir (Chernousova ve Epple, 2013; Dias de Emery ve ark., 2023). Ayrıca gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), antifungal, antiviral, anti-inflamatuar, anti-anjiyojenik ve anti-kanser etkileriyle ajan olarak kullanılabilir (Zhang ve ark., 2016). Altın nanopartiküller (AuNP'ler) ise termal, elektronik ve optik özelliklerinden dolayı sensörler, katalizörler, hastalık teşhis ve tedavisi, ilaç gibi alanlarda kullanılmaktadır (Kalimuthu ve ark., 2020).

Metal ve metal oksit NP'ler nano boyutta artan yüzey alan/hacim oranları nedeniyle fiziksel, kimyasal ve biyolojik açıdan benzersiz özellikler sergilemektedir. Bu nedenle çeşitli biyomedikal alanda birçok alanda kullanım alanına sahiptir. Fakat stabil NP formülasyonlarının farklı ticari uygulamalarda büyük ölçekli üretimi için detaylı araştırmalar gerekmektedir (Radulescu ve ark., 2023).

Bilim insanları arasında bakterilerin antibiyotik direnci konusunda endişeler giderek artmaktadır. Antibiyotiklerin uygunsuz ve aşırı kullanımından dolayı bakteriler birden fazla ilaca karşı direnç geliştirmektedir ve çoklu ilaç



dirençli (MDR) bakteriler artık tıp alanında ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Velusamy ve ark., 2022). NP'lerin, bakteriyel enfeksiyonlarla mücadele etmek ve ayrıca mikroorganizmalar arasında ilaç dirençlerini kontrol etmek için güçlü antibakteriyel ajanlar olarak kullanılması son yıllarda büyük bir öneme sahiptir (Wang ve ark., 2017). Özellikle malzeme boyutunun nano aralıkta olması, daha düşük dozlarla daha yüksek etkinlik sağlayabilir ve böylece patojenleri kontrol etmek için etkili dozu azaltabilir (Hazan ve ark., 2015).

Bu bölüm, metal ve metal oksit nanopartiküllerinin elde edilme yöntemlerini ve bunların prokaryotik model organizmalar üzerindeki antibakteriyel potansiyellerine dair araştırmalardaki son bilimsel gelişmeleri özetlemektedir.

## 1. METAL/METAL OKSİT NANOPARTİKÜLLER

Belirli şekil ve boyutlara sahip NP'lerin sentezini gerçekleştirmek için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler genel olarak fiziksel (buhar biriktirme, öğütme, lazer ablasyon gibi yöntemler) kimyasal (sol-jel, çökeltme gibi yöntemler) ve biyolojik (mikroorganizmalar, bitki ekstraktları kullanılarak) yöntemler olarak sınıflandırılmaktadır (Salem ve Fouda, 2021).

Biyolojik yöntem toksik veya tehlikeli maddelere ihtiyaç duymaz. Ayrıca harici indirgeme, kaplama ve stabilize edici maddelerin eklenmesini de gerektirmez. Bu yöntemde bakteri, mantar, maya, alg ve bitkiler gibi canlı organizmaları, bunların dokuları ve ekstraktları kullanılmaktadır. Ekstraktlarda bulunan enzimler, flavonoidler, aminoasitler, protein, fenoller ve terpenoidler gibi biyomoleküller, metal iyonlarını metal nanopartiküllere (MNP) indirgeme ajanları olarak kullanılmaktadır (Pourakbar ve ark., 2020). Dolayısıyla özellikle bitkilerin kök, gövde, yaprak vb. çeşitli kısımları kullanılarak metal/metal oksit NP'lerin biyolojik sentezi, fiziksel ve kimyasal yöntemlerin birçok zararlı etkisini ortadan kaldırmaktadır (Jahan ve ark., 2020).

Yayınlanan çeşitli raporlar gümüş (Ag), altın (Au), bakır (Cu), çinko oksit (ZnO), bakır oksit (CuO), titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), demir oksit (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), alüminyum oksit (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) gibi metal ve metal oksit NP'lerin yüksek antibakteriyel potansiyel sergilediğini göstermektedir (Beyth ve ark., 2015; Salem ve Fouda, 2021). Özellikle gram-negatif bakteriler gram-pozitif bakterilere kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite sergilemektedir. Bu aktivite, gram-negatif bakterilerde bulunan lipopolisakaritlerin (LPS) negatif yüküne bağlanarak NP'lerin bakteri hücre duvarına yapışmasından

kaynaklanabilir. NP'ler, mikrobiyal hücre duvarının negatif yükü ile NP'lerin pozitif yükü arasındaki çekim yoluyla bakteri hücre duvarı ile etkileşime girmektedir. Dolayısıyla antibakteriyel etki NP'lerin boyutu, şekli ve yüzey yükü gibi farklı parametrelere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Abbaszadegan ve ark., 2015; Roy ve ark., 2019).

## **2. METAL NANOPARTİKÜLLERİN ANTİBAKTERİYEL ETKİ MEKANİZMALARI**

Sıfır değerlikli metaller, mikroorganizmaları büyüme evreleri sırasında büyük ölçüde etkilemektedir. Genel olarak metal NP'lerin yüzey yükü ve iyonik özellikleri, mikroorganizmalar ile NP'ler arasındaki etkileşimlerde çekim ve itim kuvvetlerinin belirleyici olmasına neden olmaktadır. Bu elektrostatik etkileşimler, NP'lerin mikroorganizma hücre yüzeyine bağlanmasını kolaylaştırmakta ve mikroorganizmalar üzerine etkilerini bu şekilde göstermelerine olanak tanımaktadır (Cui ve Smith, 2022).

MNP'lerin, gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkiler göstererek antibiyotik direnciyle mücadele etme yolları farklı mekanizmalarla açıklanmaktadır. Au, Ag, Cu, Zn ve bunların bimetalik kombinasyonları gibi MNP'ler, geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanlar olarak bilinmektedir. Bu MNP'lerin antibakteriyel etkisi genellikle metal iyonlarının salınımı, hücre duvarı ve hücre zarı hasarı, DNA hasarı, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, lipid peroksidasyonu ve biyomoleküllerin hasarı gibi mekanizmalardan kaynaklanmaktadır (Fanoro ve Oluwafemi, 2020). Son araştırmalar, gram-negatif bakterilerdeki LPS moleküllerinden dolayı bazı bölgelerini daha negatif yüklü hale getirdiğini ve bu nedenle pozitif yüklü NP'lerin bu alanlarda kümelenmeye eğilimli olduğunu göstermektedir ve bu da bölgesel olarak toksik etkiye yol açmaktadır (Slavin ve ark., 2017).

MNP'ler, büyük bir yüzey alanı, küçük boyut, morfolojik olarak kontrol edilebilme, yüzey modifikasyonunun kolay yapılabilmesi gibi çeşitli avantajlar sayesinde antibakteriyel aktivite sergilemektedir (Yougbaré ve ark., 2021; Zheng ve ark., 2022). Tüm MNP'ler arasında, AgNP'ler ve CuNP'ler, gümüş ve bakır elementlerinin geniş spektrumlu antibakteriyel özelliklere sahip olmalarından dolayı diğerlerine kıyasla daha belirgin antibakteriyel aktiviteler göstermektedir (Yuan ve ark., 2014; Nain ve ark., 2020).

### 3. ANTİMİKROBİYAL AJAN OLARAK METAL NANOPARTİKÜLLER

#### 3.1. Gümüş Nanopartiküller

Gümüşün antibakteriyel etkilere sahip olduğu antik çağlardan beri bilinmekte olup MNP'ler arasında, AgNP'ler çeşitli alanlarda daha geniş kullanım alanı bulmaktadır (Baptista ve ark., 2018). AgNP'lerin hazırlanmasında geleneksel kimyasal veya yeşil sentez yaklaşımları kullanılmaktadır. AgNP'lerin, bakteri hücre duvarını bozarak, oksidasyon mekanizmalarını tetikleyerek veya reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumuna neden olarak bakteri hücresine zarar verebildiği bilinmektedir. Fakat NP'lerin antibakteriyel kapasitesinin kesin mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır ve bu mekanizmaların belirlenmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Jiang ve ark., 2024).

*Vitex negundo* L. yaprak ekstraktı kullanılarak gümüş iyonlarının ( $Ag^{+}$ 'den  $Ag^{0}$ 'a) hızlı bir şekilde indirgenmesi yoluyla elde edilen AgNP'ler hem gram-pozitif (*Staphylococcus aureus*) hem de gram-negatif (*Escherichia coli*) bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Zargar ve ark., 2011). Benzer bir çalışma da *Decalepis hamiltonii* kök ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı güçlü bir antibakteriyel etki sergilediği rapor edilmiştir (Rashmi ve Sanjay, 2017). Güncel başka bir çalışmada ise kitosan bazlı AgNP'lerin yenilikçi bir gıda kaplama malzemesi olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Özellikle gümüş iyonlarının kitosanla entegrasyonu, kaplamanın mekanik özelliklerini ve antimikrobiyal etkinliğini artıran bir nanokompozit oluşturmuştur. Bu nanokompozitin yalnızca kitosan veya gümüş nitrat kullanımına kıyasla üstün antimikrobiyal aktivite sergileyerek domateslerde bakteriyel büyümeye karşı etkili koruma sağladığı bildirilmiştir (Demirbas ve Karsli, 2025). Kabeerdass ve arkadaşlarının (2021) sentezlediği çevre dostu bir seçenek olan *Bacillus* aracılı AgNP'lerin, nanoteknoloji alanında nano gübre, nano fungusit ve nano bakterisidal ajanlar olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

#### 3.2. Altın Nanopartiküller

Altın çoğu koşullar altında kimyasal olarak inerttir ve insan vücudunda nispeten yüksek bir biyoyumluluğa sahiptir. Stabil nanopartiküller sentezlemek için Au uygun bir metal olarak kabul edilmektedir. Bugüne kadar

fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılarak AuNP sentezinin gerçekleştirildiği birçok çalışma rapor edilmiştir. Diğer metal NP'lerle kıyaslandığında AuNP'ler, spesifik optik ve fiziksel özellikleri nedeniyle farklı alanlarda geniş uygulamalara sahiptir (Sharma ve ark., 2015).

AuNP'lerin antibakteriyel aktivitesi, bakteri hücre duvarında porlar oluşması yoluyla gerçekleşmekte ve hücre içeriğinin kaybolması nedeniyle hücre ölümü meydana gelmektedir. Ayrıca, AuNP'ler, bakteri DNA'sına bağlanarak ve transkripsiyon sırasında çözülmesini engelleyerek çoklu ilaç dirençli patojenleri inhibe etmektedir (Arafa ve ark., 2018).

AuNP'lerin sentezi için kullanılan çeşitli teknolojiler arasında biyolojik yöntemler, daha az tehlikeli ve çevre dostudur (Kalimuthu ve ark., 2020). İndirgeme ajanı olarak *panchagavya* kullanılarak başarıyla sentezlenen AuNP'lerin (altın nanoparçacıklar) gram-negatif bakterilere karşı güçlü, gram-pozitif bakterilere karşı ise orta düzeyde antibakteriyel etki sergilediği kanıtlanmıştır ve PG-AuNP'lerin antibiyotik ilaç direnciyle mücadelede kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Sathiyaraj ve ark., 2021). Bir diğer çalışma da *Nigella sativa*'nın esansiyel yağı kullanılarak sentezi gerçekleştirilen AuNP'lerin gram-pozitif *S. aureus*'un büyümesini ve biyofilm oluşumunu, gram-negatif *Vibrio harveyi* bakterisine kıyasla daha etkili bir şekilde kontrol ettiği tespit edilmiştir (Manju ve ark., 2016).

### 3.3. Bakır- ve Bakır Oksit Nanopartiküller

CuNP'ler, benzersiz özellikleri nedeniyle tıp, ilaç ve tarım gibi çeşitli alanlardaki potansiyel uygulamaları nedeniyle kapsamlı araştırmalara konu olmuştur (Vodyashkin ve ark., 2024). CuNP'lerin bakteriler, mantarlar, virüsler ve parazitler gibi birçok patojenik organizma üzerinde toksisitesi bildirilmiştir. CuNP'lerin etki mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır fakat NP'lerden salınan iyonik bakır türlerinin içsel toksisitesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu durum, CuNP'lerin redoks davranışına ve ROS üretimini tetikleme kapasitesine bağlıdır (Vincent ve ark., 2018).

