

NANOPARTİKÜLLER: BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE TOKSİSİTESİ İLE İLGİLİ GÜNCEL YAKLAŞIMLAR-II

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Arzu ÖZKARA

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

NANOPARTİKÜLLER BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ VE TOKSİSİTESİ İLE İLGİLİ GÜNCEL YAKLAŞIMLAR-II

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Arzu ÖZKARA

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

YAZARLAR

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Prof. Dr. Recep LİMAN

Doç. Dr. Arzu ÖZKARA

Doç. Dr. Dilek AKYIL

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA

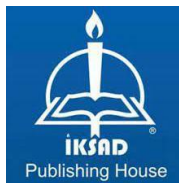
Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN

Doktora Öğrencisi Yudum YELTEKİN UĞUR

Uzm. Moleküler Biyolog Furkan TURAN

Yüksek Lisans Öğrencisi Sinem Yaren İREÇ

Yüksek Lisans Öğrencisi Mustafa BAYANSU



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 Pubicator: 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: 978-625-378-280-1
Cover Design: İbrahim KAYA
July / 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.....1

BÖLÜM 1

NANOPARTİKÜLLER VE MOLEKÜLER BİYOLOJİDEKİ UYGULAMALARI

Doç. Dr. Dilek AKYIL 3

BÖLÜM 2

NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL AJAN OLARAK KULLANIMI VE İLAÇ TAŞINIMINDAKİ ROLLERİ

Yüksek Lisans Öğrencisi Sinem Yaren İREÇ

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ..... 31

BÖLÜM 3

NANOTOKSİSİTE DEĞERLENDİRMEDE MODEL ORGANİZMA:

Danio rerio

Doktora Öğrencisi Yudum YELTEKİN UĞUR

Prof. Dr. Recep LİMAN..... 67

BÖLÜM 4

NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİ ANLAMAK İÇİN BİR MODEL ORGANİZMA: *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Doç. Dr. Dilek AKYIL 95

BÖLÜM 5

NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİKOLOJİ MEKANİZMALARI

Yüksek Lisans Öğrencisi Mustafa BAYANSU

Doç.Dr.Arzu ÖZKARA 123

BÖLÜM 6

NANOPARTİKÜL KAYNAKLI TOKSİSİTENİN ANLAŞILMASINDA EPİGENETİK MEKANİZMALARIN ROLÜ

Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN..... 155

BÖLÜM 7

NANOPARTİKÜLLERİN İNDÜKLEDİĞİ OKSİDATİF STRES: MOLEKÜLER YOLLAR VE BİYOLOJİK SONUÇLAR

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA 189

BÖLÜM 8

NANO-OMİK: NANOPARTİKÜLLERE KARŞI BİYOLOJİK ETKİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE OMİK TEKNOLOJİLERİNİN ROLÜ

Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN..... 213

BÖLÜM 9

NANOPARTİKÜLLERİN DOĞURGANLIK VE SAĞKALIM ÜZERİNDEKİ DOZA BAĞIMLI ETKİSİ

Uzm. Moleküler Biyolog Furkan TURAN..... 253

BÖLÜM 10

NANOPARTİKÜL TABANLI GEN TERAPİSİ VE İLAÇ TAŞIMA SİSTEMLERİ

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA 271

BÖLÜM 11

NANOTOKSİKOLOJİDE GELİŞMELER VE GELECEK PERSPEKTİFLERİ: BİYOLOJİK ETKİLEŞİMLER, RİSK DEĞERLENDİRME VE YENİ YAKLAŞIMLAR

Uzm. Moleküler Biyolog Furkan TURAN..... 297

ÖNSÖZ

Nanopartiküller Biyolojik Aktiviteleri Ve Toksisitesi İle İlgili Güncel Yaklaşımlar-II' isimli kitabımızda yer alan bölümler alanında uzman akademisyenler tarafından kaleme alınmıştır. **Nanopartikül** veya **nanoparçacık**, bir maddenin boyutları 100 nanometre ve altında kalan parçacıklara verilen addır ve bu parçacıklar nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Nanopartiküller hacimsel yapılı malzemelerden çok daha üstün özellikler sergilemektedir. Nanopartikül demir, çinko, demiroksit ve magnetik cisimlerden elde edilir. Nanopartiküller kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntemlerle üretilebilirler. Kimyasal yöntemlerle üretim daha yaygındır ama bazen toksik etki yaratabilmektedir. Bu bileşiklerin özellikleri tıp ve endüstri alanında geniş kullanım imkanları sağlamakla birlikte, nanopartiküller çevresel ekosistemler ve canlı organizmalar üzerinde potansiyel toksik etkilere sahip olabilmektedirler. Bu bağlamda nanopartiküllerin halen pek çok noktada keşfedilmeyi bekleyen yönleri bulunmaktadır.

Nanopartiküllerin biyolojik aktiviteleri ve toksisitesi ile ilgili çalışmaları içeren kitabın oluşturulmasında katkıları olan değerli akademisyenlerimize, ayrıca kitabın basımı ve yayınlanması aşamasında katkılarından dolayı İKSAD yayınevi ve ekibine teşekkürü bir borç biliriz.

Sunulan kitaptaki bölümler ile ilgili tüm akademik ve hukuki sorumluluğun yazarlara ait olduğunu ifade ederek, 11 bölümden oluşan kitabın bilim dünyasına katkı sunacağını temenni ederiz.

Temmuz, 2025

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Arzu ÖZKARA

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

BÖLÜM 1

NANOPARTİKÜLLER VE MOLEKÜLER BİYOLOJİDEKİ UYGULAMALARI

Doç. Dr. Dilek AKYIL¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16376115>

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Afyon Türkiye, dilekakyil9@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-7048-3808

GİRİŞ

1950’lerde Feynman’ın vizyoner fikirleriyle ortaya atılmış olan nanoteknoloji, o yıllardan günümüze benzersiz ve uçuk karakteristik özellikleri nedeniyle küresel olarak tüketici pazarında devrim yaratmış bir alandır. Atomik, moleküler ve makromoleküler ölçekte araştırma ve teknoloji geliştirmeyi ifade eden nanoteknoloji, 1 ila 100 nanometre aralığında uzunluk ölçeklerine sahip yapıların ve cihazların kontrollü manipülasyonuna ve incelenmesine olanak sağlayan bir bilim dalıdır. Aynı zamanda nanoteknoloji; elektronik, mühendislik, enerji, çevre, biyoloji ve tıp alanlarında önemli ve çok yönlü ilerlemeler kaydeden, yeni ve hızla büyüyen çok disiplinli bir alandır. Nanopartiküllerin (NP) küçük boyutu, yüzey uyarlanabilirliği, iyileştirilmiş çözünürlüğü ve çok işlevliliği, biyologlar ve tıp araştırmacıları için birçok yeni araştırma yolu açmaktadır. Hızla büyüyen bu alan, disiplinler arası araştırmacılara kanser gibi hastalıkları hedefleyebilen, teşhis edebilen ve tedavi edebilen çok işlevli NP’ler tasarlama ve geliştirme fırsatı vermektedir. Aynı zamanda NP’lerin benzersiz özellikleri ve biyolojik ortamlardaki davranışları, temel biyolojik soruları incelemek için heyecan verici ve bütünleştirici yaklaşımlara da olanak tanımaktadır.

Gelişmiş hayvanlarda ve insanlarda, yaşam süreci hücreler ve nanoölçekte gerçekleşen diğer daha küçük biyomoleküller arasındaki etkileşime bağlıdır. Nanomalzemelerin organizasyonu biyolojinin merkezinde olan bir alandır ve bu tür içsel nanobiyoloji çalışmaları geçmişten günümüze kadar gelmiş olup halen güncelliğini korumaktadır ve biyolojik sistemlerin nanoölçekte nasıl çalıştığı ve bu sistemlerin hücrelere nasıl entegre edildiği konusunda çok fazla çalışma mevcuttur. Nanoteknoloji veya moleküler düzeyde sistem/cihaz üretimi, devrim yaratacak boyutta gelişme geçiren çok disiplinli bir bilimsel alandır. Yüzeyde minyatürleştirme, maliyet, etkin ve daha hızlı işleyen mekanik, kimyasal ve biyolojik bileşenler sağlayan bu alan tıp, iletişim, genomik ve robotik alanlarında devrim yaratacak niteliktedir. Ancak daha az belirgin olan, nanometre boyutundaki nesnelerin makro nesnelerden oldukça farklı kuvvetlerin kontrolü altında dikkate değer kendi kendini düzenleme ve birleştirme davranışlarına sahip olmasıdır. Bu benzersiz davranışlar nanoteknolojinin uygulanması mümkün kılan şeydir ve bu süreçlere ilişkin araştırmalar artırılarak, insan yaşam kalitesini artırmaya yönelik yeni yaklaşımlar kesinlikle geliştirilmeye devam edecektir. Nanoteknolojinin

potansiyel uygulamalarının tam listesi ayrıntılı olarak tartışılmayacak kadar geniş ve çeşitlidir, ancak şüphesiz bu bilim dalının en büyük değerlerinden biri yeni ve etkili tıbbi tedavilerin ve moleküler biyoloji alanındaki uygulamaların geliştirilmesiyle ilgili olacaktır (Wang ve Wang, 2014; Siddhardha ve ark., 2020). Bu kitap bölümü, biyoloji ve moleküler biyoloji alanında nanoteknolojiye genel bir bakış sunmanın yanı sıra, teşhis ve tarama amaçlı NP'lerin geliştirilmesi, yapay reseptörler, nanogözenekler kullanılarak DNA dizilemesi, benzersiz ilaç dağıtım sistemlerinin üretimi, gen terapisi uygulamaları ve doku mühendisliğinin etkinleştirilmesi de dahil olmak üzere nanoteknolojinin biyoloji ve moleküler biyolojideki potansiyeline odaklanmaktadır.

1. NANOTEKNOLOJİNİN TARİHSEL GELİŞİMİ

Nanoteknolojinin tarihçesi çok geçmiş yıllara dayanmakta olup o dönemin insanları bu teknolojiyle, bu konuda yeterli bilgiye sahip olmadan ve hatta bu nesnelerin ve süreçlerin doğasını anlamadan uğraşmışlardır. Kajal kullanımı Güney Asya, Hindistan, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'da oldukça yaygındır ve Hintli kadınlar, toprak bir kabı alevin üzerinde tutarak, lamba yağının isinden bu kozmetik ürünü hazırlamışlardır. Daha sonra birkaç farklı maddeyle karıştırıp bu ürünü kullanıma hazır hale getirmişlerdir. Bu şekilde elde edilen karbon siyahı çok ince boyuttur, yani nano boyuttur ve göz kapaklarına uygulanması serinletici bir etki vermektedir. Bir diğer örnek ise MÖ 2700 civarına tekabül eden dönemde suda karbon nano parçacıkları üretmeye dayanan iyi bilinen Hint mürekkebinin icadıdır. Faraday, 1856 yılında kolloidal altını kendisi hazırlamış ve kolloidal altın, çeşitli bardak ve vazolara renk vermek için kullanılmıştır. Ayrıca, Hint tıp sistemi olan Ayurveda, çeşitli preparatlarda altın kullanmakta olup kolloidal altının kronik iltihaplar ve diğer birçok hastalık için çare olduğuna inanılmaktadır. Aynı zamanda kolloidal formdaki gümüş, binlerce yıldır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan güçlü bir doğal antibiyotik olarak da kabul edilmektedir (Siddhardha ve ark., 2020).

NP'ler MS 4. yüzyılda, ilk defa Romalılar tarafından kullanılmış ve Romalılar antik dünyadaki en ilginç nanoteknoloji örneklerinden birini göstermiştir. British Museum koleksiyonunda bulunan ve dikroik camın en eski örneği olan Lycurgus kupası, antik cam endüstrisindeki en güzel örneklerden

birini oluşturmaktadır. Dikroik cam, sabit aydınlatma şartlarında renk değiştiren iki farklı cam türünü tanımlamakta olup doğrudan ışık altında cam yeşil görünürken, ışık camdan geçtiğinde ise kırmızı-mor olmaktadır (The British Museum, 2019). 1990 yılında bilim insanları, bir transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanarak dikroizm olgusunu açıklamaya çalışmışlar (Barber ve Freestone, 1990) ve gözlenen bu farklı iki rengin, 50-100 nm çapındaki NP'lerin varlığından kaynaklandığını saptamışlardır. Yapılan X-ışını analiz sonuçlarına göre, bu NP'lerin yaklaşık 7:3 Ag:Au oranına sahip gümüş-altın (Ag-Au) alaşımı olduğu ve bir cam matriste dağıtılmış yaklaşık %10 bakır (Cu) içerdiği ispatlanmıştır (Wagner ve ark., 2000; Freestone ve ark., 2007). Işık emilimi sonucu altın NP'leri kırmızı renk üretmektedirler (~520 nm). Kırmızı-mor renk ise daha büyük partiküller tarafından emilimden kaynaklanırken, yeşil renk, 40 nm'nin altındaki gümüş NP'lerin kolloidal dispersiyonları tarafından ışık saçılmasına sebep olmaktadır. O dönemden günümüze Lycurgus kupası, sentetik nanomalzemeler arasında en eski olanlardan biri olarak bilinmektedir (Mansoori ve ark., 2005). Benzer bir etki, altın ve gümüş NP'lerinin cama kaynaşması nedeniyle parlak sarı ve kırmızı renklerin o dönemin kilise pencerelerinde görülmesidir (The New York Times, 2019). 9-17. yüzyıllarda, İslam dünyasında ve daha sonra Avrupa'da kullanılan ışıldayan "parlak" seramik sırları gümüş ve bakır veya diğer NP'ler içermekteydi (Pradell ve ark., 2007). İtalyanlar da 16. yüzyılda Rönesans çanak çömleği ortaya çıkarırken Osmanlı tekniklerinden etkilenerek yine NP'lerden yararlanmışlardır (Poole ve Owens, 2003). 13-18. yüzyıllarda, "Şam" kılıç bıçakları üretiminde, mukavemet, dayanıklılık ve keskin bir kenar tutma yeteneği sağlamak için sementit nanotelleri ve karbon nanotüpler kullanılmıştır (Reibold ve ark., 2006). Bu renkler ve malzeme özellikleri, yüzlerce yıl boyunca kasıtlı olarak üretilmesine rağmen Orta Çağ sanatçıları bu şaşırtıcı etkilerin nedenini o dönemde tabii ki bilmiyorlardı (Bayda ve ark., 2019).

Nobel ödüllü fizikçi Richard Feynman'ın 29 Aralık 1959'da "Aşağıda yeterince boş alan var" şeklinde yaptığı konuşma nano boyutun önemini ilk defa o yıllarda ortaya koymuştur. Feynman, yaptığı bu konuşma ile nanometre aralığında bulunan cihaz ve malzemelerin özelliklerinin bilinmesinin gelecekte çok farklı fırsatlar oluşturacağını ve bazı malzemeleri nano boyutta kontrol etme ve manipüle etme fikrinin gelecekte çığır açacağını rapor etmiştir (Feynman, 2011). Ancak nanoteknoloji kelimesini ilk kullanan kişi 1974'te

Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Norio Taniguchi olmuştur. 1980'lerde art arda gelen Nobel Fizik Ödüllerine konu olan çeşitli bilimsel çalışmalar hem nanometre boyutlarında saklı yeni davranışları ortaya çıkarmış, hem de atomu görüp onu istediğimiz yere taşıyabilmemize olanak sağlamıştır.

1990'ların başında Richard Smalley öncülüğündeki bir grup araştırmacı fullerene moleküllerini geliştirmiş olup bu molekül 60 karbon atomunun simetrik biçimde sıralanmasıyla elde edilen bir futbol topu şeklindeydi. Bu araştırmacılar 1 nm boyutunda ve plastikten daha hafif, çelikten daha güçlü, ısı ve elektrik geçirgen bu molekül yapısı ile 1996 yılında Nobel Kimya ödülüne hak kazanmışlardır. 1991 yılında ise Sumio Iijima çelikten 100 kat daha güçlü ve ağırlığı çeliğin ağırlığının 6'da 1'i kadar olan ve fullerene molekülünün esnetilmiş hali olan karbon nano tüpleri keşfetmiştir. 90'larda Feynman'ın fikirleri Eric Drexler tarafından yazılan "Moleküler Üretim İçin Protein Tasarımı" adlı kitapta geliştirilmiş ve bu araştırmacının fikirleri şüpheyle karşılanmasına karşın, 1992 yılında yayınlamış olduğu kitabında genel kavram ve düşüncelerini detaylı analiz ve tasarımlar ile ayrıntılı olarak belirtmiştir (MacLurcan, 2004).

1981 yılında Taramalı Tünelleme Mikroskopunun keşfedilmesi ile nanoteknolojinin gelişmesi oldukça hızlı bir ivme kazanmıştır (Luther, 2004). 1990'ların sonuna doğru, sanayinin geliştiği birçok ülkede nanoteknoloji, hükümete ait araştırma ve geliştirme programlarının özel bir sahası haline gelmiş ve bu ülkelerde bu alana ait çeşitli araştırma merkezleri kurulmaya başlanmıştır. 1991'de, fullerenler ile ilgili çalışmalarda yuvarlak kenarlı grafit tabakalardan oluşan karbon atomlarının tüp benzeri yapılarının bulunması malzeme ve elektronik mühendisliğinde bir çığır açmıştır. 2000 yılından itibaren ise ABD'nin nanoteknoloji alanına yaptığı yatırımlar sonucunda pek çok farklı ülkede de bu alana ait araştırmalar başlatılmış olup dünyada nanoteknoloji alanında büyük yatırımlar bulunmaktadır. Günümüzde nanoteknoloji, yaşamın her alanında çeşitli uygulamalarla bilimin yönünü değiştiren, muazzam umutlara sahip canlı ve hayati bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir.

2. PARÇACIK BOYUTUNUN ÖNEMİ

Nanometre terimi ilk olarak Zsigmondy tarafından parçacık boyutunu belirtmek için kullanılmış olup nano malzeme, bir veya daha fazla dış ölçüsü

nano boyutta olan malzeme olarak tanımlanmaktadır (Bruus, 2004; Ramsden, 2009). Nano ölçek, maddenin atomdan önceki son basamağı olarak tanımlanabilir. Nano boyuttaki malzemenin her üç boyutu da 100 nm'den küçük ise quantum dots, NP, nanoring, nanoshell ve mikro kapsül olarak, sadece iki boyutu 100 nm'den küçük ise nanotel, nanotüp, fiber; sadece tek bir boyutu 100 nm'den küçük ise katman, ince film ve kaplama olarak adlandırılmaktadır. Kullanılan bir malzemenin makro, mikro ya da nano boyutta sahip olduğu optik, elektriksel, mekanik ve renk gibi özellikleri değişiklik göstermekle beraber, aynı malzeme tam tersi bir özellik de sergileyebilir (Filipponi ve Sutherland 2012). Makro ölçekte malzemenin sahip olmadığı bazı özellikler, nano ölçekte meydana gelebilir. Bunun sebebi ise, makro boyutta ölçülerin sürekli olması, nano boyutta ise süreklilik arz etmemesi ve boyutun küçülmesiyle yüzey alanın hacme oranının artmasıdır (Hornyak ve ark., 2008; Nouailhat, 2010) Malzemenin yüzey alanı veya hacim oranı arttıkça, daha düşük moleküler ağırlığa sahip maddeler meydana gelebilir (Hornyak ve ark., 2008). Bu olağanüstü manyetik, elektriksel, termal ve optik özellikler, uzaysal olarak sınırlandırılmış elektronlardan kaynaklanmaktadır (Alivisatos, 2004).

Ayrıca bu boyut aralığı biyolojik sistemlerdeki olgularla yakından bağlantılıdır. Hücreler ve biyomoleküller de dahil olmak üzere yaşamın temel yapı taşları bu aralığa girer. Örneğin, DNA molekülü yalnızca 5-10 nm'dir. Nanogözenekler (~2 nm açıklıklar), inorganik nanoteller (~10 nm çap) ve küresel NP'ler (10-100 nm çap) gibi nanoölçekli cihazlar biyolojik canlılarla benzer boyuttadır. 20 nm'den küçük NP'ler kan damarlarından geçebilir. Ayrıca NP'ler mide epiteline girebilir ve kan beyin bariyerini geçebilir (Lockman ve ark., 2003; Vinogradov ve ark., 2004). Yüzey yükü ayrıca NP'lerin kan beyin bariyerini geçme yeteneğinde önemli bir rol oynar (Lockman ve ark., 2003). Nanoölçekli cihazların boyutu, bunların hücre içindeki biyomoleküllerle kolayca etkileşime girmesini sağlarken, bu moleküllerin davranışlarını ve biyokimyasal özelliklerini değiştirmez (Bogunia-Kubik ve Sugisaka, 2002). Tüm bu özellikler, farklı alanlardaki araştırmacıları NP'ler hakkında devrim niteliğinde değiştirmiş ve mühendislik, ulaşım, bilgi teknolojisi, enerji, çevre, tarım, endüstri ve tıp gibi geniş alanlarda umut verici ve potansiyel uygulama için yol açmıştır.

3. BİYOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİDE UYGULAMALAR

Nanoteknoloji, çağımızın yeni sanayi devrimi olarak anılmakla beraber son dönemlerde hayatımızda pek çok noktada bizleri etkileyebilecek hatta çığır açabilecek bir gelişmeler bütünü haline gelmiştir. "Nano" sözcüğü "fiziksel miktarın milyarda biri" olup bu teknoloji maddenin 1-100 nm arasındaki davranış boyutunu kontrol etme ve anlama bilimidir (Tolochko, 2009). Bu maddelerin davranış özelliklerinin ve yapılarının anlaşılması pek çok farklı sahada yeni araştırmalara kapı aralamaktadır. Nanomalzemeleri büyük parçacıklı malzemelerden ayıran özellik, NP'lerin yalnızca büyüklüğü değil aynı zamanda enerji absorblaması, kimyasal reaktivite ve biyolojik hareketlilik bakımından farklı birçok özellikler sergilemeleridir. Nanomalzemeleri bu kadar ilginç yapan ise, nano boyuta geçildiğinde, makro ve hatta mikro dünyadan çok daha farklı davranış sergilemeleri ve bu sebeplerle (Tarhan ve ark., 2010) sağlık, tekstil, ilaç piyasası, otomotiv, elektronik, gıda ve daha bir çok farklı alanda yaygın olarak kullanım alanı bulmalarıdır (Vilhena, 2016).

Bütün biyolojik süreçler, biyolojik moleküler nanomakinelerin etkisiyle dengelendiğinden, nanoteknoloji biyoloji ve tıpta birincil öneme sahiptir. Biyolojik sistemler son derece duyarlı ve onarıcı olduğundan, nanoteknoloji biyoloji ve tıpta yeni ve kritik araçlar ve uygulamalarla yıldırım hızında ilerlemeler sağlamıştır. Mekanik ve kimyasal özellikler, mevcut yeni nano araçlarla karakterize edilebilir. Bu alanlardaki olağanüstü gelişmelerden biri, tek canlı hücreyi minimal invaziv bir şekilde incelemek için optik nano-biyosensörlerdir. Bu yöntemle, tek hücre düzeyindeki protein işlevi, hücrelerin kimyasal yapısını bozmadan analiz edilebilir. Örneğin proteinlerin doğal ortamlarında, süre olarak saniyenin altında gerçekleşen işlevleri gibi hücresel süreçler kolaylıkla ölçülebilir. Ayrıca, programlanmış hücre ölümü olarak bilinen, genellikle normal ve hasta kişilerde gözlemlenen bir hücresel süreç olan apoptoz, hem biyoloji hem de tıp için önemlidir. Apoptoz yolunu incelemek için, proapoptik üyeler olan sitokrom C, kaspaz-7 ve kaspaz-9'un tespit edilmesi gereklidir. Bunların canlıda tespiti ve tanımlanması optik biyosen-sörler kullanılarak yapılabilir (Siddhardha ve ark., 2020).

Biyolojik türler nanoskala düzeylerinde moleküler yapılar sergilediğinden, nanoteknoloji biyolojide önemli rol oynamaktadır. Nanoskala düzeyinde biyolojik süreçleri anlamak, nanoteknolojinin geliştirilmesinin

arkasındaki itici güçtür (Whitesides, 2003). Farklı boyut, şekil ve yüzey kimyasına sahip NP'ler çok çeşitli biyolojik uygulamalarda tasarlanabilir. Nanobiyoteknoloji ise nanoteknolojinin bir dalı olup nano boyuttaki bu malzemeleri ve bunlara ait teknolojiyi biyoloji alanı ile birleştirir. Son yıllarda nanobiyoteknolojinin moleküler görüntüleme ve ilaç dağıtımı gibi çeşitli tıbbi uygulamalarda oldukça önemli bir yere sahip olmasının yanı sıra bitkilerin nanoteknolojiyle bütünleşmesi ise tarımdan sağlığa, çevre korumadan enerji üretimine kadar geniş bir skalada büyük gelişmelere olanak sağlamıştır (Dhawan ve ark., 2018).

3.1. Biyoseparasyon

3.1.1. Biyolojik Moleküllerin Ayrılması ve Saflaştırılması

Biyoseparasyon, biyomoleküllerin karmaşık bir karışımdan seçici olarak ayrılması ve saflaştırılması işlemidir. Biyolojik araştırmalarda, belirli hücrelerin karmaşık bir karışımdan seçici ve etkili bir şekilde izole edilmesi ve saflaştırılması günümüzde kullanılan pek çok araştırma için bir ihtiyaçtır. Çöktürme, filtrasyon, santrifüjleme ve kromatografi gibi geleneksel ayırma yöntemleri zaman alıcı olmakla beraber aynı zamanda çeşitli dezavantajlara da sahiptirler. Geleneksel tekniklerdeki dezavantajların üstesinden gelmek için nanomalzemeler kullanılabilir. Bu nedenle nanoteknoloji, biyoproseslemede, çeşitli biyolojik bileşiklerin biyoseparasyonunda, görüntülenmesinde ve algılanmasında kullanılabilen yeni nanobiyolojik nesneler tasarlayarak bu alanda umut verici uygulamalar sunmaktadır (Wang ve Wang, 2014).

DNA molekülleri fizyolojik ortamlarda negatif yüklüdür, asidik ortamlarda ise fosfat grubunun protonlanması nedeniyle pozitif yük kazanırlar. 1996 yılında yapılan bir çalışmada somon spermi, manyetik mezogözenekli silika-manyetit nanokompozitleri kullanılarak elektrostatik etkileşimler yoluyla ayrılmıştır (Melzak ve ark., 1996). Fizyolojik pH'da nanokompozitler, DNA'nın negatif yüklü fosfat omurgalarıyla elektrostatik etkileşimleri kolaylaştıran pozitif bir yük kazanarak verimli bir şekilde ayırma işleminin gerçekleştirilmesine olanak sağlar (Siddhardha ve ark., 2020). Biyoteknoloji çalışmalarında DNA'daki yapısal polimorfizm biyolojik bir sinyal görevi görür. Nano aralıktaki tüm üç boyuta sahip yarı iletken NP'ler olan kuantum noktaları biyolojik uygulamaları için tanınmakta ve bu fotoluminesan

nanomalzemeler hem sensörler hem de farklı içsel DNA yapılarını tespit etmek için boyalar olarak geliştirilmektedir (Mahtab ve Murphy, 2005).

Biyolojik dünyada, floresan yaygın ve geniş bir şekilde kullanılan bir araçtır. Biyolojik boyama ve teşhiste, yarı iletken nanokristaller, floresan problemler olarak kullanılmaktadır. Ultra hassas biyolojik tespit, çinko sülfür kaplı kadmiyum selenid kuantum noktaları biyomoleküllere kovalent olarak bağlanır. Rodamin gibi geleneksel organik boyalarla karşılaştırıldığında, bunlar daha parlaktır ve ayarlanabilir dar simetrik emisyon spektrumuna sahiptir. Bu özellikler, bu nanomalzemelerin doğrudan prob veya duyarlılaştırıcı olarak kullanılmasına olanak tanımaktadır (Siddhardha ve ark., 2020).

Proteinler hücre mekanizmasında ve yapısında önemli bir rol oynayan biyomoleküllerdir. Daha önce, ultra filtrasyon, çöktürme ve kromatografi gibi geleneksel protokoller proteinlerin ve peptitlerin ayrılması ve saflaştırılmasında büyük önem taşımaktaydı. Alternatif yöntem, manyetik NP'ler (MNP) kullanılarak belirli proteinlerin manyetik olarak ayrıştırılmasıdır. MNP, ligand bağlanması, vanderwalls, hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler gibi çeşitli mekanizmalarla farklı protein kopolimerlerine bağlanır (Churchill ve ark., 2004; Tenzer ve ark., 2013). Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında, MNP'leri kullanarak protein ayırma işlemi numune hazırlamanın kolaylığı ve daha az zaman alması, işlemin hızlı olması, çok fazla teçhizat ihtiyacının olmaması, ucuz olması ve az miktarda örneğin yeterli olması gibi avantajlarından dolayı daha çok tercih edilmektedir (Siddhardha ve ark., 2020). Ayrıca MNP'ler, yüzeylerini değiştirmek için kullanılabilen fonksiyonel grupların çok yönlülüğü nedeniyle çeşitli biyomolekülleri ayırmakta da kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2013; Earhart ve ark., 2014).

3.1.2. Patojen Tespiti ve Ayrılması için Nanopartiküller

NP'ler kullanılarak spesifik analizler için çeşitli ligandlar ve biyoaktif gruplarla seçici sensörler üretilebilmektedir (Asefa ve ark., 2009). Özellikle aşırı hassasiyete sahip mikroyarray tabanlı sensörlerin kullanımı günümüzde besinlerdeki bakteri patojenlerinin tespiti için yaygın kullanılmakta ve bu da süreyi oldukça kısaltmaktadır ki bakterilerin hızlı identifiye edilmesi, gıda güvenliğinde, tıbbi teşhiste ve ilaç üretiminde önemlidir (Naja ve ark., 2007). Gıdalardaki patojenlerin tespiti gıda matrisinin karmaşıklığı ve gıda örneğinde bulunan patojen sayısının azlığından dolayı genellikle zordur (Sandhy ve ark.,

2008). Bu nedenle diğer birçok biyomolekülün ve patojenlerin bağlanması için yeni farklı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu aşamada immüno-manyetik ayırım (IMS) bu güçlükleri aşabilecek kapasitede bir yöntem olarak görülebilir (Dudak ve Boyacı, 2008). Antikor kaplanmış paramanyetik kürecikler veya NP'ler, hücrelerin yüzeyindeki antijenlere bağlanarak hücreleri yakalar ve küreciklere bağlanan hücrelerin yoğunluğunu artırırlar. Son yıllarda nanoteknolojinin hızla gelişimi sonucunda patojen identifikasyonu ve biyoteknoloji alanlarında MNP'ler oldukça ilgi çeken bir alan olmuştur. Düşük toksisiteleri, manyetik özellikleri ve biyouyumlulukları nedeniyle MNP'ler ayırıştırma, teşhis ve tanılama alanları için manyetik rezonans görüntüleme uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Güven ve ark., 2011).

Geleneksel mikrobiyolojide bakteriyel testler oldukça zaman alıcı olmalarından dolayı günümüzde çok tercih edilmemektedir. Son yıllarda biyosensörler hassasiyetleri, seçicilikleri ve sonuçların kısa zamanda elde edilmesi gibi nedenlerden dolayı patojenik mikroorganizmaların tanımlanması ve algılanmasında özellikle tercih edilmektedir. Biyosensörlerin maliyetlerinin düşük olmasının yanı sıra, çoklu çalışma olanağına da sahip olması bir diğer avantajı olarak sayılabilir (Patel, 2006).

3.2. Biyolojik Prosesler

NP'ler biyolojik prosesleri incelemek ve karakterize etmek için hayati öneme sahip araçlardır. Hücresel ve moleküler araştırmalarda mevcut tekniklerin iyileştirilmesi, hücre sinyal yollarının aktivasyonu, protein üretiminin düzenlenmesi, canlı hücrelerdeki bireysel molekülleri görselleştirmede, karmaşık sinyal yollarını içeren moleküler prosesler ve hücre fonksiyonları hakkında bilgi edinmede nanomalzemeler yeni ve umut vaat eden maddeler olarak tanımlanmaktadır. Cho ve arkadaşları (2012), hücre sinyal yolunun işlevselleştirilmiş MNP'ler kullanılarak kontrol edilebileceğini göstermiştir. Manyetik alan uygulandığında, zebra balıklarında *in vivo* olarak gösterilen bir apoptoz sinyal yolu teşvik edilmiştir. Benzer şekilde, invaziv olmayan nitelikteki bu tür birkaç yöntem, temel biyolojik araştırmalar için umut verici bir araç sağlamaktadır.

Son yıllarda nanomalzemeler, kütle ve yüzey özelliklerinin avantajlarından dolayı doku mühendisleri tarafından fazlaca tercih edilmekte ve bu bilim gittikçe daha da önemli hale gelmektedir (Zhu ve ark., 2014).

Nanomalzemeler, yüksek reaktivite, korozyona karşı direnç ve biyouyumluluk gibi eşsiz özelliklerinin yanı sıra farklı boyutlarda bulunabilme yeteneklerinden dolayı hücre dışı matriks bileşenlerini daha iyi taklit eder ve aktif molekülleri daha etkili bir şekilde hedef organa iletebilirler (Mauro ve ark., 2013). Ancak bunu gerçekleştirebilmeleri için doku mühendisliğinde kullanılan malzemelerin orijinal dokuya mümkün olduğunca yakın özellikte olması gerekmektedir (Jeevanandam ve ark., 2018). Kerativitayanan (2015)'ın rapor ettiği gibi hücre yüzeyinde yer alan reseptörler ve ekstraselüler matriks arasındaki etkileşim, hücre gelişimini ve davranışını düzenlemektedir. Nanomalzemelerin, bu etkileşimi destekleyerek doğal biyolojik sistemleri yakından taklit edebilme yeteneğine sahip olmaları, onların gelecekte biyomedikal, biyoloji ve tıp gibi alanlardaki yenilikleri şekillendirmeye devam edeceğini göstermektedir ve bu gelecekteki birçok sektör için umut vericidir.

3.2.1 Manyetik Nanoanahtarlarla Biyosensörleme

Biyolojik reaksiyonları izlemek için, etkileşimi analiz etmek ve onu elektriksel bir dürtüye dönüştürmek için biyosensörler günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır (Justino ve ark., 2015; Reinholds ve ark., 2015) Temel olarak, bir biyosensör, elektriksel bir dürtü üreterek biyolojik sistemlerdeki değişiklikleri algılayan ve bunlara yanıt veren analitik bir araçtır (Panchuk ve ark., 2018; Coros ve ark., 2019; Villa ve ark., 2020). Biyosensörler, atık yönetimi, sağlık izleme, tarımsal deneyler, adli tıp, biyolojik testler ve su kalitesi kontrolü dahil olmak üzere çok çeşitli uygulamalarda kullanım bulmaktadır. Biyosensörlü tıbbi giysiler genellikle hastalık teşhisi, genel sağlık gözlemi ve klinik değerlendirme için kullanılmaktadır (Alhadrami, 2019; Saylan ve ark., 2019). Yine glikoz biyosensörleri yüksek oranlarda diyabetin izlenmesi ve kontrol edilmesi için kullanılmaktadır. Diyabet riskinin önemli bir göstergesi olan kan şekeri seviyeleri de biyosensörler kullanılarak izlenmektedir. Biyosensörlerin devam eden önemi, hastaların istedikleri kan şekeri seviyelerini korumalarını ve araştırmacıların hastalığın ekolojik etkisini izlemelerini sağlamaları gerçeğiyle gösterilmektedir. Biyosensörler hastalık teşhisini ve hasta takibini hızlandırabilir (Chauhan ve ark., 2017; Mowbray ve Amiri, 2019) ve geleneksel tıbbi tedaviye değer katabilir.

NP'ler üretim sırasında entegre edilerek ortaya çıkan biyosensörlere nano-biyosensörler denir. Nanomalzemeler, biyo-görüntüleme, teşhis, ilaç

uygulaması ve tedavi gibi alanlarda sağladıkları geniş biyoanalitik aktiviteler yelpazesi nedeniyle her zaman bunların arasında en çok araştırılan ve incelenen partiküllerdir (Tran ve Le, 2015; Munawar ve ark., 2019). Amperometrik ekipman, enzim bazlı reaksiyonları değerlendirmek için kullanılırken, floresan QD cihazları, biyomoleküler etkileşimleri analiz etmek için konjuge NP'leri kullanan bağlanma etkinliğini ve immünoetiketleme uygulamalarını ölçmek için kullanılmaktadır. NP'lerin doğal optik özellikleri ve floresan işaretleyicilere bağlanma potansiyelleri, onları umut verici bir biyosensör yapar. Nanobiyosensörler, ultra düşük boyutlarıyla nanoyapıların hacimli muadillerine göre yeni özellikler sergilemesiyle son zamanlarda güncel bir araştırma konusu haline gelmiştir. Bu nedenle, nanomalzemeler, pikomolar düzeyde istenen tespiti elde etmek için dönüştürücü kaplamalar için aday olarak kullanılmaktadır (Zamora-Galvez ve ark., 2017).

3.2.2. Tek Hücre Fenotipleri

Tek hücre fenotipleri nanoyapılar kullanılarak doğrudan ölçülebilir. Bu alandaki araştırmaların odaklandığı alanlardan biri, kanser teşhisiyle ilgili olarak tek hücre yakalama olmuştur. Örneğin, dolaşımdaki tümör hücrelerinin dahili olarak yakalanması, bir hastaya yerleştirilen damar içi manyetik bir tel kullanılarak mümkündür ve manyetik parçacıklar daha az invaziv, ancak benzer fırsatlar sunmaktadır (Vermesh ve ark., 2018). Alternatif olarak, Robert ve arkadaşları demir oksit NP'lerinin farklı internalizasyon oranlarından yararlanarak monositleri ve makrofajları ayırabilmiştir (Robert ve ark., 2011). Makrofajlar, çip üzerinde serbest akışlı manyetoforez kullanılarak NP yüküne bağlı olarak beş farklı gruba ayrılmıştır. Zhang ve arkadaşları (2017), farklı T hücrelerinin ayrılması için dört tip immüno-manyetik NP kullanan bir immüno-manyetik sıralama prosedürü geliştirmişleridir. Seçiciliğin, işlenmiş kan örneğinin dört litre kadar yüksek işlem hacimlerinde bile korunabileceğini bulmuşlar ancak artan verimin ayırma işleminin seçiciliğini düşürdüğünü belirtmişlerdir. Tran ve arkadaşları (2019) akıllı telefon tabanlı bir görüntüleme platformu kullanarak seçici hücre ayırma ve sayımı için manyetik NP'lerin bir süperpartikül montajını göstermişlerdir. Manyetik parçacıkların "çip üzerinde laboratuvar" teknolojisiyle entegrasyonu, birçok biyomedikal uygulamada avantajlı olmuştur.

3.3. Taşıma Araçları Olarak Nanopartiküller

NP'ler, çeşitli biyolojik uygulamalarda yeni tekniklere olanak sağlamak için belirgin bileşimler, şekiller, yüzey kimyaları ve boyutlar ile tasarlanabilmektedirler. NP'lerin eşsiz özellikleri ve biyolojik ortamlardaki davranışları, temel biyolojik soruları incelemek için heyecan verici ve bütünleştirici yaklaşımlara da olanak tanımaktadır. NP'ler çeşitli ajanların iletilmesinde de görev almaktadırlar.

3.3.1. Hidrofobik Bileşiklerin Çözücüler Olmadan İletimi

Hidrofobik moleküllerin çoğu biyolojik olarak aktif olan bileşiklerdir ve suda zayıf çözünürler. Sulu ortamlarda bu tarz bileşikler zayıf çözünürlüğe sahip olmalarından dolayı biyolojik araştırmalarda kullanmak zordur. Geleneksel yaklaşımlardan biri çözücü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanmaktır. Ancak DMSO *in vivo* uygulamalar için uygun bir çözücü olmamakla beraber çözücüler sıklıkla canlı organizmalardan kaynaklanan ve biyolojik deneyi karmaşıklştırabilen toksisitelere maruz kalmaktadır. Hidrofobik bileşiklerin iletilmesindeki bu sorunların üstesinden gelmek için hidrofobik çekirdeklere sahip polimerik NP'ler kullanılmaktadır. NP iletim araçlarının kullanımı sadece aktif ajanın çözünürlüğünü artırmakla kalmaz, aynı zamanda ajan NP'den salınana kadar ajanı çevresel etmenlerden de korur (Siddharda ve ark., 2020).

3.3.2 Biyolojik Çalışmalar için siRNA İletimi

Hücre kültüründe ve canlı organizmalarda gen fonksiyonlarının incelenmesi için RNA interferans (RNAi) önemli bir biyolojik araçtır. Ancak, siRNA'nın sahip olduğu yüksek moleküler ağırlık ve negatif yük onun hücreye girme zorluğuna, hücre içindeki nükleazlar tarafından kolay parçalanabilmesine, hızlı temizlenme ve *in vivo* kararsızlık gibi birçok biyolojik soruna sebep olmaktadır (Khaled ve ark., 2005; de Fougères ve ark., 2007; Peng ve ark., 2009). Tüm bu nedenlerden dolayı RNAi'nin potansiyelini gerçekleştirmek için biyoyumlu ve daha verimli iletim araçlarına ihtiyaç vardır. NP'ler siRNA iletimindeki zorluklara çözüm olabilecek kapasitedeki moleküllerdir. Katyonik polimer veya lipid yapıdaki NP'ler, nükleik asitlerle yoğunlaştırılmış bir kompleks oluşturma kabiliyetleri nedeniyle anyonik

nükleik asitleri hücrelere taşımak için kullanılan alternatif malzemelerdir (Behlke, 2006).

Aynı zamanda NP'ler, siRNA aracılığıyla bağışıklık hücrelerindeki genleri susturmak için de kullanılmaktadır (Peer ve ark., 2008). Yapılan bir çalışmada, NP'ler, lökositlerde hücre döngüsü düzenleyici bir molekül olan Siklin D1'i (CyD1) seçici olarak susturmak için kullanılmıştır ve çalışma sonunda kullanılan NP'lerin lökositlerde CyD1'i susturduğunu ve lökosit çoğalmasını ve T yardımcı hücresi 1'in sitokin ekspresyonunu baskılayıp farelerde indüklenen koliti aksi yöne çevirdiğini ortaya koymuştur (Novobrantseva ve ark., 2012).

3.3.3 Hücre Altı Organellere Ajanların İletimi

Ajanların hücre altı organellere iletilmesi, organellerde bilinmeyen belirli moleküler süreçlere ışık tutar. Aktif araştırma alanlarından biri de çeşitli ajanları hedef organellere iletmek olup bir hedefin hücre altında kullanılabilirliği ve erişilebilirliği, görüntüleme ve terapötik ajanların etkili bir şekilde iletilmesinde önemlidir (Rajendran ve ark., 2010). NP'leri kolayca değiştirme ve işlevselleştirme olanaklarının olması bilim insanlarını son yıllarda çeşitli ajanları hücre altı organellere iletmek için bu araçların kullanılmasına yönelik araştırmalara yönlendirmiştir. Hedeflenen NP'ler, hücre yüzeyinde bulunan hedeflere bağlanabilir ve endositoz yoluyla hücreye girebilir. Ancak, hedef hücre içerisinde yer alıyorsa, NP'ler ve taşıdıkları ajanlar, NP'nin hücre içi birikimi veya hücre altı hedefleme yeteneklerinin eksikliği nedeniyle hedefe ulaşamayabilir. Özellikle, oligonükleotidler taşıyan NP'lerin etkili olmak için endosomdan kaçmaları ve ardından hedeflenmeleri gerekir. Etkili hücre altı hedefleme araçları, çekirdeğe (Pouton ve ark., 2007), sitozole (Vasir ve Labhasetwar, 2007), mitokondriye (Yamadave Harashima, 2008), endosomlara (Bareford ve Swaan, 2007) ve lizozomlara (Lloyd, 2000) hedefli iletim için ortaya çıkmaktadır. Genel olarak, hücre altı hedeflemede NP'lerin tasarımı için iki yaklaşım dikkat çekmektedir.

1. NP'lerin boyut, şekil ve bileşim gibi karakteristik özelliklerini değiştirerek belirli bir organel pasif olarak hedeflenmesi,
2. NP yüzeylerini organelle yönelik hedefleme ligandlarıyla işlevselleştirerek NP'lerin ilgi duyulan organelle aktif olarak hedeflenmesi (Xu ve ark., 2008).

Bu yaklaşımlar çeşitli başarı seviyelerinde uygulanmış ancak bazen bu uygulamaların önünde bazı engeller göz ardı edilememiştir. Başarılı hücre altı hedeflemenin önündeki engeller arasında hedef organelle özgü biyolojik bariyerler yer almaktadır. Örneğin, hedef organeli çekirdek olan NP'ler hücre zarına girmeli, endosomal/lizozomal yollardan kaçmalı, nükleer gözenek kompleksiyle etkileşime girmenin bir yoluna sahip olmalı ve nükleer zarı geçebilecek kadar küçük olmalıdır (Pouton ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) gibi ligandları hedeflemek, aktif taşıma mekanizmasıyla nükleer iletimi artırmak için kullanılmıştır. Kang ve arkadaşlarının (2010) yaptığı bir çalışmada, NLS konjuge altın NP'lerinin bir kanser hücresinin çekirdeğinde lokalizasyonunun DNA'ya zarar verdiği saptanmıştır. Tam tersine, başka bir çalışmada ise, NLS konjuge altın NP'leri hücreye giremeyip endosomlarda sıkıştığından dolayı plazma zarının dışından hücre çekirdeğini hedefleyememiştir. Bunun yerine, hem NLS hem de reseptör aracılı endositoz (RME) peptitleriyle konjuge edilmiş NP'ler çekirdeğe ulaşmıştır (Tkachenko ve ark., 2003).

Mitokondriye hedeflenen NP'ler için biyolojik engeller arasında ise mitokondriye ve iç ve dış mitokondriyal zarlara hücre içi taşıma sırasındaki sorunlar ve toksisite yer almaktadır (Durazo ve Kompella, 2011). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda öncelikle mitokondriye iletmek üzere metal oksit veya lipozomal NP'ler geliştirilmiştir. Mitokondriye iletim, NP ve organel arasındaki elektrostatik etkileşimlere de dayanmaktadır. Mitokondri, diğer hücresel zarlara kıyasla negatif bir zar potansiyeline sahip olduğundan dolayı lipofil katyonların birikmesine yol açabilir (Breunig ve ark., 2008). Bu sebeple mitokondriyi hedeflemek için anti-kanser ajanları seramid (Boddapati ve ark., 2008) ve skarleol (Patel ve ark., 2010) ile stearyl trifenil fosfonyum (STPP) hedefli lipozomların üretiminde kullanılmıştır. Bu aşamada STPP, hem katyonik hem de lipofilik özellikler sergilediği için tercih edilmiştir. Farklı bir araştırmada ise mitokondriye etki eden terapötikleri hedeflerine ulaştırmak için polimerik bir NP sistemi kullanılmıştır. NP'ler, mitokondriyal matris boşluğuna geçtiği bilinen bir lipofilik trifenilfosfonyum (TPP) katyonu ile sentezlenmiştir. Yük ve boyuta göre değişen bir NP kütüphanesinin *in vitro* taranmasıyla, hedeflenmemiş NP'lere veya küçük molekül terapötiklerine kıyasla kanser, Alzheimer hastalığı ve obezite için etkinliği artıran ve

toksisiteyi azaltan optimize edilmiş hedeflenmiş bir NP belirlemiştir (Marrache ve Dhar, 2012).

3.4. Nanopartiküllerin Gelecekteki Yansıması

NP'lerin toplu muadillerine kıyasla olağanüstü fiziko-kimyasal özellikleri, bu maddelerin tüketim ürünlerine ve biyomedikal uygulamalara öncelikli olarak girmesine yol açmasının yanı sıra biyolojide de geniş bir uygulama yelpazesi bulunmasına sebep olmuştur. Nanoteknoloji, son yıllarda bireysel hücreler ve biyomoleküllerle aynı ölçekte cihazların yaratılmasını sağlayarak görüntüleme, algılama, ilaç dağıtımı ve temel biyolojik süreçleri karakterize etme konusunda benzersiz bir yaklaşım yaratmıştır. NP'ler için biyolojik uygulamaya olan ilgi çok yeni olduğundan, NP'lerin biyoloji ve moleküler biyolojide daha yenilikçi ve heyecan verici uygulamaları için yüksek bir iyimserlik vaat edilmektedir.

Biyolojik süreçlere entegre olan önemli sayıda gen ve protein tanımlanmış olsa da, bu biyolojik birimlerin ve süreçlerin çoğunun bir araya gelme ve bütünleşme biçimi hala bilinmemektedir. NP tekniklerini kullanan biyolojik çalışmalar, karmaşık sinyal yollarını içeren hücre işlevleri ve moleküler süreçler hakkında yeni bilgiler sağlayabilir. NP'ler ayrıca bu süreçlerin nasıl yapıcı bir şekilde değiştirilebileceğini ve bir hücrenin çeşitli bileşenlerinin bir görevi yerine getirmek için nasıl birlikte çalıştığını anlamaya yardımcı olmak için de kullanılabilir. Örneğin, apoptoz, hücre bölünmesi ve kök hücre gibi biyolojik süreçler, mekanik ipuçları ve fiziksel ortamlarındaki değişiklikler tarafından modüle edilmektedir.

Tüm bunların yanı sıra yine NP'ler hastalık ve yaralanmada yer alan biyokimyasal yolların temellerinin anlaşılmasına potansiyel olarak yardımcı olabilir. NP sensörleri, mevcut analizlerle ele alınamayan biyolojik moleküllerin tanımlanmasını sağlayabilir. Hedeflenen NP sistemleri, bu moleküllerin varlığına yüksek afinite ve seçicilikle bağlanabilir veya tepki verebilir, tespit ve moleküler görüntüleme için sinyallerini yükseltebilir. Dahası, NP'ler, sulu koşullar altında hidrofobik bileşiklerin çözünmezliği, kararsızlığı ve spesifik olmayan hedefleme gibi biyolojik araştırmalarda kullanılan geleneksel iletim yöntemleriyle ilişkili sınırlamaların üstesinden gelmeye yardımcı olabilir. Nanoskalada biyolojik sistemlerin incelenmesinde önemli ilerlemeler kaydedilmesi ve proteomik ve genomiklerin

nanoteknolojiyle bütünleştirilmesiyle, hücre işlevi ve süreçleri hakkında daha derin bir anlayış elde edilebilir ve bu da hastalık nedeniyle işlevleri bozulduktan sonra moleküler sistemleri normal operasyonlarına geri döndürebilecek yeni nanoskala araçların tasarımına yardımcı olabilir.

Nanoteknoloji yöntemleri teknolojinin gelişimine paralel olarak olgunlaştıkça, biyologların NP'ler hakkındaki bilgilerini tazeleme ve bunları kendi araştırmalarına uyarlamaları için daha az teknik engel olduğunu belirtmek de önemlidir. Şu anda, floresan görüntüleme ve manyetik rezonans görüntüleme gibi görüntüleme modellerinde kontrast ajan olarak ve düşük konsantrasyonlarda analitlerin tespiti için kullanılabilen çeşitli ticari NP'ler bulunmaktadır. Ancak, daha önce belirtildiği gibi, boyut, şekil, fonksiyonel gruplar, yüzey yükü ve bileşim gibi NP özellikleri, NP'nin *in vitro* ve *in vivo* biyolojik sistemlerle etkileşimlerini etkileyebilecek faktörlerdir. Bu nedenle, biyolojik sistemlerde farklı NP formülasyonlarının neden olduğu toksisite gibi etkilerin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi, NP'leri biyolojik uygulamalar için kullanmada önemlidir. NP'lerin çok çeşitli uygulamalarda kullanımı oldukça faydalı olmakla beraber insan sağlığı üzerindeki olası etkileri konusunda endişeler de göz önünde bulundurulmalıdır. NP'lerin doku bariyerini geçme kapasitesinin yüksek olması nedeniyle kullanımının artması, kan-beyin bariyerini geçmeyi gerektiren nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi hastalıkların tedavisi için ilaç dağıtımını veya gen terapisini kolaylaştırmak adına yararlı olmakla beraber iki ucu keskin bir kılıç da olabilir. Öte yandan, NP'ler biyolojik sistemde daha fazla birikime neden olabilir ve dolayısıyla olumsuz sağlık riskleri oluşturarak artan difüzivite ve reaktivite sergileyebilir. Dahası, NP bazlı tüketim ürünlerinin düzenli kullanımı, NP'lerin dermal temas, inhalasyon veya yutma yoluyla insan vücuduna girme ve biyolojik sisteme müdahale etme duyarlılığını artırabilir. Tabi ki gelecekte muhtemel karşılaşılabilecek tüm bu olumsuzluklara rağmen NP'lerin uygun şekilde değerlendirilmesi ve tüketici ürünlerine bu nanoyapıların güvenli bir şekilde dahil edilmesinin zarardan çok fayda sağlayacağı düşünüldükçe hala bilim dünyasında büyük bir ilgi görmektedir.

NP teknolojisinin biyolojik araştırmalarda tam olarak kullanılması, kimyagerlerin ve nanoteknolojistlerin NP üretim tekniklerini standartlaştırmasını ve basitleştirmesini gerektirecektir. Ayrıca, nanoteknoloji araştırmacılarının biyologlarla aktif olarak etkileşim kurmasını ve yeni

uygulama ve sinerji alanlarını belirlemek için iş birliği yapmasını da zorunlu kılacaktır. Hem NP'lerin geliştirilmesinde hem de genişleyen biyolojik uygulamalarında ilerleme, geçmişten günümüze oldukça hızlı bir gelişme göstermiştir. Önümüzdeki yıllarda devam eden NP çalışmalarının ise hem bilime hem de biyoloji ve moleküler biyoloji alanına neler sunabileceğini ancak hayal edebiliriz.

KAYNAKÇA

- Alhadrami, H. A. (2018). Biosensors: Classifications, medical applications, and future prospective. *Biotechnology and applied biochemistry*, 65(3), 497-508.
- Alivisatos, P. (2004). The use of nanocrystals in biological detection. *Nature biotechnology*, 22(1), 47-52.
- Asefa, T., Duncan, C. T., & Sharma, K. K. (2009). Recent advances in nanostructured chemosensors and biosensors. *Analyst*, 134(10), 1980-1990.
- Barber, D. J., & Freestone, I. C. (1990). An investigation of the origin of the colour of the Lyncurus Cup by analytical transmission electron microscopy. *Archaeometry*, 32(1), 33-45.
- Bareford, L. M., & Swaan, P. W. (2007). Endocytic mechanisms for targeted drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 59(8), 748-758.
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.
- Behlke, M. A. (2006). Progress towards in vivo use of siRNAs. *Molecular Therapy*, 13(4), 644-670.
- Boddapati, S. V., D’Souza, G. G., Erdogan, S., Torchilin, V. P., & Weissig, V. (2008). Organelle-targeted nanocarriers: specific delivery of liposomal ceramide to mitochondria enhances its cytotoxicity in vitro and in vivo. *Nano letters*, 8(8), 2559-2563.
- Bogunia-Kubik, K., & Sugisaka, M. (2002). From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *Biosystems*, 65(2-3), 123-138.
- Breunig, M., Bauer, S., & Göpferich, A. (2008). Polymers and nanoparticles: intelligent tools for intracellular targeting?. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68(1), 112-128.
- Bruus, H. (2004). *Introduction to nanotechnology*. Department of Micro and Nanotechnology, Technical University of Denmark.
- Chauhan, N., Maekawa, T., & Kumar, D. N. S. (2017). Graphene based biosensors—Accelerating medical diagnostics to new-dimensions. *Journal of Materials Research*, 32(15), 2860-2882.

- Cho, M. H., Lee, E. J., Son, M., Lee, J. H., Yoo, D., Kim, J. W., ... & Cheon, J. (2012). A magnetic switch for the control of cell death signalling in in vitro and in vivo systems. *Nature materials*, 11(12), 1038-1043.
- Churchill, H., Teng, H., & Hazen, R. M. (2004). Correlation of pH-dependent surface interaction forces to amino acid adsorption: Implications for the origin of life. *American Mineralogist*, 89(7), 1048-1055.
- Coroş, M., Pruneanu, S., & Stefan-van Staden, R. I. (2019). Recent progress in the graphene-based electrochemical sensors and biosensors. *Journal of the electrochemical society*, 167(3), 037528.
- de Fougères, A., Vornlocher, H. P., Maraganore, J., & Lieberman, J. (2007). Interfering with disease: a progress report on siRNA-based therapeutics. *Nature reviews Drug discovery*, 6(6), 443-453.
- Dhawan, A., Singh, S., Kumar, A., & Shanker, R. (Eds.). (2018). *Nanobiotechnology: Human Health and the Environment*. CRC Press.
- Dudak, F. C., & Boyacı, I. H. (2008). Enumeration of immunomagnetically captured Escherichia coli in water samples using quantum dot-labeled antibodies. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 16(2), 122-131.
- Durazo, S. A., & Kompella, U. B. (2012). Functionalized nanosystems for targeted mitochondrial delivery. *Mitochondrion*, 12(2), 190-201.
- Earhart, C. M., Hughes, C. E., Gaster, R. S., Ooi, C. C., Wilson, R. J., Zhou, L. Y., ... & Wang, S. X. (2014). Isolation and mutational analysis of circulating tumor cells from lung cancer patients with magnetic sifters and biochips. *Lab on a Chip*, 14(1), 78-88.
- Feynman, R. (2011). There's plenty of room at the bottom. *Resonance: Journal of Science Education*, 16(9).
- Filiipponi, L., & Sutherland, D. (Eds.). (2012). *Nanotechnologies: principles, applications, implications and hands-on activities: A compendium for educators*. European Union, Directorate General for Research and Innovation.
- Freestone, I., Meeks, N., Sax, M., & Higgitt, C. (2007). The Lycurgus cup—a roman nanotechnology. *Gold bulletin*, 40, 270-277.
- Güven, B., Basaran-Akgül, N., Temur, E., Tamer, U., & Boyacı, İ. H. (2011). SERS-based sandwich immunoassay using antibody coated magnetic

- nanoparticles for Escherichia coli enumeration. *Analyst*, 136(4), 740-748.
- Hornyak, G. L., Moore, J. J., Tibbals, H. F., & Dutta, J. (2018). *Fundamentals of nanotechnology*. CRC press.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9(1), 1050-1074.
- Justino, C. I., Freitas, A. C., Pereira, R., Duarte, A. C., & Santos, T. A. R. (2015). Recent developments in recognition elements for chemical sensors and biosensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 68, 2-17.
- Kang, B., Mackey, M. A., & El-Sayed, M. A. (2010). Nuclear targeting of gold nanoparticles in cancer cells induces DNA damage, causing cytokinesis arrest and apoptosis. *Journal of the American Chemical Society*, 132(5), 1517-1519.
- Kerativitayanan, P., Carrow, J. K., & Gaharwar, A. K. (2015). Nanomaterials for engineering stem cell responses. *Advanced healthcare materials*, 4(11), 1600-1627.
- Khaled, A., Guo, S., Li, F., & Guo, P. (2005). Controllable self-assembly of nanoparticles for specific delivery of multiple therapeutic molecules to cancer cells using RNA nanotechnology. *Nano letters*, 5(9), 1797-1808.
- Lloyd, J. B. (2000). Lysosome membrane permeability: implications for drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 41(2), 189-200.
- Lockman, P. R., Oyewumi, M. O., Koziara, J. M., Roder, K. E., Mumper, R. J., & Allen, D. D. (2003). Brain uptake of thiamine-coated nanoparticles. *Journal of controlled release*, 93(3), 271-282.
- Luther, W. (2004). INDUSTRIAL APPLICATION OF NANOMATERIALS: CHANCES AND RISKS TECHNOLOGICAL ANALYSIS). VDI TECHNOLOGIEZENTRUM, GERMANY.
- Maclurcan, D. C., Ford, M. J., Cortie, M. B., & Ghosh, D. (2004). Medical Nanotechnology and Developing Nations. In *Asia Pacific Nanotechnology Forum 2003* (pp. 165-172).
- Mahtab, R., & Murphy, C. J. (2005). Probing DNA structure with nanoparticles. *NanoBiotechnology Protocols*, 179-190.

- Mansoori, G. A., & Soelaiman, T. F. (2005). *Nanotechnology--An introduction for the standards community*. Chicago: ASTM International.
- Marrache, S., & Dhar, S. (2012). Engineering of blended nanoparticle platform for delivery of mitochondria-acting therapeutics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(40), 16288-16293.
- Mauro, N., Manfredi, A., Ranucci, E., Procacci, P., Laus, M., Antonioli, D., ... & Ferruti, P. (2013). Degradable poly (amidoamine) hydrogels as scaffolds for in vitro culturing of peripheral nervous system cells. *Macromolecular Bioscience*, 13(3), 332-347.
- Melzak, K. A., Sherwood, C. S., Turner, R. F., & Haynes, C. A. (1996). Driving forces for DNA adsorption to silica in perchlorate solutions. *Journal of colloid and interface science*, 181(2), 635-644.
- Mowbray, S. E., & Amiri, A. M. (2019). A brief overview of medical fiber optic biosensors and techniques in the modification for enhanced sensing ability. *Diagnostics*, 9(1), 23.
- Munawar, A., Ong, Y., Schirhagl, R., Tahir, M. A., Khan, W. S., & Bajwa, S. Z. (2019). Nanosensors for diagnosis with optical, electric and mechanical transducers. *RSC advances*, 9(12), 6793-6803.
- Naja, G., Bouvrette, P., Hrapovic, S., & Luong, J. H. (2007). Raman-based detection of bacteria using silver nanoparticles conjugated with antibodies. *Analyst*, 132(7), 679-686.
- Nouailhat, A. (2010). *An introduction to nanoscience and nanotechnology* (Vol. 10). John Wiley & Sons.
- Novobrantseva, T. I., Borodovsky, A., Wong, J., Klebanov, B., Zafari, M., Yucius, K., ... & Koteliansky, V. (2012). Systemic RNAi-mediated gene silencing in nonhuman primate and rodent myeloid cells. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 1.
- Panchuk, V., Yaroshenko, I., Legin, A., Semenov, V., & Kirsanov, D. (2018). Application of chemometric methods to XRF-data—A tutorial review. *Analytica Chimica Acta*, 1040, 19-32.
- Patel, N. R., Hatziantoniou, S., Georgopoulos, A., Demetzos, C., Torchilin, V. P., Weissig, V., & D'Souza, G. G. (2010). Mitochondria-targeted liposomes improve the apoptotic and cytotoxic action of sclareol. *Journal of liposome research*, 20(3), 244-249.

- Patel, P. D. (2006). Overview of affinity biosensors in food analysis. *Journal of AOAC International*, 89(3), 805-818.
- Peer, D., Park, E. J., Morishita, Y., Carman, C. V., & Shimaoka, M. (2008). Systemic leukocyte-directed siRNA delivery revealing cyclin D1 as an anti-inflammatory target. *Science*, 319(5863), 627-630.
- Peng, G., Tisch, U., Adams, O., Hakim, M., Shehada, N., Broza, Y. Y., ... & Haick, H. (2009). Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles. *Nature nanotechnology*, 4(10), 669-673.
- Poole, C. P., & Owens, F. J. (2003). Introduction to nanotechnology.
- Pouton, C. W., Wagstaff, K. M., Roth, D. M., Moseley, G. W., & Jans, D. A. (2007). Targeted delivery to the nucleus. *Advanced drug delivery reviews*, 59(8), 698-717.
- Pradell, T., Climent-Font, A., Molera, J., Zucchiatti, A., Ynsa, M. D., Roura, P., & Crespo, D. (2007). Metallic and nonmetallic shine in luster: An elastic ion backscattering study. *Journal of Applied Physics*, 101(10).
- Rajendran, L., Knölker, H. J., & Simons, K. (2010). Subcellular targeting strategies for drug design and delivery. *Nature reviews Drug discovery*, 9(1), 29-42.
- Ramsden, J. (2008). *Essentials of nanotechnology*. BookBoon.
- Reibold, M., Paufler, P., Levin, A. A., Kochmann, W., Pätzke, N., & Meyer, D. C. (2006). Carbon nanotubes in an ancient Damascus sabre. *Nature*, 444(7117), 286-286.
- Reinholds, I., Bartkevics, V., Silvis, I. C., van Ruth, S. M., & Esslinger, S. (2015). Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, 56-72.
- Robert, D., Pamme, N., Conjeaud, H., Gazeau, F., Iles, A., & Wilhelm, C. (2011). Cell sorting by endocytotic capacity in a microfluidic magnetophoresis device. *Lab on a chip*, 11(11), 1902-1910.
- Sandhya, S., Chen, W., & Mulchandani, A. (2008). Molecular beacons: a real-time polymerase chain reaction assay for detecting Escherichia coli from fresh produce and water. *analytica chimica acta*, 614(2), 208-212.
- Saylan, Y., Erdem, Ö., Ünal, S., & Denizli, A. (2019). An alternative medical diagnosis method: biosensors for virus detection. *Biosensors*, 9(2), 65.

- Siddhardha, B., Dyavaiah, M., & Kasinathan, K. (Eds.). (2020). *Model organisms to study biological activities and toxicity of nanoparticles*. Springer Nature.
- Tarhan, Ö., Gökmen, V., & Harsa, Ş. (2010). Nanoteknolojinin gıda bilim ve teknolojisi alanındaki uygulamaları. *Gıda*, 35(3), 219-225.
- 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.
- The British Museum. Available online: www.britishmuseum.org/research/collection_online/collection_object_details.aspx?objobjec=61219&partId=1 (accessed on 22 July 2019).
- The New York Times. Available online: www.nytimes.com/imagepages/2005/02/21/science/20050222_NANO1_GRAPHIC.html (accessed on 22 July 2019).
- Tkachenko, A. G., Xie, H., Coleman, D., Glomm, W., Ryan, J., Anderson, M. F., ... & Feldheim, D. L. (2003). Multifunctional gold nanoparticle-peptide complexes for nuclear targeting. *Journal of the American Chemical Society*, 125(16), 4700-4701.
- Tolochko, N. K. (2009). History of nanotechnology. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*.
- Tran, M. V., Ha, A. T., & Le, P. M. L. (2015). Nanoflake Manganese Oxide and Nickel-Manganese Oxide Synthesized by Electrodeposition for Electrochemical Capacitor. *Journal of Nanomaterials*, 2015(1), 609273.
- Tran, M. V., Susumu, K., Medintz, I. L., & Algar, W. R. (2019). Supraparticle assemblies of magnetic nanoparticles and quantum dots for selective cell isolation and counting on a smartphone-based imaging platform. *Analytical Chemistry*, 91(18), 11963-11971.
- Vasir, J. K., & Labhasetwar, V. (2007). Biodegradable nanoparticles for cytosolic delivery of therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*, 59(8), 718-728.
- Vermesh, O., Aalipour, A., Ge, T. J., Saenz, Y., Guo, Y., Alam, I. S., ... & Gambhir, S. S. (2018). An intravascular magnetic wire for the high-

- throughput retrieval of circulating tumour cells in vivo. *Nature biomedical engineering*, 2(9), 696-705.
- Vilhena, J. G., Pimentel, C., Pedraz, P., Luo, F., Serena, P. A., Pina, C. M., ... & Pérez, R. (2016). Atomic-scale sliding friction on graphene in water. *Acs Nano*, 10(4), 4288-4293.
- Villa, J. E., Afonso, M. A., Dos Santos, D. P., Mercadal, P. A., Coronado, E. A., & Poppi, R. J. (2020). Colloidal gold clusters formation and chemometrics for direct SERS determination of bioanalytes in complex media. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 224, 117380.
- Vinogradov, S. V., Batrakova, E. V., & Kabanov, A. V. (2004). Nanogels for oligonucleotide delivery to the brain. *Bioconjugate chemistry*, 15(1), 50-60.
- Wagner, F. E., Haslbeck, S., Stievano, L., Calogero, S., Pankhurst, Q. A., & Martinek, K. P. (2000). Before striking gold in gold-ruby glass. *Nature*, 407(6805), 691-692.
- Wang, E. C., & Wang, A. Z. (2014). Nanoparticles and their applications in cell and molecular biology. *Integrative biology*, 6(1), 9-26.
- Whitesides, G. M. (2003). The 'right' size in nanobiotechnology. *Nature biotechnology*, 21(10), 1161-1165.
- Xu, Z. P., Niebert, M., Porazik, K., Walker, T. L., Cooper, H. M., Middelberg, A. P., ... & Lu, G. Q. M. (2008). Subcellular compartment targeting of layered double hydroxide nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 130(1), 86-94.
- Yamada, Y., & Harashima, H. (2008). Mitochondrial drug delivery systems for macromolecule and their therapeutic application to mitochondrial diseases. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(13-14), 1439-1462.
- Zamora-Gálvez, A., Morales-Narváez, E., Mayorga-Martinez, C. C., & Merkoçi, A. (2017). Nanomaterials connected to antibodies and molecularly imprinted polymers as bio/receptors for bio/sensor applications. *Applied Materials Today*, 9, 387-401.
- Zhang, L., Zhu, X., Jiao, D., Sun, Y., & Sun, H. (2013). Efficient purification of His-tagged protein by superparamagnetic Fe₃O₄/Au-ANTA-Co²⁺ nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 33(4), 1989-1992.

- Zhang, Q., Yin, T., Xu, R., Gao, W., Zhao, H., Shapter, J. G., ... & Cui, D. (2017). Large-scale immuno-magnetic cell sorting of T cells based on a self-designed high-throughput system for potential clinical application. *Nanoscale*, 9(36), 13592-13599.
- Zhu, W., O'Brien, C., O'Brien, J. R., & Zhang, L. G. (2014). 3D nano/microfabrication techniques and nanobiomaterials for neural tissue regeneration. *Nanomedicine*, 9(6), 859-875.

BÖLÜM 2

NANOPARTİKÜLLERİN ANTİMİKROBİYAL AJAN OLARAK KULLANIMI VE İLAÇ TAŞINIMINDAKİ ROLLERİ

Yüksek Lisans Öğrencisi Sinem Yaren İREÇ¹,
Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16377793>

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyon Türkiye, sinemyarenirec@gmail.com, ORCID ID: 0009-0004-6222-5923

² Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar, Türkiye, cigerci@aku.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-3626-7730

GİRİŞ

Antibiyotikler, enfeksiyöz hastalıklarla mücadelede oldukça yaygın ve etkili silahlardır. Ancak, bilinçsiz, aşırı ve uygunsuz antibiyotik kullanımı, halk sağlığını etkileyen ciddi tehditlerden biri olan antimikrobiyal direnç yol açmıştır (Makowski ve ark., 2019). Antimikrobiyal direncin 2050 yılına kadar yılda yaklaşık 10 milyon ölüme neden olabileceği ve kanser ölümlerini geçebileceği tahmin edilmektedir (Gautham ve ark., 2021). Bu durum, bakteriyel enfeksiyonlara karşı yeni alternatiflerin aranmasını zorunlu kılmıştır. Keşif ve tasarımıyla ilgili yüksek maliyet ve çeşitli zorluklar nedeniyle, son çeyrek yüzyılda yeterli sayıda yeni antibiyotik keşfedilemediği de göz önünde bulundurulacak olursa (Hutchings ve ark., 2019) nanopartiküllerin (NP) bu alanda başarılı olabileceği tahmin edilebilir.

Terapötik bileşiğin hedef bölgeye iletilmesi birçok hastalığın tedavisinde önemli bir sorundur. İlaçların geleneksel uygulaması sınırlı etkinlik, zayıf biyolojik dağılım ve seçicilik eksikliği ile karakterize edilir. Bu sınırlamalar ve dezavantajlar ilaç iletimini kontrol ederek aşılabılır. Kontrollü ilaç iletim sistemlerinde (KİS) ilaç etki yerine taşınır, böylece hayati dokular üzerindeki etkisi ve istenmeyen yan etkileri en aza indirilebilir. Ek olarak, KİS ilacı hızlı bozunmadan korur ve hedef dokulardaki ilaç konsantrasyonunu artırır, bu nedenle daha düşük dozda ilaç gerekir (Zhnag ve Langer, 2018). Bu modern terapi biçimi, bir ilacın dozu veya konsantrasyonu ile terapötik sonuçları veya toksik etkileri arasında bir tutarsızlık olduğunda özellikle önemlidir. Hücreye özgü hedefleme, ilaçları ayrı ayrı tasarlanmış taşıyıcılara bağlayarak elde edilebilir. Nanoteknolojideki son gelişmeler, nano parçacıkların ilaç taşıyıcıları olarak büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Küçük boyutları nedeniyle nano yapılar, onları biyomedikal uygulamalar için elverişli bir malzeme yapan benzersiz fizikokimyasal ve biyolojik özellikler (örneğin, geliştirilmiş reaktif alan ve hücre ve doku bariyerlerini geçme yeteneği) sergilemektedir. Özellikle metal nanopartiküller (MNP), benzersiz özellikleri sayesinde antimikrobiyal ajanlar olarak da son yıllarda büyük ilgi görmüştür. Bakır (Cu), selenyum (Se), altın (Au), çinko oksit (ZnO), demir oksit (Fe₃O₄), gümüş (Ag), titanyum dioksit (TiO₂) ve nikel (Ni) gibi çeşitli metal NP'ler, antimikrobiyal etkileri açısından geniş çapta incelenmiştir (Hemeg ve ark., 2017).

Bu NP'lerin etkinliğini ve güvenliğini sağlamak adına, boyutlarını, yüzey yüklerini ve bileşimlerini ince ayarlamak için kapsamlı araştırma ve optimizasyon çabaları yürütülmektedir. Araştırmacılar ayrıca, klinik uygulamalarda güvenliklerini sağlamak için potansiyel toksisitelerini ve biyouyumluluklarını da araştırmaktadır (McCarthy ve Jaffer, 2011). Bu bölümün amacı çeşitli NP'lerin antimikrobiyal ajanlar olarak uygulanmasını ve halk sağlığında çoklu ilaca dirençli mikrobiyal patojenlere karşı potansiyel uygulamalarını gözden geçirmektedir. Nanomedikaldeki ilerleme, ilaca dirençli mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların teşhisi ve tedavisi için oldukça önemli bir husustur.

1. NANOPARTİKÜLLER

Sahip oldukları yüksek yüzey-hacim oranı nedeniyle, NP'ler mikroorganizmalarla etkileşime girme özelliğine sahip olup antimikrobiyal ajanlar olarak da kabul edilirler. NP'ler günümüzde yaygın kullanım alanına sahip olan 0.2–100 nm boyutundak hem organik hem de inorganik olabilen ajanlardır (Hajipour ve ark., 2012). Günümüzde Gümüş (Ag), altın (Au), gümüş oksit (Ag₂O), çinko oksit (ZnO), titanyum dioksit (TiO₂), kalsiyum oksit (CaO), bakır oksit (CuO), magnezyum oksit (MgO) ve silikon dioksit (SiO₂) gibi farklı NP türleri genellikle antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır (Maleki Dizaj ve ark. 2015). Bunlardan inorganik NP'ler, bakteriyel hücre zarlarının lipid peroksidasyonunu yönlendiren, oksidatif fosforilasyonu ve DNA replikasyonunu inhibe eden hidroksil radikalleri, süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi ROS üretmektedir. Cu²⁺ iyonları, *Bacillus subtilis*'in yüzeylerindeki amin ve karboksil gruplarıyla etkileşime girer. Ag ve ZnONP'ler, bakteriyel hücre zarının lipidlerini ve proteinlerini bozar. AgNP'lerin Ag⁺'sı, bakteriyel zardaki negatif yüklü lipopolisakkarit ile etkileşime girer ve elektron taşıma zincirinin sitokromlarını inhibe eder. Ag ve Au NP'leri, 30S ribozomal alt birimini denatüre ederek protein translasyonunu önler. Ag veya Au ile kaplanmış süperparamagnetik demir oksit NP'leri gibi manyetik NP'lerin ise, bakteriyel biyofilmlere karşı inhibe edici aktivite gösterdiği bilinmektedir (Hemeg 2017).

1.1 Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Mekanizması

NP'lerin antimikrobiyal mekanizmaları NP türüne göre değişiklik göstermekle beraber ZnO ve TiO₂ gibi NP'lerin bakterisidal etkilerini çoğunlukla ROS üretimi yoluyla gösterdiği düşünülmektedir (Leung ve ark., 2016), Ag ve Au'nun ise ağırlıklı olarak metal iyonları salınımıyla bakterisidal etkiler gösterdiği kabul edilmektedir (Cui ve ark., 2012). AgNP'lerin öldürücü etkisi, NP'lerin bakteriyel hücre duvarıyla doğrudan etkileşimine ve ardından sitoplazmaya nüfuz etmesine bağlanmıştır. NP'ler, bakteriyel hücre duvarı ve zarında birikerek, sitoplazmanın büzülmesi, zarın ayrılması, çoklu elektron yoğun çukurların oluşumu ve sonunda zarın bozulması gibi morfolojik değişikliklere neden olmaktadır (Sondi ve Sondi, 2004). *E. coli*'nin hücre duvarında NP birikiminin çukurlar oluşturduğu ve bunun da lipopolisakarit moleküllerinin ve zar proteinlerinin salınımına neden olarak dış zar bütünlüğünün kaybına yol açtığı ve nihayetinde hücre ölümüne neden olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Sondi ve Sondi, 2004).

Metaller, sulu çözeltilerde kimyasal olarak oksitlenerek metal iyonları oluşturabilmektedir. Daha yüksek yüzey-hacim oranı nedeniyle, NP'ler aerobik koşullarda diğer malzemelere göre daha fazla iyon salabilir. NP'lerin yüzeyinden salınan iyonlar, antibakteriyel aktivitede önemli bir rol oynamakta olup bu NP'ler önce bakteriyel hücre duvarına bağlanır ve nanoskopik boyutları sayesinde hücre duvarına kolayca nüfuz ederek daha sonra hücre zarıyla etkileşime girerler. Saldıkları iyonlarla hücre zarında yapısal değişikliklere neden olur, bu da zarın bütünlüğünü bozarak geçirgenliğini artırır. Sonuç olarak, hücre içeriğinin sızmasına ve nihayetinde hücre ölümüne neden olurlar. Hücre zarını hedefleyen NP'ler ayrıca zar potansiyelini ve proton motive gücünü bozar, oksidatif fosforilasyonu engeller ve hücre içi ATP seviyelerini düşürür. Yapılan araştırmalarda *E. coli*'ye karşı küresel AgNP'lerin antibakteriyel etkisi, proteomik çalışmalarla ortaya konulmuş olup bu çalışmalar, AgNP'lere maruz kalmanın zar potansiyelini bozduğunu ve proton motive gücünün bozulmasına sebep olan zar protein öncüllerinin birikimine yol açtığını göstermiştir (Lok ve ark., 2006). Serbest metal iyonları hücre içine ulaştığında; DNA, proteinler ve lipitler gibi hücresel biyomoleküllerin karbonil, amino, fosfat ve sülfhidril (tiol) gruplarıyla da etkileşime girer (Tang ve Zheng, 2018). Serbest Ag iyonlarının, nükleotit gruplarından ziyade nükleositlerle

öncelikli olarak etkileşime girdiği, kromozomal DNA'yı bozduğu veya DNA replikasyonunu engellediği gösterilmiştir (Yakabe ve ark., 1980).

Ag⁺ gibi metal iyonları ayrıca enzimlerin ve proteinlerin tiol gruplarıyla etkileşime girerek üç boyutlu yapılarını değiştirdiği ve substratları için aktif bağlanma bölgelerini bloke ettiği bilinmektedir (Tang ve Zheng, 2018). Aynı zamanda hücre duvarı ve zardaki proteinlerle etkileşime girerek bakteriyel hücre duvarını bozmakta, elektron taşıma zincirini bozarak solunum sürecini ve hücre büyümesini engellemektedir. Ayrıca, ATP üretimi için gerekli sitoplazmik proteinleri etkisiz hale getirerek hücresel işlevleri bozmaktadır. İyonlar, ribozomal bileşenleri denatüre ederek ve ribozom alt biriminin tRNA'ya bağlanmasını engelleyerek protein sentezini de önlemektedir (Pareek ve ark., 2018). Cui ve arkadaşları (2012), transkriptomik ve proteomik yaklaşımlar kullanarak, AuNP'lerinin *E. coli*'ye karşı ATPaz işlevini engelleyerek ve ribozom alt biriminin tRNA'ya bağlanmasını inhibe ederek zar potansiyelini çökerttiğini ve ATP seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir.

1.1.1 Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel ve Antifungal Ajan Olarak Uygulamaları

Geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliği sebebiyle gümüş iyonu çok uzun yıllardan beri farklı alanlarda kullanılmaktadır. Bilindiği üzere bakır, çinko, titanyum, altın gibi diğer metal iyonları da antimikrobiyal niteliğe sahiptir ancak bu alanda yapılmış olan çalışmalar bakteri, virüs ve diğer ökaryotik mikroorganizmalar için en yüksek etkinliğe sahip olan iyonun gümüş olduğunu kanıtlamıştır (Beykaya ve Çağlar, 2016).

AgNP'ler, toplu metali öğütürerek "yukarıdan aşağıya" yöntemi gibi fiziksel yöntemlerle, "aşağıdan yukarıya" yöntemi gibi kimyasal yöntemlerle ve biyolojik yöntemlerle sentezlenebilmektedir. AgNP'lerin sentezi için çoğunlukla indirgeme, elektrokimyasal işlemler ve ultrasonik dalgalarla ayırıştırma gibi kimyasal yöntemler kullanılır (Prabhu ve Poulouse, 2012; Swamy ve ark., 2015). Biyolojik yöntemlerde, *Pseudomonas stutzeri*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli* gibi bakteriler, *Aspergillus fumigatus* ve *Fusarium solani* gibi mantarlar ve *Aloe vera* ve *Piper betle* yaprağı gibi bitkiler NP'leri sentezlemek için uygundur ve mikroorganizmalardan elde edilen enzimler oksidasyon veya indirgeme tepkimelerinde kullanılmaktadır (Bhainsa ve D'Souza, 2006; El-Shanshoury ve ark., 2011).

Ag dört farklı iyonik formda bulunur ve bunlardan Ag^+ çözücülerde daha serbest halde kalabilirken, Ag^{+3} ve Ag^{+2} daha kararsız yapıdadır. Nanometre boyutundaki partiküllerde yüzey alanı arttığından antimikrobiyal etkileşimin de arttığı düşünülmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2016). Büyük yüzey-hacim oranı nedeniyle AgNP'lerin, Ag^{+} ya kıyasla bakteri hücrelerine kolayca nüfuz ederek tamamen yok olduğu gözlemlenmiştir (Ramalingam ve ark., 2016). NP'lerden salınan Ag^+ iyonları, bakteri hücre yüzeyinin kükürt içeren proteinleriyle ve reaktif oksijen türleri üretimi yoluyla hücre ölümünü yönlendiren nükleik asitlerin fosfat gruplarıyla reaksiyona girmektedir (Reidy ve ark., 2013). Çapı ≤ 10 nm olan AgNP'ler, hücre duvarında gözenek oluşumu yoluyla mikroorganizmanın ölümüne neden olmaktadır (Keat ve ark., 2015).