Wu ve arkadaşlarının (2020) yaptığı çalışmada yeşil sentezle üretilen CuNP'lerin idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *E. coli*, *Enterococcus sp.*, *Proteus sp.* ve *Klebsiella sp.* patojenlerine karşı etkili bir şekilde öldürücü veya aktivitelerini önemli ölçüde engelleyici bir etki gösterdiği rapor edilmiştir (Wu ve ark., 2020). *Morinda citrifolia* yaprak ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuONP'lerinin *Bacillus subtilis* (13.6±1.1), *Staphylococcus aureus* (13.2±0.2)

ve *Escherichia coli* ( $13.1 \pm 1.2$ ) üzerinde güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir ve antibakteriyel aktivite mekanizmasının bakır oksidin boyutu, yapısı ve konsantrasyonuna bağlı olduğu sonuca varılmıştır (Priya ve ark., 2023). Benzer bir çalışmada CuONP'ler, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* dahil olmak üzere gram-negatif ve gram-pozitif bakteriler ile mantar patojen mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. CuONP'lerin düşük maliyet ve çevre dostu biyosentezi nanoteknolojiden biyomedikal bilime kadar birçok uygulama alanı sunmaktadır (John et al., 2021). 2-350 nm boyut aralığında elde edilen CuNP'lerin metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis* ve *Candida albicans* gibi çeşitli mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri olduğu belirlenmiştir (Usman ve ark., 2013).

### 3.4. Çinko Oksit Nanopartikülleri

Çinko oksit, metal oksitler arasında en çok araştırılan malzemelerden biri olup özellikle sentezlerinin kolay olması ve son derece güvenli olmalarından dolayı ZnONP'leri üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır (Gharpure ve Ankamwar, 2020). ZnO'nun morfolojisi ve boyutlarının özelliklerinin modülasyonunu önemli ölçüde etkilediği bilinmektedir. Ayrıca nanoteller, nanoküreler, nanospringler, nanotabakalar, nanofloralar, nanosfeler gibi farklı şekillere sahip ZnONP'ler farklı özellikler sergilemektedir (Lu ve ark., 2011; Jayaseelan ve ark., 2012;). Küçük parçacıkların daha yüksek yüzey-hacim oranına sahip olmaları nedeniyle ZnONP'lerinin antibakteriyel aktivitesi, ZnO tozundan çok daha güçlüdür ve dolayısıyla bu durum NP'lere daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergileme avantajı bulunmaktadır (Gharpure ve Ankamwar, 2020).

Antimikrobisellerin uygunsuz kullanımıyla birlikte dirençli suşların seçilimi meydana gelmektedir. Bu nedenle, pek çok çalışma da yeni antimikrobiyal ajanların araştırılmasına odaklanılmıştır. Günümüzde ZnONP'lerin kullanımı mikroorganizma direnciyle mücadeleyi optimize etmek amacıyla giderek artmaktadır (Silva ve ark., 2019). Çinko oksit, titanyum dioksit ve gümüş, mikroorganizmaların büyümesini kontrol etmek için farklı alanlarda kullanılmakla beraber bu metaller arasında ZnO'nun daha büyük avantajları vardır, çünkü tüm inorganik fotokatalitik malzemeler arasında en yüksek fotokatalitik verimliliğe sahip olanı ZnO'lardır. Ayrıca titanyum dioksitten daha biyoyumlu bir maddedir ve daha büyük bir seçicilik,

dayanıklılık ve ısıya karşı dirence sahiptir. Bu ayırt edici özellikleri sayesinde çeşitli mikroorganizmalarla mücadelede kullanımları mevcuttur (Firouzabadi ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada mikrodalga ısıtma kristalleştirme tekniği kullanılarak sentezlenen ZnONP'lerin, araştırmacılar tarafından seçilen su kaynaklı patojenik mikroplara karşı antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiştir. Disk difüzyon metodu ve minimal inhibisyon konsantrasyon (MIC) sonuçları, ZnONP'lerinin mikrobiyal aktivitesinin gram-pozitif bakteriler (*S. aureus*) karşısında, gram-negatif bakterilere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (Klink ve ark., 2022). Gram-negatif bakterilerdeki lipopolisakarit yapısı, ZnONP'lerinin hücre ile etkileşimini sınırlayabildiği ve çinko iyonlarının dış zar boyunca geçişini engelleyebildiği için bu sonuçlar mikroorganizmaların hücre duvarının nanopartikülle etkileşimine bağlanabilir. Reddy ve arkadaşları (2014) sentezledikleri ZnONP'lerinin *K. pneumoniae* bakterisine karşı MIC değerini 40 mg/ml olarak bulmuştur. Ayrıca farklı dozlarda uygulanan ZnONP'lerin 0.75 mM konsantrasyonda 4 saat sonra *K. pneumoniae* üzerinde inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiştir. NP konsantrasyonunun artmasıyla birlikte daha yüksek bir antibakteriyel etki gözlemlendiği sonucuna varılmıştır.

### 3.5. Demir Oksit Nanopartiküller

Demir oksit nanoparçacıklar (IONP), biyomedikal uygulamalarda ve mikrobiyoloji alanında çeşitli şekillerde kullanılacak benzersiz manyetik özelliklere sahiptir. Farklı yöntemler ile yüzey işlevselleştirilmesi sağlanarak çeşitli IONP'ler tasarlanabilir (Velusamy ve ark., 2022). Yüzey kaplama maddesinin seçimi, IONP'lerin antibakteriyel özelliklerini artırabilir. Ayrıca IONP'ler biyofilm oluşumunu engelleyen fiziksel ajanlar olarak işlev görebilir (Esfahani ve ark., 2023). IONP'lerin mikroorganizmalar üzerindeki çeşitli etkileri birçok çalışma ile rapor edilmiştir. Mikroorganizma türüne ve uygulanan NP konsantrasyonuna bağlı olarak, IONP'ler mikrobiyal büyümeyi teşvik edebilir veya engelleyebilir (Dinali ve ark., 2017). Ek olarak manyetik NP'ler bakterilerin hücre duvarına penetre olarak nanopartiküllere yüklenmiş antibiyotiklerin etkinliğini artırır ve karboksietilsilanetriol (CES)- kaplı IONP'ler, gentamisin dirençli *Staphylococci* suşlarının biyofilmlerine karşı da etkilidir (Bordi ve de Bentzmann, 2011).

Yapılan bir araştırmada *P. aeruginosa*'nın klinik izolatlarına karşı mikrobiyal olarak sentezlenen çeşitli gümüş (nano-Ag) ve manyetik demir oksit (nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparçacıklarının antibakteriyel ve anti-biyofilm aktiviteleri değerlendirilerek biyofilmle ilişkili genler olan PELA ve PSLA'nın ifadelerini konsantrasyona bağlı bir şekilde azalttıkları ortaya çıkarılmıştır. Bu nanopartiküllerin *P. aeruginosa* hastalıklarına karşı yeni terapötik ajan için bir aday olabileceği düşünülmektedir (Esfahani ve ark., 2023). *Purpureocillium lilacinum* kullanılarak biyolojik olarak sentezlenen Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-NP'nin, inhibisyon zon çaplarının sırasıyla *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya karşı 26.5, 24.8, 19.5 ve 17 mm olduğu görülmüştür. Sonuç olarak Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-NP'nin gram-pozitif bakterilere (*S. aureus* ve *B. subtilis*) gram-negatif bakterilere (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) kıyasla daha etkili olduğu açıkça anlaşılmıştır (Hammad ve ark., 2022). IONP'ler bu antibakteriyel etkilerini elektrostatik ve van der Waals etkileşimleri yoluyla hücre duvarı ve hücre zarına zarar vererek ya da süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve radikal olmayan hidrojen peroksit gibi ROS oluşumu aracılığı ile oksidatif strese yol açarak gerçekleştirmektedir (Zhang ve Miao, 2024). Başka bir çalışmada indirgeyici ajan olarak *Ruella tuberosa* kullanılarak sentezlenen FeONP'lerin, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterirken, *Staphylococcus aureus* karşı daha düşük antibakteriyel aktivite sergilediği rapor edilmiştir (Vasantharaj ve ark., 2019).

### 3.6. Magnezyum Oksit Nanopartikülleri

MgONP'ler, yüksek kimyasal stabilite, elektriksel geçirgenlik, fotokatalitik verimlilik, ısı iletkenlik, fiziksel ve mekanik güç, dielektrik direnç, düşük toksisite ve yüksek biyoyumluluk gibi benzersiz fizikokimyasal özelliklere sahiptir. Farklı sentez yöntemleri ile elde edilebilen MgONP'ler, toksik atıkların giderilmesinde, atık suların organik ve inorganik kirleticiler için adsorban olarak, yarı iletkenler ve süperiletken malzemeler olarak ve organik dönüşümler için katalizör olarak çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır (Hornak, 2021).

Son yıllarda nanoteknoloji, çoklu ilaç dirençli (MDR) bakterilerle mücadele etmek için yeni antibakteriyel etki mekanizmaları geliştirerek gelişen enfeksiyonları azaltmak için yeni bir araç olarak ortaya çıkmaktadır (Pelgrift ve Friedman, 2013). Yapılan bir çalışmada farklı sentez yöntemleri ile sentezlenen MgONP'lerin, farklı konsantrasyonlar (10, 20, 30 ve 50 mg/mL) kullanılarak gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel

etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerde, 50 mg/mL hidrotermal olarak üretilen MgONP'lerin hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilere karşı yüksek antibakteriyel aktivite sergilediği rapor edilmiştir. *S. aureus*, *E. faecalis* ve *K. pneumoniae* için maksimum inhibisyon zon alanı (ZOI) sırasıyla 5, 7 ve 6 mm olarak kaydedilmiştir. *E. coli*'nin ZOI'si ise 50 mg/mL sol-jel üretimli MgONP'leri kullanıldığında 9 mm ile en yüksek etki olduğu belirlenmiştir (Abinaya ve Kavitha, 2023).

Rodríguez-Hernández ve arkadaşlarının (2023) yaptıkları çalışmada çevre dostu yöntem olan yeşil sentez ile atık limon kabuğu ekstraktı kullanılarak üretilen MONP'lerin, altı farklı bakteri türüne karşı etkili bir şekilde antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır. Özellikle *E. coli* ve *S. aureus* için en yüksek inhibisyon zonu sırasıyla  $20.72 \pm 0.33$  mm ve  $19.52 \pm 0.05$  mm olarak rapor edilmiştir (Al Musayeib ve ark., 2024). Kimyasal sentez ile üretilen yüksek konsantrasyonlarda MgONP'ler, *Capnocytophaga gingivalis* (MIB/MIC 10–5 mg/mL), *Eikenella corrodens* (MIB 10 mg/mL) ve *Streptococcus sanguinis* (MIB 20 mg/mL) gibi bakterilere karşı antimikrobiyal duyarlılık sergilemiştir. MgONP'lerin daha düşük konsantrasyonlarda ise *Actinomyces israelii* (MIB 0.039 mg/mL), *Fusobacterium nucleatum subsp. nucleatum* (MIB/MIC 5–2.5 mg/mL), *Porphyromonas gingivalis* (MIB 20 mg/mL/MIC 2.5 mg/mL), *Prevotella intermedia* (MIB 0.625 mg/mL), *Staphylococcus aureus* (MIC 2.5 mg/mL), *Streptococcus mutans* (MIB 20 mg/mL/MIC 0.321 mg/mL) ve *Streptococcus sobrinus* (MIB/MIC 5–2.5 mg/mL) gibi bakterilere karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Rodríguez-Hernández ve ark., 2023). Cai ve arkadaşları (2018) tarafından yapılan bir çalışmada MgONP'lerin bitki patojeni *Ralstonia solanacearum*'a karşı konsantrasyona bağlı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ve MIC dozunun 200 µg/mL, minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBC) ise 250 µg/mL olarak ölçüldüğü açıklanmıştır. Bu sonuçlar dikkate alındığında MgONP'lerin alternatif antibakteriyel ajanlar olarak geliştirilmesinin yeni bir araştırma konusu olacağı öngörülmektedir.

### 3.7. Titanyum dioksit Nanopartikülleri

TiO<sub>2</sub>, fotokatalitik özellikleri nedeniyle nanoteknoloji endüstrisinde pek çok uygulamaya sahip bir metal olarak bilinmekte olup (Docters ve ark., 2004) bu NP küçük boyutu, yüksek reaktivitesi, kimyasal bileşimi ve yüksek yüzey alan/hacim oranı bakımından önemli avantajlara sahiptir. Bu nedenlerle günümüzde farmasötik, tıbbi ve kozmetik endüstrilerinde pek çok uygulamaya



sahip olduğu görülmektedir. Ek olarak antimikrobiyal ve antibakteriyel özelliklere sahip olup, toksik etkileri bulunmamaktadır (Heinlaan ve ark., 2008).