AgNP'ler bakteri ve mantarlarda DNA ve elektron taşıma zincirinin replikasyonunu inhibe ederek antimikrobiyal aktivite göstermekte ve Ag, bakteri hücre duvarı enzimlerindeki sülfidril (tiyol) gruplarıyla bağlanmaktadır. AgNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi, çok sayıda aktif Ag^+ iyonunun üretimine ve bunların bakteri hücre duvarı ile etkileşimine bağlıdır (Franci ve ark., 2015). AgNP'ler ayrıca hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin üretimi yoluyla antimikrobiyal aktivite de göstermektedir (Prabhu ve Poulouse, 2012). Mukherjee ve arkadaşları (2011) yaptıkları bir çalışmada, *Olex scandens* yaprağından üretilen AgNP'lerle ilaç dağıtımının, biyoyumluluk ve görüntüleme, hızlandırıcı gibi özellikler yönünden kimyasal şekilde elde edilen NP'lere göre daha güçlü olduğu sonucuna varmışlardır. Aynı zamanda bu çalışmada partiküllerin ebat ve biçimlerinin sonuçlarla bağlantılı olduğu da gösterilmiştir.

Naqhi ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları bir çalışmada AgNP'ler penisilin G, amoksisilin, eritromisin, vankomisin ve klindamisin gibi antibiyotiklerin *S. aureus*, *E. coli* ve çoklu ilaç direnci gösteren bakterilere karşı antimikrobiyal etkilerini arttırdığı gösterilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi polietileniminler, kitosan ve glukozamin gibi bileşiklerle kombinasyon halinde arttırılmıştır (Azevedo ve ark., 2014). Kitosan/ TiO_2 /Ag'nin nanokompozisyonu, bakteriyel yapışmayı engelleyen reaktif oksijen türleri ve laktat dehidrogenaz üretimi yoluyla antibakteriyel aktivite göstermiştir (Natarajan ve ark., 2016). El-Nahrawy ve arkadaşlarının (2016) yaptıkları çalışmada Kitosan/Ag'nin nanokompozisyonu *Salmonella sp.*'nin büyümesini, Ag^+ ile katkılanmış Kitosan/kalsiyum silikatın

nanokompozisyonu *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'nın büyümesini durdurmuş ve lipolik asitle kaplanmış AgNP'ler *S. epidermidis* ve *S. mutans* tarafından biyofilm oluşumunun büyümesini engellemiştir. Birla ve arkadaşları (2009) yaptığı çalışmada AgNP'lerin *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* gibi gıda kaynaklı bakterilere karşı antibakteriyel etkisinden bahsetmiştir. Zarei ve arkadaşları (2014) AgNP'lerin *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *V. parahaemolyticus* ve *E. coli* gibi gıda kaynaklı patojenik mikroplara karşı antibakteriyel etkisini bildirmiştir. Bera ve arkadaşları ise (2014) daha küçük AgNP'lerin bakteri hücre duvarına nüfuz ettiğini ve *S. epidermidis* ve *B. megaterium* gibi gram pozitif bakterilere ve *P. aeruginosa* gibi gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteyi artırdığını rapor etmiştir.

1.1.2. Magnezyum Oksit ve Kalsiyum Oksit Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Magnezyum oksit nanopartikülleri (MgONP) ROS üretimi, bakteri hücre duvarının lipid peroksidasyonu, bakteri hücre yüzeyiyle elektrostatik etkileşimler ve bakteri hücresinin ölümünü sağlayan alkali etkiler yoluyla antibakteriyel aktivite göstermektedir (Huang ve ark., 2005; Jin ve He, 2011). Das ve arkadaşları (2018), *Staphylococcus aureus*'a karşı bir antibakteriyel ajan olarak *Bauhinia purpurea* özütü kullanarak MgONP'leri sentezlemiş ve MgONP'lerin antibakteriyel aktivitesi, floresan mikroskopu ve FE-SEM ile koloni oluşturan birim analizi yoluyla test edilmiştir. Sonuçlar, üretilen MgONP'lerinin küçük bir dozda (250 µg/mL) *S. aureus*'a karşı bir antibakteriyel ajan olarak yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Sawai ve arkadaşları (2000) yaptığı çalışmada, MgONP'lerinin yüzeyindeki süperoksidin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı inhibitör aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Jin ve He (2011), MgONP'lerinin niasin ile birlikte gıda güvenliğinde antibakteriyel madde olarak kullanılabileceğini rapor ederken, Yamamoto ve arkadaşları (2010), kalsiyum oksit NP'lerinin (CaONP) ise *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus* ve *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivitesini bildirmişlerdir.

1.1.3. Silika Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Büyük yüzey alanı, işlevselleştirme kolaylığı ve biyoyumluluk gibi önemli avantajlara sahip olan silika NP'ler (SiO_2NP), ilaç dağıtım uygulamalarında en sık kullanılan NP'lerden biridir. Yapılan çalışmalarla SiO_2NP 'lerin birçok biyomedikal uygulama, özellikle kanser ve antimikrobiyal tedaviler için kazançlı bir seçenek olduğu kanıtlanmıştır. SiO_2NP 'lerin çok yönlülüğü, antimikrobiyal direncin artan zorluğu göz önüne alındığında, biyofilm tedavisi de dahil olmak üzere antimikrobiyal tedaviler için özellikle avantajlıdır (Selvarajan ve ark., 2020).

Cousins ve arkadaşları (2007) yaptığı çalışmada SiO_2NP 'lerinin oral biyofilm oluşumunu engellediğini bildirmiştir. Cu/SiO_2 'nin nanokompozisyonu, *S. aureus*, *E. coli*, *E. cloacae*, *C. albicans* ve *P. citrinum*'a karşı bakterisidal aktivite göstermiştir (Kim ve ark., 2006). Ag/SiO_2 'nin nanokompozisyonu, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae*, *C. albicans*, *A. niger* ve *P. citrinum*'a karşı hem bakterisidal hem de antifungal aktivite göstermiştir (Kim ve ark., 2007). SiO_2NP 'leri, hücre farklılaşmasını, yapışmasını ve bakterilerin yayılmasını engellemektedir. Ag-konjuge Si nanotellerinin biyoyumlu olduğu bildirilirken, Cu-konjuge Si nanotellerinin yüksek sitotoksosite gösterdiği rapor edilmiştir (Mohammadi ve ark., 2011).

1.1.4. Titanyum Dioksit Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

ZnO , MgO , CuO ve Fe_2O_3 gibi diğer metal oksit yarı iletkenler arasında titanyum dioksit NP'leri (TiO_2NP), bolluğu, düşük maliyeti, yüksek yüzey alan-hacim oranı, toksik olmaması ve benzersiz fiziko-kimyasal özellikleri nedeniyle biyolojik ve çevresel iyileştirme uygulamalarında tercih edilen malzeme olarak kabul edilir. Ayrıca benzersiz bir fotokatalitik aktiviteye ve kimyasallara karşı iyi termal kararlılığa ve biyoyumluluğa sahiptir (Barreca ve ark., 2010). TiO_2NP 'lerinin antibakteriyel aktivitesinin, parçacıkların fotokatalitik aktivitesini önemli ölçüde etkileyen yüzey kusurlarının bolluğu gibi boyutlarından, şekillerinden ve yüzey kimyasından büyük ölçüde etkilendiği iyi bilinmektedir (Pan ve ark., 2009).

Toksik olmayan ve kimyasal olarak kararlı TiO_2NP 'leri bakteri hücre yüzeyinin fosfolipidleriyle etkileşime giren reaktif oksijen türleri üretimi yoluyla *E. coli*, *S. aureus* ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Rudramurthy ve ark., 2016). Bakteriyel endosporlar, mantar sporları ve protozoan kistleri, vejetatif formlara kıyasla kalın hücre duvarına sahiptir. TiO_2 'nin fotokatalitik özellikleri, TiO_2 yüzeyine adsorbe edilen organik bileşiklerin/hücrelerin oksidasyonu yoluyla mikroorganizmaların hücre ölümünü indükleyen oldukça reaktif hidroksil radikalleri ve süperoksit iyonları üretir. TiO_2 'nin fotokatalitik etkinliği ve antibakteriyel aktiviteleri, TiO_2 yüzeyinin metal veya yarı iletkenle modifiye edilmesi, TiO_2 yüzey alanının artırılması ve gözenek boyutu dağılımları ile artmaktadır (Khezerlou ve ark., 2018).

1.1.5. Çinko Oksit Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Son yıllarda güçlü antibakteriyel ajanlar üretme çabasıyla MNP'lerinin antibakteriyel aktivitesine olan ilgi giderek artmaktadır. Yeşil sentezlenen NP'leri kapsülleyen fitokimyasal bileşiklerin varlığı, bunların bakteri hücre duvarının yüzeyindeki reseptörlerle etkileşimini artırır ve antibakteriyel etkilerini iyileştirir. Yeşil sentezlenen ZnONP'leri, çok çeşitli patojenik bakterilere karşı güçlü bir bakterisidal etki gösterir. Biyouyumlulukları, düşük toksisiteleri ve yüksek özgül yüzey alanları nedeniyle ZnONP'ler gıda paketlenme, kozmetik ve mahsul hastalık kontrolü gibi birçok endüstride bakteri büyümesini önlemek için kullanılmaktadır (Huang ve ark., 2020).

Yapılan çalışmalarda, ZnONP'lerin, hidrojen peroksit, Zn^{2+} iyonları ve OH^- gibi oldukça reaktif oksijen türlerinin üretimi yoluyla *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Bu türler bakteri hücre zarı bütünlüğünün bozulması yoluyla bakteri hücrelerine nüfuz edebilir ve bakteri genlerinin transkripsiyonunu inhibe eder. Aynı zamanda araştırmalar ZnONP'lerin antibakteriyel aktivitesinin konsantrasyona ve boyuta bağlı olduğunu da bildirmişlerdir (Liu ve ark., 2009; Tayel ve ark., 2011). Sun ve arkadaşları (2014), titanyum katkılı ZnO tozlarının *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel özelliklerini bildirmiş ve ZnONP'ler gıda güvenliğinde *C. albicans* enfeksiyonlarına karşı kullanılmıştır. ZnONP'ler aynı zamanda tarım

ve gıda işleme endüstrisinde *Botrytis cinerea* ve *P. expansum* gibi patojenik mantarlara karşı da kullanılmıştır (He ve ark., 2011).

1.1.6. Demir Oksit Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Demir oksit NP'lerinin ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NP}$) singlet oksijen, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit, süperoksit radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin üretimi yoluyla *S.aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *Xanthomonas sp.* ve *P. vulgaris* dahil olmak üzere çeşitli bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bilinmektedir (Behera ve ark., 2012). Gudkov ve arkadaşları (2021), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{NP}$ 'lerinin antibakteriyel aktivitesinin sentez yöntemleri ve boyutlarının değiştirilmesiyle etkilenebileceğini bildirmiş ve reaktif oksijen türlerinin oluşumu, elektrostatik etkileşim, hücre zarının bozulması ve serbest radikalleri indükleyerek DNA ve protein moleküllerinin parçalanması gibi çeşitli bakteriyostatik mekanizmaları tartışmıştır.

1.1.7 Altın Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Biyolojik olarak inert altın nanopartiküllerinin (AuNP) boyutu 0.8-250 nm aralığında olup bu NP'lerin boyutu ve dağılılabirliği antibakteriyel etkinlikleri bakımından önemlidir. Genel olarak, 2-15 nm çapındaki daha küçük AuNP'leri doku immünolojisi, biyokimya ve yüksek güçlü mikroskopide daha çok kullanılırken, çevresel testlerde, DNA testlerinde ve ilaç dağıtımında çoğunlukla 20-60 nm çapında olan orta büyüklükteki AuNP'ler tercih edilmektedir. 80-250 nm çapındaki daha büyük AuNP'ler ise tıbbi, elektriksel ve X-ışını optiklerinde kullanılmaktadır (Shah ve ark., 2015). Yapılan bir çalışmada spesifik antikorlarla konjuge edilmiş AuNP'ler *S. aureus*'u öldürmek için kullanılmıştır (Zharov ve ark., 2006). Normal antibiyotiklerle karşılaştırıldığında, AuNP'ler kolayca ilaç direnci üretmezler (Zhao ve ark., 2018) çünkü bakterilerdeki çeşitli molekülleri (DNA ve protein) hedef alırlar ve bu da bakterilerin tüm hasarlara karşı savunma sağlayabilecek bir sistem kurmasını zorlaştırır (Gu ve ark., 2020).

AuNP'ler aynı zamanda hücre ölümü ve transkripsiyon yoluyla bakteri büyümesini engellemektedir (Rai ve ark., 2010). Yapılan bir çalışmada

AuNP'lerin *E. coli*, *E. cloacae* kompleksi, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *S. aureus*-MRSA gibi çoklu ilaca dirençli üropatojenlerin büyümesini 8-32 nm konsantrasyonlarda önlediği bildirilmiştir (Li ve ark., 2014). *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus*, yalnızca antibiyotiklere kıyasla gentamisin, siprofloksasin, rifampisin ve vankomisin ile konjuge edilmiş AuNP'ler tarafından inhibe edilmiştir (Roshmi ve ark., 2015). AuNP'ler, ATP seviyesinin azaltılması, bakteriyel membran potansiyelinin değiştirilmesi ve tRNA'nın ribozoma bağlanmasını bloke ederek antibakteriyel aktivite de göstermektedir (Cui ve ark., 2012). AuNP'lerin antibakteriyel spektrumu oldukça geniş olup hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel yetenek gösterdikleri rapor edilmiştir (Slavin ve ark., 2017).

1.1.8. Bakır Oksit Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

MNP'ler hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel özelliklere sahiptir. Bu durum, biyolojik makromoleküllere bağlanma yeteneklerine atfedilir, bu da onları etkisizleştirir ve bakteri, virüs ve mantarların ölümüne yol açar (Naseem ve ark., 2021; Pachaiappan ve ark., 2021). MNP'ler arasında bakır oksit NP'ler (CuONP), elektrokimyasal, katalitik, fotokatalitik ve antibakteriyel özelliklere sahip bir “p tipi” yarı iletken olup (Fardood ve Ramazani, 2018; Lenef ve ark., 2021) düşük konsantrasyonlarda bile, geniş bir patojen yelpazesine karşı önemli bir antimikrobiyal etkiye sahiptir.

Bir dizi çalışma, klasik kimyasal yöntemle kıyasla “yeşil yol” ile sentezlenen CuONP'lerinin daha belirgin bir antibakteriyel etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Örneğin, Sabeena ve arkadaşları (2022), *Salacia reticulate* özütü kullanılarak sentezlenen CuONP'lerin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter sp.*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı daha belirgin bir antibakteriyel etkiye sahip olduğunu ve ayrıca NaOH ile kimyasal çökeltme yoluyla elde edilen CuONP'lerinin kullanımına kıyasla MCF-7 kanser hücrelerine karşı daha belirgin bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmalarda CuONP'lerin, *B. subtilis* ve *S. aureus* gibi gram pozitif bakterilere ve *E. coli* gibi gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği saptanmıştır (Ruparelia ve ark., 2008; Chatterjee ve ark., 2012). CuONP'lerinin antibakteriyel aktivitesi,

NP'lerin bakteri hücre duvarlarına yapışmasına bağlıdır ve ROS, bakterilerde DNA ve membran hasarına neden olmaktadır (Raffi ve ark., 2010). Yine Khashan ve arkadaşları (2016) CuONP'lerinin *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* ve *S. aureus*'a karşı inhibitör aktivite ve flukonazol ile kombinasyon halinde *C. albicans*'a karşı antifungal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

1.1.9. Alüminyum Oksit Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Alüminyum oksit NP'leri (Al_2O_3NP) geniş bir sıcaklık aralığında termodinamik olarak kararlı partiküller olup bu NP'lerin endüstriye hızlı bir şekilde giriş yapmasıyla, potansiyel maruziyetleri de önemli ölçüde artmıştır. Bu NP'ler, altıgen alanların üçte ikisini dolduran alümina iyonlarıyla altıgen sıkı paketlemeyi benimseyen oksijen atomlarına sahip korindon benzeri bir yapıya sahip olan partiküllerdir (Mukherjee ve ark., 2011). Bala ve arkadaşlarının (2011) yaptığı bir çalışmada oksitlerin yüzeyi oleik asitle modifiye edilmiş basit, tekrarlanabilir, ıslak kimyasal bir yöntemle alümina-gümüş kompozit NP'leri sentezlenmiştir. *E. coli DH5a* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı disk difüzyon deneyleri kullanılarak gerçekleştirilen ön antibakteriyel çalışmalar, kompozit nanomalzemelerin antimikrobiyal ajanlar olarak muazzam bir potansiyele sahip olduğu öne sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda Al_2O_3NP 'lerin ROS'un neden olduğu bakteri hücre duvarlarının bozulması yoluyla *B. subtilis*, *E. coli* ve *P. fluorescens*'e karşı en yüksek toksisiteyi gösterdiği bildirilmiştir (Mukherjee ve ark., 2011; Ansari ve ark., 2014).

1.1.10. Bizmut Nanopartiküllerinin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Bizmut NP'leri (BiNP), potansiyel terapötik uygulamaları nedeniyle yaygın olarak kullanılan sayısız metal NP'ler arasında yer almaktadır. Çeşitli çalışmalar, BiNP'lerinin olağanüstü antibakteriyel, antibiyofilm, antikanser ve antioksidan etkilerdeki yüksek potansiyellerini göstermiş olup bu potansiyellerin birçok hastalığın tedavisindeki zorlukları ele almak için kullanılabileceği rapor edilmiştir (Dousari ve ark., 2024). Vaquez-Munoz ve arkadaşlarının (2020) yaptığı çalışmada BiNP hem planktonik hem de biyofilm

oluşumu aşamalarında bakteri *S. aureus* ve maya *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir ve BiNP'lerin antimikrobiyal aktivitesi ticari olarak temin edilebilen antibiyotiklere paralel olduğu ve ayrıca AgNP'lerinin gücüne benzer olduğu belirtilmiştir. Mikroskopi analizi, BiNP'lerin biyofilm oluşumunu azalttığını ve hem *S. aureus* hem de *C. albicans*'da hücre morfolojisini olumsuz yönde değiştirdiğini ortaya koymaktadır. Hernandez-Delgadillo ve arkadaşları (2012), BiNP'lerinin <1 mM konsantrasyonda antibakteriyel aktivite ve 2 mM konsantrasyonda antifungal aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Araştırmacılar yine BiNP'lerin Krebs döngüsünü ve amino asit ve nükleotid metabolizmasını değiştirerek *Helicobacter pylori*'nin büyümesini önlediğini rapor etmiştir.

1.1.11. Karbon Tabanlı Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Karbon bazlı NP'ler yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği de yapılan literatür taramalarında bildirilmiştir. İlk çalışmalar, fullerenerin, tek duvarlı karbon nanotüplerinin ve grafen oksit NP'lerinin güçlü mikrosidal özellikler gösterdiğini bildirmiştir. Bu yeni allotropik karbon tipleri son yirmi yılda keşfedilmiş ve o zamandan beri birçok bilim alanında kullanılmıştır (Sokolov ve Stankevich, 1993; Cataldo ve ark., 2008).

Fiziksel olarak, karbon bazlı NP'ler bir mikroorganizmanın hücre duvarında ve zarında önemli yapısal hasarlara neden olabilmektedir. Ek olarak, hücreyi mikroçevreden biyolojik olarak izole etme yeteneğine sahiptirler, bu da nihayetinde reaktif oksijen türleri gibi toksik maddelerin üretimine yol açar ve hücreyi oksidatif strese maruz bırakarak biyolojik ölümüne neden olur (Kang ve ark., 2008; Al-jumaili ve ark., 2017). Karbon bazlı NP'ler oksidatif stres yoluyla bakteri zarının bozulmasına sebep olmaktadır ve yapılan bir çalışmada tek duvarlı karbon nanotüpler (SWNT'ler) ve çok duvarlı karbon nanotüpler (MWNT'ler) hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı bakterisidal aktivite göstermiştir. Bu NP'ler *S. enterica*, *E. coli*, *E. faecium*, *Salmonella sp.*, *Streptococcus spp.* ve *Shewanella oneidensis*'e karşı inhibe edici aktivite göstermiştir. (Leid ve ark., 2012).

Karbon bazlı NP'lerin antibiyotiklerden farklı etki mekanizmalarına sahip olması ve antibakteriyel direnç kazanmış bakterilere karşı da dahil olmak üzere farklı aktivite göstermesi dikkat çekicidir (Kandi ve ark., 2015; Wang ve

ark., 2017). İlaçlar, kapsülleme ve elektrostatik, hidrofobik, p-p etkileşimleri ve hidrojen bağı yoluyla kimyasal adsorpsiyon yoluyla karbon nanotaşıyıcılara immobilize edilir. Kapsülleme, ilacı bozunmaya karşı koruduğu ve ilacı hedef hücrelere taşıdığı için daha avantajlıdır (Wilczewska ve ark., 2012).

1.1.12. Organik Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

Genellikle beyaz ve kristal toz halinde olan ve suda çok çözünür veya dağılabilir olan kuaterner amonyum bileşikler (QAC'ler), geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahiptir ve genellikle işlenmiş yüzeylerdeki uzun ömürlü kalıntıları nedeniyle genişletilmiş biyolojik aktivite gösterirler (McBain ve ark., 2008). QAC'ler, orta konsantrasyonlarda hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı iyi antibakteriyel aktiviteye ve ayrıca virüslere, mantarlara ve algelere karşı orta düzeyde etkinliğe sahiptir (Kawabata ve ark., 1998; Beyth ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalarda setrimonyum klorür, benzalkonyum klorür ve stealkonyum klorür gibi kuaterner amonyum bileşikler (QAC), anyonik bakteri zarı ile katyonik QAC arasındaki iyonik etkileşim yoluyla antimikrobiyal aktivite göstermiştir. QAC'nin hidrofobik kuyruğu, hidrofobik zarla etkileşimi yoluyla bakteri zarının yapısal proteinlerini ve enzimlerini denatüre etmiştir. N-alkile edilmiş polietilenimin (PEI) ile konjuge edilmiş nanometre ölçekli malzemeler, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı inhibitör aktivite göstermiştir. *S. aureus* ve *E. coli*'nin büyümesi, sırasıyla 80 g/mL ve 320 g/mL konsantrasyonda QAC-PEI bazlı NP'ler tarafından inhibe edilmiştir (Yudovin-Farber ve ark., 2010; Xue ve ark., 2015).

1.1.13. Çevre Dostu Yeşil Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Ajan Olarak Kullanımı

NP'lerin yeşil sentezinin kullanımı, çevre dostu olması, toksik olmaması ve yüksek kararlılığı nedeniyle birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Bakteriler, mantarlar, mayalar, aktinomisetler, virüsler, deniz yosunları ve bitkiler gibi organizmaların hücre içi veya hücre dışı olarak metal NP'ler oluşturma konusunda doğal bir potansiyele sahip olduğu bulunmuş ve NP'lerin yeşil sentezi için uygulanabilir biyofabrikalar olarak kabul edilmiştir ve yine

yeşil sentez yoluyla elde edilen NP'lerin de antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilirliği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Jadhav ve arkadaşlarının (2022) yaptığı çalışmada, *Moringa oleifera* yaprak tozu sulu özütünden sentezlenen CaONP'leri, sabit miktarda CaONP kullanıldığında çeşitli konsantrasyonlarda 19, 20, 22, 23 ve 24 mm'lik şiddetli inhibisyon alanlarıyla gram pozitif bakteri suşlarında ümit verici sonuçlar sergilemiştir. *Rosmarinus officinalis* yaprak özütünden sentezlenen AgNP'ler *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı inhibitör aktivite göstermiştir (Ghaedi ve ark., 2015). Behzadi ve arkadaşlarının (2022) yaptığı çalışmada, *Dracocephalum moldavica* yaprak özütü kullanılarak sentezlenen AgNP'leri, *Escherichia coli*'ye karşı inhibitör aktivite göstermiştir. *Ficus benghalensis* ve *Acalypha indica*'dan sentezlenen AgNP'ler *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *Vibrio cholerae*'nin büyümesini engellemiştir (Nayak ve ark., 2016). *Skimmia laureola* yaprak özütü, *Delphinium denudatum* kök özütü ve *Rosa chinensis* çiçek özütü ile sentezlenen AgNP'lerin antibakteriyel aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Nazir ve arkadaşlarının (2021) yaptığı çalışmada, *Eriobotrya japonica* yaprak özütünden sentezlenen ZnONP'lerinin, *E. coli*, *S. aureus*, *P. multocida*, *B. subtilis* suşlarına karşı oldukça aktif olduğu saptanmıştır.

2. NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK SİSTEMLERDE UYUMLULUĞU

NP'lerin sitotoksitesi, hemokompatibilitesi, histokompatibilitesi ve nörotoksitesi gen iletimi, ilaç iletimi veya biyosensör olarak kullanılmadan önce inceleme aşamasından geçmektedir. NP'lerin biyolojik uyumluluğu onların boyutuna, yapısına ve yüzey özelliklerine bağlı olarak değişkenlik göstermekte olup genel olarak, boyut ne kadar küçükse, sitotoksik etki de o kadar yüksektir (Steckiewicz ve ark., 2019).

Zhang ve arkadaşlarının (2011) yaptıkları bir çalışmada farelerde polietilenglikol (PEG) kaplı AuNP'lerin boyuta bağlı sitotoksite çalışması gerçekleştirilmiş ve bu çalışmada; 10 ila 60 nm arasında değişen boyutlardaki partiküller, hücre şeklinin değişmesi ve çoğalmasının inhibisyonu veya DNA'da mutasyon gibi olumsuz bir etki gösterirken, 5 ila 30 nm arasında değişen boyutlardaki partiküllerde hiçbir toksite görülmemiştir. Aslında, 10-60 nm partiküllerle tedavi edilen farelerde, alanin transaminaz ve aspartat

transaminaz seviyeleri önemli ölçüde artmış ve bu da AuNP'ler tarafından karaciğer ve böbrek hasarına işaret etmiştir.

Polimerik NP'ler çoğunlukla biyouyumludur, yüzeyleri değiştirilebilir ve sürekli ilaç salınımı yapabilirler. Bu spesifik özelliklerinden dolayı astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), tüberküloz (TB) ve akciğer kanseri gibi çeşitli akciğer rahatsızlıklarının ve diyabet gibi akciğer dışı rahatsızlıkların tedavisinde uygulama potansiyeli gösterirler (Rink ve ark., 2010; Sosnik ve ark., 2010). Son zamanlarda, silika NP'lerinin kullanımı biyomedikal ve biyoteknolojik alanlara, örneğin sıçan striatumunda glikoz, laktat, l-glutamat ve hipoksantin seviyelerinin eş zamanlı ölçümü için biyosensörler, optik mikroskopi görüntüleme, kanser tedavisi, DNA iletimi, ilaç iletimi ve enzim immobilizasyonu kullanılarak lösemi hücresi tanımlaması için biyobelirteçler gibi alanlara genişletilmiştir. Silika NP'lerinin orta dozlarda uygulandığında düşük toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir (Yang ve ark., 2009). AuNP'lerinin AgNP'lere kıyasla RAW264.7 hücreleri için daha az toksik olduğu belirtilmiştir (Hashimoto ve ark., 2014).

3. METAL NANOPARTİKÜLLERİNİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİ KONTROL EDEN FAKTÖRLER

NP'lerin boyutu, yükü, zeta potansiyeli, yüzey morfolojisi ve kristal yapısı, NP'lerin bakteri hücreleri üzerindeki antibakteriyel etkisini kontrol eden faktörler arasında sayılabilir. NP'lerin fizikokimyasal özelliklerinin yanı sıra, bakteri suşu ve maruz kalma süresi de, NP'lerin antibakteriyel etkilerini belirlemede önemli faktörlerdir (Wang ve ark., 2017). Büyük yüzey alanlarına sahip daha küçük NP'lerin, daha büyük NP'lere kıyasla bakteri hücre zarına nüfuz etme olasılığı daha yüksektir (Gurunathan ve ark., 2014). Yapılan araştırmalarda farklı NP şekillerinin, bakteri hücrelerinde farklı derecelerde hasar gösterdiği saptanmıştır (Cha ve ark., 2015). Küp şeklindeki AgNP'ler, küre şeklindeki ve tel şeklindeki AgNP'lere kıyasla daha güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir (Actis ve ark., 2015). Pürüzlü yüzeyli NP'lerin, bakteri yapışmasını azaltan bakteri proteinlerinin adsorpsiyonunu artırdığı rapor edilmiştir (Sukhorukova ve ark., 2015).

Geçiş metali nanoparçacıklarının bakterisid aktivitesi, birçok farklı özelliğe bağlanabilir; bunların en önemlileri ROS üretme yetenekleri ve R-SH gruplarıyla yakın bir şekilde bağlanma eğilimleridir. Yüksek atom

numaralarına sahip geçiş metallerinin ağır metal iyonları (örneğin, Ag^+ veya Hg^{2+}), sistin gibi SH gruplarına kolayca bağlanabilir. Bu durum, belirli enzimlerin işlevini doğrudan bozabilir veya katlanmış proteinlerin bütünlüğünü korumak için gerekli olan S-S bağlarını kırabilir ve hücrenin metabolizması ve fizyolojisi üzerinde zararlı etkiler yaratabilir. ROS üretimi ise bakteri hücreleri için özellikle yıkıcıdır (Slavin ve ark., 2017).

Birçok geçiş metali hidroksilasyon, redoks reaksiyonları ve elektron taşınması gibi önemli biyolojik işlevler gerçekleştirir (Siegbahn ve Blomberg, 2000). Bu metaller küçük miktarlarda gerekli olsa da, daha yüksek konsantrasyonlarda çok toksik hale gelirler. Genel olarak, metal katyon hücre içi işlev için gereklidir ve hücreye taşınması gerekir. Ancak oluşan NP nötr metaldir ve muhtemelen hücre zarını geçemez. Ancak metal NP'lerin hücrenin içinden zarları geçebilen ve hücresel süreçleri bozabilen metal iyonlarını yavaşça serbest bıraktığı bilinmektedir (Kittler ve ark., 2010). Pozitif yüklü NP'ler, negatif yüklü NP'lere kıyasla negatif yüklü bakteri hücre zarına karşı daha fazla elektrostatik çekim gösterirler. Pozitif yüklü NP'ler, negatif yüklü ve nötr NP'lere kıyasla daha fazla reaktif oksijen türleri salarlar (Arakha ve ark., 2015).

4. İLAÇ TAŞIMADA KULLANILAN NANOPARTİKÜLLER

Son dönemde polimer bazlı miseller, lipozomlar ve dendrimerler gibi organik nanotaşıyıcılar ile karbon nanotüpler, altın nanoparçacıklar ve kuantum noktalar gibi inorganik nanoparçacıkların geliştirilmesi, ilaç taşıma uygulamalarında ana odak noktası olmuştur. Kitin, dekstran, heparin ve hiyalüronan gibi doğal polimerler ilaç taşıma için kullanılmaktadır (Elsabahy ve Wooley, 2012). Bunun yanı sıra polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA) ve poli(laktik-ko-glikolik) (PLGA) kopolimerleri gibi biyobozunur sentetik polimerik (biyo)malzemeler de ilaç taşıma için kullanılmaktadır (Tyler ve ark., 2016; Wang ve ark., 2018; Ding ve Zhu, 2018). Doksorubisin (DOX) ile konjuge edilmiş PLGA-PEG misel nanotaşıyıcılar, PEG-PLGA misellerinde fiziksel olarak inkorpore edilmiş DOX'a kıyasla DOX'un kontrollü salımını sağlamıştır (Yoo ve Park, 2001).

Lipozomlar, fosfolipitler ile steroidlerden (örneğin, kolesterol) oluşmuş bir yapıya sahip olup ilaç taşıyıcıları olarak ilk kez rapor edilmiştir. Katı lipid nanoparçacıkları (SLN), nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLC) ve lipid ilaç

konjugatları (LDC), ilaç taşıma sistemleri olarak kullanılmaktadır. SLN, ilaçları bozunmaya karşı korumakta ve kontrollü bir şekilde salınımını sağlamaktadır. Polimerik NP'ler (PNP'ler), poliakrilamid, albümin, DNA, kitin ve jelatin gibi malzemelerden sentezlenmektedir. PNP'ler biyobozunur (örneğin, poli(L-laktid) (PLA), poliglukolid (PGA)) ve biyobozunmaz (örneğin, poliüretan) olarak sınıflandırılabilir. Glikojen, amilopektin ve proteoglikan dendritik yapıya sahiptir. Poliamidoaminler, polipropileniminler, poli-L-lizinler ve karbosilanlar dendrimerlere örnek olarak verilebilir (Wilczewska et al. 2012).

Polimerik NP'lerin hazırlanması düşünüldüğünde, yüzey aktif maddelerin kullanımı bir gereklilik olabilir. Yüzey aktif maddeler, çözeltide kendi kendine bir araya gelebilen amfifilik organik moleküllerdir. En çok kullanılan yüzey aktif maddeler, hidrokarbon zinciri (hidrofobik kısım) ile iyonik bir fonksiyonel gruba bağlanmış yapıdadır (örneğin, benzalkonyum klorür veya tetrametilamonyum hidroksit gibi katyonik yüzey aktif maddeler veya docusate ya da sodyum laurat gibi anyonik yüzey aktif maddeler). Hidrofobik ve hidrofilik moleküllerin birleşimiyle amfifilik özellik kazanan iyonik olmayan yüzey aktif maddeler de bulunmaktadır (örneğin, etoksilatlanmış aminler, alkil ve nonil-fenol etoksilatlar) (Nakama, 2017).

Düşük moleküler ağırlıklı polimerler, özellikle blok kopolimerler (örneğin, Pluronic F127 veya Pluronic P123), yüzey aktif madde olarak da işlev görebilir (Zhao ve ark., 2019). Genel olarak, bu maddeler nanotaşıyıcı formülasyonlarına stabilizatör ajanlar olarak dahil edilir ve iyi yapılandırılmış bir nanosistem elde edilmesinde, nanoemülsiyon işlemleri sırasında dispersiyonu stabilize etmede önemli rol oynar. Stabilizatörlerin bazı avantajları, NP'lerin yüzey gerilimini azaltmak ve lipid yapılarla olan afinitesini artırmaktır (Belletti ve ark., 2016). Bazı yüzey aktif maddelerin ayrıca NP'lerin ortalama çapını önemli ölçüde azalttığı ve kriyoprotektan ajan olarak çift işlev gördüğü kanıtlanmıştır (Bonaccorso ve ark., 2018). Farmakokinetik ve biyodağılım çalışmaları, yüzey aktif madde ile modifiye edilmiş NP sistemlerinin kullanılması durumunda, ilacın vücutta tutulmasının ve hedef dokuya birikiminin arttığını, kan dolaşımında kalma süresinin uzadığını ve nefrotoksisite, hepatotoksisite, kardiyovasküler etkilerin azalmasıyla birlikte makrofajlar tarafından alımın azaldığını göstermiştir (Gao ve ark., 2016; Joseph ve ark., 2017).

İnsan ATP-bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcı süper ailesi tarafından aracılık edilen çoklu ilaç direnci (MDR), örneğin P-glikoprotein (P-gp/ABCB1), çoklu ilaç direnciyle ilişkili protein 2 (MRP2/ABCC2) ve meme kanseri direnci proteini (BCRP/ABCG2), birçok kemoterapötik ajana karşı etkinliğin önündeki ana engel olarak tanımlanmıştır (Chen ve ark., 2016). Yapılan çalışmalarda hem organik hem de inorganik NP'lerin çoklu ilaç direncini inhibe ettiği gösterilmiştir. Organik NP'lerin etkileri, yüzey aktif maddeler ve polimerler gibi çeşitli yardımcı maddelerden kaynaklanmaktadır (Yin ve ark., 2018).

Ayrıca ilaç yükleme kapasitesini artırmak için ilaçla lipid konjugasyonu geliştirilmiştir. Polimerik lipozomal NP'ler, yüksek enkapsülasyon verimliliği, serum stabilitesi ve düşük su çözünürlüğüne sahip ilaçların yükleme kapasitesi sunan lipozom ve polimerik NP kombinasyonlarıdır (Zhang ve ark., 2008). İtrakonazol yüklü katı lipid NP, mikonazol nitrat yüklü nano yapıllı lipid taşıyıcılar, itrakonazol yüklü nano yapıllı lipid taşıyıcılar ve ekonazol nitrat yüklü nano yapıllı lipid taşıyıcılar gibi birçok antifungal ajan tıpta kullanılmaktadır (Voltan ve ark., 2016). Polimerik NP'ler, kapsüllenmiş ilaçları gastrointestinal ortamın asidik pH'ında bozunmaya karşı korumada etkilidir (Pridgen ve ark., 2014). Polimerik NP'ler, nanokapsüller ve nano küreler olmak üzere iki türe ayrılır. Nanokapsüllerde ilaç, sulu veya yağlı bir boşluk içinde yer alırken, nano kürelerde ilaç fiziksel olarak matris içinde eşit şekilde dağılmıştır (des Rieux ve ark., 2006).

5. SONUÇ

Dünya genelindeki insanlar, bakteriler, mantarlar, virüsler, protozoalar ve parazitler de dahil olmak üzere patojenik mikroorganizmaların doğrudan veya dolaylı olarak neden olduğu diğer ölümcül hastalıkların yanı sıra çeşitli mikrobiyal enfeksiyonların zorluğuyla karşı karşıyadır. Umut vadeden tedaviler ve ilaçlar olmasına rağmen, sorunu başarıyla ortadan kaldırmanın zor olduğu görülmektedir. Antibiyotik direncinin artan vakaları nedeniyle antimikrobiyal ve antiviral ajanlar olarak doğal terapötik potansiyelleri için NP'lerin bilimsel araştırmaları son zamanlarda oldukça fazla ilgi görmüştür. Günümüzde NP'lerin viral ve mikrobiyal araştırmalarda taşıyıcı ajan veya geniş spektrumlu inhibisyon ajanları olarak terapötik uygulamaları artık göz ardı edilemez. NP'lerin sahip olduğu geniş yüzey alanı/hacim oranları, yük, çok sayıda antibiyotik veya diğer maddeleri iletme yeteneği, boyut ve şekil gibi

özellikleri onları birçok açıdan taşıyıcı ajanlar olarak vazgeçilmez bir madde haline getirmiştir.

NP'ler, günümüzde insan refahı için farklı alanlarda kullanılmakta ve uygun şekilde kullanıldığında farmasötik ve biyomedikal endüstrilerinde iyi bir vaat taşımaktadır. NP'ler, boyutlarına, şekillerine, yüklerine ve yüzey alanlarına göre farklı aktiviteler göstermektedir. Bu benzersiz özellikler, doğrudan patojenik mikroorganizmalarla ilişkili olabilecek farklı bulaşıcı hastalıklara karşı bile kullanılmaktadır. İncelenen son çalışmalardan, NP'lerin farklı mikrobiyal enfeksiyonlara karşı aktiviteye sahip olduğu açıktır. Küçük partikül boyutu ve yüklü yüzey, NP'lere patojenik hücrelere girmek, protein ve DNA gibi hücresel içeriklere müdahale etmek ve böylece programlanmış hücre ölümünü indüklemek için kolay bir yol sağlamıştır.

Ayrıca, son yıllarda nanoterapi ile birlikte antibiyotik tedavisi artık mikrobiyal direnci yenmek için metodolojik bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Ancak, seçicilik endeksi, verimlilik ve toksisite gibi bazı dezavantajlar daha fazla analiz edilmesi gereken önemli faktörlerdir. NP'lerin benimsediği etki mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır, bu da daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunun altını çizmektedir. Etkinliğin yanı sıra güvenliğin de değerlendirilmesi için daha çok ve etkili *in vivo* analizlere ihtiyaç vardır. Bazı NP'ler yüksek konsantrasyonlarda bir miktar toksisite gösterdikleri için uygulamaları sınırlı olsa da, iyi kullanılırlarsa yakın gelecekte biyomedikal bilimlerde potansiyel uygulamaları yaygınlaşacaktır. Bu nedenle, bu kitap bölümü ile NP'lerin çeşitli mikrobiyal enfeksiyonların yönetimindeki potansiyel uygulamalarını daha da belirlemek için daha fazla çalışma yapılması gerekliliği ortaya konulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Actis, L., Srinivasan, A., Lopez-Ribot, J. L., Ramasubramanian, A. K., & Ong, J. L. (2015). Effect of silver nanoparticle geometry on methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus*, and osteoblast viability. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26, 1-7.
- Al-Jumaili, A., Alancherry, S., Bazaka, K., & Jacob, M. V. (2017). Review on the antimicrobial properties of carbon nanostructures. *Materials*, 10(9), 1066.
- Arakha, M., Pal, S., Samantarrai, D., Panigrahi, T. K., Mallick, B. C., Pramanik, K., ... & Jha, S. (2015). Antimicrobial activity of iron oxide nanoparticle upon modulation of nanoparticle-bacteria interface. *Scientific reports*, 5(1), 14813.
- Azevedo, M. M., Ramalho, P., Silva, A. P., Teixeira-Santos, R., Pina-Vaz, C., & Rodrigues, A. G. (2014). Polyethyleneimine and polyethyleneimine-based nanoparticles: novel bacterial and yeast biofilm inhibitors. *Journal of medical microbiology*, 63(9), 1167-1173.
- Bala, T., Armstrong, G., Laffir, F., & Thornton, R. (2011). Titania–silver and alumina–silver composite nanoparticles: Novel, versatile synthesis, reaction mechanism and potential antimicrobial application. *Journal of colloid and interface science*, 356(2), 395-403.
- Barreca, F., Acacia, N., Barletta, E., Spadaro, D., Curro, G., & Neri, F. (2010). Small size TiO₂ nanoparticles prepared by laser ablation in water. *Applied Surface Science*, 256(21), 6408-6412.
- Bayroodi, E., & Jalal, R. (2016). Modulation of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* by ZnO nanoparticles. *Iranian journal of microbiology*, 8(2), 85.
- Behera, S. S., Patra, J. K., Pramanik, K., Panda, N., & Thatoi, H. (2012). Characterization and evaluation of antibacterial activities of chemically synthesized iron oxide nanoparticles.
- Behzadi, M., Jarollahi, S., Ahsani Irvani, M., & Ghanbari, D. (2022). Green synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using *dracocephalum moldavica* leaves extract. *Journal of Nanostructures*, 12(4), 1059-1066.

- Belletti, D., Grabrucker, A. M., Pederzoli, F., Menrath, I., Cappello, V., Vandelli, M. A., ... & Ruozi, B. (2016). Exploiting the versatility of cholesterol in nanoparticles formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 511(1), 331-340.
- Bera, R. K., Mandal, S. M., & Raj, C. R. (2014). Antimicrobial activity of fluorescent Ag nanoparticles. *Letters in applied microbiology*, 58(6), 520-526.
- Beykaya, M., & Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(3), 631-641.
- Beyth, N., Yudovin-Farber, I., Bahir, R., Domb, A. J., & Weiss, E. I. (2006). Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against *Streptococcus mutans*. *Biomaterials*, 27(21), 3995-4002.
- Birla, S. S., Tiwari, V. V., Gade, A. K., Ingle, A. P., Yadav, A. P., & Rai, M. K. (2009). Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Letters in Applied Microbiology*, 48(2), 173-179.
- Bonaccorso, A., Musumeci, T., Carbone, C., Vicari, L., Lauro, M. R., & Puglisi, G. (2018). Revisiting the role of sucrose in PLGA-PEG nanocarrier for potential intranasal delivery. *Pharmaceutical Development and Technology*, 23(3), 265-274.
- Cataldo, F., & Da Ros, T. (Eds.). (2008). *Medicinal chemistry and pharmacological potential of fullerenes and carbon nanotubes* (Vol. 1). Springer Science & Business Media.
- Cha, S. H., Hong, J., McGuffie, M., Yeom, B., VanEpps, J. S., & Kotov, N. A. (2015). Shape-dependent biomimetic inhibition of enzyme by nanoparticles and their antibacterial activity. *ACS nano*, 9(9), 9097-9105.
- Chatterjee, A. K., Sarkar, R. K., Chattopadhyay, A. P., Aich, P., Chakraborty, R., & Basu, T. (2012). A simple robust method for synthesis of metallic copper nanoparticles of high antibacterial potency against *E. coli*. *Nanotechnology*, 23(8), 085103.

- Chen, Z., Shi, T., Zhang, L., Zhu, P., Deng, M., Huang, C., ... & Li, J. (2016). Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family in multidrug resistance: A review of the past decade. *Cancer letters*, 370(1), 153-164.
- Cousins, B. G., Allison, H. E., Doherty, P. J., Edwards, C., Garvey, M. J., Martin, D. S., & Williams, R. L. (2007). Effects of a nanoparticulate silica substrate on cell attachment of *Candida albicans*. *Journal of applied microbiology*, 102(3), 757-765.
- Cui, Y., Zhao, Y., Tian, Y., Zhang, W., Lü, X., & Jiang, X. (2012). The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*. *Biomaterials*, 33(7), 2327-2333.
- Cui, Y., Zhao, Y., Tian, Y., Zhang, W., Lü, X., & Jiang, X. (2012). The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*. *Biomaterials*, 33(7), 2327-2333.
- Das, B., Moumita, S., Ghosh, S., Khan, M. I., Indira, D., Jayabalan, R., ... & Balasubramanian, P. (2018). Biosynthesis of magnesium oxide (MgO) nanoflakes by using leaf extract of *Bauhinia purpurea* and evaluation of its antibacterial property against *Staphylococcus aureus*. *Materials Science and Engineering: C*, 91, 436-444.
- des Rieux, A., Fievez, V., Garinot, M., Schneider, Y. J., & Préat, V. (2006). Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: a mechanistic approach. *Journal of controlled release*, 116(1), 1-27.
- Ding, D., & Zhu, Q. (2018). Recent advances of PLGA micro/nanoparticles for the delivery of biomacromolecular therapeutics. *Materials Science and Engineering: C*, 92, 1041-1060.
- Dizaj, S. M., Mennati, A., Jafari, S., Khezri, K., & Adibkia, K. (2015). Antimicrobial activity of carbon-based nanoparticles. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 5(1), 19.
- Dousari, A. S., Shakibaie, M., Adeli-Sardou, M., & Forootanfar, H. (2024). Biosynthesis and Properties of Bismuth Nanoparticles: A Review. *Biological Trace Element Research*, 1-18.
- Elsabahy, M., & Wooley, K. L. (2012). Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2545-2561.

- El-Shanshoury, A. E. R. R., ElSilk, S. E., & Ebeid, M. E. (2011). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, and *Streptococcus thermophilus* ESh1 and their antimicrobial activities. *International Scholarly Research Notices*, 2011(1), 385480.
- Espitia, P. J. P., Soares, N. D. F. F., Coimbra, J. S. D. R., de Andrade, N. J., Cruz, R. S., & Medeiros, E. A. A. (2012). Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. *Food and bioprocess technology*, 5, 1447-1464.
- Fardood, S. T., & Ramazani, A. (2018). Black tea extract mediated green synthesis of copper oxide nanoparticles. *Journal of Applied Chemical Research*, 12(2), 8-15.
- 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.
- Gao, W., Chen, Y., Thompson, D. H., Park, K., & Li, T. (2016). Impact of surfactant treatment of paclitaxel nanocrystals on biodistribution and tumor accumulation in tumor-bearing mice. *Journal of Controlled Release*, 237, 168-176.
- Gautham, M., Spicer, N., Chatterjee, S., & Goodman, C. (2021). What are the challenges for antibiotic stewardship at the community level? An analysis of the drivers of antibiotic provision by informal healthcare providers in rural India. *Social science & medicine*, 275, 113813.
- Ghaedi, M., Yousefinejad, M., Safarpour, M., Khafri, H. Z., & Purkait, M. K. (2015). *Rosmarinus officinalis* leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles and investigation of its antimicrobial properties. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 31, 167-172.
- 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.
- Gudkov, S. V., Burmistrov, D. E., Serov, D. A., Rebezov, M. B., Semenova, A. A., & Lisitsyn, A. B. (2021). Do iron oxide nanoparticles have significant antibacterial properties?. *Antibiotics*, 10(7), 884.

- Gupta, J., Irfan, M., Ramgir, N., Muthe, K. P., Debnath, A. K., Ansari, S., ... & Surjit, M. (2022). Antiviral activity of zinc oxide nanoparticles and tetrapods against the Hepatitis E and Hepatitis C viruses. *Frontiers in microbiology*, 13, 881595.
- Gurunathan, S., Han, J. W., Kwon, D. N., & Kim, J. H. (2014). Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Nanoscale research letters*, 9, 1-17.
- Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., de Aberasturi, D. J., de Larramendi, I. R., Rojo, T., ... & Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, 30(10), 499-511.
- Hammamchi, H. (2019). Biyolojik Yollar ile Sentezlenen Organik/İnorganik Nanopartiküllerin Biyoaktivitelerinin Belirlenmesi ve Tedavi Amaçlı Kullanımları.
- Hasanin, M., Elbahnasawy, M. A., Shehabeldine, A. M., & Hashem, A. H. (2021). Ecofriendly preparation of silver nanoparticles-based nanocomposite stabilized by polysaccharides with antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BioMetals*, 34, 1313-1328.
- Hashimoto, M., Toshima, H., Yonezawa, T., Kawai, K., Narushima, T., Kaga, M., & Endo, K. (2014). Responses of RAW264. 7 macrophages to water-dispersible gold and silver nanoparticles stabilized by metal-carbon σ -bonds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102(6), 1838-1849.
- He, L., Liu, Y., Mustapha, A., & Lin, M. (2011). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological research*, 166(3), 207-215.
- Hemeg, H. A. (2017). Nanomaterials for alternative antibacterial therapy. *International journal of nanomedicine*, 8211-8225.
- Hernández Delgadillo, R. (2015). *Actividad bactericida, antifúngica y antiviral de nanopartículas de bismuto contra patógenos orales* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Hernandez-Delgadillo, R., Velasco-Arias, D., Diaz, D., Arevalo-Niño, K., Garza-Enriquez, M., De la Garza-Ramos, M. A., & Cabral-Romero, C. (2012). Zerovalent bismuth nanoparticles inhibit *Streptococcus mutans*

- growth and formation of biofilm. *International journal of nanomedicine*, 2109-2113.
- Huang, L., Li, D. Q., Lin, Y. J., Wei, M., Evans, D. G., & Duan, X. (2005). Controllable preparation of Nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. *Journal of inorganic biochemistry*, 99(5), 986-993.
- Huang, W., Tao, F., Li, F., Mortimer, M., & Guo, L. H. (2020). Antibacterial nanomaterials for environmental and consumer product applications. *NanoImpact*, 20, 100268.
- Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current opinion in microbiology*, 51, 72-80.
- Jadhav, V., Bhagare, A., Wahab, S., Lokhande, D., Vaidya, C., Dhayagude, A., ... & Dutta, M. (2022). Green synthesized calcium oxide nanoparticles (CaO NPs) using leaves aqueous extract of moringa oleifera and evaluation of their antibacterial activities. *Journal of Nanomaterials*, 2022(1), 9047507.
- Jin, T., & He, Y. (2011). Antibacterial activities of magnesium oxide (MgO) nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Nanoparticle Research*, 13, 6877-6885.
- Joseph, E., & Saha, R. N. (2017). Investigations on pharmacokinetics and biodistribution of polymeric and solid lipid nanoparticulate systems of atypical antipsychotic drug: effect of material used and surface modification. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 43(4), 678-686.
- Kandi, V., & Kandi, S. (2015). Antimicrobial properties of nanomolecules: potential candidates as antibiotics in the era of multi-drug resistance. *Epidemiology and health*, 37.
- Kang, S., Herzberg, M., Rodrigues, D. F., & Elimelech, M. (2008). Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter!. *Langmuir*, 24(13), 6409-6413.
- Kawabata, N., & Nishiguchi, M. A. S. A. Y. U. K. I. (1988). Antibacterial activity of soluble pyridinium-type polymers. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(10), 2532-2535.

- Keat, C. L., Aziz, A., Eid, A. M., & Elmarzug, N. A. (2015). Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles. *Bioresources and Bioprocessing*, 2, 1-11.
- Khashan, K. S., Sulaiman, G. M., & Abdulameer, F. A. (2016). Synthesis and antibacterial activity of CuO nanoparticles suspension induced by laser ablation in liquid. *Arabian journal for science and Engineering*, 41, 301-310.
- Khezerlou, A., Alizadeh-Sani, M., Azizi-Lalabadi, M., & Ehsani, A. (2018). Nanoparticles and their antimicrobial properties against pathogens including bacteria, fungi, parasites and viruses. *Microbial pathogenesis*, 123, 505-526.
- Kim, Y. H., Lee, D. K., Cha, H. G., Kim, C. W., Kang, Y. C., & Kang, Y. S. (2006). Preparation and characterization of the antibacterial Cu nanoparticle formed on the surface of SiO₂ nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(49), 24923-24928.
- Kittler, S., Greulich, C., Diendorf, J., Koller, M., & Epple, M. (2010). Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions. *Chemistry of materials*, 22(16), 4548-4554.
- Lara, H. H., Ayala-Núñez, N. V., Ixtapan-Turrent, L., & Rodríguez-Padilla, C. (2010). Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *Journal of nanobiotechnology*, 8(1), 1-10.
- Leid, J. G., Ditto, A. J., Knapp, A., Shah, P. N., Wright, B. D., Blust, R., ... & Cope, E. K. (2012). In vitro antimicrobial studies of silver carbene complexes: activity of free and nanoparticle carbene formulations against clinical isolates of pathogenic bacteria. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 67(1), 138-148.
- Lenef, J. D., Jo, J., Trejo, O., Mandia, D. J., Peterson, R. L., & Dasgupta, N. P. (2021). Plasma-enhanced atomic layer deposition of p-type copper oxide semiconductors with tunable phase, oxidation state, and morphology. *The Journal of Physical Chemistry C*, 125(17), 9383-9390.
- Leung, Y. H., Xu, X., Ma, A. P., Liu, F., Ng, A. M., Shen, Z., ... & Leung, F. C. (2016). Toxicity of ZnO and TiO₂ to Escherichia coli cells. *Scientific reports*, 6(1), 35243.

- Li, X., Robinson, S. M., Gupta, A., Saha, K., Jiang, Z., Moyano, D. F. & Rotello, V. M. (2014). Functional gold nanoparticles as potent antimicrobial agents against multi-drug-resistant bacteria. *ACS nano*, 8(10), 10682-10686.
- Liu, Y. J., He, L. L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z. Q., & Lin, M. S. (2009). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of applied microbiology*, 107(4), 1193-1201.
- Lok, C. N., Ho, C. M., Chen, R., He, Q. Y., Yu, W. Y., Sun, H., ... & Che, C. M. (2006). Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *Journal of proteome research*, 5(4), 916-924.
- Makowski, M., Silva, Í. C., Pais do Amaral, C., Gonçalves, S., & Santos, N. C. (2019). Advances in lipid and metal nanoparticles for antimicrobial peptide delivery. *Pharmaceutics*, 11(11), 588.
- Malarkodi, C., Rajeshkumar, S., Paulkumar, K., Vanaja, M., Gnanajobitha, G., & Annadurai, G. (2014). Biosynthesis and antimicrobial activity of semiconductor nanoparticles against oral pathogens. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2014(1), 347167.
- McBain, A. J., Ledder, R. G., Moore, L. E., Catrenich, C. E., & Gilbert, P. (2004). Effects of quaternary-ammonium-based formulations on bacterial community dynamics and antimicrobial susceptibility. *Applied and environmental microbiology*, 70(6), 3449-3456.
- McCarthy, J. R., & Jaffer, F. A. (2011). The role of nanomedicine in the imaging and therapy of thrombosis. *Nanomedicine*, 6(8), 1291-1293.
- Mohammadi, G., Nokhodchi, A., Barzegar-Jalali, M., Lotfipour, F., Adibkia, K., Ehyaei, N., & Valizadeh, H. (2011). Physicochemical and antibacterial performance characterization of clarithromycin nanoparticles as colloidal drug delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 88(1), 39-44.
- Mukherjee A, Mohammed Sadiq I, Prathna TC, Chandrasekaran N (2011) Antibacterial activity of aluminium oxide nanoparticles for potential clinical applications. *Sci against Microb Pathog Commun Curr Res Technol Adv* 1:245–251
- Nakama, Y. (2017). Surfactants. *Cosmetic science and technology*, 231-244.
- Naqvi, S. Z. H., Kiran, U., Ali, M. I., Jamal, A., Hameed, A., Ahmed, S., & Ali, N. (2013). Combined efficacy of biologically synthesized silver

- nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria. *International journal of nanomedicine*, 3187-3195.
- Naseem, T., & Durrani, T. (2021). The role of some important metal oxide nanoparticles for wastewater and antibacterial applications: A review. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3, 59-75.
- Natarajan, S., Bhuvaneshwari, M., Lakshmi, D. S., Mrudula, P., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2016). Antibacterial and antifouling activities of chitosan/TiO₂/Ag NPs nanocomposite films against packaged drinking water bacterial isolates. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 19529-19540.
- Nayak, D., Ashe, S., Rauta, P. R., Kumari, M., & Nayak, B. (2016). Bark extract mediated green synthesis of silver nanoparticles: evaluation of antimicrobial activity and antiproliferative response against osteosarcoma. *Materials Science and Engineering: C*, 58, 44-52.
- Nazari, P., Dowlatbadi-Bazaz, R., Mofid, M. R., Pourmand, M. R., Daryani, N. E., Faramarzi, M. A., ... & Shahverdi, A. R. (2014). The antimicrobial effects and metabolomic footprinting of carboxyl-capped bismuth nanoparticles against *Helicobacter pylori*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172, 570-579.
- Nazari, P., Dowlatbadi-Bazaz, R., Mofid, M. R., Pourmand, M. R., Daryani, N. E., Faramarzi, M. A., ... & Shahverdi, A. R. (2014). The antimicrobial effects and metabolomic footprinting of carboxyl-capped bismuth nanoparticles against *Helicobacter pylori*. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172, 570-579.
- Nazir, A., Akbar, A., Baghdadi, H. B., ur Rehman, S., Al-Abbad, E., Fatima, M., ... & Abbas, M. (2021). Zinc oxide nanoparticles fabrication using *Eriobotrya japonica* leaves extract: Photocatalytic performance and antibacterial activity evaluation. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(8), 103251.
- Pachaiappan, R., Rajendran, S., Show, P. L., Manavalan, K., & Naushad, M. (2021). Metal/metal oxide nanocomposites for bactericidal effect: A review. *Chemosphere*, 272, 128607.
- Pan, Z., Lee, W., Slutsky, L., Clark, R. A., Pernodet, N., & Rafailovich, M. H. (2009). Adverse effects of titanium dioxide nanoparticles on human dermal fibroblasts and how to protect cells. *Small*, 5(4), 511-520.

- Pareek, V., Gupta, R., & Panwar, J. (2018). Do physico-chemical properties of silver nanoparticles decide their interaction with biological media and bactericidal action? A review. *Materials Science and Engineering: C*, 90, 739-749.
- Prabhu, S., & Poulouse, E. K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International nano letters*, 2, 1-10.
- Pridgen, E. M., Alexis, F., & Farokhzad, O. C. (2014). Polymeric nanoparticle technologies for oral drug delivery. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 12(10), 1605-1610.
- Rai, A., Prabhune, A., & Perry, C. C. (2010). Antibiotic mediated synthesis of gold nanoparticles with potent antimicrobial activity and their application in antimicrobial coatings. *Journal of Materials Chemistry*, 20(32), 6789-6798.
- 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.
- Reidy, B., Haase, A., Luch, A., Dawson, K. A., & Lynch, I. (2013). Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. *Materials*, 6(6), 2295-2350.
- Rink, J. S., McMahon, K. M., Chen, X., Mirkin, C. A., Thaxton, C. S., & Kaufman, D. B. (2010). Transfection of pancreatic islets using polyvalent DNA-functionalized gold nanoparticles. *Surgery*, 148(2), 335-345.
- Roshmi, T., Soumya, K. R., Jyothis, M., & Radhakrishnan, E. K. (2015). Effect of biofabricated gold nanoparticle-based antibiotic conjugates on minimum inhibitory concentration of bacterial isolates of clinical origin. *Gold Bulletin*, 48, 63-71.
- Rudramurthy, G. R., Swamy, M. K., Sinniah, U. R., & Ghasemzadeh, A. (2016). Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21(7), 836.

- Rudramurthy, G. R., Swamy, M. K., Sinniah, U. R., & Ghasemzadeh, A. (2016). Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21(7), 836.
- Ruparelia, J. P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P., & Mukherji, S. (2008). Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta biomaterialia*, 4(3), 707-716.
- Sabeena, G. S. R. E. P., Rajadurai, S., Pushpalakshmi, E., Alhadlaq, H. A., Mohan, R., Annadurai, G., & Ahamed, M. (2022). Green and chemical synthesis of CuO nanoparticles: A comparative study for several in vitro bioactivities and in vivo toxicity in zebrafish embryos. *Journal of King Saud University-Science*, 34(5), 102092.
- Sani, M. A., Ehsani, A., & Hashemi, M. (2017). Whey protein isolate/cellulose nanofibre/TiO₂ nanoparticle/rosemary essential oil nanocomposite film: Its effect on microbial and sensory quality of lamb meat and growth of common foodborne pathogenic bacteria during refrigeration. *International journal of food microbiology*, 251, 8-14.
- Saad, W. M., Al-Janaby, M. S., Gayadh, E. W., Ramizy, A., & Hamid, L. L. (2024). Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles using Hibiscus sabdariffa extract: Potential for antibiotic development and antibacterial activity against multidrug-resistant bacteria. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 8, 100397.
- Sawai, J., Kojima, H., Igarashi, H., Hashimoto, A., Shoji, S., Sawaki, T., ... & Shimizu, M. (2000). Antibacterial characteristics of magnesium oxide powder. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, 187-194.
- Selvarajan, V., Obuobi, S., & Ee, P. L. R. (2020). Silica nanoparticles—a versatile tool for the treatment of bacterial infections. *Frontiers in Chemistry*, 8, 602.
- Shah, M., Badwaik, V., Kherde, Y., Waghwan, H. K., Modi, T., Aguilar, Z. P., ... & Dakshinamurthy, R. (2014). Gold nanoparticles: various methods of synthesis and antibacterial applications. *Front. Biosci*, 19(8), 1320.
- Siegbahn, P. E., & Blomberg, M. R. (2000). Transition-metal systems in biochemistry studied by high-accuracy quantum chemical methods. *Chemical Reviews*, 100(2), 421-438.

- 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.
- 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.
- Sokolov, V. I., & Stankevich, I. V. (1993). The fullerenes—new allotropic forms of carbon: molecular and electronic structure, and chemical properties. *Russian Chemical Reviews*, 62(5), 419.
- 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.
- Sosnik, A., Carcaboso, Á. M., Glisoni, R. J., Moretton, M. A., & Chiappetta, D. A. (2010). New old challenges in tuberculosis: potentially effective nanotechnologies in drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 62(4-5), 547-559.
- Steckiewicz, K. P., Barcinska, E., Malankowska, A., Zauszkiewicz-Pawlak, A., Nowaczyk, G., Zaleska-Medynska, A., & Inkielewicz-Stepniak, I. (2019). Impact of gold nanoparticles shape on their cytotoxicity against human osteoblast and osteosarcoma in in vitro model. Evaluation of the safety of use and anti-cancer potential. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 30, 1-15.
- Sukhorukova, I. V., Sheveyko, A. N., Kiryukhantsev-Korneev, P. V., Zhitnyak, I. Y., Gloushankova, N. A., Denisenko, E. A., ... & Shtansky, D. V. (2015). Toward bioactive yet antibacterial surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 135, 158-165.
- Sun, T., Hao, H., Hao, W. T., Yi, S. M., Li, X. P., & Li, J. R. (2014). Preparation and antibacterial properties of titanium-doped ZnO from different zinc salts. *Nanoscale research letters*, 9, 1-11.
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Mohanty, S. K., & Sinniah, U. R. (2015). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using fruit extract of *Momordica cymbalaria* and assessment of their in vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 151, 939-944.

- Tang, S., & Zheng, J. (2018). Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. *Advanced healthcare materials*, 7(13), 1701503.
- Tayel, A. A., EL-TRAS, W. F., Moussa, S., EL-BAZ, A. F., Mahrous, H., Salem, M. F., & Brimer, L. (2011). Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. *Journal of Food Safety*, 31(2), 211-218.
- Tyler, B., Gullotti, D., Mangraviti, A., Utsuki, T., & Brem, H. (2016). Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*, 107, 163-175.
- Vazquez-Munoz, R., Arellano-Jimenez, M. J., & Lopez-Ribot, J. L. (2020). Bismuth nanoparticles obtained by a facile synthesis method exhibit antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *BMC biomedical engineering*, 2, 1-12.
- Voltan, A. R., Quindos, G., Alarcón, K. P. M., Fusco-Almeida, A. M., Mendes-Giannini, M. J. S., & Chorilli, M. (2016). Fungal diseases: could nanostructured drug delivery systems be a novel paradigm for therapy?. *International Journal of Nanomedicine*, 3715-3730.
- Wang, J., Li, S., Han, Y., Guan, J., Chung, S., Wang, C., & Li, D. (2018). Poly (ethylene glycol)-polylactide micelles for cancer therapy. *Frontiers in pharmacology*, 9, 202.
- 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.
- 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.
- 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.
- Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H., & Car, H. (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological reports*, 64(5), 1020-1037.
- Xue, Y., Xiao, H., & Zhang, Y. (2015). Antimicrobial polymeric materials with quaternary ammonium and phosphonium salts. *International journal of molecular sciences*, 16(2), 3626-3655.

- Yakabe, Y., Sano, T., Ushio, H., & Yasunaga, T. (1980). Kinetic studies of the interaction between silver ion and deoxyribonucleic acid. *Chemistry Letters*, 9(4), 373-376.
- Yang, R., Yang, S. G., Shim, W. S., Cui, F., Cheng, G., Kim, I. W., ... & Shim, C. K. (2009). Lung-specific delivery of paclitaxel by chitosan-modified PLGA nanoparticles via transient formation of microaggregates. *Journal of pharmaceutical sciences*, 98(3), 970-984.
- Yin, J., Deng, X., Zhang, J., & Lin, J. (2018). Current Understanding of Interactions between Nanoparticles and ABC Transporters in Cancer Cells. *Current medicinal chemistry*, 25(42), 5930–5944.
- Yoo, H. S., & Park, T. G. (2001). Biodegradable polymeric micelles composed of doxorubicin conjugated PLGA–PEG block copolymer. *Journal of controlled Release*, 70(1-2), 63-70.
- Yudovin-Farber, I., Golenser, J., Beyth, N., Weiss, E. I., & Domb, A. J. (2010). Quaternary ammonium polyethyleneimine: antibacterial activity. *Journal of nanomaterials*, 2010(1), 826343.
- Zarei, M., Jamnejad, A., & Khajehali, E. (2014). Antibacterial effect of silver nanoparticles against four foodborne pathogens. *Jundishapur journal of microbiology*, 7(1).
- Zhang, L., Chan, J. M., Gu, F. X., Rhee, J. W., Wang, A. Z., Radovic-Moreno, A. F., ... & Farokhzad, O. C. (2008). Self-assembled lipid– polymer hybrid nanoparticles: a robust drug delivery platform. *ACS nano*, 2(8), 1696-1702.
- Zhang, X. D., Wu, D., Shen, X., Liu, P. X., Yang, N., Zhao, B., ... & Fan, F. Y. (2011). Size-dependent in vivo toxicity of PEG-coated gold nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 2071-2081.
- Zhao, T., Elzatahry, A., Li, X., & Zhao, D. (2019). Single-micelle-directed synthesis of mesoporous materials. *Nature Reviews Materials*, 4(12), 775-791.
- Zharov, V. P., Mercer, K. E., Galitovskaya, E. N., & Smeltzer, M. S. (2006). Photothermal nanotherapeutics and nanodiagnostics for selective killing of bacteria targeted with gold nanoparticles. *Biophysical journal*, 90(2), 619-627.
- Zhnag, S., & Langer, R. (2018). Enteric elastomer enables safe gastric retention and extended oral drug delivery for improved medication

adherence. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 14(5), 1841.

BÖLÜM 3

NANOTOKSİSİTE DEĞERLENDİRMEDE MODEL ORGANİZMA: *Danio rerio*

Doktora Öğrencisi Yudum YELTEKİN UĞUR¹

Prof. Dr. Recep LİMAN²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16378192>

¹ 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

² 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

GİRİŞ

Son yıllarda nanoteknoloji alanında kaydedilen hızlı gelişmelere paralel olarak, nanoölçekli malzemeler tıptan tarıma, çevre mühendisliğinden enerjiye kadar geniş bir uygulama yelpazesinde kullanılmaya başlanmıştır (Yan ve ark., 2024; Batir-Marin, 2025). Nanoteknoloji alanında son on yılda yaşanan hızlı gelişmeler, yalnızca nano-ürün üretimindeki artışla sınırlı kalmamış, aynı zamanda bu ürünlerin biyolojik sistemlerde birikim potansiyelinde de dikkate değer bir yükselişi beraberinde getirmiştir (Cybulski ve ark., 2025). Nanoparçacıklar (NP'ler), küçük boyutları ve yüksek yüzey-hacim oranları sayesinde benzersiz fizikokimyasal özellikler sergilemesi, artan biyoyararlanımları ve reaktiviteleri ile özellikle biyotıp ve teknoloji alanlarında cazip uygulama potansiyeline sahiptir (Batir-Marin, 2025). Ancak bu üstün özellikler, aynı zamanda çevresel ve biyolojik sistemler üzerinde öngörülemeyen toksik etkiler doğurabileceği endişesini de beraberinde getirmiştir (Oberdorster ve ark., 2007; Chakraborty ve ark., 2016).

NP'lerin çevresel yayılımı ve biyota üzerindeki etkileri henüz tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Bu nedenle, NP'lerin toksik potansiyelini ortaya koymak için güvenilir, duyarlı ve temsil gücü yüksek model organizmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla yapılan nanotoksikoloji çalışmalarında, başta *Daphnia magna*, *Paracentrotus lividus*, *Mytilus spp.*, *Artemia salina* ve fare modelleri olmak üzere birçok organizma kullanılmıştır (Gajdosíková ve ark., 2006; Gad, 2014; Xiao ve ark., 2015; Wang ve ark., 2017; Brundo ve Salvaggio, 2018). Ancak son yıllarda, hem genetik olarak iyi tanımlanmış olması hem de gelişimsel süreçlerinin kolay gözlenebilirliği sayesinde *Danio rerio* (zebra balığı), nanotoksosite araştırmaları için öne çıkan bir model organizma haline gelmiştir (Wang ve ark., 2016; Pecoraro ve ark., 2017; Brundo ve Salvaggio, 2018). *D. rerio* toksisite analizleri için güçlü bir *in vivo* model sistem olarak öne çıkmasının önemli sebepleri arasında hızlı gelişimi, yüksek yumurta verimliliği (200–300 yumurta/siklus), şeffaf embriyoları, düşük bakım maliyeti ve genetik manipülasyonlara açıklığı gibi birçok özelliğe sahiptir (Braunbeck ve Lammer, 2006; Bai ve Tang, 2020). Ayrıca yaklaşık %70 oranında insanla homolog gen ekspresyonu göstermesi (Howe ve ark., 2013), sinirsel, kardiyovasküler ve sindirim sistemlerinin işlevsel benzerlikleri (Haque ve Ward, 2018) ve gelişmiş genetik haritası sayesinde (Chakraborty ve ark., 2016)

farmakodinamik ve farmakokinetik değerlendirmeler için uygun bir model sunmaktadır.

1. NANOPARÇACIKLARIN ÖZELLİKLERİ VE BİYOLOJİK ÖNEMİ

Nanoteknoloji, 100 nm altındaki boyutlarda yapıların tasarımı ve kontrolüyle ilgilenen disiplinler arası bir araştırma alanıdır. NP'ler küçük boyutları, geniş yüzey alanları ve yüksek reaktiviteleri sayesinde biyomedikal uygulamalarda geniş kullanım alanı bulmuşlardır (Laurent ve ark.,2009; Wu ve ark.,2015). Bu özellikleri sayesinde teşhis, tedavi, görüntüleme, gen ve ilaç taşıma gibi birçok biyolojik alanda etkin olarak kullanılmaktadır.

NP'lerin stabilitesi, biyolojik ortamlarda agregasyon, çökme ve fonksiyon kaybını önlemek açısından kritik öneme sahiptir (Ahmad ve ark., 2022). Bu stabilite, NP'lerin yüzeylerine çeşitli kimyasal grupların veya biyomoleküllerin kovalent ya da kovalent olmayan bağlarla eklenmesi yoluyla gerçekleştirilen yüzey fonksiyonelleştirme işlemi sayesinde artırılmaktadır. Fonksiyonelleştirme, aglomerasyon ve oksidasyonu önleyerek partiküllerin biyolojik ortamlardaki davranışını optimize eder (Wang ve ark., 2005; Moraes Silva ve ark., 2016). Organik (örneğin; sitrat, fosfat, aminler, polimerler) ve inorganik (örneğin; silika, altın, gümüş) modifikasyonlar NP'lerin özelliklerini geniş bir uygulama yelpazesi için özelleştirir (Qu ve ark., 2013; Ahmad ve ark., 2022).

Fonksiyonelleştirme sırasında kovalent ve kovalent olmayan (hidrojen bağları, elektrostatik kuvvetler, van der Waals etkileşimleri) bağlar kullanılır (Nobs ve ark., 2004; Moon ve ark., 2005). NP'lerin stabilizasyonu büyüme ve aglomerasyon süreçlerini kontrol ederek biyolojik kullanım için ideal özellikler kazandırır (Wang ve ark., 2010). Biyomedikal alanda geniş kullanım potansiyeline sahip olan NP'lerin her biri, sahip oldukları özgün yapısal ve kimyasal özellikler doğrultusunda farklı uygulama alanlarında değerlendirilmektedir. Bunlardan bazıları;

Demir Oksit NP'leri (IONPs)

Demir oksit NP'lerin yüksek manyetik momentleri ve biyoyuymumlulukları nedeniyle MRI görüntüleme ve kanser tedavisinde yaygın olarak

kullanılmaktadır (Sun ve ark., 2008; Hung ve ark., 2008; Wu ve ark., 2008; Cole ve ark., 2015; Cicha ve ark., 2016).

Altın NP'leri (AuNPs)

Altın NP'leri, yüzey plazmon rezonans özellikleri ve biyomolekül taşıma kapasiteleriyle gen terapisi, immünoassay ve kanser tedavilerinde geniş kullanım alanı bulmaktadır (Saha ve ark., 2007; Liu ve ark., 2009; Bian ve ark., 2015; Murugan ve ark., 2015).

Platin NP'leri (PtNPs)

Platin NP'leri, DNA ile etkileşim kurabilme özellikleri sayesinde antikanser ve katalitik uygulamalarda tercih edilmektedir (Mohammadi ve ark., 2013; Loan ve ark., 2018).

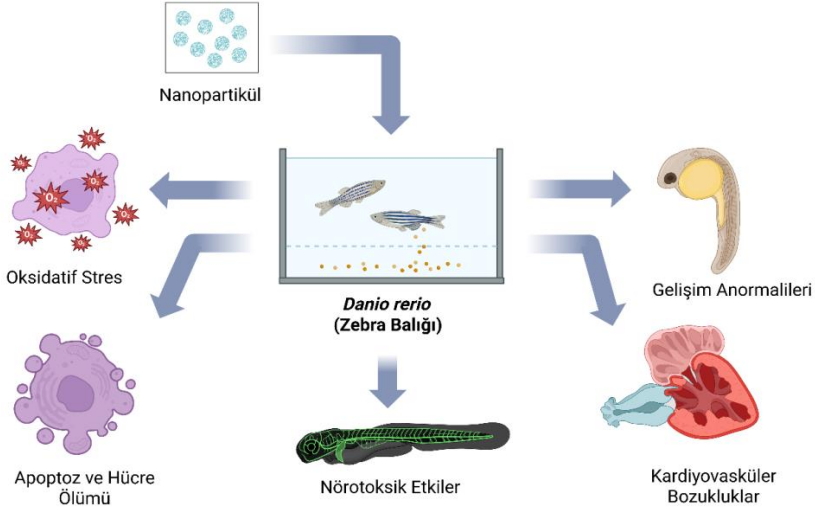
Gümüş NP'leri (AgNPs)

Gümüş NP'leri antimikrobiyal, antifungal ve biyosensör uygulamalarında etkili olup tıbbi cihaz kaplamalarında sıkça kullanılır (Skewis ve Reinhard, 2009; Jameii ve ark., 2015; Lee ve Jun, 2019; Jebril ve ark., 2020; LewisOscar ve ark., 2021).

Silika Kaplanmış NP

Silika NP'leri, yüksek çözünürlükleri ve kolay fonksiyonelleştirilebilir yüzeyleriyle çok sayıda biyomedikal uygulamada kullanılmaktadır (Senarath-Yapa ve ark., 2007; Koole ve ark., 2008; Zhong ve ark., 2009; Wang ve ark., 2010; Li ve ark., 2018; Kesse ve ark., 2019).

Ancak NP'ler çeşitli biyomedikal uygulamalarda önemli avantajlar sunsa da sahip oldukları küçük boyut ve yüksek yüzey reaktivitesi nedeniyle biyolojik sistemlerde bazı riskler de ortaya çıkarmaktadır (Ahmad ve ark., 2022). Özellikle, yüksek yüzey aktiviteleri reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna yol açarak hücre ve doku hasarına neden olabilmektedir (Şekil 1). Bu durum; oksidatif stres, DNA hasarı, protein denatürasyonu ve hücresel disfonksiyon gibi toksik etkilerle sonuçlanabilir (Xia ve ark., 2006; Buzzea ve ark., 2007; Li ve ark., 2011; Gnach ve ark., 2015; Mosayebi ve ark., 2017; Riley ve Vermerris, 2017).



Şekil 1. NP'lerin *D. rerio* modeliyle biyolojik etkileşimleri (BioRender.com ile oluşturulmuştur.)

Bu potansiyel toksik etkilerin azaltılmasında yüzey fonksiyonelleştirme teknikleri önemli rol oynamaktadır. Fonksiyonelleştirme sayesinde NP'lerin biyoyuumluluğu artırılmakta, hücresel etkileşimleri kontrol altına alınmakta ve istenmeyen biyolojik yanıtların önüne geçilebilmektedir.

NP'lerin sahip olduğu eşsiz fizikokimyasal özellikler, biyolojik sistemlerde geniş ve yenilikçi uygulama alanlarının gelişmesine katkı sağlamıştır. Bununla birlikte, kullanım alanlarının hızla genişlemesi toksisite, biyoyuumluluk ve uzun dönem güvenlilik açısından kapsamlı değerlendirmelerin yapılmasını gerekli kılmaktadır. Gelecekte yüzey fonksiyonelleştirme ve modifikasyon tekniklerinin daha da geliştirilmesiyle birlikte, NP'lerin pek çok alandaki etkinliği ve güvenliği önemli ölçüde artacaktır.

2. NANOPARÇACIKLARIN *DANİO RERİO* MODEL ORGANİZMASIYLA BİYOLOJİK ETKİLEŞİMİ

Nanoteknolojinin hızla genişleyen uygulama alanları beraberinde çevresel ve biyolojik güvenlik endişelerini de gündeme getirmiştir. Özellikle sucul ekosistemlerde NP'lerin potansiyel etkilerini anlamak adına *D. rerio* sıklıkla tercih edilen bir model organizma haline gelmiştir. Genetik yapısının

yüksek oranda insanlarla benzerlik göstermesi, embriyonik gelişimin dış ortamda ve hızlı olması, saydam embriyolarının mikroskopik analizlere uygunluğu ve laboratuvar koşullarında kolay yetiştirilebilirliği nedeniyle bu model organizma nanotoksite çalışmalarında geniş yer bulmaktadır (de Oliveira Eiras ve ark., 2022; Batir-Marin ve ark., 2025).

Zebra balığı, su ortamında çözünmüş ya da partikül halinde bulunan NP'ler başta solungaçlar, deri ve gastrointestinal yol olmak üzere farklı yollardan alabilmektedir (de Oliveira Eiras ve ark., 2022; Windell ve ark., 2023). Özellikle boyut, yüzey yükü, kaplama materyali ve agregasyon özellikleri gibi fizikokimyasal özellikler, bu alımın düzeyini ve hızını belirleyen temel faktörler arasında yer almaktadır (Windell ve ark., 2023; Batir-Marin ve ark., 2025).

NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimlerinde en önemli mekanizmalardan biri oksidatif stres oluşumudur. NP maruziyeti sonucunda ROS üretimi artmakta, bu durum lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarına neden olarak hücresel fonksiyon bozukluklarına yol açabilmektedir (Rashidian ve ark., 2023; Batir-Marin ve ark., 2025). Örneğin, AgNP'lere maruz bırakılan zebra balıklarında karaciğer, testis ve over dokularında histolojik değişimler, hepatositlerde büyüme ve artmış proliferasyon, antioksidan gen ekspresyonunda azalma ve spermatogenezde bozulmalar gözlenmiştir (Szudrowicz ve ark., 2022). Aynı şekilde Marinho ve arkadaşları (2021), kısa süreli AgNP maruziyetinin asetilkolinesteraz ve katalaz enzim aktivitelerinde baskılanma, solungaç yapısında lamellerin kaynaşması ve epitel lifting gibi morfolojik değişimlere neden olduğunu göstermiştir.

Farklı NP tipleri farklı toksik etkiler sergileyebilmektedir (Tablo 1). Örneğin Karbon NP'lerin zebra balığı embriyolarında steroid ve amino asit metabolizmasını etkileyen genlerde farklılaşmalara yol açtığı ve bunun gelişimsel toksisiteye neden olduğu gösterilmiştir (Shi ve ark., 2022). Silika NP'lerinin uzun süreli maruziyeti ise üreme performansında azalma, gonad ağırlığında düşüş ve larvaların hayatta kalma oranlarında gerileme ile sonuçlanmıştır (Rashidian ve ark., 2023).

NP'lerin toksik etkileri yalnızca oksidatif stresle sınırlı kalmayıp, nörotoksikite ve davranışsal değişimlerle de kendini gösterebilmektedir. Örneğin, CuO NP'leri ile yapılan çalışmada, metabolik hız artışı, amonyak atılımında azalma ve yüzme kapasitesinde düşüş gözlemlenmiştir (de Oliveira

Eiras ve ark., 2022). Ayrıca, gümüş NP'lerin maruziyetinde asetilkolinesteraz aktivitesinin baskılanması sonucu nöromusküler iletim bozuklukları bildirilmiştir (Marinho ve ark., 2021).

NP'lerin yüzey kimyasal modifikasyonları, biyoyararlanım ve toksisite profillerinde önemli rol oynamaktadır. Windell ve arkadaşları (2023), yüzeyleri farklı moleküllerle kaplanmış altın NP'lerinin pronefros ve gastrointestinal dokuda birikim paternlerini incelemiş ve PEG ile kaplanan partiküllerin dokularda daha uzun süre kaldığını saptamıştır. Ancak kısa süreli maruziyetlerde renal doku fonksiyonları üzerinde anlamlı toksisite gözlenmemiştir.

Öte yandan, yeşil sentez teknikleriyle elde edilen biyoyoumlu NP'lerin zebra balığı üzerindeki etkileri umut verici bulunmuştur. Kamaraj ve arkadaşları (2023), *Laureliopsis philippiana* bitkisinden sentezlenen Ag ve Pd NP'lerinin zebra balığı embriyolarında toksisite göstermediğini bildirmiştir. Bu tür biyoyoumlu NP'ler, çevre ve insan sağlığı açısından alternatif güvenli uygulamalar geliştirilmesinde önemli potansiyel taşımaktadır.