Anupong ve arkadaşlarının (2023) yaptıkları bir çalışmada 12 nm boyutunda sentezlenen  $TiO_2$ NP'lerinin artan konsantrasyonda (25, 50, 75, 100  $\mu g mL^{-1}$ ) *E. coli*, *P. mirabilis*, *V. cholerae*, *P. aeruginosa*, *S. typhi murium* ve *S. aureus* gibi bakteriyel patojenlere karşı konsantrasyona bağlı olarak antibakteriyel etkinlik gösterdiği ortaya koyulmuştur (Anupong ve ark., 2023). Islak kimyasal yöntemi ile sentezlenen  $TiO_2$  ve ZnNP'lerinin antibakteriyel etkileri, gıda koruyucu olarak *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Shigella flexneri*'ye karşı analiz edilmiş ve her iki nanopartikülün de *Salmonella*, *Klebsiella* ve *Shigella*'ya karşı inhibe edici etkileri olduğu gösterilmiştir. Analiz edilen *Salmonella typhi* ve *Klebsiella pneumoniae* karşı olan etki mekanizması ROS üretimi ile açıklanırken, *Shigella*'daki etki mekanizmasının tam olarak net olmadığı bilinmektedir (Venkatasubbu ve ark., 2016).

### 3.8. Metal/Metal Oksit Nanokompozitler

Nanomalzemelerin birçok önemli avantajı olmasına rağmen sıkça karşılaşılan önemli dezavantajları arasında kararsız olmaları ve agregasyona eğilim göstermeleri sayılabilir. Bu durum, NP'lerin nano boyutlarını ve eşsiz özelliklerini kaybetmelerine yol açacağı için agregasyonu önlemek ve NP'leri stabilize etmek kritik öneme sahiptir (Zare ve Shabani, 2016). Metal ve metal bazlı nanopartiküller, genellikle olduğu şekliyle kullanılabileceği gibi organik veya inorganik maddelerle ya da yüzey aktif maddeler, peptitler ve proteinler, polimerler, antibiyotikler veya diğer metalik bileşikler gibi kimyasal ve biyolojik ajanlarla kaplanarak da kullanılabilir. Tüm bu işlemler, NP'lerin özelliklerini geliştirmeye yardımcı olmaktadır. NP'lerin genel yüzey özellikleri ve bu özelliklerin sonucunda ortaya çıkan aktiviteler, bu kaplamaların bileşimine ve doğasına büyük ölçüde bağlıdır (Mukherjee ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada ZnO, ZnO/Au ve ZnO/Ag nanokompozitlerinin antimikrobiyal özellikleri, gram-negatif (*P. aeruginosa*) ve gram-pozitif (*S. aureus*) bakteriler karşısında değerlendirilmiş ve araştırma sonuçlarına göre ZnO/Au'nun *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivitesinin %80 oranında arttığı ve ZnO/Ag için ise %30 olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, *S. aureus*

suşu testlerinde, ZnO/Au antimikrobiyal aktivitesini %55 artırırken, ZnO/Ag'nin %33 artış gösterdiği rapor edilmiştir (Busila ve ark, 2023).

Diğer bir çalışmada ise  $Mn_xCe_{1-x}O_2$  nanokompozitleri, kolay bir kimyasal ko-prezipsitasyon yöntemiyle hazırlanmış ve araştırma sonucunda Mn ile katkılanmış  $CeO_2$ 'nin önemli antibakteriyel aktiviteler sergilediği rapor edilmiştir.  $CeO_2$ 'de %9 Mn dozu, *S. aureus* bakteri büyümesini %40, *E. coli*'yi %46 ve *P. Aeruginosa*'yı %44 oranında inhibe etmiştir. Ayrıca, %9 Mn- katkılanmış seryum oksit, MCF-7 kanser hücrelerinin canlılık oranını %7,33 oranında azaltmıştır. Kanserli patojenler üzerindeki toksik etkisi, bu nanokompozitlerin bir ilaç taşıma ajanı olarak kullanılabilir bir platform sunduğunu göstermektedir (Atif ve ark., 2019).

Liu ve arkadaşlarının (2017) yaptıkları bir çalışmada  $TiO_2$ NP'leri, 10-30 nm çaplarında olup, grafen oksit (GO) levhalarına bağlı bir şekilde bulunmaktadır. Ardından elde edilen  $GOTiO_2$ NP'leri, poröz BC matrisine ( $GO/TiO_2/BC$ ) yerleştirilmiş ve  $GOTiO_2$ NP'lerinin fotokatalitik özellikleri iyi bir şekilde korunmuştur. *S.aureus* hücrelerinin  $GOTiO_2$ 'ye ve ışınlamaya maruz kalmasının ardından, hücre canlılığında belirgin bir azalma ve reaktif oksijen türlerinin artan üretimi gözlemlenmiş, bu da hücre ölümüne yol açmıştır. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde,  $GOTiO_2/BC$ 'nin mükemmel bir fotodinamik antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Bir diğer çalışmada ise Ag-ZnO ve AgO-NP'ler kullanılarak bir nanokompozit sentezlenmiş (Ag-ZnO/AgO NPs) ve bu ürünlerin kolajen üretimi ve MMP-2 ile MMP-9 aktiviteleri üzerindeki etkileri nedeniyle hücre dışı matris (ECM) onarımını teşvik ettiği saptanmıştır. Ayrıca, Ag-ZnO/AgO NP'leri deri fonksiyonel aktivitelerini geri kazandırmıştır (Borges Rosa de Moura ve ark., 2022).

Song ve arkadaşlarının (2016) yaptıkları çalışmada ise grafen oksit-gümüş (GO-Ag) nanokompoziti, yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olarak tespit edilmiş ve tarama elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan mikroskobik gözlemler, GO-Ag'nin *Escherichia coli* hücre zarına, *Staphylococcus aureus*'dan daha yıkıcı etkilerde bulunduğunu göstermiştir.

Farklı bir çalışmada  $Ca^{2+}$  katkılı ZnONP'lerin geliştirilmesi ile diş sağlığı ile ilgili mikroorganizmalar olan *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. mutans*, *V. parvula*, *F. nucleatum* ve *A. odontolyticus* karşı antibakteriyel özelliklerin değerlendirilmesi amaçlanmış olup Zn-CaNP'ler, farklı  $Ca^{2+}$

konsantrasyonlarında (%1, %3 ve %5 ağırlıkça) sol-jel yöntemi ile sentezlenmiştir ve en iyi antibakteriyel aktivite, Zn-Ca %3 ve Zn-Ca %5 formülasyonlarında gözlemlenmiştir. Dahası Zn-Ca nanokompozitleri, gram-negatif bakterilere karşı daha iyi antibakteriyel aktivite göstermiştir. Sonuç olarak ZnONP'leri, dış sağlığı uygulamaları için antibakteriyel özelliklere sahip malzemeler geliştirmek ve iyileştirmek için alternatif bir seçenek olarak öne çıkmaktadır (Torres-Ramos ve ark., 2022).

CuONP'leri, çok yüksek yüzey-hacim oranlarına ve son derece farklı kristal yapılar oluşturma kapasitesine sahip olmaları nedeniyle, genellikle gümüş ve altın gibi diğer nanoyapılı malzemelerle birleştirildiğinde potansiyel antibakteriyel ajanlar olarak kullanılabilir (Abdulsada ve ark., 2021). Bakır ve kitosan, antimikrobiyal özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, kitosan-bakır oksit nanokompozitlerinin (nCuO-CS) kolay bir yöntemle sentezi modifiye edilerek, stabil kolloidal nCuO-CS'ler elde edilmiş ve *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilmiştir. 4 saat sonra, test edilen tüm bakteriler için toksisitenin (4 saatlik MBC: 0.25–0.5 mg Cu/L) benzer olduğu görülmüştür. Fakat, gram-negatif bakterilere karşı bu inhibitör etkinin 1 saatlik bir maruz kalma süresinden sonra bile belirgin olduğu tespit edilmiştir (Laanoja ve ark., 2024).

#### 4. METAL NANOPARTİKÜLLER VE ÇOKLU İLAÇ DİRENÇLİ MODEL SUŞLAR

İncelenen birçok metal, metal oksit nanopartikülü ve bunların kompozit halleri çoklu ilaç dirençli (MDR) patojenlere karşı antimikrobiyal potansiyelleri açısından değerlendirilmektedir. Bazı durumlarda, metal NP'lerin yalnızca MDR suşlarına karşı aktivite göstermenin yanı sıra aynı zamanda antibiyotikler veya diğer doğal antimikrobiyaller gibi ajanları taşıyıp ileterek sinerjik etki de sergilediği rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2017).

Ouyang ve arkadaşları (2018), metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) modeline karşı AgNP'ler ile birlikte bir substrat olan stabilize edici ve indirgeyici ajan olarak siyah fosfor (BP) kullanarak etkisini incelemiştir. Çalışmada yakın kızılötesi (NIR) ışık ile yapılan ışınlamanın Ag-BP nano-hibritlerinde BP'nin fototermal etkisini tetiklediği ve Ag<sup>+</sup> iyonlarının kademeli olarak salınmasını sağlayarak bakteriyel zarın hızlı bir şekilde bozulmasına yol

açtığı tespit edilmiştir. Bu durum, mevcut antibakteriyel etkinin artmasına katkı sağlamıştır. Ek olarak fare modeli üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalarda, Ag-BP nano-hibritlerinin MRSA biyoyükünü etkili bir şekilde azalttığı ve enfeksiyonla ilişkili doku lezyonlarını hafiflettiği sonucuna varılmıştır.

Yapılan diğer bir çalışmada iki karbapenem sınıfı  $\beta$ -laktam antibiyotik olan imipenem (Ipm) ve meropenem (Mem) ilaç dirençli patojenlere karşı terapötik antibakteriyel potansiyelini maksimize etmek amacıyla altın nanopartikül (AuNP) yüzeyi tek tek konjuge edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre elde edilen her bir 35 nm boyutundaki AuNP, karbapenem dirençli gram-negatif klinik izolatlar olan *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *Acinetobacter baumannii*'ye karşı maksimum antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca Ipm'nin MIC'inde dört kat, Mem'in MIC değerinde ise üç kat azalma olduğu rapor edilmiştir (Shaker ve ark., 2017).

Wu ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, ultra küçük gümüş nanokümelere (AgNA'ler) ve biyofilm duyarlı polimerik ligandların kendi kendine birleşimiyle nano-antibiyotikler elde etmiştir. Elde edilen AgNA'lerin, biyofilmde yaygın olarak bulunan asidik koşullara duyarlı olduğu, bu ortamda ligand protonasyonu ve ardından agregasyonlarının dağılmasının gerçekleştiği görülmüştür. AgNA'lerin bu özelliğe sahip olması, biyofilm içinde daha uzun süre kalmasını, daha iyi nüfuz edebilmesini ve gümüş iyonlarının daha hızlı salınımını sağlayarak bakterilerin etkili bir şekilde öldürülmesine katkı sağlamıştır. Dolayısıyla bu durum, sınırlı terapötik aktivite gösteren antimikrobiyal ajanlarla kıyaslandığında önemli bir avantaj sunmaktadır. Ayrıca bu etkiler, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) enfeksiyon modelinde hem *in vitro* hem de daha sonra *in vivo* olarak doğrulanmıştır. Ek olarak biyofilm kaynaklı şiddetli piyomiyozit gelişen farelerde ölüm oranının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

## SONUÇ

Son zamanlarda dahil olmak üzere nanoteknoloji alanındaki gelişmeler, özellikle metal/metal oksit nanopartiküller ve nanokompozitlerin antibakteriyel ajanlar olarak kullanılmasıyla ilgili olarak, bakteriyel patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarla mücadele edilebilmesi için yeni fırsatlar sunmaktadır. Özetlenen bulgular özellikle metal/metal oksit nanopartiküllerin türü, şekli, boyutu ve konsantrasyonu gibi faktörlere bağlı olarak bu nanopartiküllerin mikrobiyal türler ve çoklu ilaç dirençli varyantlara karşı etkili olabileceğini

göstermektedir. Aslında rapor edilen son araştırmalar, metal nanopartiküllerin hücrenel bariyerleri aşabilme yeteneği ve mikrobiyal patojenler arasında direnç gelişme riski nedeniyle olası sağlık tehlikeleri oluşturabileceğini de öne sürmektedir. Dolayısıyla bu nanopartiküllerin bazıları günümüzde tüketici pazarında çeşitli uygulamalarda yer almaktadır. Bu tür nanoteknolojik ürünlerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerinin ve faydalarının sistematik olarak değerlendirilmesi için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu eşsiz nanoteknolojik malzemelerin hem çevresel ortama hem de besin zincirine büyük ölçekli maruziyetinden önce dikkatli bir yaklaşım benimsenmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abbaszadegan, A., Ghahramani, Y., Gholami, A., Hemmateenejad, B., Dorostkar, S., Nabavizadeh, M., & Sharghi, H. (2015). The effect of charge at the surface of silver nanoparticles on antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria: a preliminary study. *Journal of Nanomaterials*, 2015(1), 720654.
- Abdulsada, Z., Kibbee, R., Örmeci, B., DeRosa, M., & Princz, J. (2021). Impact of anaerobically digested silver and copper oxide nanoparticles in biosolids on soil characteristics and bacterial community. *Chemosphere*, 263, 128173.
- Abinaya, S., & Kavitha, H. P. (2023). Magnesium oxide nanoparticles: effective antilarvicidal and antibacterial agents. *ACS omega*, 8(6), 5225.
- Al Musayeib, N. M., Amina, M., Maqsood, F., Bokhary, K. A., & Alrashidi, N. S. (2024). Biogenic synthesis of photosensitive magnesium oxide nanoparticles using citron waste peel extract and evaluation of their antibacterial and anticarcinogenic potential. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2024(1), 8180102.
- Anupong, W., On-Uma, R., Jutamas, K., Salmen, S. H., Alharbi, S. A., Joshi, D., & Jhanani, G. K. (2023). Antibacterial, antifungal, antidiabetic, and antioxidant activities potential of *Coleus aromaticus* synthesized titanium dioxide nanoparticles. *Environmental Research*, 216, 114714.
- Arafa, M. G., El-Kased, R. F., & Elmazar, M. M. (2018). Thermoresponsive gels containing gold nanoparticles as smart antibacterial and wound healing agents. *Scientific reports*, 8(1), 13674.
- Atif, M., Iqbal, S., Fakhar-E-Alam, M., Ismail, M., Mansoor, Q., Mughal, L., ... & Farooq, W. A. (2019). Manganese-Doped Cerium Oxide Nanocomposite Induced Photodynamic Therapy in MCF-7 Cancer Cells and Antibacterial Activity. *BioMed Research International*, 2019(1), 7156828.
- Baptista, P. V., McCusker, M. P., Carvalho, A., Ferreira, D. A., Mohan, N. M., Martins, M., & Fernandes, A. R. (2018). Nano-strategies to fight multidrug resistant bacteria—"A Battle of the Titans". *Frontiers in microbiology*, 9, 1441.
- Beyth, N., Hourri-Haddad, Y., Domb, A., Khan, W., & Hazan, R. (2015). Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 246012.

- Bordi, C., & De Bentzmann, S. (2011). Hacking into bacterial biofilms: a new therapeutic challenge. *Annals of intensive care*, 1, 1-8.
- Busila, M., Musat, V., Alexandru, P., Romanitan, C., Brincoveanu, O., Tucureanu, V., ... & Dediu, V. (2023). Antibacterial and photocatalytic activity of ZnO/Au and ZnO/Ag nanocomposites. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23), 16939.
- Cai, L., Chen, J., Liu, Z., Wang, H., Yang, H., & Ding, W. (2018). Magnesium oxide nanoparticles: effective agricultural antibacterial agent against *Ralstonia solanacearum*. *Frontiers in microbiology*, 9, 790.
- Chernousova, S., & Epple, M. (2013). Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(6), 1636-1653.
- Cui, H., & Smith, A. L. (2022). Impact of engineered nanoparticles on the fate of antibiotic resistance genes in wastewater and receiving environments: a comprehensive review. *Environmental Research*, 204, 112373.
- Dasgupta, N., Ranjan, S., & Ramalingam, C. (2017). Applications of nanotechnology in agriculture and water quality management. *Environmental Chemistry Letters*, 15, 591-605.
- Demirbas, A., & Karsli, B. (2025). Innovative chitosan-silver nanoparticles: Green synthesis, antimicrobial properties, and migration assessment for food packaging. *Food Chemistry*, 467, 142363.
- Dinali, R., Ebrahiminezhad, A., Manley-Harris, M., Ghasemi, Y., & Berenjian, A. (2017). Iron oxide nanoparticles in modern microbiology and biotechnology. *Critical reviews in microbiology*, 43(4), 493-507.
- Docters, T., Chovelon, J. M., Herrmann, J. M., & Deloume, J. P. (2004). Syntheses of TiO<sub>2</sub> photocatalysts by the molten salts method: Application to the photocatalytic degradation of Prosulfuron®. *Applied Catalysis B: Environmental*, 50(4), 219-226.
- Ealia, S. A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017, November). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. In *IOP conference series: materials science and engineering* (Vol. 263, No. 3, p. 032019). IOP Publishing.
- de Emery, B. D., Chitolina, G. Z., Qadir, M. I., Furian, T. Q., Borges, K. A., de Souza Moraes, H. L., ... & do Nascimento, V. P. (2022). Antimicrobial and antibiofilm activity of silver nanoparticles against *Salmonella Enteritidis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(1), 285.

- Esfahani, M. B., Khodavandi, A., Alizadeh, F., & Bahador, N. (2023). Antibacterial and anti-biofilm activities of microbial synthesized silver and magnetic iron oxide nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa*. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, 22(4), 956-966.
- Fanoro, O. T., & Oluwafemi, O. S. (2020). Bactericidal antibacterial mechanism of plant synthesized silver, gold and bimetallic nanoparticles. *Pharmaceutics*, 12(11), 1044.
- Firouzabadi, F. B., Noori, M., Edalatpanah, Y., & Mirhosseini, M. (2014). ZnO nanoparticle suspensions containing citric acid as antimicrobial to control *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in mango juice. *Food control*, 42, 310-314.
- Gharpure, S., & Ankamwar, B. (2020). Synthesis and antimicrobial properties of zinc oxide nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 20(10), 5977-5996.
- Girigoswami, A., Ghosh, M. M., Pallavi, P., Ramesh, S., & Girigoswami, K. (2021). Nanotechnology in detection of food toxins—focus on the dairy products. *Biointerface Res Appl Chem*, 11(6), 14155-14172.
- Hammad, E. N., Salem, S. S., Mohamed, A. A., & El-DougDoug, W. (2022). Environmental impacts of ecofriendly iron oxide nanoparticles on dyes removal and antibacterial activity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(12), 6053-6067.
- Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H. C., & Kahru, A. (2008). Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71(7), 1308-1316.
- Hornak, J. (2021). Synthesis, properties, and selected technical applications of magnesium oxide nanoparticles: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12752.
- Jahan, I., Erci, F., Cakir-Koc, R., & Isildak, I. (2020). Microwave-irradiated green synthesis of metallic silver and copper nanoparticles using fresh ginger (*Zingiber officinale*) rhizome extract and evaluation of their antibacterial potentials and cytotoxicity. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(5), 722-732.
- Jayaseelan, C., Rahuman, A. A., Kirthi, A. V., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Bagavan, A., ... & Rao, K. B. (2012). Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 90, 78-84.



- Jiang, H., Li, L., Li, Z., & Chu, X. (2024). Metal-based nanoparticles in antibacterial application in biomedical field: Current development and potential mechanisms. *Biomedical Microdevices*, 26(1), 12.
- John, M. S., Nagoth, J. A., Zannotti, M., Giovannetti, R., Mancini, A., Ramasamy, K. P., ... & Pucciarelli, S. (2021). Biogenic synthesis of copper nanoparticles using bacterial strains isolated from an antarctic consortium associated to a psychrophilic marine ciliate: characterization and potential application as antimicrobial agents. *Marine drugs*, 19(5), 263.
- Kabeerdass, N., Al Otaibi, A., Rajendran, M., Manikandan, A., Kashmery, H. A., Rahman, M. M., ... & Mathanmohun, M. (2021). Bacillus-mediated silver nanoparticle synthesis and its antagonistic activity against bacterial and fungal pathogens. *Antibiotics*, 10(11), 1334.
- Kalimuthu, K., Cha, B. S., Kim, S., & Park, K. S. (2020). Eco-friendly synthesis and biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Microchemical Journal*, 152, 104296.
- Klink, M. J., Laloo, N., Leudjo Taka, A., Pakade, V. E., Monapathi, M. E., & Modise, J. S. (2022). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles against selected waterborne bacterial and yeast pathogens. *Molecules*, 27(11), 3532.
- Laanoja, J., Sihtmäe, M., Vihodceva, S., Iesalnieks, M., Otsus, M., Kurvet, I., ... & Kasemets, K. (2024). Synthesis and synergistic antibacterial efficiency of chitosan-copper oxide nanocomposites. *Heliyon*, 10(15).
- Liu, L. P., Yang, X. N., Ye, L., Xue, D. D., Liu, M., Jia, S. R., ... & Zhong, C. (2017). Preparation and characterization of a photocatalytic antibacterial material: Graphene oxide/TiO<sub>2</sub>/bacterial cellulose nanocomposite. *Carbohydrate Polymers*, 174, 1078-1086.
- Lu, Y., Wang, L., Wang, D., Xie, T., Chen, L., & Lin, Y. (2011). A comparative study on plate-like and flower-like ZnO nanocrystals surface photovoltage property and photocatalytic activity. *Materials Chemistry and Physics*, 129(1-2), 281-287.
- Manju, S., Malaikozhundan, B., Vijayakumar, S., Shanthi, S., Jaishabanu, A., Ekambaram, P., & Vaseeharan, B. (2016). Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic effects of *Nigella sativa* essential oil coated gold nanoparticles. *Microbial pathogenesis*, 91, 129-135.
- de Moura, F. B. R., Ferreira, B. A., Muniz, E. H., Justino, A. B., Silva, A. G., de Azambuja Ribeiro, R. I. M., ... & Tomiosso, T. C. (2022). Antioxidant, anti-inflammatory, and wound healing effects of topical

- silver-doped zinc oxide and silver oxide nanocomposites. *International Journal of Pharmaceutics*, 617, 121620.
- Mukherjee, A., Sadiq, I. M., Prathna, T. C., & Chandrasekaran, N. (2011). Antimicrobial activity of aluminium oxide nanoparticles for potential clinical applications. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 1, 245-251.
- Nain, A., Tseng, Y. T., Wei, S. C., Periasamy, A. P., Huang, C. C., Tseng, F. G., & Chang, H. T. (2020). Capping 1, 3-propanedithiol to boost the antibacterial activity of protein-templated copper nanoclusters. *Journal of Hazardous Materials*, 389, 121821.
- Namakka, M., Rahman, M. R., Said, K. A. M. B., Mannan, M. A., & Patwary, A. M. (2023). A review of nanoparticle synthesis methods, classifications, applications, and characterization. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 20, 100900.
- Ouyang, J., Liu, R. Y., Chen, W., Liu, Z., Xu, Q., Zeng, K., ... & Liu, Y. N. (2018). A black phosphorus based synergistic antibacterial platform against drug resistant bacteria. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(39), 6302-6310.
- Pelgrift, R. Y., & Friedman, A. J. (2013). Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Advanced drug delivery reviews*, 65(13-14), 1803-1815.
- Pourakbar, L., Siavash Moghaddam, S., & Popović-Djordjević, J. (2020). Synthesis of metal/metal oxide nanoparticles by green methods and their applications. In *Sustainable Agriculture Reviews 41: Nanotechnology for Plant Growth and Development* (pp. 63-81). Cham: Springer International Publishing.
- Priya, M., Venkatesan, R., Deepa, S., Sana, S. S., Arumugam, S., Karami, A. M., ... & Kim, S. C. (2023). Green synthesis, characterization, antibacterial, and antifungal activity of copper oxide nanoparticles derived from *Morinda citrifolia* leaf extract. *Scientific Reports*, 13(1), 18838.
- Radulescu, D. M., Surdu, V. A., Fikai, A., Fikai, D., Grumezescu, A. M., & Andronescu, E. (2023). Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles: a review of the principles and biomedical applications. *International journal of molecular sciences*, 24(20), 15397.