NP'lerin *D. rerio* modeliyle biyolojik etkileşimleri çok faktörlü, parçacığın fizikokimyasal özelliklerinden organizmanın gelişimsel evresine kadar geniş bir yelpazede değişkenlik göstermektedir. Özellikle oksidatif stres mekanizmaları, nörolojik etkiler, üreme performansı ve metabolik değişimler zebra balığında sıkça rapor edilen etkilerdir. Bununla birlikte, NP'lerin uzun dönemli ekotoksikolojik sonuçları ve çapraz nesil etkileri halen tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Dolayısıyla standartlaştırılmış protokollerin geliştirilmesi ve NP'lerin gerçek çevre koşullarındaki davranışlarının araştırılması, gelecekteki çalışmalar için önemli bir gereklilik oluşturmaktadır (Batir-Marin ve ark., 2025).

Tablo 1. Farklı tür NP'lerin *D. rerio* modeli üzerindeki etkileri

Nanopartikül Adı	Türü	Oluşturduğu Etkiler	Kaynakça
Kitosan-selenyum	Biyoaktif metal NP	Bağışıklık sistemi modülasyonu, virüs replikasyonu baskılama, güvenli dozlarda (%50'ye kadar hayatta kalma artışı)	Jeong ve ark., 2025
Altın	Metal NP	Hatching gecikmesi, hatching enzimleri ve pregnane X reseptörü (Pxr) üzerinden toksisite modülasyonu	Hu ve ark., 2025
Gümüş (<i>Ficus racemosa</i> ile sentezlenen)	Metal NP	Kolorektal kanser hücrelerinde %57.96 oranında toksisite, kaspaz-3 aktivitesi artışı, multitarget etkiler	Rejendran ve ark., 2025
Gümüş	Metal NP	Böbrek (renal) hasarı; glomerüler küçülme, hematopoietik doku proliferasyonu, tübül bozulmaları	Okuthe ve Siguba, 2025
Bizmut	Metal NP	Gelişimsel malformasyonlar, kalp ve iskelet deformiteleri, oksidatif stres ve davranış bozuklukları	Ding ve ark., 2025
Polistiren nanoplastik + Triklosan	Polimer ve organik birleşik	Sinir gelişim bozuklukları, bağırsak mikrobiyota bozulması, motor aktivite azalması	Wang ve ark., 2025
Polipropilen	Polimer NP	Beyin birikimi, motor ve agresyon davranışlarında azalma, nörotransmitter ve kolinesteraz aktivitesi bozulması	Kim ve Kim, 2025
Çinko oksit	Metal oksit NP	Solungaç hasarı, artan mortalite, oksidatif stres ve pH değişimleriyle sinerjik toksisite	Das ve ark., 2025
Alüminyum	Metal NP	Doz-bağımlı mortalite, dış ve GIT deformasyonları, lipid birikimi artışı	Farag ve ark., 2025
Seryum dioksit	Metal oksit NP	Kardiyovasküler gelişim bozuklukları, hematopoetik	Liu ve ark., 2025

Nanopartikül Adı	Türü	Oluşturduğu Etkiler	Kaynakça
		sistem baskılanması, ROS birikimi	
Diosgenin-konjuge Çinko oksit	Metal Oksit / Biyoaktif Konjugat	Streptomisin kaynaklı oksidatif stresi azalttı, SOD, CAT ve GPx enzim seviyelerini artırdı, toksisite gözlenmedi	Issac ve ark., 2024
Gümüş Nanopartiküller	Metal NP	Nörotoksosite, gelişim geriliği, motor ve sinir sistemi bozuklukları, davranış inhibisyonu, kolinerjik sistem etkilenmesi	Yan ve ark., 2024
Metformin ve Sodyum Metavanadat (PCL içinde kapsüllenmiş)	Polimerik NP	Kalp atım hızı düşüşü, perikardiyal ödem, letalite, subletal etkiler	Bittencourt ve ark., 2024
Titanyum dioksit (TiO ₂ P25)	Metal oksit NP	Fiziksel malformasyonlar (%11), gelişim bozuklukları, teratojenik etkiler	Ortiz-Román ve ark., 2024
Azaltılmış Grafen Oksit (rGO)	Karbon NP	Oksidatif stres, karaciğer dokusunda nekroz ve hasar, davranışsal bozukluklar; rutin uygulaması koruyucu etki göstermiştir	Premnath ve ark., 2024
Metal oksit NP'lar (çeşitli MeOxNPs)	Metal oksit NP	Hatching gecikmesi, enzim inhibisyonu, embriyo gelişimi üzerinde toksisite	Roy ve Roy, 2024
Gümüş NP + Polistiren Mikroplastikler (Ag NP + PS-MP)	Metal NP + Mikroplastik	Ag NP toksisitesinin azaltılması; mortalite, deformasyon, kalp atım hızı ve yumurta kesesi ödemi düşmesi	Xiao ve ark., 2024
Boramidik Asit Modifiye Karbon Nanotüpler (CNT-ED-BA)	Karbon nanotüp	DNA hasarı, nekroz, apoptozis; BA modifikasyonu toksisiteyi azaltmıştır	Aybek ve ark., 2024
Çinko oksit	Metal oksit NP	Zn ²⁺ salınımı ve ROS oluşumu üzerinden toksisite; oksidatif stres ve hücre hasarı	Bordin ve ark., 2024
Antimon trioksit	Metal Oksit NP	Demir homeostazını bozarak ferroptozis indükledi; ROS	Lai ve ark., 2024

Nanopartikül Adı	Türü	Oluşturduğu Etkiler	Kaynakça
		artışı, apoptoz, mitokondri hasarı gözlemlendi	
Kitozan	Polimerik Biyo-Nanopartikül	Antiviral immün yanıtın modüle edilmesi, iltihap genlerinde değişim; mortalite azalması (%85 sağkalım)	Liyanage ve ark., 2024
PLGA-Kurkumin	Polimerik Fitokimyasal NP	ROS seviyelerinde azalma, anjiyogenezin artması, gelişimsel toksisite göstermedi	Singha ve ark., 2024
C60 Fulleren	Karbon NP	Arsenatın biyobirikimini ve toksisitesini azalttı; arsenik metabolizmasında değişiklikler	Wang ve ark., 2024
Dihidromirisetin-Kaplı Gümüş NP (DMY-AgNPs)	Metal (Ag) ve Fitokimyasal Konjugat NP	25 µg/mL'den sonra toksisite gözlemlendi; MRSA enfeksiyonlarında iyileşme sağladı	Qi ve ark., 2024
Bakır	Metal NP	Ölüm ve deformite oranı artması; GABA sinyal yolları, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt etkileri	Liu ve ark., 2024
Camphene-Konjuge ZnO	Metal Oksit / Terpen Konjugat Nanopartikül	Antioksidan enzim seviyelerinin artması; inflamasyon azalması; toksisite belirtilmedi	Issac ve ark., 2024
Kadmiyum oksit	Metal Oksit NP	Doz-bağımlı deformiteler (büyük kuyruk, ödem, skolyoz); biyokimyasal parametrelerde bozulma	Vasanthakumaran ve ark., 2024
Gümüş-Doplu Çinko oksit	Metal Oksit Kombinasyonu NP	Doz-bağımlı mortalite; hematolojik ve inflamatuvar gen değişimleri; karaciğer hasarı	Anbarasu ve ark., 2024
Gümüş ve Palladyum (AgNPs ve PdNPs, yeşil sentez)	Metal NP	72 saat sonrası embriyolarda belirgin toksisite gözlenmedi, güvenli olduğu gösterildi	Kamaraj ve ark., 2023
Altın	Metal NP	Doku birikimi gözlemlendi, böbrek dokusunda kalış süresi uzun; kısa süreli maruziyette renal veya oksidatif toksisite gözlenmedi	Windell ve ark., 2023

Nanopartikül Adı	Türü	Oluşturduğu Etkiler	Kaynakça
Paladyum NP'ları	Metal NP	Yüksek dozda (100 µg/L) toksisite gözlenmedi; biyoyoumlu	Priyadharsan ve ark., 2023
Gümüş ve Çinko oksit	Metal NP	Genotoksisite, oksidatif stres, karaciğer ve kan biyokimyasında bozulma; kombinasyon etkisi daha toksik	Mahjoubian ve ark., 2023
Gümüş NP (<i>Azadirachta indica</i> bazlı)	Metal NP	Konsantrasyon artışına bağlı toksisite; bağırsak erozyonu, embriyo gelişiminde deformasyon	Shobana ve ark., 2023
Silika ve Arsenik (III)	Metal oksit NP	SiO ₂ -NPs akut toksisite oluşumu	Allahveisi ve ark., 2023
Silika	Metal oksit NP	Uzun süreli maruziyette üreme performansında bozulma, oksidatif stres ve biyokimyasal değişiklikler	Rashidian ve ark., 2023
ZIF-8 NPs (Zeolitik imidazolat çerçevesi-8)	Metal-organik yapı NP	Beyin oksidatif stresi, davranış bozukluğu, lokomotor aktivitede azalma	Jin ve ark., 2023
Çinko oksit ve Titanyum dioksit	Metal NP	ZnO katkılı rutile fazda en yüksek embriyo ölüm oranı ve malformasyon	Sezer ve ark., 2023
Gümüş ve Paladyum	Metal NP	72 saatte embriyo gelişiminde anlamlı toksisite gözlenmedi	Kamaraj ve ark., 2023
Polistiren Nanoplastikler	Nanoplastik	Beyin ve dokularda birikim; bağırsak > karaciğer > solungaç > kas > beyin	Habumugish a ve ark., 2023
Polistiren Nanoplastikler	Nanoplastik	Nöroeksitator semptomlar, oksidatif stres, Parkinson'dan farklı proteomik değişimler	Wang ve ark., 2023
Silika	Metal oksit NP	Üreme performansında azalma, oksidatif stres, bağışıklık sistemi etkileri, hormon dengesizlikleri	Rashidian ve ark., 2023
Bakır II oksit	Metal oksit NP	Metabolik değişiklikler, amonyak atılımı azalması, yüzme kapasitesinde azalma, morfolojiye bağlı toksisite	de Oliveira Eiras ve ark., 2022

Nanopartikül Adı	Türü	Oluşturduğu Etkiler	Kaynakça
Gümüş	Metal NP	Fertilite ve homeostaz bozuklukları, hepatosit değişiklikleri, spermatogenez ve oogenez bozulmaları, oksidatif stres artışı	Szudrowicz ve ark., 2022
Karbon	Karbon bazlı NP	Gelişimsel toksisite, malformasyonlar, gen ekspresyon değişiklikleri, steroid ve hormon biyosentez yollarında bozulma	Shi ve ark., 2022
Gümüş	Metal NP	Beyin ve kasta AChE inhibisyonu, karaciğer ve solungaçlarda CAT aktivitesinde düşüş, solungaç morfolojisinde değişim	Marinho ve ark., 2021

SONUÇ

Nanoteknolojinin hızla gelişmesi, nanoölçekli materyallerin geniş bir uygulama alanına yayılmasını sağlarken, bu materyallerin potansiyel biyolojik etkilerinin ayrıntılı olarak değerlendirilmesini de gerekli kılmaktadır. Bu noktada *D. rerio* (zebra balığı), nanotoksosite araştırmaları için vazgeçilmez bir model organizma olarak öne çıkmaktadır. Genetik yapısının insan ile yüksek oranda benzerlik göstermesi, hızlı gelişim döngüsü, şeffaf embriyoları sayesinde canlı izleme imkânı sunması ve düşük bakım maliyeti gibi özellikleri, zebra balığını nanotoksosite çalışmalarında diğer modellere kıyasla daha avantajlı hale getirmektedir. Ayrıca, erken gelişim dönemlerinde bile kolaylıkla gözlemlenebilen fizyolojik ve morfolojik değişiklikler, NP'lerin etkilerini detaylı şekilde analiz etmeye olanak tanımaktadır.

Bu çalışma kapsamında incelenen çeşitli NP'lerin, zebra balığında oksidatif stres, DNA hasarı, nörotoksosite, gelişimsel malformasyonlar ve üreme bozuklukları gibi farklı biyolojik etkiler oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, yüzey modifikasyonları ve fonksiyonelleştirme teknikleri sayesinde bu toksik etkilerin azaltılabildiği görülmüştür. Özellikle yeşil sentez yöntemleriyle geliştirilen biyoyumlu NP'ler, çevre ve insan sağlığı açısından umut vaat eden alternatifler olarak dikkat çekmektedir.

Gelecekte, çevresel şartların daha iyi simüle edildiği uzun dönemli ve farklı jenerasyonlar üzerinde gerçekleştirilecek çalışmaların artırılması, farklı organizma modelleriyle çapraz doğrulamalar yapılması ve standart protokollerin geliştirilmesi, nanotoksosite alanındaki bilgi birikimini ileri taşıyacak ve daha güvenilir risk değerlendirmelerinin yapılmasına olanak sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

- Ahmad, F., Salem-Bekhit, M. M., Khan, F., Alshehri, S., Khan, A., Ghoneim, M. M., ve Elbagory, I. (2022). Unique properties of surface-functionalized nanoparticles for bio-application: functionalization mechanisms and importance in application. *Nanomaterials*, 12(8), 1333.
- Ali, A., Zafar, H., Zia, M., Ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S., ve Hussain, A. (2014). Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, Science and Applications*, 7, 49–67.
- Allahveisi, A., Miri, A., Ghorbani, F., ve Johari, S. A. (2023). Binary toxicity of engineered silica nanoparticles (nSiO₂) and arsenic (III) to zebrafish (*Danio rerio*): application of response surface methodology. *Environmental Science and Pollution Research*, 30, 68655–68666. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-27066-2>
- Anbarasu, M., Martin, T. M., Priya, P., Sivamurugan, V., Kumar, M. S. K., Shaik, M. R., Kari, Z. A., ve Guru, A. (2024). Assessing the impact of Ag-ZnO nanoparticle on the induction of oxidative stress, hematological, and molecular changes in zebrafish (*Danio rerio*) and McCoy fibroblast cell lines. *Aquaculture International*, 32, 5373–5392. <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01611-3>
- Aybek, Y., Köktürk, M., Yıldırım, S., Nazlı, D., Kiliçlioğlu, M., Şahin, A., ve Alak, G. (2024). Effect of boramidic acid modified carbon nanotubes on neurological, morphological and physiological responses of zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae. *Science of the Total Environment*, 947, 174614. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174614>
- Bai, C., ve Tang, M. (2020). Toxicological study of metal and metal oxide nanoparticles in zebrafish. *Journal of Applied Toxicology*, 40, 37–63. <https://doi.org/10.1002/jat.3910>
- Batir-Marin, D., Boev, M., Cioanca, O., Lungu, I.-I., Marin, G.-A., Burlec, A. F., Mitran, A.-M., Mircea, C., ve Hancianu, M. (2025). Exploring oxidative stress mechanisms of nanoparticles using zebrafish (*Danio rerio*): Toxicological and pharmaceutical insights. *Antioxidants*, 14(4), 489. <https://doi.org/10.3390/antiox14040489>

- Bian, R., Wang, T., Zhang, L., Li, L., ve Wang, C. (2015). A combination of tri-modal cancer imaging and in vivo drug delivery by metal–organic framework based composite nanoparticles. *Biomaterials science*, 3(9), 1270-1278.
- BioRender.com. (2025). *Nanoparçacıkların Danio rerio modeliyle biyolojik etkileşimleri* [İllüstrasyon]. <https://biorender.com>
- Bittencourt, T. Q. M., Santos, T. P., Bastos, P. E. S., Amorim, M. J. A. L., Gomes, S. S., Albuquerque, Y. M. L., ve Cadena, P. G. (2024). A Nanotoxicological Approach to the Effects of Metformin and Sodium Metavanadate Co-Encapsulated in Polycaprolactone Nanoparticles under the Biological Parameters of Zebrafish (Danio Rerio). *Archives of Current Research International*, 24(12), 174–184. <https://doi.org/10.9734/acri/2024/v24i121007>
- Bordin, E. R., Ramsdorf, W. A., Domingos, L. M. L., Miranda, L. P. S., Mattoso Filho, N. P., ve Cestari, M. M. (2024). Ecotoxicological effects of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on aquatic organisms: Current research and emerging trends. *Journal of Environmental Management*, 349, 119396. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119396>
- Braunbeck, T., ve Lammer, E. (2006). Fish embryo toxicity assays. *Contract*, 20, 725–731. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9182-7>
- Brundo, M. V., Pecoraro, R., Marino, F., Salvaggio, A., Tibullo, D., Saccone, S., Bramanti, V., Buccheri, M. A., Impellizzeri, G., Scuderi, V., Zimbone, M., ve Privitera, V. (2016). Toxicity evaluation of new engineered nanomaterials in zebrafish. *Frontiers in Physiology*, 130. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.0013>
- Brundo, M. V., ve Salvaggio, A. (2018). Zebrafish or Danio rerio: A new model in nanotoxicology study. In *Recent Advances in Zebrafish Research*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74834>
- Bteich, J., McManus, S. A., Ernsting, M. J., Mohammed, M. Z., Prud'homme, R. K., ve Sokoll, K. K. (2017). Using flash nanoprecipitation to produce highly potent and stable cellax nanoparticles from amphiphilic polymers derived from carboxymethyl cellulose, polyethylene glycol, and cabazitaxel. *Molecular pharmaceutics*, 14(11), 3998-4007.
- Buzea, C., Pacheco, I. I., ve Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17–MR71.

- Chakraborty, C., Sharma, A. R., Sharma, G., ve Lee, S. S. (2016). Zebrafish: A complete animal model to enumerate the nanoparticle toxicity. *Journal of nanobiotechnology*, 14, 1-13.
- Cicha, I., Scheffler, L., Ebenau, A., Lyer, S., Alexiou, C., Goppelt-Struebe, M. (2016). Iron oxide nanoparticles for biomedical imaging. *Molecular Imaging and Biology*, 18(5), 708–718.
- Cole, L. E., Ross, R. D., Tilley, J. M., Vargo-Gogola, T., ve Roeder, R. K. (2015). Gold nanoparticles as contrast agents in x-ray imaging and computed tomography. *Nanomedicine*, 10, 321–341.
- Cybulski, P., Bravo, M., Chen, J. J. K., Van Zundert, I., Krzyzowska, S., Taemaitree, F., ve Fortuni, B. (2025). Nanoparticle accumulation and penetration in 3D tumor models: The effect of size, shape, and surface charge. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 12, 1520078.
- Das, R., Singh, S. P., Sahoo, A., Majumder, S., Sahoo, S. K., ve Panigrahi, G. K. (2025). Synergistic stress of zinc oxide nanoparticles and pH triggers gill damage and mortality in zebrafish. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 10(1), 1-11.
- de Oliveira Eiras, M. I., da Costa, L. S., ve Barbieri, E. (2022). Copper II oxide nanoparticles (CuONPs) alter metabolic markers and swimming activity in zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology ve Pharmacology*, 257, 109343. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109343>
- Dheyab, M.A., Aziz, A.A., Jameel, M.S. Noqta, O.A., Khaniabadi, P.M., Mehrdel, B. (2020). Rapid green synthesis of magnetic nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*, 823, 153774.
- Ding, Y., Wang, S., Qi, G., Hu, Y., Huang, J., Zhang, Y., ... ve Yu, H. (2025). Toxic effects and mechanisms of monometallic bismuth nanoparticles on early stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Science of The Total Environment*, 983, 179702.
- Farag, M., Mawed, S., ve Ghoniem, M. (2025). Aluminium Nanoparticles Induced High Mortalities, External Malformations and Lipid Accumulation in Developing Zebrafish Larvae. *Zagazig Veterinary Journal*, 53(1), 68-81.

- Fu, C., Zhou, H., Wang, Y., Liu, D., Li, J., Deng, H., Qi, X., Chen, T., Zhang, L.M., Li, G. (2017). Surface engineering and stabilization of iron oxide nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 490, 360–369.
- Gad, S. C. (2014). Animal models in toxicology. *London: CRC Press*, s. 983.
- Gajdosíková, A., Gajdosík, A., Koneracká, M., Závistová, V., Stvrtina, S., Krchnárová, V., Kopcanský, P., Tomasovicová, N., Stolc, S., ve Timko, M. (2006). Acute toxicity of magnetic nanoparticles in mice. *Neuro Endocrinology Letters*, 27(2), 96-99.
- Gnach, A., Lipinski, T., Bednarkiewicz, A., Rybka, J., Capobianco, J.A. (2015). The toxic effect of nanoparticles on human health. *Journal of Nanobiotechnology*, 13, 54.
- Habumugisha, T., Zhang, Z., Fang, C., Yan, C., ve Zhang, X. (2023). Uptake, bioaccumulation, biodistribution and depuration of polystyrene nanoplastics in zebrafish (*Danio rerio*). *Science of the Total Environment*, 893, 164840. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164840>
- Haque, E., ve Ward, A. C. (2018). Zebrafish as a model to evaluate nanoparticle toxicity. *Nanomaterials*, 8, 1–18. <https://doi.org/10.3390/nano8070561>
- Howe, K., Clark, M. D., ve Torroja, C. F. (2013). The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, 496, 498–503.
- Hu, J., Tian, J., Liu, P., Zhang, Q., Li, N., ve Yin, J. (2025). Pregnane X receptor attenuates gold nanoparticles' toxicity through accelerating zebrafish embryo hatching. *Aquatic Toxicology*, 107399.
- Hung, C. W., Holoman, T. R., Kofinas, P., ve Bentley, W. E. (2008). Towards oriented assembly of proteins onto magnetic nanoparticles. *Biochemical Engineering Journal*, 38, 164–170.
- Issac, P. K., Santhi, J. J., Janarthanam, V. A., ve Velumani, K. (2024). Diosgenin-conjugated zinc oxide nanoparticles: A sustainable approach to counter antibiotic-induced oxidative stress in the aquatic environment using the in vivo zebrafish larvae model (*Danio rerio*). *BioNanoScience*, 14, 903–918. <https://doi.org/10.1007/s12668-024-01383-3>
- Issac, P. K., Velumani, K., Ravi, V., ve Vijayanand, M. (2024). Investigating the protective effect of camphene-conjugated zinc oxide nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa* infection in *Danio rerio*.

- BioNanoScience*, 14, 4942–4955. <https://doi.org/10.1007/s12668-024-01561-3>
- Jameii, F., Dalimi Asl, A., Karimi, M., Ghaffarifar, F. (2015). Antibacterial effect of AgNPs on Staphylococcus. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 2(1), 127–131.
- Jameii, F., Dalimi Asl, A., Karimi, M., ve Ghaffarifar, F. (2015). Healing effect comparison of selenium and silver nanoparticles on skin leishmanial lesions in mice. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*, 22, 217–223.
- Jebril, S., Khanfir Ben Jenana, R., Dridi, C. (2020). Silver nanoparticles antibacterial mechanisms. *Materials Science and Engineering: C*, 115, 111011.
- Jeong, Y. S., Baek, E. J., ve Kim, K. I. (2025). Chitosan-selenium nanoparticles suppress infectious spleen and kidney necrosis virus through immune modulation and viral replication inhibition in zebrafish (*Danio rerio*). *Developmental and Comparative Immunology*, 166, 105362.
- Jin, L., Wang, S., Chen, C., Qiu, X., ve Wang, C.-C. (2023). ZIF-8 nanoparticles induce behavior abnormality and brain oxidative stress in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Antioxidants*, 12(7), 1345. <https://doi.org/10.3390/antiox12071345>
- Kamaraj, C., Naveenkumar, S., Prem, P., Ragavendran, C., Subramaniyan, V., Al-Ghanim, K. A., Malafaia, G., Nicoletti, M., ve Govindarajan, M. (2023). Green synthesis and biophysical characterization of silver and palladium nanoparticles using *Laureliopsis philippiana*: A potent eco-friendly larvicide with negligible impact on zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 26, 102164. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2023.102164>
- Kesse, S., Boakye-Yiadom, K. O., Ochete, B. O., Opoku-Damoah, Y., Akhtar, F., Filli, M. S., ... ve Wang, B. (2019). Mesoporous silica nanomaterials: versatile nanocarriers for cancer theranostics and drug and gene delivery. *Pharmaceutics*, 11(2), 77.
- Kim, M., ve Kim, S. D. (2025). Neurobehavioral and neurochemical effects of nano-sized polypropylene accumulation in zebrafish (*Danio rerio*). *Science of the Total Environment*, 977, 179404.
- Koole, R., Van Schooneveld, M.M., Hilhorst, J., Castermans, K., Cormode, D.P., Strijkers, G.J., Donegá, C.D.M., Vanmaekelbergh, D., Griffioen,

- A.W., Nicolay, K...(2008). Silica coating of nanoparticles for biomedical applications. *Chemical Materials*, 20(7), 2503–2512.
- Lai, Z., Wei, Y., He, M., Lin, C., Ouyang, W., ve Liu, X. (2024). Antimony trioxide nanoparticles promote ferroptosis in developing zebrafish (Danio rerio) by disrupting iron homeostasis. *Science of the Total Environment*, 949, 175140.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175140>
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., Muller, R.N. (2009). Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, and applications. *Chemical Reviews*, 108(6), 2064–2110.
- Lee, J. H., ve Jun, Y. W. (2019). Silver nanoparticles in nanomedicine. *Journal of Nanobiotechnology*, 17, 75.
- Lee, S. H., ve Jun, B. H. (2019). Silver nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 865.
- LewisOscar, F., Nithya, C., Vismaya, S., Arunkumar, M., Pugazhendhi, A., Nguyen-Tri, P., Alharbi, S. A., Alharbi, N. S., ve Thajuddin, N. (2021). In vitro analysis of green fabricated silver nanoparticles (AgNPs) against Pseudomonas aeruginosa PA14 biofilm formation, their application on urinary catheter. *Progress in Organic Coatings*, 151, 106058.
- Li, J., Shen, S., Kong, F., Jiang, T., Tang, C., ve Yin, C. (2018). Effects of pore size on in vitro and in vivo anticancer efficacies of mesoporous silica nanoparticles. *RSC Advances*, 8, 24633–24640.
- Li, X., Xu, H., Chen, Z. S., ve Chen, G. (2011). Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *Journal of Nanomaterials*, 2011, 16.
- Liu, J., Jiang, Z., Zhang, S., ve Saltzman, W. M. (2009). Poly (ω -pentadecalactone-co-butylene-co-succinate) nanoparticles as biodegradable carriers for camptothecin delivery. *Biomaterials*, 30(29), 5707-5719.
- Liu, N., Tong, L., Li, K., Dong, Q., ve Jing, J. (2024). Copper-nanoparticle-induced neurotoxic effect and oxidative stress in the early developmental stage of zebrafish (Danio rerio). *Molecules*, 29, 2414.
<https://doi.org/10.3390/molecules29112414>
- Liu, Y., Liao, Y. L., Wang, J. X., Zhang, B. F., Tang, Q. P., Ding, Y., ... ve Pei, D. S. (2025). The effect and mechanisms of nano cerium dioxide (Nano-

- CeO₂) on cardiovascular development in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 126268.
- Liyanage, T. D., Nikapitiya, C., ve De Zoysa, M. (2024). Chitosan nanoparticles-based in vivo delivery of miR-155 modulates the viral haemorrhagic septicaemia virus-induced antiviral immune responses in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish and Shellfish Immunology*, 144, 109234. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.109234>
- Loan, T. T., Do, L. T., ve Yoo, H. (2018). Platinum nanoparticles induce apoptosis on raw 264.7 macrophage cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 18(2), 861-864.
- Mahjoubian, M., Naeemi, A. S., Moradi-Shoeili, Z., Tyler, C. R., ve Mansouri, B. (2023). Oxidative stress, genotoxic effects, and other damages caused by chronic exposure to silver nanoparticles (Ag NPs) and zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs), and their mixtures in zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 472, 116569. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2023.116569>
- Marinho, C. S., Matias, M. V. F., Toledo, E. K. M., Smaniotto, S., Ximenes-da-Silva, A., Tonholo, J., Santos, E. L., Machado, S. S., ve Zanta, C. L. P. S. (2021). Toxicity of silver nanoparticles on different tissues in adult *Danio rerio*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47, 239–249. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00909-2>
- Mohammadi, H., Abedi, A., Akbarzadeh, A., Mokhtari, M. J., Shahmabadi, H. E., Mehrabi, M. R., Javadian, S., ve Chiani, M. (2013). Evaluation of synthesized platinum nanoparticles on the MCF-7 and HepG-2 cancer cell lines. *International Nano Letters*, 3, 28.
- Moon, J. H., Shul, Y. G., Han, H. S., Hong, S. Y., Choi, Y. S., ve Kim, H. T. (2005). A study on UV-curable adhesives for optical pick-up: I. Photo-initiator effects. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 25, 301–312.
- Mosayebi, J., Kiyasatfar, M., ve Laurent, S. (2017). Synthesis, functionalization, and design of magnetic nanoparticles for theranostic applications. *Advanced Healthcare Materials*, 6, 1700306.
- Murugan, K., Benelli, G., Panneerselvam, C., Subramaniam, J., Jeyalalitha, T., Dinesh, D., ... ve Madhiyazhagan, P. (2015). Cymbopogon citratus-synthesized gold nanoparticles boost the predation efficiency of copepod

- Mesocyclops aspericornis against malaria and dengue mosquitoes. *Experimental parasitology*, 153, 129-138.
- Nobs, L., Buchegger, F., Gurny, R., ve Allémann, E. (2004). Current methods for attaching targeting ligands to liposomes and nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93, 1980–1992.
- Oberdorster, G., Stone, V., ve Donaldson, K. (2007). Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. *Nanotoxicology*, 1, 2–25.
- Okuthe, G. E., ve Siguba, B. (2025). Silver nanoparticle-induced nephrotoxicity in zebrafish (Danio rerio). *International Journal of Molecular Sciences*, 26, 4216.
- Ortiz-Román, M. I., Casiano-Muñiz, I. M., ve Román-Velázquez, F. R. (2024). Ecotoxicological effects of TiO₂ P25 nanoparticles aqueous suspensions on zebrafish (Danio rerio) eleutheroembryos. *Nanomaterials*, 14, 373. <https://doi.org/10.3390/nano14040373>
- Pagels, R. F., Pinkerton, N. M., York, A. W., ve Prud'homme, R. K. (2020). Synthesis of Heterobifunctional Thiol-poly (lactic acid)-b-poly (ethylene glycol)-hydroxyl for Nanoparticle Drug Delivery Applications. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 221(2), 1900396.
- Pecoraro, R., Marino, F., Salvaggio, A., Capparucci, F., Di Caro, G., Iaria, C., Salvo, A., Rotondo, A., Tibullo, D., Guerriero, G., Scalisi, E. M., Zimbone, M., Impellizzeri, G., ve Brundo, M. V. (2017). Evaluation of chronic nanosilver toxicity to adult zebrafish. *Frontiers in Physiology*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01011>
- Premnath, B. J., Srinivasan, M. K., ve Nalini, N. (2024). Effect of Rutin on the behavioural, biochemical and liver morphological changes in Danio rerio exposed to reduced graphene oxide (rGO) nanoparticles. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 21(1), 211–228. <https://doi.org/10.13005/bbra/3217>
- Priyadharsan, A., Ragavendran, C., Kamaraj, C., Kadaikunnan, S., Raja, R. K., ve Thiruvengadam, M. (2023). Evolvulus alsinoides-wrapped palladium nanoparticles: A potential photocatalyst rhodamine blue, inactivation of human pathogens and non-toxicity assessments on Daphnia magna and Danio rerio. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11, 110541. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110541>

- Qi, L. X., Wang, X. T., Huang, J. P., Yue, T. Y., Lu, Y. S., San, D. M., Xu, Y. X., Han, Y. T., Guo, X. Y., Xie, W. D., ve Zhou, Y. X. (2024). Silver nanoparticles encapsulated by dihydromyricetin: Optimization of green synthesis, characterization, toxicity, and anti-MRSA infection activities for zebrafish (*Danio rerio*). *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 5255. <https://doi.org/10.3390/ijms25105255>
- Qu, J. B., Shao, H. H., Jing, G. L., ve Huang, F. (2013). PEG-chitosan-coated iron oxide nanoparticles with high saturated magnetization as carriers of 10-hydroxycamptothecin: preparation, characterization and cytotoxicity studies. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 102, 37-44.
- Rajendran, M., VL, S. P., Arul Selvaraj, R. C., ve Basheera, S. Multitargeted Therapy of Colorectal Cancer in *Danio Rerio* Using Silver Nanoparticles Synthesised with Heterocyclic Compounds from *Ficus Racemosa*. *Available at SSRN 5124644*.
- Rashidian, G., Mohammadi-Aloucheh, R., Hosseinzadeh-Otaghvari, F., Chupani, L., Stejskal, V., Samadikhah, H., Zamanlui, S., Multisanti, C. R., ve Faggio, C. (2023). Long-term exposure to small-sized silica nanoparticles (SiO₂-NPs) induces oxidative stress and impairs reproductive performance in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology ve Pharmacology*, 273, 109715. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2023.109715>
- Riley, M. K., ve Vermerris, W. (2017). Recent advances in nanoparticle toxicity. *Nanomaterials*, 7(3), 94.
- Roy, J., ve Roy, K. (2024). Insights into nanoparticle toxicity against aquatic organisms using multivariate regression, read-across, and ML algorithms: Predictive models for *Daphnia magna* and *Danio rerio*. *Aquatic Toxicology*, 276, 107114. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.107114>
- Saha, B., Bhattacharya, J., Mukherjee, A., Ghosh, A. K., Santra, C. R., Dasgupta, A. K., ve Karmakar, P. (2007). In vitro structural and functional evaluation of gold nanoparticles conjugated antibiotics. *Nanoscale Research Letters*, 2, 614–622.
- Saha, B., Bhattacharya, J., Mukherjee, A., Ghosh, A., Santra, C., Dasgupta, A. K., ve Karmakar, P. (2007). In vitro structural and functional evaluation

- of gold nanoparticles conjugated antibiotics. *Nanoscale Research Letters*, 2, 614-622.
- Senarath-Yapa, M. D., Phimphivong, S., Coym, J. W., Wirth, M. J., Aspinwall, C. A., ve Saavedra, S. S. (2007). Preparation and characterization of poly (lipid)-coated, fluorophore-doped silica nanoparticles for biolabeling and cellular imaging. *Langmuir*, 23(25), 12624-12633.
- Senarath-Yapa, M. D., Phimphivong, S., Coym, J. W., Wirth, M. J., Aspinwall, C. A., ve Saavedra, S. S. (2007). Preparation and characterization of poly(lipid)-coated, fluorophore-doped silica nanoparticles for biolabeling and cellular imaging. *Langmuir*, 23, 12624–12633.
- Sezer, S., Yücel, A., Özhan Turhan, D., Emre, F. B., ve Sarıkaya, M. (2023). Comparison of ZnO doped different phases TiO₂ nanoparticles in terms of toxicity using zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 325, 138342. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138342>
- Shi, L., Qian, Y., Shen, Q., He, Y., Jia, Y., ve Wang, F. (2022). The developmental toxicity and transcriptome analyses of zebrafish (*Danio rerio*) embryos exposed to carbon nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 234, 113417. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113417>
- Shobana, N., Prakash, P., Samrot, A. V., Saigeetha, S., Sathiyasree, M., Thirugnanasambandam, R., Sridevi, V., Kumar, M. B., Shankar, S. G., Dhiva, S., ve Remya, R. R. (2023). Nanotoxicity studies of *Azadirachta indica* mediated silver nanoparticles against *Eudrilus eugeniae*, *Danio rerio* and its embryos. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47, 102561. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102561>
- Silva, S. M., Tavallaie, R., Sandiford, L., Tilley, R. D., ve Gooding, J. J. (2016). Gold coated magnetic nanoparticles: from preparation to surface modification for analytical and biomedical applications. *Chemical Communications*, 52(48), 7528-7540.
- Singha, A., Harshitha, M., Kalladka, K., Chakraborty, G., Maiti, B., Satyaprasad, A. U., Chakraborty, A., ve Sil, S. K. (2024). Exploring the potential of curcumin-loaded PLGA nanoparticles for angiogenesis and antioxidant proficiency in zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 167. <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00727-w>

- Skewis, L. R., ve Reinhard, B. M. (2009). Silver nanoparticle aggregation. *The Journal of Physical Chemistry C*, 113(31), 13300–13303.
- Stöber, W., Fink, A., ve Bohn, E. (1968). Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *Journal of colloid and interface science*, 26(1), 62-69.
- Sun, C., Lee, J. S., ve Zhang, M. (2008). Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 60(11), 1252-1265.
- Szudrowicz, H., Kamaszewski, M., Adamski, A., Skrobisz, M., Frankowska-Lukawska, J., Wójcik, M., ... ve Herman, A. P. (2022). The effects of seven-day exposure to silver nanoparticles on fertility and homeostasis of zebrafish (*Danio rerio*). *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11239.
- Vasanthakumaran, M., Ramesh, M., Murugan, K., Hema, T., Rajaganesh, R., ve Hwang, J. S. (2024). Developmental toxicity, biochemical and biomarker in the zebrafish (*Danio rerio*) embryo exposed to biosynthesized cadmium oxide nanoparticles. *Chemosphere*, 369, 143851. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143851>
- Wang, C., Jia, H., Zhu, L., Zhang, H., ve Wang, Y. (2017). Toxicity of α -Fe₂O₃ nanoparticles to *Artemia salina* cysts and three stages of larvae. *Science of the Total Environment*, 598, 847–855. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.183>
- Wang, D., Lan, J., Meng, W., Liu, J., Zhou, R., Chen, C., ... ve Huang, C. (2025). Co-exposure to triclosan and polystyrene nanoplastics on neurodevelopmental toxicity and gut microbiota dysbiosis in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 126643.
- Wang, H. X., Zuo, Z. Q., Du, J. Z., Wang, Y. C., Sun, R., Cao, Z. T., ... ve Wang, J. (2016). Surface charge critically affects tumor penetration and therapeutic efficacy of cancer nanomedicines. *Nano Today*, 11(2), 133-144.
- Wang, L. S., Wu, L. C., Lu, S. Y., Chang, L. L., Teng, I. T., Yang, C. M., ve Ho, J. A. A. (2010). Biofunctionalized phospholipid-capped mesoporous silica nanoshuttles for targeted drug delivery: Improved water suspensibility and decreased nonspecific protein binding. *ACS Nano*, 4, 4371–4379.

- Wang, Luo, J., Fan, Q., Suzuki, M., Suzuki, I. S., Engelhard, M. H., ... ve Zhong, C. J. (2005). Monodispersed core– shell Fe₃O₄@ Au nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(46), 21593-21601.
- Wang, X., Dong, Z., Zhao, Q., Li, C., ve Fan, W. H. (2024). Alleviative effects of C60 fullerene nanoparticles on arsenate transformation and toxicity to *Danio rerio*. *Science of the Total Environment*, 947, 174765. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174765>
- Wang, Y., Wang, J., Cong, J., Zhang, H., Gong, Z., Sun, H., Wang, L., ve Duan, Z. (2023). Nanoplastics induce neuroexcitatory symptoms in zebrafish (*Danio rerio*) larvae through a manner contrary to Parkinsonian's way in proteomics. *Science of the Total Environment*, 905, 166898. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166898>
- Windell, D. L., Mourabit, S., Moger, J., Owen, S. F., Winter, M. J., ve Tyler, C. R. (2023). The influence of size and surface chemistry on the bioavailability, tissue distribution and toxicity of gold nanoparticles in zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 260, 115019. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115019>
- Wu, W., He, Q., ve Jiang, C. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale Research Letters*, 3, 397–415.
- Wu, W., He, Q., ve Jiang, C. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale research letters*, 3, 397-415.
- Wu, W., Wu, Z., Yu, T., Jiang, C., ve Kim, W. S. (2015). Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and technology of advanced materials*, 16(2), 023501.
- Xia, T., Kovochich, M., Brant, J., Hotze, M., Sempf, J., Oberley, T., ... ve Nel, A. E. (2006). Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano letters*, 6(8), 1794-1807.
- Xiao, Q., Xiang, H., Tian, Y., Huang, J., Li, M., Wang, P., ve Duan, P. (2024). Polystyrene microplastics alleviate the developmental toxicity of silver nanoparticles in embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*) at the

- transcriptomic level. *Science of the Total Environment*, 954, 176485. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176485>
- Xiao, Y., Vijver, M. G., Chen, G., ve Peijnenburg, W. J. (2015). Toxicity and accumulation of Cu and ZnO nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environmental Science ve Technology*, 49(7), 4657–4664. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00538>
- Yan, Z., Chen, Y., Yang, Y., Zhou, Y., Su, P., ve Yuan, S. (2024). Alleviation of bovine serum albumin on the neurotoxicity of silver nanoparticles in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1473054. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1473054>
- Zhong, Z., Li, M., Xiang, D., Dai, N., Qing, Y., Wang, D., ve Tang, D. (2009). Signal amplification of electrochemical immunosensor for the detection of human serum IgG using double-codified nanosilica particles as labels. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(7), 2246-2249.

BÖLÜM 4

NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİ ANLAMAK İÇİN BİR MODEL ORGANİZMA: *DROSOPHILA* *MELANOGASTER*

Doç. Dr. Dilek AKYIL¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16378240>

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyon Türkiye, dilekakyil9@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-7048-3808

GİRİŞ

Nanoteknoloji endüstrisi, son yıllarda hem yeni malzemelerin geliştirilmesinde hem de yeni işlevler elde etmek için mevcut karmaşık nanopartiküllerin (NP) işlevlerini artırmada hızlı bir ilerleme kaydetmektedir (Magaye ve ark., 2012). Bu işlevler, NP'lerin güçlü manyetizma, geniş yüzey alanı ve belirgin katalitik yetenekler (Ameh ve Sayes, 2019; Baran ve ark., 2021) dahil olmak üzere dikkate değer diğer birçok özelliğine atfedilir. Ayrıca, nanoteknolojideki devam eden yenilikler, nanoparçacık yapıların hassasiyetini ve tekdüzeliğini iyileştirmek için üretim tekniklerinin sürekli olarak iyileştirilmesini içerir. Disiplinler arası işbirlikleri, kimya, fizik ve mühendislik gibi çeşitli alanlardan içgörüler belirleyerek bu alanı daha da ileriye taşır ve böylece potansiyel uygulama aralığını genişletir.

NP kullanımının günümüzde de hızlı bir ivme kazanması yıllar içinde nanoteknolojinin giderek gelişmesini sağlamış ve birçok alanda bu NP'lerden faydalanılmaya başlanmıştır. Başta tıp olmak üzere ilaç verme sistemlerinde, kontrast görüntülemeye, hipertermi tedavilerinde, terapötik uygulamalarda, hücre ayırmada, biyolojide ve biyosensörlerde çeşitli NP'lerden yararlanılmaktadır (Kettering ve ark., 2009; Ghazanfari ve ark., 2016; Arias ve ark., 2018; Ansari ve ark., 2019; Katz, 2019; Erol, 2022). Tüm bu avantajlarının yanı sıra NP'ler kanser tedavisi gibi çeşitli tıbbi uygulamalarda umut vaat ederken, toksisite, uzun vadeli güvenlik endişeleri, biyoyumluluk, çevresel etki, genotoksisite ve daha fazlası dahil olmak üzere kullanımlarıyla ilişkili potansiyel olumsuz etkilerde son yıllarda tartışılmaya başlanan konular arasında yerini almıştır (Liu ve ark., 2013; Vangijzegem ve ark., 2019; Qiao ve ark., 2023). Örneğin, NP'ler oksidatif hasara neden olabilir ve bu da protein oksidasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve DNA zincir kırıklarına tetikleyebilir (Huang ve ark., 2010; Baran ve ark., 2022). NP'ler ayrıca plasenta ve kan-beyin bariyeri gibi vücuttaki kritik bariyerleri de geçebilir (Sonavane ve ark., 2008; Muoth ve ark., 2016). Hücre çekirdeklerinden geçebilecek kadar küçük olan NP'ler DNA'ya zarar verebilir (Singh ve ark., 2010; Behzadi ve ark., 2017), dokularda birikebilir ve biyokümülyasyona neden olarak çevresel bir risk haline gelebilir (Hajiyeva ve ark., 2023).

NP'lerin insan hücreleri ve karmaşık sistemle olan ilişkisini anlamak amacıyla nanopartiküllerin hücre içindeki parametrelerinin kapsamlı bir şekilde aydınlatılması gerekir. İnsan temelli deneyler etik engellerden dolayı zor

olduğundan, yaygın olarak kullanılan bir laboratuvar model organizması olan *Drosophila melanogaster*, gelişim biyolojisi, genetik ve son zamanlarda konak patojenitesinin incelenmesi için canlı bir model organizma olarak bilim dünyasında yaygın kullanılmaktadır. *D. melanogaster*, kısa yaşam döngüsü, net gelişim aşamaları ve bulunabilirliği ile genetik olarak oldukça esnek bir organizmadır. Omurgalı modellere orantılı araştırma manipülasyonu olması, gelişmiş ve karmaşık organizmalarla önemli gen homolojisi bulundurması ve mutant fenotipler kazanmanın basitliği gibi deneysel özellikleri tamamen taşıyan *D. melanogaster*, hücrelerdeki NP aktivitelerinin ve nanotoksikolojik denemelerin incelenmesi için ideal bir model organizma olarak kabul edilmektedir. Aynı zamanda insan genomunda korunan metabolizmayla ilgili çoğu geni içerdiği için en iyi alternatif model organizmalardan biri olarak halen çalışmalarındaki güncelliğini korumaktadır. Genetikteki basitlik ve hızlı yaşam döngüsü, onu araştırmalarda etkili bir şekilde kullanılabilen doğru bir model organizma yapmaktadır (Chen ve ark., 2015). Bu bağlamda, bu çalışmanın temel amacı günümüzde yaygın kullanım alanına sahip olan NP'lerin olumsuz etkilerini en aza indirmeye ve kullanımlarını en üst düzeye çıkarmaya odaklanan gelecekteki çalışmalar için temel oluşturmak ve günümüzde birçok alanda yaygın olarak kullanılan NP'lerin biyolojik aktivitelerini anlamak için de uygun bir model organizma olan *Drosophila melanogaster* üzerinde durmaktır.

1. İNSANLARIN NANOPARTİKÜLLERE MARUZ KALMASININ POTANSİYEL YOLLARI

Nanoteknoloji, hastalık teşhisi, ilaç tasarımı, hedefli ilaç dağıtımı ve daha az yan etkiye sahip implant görüntüleme gibi sağlık ile ilgili sayısız fayda sunmaktadır. NP'lerin benzersiz özelliklerinden biri olan hacim oranına göre daha büyük yüzey alanı, sentezlenen NP'lerle ilişkili büyük bir endişe haline gelen artan emilim ve reaktivite oranına yol açar. Benzer şekilde, NP'lerin biyomedikal ve endüstriyel uygulamalarda kullanıldıkları şaşırtıcı özellikleri de sistematik değerlendirmeye ihtiyaç duyar. Son çalışmalar, NP maruziyetinin potansiyel toksisitelerinin bir belirleyicisi haline geldiğini ortaya koymuştur ve NP'ler farklı yollarla çeşitli canlılara ve insanlara da ulaşmaktadır. Nanometre ölçeğindeki NP'lerin boyutu cilt penetrasyon kapasitelerini artırmaktadır. NP'ler ayrıca cilt ve göz tahrişi, genetik toksisite, endokrin bozulması vb. ile

ilişkilendirilmektedir (Kim ve ark., 2008). İnsanlarda NP'lerin inhalasyon, dermal emilim, yutma ve enjeksiyon olmak üzere vücuda girebileceği başlıca dört yaygın NP maruziyet yolu vardır Dermal emilimin yanı sıra, oral ve inhalasyon bu partiküllerin akciğerler, gastrointestinal sistem, karaciğer, kalp, beyin, dalak vb. gibi hayati organlara taşınmasını ve bu organlar arasında dolaşmasını sağlar.

1.1. Solunum Yoluyla Maruziyet

Solunum, NP'ler için en yaygın giriş yollarından biridir. Solunum sistemi tarafından sert filtrasyona rağmen, difüz yapıları nedeniyle NP'lerin son derece küçük boyutları akciğerlerin epiteline ulaşma olasılığını artırır. NP'ler, motorlu taşıtlardan kaynaklanan emisyon, hava kirliliğinde partikül madde varlığı, fosil yakıtların yanması vb. gibi en önemli kaynaklarla birlikte doğal olarak çevrede bulunabilir. Yapılan bir çalışmada NP'lerin solunmasının akciğer iltihabına neden olduğu gösterilmiştir. Solunan NP'lere bağlı pulmoner toksisitenin, 100 nm'nin altındaki partiküllerin büyük kesirli biriktirme verimliliğiyle boyuta bağlı olduğu bildirilmiştir. NP'nin boyutuna bağlı olarak, solunan partiküller faringeal, nazal, trakeobronşiyal ve alveolar bölgeler dahil olmak üzere insan solunum sistemi boyunca birikebilir. Gözlemler, boyut azaldıkça alveoler birikim olasılığının daha yüksek olduğunu açıkça göstermektedir (Casse ve ark., 2002). Ayrıca, NP'lerin kan dolaşımı ve lenfatik yollar aracılığıyla karaciğer, böbrekler ve dalak gibi vücudun başlıca organlarına taşındığı da bildirilmiştir. Son zamanlarda, kirlilik seviyesindeki artışla birlikte, havadaki partikül maddelerin kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Miller ve ark., 2017). Solunan altın nanopartiküller (AuNP) fare ve insanda kanda ve vasküler inflamasyon bölgelerinde birikmektedir (Miller ve ark., 2017). İlginç bir şekilde, sistemik dolaşıma taşınma oranı ve vasküler inflamasyon bölgelerinde birikme <10 nm'lik partiküllerde daha yüksek bulunmuş ve bu, son derece küçük boyutlu çevresel NP'lerin kardiyovasküler hastalıkların patogeneze katkıda bulunabileceğine dair açık bir kanıt sunmuştur (Miller ve ark., 2017).

1.2. Deri Yoluyla Maruziyet

Muhtemelen kullanılan teknikler ve yöntemler, laboratuvar koşulları ve değerlendirme protokollerindeki farklılıklardan dolayı, NP'lerin deri penetrasyonunda tutarsızlıklar olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Ancak literatürde, NP'lerin hem mesleki hem de tüketici ortamında zorunlu bir giriş yolu olduğunu öne süren çalışmalar da mevcuttur. Ayrıca, birkaç rapor, son derece küçük parçacıklar olan NP'lerin insan vücuduna girme yolunu bulabileceğini ve çeşitli dokulara nüfuz edebileceğini göstermiştir (Borm ve ark., 2006). Ek olarak, NP'lerin stratum korneumu geçme yeteneğine sahip olduğunu öne süren raporlar da vardır (Oberdorster ve ark., 2005; Borm ve ark., 2006) ve bunun saç folikülleri yoluyla gerçekleşme olasılığı daha yüksektir. Çevresel NP'lerin yanı sıra, potansiyel dermal maruziyet çoğunlukla kozmetikler veya güneş kremleri gibi tüketici ürünlerine dahil edilen NP'ler aracılığıyla rutin olarak cilde uygulandıklarında meydana gelir. Titanyum dioksit (TiO_2) ve çinko oksit (ZnO) gibi metalik NP'ler genellikle ultraviyole (UV) koruması sağlamak için güneş kremlerine entegre edilmektedir. Dahası, TiO_2 'nin yüksek kırılma indisi cildin beyazlamasını sağlar ve bu nedenle çok sayıda kozmetik ürünün üretiminde kullanılır. Son zamanlarda bu NP'lerin ciltle ilgili tüketici ürünlerine dahil edilmesi nedeniyle ciddi güvenlik endişeleri ortaya çıkmıştır (Wang ve ark., 2018). Cilt hücrelerinde metalik NP'lerin risk değerlendirmesiyle ilgili son çalışmalardan biri, hücre zarı bütünlüğünün bozulması, mitokondriyal hasar, DNA hasarı ve artan apoptoz gibi ciddi fizyolojik anormalliklere neden olabildiklerini göstermiştir (Wang ve ark., 2018).

Birkaç *in vivo* çalışmada ise, TiO_2 'nin sıçanlara damlatma yoluyla verilmesi sonucunda hayvanlarda hiçbir inflamatuvar etki veya genotoksisite gözlemlenmediğini rapor etmiştir (Rehn ve ark., 2003). Tüysüz farelerde ve domuz derisinde sürekli deri penetrasyonu, TiO_2 'nin deriden nüfuz etme potansiyeline sahip olduğunu ve doku birikimi, oksidatif stresin indüklenmesi nedeniyle patolojik lezyonlar olabileceğini rapor etmiştir. Ayrıca, insan keratinositleri üzerinde yapılan bir çalışma, TiO_2 'nin deri seviyesindeki potansiyel sitotoksik etkisinin yalnızca uzun süreli maruziyetten sonra ortaya çıktığını göstermiştir (Crosera ve ark., 2015). Fare fibroblastı kullanılarak yapılan başka bir çalışmada, TiO_2 'ye maruz kalmanın kollajen

deformasyonunu, inflamasyonu ve proteinlerin yapısal deformasyonunu başlattığı bulunmuştur (Kuku ve Culha, 2017).

Tüketici ürünlerinde özellikle güçlü antibakteriyel etkisi nedeniyle sıklıkla kullanılan bir diğer nanopartikül olan gümüş nanopartikülleri (AgNP) tekstil, tıbbi cihazlar, doğum kontrol hapları, dezenfektanlar ve oda spreylerinin bir parçası haline gelmiştir. Ancak AgNP'ler üzerinde, onları antibakteriyel yapan özelliğin insan hücreleri için toksik hale getirebileceğini ortaya koyan çelişkili çalışmalar bulunmaktadır (Poon ve Burd, 2004). AgNP'lerin dermal toksisite olasılığı çok sayıda *in vitro* ve *in vivo* çalışma ile ele alınmıştır. Farklı deri hücre hatları (insan neonatal deri stromal hücreleri, HaCaT keratinositleri, insan dermal fibroblastları) kullanılarak yapılan *in vitro* çalışmalar, AgNP'lerin hücre canlılığını azalttığını, enerji üretimini bozduğunu ve DNA zincir kırıkları, oksidatif stres ve apoptoz veya nekrozu indüklediğini ortaya koymuştur (Avalos ve ark., 2015). Albino tavşanın tıraşlı derisindeki AgNP'lerin olası dermal etkisi, AgNP'lerin deride histopatolojik anormalliklere neden olabileceğini göstermiştir (Raesian ve ark., 2017). Kobayda, AgNP'ler dermal tabakayı delerek ve kardiyosit deformitesine, konjesyona ve inflamasyona neden olarak farklı organlara (karaciğer, böbrek, kalp) taşınabilir (Korani ve ark., 2013). Bu çalışmalar, NP'lere dermal maruziyetin, bunların deri yoluyla kan dolaşımına emilmesine ve bunun da ciddi sistemik toksisiteye neden olabileceğini güçlü bir şekilde göstermektedir.

1.3. Yutma Yolu ile Maruziyet

NP'lerin çeşitli sağlık ürünleri, kozmetikler, gıda katkı maddeleri ve boyalara ilave edilmesi, insanı solunum ve deri penetrasyonuna ek olarak yutma yoluyla maruz kalmaya karşı savunmasız hale getirmektedir (Vance ve ark., 2015). Gastrointestinal (GI) sistem yoluyla potansiyel NP maruziyeti, GI'nin daha büyük emici yüzey alanına sahip olması nedeniyle vücudun farklı bölgelerine taşınmasıyla ilgilidir. Birkaç *in vitro* rapor, NP'lerin bağırsak epitelini geçme potansiyeline sahip olduğunu ve oksidatif stresi, sitokin salgılanmasını, DNA hasarını ve iltihabı tetikleyebileceğini öne sürmektedir (Rim ve ark., 2013). Yapılan bir çalışmada farelere 28 gün boyunca oral yoldan AgNP (5-20 nm) uygulanmasının epitel hücre mikrovilluslarını ve bağırsak bezlerini bozduğu gösterilmiştir (van der Zande ve ark., 2012).

1.4. Enjeksiyon Yolu ile Maruziyet

NP'lerin enjeksiyonu, ilaç iletimi ve görüntüleme ajanları olarak deri altı dokuya, kaslara, kan damarlarına veya vücut boşluklarına uygulanmasını ifade eder. NP'lerin enjeksiyondan sonra yer değiştirmesi ve dağılımının kaderi büyük ölçüde yüzey özelliklerine, morfolojisine, boyutuna ve enjeksiyon yerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Oberdorster ve ark., 2005). İntravenöz olarak enjekte edilen NP'ler dolaşım sistemine hızla yayılır ve daha sonra organlara taşınırken, intradermal enjeksiyon ve intramüsküler enjeksiyon lenf düğümlerinin ve lenf sisteminin alınmasına yol açar (Oberdorster ve ark., 2005). İntravenöz olarak enjekte edilen NP'lerin karaciğer, dalak, kemik iliği, lenf düğümleri, ince bağırsak, beyin ve akciğerler gibi farklı organlarda lokalizasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Oberdorster ve ark., 2005). NP'lerin intravenöz olarak enjekte edilmesinin farelerde farklı organlarda aşırı duyarlılık ve işlev bozukluğuna neden olduğu bildirilmiştir (Feng ve ark., 2015).

Son zamanlarda, insan "süper görüşü" için bir temel olarak büyük bir atılım olan ve kırmızı renk körlüğünün düzeltilmesi, bilim insanlarının memeli gözlerinin algılayabileceği tek bir fotona iki kızılötesi ışık fotonunu birleştirmek için tasarlanmış NP'ler kullanmasına neden olmuştur. Ma ve arkadaşlarının (2019) yaptıkları bir çalışmada NP'ler, fotoreseptörlere bağlanmalarına yardımcı olan bir proteinle kaplanarak ve farelerin retinalarının altına enjekte edilerek fotonları gözlerimizde sinir mesajlarına dönüştüren çubuklara ve konilere tutundurulmuşlardır. Sonuç olarak farelerin, enjekte edilen NP'lerin, kızılötesi ışığı gözlerinin içinde etkili bir şekilde görünür ışığa dönüştürdükleri saptanmıştır. Fare ve insan arasında önemli bir benzerlik olduğundan dolayı muhtemelen bu NP'ler herhangi bir değişiklik yapılmadan insanda da işe yarayabilir. Eğer öyleyse, bu inanılmaz keşif askerlere gözlük ihtiyacı olmadan gece görüşü sunacak ve muhtemelen hastaların görme yetilerini kademeli olarak kaybetmelerine neden olan rahatsızlıklara karşı koyacaktır (Ma ve ark., 2019).

2. TOKSİSİTEYİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

NP'lerin olası sağlık tehlikesinin hızlı ve güvenilir bir değerlendirmesini yapabilmek adına çok sayıda *in vitro* yaklaşım yaygın olarak kullanılmaktadır. NP'lerle ilgili çalışmalarda *in vitro* uygulamalarda kullanılmakla beraber çalışmaların büyük ölçüde sınırlı olduğunu belirtmekte fayda vardır, çünkü *in*

in vitro çalışmalarda hücreler farklı toksik tepki gösterebilmekte ve *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda gözlemlenen çelişkili sonuçlar kafa karıştırıcı olmaktadır. Ayrıca NP'lerin benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle çeşitli hücresel bileşenlerle etkileşime girdiği ve NP'lerle biyoyumumluluğun öngörülebilirliğini engelleyen farklı sonuçlar ürettiği bilinmektedir. NP'ler doğal optik özellikleri ve oldukça reaktif doğası nedeniyle, ışık emiliminin, pH'ın, katalitik davranışın, yüzey yükünün vb. değişmesini artırarak ölçümlere müdahale etme eğilimindedirler ve böylece tutarsız toksikolojik verilerin üretilmesine neden olurlar (Kroll ve ark., 2009). Bu olumsuz durumları en aza indirmek için son yıllarda daha çok *in vivo* modellerle toksisite çalışmaları tercih edilmektedir.

NP'lerin boyutları küçüldükçe, daha büyük partiküllere oranla yüzey alanları da artış göstermekte olup partikül yüzeyindeki atom veya molekül oranlarında ve dolayısıyla kimyasal reaktivitelerinde de artış olmaktadır. Bu artılar NP'lerin birçok sahada tercih edilmelerini sağlamalarının yanında, biyolojik sistemlerle etkileşimlerinde de oldukça önem taşır. Fiziksel ve kimyasal pek çok faktör NP'lerin toksisitesini etkilemektedir. NP'lerin toksisite seviyesini esas olarak boyut belirlemekle beraber şekil, agregasyon, fizikokimyasal stabilite, kimyasal bileşim, yüzey yükü, kristal yapı, yüzey alanı çözünürlük ve yüzey enerjisi gibi fizikokimyasal özellikler de bu nanomalzemelerin toksisite düzeylerini belirleyen faktörler arasında sayılabilir. Moleküllerin kimyasal reaksiyonlarını açıklayan fonksiyonel gruplar da toksisiteyi etkileyen faktörlerdendir (Nel ve ark., 2006; Gato ve ark., 2014). Örneğin, AgNP'ler, aynı ağırlıkta bulunan mikropartiküllere oranla daha çok gümüş iyonu (Ag⁺) salmakta ve salınan bu iyonlar, gümüşün antibakteriyel aktivite göstermesine neden olmaktadır (Schneider, 2017). AgNP'ler yüksek antimikrobiyal etki gösterdikleri için başta sağlık sektörü, daha sonra gıda, elektronik, tekstil, biyomedikal ve kozmetik gibi birçok alanda tercih edilmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2016). AgNP'ler mikrobiyal membranla etkileşime giren, hücrelere zarar veren ve bakterileri inaktive eden reaktif oksijen türleri (ROT) üretmektedirler. Bu reaktif türlerin seviyesi antioksidan kapasiteyi geçecek olursa, hücrelerin protein, lipid, DNA ve enzim gibi yapıları ile etkileşime girerek toksik mekanizmalar meydana gelebilir (Eraslan, 2020). Örneğin lipid peroksidasyonu, hücrelere oldukça hasar verici bir olaydır (Altın ve ark., 2018). Yapılan çeşitli çalışmalarda 5, 10 ve 20 nm'lik AgNP'lerin, >40 nm'lik partiküllere oranla daha genotoksik ve sitotoksik

olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde TiO_2 NP'leri ökaryotlarda, antioksidan savunma sisteminin zayıflamasına ve buna bağlı olarak mitokondri hasarına, otofajiye, bölgesel inflamasyona, apoptoz veya nekroza neden olmaktadır (Freseigna ve ark., 2021). ZnO , Ag , TiO_2 ve Cu NP'ler ile yapılan daha önceki pek çok çalışmada bu NP'lerin genotoksik ve sitotoksik aktivite gösterebileceği rapor edilmiştir (Agnihotri ve ark., 2020; Chang ve ark, 2021; Mecwan ve ark., 2021).

3. BÖCEKLERDE NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİK ETKİLERİ

Son yıllarda NP'lerin kullanımının ivme kazanması onların olumlu yönlerinin yanı sıra bu partiküllerin hedef olmayan canlıların gelişim ve fizyolojileri üzerindeki etkilerinin de araştırılmasını zorunlu kılmaktadır. Bunun yanı sıra yine bu partiküllerin çevre ile olan toksik etkilerinin belirlenmesi onların canlılar üzerindeki etki mekanizmasını aydınlatmak açısından oldukça önemlidir. NP'lerin üretiminin ve yaygın kullanımlarının artmasına rağmen, günümüzde canlı organizmalardaki davranışları tam olarak çözümlenememiştir. Fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı, NP'ler canlı organizmalarda iyon formlarına göre daha toksik etki gösterebilmektedirler. Bunun yanı sıra, DNA hasarına, enzimatik antioksidan savunma sistemleri üzerinde olumsuz etkilere, membran geçirgenliğine, hücre ölümüne neden olmakla birlikte, genotoksik, sitotoksik ve nörotoksik etkileri de olduğu bilinmektedir. Son yıllarda, NP'ler tarım alanlarındaki zararlılarla başedebilmek amacıyla da kullanılmaya başlanmıştır. Bu yüzden NP'lerin böcekler üzerindeki olumsuz etkilerinin bilinmesi de büyük önem taşımaktadır. NP'ler böcekler üzerindeki etkisini dış iskelet yoluyla hücre içine nüfuz ederek gösterir ve hücre içine girerek hedef organlar üzerinde etkisini göstermeye başlar (Benelli 2016). Daha sonra, nano ölçekli maddeler proteinlerden kükürte veya DNA'dan fosfora bağlanarak organellerin ve enzimlerin hızla yeniden yapılandırılmasına yol açar. Membran geçirgenliğindeki azalma ve proton itici gücündeki bozulma nedeniyle hücresel işlev kaybı ve hücresel fonksiyonun azalmasına ve ardından hücre ölümüne neden olur (Benelli, 2018).

Geçmiş yıllarda yapılan birçok çalışma nanopartiküllerin böceklerde büyüme üzerindeki toksik etkilerini sergilemektedir. Litre başına 100 mg ZnONP ile yapılan bir çalışmada, *Aedes aegypti* sivrisinek üretiminde %100

öldürücü etkiyle sonuçlanırken, 1,57 mg/l ZnONP düşük bir LC50'ye tanık olmuştur (Banumathi ve ark., 2017a,b,c). Farklı bir çalışmada *Bombus terrestris*'in işçilerinde silisyum dioksit nanopartikülleri (SiO₂NP) ve *A. aegypti*'de AgNP'leri nedeniyle orta bağırsak epitel hasarı meydana geldiği gösterilmiştir (Mommaerts ve ark., 2012; Kalimuthu ve ark., 2017). *A. aegypti*'ye AuNP uygulanan bir çalışmada ise uygun konsantrasyonda kirlenmiş bir ortamda bu nanopartikülün orta bağırsağa, epitel hücrelerine ve kortekse zarar verdiği saptanmıştır (Sundararajan ve Kumari, 2017). *Acheta domesticus* üzerinde yapılan çalışmalar, grafen oksit nanopartiküllerinin katalaz, glutatyon peroksidaz ve ısı şoku proteinini (HSP70) aktive ettiğini ortaya koymuştur (Dziewięcka ve ark., 2016).

3.1. Meyve Sinekleri ve Nanopartiküller

NP'ler sadece tıp ve biyomedikal değil bunun yanı sıra tarımda, gıda endüstrisinde ve daha birçok farklı alanda çeşitli ajanların toksik etkilerini anlamak için bilimin çeşitli bölümlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ahamed ve ark., 2010). Özellikle tarımda böceklerin zararlı yönetiminde yaygın uygulama alanına sahip olan NP'ler mevcuttur. Hatta son yıllarda, NP'leri içeren yenilikçi bir fotobozunur böcek ilacı geliştirilmiştir (Garcia-Bellido ve ark., 1979; Guan ve ark., 2008).

Her ne kadar tartışmalı ve etik açıdan zorlayıcı olsa da, hayvan araştırmaları bilimi ilerletmek için hayati öneme sahiptir ve insan hastalıkları için fizyopatoloji ve yeni tedaviler konusunda temel içgörüler sağlar (Hobson-West ve Davies, 2018; Davies ve ark., 2020; Lee ve ark., 2020). Bilim dünyasında birçok araştırma alanında, kemirgen (örneğin fareler, hamsterlar) modelleri uzun zamandır temel taş olmuştur ve çeşitli fizyolojik ve moleküler mekanizmalar hakkında ön görüler sunar (Soukas ve ark., 2000; Chusyd ve ark., 2016; Lempesis ve ark., 2022). Ancak, kemirgenler değerli veriler sağlarken, yüksek bakım maliyetleri, karmaşık genetik geçmişler ve uzun gebelik süreleri gibi içsel sınırlamalar deneysel verimliliği engellemektedir (Hartung, 2008). Bu zorluklar ışığında, alternatif modeller keşfetmek bilim dünyasında zorunlu hale gelmiştir. Alternatif olarak, zebra balığı (*Danio rerio*), nematodlar (*Caenorhabditis elegans*), kurbağalar (*Xenopus*) ve böcekler (*Drosophila*) gibi çok sayıda başka hayvan türü, filogenetik olarak insanlara

benzerlikleri nedeniyle yaygın olarak tanınmaktadır (Andersen ve Winter, 2019).

Genellikle meyve sinekleri olarak bilinen Drosophilidae ailesinin bir üyesi olan *Drosophila*, biyomedikal çalışmalarda önemli bir model organizma olarak hizmet etmektedir. Temel araştırmalardaki yüzyıllık önemi, düşük maliyet, hızlı nesil süresi ve gelişmiş genetik araçlara atfedilir (Markow, 2015). *Drosophila* genomu, insanlara yaklaşık %60 oranında homologdur ve insan hastalıklarıyla ilişkili genlerin yaklaşık %75'inin bu modelde karşılıkları vardır (Uğur ve ark., 2016). *Drosophila*, moleküler araçların yanı sıra çağdaş gelişmelere etkili bir şekilde uyum sağlar (Tolwinski, 2017). Özellikle, *Drosophila*'nın 25°C'de yetişkinliğe yaklaşık 10 gün süren yaşam döngüsü, yaygın olarak kullanılan kemirgen modellerinin hızını aşmaktadır (Fernández-Moreno ve ark., 2007). Gelişim aşamaları embriyo, larva, pupa ve yetişkin, bir model organizma olarak çok yönlülüğüne katkıda bulunur (Wolpert ve ark., 2015; Cigerci ve ark., 2023; Özdemir ve ark., 2024). Genellikle 60-80 gün süren yetişkin sineğin yaşam süresi sıcaklığa göre değişmektedir. *Drosophila*, insan genomunda korunan metabolizma için hayati önem taşıyan genler içermekle beraber (Chien ve ark., 2002) memeliler ve *Drosophila* arasındaki besin alımı, depolanması ve metabolizmasından sorumlu organ sistemlerindeki benzerlik, onun önemini daha da artırmaktadır (Colombani ve ark., 2003; Capo ve ark., 2019).

3.2. Nanopartikül Çalışmalarında *Drosophila*

Thomas Hunt Morgan'ın, *D. melanogaster*'i ilk olarak 1960-1990 döneminde bir model organizma olarak kullanmasından (Morgan, 1910) yıllar sonra bu organizmalar bazı insan hastalıkları ve toksikoloji çalışmalarını araştırmak için model organizma olarak kullanılmaya devam etmiştir (Pandey ve Nichols, 2011). 2010 yılında, *Drosophila*'nın yaklaşık 40-60 günlük kısa bir yaşam süresine sahip olması ve toksikoloji çalışmalarına elverişli bir organizma olmasından dolayı Drosophotoxicology terimi ortaya atılmıştır (Rand, 2010). Nanotoksiste, herhangi bir doku veya organ kullanılarak, yetişkin sineklerin çeşitli yaş dönemlerinde genom stabilitesi, gelişimi, üreme ve aktivitesi açısından araştırılması anlamına gelmektedir (Greenspan, 1997). Örneğin, *Drosophila*, gelişimsel ve fiziksel çalışmalarda uygulamalarda, embriyonik aşamada veya larval aşamada hücre tayini ve nöronlarla ilgili toksinleri ve

gelişimsel çalışmaları sergilemek için kullanılabilir. Geç larva ve pupa arasındaki evrelerde, toksinin kurgusal diskleri etkileme şekli, larvadan yetişkin sineklere kadar olan evrelerde son replikasyon ve fizyolojik değişiklikler üzerindeki olumsuz toksik etkileri incelemek için de bir avantajdır (Stocker ve Gallant, 2008; Pandey ve Nichols, 2011). Beyin, kalp, akciğer, böbrek, karaciğer, bağırsak ve üreme yolu gibi yetişkin *Drosophila*'nın bazı organları fiziksel olarak insanlara neredeyse benzerdir. *Drosophila* yağ gövdesi de insan karaciğeriyle aynı işlevlere sahiptir (Pandey ve Nichols, 2011). *Drosophila*'nın trakeal sistemi vücudun her yerinde ayrılmış epitel tüplerinin bölünmüş bir ağından başka bir şey değildir. *Drosophila* ve insan organlarındaki bu özdeş özelliklere bakıldığında, bu organizma Avrupa Merkezi tarafından onaylanan toksikoloji analizinin kabul edilebilir model organizması olabileceğine potansiyeline sahiptir (Ahamed ve ark., 2010). Bunun dışında, bir sonuç olarak, kısa yaşam süresi, yaşam döngüsündeki tanınabilir gelişim aşamaları, iyi bilinen genom dizisi, erişilebilir ekipman ve reaktiflerin *D. melanogaster*'i toksikoloji için etkili bir *in vivo* model organizma haline getirdiğini söyleyebiliriz.

3.3. Nanopartiküllerin Biyolojik Aktivitelerini Anlamak İçin Bir Model Organizma

Model organizmalar, laboratuvarla biyolojik olayları kolayca incelemek için kullanılan insan dışı türlerdir. *Drosophila*, genetik ve gelişim biyolojisindeki en etkili biyolojik model organizmalardan biridir. Bir model organizma olarak *D. melanogaster*'e ait yetişkin sinekler çok küçük olup yaklaşık 3 mm uzunluğundadır ve bu nedenle laboratuvarla kolayca büyüyebilir ve incelenebilirler. Ayrıca çoklu çiftleşme ile çok sayıda yavru üretebilme yeteneğine sahip olan bu organizmalarda dişi sinek bir seferde yaklaşık 400 yumurta bırakabilmektedir. Yaklaşık 14 gün süren kısa bir nesil süresine sahip olan sineklerin embriyoları annenin vücudu dışında büyür, gelişir ve çok hücreli anatomi gelişim aşamalarını incelemeye yardımcı olur. Genom dizisi iyi bilinen bir model organizma olan *Drosophila* 13.600 gen içermektedir (Adams ve ark., 2000) ve birçok hastalık geninin çalışılmasında ve nörotoksikolojiyi anlamada oldukça çok tercih edilen bir organizmadır.

Özetlenecek olursa *Drosophila melanogaster* nanotoksikolojik araştırmaları incelemek için olağanüstü bir model sistem olarak ortaya

çıkıştır. *Drosophila*, 700'den fazla farklı insan genetik hastalığından sorumlu genlerin karşılıklarının *Drosophila*'da bulunması nedeniyle insan hastalıkları için iyi kurulmuş bir böcek modelidir (Vecchio, 2015; Chifiriuc ve ark., 2016). *Drosophila*'da sürünme, beslenme, tırmanma, uçuş, üreme vb. gibi motor ve duyuşsal davranış parametreleri de kolayca değeriendirilebilir. Ayrıca, kısa yaşam döngüsü nedeniyle NP'lerin uzun vadeli etkisinin birkaç nesil boyunca hızlı bir şekilde değeriendirilmesine olanak tanır. Bu nedenle *Drosophila*, NP'lerin *in vivo* değeriendirilmesi için büyük bir potansiyele sahiptir ve bu sayede NP'lerin biyolojik dağılımı, birikimi, metabolizması ve konak organizmadaki immünolojik yönü de dahil olmak üzere gerçek biyolojik etkileşimi ve kaderi hakkında bilgi sağlar (Chifiriuc ve ark., 2015).

Son birkaç on yılda *Drosophila*, AgNP, AuNP, karbon bazlı nanomalzemeler, silika nanopartiküller (SiO_2) ve kuantum noktaları vb. dahil olmak üzere çeşitli NP'lerin nanotoksikolojik çalışmalarını araştırmak için model organizma olarak başarıyla kullanılmıştır (Ahamed ve ark., 2010a; Avalos ve ark., 2015; Raj ve ark., 2017a; Vecchio, 2015). *Drosophila*'da, NP maruziyetinin gelişim, hayatta kalma, davranış, üreme yeteneği, metabolizma, immünolojik yön vb. gibi önemli yönler üzerindeki etkisini araştırmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Çok sayıda çalışma, NP'ün diyetle alınmasının *Drosophila*'da yumurtadan pupaya ve pupadan yetişkin aşamasına ilerlemeyi geciktirerek gelişimsel ilerlemeyi engellediğini göstermiştir (Key ve ark., 2011; Panacek ve ark., 2011; Armstrong ve ark., 2013).

Erken larval evrede AgNP'lerin yutulmasının gelişimsel büyüme ve zamanda gecikmeye neden olduğu gösterilmiştir (Key ve ark., 2011; Panacek ve ark., 2011). İlginç bir şekilde, *Drosophila* ile ilgili *in vivo* raporların çoğu, erken larval evrede NP alımının yetişkin evrede yutulmaya kıyasla daha fazla ölümcüllüğe neden olduğunu öne sürmektedir (Key ve ark., 2011; Panacek ve ark., 2011; Vecchio, 2015; Raj ve ark., 2017a). Buna karşılık, dokulara dahil edilmesine rağmen, larval evrede fulleren (C60), karbon siyahı (CB) veya tek duvarlı veya çok duvarlı nanotüplerin (SWNT, MWNT) diyetle alımının yumurtadan yetişkine sağ kalım üzerinde tespit edilebilir bir etki göstermediği bildirilmiştir. Ancak yetişkinlerin bu nanokarbonlara maruz kalması hareket fonksiyonunda bozulmaya ve ölüm oranına neden olmuştur (Liu ve ark., 2009).

Zayıf gelişimsel büyümenin yanı sıra, son araştırmalar AgNP'lerin yutulmasının düşük hayatta kalma oranına, azalmış doğurganlığa, tehlikeye

giren enerjiye, azalmış vücut ağırlığına ve anormal davranışa neden olduğunu da kanıtlamıştır (Key ve ark., 2011; Armstrong ve ark., 2013; Raj ve ark., 2015, 2017b). Ek olarak, demir oksit (Fe_3O_4) ve AgNP'lerin yumurtalık defekti ve yumurta boyutunun küçülmesine neden olarak dişi doğurganlığını tehlikeye attığı bildirilmiştir (Panacek ve ark., 2011; Vecchio, 2015; Chen ve ark., 2015; Raj ve ark., 2017a). Nanometre ölçeğindeki AuNP'lerin ise yaşam süresi, doğurganlık, metabolizma, gen ifadesi vb. üzerinde zararlı etki gösterdiği de rapor edilmiştir. *Drosophila*'da AuNP yutulmasının farklı organlara ve dokulara taşındığı, sineklerin yaşam süresinde ve doğurganlığında azalmaya (Pompa ve ark., 2011) ve gen ifadesinde (Vecchio ve ark., 2012b) ve metabolizmada (Wang ve ark., 2012) bozukluğa neden olduğu kanıtlanmıştır. İlginç bir şekilde, AuNP'ler *Drosophila*'da genotoksosite de göstererek anormal fenotip oluşumuna neden olmuştur (Vecchio ve ark., 2012a).

Son zamanlarda, AuNP'lerin yanı sıra gümüş, QD'ler, ZnO ve kobalt nanopartiküllerinin (CoNP) genotoksik potansiyeli de *Drosophila* kullanılarak araştırılmış olup AuNP'ler ve ZnO'nun bir nesilden diğerine aktarılan mutajenik etkilere neden olduğu saptanmıştır (Vecchio ve ark., 2012a; Anand ve ark., 2017). *Drosophila*'da AgNP'lerin ve CoNP'lerin nanotoksitesini değerlendirmek için kullanılan somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) (Avalos ve ark., 2015) ve kanat lekesi testinde (Vales ve ark., 2013) ise toksik etkilere rastlanmıştır. Larval aşamada yutulan AgNP'lerin, malondialdehit, süperoksit dismutaz, katalaz ve ROS üretimi seviyelerini artırarak oksidatif strese neden olan Hsp70 ekspresyonunu yukarı düzenlediği bildirilmiştir (Ahamed ve ark., 2010a; Raj ve ark., 2017b). Başka bir çalışmada, QD'lerin şiddetli genotoksik etki, apoptozis hızının artması ve ROS oluşumunu tetiklediği kanıtlanmıştır (Galeone ve ark., 2012).

Bazen nanomalzemelerin toksisitesi, kaplamalarına göre de değişiklik gösterebilir. Poli(maleik anhidrit oktadecene) ve polietilen glikol kaplı nanomalzemeler, merkaptonekanoik asit veya poli(maleik anhidrit oktadecene) kaplı nanomalzemelerden daha zehirlidir (Galeone ve ark., 2012). CdSe-ZnS kuantum noktaları, poli(maleik anhidrit oktadecene) ve polietilen glikol ile kaplandıklarından, *Drosophila*'nın hayatta kalma oranını azaltarak *Drosophila* üzerinde toksik etkiler gösterir (Pompa ve ark., 2011). Öte yandan, bazı NP'ler *Drosophila*'da toksik etkiye sebep olmayabilir. Yaklaşık 20 nm silika NP sinekler üzerinde herhangi bir toksik etki göstermezken, galyum fosfitin

(nanoteller) (Barandeh ve ark., 2012; Adolfsson ve ark., 2013) ve Gellan gum-PEI'nin (nanokompozitler) (Goyal ve ark., 2011) neredeyse 80 nm'si bu organizmaların gelişimlerini ve hayatta kalma oranlarını düşürmez.

Son olarak NP'ler solunum yoluyla da toksisteye neden olarak hedef doku ve organlara ulaşabilir. Küçük NP'ler, küresel açık alanlardan nebülizatör tabanlı bir teknikle *Drosophila*'ya girebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, 24 nm, 100 nm ve 210 nm boyutlu FluoSpheres ve 20 nm gümüş gibi bazı spesifik NP'lerin *Drosophila*'nın solunum sistemine transfer edilebileceğini göstermiştir ve bu, NP inhalasyon tekniğinin insana yönelik birincil analizi olarak da düşünülebilir. Tüm bu çalışmalar ışığında *Drosophila*'nın nanomalzeme çalışmalarında etkili bir model organizma olduğunu ve günümüzde de bu araştırmalarda kullanılmak üzere çok tercih edildiğini söyleyebiliriz.

SONUÇ

Nanoteknoloji, alışılmadık özelliklere sahip ve son derece gelişmiş tüketici ürünleri üretme ve tıbbi alanın çeşitli alanlarında devrim yaratma yeteneğine sahip yüzyılın büyük bir atılımıdır. Nanoteknoloji, maliyetinde çok fazla artış olmadan tüketici mallarının kalitesini ve yaşam süresini önemli ölçüde iyileştirebilir ve benzer şekilde; hastalıkların teşhis ve tedavi edilme şeklini değiştirebilir. NP'lerin çoğu günlük yaşamın bir parçası haline geldi; ancak, olağanüstü potansiyellerine rağmen, insan üzerindeki etkileriyle ilgili en büyük endişe, boyutları, şekilleri, dozajları, vücut içinde yayılma kabiliyetleri ve çözünürlükleridir.

NP'ler sayısız faydalarına rağmen, farklı dokularda birikebilir ve dokulara zarar verebilirler. Bu nedenle, NP'lerin fizikokimyasal özelliklerinin ve dozajının sistematik bir şekilde değerlendirilmesi, tüketici ürünlerine dahil edilmeden önce zorunludur ve bu tespitler NP'lerden en iyi şekilde yararlanmayı sağlayacaktır. Ancak, uygun bir araştırma için ve memeli sistemiyle ilgili etik endişelerin ve sınırlamaların üstesinden gelmek için, NP'lerin canlı üzerindeki etkisini değerlendirmek açısından çeşitli model sistemleri kullanılarak çeşitli biyolojik varlıklar üzerindeki etkileri bir bütün olarak değerlendirilebilir. Bu bağlamda tüketici malları ve biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılan NP'lerin *Drosophila melanogaster*

üzerindeki etkilerini değerlendirmek hem toksisite açısından hem de insan sağlığı bakımından fikir yürütmek adına önemli bir adım olacaktır.