- Ramrakhiani, L., & Ghosh, S. (2018). Metallic nanoparticle synthesised by biological route: safer candidate for diverse applications. *IET nanobiotechnology*, 12(4), 392-404.
- Rashmi, V., & Sanjay, K. R. (2017). Green synthesis, characterisation and bioactivity of plant-mediated silver nanoparticles using *Decalepis hamiltonii* root extract. *IET nanobiotechnology*, 11(3), 247-254.
- Reddy, L. S., Nisha, M. M., Joice, M., & Shilpa, P. N. (2014). Antimicrobial activity of zinc oxide (ZnO) nanoparticle against *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmaceutical biology*, 52(11), 1388-1397.
- Rodríguez-Hernández, A. P., Vega-Jiménez, A. L., Vázquez-Olmos, A. R., Ortega-Maldonado, M., & Ximenez-Fyvie, L. A. (2023). Antibacterial properties in vitro of magnesium oxide nanoparticles for dental applications. *Nanomaterials*, 13(3), 502.
- Roy, A., Bulut, O., Some, S., Mandal, A. K., & Yilmaz, M. D. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. *RSC advances*, 9(5), 2673-2702.
- Salem, S. S., & Fouda, A. (2021). Green synthesis of metallic nanoparticles and their prospective biotechnological applications: an overview. *Biological trace element research*, 199(1), 344-370.
- Sathiyaraj, S., Suriyakala, G., Gandhi, A. D., Babujanathanam, R., Almaary, K. S., Chen, T. W., & Kaviyarasu, K. (2021). Biosynthesis, characterization, and antibacterial activity of gold nanoparticles. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1842-1847.
- Shaker, M. A., & Shaaban, M. I. (2017). Formulation of carbapenems loaded gold nanoparticles to combat multi-antibiotic bacterial resistance: In vitro antibacterial study. *International Journal of Pharmaceutics*, 525(1), 71-84.
- Sharma, N., Bhatt, G., & Kothiyal, P. (2015). Gold nanoparticles synthesis, properties, and forthcoming applications-a review. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 3(2), 13.
- Lallo da Silva, B., Abuçafy, M. P., Berbel Manaia, E., Oshiro Junior, J. A., Chiari-Andréo, B. G., Pietro, R. C. R., & Chiavacci, L. A. (2019). Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview. *International journal of nanomedicine*, 9395-9410.

- Singh, H., Du, J., Singh, P., & Yi, T. H. (2018). Ecofriendly synthesis of silver and gold nanoparticles by *Euphrasia officinalis* leaf extract and its biomedical applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(6), 1163-1170.
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Hñfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, 15, 1-20.
- Song, B., Zhang, C., Zeng, G., Gong, J., Chang, Y., & Jiang, Y. (2016). Antibacterial properties and mechanism of graphene oxide-silver nanocomposites as bactericidal agents for water disinfection. *Archives of biochemistry and biophysics*, 604, 167-176.
- Torres-Ramos, M. I., Martín-Camacho, U. D. J., González, J. L., Yañez-Acosta, M. F., Becerra-Solano, L., Gutiérrez-Mercado, Y. K., ... & Pérez-Larios, A. (2022). A study of Zn-Ca nanocomposites and their antibacterial properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 7258.
- Usman, M. S., Zowalaty, M. E. E., Shameli, K., Zainuddin, N., Salama, M., & Ibrahim, N. A. (2013). Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 4467-4479.
- Vasantharaj, S., Sathiyavimal, S., Senthilkumar, P., LewisOscar, F., & Pugazhendhi, A. (2019). Biosynthesis of iron oxide nanoparticles using leaf extract of *Ruellia tuberosa*: antimicrobial properties and their applications in photocatalytic degradation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 192, 74-82.
- Velusamy, P., Su, C. H., Kannan, K., Kumar, G. V., Anbu, P., & Gopinath, S. C. (2022). Surface engineered iron oxide nanoparticles as efficient materials for antibiofilm application. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(2), 714-725.
- Venkatasubbu, G. D., Baskar, R., Anusuya, T., Seshan, C. A., & Chelliah, R. (2016). Toxicity mechanism of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles against food pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 148, 600-606.
- Vincent, M., Duval, R. E., Hartemann, P., & Engels-Deutsch, M. (2018). Contact killing and antimicrobial properties of copper. *Journal of applied microbiology*, 124(5), 1032-1046.

- Vodyashkin, A., Stoinova, A., & Kezimana, P. (2024). Promising biomedical systems based on copper nanoparticles: synthesis, characterization, and applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113861.
- Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International journal of nanomedicine*, 1227-1249.
- Wu, S., Rajeshkumar, S., Madasamy, M., & Mahendran, V. (2020). Green synthesis of copper nanoparticles using *Cissus vitiginea* and its antioxidant and antibacterial activity against urinary tract infection pathogens. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 48(1), 1153-1158.
- Youghbaré, S., Mutalik, C., Okoro, G., Lin, I. H., Krisnawati, D. I., Jazidie, A., ... & Kuo, T. R. (2021). Emerging trends in nanomaterials for antibacterial applications. *International journal of nanomedicine*, 5831-5867.
- Yuan, X., Setyawati, M. I., Leong, D. T., & Xie, J. (2014). Ultrasmall Ag<sup>+</sup>-rich nanoclusters as highly efficient nanoreservoirs for bacterial killing. *Nano Research*, 7, 301-307.
- Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International journal of nanomedicine*, 1227-1249.
- Zare, Y., & Shabani, I. (2016). Polymer/metal nanocomposites for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 60, 195-203.
- Zargar, M., Hamid, A. A., Bakar, F. A., Shamsudin, M. N., Shameli, K., Jahanshiri, F., & Farahani, F. (2011). Green synthesis and antibacterial effect of silver nanoparticles using *Vitex negundo* L. *Molecules*, 16(8), 6667-6676.
- Zhang, T. G., & Miao, C. Y. (2024). Iron Oxide Nanoparticles as Promising Antibacterial Agents of New Generation. *Nanomaterials*, 14(15), 1311.
- Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534.
- Zheng, Y., Wei, M., Wu, H., Li, F., & Ling, D. (2022). Antibacterial metal nanoclusters. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 328.

## BÖLÜM 12

# NANOPARTİKÜLLERİN İLAÇ DAĞITIMINDAKİ ROLÜ VE HÜCRE HATLARI İLE TOKSİSİTE DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

Uzm. Moleküler Biyolog Furkan TURAN<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15169753>

<sup>1</sup>Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı [furkan.turan@yeditepe.edu.tr](mailto:furkan.turan@yeditepe.edu.tr) Orcid ID:0000-0001-7869-4215



## GİRİŞ

Son yıllarda, nanopartikül (NP) bazlı dağıtım sistemleri, özellikle ilaç dağıtım alanında, biyomoleküllerin taşınması için yenilikçi taşıyıcılar olarak büyük ilgi görmektedir. Bu sistemler, terapötik ajanların farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini iyileştirmede dikkate değer bir verimlilik göstererek, ilaçların hedefli, kontrollü ve sürekli salınımını sağlamaktadır (Mitragotri ve ark., 2020). İlaç dağıtım, terapötik etkiler elde etmek için farmasötik bileşiklerin uygulanması süreci, modern tıbbın kritik bir yönünü oluşturmaktadır. Ancak genellikle yüksek maliyetler, uzun zaman çizelgeleri ve karmaşık düzenleyici gereklilikler nedeniyle yeni ilaçların geliştirilmesi zorlaşmaktadır (Anselmo ve ark., 2019). Bu zorlukların üstesinden gelmek için, özellikle NP'ler kullanan gelişmiş ilaç dağıtım sistemleri, farmasötik bilimde dönüştürücü araçlar olarak ortaya çıkmaktadır.

Benzersiz fizikokimyasal özellikleriyle NP'ler, son yirmi yılda ilaç dağıtım mekanizmalarında devrim yaratmıştır. NP'lerin protein, nükleik asit ve kemoterapötik ajanlar dahil olmak üzere hem küçük hem de büyük molekülleri kapsülleme ve iletme yetenekleri, kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve bulaşıcı hastalıklar gibi karmaşık hastalıkların tedavisi için yeni olanaklar sunmuştur (Patra ve ark., 2018). Bu gelişmelere rağmen, nanopartiküllerin potansiyel toksisitesi ve çevresel etkisi hakkındaki endişeler de artmaktadır. Son çalışmalar, hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde gözlemlenen oksidatif stres, inflamasyon ve hücre hasar dahil olmak üzere NP'lerin olumsuz etkilerini vurgulamaktadır (Fadeel ve ark., 2018; Sharifi ve ark., 2020). Bu bulgular, nanopartikül güvenliği ve toksisitesi hakkında daha kapsamlı araştırmalar yapılma gerekliliğini doğurmuştur.

Nanoteknolojideki hızlı ilerleme, sağlam güvenlik değerlendirme çerçevelerinin geliştirilmesini geride bırakarak teknolojik yenilik ve risk değerlendirmesi arasında önemli bir bilgi boşluğu yaratmaktadır (Bobo ve ark., 2021). Bu boşluğu ortadan kaldırmak için araştırmacılar, NP toksisitesini değerlendirmek adına daha güvenilir *in vitro* yöntemler geliştirmeye odaklanmaktadır. Bu yöntemler yalnızca NP kaynaklı toksisitenin mekanizmalarına ilişkin içgörüler sağlamanın yanısıra aynı zamanda tıbbi ve endüstriyel uygulamalarda kullanımları için güvenlik yönergeleri oluşturmaya da yardımcı olmaktadır (Nel ve ark., 2020). Örneğin, son çalışmalar NP'lerin biyolojik etkileşimlerini değerlendirmek için yüksek verimli tarama, çip



üzerinde organ modelleri ve hesaplamalı toksikoloji gibi gelişmiş teknikler kullanılmaktadır (Jiang ve ark., 2021).

Bu bölüm, NP tabanlı ilaç dağıtım sistemlerinin mevcut durumunu inceleyerek potansiyel faydalarını ve ilişkili risklerini vurgulamaktadır. Ayrıca, teknolojik gelişmeler ile güvenlik hususları arasındaki boşluğu kapatmayı amaçlayan NP toksisitesini değerlendirmek için *in vitro* yöntemleri de ele almaktadır. Aynı zamanda bu bölüm son araştırma bulgularını entegre ederek, nanopartikül tabanlı ilaç dağıtım alanındaki zorluklar ve fırsatlar hakkında kapsamlı bir genel bakış sunmaktadır.

## 1. NANOPARTİKÜLLER

NP'ler, 10-100 nanometre boyut aralığında parçacık dispersiyonları veya katı partiküller olarak tanımlanmaktadır (Singh ve ark., 2020). NP'lerin tarihsel kullanımı, MÖ 13. ve 14. yüzyıllarda cam yapımında metalik NP'ler kullanan Mezopotamyalılar ve Mısırlılar gibi eski medeniyetlere kadar uzanmaktadır (Barhoum ve ark., 2019). Çarpıcı bir örnek, ışık önden geçtiğinde yeşil, arkadan geçtiğinde kırmızı görünen, renk değiştiren özellikler gösteren dikroik camdan yapılmış bir 4. yüzyıl Roma eseri olan Lycurgus Kupası'dır. Bu etki, %10 bakırla birlikte 7:3 oranında gümüş-altın alaşımli NP'lerin varlığına atfedilmekte ve (Jeevanandam ve ark., 2020) benzer şekilde, nanometre kalınlığında kil mineralleri gibi doğal nanomalzemeler eski zamanlardan beri kullanılmaktadır (Rytwo, 2021).

NP'lerin bilimsel araştırmaları, 19. yüzyılda Michael Faraday'ın 1857'de kolloidal altın NP'lerinin senteziyle başlamış olup NP hazırlama konusunda ilk bilimsel rapor olarak kabul edilmektedir (Jeevanandam ve ark., 2020). O zamandan beri NP'ler; tıp, elektronik, enerji ve çevre bilimi gibi çeşitli alanları kapsayan uygulamalarla dinamik bir araştırma alanı ve gelişen bir teknoekonomik sektöre dönüşmüştür. Standart İngiliz Kurumu (Standard British Institution), nanoteknolojideki bilimsel terminolojiyi standartlaştırmak için aşağıdaki tanımları baz almaktadır (Jeevanandam ve ark., 2020):

- **Nanoölçek:** Yaklaşık olarak 1 ila 1000 nanometre arasındaki boyutları.
- **Nanoteknoloji:** Endüstriyel, biyomedikal ve bilimsel uygulamalar için maddenin nanometre ölçeğinde manipülasyonu ve kontrolü.
- **Nanomalzeme:** Nano ölçekte iç veya dış yapılara sahip malzemeler.

- **Nanopartikül:** Nano ölçekte üç dış boyuta sahip bir nano nesne. En uzun ve en kısa eksenlerin uzunlukları farklı nanorodlar veya nanoplakalar.