Son olarak, *Drosophila* ile insan arasında yüksek yapısal homoloji ve genetik benzerlik olsa bile, nanotoksikoloji bulgularını nanomalzemenin insan sağlığı üzerindeki etkilerine çevirmek hala zorlayıcıdır. Bununla birlikte, *Drosophila* modelindeki nanotoksikolojik çalışmalar, nanotoksisite etkilerinin canlı organizmada anlaşılması için önemli bir adımdır ve memeli sistemlerinde çalışan araştırmacılar için paradigmlar sağlayabilir. Nanotoksitenin tüm organizmalar üzerindeki etkileri hakkında elde edilen temel yeni bilginin nanotoksikolojinin genel alanını ilerletmesi beklenmektedir. Özetle, *Drosophila*, nanomalzemelerin olası olumsuz etkilerinin hızlı bir şekilde değerlendirilmesi için hızlı, güvenilir, sağlam ve maliyet açısından verimli bir *in vivo* modeli olarak kullanılabilir. Birlikte ele alındığında, *Drosophila*, nanotoksisteyi *in vivo* değerlendirmek ve incelemek için mükemmel bir model organizma olarak hizmet edebilir ve bu nedenle bu minik organizmanın gelecekte nanotoksitenin incelenmesinde sınırsız olanaklar sunacağına inanılmaktadır.

KAYNAKÇA

- Adolfsson, K., Schneider, M., Hammarin, G., Häcker, U., & Prinz, C. N. (2013). Ingestion of gallium phosphide nanowires has no adverse effect on *Drosophila* tissue function. *Nanotechnology*, 24(28), 285101.
- Agnihotri, R., Gaur, S., & Albin, S. (2020). Nanometals in dentistry: Applications and toxicological implications—A systematic review. *Biological Trace Element Research*, 197(1), 70-88.
- Ahamed, M., Posgai, R., Gorey, T. J., Nielsen, M., Hussain, S. M., & Rowe, J. J. (2010). Silver nanoparticles induced heat shock protein 70, oxidative stress and apoptosis in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology and applied pharmacology*, 242(3), 263-269.
- Altın, A., Atalay, H., & Bilal, T. (2018). Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(1), 51-55.
- Ameh, T., & Sayes, C. M. (2019). The potential exposure and hazards of copper nanoparticles: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 71, 103220.
- Anand, A. S., Prasad, D. N., Singh, S. B., & Kohli, E. (2017). Chronic exposure of zinc oxide nanoparticles causes deviant phenotype in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Hazardous Materials*, 327, 180-186.
- Andersen, M. L., & Winter, L. M. (2017). Animal models in biological and biomedical research-experimental and ethical concerns. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(suppl 1), e20170238.
- Arias, L. S., Pessan, J. P., Vieira, A. P. M., Lima, T. M. T. D., Delbem, A. C. B., & Monteiro, D. R. (2018). Iron oxide nanoparticles for biomedical applications: a perspective on synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity. *Antibiotics*, 7(2), 46.
- Armstrong, N., Ramamoorthy, M., Lyon, D., Jones, K., & Duttaroy, A. (2013). Mechanism of silver nanoparticles action on insect pigmentation reveals intervention of copper homeostasis. *PloS one*, 8(1), e53186.
- Ávalos, A., Haza, A. I., & Morales, P. (2015). Manufactured silver nanoparticles of different sizes induced DNA strand breaks and oxidative DNA damage in hepatoma and leukaemia cells and in dermal and pulmonary fibroblasts. *Folia Biologica*, 61(1), 33.

- Banumathi, B., Vaseeharan, B., Ishwarya, R., Govindarajan, M., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., ... & Benelli, G. (2017). Toxicity of herbal extracts used in ethno-veterinary medicine and green-encapsulated ZnO nanoparticles against *Aedes aegypti* and microbial pathogens. *Parasitology research*, 116, 1637-1651.
- Banumathi, B., Vaseeharan, B., Rajasekar, P., Prabhu, N. M., Ramasamy, P., Murugan, K., ... & Benelli, G. (2017). Exploitation of chemical, herbal and nanoformulated acaricides to control the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*—A review. *Veterinary parasitology*, 244, 102-110.
- Banumathi, B., Vaseeharan, B., Suganya, P., Citarasu, T., Govindarajan, M., Alharbi, N. S., ... & Benelli, G. (2017). Toxicity of *Camellia sinensis*-fabricated silver nanoparticles on invertebrate and vertebrate organisms: morphological abnormalities and DNA damages. *Journal of Cluster Science*, 28, 2027-2040.
- Baran, A., Fırat Baran, M., Keskin, C., Hatipoğlu, A., Yavuz, Ö., İrtegin Kandemir, S., ... & Eftekhari, A. (2022). Investigation of antimicrobial and cytotoxic properties and specification of silver nanoparticles (AgNPs) derived from *Cicer arietinum* L. green leaf extract. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 855136.
- Baran, A., Keskin, C., Baran, M. F., Huseynova, I., Khalilov, R., Eftekhari, A., ... & Kavak, D. E. (2021). Ecofriendly synthesis of silver nanoparticles using ananas comosus fruit peels: anticancer and antimicrobial activities. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2021(1), 2058149.
- Barandeh, F., Nguyen, P. L., Kumar, R., Iacobucci, G. J., Kuznicki, M. L., Kosterman, A., ... & Gunawardena, S. (2012). Organically modified silica nanoparticles are biocompatible and can be targeted to neurons in vivo. *PloS one*, 7(1), e29424.
- Behzadi, S., Serpooshan, V., Tao, W., Hamaly, M. A., Alkawareek, M. Y., Dreaden, E. C., ... & Mahmoudi, M. (2017). Cellular uptake of nanoparticles: journey inside the cell. *Chemical society reviews*, 46(14), 4218-4244.
- Benelli, G. (2016). Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. *Parasitology research*, 115(1), 23-34.

- Benelli, G. (2018). Mode of action of nanoparticles against insects. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(13), 12329-12341.
- Beykaya, M., & Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(3), 631-641.
- Borm, P. J., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., ... & Oberdorster, E. (2006). The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and fibre toxicology*, 3, 1-35.
- Capo, F., Wilson, A., & Di Cara, F. (2019). The intestine of *Drosophila melanogaster*: An emerging versatile model system to study intestinal epithelial homeostasis and host-microbial interactions in humans. *Microorganisms*, 7(9), 336.
- Cassee, F. R., Muijsers, H., Duistermaat, E., Freijer, J. J., Geerse, K. B., Marijnissen, J. C., & Arts, J. H. (2002). Particle size-dependent total mass deposition in lungs determines inhalation toxicity of cadmium chloride aerosols in rats. Application of a multiple path dosimetry model. *Archives of toxicology*, 76, 277-286.
- Chang, X., Wang, X., Li, J., Shang, M., Niu, S., Zhang, W., ... & Xue, Y. (2021). Silver nanoparticles induced cytotoxicity in HT22 cells through autophagy and apoptosis via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208, 111696.
- Chen, H., Wang, B., Feng, W., Du, W., Ouyang, H., Chai, Z., & Bi, X. (2015). Oral magnetite nanoparticles disturb the development of *Drosophila melanogaster* from oogenesis to adult emergence. *Nanotoxicology*, 9(3), 302-312.
- Chen, H., Wang, B., Feng, W., Du, W., Ouyang, H., Chai, Z., & Bi, X. (2015). Oral magnetite nanoparticles disturb the development of *Drosophila melanogaster* from oogenesis to adult emergence. *Nanotoxicology*, 9(3), 302-312.
- Chien, S., Reiter, L. T., Bier, E., & Gribskov, M. (2002). Homophila: human disease gene cognates in *Drosophila*. *Nucleic acids research*, 30(1), 149-151.

- Chifiriuc, M. C., Ratiu, A. C., Popa, M., & Ecovoiu, A. A. (2016). Drosophotoxycology: an emerging research area for assessing nanoparticles interaction with living organisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2), 36.
- Chusyd, D. E., Wang, D., Huffman, D. M., & Nagy, T. R. (2016). Relationships between rodent white adipose fat pads and human white adipose fat depots. *Frontiers in nutrition*, 3, 10.
- Ciğerci, İ. H., Liman, R., İstifli, E. S., Akyıl, D., Özkara, A., Bonciu, E., & Colă, F. (2023). Cyto-genotoxic and behavioral effects of flubendiamide in *Allium cepa* root cells, *Drosophila melanogaster* and molecular docking studies. *International journal of molecular sciences*, 24(2), 1565.
- Colombani, J., Raisin, S., Pantalacci, S., Radimerski, T., Montagne, J., & Léopold, P. (2003). A nutrient sensor mechanism controls *Drosophila* growth. *Cell*, 114(6), 739-749.
- 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.
- Davies, G., Gorman, R., Greenhough, B., Hobson-West, P., Kirk, R. G., Myelnikov, D., ... & Skidmore, T. (2020). Animal research nexus: a new approach to the connections between science, health and animal welfare. *Medical Humanities*, 46(4), 499-511.
- Dziewięcka, M., Karpeta-Kaczmarek, J., Augustyniak, M., Majchrzycki, Ł., & Augustyniak-Jabłokow, M. A. (2016). Evaluation of in vivo graphene oxide toxicity for *Acheta domesticus* in relation to nanomaterial purity and time passed from the exposure. *Journal of hazardous materials*, 305, 30-40.
- Eraslan, T. (2020). *Daphne Oleoidesden Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi* (Master's thesis, Necmettin Erbakan University (Turkey)).
- Erol, I., Cigerci, I. H., Özkara, A., Akyıl, D., & Aksu, M. (2022). Synthesis of *Moringa oleifera* coated silver-containing nanocomposites of a new methacrylate polymer having pendant fluoroaryketone by hydrothermal technique and investigation of thermal, optical, dielectric and biological

- properties. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 33(10), 1231-1255.
- Feng, H., Pyykkö, I., & Zou, J. (2015). Hyaluronan up-regulation is linked to renal dysfunction and hearing loss induced by silver nanoparticles. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 272, 2629-2642.
- Fernández-Moreno, M. A., Farr, C. L., Kaguni, L. S., & Garesse, R. (2007). *Drosophila melanogaster* as a model system to study mitochondrial biology. *Mitochondria: Practical Protocols*, 33-49.
- Freseigna, A. M., Ursini, C. L., Ciervo, A., Maiello, R., Casciardi, S., Iavicoli, S., & Cavallo, D. (2021). Assessment of the influence of crystalline form on cyto-genotoxic and inflammatory effects induced by TiO₂ nanoparticles on human bronchial and alveolar cells. *Nanomaterials*, 11(1), 253.
- Galeone, A., Vecchio, G., Malvindi, M. A., Brunetti, V., Cingolani, R., & Pompa, P. P. (2012). In vivo assessment of CdSe–ZnS quantum dots: coating dependent bioaccumulation and genotoxicity. *Nanoscale*, 4(20), 6401-6407.
- Garc a-Bellido, A., Lawrence, P. A., & Morata, G. (1979). Compartments in animal development. *Scientific American*, 241(1), 102-111.
- Gatoo, M. A., Naseem, S., Arfat, M. Y., Mahmood Dar, A., Qasim, K., & Zubair, S. (2014). Physicochemical properties of nanomaterials: implication in associated toxic manifestations. *BioMed research international*, 2014(1), 498420.
- Ghazanfari, M. R., Kashefi, M., Shams, S. F., & Jaafari, M. R. (2016). Perspective of Fe₃O₄ nanoparticles role in biomedical applications. *Biochemistry research international*, 2016(1), 7840161.
- Goyal, R., Tripathi, S. K., Tyagi, S., Ram, K. R., Ansari, K. M., Kumar, P., ... & Gupta, K. C. (2011). Gellan gum-PEI nanocomposites as efficient gene delivery agents. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 7(1), 38-39.
- Greenspan, R. J., & Spradling, A. C. (1997). Fly pushing: The theory and practice of *Drosophila* genetics. *Trends in Genetics*, 13(10), 418.

- Guan, H., Chi, D., Yu, J., & Li, X. (2008). A novel photodegradable insecticide: Preparation, characterization and properties evaluation of nano-Imidacloprid. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92(2), 83-91.
- Hajiyeva, A., Mamedov, C., Gasimov, E., Rzayev, F., Khalilov, R., Ahmadian, E., ... & Cho, W. C. (2023). Ultrastructural characteristics of the accumulation of iron nanoparticles in the intestine of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) under aquaculture. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 264, 115477.
- Hartung, T. (2008). Thoughts on limitations of animal models. *Parkinsonism & related disorders*, 14, S81-S83.
- Hobson-West, P., & Davies, A. (2018). Societal sentience: constructions of the public in animal research policy and practice. *Science, technology, & human values*, 43(4), 671-693.
- Huang, Y. W., Wu, C. H., & Aronstam, R. S. (2010). Toxicity of transition metal oxide nanoparticles: recent insights from in vitro studies. *Materials*, 3(10), 4842-4859.
- Kalimuthu, K., Panneerselvam, C., Chou, C., Tseng, L. C., Murugan, K., Tsai, K. H., ... & Benelli, G. (2017). Control of dengue and Zika virus vector *Aedes aegypti* using the predatory copepod *Megacyclops formosanus*: synergy with *Hedychium coronarium*-synthesized silver nanoparticles and related histological changes in targeted mosquitoes. *Process Safety and Environmental Protection*, 109, 82-96.
- Katz, E. (2019). Synthesis, properties and applications of magnetic nanoparticles and nanowires—A brief introduction. *Magnetochemistry*, 5(4), 61.
- Kettering, M., Zorn, H., Bremer-Streck, S., Oehring, H., Zeisberger, M., Bergemann, C., ... & Hilger, I. (2009). Characterization of iron oxide nanoparticles adsorbed with cisplatin for biomedical applications. *Physics in Medicine & Biology*, 54(17), 5109.
- Key, S. C. S., Reaves, D., Turner, F., & Bang, J. J. (2011). Impacts of silver nanoparticle ingestion on pigmentation and developmental progression in *Drosophila*. *Atlas journal of biology*, 1(3), 52-61.
- 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.
- Korani, M., Rezayat, S. M., & Bidgoli, S. A. (2013). Sub-chronic dermal toxicity of silver nanoparticles in guinea pig: special emphasis to heart, bone and kidney toxicities. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12(3), 511.
- Kuku, G., & Culha, M. (2017). Investigating the origins of toxic response in TiO₂ nanoparticle-treated cells. *Nanomaterials*, 7(4), 83.
- Lee, K. H., Lee, D. W., & Kang, B. C. (2020). The ‘R’ principles in laboratory animal experiments. *Laboratory Animal Research*, 36, 1-3.
- Lempesis, I. G., Tsilingiris, D., Liu, J., & Dalamaga, M. (2022). Of mice and men: Considerations on adipose tissue physiology in animal models of obesity and human studies. *Metabolism open*, 15, 100208.
- Liu, G., Gao, J., Ai, H., & Chen, X. (2013). Applications and potential toxicity of magnetic iron oxide nanoparticles. *Small*, 9(9-10), 1533-1545.
- Liu, X., Vinson, D., Abt, D., Hurt, R. H., & Rand, D. M. (2009). Differential toxicity of carbon nanomaterials in *Drosophila*: larval dietary uptake is benign, but adult exposure causes locomotor impairment and mortality. *Environmental science & technology*, 43(16), 6357-6363.
- Ma, Y., Bao, J., Zhang, Y., Li, Z., Zhou, X., Wan, C., ... & Xue, T. (2019). Mammalian near-infrared image vision through injectable and self-powered retinal nanoantennae. *Cell*, 177(2), 243-255.
- Magaye, R., Zhao, J., Bowman, L., & Ding, M. I. N. (2012). Genotoxicity and carcinogenicity of cobalt-, nickel-and copper-based nanoparticles. *Experimental and therapeutic medicine*, 4(4), 551-561.
- Markow, T. A. (2015). The secret lives of *Drosophila* flies. *elife*, 4, e06793.
- Mecwan, M., Das, M., Thakore, S., & Bakshi, S. R. (2021). In-vitro study on genotoxicity of green synthesized silver nanoparticles. *Nano Biomedicine and Engineering*, 13(1), 72-81.
- Miller, M. R., Raftis, J. B., Langrish, J. P., McLean, S. G., Samutrtai, P., Connell, S. P., ... & Mills, N. L. (2017). Inhaled nanoparticles accumulate at sites of vascular disease. *ACS nano*, 11(5), 4542-4552.
- Mommaerts, V., Jodko, K., Thomassen, L. C., Martens, J. A., Kirsch-Volders, M., & Smagghe, G. (2012). Assessment of side-effects by Ludox TMA

- silica nanoparticles following a dietary exposure on the bumblebee *Bombus terrestris*. *Nanotoxicology*, 6(5), 554-561.
- Morgan, T. H. (1910). Sex limited inheritance in *Drosophila*. *Science*, 32(812), 120-122.
- Muoth, C., Aengenheister, L., Kucki, M., Wick, P., & Buerki-Thurnherr, T. (2016). Nanoparticle transport across the placental barrier: pushing the field forward!. *Nanomedicine*, 11(8), 941-957.
- Nel, A., Xia, T., Madler, L., & Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *science*, 311(5761), 622-627.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., & Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental health perspectives*, 113(7), 823-839.
- Özdemir, S., Girgin, S., Şeşen, Ö., Akyl, D., Özkara, A., Çiğerci, İ. H., & Çilek, M. F. (2024). Evaluation of the effects of imazalil on genotoxicity and behavioral toxicity in *drosophila melanogaster*.
- Panacek, A., Prucek, R., Safarova, D., Dittrich, M., Richtrova, J., Benickova, K., ... & Kvitek, L. (2011). Acute and chronic toxicity effects of silver nanoparticles (NPs) on *Drosophila melanogaster*. *Environmental science & technology*, 45(11), 4974-4979.
- Pandey, U. B., Nichols, C. D., & Barker, E. L. (2011). Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological reviews*, 63(2), 411-436.
- Pompa, P. P., Vecchio, G., Galeone, A., Brunetti, V., Sabella, S., Maiorano, G., ... & Cingolani, R. (2011). In vivo toxicity assessment of gold nanoparticles in *Drosophila melanogaster*. *Nano Research*, 4, 405-413.
- Poon, V. K., & Burd, A. (2004). In vitro cytotoxicity of silver: implication for clinical wound care. *Burns*, 30(2), 140-147.
- Qiao, R., Fu, C., Forgham, H., Javed, I., Huang, X., Zhu, J., ... & Davis, T. P. (2023). Magnetic iron oxide nanoparticles for brain imaging and drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 197, 114822.
- Raesian, A., Arbabi Bidgoli, S., & Rezayat Sorkhabadi, S. M. (2017). Dermal toxicity of colloidal nanosilver in albino rabbit: a new approach to physicochemical properties. *Nanomedicine Research Journal*, 2(3), 142-149.

- Raj, A., Shah, P., & Agrawal, N. (2017). Dose-dependent effect of silver nanoparticles (AgNPs) on fertility and survival of *Drosophila*: An in-vivo study. *PLoS One*, 12(5), e0178051.
- Raj, A., Shah, P., & Agrawal, N. (2017). Sedentary behavior and altered metabolic activity by AgNPs ingestion in *Drosophila melanogaster*. *Scientific reports*, 7(1), 15617.
- Rand, M. D. (2010). Drosophotoxicology: the growing potential for *Drosophila* in neurotoxicology. *Neurotoxicology and teratology*, 32(1), 74-83.
- Rehn, B., Seiler, F., Rehn, S., Bruch, J., & Maier, M. (2003). Investigations on the inflammatory and genotoxic lung effects of two types of titanium dioxide: untreated and surface treated. *Toxicology and applied pharmacology*, 189(2), 84-95.
- Rim, K. T., Song, S. W., & Kim, H. Y. (2013). Oxidative DNA damage from nanoparticle exposure and its application to workers' health: a literature review. *Safety and health at work*, 4(4), 177-186.
- Schneider, G. (2017). Antimicrobial silver nanoparticles—regulatory situation in the European Union. *Materials Today: Proceedings*, 4, S200-S207.
- Singh, N., Jenkins, G. J., Asadi, R., & Doak, S. H. (2010). Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano reviews*, 1(1), 5358.
- Sonavane, G., Tomoda, K., Makino, K., 2008. Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: effect of particle size. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 66 (2), 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.07.004>.
- Soukas A, Cohen P, Socci ND, Friedman JM Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue. *Genes Dev* 2000; 14: 963–80.
- Stocker, H., & Gallant, P. (2008). Getting started: an overview on raising and handling *Drosophila*. *Drosophila: methods and protocols*, 27-44.
- Sundararajan, B., & Kumari, B. R. (2017). Novel synthesis of gold nanoparticles using *Artemisia vulgaris* L. leaf extract and their efficacy of larvicidal activity against dengue fever vector *Aedes aegypti* L. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 43, 187-196.
- Tolwinski, N. S. (2017). Introduction: *Drosophila*—A model system for developmental biology. *Journal of developmental biology*, 5(3), 9.

- Ugur, B., Chen, K., & Bellen, H. J. (2016). Drosophila tools and assays for the study of human diseases. *Disease models & mechanisms*, 9(3), 235-244.
- Vales, G., Demir, E., Kaya, B., Creus, A., & Marcos, R. (2013). Genotoxicity of cobalt nanoparticles and ions in Drosophila. *Nanotoxicology*, 7(4), 462-468.
- Van der Zande, M., Vandebruel, R. J., Van Doren, E., Kramer, E., Herrera Rivera, Z., Serrano-Rojero, C. S., ... & Bouwmeester, H. (2012). Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure. *ACS nano*, 6(8), 7427-7442.
- 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.
- Vangijzegem, T., Stanicki, D., & Laurent, S. (2019). Magnetic iron oxide nanoparticles for drug delivery: applications and characteristics. *Expert opinion on drug delivery*, 16(1), 69-78.
- Vecchio, G. (2015). A fruit fly in the nanoworld: once again Drosophila contributes to environment and human health. *Nanotoxicology*, 9(2), 135-137.
- Vecchio, G., Galeone, A., Brunetti, V., Maiorano, G., Rizzello, L., Sabella, S., ... & Pompa, P. P. (2012). Mutagenic effects of gold nanoparticles induce aberrant phenotypes in Drosophila melanogaster. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8(1), 1-7.
- Vecchio, G., Galeone, A., Brunetti, V., Maiorano, G., Sabella, S., Cingolani, R., & Pompa, P. P. (2012). Concentration-dependent, size-independent toxicity of citrate capped AuNPs in Drosophila melanogaster. *PLoS One*, 7(1), e29980.
- Wang, M., Lai, X., Shao, L., & Li, L. (2018). Evaluation of immunoresponses and cytotoxicity from skin exposure to metallic nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 4445-4459.
- Wolpert, L., Tickle, C., & Arias, A. M. (2015). *Principles of development*. Oxford University Press, USA.

BÖLÜM 5

NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİKOLOJİ MEKANİZMALARI

Yüksek Lisans Öğrencisi Mustafa BAYANSU¹,
Doç. Dr. Arzu ÖZKARA²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16378332>

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyon Türkiye, e-mail: mustafabayansul@gmail.com ORCID ID: 0009-0009-2829-549X

² 1Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyon Türkiye, e-mail: arzuozkara@gmail.com ORCID ID: 0000-0002-7815-5366

GİRİŞ

Son günlerde, nanoteknoloji alanında devrim niteliğindeki gelişmeler ve günlük hayatımızda ortaya çıkan yeni ve farklı uygulamalar sebebiyle araştırmacılar tarafından nanopartiküllerin (NP'ler) aktiviteleri, kökenleri ve biyolojik toksisiteleri üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Nanoteknoloji, yirminci yüzyıldan beri bilim dünyasında ilgi odağı haline gelen bir teknoloji olup "nano" kelimesi Latince bir kelimedenden türetilmiştir ve "cüce" anlamına gelmektedir. Nano ölçekli malzemelerin üretimi, nanoteknoloji alanında önemli yenilikçi gelişmeler olarak kabul edilmektedir. Nanoyapılar önemli ölçüde yenilikçi bir yaklaşımdır ve üstün fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler göstermekte olup küçük boyutları sayesinde önem kazanmışlardır (Kumar ve ark., 2011). NP'ler fiziksel maddeyi atomik ve moleküler bir bakış açısıyla ölçme ve etkileme özelliklerine sahip oldukları için geçen yüzyıldan beri yaygın bir şekilde kullanılmakta ve büyük bilimsel ilgi görmektedir. NP'ler genellikle metal iyonları, kimyasal yüzey aktif maddeler, polimerler ve daha küçük moleküllerle kaplanmakta olup bu özelliklerinden dolayı eşsiz bir yapıya sahip olmalarına rağmen, günümüzde hem çevre hem de insan sağlığı açısından toksisitelerinin değerlendirilmesi bir gereklilik haline gelmiştir. Bu küçük moleküllerin toksisite etkilerine ilişkin araştırmalar kısıtlı sayıdadır ve son yıllarda bu konu ile ilgili çalışmalar artış göstermiştir (Ai ve ark., 2011). Bu bölümde son yıllarda pek çok alanda yaygın kullanım alanına sahip olan NP'lerin sınıflandırılmaları, biyolojik sistemlerle etkileşimleri ve toksikoloji mekanizmaları üzerinde durulacaktır.

1. NANOPARTİKÜLLERİN SINIFLANDIRILMASI

NP'ler, daha büyük boyutlardaki benzerlerine kıyasla farklı fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptir. Artan kimyasal reaktivite veya kararlılık, hacme göre daha büyük bir yüzey alanı, daha fazla mekanik mukavemet gibi özellikler bu etkiye katkıda bulunmaktadır. NP'ler bu özellikleri nedeniyle birçok alanda kullanım alanı bulmuştur. Nanonoktalar ve kümeler gibi NP'ler, üç uzamsal boyutu da nanometrik aralık içindeyse sıfır boyuta sahip olabilmektedir (Yang ve ark., 2021). NP'ler çok çeşitli boyutlarda, şekillerde ve bileşimlerde olabilmektedirler. Boyutları 1 ila 100 nm arasındadır ve şekilleri; küresel, silindirik, boru, konik, içi boş, çekirdekli, spiral ve düz olarak tanımlanabilir. Yüzeyleri pürüzsüz ve homojen veya düzensiz ve dalgalı

olabilir. Bazı NP'lerin, dağılmış veya toplanmış tek veya çok kristalli katılar içeren kristalin veya amorf bir yapıya sahip olduğu bilinmektedir (Machado, 2015). Bütün bu özellikleri göz önünde bulundurularak NP'ler farklı sınıflandırmalara tabii tutulmaktadırlar. Bu bölümde NP'lerin yapılarına göre sınıflandırılmaları verilmektedir.

NP'ler çok farklı sınıflara tabi tutulmakla birlikte yapılarına göre; inorganik, karbon bazlı ve organik NP'ler olarak sınıflandırılmaktadırlar (Zahoor ve ark., 2021)

1.1. İnorganik Bazlı Nanopartiküller

Bileşiminde karbon atomu bulunmayan metal oksit ve metal bazlı nano boyutlu parçacıklar gibi NP'ler inorganik NP'ler olarak sınıflandırılmaktadırlar.

1.2. Metal Nanopartiküller

Kadmiyum (Cd), alüminyum (Al), bakır (Cu), kobalt (Co), altın (Au), demir (Fe), gümüş (Ag), çinko (Zn) ve kurşun (Pb) gibi metaller bu kategoriye girmektedirler. Genişletilmiş yüzey alanı, gözenek boyutu, yüzeydeki yük yoğunluğu, silindirik ve küresel şekil, renk, amorf ve kristal yapılar dahil olmak üzere boyutlarına ve özelliklerine göre benzersiz özelliklere sahiptirler. Hava, ısı, güneş ışığı ve nem gibi çevresel faktörler de NP'lerin özelliklerini etkilemektedir. Metal NP'lerin sınıflandırılması ve fiziko-kimyasal özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Metal NP'lerin sınıflandırılması ve fiziko-kimyasal özellikleri.

NP Türü	Bildirilen Fizyo-Kimyasal Özellikler	Referanslar
Çinko NP	Antifungal, antibakteriyel, antikorozyf, UV filtreleme	(Ali ve ark. 2018)
Lider NP	Reaktif, yüksek toksisiteli, oldukça kararlı	(Hasan ve ark. 2020)
Bakır NP	Son derece yanıcı katılar, çok yüksek elektriksel, termal iletkenlik	(Sarwar ve ark. 2021)

NP Türü	Bildirilen Fizyo-Kimyasal Özellikler	Referanslar
Kadmiyum NP	Çözünmeyen, elektriğin yarı iletkeni	(Tiwary ve ark. 2021)
Altın NP	Reaktif, görünür ışıkla etkileşimli	(Jena ve ark. 2020)
Kobalt NP	Manyetik, toksik, mikrodalgayı emer, kararsız	(Xu ve ark. 2020)
Gümüş NP	Dezenfektan, antibakteriyel, ışığı emer ve dağıtır, kararlı	(Tanaka ve ark. 2020)
Alüminyum NP	Geniş yüzey alanı, yüksek reaktivite, güneş ışığına, ısıya, neme karşı hassas	(Shi ve ark. 2020)
Demir NP	Suya ve havaya duyarlı (O_2), reaktif, kararsız	(Harshiny ve ark. 2015)

1.3. Metal Oksit Nanopartikülleri

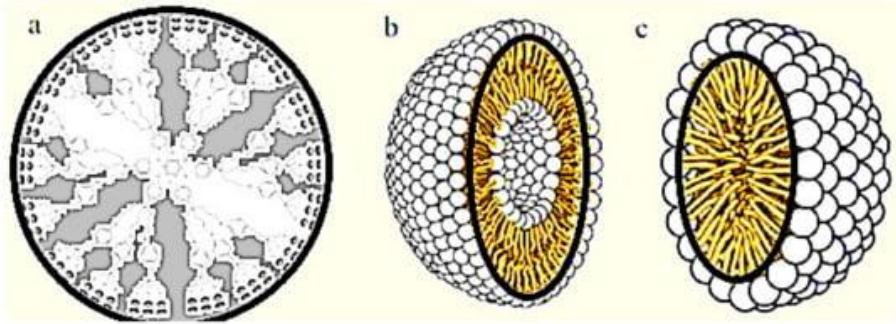
Bazı metallerin oksit oluşturma eğilimleri daha yüksek olduğundan, özelliklerini geliştirmek amacıyla oksitleri hazırlanmaktadır (Tablo 2). Oda sıcaklığında oksijen (O_2) varlığında demir, FeNP'lerine kıyasla daha iyi reaktif özelliklere sahip demir oksit (Fe_2O_3) oluşturmak üzere aniden oksitlenmektedir. Titanyum oksit (TiO_2), silisyum oksit (SiO_2), çinko oksit (ZnO), manyetik demir cevheri (FeO_4), demir oksit (FeO_3), alüminyum oksit (Al_2O_3) ve seryum oksit (CeO_2) gibi gelişmiş özelliklere, verimliliğe ve daha yüksek metal oksit reaktivitesine sahip NP'ler sentezlenebilmektedir. Liu ve arkadaşları (2020), bu tür NP'lerin metal NP'lerine göre daha olağanüstü özelliklere sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Tablo 2. Metal oksit NP’lerin sınıflandırılması ve fiziko-kimyasal özellikleri.

NP Türü	Bildirilen Fizyo-Kimyasal Özellikler	Referanslar
Alüminyum oksit NP	Geniş yüzey alanı, artan reaktivite, güneş ışığına, neme, ısıya duyarlılık	(Yu ve ark. 2020)
Çinko oksit NP	UV filtreleme, antibakteriyel, korozyon önleyici, antifungal	(Sharma ve ark. 2020)
Seryum oksit NP	Düşük indirgeme potansiyeli, antioksidan aktivite	(Singh ve ark. 2020)
Manyetit NP	Çok reaktif, manyetik	(Das ve ark. 2020)
Silisyum dioksit NP	Daha az toksik, kararlı, birçok molekülü işlevselleştirme yeteneğine sahip	(Cheira 2020)
Demir oksit NP	Kararsız, reaktif	(Giannakis ve ark. 2017)
Titanyum oksit NP	Manyetik karakter bakteri büyümesini engeller, yüksek yüzey alanı	(Laad ve Jatti 2018)

1.4. Organik Bazlı Nanopartiküller

Organik bazlı NP’ler tehlikesiz ve çevre dostudur, ayrıca nanokapsüller olarak da adlandırılmaktadırlar (Şekil 1). Ferritin, lipozomlar, miseller ve dendrimerler, ışığa ve ısıya maruz kaldıklarında yüksek hassasiyete sahip polimerler veya organik nano boyutlu parçacıklardır. Bu belirgin özellikler nedeniyle, araştırmacılar için ilaç dağıtımında organik bazlı NP’leri tercih etmek çok daha iyi bir alternatif olarak kabul edilmektedir. Stabilitesi, ilaç taşıma kabiliyeti ve ilaç özgüllüğünü adsorbe etme veya hapsetme özellikleri, onları bir ilacın aktif bileşenlerini dağıtmak için etkili ve potansiyel araçlar yapmaktadır. Bu NP’ler kendine özgü yüzey morfolojisine, boyuta, şekle ve bileşime sahiptir. Organik NP’ler, aktif bileşenleri hedeflenen ilaç dağıtım sistemi içindeki belirli etki bölgesine iletmek için kullanılmaktadırlar (El-Sayed, 2020).



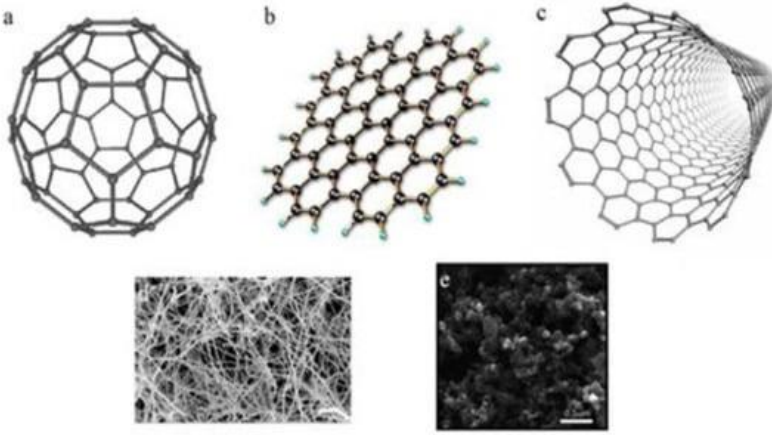
Şekil 1. Bazı organik NP'lerin yapıları (a) dendrimerler, (b) lipozomlar, (c) misel.

1.5. Karbon Bazlı Nanopartiküller

İskeletleri tamamen karbondan oluşan NP'lere karbon bazlı NP'ler denmekte olup bu NP'lerin sınıflandırılması ve fiziko-kimyasal özellikleri Tablo 3'de verilmiştir. Bu NP'ler grafen, fullerenler, karbon nanofiberler, karbon nanotüpler, siyah karbon ve aktif karbon (Şekil 2) olarak kategorize edilmiştir (Das ve Roy, 2020).

Tablo 3. Karbon bazlı NP'lerin sınıflandırılması ve fiziko-kimyasal özellikleri.

NP Türü	Bildirilen Fizyo-Kimyasal Özellikler	Referanslar
Fullerenler	Yarı iletken, güvenli ve hareketsiz, yoğunluğa göre ışığı iletir, süper iletken, iletken	(Obradovic ve ark. 2021)
Grafen	Elektriksel ve termal iletkenlik, aşırı dayanıklılık, ışık emilimi	(White ve ark. 2020)
Karbon Nanotüpler	Esnek ve elastik, yüksek elektrik ve ısı iletkenliği, çekme dayanımı	(Ma ve Past 2020)
Karbon Nano-fiber	Yüksek elektriksel ve termal frekans, kalkanlama ve mekanik özellikler	(Sengupta ve ark. 2020)
Karbon siyahı	UV bozulmasına dayanıklı, yüksek mukavemet, elektriksel iletkenlik, yüksek yüzey alanı	(Fawole ve ark. 2020)



Şekil 2. Karbon bazlı NP'lerin yapıları (a) fullerener, (b) grafen, (c) karbon nanotüpler, (d) karbon nanofiberler ve (e) karbon siyahı.

1.5.1. Fullerener

Karbon bazlı NP'ler, sp^2 hibridizasyonu yoluyla bağlanmış karbon atomlarından hazırlanabilmekte ve küresel formdaki NP'ler fullerener olarak bilinmektedir. Yaklaşık 28 ila 1500 karbon atomu, 8.3 nm'ye kadar çapa sahip yuvarlak şekilli tek katmanlı fullerenerleri ve 4-36 nm çapında çok katmanlı fullerenerleri oluşturmak için topluca birleştirilmektedir (Deng ve ark., 2021)

1.5.2. Grafen

İki boyutlu düzlemsel yüzeylere sahip altıgen bir yapıda olan allotropik karbon formlarına grafen denilmektedir. Tek bir grafen tabakasının kalınlığı 1 nm'dir (Deng ve ark., 2021)

1.5.3. Karbon Nanotüpler

Karbon nanotüpler, nano folyo grafenin karbonlarının tek katmanlı için 0,7 nm'den çok daha küçük çaplı içi boş borulara sarılmasıyla sentezlenirken, çok katmanlı için uzunluk değişiklikleri mikrometrelerden birkaç milimetreye kadar değişir ve uçları kapalı veya içi boş olabilir (Yaqoob ve ark., 2020).

1.5.4. Karbon Nanofiberleri

Karbon nanofiberler, düzenli silindirik tüpler yerine, grafenin nano folyolarının kap veya koni şekline sarılmasıyla hazırlanmaktadır (Yaqoob ve ark., 2020; Deng ve ark., 2021).

1.5.5. Siyah Karbon

Siyah karbonlar, 20-70 nm çapında küresel şekilli amorf malzemelerdir. Parçacıkların etkileşimleri çok daha yüksektir ve yaklaşık 500 nm aglomeralar oluştuğunda kümeler halinde birleşirler (Yaqoob ve ark., 2020).

2. NANOTOKSİKOLOJİ

Nanotoksikoloji, 100 nm'den küçük olan nanomalzemelerin toksisitesinin incelenmesiyle ilgilenen, biyonanobilimin yeni bir dalıdır. Bu toksite alanı, mühendislik NP'leri ya da jeolojik süreçler gibi doğal süreçler, atmosferik eylemler ve yanma uygulamaları sonucu oluşan NP'lerin hem çevreyi hem de insan sağlığını nasıl etkilediğine odaklanmaktadır (Haynes, 2010; Maynard ve ark., 2011). Nanoteknoloji alanındaki gelişmelerin faydaları oldukça fazladır ancak muhtemel risk değerlendirmeleri yapılarak toksite düzeyinin belirlenmesi, değerlendirilen risklerin nasıl azaltılacağına belirlenmesine yönelik çalışmalara odaklanmak gerekmektedir. Milyonlarca yıl önce, insanlığın ve Dünya'daki canlıların, etrafımızda her gün gerçekleşen doğal süreçlerden kaynaklanan doğal olarak üretilen NP'lere maruz kaldığı bildirilmiştir (Nel ark., 2006; Buzza ark., 2007). İnsan tarafından endüstriyel ve üretim uygulamaları sonucu ortaya çıkan NP'lerin muhtemelen toksik etkileri mevcuttur ve ekosisteme veya besin ağına dahil olduklarında orada bulunan tüm canlılar için maruz kalma açısından doğrudan risk gösterme eğilimindedirler. Gerek doğal gerekse insan yapımı NP'ler ve yan ürünlerine toprak erozyonu, okyanus suyu buharlaşması, volkanik küller, biyojenik manyetit, kuantum noktaları, katalizörler, kozmetikler, kaplama, tüketici ürünleri verilebilir. Ayrıca metallerin birleştirilmesinin karmaşık toksiteye neden olması da dikkat çekici olup bu durum tek metallerde görülmemektedir. Yine 1975'te yapılan bir çalışmada NP asbest nedeniyle asbestoziste oksidatif stres ve hücre yapısının bozulması rapor edilmiştir (Sanapala ve Pola, 2020).

3. NANOPARTİKÜLLER VE BİYOLOJİK SİSTEMLERLE ETKİLEŞİMİ

İnsan faaliyetleri sonucu üretilen NP'ler; su, toprak ve hava yoluyla gizlice çevreye girmektedirler. Çevreye karışan bu NP'ler neredeyse hiç parçalanmazlar ve tüm ekosistemlerde uzun yıllar boyunca bulunabilirler (Navarro ve ark., 2008). NP'lerin sağlık risklerinin, insanlarda ve çevrede toksikokinetiğinin, farklı hava, kara ve su ortamlarındaki dağılımlarındaki farklılıkların ve bozunmalarına yönelik etkili mekanizmaların mevcut verilerden ne ölçüde tahmin edilebileceği henüz net ve yeterli değildir. NP'lerin ekotoksik etkileri ve nanoteknolojinin riskleri dikkat çektikçe, nanoteknolojinin gelişimi için toplumsal ihtiyaçlar karşısında disiplinler arası işbirliğini örgütlemek ve nanoteknoloji tehlikelerinin ortaya çıkmasından önce etkili önleyici ve düzenleyici tedbirleri mümkün olan en kısa sürede uygulamaya koymak, nanoteknolojinin toplumsal risklerini en aza indirmek ve nanoteknoloji gelişiminin sürdürülebilirliğini artırmak için uygun risk statü teorilerini geliştirmek kaçınılmaz bir ön koşul haline gelmiştir. Bu nedenle, daha doğru kullanım ve sürdürülebilir gelişim için NP'lerin ve nanoteknolojinin kapsamlı bir şekilde yeniden incelenmesi gerekmektedir (Xuan ve ark., 2023). Sonuç olarak ekosistemlerde bulunan tüm canlılar için NP'ler önlenemez bir maruziyete sebep olmaktadır. Bu durum NP'lerin her bir canlı grubu için toksisitelerinin araştırılması gerekliliğini doğurmuştur.

Ticari olarak sentezlenen NP'ler günlük hayatımıza hızlı bir şekilde girmiş olup bunlardan biri, seramik ve kişisel bakım ürünleri, boya gibi endüstrilerde ve ticari üretimlerde önde gelen bir uygulamaya sahip olan en yaygın kullanılan NP'lerden biri olan çinko oksit NP (ZnONP)'leridir (Brar ve ark., 2010; Blinova ve ark., 2010). Kişisel bakım ürünlerinde, gıda katkı maddelerinde ve ilaç dağıtım sistemlerinde yaygın olarak diğer bir NP ise titanyum dioksit NP (TiO₂NP)'üdür (Ray ve ark., 2009).

İnsanlarında içinde yer aldığı tüm canlı grupları, bu NP'lere solunum, dermis, kan dolaşımı, yutma, dolayısıyla çeşitli doku ve organlara taşınma yoluyla maruz kalmaktadırlar (Oberdörster ve ark., 2005a). NP'lerin hücre zarları ve hücresel işlev bozukluğuna neden olan diğer tüm bariyerlerinden geçiş yolu, bu parçacıkların boyutlarının çok küçük olmasından kaynaklanmaktadır (Xia ve ark., 2008). Özellikle insanlarda solunum yoluyla NP'lere maruz kalma ve solunum sistemi ile dolaşım sisteminin bağlantılı

olması bakımından ikili bir etki ile NP toksisitesi için eşsiz bir hedef olarak kabul edilmektedir (Ferreira ve ark., 2013). Solunum yoluyla alınan NP'ler alveolar bölgeye kadar ulaşmakta olup alveollerin geniş yüzey alanları ve dolaşım sistemiyle doğrudan bağlantısı sebebiyle solunum yolu ile alınan NP'lerin bu iki sistem üzerinde maruziyet yaratma etkisi daha yüksektir (Aillon ve ark., 2009; Chidambaram ve Krishnasamy, 2012). Sindirim sisteminde maruziyet, NP'lerin yutulması nedeniyle sindirim uyarımı ile NP'lerin büyük miktarlarda yüklenmesine yol açmakta artan emilimden kaynaklanmaktadır (Hagens ve ark., 2007). Organizmalarda vücudun tümünü kaplayarak oldukça büyük bir alana sahip olan cilt, dış saldırganlara karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır. NP'ün dermise girişinin altında yatan mekanizma, dış ortamla temas ettiğinde, küçük parçacıkların kıl köklerinin etrafına yerleşmesi ve küçük boyutları ile içeri girebilmesidir (Stern ve McNeil, 2008).

Daha önce yapılan çalışmaların çoğu NP'lerin reaktif oksijen türleri oluşturduğunu ve bunun sonucunda retiküloendotelyal sistem tarafından oksidatif stres ve inflamasyon görüldüğünü bildirmişlerdir. İnflamatuvar süreç ve immünolojik sistemlerdeki etkiler, akciğerlerde, karaciğerde ve beyinde pro-inflamatuvar sitotoksik aktivite ve oksidatif strese, pre-tromboza ve dolaşım sisteminde farklı sonuçlara neden olabilir (Ai ve ark., 2011). NP'ler, boyuta, bükülmeye, şekle ve yüzey yüküne, serbest enerjiye ve işlevselleştirilmiş gruplara bağlı olarak protein konsantrasyonunu yeniden düzenleme yeteneğine sahiptirler. Bu karmaşık bağlanma nedeniyle, proteinin açılması, fibrilasyon, tiyol çapraz bağlanması ve enzim aktivitesinin azalması gibi olumsuz biyolojik sonuçlar ortaya çıkmaktadır (Xia ve ark., 2008).

Az sayıda çalışma NP'lerin hayvanlar ve bitki hücreleri üzerindeki toksisite etkisini ele almış olsa da, toksikolojik çalışmalarla ilgili mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır. Tüketici ürünlerinden çevreye karışan gümüş NP'leri (AgNP) çözünmüş formda sucul ortamlarda yüksek tortu oluşturmakta ve bakteri, alg, balıklar ve su piresi ile birlikte deniz organizmaları üzerinde toksik etki göstermektedirler (Navarro ve ark., 2008). NP'ler denizde ve sert suda birikme eğilimindedir ve tatlı suda belirli bir organik madde türü veya diğer biyolojik partiküller tarafından büyük ölçüde etkileri güçlendirilmektedir. pH ve tuzluluk ve organik maddelerin varlığı gibi abiyotik faktörler NP'lerin bu sistemlerdeki dağıtım durumlarını etkilemektedirler (Handy ve ark., 2008). Tüm bu çalışmalar çevreye salınan NP'lerin organizmalar üzerinde

beklenmeyen olumsuz etkiler gösterdiğini rapor etmektedir. Bu sebeple ekosistemlerde yer alan NP'lerin tespiti, organizmalar üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

4. NANOPARTİKÜL TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nanomalzemelerin biyolojik organizmalar ve ekosistem üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi, yapılan birçok çabaya rağmen uygulanan teknikler ve protokoller konusunda genel bir uyum göstermemektedir (Reineke, 2012). NP'lerin toksisitesini değerlendirmede *in vitro*, *in vivo* ve *in silico* yaklaşımları kullanan farklı birçok araç oluşturulmuştur. NP'lerin karakterizasyonu, biyoyararlanımı ve alımı ve toksisite mekanizmasının her bir NP özelinde adım adım değerlendirilmesi gerekmektedir (Dusinska ve ark., 2015; Oomen ve ark., 2015).

NP'lerden kaynaklanan çevresel tehlikelerin ölçümü için, doğaya salınabilecek kimyasal maddelerin içsel tehlikelerini değerlendirmek için belirlenmiş olan ekotoksisite testleri kullanılmaktadır (Crane ve ark., 2008). NP'lerin çevre ve canlı sistemler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi için; kimyasal ve fiziksel karakterizasyon, prokaryotlar kullanılarak yapılan mikrobiyolojik analiz, *in vitro* ve *in vivo* analizler kullanılmaktadır. *İn vitro* ve *in vivo* olarak kimyasalların toksisitesini test etmek ve birincil mekanizmalarını, örneğin oksidatif stres, immünotoksisite ve genotoksisiteyi tespit etmek için yapılan pekçok mevcut çalışma bulunmaktadır (Akkoyun ve ark., 2018; Akkoyun 2019; Ekin ve ark., 2022; Akkoyun ve ark., 2023). Söz konusu yöntemlerden bazıları hali hazırda Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü'nün (OECD) yönergeleri tarafından belirlenmiş ve onaylanmıştır. Bununla birlikte, dozimetri, dispersiyon, yıkama, alım ve NP'lerin hücreler ve dokularla etkileşimi ile ilgili diğer metodolojiler de dikkate alınmalıdır (Sanapala ve Pola, 2020).

5. NANOPARTİKÜLLERİN TOKSİKOLOJİK MEKANİZMASI

NP'lerin toksikolojik mekanizması üzerine araştırmalar 2000'li yılların başında başlamıştır (Lewinski ve ark., 2018). Transmisyon elektron

mikroskobu ve atomik kuvvet mikroskobu gibi yeni analitik tekniklerin geliştirilmesi, araştırmacıların NP'ler ve hücreler arasındaki etkileşimleri daha ayrıntılı olarak incelemelerine olanak sağlamıştır. Çalışmalar, NP'lerin çeşitli hücre tiplerinde oksidatif stres, inflamasyon, genotoksisite ve sitotoksisiteye neden olabileceğini göstermiştir (Zhou ve ark., 2022). Son çalışmalar NP toksisitesinin moleküler mekanizmalarını anlamaya odaklanmıştır. Başlıca bulgulardan biri, NP'lerin yüzey kimyasının toksisitelerinde önemli bir rol oynamasıdır. Biyouyumlu malzemelerle kaplama gibi yüzey modifikasyonları NP'lerin toksisitesini azaltabilir. Dahası, biyolojik sıvılarda NP'lerin etrafında protein koronalarının oluşumu da toksisitelerini etkilemektedir. NP'lerin toksisitesi kabaca akut toksisite ve kronik toksisite olarak ikiye ayrılabilir. Akut toksisite, NP'ye maruziyetten hemen sonra inflamasyon ve doku hasarı gibi olumsuz etkileri ifade ederken, kronik toksisite kanser ve organ hasarı gibi NP'ye maruz kalmanın uzun vadeli etkilerini ifade etmektedir (Elsaesser ve Howard, 2012). NP'lerin neden olduğu başlıca toksisite türleri arasında oksidatif stres, inflamasyon, genotoksisite ve sitotoksisite bulunmaktadır ve NP'lerin toksikolojik mekanizmasının incelenmesindeki bir sonraki adım, onların fizikokimyasal özelliklerine dayanarak toksisitelerini doğru bir şekilde öngörebilen tahmini modeller geliştirmektir. Bu da *in vivo* ortamı taklit edebilen *in vitro* modellerin geliştirilmesi ve çok sayıda NP'nin toksisitesini hızla belirlemek için yüksek verimli tarama yöntemlerinin kullanılmasıyla sağlanabilir. Ayrıca, kronik NP maruziyetinin insan sağlığı üzerindeki uzun vadeli etkilerini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, NP'lerin toksikolojik mekanizmaları karmaşıktır ve fizikokimyasal özellikleri ve biyolojik ortam gibi birden fazla faktöre bağlıdır. NP toksisitesini doğru bir şekilde tahmin edebilen tahmini ve *in vitro* modellerin geliştirilmesi, NP'nin çeşitli uygulamalarda güvenli ve etkili kullanımı için kritik öneme sahiptir (Xuan ve ark., 2023).

5.1. Nanopartiküller ve Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (HO) dahil olmak üzere oksijenin eksik indirgenmesiyle oluşan kimyasal türleri tanımlayan genel bir terimdir (Autréaux ve Toledano, 2007). ROS, mitokondri, peroksizom, endoplazmik retikulum (ER) ve sitoplazmada üretilir. Mitokondride, ROS, oksidatif

fosforilasyon sırasında elektron taşınmasının bir yan ürünü olarak üretilir. Peroksizomda, ROS yağ asidi metabolizması sırasında ve ER’de, ROS protein katlanması sırasında üretilir. ROS’ların oksijene göre daha fazla kimyasal reaktifliğe sahip olmaları nedeniyle oksijenin toksisitesine aracılık ettiği düşünülmektedir. *In vivo*, ROS hücre sinyallemesini ve hücresel fizyolojik işlevleri düzenlemede önemli bir rol oynar (Lihui ve ark., 2022). ROS’un aşırı birikimi genellikle hücrelerin oksidatif-antioksidan sistemini tahrip ederek oksidatif stresin ortaya çıkmasına neden olur (Sacks ve ark., 2018). Oksidatif stres hücresel hasara ve işlev bozukluğuna yol açarak çeşitli hastalıklara neden olabilir. Örneğin, kardiyovasküler hastalıkta oksidatif stres düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterolün oksidasyonuna yol açar ve bu da ateroskleroz gelişimine sebep olur. Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda oksidatif stres nöronal hasara ve hücre ölümüne yol açabilir. ROS kanserde hem tümör promotörleri hem de tümör baskılayıcıları olarak hareket ederek ikili bir rol oynayabilir. Bir yandan ROS, mutasyonlara ve onkogenlerin aktivasyonuna yol açan DNA hasarına neden olarak karsinogenezi destekleyebilir. Öte yandan ROS, hücre ölümünü indükleyerek ve kanser hücresi çoğalmasını önleyerek kanseri baskılayabilir (Xuan ve ark., 2023).

Giderek daha fazla çalışma, NP’lere maruz kalmanın ROS birikimine neden olduğunu göstermiştir (Yang ve ark., 2019; Harie ve ark., 2021) Liu ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışma silika NP’lerin (SNP2ler) *in vitro* ve *in vivo* kan-beyin bariyeri işlev bozukluğunu indüklediğini ve oksidatif strese neden olan büyük miktarda ROS birikimi ürettiğini göstermiştir. Yang ve arkadaşları (2022) Polisistren NP’lere (PS-NP) eş zamanlı maruz kalmanın ROS aracılı apoptozu indükleyerek fetal talamusa zarar verdiğini göstermiştir. Ayrıca ZnONP’lerin (Yang ve ark., 2015) ve CuONP’lerin (Liu ve ark., 2021) hepatotoksisiteye neden olabileceği ve ROS birikimi ve oksidatif stresi indükleyebileceği gösterilmiştir. Bunlara ek olarak, karbon NP’ler (Nilewski ve ark., 2015), titanyum NP’ler (Yang ve ark., 2021) nikel oksit NP’ler (Djebbi ve ark., 2021) ve CeO₂NP’ler (Eom ve Choi, 2009) gibi çeşitli NP’ler ROS birikimine neden olabilir ve oksidatif stresi indükleyebilir. Araştırma raporları giderek arttıkça, bilim insanları tüm NP’lerin ROS birikiminde olumsuz bir role sahip olduğunu raporlamışlardır.

Bu çalışmaların tersine, polidopamin NP’lerinin periodontal hastalıkta ROS’un etkili temizleyicileri olarak hareket edebileceğini (Bao ve ark., 2018)

ve siklik polisakkarit β -siklodekstrin NP'lerinin sistemik ve lokal oksidatif stresi ve inflamasyonu azalttığını ve plaklardaki ateroskleroz inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığını göstermiştir (Wang ve ark., 2018). Antioksidan etkiye sahip bu NP'lerin ortak özelliği, bu maddelerin kendilerinin bir antioksidan etkiye sahip olmasıdır. Oksidatif etkiye sahip maddeler NP durumunda olduğunda, antioksidan etkileri artacaktır çünkü NP'ler hücreler tarafından kolayca içeri alınabilmektedir bu da NP'lerin tıpta kullanılmasının nedenlerinden birini oluşturmaktadır (Xu ve ark., 2017; Yang ve ark., 2019).

Tüm bu çalışmalar, ROS'un farklı NP tipleri tarafından düzenlenmesinin farklı olduğunu ve bunun NP'lerin kendi özellikleriyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Farklı boyutlardaki aynı NP'lerin ROS üzerindeki etkileri de değişkenlik göstermektedir (Qiaro ve ark., 2019). Antioksidan olmayan maddeler tarafından oluşturulan NP'lere maruz kalma, hücre içi ROS birikimini indükleyebilmekte, oksidatif-antioksidan sistem dengesini bozabilmekte ve oksidatif strese neden olabilmektedir. Antioksidan ilaçlar tarafından oluşturulan NP'ler ise, hücreler tarafından kolayca içeri alınması sebebiyle bu antioksidan etkilerini en üst düzeye çıkarmaktadırlar (Xuan ve ark., 2023).

5.2. Nanopartiküller ve DNA hasarı

DNA hasarı, DNA'nın nükleotid dizisinin replikasyon sırasında kalıcı olarak değiştiği ve genetik özelliklerin değişmesiyle sonuçlanan bir olgu olup kanser ve yaşlanmayla ilişkili birçok hastalığın başlıca sebebi haline gelmiştir (Lihui ve ark., 2022). Dahası, DNA hasarı ve diğer stresler, metabolizmayı ve büyümeyi inhibe eden, savunmayı artıran ve hücre bütünlüğünü koruyan son derece korunmuş, kanser önleyici, yaşlanma karşıtı bir hayatta kalma yanıtını tetikleyebilir (Hoeijmakers, 2009). Giderek artan sayıda çalışma, NP maruziyetinin hücresel bariyerler boyunca DNA hasarına neden olduğunu göstermiştir (Yang ve ark., 2022). Örneğin, TiO_2 NP'ler yalnızca hafif sitotoksik potansiyele sahiptir, ancak ROS ve oksidatif stresi indükleyerek oksidatif DNA hasarına yol açabilirler (Shukla ve ark., 2011). Bu durum ise, TiO_2 NP'lerin 1 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda bile oksidatif DNA hasarını indükleyebileceğini gösteren önceki çalışmalarla tutarlıdır. Bu etki, azalan GSH seviyelerine ve artan lipid peroksidasyonuna ve ROS oluşumuna bağlanabilir (Shukla ve ark., 2013). Bir diğer çalışma, ultra küçük süperparamagnetik FeONP'lerinin fare kalbinde oksidatif-antioksidan sistemde

bir dengesizliğe neden olabileceğini, oksidatif stres belirteçlerini artırabileceğini ve kalpte DNA hasarına yol açabileceğini göstermiştir (Nemmar ve ark., 2016). Shi ve arkadaşları (2015), TiO_2NP 'lerinin Nrf2 yolunu inhibe ederek HepG2 hücrelerinde ve farelerde oksidatif DNA hasarına yol açabileceğini göstermiştir. Yapılan önceki çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda çoğu NP'nin oksidatif stresi indükleyerek DNA hasarına neden olduğu görülmektedir.

5.3. Nanopartiküller ve Mitokondriyal Hasar

Mitokondriler ökaryotik hücrelerin önemli organelleri olup hücrelerde ATP üretiminin anahtarıdır ve aktiviteleri sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir (Youle, 2019). Mitokondriyal hasar, genetik mutasyonlar, oksidatif stres, bozulmuş mitokondriyal dinamikler ve toksik saldırılar dahil olmak üzere çeşitli nedenlerle oluşabilmektedir. Oksidatif stres, ROS üretimi ile hücreSEL antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlikten kaynaklanmakta ve bu da mitokondriyal zarlara, proteinlere ve DNA'ya zarar verebilmektedir. Yine ilaçlar, kimyasallar veya çevre kirleticileri gibi toksik maddelere maruz kalmak, mitokondriyal bileşenlere doğrudan zarar vererek mitokondriyal işlev bozukluğuna yol açabilmektedir. Mitokondriyal işlev bozukluğu, mitokondrilerin enerji metabolizmasında, kalsiyum sinyallemede ve apoptozda önemli roller oynaması nedeniyle hücreSEL fizyoloji üzerinde derin etkilere sahip olabilir. Azalmış ATP üretimi ve bozulmuş oksidatif fosforilasyon, hücreSEL enerji seviyelerinin düşmesine yol açabilmekte ve diyabet ve obezite gibi metabolik bozuklukların gelişmesine sebep olmaktadır. Mitokondriler tarafından sıkı bir şekilde düzenlenen kalsiyum sinyallemesinin düzensizliği, hücreSEL homeostaziyi bozmakta Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların gelişmesine sebep olmaktadır. Yine mitokondriyal işlev bozukluğu programlanmış hücre ölümünün temel mekanizması olan apoptozisin düzensizliğine de yol açmaktadır. Apoptozisin düzensizliğinin ise, kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir (Pickles ve ark., 2018).

Daha önce yapılan araştırmalar, NP'lerin mitokondriyal fonksiyonu etkileyebileceğini veya apoptoza neden olmak için mitokondriyal hasara yol açabileceğini göstermektedir (Cheng ve ark., 2021). Yapılan son çalışmalar, nanokompozitlerin tümör ilişkili makrofajlarda mitokondrilerin Ca^{+}

tamponlama fonksiyonunu bozduğunu, kalsiyum aşırı yüklenmesini tetiklediğini ve mitokondriyal hasara neden olduğunu göstermiştir. Huang ve arkadaşları (2022), dekabromodifeniletan ve ZnONP'lerin mitokondriyal membran potansiyelini azalttığını, sitokrom C salınımını artırdığını ve mitokondriyal kinetik homeostazisi bozarak Bax/Bcl-2 ve sisteini modüle ettiğini göstermiştir. Fu ve arkadaşları (2022) amino-fonksiyonelleştirilmiş PS-NP'lerin insan göbek kordonu endotel hücrelerinde mitokondriyal hasarı ve hücre canlılığını azalttığını göstermiştir (Li ve ark., 2021). Bir diğer çalışmada Fe_3O_4 NP'lerin 48 saatlik uygulama sonrası mitokondriyal hasara neden olabileceğini ve makrofaj canlılığını azaltabileceğini göstermişlerdir.

Li ve arkadaşları (2021), nano boyuttaki karbon siyahı, çinko dioksit ve silikanın insan kornea epitel hücrelerinde ve insan konjonktival epitel hücrelerinde değişen derecelerde ROS birikimine ve mitokondriyal hasara neden olabilecekken TiO_2 NP'lerin herhangi bir toksik etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir. Bu durum, NP'lerin toksisitesinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre değişkenlik gösterebileceğini ve maddenin kendi özelliklerine bağlı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, farklı araştırmalar birçok NP'nin mitokondriyal hasara neden olabileceğini gösterse de nanoboyuttaki tüm maddelerin kötü etkilere neden olduğu söylenemez.

5.4. Nanopartiküller ve Apoptozis

Programlanmış hücre ölümü olarak bilinen apoptozis, DNA hasarı gibi stres sinyallerine yanıt olarak ortaya çıkan aynı zamanda çok hücreli organizmaların normal gelişimi ve işlevi için gerekli olan önemli bir tümör baskılayıcı mekanizmayı temsil etmektedir (Thandapani ve Aifantis, 2017). NP araştırmalarının kademeli olarak derinleşmesiyle birlikte, giderek daha fazla çalışma NP maruziyetinin apoptozu indükleyebileceğini göstermiştir (Ling ve ark., 2021; Deng ve ark., 2021; Yuan ve ark., 2022). Xu ve arkadaşları (2022) tarafından yapılan çalışma ZnONP'lerin Keap/Nrf2 sinyal yoluyla fare yumurtalık hücrelerinde ER stresi indükleyebileceğini ve apoptoza neden olabileceğini göstermiştir. Yuan ve arkadaşları (2022) biyosentetik AgNP'lerin mide kanseri hücrelerinin kötü huylu davranışını engellediğini ve hücre içi ROS üretimini ve apoptozu teşvik ederek 5-florourasilin terapötik etkisini artırdığını göstermiştir. Li ve arkadaşları (2022), titanya-NP'lerin sipermetrin tarafından oluşturulan testis apoptozunu ve DNA hasarını artırdığını ve testis dokusunda

oksidatif stresi teşvik ettiğini göstermiştir. Shaması ve arkadaşları (2021) yaptıkları çalışma ile ZnONP'lerin MCF7 meme kanseri hücrelerinde apoptozu etkili ve doza bağlı olarak indüklediğini göstermişlerdir. Yine Selim ve Hendi (2012) 24 saat boyunca 200 µg/mL dozda verilen altın NP'lerinin konsantrasyona bağlı sitotoksikite gösterdiği, p53, bax, kaspaz-3 ve kaspaz-9 ekspresyonunda önemli bir artışa neden olduğunu, buna karşın antiapoptotik bcl-2 ekspresyonunda azalma görüldüğünü bildirmişlerdir. Tüm bu çalışmalar NP'lerin apoptozis oluşumunda ve gelişiminde olumlu bir rol oynadığını göstermiş olsa da, spesifik moleküler mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır.

5.5. Nanopartiküller ve Hücre Döngüsü

Hücre döngüsü kontrol noktaları, hücre bölünmesi sırasında genetik hataların birikmesini ve yayılmasını önleyen DNA gözetim mekanizmaları olarak işlev görür. Kontrol noktaları, hücre döngüsü ilerlemesini geciktirebilir veya onarılamaz DNA hasarına yanıt olarak hücre döngüsünden çıkmayı veya hücre ölümünü başlatabilir (Matthews ve ark., 2022).

Holmila ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan çalışmada AgNP'lere maruz kalmanın A549, BEAS-2B ve Calu-1'de ROS birikimi, hücre döngüsü durması ve hücre çoğalmasının azalmasıyla sonuçlandığını, ancak NCI-H358'de bu etkiye sahip olmadığını gösterilmiştir. Moghaddam ve arkadaşları (2017) yaptıkları çalışmada, ZnONP'lerin MCF-7 kanser hücre hattında hücre döngüsü durmasını ve apoptozu indüklediğini göstermiştir. Son çalışmalar, karbon siyahı NP maruziyetinin dolaşımdaki inflamasyon yoluyla hücre döngüsünü etkilediğini ve böylece akciğer kanseri riskini artırdığını göstermiştir (Zhang ve ark., 2022). NP'lerin hücre döngüsü üzerindeki etkisi, yüzeylerindeki yüklerle ilişkili olabilir ve pozitif yüklü NP'lerin DNA hasarına neden olarak hücre döngüsü ilerlemesini etkileme olasılığı daha yüksektir (Mahmoudi ve ark., 2011). Özetle, NP'ler hücre içi ROS birikimi ve DNA hasarına neden olarak hücre döngüsü durmasını indükleyebilir, ancak hücre içi ATP seviyesi azalmayabilir. Burada, hücrelerin tekrar NP'lere maruz kaldıktan sonra G2/M faz kontrol noktasını geçebileceği ve hücrelerin DNA hasarı onarımı olmadan bölünmeye devam edebileceği yönünde bir varsayım vardır, ancak ilgili mekanizma bildirilmemiştir (Xuan ve ark., 2023).

5.6. Nanopartiküller ve Epigenetik Düzenleme

DNA dizisinin kendisini değiştirmeden gen ifadesini etkileyebilen DNA ve histonların kimyasal modifikasyonları epigenetik düzenleme olarak ifade edilmektedir. Epigenetik düzenleme, metilasyon, asetilasyon, fosforilasyon gibi epigenetik modifikasyon yoluyla hücre içi nükleik asit veya proteinin içeriğini ve işlevini düzenleme süreci olarak bilinmektedir (Chen ve ark., 2020). NP'ler epigenetik düzenleme yoluyla hücrel işlevi ve aktiviteyi etkileyebilmektedirler (Zhang ve ark., 2020). Ng ve arkadaşlarının (2011) çalışması AuNP'lerin akciğer fibroblastlarında PROS1 geninin epigenetik düzenlenmesini indüklediğini, ancak bu genin metilasyon durumunun AuNP'lerle tedavi edilen fibroblastlarda değişmediğini göstermiştir. Pan ve arkadaşları (2021) AgNP'lerin lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal işlev bozukluğu yoluyla termofiller için toksik olduğunu göstermiş, bu süreçte 1250 farklı şekilde ifade edilen lncRNA'yı tanımlamış ve bu lncRNA2ların toksik maddeye özgü ifade modu sergilediğini bulmuştur.

En iyi çalışılmış epigenetik modifikasyonlardan biri, DNA'daki sitozin nükleotidlerine metil gruplarının eklenmesini içeren DNA metilasyonudur. DNA metilasyonu, transkripsiyonel makinenin DNA'ya erişmesini önleyerek gen ifadesini susturabilir. Çalışmalar, belirli NP'lere maruz kalmanın DNA metilasyon modellerini değiştirebileceğini ve bunun da gen ifadesinde değişikliklere yol açabileceğini göstermiştir (Xuan ve ark., 2023).

Wang ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışma, bir metiltransferaz olan MET-2'nin aracılık ettiği metilasyonun, PS-NP'lere maruz kalmaya karşı koruyucu yanıtı düzenlediğini göstermiştir. MET-2, hem bağırsak hücrelerinde hem de germ hücrelerinde PS-NP'lerin toksisitesini kontrol etme işlevi görmektedir. Bağırsak hücrelerinde, PS-NP'lerin toksisitesini kontrol etmek için bir MET-2-DAF-16/BAR-1/ELT-2 sinyal kaskadı oluşur. Germ hücrelerinde, PS-NP'lerin toksisitesini kontrol etmek için MET-2-WRT-3/PAT-12 sinyal kaskadı gereklidir. Wei ve arkadaşları (2020), CuONP maruziyetinin epigenetik olarak ilişkili genler met-2 ve spr-5 aracılığıyla hayvanlarda nesiller arası gelişimsel ve üreme toksisitesini etkilediğini göstermiştir. Özetle, NP'ler epigenetik yoluyla hücrelerin veya bireylerin yaşam aktivitelerini düzenleyebilir, ancak NP'nin epigenetiği düzenleme mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Epigenetik

düzenlemenin farklı NP tipleri için aynı olup olmadığının da doğrulanması gerekmektedir.

SONUÇ

NP'ler endüstri, bilim, eczacılık, tıp, elektronik ve iletişim ürünlerinin de dahil olduğu çeşitli uygulamalarda kullanım alanı bulmaktadır. Bu kadar çok alanda kullanılmaya başlanan NP'ler yaygın kullanımları sebebiyle aynı zamanda bu maddelere karşı farklı canlı sınıflarında maruziyeti de doğurmaktadır. Bu bağlamda NP'lerin bulundukları ekosistemlerde etkiledikleri farklı canlı sınıfları açısından toksikolojik potansiyellerinin değerlendirilmeleri gerekmektedir. NP'lerin toksikolojik mekanizması, NP'lerin fizikokimyasal özellikleriyle bağlantılı olup insan sağlığı üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerini anlamak çok önemlidir. Yapılan çalışmalar NP'lerin neden olduğu toksisitenin genellikle ROS birikimiyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarla NP'lerin toksikolojik mekanizmalarını anlamada önemli ilerlemeler kaydedilmiş olsa da, NP'lerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerini tahmin etmek ve değerlendirmek için hala etkili toksisite değerlendirme modellerine ihtiyaç duyulmaktadır. Hayvan modelleri ve *in vitro* modeller gibi yaygın toksisite değerlendirme modelleri, insan maruziyeti ve etik kaygılarla ilgili sınırlamalara sahiptir. Bu sorunları ele almak için araştırmacılar, farmakokinetik modelleme, kantitatif yapı-aktivite ilişkisi modelleme, yüksek verimli taramalar dahil olmak üzere çeşitli NP toksisite değerlendirme modelleri önermiştir. NP'ler için toksisite değerlendirme modelleri, insan maruziyeti senaryolarındaki belirsizliklerin yanı sıra NP'ler ve organizmalar arasındaki etkileşimleri de hesaba katmak zorundadır. Güvenilir NP toksisite değerlendirme modellerinin geliştirilmesi disiplinler arası iş birliği gerektirmektedir. Sonuç olarak, NP'lerin toksikolojik mekanizmasının anlaşılması NP'lerin güvenli ve etkili bir şekilde uygulanması için çok önemlidir. Aynı zamanda, güvenilir ve öngörücü bir NP toksisite değerlendirme modeli geliştirmek de toksisite mekanizmasının anlaşılabilmesi için çok önemlidir. Bu değerlendirme modellerinin sürekli geliştirilmesi ve iyileştirilmesi ve yeni teknolojilerin ve yöntemlerin entegre edilmesi, NP'lerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerinin daha kapsamlı ve doğru bir şekilde değerlendirilmesini sağlayacak ve NP'lerin daha güvenli kullanımını teşvik edecektir.

KAYNAKÇA

- 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.
- Akkoyun, H. T. (2019). The protective effect of quercetin against to renal tissue damage induced carbontetrachloride in rat. *J Inst Sci Technol*, 9(2), 708-716.
- 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.
- Akkoyun, H. T., Bengü, A. S., Ulucan, A., Bayramoglu-Akkoyun, M., & Arihan, O. (2018). Protective Effect Of Ellagic Acid Against Carbon Tetrachloride (CCl₄) Induced Oxidative Brain Injury In Rats. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(5), 3148-3155.
- Ali, A., Phull, A. R., & Zia, M. (2018). Elemental zinc to zinc nanoparticles: Is ZnO NPs crucial for life? Synthesis, toxicological, and environmental concerns. *Nanotechnology Reviews*, 7(5), 413-441.
- Bao, X., Zhao, J., Sun, J., Hu, M., & Yang, X. (2018). Polydopamine nanoparticles as efficient scavengers for reactive oxygen species in periodontal disease. *ACS nano*, 12(9), 8882-8892.
- Blinova, I., Ivask, A., Heinlaan, M., Mortimer, M., & Kahru, A. (2010). Ecotoxicity of nanoparticles of CuO and ZnO in natural water. *Environmental Pollution*, 158(1), 41-47.
- Boroumand Moghaddam, A., Moniri, M., Azizi, S., Abdul Rahim, R., Bin Ariff, A., Navaderi, M., & Mohamad, R. (2017). Eco-friendly formulated zinc oxide nanoparticles: induction of cell cycle arrest and apoptosis in the MCF-7 cancer cell line. *Genes*, 8(10), 281.
- Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2010). Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge—Evidence and impacts. *Waste management*, 30(3), 504-520.

- Buzea, C., Pacheco, I. I., & Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17-MR71.
- Cheira, M. F. (2020). Performance of poly sulfonamide/nano-silica composite for adsorption of thorium ions from sulfate solution. *SN Applied Sciences*, 2(3), 398.
- Chen, S., Yang, J., Wei, Y., & Wei, X. (2020). Epigenetic regulation of macrophages: from homeostasis maintenance to host defense. *Cellular & molecular immunology*, 17(1), 36-49.
- Cheng, Y., Chen, Z., Yang, S., Liu, T., Yin, L., Pu, Y., & Liang, G. (2021). Nanomaterials-induced toxicity on cardiac myocytes and tissues, and emerging toxicity assessment techniques. *Science of The Total Environment*, 800, 149584.
- Chidambaram, M., & Krishnasamy, K. (2012). Nanotoxicology: Toxicity of engineered nanoparticles and approaches to produce safer nanotherapeutics. *Int. J. Pharm. Sci*, 2(4), 117-122.
- Handy, R. D., Owen, R., & Valsami-Jones, E. (2008). The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. *Ecotoxicology*, 17, 315-325.
- D'Autréaux, B., & Toledano, M. B. (2007). ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8(10), 813-824.
- Das, C., Sen, S., Singh, T., Ghosh, T., Paul, S. S., Kim, T. W., ... & Biswas, G. (2020). Green synthesis, characterization and application of natural product coated magnetite nanoparticles for wastewater treatment. *Nanomaterials*, 10(8), 1615.
- Das, D., & Roy, A. (2020). Synthesis of diameter controlled multiwall carbon nanotubes by microwave plasma-CVD on low-temperature and chemically processed Fe nanoparticle catalysts. *Applied Surface Science*, 515, 146043.
- Deng, C., Zhang, Q., He, P., Zhou, B., He, K., Sun, X., ... & Zhang, Z. (2021). Targeted apoptosis of macrophages and osteoclasts in arthritic joints is effective against advanced inflammatory arthritis. *Nature communications*, 12(1), 2174.

- Deng, J., Ding, Q. M., Jia, M. X., Li, W., Zuberi, Z., Wang, J. H., ... & Luo, J. F. (2021). Biosafety risk assessment of nanoparticles: Evidence from food case studies. *Environmental Pollution*, 275, 116662.
- Djebbi, E., Bonnet, D., Pringault, O., Tlili, K., & Yahia, M. N. D. (2021). Effects of nickel oxide nanoparticles on survival, reproduction, and oxidative stress biomarkers in the marine calanoid copepod *Centropages ponticus* under short-term exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 21978-21990.
- Dusinska, M., Dusinska, M., Fjellsbø, L. M., Magdolenova, Z., Rinna, A., Runden Pran, E., ... & Vallotto, D. (2009). Testing strategies for the safety of nanoparticles used in medical applications. *Nanomedicine*, 4(6), 605-607.
- 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-κB, and antioxidant enzymes. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e20804.
- Elsaesser, A., & Howard, C. V. (2012). Toxicology of nanoparticles. *Advanced drug delivery reviews*, 64(2), 129-137.
- El-Sayed, M. E. (2020). Nanoadsorbents for water and wastewater remediation. *Science of the Total Environment*, 739, 139903.
- Eom, H. J., & Choi, J. (2009). Oxidative stress of CeO₂ nanoparticles via p38-Nrf-2 signaling pathway in human bronchial epithelial cell, Beas-2B. *Toxicology letters*, 187(2), 77-83.
- Fawole, O. G., Cai, X. M., Nikolova, I., & MacKenzie, A. R. (2020). Self-consistent estimates of emission factors of carbon-containing pollutants from a typical gas flare. *Ife Journal of Science*, 22(2), 135-149.
- Ferreira, A. J., Cemlyn-Jones, J., & Cordeiro, C. R. (2013). Nanoparticles, nanotechnology and pulmonary nanotoxicology. *Revista Portuguesa de Pneumologia (English Edition)*, 19(1), 28-37.
- Fu, Y., Fan, M., Xu, L., Wang, H., Hu, Q., & Jin, Y. (2022). Amino-functionalized polystyrene nano-plastics induce mitochondria damage in human umbilical vein endothelial cells. *Toxics*, 10(5), 215.
- Giannakis, S., Liu, S., Carratalà, A., Rtimi, S., Amiri, M. T., Bensimon, M., & Pulgarin, C. (2017). Iron oxide-mediated semiconductor photocatalysis vs. heterogeneous photo-Fenton treatment of viruses in wastewater.

- Impact of the oxide particle size. *Journal of hazardous materials*, 339, 223-231.
- 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.
- Handy, R. D., Von der Kammer, F., Lead, J. R., Hassellöv, M., Owen, R., & Crane, M. (2008). The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17, 287-314.
- Harshiny, M., Iswarya, C. N., & Matheswaran, M. (2015). Biogenic synthesis of iron nanoparticles using *Amaranthus dubius* leaf extract as a reducing agent. *Powder technology*, 286, 744-749.
- Hasan, A., Nanakali, N. M. Q., Salihi, A., Rasti, B., Sharifi, M., Attar, F., ... & Falahati, M. (2020). Nanozyme-based sensing platforms for detection of toxic mercury ions: An alternative approach to conventional methods. *Talanta*, 215, 120939.
- Haynes, C. L. (2010). The emerging field of nanotoxicology. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 398(2), 587-588.
- Hoeijmakers, J. H. (2009). DNA damage, aging, and cancer. *New England journal of medicine*, 361(15), 1475-1485.
- Holmila, R. J., Vance, S. A., King, S. B., Tsang, A. W., Singh, R., & Furdul, C. M. (2019). Silver nanoparticles induce mitochondrial protein oxidation in lung cells impacting cell cycle and proliferation. *Antioxidants*, 8(11), 552.
- Horie, M., & Tabei, Y. (2021). Role of oxidative stress in nanoparticles toxicity. *Free radical research*, 55(4), 331-342.
- Huang, C., Lin, B., Chen, C., Wang, H., Lin, X., Liu, J., ... & Xu, Y. (2022). Synergistic reinforcing of immunogenic cell death and transforming tumor-associated macrophages via a multifunctional cascade bioreactor for optimizing cancer immunotherapy. *Advanced Materials*, 34(51), 2207593.
- Jena, P., Bhattacharya, M., Bhattacharjee, G., Satpati, B., Mukherjee, P., Senapati, D., & Srinivasan, R. (2020). Bimetallic gold-silver nanoparticles mediate bacterial killing by disrupting the actin cytoskeleton MreB. *Nanoscale*, 12(6), 3731-3749.

- Kumar, A., Pandey, A. K., Singh, S. S., Shanker, R., & Dhawan, A. (2011). Cellular uptake and mutagenic potential of metal oxide nanoparticles in bacterial cells. *Chemosphere*, 83(8), 1124-1132.
- Laad, M., & Jatti, V. K. S. (2018). Titanium oxide nanoparticles as additives in engine oil. *Journal of King Saud University-Engineering Sciences*, 30(2), 116-122.
- Lewinski, N., Colvin, V., Drezek, R. (2008). Cytotoxicity of nanoparticles. Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), 4(1), 26-49.
- Li, S., Ma, Y., Ye, S., Tang, S., Liang, N., Liang, Y., & Xiao, F. (2021). Polystyrene microplastics trigger hepatocyte apoptosis and abnormal glycolytic flux via ROS-driven calcium overload. *Journal of hazardous materials*, 417, 126025.
- Li, Y., Zhong, M., He, X., Zhang, R., Fu, Y., You, R., ... & Zhai, Q. (2023). The combined effect of titanium dioxide nanoparticles and cypermethrin on male reproductive toxicity in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(9), 22176-22187.
- Lihui, X., Jinming, G., Yalin, G., Hemeng, W., Hao, W., & Ying, C. (2021). Albicanol inhibits the toxicity of profenofos to grass carp hepatocytes cells through the ROS/PTEN/PI3K/AKT axis. *Fish & shellfish immunology*, 120, 325-336.
- Lihui, X., Xiaojie, Q., Hao, Y., Jialiang, C., Jinming, G., & Ying, C. (2022). Albicanol modulates oxidative stress and the p53 axis to suppress profenofos induced genotoxicity in grass carp hepatocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 122, 325-333.
- Ling, X., Jiang, X., Li, Y., Han, W., Rodriguez, M., Xu, Z., & Lin, W. (2020). Sequential treatment of bioresponsive nanoparticles elicits antiangiogenesis and apoptosis and synergizes with a CD40 agonist for antitumor immunity. *ACS nano*, 15(1), 765-780.
- Liu, H., Lai, W., Liu, X., Yang, H., Fang, Y., Tian, L., ... & Xi, Z. (2021). Exposure to copper oxide nanoparticles triggers oxidative stress and endoplasmic reticulum (ER)-stress induced toxicology and apoptosis in male rat liver and BRL-3A cell. *Journal of hazardous materials*, 401, 123349.

- Liu, X., Sui, B., & Sun, J. (2017). Blood-brain barrier dysfunction induced by silica NPs in vitro and in vivo: Involvement of oxidative stress and Rho-kinase/JNK signaling pathways. *Biomaterials*, 121, 64-82.
- Liu, X., Liao, C., Lin, L., Gao, H., Zhou, J., Feng, Z., & Lin, Z. (2020). Research progress in the environmental application of magnesium hydroxide nanomaterials. *Surfaces and Interfaces*, 21, 100701.
- Ma, Y. (2020). Past, present and future of carbon nanotubes and graphene based electrode materials for energy storage batteries. *International Journal of Electrochemical Science*, 15(10), 10315-10329.
- Machado, S., Pacheco, J. G., Nouws, H. P. A., Albergaria, J. T., & Delerue-Matos, C. (2015). Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. *Science of the total environment*, 533, 76-81.
- Mahmoudi, M., Azadmanesh, K., Shokrgozar, M. A., Journeay, W. S., & Laurent, S. (2011). Effect of nanoparticles on the cell life cycle. *Chemical reviews*, 111(5), 3407-3432.
- Matthews, H. K., Bertoli, C., & de Bruin, R. A. (2022). Cell cycle control in cancer. *Nature reviews Molecular cell biology*, 23(1), 74-88.
- Maynard, A. D., & Kuempel, E. D. (2005). Airborne nanostructured particles and occupational health. *Journal of nanoparticle research*, 7, 587-614.
- Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N. B., Filser, J., Miao, A. J., ... & Sigg, L. (2008). Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*, 17, 372-386.
- Nel, A., Xia, T., Madler, L., & Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *science*, 311(5761), 622-627.
- Nemmar, A., Beegam, S., Yuvaraju, P., Yasin, J., Tariq, S., Attoub, S., & Ali, B. H. (2015). Ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles acutely promote thrombosis and cardiac oxidative stress and DNA damage in mice. *Particle and Fibre Toxicology*, 13, 1-11.
- Ng, C. T., Dheen, S. T., Yip, W. C. G., Ong, C. N., Bay, B. H., & Yung, L. Y. L. (2011). The induction of epigenetic regulation of PROS1 gene in lung fibroblasts by gold nanoparticles and implications for potential lung injury. *Biomaterials*, 32(30), 7609-7615.

- Nilewski, L. G., Sikkema, W. K., Kent, T. A., & Tour, J. M. (2015). Carbon nanoparticles and oxidative stress: could an injection stop brain damage in minutes?. *Nanomedicine*, 10(11), 1677-1679.
- Oberdörster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., ... & A report from the ILSI Research Foundation/Risk Science Institute Nanomaterial Toxicity Screening Working Group jfitzpatrick@ilsi.org. (2005). Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle and fibre toxicology*, 2, 1-35.
- Obradović, V., Simić, D., Zrilić, M., Stojanović, D. B., & Uskoković, P. S. (2021). Novel hybrid nanostructures of carbon nanotube/fullerene-like tungsten disulfide as reinforcement for aramid fabric composites. *Fibers and Polymers*, 22, 528-539.
- Oomen, A. G., Bleeker, E. A., Bos, P. M., Van Broekhuizen, F., Gottardo, S., Groenewold, M., ... & Landsiedel, R. (2015). Grouping and read-across approaches for risk assessment of nanomaterials. *International journal of environmental research and public health*, 12(10), 13415-13434.
- Pan, Y., Lin, S., & Zhang, W. (2021). Epigenetic effects of silver nanoparticles and ionic silver in *Tetrahymena thermophila*. *Science of the Total Environment*, 768, 144659.
- Pickles, S., Vigié, P., & Youle, R. J. (2018). Mitophagy and quality control mechanisms in mitochondrial maintenance. *Current Biology*, 28(4), R170-R185.
- Sanapala, P., & Pola, S. (2020). Toxicological evaluation of nanoparticles using prokaryotic model organisms. *Model organisms to study biological activities and toxicity of nanoparticles*, 277-296.
- Qiao, R., Deng, Y., Zhang, S., Wolosker, M. B., Zhu, Q., Ren, H., & Zhang, Y. (2019). Accumulation of different shapes of microplastics initiates intestinal injury and gut microbiota dysbiosis in the gut of zebrafish. *Chemosphere*, 236, 124334.
- Ray, P. C., Yu, H., & Fu, P. P. (2009). Toxicity and environmental risks of nanomaterials: challenges and future needs. *Journal of Environmental Science and Health Part C*, 27(1), 1-35.
- Reineke, J. (Ed.). (2012). *Nanotoxicity: methods and protocols*. Humana Press.

- Sacks, D., Baxter, B., Campbell, B. C., Carpenter, J. S., Cognard, C., Dippel, D., ... & Vorwerk, D. (2018). Multisociety consensus quality improvement revised consensus statement for endovascular therapy of acute ischemic stroke. *International journal of stroke*, 13(6), 612-632.
- Sarwar, N., Choi, S. H., Dastgeer, G., Humayoun, U. B., Kumar, M., Nawaz, A., ... & Yoon, D. H. (2021). Synthesis of citrate-capped copper nanoparticles: A low temperature sintering approach for the fabrication of oxidation stable flexible conductive film. *Applied Surface Science*, 542, 148609.
- Selim, M. E., & Hendi, A. A. (2012). Gold nanoparticles induce apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(4), 1617-1620.
- Sengupta, D., Chen, S. H., Michael, A., Kwok, C. Y., Lim, S., Pei, Y., & Kottapalli, A. G. P. (2020). Single and bundled carbon nanofibers as ultralightweight and flexible piezoresistive sensors. *npj Flexible Electronics*, 4(1), 9.
- Shamasi, Z., Es-haghi, A., Taghavizadeh Yazdi, M. E., Amiri, M. S., & Homayouni-Tabrizi, M. (2021). Role of Rubia tinctorum in the synthesis of zinc oxide nanoparticles and apoptosis induction in breast cancer cell line. *Nanomedicine Journal*, 8(1), 65-72.
- Sharma, S., Virk, K., Sharma, K., Bose, S. K., Kumar, V., Sharma, V., ... & Kalia, S. (2020). Preparation of gum acacia-poly (acrylamide-IPN-acrylic acid) based nanocomposite hydrogels via polymerization methods for antimicrobial applications. *Journal of Molecular Structure*, 1215, 128298.
- Shi, Z., Niu, Y., Wang, Q., Shi, L., Guo, H., Liu, Y., ... & Zhang, R. (2015). Reduction of DNA damage induced by titanium dioxide nanoparticles through Nrf2 in vitro and in vivo. *Journal of hazardous materials*, 298, 310-319.
- Shi, X., Qiao, Y., An, X., Tian, Y., & Zhou, H. (2020). High-capacity adsorption of Cr (VI) by lignin-based composite: Characterization, performance and mechanism. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 839-849.

- Shukla, R. K., Kumar, A., Gurbani, D., Pandey, A. K., Singh, S., & Dhawan, A. (2013). TiO₂ nanoparticles induce oxidative DNA damage and apoptosis in human liver cells. *Nanotoxicology*, 7(1), 48-60.
- 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.
- Singh, K. R., Nayak, V., Sarkar, T., & Singh, R. P. (2020). Cerium oxide nanoparticles: properties, biosynthesis and biomedical application. *RSC advances*, 10(45), 27194-27214.
- Stern, S. T., & McNeil, S. E. (2008). Nanotechnology safety concerns revisited. *Toxicological sciences*, 101(1), 4-21.
- Tanaka, M., Saito, S., Kita, R., Jang, J., Choi, Y., Choi, J., & Okochi, M. (2020). Array-based screening of silver nanoparticle mineralization peptides. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2377.
- Thandapani, P., & Aifantis, I. (2017). Apoptosis, up the ante. *Cancer Cell*, 32(4), 402-403.
- Tiwary, K. P., Ali, F., Choubey, S. K., Mishra, R. K., & Sharma, K. (2021). Doping effect of Ni²⁺ ion on structural, morphological and optical properties of Zinc sulfide nanoparticles synthesized by microwave assisted method. *Optik*, 227, 166045.
- Wang, S., Zhang, R., & Wang, D. (2021). Induction of protective response to polystyrene nanoparticles associated with methylation regulation in *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, 271, 129589.
- Wang, Y., Li, L., Zhao, W., Dou, Y., An, H., Tao, H., ... & Hu, H. (2018). Targeted therapy of atherosclerosis by a broad-spectrum reactive oxygen species scavenging nanoparticle with intrinsic anti-inflammatory activity. *ACS nano*, 12(9), 8943-8960.
- 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.

- White, D. L., Lystrom, L., He, X., Burkert, S. C., Kilin, D. S., Kilina, S., & Star, A. (2020). Synthesis of holey graphene nanoparticle compounds. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(32), 36513-36522.
- Xia, T., Kovochich, M., Liong, 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.
- Xu, X., Saw, P. E., Tao, W., Li, Y., Ji, X., Bhasin, S., ... & Farokhzad, O. C. (2017). ROS-responsive polyprodrug nanoparticles for triggered drug delivery and effective cancer therapy. *Advanced materials*, 29(33), 1700141.
- Xu, Y., Zhao, Y., Liu, S., Lv, S., Chen, L., Wang, W., ... & Xu, H. (2022). Zinc oxide particles can cause ovarian toxicity by oxidative stress in female mice model. *International Journal of Nanomedicine*, 17, 4947.
- Xu, Z., Zhao, H., Liang, J., Wang, Y., Li, T., Luo, Y., ... & Sun, X. (2020). Noble-metal-free electrospun nanomaterials as electrocatalysts for oxygen reduction reaction. *Materials Today Physics*, 15, 100280.
- Xuan, L., Ju, Z., Skonieczna, M., Zhou, P. K., & Huang, R. (2023). Nanoparticles-induced potential toxicity on human health: applications, toxicity mechanisms, and evaluation models. *MedComm*, 4(4), e327.
- Yang, B., Chen, Y., & Shi, J. (2019). Reactive oxygen species (ROS)-based nanomedicine. *Chemical reviews*, 119(8), 4881-4985.
- Yang, D., Zhu, J., Zhou, X., Pan, D., Nan, S., Yin, R., ... & Ding, Y. (2022). Polystyrene micro-and nano-particle coexposure injures fetal thalamus by inducing ROS-mediated cell apoptosis. *Environment international*, 166, 107362.
- Yang, J., Liu, J., Wang, P., Sun, J., Lv, X., & Diao, Y. (2021). Toxic effect of titanium dioxide nanoparticles on corneas in vitro and in vivo. *Aging (Albany NY)*, 13(4), 5020.
- 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, B., Chen, J., Liu, B., Ding, Y., Tang, Y., & Yan, X. (2021). One dimensional graphene nanoscroll-wrapped MnO nanoparticles for high-

- performance lithium ion hybrid capacitors. *Journal of Materials Chemistry A*, 9(10), 6352-6360.
- Yang, C., Yang, J., Lu, A., Gong, J., Yang, Y., Lin, X., ... & Xu, H. (2022). Nanoparticles in ocular applications and their potential toxicity. *Frontiers in molecular biosciences*, 9, 931759.
- Yaqoob, A. A., Umar, K., & Ibrahim, M. N. M. (2020). Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. *Applied Nanoscience*, 10(5), 1369-1378.
- Youle, R. J. (2019). Mitochondria—Striking a balance between host and endosymbiont. *Science*, 365(6454), eaaw9855.
- Yu, H., Wang, M., Zhou, J., Yuan, B., Luo, J., Wu, W., ... & Yu, R. (2020). Microreactor-assisted synthesis of α -alumina nanoparticles. *Ceramics International*, 46(9), 13272-13281.
- Yuan, H., Xia, P., Sun, X., Ma, J., Xu, X., Fu, C., ... & Wang, J. (2022). Photothermal nanozymatic nanoparticles induce ferroptosis and apoptosis through tumor microenvironment manipulation for cancer therapy. *Small*, 18(41), 2202161.
- Yuan, J., Khan, S. U., Luo, J., Jiang, Y., Yang, Y., Yan, J., & Tong, Q. (2022). Biosynthetic silver nanoparticles inhibit the malignant behavior of gastric cancer cells and enhance the therapeutic effect of 5-fluorouracil by promoting intracellular ROS generation and apoptosis. *Pharmaceutics*, 14(10), 2109.
- Zahoor, M., Nazir, N., Iftikhar, M., Naz, S., Zekker, I., Burlakovs, J., ... & Ali Khan, F. (2021). A review on silver nanoparticles: Classification, various methods of synthesis, and their potential roles in biomedical applications and water treatment. *Water*, 13(16), 2216.
- Zhang, J., Li, X., Cheng, W., Li, Y., Shi, T., Jiang, Y., ... & Tang, J. (2022). Chronic carbon black nanoparticles exposure increases lung cancer risk by affecting the cell cycle via circulatory inflammation. *Environmental Pollution*, 305, 119293.
- Zhang, W., Liu, S., Han, D., & He, Z. (2020). Engineered nanoparticle-induced epigenetic changes: An important consideration in nanomedicine. *Acta Biomaterialia*, 117, 93-107.

Zhou, X., Jin, W., Sun, H., Li, C., & Jia, J. (2022). Perturbation of autophagy: An intrinsic toxicity mechanism of nanoparticles. *Science of The Total Environment*, 823, 153629.

BÖLÜM 6

NANOPARTİKÜL KAYNAKLI TOKSİSİTENİN ANLAŞILMASINDA EPİGENETİK MEKANİZMALARIN ROLÜ

Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16378885>

¹ 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, son yıllarda hızla geliştirilen ve geniş bir uygulama beklentisi taşıyan bir sınır teknolojisidir (Quesada-González ve Merkoçi, 2018; Zhang ve ark., 2020). Nanoteknolojinin gelişmesi, biyomedikal ve diğer kesişen alanlarda sürekli ilerlemesiyle birlikte nanopartiküller (NP'ler), hastalıkların teşhisi, tedavisi ve biyolojik görüntülenmesinde çok çeşitli nanomedikal uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte, yenilikçi nanomedikaller, kanser gibi önemli hastalıkların teşhisi ve tedavisi için yeni fırsatlar sunmaktadır (D'Mello ve ark., 2017). İnsanların günlük yaşamlarında NP'lere maruz kalmanın artmasıyla birlikte, bunların biyogüvenliği dünya çapında yaygın bir ilgi görmüştür (Malysheva ve ark., 2015). Şu anda, Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü'nün (OECD) Üretilen Nanomalzemelerin Test ve Değerlendirmesi programı, fizikokimyasal özellikler, çevresel toksisite vb. konuları kısmen ele almaktadır (Rasmussen ve ark., 2016). NP'ler (üç boyutta da <100 nm), arayüz etkileri, büyük özgül yüzey alanı vb. gibi benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle çok dikkat çekmektedir (Collins ve ark., 2017). Parçacık boyutundaki bir azalmayla, NP'lerin yüzey alanı/hacim oranı artar ve bu da toplu malzemeleriyle karşılaştırıldığında fiziko-kimyasal özelliklerindeki farklılıkların temelini oluşturmaktadır. NP'lerin büyük yüzey alanı/hacim oranı, bu parçacıkların yüzeyindeki atom sayısını artırarak biyo-reaktivite ve toksisitelerinin artmasına katkıda bulunur (Donaldson ve ark., 2002; Duffin ve ark., 2007). Bu nedenle, NP'lerin güvenlik değerlendirmesi ve biyolojik etkileri üzerine çalışmalar giderek artmaktadır.

Son yıllarda, birkaç epidemiyolojik çalışma NP'lerin insanlar üzerindeki sağlık etkilerini bildirmiştir (Stebounova ve ark., 2012). NP'lerin parçacık boyutu küçüldükçe havaya kolayca yayılabilmektedir ve solunum yolu, sindirim yolu ve cilt yoluyla vücuda girme olasılığı artmaktadır (Iavicoli ve ark., 2020). NP'lerin toksik etkisi, lipidler, protein ve nükleik asitler gibi biyolojik moleküllerle doğrudan veya dolaylı etkileşimleri sonucu ortaya çıkmaktadır (de Planque ve ark., 2011). NP'ler, internalizasyon /işselleştirme veya alım sırasında meydana gelen fiziksel veya kimyasal etkileşimlerin ardından hücrelerde biyolojik tepkiye neden olmaktadır (Nel ve ark., 2009). NP'lerin neden olduğu biyolojik etkilerin olası mekanizmaları hakkında çok sayıda laboratuvar çalışması rapor edilmiştir. Oksidatif stres ve inflamatuvar

yanıtlar, NP'ler tarafından tetiklenen başlıca mekanizmalar olarak kabul edilmektedir (Tee ve ark., 2016). NP'lere maruz kalma, hücrelerde reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumuna neden olarak, bozulmuş mitokondriyal metabolizmaya ve DNA hasarına neden olmaktadır (Sharma ve ark., 2012). ROS, hücre zarlarını bozarak peroksidasyon yoluyla hücre işlev bozukluğuna neden olmaktadır (Hedberg ve ark., 2016). NP'ler tarafından uyarılan değişmiş mitokondriyal metabolik fonksiyon, apoptozu daha da tetiklemektedir (Lee ve ark., 2020). Ek olarak NP'ler, nükleik asitler gibi biyolojik moleküllerle kimyasal olarak reaksiyona girebilmektedir, böylece hücrelerin moleküler yapısını değiştirebilmekte ve sonunda moleküler fonksiyonlarda değişikliklere neden olmaktadır (Horie ve ark., 2014). Son yıllarda, NP'lerin toksik mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar sadece genotoksisiteye odaklanmamıştır, aynı zamanda hücresel inflamasyona, oksidatif strese, apoptoza ve pirotoza neden olabilen ve dolayısıyla immünotoksisiteye yol açabilen NP aracılı otofajiyi de içermektedir (Feng ve ark., 2020). Ek olarak NP'ler, mitokondriyal antioksidan savunmasının ve demir homeostazının bozulmasına neden olabilir ve bu da ferroptozu yol açabilmektedir (Liang ve ark., 2019).

NP'lerin boyutu, yüzey fonksiyonelliği ve yüzey yükü, hücresel alımı ve lokalizasyonu belirlemektedir. Örneğin, katyonik NP'ler, negatif yüklü plazma membranının bütünlüğünü bozdukları bilindiğinden daha sitotoksiktir (Fröhlich, 2012). Ayrıca, pozitif yüklü kuantum noktaları (QD) hücreler tarafından büyük ölçüde içselleştirilmektedir (Choi ve ark., 2007). Ek olarak, NP'lerin lizozomlarda yerleştiği bulunmuştur ve alım sonucunda mitokondri organellerin morfolojisini ve işlevini değiştirmektedir (Hussain ve ark., 2005; Jia ve ark., 2005; Choi ve ark., 2007). NP'ler difüzyon yoluyla çekirdeğe girebilmektedir. Nükleer gözenek kompleksleri aracılığıyla veya hücrenin nükleer zarının parçalandığı mitoz sırasında kazara taşınabilmektedir (Panté ve Kann, 2002; Parfenov 2006; Singh ve ark., 2009). Örneğin, TiO₂ NP'lerinin sıçanlara *in vivo* (22 nm) veya akciğer makrofajlarına *in vitro* (0.2 ve 0.078 mikron) maruz bırakılması, NP'lerin difüzyon yoluyla çekirdekte lokalizasyonuna yol açmıştır (Geiser ve ark., 2005). 2.1 nm QD'lerin insan makrofajlarında nükleer gözenek kompleksleri aracılığıyla çekirdeğe taşındığı gösterilmiştir (Nabiev ve ark., 2007). NP kaynaklı genotoksisite, interkalasyon veya fiziksel etkileşim yoluyla doğrudan veya oksidatif stres veya hücre

bölünmesinde yer alan proteinlerin değiştirilmesi yoluyla dolaylı olabilir (Mehrabi ve Wilson, 2007; Myllynen, 2009; Singh ve ark., 2009). TiO_2 ve silika NP'lerinin çekirdeğe girdiği ve DNA replikasyonunu ve transkripsiyon süreçlerini inhibe ederek hücre çoğalmasını değiştirdiği gösterilmiştir (Chen ve von Mikecz, 2005). QD'lerin histon proteinleriyle etkileşime girdiği gösterilmiştir (Nabiev ve ark., 2007). Bu nedenle, NP kaynaklı toksik etkilerin spesifik mekanizmalarını derinlemesine sürekli olarak araştırmak ve geliştirmek esastır. Nanotoksistide epigenetik mekanizmaların, yeri doldurulamaz bir rol oynadığını ortaya koyan kanıtlar artmaktadır; bunlar esas olarak DNA metilasyonu, ncRNA'lar, histon modifikasyonu, kromatin yeniden şekillenmesi, genomik baskılama ve RNA metilasyonudur (Pogribna ve Hammons, 2021). Epigenetik etki çalışmaları, NP'lerin çeşitli alanlarda uygulanması ve seçimi için biyolojik bir temel sağlayan NP'lerin biyolojik toksisitesinin incelenmesini daha da genişletmektedir. Özellikle, epigenetik değişikliklerin genellikle hastalıkların ilerlemesinde erken evrelerde meydana geldiği ve çoğunun geri dönüşümlü özelliğe sahip olduğu belirtilmektedir. Kısacası, epigenetik mekanizmaların araştırılması, NP'lerle ilişkili sağlık tehditlerinin erken teşhisi ve önlenmesi için esastır.

1. EPIGENETİK VE NANOTOKSİSİTE

Çok sayıda çalışma NP'lerin genotoksik potansiyelini araştırmış olsa da şimdiye kadar çok az sayıda çalışma epigenetik potansiyellerini değerlendirmiştir (Petersen ve Nelson, 2010). 'Epigenetik' terimi, "*altta yatan DNA dizisinde değişiklik olmaksızın gen ifadesinde kalıtsal ve geri döndürülebilir değişiklikler*" anlamına gelmektedir (Goldberg ve ark., 2007). Başka bir deyişle, epigenetik değişiklikler genel olarak DNA dizisinin kendisinde bir değişiklik içermeyen kalıtsal değişiklikler olarak kabul edilmektedir. DNA/RNA metilasyonu, histon modifikasyonları (metilasyon, asetilasyon), kodlamayan RNA gibi epigenetik değişiklikler, kromatin yapısını ve erişilebilirliğini düzenleyerek gen ifadesini düzenlemektedir. Bu tür değişiklikler/îmzalar, uygun hücresel işlev, farklılaşma, gelişimde önemli bir rol oynar ve çok çeşitli endojen ve ekzojen faktörlerden etkilenir. En çok çalışılan epigenetik değişikliklerden biri, bir metil grubunun (CH_3) sitozin pirimidin halkasının 5. pozisyonuna kovalent olarak eklendiği ve bir DNA metiltransferaz (DNMT) ailesi ve on-on bir translokasyon (TET) enzimlerinin

metilasyon deseninin korunmasında önemli rol oynadığı DNA metilasyonudur (ve demetilasyondur) (Handy ve ark., 2011; Jin ve Robertson, 2012; Williams ve ark., 2012).

Genlerin promotör bölgelerindeki CpG adalarının (yüksek sıklıkta CpG bölgesi olan bölgeler) baskın olarak metillenmemiş olduğu ve gen transkripsiyonunu aktive ettiği genel olarak kabul edilmektedir (Baylin, 2001; Baylin, 2005). Ayrıca, DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları, kromatin konformasyonunun korunmasında önemli bir rol oynar ve bu süreçler sıkı bir şekilde bağlantılıdır (Fuks, 2005; Cedar ve Bergman, 2009; Handy ve ark., 2011). Esas olarak H3 ve H4'ün kuyruk bölgelerinde incelenen histonun translasyon sonrası kovalent modifikasyonları, lizin ve argininin asetilasyonu ve metilasyonu gibi modifikasyonları içerir ve histon asetil transferaz (HAT), histon deasetilaz (HDAC), Histon metiltransferaz (HMT) gibi enzim aileleri tarafından düzenlenmektedir (Fuks, 2005; Cedar ve Bergman, 2009; Handy ve ark., 2011). Önemli düzenleyicilerin bir diğer grubu kodlamayan RNA'lardır ve gen ekspresyonunu transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel seviyelerde düzenler ve DNA metilasyonu ve histon modifikasyon mekanizmasıyla yakından etkileşime girmektedir (Zhao ve ark., 2016; Wei ve ark., 2017; Ferreira ve Esteller, 2018; Hanly ve ark., 2018).

Çevresel ve mesleki hastalıklar ve kimyasal kaynaklı karsinogenez açısından bakıldığında, epigenetik modifikasyonların önemli bir rol oynadığı oldukça iyi bilinmektedir. Genotoksik çevresel karsinojenler tarafından oluşturulan epigenetik değişiklikler Chappell ve arkadaşları (2016) tarafından sistematik olarak incelenmiştir. Epigenetik değişiklikler maruziyetin biyobelirteci veya hastalık ve hastalık ilerlemesinin belirteci olarak kullanılabilirken, aynı zamanda potansiyel terapötik hedefler olarak da kullanılabilirler (Kelly ve ark., 2010; Ladd-Acosta, 2015). Bu, NP toksikolojisi için özellikle önemlidir; burada NP üretim oranı tehlike tanımlama ve risk değerlendirmesini çok aşarken, giderek artan sayıda işçi ve tüketici bu çeşitli malzeme grubuna maruz kalmaktadır (Boccuni ve ark., 2020; Canu ve ark., 2020). Epigenetik ve hastalık biyolojisi ile kanser epigenetiği alanlarında kaydedilen önemli ilerlemeye rağmen, kimyasal kaynaklı epigenetik değişikliklerin anlaşılmasında önemli boşluklar bulunmaktadır. Bu durum nanotoksikoloji alanı için de geçerlidir. Bu nedenle NP kaynaklı epigenetik

değişikliklerin anlaşılması ve mekanizmaların incelenmesi boşlukların doldurulması açısından önemlidir.

2. NANOPARTİKÜLLERİN EPİGENETİK MEKANİZMALAR ÜZERİNE ETKİSİ

2.1. DNA Metilasyonu

DNA metilasyonu, DNA'daki sitozin kalıntılarının kovalent bir modifikasyonudur ve hücresel epigenetik düzenleyici mekanizmanın önemli bir bileşenidir. Ayrıca en çok çalışılan epigenetik modifikasyonlardan biridir (Razin ve Riggs, 1980). Ökaryotlarda DNA metilasyonu, DNA metil transferazlar (DNMT'ler) aracılığıyla sitozin kalıntısının 5. pozisyonuna metil grubunun eklenmesiyle 5'metillenmiş sitozin elde edilmesini içermektedir. Metil grubunun eklenmesi, sitozin bazının bir guanin bazıyla takip edildiği sitozin-fosfat-guanin (CpG) dinükleotidlerinin sitozin kalıntılarında meydana gelmektedir (Jones, 2012; Moore ve ark., 2013). DNA metilasyonu, metilasyon ve demetilasyon reaksiyonları arasında dinamik ve iyi dengelenmiş bir süreçtir. DNA metilasyonu, de novo DNA metiltransferazlar DNMT3 (DNMT3A ve DNMT3B) ailesi tarafından başlatılır, kurulur ve DNA replikasyonu sırasında bakım DNA metiltransferazı DNMT1 tarafından sürdürülmektedir (Ooi ve ark., 2009; Smith ve ark., 2020). Somatik memeli hücrelerinde, DNA metilasyonu yalnızca CpG dinükleotidlerinde meydana gelmektedir. DNA demetilasyonu iki farklı mekanizma ile elde edilir (*i*) hücre bölünmesi sırasında "pasif" bir replikasyona bağlı mekanizma ve (*ii*) "aktif" bir replikasyondan bağımsız mekanizma. Aktif DNA demetilasyon sırasında, on-on bir translokasyon (TET) protein ailesi, 5-meC'yi sırayla 5-hidroksimetilsitozin (5-hmeC) ve 5-karboksisitozine oksitler; bunlar daha sonra bir baz eksizyon DNA onarım mekanizması ile çıkarılmakta ve sitozin ile değiştirilmektedir (Wu ve Zhang, 2017).

Memeli genlerinin %70'inin promotör bölgesi, CpG adaları olarak adlandırılan 1000 bp uzunluğunda CpG bölgeleri içerir ve normalde metillenmemiştir (Deaton ve Bird, 2011). Hipermetile CpG adaları gen ekspresyonunu inhibe eder ve damgalanmış genler, karsinogenez ve kadınlarda X kromozomu inaktivasyonu ile ilişkilidir, CpG adalarının hipometilasyonu ise gen ekspresyonunu kolaylaştırmaktadır (Edwards ve Ferguson-Smith, 2007). DNA metilasyonu, transkripsiyon faktörlerinin hedef genlere bağlanmasını

önleyerek, gen ekspresyonunu doğrudan veya dolaylı olarak metil CpG bağlayıcı proteinler (MBD'ler) aracılığıyla baskılamaktadır (Klose ve Bird, 2006). Bu tür DNA modifikasyonları, gen dizisini değiştirmeden gen ekspresyonunun farklı düzenlemelerini sağlayabilmektedir. Son zamanlarda, DNA metilasyonunun nanotoksikolojide yer alan mekanizmalarda önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır.

Choi ve arkadaşları, ilk kez 2008 yılında NP'lerin önemli epigenetik toksisiteye neden olduğunu bildirmişlerdir (Choi ve ark., 2008). Çalışmalarında, insan MCF-7 meme kanseri hücrelerinin CdTe QD (5 µg/ml) tedavisinin, bu hücrelerdeki DNA metilasyonunu azalttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada gözlemlenen epigenetik değişiklikler, spesifik apoptotik ve antioksidan genlerin ifadesindeki değişikliklerle eşzamanlıydı. NP'lerin hem global DNA metilasyon seviyelerini, spesifik gen promotörlerindeki metilasyonu hem de MBD'ler ve DNMT'ler gibi DNA metilasyonunun düzenlenmesinde yer alan enzimleri/proteinleri etkilediği gösterilmiştir. İnsan keratinositleri HaCaT hücrelerinin silikon dioksit (SiO₂) NP'lerine maruz bırakılmasının, DNMT'lerin ve MBD2'nin azalmış ifadesi nedeniyle global DNA hipometilasyonunu indüklediği gösterilmiştir (Gong ve ark., 2010). Ayrıca, aynı grup tarafından yakın zamanda yapılan bir çalışma, SiO₂ ile tedavi edilen HaCaT hücrelerinde PARP-1 promotöründe DNA metilasyonunun artan seviyeleriyle birlikte, DNA onarım geni PARP-1'in ifadesinde doza bağlı bir azalma olduğunu göstermiştir. Ancak, PARP-1 ifadesindeki bu azalma, bu hücrelerde DNMT1 susturulduğunda kurtarılabilmektedir, bu da NP'lerin DNMT'ler aracılığıyla DNA metilasyonunu değiştirdiğini göstermektedir (Gong ve ark., 2010; Gong ve ark., 2012).

Lu ve arkadaşları, fare akciğerlerindeki epigenetik değişikliklerin kapsamını iki NP, yazıcıyla yayılan tasarlanmış nanopartiküller (PEP'ler) ve bakır oksit (CuO) ile değerlendirmiştir ve hem uzun dağınık nükleer tekrar dizisi 1 (LINE-1) hem de kısa aralıklı nükleer element (SINE) metilasyon seviyelerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda, akciğer dokusunda yükselmiş LINE-1 ekspresyonu, DNMT1 ve DNMT3A ekspresyonunun azalmasıyla birlikte tespit edilmiştir (Lu ve ark., 2016a; Lu ve ark., 2016b). Hem retrotranspozon LINE-1 hem de SINE, bir organizmanın genomundaki transpozonlar veya retrotranspozonlar arasında hareket edebilen transpozon elementlere (TE'ler) aittir ve kopya sayısındaki büyük artış, genom

instabilitesinde önemli bir faktördür. Bu nedenle, TE'lerin susturulmasının sürdürülmesi, konak evriminin yönüdür. DNA metilasyonu, TE'leri susturmak için kalıtsal bir epigenetik modifikasyon olarak kabul edilir ve ayrıca genom stabilitesini, gen baskısını ve gen ifadesini düzenlemede rol oynamaktadır (Ewing ve ark., 2020). Bununla birlikte, NP'ler TE'lerin demetilasyonuna neden olabilir, anormal gen ifadesi olasılığını artırabilir ve böylece organizmanın fizyolojik işlev bozukluğuna yol açabilmektedir. AgNP'lerle (40 nm) tedavi edilen zebra balığı embriyoları daha az kalp atışı ve motor işlev bozukluğu göstermiştir. Olası mekanizma da AgNP'ler çeşitli spesifik miyojenik genlerin metilasyon seviyelerini etkileyerek miyojenik lif oluşumunu, montajını ve kasılmasını engellemektedir (Xu ve ark., 2018). Bu, NP'lerin kardiyovasküler sistem üzerinde etki edebileceğini ve insan sağlığına zararlı etkilere neden olabileceğini göstermiştir.

NP'lerin transplasental epigenetik etkileri ise henüz yoğun çalışılmamıştır. Hamile kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada, hamileliğin erken döneminde hava kirliliğine maruz kalan kadınlarda plasental DNA'nın hipometilasyonu bulunmuştur (Janssen ve ark., 2013). Başka bir çalışmada, *in vitro* bakır oksit (CuO) NP'lerine maruz bırakılan fare nöron hücrelerinde DNA metilasyonunda herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Perreaultve ark.,2012). CuO'nun diğer hücre tiplerinde/dokularda DNA metilasyonu üzerinde benzer etkilere sahip olup olmadığı bilinmemektedir. HaCaT hücrelerinin *in vitro* TiO₂ NP'lerine maruz bırakılması, bu hücrelerde metiyonin döngüsünü bozmuş ve metiyonin seviyelerini düşürmüştür; bu da düzensiz DNA metilasyonu ve ayrıca glutatyon seviyelerini düşürerek oksidatif stresi artırdığını göstermektedir. Bu NP'lerin mitokondride lokalize olduğu bulunmuş olsa da çekirdekte veya diğer sitoplazmik organellerde mevcut değildiler, ancak yine de muhtemelen dolaylı mekanizmalarla metilasyon kapasitesini değiştirmektedir (Tucci ve ark., 2013).

Son zamanlarda, MWCNT'lere mesleki olarak maruz kalan işçiler üzerinde yapılan bir epidemiyolojik çalışma, kan hücrelerindeki DNMT1 promotör bölgelerinde önemli hipermetilasyon bulmuştur (Ghosh ve ark., 2017). 20 maruz kalan ve 20 maruz kalmayan bireyi içeren bir test, nanokompozitlere kısa süreli akut maruziyetin DNA metilasyonunda hiçbir değişiklik olmadığını göstermiştir. Ancak, NP'lere uzun süreli maruziyet, DNA'daki epigenetik değişikliklerle güçlü bir şekilde ilişkilirdi ve metilasyona

uğrayan genler esas olarak lipid metabolizması, bağışıklık sistemi, akciğer fonksiyonu ve tümör gelişimi ile ilgili olanlardı (Rossnerova ve ark., 2020). İnsan epidermal keratinosit hücre hattı HaCaT üzerindeki NP'lerin toksik etkilerinin değerlendirilmesi, NP'lere mesleki cilt maruziyetinin potansiyel tehlikelerinin anlaşılmasına katkıda bulunmuştur. 5 nm parçacık boyutuna sahip silikon nanopartiküllerin (SiNP'ler) HaCaT hücrelerinde genel DNA metilasyonunu ve DNMT1 ve DNMT3A seviyelerini doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Gong ve ark., 2010). İlginç bir şekilde, modifiye edilmiş NP'lerin daha güçlü epigenotoksik etkilere sahip olduğu bulunmuştur (Stoccoro ve ark., 2017). Kristalin SiNP'lerin genel hücre içi DNA metilasyonunu artırdığı araştırılırken, amorf SiNP'lerin epigenom üzerinde çok az etkisi olduğu görülmüştür (Seidel ve ark., 2017). Mao ve arkadaşları, insan embriyonik kök hücrelerinde (hESC'ler) altın nanopartiküllerinin (AuNP'ler) toksikolojik etkisini araştırmış ve AuNP'lerin global DNA hidroksimetilasyonunu artırabileceğini ve global DNA metilasyonunu azaltabileceğini ortaya koymuştur (Senut ve ark., 2016).

Tasarlanmış NP'ün yeni tiplerinden biri olan karbon noktaları (CD'ler), 10 nm'den daha küçük ancak daha büyük bir yüzey alanına sahiptir. Bunlar artık ilaç dağıtımı, biyolojik görüntüleme ve diğer birçok uygulama için tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak potansiyel toksisite ve epigenom üzerindeki etkileri henüz yeterince anlaşılmamıştır. Sima ve ark. tarafından yakın zamanda yapılan bir çalışmada, yazarlar, pozitif veya negatif yüklü CD'lerin çeşitli konsantrasyonları (10–500 µg/mL) ile 24 saat boyunca insan embriyonik akciğer fibroblastı HEL-12469 hücrelerinin tedavisinin, mRNA ve miRNA ifadesi etkilenmiş olsa bile, DNA metilasyonunu etkilemediğini göstermiştir (Sima ve ark., 2020).

Sonuç olarak, NP'lerin yaygın kullanımı biyogüvenliklerine vurgu yapılmasına yol açmıştır. NP'lerin toksik etkilerini tipleri ve fizikokimyasal özellikleri etkilemektedir. DNA metilasyonu değişiklikleri yalnızca toksik etkilerinin mekanizmasını açıklamak için değil, aynı zamanda NP'lerin neden olduğu olumsuz sağlık etkilerinin erken bir biyobelirteci olarak da kullanılabilir. DNA metilasyonu, NP'lerin neden olduğu genom çapında, transkriptomik ve hastalığa özgü genetik değişiklikleri araştırmak için önemli bir aracı olarak kullanılmıştır. Epigenetik mekanizmalara farklı NP'lerin

etkilerini anlamak için daha kapsamlı ve derinlemesine çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.2. Kodlamayan RNA

Kodlamayan RNA (ncRNA), proteinlere çevrilemeyen ancak transkripsiyonu ve translasyon sonrası modifikasyonları düzenleyerek önemli biyolojik süreçlere katılabilen bir RNA molekülü sınıfıdır. Yaygın ncRNA'lar arasında mikroRNA (miRNA) ve uzun kodlamayan RNA (lncRNA) bulunmaktadır (Cech ve Steitz, 2014).

miRNA'lar, şu anda yalnızca ökaryotik hücrelerde bulunan endojen ncRNA'lardır ve ortalama uzunlukları yaklaşık 22 nükleotiddir. Ana rollerinin, baz tamamlayıcı eşleşmesi yoluyla mRNA'ları tanımak ve aralarındaki tamamlayıcılık derecesine bağlı olarak mRNA'ların çeviri sürecini bloke etmek veya parçalamak olan transkripsiyon sonrası düzenleme olduğu düşünülmektedir. Evrimsel olarak oldukça korunmuştur ve çok benzer yapı ve dizilere sahip miRNA'lar farklı organizmalarda bulunabilir. miRNA'ların birçok fizyolojik ve patolojik süreçle ilişkili olduğu bilinmektedir (Krol ve ark., 2010). miRNA'lar, hedef mRNA'ların ifadesini düzenleyerek veya kendileri düzenlenerek bu fizyolojik ve patolojik koşullar üzerinde farklı etkilere sahip olabilir.

Son yıllarda, NP'lerin miRNA ekspresyonunu tetiklediği veya miRNA işlevinde değişikliklere neden olduğu yönünde artan sayıda rapor bulunmaktadır. Bu nedenle, bazı çalışmalar, NP'nin sitotoksitesini değerlendirmede miRNA ekspresyon profillerinin rolünü anlamak için bir yol olarak, NP tarafından indüklenen hücre içi miRNA değişikliklerini tespit etmek için yüksek verimli dizilemeyi kullanmıştır (Li ve ark., 2011). BEAS-2B hücreleri deneysel denek olarak kullanıldığında, TiO₂-NP (14-64 nm) maruziyeti, akciğer kanseri oluşumunda rol oynayan hücre içi miRNA 17-92 kümesinin ve let-7 miRNA ailesinin anormal ekspresyonuna neden olmuştur. TiO₂-NP tedavisinin ayrıca, farklı şekilde ifade edilen miRNA'larla yakından ilişkili olan hücre döngüsü düzenlemesi, apoptoz, kalsiyum sinyalizasyonu, PI3K/AKT sinyalizasyonu, sitoskeletal yeniden şekillenme, hücre adezyonu, oksidatif stres ve inflammatuar yanıt gibi klasik sinyal yollarını değiştirdiği bulunmuştur (Thai ve ark., 2015).

miR-135b, miR-21 ve miR-146b, gebe olmayan farelerin akciğerlerinde CBNP'lere (65 nm) tek bir yüksek doz maruziyetinden sonra yukarı düzenlenmiştir. Bununla birlikte, gebe farelerde CBNP'lere birden fazla düşük doz maruziyetinden sonra yalnızca miR-135b artış göstermiştir (Bourdon ve ark., 2012). Bu sonuç, tek bir yüksek dozda solunan NP'nin insan sağlığı üzerinde de olumsuz bir etkiye sahip olabileceğini ve fizyolojik durumun nanotoksitenin sonuçlarını değiştirebileceğini göstermiştir. Dahası, CuO-NP'lerine maruz kalmanın fare akciğer dokusunda karsinogenez ve bağışıklık tepkisinin düzensizliği ile ilişkili bazı miRNA'ları değiştirdiği bulunmuştur (Rossner ve ark., 2020).

LncRNA, çeşitli biyolojik reaksiyonlarda yaygın olarak yer alan, yüksek doku hücresi özgüllüğüne ve kodlama işlevine sahip olmayan bir RNA parçaları sınıfıdır. Tür korunumu açısından lncRNA'lar mRNA'lardan daha az korunsada daha yüksek doku hücresi özgüllüğüne sahiptirler. Son çalışmalar, lncRNA'ların transkripsiyonel, transkripsiyon sonrası ve epigenetik dahil olmak üzere farklı eylem düzeylerinde NP'ler tarafından indüklenen yaşam aktivitelerini düzenlediğini göstermiştir (Ferrè ve ark., 2016).

Zhao ve arkadaşları (2021), polistiren nanopartiküllerine (PS-NP'ler) maruz kalan *Caenorhabditis elegans*'in bağırsağındaki lncRNA'ların farklı ifadesini incelemiştir. Veriler, dört lncRNA'nın (linc-61, linc-50, linc-9 ve linc-2) PS-NP'ler tarafından oluşturulan toksik etkilerde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. DAF-16, DVE-1, FKH-2 ve NHR-77 NP'lerle oluşturulan yaralanma veya savunmada rol oynayan bağırsak linc-61, linc-50, linc-9 ve/veya linc-2'nin alt akış hedef genleri olabilir. Benzer şekilde, 24 saat boyunca bir dizi Ag + ve AgNP'ye maruz bırakılan *Tetrahymena thermophila*'da, maruz kalmayan kontrole kıyasla 1250 lncRNA farklı şekilde ifade edilmiştir. Ayrıca, Ag + ve AgNP'lerin *Tetrahymena thermophila*'da yükselmiş ROS, lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal disfonksiyon ve büyüme inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir. Bu anormal fizyolojik değişiklikler kısmen değişmiş lncRNA'larla ilişkili olabilir (Pan ve ark., 2021).

ncRNA'lar protein kodlayamasa da çeşitli yaşam aktivitelerini düzenleyebilir ve NP kaynaklı hasarın gelişimine katılabilir. Giderek artan çalışmalar, nanotoksikolojide önemli bir rol oynayan miRNA'ların potansiyel hedef genleri, gelecekte odaklanılması gereken bir alan olacaktır. Ek olarak,

miRNA'ların metilasyonu, NP'lerin toksik etkileri düzenlemesi için potansiyel bir mekanizma olabilir. Ayrıca NP üzerine yapılacak gelecekteki çalışmalar, biyomoleküllerin yeni bir sınıfı olarak lncRNA'lara daha fazla odaklanabilir, NP maruziyetinin ve sağlık etkilerinin daha fazla mekanizmasını araştırabilir ve lncRNA da nanotoksitenin biyobelirteçleri olarak geliştirebilir.

2.3. Histon Modifikasyonu

Ökaryotik kromatin, histon proteinlerinin etrafına sarılmış DNA'dan oluşur ve bu sayede çekirdek içinde DNA'nın paketlenmesi kolaylaşmaktadır. Dört çekirdek histondan ikisi (H2A, H2B, H3 ve H4), etrafında 147 bp DNA'nın sarıldığı bir oktamere oluşturmaktadır ve kromatinin temel birimleri olan nükleozomları meydana getirmektedir (Blackledge ve Klose, 2010). Bitişik nükleozomlar bağlayıcı histon H5 ile bağlanmaktadır (Lachner ve ark., 2003). Gen ekspresyonu, çekirdek histonların N-terminalindeki translasyon sonrası modifikasyonlar tarafından düzenlenmektedir ve şu ana kadar histon proteinleri üzerindeki 60'tan fazla farklı kalıntıda (lizin, arginin ve diğerleri dahil) meydana gelen yaklaşık 12 translasyon sonrası modifikasyon (metilasyon, asetilasyon, sumilasyon ve fosforilasyon gibi) tanımlanmıştır (Lachner ve ark., 2003; Kouzarides, 2007). Bu translasyon sonrası modifikasyonlar, kromatinin paketlenmesini değiştirerek gen ifadesini düzenlemekte ve böylece DNA'nın transkripsiyon faktörlerine erişilebilirliğini, ya doğrudan histon proteinleri üzerindeki yükü değiştirerek ya da dolaylı olarak spesifik modifikasyonlara bağlanan proteinleri kullanarak değiştirmektedir (Kouzarides, 2007). Histonun translasyon sonrası modifikasyonlarına ve DNA metilasyonunun varlığına veya yokluğuna bağlı olarak, kromatin yoğunlaşma seviyesi değişmektedir ve kromatin, ökromatin (daha az yoğunlaşmış ve transkripsiyonel olarak aktif genler içerir) veya heterokromatin (iyi yoğunlaşmış ve kromozomların sentromer, telomer bölgelerinde bulunur) olarak bulunmaktadır (Grewal ve Elgin, 2007).

Histonların asetilasyon modifikasyonu kromatin yeniden şekillenmesi ve gen ekspresyonu için önemlidir. Histon asetilasyonu/deasetilasyonu ayrıca gelişimsel süreçlerde, hücre döngüsü düzenlemesinde ve transkripsiyonel düzenlemede önemli bir faktördür. Histon asetilasyonundan sonra DNA-protein etkileşimleri zayıflamaktadır ve DNA daha kolay ayrışır, bu da ifadenin yukarı düzenlenmesiyle sonuçlanmaktadır. Tersine, histon deasetilasyonu

DNA'nın transkripsiyonel baskılanmasına yol açmaktadır (Shen ve ark., 2015). Histon deasetilaz 4 (HDAC4) geni histon deasetilasyonunda rol oynar ve yapılan bir çalışmada MWCNT'lere maruz kalan işçilerde HDAC4 promotörünün CpG bölgesindeki dört bölgenin metilasyon durumunda önemli değişiklikler bildirilmiştir (Ghosh ve ark., 2017). NP'ler, DNA metilasyonu yoluyla histon modifikasyon durumunu etkileyerek nanotoksositeye aracılık edebilir. Araştırmacılar, yüksek AgNP konsantrasyonlarının A549 hücrelerinde toplam histon H3 birikimine ve genel histon H3 deasetilasyonuna yol açtığını ve histon deasetilasyonuna, DNA metilasyonunun eşlik ettiğini bildirmiştir. Ek olarak, çalışma kromatin yapısındaki değişikliklerin ve hücre morfolojisindeki değişimlerin histon deasetilasyonuyla ilişkili olabileceğini bulmuştur (Blanco ve ark., 2017). Li ve arkadaşları, Çinko NP'lerinin (ZnO-NP) (<100 nm) HaCaT hücrelerinde histon H3K9'un metilasyon seviyesinin artmasına ve histon H4K5'in asetilasyon seviyesinin azalmasına neden olduğunu ortaya koymuştur. Histon metiltransferaz ve asetiltransferaz genlerinin ifadesinde buna karşılık gelen değişiklikler de gösterilmiştir. Bu epigenetik değişikliklerin, ZnO-NP'leri tarafından uyarılan hücre döngüsünün durmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Gao ve ark., 2016).

H2A histon ailesinin bir üyesidir ve H2AX, diğer H2A varyantlarına kıyasla benzersiz bir C-terminal kuyruğu içeren bir H2A varyantıdır. Son yıllarda, çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörlerin uyarılması altında hücresel DNA çift sarmalının kırıldığı ve H2AX üzerindeki serin 139 fosforilasyonunun fosforile bir H2AX (γ -H2AX) oluşturmak üzere değiştirildiği bildirilmiştir (Kinner ve ark., 2008). γ -H2AX, DNA hasarının hassas bir biyobelirtecidir ve DNA hasarı indüksiyonunu ve DNA onarım etkilerini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Çalışma bulgularına göre, SWCNT'lere (0,8-2,0 nm) maruz kalma, sürekli ROS üretimiyle birlikte DNA hasarını ve H2AX fosforilasyonunu şiddetlendirmiştir. SWCNT'lere maruz kalmanın ayrıca oksidatif stresle ilişkili sinyal yollarını aktive ettiği bulunmuştur (Pacurari ve ark., 2008). Dahası, NP'lerin DNA iplik kopmalarına aracılık ettiği, mutasyon sıklığını artırdığı ve p53 ve DNA onarımıyla ilişkili proteinleri aktive ettiği, bu süreçlerin γ -H2AX'in anormal upregülasyonu ile yakından bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Zhu ve ark., 2007; Mroz ve ark., 2008; Wan ve ark., 2012). Bu, γ -H2AX'in NP'lerin neden olduğu DNA hasarı ve anormal gen ifadesinin spesifik bir biyobelirteci olarak hizmet edebileceğini düşündürmektedir. Benzer

şekilde, manyetit nanopartiküllerine kısa süreli düşük dozda maruz kalma, hücre içi γ -H2AX'i indüklemiştir. Kardeş kromatit değişimi ve mikronükleogenez sıklığında da önemli bir artış gözlemlenmiş ve bu değişiklikler doğrudan veya dolaylı olarak NP'lerin neden olduğu ROS içeriğindeki artışla indüklenmiştir (Kawanishi ve ark., 2013). NP'ler ile indüklenen γ -H2AX değişiklikleri, epigenetik etkiler ve doğrudan genotoksisite (DNA hasarı) arasında güçlü bir bağlantı olduğunu öne sürmektedir. Nanotoksikolojide epigenetik değişiklikler ve doğrudan genotoksisite arasındaki daha fazla bağlantıyı araştırmak önemlidir.

X kromozomu inaktivasyonunun (XCI) kesintisinin, AgNP'lerin embriyonik kök hücreler üzerindeki toksik etkilerinde oynadığı rol için bir mekanizma yakın zamanda açıklanmıştır. AgNP'lerde (20 nm) XCI inaktivasyonunun promotör bölgesinde histon 3 lizin 27 trimetilasyonunu (H3K27me3) artırdığı ve bunun da embriyonik kök hücre farklılaşmasıyla yakından ilişkili olan bir dizi X bağlantılı geni baskıladığı gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2019).

Görünürde, NP maruziyeti potansiyel gelişimsel toksisiteye sahip olabilir. Ek olarak, AgNPs tedavisi, fare eritrolösemi hücrelerinde H3K4me3 ve H3K79me1 metilasyonunda önemli bir azalmaya ve histon metiltransferaz DOT-1L ve MLL seviyelerinin aşağı düzenlenmesine neden olmuştur. Ayrıca AgNP'lerin histon metilasyon modifikasyonlarını etkileyerek β -globinin transkripsiyonel sürecini azalttığı da bulunmuştur (Qian ve ark., 2015). β -globin, hemoglobinin önemli bir bileşenidir ve β -globinin anormal ekspresyonu anemik süreçte rol oynamaktadır. Bu nedenle, NP'lerin hematotoksitesisi de gelecekte dikkat edilmesi gereken bir konu olmalıdır. İlginç bir şekilde, gebelik sıçanlarının TiO₂-NP'lerine maruz bırakılması yavruların epigenomunu değiştirmiştir. TiO₂-NP'leri, H3K4me3 ve H3K27me3 yoluyla yavrularda karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını bozmaktadır (Stapleton ve ark., 2018).

Sonuç olarak, histon modifikasyonları NP'lerin neden olduğu toksik etkiye bağlı olarak sağlık hasarının gelişimiyle yakından ilişkilidir. Hastalık gelişimini ve prognozunu tahmin etmek için moleküler bir biyobelirteç haline gelmektedir. Histon modifikasyonlarının incelenmesi, NP'lerle ilişkili hastalıkların patogenezi için yeni perspektifler ve erken teşhis ve önlenmesi için yeni fikirler sunmaktadır.

2.4. Kromatin Yeniden Modellenmesi

Kromatin, DNA transkripsiyonu sırasında sıkı bir süperheliks yapıdan açık ve seyrek bir yapıya dönüşür ve bu, kromatin yapısı ve pozisyonunda bir dizi düzenlenmiş değişiklik yoluyla gen ekspresyonunu düzenlemektedir. Kromatin yeniden modellenmesi, gen ekspresyonu, apoptotik DNA replikasyonu ve onarımı ve tümör oluşumuyla yakından ilişkilidir (Yan ve Chen, 2020). Kromatin yeniden modellenmesi esas olarak nükleozomların yapısında ve DNA dizisine göre pozisyonlarında değişiklikleri içermektedir. Kromozom yeniden modellenme sürecinin düzenlenmesi, histon değiştiriciler ve ATP'ye bağlı kromatin yeniden modelleyicileri olmak üzere iki sınıf enzimi içermektedir (Yan ve Chen, 2020). Son zamanlarda, çalışmalar kromozom yeniden modellenmesinin NP aracılı biyolojik toksisiteden etkilendiğini bildirmiştir. Gao ve arkadaşları (2011), TiO₂-NP'lerine maruz kalan farelerin lenf düğümlerinin proteomunu ölçerek, nükleozom montajında ve bağışıklık tepkisinde yer alan farklı şekilde ifade edilen proteinleri tanımlamıştır. Bu, NP'lerin vücuda girdiklerinde nükleozom montaj süreçlerini etkilediğini ve bunun da hastalığı indüklemek için kromatinin normal işlevini değiştirdiğini göstermiştir. Ek olarak, fare embriyonik fibroblastlarının AgNP'lere maruz bırakılmasının, nükleozom montaj bileşenlerinin anormal bir şekilde artmasına neden olduğu ve böylece apoptotik sürece aracılık ettiği keşfedilmiştir (Gurunathan ve ark., 2018). Zhou ve arkadaşları, SiNP'lerin PIWI benzeri protein 1'in ekspresyon seviyesini yukarı düzenleyerek veya MIWI'nin bozunmasını engelleyerek nükleer histon ubiquitinasyonunu engellediğini ve bunun sonucunda fare geç evre spermatositlerinin sitoplazmasında RING parmak proteini 8'in tutulduğunu göstermiştir. SiNP'lerin ayrıca H2A/H2B'nin uzaklaştırılmasını engelleyerek kromatin yoğunlaşmasını engellediği ve bunun sonucunda spermatosit farklılaşmasının bozulduğu bulunmuştur (Liu ve ark., 2021). Sonuç olarak, NP'ler nükleozomların yapısını ve yerini değiştirerek kromozomal yeniden modellenmeye neden olabilmektedir ve bu da biyolojik toksisiteyi tetiklemektedir. Nükleozomların yapısal değişiminin ve histon modifikasyonlarının yakından ilişkili olduğunu ve bu nedenle nanotoksiteyi keşfetmek için hala çok fazla araştırma alanı olduğunu dikkate almakta fayda vardır.

2.5. Genomik İmprinting

Genomik imprinting, farklı ebeveynlerden dolayı bir fenotipi kontrol eden bir çift allelin farklı ekspresyonunu ifade etmektedir. Organizma yalnızca bir ebeveyninden gelen alleli ifade etmektedir. Bir gen, baba ebeveyninden sessiz olup anne ebeveyninden aktive olduğunda baba tarafından damgalanmış, anne ebeveyninden sessiz olup baba ebeveyninden aktive olduğunda ise anne tarafından damgalanmış olarak adlandırılmaktadır. Genomik imprinting, normal memeli gelişimi için gereklidir ve ayrıca bazı insan hastalıklarıyla yakından ilişkilidir (Tucci ve ark., 2019). Zhang ve arkadaşları, gebe farelerin AgNP'lere erken maruz kalmasının zararlı etkilerini gözlemlemiştir ve AgNP'lerin embriyo ve plasentalardaki damgalanmış genlerin metilasyon değişimlerini önemli ölçüde etkilediğini bildirmiştir. Zac1 geninin ortalama metilasyon seviyesi önemli ölçüde azalırken, Igf2r'nin ortalama metilasyon değeri hafifçe artmıştır (Zhang ve ark., 2015). Özellikle Zac1 ve Igf2r genleri embriyonik büyümeyi kontrol eden iki önemli damgalanmış gendir. Damgalanmış genlerdeki değişiklikler NP'lerin normal yavru gelişimi için potansiyel olarak zararlı olabileceğini düşündürmektedir. Damgalanmış genler erkek üremesinde önemli bir rol oynar ve kimyasalların çevresel etkilerine duyarlı lokuslar olarak tanımlanmıştır. Bir çalışmada TM-4 destekleyen hücrelerin düşük dozda altın nanorodlar (GNR'ler) ile uyarılmasının Kcnq1, Ntn1, Peg10, Slc22a2, Pwcr1, Gtl2, Nap115, Peg3, Slc22a2 ve Plagl1'in aşırı ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. Anormal şekilde eksprese edilen 10 damgalanmış gen arasında Kcnq1, Slc22a18, Pwcr1 ve Peg3, kromozom 7'de yer almaktadır. Damgalanmış genlerin anormal ifadesi, TM-4 destekleyen hücrelerde GNR'lerin üreme toksisitesini indüklemesi için potansiyel bir mekanizma olabilir (Yuan ve ark., 2016). Damgalanmış genler öncelikle plasentalı memelilerde bulunur ve burada ebeveyne özgü bir şekilde ifade edilebilirler. Damgalanmış genlerin epigenetik bozulması, genellikle fetal büyüme ve nörodavranışla ilişkilendirilen çeşitli yavru gelişimsel anormalliklerine yol açabilmektedir (Ishida ve Moore, 2013). NP'ler potansiyel olarak genomik imprinting'i değiştirebilir ve bunun sonucunda fetal büyüme ve gelişim üzerinde olumsuz sonuçlar doğurur. Ancak, bu alandaki çalışmalar hala başlangıç aşamasındadır ve bu nedenle, NP'lerin fetüs üzerindeki olumsuz etkilerinde genomik imprinting'in rolü daha fazla araştırılmalıdır.

2.6. m⁶A Modification

N⁶-metiladenozin (m⁶A) modifikasyonu, yüksek organizmaların RNA'larındaki en yaygın modifikasyondur. Dinamik ve geri dönüşümlü olan süreç m⁶A metiltransferazlar ve demetilazlar tarafından düzenlenmektedir. m⁶A modifikasyonu gen ifadesini düzenlemektedir ve birçok yaşam sürecinde önemli rol oynamaktadır (Zhang ve ark., 2020a). MWCNT'lere maruz kalan insan bronşiyal epitel hücrelerinin önemli adenozin genel RNA hipermetilasyonu gösterdiği belirlenmiştir (Emerce ve ark., 2019). Chen ve arkadaşları, CBNP'lerin (14 nm) gebe farelerde ve yavrularında olumsuz etkilere neden olduğu mekanizmayı araştırmıştır. Sonuçlar, gebe farelerde maternal davranışların değiştiğini ve yavrularının beyin dokusunda nöronal sayıda azalma, nöronal deformasyon ve nükleer atrofi gibi patolojik değişiklikler göstermiştir. Bu sonuçlar CBNP'lerin yavrularda m⁶A modifikasyon seviyesini azaltmasıyla ilişkilidir (Zhang ve ark., 2020b). İlginç bir şekilde, patolojik değişiklikler yalnızca F1 neslinde ortaya çıkmıştır ve bu fenomen F2 neslinde ortadan kalkmıştır. Bu, CBNP'ler tarafından indüklenen m⁶A modifikasyonunun yavru genetik sürecinde geri dönüşümlü olduğu anlamına gelmektedir. Yapılan bir çalışmada, miRNA-126'nın m⁶A modifikasyonunun downregülasyonu ile CBNP'lerin m⁶A modifikasyonunun akciğer fibrozis sürecini indüklediği düşünülmektedir (Han ve ark., 2020). m⁶A metilasyonu, RNA metiltransferazlar ve demetilazlar tarafından katalize edilen geri dönüşümlü bir modifikasyondur. Birincisi, en az üç protein içeren çok bileşenli bir komplekstir; bunlar METTL3, METTL14 ve Wilms tümörü 1 ile ilişkili proteindir (WTAP), ikincisi ise şimdiye kadar yağ kütlesi ve obezite ile ilişkili protein (FTO) ve alkile DNA onarım proteini AlkB homolog 5 (ALKBH5) içermektedir. Bir çalışmada METTL3 ve METTL14'ün azaltılmış ekspresyonları bildirilmiştir, bu da m⁶A modifikasyonunun NP ile ilişkili toksisitenin indüklenmesinde önemli bir mekanizma olabileceği fikrini güçlendirmektedir. Mevcut çalışma, m⁶A metilasyonlarının miRNA'lar, cirRNA'lar, lncRNA'lar, mRNA'lar, rRNA'lar ve tRNA'lar üzerinde meydana gelebileceği bildirilmiştir (Han ve ark., 2020). Özellikle, daha önce formüle edilen NP'nin ncRNA değişikliklerine neden olma mekanizması, m⁶A metilasyonlarının meydana gelmesinden kaynaklanıyor olabilir; bu da daha derinlemesine çalışmaların yapılmasına yol açmaktadır.

3. EPIGENETİK DEĞİŞİKLİKLERİ TESPİT ETME YÖNTEMLERİ

Epigenetik mekanizmaların analizi için çok sayıda genom çapında veya gen-spesifik teknik geliştirilmiştir. DNA'nın bisülfıt dönüşümü, tek bir metillenmiş sitozine kadar metillenmiş DNA'yı analiz etmek için çözünürlükler sunarak altın standart olmaya devam etmektedir. Bisülfıt dönüşümünün ardından, DNA PCR ile çoğaltılabilir veya plazmite klonlanabilir ve dizilenebilir. Uygulamalara, DNA miktarına ve örneklerin kaynaklarına bağlı olarak, DNA'nın bisülfıt dizilenmesi metilasyona özgü PCR (MSP), kombine bisülfıt restriksiyon analizi, gerçek zamanlı MSP'den sonra hassas eritme analizi veya metilasyona duyarlı yüksek çözünürlüklü eritme ile takip edilebilmektedir. Genom çapında DNA metilasyon seviyelerini incelemek için, 5' metillenmiş sitozine karşı antikolar kullanılarak metillenmiş DNA immüno çöktürmesi yaygın olarak kullanılan teknik olmaya devam etmektedir (Tollefsbol, 2011).

Kromatin immünoçöktürme (ChIP), DNA-protein etkileşimlerinin yanı sıra histon proteinine yapılan translyasyon sonrası modifikasyonların tanımlanmasını sağlamaktadır. ChIP, uygulamaya göre, yani doğal ChIP veya mikro-ChIP olarak değiştirilebilmektedir ve geleneksel ChIP tekniğine göre çeşitli avantajlar sunmaktadır. ChIP'in ardından, zenginleştirilmiş DNA, bir gen üzerindeki spesifik translyasyon sonrası modifikasyonları tanımlamak için gerçek zamanlı PCR ile analiz edilebilir veya genom çapında protein bağlanma bölgelerini belirlemek için DNA dizileme (ChIP Seq) veya DNA mikrodizi (çip üzerinde ChIP) gibi yüksek verimli tekniklerle birleştirilebilir. Son zamanlarda, dinamik epigenetik mekanizmaları ve bunların çapraz konuşmalarını daha iyi anlamaya yardımcı olacak DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları (bisülfıt metilasyon dizilemeli ChIP gibi) arasındaki çapraz konuşmayı tanımlamak için yeni teknikler geliştirilmiştir (Tollefsbol, 2011).

Küresel miRNA ifadesi mikrodizi veya derin dizileme kullanılarak analiz edilirken, spesifik miRNA'lar gerçek zamanlı PCR, northern blot veya in situ hibridizasyon kullanılarak tanımlanabilmektedir. miRNA'ların işlevini incelemek için, öncelikle spesifik bir miRNA tarafından hedeflenen genler veya yollar bilinmelidir. Targetscan, miRanda, miRWalk gibi çeşitli veri tabanları miRNA-gen etkileşimlerini tahmin etmek için kullanılabilir. Hedef tahminini takiben, miRNA-gen etkileşimlerinin doğrulanması, miRNA

mimikleri/inhibitörleri kullanılarak veya 3'UTR analizi kullanılarak işlev kaybı veya kazanımı yaklaşımlarıyla yapılabilmektedir (Van Rooij, 2011).

SONUÇ

NP'lerin neden olduğu sağlık tehditlerinin mekanizmalarının incelenmesi yalnızca halk sağlığının önlenmesi ve tedavisi için ipuçları sağlamakla kalmaz, daha da önemlisi nanoteknolojinin faydalı gelişimi için bir biyoloji temeli oluşturmaktadır. Bugüne kadar, genetiğin bir dalı olarak epigenetik, NP'lerin biyogüvenliğini keşfetmeye özel ilgi göstermiştir. Bu nedenle, NP'ler tarafından indüklenen epigenetik etkilerin incelenmesi insan sağlığı için daha kapsamlı bir resim sağlayabilir. Aynı zamanda, ilgili epigenetik biyobelirteçlerin tanımlanması, NP'lerin yüksek riskli popülasyonlar üzerindeki zararlı etkilerini azaltmak için güçlü bir araç olabilir. Şu anda, NP'ler tarafından indüklenen epigenetik değişiklikler esas olarak DNA metilasyonu ve hidroksimetilasyonu, ncRNA ekspresyonu ve histon modifikasyonlarını içerir.

NP'lerin morfolojisi, yüklü formu ve parçacık boyutu gibi farklı tipleri ve özellikleri tarafından aracılık edilen epigenetik etkiler nanotoksikolojide ilgi görmektedir. Bu fizikokimyasal özelliklerdeki farklılıklar farklı epigenetik etkileri tetikleyebilir. Sonuç olarak, NP'lerin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve bunlar ile NP'lerin neden olduğu epigenetik değişiklikler arasındaki ilişki, araştırmacılar için daha ileri bir çalışma alanıdır. Şu anda, NP'ler nedeniyle DNA metilasyonu ve DNMT seviyelerindeki anormal değişikliklerin gen ifadesini nasıl etkilediğine ilişkin sonuçlar tartışmalıdır ve daha fazla doğrulamaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ek olarak, NP'lerin histon modifikasyonları üzerindeki etkileri bildirilmiş olsa da, bunların çoğu histon fosforilasyonu, asetilasyonu ve metilasyondur, ubiquitinasyon gibi diğer modifikasyonlar ise henüz araştırılmayı beklemektedir. Dahası, kromozom yeniden modellendirme, genomik imprinting ve m⁶A modifikasyonu gibi epigenetik mekanizmalar ve çeşitli epigenetik tipleri arasındaki bağlantı da nanotoksikolojideki gelecekteki çalışmaların odak noktası olabilir.

NP'lerin epigenetik mekanizmalar üzerindeki etkisine odaklanan birçok mevcut çalışmanın temel sınırlaması, nedensel mekanik ilişkinin kurulmamış olmasıdır. Özellikle, NP'lerin etkileri üzerine yapılan çalışmalarda ana eşzamanlı bulgulardan biri hücre toksisitesidir. Bu nedenle, NP maruziyetinin epigenomu doğrudan etkileyip etkilemediği veya gözlenen maruziyetle ilişkili

değişikliklerin hücre toksisitesinden kaynaklanıp kaynaklanmadığı net değildir. Epigenetik değişikliklerin çoğu toksik olarak gözlemlenmiş olsa da gözlemlenen sonuçlar tek bir zaman penceresini temsil etmektedir. Epigenetik değişikliklerin oldukça dinamik olduğu ve NP'lerin çoğunun daha kısa maruz kalma süresi için incelendiği göz önüne alındığında, sonuçlar kronik bir maruz kalma senaryosu veya maruz kalma koşullarındaki bir değişiklikten kaynaklanan bir durum hakkında bilgi sağlayamaz. Bu nedenle, bu tür değişikliklerin dinamik doğasını anlamak için, kronik düşük maruziyet, farklı zaman pencereleri ve iyileşme periyodunun dahil edilmesi dikkate alınarak çalışmalar tasarlanmalıdır. Dahası, çoğunlukla *in vitro* çalışmalarda gözlemlenen bu değişiklikler *in vivo* ve mümkünse maruz kalan insan popülasyonunda doğrulanmalıdır. Epigenetik değişiklikler ve NP toksikolojisi, IARC gibi kurumlar tarafından mekanik kanıtlara dayalı risk değerlendirmesi, düzenleme ve sınıflandırmada önemli rol oynayabilecek temel mekanik içgörü sağlamada değerli olabilir (Cogliano ve ark., 2008; Smith, 2019).

KAYNAKÇA

- Baylin, S. B. (2001). Aberrant patterns of DNA methylation, chromatin formation and gene expression in cancer. *Hum Mol Genet*, 10, 687-692.
- Baylin, S. B. (2005). DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nature clinical practice Oncology*, 2(Suppl 1), S4-S11.
- Blackledge, N. P., & Klose, R. J. (2010). Histone lysine methylation: an epigenetic modification?. *Epigenomics*, 2(1), 151-161.
- Blanco, J., Lafuente, D., Gómez, M., García, T., Domingo, J. L., & Sánchez, D. J. (2017). Polyvinyl pyrrolidone-coated silver nanoparticles in a human lung cancer cells: Time-and dose-dependent influence over p53 and caspase-3 protein expression and epigenetic effects. *Archives of toxicology*, 91, 651-666.
- Boccuni, F., Ferrante, R., Tombolini, F., Natale, C., Gordiani, A., Sabella, S., & Iavicoli, S. (2020). Occupational exposure to graphene and silica nanoparticles. Part I: workplace measurements and samplings. *Nanotoxicology*, 14(9), 1280-1300.
- Bourdon, J. A., Saber, A. T., Halappanavar, S., Jackson, P. A., Wu, D., Hougaard, K. S., ... & Yauk, C. L. (2012). Carbon black nanoparticle intratracheal installation results in large and sustained changes in the expression of miR-135b in mouse lung. *Environmental and molecular mutagenesis*, 53(6), 462-468.
- Canu, I. G., Batsungnoen, K., Maynard, A., & Hopf, N. B. (2020). State of knowledge on the occupational exposure to carbon nanotubes. *International journal of hygiene and environmental health*, 225, 113472.
- Cech, T. R., & Steitz, J. A. (2014). The noncoding RNA revolution—trashing old rules to forge new ones. *Cell*, 157(1), 77-94.
- Cedar, H., & Bergman, Y. (2009). Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms. *Nature Reviews Genetics*, 10(5), 295-304.
- Chappell, G., Pogribny, I. P., Guyton, K. Z., & Rusyn, I. (2016). Epigenetic alterations induced by genotoxic occupational and environmental human chemical carcinogens: A systematic literature review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 768, 27-45.

- Chen, M., & von Mikecz, A. (2005). Formation of nucleoplasmic protein aggregates impairs nuclear function in response to SiO₂ nanoparticles. *Experimental cell research*, 305(1), 51-62.
- Cho, S. J., Maysinger, D., Jain, M., Röder, B., Hackbarth, S., & Winnik, F. M. (2007). Long-term exposure to CdTe quantum dots causes functional impairments in live cells. *Langmuir*, 23(4), 1974-1980.
- Choi, A. O., Brown, S. E., Szyf, M., & Maysinger, D. (2008). Quantum dot-induced epigenetic and genotoxic changes in human breast cancer cells. *Journal of molecular medicine*, 86, 291-302.
- Choi, A. O., Cho, S. J., Desbarats, J., Lovrić, J., & Maysinger, D. (2007). Quantum dot-induced cell death involves Fas upregulation and lipid peroxidation in human neuroblastoma cells. *Journal of nanobiotechnology*, 5, 1-13.
- Cogliano, V. J., Baan, R. A., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., & El Ghissassi, F. (2008). Use of mechanistic data in IARC evaluations. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 49(2), 100-109.
- Collins, A. R., Annangi, B., Rubio, L., Marcos, R., Dorn, M., Merker, C., ... & Dusinska, M. (2017). High throughput toxicity screening and intracellular detection of nanomaterials. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(1), e1413.
- de Planque, M. R., Aghdaei, S., Roose, T., & Morgan, H. (2011). Electrophysiological characterization of membrane disruption by nanoparticles. *ACS nano*, 5(5), 3599-3606.
- Deaton, A. M., & Bird, A. (2011). CpG islands and the regulation of transcription. *Genes & development*, 25(10), 1010-1022.
- D'Mello, S. R., Cruz, C. N., Chen, M. L., Kapoor, M., Lee, S. L., & Tyner, K. M. (2017). The evolving landscape of drug products containing nanomaterials in the United States. *Nature nanotechnology*, 12(6), 523-529.
- Donaldson, K., Brown, D., Clouter, A., Duffin, R., MacNee, W., Renwick, L., ... & Stone, V. (2002). The pulmonary toxicology of ultrafine particles. *Journal of aerosol medicine*, 15(2), 213-220.
- Duffin, R., Tran, L., Brown, D., Stone, V., & Donaldson, K. (2007). Proinflammogenic effects of low-toxicity and metal nanoparticles in vivo

- and in vitro: highlighting the role of particle surface area and surface reactivity. *Inhalation toxicology*, 19(10), 849-856.
- Edwards, C. A., & Ferguson-Smith, A. C. (2007). Mechanisms regulating imprinted genes in clusters. *Current opinion in cell biology*, 19(3), 281-289.
- Emerce, E., Ghosh, M., Öner, D., Duca, R. C., Vanoirbeek, J., Bekaert, B., Hoet, P. H. M., & Godderis, L. (2019). Carbon nanotube- and asbestos-induced DNA and RNA methylation changes in bronchial epithelial cells. *Chemical Research in Toxicology*, 32(5), 850–860.
- Ewing, A. D., Smits, N., Sanchez-Luque, F. J., Faivre, J., Brennan, P. M., Richardson, S. R., ... & Faulkner, G. J. (2020). Nanopore sequencing enables comprehensive transposable element epigenomic profiling. *Molecular Cell*, 80(5), 915-928.
- Feng, X., Zhang, Y., Zhang, C., Lai, X., Zhang, Y., Wu, J., ... & Shao, L. (2020). Nanomaterial-mediated autophagy: Coexisting hazard and health benefits in biomedicine. *Particle and fibre toxicology*, 17, 1-26.
- Ferre, F., Colantoni, A., & Helmer-Citterich, M. (2016). Revealing protein–lncRNA interaction. *Briefings in bioinformatics*, 17(1), 106-116.
- Ferreira, H. J., & Esteller, M. (2018). Non-coding RNAs, epigenetics, and cancer: tying it all together. *Cancer and Metastasis Reviews*, 37, 55-73.
- Fröhlich, E. (2012). The role of surface charge in cellular uptake and cytotoxicity of medical nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 5577-5591.
- Fuks, F. (2005). DNA methylation and histone modifications: teaming up to silence genes. *Current opinion in genetics & development*, 15(5), 490-495.
- Gao, F., Ma, N., Zhou, H., Wang, Q., Zhang, H., Wang, P., ... & Li, L. (2016). Zinc oxide nanoparticles-induced epigenetic change and G2/M arrest are associated with apoptosis in human epidermal keratinocytes. *International journal of nanomedicine*, 3859-3874.
- Gao, Y., Gopee, N. V., Howard, P. C., & Yu, L. R. (2011). Proteomic analysis of early response lymph node proteins in mice treated with titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Proteomics*, 74(12), 2745–2759.
- 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.
- Ghosh, M., Öner, D., Poels, K., Tabish, A. M., Vlaanderen, J., Pronk, A., ... & Godderis, L. (2017). Changes in DNA methylation induced by multi-walled carbon nanotube exposure in the workplace. *Nanotoxicology*, 11(9-10), 1195-1210.
- Goldberg, A. D., Allis, C. D., & Bernstein, E. (2007). Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell*, 128(4), 635-638.
- Gong, C., Tao, G., Yang, L., Liu, J., Liu, Q., & Zhuang, Z. (2010). SiO₂ nanoparticles induce global genomic hypomethylation in HaCaT cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 397(3), 397-400.
- Gong, C., Tao, G., Yang, L., Liu, J., Liu, Q., Li, W., & Zhuang, Z. (2012). Methylation of PARP-1 promoter involved in the regulation of nano-SiO₂-induced decrease of PARP-1 mRNA expression. *Toxicology letters*, 209(3), 264-269.
- Grewal, S. I., & Elgin, S. C. (2007). Transcription and RNA interference in the formation of heterochromatin. *Nature*, 447(7143), 399-406.
- Gurunathan, S., Qasim, M., Park, C., Yoo, H., Choi, D., Song, H., Park, C., Kim, J. H., & Hong, K. (2018). Cytotoxicity and transcriptomic analysis of silver nanoparticles in mouse embryonic fibroblast cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3618.
- Han, B., Chu, C., Su, X., Zhang, N., Zhou, L., Zhang, M., Yang, S., Shi, L., Zhao, B., Niu, Y., & Zhang, R. (2020). N(6)-methyladenosine-dependent primary microRNA-126 processing activated PI3K-AKT-mTOR pathway drove the development of pulmonary fibrosis induced by nanoscale carbon black particles in rats. *Nanotoxicology*, 14(1), 1–20.
- Handy, D. E., Castro, R., & Loscalzo, J. (2011). Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in cardiovascular disease. *Circulation*, 123(19), 2145-2156.
- Hanly, D. J., Esteller, M., & Berdasco, M. (2018). Interplay between long non-coding RNAs and epigenetic machinery: emerging targets in cancer?. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1748), 20170074.

- Hedberg, J., Karlsson, H. L., Hedberg, Y., Blomberg, E., & Wallinder, I. O. (2016). The importance of extracellular speciation and corrosion of copper nanoparticles on lung cell membrane integrity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 141, 291-300.
- Horie, M., Nishio, K., Kato, H., Endoh, S., Fujita, K., Nakamura, A., ... & Iwahashi, H. (2014). Evaluation of cellular influences caused by calcium carbonate nanoparticles. *Chemico-biological interactions*, 210, 64-76.
- Hussain, S. M., Hess, K. L., Gearhart, J. M., Geiss, K. T., & Schlager, J. J. (2005). In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicology in vitro*, 19(7), 975-983.
- Iavicoli, I., Fontana, L., Leso, V., Macrini, M. C., & Pelclova, D. (2020). Fractional exhaled nitric oxide and nanomaterial exposure in workplaces. *Current Medicinal Chemistry*, 27(42), 7200-7212.
- Janssen, B. G., Godderis, L., Pieters, N., Poels, K., Kiciński, M., Cuypers, A., ... & Nawrot, T. S. (2013). Placental DNA hypomethylation in association with particulate air pollution in early life. *Particle and fibre toxicology*, 10, 1-11.
- Jia, G., Wang, H., Yan, L., Wang, X., Pei, R., Yan, T., ... & Guo, X. (2005). Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environmental science & technology*, 39(5), 1378-1383.
- Jin, B., & Robertson, K. D. (2012). DNA methyltransferases, DNA damage repair, and cancer. *Epigenetic alterations in oncogenesis*, 3-29.
- Jones, P. A. (2012). Functions of DNA methylation: Islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nature Reviews. Genetics*, 13(7), 484-492.
- Kawanishi, M., Ogo, S., Ikemoto, M., Totsuka, Y., Ishino, K., Wakabayashi, K., & Yagi, T. (2013). Genotoxicity and reactive oxygen species production induced by magnetite nanoparticles in mammalian cells. *The Journal of toxicological sciences*, 38(3), 503-511.
- Kelly, T. K., De Carvalho, D. D., & Jones, P. A. (2010). Epigenetic modifications as therapeutic targets. *Nature biotechnology*, 28(10), 1069-1078.
- Kinner, A., Wu, W., Staudt, C., & Iliakis, G. (2008). γ -H2AX in recognition and signaling of DNA double-strand breaks in the context of chromatin. *Nucleic acids research*, 36(17), 5678-5694.

- Klose, R. J., & Bird, A. P. (2006). Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends in biochemical sciences*, 31(2), 89-97.
- Kouzarides, T. (2007). Chromatin modifications and their function. *Cell*, 128(4), 693-705.
- Krol, J., Loedige, I., & Filipowicz, W. (2010). The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature reviews genetics*, 11(9), 597-610.
- Lachner, M., O'Sullivan, R. J., & Jenuwein, T. (2003). An epigenetic road map for histone lysine methylation. *Journal of cell science*, 116(11), 2117-2124.
- Ladd-Acosta, C. (2015). Epigenetic signatures as biomarkers of exposure. *Current environmental health reports*, 2, 117-125.
- Lee, K. I., Su, C. C., Fang, K. M., Wu, C. C., Wu, C. T., & Chen, Y. W. (2020). Ultrafine silicon dioxide nanoparticles cause lung epithelial cells apoptosis via oxidative stress-activated PI3K/Akt-mediated mitochondria-and endoplasmic reticulum stress-dependent signaling pathways. *Scientific Reports*, 10(1), 9928.
- Li, S., Wang, H., Qi, Y., Tu, J., Bai, Y., Tian, T., ... & Xiao, Z. (2011). Assessment of nanomaterial cytotoxicity with SOLiD sequencing-based microRNA expression profiling. *Biomaterials*, 32(34), 9021-9030.
- Liang, C., Zhang, X., Yang, M., & Dong, X. (2019). Recent progress in ferroptosis inducers for cancer therapy. *Advanced materials*, 31(51), 1904197.
- Liou, S. H., Wu, W. T., Liao, H. Y., Chen, C. Y., Tsai, C. Y., Jung, W. T., & Lee, H. L. (2017). Global DNA methylation and oxidative stress biomarkers in workers exposed to metal oxide nanoparticles. *Journal of hazardous materials*, 331, 329-335.
- Liu, J., Li, X., Zhou, G., Zhang, Y., Sang, Y., Wang, J., Li, Y., Ge, W., Sun, Z., & Zhou, X. (2021). Silica nanoparticles inhibiting the differentiation of round spermatid and chromatin remodeling of haploid period via MIWI in mice. *Environmental Pollution*, 284, 117446.
- Lu, X., Miousse, I. R., Pirela, S. V., Melnyk, S., Koturbash, I., & Demokritou, P. (2016a). Short-term exposure to engineered nanomaterials affects cellular epigenome. *Nanotoxicology*, 10(2), 140-150.

- Lu, X., Miousse, I. R., Pirela, S. V., Moore, J. K., Melnyk, S., Koturbash, I., & Demokritou, P. (2016b). In vivo epigenetic effects induced by engineered nanomaterials: A case study of copper oxide and laser printer-emitted engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 10(5), 629-639.
- Malysheva, A., Lombi, E., & Voelcker, N. H. (2015). Bridging the divide between human and environmental nanotoxicology. *Nature Nanotechnology*, 10(10), 835-844.
- Mehrabi, M., & Wilson, R. (2007). Intercalating gold nanoparticles as universal labels for DNA detection. *Small*, 3(9), 1491-1495.
- Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*, 38(1), 23-38.
- Mroz, R. M., Schins, R. P. F., Li, H., Jimenez, L. A., Drost, E. M., Holownia, A., ... & Donaldson, K. (2008). Nanoparticle-driven DNA damage mimics irradiation-related carcinogenesis pathways. *European Respiratory Journal*, 31(2), 241-251.
- Myllynen, P. (2009). Damaging DNA from a Distance. *Nature nanotechnology*, 4(12), 795-796.
- Nabiev, I., Mitchell, S., Davies, A., Williams, Y., Kelleher, D., Moore, R., ... & Volkov, Y. (2007). Nonfunctionalized nanocrystals can exploit a cell's active transport machinery delivering them to specific nuclear and cytoplasmic compartments. *Nano letters*, 7(11), 3452-3461.
- 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.
- Ooi, S. K., O'Donnell, A. H., & Bestor, T. H. (2009). Mammalian cytosine methylation at a glance. *Journal of cell science*, 122(16), 2787-2791.
- Pacurari, M., Yin, X. J., Zhao, J., Ding, M., Leonard, S. S., Schwegler-Berry, D., ... & Vallyathan, V. (2008). Raw single-wall carbon nanotubes induce oxidative stress and activate MAPKs, AP-1, NF- κ B, and Akt in normal and malignant human mesothelial cells. *Environmental health perspectives*, 116(9), 1211-1217.
- Pan, Y., Lin, S., & Zhang, W. (2021). Epigenetic effects of silver nanoparticles and ionic silver in *Tetrahymena thermophila*. *Science of the Total Environment*, 768, 144659.