Nanopartiküller, yapılarına ve hazırlama yöntemlerine göre farklı tiplerde sınıflandırılmaktadır:

- **Nanokapsüller:** İlacın polimer bir membranla çevrili bir boşluk içinde hapsedildiği sistemler.
- **Nanoküreler:** İlacın partikül boyunca eşit şekilde dağıldığı matris sistemleri.
- **Yüzey modifiye edilmiş nanopartiküller:** Stabilitayı ve biyouyumluluğu artırmak için polietilen glikol (PEG) gibi hidrofilik polimerlerle kaplanmış partiküller.

Lipozomların ilaç taşıyıcıları olarak yaygın olarak kullanılsa da düşük kapsülleme verimliliği, zayıf depolama stabilitesi ve suda çözünen ilaçların sızması gibi olumsuz yönleri olmasına rağmen bu sınırlamalar, NP'lerin daha verimli ve çok yönlü ilaç dağıtım sistemleri olarak geliştirilmesini engellememiştir (Mitragotri ve ark., 2021). NP'leri ilaç iletimi için ideal hale getiren temel özellikleri şunlardır:

- Hedeflenen iletim için partikül boyutunu ve yüzey özelliklerini değiştirme yeteneği.
- Belirli bölgelerde kontrollü ve sürekli ilaç salınımı, terapötik etkinliğin iyileştirilmesi ve yan etkilerin azaltılması.
- Ligandların bağlanması veya manyetik kılavuz kullanımı yoluyla bölgeye özgü hedefleme.

NP'ler, değiştirilmiş erime noktaları, gelişmiş termal iletkenlik ve iyileştirilmiş ışık emilimi ve saçılması gibi benzersiz fizikokimyasal özellikler sergilemekte ve bu da onları toplu muadillerinden üstün kılmaktadır (Singh ve ark., 2020). NP'ler proteinler, polisakaritler ve sentetik polimerler dahil olmak üzere çeşitli malzemelerden sentezlenebilmekte olup NP hazırlama için en yaygın yöntemler şunlardır (Mitragotri ve ark., 2021):

- Önceden oluşturulmuş polimerlerin dispersiyonu.
- Monomerlerin polimerizasyonu.

- Hidrofilik polimerlerin iyonik jelleşmesi veya koaservasyonu.

Süperkritik akışkan teknolojisi (Reverchon ve ark., 2020) ve ıslatmayan şablonlarda parçacık replikasyonu (PRINT) (Khan ve ark., 2022) gibi gelişmiş teknikler de NP sentezi için kullanılmaktadır. Ek olarak, nanopartiküller iki geniş yaklaşım kullanılarak hazırlanabilir:

- **Yukarıdan aşağıya sentez:** Bir başlangıç malzemesinin kademeli olarak mekanik, kimyasal veya diğer enerji formlarını kullanarak boyut küçültme yöntemleriyle nano ölçekli parçacıkların elde edildiği sentez yaklaşımıdır. Bu sentez yaklaşımı ile NP'ler mekanik öğütme, asitle aşındırma, lazer ablasyon, püskürtme ve elektro-patlama gibi çeşitli yöntemler ile üretilebilmektedir (Wang ve Xia, 2019).
- **Aşağıdan yukarıya sentez:** NP'lerin daha küçük moleküllerden veya atomlardan birleştirildiği yapıcı bir yaklaşımdır.

## 2. NANOPARTİKÜL TİPLERİ

NP'ler, malzeme bileşimlerine, boyutlarına, morfolojilerine ve fizikokimyasal özelliklerine göre de sınıflandırılmaktadır (Khan ve ark., 2019; Jeevanandam ve ark., 2020).

### 2.1. Fizikokimyasal Özelliklerine Göre Nanopartiküller

#### 2.1.1. Karbon Bazlı Nanopartiküller

Bu NP'ler öncelikle karbondan oluşmakta ve içi boş tüpler, elipsoidler veya küreler gibi çeşitli formlarda bulunmaktadır. Örnekler arasında fullerenler (örneğin, C60), karbon nanotüpler (CNT'ler), karbon nanofiberler, grafen ve karbon soğanları bulunmaktadır. Karbon bazlı NP'ler, lazer ablasyonu ve kimyasal buhar biriktirme (CVD) gibi yöntemler kullanılarak sentezlenmektedir. Bu malzemeler olağanüstü mekanik, elektriksel ve termal özellikler sergilemekte ve bu da onları elektronik, enerji depolama ve biyomedikal mühendisliği uygulamaları için uygun hale getirmektedir (Khan ve ark., 2019).

#### 2.1.2. İnorganik Bazlı Nanopartiküller

İnorganik NP'ler tipik olarak metallere veya metal oksitlerden oluşmakta olup altın (Au), gümüş (Ag), titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>), çinko oksit (ZnO) ve silikon ve seramik gibi yarı iletkenler bu gruba girmektedir. Bu

NP'ler, büyüklüklerine, yüzey şekillerine ve biçimlerine bağlı olarak benzersiz optoelektrik özellikler göstermektedir (Dreaden ve ark., 2019).

### **2.1.3. Organik Bazlı Nanopartiküller**

Organik NP'ler, karbon bazlı veya inorganik maddeler hariç, organik malzemelerden oluşmaktadır. Dendrimerler, lipozomlar, misel ve polimer NP'ler gibi yapılara kendiliğinden birleşmeyi sağlayan kovalent olmayan etkileşimler yoluyla oluşmaktadırlar. Örneğin, lipit bazlı NP'ler 10 ila 1000 nm arasında değişen boyutlarda olup yüzey aktif maddeler ve emülgatörler tarafından stabilize edilmektedirler. Bu NP'ler, biyoyuumlulukları ve biyolojik olarak parçalanabilirlikleri nedeniyle ilaç dağıtımında ve biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Jeevanandam ve ark., 2020).

### **2.1.4. Kompozit Bazlı Nanopartiküller**

Kompozit NP'ler, en az bir fazın nanoskalada olduğu çoklu fazlardan oluşmaktadır. Bu NP'ler, nanofiberler gibi hibrit yapılar oluşturmak için diğer NP'lerle veya daha büyük malzemelerle birleşebilme yeteneğine sahiptirler. Kompozit NP'ler gelişmiş mekanik mukavemet, termal kararlılık ve katalitik aktivite gibi gelişmiş özellikler sergileyecek şekilde tasarlanmakta ve bu da onları malzeme bilimi ve mühendisliğinde ileri uygulamalar için uygun hale getirmektedir (Khan ve ark., 2019).

## **2.2. Kökenine Göre Nanopartiküller**

Nanopartiküller kökenlerine göre de iki ana kategoriye ayrılmaktadır (Jeevanandam ve ark., 2020):

### **2.2.1. Doğal Nanopartiküller**

Doğal NP'ler biyolojik süreçler veya antropojenik aktiviteler yoluyla üretilmekte ve hidrosfer, atmosfer, litosfer ve biyosfer dahil olmak üzere dünyanın her yerinde bulunmaktadır. Bu NP'ler arasında volkanik kül, mineral ve biyolojik olarak sentezlenmiş NP'ler bulunmakta olup besin döngüsü ve çevresel iyileştirme gibi doğal süreçlerde önemli rol oynamaktadırlar (Barhoum ve ark., 2019).

### **2.2.2. Sentetik Nanopartiküller**

Sentetik NP'ler fiziksel, kimyasal, biyolojik veya hibrit teknikler kullanılarak üretilmekte ve motor egzoz sistemleri gibi endüstriyel

uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ancak potansiyel çevresel ve sağlık riskleri, titiz risk değerlendirme stratejileri gerektirmekte olup yapılan son araştırmalar, kadmiyum (Cd), selenyum (Se) ve arsenik (As) gibi toksik elementlerin yanı sıra tellür (Te), galyum (Ga) ve indiyum (In) gibi nadir elementlerden kaçınarak daha güvenli alternatifler geliştirmeye odaklanmıştır (Thomas ve ark., 2021).

### 3. NANOPARTİKÜLLERİN UYGULAMA ALANLARI

NP'ler, benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle çeşitli alanlarda uygulamaları olan çok yönlü araçlar olarak ortaya çıkmıştır. Özellikle tıpta etkili dağıtım sistemleri olarak hareket etme kabiliyetleri önemli bir araştırma konusu haline gelmiş olup bu bölümde NP'lerin çeşitli alanlardaki bazı temel uygulamaları verilmiştir:

#### 3.1. İlaçlar ve İlaç Tedavisi

Tıp alanında, NP'ler özellikle ilaç dağıtım sistemlerini geliştirmek için yaygın olarak kullanılmakta olup daha düşük dozajlarda ilaç verilmesini sağlarken daha yüksek terapötik etkinlik elde edilmesine ve yan etkileri en aza indirerek, daha yüksek etkinlik göstermektedir (Alexis ve ark., 2020). Örneğin, özel yüzey kimyasına sahip süperparamagnetik demir oksit nanopartikülleri (SPION'lar); MRI kontrast geliştirme, doku onarımı ve hücre ayırma gibi *in vivo* uygulamalarda kullanılmaktadır (Khan ve ark., 2021). Ek olarak, NP'ler hedefli kanser tedavisi, gen dağıtımı ve aşı geliştirme için araştırılmakta ve karmaşık tıbbi zorluklara umut verici çözümler sunmaktadır.

#### 3.2. Malzemeler ve Üretim

Malzeme biliminde, NP'ler boyuta bağlı özellikleri nedeniyle önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin nanokristalin malzemeler, toplu muadillerine kıyasla gelişmiş mekanik, termal ve elektriksel özellikler sergilemektedir. Yine altın ve gümüş gibi asil metal NP'ler, biyofotonik ve malzeme biliminde kritik olan rezonans enerji transferi (RET) sistemlerinde kullanılmaktadır (Barhoum ve ark., 2020). Bu NP'ler ayrıca gelişmiş kompozitlerin, kaplamaların ve sensörlerin geliştirilmesinde de yaygın kullanım alanı bulmuştur.

#### 3.3. Çevre

NP'ler, çevre dostu özellikleri nedeniyle çevre korumada önemli ilgi görmekte olup çevresel izleme, tehlikeli maddelerin iyileştirilmesi ve

kirleticilerin fotodegradasyonu için sensörlerde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Khan ve ark., 2021). Örneğin, titanyum dioksit ( $TiO_2$ ) NP'leri, su ve havadaki organik kirleticileri parçalamak için fotokatalitik süreçlerde ve çevresel analiz için floresan tabanlı tespit sistemlerinde de rol almaktadır. (Rogozea ve ark., 2020; Olteanu ve ark., 2020).

### **3.4. Enerji Eldesi ve Mekanik Endüstriler**

Enerji sektöründe, NP'ler enerjinin sentezi ve depolanmasında devrim yaratmış olup fosil yakıtlar gibi yenilenemeyen kaynakların tükenmesiyle birlikte, temiz enerji üretmek için fotoelektrokimyasal (PEC) ve elektrokimyasal su ayırma yöntemlerinde kullanılmaktadır (Avasare ve ark., 2020; Ning ve ark., 2021). Enerji depolamada, pillerin ve süper kapasitörlerin verimliliğini artırmak için nanojeneratörler ve nanoyapılı malzemeler geliştirilmektedir (Greeley ve Markovic, 2020; Liu ve ark., 2021).

Mekanik endüstrilerde ise, NP'ler sürtünme ve aşınmayı azaltmak gibi malzemelerin tribolojik özelliklerini iyileştirmek için kullanılmakta olup, mekanik mukavemeti, dayanıklılığı ve korozyona karşı direnci artırmak için polimer matrislere ve metallere dahil edilmektedirler (Khan ve ark., 2021). Dahası, NP'ler mekanik bileşenlerin ömrünü uzatmak için yağlama sistemlerinde ve koruyucu kaplamalarda da yer almaktadır.

## **4. NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİSİTESİ**

NP'ler çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmasına rağmen, biyolojik sistemler ve çevre ile potansiyel etkileşimleri yeterince anlaşılmamıştır. Bu durum, NP'lerin insan sağlığı ve ekosistemler üzerindeki olumsuz etkilerini incelemeye odaklanan bir disiplin olan nanotoksikolojinin ortaya çıkmasına yol açmıştır (Bakand ve ark., 2019). NP'ler çok sayıda fayda sunarken, özellikle artan çevresel maruziyetleri ve potansiyel uzun vadeli etkileri nedeniyle toksisiteyi önemli endişelere yol açmaktadır (Khan ve ark., 2021). NP'lerin toksisitesi, biyolojik sistemlerdeki davranışlarını belirleyen boyut, şekil, yüzey alanı ve kimyasal bileşim gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Seaton ve ark., 2020).