- Panté, N., & Kann, M. (2002). Nuclear pore complex is able to transport macromolecules with diameters of~ 39 nm. *Molecular biology of the cell*, 13(2), 425-434.
- Parfenov, A. S., Salnikov, V., Lederer, W. J., & Lukyanenko, V. (2006). Aqueous diffusion pathways as a part of the ventricular cell ultrastructure. *Biophysical journal*, 90(3), 1107-1119.
- Perreault, F., Melegari, S. P., da Costa, C. H., Rossetto, A. L. D. O. F., Popovic, R., & Matias, W. G. (2012). Genotoxic effects of copper oxide nanoparticles in Neuro 2A cell cultures. *Science of the total environment*, 441, 117-124.
- Petersen, E. J., & Nelson, B. C. (2010). Mechanisms and measurements of nanomaterial-induced oxidative damage to DNA. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 398, 613-650.
- Pogribna, M., & Hammons, G. (2021). Epigenetic effects of nanomaterials and nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology*, 19, 1-18.
- Qian, Y., Zhang, J., Hu, Q., Xu, M., Chen, Y., Hu, G., ... & Liu, S. (2015). Silver nanoparticle-induced hemoglobin decrease involves alteration of histone 3 methylation status. *Biomaterials*, 70, 12-22.
- Quesada-González, D., & Merkoçi, A. (2018). Nanomaterial-based devices for point-of-care diagnostic applications. *Chemical Society Reviews*, 47(13), 4697-4709.
- Rasmussen, K., González, M., Kearns, P., Sintès, J. R., Rossi, F., & Sayre, P. (2016). Review of achievements of the OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials' Testing and Assessment Programme. From exploratory testing to test guidelines. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 74, 147-160.
- Razin, A., & Riggs, A. D. (1980). DNA methylation and gene function. *Science*, 210(4470), 604-610.
- Rossner Jr, P., Vrbova, K., Rossnerova, A., Zavodna, T., Milcova, A., Klema, J., ... & Topinka, J. (2020). Gene expression and epigenetic changes in mice following inhalation of copper (II) oxide nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(3), 550.

- Rossnerova, A., Honkova, K., Pelclova, D., Zdimal, V., Hubacek, J. A., Chvojikova, I., ... & Dvorackova, S. (2020). DNA methylation profiles in a group of workers occupationally exposed to nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2420.
- Sargent, L. M., Hubbs, A. F., Young, S. H., Kashon, M. L., Dinu, C. Z., Salisbury, J. L., ... & Reynolds, S. H. (2012). Single-walled carbon nanotube-induced mitotic disruption. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 745(1-2), 28-37.
- Seidel, C., Kirsch, A., Fontana, C., Visvikis, A., Remy, A., Gaté, L., ... & Guichard, Y. (2017). Epigenetic changes in the early stage of silica-induced cell transformation. *Nanotoxicology*, 11(7), 923-935.
- Senut, M. C., Zhang, Y., Liu, F., Sen, A., Ruden, D. M., & Mao, G. (2016). Size-dependent toxicity of gold nanoparticles on human embryonic stem cells and their neural derivatives. *Small*, 12(5), 631-646.
- Sharma, V., Anderson, D., & Dhawan, A. (2012). Zinc oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and ROS-triggered mitochondria mediated apoptosis in human liver cells (HepG2). *Apoptosis*, 17, 852-870.
- Shen, Y., Wei, W., & Zhou, D. X. (2015). Histone acetylation enzymes coordinate metabolism and gene expression. *Trends in plant science*, 20(10), 614-621.
- Sima, M., Vrbova, K., Zavodna, T., Honkova, K., Chvojikova, I., Ambroz, A., ... & Rossner Jr, P. (2020). The differential effect of carbon dots on gene expression and DNA methylation of human embryonic lung fibroblasts as a function of surface charge and dose. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 4763.
- Singh, N., Manshian, B., Jenkins, G. J., Griffiths, S. M., Williams, P. M., Maffei, T. G., ... & Doak, S. H. (2009). NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*, 30(23-24), 3891-3914.
- Smith, J., Sen, S., Weeks, R. J., Eccles, M. R., & Chatterjee, A. (2020). Promoter DNA hypermethylation and paradoxical gene activation. *Trends in Cancer*, 6(5), 392-406.
- Smith, M. T. (2019). Key characteristics of carcinogens. *Tumour site concordance and mechanisms of carcinogenesis*.

- Sooklert, K., Nilyai, S., Rojanathanes, R., Jindatip, D., Sae-Liang, N., Kitkumthorn, N., ... & Sereemasapun, A. (2019). N-acetylcysteine reverses the decrease of DNA methylation status caused by engineered gold, silicon, and chitosan nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 4573-4587.
- Stapleton, P. A., Hathaway, Q. A., Nichols, C. E., Abukabda, A. B., Pinti, M. V., Shepherd, D. L., ... & Nurkiewicz, T. R. (2018). Maternal engineered nanomaterial inhalation during gestation alters the fetal transcriptome. *Particle and fibre toxicology*, 15, 1-15.
- Stebounova, L. V., Morgan, H., Grassian, V. H., & Brenner, S. (2012). Health and safety implications of occupational exposure to engineered nanomaterials. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 4(3), 310-321.
- Stocco, A., Di Bucchianico, S., Coppedè, F., Ponti, J., Ubaldi, C., Blois, M., ... & Migliore, L. (2017). Multiple endpoints to evaluate pristine and remediated titanium dioxide nanoparticles genotoxicity in lung epithelial A549 cells. *Toxicology letters*, 276, 48-61.
- Tee, J. K., Ong, C. N., Bay, B. H., Ho, H. K., & Leong, D. T. (2016). Oxidative stress by inorganic nanoparticles. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 8(3), 414-438.
- Thai, S. F., Wallace, K. A., Jones, C. P., Ren, H., Prasad, R. Y., Ward, W. O., ... & Blackman, C. F. (2015). Signaling pathways and microRNA changes in nano-TiO₂ treated human lung epithelial (BEAS-2B) cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15(1), 492-503.
- Tollefsbol, T. O. (2011). Advances in epigenetic technology. In *Epigenetics protocols* (pp. 1-10). Totowa, NJ: Humana Press.
- Tucci, P., Porta, G., Agostini, M., Dinsdale, D., Iavicoli, I., Cain, K., ... & Willis, A. (2013). Metabolic effects of TiO₂ nanoparticles, a common component of sunscreens and cosmetics, on human keratinocytes. *Cell death & disease*, 4(3), e549-e549.
- Van Rooij, E. (2011). The art of microRNA research. *Circulation research*, 108(2), 219-234.
- Wan, R., Mo, Y., Feng, L., Chien, S., Tollerud, D. J., & Zhang, Q. (2012). DNA damage caused by metal nanoparticles: involvement of oxidative stress

- and activation of ATM. *Chemical research in toxicology*, 25(7), 1402-1411.
- Wei, J. W., Huang, K., Yang, C., & Kang, C. S. (2017). Non-coding RNAs as regulators in epigenetics. *Oncology reports*, 37(1), 3-9.
- Williams, K., Christensen, J., & Helin, K. (2012). DNA methylation: TET proteins—guardians of CpG islands?. *EMBO reports*, 13(1), 28-35.
- Wu, X., & Zhang, Y. (2017). TET-mediated active DNA demethylation: mechanism, function and beyond. *Nature Reviews Genetics*, 18(9), 517-534.
- Xu, Q. H., Guan, P., Zhang, T., Lu, C., Li, G., & Liu, J. X. (2018). Silver nanoparticles impair zebrafish skeletal and cardiac myofibrillogenesis and sarcomere formation. *Aquatic Toxicology*, 200, 102-113.
- Yan, L., & Chen, Z. (2020). A unifying mechanism of DNA translocation underlying chromatin remodeling. *Trends in Biochemical Sciences*, 45(3), 217–227.
- Zhang, H., Shi, X., Huang, T., Zhao, X., Chen, W., Gu, N., & Zhang, R. (2020a). Dynamic landscape and evolution of m6A methylation in human. *Nucleic Acids Research*, 48(11), 6251–6264.
- Zhang, J., Chen, Y., Gao, M., Wang, Z., Liu, R., Xia, T., & Liu, S. (2019). Silver nanoparticles compromise female embryonic stem cell differentiation through disturbing X chromosome inactivation. *ACS nano*, 13(2), 2050-2061.
- Zhang, S., Meng, P., Cheng, S., Jiang, X., Zhang, J., Qin, X., Tang, Q., Bai, L., Zou, Z., & Chen, C. (2020b). Pregnancy exposure to carbon black nanoparticles induced neurobehavioral deficits that are associated with altered m(6)A modification in offspring. *Neurotoxicology*, 81, 40–50.
- Zhao, Y., Sun, H., & Wang, H. (2016). Long noncoding RNAs in DNA methylation: new players stepping into the old game. *Cell & bioscience*, 6, 1-6.
- Zhao, Y., Xu, R., Chen, X., Wang, J., Rui, Q., & Wang, D. (2021). Induction of protective response to polystyrene nanoparticles associated with dysregulation of intestinal long non-coding RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212, 111976.

Zhu, L., Chang, D. W., Dai, L., & Hong, Y. (2007). DNA damage induced by multiwalled carbon nanotubes in mouse embryonic stem cells. *Nano Letters*, 7(12), 3592

BÖLÜM 7

NANOPARTİKÜLLERİN İNDÜKLEDİĞİ OKSİDATİF STRES: MOLEKÜLER YOLLAR VE BİYOLOJİK SONUÇLAR

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16381518>

¹ Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Nevşehir, Türkiye, sevvalozkaya@nevsehir.edu.tr ORCID ID: 0000-0002-3962-3411

GİRİŞ

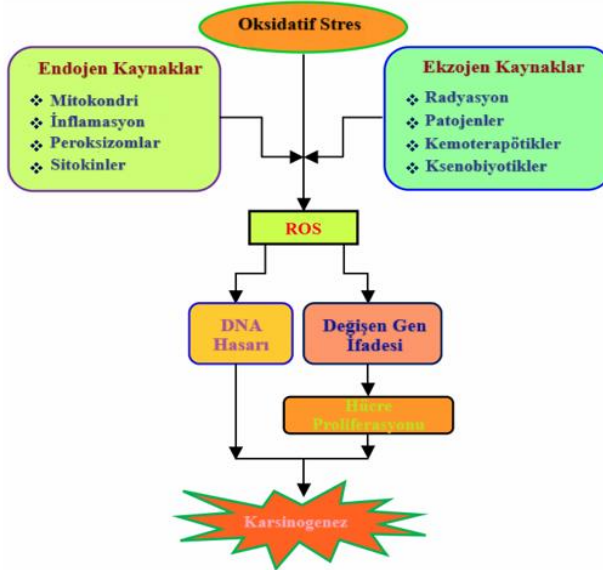
Nanoteknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte, metal ve metal oksit nanopartiküller (NP) kozmetik, gıda ve inşaat endüstrileri ile biyomedikal cihazlar gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Metalik NP bazlı ürünlerin geniş çapta uygulanıyor olması insan maruziyetiyle ilişkili sağlık risklerini artırmaktadır (Song ve ark., 2016). NP'ler özellikle kanser tedavisi, hedeflenmiş ilaç taşıma sistemleri, biyosensörler ve gen tedavisi gibi alanlarda büyük bir potansiyele sahiptir. NP'lerin, boyutları, yüzey özellikleri ve biyokimyasal etkileşimleri nedeniyle, hücresel sistemlerle etkileşime girme ve çeşitli biyolojik sonuçlar üretme kapasitesi bulunmaktadır (Li ve ark., 2021). NP'ler, biyolojik sistemlerde farklı yollarla oksidatif strese yol açarak hem olumlu hem de olumsuz biyolojik etkiler oluşturabilmektedir. Oksidatif stres, vücudun hücresel savunma mekanizmalarının ROS etkili bir şekilde temizleyememesi sonucunda ortaya çıkmaktadır (Herdiana ve ark., 2023). ROS, oksijenin yüksek enerjili, reaktif formudur ve hücrelerin biyomolekülleri ile (DNA, lipid, protein) etkileşime girerek bunlara zarar vermektedir. Sonuç olarak da genetik mutasyonlara, hücre ölümüne ve doku hasarına yol açmaktadır (Wang ve ark., 2021).

NP'ler, özellikle boyutları ve yüzey özellikleri nedeniyle, vücudun normal hücreleri ile etkileşime girdiğinde ROS üretimini artırmaktadır. Ayrıca, kanser tedavisinde kullanılan hedeflenmiş tedavi stratejilerinde de önemli bir rol oynamaktadır (Glorieux ve ark., 2024). NP'ler, tümör hücrelerinde ROS üretimini artırarak hücresel hasar ve ölüme katkı sağlamaktadır. Ancak, bu mekanizmaların normal hücrelerde de zarar verebileceği unutulmadan ayrıntılı bir şekilde hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalar yürütülmelidir. NP'ler, terapötik uygulamalarda kullanıldıklarında, doğru hedefleme yapılmadığı takdirde sağlıklı hücrelerde de toksik etkilere yol açabilmektedir. Dolayısıyla, NP'lerin biyolojik etkileri, tedavi stratejilerinin başarısını doğrudan etkilemektedir (Maksoudian ve ark., 2020).

1. OKSİDATİF STRES

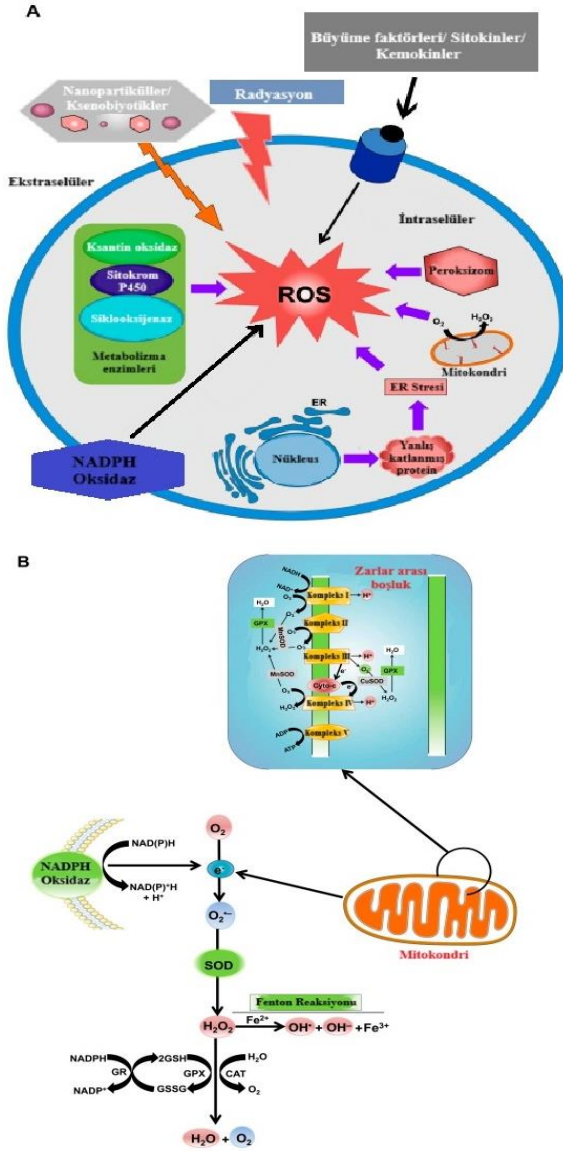
Canlı hücrelerin, her zaman endojen ya da eksojen olarak üretilen yüksek derecede reaktif oksitleyici moleküllerin tehlikeli etkilerine maruz kaldığı bilinmektedir. Bu moleküller, serbest radikaller ve radikal olmayan moleküller olabilmektedir. Fakat hepsinin ortak özelliği, temasta bulundukları

moleküllerden kolayca elektron alıp onları oksitleme yeteneklerine sahip olmalarıdır. Bu da zincirleme reaksiyonlar başlatmaktadır ve sonuç olarak hücre yapısının hasar görmesine yol açmaktadır. Bu molekül sınıfları arasında ROS ve RNS'den türeyenlerin, en yüksek konsantrasyonda endojen olarak üretilmelerinden dolayı en büyük biyolojik etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Filomeni ve ark., 2015). Oksidatif stres, artan ROS/RNS üretimi veya antioksidan koruyucu yeteneğin azalmasından kaynaklanmaktadır ve hedef biyomoleküllere yönelik oksidatif saldırılara karşı endojen sistemlerin savunma kapasitesinin azalmasıyla karakterizdir. Ayrıca oksidatif stresin şiddeti, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve yaşlanma gibi çeşitli patolojilerle ilişkili olduğu bilinmektedir (Şekil 1) (López-Alarcón ve Denicola, 2013). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, oksidatif stresin 100'ün üzerinde hastalıkla ilişkili olduğu değerlendirilmiştir (Halliwell ve ark., 1992; Gutteridge ve Halliwell 1993). Reaktif oksijen türleri tarafından meydana gelen oksidatif bozulmanın geri dönüşümsüz ilerlemesi, yaşlanma biyolojisinin durumunu da olumsuz yönde etkilemektedir. Dolayısıyla fizyolojik işlevlerin bozulmasına, hastalık sıklığının artmasına ve yaşam süresinin kısalmasına yol açmaktadır (Maulik ve ark., 2013).



Şekil 1. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) karsinogenez sürecindeki rolü (Sahoo ve ark., 2020).

Hücredeki ROS'un ana kaynağının mitokondriyal solunum zinciri olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (Şekil 2A). Özellikle kompleks I ve III gibi mitokondriyal komplekslerin, elektron sızıntısına yol açabildiği görülmektedir ve bu da oksijenin kısmi olarak süperoksit (O_2^-) indirgenmesine neden olmaktadır. Bu aşama ise, süperoksit dismutaz (SOD) aracılığıyla katalize edilen reaksiyonla ya da kendiliğinden çok hızlı bir şekilde hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşmesiyle sonuçlanmaktadır (Şekil 2B) (Chance ve ark., 1979). Mitokondriler tarafından üretilen ROS'un oksijen tüketiminin toplam hızının yaklaşık %1-2'si olduğu tahmin edilmektedir. İlk bakışta bu oran çok düşük gibi görünse de aslında insan vücudundaki her bir hücrenin ortalama oksijen kullanım hızının yaklaşık 2.5×10^{-18} mol/s (günde 2.2×10^{10} molekül) olduğu göz önünde bulundurulduğunda, hücre içinde günlük üretilen ROS miktarının yaklaşık 1 milyar molekül olduğu hesaplanmaktadır. Bu değer insan vücudundaki yaklaşık 50 milyon hücre sayısı ile çarpıldığında, fizyolojik olarak maruz kaldığımız ROS akışının yoğunluğu hakkında bir fikir edinilebilmektedir (Wagner ve ark., 2011).



Şekil 2. ROS oluşumunun kaynakları **(A)** ROS üretiminin hücre içi ve hücre dışı kaynaklarını görsel olarak açıklayan diyagram. **(B)** NADPH oksidaz ve mitokondriden kaynaklanan ROS oluşumunu ve ROS'un temizlenmesinde rol alan mekanizmaları özetleyen şematik diyagram. NOX: NADPH oksidaz; SOD: süperoksit dismutaz; CAT: katalaz; GPX: glutatyon peroksidaz; e^- : elektron; GR: glutatyon redüktaz; Cyto-c: sitokrom C; GSSG: glutatyon disülfid.

1.1. ROS Sınıflandırması ve Üretimi

Serbest radikaller, dış yörüngede eşleşmemiş elektrona sahip reaktif kimyasal türleri temsil etmektedir (Poljsak ve ark., 2013). ROS, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-), singlet oksijen ($1/2 O_2$) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi serbest radikal ve serbest olmayan oksijenli molekülleri içermektedir. Ayrıca reaktif azot, demir, bakır ve kükürt türleri de bulunmaktadır. Oksidatif stres ve redoks dengesinin bozulması, bu radikal türlerinden kaynaklanmaktadır. Endojen ve eksojen serbest radikal oluşumu, hem gerçekleşen metabolik süreçler hem de çevresel oksidanların etkisi nedeniyle engellenememektedir (Halliwell ve ark., 1992). Serbest radikaller, hücresel solunum gibi aerobik süreçlerde, fagosit aktivasyonu içeren mikrobiyal enfeksiyonlara maruz kalma, yoğun fiziksel aktivite sırasında veya sigara dumanı, alkol, iyonlaştırıcı ve UV ışınları, pestisitler ve ozon gibi kirleticilerin/toksinlerin etkisiyle yüksek seviyede üretilmektedir. Düşük miktarlarda reaktif oksijenli türleri, hücre proliferasyonu, apoptoz ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde yer alan sinyal iletilen moleküller olarak görev yapmaktadır ve transkripsiyon faktörlerini tetiklemektedir (Maulik ve ark., 2013).

ROS, radikal ROS ve radikal olmayan ROS olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır (Fridovich, 1984; Jia ve ark., 2020):

- **Radikal ROS:** Süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), hidroksil radikali ($\cdot OH$), nitrik oksit ($NO\cdot$), alkoksil radikalleri ($RO\cdot$), tiyil radikalleri ($RS\cdot$), sülfonil radikalleri ($ROS\cdot$) ve lipid peroksil radikali ($\cdot LOO^-$).
- **Radikal olmayan ROS:** Hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2), diazot dioksit (N_2O_2), ozon (O_3) ve hipokloröz asit ($HOCl$)

Mitokondri, sitoplazma, peroksizomlar, endoplazmik retikulum (ER) ve hücre zarı ROS üretiminin kaynağı olan başlıca hücresel bölümler olarak bilinmektedir. Mitokondri, hücrede oksijenli solunumun gerçekleştiği ve ATP sentezini elektron transferi ve proton gradyanı ile sağlamaktadır. Bu elektron transferi sürecinde, ETZ'nin kompleks I ve II'si ROS üretiminin ana üreticisi olarak görev yapmaktadır ve kompleks III düşük seviyelerde ROS üretimine katkıda bulunmaktadır (Kussmaul ve Hirst 2006; Murphy 2009). Süperoksit (O_2^-) anyonu, baskın mitokondriyal ROS olarak bilinmektedir ve diğer reaktif radikal ve nonradikal oksidanların ana serbest radikalidir. O_2^- anyonu, mitokondriyal matrikste salınmaktadır ve Mn-süperoksit dismutaz (MnSOD)

tarafından nonradikal olan hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürülmektedir. Zayıf bir oksidan olan H_2O_2 , göreceli olarak daha uzun yarı ömrü ve lipid membranlara difüzyon yoluyla ya da kanallar aracılığıyla geçebilme yeteneğinden dolayı oksidatif stresin güçlü bir etkileyeni olarak rol oynamaktadır (Yarjanli ve ark. 2017). $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 'nin belirli hücresel hedefleri olsa da, Fenton kimyası (Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonları varlığında) ile üretilen hidroksil iyonu ($OH^{\bullet}$), rastgele lipitlere, proteinlere ve DNA'ya saldırarak daha toksik hale gelmektedir (Fernandez-Bertolez ve ark. 2019). Diğer bir nonradikal reaktif tür olan singlet oksijen, farklı enzimatik ve foto-indüklenmiş reaksiyonlar sonucunda üretilmektedir. Nötrofillerde bulunan miyeloperoksidazlar (MPO), H_2O_2 'nin singlet oksijene dönüşümünü katalizlemektedir (Bedard ve Krause, 2007).

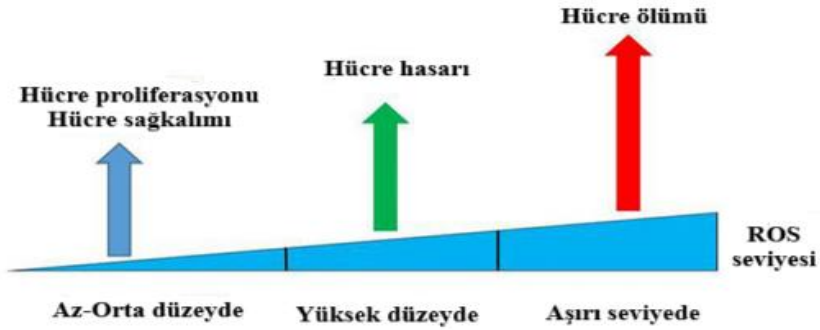
ROS, hücresel sistem içinde gerçekleşen çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik oksidatif süreçler sonucunda yaygın olarak oluşmaktadır. ROS üretimi genellikle hücre zarlarında NADPH oksidazların kullanılmasıyla ve mitokondrilerde NADH oksidoredüktaz gibi enzimlerin yardımıyla iki ana yol üzerinden gerçekleşmektedir (Orient ve ark., 2007). ROS üretimi, NP'ler tarafından doğrudan ya da dolaylı olarak tetiklenmektedir. ROS, oksidatif stres aracılığıyla genotoksisite üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. DNA'nın oksidasyonu mutagenез, karsinogenез, nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma, hücre sinyalleşmesi ve lipid peroksidasyonu gibi süreçlerle ilişkilidir ve bu da hücre ölümü, apoptoz ve kanser oluşumuna yol açabilmektedir (Song ve ark., 2016). ROS, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), oksidazlar ve peroksidazların uyarılmasıyla hücre içi kısımda üretilmektedir. NADPH-oksidad (NOX), Nox1, Nox3, Nox4, Nox5, Duox1 ve Duox2 gibi farklı izomerik formlarda bulunmaktadır. Bu izoformlar, çeşitli normal ya da patolojik hücrelerde farklı ROS türlerinin üretilmesinden sorumludur. NOX4 tarafından üretilen yüksek seviyedeki ROS, hücrelerin hayatta kalmasında rol oynayan büyüme faktörü (EGFR) üzerinde düzenleyici bir etki göstermektedir (Ouyang ve ark., 2015). ROS, ayrıca sitokrom-P450, Ksantin Oksidad (XO) ve nitrik oksit sentaz gibi diğer enzim sistemleri tarafından alternatif bir ürün olarak da üretilmektedir. Örneğin, XO'nun varlığında hipoksantin'in ksantin'e ve ksantinün ürik asite dönüşümünü içermektedir ve bu da süperoksit radikalleri üretimini sağlamaktadır (Murdoch ve ark., 2008).

1.2. ROS Regülasyonu

Normal hücrelerin hayatta kalması ve uygun hücre sinyalleşmesinin gerçekleşebilmesi için ROS'un homeostazisi gereklidir. ROS düzeylerindeki azalma, metabolik süreci, farklılaşmayı ve hücresel çoğalmayı kontrollü bir şekilde düzenleyen sinyal yollarını harekete geçirebilmektedir. Sağlıklı hücrelerle karşılaştırıldığında kanser hücrelerinin, hücresel transformasyon ve karsinogenez için gerekli olan hücre sinyal yollarını aşırı aktive eden lokalize ROS üretiminde artışa neden olduğu bilinmektedir (Zhang ve ark., 2022). ROS birikimi, onkogen aktivasyonu, tümör baskılayıcı gen kaybı, artmış metabolik aktivite, glikoz seviyesinin düşük olması veya hipoksi gibi durumların bir sonucu olarak ortaya çıkabilmektedir. Aşırı düzeyde üretilen ROS, oksidatif hasara ve hücre ölümüne neden olabilmektedir. Bundan dolayı, kanser hücreleri antioksidan kapasitelerini artırarak ROS birikimini düzenlemektedir (Şekil 3) (Boveris ve Chance, 1973). Kanser hücreleri, süperoksit dismutazlar (SOD'lar), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidazlar (GPX'ler) gibi antioksidanların ekspresyonunu artırmak için NRF2 (nükleer faktör eritroid-2 ile ilişkili faktör-2) adlı transkripsiyon faktörünü aktive etmektedir. Kanser hücreleri ayrıca NADPH üretimi, glutatyon (GSH) sentezi ve enzim detoksifikasyonu ile ilgili genleri de tetiklerler. Bu tür bir üretim ve eliminasyon dengesi, pro-tümörjenik sinyalleme için optimum seviyede ROS'un korunmasını sağlamaktadır (Reczek ve Chandel, 2017).

2. ROS VE HÜCRE İÇİ SİNYAL YOLAKLARI

Fizyolojik seviyelerde, ROS birçok hücresel süreç için gerekli olduğu için üretilmektedir (Sies ve Jones, 2020). H_2O_2 gibi oksidanlar, mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK), fosfoinozitid 3-kinaz (PI3K)/protein kinaz B (Akt) ve apoptoz sinyali düzenleyici kinaz 1 (ASK1) gibi kinaz kaskadlarını içeren sinyal yollarını aktive edebilmektedir (Dharshini ve ark., 2020; Sies ve Jones, 2020; Averill-Bates, 2023). Ayrıca nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2), hipoksiye duyarlı faktör 1 α (HIF-1 α), aktivatör protein 1 (AP-1), nükleer faktör kappa B hücre aktivasyonuna yardımcı hafif zincir (NF- κ B) ve CCAAT/arttırıcı-bağlayıcı protein delta (CEBPD) ROS tarafından aktive edilen transkripsiyon faktörleri arasında yer almaktadır (Dharshini ve ark., 2020; Averill-Bates, 2023).



Şekil 3. ROS seviyesinin hücrelere etkisi (Sahoo ve ark., 2022).

Örneğin, Fosfataz ve tensin homologu (PTEN) bir tümör baskılayıcı genlerden biridir ve PI3K/Akt sinyal yolunun negatif düzenleyicisi olduğu bilinmektedir. PTEN'in sistein kalıntıları reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından okside edilir ve bu durum PTEN'i inaktif hale getirir. Sonuç olarak, PI3K/Akt sinyal yolunun aktivasyonu gerçekleşmektedir (Lee ve ark., 2002). Aktive olan PI3K/Akt sinyal yolu, apoptoz (programlanmış hücre ölümü) mekanizmasını baskılayarak hücre ölümünü engellemektedir ve tümör hücrelerinin büyümesini, çoğalmasını, invazyonunu, metastazını ve anjiyogenezini (damarlanma) desteklemektedir. Birçok tümörde PI3K ve/veya PTEN genlerinde mutasyonlar bulunmaktadır ve bu da PI3K yolunun düzeninin bozulmasına yol açmaktadır (Chalhoub ve Baker, 2009; Liu ve ark., 2020). PI3K/Akt yolunun bozulması, anti-apoptotik protein olan Bcl-2'nin ekspresyonunun artmasına neden olmaktadır ve bu da kanser hücrelerinin apoptoza direnç kazanmasına yol açmaktadır. Ayrıca aktive olan Akt, Bad proapoptotik proteinini fosforilasyon yoluyla inhibe etmektedir ve böylece apoptozu engellemektedir. Ek olarak Akt, Bax proteininin mitokondriye taşınmasını önleyerek ve kaspaz-3 aktivasyonunu engelleyen X'e bağlı apoptoz inhibitör proteini (XIAP) ekspresyonunu artırarak da apoptozu engelleyebilmektedir (Liu ve ark., 2020).

3. NANOPARTİKÜLLERİN ROS ARACILI TOKSİSİTESİ

Metal ve metal oksit NP'ler, moleküler oksijene elektron transfer ederek reaktif süperoksit radikalının (ROS) oluşmasına neden olmaktadır ve oluşan

süperoksit bir dizi radikal oluşturan reaksiyon zincirini başlatmaktadır. ROS, hücre yaşamı ve hücre ölümü, farklılaşma, hücre sinyalleşmesi, inflamasyon gibi süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Dolayısıyla, hücre fonksiyonu, düzenlenmesi ve büyümesi açısından hücre içinde oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin korunmasının hayati öneme sahip olduğu bilinmektedir (Panyal ve ark., 2008).

3.1 Gümüş Nanopartiküller (AgNP)

Gümüş (Ag), vücutta bulunan biyomoleküllerdeki tiyol (-SH) gruplarına karşı güçlü bir afiniteye sahiptir. Hücrelerde bulunan çeşitli antioksidanlar arasında; katalaz, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH) ve vitaminler yer almaktadır ve GSH proton transfer etme ve serbest radikal oksijen türlerini yakalama yeteneğine sahip olmasından dolayı hücreyi oksidatif strese karşı korumada başlıca rol oynamaktadır. Ayrıca, AgNP'ler, çözünmüş moleküler oksijene elektron transferini katalizleyerek bir dizi radikal reaksiyona yol açabilmektedir (Fuve ark., 2014; Skalska ve Struzyńska, 2015).

AgNP'lerin toksikolojik özellikler üzerindeki etkilerinin boyutları ve şekilleriyle doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir. AgNP'ler genellikle 1–100 nm boyut aralığında olup, küçük boyutları sayesinde hücrelere ve dokulara kolaylıkla nüfuz edebilmektedir. Yüksek yüzey alanı/hacim oranları ve kendilerine özgü elektronik özellikleri AgNP'leri reaktif hale getirmektedir ve hücrelere zarar verebilecek oksidatif strese yol açan ROS üretmelerine neden olmaktadır (Jaswal ve Gupta, 2023). ROS, normal fizyolojik aktiviteler için normal şartlarda gereklidir fakat yüksek miktarda ROS üretimi, DNA, lipitler ve proteinlere zarar verebilmektedir ve aynı zamanda antioksidan savunma sisteminin çökmesine neden olmaktadır (Sriram ve ark., 2012).

AgNP'lerin potansiyel toksisitesini en aza indirmek için, bunların kontrollü ve sorumlu bir şekilde kullanılması ve uygun güvenlik yönergelerine uyulması önemlidir (Dos Santos ve ark. 2014). Dolayısıyla AgNP'lerle çalışırken eldiven ve maske gibi kişisel koruyucu ekipmanların kullanılmasını ve yüksek konsantrasyonlara ya da uzun süreli maruziyete karşı önlem alınmasını içermektedir. Ayrıca, AgNP'lerin toprak ve suda birikebileceği ve ekosistemlere zarar verebileceği göz önünde bulundurularak çevresel etkileri de dikkate alınmalıdır. AgNP'lerin toksikolojik özelliklerini daha iyi anlamak

ve daha güvenli, etkili kullanım yöntemleri geliştirmek için araştırmalar devam etmektedir (Samal ve ark., 2024).

Schinus molle bitkisi kullanılarak biyolojik olarak sentezlenen AgNP'lerin HepG2 karaciğer kanseri hücrelerinin çoğalmasını doz ve zamana bağlı olarak anlamlı şekilde inhibe etmiştir. Bu çalışma ile elde edilen veriler HepG2 hücrelerinin AgNP'ler ile muamelesinin, reaktif oksijen türlerine (ROS) bağlı bir şekilde sitotoksositeye neden olduğunu ve bu durumun apoptoz ve otofoji ile birlikte gerçekleştiğini ortaya koymuştur (Hailan ve ark., 2022). Sahoo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, AgNP'nin *E. coli* and *S. aureus* bakterilerine gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin, NP yüzeyinde üretilen ROS'un bakteriyel membran üzerinde stres oluşturarak hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir. Alamar Blue boya indirgeme testi, AgNP konsantrasyonu arttıkça sitotoksik aktivitenin de arttığını ortaya koymuştur. Tüm bulgular, hem antimikrobiyal hem de sitotoksik etkilerin, fotokatalitik AgNP'ler tarafından yüzeyde üretilen ROS aracılığıyla tetiklendiğini ve bu durumun bakterilerde zar deformasyonuna, HT1080 hücrelerinde ise DNA hasarına neden olarak hücre ölümüne yol açtığını göstermiştir (Sahoo ve ark., 2023). İnsan osteoklastlarında bakterilerle enfekte olmuş hücrelerde nano-gümüş parçacıklarının bakterisidal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, zehirli olmayan (non-toksik) konsantrasyonlarda uygulanan nano-gümüş, osteoklastlardaki içsel metisiline dirençli ve virulent *S. aureus* bakterilerine karşı bakterisidal aktiviteyi artırmıştır. Nano-gümüş ile muamele edilen hücrelerde bakteri hayatta kalımının azalmasının sebebinin patojenlere karşı artan reaktif oksijen tepkileri ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Aurore ve ark., 2018).

3.2 Çinko Oksit Nanopartiküller (ZnONP)

Sol-jel yöntemiyle sentezlenen ZnONP'lerin, A431 hücrelerinde DNA parçalanması ve ROS üretimi yoluyla p53, bax/bcl-2 ve kaspaz yolları üzerinden apoptozu indüklediği rapor edilmiştir (Khan ve ark., 2021). ZnONP'lerinin toksik etkilerinin temelinde oksidatif stres önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, ZnONP'lerinin hücre içinde ROS birikimine neden olduğu görülmüştür. Bu durum hücre hasarı ve apoptozu tetiklemiştir. Ek olarak hücrelerin antioksidan savunma sisteminde yer alan süperoksit dismutaz (SOD) enziminin düzeyi azalmıştır ve hücre zarlarında hasarın bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyesi artmıştır.

Dolayısıyla ZnONP'lerinin hücrelerde oksidatif dengeyi bozarak oksidatif stres oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca, ROS giderici özellik taşıyan N-merkaptopropionil-glisin ön uygulaması, ZnONP' ler ile indüklenen podosit (böbrek hücreleri) apoptozunu azaltmıştır. Sonuç olarak ZnONP' lerinin hem podositler hem de Wistar sıçanlar üzerinde toksik etkileri olduğu ve bu etkilerin oksidatif stresle ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Xiao ve ark., 2016). Yapılan başka bir çalışmada ZnO₂NP'leri tümör hücrelerine alındıktan sonra, hafif asidik pH'a yanıt olarak parçalanarak kontrollü bir şekilde H₂O₂ ve Zn²⁺ salınımı gerçekleştirmiştir. İlginç bir şekilde, Zn²⁺ iyonları mitokondrideki elektron taşıma zincirini inhibe ederek O₂^{·-} ve H₂O₂ üretimini artırmıştır. Bu mekanizmanın eksojen salınan H₂O₂ ile birlikte sinerjik bir etki oluşturarak kanser hücrelerinin ölümünü teşvik ettiği görülmüştür. Bundan dolayı hem endojen hem de eksojen ROS üretimini birleştirerek kanser hücrelerinde artırılmış oksidatif hasar oluşturan ZnO₂NP temelli tedavi bir tedavi yolu ortaya koyulmuştur (Lin ve ark., 2019).

3.3 Altın Nanopartiküller (AuNP)

30 nm boyutundaki AuNP'lerin akut uygulamasının özellikle karaciğer ve kalpte enerji metabolizmasını azalttığını ortaya koymuştur. 10 nm boyutundaki AuNP'lerin uzun süreli uygulaması karaciğerde enerji metabolizmasının artmasına sebep olurken böbrek ve kalpte azaltmıştır. Ayrıca 30 nm boyutundaki AuNP'lerin uzun süreli uygulaması kalpte enerji metabolizmasını artırmıştır. Çalışmamızın sonuçlarına göre AuNP'lerin DNA hasarına ve enerji metabolizmasındaki değişikliklere neden olan oksidatif hasara yol açabileceği düşünülmektedir (Ferreira ve ark., 2015). Yer fıstığı şeklindeki AuNP'lerin, 72 saatlik muamelesi süresince 1–5 ng/mL dozlarında SKOV-3 over kanseri hücrelerine karşı in vitro ortamda yüksek anti-kanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada, AuNP'lerin yumurtalık kanseri hücrelerinin canlılığını ve çoğalma yeteneğini azalttığı hücre apoptozu (programlı hücre ölümü) ve otofajiyi tetikleyerek gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca, reaktif aşırı ROS üretiminin, AuNP'lerin aracılı hücre ölümünde kritik bir rol oynadığı belirlenmiştir (Piktel ve ark., 2021). Kanser hücrelerinde ve tümörlerde ROS üretimini artırmak ve eş zamanlı olarak tespit etmek amacıyla radyasyona duyarlı PEG ile kaplanmış AuNP'ler sentezlenmiştir. 20 nm boyutunda olan PEG'lenmiş AuNP'ler, çevrelerindeki

ROS üretimini izlemek için bilinen bir ROS sensörü olan dihidrorodamin 123 (DHR-123) ile fonksiyonelleştirilmiştir. Radyoterapi sonrası hücre apoptozunda artışın gözlenmesiyle, hücrelerin etkili şekilde radyosensitize edildiği anlaşılmıştır. Ayrıca, 6 Gy'lik radyoterapi uygulamasından sonra, AuNP yüzeyine yakın bölgede üretilen ROS nedeniyle AuNP'lerin floresansının yedi kat arttığı gözlemlenmiştir (Choi ve ark., 2018).

3.4 Titanyum Dioksit Nanopartikülleri (TiO₂NP)

Chen ve arkadaşları (2021) yaptıkları çalışma sonucunda 1 mg/L TiO₂NP'nin larva zebra balıklarında (zebrafish) motor ve sosyal davranışları bozduğunu ortaya koymuştur. 5 dpf (12 gün döllenme sonrası)' de yapılan mekanistik incelemeler apoptoz ve oksidatif stresin arttığını göstermiştir. Hücre apoptozu, koku alma bölgesinde ve lateral çizgi sistemine ait nöromastlarda artan akrinin oranı (AO) pozitif hücrelerle tanımlanmıştır. Oksidatif stres ise artan lipid peroksidasyonu, ROS üretimi ve katalaz gen ekspresyonunun yükselmesi ile karakterize edilmiştir. Sonuç olarak, erken gelişim döneminde 1 mg/L TiO₂NP'ye maruz kalan larvalarda gözlenen nörodavranışsal değişikliklerin, hücre apoptozu ve oksidatif stres kaynaklı sinirsel hasarlardan kaynaklanabileceği öne sürülmektedir. Başka bir çalışmada endoplazmik retikulum (ER) stresini hafifletmek amacıyla kullanılan 4-fenilbütirik asit tedavisi sonrasında, plazma glukoz seviyelerinin normale döndüğü ve TiO₂NP'nin neden olduğu ROS üretiminin baskılandığı görülmüştür. Bu bulgular ise TiO₂NP'nin oluşturduğu ER stresinin ROS üretimini teşvik ettiğini ve bunun sonucunda farelerde plazma glukoz seviyelerinin arttığını göstermektedir (Hu ve ark., 2019). Kong ve arkadaşları (2022), TiO₂NP'lerin doz bağımlı olarak $\cdot$ OH üretimine neden olduğunu ve bunun sonucunda JB6 (fare epidermal hücre hattı) hücrelerinde AP-1 aktivitesini artırdığını göstermiştir. Ayrıca AP-1-lüsiferaz raportör transgenik fare modelleri kullanarak, TiO₂NP'lerine 24 saatlik deri maruziyeti sonrası deri dokusunda belirgin AP-1 aktivitesi artışı saptanmıştır. Ek olarak, TiO₂NP'lerin AP-1 aktivitesini, hücre dışı sinyal düzenleyici protein kinazlar (ERK'ler), p38 kinaz ve C-Jun N-terminal kinazlar (JNK'ler) dahil olmak üzere, mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK'lar) ailesine ait üyelerin ekspresyonunu uyarak artırdığı görülmüştür. Çalışma sonucunda TiO₂NP'lerin neden olduğu ROS

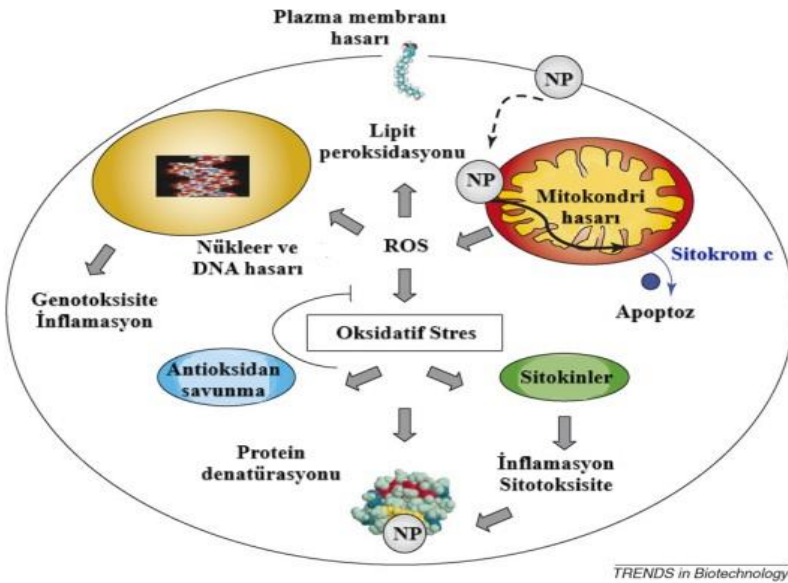
üretiminin, MAPK sinyal yoluyla AP-1 aktivasyonuna aracılık ettiği bildirilmiştir.

3.5. Demir Oksit Nanopartiküller (IONP)

IONP'lerin çeşitli kanser hücre hatlarında ROS üretimi yoluyla sitotoksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Ancak, bu nanopartiküllerin normal hücre hatlarında ve *in vivo* sistemlerde toksisite oluşturma potansiyeliyle ilgili çalışmalar sınırlıdır ve konu hakkındaki belirsizlik hala devam etmektedir (Dadfar ve ark., 2029). Yapılan bir çalışmada, IONP'lerin DNA ile kompleks oluşturduğu ve DNA baz çiftleri arasına interkale olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, sıçan lenfositlerinde doz bağımlı olarak (50, 100, 200, 400 ve 800 µg/ml) hücre canlılığında azalma ve ROS üretiminde artış gözlemlenmiştir. Özellikle doz bağımlı olarak (25, 50, 100 mg/kg IONP) antioksidan enzim aktivitesinde azalma ve lipid peroksidasyonunda artış olduğu için *in vivo* ortamda gözlenen genetik hasarın, ROS üretiminden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca IONP'lerle birlikte timoquinon takviyesinin, hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamda genetik ve oksidatif hasarı istatistiksel olarak anlamlı şekilde ($P<0.05$) doz bağımlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (Ansari ve ark., 2019). IONP'lerin, insan sinir sistemi hücrelerinde (nöronal ve glial hücreler) ROS üretimine neden olarak oksidatif strese yol açtığı bilinmektedir. Bu durum, özellikle DNA hasarı ve antioksidan savunmanın zayıflaması gibi toksik etkilerle sonuçlanmaktadır. Sonuç olarak, IONP'lerin sinir sistemi hücreleri için potansiyel bir sağlık riski oluşturduğuna dair veriler bulunmaktadır (Fernández-Bertólez ve ark., 2019). Ahamed ve arkadaşları (2013) tarafından IONP'lerin insan cilt (A431) ve akciğer (A549) hücrelerinde oksidatif stres oluşturarak DNA hasarı ve hücre ölümüne neden olabileceği gösterilmiştir. Bu etkiler, ROS üretimi ve kaspaz enzimlerinin aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla IONP'lerin genotoksik riski olduğu ve bu durumun canlı organizmalarda da (*in vivo*) detaylı incelenme gerektirdiği düşünülmektedir.

4. KANSER TEDAVİSİNDE ROS-TEMELLİ METAL BAZLI NANOPARTİKÜL KULLANIMI

Kanser tedavisinde nanoteknolojinin ilerlemesiyle birlikte özellikle tümör hücrelerinde ROS üreten NP'lerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. ROS, kanserin gelişimini ve hücre çoğalmasını desteklerken aynı zamanda hücre ölümünü tetikleyerek hücre içindeki oksidatif stresin artmasına yol açabilmektedir. NP'ler, tümör hücrelerinde ROS üretimini artırarak ve bu sayede redoks dengesini bozarak lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasar meydana getirebilmektedir (Şekil 4). Mevcut araştırmalar, ROS temelli nanomalzemelerin kanser tedavisindeki potansiyelini ve gelecekteki gelişim yönlerini incelemeyi sürdürmektedir (Li ve ark., 2021).



Şekil 4. Nanopartikül kaynaklı toksisiteyle ilişkili ROS temelli biyolojik yollar (Sanvicens ve Marco, 2008).

AuNP'ler, yüksek stabiliteleri, benzersiz optik özellikleri ve biyogüvenlikleri nedeniyle ROS temelli tümör tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Asraf ve ark., 2016; Rogowski ve ark., 2016; Slesiona ve ark., 2020). AuNP'ler, çeşitli elektroaktif biyolojik türlerin elektron transferini artırmak için bir redoks katalizörü olarak da kullanılmaktadır. Bu da lipit peroksidasyonunu ve ROS seviyelerini artırarak DNA çift sarmal kırıkları ve hücre apoptozuna yol açmaktadır (Yang ve ark., 2018).

IONP'ler, üstün biyoyumlulukları nedeniyle nanomedikal alanda en yaygın kullanılan nanomalzemeler arasındadır. Süperparamanyetizma

özelliklerinin yanı sıra, IONP'lerin Fenton ve Haber–Weiss reaksiyonları temelinde etkili bir şekilde ROS üretme yeteneklerine sahip olduğu düşünülmektedir (Kehrer, 2000). Bu reaksiyonlar aracılığıyla, demir iyonları yüksek derecede reaktif $\bullet\text{OH}$ ve $\bullet\text{OOH}$ radikallerinin üretimine yol açarak oksidatif strese neden olmaktadır ve sonuç olarak DNA hasarını ve lizozomal veya mitokondriyal fonksiyon bozukluklarını tetiklemektedir (Gaharwar ve ark., 2017; Sang ve ark., 2019; Ghosh ve ark., 2020).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, TiNP'lerin özellikle 1–100 nm çap aralığında artan katalitik aktivite sonucunda tümör hücrelerinde oksidatif stresi ve DNA hasarını artırabileceğini göstermiştir (Li ve ark., 2020). TiNP'lerin ROS temelli sitotoksik antitümör etkileri, meme kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, servikal kanser ve kolon kanseri gibi çeşitli tümör modellerinde gösterilmiştir (Cheng ve ark., 2018; Yang ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2020)

SONUÇ

NP'lerin özellikle oksidatif stres üzerinden gerçekleşen moleküler mekanizmaları göz önüne alındığında biyolojik sistemlerle etkileşimi, hem terapötik potansiyel hem de toksikolojik riskler taşımaktadır. Bu NP'ler başta metal bazlı olanlar olmak üzere, ROS üretimini artırarak hücrelerde DNA hasarı, protein denatürasyonu, lipid peroksidasyonu gibi biyolojik sonuçlara yol açabilmektedir. Oksidatif stresin bu şekilde tetiklenmesi, kontrollü ve hedeflenmiş uygulamalarda tümör hücrelerinin seçici olarak yok edilmesini sağlayarak kanser tedavisinde umut verici bir yaklaşım sunmaktadır. Ancak aynı mekanizmalar sağlıklı hücreler üzerinde de toksik etkilere neden olabileceğinden NP tasarımıyla biyoyumluluk, hedefleme hassasiyeti ve dozaj gibi faktörlerin dikkatli bir şekilde optimize edilmesi gerekmektedir. Gelecekte, daha kontrollü ROS üretimi sağlayan, biyolojik sistemlerle uyumlu ve spesifik olarak hedeflenebilen nanopartikül sistemlerinin geliştirilmesiyle nanoteknoloji temelli tedavilerin hem etkinliği hem de güvenliği önemli ölçüde artırılabilir. Bu bağlamda, disiplinler arası iş birlikleriyle yürütülecek ileri araştırmalar, nanoteknolojinin klinik uygulamalara entegrasyonunu hızlandıracaktır.

KAYNAKÇA

- Aurore, V., Caldana, F., Blanchard, M., Hess, S. K., Lannes, N., Mantel, P. Y., ... & Walch, M. (2018). Silver-nanoparticles increase bactericidal activity and radical oxygen responses against bacterial pathogens in human osteoclasts. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 14(2), 601-607.
- Ahamed, M., A Alhadlaq, H., Alam, J., Majeed, K., Ali, D., & Alarafi, S. (2013). Iron oxide nanoparticle-induced oxidative stress and genotoxicity in human skin epithelial and lung epithelial cell lines. *Current pharmaceutical design*, 19(37), 6681-6690.
- Ansari, M. O., Parveen, N., Ahmad, M. F., Wani, A. L., Afrin, S., Rahman, Y., ... & Shadab, G. G. H. A. (2019). Evaluation of DNA interaction, genotoxicity and oxidative stress induced by iron oxide nanoparticles both in vitro and in vivo: attenuation by thymoquinone. *Scientific Reports*, 9(1), 6912.
- Ashraf, S., Pelaz, B., del Pino, P., Carril, M., Escudero, A., Parak, W. J., ... & Carrillo-Carrion, C. (2016). Gold-based nanomaterials for applications in nanomedicine. *Light-Responsive Nanostructured Systems for Applications in Nanomedicine*, 169-202.
- Averill-Bates, D. A. (2023). The antioxidant glutathione. In *Vitamins and hormones* (Vol. 121, pp. 109-141). Academic Press.
- Bedard, K., & Krause, K. H. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological reviews*, 87(1), 245-313.
- Boveris, A., & Chance, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical Journal*, 134(3), 707-716.
- Chance, B., Sies, H., & Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological reviews*, 59(3), 527-605.
- Chalhoub, N., & Baker, S. J. (2009). PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 4(1), 127-150.
- Chen, J., Lei, L., Mo, W., Dong, H., Li, J., Bai, C., ... & Huang, C. (2021). Developmental titanium dioxide nanoparticle exposure induces oxidative stress and neurobehavioral changes in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 240, 105990.

- Cheng, K., Sano, M., Jenkins, C. H., Zhang, G., Vernekohl, D., Zhao, W., ... & Xing, L. (2018). Synergistically enhancing the therapeutic effect of radiation therapy with radiation activatable and reactive oxygen species-releasing nanostructures. *ACS nano*, 12(5), 4946-4958.
- Choi, J., Jung, K. O., Graves, E. E., & Pratz, G. (2018). A gold nanoparticle system for the enhancement of radiotherapy and simultaneous monitoring of reactive-oxygen-species formation. *Nanotechnology*, 29(50), 504001.
- Dadfar, S. M., Roemhild, K., Drude, N. I., von Stillfried, S., Knüchel, R., Kiessling, F., & Lammers, T. (2019). Iron oxide nanoparticles: Diagnostic, therapeutic and theranostic applications. *Advanced drug delivery reviews*, 138, 302-325.
- Dharshini, L. C. P., Vishnupriya, S., Sakthivel, K. M., & Rasmi, R. R. (2020). Oxidative stress responsive transcription factors in cellular signalling transduction mechanisms. *Cellular Signalling*, 72, 109670.
- Fu, P. P., Xia, Q., Hwang, H. M., Ray, P. C., & Yu, H. (2014). Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 64-75.
- Fernández-Bertólez, N., Costa, C., Bessa, M. J., Park, M., Carriere, M., Dussert, F., ... & Valdiglesias, V. (2019). Assessment of oxidative damage induced by iron oxide nanoparticles on different nervous system cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 845, 402989.
- Filomeni, G., De Zio, D., & Cecconi, F. (2015). Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs. *Cell Death & Differentiation*, 22(3), 377-388.
- Fridovich, I. Overview: biological sources of O₂ - . *Methods Enzymol.*, 1984, 105, 59-61.
- Gaharwar, U. S., Meena, R., & Rajamani, P. (2017). Iron oxide nanoparticles induced cytotoxicity, oxidative stress and DNA damage in lymphocytes. *Journal of Applied Toxicology*, 37(10), 1232-1244.
- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B. (1993). Invited review free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free radical research communications*, 19(3), 141-158.

- Ghosh, S., Ghosh, I., Chakrabarti, M., & Mukherjee, A. (2020). Genotoxicity and biocompatibility of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Influence of surface modification on biodistribution, retention, DNA damage and oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology*, 136, 110989.
- Glorieux, C., Liu, S., Trachootham, D., & Huang, P. (2024). Targeting ROS in cancer: rationale and strategies. *Nature Reviews Drug Discovery*, 23(8), 583-606.
- Hailan, W. A., Al-Anazi, K. M., Farah, M. A., Ali, M. A., Al-Kawmani, A. A., & Abou-Tarboush, F. M. (2022). Reactive oxygen species-mediated cytotoxicity in liver carcinoma cells induced by silver nanoparticles biosynthesized using Schinus molle extract. *Nanomaterials*, 12(1), 161.
- Halliwell, B. A. R. R. Y., Gutteridge, J. M., & Cross, C. E. (1992). Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1992, 119(6), 598-620.
- Herdiana, Y., Sriwidodo, S., Sofian, F. F., Wilar, G., & Diantini, A. (2023). Nanoparticle-based antioxidants in stress signaling and programmed cell death in breast cancer treatment. *Molecules*, 28(14), 5305.
- Hu, H., Fan, X., Yin, Y., Guo, Q., Yang, D., Wei, X., ... & Gu, N. (2019). Mechanisms of titanium dioxide nanoparticle-induced oxidative stress and modulation of plasma glucose in mice. *Environmental toxicology*, 34(11), 1221-1235.
- Jaswal, T., & Gupta, J. (2023). A review on the toxicity of silver nanoparticles on human health. *Materials Today: Proceedings*, 81, 859-863.
- Jia, P., Dai, C., Cao, P., Sun, D., Ouyang, R., & Miao, Y. (2020). The role of reactive oxygen species in tumor treatment. *RSC advances*, 10(13), 7740-7750.
- Kehrer, J. P. (2000). The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*, 149(1), 43-50.
- Kusmaul, L., & Hirst, J. (2006). The mechanism of superoxide production by NADH: ubiquinone oxidoreductase (complex I) from bovine heart mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(20), 7607-7612.
- 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.
- Khan, M. J., Ahmad, A., Khan, M. A., & Siddiqui, S. (2021). Zinc oxide nanoparticle induces apoptosis in human epidermoid carcinoma cells through reactive oxygen species and DNA degradation. *Biological Trace Element Research*, 199, 2172-2181.
- Lee, S. R., Yang, K. S., Kwon, J., Lee, C., Jeong, W., & Rhee, S. G. (2002). Reversible inactivation of the tumor suppressor PTEN by H₂O₂. *Journal of Biological Chemistry*, 277(23), 20336-20342.
- Li, W., Jia, M. X., Deng, J., Wang, J. H., Zuberi, Z., Yang, S., ... & Chen, Z. (2020). MicroRNA response and toxicity of potential pathways in human colon cancer cells exposed to titanium dioxide nanoparticles. *Cancers*, 12(5), 1236.
- Li, Y., Yang, J., & Sun, X. (2021). Reactive oxygen species-based nanomaterials for cancer therapy. *Frontiers in Chemistry*, 9, 650587.
- Liu, R., Chen, Y., Liu, G., Li, C., Song, Y., Cao, Z., ... & Liu, Y. (2020). PI3K/AKT pathway as a key link modulates the multidrug resistance of cancers. *Cell death & disease*, 11(9), 797.
- López-Alarcón, C., & Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica chimica acta*, 763, 1-10.
- Maksoudian, C., Saffarzadeh, N., Hesemans, E., Dekoning, N., Buttiens, K., & Soenen, S. J. (2020). Role of inorganic nanoparticle degradation in cancer therapy. *Nanoscale Advances*, 2(9), 3734-3763.
- Maulik, N., McFadden, D., Otani, H., Thirunavukkarasu, M., & Parinandi, N. L. (2013). Antioxidants in longevity and medicine. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013, 820679.
- Murdoch, C., Muthana, M., Coffelt, S. B., & Lewis, C. E. (2008). The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis. *Nature reviews cancer*, 8(8), 618-631.
- Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical journal*, 417(1), 1-13.
- OuYang, L. Y., Wu, X. J., Ye, S. B., Zhang, R. X., Li, Z. L., Liao, W., ... & Li, J. (2015). Tumor-induced myeloid-derived suppressor cells promote

- tumor progression through oxidative metabolism in human colorectal cancer. *Journal of translational medicine*, 13, 1-12.
- Orient, A., Donko, A., Szabo, A., Leto, T. L., & Geiszt, M. (2007). Novel sources of reactive oxygen species in the human body. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 22(5), 1281-1288.
- Panyala, N. R., Peña-Méndez, E. M., & Havel, J. (2008). Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health?. *Journal of applied biomedicine*, 6(3).
- Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013(1), 956792.
- Piktel, E., Ościłowska, I., Suprewicz, Ł., Depciuch, J., Marcińczyk, N., Chabielska, E., ... & Bucki, R. (2021). ROS-mediated apoptosis and autophagy in ovarian cancer cells treated with peanut-shaped gold nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 1993-2011.
- Reczek, C. R., & Chandel, N. S. (2017). The two faces of reactive oxygen species in cancer. *Annual review of cancer biology*, 1(1), 79-98.
- Rogowski, J. L., Verma, M. S., & Gu, F. X. (2016). Discrimination of proteins using an array of surfactant-stabilized gold nanoparticles. *Langmuir*, 32(30), 7621-7629.
- Sahoo, B. M., Banik, B. K., Borah, P., & Jain, A. (2022). Reactive oxygen species (ROS): key components in cancer therapies. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 22(2), 215-222.
- Sahoo, B., Rath, S. K., Champati, B. B., Panigrahi, L. L., Pradhan, A. K., Nayak, S., ... & Arakha, M. (2023). Photocatalytic activity of biosynthesized silver nanoparticle fosters oxidative stress at nanoparticle interface resulting in antimicrobial and cytotoxic activities. *Environmental Toxicology*, 38(7), 1577-1588.
- Samal, D., Khandayataray, P., Sravani, M., & Murthy, M. K. (2024). Silver nanoparticle ecotoxicity and phytoremediation: A critical review of current research and future prospects. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(6), 8400-8428.
- Sang, M., Luo, R., Bai, Y., Dou, J., Zhang, Z., Liu, F., ... & Liu, W. (2019). Mitochondrial membrane anchored photosensitive nano-device for lipid

- hydroperoxides burst and inducing ferroptosis to surmount therapy-resistant cancer. *Theranostics*, 9(21), 6209.
- Sanvicens, N., & Marco, M. P. (2008). Multifunctional nanoparticles—properties and prospects for their use in human medicine. *Trends in biotechnology*, 26(8), 425-433.
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature reviews Molecular cell biology*, 21(7), 363-383.
- Slesiona, N., Thamm, S., Stolle, H. L. K., Weißenborn, V., Müller, P., Csáki, A., & Fritzsche, W. (2020). DNA-Biofunctionalization of CTAC-capped gold nanocubes. *Nanomaterials*, 10(6), 1119.
- Sriram, M. I., Kalishwaralal, K., Barathmanikanth, S., & Gurunathani, S. (2012). Size-based cytotoxicity of silver nanoparticles in bovine retinal endothelial cells. *Nanoscience Methods*, 1(1), 56-77.
- Song, B., Zhang, Y., Liu, J., Feng, X., Zhou, T., & Shao, L. (2016). Is neurotoxicity of metallic nanoparticles the cascades of oxidative stress?. *Nanoscale research letters*, 11, 1-11.
- Wang, Y., Qi, H., Liu, Y., Duan, C., Liu, X., Xia, T., ... & Liu, H. X. (2021). The double-edged roles of ROS in cancer prevention and therapy. *Theranostics*, 11(10), 4839.
- Wagner, B. A., Venkataraman, S., & Buettner, G. R. (2011). The rate of oxygen utilization by cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(3), 700-712.
- Xiao, L., Liu, C., Chen, X., & Yang, Z. (2016). Zinc oxide nanoparticles induce renal toxicity through reactive oxygen species. *Food and Chemical Toxicology*, 90, 76-83.
- Yang, C. T., Li, K. Y., Meng, F. Q., Lin, J. F., Young, I. C., Ivkov, R., & Lin, F. H. (2018). ROS-induced HepG2 cell death from hyperthermia using magnetic hydroxyapatite nanoparticles. *Nanotechnology*, 29(37), 375101.
- Yang, C. C., Wang, C. X., Kuan, C. Y., Chi, C. Y., Chen, C. Y., Lin, Y. Y., ... & Lin, F. H. (2020). Using C-doped TiO₂ nanoparticles as a novel sonosensitizer for cancer treatment. *Antioxidants*, 9(9), 880.
- Yarjanli, Z., Ghaedi, K., Esmaeili, A., Rahgozar, S., & Zarrabi, A. (2017). Iron oxide nanoparticles may damage to the neural tissue through iron

accumulation, oxidative stress, and protein aggregation. *BMC neuroscience*, 18, 1-12.

Zheng, K., Chen, R., Sun, Y., Tan, Z., Liu, Y., Cheng, X., ... & Xu, P. (2020). Cantharidin-loaded functional mesoporous titanium peroxide nanoparticles for non-small cell lung cancer targeted chemotherapy combined with high effective photodynamic therapy. *Thoracic cancer*, 11(6), 1476-1486.

Zhang, B., Pan, C., Feng, C., Yan, C., Yu, Y., Chen, Z., ... & Wang, X. (2022). Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation. *Redox Report*, 27(1), 45-52.

BÖLÜM 8

NANO-OMİK: NANOPARTİKÜLLERE KARŞI BİYOLOJİK ETKİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE OMİK TEKNOLOJİLERİNİN ROLÜ

Arş. Gör. Pınar Elife DOĞAN¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16382299>

¹ 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, tıpta çok sayıda ilaç dağıtım sistemi ve terapötik uygulamanın geliştirilmesini sağlamıştır. Şu anda, küresel pazarda 60'tan fazla FDA onaylı ilaç ve nanopartiküller (NP) kullanan yaklaşık 1200 sağlık ürünü bulunmaktadır. Bu ürünler esas olarak kanser ve diğer bulaşıcı, kardiyovasküler, inflamatuvar ve otoimmün hastalıkların tedavisi için geliştirilmiştir. Nanomedikal ayrıca çok sayıda tanı ve terapötik araç sağlamaktadır (Abdellatif ve Alsowinea, 2021). Nanomedikal uygulamalarının klinik öncesi doğrulaması, dağıtım verimliliğini, terapötik etkinliğini ve biyouyumluluğunu değerlendirmek için NP'lere verilen biyolojik tepkilerin kapsamlı bir karakterizasyonunu gerektirmektedir.

NP'ler, bileşimlerine, boyutlarına, şekillerine, yüklerine ve yüzey kimyalarına bağlı olarak çeşitli biyolojik tepkiler ortaya çıkarmaktadır (Labouta ve ark., 2019). NP'lerin özelliklerindeki küçük değişiklikler, hücrelerin davranışı ve kaderi üzerinde önemli etkilere, ayrıca NP'lerin değişken alımına, biyolojik dağılıma ve metabolizmaya dönüşebilmektedir (Tan ve ark., 2013). Başka bir noktada, farklı hücreler NP'lere farklı şekillerde yanıt vermektedir. Örneğin, hücre canlılığı ve Gümüş NP'lerine (AgNP) karşı morfofizyolojik yanıtların epitel, endotel, fagositik, sinir ve kök hücreler arasında farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir (Zhang ve ark., 2016). NP'lere karşı biyolojik yanıtlardaki büyük çeşitlilik, bunların değerlendirmesini karmaşık hale getirir ve bu karmaşıklık, NP'ler belirli biyolojik bölmeleri hedeflemek veya pH, sıcaklık, enzimatik aktivite vb. gibi çevresel uyaranlara yanıt vermek için daha gelişmiş özellikler ile tasarlandığında artmaktadır (Patel ve ark., 2019). Tasarlanmış NP'lerin hücre altı bölmeler ve yollar üzerindeki etkisini mekanik olarak anlamak da hayati önem taşır. Bazı NP'lerin, inflamatuvar sitokinlerin indüklenmesi, radikal oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumu, hücre zarına zarar verme, enzimatik aktiviteye müdahale etme, metabolik yolların bozulması, mitokondriyal hasar, apoptoz veya nekroza yol açabilen nükleik asitlerin parçalanması gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla hücreler üzerinde toksisite oluşturduğu gözlemlenmiştir (Fu ve ark., 2014).

Nanotoksisite ve NP'lere maruziyete bağlı biyolojik tepkilerin *in vitro* değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan yaklaşımlar, NP'lerin doku, hücresel ve hücre altı dağılımını, hücre canlılığını ve çoğalmasını, genomun bütünlüğünü veya altta yatan yolların göstergeleri olarak spesifik metabolitleri

incelemeyi amaçlamaktadır (Cattaneo ve ark., 2014). Ne yazık ki, bu geleneksel yöntemler, NP'lerin test reaktiflerine spektral olarak veya yüzey adsorpsiyonu yoluyla müdahalesi veya nekroz ve DNA onarımı gibi bazı hücre tepkileri arasında ayırım yapamama gibi hassasiyetlerini ve doğruluklarını sınırlayan çeşitli dezavantajlardan muzdariptir (McCarthy ve ark., 1997; Nandhakumar ve ark., 2011; Tournebise ve ark., 2013; Labouta ve ark., 2019). ELISA, RT-PCR ve akış sitometrisi analizlerine dayanan immünotoksisite değerlendirmeleri, NP'lere karşı bağışıklık tepkisinde yer alan inflamatuvar sitokinleri tespit etmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Nandhakumar ve ark., 2011; Tirumala, ve ark., 2021). Ancak enzim bağlı immünosorbent testi (ELISA), ters transkriptaz kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) ve akış sitometrisi gibi geleneksel teknikler, verimlilik ve doğruluk açısından içsel sınırlamalara sahiptir. Örneğin, ELISA özgüllük avantajı göstermesine rağmen, mikroRNA'lar (miRNA'lar) gibi düşük miktarda bulunan biyobelirteçleri tespit etmek için yeterli hassasiyete sahip değildir (Hosseini ve ark., 2018). RT-qPCR, bireysel biyobelirteçlerin hassas bir şekilde kantifikasyonu için değerli bir araçtır. Bununla birlikte, etkinliği bilinen transkriptlerin tespiti ile sınırlıdır ve tipik olarak nispeten az sayıda hedef gene uygulanmaktadır (Letovanec ve ark., 2018). Dahası, bu geleneksel teknikler biyobelirteç dinamiklerini ve kanser gibi kompleks hastalıklarda heterojenliği kapsamlı bir şekilde yakalamada yetersiz kalmaktadır. İçsel kusurlar, büyük hacimli biyolojik numuneler işlendiğinde daha da kötüleşmektedir ve uygun biyoenformatik araçlar olmadan çıktıları yorumlamak son derece zorlayıcı olmaktadır (Zhu ve ark., 2020).

Omik teknolojileri, farklı seviyelerdeki biyolojik tepkiler hakkında kapsamlı bir anlayış sağlayarak, genotiple fenotipik gözlemleri ilişkilendirmeyi ve çeşitli yolların kesiştiği karmaşık hücrel tepkileri haritalamayı mümkün kılmaktadır (Konry ve ark., 2016). Dizileme teknolojilerinin hızla yenilenmesi ve yinelenmesi, NP toksikolojisi de dahil olmak üzere çok sayıda araştırma alanında devrim yaratmaya devam etmektedir (Hartung ve ark., 2012; Stubbington ve ark., 2017; Suhre ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2021). Örneğin, kan plazmasıyla etkileşime giren NP'ler farklı molekülleri hızla adsorbe edebilir ve bir protein korona oluşturabilir (Monopoli ve ark., 2020). Proteomik, hastalar ile sağlıklı bireyler arasındaki protein koronalarının biyomoleküler bileşimindeki farklılıkları tespit edebilir ve bu da onu erken teşhis için etkili bir araç haline getirmektedir (Liu ve ark., 2020; Trinh ve ark.,

2022). Genomik, hasta ve sağlıklı bireyler arasındaki genomik değişikliklerini analiz ederek potansiyel tedavi hedeflerini belirlemek için uygulanabilmektedir (Xu ve ark., 2019). Omik teknolojileri aracılığıyla optimize edilen NP tabanlı kombinasyon terapileri de mükemmel sinerjik etkinlik göstermektedir (Song ve ark., 2022). Dahası, omiklerin uygulanması nanoterapiyi takiben hastalık ortamının açıklığa kavuşturulmasına yardımcı olmuştur ve altta yatan terapötik mekanizmalara ışık tutmuştur (Zhang ve ark., 2021; Liu ve ark., 2022).

Tekli omik yaklaşımları biyolojik olayları anlamak için daha yüksek hassasiyet ve daha kapsamlı veriler sunsa da en fazla değer, genom, transkriptom, proteom ve metabolom gibi bireysel -om katmanlarını bütünsel biyolojik sistemlere entegre eden çoklu omik analizlerden elde edilmektedir (Shin ve ark., 2021). Tekli ve entegre omik tekniklerinin artan hassasiyeti, biyoyumlu ve genel olarak güvenli kabul edilen bazı yaygın NP'lerden, örneğin bazı Titanyum dioksit (TiO₂) ve Silica (Si-NP) NP'lerinden kaynaklanan nanotoksisteyi belirlemiştir (Biola-Clier ve ark., 2020; Ruan ve ark., 2021; Zhu ve ark., 2022). Şaşırtıcı bir şekilde, bu tepkiler akış sitometrisi, kolorimetrik belirteçler, DNA hasarı, hücre döngüsü bozulması veya histopatolojik çalışmalara dayanan geleneksel sitotoksiste analizleri kullanılarak belirlenememiştir (Shin ve ark., 2021). Bu, NP'lere yanıt olarak karmaşık hücresel davranışı karakterize etmek için geleneksel tekniklere kıyasla omik analizlerin açık bir avantajını göstermektedir.

Çoklu omik çalışmalarının çıktısı karmaşıktır ve biyoenformatik araçları kullanılarak büyük veri analizi gerektirmektedir. Makine öğrenimi ve yapay zeka algoritmaları, büyük omik veri kümelerini işlemek, kalıpları tanımak ve biyolojik olayları tahmin etmek için giderek daha değerli kaynaklar haline gelmektedir (Jing ve ark., 2020). NP'lere karşı biyolojik tepkilerini anlamak amacıyla çeşitli omik yaklaşımlarının ve biyoenformatik analizlerin kullanımı henüz yenidir. Bunlara transkriptomik, proteomik, metabolomik ve lipidomik ve bunların kombinasyonları, diğer adıyla çoklu omikler dahildir. Tüm bu yeni yaklaşımlar, biyolojik sistemlerin daha iyi anlaşılması ve zengin disiplinler arası ağların birlikte kullanımına ışık tutacaktır.

1. OMİK TEKNOLOJİLERİ

Moleküler biyolojide, -om eki bir varlığın tam setini ifade eder, örneğin genomda – bir hücredeki genlerin tam seti anlamına gelmektedir. “-Omik”

teriminin kökeninin, bütünlük anlamına gelen Sanskritçe “om” kelimesinden köken almış olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, çalışılan hedeflerle birleştirildiğinde, genomik için “tüm genler” veya lipidomik için “tüm lipitler” anlamına gelmektedir (Burley ve ark., 1999; Yadav, 2007). Omik çalışmaları genellikle elde edilen verileri üreten ve analiz eden yüksek verimli bir işlem hattında işlenen otomatik deneysel gözlemlere dayanır. Omik çalışmalarındaki genel iş akışı deneysel tasarım, numune hazırlama, analit çıkarma, ön işleme, moleküler analiz, veri analizi ve doğrulama adımlarını içermektedir (Bell ve Blais, 2019). Omik deneyleri genel olarak hedefli veya keşif yaklaşımları olarak sınıflandırılmaktadır. Hedefli yaklaşım, GeneChip™ mikrodizisi için ifade edilen mRNA gibi tanımlanmış bir moleküler varlık kümesine odaklanmaktadır. Bu yaklaşımda, sorgulanacak tüm moleküler varlıklar deney başlamadan önce tanımlanmaktadır. Bunun aksine, bir keşif yaklaşımı, tespit ettiği moleküler varlıkları ölçen bir numunenin otomatik analizine dayanmaktadır. Örneğin, toplu RNASeq deneyleri, numunedeki tüm hücrelerdeki bireysel transkriptlerin ortalama ifadesini ölçmektedir. Tipik olarak, dizileme derinliği hangi transkriptlerin ölçüleceğini belirlemektedir. Daha yüksek dizileme derinliği, transkriptomu daha derin bir şekilde kapsar ve transkriptlerin daha düşük kopya sayıları tespit edilebilmektedir. Genel olarak, keşif yaklaşımları yeni varlıkların tespitine izin verirken, hedefli yaklaşımlar, belirli bir ölçüde, bir ilgi kümesinin tüm unsurlarının ölçülmesini garanti etmektedir (Menon, 2018; Bell ve Blais, 2019).

Omik çalışmalarını sınırlayan ortak faktörler arasında analitik duyarlılık, analitik özgüllük ve dinamik aralık bulunmaktadır. Analitik duyarlılık, tekniğin bir değişkendeki değişiklikleri ne kadar iyi tespit edip ölçebildiğini ifade etmektedir (Saah ve Hoover, 1997). Tespit ve kantitasyon arasındaki farkı belirtmek önemlidir. Tespit, analitin numunede mevcut olduğunu belirleme yeteneğini ifade etmektedir. Oysa kantitasyon, ölçülen sinyalden analitin konsantrasyonunu ölçme yeteneğini ifade etmektedir. Bu nedenle, analitik duyarlılık tespit sınırına (LOD), yani bir analitin en düşük tespit edilebilir konsantrasyonuna bağlıdır ve kantitasyon sınırı (LOQ), güvenilir bir şekilde ölçülebilen bir analitin en düşük konsantrasyonudur. RNAseq'te bu, tespit edilebilen/ölçülebilen bir transkriptin en düşük kopya sayısı anlamına gelmektedir. Kütle spektrometrisinde (MS) ise en düşük tespit edilebilir/ölçülebilen analit konsantrasyonunu ifade etmektedir. Yöntemin

LOD'sinin altındaki herhangi bir analit, numunede mevcut olmasına rağmen çalışmada tespit edilemeyebilmektedir. Tipik olarak, tespit için minimum sinyal/gürültü oranı 3'tür, oysa kantitasyon için oran 10'dur. Bir testin analitik özgüllüğü, söz konusu moleküler varlığı tam olarak ölçtüğü ve başka hiçbir şeyi ölçmediği anlamına gelmektedir. Mikrodizilerde çapraz hibridizasyon, bir nükleik asit probunun hedeften farklı bir diziye bağlanması durumunda düşük analitik özgüllüğün klasik bir örneği olarak gösterilebilir. Genellikle, MS tabanlı yöntemlerin özgüllüğü, antikor tabanlı tespit yöntemlerinin özgüllüğünden önemli ölçüde daha yüksektir, çünkü MS'de niceliksel sinyal doğrudan analitin tanımlanmasına bağlıdır (Hoofnagle ve Wener, 2009).

1.1. Transkriptomik

Transkriptom, hücrelerin içindeki tüm mRNA transkriptlerini temsil etmektedir. Gen transkripsiyonu, iç veya dış strese yanıt olarak hücresel davranışı düzenlemektedir. Transkriptom profili için ilk yaklaşım, belirlenebilen sınırlı sayıda genle kısıtlanan Northern Blot'a dayanmaktaydı (Moustafa ve Cross, 2016). Yıllar geçtikçe, bu metodoloji mikrodizi ve kantitatif ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) dahil olmak üzere prob hibridizasyon yöntemleriyle değiştirilmiştir. Her iki yöntem de izole edilmiş RNA'nın komplementer DNA'ya (cDNA) dönüştürülmesine ve ardından spesifik problemlere hibridizasyona dayanmaktadır. Mikrodizilerdeki gen ifadesi, hibridize edilmiş problemlerin bolluğu tarafından yayılan floresan sinyalinin yoğunluğu ile belirlenebilmektedir. qRT-PCR, primer çiftleri kullanılarak cDNA'nın PCR amplifikasyonuna dayanır ve tespit, yeni kopyalar üretildikçe gerçek zamanlı olarak değerlendirilmektedir (Afzal ve ark., 2015; Andergassen ve ark., 2016). RNA dizilemesi ve yeni nesil dizileme (NGS), binlerce genin aynı anda incelenmesine olanak tanır ve düşük miktardaki transkriptleri yüksek hassasiyet ve doğrulukla tespit edebilmektedir (Hong ve ark., 2020).

Northern Blot ve RT-qPCR gibi gen ekspresyonu için erken tespit yöntemleri, yüksek RNA girdi gereksinimleri ve düşük verim ile karakterize edilmektedir (Tsimberidou ve ark., 2022). Gen ekspresyonunun seri analizinin (SAGE) ve DNA mikrodizilerinin ortaya çıkması verimi ve verimliliği kısmen iyileştirmiş olsa da bu teknolojiler gen ekspresyonunun tüm karmaşıklığını ve dinamiklerini yakalamada transkriptomikleri temelde ilerletmemiştir (Ntzani

ve Ioannidis, 2003; Stein ve ark., 2004). Tam tersine, NGS yöntemi hızlı ve uygun maliyetlidir ve gen ifadesinin yüksek verimli profillemesini, genom açıklamasını ve ncRNA'ların keşfini sağlamaktadır. Geçtiğimiz on yılda, tek hücreli RNA dizilemesi (scRNA-seq) ve mekansal transkriptomik (ST), sırasıyla hücresel heterojenliğin incelenmesine ve dokular içindeki transkriptlerin mekansal dağılımına izin veren devrim niteliğinde teknolojiler olarak ortaya çıkarmıştır (Suvà ve Tirosh, 2019; Rao ve ark., 2021). scRNA-seq, hem bireysel tümör seviyelerinde hem de büyük hasta gruplarında medulloblastomanın ekspresyon profiline dair derin içgörüler sunarak, yüksek riskli hastaları belirlemedeki etkinliğini göstermektedir (Albert ve ark., 2021). STING agonisti yüklü NP'leri radyoimmünoterapi ile birleştirmenin sinerjik avantajlarını değerlendirmek için, kritik yolları ve gen ekspresyon dinamiklerini belirlemek üzere transkriptom dizilemesi de entegre edilmiştir (Wang ve ark., 2024).