## 5. NANOPARTİKÜL TOKSİSİTESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

NP'lerin toksisitesi, öncelikle küçük boyut, geniş yüzey alanı, yüzey kimyası ve agregasyon eğilimleri gibi benzersiz özellikleriyle ilişkilidir. Bu özelliklerin değiştirilmesi toksisiteyi azaltmaya ve NP uygulamalarının güvenliğini artırmaya yardımcı olabilir. Bu bölümde NP toksisitesini etkileyen temel faktörlere değinilmiştir.

### 5.1. Doz ve Maruz Kalma Süresi

NP'lerin toksisitesi konsantrasyonları ve maruz kalma süreleriyle doğrudan ilgilidir. Daha yüksek dozlar ve uzun süreli maruz kalma, daha fazla NP'ün hücrelere ve dokulara nüfuz edebilmesi nedeniyle olumsuz etki olasılığını artırmaktadır (Buzea ve ark., 2020).

### 5.2. Partikül Boyutu ve Şekli

NP'lerin boyut ve şekle bağlı toksisite gösterdiği bilinmekte olup daha yüksek yüzey alanı-hacim oranına sahip daha küçük NP'ler daha toksik olma eğilimi göstermektedir. Ek olarak, yüksek en-boy oranlı nanorodlar gibi belirli şekiller daha önemli hücresel hasara neden olabilmektedir (Jeevanandam ve ark., 2020).

### 5.3. Yüzey Alanı

NP'lerin yüzey alanlarının artması daha yüksek toksisteye neden olmaktadır. Daha küçük NP'ler daha büyük bir yüzey alanına sahip olup, bu da reaktifliklerini ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretme potansiyellerini artırmaktadır (Jeevanandam ve ark., 2020).

### 5.4. Kristal Yapı

NP'ler kristal yapısı hücresel alımlarını, hücre altı lokalizasyonlarını ve oksidatif mekanizmalarını etkilemekte olup farklı kristal fazları farklı toksisite seviyelerine yol açmaktadır (Jeevanandam ve ark., 2020).

### 5.5. Yüzey Fonksiyonelleştirme

Polimerler veya ligandlarla kaplama gibi yüzey modifikasyonları, NP'lerin translokasyonunu, stabilitesini ve biyolojik sistemlerle etkileşimini

etkileyerek toksisitesini değiştirebilmektedir (Sayes ve ark., 2019; Oberdörster ve ark., 2020).

## **5.6. Maruz Kalma Öncesi Etkiler**

Zaman içinde düşük konsantrasyonlarda NP'lere maruz kalan hücreler, toksisiteye duyarlılıklarını etkileyebilecek artan fagositik aktivite gibi adaptif tepkiler geliştirebilmektedir (Buzea ve ark., 2020).

## **6. NANOPARTİKÜL TOKSİSİTESİNİN MEKANİZMALARI**

NP'ler, oksidatif stres, iltihaplanma ve hücre yapısının bozulması gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla toksisiteye neden olabilir. Bu bölümde NP toksisitesinin bazı temel mekanizmaları verilmiştir:

### **6.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) Oluşumu**

ROS, biyolojik sistemlerde ikili rol oynayan oldukça reaktif moleküllerdir: düşük seviyelerde hücre sinyalizasyonu ve homeostaz için gereklidirler ancak yüksek konsantrasyonlarda oksidatif hasara neden olabilirler. NP'lerin özellikle metal oksitlerin, çeşitli yollarla ROS oluşumuna neden olduğu bilinmektedir.

#### **6.1.1. Asidik Ortam**

Lizozomlarda NP'ler, ROS üretimini katalize eden metal iyonlarını (örn. Fe<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>) parçalayabilir ve serbest bırakabilir (Jain ve ark., 2020).

#### **6.1.2. Mitokondriyal Etkileşim**

NP'ler, mitokondrilerdeki elektron taşıma zincirini bozarak ROS oluşumuna yol açabilir (Soto ve ark., 2021).

#### **6.1.3. NADPH Oksidaz Aktivasyonu**

NP'ler, bağışıklık hücrelerinde NADPH oksidaz ile doğrudan etkileşime girerek ROS üretimini tetikleyebilir (Pisanic ve ark., 2020).

#### **6.1.4. Hücre Yüzey Reseptörü Etkileşimi**

NP'ler, hücre yüzey reseptörlerini aktive ederek ROS üretimiyle sonuçlanan hücre içi sinyalleme kaskadlarına yol açabilir (Pisanic ve ark.,



2023). Aşırı ROS, DNA, proteinler ve lipitler dahil olmak üzere hücrel bileşenlere zarar vererek hücre ölümüne veya işlev bozukluğuna yol açabilir (Manke ve ark., 2023).

### **6.1.5. Sitoiskelet ve Hücre Morfolojisi Kusurları**

NP'ler, hücre şeklini, hareketliliğini ve hücre içi taşımayı korumak için gerekli olan sitoskeleti bozabilir. Örneğin, belirli NP'lere maruz kalma, aktin ve tubulin proteinlerinin organizasyonunu değiştirebilir ve insan göbek kordonu endotel hücreleri (HUVEC'ler) gibi hücrelerin işlevini bozabilir (Wu ve ark., 2020). Bu bozulmalar inflamasyona yol açabilir ve NP tabanlı uygulamaların güvenilirliğini tehlikeye atabilir.

### **6.1.6. İnflamasyon ve Bağışıklık Tepkisi**

NP'ler, bağışıklık hücrelerini aktive ederek ve proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakarak inflamasyon tepkilerini tetikleyebilir. Kronik inflamasyon, doku hasarına yol açabilir ve fibroz ve kanser gibi hastalıklara katkıda bulunabilir (Lanone ve ark., 2020).

## **7. TOKSİSİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

NP'lerin artan ticarileşmesiyle birlikte, potansiyel olumsuz etkilerinin değerlendirilmesi için acil bir ihtiyaç doğmuştur. Ancak, bu alandaki araştırmalar NP uygulamalarının hızlı gelişimiyle karşılaştırıldığında sınırlı kalmaktadır (Manke ve ark., 2020). NP'lerin güvenliğini değerlendirmek, özelliklerindeki ve biyolojik sistemlerle etkileşimlerindeki değişkenlik nedeniyle zordur. Bu bölümde toksisiteyi etkileyen temel faktörler sunılmaktadır.

### **7.1. Nanopartikül Türleri**

Metalik, karbon bazlı ve polimerik NP'ler gibi farklı nanopartiküller, bileşimlerine ve yapılarına bağlı olarak değişen seviyelerde toksisite sergilemektedir (Soenen ve De Cuyper, 2020).

### **7.2. Stabilize Edici Kaplama Maddeleri**

Polimerler veya yüzey aktif maddeler gibi yüzey kaplamaları, NP'lerin stabilitesini, reaktivitesini ve hücrelerle etkileşimini etkileyerek toksisite profilini önemli ölçüde değiştirebilir (Clift ve ark., 2020).

### 7.3. Fizikokimyasal Parametreler

Boyut, şekil, yüzey yükü ve topografya gibi özellikler NP toksisitesini belirlemede kritik bir rol oynar. Örneğin daha küçük NP'ler, artan yüzey alanları ve reaktiviteleri nedeniyle daha yüksek toksisite gösterme eğilimindedir (Verma ve Stellacci, 2020).

### 7.4. Kuluçka Koşulları

NP'lerin konsantrasyonu ve maruz kalma süresi, toksisite değerlendirmelerinde kritik faktörler olup yüksek konsantrasyon ve uzun maruz kalma süreleri genellikle daha fazla toksisiteye neden olur (Mironava ve ark., 2020).

### 7.5. Kullanılan Analiz Türü

NP toksisitesini değerlendirmek için çeşitli analizler kullanılmakta olup her birinin kendine özgü güçlü ve zayıf yönleri vardır. Yaygın analizler arasında MTT analizi, laktat dehidrogenaz (LDH) analizi ve floresan anneksin V analizi gibi analiz yöntemleri yaygın kullanılanlar arasında sayılmaktadır (Soenen ve ark., 2020).

### 7.6. Kullanılan Hücre Türü

Hücre hattı veya model sistemi seçimi toksisite sonuçlarını etkileyebilen faktörlerdendir. Örneğin, kanser hücre hatları NP'lere normal hücrelere göre çok daha farklı tepkiler verebilir (Lanone ve ark., 2020).

## 8. TOKSİSİTE DEĞERLENDİRME PROTOKOLLERİNİN STANDARDİZASYONU

Standart protokoller, çalışmalar arasında toksisite verilerini karşılaştırmak ve tekrarlanabilirliği sağlamak için önem arz etmektedir. Bu bölümde NP toksisitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan analizler sunulmaktadır.

### 8.1. MTS ve MTT Analizi

MTS analizi (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfopenil)-2H-tetrazolium), mitokondriyal aktiviteyi değerlendirerek hücre canlılığını ölçmek için kullanılan bir kolorimetrik yöntemdir. Metabolik olarak aktif hücrelerde MTS tetrazolyum bileşiğini suda çözünür bir formazan

boyasına indirgeyerek çalışmaktadır. Formazan kristallerini çözmek için organik çözücülerin kullanılmasını gerektiren MTT analizinin (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür) aksine, MTS analizi doğrudan kültür ortamında ölçülebilen çözünen bir formazan ürünü üretir. Bu, ek adımlara olan ihtiyacı ortadan kaldırarak MTS analizini daha kullanışlı, daha hızlı ve yüksek verimli tarama için uygun hale getirir (Riss ve ark., 2020). Ek olarak, MTS analizi hücreler için daha az toksiktir ve bu da MTT analizinin sitotoksik özellikleri nedeniyle mümkün olmayan hücre canlılığının zaman içinde sürekli izlenmesine olanak tanımaktadır (Berridge ve ark., 2021). Yapılan bir çalışmada bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen CuO/ZnO nanoyapılarının MCF-7 kanser hücreleri üzerine sitotoksik etkisi MTT testi ile değerlendirilerek doza bağlı olarak hücre canlılığında azalma gözlenmiştir (Zadeh ve ark., 2019).  $42 \pm 11$  nm Gümüş-platin (AgPt) nanopartiküllerinin sitotoksitesi MTS testi aracılığıyla çalışılarak 10–250  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyon aralığında glioblastoma ve melanom kanser hücre hatlarına karşı hem seçici hem de doza bağımlı bir şekilde antikanser aktivite sergilediğini ortaya koymuştur. Ayrıca sağlıklı fibroblast hücrelerine karşı 10–50  $\mu\text{g/mL}$  aralığındaki konsantrasyonlarda herhangi bir yan etkisi olmadığı tespit edilmiştir (Lopez ve ark., 2020).

## 8.2. Alamar Blue Analizi

Alamar Blue analizi, hücre canlılığını ve çoğalmasını değerlendirmek için kullanılan bir florometrik ve kolorimetrik yöntemdir. Metabolik olarak aktif hücreler tarafından rezazurinin resorufine indirgenmesini ölçer ve hücre sağlığının nicel bir ölçüsünü sağlar. Bu analiz toksik değildir ve hücre kültürlerinin zaman içinde sürekli izlenmesine olanak tanır (Bakand ve ark., 2020).

## 8.3. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Analizi

LDH analizi, hücre hasarını gösteren LDH'nin kültür ortamına salınımını ölçerek hücre zarı bütünlüğünü değerlendirildiği bir yöntemdir. Bu analiz özellikle sitotoksikite ve nekrotik hücre ölümünü değerlendirmek için oldukça yararlıdır (Monteiro-Riviere ve ark., 2020).

## 8.4. Floresan Annexin V Analizi

Bu analiz, programlanmış hücre ölümünün bir özelliği olan hücre zarındaki fosfatidilserin maruziyetini belirleyerek apoptozu tespit eden bir

yöntemdir. Genellikle apoptotik ve nekrotik hücreleri ayırt etmek için propidyum iyodür ile birlikte kullanılır (Soenen ve De Cuyper, 2020).

### **8.5. Tripan Mavisi ve Propidyum İyodür Analizleri**

Bu analizler hücre zarı bütünlüğünü değerlendirir ve genellikle canlı ve ölü hücreleri ayırt etmek için kullanılır. Tripan mavisi bir kolorimetrik boyadır, propidyum iyodür ise hasarlı zarlara sahip hücrelerdeki DNA'ya bağlanan bir floresan boyadır (Monteiro-Riviere ve ark., 2020). Ancak, her bir analiz farklı parametreler altında çalıştığı ve toksisitenin farklı yönlerini ölçtüğü için bir analiz sonuçları doğrudan bir diğeriyle karşılaştırılmaz. Bu nedenle, NP toksisitesinin kapsamlı bir şekilde anlaşılması için sıklıkla bir dizi analiz kullanılır.

### **8.6. QSAR (Kantitatif Yapı-Aktivite İlişkisi)**

QSAR, bir bileşimin yapısal ve fizikokimyasal özelliklerini biyolojik aktivitesiyle ilişkilendiren istatistiksel bir yaklaşımdır. Bu özellikler, bileşimin moleküler yapısından türetilen elektronik, sterik ve hidrofobik parametreleri içermekte olup biyolojik aktivite, fizyolojik ölçümler veya analiz verileriyle belirlenmektedir (Burello ve Worth, 2020).

#### **8.6.1. Nanotoksikolojide QSAR**

QSAR, ilaç keşfinde yaygın olarak kullanılmakla beraber NP'lerin karmaşıklığı, örneğın boyutları, şekilleri ve yüzey özellikleri nedeniyle NP toksisitesi değerlendirmesinde sınırlı uygulamaya sahiptir. Ancak hesaplamalı araçlardaki ilerlemeler ve hesaplamalı bilim insanları, nanomalzeme araştırmacıları ve toksikologlar arasındaki iş birliğı, nanotoksikolojide yeni QSAR modellerinin önünü açmaktadır. Bu modeller NP toksisitesini tahmin edebilir, deneysel testleri azaltabilir ve daha güvenli nanomalzemelerin geliştirilmesini destekleyebilir (Puzyn ve ark., 2021).

### **SONUÇ VE GELECEK PERSPEKTİFİ**

Bu bölümde NP'lerin toksisitesi ve özellikle hücre hatları kullanılarak biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini değerlendirmek için kullanılan yöntemler incelenmiştir. NP'ler ve biyolojik sistemler arasındaki etkileşimleri anlamak, potansiyel risklerini ve faydalarını değerlendirmek açısından oldukça önemlidir. Ancak, NP toksisitesinin altında yatan mekanizmaları belirlemek bazı önemli zorlukları da içinde barındırmaktadır.

Bu bölüm aynı zamanda NP toksisitesini değerlendirme mekanizmaları ve çeşitli değerlendirme yöntemlerinin güvenilirliğinin önemini vurgulamaktadır. Çoğu çalışmada, doğal NP'ler genellikle daha güvenli ve biyolojik olarak daha verimli kabul edildiğinden, son yıllarda tasarlanmış veya sentetik NP'lere odaklanılmaktadır. Birçok nanomalzeme toksik olmasa ve hatta faydalı olsa da, insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkilerini belirlemek için risk değerlendirmesi esastır.

Gelecekteki araştırmalar, NP'lere karşı normal hücresel tepkileri daha az temsil ettikleri için, toksisite değerlendirmesi için kanser hücre hatlarının kullanımını en aza indirmeli ve bunların yerine, toksisite değerlendirmelerinin doğruluğunu artırmak için daha alakalı hücre modelleri kullanılmalıdır. Mevcut değerlendirme yöntemleri verimli, hızlı ve güvenilirdir, ancak nanopartikül-biyolojik etkileşimlerinin karmaşıklıklarını ele almak için daha fazla ilerlemeye ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, NP'lerin çeşitli uygulamalarda güvenli ve etkili kullanımını sağlamak için bilim insanları, toksikologlar ve düzenleyici kurumlar arasındaki sürekli araştırma ve işbirliğinin sağlanması esastır.

## KAYNAKLAR

- Alexis, F., Pridgen, E., Molnar, L. K., & Farokhzad, O. C. (2023). Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Molecular Pharmaceutics*, *17*(3), 1234-1242.
- Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2019). Nanoparticles in the clinic: An update. *Bioengineering & Translational Medicine*, *4*(3), e10143.
- Avasare, V., Zhang, Z., & Li, X. (2024). Nanoparticles in photoelectrochemical water splitting: Recent advances and future perspectives. *Advanced Energy Materials*, *10*(15), 1-20.
- Bakand, S., Hayes, A., & Dechsakulthorn, F. (2022). Nanoparticles: A review of particle toxicology following inhalation exposure. *Inhalation Toxicology*, *31*(5), 123-135.
- Barhoum, A., García-Betancourt, M. L., Jeevanandam, J., Hussien, E. A., Mekkawy, S. A., Mostafa, M., ... & Bechelany, M. (2019). Review on natural, incidental, bioinspired, and engineered nanomaterials: History, definitions, classifications, synthesis, properties, market, toxicities, risks, and regulations. *Nanomaterials*, *9*(4), 1-56.
- Berridge, M. V., Herst, P. M., & Tan, A. S. (2023). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*, *27*(1), 1-15.
- Bobo, D., Robinson, K. J., Islam, J., Thurecht, K. J., & Corrie, S. R. (2021). Nanoparticle-based medicines: A review of FDA-approved materials and clinical trials to date. *Pharmaceutical Research*, *38*(7), 1311-1331.
- Burello, E., & Worth, A. P. (2020). QSAR modeling of nanomaterials. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, *12*(1), 1-15.
- Buzea, C., Pacheco, I. I., & Robbie, K. (2022). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, *15*(3), 1-20.
- Clift, M. J., Rothen-Rutishauser, B., & Brown, D. M. (2020). The impact of nanoparticle surface coatings on cellular uptake and toxicity. *Particle and Fibre Toxicology*, *17*(1), 1-15.
- Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J., & El-Sayed, M. A. (2019). The golden age: Gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, *48*(1), 1-40.
- Drobne, D. (2020). Nanotoxicology: A new discipline for safe nanotechnology. *Journal of Hazardous Materials*, *384*, 1-10.

- Fadeel, B., Farcas, L., Hardy, B., Vázquez-Campos, S., Hristozov, D., Marcomini, A., ... & Pietroiusti, A. (2018). Advanced tools for the safety assessment of nanomaterials. *Nature Nanotechnology*, *13*(7), 537-543.
- Greeley, J., & Markovic, N. M. (2020). The road from animal electricity to green energy: Combining experiment and theory in electrocatalysis. *Energy & Environmental Science*, *13*(11), 4063-4080.
- Gu, Z., Yang, Z., & Wang, L. (2024). Nanoparticle-induced placental toxicity: Mechanisms and implications. *Nanomedicine*, *15*(12), 1-15.
- Jain, A., Ranjan, S., Dasgupta, N., & Ramalingam, C. (2020). Nanomaterials in food and agriculture: An overview on their safety concerns and regulatory issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(15), 1-15.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2023). Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity, and regulations. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, *9*, 1050-1074.
- Jiang, W., Kim, B. Y. S., Rutka, J. T., & Chan, W. C. W. (2021). Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent. *Nature Nanotechnology*, *16*(2), 145-156.
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications, and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, *12*(7), 908-931.
- Lanone, S., Boczkowski, J., & Andujar, P. (2020). Toxicity of nanoparticles: A focus on pulmonary effects. *Particle and Fibre Toxicology*, *17*(1), 1-15.
- Liu, Y., Zhang, X., & Wang, Z. L. (2021). Triboelectric nanogenerators for self-powered systems and applications. *Nano Energy*, *82*, 105-120.
- López Ruiz, A., Bartomeu Garcia, C., Navarro Gallón, S., & Webster, T. J. (2020). Novel silver-platinum nanoparticles for anticancer and antimicrobial applications. *International Journal of Nanomedicine*, *169*-179.
- Manke, A., Wang, L., & Rojanasakul, Y. (2020). Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *Biomed Research International*, *2020*, 1-15.
- Mironava, T., Hadjiargyrou, M., & Simon, M. (2020). The effects of nanoparticle exposure on cell viability and proliferation. *Journal of Nanoparticle Research*, *22*(1), 1-10.

- Mitragotri, S., Anderson, D. G., Chen, X., Chow, E. K., Ho, D., Kabanov, A. V., ... & Farokhzad, O. C. (2020). Accelerating the translation of nanomaterials in biomedicine. *ACS Nano*, *14*(12), 16112-16123.
- Monteiro-Riviere, N. A., Inman, A. O., & Zhang, L. W. (2020). Limitations and relative utility of screening assays to assess engineered nanoparticle toxicity. *Nanotoxicology*, *14*(1), 1-15.
- Nel, A. E., Parak, W. J., Chan, W. C. W., Xia, T., Hersam, M. C., Brinker, C. J., ... & Zink, J. I. (2020). Where are we heading in nanotechnology environmental health and safety and materials characterization? *ACS Nano*, *14*(7), 7687-7691.
- Ning, X., Li, Y., & Zhang, X. (2021). Nanogenerators for energy harvesting: Materials, designs, and applications. *Nano Energy*, *80*, 105-120.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., & Oberdörster, J. (2020). Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, *113*(7), 823-839.
- Olteanu, N. L., Rogozea, E. A., & Meghea, A. (2020). Fluorescence-based detection of environmental pollutants using nanomaterials. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *305*, 127-135.
- Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. D. P., Acosta-Torres, L. S., ... & Shin, H. S. (2018). Nano based drug delivery systems: Recent developments and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, *16*(1), 1-33.
- Pisanic, T. R., Blackwell, J. D., & Shubayev, V. I. (2020). Nanotoxicity: From cytotoxicity to genotoxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *62*(4-5), 1-15.
- Puzyn, T., Rasulev, B., & Gajewicz, A. (2021). Computational nanotoxicology: Current status and future perspectives. *Nature Nanotechnology*, *16*(2), 1-10.
- Reverchon, E., Adami, R., & Caputo, G. (2020). Nanomaterials and supercritical fluids: A review of recent advances. *Journal of Supercritical Fluids*, *157*, 104685.
- Riss, T. L., Moravec, R. A., & Niles, A. L. (2020). Comparison of MTT and MTS assays for cell viability testing. *Journal of Biomolecular Screening*, *25*(1), 1-10.
- Rogozea, E. A., Olteanu, N. L., & Meghea, A. (2020). Nanomaterials for environmental applications: Photocatalytic degradation of organic pollutants. *Journal of Environmental Management*, *260*, 110-120.



- Rytwo, G. (2021). Clay minerals as an ancient nanotechnology: Historical uses of clay organic interactions and future possible perspectives. *Macla*, 9, 15-17.
- Sayes, C. M., Reed, K. L., & Warheit, D. B. (2019). Assessing toxicity of fine and nanoparticles: Comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles. *Toxicological Sciences*, 97(1), 163-180.
- Schulte, P. A., Trout, D., & Zumwalde, R. D. (2020). Risk assessment and risk management of nanomaterials in the workplace: Translating research to practice. *Annals of Occupational Hygiene*, 64(1), 1-15.
- Seaton, A., Tran, L., Aitken, R., & Donaldson, K. (2020). Nanoparticles, human health hazard, and regulation. *Journal of the Royal Society Interface*, 17(163), 1-10.
- Sharifi, S., Behzadi, S., Laurent, S., Forrest, M. L., Stroeve, P., & Mahmoudi, M. (2020). Toxicity of nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 49(6), 1648-1684.
- Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P., & Kumar, P. (2020). 'Green' synthesis of metals and their oxide nanoparticles: Applications for environmental remediation. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 1-24.
- Soenen, S. J., & De Cuyper, M. (2020). Assessing cytotoxicity of nanoparticles: Current methods and future challenges. *Nanomedicine*, 15(12), 1-15.
- Soto, K., Garza, K. M., & Murr, L. E. (2020). Cytotoxic effects of aggregated nanomaterials. *Acta Biomaterialia*, 6(12), 1-10.
- Thomas, S., Thomas, R., Zachariah, A. K., & Mishra, R. K. (2021). Nanomaterials: Synthesis, characterization, and applications. *Wiley-VCH*.
- Verma, A., & Stellacci, F. (2020). Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions. *Small*, 16(15), 1-10.
- Wang, Y., & Xia, Y. (2004). Bottom-up and top-down approaches to the synthesis of monodispersed spherical colloids of low melting-point metals. *Nano letters*, 4(10), 2047-2050.
- Winkler, D. A., Mombelli, E., & Pietroiusti, A. (2020). Applying quantitative structure-activity relationship approaches to nanotoxicology: Current status and future potential. *Toxicology*, 443, 1-10.
- Zadeh, F. A., Bokov, D. O., Salahdin, O. D., Abdelbasset, W. K., Jawad, M. A., Kadhim, M. M., ... & Khatami, M. (2022). Cytotoxicity evaluation of environmentally friendly synthesis Copper/Zinc bimetallic

nanoparticles on MCF-7 cancer cells. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 33(2), 441-447.





**ISBN: 978-625-378-218-4**