Bazı NP'ler, proliferasyon, inflamasyon ve apoptoz gibi kritik işlevleri tetikleyen belirli gen kümelerinin farklı ifadesine neden olarak birden fazla hücresel süreci etkileyebilmektedir (Simon ve ark., 2013; Mohammadinejad ve ark., 2019). Nanotoksosite alanında, transkriptomik analiz, Gümüş NP'lerin (AgNP) epitel hücreleri üzerindeki etkisi, Titanyum oksit (TiO₂) NP'lerin akciğer dokuları üzerindeki etkisi ve mantarlar ve bitkiler üzerinde birden fazla NP türünün toksisitesini ortaya çıkarmak için etkili olmuştur. Son zamanlarda, bir meta-analiz çalışması, metalik NP'lere (MNP) ve metal iyonlarına maruz kalma üzerine hücre içi yanıtı tanımlamıştır. Analiz, Ti, Cu, Fe, Ag, Zn, Cd, Au ve Pt dahil olmak üzere sekiz metal üzerinde gerçekleştirilmiştir. Analiz kriterleri farklı hücre tiplerini, dozları, zaman noktalarını ve çeşitli NP şekillerini, boyutlarını ve kaplamalarını içermektedir (Balfourier ve ark., 2022). Büyük veri kümelerinin boyutluluğunu azaltmak için kullanılan bir yöntem olan temel bileşen analizi (PCA)' ne göre, MNP'leri tarafından upregüle edilen genler benzer şekilde metal iyonları tarafından upregüle edilmiştir ve bu da NP'lerin çözünürlüğünü doğrulamıştır. Sekiz metalden beşi, metal depolama ve detoksifikasyonda yer alan metalotiyonin (MT) gen ailesinde bir yukarı düzenleme göstermiştir. Bu gözlemler, birincil yanıtın metal detoksifikasyonuna, ardından katlanmamış proteine ve ısı şoku proteinlerine bir yanıtı yönelik olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, çalışma da MNP'lerinin daha yüksek toksisitesinin, NP çözünmesinden sonra serbest metal iyonlarıyla daha

fazla ilişkili olduğu ve esas olarak metal iyonlarına birincil yanıtta yer alan MT genlerinin yukarı düzenlenmesiyle tespit edildiği sonucuna varılmıştır (Balfourier ve ark., 2022). Bu meta-analiz, güvenli NP tasarımlarını için olası nanotoksisteyi değerlendirmek amacıyla omiklerin nasıl kullanılabileceğine dair örnek bir modeli temsil etmektedir. Çalışmaya dahil edilen 56 Gen Ekspresyon Omnibus (GEO) bireysel veri setini analiz etmek için PCA ve yol zenginleştirme için biyoenformatik araçların kullanılması, başka türlü geliştirilemeyecek nanotoksiste mekanizmaları hakkında derin bir mekanik anlayışa olanak sağlamıştır.

Transkriptomik, çeşitli dozlarda ve zaman noktalarında NP'lere maruziyet üzerine düzenlenen birden fazla gen ve yolu taramak için kullanılabilmektedir. İnsan sağlıklı bronşiyal epitel hücre hattı BEAS-2B üzerinde yürütülen bir çalışmada, hücreler uzun vadede (altı hafta) düşük dozda (0.5 µg/mL) Ni ve NiO-NP'lerine maruz bırakılmıştır (Gliga ve ark., 2020). RNA dizileme sonuçları, kalsiyum sinyal yollarında yer alan S100A14 ve S100A2 genlerinde bir upregülasyon olduğunu göstermiştir. Kalsiyum sinyallesinin upregülasyonu, insan akut monositik lösemi THP-1 hücre hattında gözlemlendiği gibi bir inflamatuvar yanıtı açabilir; burada inflamatuvar yanıt, L tipi kalsiyum kanal taşımacılığı ile birlikte TLR-4'ün aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Lin ve ark., 2016).

Transkriptomik ayrıca bazı NP'lerin onkogenik etkisini ve genetik profile dayanarak kanser ilerlemesi üzerindeki etkilerini de belirleyebilmektedir. Örneğin, Aldughaim ve arkadaşları (2021), transkriptomik kullanarak kadmiyum tellür kuantum noktalarının 10 ve 25 µg/mL olmak üzere iki konsantrasyonda Chang kanser hücreleri üzerindeki onkogenik etkisini araştırmıştır. Çeşitli zaman noktalarında onkogeneze ilişkili çok sayıda farklı şekilde eksprese edilen gen (DEG) tespit ettiler. Genlerde ve biyolojik süreçlerde önemli değişiklikleri belirleyerek omik verilerini yorumlamak amacıyla önemli bir adım olan yol zenginleştirme analizi ile, RNA transkripsiyonel modifikasyonlarının düşük dozla (10 µg/mL) tedavi edilen örneklerde mevcut olduğunu, hücre ölümüyle ilişkili genlerin transkripsiyonunun ise daha yüksek doz gruplarında (25 µg/mL) arttığı gösterilmiştir (Bright ve ark., 2009; Reimand ve ark., 2019; Aldughaim ve ark., 2021). Belirli genlere veya yollara bir işlev atayan işlevsel açıklamalar, RAS yolunun büyük ölçüde yukarı düzenlendiğini, ökaryotik başlatma faktörü 2

(eIF2) sinyal yolu aracılığıyla hücre döngüsü ilerlemesini ve bağışıklık tepkisini desteklediğini göstermiştir (David ve ark., 2012; Shrestha ve ark., 2012). Ek olarak, fokal adezyon kinaz (FAK) sinyalleme, G1/S kontrol noktası düzenleyici yolları ve epitel-mezenkimal geçiş (EMT) önemli ölçüde yukarı düzenlenmiştir. Bu yolların yukarı düzenlenmesi daha yüksek kanser ilerlemesi ve karsinogenez ile ilişkilendirilmiştir (Zhao ve Guan, 2011; Bertoli ve ark., 2013; Lamouille ve ark., 2014). Gliga ve arkadaşları (2018), ayrıca transkriptomikleri, uzun süreli maruziyette (altı hafta) düşük dozda (1 µg/ml) AgNP'lerin BEAS-2B hücre hattı üzerinde potansiyel karsinogenik etkilerini araştırmak için kullanmıştır. Yaratıcılık yolu analizi (IPA), en zengin yolların hepatik fibroz ve EMT ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca AgNP'lere maruz kalma nedeniyle oksidatif stresin yukarı düzenlendiği bildirilmiştir. Uzun süreli maruziyetle birleştirilmiş düşük dozda AgNP'lerin pro-fibrotik uyarıcılar olarak hareket ettiği ve EMT'yi desteklediği sonucuna varılmıştır.

Öte yandan, transkriptomik, bazı NP'lerin kanser hücrelerini yok etmedeki seçici etkinliğini değerlendirmek için de kullanılmıştır. Alsagaby ve arkadaşları (2020) tarafından yürütülen bir çalışma, Çinko oksit (ZnO) NP'lerinin insan lösemik K562 hücrelerini apoptoza sürükleyebileceğini fakat sağlıklı hücreleri etkilemediğini göstermiştir. Mikrodizi sonuçları, ZnO-NP'lerinin lösemik hücreler ve transkriptom modifikasyonları üzerindeki seçici toksisitesini göstermiştir ve 400'den fazla DEG'nin süperoksit dismutaz 3 (SOD3) ve çift özgülüklü fosfataz 1 (DUSP1) gibi radikal oksijen türlerinin ve strese karşı bir savunma mekanizması olarak üye 1A (HSPA1A) gibi ısı şoku protein ailesi A (Hsp70) genlerinin üretiminde yer aldığını göstermiştir (Yun ve ark., 2019; Alsagaby ve ark., 2020). Bu sağlıklı hücrelerde minimal apoptotik değişikliklerle DNA parçalanmasına yol açan BCLTF1, CIDEA, CIDEB, GADD45B GADD45G ve DFFB gibi pro-apoptotik genlerin ifadesiyle birlikte gözlemlenmiştir (Alsagaby ve ark., 2020). Bu bulgular, ZnO-NP'lerinin bir kanser tedavisi olarak etki mekanizmasını ve ZnO-NP'lerinin sağlıklı hücreleri etkilemeden kanser hücreleri üzerindeki seçici apoptotik etkisini bildiren diğer çalışmaları doğrulamaktadır (Premanathan ve ark., 2011; Cao ve ark., 2015; Bai ve ark., 2017; Boroumand Moghaddam ve ark., 2017).

Son teknolojik gelişmeler, araştırmacıların çeşitli -om katmanlarındaki hücresel heterojenlikten dolayı hücreleri bireysel düzeylerde profillemesini sağlamıştır, örneğin transkriptomlar, epigenomlar ve proteomlar. Bunlardan tek

hücreli RNA dizilemesi (scRNA-seq), tek hücre çözünürlüğünde meydana gelen transkripsiyonel değişiklikleri tanımlamak için kullanılan güçlü bir araçtır (Kinaret ve ark., 2020). Örneğin, scRNA-seq, TiO_2 -NP'lerinin kemik iliği stromal hücreleri (BMSC'ler) üzerindeki sitotoksitesini araştırmak için kullanılmıştır. Bu hücreler, kemik iliğinde hematopoezin düzenlenmesine izin veren çeşitli işlevsel ve moleküler fenotiplere sahiptir (Xiang ve ark., 2022). Toplu gen ekspresyon profilinin sonuçları, DNA onarımı ve hücre döngüsü süreçlerinde değişiklikler olduğunu göstermiştir. Daha spesifik olarak, DNA hasarı hücre döngüsü durmasının upregülasyonuna yol açmıştır. Tek hücre analizinde, 80 farklı hücre, işlevsel bağlamlarına göre gen kümelerini tanımlayan Gen Ontolojisi (GO) işlevsel analizi kullanılarak benzer davranışlarına göre kümelendirilmiştir. Bu analiz, TiO_2 -NP'lerinin apoptozis, sitoskeleton organizasyonu, akson rehberliği ve estradiol yanıt dahil olmak üzere belirli hücresel yanıtları tetiklediğini göstermiştir. Bununla birlikte, belirli hücre grupları apoptotik etkiler göstermemiştir; bu da toksisite değerlendirmesinin tek hücre düzeylerinde farklı olabileceğini göstermektedir (Xiang ve ark., 2022). scRNA-seq, her bir hücredeki NP alımına dayalı olarak farklı hücresel yanıtları tanıyabilen oldukça hassas bir yöntemdir. Örneğin çinko sülfür kuantum noktalarıyla düşük ve yüksek kadmiyum selenid (CdSe/ZnS QD'leri) yüklerine karşı alveolar epitel hücrelerinde düşük QD yüküne sahip hücreler çeşitli yanıtlar göstermiştir. Bunun aksine, hücrelerdeki yüksek QD yükü, çoğu hücresel sürecin aşağı düzenlenmesiyle hücreler arasında düzgün bir yanıt göstermiştir (Mitchell ve ark., 2016).

Transkriptomikteki bir diğer yeni gelişme olan mekansal transkriptomik, genetik ekspresyonu yerinde haritalayabilen ve bir doku kesitindeki hücre tiplerini ve lokal özellikleri ayırt edebilen yeni bir araç haline gelmiştir (Williams ve ark., 2022). Mekansal transkriptomik, 4T1 meme kanseri hücresinde PEG'lenmiş lipozomların biyodağılımını test etmek için kullanılmıştır. PEG'lenmiş lipozomlar farelere intravenöz olarak enjekte edilmiş ve tümör örnekleri analiz edilmiştir. Yapay zeka algoritmasına dayalı gen analiziyle birlikte görüntü işleme, PEG'lenmiş lipozomlardan gelen floresan yoğunluğunun hipoksi, glikoliz ve apoptozis dahil olmak üzere üç temel yolakta yer alan başlıca genlerin ekspresyonuyla aynı yerde bulunduğunu belirlemiştir ve bu, NP'lerin dağılımı için moleküler belirteçler olarak kullanılabilir (Park ve ark., 2022).

Sonuç olarak, farklı fizikokimyasal özelliklere sahip NP'ler, genlerin düzenlenmesi yoluyla farklı hücre tepkilerini ve yolakları etkileyebilmektedir. Bu tepkiler, geleneksel karakterizasyon ve toksikoloji teknikleri kullanılarak kapsamlı bir şekilde değerlendirilememektedir. Biyoenformatik analiz yardımıyla transkriptomik, NP'lerin sağlıklı ve hastalıklı koşullardaki etkilerini ve bunun sonucunda değişen gen ekspresyon düzeyleri konusunda derinlemesine bir anlayış sağlayabilmektedir.

1.2. Proteomik

Proteinler, hücresel yapıları organize ederek, sinyal iletimini aracılık ederek ve biyolojik işlevleri yerine getirerek biyolojik süreçlerde önemli yapı taşları olarak hizmet etmektedir (Timp ve Timp, 2020). Hücresel homeostaz, protein ifadesinin, lokalizasyonunun, işlevinin, aktivitesinin ve protein/protein etkileşimlerinin düzenlenmesiyle sıkı bir şekilde kontrol edilir. Hızlı ve geri dönüşümlü süreçler, daha yavaş ve daha fazla enerji gerektiren gen ifadesi modülasyonundan ziyade, öncelikle protein translasyon sonrası modifikasyonları (PTM'ler) tarafından düzenlenir (Bauer ve ark., 2015; Mnatsakanyan ve ark., 2018). Proteomikte, başlıca amaç, belirli bir zaman noktasında ve belirli koşullar altında bir numunede ifade edilen veya bulunan 'tüm' proteinleri tanımlamak ve ideal olarak ölçmektir. Numunedeki proteinlerin tamamına genellikle 'proteom' denir (Wilkins ve ark., 1996; Kwon ve ark., 2021). Proteomiğin genomik ve transkriptomik ile karşılaştırıldığında önemini anlamak, genetik alt yapı ile biyolojik işlevler arasındaki boşluğu kapatmaktadır.

Protein dizileme teknolojisi nispeten erken başlamış olsa da maliyet etkinliği ve genomik ve transkriptomik dizileme yoluyla birincil protein yapılarını dolaylı olarak haritalama yeteneği nedeniyle gelişimi genomik ve transkriptomik bilimin gerisinde kalmıştır (Edman ve ark., 1950). Bununla birlikte, mRNA çevirisi, PTM'ler ve yapısal işlemedeki heterojenlik yalnızca doğrudan protein düzeyinde analiz yoluyla doğru bir şekilde haritalanabilmiştir ve bu da protein dizilemesinin yeri doldurulamaz rolünü göstermektedir (Beltrao ve ark., 2012). Binlerce proteinin ve protein PTM'lerinin sistem genelinde göreceli kantifikasyonu, düzensiz protein yollarını veya anormal enzim aktivitesini ortaya çıkarmak için hastalık mekanizmalarını tanımlamak veya biyobelirteçleri keşfetmek için paha biçilmezdir (Hanash, 2003; Sobsey

ve ark., 2020). Erken protein ayırıştırma, tanımlama ve miktar belirleme 2D-jel elektroforezine dayanırken, Edman bozunması ilk günlerde dizileme için kullanılmıştır (Klose, 1975; Gooley ve ark., 1997). Ancak bu teknolojiler, esas olarak elektrosprey iyonizasyonu (ESI) ve matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu (MALDI) kullanan yüksek verimli bir protein dizileme yöntemi olan kütle spektrometresi (MS) tabanlı proteomiklerin hassasiyeti ve ölçeklenebilirliği ile hızla geride bırakılmıştır (Chaurand ve ark., 1999; Mann, 2016). Protein kütle spektroskopisi (MS), özellikle sıvı kromatografisi (LC-MS) ile birleştirildiğinde, minimal bir örnek girdisinden bile hemen hemen her türlü örneğin rakipsiz ve tarafsız bir analizine izin verdiği için proteomikte altın standart haline gelmiştir. (Burkhart ve ark., 2012; Dupree ve ark., 2020). Floresan etiketleme veya kararlı izotop etiketleme, işlenmiş ve işlenmemiş numuneler arasındaki farklılıkları belirleyebilmektedir. Analiz, aşağıdan yukarıya veya yukarıdan aşağıya yapılabilmektedir. İlk varyantta, proteoliz yoluyla proteinlerden salınan peptitler analiz edilmektedir (Zhang ve ark., 2013). Bu tekniğe shotgun proteomik adı verilmiştir ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Yukarıdan aşağıya proteomikte sağlam proteinler analiz edilmektedir. Gaz fazında daha kötü fraksiyonlaşma, iyonlaşma ve parçalanma nedeniyle, bu teknik aşağıdan yukarıya tekniğine göre daha az evrenseldir. Tespit esas olarak MS kullanılmaktadır çünkü platform nispeten esnektir ve amino asitlerin, peptitlerin ve proteinlerin tespitine izin vermektedir. MS iyonlaştırıcı kaynaktan ve bir veya daha fazla analizörden oluşmaktadır. MALDI ve ESI moleküllerin iyonizasyonu için en yaygın kullanılan yöntemdir ve daha sonra uçuş zamanı (TOF), iyon tuzağı, dört kutuplu, orbitrap veya Fourier dönüşümlü iyon siklotron rezonans (FTIR) analizörüne hızlandırılmaktadır. Analizörler genellikle daha yüksek derecede iyon ayrımı ve tanımlama elde etmek için tandem (MS/MS) olarak kullanılmaktadır. Transkriptomikte olduğu gibi, uygun veritabanlarına dayalı kalibrasyon ve analiz, veri yorumlaması için esastır. Proteinlerin sindirimini de içeren tespit tekniği nedeniyle, veri tabanları 15.000 ila 42.000 protein ve 100 ila 2000 milyon peptid listelemektedir (Chen ve ark., 2015). Au-NP'ler tarafından indüklenen endoplazmik retikulum stresinin protein düzeyinde gösterilebileceğini bildirilmiştir (Pisani ve ark., 2015). Düzenlenmiş proteinler, TiO₂-NP'lerine ve MWCNT'lere maruz kalan hücrelerde örtüşmüyordu ancak düzenlenmiş yollar esasen aynıydı (Tilton ve ark., 2014). Benzer şekilde, gen

düzenlemesi, A549 hücrelerinin 12 nm SiO₂-NP'lerine maruz bırakılmasıyla elde edilen ekzoproteom profilleriyle çok iyi örtüşüyordu (Pisani ve ark., 2015).

Düzenlenmiş yolların tanımlanmasına ek olarak, proteomik, NP'lerin yüzeyine emilen proteinleri karakterize etmek için kullanıldığından, parçacık karakterizasyonu için özel bir rol oynamaktadır. Yüzeylerin ağırlıklı olarak proteinler olmak üzere makromoleküllerle kaplanması genellikle "protein korona" olarak adlandırılmaktadır (Monopoli ve ark., 2011). Makromoleküllerin bağlanması, parçacıkların fizyolojik sıvılarda dağılmasını etkilemektedir ve saniyeler içinde oluşan nispeten kararlı bir "hard" tabaka ile dakikalar ila saatler içinde oluşan daha az kararlı bir "soft" tabakadan oluşmaktadır (Rahman ve ark., 2013). Tabakanın bileşimi, makromoleküllerin emilimine ve desorpsiyonuna bağlıdır; burada desorpsiyon hızı, emilim hızının tersi olarak ifade edilmektedir. İki korona tabakasının biyolojik yanıt için farklı rolleri olduğu görülmektedir. Hard tabaka dirençlidir ve endosomlar tarafından hücre alından sonra bile hala mevcuttur. Soft tabaka ise daha az kararlıdır, alımı ve biyolojik yanıtları belirlemektedir. Çeşitli gruplar, proteomik kullanarak protein korona bileşimini incelemiştir. Malzemenin, parçacık boyutu ve yüzey yükü, hidrofobisite/hidrofilisite, inkübasyon süresi ve biyolojik sıvı tipinin etkisi bildirilmiştir (Cai ve ark., 2013; Schäffler ve ark., 2013; Shannahan ve ark., 2013; Schöttler ve ark., 2016; Pisani ve ark., 2017). Çalışmalarda protein koronanın bileşiminde nitel ve nicel farklılıklar bildirilmiştir ancak aynı zamanda ortak bir bağlı protein kümesi de bildirilmiştir. Protein koronaya sahip NP'lerin sitotoksitesi genellikle protein koronası olmayan NP'lerin toksik etkilerinden daha düşük olmuştur. Plazma membranıyla etkileşimin azalmasının ve tabaka içindeki reaktif oksijen türlerinin veya belirli moleküllerin üretiminin azalmasının bu etkiye neden olup olmadığı açık değildir. Protein korona içindeki belirli proteinlerin sitotoksisiteye bağlantısı şu ana kadar belirlenememiştir.

1.3 Genomik

Genom, tek sarmallı veya çift sarmallı nükleik asitler biçiminde depolanan tüm genetik bilgiyi ifade etmektedir. Genomun yapısı ve işlevinin kapsamlı bir şekilde incelenmesi olan genomik, hastalıkların, özellikle kanserlerin genetik temellerinin anlaşılmasında önemli bir ilerlemeyi temsil etmektedir (Rosenquist ve ark., 2022). Bilindiği gibi, kanser, normal hücrelerin

kötü huylu fenotiplere doğru dönüşümünü yönlendiren genetik değişikliklerin birikmesiyle ortaya çıkar (Vogelstein ve ark., 2013). Kanserin genomik manzarasının anlaşılması, hassas tıbbın önünü açmıştır.

Genomik, ilaç endüstrisi, teşhis ve tedavi, gen terapisi uygulamaları, farmakogenomik ve hastalık önleme, gelişim biyolojisi, evrimsel genomik ve karşılaştırmalı genomik gibi çeşitli araştırma ve klinik uygulama alanlarına uygulanmıştır. Bu nedenle, bu tür verileri yönetme ve analiz etme yeteneği bir biyomedikal bilim insanının beceri seti için gerekli hale gelmiştir. Yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerindeki gelişmeler ve genomik veri analizindeki ilerleme, genomlar (tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), kopya sayısı varyantları (CNV'ler), heterozigotluk varyantlarının kaybı, genomik yeniden düzenlemeler ve nadir varyantlar, epigenomlar DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, için yüksek verimli veri üretimine yol açmıştır (Ritchie ve ark., 2015). Genom biliminin en eski teknolojisi olan Sanger dizilemesi, hem zahmetli hem de zaman alıcıdır ve genom içindeki tek bir DNA dizisine yalnızca kısa bakışlar sunmaktadır (Sanger ve ark., 1977; Giani ve ark., 2020). Mikrofabrikasyonun, yüksek çözünürlüklü görüntülemenin ve hesaplama gücü sonuçlarının birleşik teknolojik ilerlemeleri, NGS'nin geliştirilmesine yol açmıştır (Heather ve Chain, 2016). Büyük çaplı paralel dizilemeye dayanan bu teknoloji, dizilen DNA'nın derinliğini ve miktarını birkaç büyüklük sırasına yükselterek dizileme manzarasını temelden dönüştürmüştür. NGS ayrıca tüm ekzom dizilemesi (WES) ve tüm genom dizilemesi dahil olmak üzere yenilikçi uygulamaların geliştirilmesini sağlamıştır (Ng ve ark., 2009; Lam ve ark., 2012). Örneğin kanser nanomedikalinde, WES aracılığıyla kapsamlı dizilemenin entegrasyonu, yaygın büyük B hücreli lenfomada (DLBCL) genomun kodlama bölgelerini ortaya çıkarmıştır. Bunu, nanoterapi için potansiyel hedefler olarak en sık mutasyona uğrayan ilk on geni tanımlayan tek nükleotid varyantlarındaki (SNV'ler) baz ikamelerinin analizi izlemiştir (Yang ve ark., 2022). Benzer şekilde, genomik tarafından keşfedilen spesifik onkogenin anormal amplifikasyonu da hedefli terapiyi kolaylaştırmaktadır (Wang ve ark., 2023). Tanımlarda önemli tutarsızlıklar olmasına rağmen, üçüncü nesil dizileme (TGS), önceki geleneksel tekniklerdeki DNA amplifikasyonu gereksinimini ortadan kaldıran tek molekül dizilemesiyle karakterize edilmektedir (Ameur ve ark., 2019). Dahası, TGS'nin ortaya çıkan tek hücreli DNA dizileme (scDNA-seq) teknolojileriyle entegrasyonu,

kişiselleştirilmiş tanı ve tedavi stratejilerini optimize ederek kanser hastalarına fayda sağlamaya hazırdır (Lim ve ark., 2020).

1.4 Epigenomik

Genomikten farklı olarak, epigenomik, DNA dizisini değiştirmeden gen ekspresyonunun kalıtsal modellerini değiştiren epigenetik modifikasyonların kapsamlı araştırılmasına dayanmaktadır (Holliday, 1987). Bu alan, genetik profiller ve çeşitli çevresel faktörler arasındaki etkileşime dair anlayışımızı derinleştirmiştir. Anormal DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu yeniden şekillenmesi gibi en çok çalışılan epigenomik modifikasyonlar, prekanseröz gelişimle yakından ilişkilidir (Ushijima ve ark., 2021). Bu arada, N6-metiladenozin (m^6A) metilasyonu gibi RNA modifikasyonları, giderek daha fazla epigenomiklerin temel bir bileşeni olarak tanınmakta ve transkripsiyon sonrası düzenlemelere daha fazla odaklanılmaktadır (Liu ve ark., 2019). Ortaya çıkan kanıtlar, epigenetik faktörler tarafından gen ifadesinin ince ayarlı düzenlenmesinin hücresel yeniden programlamada önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Davalos ve Esteller, 2023).

Epigenomiğin dizileme yöntemleri başlangıcından bu yana önemli teknolojik ilerlemeler kaydetmiştir. İlk olarak 1992'de bildirilen bisülfid dizilemesi, DNA metilasyon haritalaması için yaygın olarak altın standart olarak kabul edilmektedir (Frommer ve ark., 1992). Histon modifikasyonunun tespiti için, kromatin immünopresipitasyonu (ChIP) ilk olarak bakteriyel ve ökaryotik hücrelerde RNA polimeraz II'nin yerleşimini haritalamak için geliştirilmiştir (Gilmour ve Lis, 1984; Solomon ve Varshavsky, 1985). NGS gibi dizileme teknolojilerinin ortaya çıkmasıyla, bisülfid dizilemesi ve ChIP daha sonra genom düzeyine genişletilmiştir. ChIP dizilemesi (ChIP-seq) ve tüm genom bisülfid dizilemesi gibi yüksek verimli profillemeye yaklaşımları, epigenomların kodunun çözülmesini önemli ölçüde hızlandırmıştır (Lomberg ve ark., 2019). Ayrıca, m^6A , büyük ölçüde metillenmiş RNA immünoçöktürme dizilemesinin (MeRIP-seq) yaygın uygulanması nedeniyle, memelilerde en yaygın mRNA modifikasyonu olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Meyer ve ark., 2012). Epigenetik manzaradaki değişiklikler giderek daha fazla hastalık belirtisi olarak kabul gördükçe, hastalıkla ilişkili mekanizmalara dayalı kanser tedavisi için yeni yaklaşımlar geliştirilmektedir. Örneğin, boncuk teknolojisinde NP etkinleştirilmiş metilasyon, hasta serumundaki belirli

biyobelirteçlerin DNA metilasyon analizinin duyarlılığını ve özgüllüğünü artırarak pankreas kanserinin teşhisine yardımcı olmaktadır (Yi ve ark., 2013). Ayrıca, MeRIP-seq, m⁶A modifikasyonlarına aracılık eden ve tümör ilerlemesini etkileyen belirli terapötik hedefleri de belirlemiş ve nanoterapötik yaklaşım olarak mRNA yüklü folik asit modifiye edilmiş ekzosom-lipozom hibrit NP'lerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Wu ve ark., 2023).

Epigenetik değişiklikler, hücrelerin dönüşümü ve mutasyonunda rol oynamaktadır ve bu nedenle genotoksiste için gösterge görevi görebileceği düşünülmektedir. Değiştirilmiş bir epigenomun biyolojik önemi henüz net değildir çünkü DNA hipometilasyonu kansere neden olabilir ancak aynı zamanda değiştirilmiş hücre sinyal yollarının neden olduğu dönüştürülmüş durumun bir sonucu da olabilir (You ve Jones, 2012). Bu nedenle, epigenetik de (henüz) ilaçların rutin klinik öncesi değerlendirmesinin bir parçası değildir. Epigenomik çalışmalar çeşitli teknolojiler kullanır. Histon asetilasyonu esas olarak immünohistokimya ve Western blot kullanılarak antikor bağlanmasına dayanarak belirlenir. DNA metilasyonu polimeraz zincir reaksiyonu, pirosekanslama, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), enzim bağlı immünosorbant testi (ELISA) vb. ile ölçülebilir (Kurdyukov ve Bullock, 2016).

Toksikolojik taramalarda veriler klasik genotoksiste analizleriyle elde edilen fenotipik verilerle ilişkilendirilebilmektedir. Hücresel olarak SiO₂, ZnO, TiO₂, CuO ve Ag NP'lerine maruz kaldıktan sonra DNA hipometilasyonu bildirilmiştir (Gong ve ark., 2010; Qian ve ark., 2015; Lu ve ark., 2016a; Patil ve ark., 2016). Ancak CuO-NP'leri, Au-NP'leri ve SWCNT'ler tarafından *in vivo* küresel DNA metilasyonu üzerindeki etkiler mütevazıdır (Lu ve ark., 2016b; Tabish ve ark., 2017). 60 nm Au-NP'lerin intratrakeal uygulamasından sonra kan hücrelerinde promotor metilasyonunu arttırdığı ve SWCNT'ler uygulandığında azaldığı bildirilmiştir (Tabish ve ark., 2017). NP'ler histon deasetilazların SH gruplarına bağlanarak, enzimatik aktiviteyi azaltarak (Au-NP'ler) veya meme kanseri hücrelerinde histon hipoasetilasyonunu indükleyerek (kadmiyum tellürit (CdTe) kuantum noktaları) histonları modifiye etmektedir (Choi ve ark., 2008; Sule ve ark., 2008). Mevcut veriler, NP'lere maruz kalmanın hücre dönüşümünü ve tümör gelişimini destekleyebileceğini göstermektedir. Kromozom hasarı için geleneksel fenotipik genotoksiste deneyleri, örneğin COMET veya mikronükleus deneyi, değişken ve kısmen çelişkili sonuçlar göstermektedir. <100 nm boyutlarındaki TiO₂ NP'leri *in vitro*

çalışmalarda COMET (17/24), mikronükleus (12/16) ve kardeş kromatit değişimlerinde (2/2) pozitif sonuçlar gösterirken, *in vivo* çalışmalarda COMET (3/5) ve mikronükleusta (2/3) çoğunlukla negatif sonuçlar gözlemlenmiştir (Chen ve ark., 2014). CuO ve Ag-NP'ler *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda genotoksisite göstermiştir (Song ve ark., 2012; Alarifi ve ark., 2013; Awasthi ve ark., 2015a; Awasthi ve ark., 2015b; Akhtar ve ark., 2016). Fenotipik ve epigenetik deneyler, hayvan çalışmalarına kıyasla hücresel çalışmalarda daha fazla hasar tespit etmiştir. Genotoksisite göstergesi olarak DNA hasarı ve onarımı ile nükleik asit metabolizmasının yol düzenlemesi de *in vitro* çalışmalarda *in vivo* çalışmalara göre daha sık rapor edilmiştir. Bununla birlikte, NP'lerin hücreleri diğer genotoksik ajanların etkisine karşı daha savunmasız hale getiren bir zorluk olarak hareket etmesi mümkündür.

1.5 Metabolomik

Metabolitler, metabolik yolların substratları, ara maddeleri veya ürünleri olan küçük endojen ve ekzojen moleküllerdir (<1500 Da). Endojen moleküller, amino asitler, yağ asitleri, nükleik asitler ve vitaminler dahil olmak üzere organizma tarafından salgılanan moleküllerdir; ekzojen moleküller ise ilaçlar, gıda katkı maddeleri ve diğer kirleticiler gibi organizma tarafından doğal olarak üretilmemektedir (Kong ve Hernandez-Ferrer, 2019). 'Metabolom', metabolizma sırasında bir hücrede bulunan tüm metabolitleri temsil etmektedir ve bileşik sayısı ve dinamik aralıkları ile ilgili karmaşıklığı türe bağlı olarak değişmektedir. Amino asitler gibi birincil metabolitler, fizyolojik hücresel süreçlerde önemli oyuncular ve bir organizmanın büyümesi, gelişmesi ve üremesi için gereklidir. İkincil metabolitler, kritik fizyolojik süreçlerde doğrudan yer almazlar ancak organizmaya seçici bir avantaj sağlamaktadır (Chiang ve ark., 2013). İkincil metabolitlerin yokluğu, bir organizmanın hayatta kalmasını doğrudan etkilememektedir ancak koruyucu bir işleve sahip olabilmektedir veya rekabet eden organizmaların büyümesini engelleyebilmektedir. Metabolomikte kullanılan üç ana analitik platform sıvı kromatografisi (LC-MS), gaz kromatografisi MS (GC-MS) ve nükleer manyetik rezonans (NMR)'dir (Wishart ve ark., 2022). GC, uçucu örnekler için ideal bir yöntemdir; uçucu olmayan örnekler türevlendirmeden sonra tespit edilebilir. LC, polar olmayan metabolitleri kolayca ayırabilirken, polar metabolitler için türevlendirme gerektirebilmektedir (Ramirez ve ark., 2013).

LC-MS, yüksek hassasiyeti nedeniyle derinlemesine metabolomik için tercih edilen yöntemdir. Metabolomik hem bilinen hem de bilinmeyen metabolitleri belirlemek için hedefsiz metabolomik ve sınırlı sayıda tanımlanmış metaboliti tespit edebilen hedefli metabolomik olmak üzere iki yaklaşımla gerçekleştirilebilmektedir (Aragoneses-Cazorla ve ark., 2022). Tipik bir hedefsiz metabolomik LC-MS analizi, adüktler de dahil olmak üzere benzersiz kimyasal bileşikleri temsil eden 100.000'e kadar 'özellik' içermektedir (Alseekh ve ark., 2021). Metabolitlerin kimliği, MS-MS parçalanması ve ortaya çıkan parçalanma spektrumlarının bir referans veritabanıyla karşılaştırılmasıyla belirlenmektedir. Deneyler arası karşılaştırılabilirlik, "house-keeping" metabolitlere veya izotop etiketli standartlara ihtiyaç duymaktadır. Analizin göreceli ucuzluğu, örneklemenin invaziv olmaması, düşük metabolit sayısı ve organizmadaki çoğu metabolitin rolünün iyi bilinmesi, metabolomikleri toksikoloji çalışmaları için özellikle uygun hale getirmektedir (Ramirez ve ark., 2013). Tipik olarak, bunlar HMDB veya METLIN gibi metabolomik veri tabanlarında aranmaktadır (Wishart ve ark., 2009; Tautenhahn ve ark., 2012).

Metabolomik, NP'lerin metabolom üzerindeki toksik etkilerini incelemek için kullanılabilir (Clarke ve Haselden, 2008). Cui ve diğerleri (2019), ZnO, SiO₂, TiO₂ ve Seryum (CeO₂) NP'leri de dahil olmak üzere metal oksit NP'lerinin 12,5 ve 25 µg / mL olmak üzere iki farklı konsantrasyonda insan bronşiyal epitel hücreleri üzerindeki potansiyel toksisitesini değerlendirmiştir. Metabolomik analiz, amino asitlerin, nükleotidlerin ve nükleozitlerin diğer NP'lere kıyasla yüksek doz ZnO-NP'lerine maruz kaldıktan sonra değiştiğini göstermiştir.

Son zamanlarda, metabolomik, iç veya dış faktörlere yanıt olarak metabolik yollardaki değişiklikler olarak tanımlanan metabolomik yeniden programlamayı tespit etmek için uygulanmıştır (Peng ve ark., 2015). NP'ler bağlamında, Cu ile immobilize edilmiş iki boyutlu grafdin (GDY) NP'lerine maruz bırakıldıktan sonra prostat kanseri hücre hattı DU145'teki metabolomik yeniden programlamayı tanımlamak için bir çalışma yürütülmüştür. Hedefsiz metabolomik kullanılarak, GDY-Cu ile tedavi edilen DU145 hücrelerinde 2-hidroksiadenin ve urasil miktarlarında bir azalma gözlemlenmiştir (Zhang ve ark., 2022). Ek olarak, KEGG yol analizi ile glikoliz, lipid ve yağ asidi metabolizma yollarındaki değişiklikler belirlenmiştir. Bu yolların temel enzimlerindeki değişiklikler Western Blot ile doğrulanmıştır. Sonuçlar

glikolizde rol oynayan PKM2 ve PDHA enzimlerinde artış olduğunu gösterirken, asetil-CoA karboksilaz (ACC) ve sitoplazmik asetil-CoA sentaz 1'in (AceCS1) yağ asidi ve lipid metabolizmasında azaldığını göstermiştir (Zhang ve ark., 2022). Yazarlar, GDY-Cu ile tedavi edilen hücrelerde kanser hücresi büyümesinin inhibisyonunun, lipid ve yağ asidi metabolizmasının eksikliğinden kaynaklandığını ileri sürmüştür, çünkü hem ACC hem de AceCS1 tümör hücrelerinde lipid biyosentezi için gerekli enzimlerdir (Brownsey ve ark., 2006; Wei ve ark., 2020). Bu nedenle, metabolomik analiz, NP'ler tarafından indüklenen temel yolların metabolomik yeniden programlanmasının tespitine yardımcı olabilmektedir ve bu yüzden terapötik hedefleme için kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Özetlemek gerekirse, metabolomik, hücrede bulunan metabolitlerin etkili bir şekilde ayrılmasını, tanımlanmasını ve kantifikasyonunu sağlamaktadır. Bu, geleneksel iş akışı kullanılarak mümkün olmayan ilgili biyolojik ve kimyasal mekanizmalar hakkında derin bir anlayış ve temel içgörüler sağlamaktadır (Yang ve ark., 2019). NP'nin araştırmasında, metabolomik, NP maruziyetindeki hücre mekanizması hakkında gerekli bir resim sağlamaktadır, çünkü metabolitler, hücre fizyolojisini yansıtan genomik, transkriptomik ve proteomik seviyelerden kaynaklanan son moleküler varlıklardır.

1.6. Çoklu Omik Yaklaşımlar

NP'lere ve nanotoksisteye karşı farklı biyolojik tepkilerin belirlenmesi, çoklu omik yaklaşımların entegrasyonunu gerektirmektedir. Tekli omik çalışmaları, hücre davranışının bir katmanı hakkında bilgi sağlamaktadır; ancak, doğrudan ve karmaşık iç içe geçmiş bağlantıları nedeniyle, bir -om katmanındaki etkilerin diğer seviyelere yansması sık görülmektedir. Çoklu omik analizlerin kullanılmasıyla, ayrı katmanlarda gözlemlenen olaylar tüm hücre tepkilerine entegre edilebilmektedir (Fröhlich, 2017). Gioria ve ark. (2016), kombine proteomik ve metabolik yaklaşımları kullanarak iki boyutta Au-NP'in (5 nm ve 30 nm) insan kolon adenokarsinomu Caco-2 hücreleri üzerindeki etkisini araştırmıştır. En fazla aşağı düzenlenen proteinlerin esas olarak hücresel büyüme ve çoğalmada rol oynarken, en fazla yukarı düzenlenen proteinlerin apoptoz ve antioksidan aktivite ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Metabolomik profil, apoptoz ile ilişkili propiyonil karnitin (C-3 karnitin) ve

glisin seviyelerinin yükseldiğini doğrulamıştır. Her iki tekniğin tamamlayıcı kullanımı, Au-NP'lerine maruz kalma üzerine karbonhidrat metabolizmasını ve stres tepkisini etkileyen proteinleri ve metabolitleri bulmaya yardımcı olmuştur.

Çoklu omik yaklaşımlar, daha düşük yan etki olasılığı ile NP'ler için en iyi uygulama yolunu tanımlamaya yardımcı olabilmektedir. Örneğin, mezogözenekli SiO₂ ve TiO₂ NP'lerinin hücresel yanıtı ve toksisitesinin daha önce uygulama yoluna bağlı olduğu gözlemlenmiştir. SiO₂ ve TiO₂ NP'lerinin intravenöz enjeksiyonu sonucunda karaciğerde biriktiği ve karaciğer hasarına neden olduğu için hepatotoksositeye yol açtığı gözlemlenmiştir (Cho ve ark., 2009; Geraets ve ark., 2014; Elgrabli ve ark., 2015). Bu amaçla, Li ve ark. (2022), intravenöz ve oral uygulamada farklı ilgili –om seviyeleriyle Si-NP'lerinin etkileşiminin altında yatan düzenlemeyi ortaya çıkarmak için birleşik proteomik, transkriptomik ve metabolomik yaklaşımları kullanmıştır. İntravenöz enjeksiyonda en çok etkilenen proteomik ve transkriptomik yollar olarak oksidatif stres, glikoliz ve nükleik asit sentezi belirlenmiştir. Bu sonuçlar, GSSG, NADPH ve süksinik asit gibi oksidatif stresle ilişkili bozulmuş metabolitleri gösteren metabolomik verilerle tutarlı bulunmuştur. Ek olarak, mitokondriyal solunum zincirinin aşağı düzenlenmesi ve inflamatuvar sitokinlerin artan seviyeleri gözlemlenmiştir. TNF- α IL-1 β ve IL-6 tarafından yönetilen inflamatuvar yanıt, oral uygulamadan sonra da bildirilmiştir ancak etkinin intravenöz enjeksiyona kıyasla daha zayıf olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, oral uygulamaya hiçbir metabolik anormallik atfedilmemiştir; bunun azalmış karaciğer alımına işaret edebileceği düşünülmektedir.

Çoklu omik yaklaşımı, kapsamlı bir veri kümesine dayanarak yüksek güvenle kullanılabilir en güvenli NP dozunu belirlemek için de etkilidir. Örneğin, Phuyal ve ark. (2018) insan bronşiyal epitel 3-KT hücrelerini (HBEC-3KT) 1,92 ve 0,96 mg/cm² olmak üzere iki konsantrasyonda MWCNT'ye maruz bırakmıştır ve hücrelerin proteomunu ve lipidomunu analiz etmiştir. Proteomik analiz, yüksek doz tedavisinde pro-apoptotik yanıtlar olarak ROS, HIF1A ve değişmiş proteinlerin artan seviyelerini göstermiştir. Lipidomik analiz, doza bağlı bir şekilde triasilgliserol, diasilgliserol ve kolesterol birikimini göstermiştir. Proteomik veriler, bu lipidlerin birikimini açıklamakta yararlıydı, çünkü ayrıştırma proteini I'den (UCP1) yoksun hücrelerde AMPK aracılı enerjiyi kullanarak hücresel yağ birikimini tetiklediği bilinen inozitol heksakisfosfat kinaz I'in (IP6K1) upregüle edilmesi gözlemlenmiştir (Zhu ve

ark., 2017). Proteomik veriler ayrıca, yüksek doz tedavi durumunda EHD2, RAB10 ve RAB7B dahil olmak üzere otofajik faktörlerin downregüle edilmesini göstermiştir, bu daha yüksek yağ içeriğini açıklayabilmektedir (Li ve ark., 2016). Bu nedenle hem proteomik hem de lipidomik veriler, karbon nanotüplerin doza bağlı toksik etkilerini anlamak için önemli olan tamamlayıcı bilgiler sağlamıştır (Phuyal ve ark., 2018).

Çoklu omik teknikleri ayrıca biyolojik sıvılara maruziyette NP'lerin yüzeyinde oluşan biyo-koronayı incelemek için de kullanılabilir. Örneğin, derin akciğerdeki pulmoner yüzey aktif maddesi, muhtemelen NP'lerin etrafında protein ve lipitlerden oluşan bir korona oluşturan yüzey aktif madde proteinleri ve fosfolipitler açısından zengindir. Bu nedenle, Raesch ve ark. (2015), ham plazma yüzey aktif maddesi veya domuz plazma yüzey aktif maddesinde PLGA, PEG ve lipit olmak üzere üç farklı yüzeye sahip NP'ler arasındaki etkileşimi araştırmak için proteomik ve lipidomik kullanmıştır. Sonuçlar, üç NP'nin hepsinde benzer bir lipit koronasının oluştuğunu, yalnızca hidrofilik PEG-NP'lerin toplamda daha az lipit adsorbe ettiğini göstermiştir. Bunun aksine, analiz edilen NP'ler protein koronasında belirgin bir fark göstermiştir. Proteomik verilerinde bildirilen farklılıklar arasında, lipit organizasyonunda yer alan ve yüksek lipit bağlama özelliklerine sahip olan PEG sonlandırılmış NP'lerin protein koronasında kollektif SP-A'nın yaygınlığı gözlemlenmiştir. Ancak farklı NP'ler arasındaki lipit koronasındaki farklılıkları aracılık etmemiştir.

Çoklu omiklerin ilerlemesiyle, tek hücreli çoklu omik okumalar, farelerde tek hücre düzeyinde lipit NP'leri kullanılarak mRNA iletiminin etkinliğini incelemek için uygulanmıştır. Tek hücreli NP hedefleme-dizileme (SENT-seq), DNA kodlu antikolar kullanılarak mRNA iletiminin tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Bu çalışma, değişken alan ağır zincir antikoru (VHH) ve DNA barkodu 1 taşıyan lipit NP'leri üzerinde yürütülmüştür. SENT-seq, iletilen mRNA yüklü lipit NP'lerinin DNA barkodlarının varlığını tanımlamak için kullanılmıştır. Sonuçlar, iki hücre alt tipinde, endotel hücre alt tipi üç (EC3) ve endotel hücre alt tipi birde (EC1) yaklaşık 17 VHH proteininin tespit edildiğini göstermiştir. EC3 ve EC1'deki gen ekspresyon profili belirlenmiştir ve iki tip arasında hücre döngüsü düzenlemesi ve mRNA işleme ile ilişkili 11 gen istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu, endotel hücrelerine daha yüksek bir mRNA iletimi olduğunu göstermek için

kullanılmıştır (Dobrowolski ve ark., 2022). Sonuç olarak, entegre omik yaklaşımları iletim verimliliği ve hücrelerin farklı biyolojik düzeylerde NP'lere nasıl tepki verdiği hakkında daha ayrıntılı bilgi verebileceği düşünülmektedir.

SONUÇ

Omik platformları, geleneksel testlerde görünmeyen nanotoksitedeki yeni yolları ve mekanizmaları tanımlamak için yararlı olabilir. Yüksek verimli dizileme yaklaşımları, NP'lerin biyolojik etkileşimi sonucu oluşan tepkilerin moleküler temellerine ilişkin anlayışımızı önemli ölçüde ilerletmiştir. Toksik etkinin moleküler düzeyde etkilerini karmaşık bir genetik değişiklik, gen ifadesi değişiklikleri, lipit/glikan/mikroorganizma varyasyonu ve proteinle ilişkili yollar ortaya çıkarmıştır. Farklı partikül maruziyet koşullarının, fenotipik analizlerdeki çalışmalar arası farklılıkların nedeni olduğundan şüphelenilmektedir. Doğrulayıcı analizlerin kullanımı (örneğin başka bir omik tekniği, fenotipik analizler) çalışma kalitesini göstermek ve yol düzenlemesini doğrulamak için önemlidir.

KAYNAKÇA

- Abdellatif, A. A., & Alsowinea, A. F. (2021). Approved and marketed nanoparticles for disease targeting and applications in COVID-19. *Nanotechnology Reviews*, 10(1), 1941-1977.
- Afzal, M., Manzoor, I., & Kuipers, O. P. (2015). A fast and reliable pipeline for bacterial transcriptome analysis case study: serine-dependent gene regulation in *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (98), 52649.
- Akhtar, M. J., Kumar, S., Alhadlaq, H. A., Alrokayan, S. A., Abu-Salah, K. M., & Ahamed, M. (2016). Dose-dependent genotoxicity of copper oxide nanoparticles stimulated by reactive oxygen species in human lung epithelial cells. *Toxicology and industrial health*, 32(5), 809-821.
- Alarifi, S., Ali, D., Verma, A., Alakhtani, S., & Ali, B. A. (2013). Cytotoxicity and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in human skin keratinocytes cells. *International journal of toxicology*, 32(4), 296-307.
- Albert, T. K., Interlandi, M., Sill, M., Graf, M., Moreno, N., Menck, K., ... & Kerl, K. (2021). An extracellular vesicle-related gene expression signature identifies high-risk patients in medulloblastoma. *Neuro-oncology*, 23(4), 586-598.
- Aldughaim, M. S., Al-Anazi, M. R., Bohol, M. F. F., Colak, D., Alotheid, H., Wakil, S. M., ... & Al-Qahtani, A. A. (2021). Gene expression and transcriptome profiling of changes in a cancer cell line post-exposure to cadmium telluride quantum dots: possible implications in oncogenesis. *Dose-Response*, 19(2), 15593258211019880.
- Alsagaby, S. A., Vijayakumar, R., Premanathan, M., Mickymaray, S., Alturaiki, W., Al-Baradie, R. S., ... & Pepper, C. (2020). Transcriptomics-based characterization of the toxicity of ZnO nanoparticles against chronic myeloid leukemia cells. *International Journal of Nanomedicine*, 7901-7921.
- Alseekh, S., Aharoni, A., Brotman, Y., Contrepolis, K., D'Auria, J., Ewald, J., ... & Fernie, A. R. (2021). Mass spectrometry-based metabolomics: a guide for annotation, quantification and best reporting practices. *Nature methods*, 18(7), 747-756.

- Ameur, A., Kloosterman, W. P., & Hestand, M. S. (2019). Single-molecule sequencing: towards clinical applications. *Trends in biotechnology*, 37(1), 72-85.
- Andergassen, U., Kölbl, A. C., Mahner, S., & Jeschke, U. (2016). Real-time RT-PCR systems for CTC detection from blood samples of breast cancer and gynaecological tumour patients. *Oncology reports*, 35(4), 1905-1915.
- Aragoneses-Cazorla, G., Buendia-Nacarino, M. P., Mena, M. L., & Luque-Garcia, J. L. (2022). A multi-omics approach to evaluate the toxicity mechanisms associated with silver nanoparticles exposure. *Nanomaterials*, 12(10), 1762.
- Awasthi, K. K., Awasthi, A., Verma, R., Kumar, N., Roy, P., Awasthi, K., & John, P. J. (2015a). Cytotoxicity, genotoxicity and alteration of cellular antioxidant enzymes in silver nanoparticles exposed CHO cells. *RSC Advances*, 5(44), 34927-34935.
- Awasthi, K. K., Verma, R., Awasthi, A., Awasthi, K., Soni, I., & John, P. J. (2015b). In vivo genotoxic assessment of silver nanoparticles in liver cells of Swiss albino mice using comet assay. *Adv Mater Lett*, 6(3), 187-93.
- Bai, D. P., Zhang, X. F., Zhang, G. L., Huang, Y. F., & Gurunathan, S. (2017). Zinc oxide nanoparticles induce apoptosis and autophagy in human ovarian cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 6521-6535.
- Balfourier, A., Marty, A. P., & Gazeau, F. (2022). Importance of metal biotransformation in cell response to metallic nanoparticles: a transcriptomic meta-analysis study. *ACS Nanoscience Au*, 3(1), 46-57.
- Bauer, N. C., Doetsch, P. W., & Corbett, A. H. (2015). Mechanisms regulating protein localization. *Traffic*, 16(10), 1039-1061.
- Bell, M., & Blais, J. M. (2019). “-Omics” workflow for paleolimnological and geological archives: A review. *Science of the Total Environment*, 672, 438-455.
- Beltrao, P., Albanèse, V., Kenner, L. R., Swaney, D. L., Burlingame, A., Villén, J., ... & Krogan, N. J. (2012). Systematic functional prioritization of protein posttranslational modifications. *Cell*, 150(2), 413-425.
- Bertoli, C., Skotheim, J. M., & De Bruin, R. A. (2013). Control of cell cycle transcription during G1 and S phases. *Nature reviews Molecular cell biology*, 14(8), 518-528.

- Biola-Clier, M., Gaillard, J. C., Rabilloud, T., Armengaud, J., & Carriere, M. (2020). Titanium dioxide nanoparticles alter the cellular phosphoproteome in A549 cells. *Nanomaterials*, 10(2), 185.
- Boroumand Moghaddam, A., Moniri, M., Azizi, S., Abdul Rahim, R., Bin Ariff, A., Navaderi, M., & Mohamad, R. (2017). Eco-friendly formulated zinc oxide nanoparticles: induction of cell cycle arrest and apoptosis in the MCF-7 cancer cell line. *Genes*, 8(10), 281.
- Bright, L. A., Burgess, S. C., Chowdhary, B., Swiderski, C. E., & McCarthy, F. M. (2009, October). Structural and functional-annotation of an equine whole genome oligoarray. In *BMC bioinformatics* (Vol. 10, pp. 1-8). BioMed Central.
- Brownsey, R. W., Boone, A. N., Elliott, J. E., Kulpa, J. E., & Lee, W. M. (2006). Regulation of acetyl-CoA carboxylase. *Biochemical Society Transactions*, 34(2), 223-227.
- Burkhart, J. M., Schumbrutzki, C., Wortelkamp, S., Sickmann, A., & Zahedi, R. P. (2012). Systematic and quantitative comparison of digest efficiency and specificity reveals the impact of trypsin quality on MS-based proteomics. *Journal of proteomics*, 75(4), 1454-1462.
- Burley, S. K., Almo, S. C., Bonanno, J. B., Capel, M., Chance, M. R., Gaasterland, T., ... & Swaminathan, S. (1999). Structural genomics: beyond the human genome project. *Nature genetics*, 23(2), 151-157.
- Cai, X., Ramalingam, R., San Wong, H., Cheng, J., Ajuh, P., Cheng, S. H., & Lam, Y. W. (2013). Characterization of carbon nanotube protein corona by using quantitative proteomics. *Nanomedicine: Nanotechnology, biology and medicine*, 9(5), 583-593.
- Cao, Y., Roursgaard, M., Kermanizadeh, A., Loft, S., & Møller, P. (2015). Synergistic effects of zinc oxide nanoparticles and fatty acids on toxicity to caco-2 cells. *International Journal of Toxicology*, 34(1), 67-76.
- Cattaneo, A. G., Gornati, R., Bernardini, G., Sabbioni, E., Manzo, L., & Di Gioacchino, M. (2014). Testing nanotoxicity: an update of new and traditional methods. *Handbook of Nanotoxicology, Nanomedicine and Stem Cell Use in Toxicology*, 3-34.
- Chaurand, P., Stoeckli, M., & Caprioli, R. M. (1999). Direct profiling of proteins in biological tissue sections by MALDI mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 71(23), 5263-5270.

- Chen, T., Yan, J., & Li, Y. (2014). Genotoxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 95-104.
- Chen, T., Zhao, J., Ma, J., & Zhu, Y. (2015). Web resources for mass spectrometry-based proteomics. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 13(1), 36-39.
- Chiang, Y. M., Oakley, C. E., Ahuja, M., Entwistle, R., Schultz, A., Chang, S. L., ... & Oakley, B. R. (2013). An efficient system for heterologous expression of secondary metabolite genes in *Aspergillus nidulans*. *Journal of the American Chemical Society*, 135(20), 7720-7731.
- Cho, M., Cho, W. S., Choi, M., Kim, S. J., Han, B. S., Kim, S. H., ... & Jeong, J. (2009). The impact of size on tissue distribution and elimination by single intravenous injection of silica nanoparticles. *Toxicology letters*, 189(3), 177-183.
- Choi, A. O., Brown, S. E., Szyf, M., & Maysinger, D. (2008). Quantum dot-induced epigenetic and genotoxic changes in human breast cancer cells. *Journal of molecular medicine*, 86, 291-302.
- Clarke, C. J., & Haselden, J. N. (2008). Metabolic profiling as a tool for understanding mechanisms of toxicity. *Toxicologic Pathology*, 36(1), 140-147.
- Cui, L., Wang, X., Sun, B., Xia, T., & Hu, S. (2019). Predictive metabolomic signatures for safety assessment of metal oxide nanoparticles. *Acs Nano*, 13(11), 13065-13082.
- Davalos, V., & Esteller, M. (2023). Cancer epigenetics in clinical practice. *CA: a cancer journal for clinicians*, 73(4), 376-424.
- David, M., Petit, D., & Bertoglio, J. (2012). Cell cycle regulation of Rho signaling pathways. *Cell Cycle*, 11(16), 3003-3010.
- Dobrowolski, C., Paunovska, K., Schrader Echeverri, E., Loughrey, D., Da Silva Sanchez, A. J., Ni, H., ... & Dahlman, J. E. (2022). Nanoparticle single-cell multiomic readouts reveal that cell heterogeneity influences lipid nanoparticle-mediated messenger RNA delivery. *Nature nanotechnology*, 17(8), 871-879.
- Dupree, E. J., Jayathirtha, M., Yorkey, H., Mihasan, M., Petre, B. A., & Darie, C. C. (2020). A critical review of bottom-up proteomics: the good, the bad, and the future of this field. *Proteomes*, 8(3), 14.

- Edman, P., Högfeldt, E., Sillén, L. G., & Kinell, P. O. (1950). Method for determination of the amino acid sequence in peptides. *Acta chem. scand*, 4(7), 283-293.
- Elgrabli, D., Beaudouin, R., Jbilou, N., Floriani, M., Pery, A., Rogerieux, F., & Lacroix, G. (2015). Biodistribution and clearance of TiO₂ nanoparticles in rats after intravenous injection. *PLoS One*, 10(4), e0124490.
- Frommer, M., McDonald, L. E., Millar, D. S., Collis, C. M., Watt, F., Grigg, G. W., ... & Paul, C. L. (1992). A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(5), 1827-1831.
- Fröhlich, E. (2017). Role of omics techniques in the toxicity testing of nanoparticles. *Journal of nanobiotechnology*, 15, 1-22.
- Fu, P. P., Xia, Q., Hwang, H. M., Ray, P. C., & Yu, H. (2014). Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 64-75.
- Geraets, L., Oomen, A. G., Krystek, P., Jacobsen, N. R., Wallin, H., Laurentie, M., ... & de Jong, W. H. (2014). Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats. *Particle and fibre toxicology*, 11, 1-21.
- Giani, A. M., Gallo, G. R., Gianfranceschi, L., & Formenti, G. (2020). Long walk to genomics: History and current approaches to genome sequencing and assembly. *Computational and structural biotechnology journal*, 18, 9-19.
- Gilmour, D. S., & Lis, J. T. (1984). Detecting protein-DNA interactions in vivo: distribution of RNA polymerase on specific bacterial genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(14), 4275-4279.
- Gioria, S., Lobo Vicente, J., Barboro, P., La Spina, R., Tomasi, G., Urbán, P., ... & Chassaigne, H. (2016). A combined proteomics and metabolomics approach to assess the effects of gold nanoparticles in vitro. *Nanotoxicology*, 10(6), 736-748.
- Gliga, A. R., Di Bucchianico, S., Åkerlund, E., & Karlsson, H. L. (2020). Transcriptome profiling and toxicity following long-term, low dose exposure of human lung cells to Ni and NiO nanoparticles—comparison with NiCl₂. *Nanomaterials*, 10(4), 649.

- Gliga, A. R., Di Bucchianico, S., Lindvall, J., Fadeel, B., & Karlsson, H. L. (2018). RNA-sequencing reveals long-term effects of silver nanoparticles on human lung cells. *Scientific reports*, 8(1), 6668.
- Gong, C., Tao, G., Yang, L., Liu, J., Liu, Q., & Zhuang, Z. (2010). SiO₂ nanoparticles induce global genomic hypomethylation in HaCaT cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 397(3), 397-400.
- Gooley, A. A., Ou, K., Russell, J., Wilkins, M. R., Sanchez, J. C., Hochstrasser, D. F., & Williams, K. L. (1997). A role for Edman degradation in proteome studies. *Electrophoresis*, 18(7), 1068-1072.
- Hanash, S. (2003). Disease proteomics. *Nature*, 422(6928), 226-232.
- Hartung, T., Van Vliet, E., Jaworska, J., Bonilla, L., Skinner, N., & Thomas, R. (2012). Systems toxicology. *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 29(2), 119-128.
- Heather, J. M., & Chain, B. (2016). The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, 107(1), 1-8.
- Holliday, R. (1987). The inheritance of epigenetic defects. *Science*, 238(4824), 163-170.
- Hong, M., Tao, S., Zhang, L., Diao, L. T., Huang, X., Huang, S., ... & Zhang, H. (2020). RNA sequencing: new technologies and applications in cancer research. *Journal of hematology & oncology*, 13, 1-16.
- Hoofnagle, A. N., & Wener, M. H. (2009). The fundamental flaws of immunoassays and potential solutions using tandem mass spectrometry. *Journal of immunological methods*, 347(1-2), 3-11.
- Hosseini, S., Vázquez-Villegas, P., Rito-Palomares, M., & Martinez-Chapa, S. O. (2018). *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): from A to Z* (pp. 67-115). Singapore:: Springer.
- Jing, Y., Liu, J., Ye, Y., Pan, L., Deng, H., Wang, Y., ... & Han, L. (2020). Multi-omics prediction of immune-related adverse events during checkpoint immunotherapy. *Nature communications*, 11(1), 4946.
- Kinaret, P. A. S., Serra, A., Federico, A., Kohonen, P., Nymark, P., Liampa, I., ... & Greco, D. (2020). Transcriptomics in toxicogenomics, part I: experimental design, technologies, publicly available data, and regulatory aspects. *Nanomaterials*, 10(4), 750.

- Klose, J. (1975). Protein mapping by combined isoelectric focusing and electrophoresis of mouse tissues: a novel approach to testing for induced point mutations in mammals. *Humangenetik*, 26, 231-243.
- Kong, S. W., & Hernandez-Ferrer, C. (2019). Assessment of coverage for endogenous metabolites and exogenous chemical compounds using an untargeted metabolomics platform. In *PACIFIC SYMPOSIUM ON BIOCOMPUTING 2020* (pp. 587-598).
- Konry, T., Sarkar, S., Sabhachandani, P., & Cohen, N. (2016). Innovative tools and technology for analysis of single cells and cell-cell interaction. *Annual review of biomedical engineering*, 18(1), 259-284.
- Kurdyukov, S., & Bullock, M. (2016). DNA methylation analysis: choosing the right method. *Biology*, 5(1), 3.
- Kwon, Y. W., Jo, H. S., Bae, S., Seo, Y., Song, P., Song, M., & Yoon, J. H. (2021). Application of proteomics in cancer: recent trends and approaches for biomarkers discovery. *Frontiers in medicine*, 8, 747333.
- Labouta, H. I., Asgarian, N., Rinker, K., & Cramb, D. T. (2019). Meta-analysis of nanoparticle cytotoxicity via data-mining the literature. *ACS nano*, 13(2), 1583-1594.
- Lam, H. Y., Clark, M. J., Chen, R., Chen, R., Natsoulis, G., O'huallachain, M., ... & Snyder, M. (2012). Performance comparison of whole-genome sequencing platforms. *Nature biotechnology*, 30(1), 78-82.
- Lamouille, S., Xu, J., & Derynck, R. (2014). Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15(3), 178-196.
- Letovanec, I., Finn, S., Zygoura, P., Smyth, P., Soltermann, A., Bubendorf, L., ... & Muley, T. (2018). Evaluation of NGS and RT-PCR methods for ALK rearrangement in European NSCLC patients: results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape Project. *Journal of Thoracic Oncology*, 13(3), 413-425.
- Li, J., Sun, R., Xu, H., & Wang, G. (2022). Integrative metabolomics, proteomics and transcriptomics analysis reveals liver toxicity of mesoporous silica nanoparticles. *Frontiers in pharmacology*, 13, 835359.
- Li, Z., Schulze, R. J., Weller, S. G., Krueger, E. W., Schott, M. B., Zhang, X., ... & McNiven, M. A. (2016). A novel Rab10-EHBP1-EHD2 complex

- essential for the autophagic engulfment of lipid droplets. *Science advances*, 2(12), e1601470.
- Lim, B., Lin, Y., & Navin, N. (2020). Advancing cancer research and medicine with single-cell genomics. *Cancer cell*, 37(4), 456-470.
- Lin, C. H., Chung, C. A., Wong, J. H., Chen, B. K., Chiu, S. J., Klahan, S., ... & Chang, W. C. (2016). Involvement of L-type Ca^{2+} channel and toll-like receptor-4 in nickel-induced interleukin-8 gene expression. *Environmental Toxicology*, 31(1), 5-12.
- Liu, J., Harada, B. T., & He, C. (2019). Regulation of gene expression by N6-methyladenosine in cancer. *Trends in cell biology*, 29(6), 487-499.
- Liu, Y., Wang, J., Xiong, Q., Hornburg, D., Tao, W., & Farokhzad, O. C. (2020). Nano-bio interactions in cancer: from therapeutics delivery to early detection. *Accounts of chemical research*, 54(2), 291-301.
- Liu, Y., Wang, L., Song, Q., Ali, M., Crowe, W. N., Kucera, G. L., ... & Zhao, D. (2022). Intrapleural nano-immunotherapy promotes innate and adaptive immune responses to enhance anti-PD-L1 therapy for malignant pleural effusion. *Nature nanotechnology*, 17(2), 206-216.
- Lomberk, G., Dusetti, N., Iovanna, J., & Urrutia, R. (2019). Emerging epigenomic landscapes of pancreatic cancer in the era of precision medicine. *Nature communications*, 10(1), 3875.
- Lu, X., Miousse, I. R., Pirela, S. V., Melnyk, S., Koturbash, I., & Demokritou, P. (2016a). Short-term exposure to engineered nanomaterials affects cellular epigenome. *Nanotoxicology*, 10(2), 140-150.
- Lu, X., Miousse, I. R., Pirela, S. V., Moore, J. K., Melnyk, S., Koturbash, I., & Demokritou, P. (2016b). In vivo epigenetic effects induced by engineered nanomaterials: A case study of copper oxide and laser printer-emitted engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 10(5), 629-639.
- Mann, M. (2016). The rise of mass spectrometry and the fall of Edman degradation. *Clinical Chemistry*, 62(1), 293-294.
- McCarthy, N. J., & Evan, G. I. (1997). 15 Methods for detecting and quantifying apoptosis. *Current topics in developmental biology*, 36, 259-278.
- Menon, V. (2018). Clustering single cells: a review of approaches on high-and low-depth single-cell RNA-seq data. *Briefings in functional genomics*, 17(4), 240-245.

- Meyer, K. D., Saletore, Y., Zumbo, P., Elemento, O., Mason, C. E., & Jaffrey, S. R. (2012). Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell*, 149(7), 1635-1646.
- Mitchell, H. D., Markillie, L. M., Chrisler, W. B., Gaffrey, M. J., Hu, D., Szymanski, C. J., ... & Orr, G. (2016). Cells respond to distinct nanoparticle properties with multiple strategies as revealed by single-cell RNA-seq. *ACS nano*, 10(11), 10173-10185.
- Mnatsakanyan, R., Shema, G., Basik, M., Batist, G., Borchers, C. H., Sickmann, A., & Zahedi, R. P. (2018). Detecting post-translational modification signatures as potential biomarkers in clinical mass spectrometry. *Expert Review of Proteomics*, 15(6), 515-535.
- Mohammadinejad, R., Moosavi, M. A., Tavakol, S., Vardar, D. Ö., Hosseini, A., Rahmati, M., ... & Klionsky, D. J. (2019). Necrotic, apoptotic and autophagic cell fates triggered by nanoparticles. *Autophagy*, 15(1), 4-33.
- Monopoli, M. P., Aberg, C., Salvati, A., & Dawson, K. A. (2020). Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. *Nano-enabled medical applications*, 205-229.
- Monopoli, M. P., Walczyk, D., Campbell, A., Elia, G., Lynch, I., Baldelli Bombelli, F., & Dawson, K. A. (2011). Physical– chemical aspects of protein corona: relevance to in vitro and in vivo biological impacts of nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 133(8), 2525-2534.
- Moustafa, K., & Cross, J. M. (2016). Genetic approaches to study plant responses to environmental stresses: an overview. *Biology*, 5(2), 20.
- Nandhakumar, S., Parasuraman, S., Shanmugam, M. M., Rao, K. R., Chand, P., & Bhat, B. V. (2011). Evaluation of DNA damage using single-cell gel electrophoresis (Comet Assay). *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*, 2(2), 107.
- Ng, S. B., Turner, E. H., Robertson, P. D., Flygare, S. D., Bigam, A. W., Lee, C., ... & Shendure, J. (2009). Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature*, 461(7261), 272-276.
- Ntzani, E. E., & Ioannidis, J. P. (2003). Predictive ability of DNA microarrays for cancer outcomes and correlates: an empirical assessment. *The Lancet*, 362(9394), 1439-1444.

- Park, J., Choi, J., Lee, J. E., Choi, H., & Im, H. J. (2022). Spatial Transcriptomics-Based Identification of Molecular Markers for Nanomedicine Distribution in Tumor Tissue. *Small Methods*, 6(11), 2201091.
- Patel, S., Kim, J., Herrera, M., Mukherjee, A., Kabanov, A. V., & Sahay, G. (2019). Brief update on endocytosis of nanomedicines. *Advanced drug delivery reviews*, 144, 90-111.
- Patil, N. A., Gade, W. N., & Deobagkar, D. D. (2016). Epigenetic modulation upon exposure of lung fibroblasts to TiO₂ and ZnO nanoparticles: alterations in DNA methylation. *International journal of nanomedicine*, 4509-4519.
- Peng, B., Li, H., & Peng, X. X. (2015). Functional metabolomics: from biomarker discovery to metabolome reprogramming. *Protein & cell*, 6(9), 628-637.
- Phuyal, S., Kasem, M., Knittelfelder, O., Sharma, A., Fonseca, D. D. M., Vebraite, V., ... & Zienolddiny, S. (2018). Characterization of the proteome and lipidome profiles of human lung cells after low dose and chronic exposure to multiwalled carbon nanotubes. *Nanotoxicology*, 12(2), 138-152.
- Pisani, C., Gaillard, J. C., Nouvel, V., Odorico, M., Armengaud, J., & Prat, O. (2015). High-throughput, quantitative assessment of the effects of low-dose silica nanoparticles on lung cells: grasping complex toxicity with a great depth of field. *BMC genomics*, 16, 1-14.
- Pisani, C., Gaillard, J. C., Odorico, M., Nyalosaso, J. L., Charnay, C., Guari, Y., ... & Prat, O. (2017). The timeline of corona formation around silica nanocarriers highlights the role of the protein interactome. *Nanoscale*, 9(5), 1840-1851.
- Premanathan, M., Karthikeyan, K., Jeyasubramanian, K., & Manivannan, G. (2011). Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 7(2), 184-192.
- Qian, Y., Zhang, J., Hu, Q., Xu, M., Chen, Y., Hu, G., ... & Liu, S. (2015). Silver nanoparticle-induced hemoglobin decrease involves alteration of histone 3 methylation status. *Biomaterials*, 70, 12-22.

- Raesch, S. S., Tenzer, S., Storck, W., Rurainski, A., Selzer, D., Ruge, C. A., ... & Lehr, C. M. (2015). Proteomic and lipidomic analysis of nanoparticle corona upon contact with lung surfactant reveals differences in protein, but not lipid composition. *ACS nano*, 9(12), 11872-11885.
- Rahman, M., Laurent, S., Tawil, N., Yahia, L. H., Mahmoudi, M., Rahman, M., ... & Mahmoudi, M. (2013). Nanoparticle and protein corona. *Protein-Nanoparticle Interactions: The Bio-Nano Interface*, 21-44.
- Ramirez, T., Daneshian, M., Kamp, H., Bois, F. Y., Clench, M. R., Coen, M., ... & Leist, M. (2013). Metabolomics in toxicology and preclinical research. *Altex*, 30(2), 209.
- Rao, A., Barkley, D., França, G. S., & Yanai, I. (2021). Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics. *Nature*, 596(7871), 211-220.
- Reimand, J., Isserlin, R., Voisin, V., Kucera, M., Tannus-Lopes, C., Rostamianfar, A., ... & Bader, G. D. (2019). Pathway enrichment analysis and visualization of omics data using g: Profiler, GSEA, Cytoscape and EnrichmentMap. *Nature protocols*, 14(2), 482-517.
- Ritchie, M. D., Holzinger, E. R., Li, R., Pendergrass, S. A., & Kim, D. (2015). Methods of integrating data to uncover genotype-phenotype interactions. *Nature Reviews Genetics*, 16(2), 85-97.
- Rosenquist, R., Cuppen, E., Buettner, R., Caldas, C., Dreau, H., Elemento, O., ... & Schuh, A. (2022, September). Clinical utility of whole-genome sequencing in precision oncology. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 84, pp. 32-39). Academic Press.
- Ruan, C., Wang, C., Gong, X., Zhang, Y., Deng, W., Zhou, J., ... & Xue, Y. (2021). An integrative multi-omics approach uncovers the regulatory role of CDK7 and CDK4 in autophagy activation induced by silica nanoparticles. *Autophagy*, 17(6), 1426-1447.
- Saah, A. J., & Hoover, D. R. (1997). "Sensitivity" and "specificity" reconsidered: the meaning of these terms in analytical and diagnostic settings.
- Sanger, F., Air, G. M., Barrell, B. G., Brown, N. L., Coulson, A. R., Fiddes, J. C., ... & Smith, M. (1977). Nucleotide sequence of bacteriophage ϕ X174 DNA. *nature*, 265(5596), 687-695.
- Schäffler, M., Semmler-Behnke, M., Sarioglu, H., Takenaka, S., Wenk, A., Schleh, C., ... & Kreyling, W. G. (2013). Serum protein identification and

- quantification of the corona of 5, 15 and 80 nm gold nanoparticles. *Nanotechnology*, 24(26), 265103.
- Schöttler, S., Becker, G., Winzen, S., Steinbach, T., Mohr, K., Landfester, K., ... & Wurm, F. R. (2016). Protein adsorption is required for stealth effect of poly (ethylene glycol)-and poly (phosphoester)-coated nanocarriers. *Nature nanotechnology*, 11(4), 372-377.
- Shannahan, J. H., Lai, X., Ke, P. C., Podila, R., Brown, J. M., & Witzmann, F. A. (2013). Silver nanoparticle protein corona composition in cell culture media. *PloS one*, 8(9), e74001.
- Shin, T. H., Nithiyanandam, S., Lee, D. Y., Kwon, D. H., Hwang, J. S., Kim, S. G., ... & Lee, G. (2021). Analysis of nanotoxicity with integrated omics and mechanobiology. *Nanomaterials*, 11(9), 2385.
- Shrestha, N., Bahnan, W., Wiley, D. J., Barber, G., Fields, K. A., & Schesser, K. (2012). Eukaryotic initiation factor 2 (eIF2) signaling regulates proinflammatory cytokine expression and bacterial invasion. *Journal of Biological Chemistry*, 287(34), 28738-28744.
- Simon, D. F., Domingos, R. F., Hauser, C., Hutchins, C. M., Zerges, W., & Wilkinson, K. J. (2013). Transcriptome sequencing (RNA-seq) analysis of the effects of metal nanoparticle exposure on the transcriptome of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(16), 4774-4785.
- Sobsey, C. A., Ibrahim, S., Richard, V. R., Gaspar, V., Mitsa, G., Lacasse, V., ... & Borchers, C. H. (2020). Targeted and untargeted proteomics approaches in biomarker development. *Proteomics*, 20(9), 1900029.
- Solomon, M. J., & Varshavsky, A. (1985). Formaldehyde-mediated DNA-protein crosslinking: a probe for in vivo chromatin structures. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(19), 6470-6474.
- Song, M. F., Li, Y. S., Kasai, H., & Kawai, K. (2012). Metal nanoparticle-induced micronuclei and oxidative DNA damage in mice. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 50(3), 211-216.
- Song, Y., Bugada, L., Li, R., Hu, H., Zhang, L., Li, C., ... & Sun, D. (2022). Albumin nanoparticle containing a PI3K γ inhibitor and paclitaxel in combination with α -PD1 induces tumor remission of breast cancer in mice. *Science translational medicine*, 14(643), eabl3649.

- Stein, W. D., Litman, T., Fojo, T., & Bates, S. E. (2004). A Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) database analysis of chemosensitivity: comparing solid tumors with cell lines and comparing solid tumors from different tissue origins. *Cancer research*, 64(8), 2805-2816.
- Stubbington, M. J., Rozenblatt-Rosen, O., Regev, A., & Teichmann, S. A. (2017). Single-cell transcriptomics to explore the immune system in health and disease. *Science*, 358(6359), 58-63.
- Suhre, K., McCarthy, M. I., & Schwenk, J. M. (2021). Genetics meets proteomics: perspectives for large population-based studies. *Nature Reviews Genetics*, 22(1), 19-37.
- Sule, N., Singh, R., & Srivastava, D. K. (2008). Alternative modes of binding of recombinant human histone deacetylase 8 to colloidal gold nanoparticles. *Journal of biomedical nanotechnology*, 4(4), 463-468.
- Suvà, M. L., & Tirosh, I. (2019). Single-cell RNA sequencing in cancer: lessons learned and emerging challenges. *Molecular cell*, 75(1), 7-12.
- Tabish, A. M., Poels, K., Byun, H. M., Luyts, K., Baccarelli, A. A., Martens, J., ... & Godderis, L. (2017). Changes in DNA methylation in mouse lungs after a single intra-tracheal administration of nanomaterials. *PloS one*, 12(1), e0169886.
- Tan, J., Shah, S., Thomas, A., Ou-Yang, H. D., & Liu, Y. (2013). The influence of size, shape and vessel geometry on nanoparticle distribution. *Microfluidics and nanofluidics*, 14, 77-87.
- Tautenhahn, R., Cho, K., Uritboonthai, W., Zhu, Z., Patti, G. J., & Siuzdak, G. (2012). An accelerated workflow for untargeted metabolomics using the METLIN database. *Nature biotechnology*, 30(9), 826-828.
- Tilton, S. C., Karin, N. J., Tolic, A., Xie, Y., Lai, X., Hamilton Jr, R. F., ... & Orr, G. (2014). Three human cell types respond to multi-walled carbon nanotubes and titanium dioxide nanobelts with cell-specific transcriptomic and proteomic expression patterns. *Nanotoxicology*, 8(5), 533-548.
- Timp, W., & Timp, G. (2020). Beyond mass spectrometry, the next step in proteomics. *Science Advances*, 6(2), eaax8978.
- Tirumala, M. G., Anchi, P., Raja, S., Rachamalla, M., & Godugu, C. (2021). Novel methods and approaches for safety evaluation of nanoparticle

- formulations: A focus towards in vitro models and adverse outcome pathways. *Frontiers in pharmacology*, 12, 612659.
- Tournebize, J., Sapin-Minet, A., Bartosz, G., Leroy, P., & Boudier, A. (2013). Pitfalls of assays devoted to evaluation of oxidative stress induced by inorganic nanoparticles. *Talanta*, 116, 753-763.
- Trinh, D. N., Gardner, R. A., Franciosi, A. N., McCarthy, C., Keane, M. P., Soliman, M. G., ... & Monopoli, M. P. (2022). Nanoparticle biomolecular corona-based enrichment of plasma glycoproteins for N-glycan profiling and application in biomarker discovery. *ACS nano*, 16(4), 5463-5475.
- Tsimberidou, A. M., Fountzilias, E., Bleris, L., & Kurzrock, R. (2022, September). Transcriptomics and solid tumors: The next frontier in precision cancer medicine. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 84, pp. 50-59). Academic Press.
- Ushijima, T., Clark, S. J., & Tan, P. (2021). Mapping genomic and epigenomic evolution in cancer ecosystems. *Science*, 373(6562), 1474-1479.
- Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E., Zhou, S., Diaz Jr, L. A., & Kinzler, K. W. (2013). Cancer genome landscapes. *science*, 339(6127), 1546-1558.
- Wang, H., Chen, F., Hu, A., Liang, H., Liang, Y., Seetharamu, N., ... & Dong, J. (2023). Harmine loaded Au@ MSNs@ PEG@ Asp6 nano-composites for treatment of spinal metastasis from lung adenocarcinoma by targeting ANXA9 in vivo experiment. *Translational Lung Cancer Research*, 12(5), 1062.
- Wang, L., Zhou, H., Chen, Q., Lin, Z., Jiang, C., Chen, X., ... & Zhang, D. (2024). STING Agonist-Loaded Nanoparticles Promotes Positive Regulation of Type I Interferon-Dependent Radioimmunotherapy in Rectal Cancer. *Advanced Science*, 11(7), 2307858.
- Wei, X., Schultz, K., Bazilevsky, G. A., Vogt, A., & Marmorstein, R. (2020). Molecular basis for acetyl-CoA production by ATP-citrate lyase. *Nature structural & molecular biology*, 27(1), 33-41.
- Wilkins, M. R., Pasquali, C., Appel, R. D., Ou, K., Golaz, O., Sanchez, J. C., ... & Hochstrasser, D. F. (1996). From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Bio/technology*, 14(1), 61-65.

- Williams, C. G., Lee, H. J., Asatsuma, T., Vento-Tormo, R., & Haque, A. (2022). An introduction to spatial transcriptomics for biomedical research. *Genome medicine*, 14(1), 68.
- Wishart, D. S., Cheng, L. L., Copié, V., Edison, A. S., Eghbalnia, H. R., Hoch, J. C., ... & Uchimiya, M. (2022). NMR and metabolomics—A roadmap for the future. *Metabolites*, 12(8), 678.
- Wishart, D. S., Knox, C., Guo, A. C., Eisner, R., Young, N., Gautam, B., ... & Forsythe, I. (2009). HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. *Nucleic acids research*, 37(suppl_1), D603-D610.
- Wu, S., Yun, J., Tang, W., Familiari, G., Relucenti, M., Wu, J., ... & Chen, R. (2023). Therapeutic m6A eraser ALKBH5 mRNA-loaded exosome–liposome hybrid nanoparticles inhibit progression of colorectal cancer in preclinical tumor models. *ACS nano*, 17(12), 11838-11854.
- Xiang, Y., Ran, Q., Wu, C., Zhou, L., Zhang, W., Li, J., ... & Cai, K. (2022). Single-cell transcriptomics uncovers the impacts of titanium dioxide nanoparticles on human bone marrow stromal cells. *Chemical Engineering Journal*, 440, 135814.
- Xu, J., Liu, Y., Li, Y., Wang, H., Stewart, S., Van der Jeught, K., ... & He, X. (2019). Precise targeting of POLR2A as a therapeutic strategy for human triple negative breast cancer. *Nature nanotechnology*, 14(4), 388-397.
- Yadav, S. P. (2007). The wholeness in suffix-omics, -omes, and the word om. *Journal of biomolecular techniques: JBT*, 18(5), 277.
- Yang, Q., Zhang, A. H., Miao, J. H., Sun, H., Han, Y., Yan, G. L., ... & Wang, X. J. (2019). Metabolomics biotechnology, applications, and future trends: a systematic review. *RSC advances*, 9(64), 37245-37257.
- Yang, Y., Chen, R., Gong, Y., Yang, W., Li, K., Fan, W., ... & Cai, K. (2022). Double-drug loading upconversion nanoparticles for monitoring and therapy of a MYC/BCL6-positive double-hit diffuse large B-cell lymphoma. *Biomaterials*, 287, 121607.
- Yi, J. M., Guzzetta, A. A., Bailey, V. J., Downing, S. R., Van Neste, L., Chiappinelli, K. B., ... & Ahuja, N. (2013). Novel methylation biomarker panel for the early detection of pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research*, 19(23), 6544-6555.
- You, J. S., & Jones, P. A. (2012). Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin?. *Cancer cell*, 22(1), 9-20.

- Yun, C. W., Kim, H. J., Lim, J. H., & Lee, S. H. (2019). Heat shock proteins: agents of cancer development and therapeutic targets in anti-cancer therapy. *Cells*, 9(1), 60.
- Zhang, Q., Jeppesen, D. K., Higginbotham, J. N., Graves-Deal, R., Trinh, V. Q., Ramirez, M. A., ... & Coffey, R. J. (2021). Supermeres are functional extracellular nanoparticles replete with disease biomarkers and therapeutic targets. *Nature cell biology*, 23(12), 1240-1254.
- Zhang, X. F., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticle-mediated cellular responses in various cell lines: an in vitro model. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1603.
- Zhang, Y., Fonslow, B. R., Shan, B., Baek, M. C., & Yates III, J. R. (2013). Protein analysis by shotgun/bottom-up proteomics. *Chemical reviews*, 113(4), 2343-2394.
- Zhang, Y., Xie, W., Lin, J., Zhuo, Y., Zou, Z., He, H., ... & Zhong, W. (2022). Untargeted metabolomics to analyze alterations in two-dimensional graphdiyne-copper nanocomposite on the metabolic reprogramming of prostate cancer. *2D Materials*, 10(1), 015011.
- Zhao, X., & Guan, J. L. (2011). Focal adhesion kinase and its signaling pathways in cell migration and angiogenesis. *Advanced drug delivery reviews*, 63(8), 610-615.
- Zhu, H., Zhang, H., Xu, Y., Laššáková, S., Korabečná, M., & Neužil, P. (2020). PCR past, present and future. *Biotechniques*, 69(4), 317-325.
- Zhu, Q., Ghoshal, S., Tyagi, R., & Chakraborty, A. (2017). Global IP6K1 deletion enhances temperature modulated energy expenditure which reduces carbohydrate and fat induced weight gain. *Molecular metabolism*, 6(1), 73-85.
- Zhu, Y., Zhang, Y., Li, Y., Guo, C., Fan, Z., Li, Y., ... & Wang, J. (2022). Integrative proteomics and metabolomics approach to elucidate metabolic dysfunction induced by silica nanoparticles in hepatocytes. *Journal of hazardous materials*, 434, 128820.

BÖLÜM 9

NANOPARTİKÜLLERİN DOĞURGANLIK VE SAĞKALIM ÜZERİNDEKİ DOZA BAĞIMLI ETKİSİ

Uzm. Moleküler Biyolog Furkan TURAN¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16383056>

¹ Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, furkan.turan@yeditepe.edu.tr Orcid ID:0000-0001-7869-4215

GİRİŞ

Nanoteknoloji, son yıllarda modern tıp ve endüstride devrim niteliğinde gelişmeler sağlayarak kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve metabolik bozukluklar gibi kompleks hastalıkların teşhisi ve tedavisinde yeni ufuklar açmıştır (Smith ve ark., 2019; Johnson ve ark., 2021). Özellikle hedefe yönelik ilaç taşıma sistemleri, görüntüleme teknolojileri ve biyomedikal cihazlar, NP'lerin tıbbi uygulamalarda kullanımını hızlandırmıştır. NP'ler, boyutları 1-100 nanometre arasında değişen ve yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip malzemelerdir. Bu özellikleri sayesinde, ilaçların hedef dokulara daha etkili bir şekilde ulaştırılmasını sağlarken, aynı zamanda teşhis ve tedavi süreçlerinde yüksek hassasiyet sunarlar. Ancak, NP'lerin tüketici ürünlerine ve tıbbi uygulamalara hızla entegre edilmesi, özellikle üreme sağlığı ve organizmaların hayatta kalması üzerindeki potansiyel etkileri konusunda ciddi endişelere yol açmıştır (Brohi ve ark., 2017). NP'ler, kozmetik ürünlerden tekstil malzemelerine, antibiyotiklerden gıda ambalajlarına kadar geniş bir yelpazede kullanılmakta, ancak bu ürünlerin uzun vadeli biyolojik etkileri genellikle yeterince araştırılmadan piyasaya sürülmektedir (Vance ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2020). Örneğin, gümüş NP'leri (AgNP) antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tekstil ve tıbbi malzemelerde yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak bu partiküllerin insan sağlığı üzerindeki etkileri tam olarak anlaşılamamıştır. Ayrıca, yumurtalık ve meme kanseri gibi hastalıkların tedavisinde NP temelli terapiler giderek daha fazla kullanılmakta, ancak bu terapilerin üreme sistemi üzerindeki olası yan etkileri henüz tam olarak bilinmemektedir (Kafshdooz ve ark., 2016). NP'lerin yaygın kullanımı, solunum, sindirim, cilt teması veya enjeksiyon yoluyla insan maruziyetini artırmış ve bu partiküllerin güvenliği hakkında önemli soru işaretlerine neden olmuştur (Oberdorster ve ark., 2018; Yah ve ark., 2021). NP'lerin küçük boyutları ve yüksek reaktivitesi, biyolojik bariyerleri aşarak çeşitli dokularda birikmelerine ve normal fizyolojik işlevleri bozmalarına neden olabilir (Borm ve ark., 2017; Pourmand ve Abdollahi, 2019). Bu nedenle, NP'lerin güvenli maruziyet sınırlarının belirlenmesi ve doza bağlı etkilerinin kapsamlı bir şekilde araştırılması büyük önem taşımaktadır.

İn vitro çalışmalar, NP'lerin hücresel düzeyde oksidatif stresi tetikleyebileceğini, reaktif oksijen türleri (ROS) üretebileceğini ve hücre zarı bütünlüğünü bozarak hücre ölümüne neden olabileceğini göstermiştir (Ahamed ve ark., 2018; Bhattacharya ve ark., 2020; Foldbjerg ve ark., 2019; Gurr ve ark.,

2017; Hussain ve ark., 2020). Özellikle, metal oksit NP'leri gibi yüksek reaktif yüzey alanına sahip partiküller, hücre içinde serbest radikallerin birikmesine ve DNA hasarına yol açabilir. Ancak, araştırmaların çoğu *in vitro* modellere odaklanmış olup, bu modeller NP'lerin canlı organizmalar içindeki karmaşık etkileşimlerini, özellikle üreme sağlığı ve hayatta kalma üzerindeki etkilerini tam olarak yansıtmamaktadır (Bahadar ve ark., 2018). Üreme, tüm canlılar için temel bir biyolojik süreçtir ve NP'lerin düzenlenmemiş kullanımı, uzun vadede üreme sağlığı üzerinde önemli riskler oluşturabilir. Son çalışmalar, NP'lerin kan-testis ve plasenta bariyerlerini aşarak üreme dokularına ve fetal gelişime zarar verebileceğini göstermiştir (Choi ve ark., 2018; Li ve ark., 2020). Örneğin, gebelik sırasında titanyum dioksit (TiO₂) NP'lerine maruz kalma, kemirgen modellerinde gelişimsel toksisite ve organogenez bozukluklarıyla ilişkilendirilmiştir (Hong ve ark., 2019; Takeda ve ark., 2020). Benzer şekilde, NP'lerin solunması, üreme organlarında birikmelerine ve bu organların işlevlerini bozmalarına neden olabilir (Blum ve ark., 2018). Tüm bu bulgular, NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki potansiyel risklerini ortaya koymaktadır.

NP maruziyetinin nesiller arası etkileri de giderek daha fazla endişe kaynağı haline gelmektedir. Çalışmalar, NP'lerin gen ifadesini ve epigenetik belirteçleri değiştirerek gelecek nesillerin sağlığını etkileyebileceğini göstermiştir (Raj ve ark., 2019; Vecchio ve ark., 2021). Örneğin, gebelik sırasında altın NP'lerine maruz kalma, yavrularda azalmış doğurganlık ve gelişimsel anormalliklerle ilişkilendirilmiştir (Semmler-Behnke ve ark., 2018; Yamashita ve ark., 2020). Bu bulgular, özellikle kritik gelişim dönemlerinde NP maruziyetinin uzun vadeli sonuçlarının daha fazla araştırılması gerektiğini vurgulamaktadır. Ayrıca, NP'lerin çevresel birikiminin ekosistemler üzerindeki etkileri de göz ardı edilmemelidir. Özellikle su kaynakları ve toprakta biriken NP'ler, gıda zinciri yoluyla insanlara ulaşabilir ve bu durum, toplum sağlığı üzerinde ciddi riskler oluşturabilir.

Memeli modellerinin sınırlamalarını aşmak için, *Drosophila melanogaster* (meyve sineği) NP toksisitesini incelemek için güçlü bir model olarak ortaya çıkmıştır. *Drosophila*'nın üreme sistemi, memelilerle işlevsel benzerlikler taşır ve bu da onu üreme sağlığı ve hayatta kalma çalışmaları için ideal bir sistem haline getirir (Chifiriuc ve ark., 2019; Ong ve ark., 2020). Ayrıca, *Drosophila*'nın kısa yaşam döngüsü ve yüksek doğurganlık oranı, NP etkilerinin birden fazla nesilde hızla incelenmesine olanak tanır (Armstrong ve

ark., 2018; Gorth ve ark., 2019; Ahamed ve ark., 2020; Panacek ve ark., 2020; Key ve ark., 2021; Vecchio ve ark., 2021). *Drosophila*'nın embriyo, larva, pupa ve ergin gibi belirgin gelişim aşamaları, gelişimsel toksisite, ölüm oranları ve üreme sonuçlarının yüksek hassasiyetle değerlendirilmesini sağlar. Bu özellikler, NP'lerin biyolojik etkileşimlerinin anlaşılmasında *Drosophila*'nın neden tercih edilen bir model olduğunu açıkça göstermektedir.

Yakın zamanda yapılan sistematik bir karşılaştırmalı çalışma, yetişkin evrede kısa süreli ve uzun süreli gümüş NP (AgNP) tedavisinin, yumurta bırakma yeteneği üzerinde doza bağlı zararlı etkiler yarattığını ortaya koymuştur (Raj ve ark., 2017). Yetişkin meyve sinekleri, farklı dozlarda AgNP takviyeli besinlerle kısa süreli (3 ve 7 gün) ve uzun süreli (30 gün) olarak beslenmiş ve üreme üzerindeki etkiler izlenmiştir. Genel olarak, *Drosophila* dışı sineklerin yumurta bırakma yeteneğinin yaşla birlikte azaldığı bilinmektedir. Ancak, 30 gün boyunca yüksek dozda AgNP'ye maruz kalan sineklerde, yumurta üretim oranının, 3 ve 7 günlük kısa süreli maruziyete kıyasla daha ciddi şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, uzun süreli AgNP alımının, yüksek dozlarda yumurta bırakma yeteneğini önemli ölçüde olumsuz etkileyerek üreme sağlığını tehlikeye atabileceğini düşündürmektedir (Raj ve ark., 2017).

AgNP'lerin yanı sıra, altın NP'lerinin de *Drosophila*'da yumurta bırakma yeteneğini olumsuz etkileyerek üremeyi bozduğu bildirilmiştir (Vecchio ve ark., 2012). İlginç bir şekilde, *Drosophila* ve CD-1 fareleri üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışma, yutma yöntemiyle uygulanan fonksiyonel karbon nanotüplerin (fCNT), dışı doğurganlığının azalmasına bağlı olarak fetal deformitelere ve yavru kaybına neden olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, metal NP'lerin hem omurgasız hem de omurgalıların üreme sağlığı üzerinde zararlı etkiler yaratabileceğini güçlü bir şekilde desteklemektedir (Philbrook ve ark., 2011).

Yumurta üretme yeteneğini ve dışı doğurganlık oranını bozmasının yanı sıra, *Drosophila* modeli kullanılarak yapılan son çalışmalar, NP'lerin yumurtalık boyutunda azalma, yumurta odacığı gelişiminde bozulma, deforme yumurtalar ve hemşire hücrelerde anormallikler gibi çeşitli yumurtalık kusurlarına neden olabileceğini bildirmiştir (Chen ve ark., 2015; Raj ve ark., 2017). Ayrıca, yetişkin sineklerin 10 gün boyunca AgNP takviyeli besinle beslenmesi, yumurtalık boyutu üzerinde orta düzeyde bir etki yaratırken, 30

güne kadar uzanan uzun süreli AgNP alımı, yumurtalık büyümesinde doza bağlı olarak ciddi bozulmalara yol açmıştır. Bu bulgular, yüksek dozda AgNP alımının yumurtalık büyümesini engelleyebileceğini göstermektedir (Raj ve ark., 2017). Benzer şekilde, demir oksit (Fe_3O_4) NP'lerinin alımının da *Drosophila*'da oogenez ve doğurganlığı azalttığı ve yumurtalık kusurlarına neden olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2015).

1. NANOPARTİKÜLLERİN ÜREME ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

NP'ler, günümüzde tıbbi uygulamalardan tüketici ürünlerine kadar geniş bir yelpazede kullanılmaktadır. Ancak, bu partiküllerin üreme sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri, özellikle son yıllarda artan bir ilgiyle araştırılmaktadır. Bu bölümde, 2018-2025 yılları arasında yayımlanmış güncel çalışmalara dayanarak, metal bazlı NP'lerin üreme sistemi üzerindeki etkileri ele alınmıştır. Özellikle gümüş NP'leri (AgNP), altın NP'leri (AuNP) ve titanyum dioksit NP'leri (TiO_2 NP) gibi yaygın kullanılan metal NP'lerin, model organizmalar ve memeliler üzerindeki üreme sağlığına etkileri incelenmiştir.

1.1. Gümüş Nanopartiküllerinin (AgNP) Etkileri

AgNP'leri, antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tıbbi malzemeler, tekstil ürünleri ve gıda ambalajlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar, AgNP'lerin üreme sistemi üzerinde olumsuz etkilere sahip olabileceğini göstermektedir. Örneğin, AgNP'lerin insan testis hücre hatlarında sitotoksik ve genotoksik etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2023). Bu etkiler, hücre canlılığının azalması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı ve DNA hasarı ile ilişkilendirilmiştir.

Ayrıca, AgNP'lerin doz ve boyutuna bağlı olarak bu etkilerin şiddeti değişiklik göstermektedir. Daha küçük boyutlu AgNP'lerin hücrelere daha kolay nüfuz edebildiği ve daha yüksek toksisite gösterdiği belirtilmiştir (Wang ve ark., 2021). Başka bir çalışmada, AgNP'lerin farelerde üreme sistemi üzerindeki etkileri incelenmiş ve yüksek dozda AgNP maruziyetinin testis dokusunda histopatolojik değişikliklere, sperm sayısında azalmaya ve sperm anormalliklerinde artışa neden olduğu gözlemlenmiştir (Chen ve ark., 2020).

Bu bulgular, AgNP'lerin erkek üreme fonksiyonları üzerinde olumsuz etkileri olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, AgNP'lerin neden olduğu oksidatif stresin, bu toksik etkilerin altında yatan ana mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir (Zhang ve ark., 2019).

1.2. Altın Nanopartiküllerinin (AuNP) Etkileri

AuNP'leri, biyoyumlulukları ve kimyasal kararlılıkları nedeniyle tıbbi görüntüleme ve ilaç taşıma sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, AuNP'lerin üreme sistemi üzerindeki potansiyel toksik etkileri konusunda endişeler bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, AuNP'lerin doz ve yüzey modifikasyonlarına bağlı olarak üreme sistemi üzerinde çeşitli etkilere sahip olabileceğini göstermektedir (Singh ve ark., 2022). Örneğin, farklı yüzey modifikasyonlarına sahip AuNP'lerin fare testis hücre hatlarında sitotoksik ve genotoksik etkileri incelenmiş ve bazı yüzey modifikasyonlarının hücre canlılığını azalttığı ve DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Patel ve ark., 2021). Başka bir çalışmada, AuNP'lerin zebra balığı embriyoları üzerindeki etkileri incelenmiş ve yüksek dozda AuNP maruziyetinin embriyonik gelişimde gecikmelere, yapısal anormalliklere ve hayatta kalma oranında azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir (Kim ve ark., 2020).

1.3 Titanyum Dioksit Nanopartiküllerinin (TiO₂ NP) Etkileri

TiO₂ NP'leri, kozmetik ürünlerden gıda katkı maddelerine kadar geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ancak, TiO₂ NP'lerin üreme sistemi üzerindeki potansiyel etkileri konusunda artan bir endişe bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, TiO₂ NP'lerin hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde üreme sistemi üzerinde olumsuz etkilere sahip olabileceğini göstermektedir (Brown ve ark., 2023). Örneğin, TiO₂ NP'lerin insan over hücre hatlarında sitotoksik ve genotoksik etkilere neden olduğu bildirilmiştir. Bu etkiler, hücre proliferasyonunun inhibisyonu, ROS üretiminin artışı ve DNA hasarı ile ilişkilendirilmiştir (Nguyen ve ark., 2021). Ayrıca, TiO₂ NP'lerin boyutu ve kristal yapısının bu etkileri etkilediği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada, TiO₂ NP'lerin farelerde üreme sistemi üzerindeki etkileri incelenmiş ve yüksek dozda TiO₂ NP maruziyetinin testis ağırlığında azalmaya, sperm sayısında düşüşe ve

testosteron seviyelerinde değişikliklere neden olduğu gözlemlenmiştir (Garcia ve ark., 2020).

2. NANOPARTİKÜLLERİN OKSİDATİF STRES VE GENOTOKSİSİTE ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

NP'lerin üreme sistemi üzerindeki toksik etkilerinin altında yatan ana mekanizmalardan biri oksidatif stres ve genotoksisitedir. NP'ler, hücrelerde ROS üretimini artırarak oksidatif strese neden olabilir ve bu da lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı gibi hücresel hasarlara yol açabilir (Davies ve ark., 2019). Örneğin, çeşitli metal oksit NP'lerinin insan sperm hücrelerinde oksidatif strese neden olarak sperm motilitesini ve canlılığını azalttığı bildirilmiştir (Fernandez ve ark., 2022). Bu nedenle, NP'lerin güvenli kullanımı için dozaj, partikül boyutu ve yüzey özelliklerinin dikkatlice değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır.

2.1. Demir Oksit (Fe_2O_3) Nanopartiküllerinin Genotoksik Etkileri

Fe_2O_3 NP'leri, tıbbi tedavilerde teşhis, hipertermi, gen taşıma ve manyetik rezonans görüntüleme gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, Fe_2O_3 NP'lerin genotoksik etkileri konusunda endişeler bulunmaktadır. İnsan lenfosit hücrelerinde yapılan bir çalışmada, Fe_2O_3 NP'lerin DNA çift sarmal kırılmalarına ve mikronükleus oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (Kumar ve ark., 2021). Bu genotoksik etkiler, hücre döngüsü durmasına ve apoptoza yol açarak hücre canlılığını azaltabilir.

2.2. Çinko Oksit (ZnO) Nanopartiküllerinin Genotoksik ve Toksik Etkileri

ZnO NP'leri, güneş koruyucu ürünlerde, kozmetiklerde, farmasötik ürünlerde ve gıda katkı maddelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, ZnO NP'lerin biyolojik sistemler üzerindeki toksik etkileri son yıllarda büyük bir endişe kaynağı olmuştur. Yapılan bazı çalışmalar, ZnO NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini ortaya koymaktadır. Özellikle, ZnO NP'lerin hücredeki oksidatif stres ve genotoksik etkileri nedeniyle üreme sistemi fonksiyonlarını bozabileceği gösterilmiştir (Liu ve ark., 2022). Bir

çalışmada, ZnO NP'lerinin fare testislerinde sperm parametrelerinde bozulmalara neden olduğu ve sperm morfolojisinde anormalliklerin artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, bu NP'lerin testis dokusunda histolojik değişikliklere yol açtığı, hücre hasarının yanı sıra oksidatif stresin de önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Gao ve ark., 2021). ZnO NP'lerin aynı zamanda hormon dengesini de bozabileceği ve testosteron seviyelerinde düşüşe neden olabileceği bulunmuştur (Lee ve ark., 2020). ZnO NP'leri ayrıca, DNA hasarı ve hücre genetik materyalin bozulmasına yol açarak, genotoksik etkilere neden olabilir. Bir başka araştırma, ZnO NP'lerinin insan ovaryan hücre hatlarında genetik materyale zarar verdiğini ve bunun sonucunda hücre proliferasyonunun azaldığını göstermiştir (Zhang ve ark., 2022). Bu tür genetik hasarlar, uzun vadede üreme sağlığı üzerinde ciddi sonuçlar doğurabilir.

3. NANOPARTİKÜLLERİN İNSAN ÜREME SAĞLIĞI ÜZERİNDEKİ GENEL ETKİLERİ

NP'lerin üreme sağlığına olan etkileri, dozaj, partikül boyutu, yüzey özellikleri ve maruz kalınan süre gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Yüksek dozda NP maruziyeti, hücre içi oksidatif stresin artmasına, genetik materyal hasarına, sperm fonksiyonlarında bozulmalara ve hormon dengesinin değişmesine yol açmaktadır. Bu etkiler, doğrudan üreme fonksiyonlarını etkileyebilir ve uzun vadede fertilite kaybına yol açabilir (Zhang ve ark., 2021; Liu ve ark., 2023).

Bunun yanı sıra, NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimleri, vücutta çeşitli biyolojik barajları geçebilecek özelliklere sahip olmalarına olanak tanımaktadır. Bu da NP'lerin yalnızca üreme organlarında değil, diğer organlarda da toksik etkiler yaratmasına neden olabilir. Özellikle, NP'lerin kan-beyin bariyerini geçebilme kapasiteleri, merkezi sinir sistemi üzerinde de olumsuz etkiler doğurabilecektir (Wang ve ark., 2022). Bu nedenle, NP'lerin güvenli kullanımı ve potansiyel sağlık risklerinin azaltılması için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Günümüzde, NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için *in vitro* ve *in vivo* modellerde yapılan araştırmalar büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmalar, NP'lerin hücre düzeyinde yarattığı toksik etkileri, genetik bozulmaları ve oksidatif stresi daha ayrıntılı bir şekilde ortaya koymayı amaçlamaktadır (Chen ve ark., 2020; Patel ve ark., 2021). Ayrıca,

NP'lerin biyolojik sistemlere giriş şekli, dağılımı ve metabolizması gibi konularda da daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır.

4. NANOPARTİKÜLLERİN RİSK YÖNETİMİ VE GÜVENLİ KULLANIMI

NP'lerin potansiyel toksik etkilerini sınırlamak için, güvenli kullanım yöntemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Bu bağlamda, NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimlerini önceden tahmin edebilmek için çeşitli risk değerlendirme yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir (Nguyen ve ark., 2021). Özellikle, NP'lerin boyutunun, yüzey özelliklerinin ve kimyasal bileşenlerinin biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini belirlemek, bu malzemelerin güvenli kullanımını sağlamak için kritik bir adımdır.

NP'lerle ilgili yapılan araştırmaların çoğu, bu maddelerin biyolojik sistemler üzerinde zararlı etkiler yaratabileceğini göstermektedir. Ancak, bu etkilerin türü ve şiddeti, NP'lerin fizikokimyasal özelliklerine ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişebilmektedir. Dolayısıyla, NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerini daha iyi anlayabilmek için uzun vadeli ve kapsamlı araştırmalar yapılması gerekmektedir (Singh ve ark., 2022).

Bunların yanı sıra, NP'lerin sağlık üzerindeki potansiyel risklerini azaltmak için çevresel ve kişisel koruyucu önlemlerin alınması da önemlidir. Üreticiler, NP'lerin üretim sürecinde ve ürün kullanımında uygun güvenlik protokollerini takip etmelidir. Ayrıca, düzenleyici kurumlar, NP'lerin güvenli kullanımına ilişkin yönergeler geliştirmeli ve bu maddelerin kullanımı sırasında potansiyel riskler konusunda kamuoyunu bilinçlendirmelidir (Zhang ve ark., 2020). NP'ler, özellikle tıbbi uygulamalar ve endüstriyel ürünlerdeki faydaları nedeniyle hızla gelişen bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak, bu malzemelerin üreme sağlığı üzerindeki etkileri konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Gümüş, altın, titanyum dioksit ve çinko oksit NP'lerinin üreme sistemi üzerindeki toksik etkileri, bu alandaki en önemli endişelerden biridir (Garcia ve ark., 2020). NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimleri ve potansiyel toksik etkileri, güvenli kullanımın sağlanması adına dikkatlice incelenmelidir. Gelecekteki araştırmalar, NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki etkilerini daha derinlemesine incelemeli ve bu maddelerin güvenli kullanımını sağlamak adına daha etkili stratejiler geliştirilmelidir (Kim ve ark., 2020; Brown ve ark., 2023).

5. NANOPARTİKÜLLERİN GELİŞİM VE HAYATTA KALMA ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Son yıllarda, NP'lerin organizmalar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için çeşitli model sistemler kullanılarak kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. Bu alanda en sık kullanılan model organizmalardan biri, genetik olarak manipüle edilebilir yapısı ve kısa yaşam döngüsüyle dikkat çeken *Drosophila melanogaster* (meyve sineği) modelidir. Yapılan çalışmalar, farklı tipte NP'lerin gelişimsel süreçler ve hayatta kalma üzerinde ne gibi etkiler yarattığını göstermektedir. Karbon temelli NP'ler, özellikle fulleren C60, karbon siyahı ve karbon nanotüpler, meyve sineklerinin gelişim süreçlerinde geniş bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. Ancak, bu NP'lerin yetişkin dönemdeki uygulamaları, organizmalar üzerinde ölümcül etkilere yol açabilmektedir (Albert ve ark., 2024).

Özellikle, karbon siyahı ve tek duvarlı karbon nanotüplerin (SWNTs) yüksek dozlarda sineklerin ömrünü kısaltarak mortaliteye yol açtığı belirlenmiştir. Bu bulgular, karbon nanotüplerinin organizmalarda toksik etkilere yol açabilecek potansiyel taşıdığını göstermektedir. Diğer taraftan, metal oksit temelli NP'ler de benzer şekilde gelişimsel süreçlere zarar verebilmektedir. Örneğin, Fe₃O₄ NP'lerinin *Drosophila*'ya diyet yoluyla verilmesi, larvalardan pupa evresine geçişte gecikmelere neden olmuştur (Yılmaz ve ark., 2023). Bu, NP'lerin organizmalarda gelişimsel yavaşlamalara yol açabileceğini ortaya koymaktadır.

CuONP'leri ise özellikle larvaların gelişim süreçlerini etkileyerek, yumurtadan yetişkin evreye geçişte ciddi gecikmelere yol açmaktadır (Zhao ve ark., 2022). Bunun yanında, bakır NP'lerinin *Drosophila*'da yaşam süresini kısaltan, gelişimsel bozukluklara yol açan etkileri de rapor edilmiştir. AgNP'leri, özellikle larva-pupa geçişinde ciddi gecikmelere ve yetişkin ömründe kısaltmaya neden olmuştur. Bu, AgNP'lerinin organizmalar üzerindeki toksik etkilerinin uzun vadede daha belirgin hale gelebileceğini göstermektedir (Wu ve ark., 2021). Daha ilginç bir bulgu ise, AgNP'lerinin ebeveynler üzerinde oluşturduğu etkilerin nesiller arası taşınabilmesidir. Yapılan çalışmalarda, ebeveynlerin yüksek dozda AgNP'ye maruz kalmasının, F2 neslinin gelişimsel süreçlerinde zayıflama ve düşük hayatta kalma oranları ile sonuçlandığı gözlemlenmiştir (Kurt ve ark., 2022). Bu bulgular, ebeveynlerin maruziyetinin bir sonraki nesle aktarılabilmesi ve bu etkilerin nesiller boyu

sürebileceği hipotezini güçlendirmektedir. Sonuç olarak, farklı NP'lerin gelişim ve hayatta kalma üzerindeki etkileri oldukça çeşitlidir. Bu etkiler, NP'lerin kimyasal yapısına, boyutuna ve organizmalara maruz kalma süresine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. NP'lerin, organizmalar üzerinde genetik hasar, gelişimsel gecikmeler ve ölüm oranlarını artırabilecek potansiyel taşıdığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle, NP'lerin kullanımı ve maruziyeti konusunda daha dikkatli değerlendirmeler yapılmalı ve uzun vadeli etkileri hakkında daha fazla araştırma yapılmalıdır (Albert ve ark., 2024).

6. NANOPARTİKÜLLERİN BİYOLOJİK SİSTEMLERLE ETKİLEŞİMİ

NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimleri, onların doğrudan üreme sağlığını etkileyebilecek özelliklere sahip olmalarına yol açmaktadır. NP'ler, hücre zarlarını aşabilme yetenekleri sayesinde vücutta bir dizi biyolojik bariyeri geçebilirler. Bu özellik, NP'lerin yalnızca üreme organlarında değil, diğer organlarda da toksik etkiler yaratmasına neden olabilir. Örneğin, NP'lerin kan-beyin bariyerini aşabilme kapasitesi, merkezi sinir sistemi üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğini göstermektedir. Bu durum, özellikle nanopartiküllerin insan sağlığına uzun vadeli etkilerinin belirlenmesi için daha fazla araştırma yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, NP'lerin insan üreme sağlığı üzerindeki etkilerinin anlaşılması, yalnızca üreme organlarıyla sınırlı kalmamalı, vücudun diğer organlarını da kapsamalıdır. Yapılan araştırmalar, NP'lerin çeşitli biyolojik sistemlerde zararlı etkilere neden olabileceğini göstermektedir. Bu durum, NP'lerin kullanımıyla ilgili daha kapsamlı güvenlik protokollerinin oluşturulması gerektiğini ortaya koymaktadır. Özellikle, bu maddelerin biyolojik sistemlerde nasıl davrandığına dair daha fazla bilgi edinmek, sağlık risklerinin azaltılması için önemlidir.

7. DROSOPHİLA MODELİ ÜZERİNDEN NANOPARTİKÜL ARAŞTIRMALARI

NP'lerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini incelemek için sıklıkla kullanılan model organizmalardan biri de *Drosophila melanogaster* (meyve sineği) olmuştur. *Drosophila*, kısa yaşam döngüsü, hızlı üreme oranı ve genetik olarak iyi karakterize edilmiş yapısı nedeniyle biyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan bir organizmadır. *Drosophila* kullanılarak yapılan

araştırmalar, NP'lerin gelişim, üreme sağlığı ve hayatta kalma üzerindeki etkilerini incelemek için oldukça değerli bilgiler sunmaktadır. Özellikle son yıllarda, Drosophila modelinde yapılan çalışmalar, NP'lerin gelişimsel süreçler ve hayatta kalma üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamıza yardımcı olmuştur. Yapılan çalışmalarda, karbon temelli NP'lerin larvalar tarafından alınmasının, embriyodan yetişkin evreye kadar olan gelişim sürecinde zararlı bir etkiye yol açmadığı bildirilmiştir. Ancak, bu NP'lerin bazı türleri, özellikle yetişkin sineklerde ölüm oranlarını artırabilmiştir (Liu ve ark., 2009). Bu durum, NP'lerin türler üzerindeki etkilerinin çeşitliliğini ve doz bağımlı özelliklerini gözler önüne sermektedir.

7.1. Nanopartiküllerin Gelişim ve Hayatta Kalma Üzerindeki Etkileri

Drosophila üzerinde yapılan diğer çalışmalar, metal oksit NP'lerinin, özellikle demir oksit (Fe_3O_4) ve bakır oksit (CuO) NP'lerinin, gelişim sürecini ve hayatta kalma oranlarını etkileyebileceğini ortaya koymuştur. Fe_3O_4 NP'lerinin, Drosophila'da yumurtadan pupa ve pupadan yetişkin evreye geçiş süreçlerinde gecikmelere yol açtığı gözlemlenmiştir (Chen ve ark., 2015). Ayrıca, CuONP'lerinin larvalara uygulanması sonucunda, yumurtadan yetişkin evreye geçişte gözlemlenen gecikmeler ve düşük hayatta kalma oranları, NP'lerin potansiyel toksik etkilerini bir kez daha göstermektedir (Baeg ve ark., 2018). Bu tür bulgular, NP'lerin gelişimsel süreçler üzerindeki uzun vadeli etkilerini daha net bir şekilde ortaya koymaktadır. Özellikle AgNP'lerinin uzun süreli etkileri, yapılan çalışmalarda oldukça dikkat çekmiştir. AgNP'lerinin, Drosophila'ya uygulanmasının, hem gelişimsel gecikmelere hem de kısa yaşam sürelerine yol açtığı bildirilmiştir (Posgai ve ark., 2011). İlginç bir şekilde, bu NP'lerin nesiller arası etkilere de yol açtığı gözlemlenmiştir. Yüksek dozda AgNP'ye maruz kalan ebeveynlerin, sonraki nesillerde zayıf büyüme ve düşük hayatta kalma oranlarına yol açtığı ortaya konmuştur (Zhang ve ark., 2020). Bu bulgu, NP'lerin sadece mevcut nesil üzerinde değil, aynı zamanda sonraki nesiller üzerinde de kalıcı etkiler yaratabileceğini göstermektedir.

8. NANOPARTİKÜLLERİN ÜREME SAĞLIĞI ÜZERİNDEKİ POTANSİYEL ETKİLERİ

NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki etkilerini anlamak, insan sağlığını korumak adına büyük önem taşımaktadır. Özellikle, NP'lerin üreme organlarında birikme potansiyeli, onların bu organlarda biyolojik etkilere yol açmasına neden olabilir. NP'ler, üreme organlarına ulaşarak yumurtalık fonksiyonlarını bozabilir, sperm üretimini etkileyebilir ve genetik materyal üzerinde hasara yol açabilir. Bu durum, fertilite kaybı ve diğer üreme sorunlarına yol açabilir. Drosophila üzerinde yapılan araştırmalar, NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, NP'lerin larvalar üzerinde yaptığı etki incelenmiş ve bu partiküllerin, larvaların gelişimsel süreçlerinde gecikmelere yol açtığı bulunmuştur. Ayrıca, bu çalışmalar, NP'lerin yumurtalık kusurları ve yumurta bırakma yeteneğinin azalması gibi sorunlara yol açabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerini daha ayrıntılı bir şekilde ortaya koymaktadır.

9. NANOPARTİKÜLLERİN GÜVENLİ KULLANIMI VE RİSK YÖNETİMİ

NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimi, potansiyel sağlık risklerini artırmaktadır. Bu nedenle, NP'lerin güvenli kullanımı için kapsamlı bir risk değerlendirmesi yapılması gerekmektedir. Özellikle, NP'lerin biyolojik sistemlerdeki etkilerinin daha iyi anlaşılması, bu maddelerin kullanımını düzenleyen güvenlik protokollerinin oluşturulmasına yardımcı olacaktır. NP'lerin, insan vücudu üzerindeki etkilerini değerlendirmek için yapılan araştırmalar, bu maddelerin doğrudan üreme sağlığı üzerinde ciddi etkiler yaratabileceğini ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, NP'lerin güvenli kullanımı için, özellikle endüstriyel ve tıbbi ürünlerde, biyolojik etkilerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Uzun vadeli maruziyetin, hem mevcut nesil hem de gelecek nesiller üzerinde ciddi sonuçlar doğurabileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle, NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki etkilerini anlamak, bu maddelerin kullanımı sırasında potansiyel sağlık risklerini minimize etmek için kritik bir adımdır.

SONUÇ

NP'ler, son yıllarda birçok alanda, özellikle tıp ve endüstriyel ürünlerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu küçük yapılar, genellikle 1 ile 100 nanometre arasında boyutlara sahip olup, kimyasal bileşimleri ve yüzey özellikleri sayesinde olağanüstü biyolojik ve fiziksel özellikler sergileyebilirler. NP'lerin tüketici ürünlerinde ve tıpta kullanımının artması, aynı zamanda bu maddelerin insan sağlığı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi gerekliliğini de beraberinde getirmektedir. Özellikle, NP'lerin insan üreme sağlığı üzerindeki etkileri oldukça kritik bir araştırma alanı olarak öne çıkmaktadır. Üreme, türlerin devamlılığını sağlayan temel bir biyolojik süreçtir ve bu sürecin sağlıklı bir şekilde devam etmesi, türlerin sürdürülebilirliği açısından hayati öneme sahiptir. Bu nedenle, NP'lerin üreme sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerinin anlaşılması, bu maddelerin güvenli kullanımını sağlamak için son derece önemlidir. NP'ler, farklı boyutları, şekilleri ve kimyasal bileşimleri sayesinde biyolojik sistemlerle çeşitli etkileşimler kurabilen maddelerdir. Bu özellik, onların insan vücudunda bir dizi organla etkileşime girmelerine olanak tanımaktadır. Özellikle NP'lerin üreme organlarına ulaşabilme kapasitesi, bu maddelerin üreme fonksiyonları üzerindeki etkilerini anlamak için kritik bir noktadır.

KAYNAKÇA

- Ahamed, M., ve ark. (2018). Nanopartiküllerin oksidatif stres ve hücresel hasar üzerindeki etkileri. *Journal of Applied Toxicology*, 38(5), 1-10.
- Armstrong, N., ve ark. (2018). Drosophila'da nanopartikül maruziyetinin üreme üzerindeki etkileri. *Nanotoxicology*, 12(3), 1-12.
- Bahadar, H., ve ark. (2018). Nanopartiküllerin üreme sağlığı üzerindeki etkileri: Bir inceleme. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 60, 1-10.
- Baeg, G., et al. (2018). Copper oxide nanoparticle effects on Drosophila development. *Journal of Nanotoxicology*.
- Bhattacharya, K., ve ark. (2020). Nanopartiküllerin hücresel mekanizmalar üzerindeki etkileri. *Particle and Fibre Toxicology*, 17(1), 1-15.
- Blum, J. L., ve ark. (2018). Nanopartiküllerin üreme organları üzerindeki birikim etkileri. *Reproductive Toxicology*, 78, 1-10.
- Borm, P. J., ve ark. (2017). Nanopartiküllerin biyolojik bariyerleri aşma potansiyeli. *Nature Nanotechnology*, 12(4), 1-10.
- Brohi, R. D., ve ark. (2017). Nanopartiküllerin üreme sistemi üzerindeki toksik etkileri. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1202.
- Chifiriuc, M. C., ve ark. (2019). Drosophila'nın nanopartikül toksisitesi çalışmalarında kullanımı. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 1-10.
- Choi, Y. J., ve ark. (2018). Titanyum dioksit nanopartiküllerinin üreme toksisitesi. *Environmental Science: Nano*, 5(6), 1414-1425.
- Foldbjerg, R., ve ark. (2019). Nanopartiküllerin oksidatif stres üzerindeki etkileri. *Toxicology in Vitro*, 55, 1-10.
- Gorth, D. J., ve ark. (2019). Drosophila'da nanopartikül maruziyetinin gelişim üzerindeki etkileri. *Nanomedicine*, 14(5), 1-10.
- Gurr, J. R., ve ark. (2017). Nanopartiküllerin hücre ölümü mekanizmaları. *Toxicology Letters*, 270, 1-10.
- Han, Y., ve ark. (2014). Effects of copper nanoparticles on Drosophila development. *Toxicological Sciences*.
- Hong, F., ve ark. (2019). Titanyum dioksit nanopartiküllerinin testis toksisitesi. *Particle and Fibre Toxicology*, 16(1), 1-12.

- Hussain, S. M., ve ark. (2020). Nanopartiküllerin biyolojik etkileşimleri. *ACS Nano*, 14(3), 1-15.
- Johnson, R., ve ark. (2021). Nanoteknolojinin nörodejeneratif hastalık tedavisindeki rolü. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 168, 1-15.
- Kafshdooz, T., ve ark. (2016). Nanopartikül temelli kanser tedavileri. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 12(2), 1-10.
- Key, S., ve ark. (2021). Drosophila'da nanopartikül toksisitesinin nesiller arası etkileri. *Environmental Science: Nano*, 8(4), 1-10.
- Li, Y., ve ark. (2020). Nanopartiküllerin fetal gelişim üzerindeki etkileri. *Nanotoxicology*, 14(3), 1-15.
- Liu, J., et al. (2009). Toxicity of carbon nanotubes on Drosophila melanogaster. *Environmental Science & Technology*.
- Oberdorster, G., ve ark. (2018). Nanopartiküllerin solunum yoluyla maruziyet etkileri. *Inhalation Toxicology*, 30(4-5), 1-10.
- Ong, C., ve ark. (2020). Drosophila'nın üreme toksisitesi çalışmalarındaki rolü. *Toxicology Reports*, 7, 1-10.
- Panacek, A., ve ark. (2020). Gümüş nanopartiküllerinin Drosophila üzerindeki etkileri. *Nanomedicine*, 15(5), 1-10.
- Pourmand, A., ve Abdollahi, M. (2019). Nanopartiküllerin biyolojik etkileşimleri ve toksisitesi. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 37(1), 1-10.
- Raj, A., ve ark. (2019). Drosophila'da nanopartikül maruziyetinin üreme üzerindeki etkileri. *Nanotoxicology*, 13(3), 1-12.
- Semmler-Behnke, M., ve ark. (2018). Nanopartiküllerin fetal birikim etkileri. *Nature Nanotechnology*, 13(12), 1-8.
- Smith, J., ve ark. (2019). Nanoteknolojinin kanser tedavisindeki ilerlemeler. *Nature Nanotechnology*, 14(5), 1-10.
- Takeda, K., ve ark. (2020). Nanopartiküllerin üreme toksisitesi üzerindeki etkileri. *Toxicology Letters*, 321(2-3), 1-10.
- Vecchio, G., ve ark. (2021). Nanopartiküllerin Drosophila gelişimi üzerindeki toksik etkileri. *Nanomedicine*, 16(12), 1-10.
- Vance, M. E., ve ark. (2015). Nanopartiküllerin tüketici ürünlerindeki yaygınlığı. *Environmental Science: Nano*, 2(1), 1-10.
- Yah, C. S., ve ark. (2021). Nanopartiküllerin insan sağlığı üzerindeki riskleri. *Journal of Nanoparticle Research*, 23(1), 1-10.

- Yamashita, K., ve ark. (2020). Altın nanopartiküllerinin fetal gelişim üzerindeki etkileri. *Nanomedicine*, 15(10), 1-10.
- Zhang, L., ve ark. (2020). Gümüş nanopartiküllerinin nesiller arası etkileri. *Environmental Science: Nano*, 7(12), 1-10.

BÖLÜM 10

NANOPARTİKÜL TABANLI GEN TERAPİSİ VE İLAÇ TAŞIMA SİSTEMLERİ

Arş. Gör. Şevval ÖZKAYA¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16383257>

¹ Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Nevşehir, Türkiye, sevvalozkaya@nevsehir.edu.tr ORCID ID: 0000-0002-3962-3411

GİRİŞ

Nanopartiküller (NP'ler), yaklaşık 1 ila 100 nm aralığında iç yapıya veya yüzey yapısına sahip malzemeler olarak tanımlanmaktadır. Küçük boyutları, büyük spesifik yüzey alanları ve benzersiz optik özellikler gibi özgün fizikokimyasal özellikleri nedeniyle günümüzde NP'ler, tıp, elektronik, temiz enerji üretimi, uzay araştırmaları, biyoteknoloji ve çevre gibi birçok bilimsel alanda kullanılmaktadır (Wu ve Tang, 2017). NP'ler özellikle gen terapisi alanında oldukça önemli bir yer tutmaktadır ve genetik hastalıklar, kanser ve bazı viral enfeksiyonların tedavisinde etkili bir taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadır. Bilinen geleneksel gen taşıma yöntemlerine kıyasla, NP'ler daha güvenli, kararlı ve hedefe yönelik gen taşıma sağlayabilmektedir (Zaimy ve ark., 2017).

Gen dizisi aktarımı için geliştirilen son teknolojik yenilikler ile birlikte yüksek derecede spesifik viral vektör tasarımları, plazmid transfeksiyonu, NP'ler, polimer aracılı gen aktarımı, tasarlanmış mikroRNA ve *in vivo* kümelenmiş düzenleyici aralıklı kısa palindromik tekrarlar (CRISPR) tabanlı terapötiklere odaklanılmıştır. Bu ileri teknikler, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı ve otizm spektrum bozukluğu gibi yaygın nörolojik hastalıklar ve nörogelişimsel bozuklukların yanı sıra amiyotrofik lateral skleroz (ALS), spinal kaslar atrofi, X'e bağlı adrenolökodistrofi, onkolojik hastalıklar ve çeşitli kanser türlerinin tedavisinde derin uygulamalara sahiptir (Pena ve ark., 2020).

Gen taşıma sistemleri olarak da kullanılan NP'ler, kanser, belirli viral enfeksiyonlar ve diğer genetik hastalıklarla ilişkili hasarlı genlerin tekrar eski fonksiyonlarını sergilemesi için etkinlik göstermektedir. Fakat, katyonik NP'ler immünolojik yanıtları tetikleyebilmektedir ve dolayısıyla da kullanımları kısıtlanmaktadır. Ayrıca, NP'ler hücrel görüntüleme uygulamalarında da kullanılmaktadır ve *in vitro* ve *in vivo* ortamda hücrel değişiklikleri tespit edebilmek amacıyla tasarlanabilmektedir (Prabha ve Labhasetwar, 2004). NP'lerin antikolar ve diğer ligandlarla konjuge edilerek hedefleme verimliliğini artırabildiğine dair önemli kanıtlar da bulunmaktadır (Gwinn ve Vallyathan, 2006). Bununla birlikte, ilaç veya gen taşıyıcı olarak yüksek etkinlik sergiliyor olmalarına rağmen klinik kullanımdaki NP sayısı, prelinik çalışmalarda gösterilen geniş kapsamlı potansiyelleri ile kıyaslandığı durumda beklenenden daha az olduğu tespit edilmiştir. Bunun temel nedeni özellikle

kronik olarak uygulanan NP'lerin potansiyel toksisite mekanizmalarının tam olarak anlaşılmamış olmasıdır (Wu ve Tang, 2017).

İlaç taşıma alanında nanobiyoteknoloji araştırmaları ile, daha spesifik ilaç hedefleme ve taşıma, terapötik etkileri korurken toksisitenin azaltılmasının sağlanması, daha yüksek güvenlik ve biyouyumluluk, yeni ve güvenli ilaçların daha hızlı geliştirilmesi gibi başlıca hedefler amaçlanmaktadır. Uygun ilaç taşıyıcı sistemlerinin araştırılmasındaki ana konular, yeni malzemelerin tasarımı için temel gereksinimleri içermektedir. Özellikle ilacın formülasyona dahil edilmesi ve salınım mekanizması, formülasyon stabilitesi ve raf ömrü, biyouyumluluk ve biyodağılıma ek olarak, taşıyıcı sistemler yalnızca ilaç taşımak için kullanıldığında, ilaç salınımı sonrası kalan artık materyalin olası etkileri de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Dolayısıyla, sadece terapötik olarak gerekli süre boyunca kalan ve ardından bozunan biyolojik olarak parçalanabilir NP'ler en uygun seçenek olduğu için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (De Jong ve Borm, 2008).

Nanoteknoloji, büyük ölçekli biyodağılım sorunlarından hücre içi taşınım gibi daha küçük ölçekli engellere kadar geleneksel ilaç taşıma yöntemlerinin sınırlamalarını aşmayı hedeflemektedir. Bu, hücreye özgü hedefleme, belirli organellere moleküler taşınım ve diğer yaklaşımlar ile gerçekleştirilebilmektedir. Bu umut verici nano-temelli teknolojilerin gerçekleştirilmesi ve klinik uygulamalara dönüştürülmesini kolaylaştırmak için ABD Ulusal Bilim ve Teknoloji Konseyi (NSTC), 2000 yılında Ulusal Nanoteknoloji Girişimi'ni (NNI) başlatmıştır ve bu alan için belirli bir şekilde tanımlanmış girişimler ve büyük hedefler belirlenmiştir. Bu girişimler, nanoteknolojinin araştırılması ve geliştirilmesine yönelik son çalışmaları büyük oranda desteklemektedir. Ayrıca NP'ler bu araştırma ve ilerlemelerin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Merzbacher, 2020).

1. GEN TERAPİSİ VE İLAÇ TAŞIMA SİSTEMLERİNDE NANOPARTİKÜLLER

NP'ler de dahil olmak üzere nanomateryaller genel olarak organik, inorganik, karbon bazlı ve kompozit nanomalzemeler olarak dört farklı grupta sınıflandırılmaktadır. Organik nanomalzemeler proteinler, karbonhidratlar, lipidler, polimerler veya herhangi başka bir organik bileşikten elde edilmiş NP'leri içermektedir. Bu nanomalzemeler arasında dendrimerler, miseller,

lipozomlar ve ferritin gibi yapılar bulunmaktadır (Ng ve Zheng, 2015). İnorganik nanomalzemeler ise metal ve metal oksit bazlı NP'ler olarak kategorize edilmektedir. Neredeyse tüm metaller nanoparçacıklarına dönüştürülebilmektedir ve NP sentezinde yaygın olarak kullanılan metaller arasında alüminyum (Al), bakır (Cu), altın (Au), demir (Fe), kurşun (Pb), gümüş (Ag) ve çinko (Zn) gibi metaller yer almaktadır. Bu metallerden sentezlenen NP'ler, 10 ila 100 nm kadar düşük boyutlar, yüksek yüzey alanı/hacim oranı, kristal ve amorf yapılar, küresel ve silindirik şekiller ve çevresel faktörlere duyarlılık gibi belirgin özelliklere sahiptir (Le Goas ve ark., 2022). Metal oksit bazlı nanoparçacıklar, ilgili metal bazlı nanoparçacıkların özelliklerini değiştirmek amacıyla sentezlenmektedir. Yaygın olarak metal oksit NP elde etmek amacıyla kullanılan metal oksitler arasında Alüminyum oksit (Al_2O_3), Seryum oksit (CeO_2), Demir oksit (Fe_2O_3), Manyetit (Fe_3O_4), Silisyum dioksit (SiO_2), Titanyum dioksit (TiO_2), Bakır oksit (CuO) ve Çinko oksit (ZnO) bulunmaktadır (Chavali ve Nikolova, 2019).

Gen terapisi, DNA veya RNA genetik materyallerinin hastanın hücrelerine aktarılması yoluyla hastalıkların tedavi edilmesi süreci olarak tanımlanmaktadır. Aktarılan genetik materyal aktarılan genin ekspresyonunu sağlayarak, hedef genin ekspresyonunu inhibe ederek ya da hedef geni modifiye edilerek değiştirilmesini sağlayacak şekilde üç farklı mekanizma ile etki gösterebilmektedir (Neufeld ve Sweeley, 1972). Gen terapisi kavramı, yaklaşık elli yıl önce kalıtsal monogenik hastalıkların tedavisi için önerilmiştir ve kısa bir süre sonra da kanser gibi hastalıklara uygulanma potansiyeli de keşfedilmiştir. Tek seferlik gen aktarımı veya gen modifikasyonu ile kalıcı bir tedavi sağlayabilme olasılığı, gen terapisini oldukça cazip hale getirmiştir (Merz, 1987). Uzun yıllardır yapılan ayrıntılı çalışmaların ardından, gen terapisinde önemli başarılar elde edilmiştir ve klinik kullanım için onaylanmış yirmiden fazla gen terapisi ilacı geliştirilmiştir (Shahryari ve ark., 2019; Ma ve ark., 2020).

Gen düzenleme ajanları, hücrelere ya ifadelerini kodlayan DNA veya mRNA (mesajcı RNA) şeklinde ya da doğrudan protein olarak veya ribonükleoproteinler (RNP'ler) halinde aktarılabilmektedir. Fakat her durumda, gen düzenleme ajanlarının *in vivo* olarak başarılı bir şekilde taşınması, makromoleküllerin hücre içine iletiminde karşılaşılan çeşitli biyolojik ve moleküler engellerin aşılmasını gerektirmektedir. Dolayısıyla etkili bir *in vivo*

taşıma aracının genetik materyali, hücelere girmeden önce sekestrasyona (tutulmaya) veya yok edilmeye karşı paketleyip koruması gerekmektedir. Ayrıca hedef hücelere bağlanabilmeli, hedef hücre zarını aşarak hücre içi bölgelere ulaşabilmeli ve taşıdığı genetik materyali uygun hücre içi bölmeye bırakabilmesi gerekmektedir. En sağlam *in vivo* taşıma araçları, taşıdıkları genetik materyali protein veya lipid kabuklar içinde kapsülleme yaparak hücreye girişten önce sekestrasyon veya bozulmaya karşı koruma sağlamaktadır (Mitchell ve ark., 2021). Bu koruma yöntemi, taşınan genetik materyalin dolaşımında veya uygulama bölgesinde hedef hücrelerle karşılaşana kadar hayatta kalmasını sağlamaktadır. Ayrıca, taşıma araçları bağışıklık sistemi tarafından tanınmaktan kaçınılmaktadır çünkü bağışıklık sisteminin aktive olması, taşıma araçlarının parçalanma hedefi haline gelmesine yol açmaktadır. Bazı taşıyıcı bileşimlerinin, kompleman sistemini aktive etme eğiliminde olduğu bilinmektedir ve bu durum, taşıyıcıların fagositik bağışıklık hücreleri tarafından temizlenmesine neden olabilmektedir. Benzer şekilde, taşıma araçlarının antikorlar tarafından tanınması da istenmeyen fagositik temizlenmeye yol açabilmektedir (Hoshyar ve ark., 2016; Mitchell ve ark., 2021).

NP'ler, gen terapisi alanında genetik materyalin hedef hücelere güvenli ve etkili bir şekilde aktarılmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Viral vektörler gibi geleneksel gen taşıma yöntemlerinin birçok güvenlik riski taşımasından dolayı özellikle son yıllarda NP bazlı gen taşıma sistemleri alternatif ve yenilikçi çözümler sunmaktadır (Sanchez-Moreno ve ark., 2018).

1.1. Lipid Nanopartiküller

Lipid NP'ler (LNP'ler), *in vivo* gen düzenleme ajanlarını taşıyan viral olmayan taşıyıcılar olarak bilinmektedir. Uzun yıllardır LNP'ler siRNA'lar ve terapötik mRNA'lar dahil olmak üzere nükleik asitleri taşımak için kullanılmaktadır (Cullis ve Hope, 2017). Yapılan bir çalışmada, tek bir intravenöz enjeksiyonla RNA (hem siRNA hem de mRNA) taşıyabilen, hematopoietik kök hücelere (HSC'lere) hedeflenmiş bir c-kit (CD117) antikoruyla bağlanan LNP geliştirilmiştir. Bu hedeflenmiş dağıtım sistemi, kök hücrelerin toplanması, kültür edilmesi veya mobilizasyonunu gerektirmemesi ile avantajlıdır. Ayrıca, 1 mg kg⁻¹ dozunda Cre rekombinaz mRNA'nın, *in vivo* olarak hematopoietik kök hücreler ve progenitör hücrelerin (HSPC'ler) yaklaşık

%90'ına gen düzenlemesi yapabilmesini sağladığı gösterilmiştir ve düzenlenen hücrelerin, yüksek seviyelerde düzenlenmiş olgun bağışıklık hücreleri üretme işlevini ve kök hücre özelliklerini koruduğunu gözlemlenmiştir (Shi, Totonaga ve Anderson, 2023).

HSPC'ler, nükleaz bazlı düzenleme sırasında güçlü bir p53'e bağlı DNA hasar tepkisi geliştirmektedir, T hücrelerinde tetiklenen yanıtlar ise henüz yeterince karakterize edilmemiştir. Bu sorunun üstesinden gelmek amacıyla kapsamlı multiomik analizler gerçekleştirilmiştir ve elektroporasyonun T hücrelerinde sitotoksositeye neden olan temel faktör olduğu bulunmuştur. Burada elektroporasyonun hücre ölümüne ve hücre döngüsünün gecikmesine yol açarak metabolizmayı bozduğu ve inflamatuvar yanıtı tetiklediği tespit edilmiştir. Vavassori ve arkadaşlarının (2023) buna karşı yaptığı çalışmada, LNP'ler kullanılarak yapılan nükleaz RNA iletimi hücre ölümünü neredeyse tamamen ortadan kaldırmıştır ve hücre büyümesini iyileştirerek sürece toleransı artırmıştır. Dolayısıyla elektroporasyon yöntemine kıyasla daha fazla düzenlenmiş hücre elde edilmiştir. LNP uygulaması sonrası gözlemlenen geçici transkriptom değişikliklerinin büyük ölçüde hücrelerin dışsal kolesterol yüklenmesinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Fakat bu olumsuz etkinin maruziyetin sınırlandırılmasıyla önlenebileceği gösterilmiştir. Genel olarak LNP'ler, hematopoietik hücrelerde insan hastalıklarının tedavisi için etkili ve zararsız bir *ex vivo* gen düzenleme yöntemi sunabilmektedir.

Normal şartlarda sitoplazmaya taşıma, mRNA ilaçları ve aşıları için önemli bir ön koşuldur. Fakat negatif yüklü ve uzun mRNA molekülleri boyutlarının büyük olması ve negatif yüke sahip olmaları nedeniyle fosfolipid çift katmanları boyunca çok yavaş difüze olmaktadır (Pekker ve Shneider, 2014). Ayrıca mRNA'nın, hücre içi ribonükleazlar (RNazlar) ve kanda bulunan RNazlar tarafından hızla parçalandığı bilinmektedir. Bu zorlukların üstesinden gelmek amacıyla mRNA, lipidlerle kompleks hale getirilerek LNP'ler oluşturulmuştur ve günümüzde LNP'ler mRNA bazlı ilaçlar için en yaygın kullanılan taşıyıcı sistem olarak tercih edilen NP olarak bilinmektedir (Ickenstein ve Garidel, 2019). mRNA haricinde LNP'lerin siRNA taşıyıcısı olarak kullanımına dair çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin bir çalışmada kriyojenik transmisyon elektron mikroskobu (cryo-TEM) ve X-ışını analizleri, pH 4'te siRNA ile iyonize edilebilir lipidin sıkı şekilde paketlenmiş çift katmanlı yapılara dönüştüğünü ve siRNA'nın birbirine çok yakın duran tek

katmanlar arasında sıkıştığı gösterilmiştir. Ayrıca, siRNA ile kompleks oluşturmayan iyonize edilebilir lipidin pH 4'te çok küçük veziküler yapılar meydana getirdiği pH 7.4'e yükseltildiğinde ise daha büyük LNP yapıları oluşturan amorf, elektron yoğun çekirdekler haline geldiği gösterilmiştir. Önerilen bu LNP-siRNA oluşum mekanizmasına göre başlangıçta siRNA, lipidin sıkışık tek katmanları arasında kalmaktadır ve pH 7.4'e yükseldikçe bu yapılara hapsolmaktadır. Bu sırada, siRNA ile etkileşime girmeyen iyonize edilebilir lipid, çift katman yapısından ayrılarak LNP'nin merkezinde amorf bir yağ fazı oluşturmaktadır. Dolayısıyla bu bilgiler LNP-siRNA sistemlerinin tasarımına katkı sağlamaktadır (Kulkarni ve ark., 2018).

Birçok terapötik uygulama için mRNA'nın hücre içi tesliminin protein üretimini indüklemeye potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir ve en yaygın siRNA formülasyonları, amine içeren bir lipid veya lipid benzeri materyal, fosfolipid, kolesterol ve lipidle bağlı polietilen glikol (PEG) olmak üzere dört bileşen içermektedir. Bunların relatif oranları formülasyonun etkinliğini büyük ölçüde etkileyebilmektedir. Yapılan bir çalışmada LNP formülasyonlarını mRNA teslimi için optimize etmek amacıyla genel bir strateji geliştirilmiştir. Lipid oranları ve yapıları aynı anda değiştirilerek, erythropoietin-mRNA yüklü C12-200 LNP'lerinin etkinliğinin daha önce siRNA teslimi için kullanılan formülasyonlara kıyasla 7 kat arttığı görülmüştür. Bu optimize edilmiş formülasyonun ana özellikleri arasında 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (DOPE) ve iyonize edilebilir lipid:mRNA ağırlık oranlarının artırılması bulunmaktadır. İlginç bir şekilde, optimize edilmiş LNP formülasyonu siRNA teslimini geliştirmemiştir, bu da siRNA ve mRNA için optimize edilmiş formülasyon parametre tasarım alanlarında farklılıklar olduğunu göstermiştir. Burada açıklanan genel yöntemin, NP formülasyonlarının *in vivo* taraması ve optimizasyonunu hızlandırabileceğine inanılmaktadır (Kauffman ve ark., 2015).

1.2. Polimerik Nanopartiküller

Farmasötik ilaçlar, insan hayatını önemli ölçüde değiştirmiş olsa da bu ilaçların tam potansiyelini sınırlayan birkaç özellik bulunmaktadır. Kemoterapötik ilaçların kullanımında karşılaşılan düşük çözünürlük, düşük biyoyararlanım ve yüksek ilaç dozu gibi bazı engeller bulunmaktadır. Bu problemlerin aşılması amacıyla yeni teknolojilerle geliştirilen NP'ler, mevcut

ilaçların uygulanabilirliğini ve potansiyelini daha da artırmaktadır. Bu geliştirilen ilaç taşıma sistemleri arasında kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan polimerik NP'ler bulunmaktadır. Bu polimerik NP'lerin hedefe yönelik ilaç teslimatı sağlayabildiği, vücutta dolaşım süresini artırabildiği, tedavi endekslerini minimal yan etkilerle azaltabildiği ve mononükleer fagosit sistemi (MPS)'ni aktive etmeden hücrelerde birikebildiği birçok çalışma ile doğrulanmıştır (Ahlawat ve ark., 2018).

Yaygın olarak kullanılan iki polimer, polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) ve kitosandır. Her ikisi de biyoyoumlu ve biyobozunur olmaları nedeniyle kısmen Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından klinik kullanım için onaylanmıştır (Ahmed ve ark., 2016). Kitosan, selüloza benzer bir karbonhidrat omurga yapısına sahip bir molekül olarak tanımlanmıştır ve (1-4)- β -glikozidik bağ ile bağlı iki tekrarlayan N-asetil-D-glukozamin ve D-glukozamin birimlerini içermektedir. Ayrıca kitosan, alkali deasetilasyon ile kitinden elde edilen, zincirinde çok sayıda amino grubu bulunan katyonik bir biyopoliaminosakkarit polimeri özelliği taşımaktadır. Asidik sulu ortamda çözünebildiği bilinen kitosan, gıda, kozmetik, biyomedikal ve farmasötik uygulamalar gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Rinaudo, 2006). Heparin, albumin, kitosan, dektran, jelatin gibi polimerler doğada mevcut olup DNA, ilaçlar, oligonükleotidler ve proteinler gibi çeşitli aktif bileşenlerin teslimatı için tercih edilmektedir. Paclitaxel yüklü albumin NP'leri, metastatik kanserin tedavisinde kullanılmıştır (Ensign ve ark., 2012) Doğal polimerik NP'ler, yan etkilerin azaltılması, sürekli ilaç salınımı ve kalma süresinin artırılması gibi avantajları nedeniyle tercih edilmektedir (Xu ve ark., 2006).

2002 yılında, Discher ve Eisenberg, polimerik NP'lerin yapısını tanımlamışlardır (Discher ve Eisenberg, 2002). Onlar, bu yapıların çekirdek-kabuk yapısına sahip olduğunu belirtmişlerdir; iç kısımda hidrofobik ilacı içeren bir polimerik matris bulunurken yüzey kısmı hidrofilik bir polimerden oluşmaktadır (örneğin, PEG, PVP) ve bu yapı immunojenikliği azaltmaktadır ve retiküloendotelial sistemin NP'leri fagositoz yapmasını engellemektedir (Letchford ve Burt, 2007).

Polimerik NP'ler, çözücü buharlaştırma yöntemi, spontan emülsifikasyon/çözücü difüzyon yöntemi ve polimerizasyon yöntemleri gibi farklı yollarla sentezlenebilmektedir (Ahlawat ve ark., 2018). Ayrıca polimer

sentez yöntemleri zamanla geliştikçe, daha farklı NP tasarımları için potansiyel de artmaktadır. Son zamanlarda, atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP), nitroksit ile kontrol edilen polimerizasyon (NMP) ve tersine ekleme-fragmentasyon zincir transferi polimerizasyonu (RAFT) gibi geri döndürülebilir deaktivasyon radikal polimerizasyonu (RDRP) tekniklerinin geliştirilmesi, sentetik polimerlerin tasarımında daha önce eşi görülmemiş bir derecede kontrol sağlamıştır (Liu ve ark., 2020).

Son yıllarda, kemoterapötik ilaçlar ve nükleik asitlerin uygun bir kombinasyonu üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu kombinasyon, ek veya sinerjik terapötik etkilerden yararlanmayı ve yan etkileri ile ilaç direncini azaltmak gibi birçok engeli aşmayı amaçlamaktadır. Yapılan bir çalışmada, alkil modifiye edilmiş poli(etileniminde) (PEI 10 kD), doxorubisin (DOX) ile enkapsüle edilmiş PLGA NP'leri ve Bcl-xL shRNA (tümör hücrelerinin apoptozunu engelleyen molekül sınıfı) birlikte meme kanseri hücrelerine teslimi için kullanılmıştır. Sonuç olarak PEI'nin alkil zinciriyle modifiye edilmesinin, Bcl-xL geninin Bcl-xL shRNA ile baskılanması yoluyla tümör hücrelerinde apoptoz indüksiyonunu yalnızca PEI'ye kıyasla artırabileceği gösterilmiştir. Ayrıca PLGA içine enkapsüle edilmiş DOX, shRNA ile karşılaştırıldığında DOX tek başına daha sinerjik bir etki gösterdiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla PLGA-DOX NP'leri ve alkil-PEI/shRNA komplekslerinin kombinasyonunun meme kanseri tedavisinde umut verici uygulamalara sahip olabileceği düşünülmektedir (Ebrahimian ve ark., 2017).

Kim ve arkadaşları (2024) tarafından, boyut/yüzey kimyası ayarlanmış polimerik siRNA NP'lerinin (PRN'lerin) biyolojik ve fizyolojik etkileşimleri üzerindeki etkileri ayrıntılı olarak incelenmiştir. PRN'ler, sürekli döngü transkripsiyonu (RCT) süreci ile 50-200 nm çap aralığında üç farklı boyutta NP üretilmiştir ve bunlar üç farklı biyopolimer ile kaplanarak farklı yüzey özelliklerine sahip hale getirilmiştir. Bu PRN'ler arasında, yaklaşık 200 nm çapında ve hiyalüronik asit (HA) tabakası ile kaplanmış olanlar, CD44 reseptör hedeflemesi ve optimize edilmiş nano yapısı sayesinde sistemik taşıma açısından en etkili sonuçları göstermiştir ve meme tümörü modelinde üstün antikanser etkiler sergilediği tespit edilmiştir. Ayrıca PRN türlerine bağlı olarak, *in vivo* siRNA taşınması ve protein ekspresyon inhibisyonu yaklaşık 20 kat farklılık göstermiştir. Bu elde edilen bilgiler, kaplanan biyopolimer türleri ve PRN boyutunun hedeflenen tümörlere etkili polimerik siRNA taşınmasını

düzenlediğini ve yüksek RNAi kaynaklı terapötik etkinlik sağladığını ortaya koymaktadır. İleride RNA nanoteknolojisine dayalı bu boyut/yüzey düzenleme yaklaşımı, siRNA tedavilerinin sınırlamalarını aşabileceği ve hedefe yönelik kanser tedavisi için özelleştirilmiş RNA terapötiklerini tasarlamak amacıyla güçlü bir yerleşik modül yöntemi olarak hizmet edebileceği düşüncesini geliştirmektedir (Kim ve ark., 2024).

1.3. Karbon Bazlı Nanopartiküller

Karbon bazlı NP'ler ilaç taşıyıcıları olarak uygulanması ve ayrıca kimyasal, termal, fiziksel, optik, mekanik ve elektriksel özellikleri ile yapısal çeşitlilikleri nedeniyle özellikle son yıllarda ilgi görmektedir. Hücresel alımlarının kolay ve ilaç yükleme kapasitelerinin yüksek olması gibi benzersiz özellikleri sayesinde ilaç taşıma uygulamalarında iyi bilinen malzemelerdir. Bu kapsamda karbon nanotüpler, fullerenler, nanoelmas, grafen ve karbon kuantum noktaları da dahil olmak üzere çeşitli karbon bazlı nanoyapılar ilaç taşıma sistemleri için oldukça geniş çapta incelenmiştir (Bagheri ve ark., 2022).

Karbon atomlarından oluşan grafen, dünya çapında en kapsamlı şekilde araştırılan maddelerden biri olarak öne çıkmaktadır. Yapısında her bir karbon atomu, sp^2 hibritleşmiş orbitaller aracılığıyla üç diğer karbon atomuyla bağlanarak bal peteği şeklinde bir kafes oluşturmaktadır (Yang ve ark., 2018). Karbon nanotüpler (CNT'ler), silindirik nanoyapıya sahip son derece düzenli ve benzersiz bir boyutlu karbon alotroplarından biri olduğu bilinmektedir ve iki farklı formda bulunmaktadır. Silindirik tüpler içindeki grafen tabakalarının sayısına bağlı olarak, CNT'ler tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNTs) ve çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNTs) olarak sınıflandırılmaktadır. MWCNT'lerin çapı birkaç nanometreden 100 nm'ye kadar, SWCNT'lerin çapı ise 0.4 ila 2.5 nm arasında değişiklik göstermektedir. CNT'ler özel yapısal özellikleri, biyolojik uyumlulukları ve işlevselleştirme kimyasındaki avantajlarından dolayı son yıllarda büyük ilgi görmektedir (Vivekanandhan ve ark., 2017; Patel, Singh ve Kim, 2019). CNT'ler, biyolojik bariyerleri aşabilen yeni bir taşıma sistemi olarak belirgin özellikler ve umut vadeden potansiyel göstermektedir. Çoğunlukla kanser tümörü görüntülemeye kullanılan karbon kuantum noktaları (CQD'ler) ve grafen kuantum noktaları (GQD'ler) ile karşılaştırıldığında, CNT'ler aynı zamanda hedefe yönelik antikanser ilaç taşıma ve (foto)termal ablasyon için de kullanılabilir (Utreja ve ark.,

2010; Singh ve Torti, 2013). Karbon bazlı nanomalzemeler, benzersiz fizikokimyasal özellikleri sayesinde gen/ilaç taşıma, kanser teşhisi ve tedavisi gibi birçok potansiyel uygulamada nanotaşıyıcı olarak kullanılabilir. Fonksiyonelleştirilen karbon nanomalzemeler, yenilikçi ve akıllı ilaç taşıma uygulamaları için umut vadeden potansiyeller göstermektedir (Sajjadi ve ark., 2021). Özellikle CNT'ler, önemli optik, elektriksel, termal ve kimyasal özellikleri nedeniyle araştırmacılar tarafından kanser nanoterapisi gibi çeşitli biyomedikal uygulamalar açısından incelenmektedir. CNT'lerin boyutu ve kararlı geometrik yapısı, onları kanser teşhisi ve tedavisi de dahil olmak üzere nanoteranostik ve/veya nanotaşıyıcılar olarak çeşitli biyotıp alanları için cazip polimerik olmayan malzemeler haline getirmektedir (Dizaji ve ark., 2020).

Bartholomeusz ve arkadaşlarının (2009) yaptığı çalışmada, hipoksiye bağlı faktör 1 alfa (HIF-1 α) genini hedefleyen siRNA içeren komplekslerin, hücresel HIF-1 aktivitesinde güçlü ve spesifik bir inhibisyon sergilediği gösterilmiştir. SWCNT/siRNA komplekslerinin biyolojik bir yanıt oluşturma yeteneği, çeşitli kanser hücre tiplerinde gösterilmiştir. Ayrıca, MiaPaCa-2/HRE tümörleri taşıyan farelere doğrudan tümör içine enjekte edilen SWCNT-HIF-1 siRNA komplekslerinin de tümör HIF-1 aktivitesini önemli ölçüde baskıladığı tespit edilmiştir. HIF-1'in yüksek seviyeleri birçok insan kanserinde tespit edilmiş olup, bu artışın tedaviye direnç ve hasta sağkalımında azalma ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla çalışmada elde edilen bu sonuçlar, SWCNT/siRNA komplekslerinin terapötik ajan olarak potansiyel taşıyabileceğini göstermektedir.

Gen terapisi, kanserin etkili bir şekilde tedavi edilmesini ve iyileştirilmesini sağlayan umut verici bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada, tümöre yönelik gen terapisi için grafenle güçlendirilmiş kitosan (CS) tabanlı viral olmayan bir vektör rapor edilmiştir. Terapötik gen olan pDNA-TNF- α , elektrostatik etkileşim yoluyla kitosan-karboksillenmiş grafen oksit (CS-CGO) yapısına yüklenmiştir. Yüzey pasif hale getirilmiş taşıyıcı (PEG-pDNA-TNF- α -CS-CGO), daha sonra çoğu kanser hücresinde aşırı eksprese edilen folat reseptörlerini hedeflemek amacıyla folik asit türevli karbon noktalar (C-dot'lar) ile kaplanmıştır. 14 günlük inkübasyonun sonucunda son formülasyonun koriyoallantoik membranda antianjiyogenez etki göstermiştir. Kanser hücre hattında yapılan *in vitro* gen ekspresyonu çalışmaları, geliştirilen sistemin (C-dot-PEG-pDNA-TNF- α -CS-

CGO) pDNA-TNF- α 'ya kıyasla daha yüksek transfeksiyon etkinliğine sahip olduğunu göstermiştir. Geliştirilen gen taşıma sisteminin etkinliği, ayrıca geliştirilmiş ve doğrulanmış yapay tümör hücre aparatı kullanılarak doğrulanmıştır (Jaleel ve ark., 2019).

1.4. Altın Nanopartiküller

Altın NP'ler (GNP), biyolojik olarak inert olmaları, toksik olmamaları, kolay sentezlenmeleri nedeniyle büyük ilgi çekmiştir (Ghosh ve ark., 2008). Gen taşıma vektörleri olarak kullanılan GNP'lerin, transforme edilmiş memeli hücrelerine rapor genlerini önemli ölçüde aktardığı ve ardından gen ifadesini başarılı bir şekilde sağladığı bilinmektedir (Sandhu ve ark., 2002; Zhou ve ark., 2008).

Yapılan bir çalışma kapsamında simetrik ve asimetrik kitosan/altın NP'ler çapraz bağlanma dereceleri ve altın nanorodlarının boyut oranları ayarlanabilir şekilde üretilmiştir. Kitosan bölgesi, seçici yüzey fonksiyonelleştirilmesi için kullanılabilirken altın nanorodlar, PA görüntüleme (fotoakustik) ve fototermal terapi (PTT) için ideal adaylar olarak bilinmektedir. Sonuç olarak Janus yapılı J-Au-CS (Janus-Altın-Kitosan) NP'lerinin, NIR (yakın kızılötesi ışık) ile aktive olan hareketi sayesinde çarpışma sırasında kinetik enerjiden ek ısı dönüşümü ile güçlendirilmiş fototermal etki sağladığı bildirilmiştir. Katyonik polimer CD-PGEA, kitosan nanokürelerinin yüzeyine yerleştirildikten sonra J-ACP formasyonu elde edilmiş ve bununla birlikte PA görüntüleme rehberliğinde sinerjik PTT/gen terapisi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Gen taşıma kapasitesi ve stabilite açısından seçici yüzey fonksiyonelleştirilmesinin avantajları, altın nanorodlarının fototermal özellikleri ve Janus NP (JNP) yapısının kendiliğinden hareket etme özelliğinden faydalanarak, Janus yapılı J-ACP nanohibritleri PA görüntüleme rehberliğinde sinerjik PTT/gen terapisi için ideal bir model sistem olarak öne çıkmaktadır. Buna ek olarak, JNP'ler dışında, diğer kitosan/altın NP'ler de misafir molekül yüklemesi ve seçici yüzey fonksiyonelleştirilmesi için kullanılabilir ve tedavi için işlevsel hale getirilebilmektedir. Böyle bir esnek kitosan/altın nanoyapı serisinin rasyonel tasarımı, farklı morfolojilerdeki nanoplatformların inşasında daha fazla olasılık sağlayarak etkili tümör tedavisi için yeni bir yön açmaktadır (Dai ve ark., 2021).

Rapor edilen bir çalışmada, AuNP aracılı ilaç taşıma nanoplatformu, doksorubisin ve polo-like kinaz 1 (PLK1) siRNA'nın birlikte taşınması için geliştirilmiştir. AuNP, PLK1'in yüzeyde toplanmasını kolaylaştırmak için polietilenimin ile kaplanmıştır. Doksorubisin kontrollü salım için bir ucunda tiol grubu bulunan pH duyarlı bir bağlayıcıyla NP'lere yüklenmiştir. Bu birlikte taşıma sisteminin terapötik etkinliği, 2D ve 3D kültür sistemlerinde değerlendirilmiştir. Sonuç olarak azalan IC₅₀ değeri, kanser tedavi modelinde ilaç ve gen taşımalarının kombinasyonunun, her birinin ayrı ayrı taşınmasına kıyasla sinerjistik etkisini açıkça göstermiştir. Bu çalışma ile kanser inhibisyonu için ilaç-siRNA kombinasyonlarını incelemek amacıyla uyarlanabilir ve kolay bir platform sağlanabileceği ortaya çıkarılmıştır (Shrestha ve ark., 2020).

Sharma ve arkadaşlarının(2011) yaptığı çalışmada, polietilenimin (PEI2) ile konjuge edilmiş altın NP'lerinin (PEI2-GNP) insan korneasındaki *in vitro* ve tavşan korneasındaki *in vivo* gen transfer etkinliği ve toksisitesi incelenmiştir. Azot/Fosfor (N/P) oranı 180'e kadar olan PEI2-GNP, insan korneasına önemli ölçüde gen aktarımı sağladığı görülürken hücrelerin canlılığını veya fenotipini değiştirmediği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, PEI2-GNP uygulanan kornea dokularında AuNP'lerinin tavşan stromasında önemli ölçüde biriktiği ve zamanla kademeli olarak temizlendiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, PEI2-GNP uygulamasından 7 gün sonra bile tavşan gözlerinde herhangi bir iltihap, kızarıklık veya ödem gözlemlenmemiştir sadece orta derecede hücre ölümü ve bağışıklık tepkisi tespit edilmiştir. Araştırma sonuçları PEI2-GNP'nin kornea için güvenli olduğunu ve kornea gen tedavisi için potansiyel bir vektör olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Yapılan bir çalışmada, AuNP'lerin boyuta bağlı olarak hücre içine nüfuz etme yeteneğini belirlemek ve ultra küçük altın NP'lerin çekirdek içine taşınması ve tedavi için potansiyel kullanımı araştırılmıştır. Çapları 2, 6, 10 ve 16 nm olan farklı boyutlarda AuNP'ler sentezlenerek MCF-7 meme kanseri hücrelerindeki hücre içi dağılımları karşılaştırılmıştır. 10 nm'den küçük NP'lerin hücre çekirdeğine girebildiği fakat daha büyük olanların sadece sitoplazmada bulunduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca çekirdek içine taşınmak üzere c-myc promotörüne bağlanan üçlü sarmal oluşturan oligonükleotidin (TFO) ultra küçük 2 nm NP'ler ile taşınıp taşınmayacağı araştırılmıştır. Serbest TFO ile karşılaştırıldığında, NP'lere bağlı TFO'nun c-myc RNA ve c-

myc protein seviyelerini daha etkili bir şekilde azalttığı ve bunun da hücre canlılığında azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Sonuçlara bağlı olarak AuNP'lerin hücre çekirdeğine girişinin kritik olarak NP boyutuna bağlı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile ultra küçük AuNP'ler kullanılarak TFO'ların doğrudan çekirdeğe iletilmesini sağlayan bir strateji geliştirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde farklı biyomedikal amaçlar için uygun nanotaşıyıcıların seçilmesine yönelik rehberlik sağladığı görülmüştür (Huo ve ark., 2014).

2.1 Manyetik Nanopartiküller

Gen taşıma işlemi için manyetik NP'ler (MNP'ler) genellikle bir taşıyıcı platform ile birleştirerek geni kapsüllemektedir ve böylece hücre alımını teşvik etmektedir. MNP'lerle kullanılan taşıma teknolojileri arasında polimerik, viral ve virüs dışı platformlar bulunmaktadır (Majidi ve ark., 2018). MNP'ler, bazı araştırmacılar tarafından kültür hücrelerinin transfeksiyon verimliliklerini artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle, MNP-nükleik asit kompleksleri hücre kültürü ortamına eklenmektedir ve manyetik bir kuvvet uygulanan hücre yüzeyine yerleştirilmektedir (McBain ve ark., 2008).

Literatür incelemesi yapıldığında, beyin tümörü hücrelerinin tümörogenizde önemli rol oynayan ve terapötik hedefler olarak kullanılabilecek ekstraselüler matris glikoproteini olan tenascin-C (TN-C) gibi bir dizi proteini yüksek seviyede ifade ettiği rapor edilmiştir. Çalışmalar sonucunda elde edilen bilgilere göre TN-C'nin RNA interferansı (RNAi) ile down regülasyonu, kanser tedavisinde çok umut verici bir strateji olduğu bilinmektedir. Ancak, TN-C dizisine komplementer olan çift sarmallı RNA (dsRNA) (ATN-RNA)'nın başarılı bir şekilde taşınması, nükleazlar tarafından hızlıca parçalanmasını aşabilecek ve zayıf hücre içi alımı iyileştirebilecek taşıyıcı araçların kullanılmasını gerektirmektedir. Yapılan bir çalışmada, elde edilen polietilenimin (PEI) kaplı manyetik nanoparçacıkların (MNP@PEI), dsRNA ile kombinasyonu ile oluşmuş olduğu, ATN-RNA taşımada yüksek verimlilik gösterdiği ve bu da hem önemli bir TN-C ekspresyonu seviyesinin down regülasyonuna hem de tümör hücrelerinin işlevlerinin bozulmasına yol açtığı tespit edilmiştir (Grabowska ve ark., 2021).

Kornea endotel hücrelerinin (CEC'ler) hedeflenmiş, anti-apoptotik gen tedavisi için güvenli ve verimli bir yöntem geliştirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, manyetik transfeksiyon (MF), manyetik nanoparçacıklarla

(MNP'ler; PEI-Mag2, SO-Mag5, PalD1-Mag1) lipofeksiyon kombinasyonu kullanılarak insan CEC'leri ve çıkarılmış insan kornealarındaki etkileri test edilmiştir. Araştırma sonucuna göre, silika demir oksit MNP'leri (SO-Mag5) ve X-tremeGENE-HP kombinasyonu, insan CEC'lerinde ve çıkarılmış insan kornealarında yüksek transfeksiyon verimliliği sağladığı görülmüştür. Manyetik transfeksiyon, insan periferik kan mononükleer hücrelerinde immünomodülatör etkiler oluşturmamıştır. Fakat anti-apoptotik P35 geni ile yapılan manyetik transfeksiyon, CEC'lerinde apoptozu etkili bir şekilde engellediği rapor edilmiştir (Czugala ve ark., 2016).

2. NANOPARTİKÜLLER ve CRISPR/Cas9 GEN DÜZENLEMESİ

CRISPR-Cas9, devrim niteliğinde bir gen düzenleme teknolojisi olmasına rağmen, beyne ulaştırılması mevcut taşıma sistemleri tarafından tam olarak çözülemeyen zorluklara sahiptir. 2020 Nobel Kimya Ödülü'ne layık görülen CRISPR-Cas9, Cas9 nükleazını tek kılavuz RNA (sgRNA) ile birleştirerek hedef DNA'ya bağlanıp kesme işlemi yaparak gen düzenleme gerçekleştirmekte ve genetik hastalıkların tedavisinde uygulanmaktadır (Kleinstiver ve ark., 2016). Viral vektörlerin büyük ölçekli klinik üretim için yetersiz olması nedeniyle, nonviral nanoparçacık bazlı vektörler daha çok tercih edilmektedir. Nonviral sistemler genellikle bağışıklık sistemi tarafından tepki oluşturmamaktadır (Yin ve ark., 2014). Günümüzde insan hastalıklarının hassas bir hedefi olan beyne yönelik CRISPR-Cas9 tabanlı gen terapilerinin uygulanabilirliği üzerine birçok araştırma yapılmaktadır (Fernandove ark., 2020). Mevcut çalışmalar terapötik bir kanıt sunmakla birlikte, CRISPR-Cas9 komplekslerinin viral vektörler veya nanoparçacıklar içinde doğrudan beyin içine enjekte edilmesini gerektirdiğinden dolayı enfeksiyon, iltihaplanma, şişme ve doku hasarı gibi ciddi yan etkilere yol açabilmektedir (Lozano ve ark., 2019). Bu nedenle, beyin hastalıklarının gen terapisi için nanoparçacıklarla kapsüllenmiş CRISPR-Cas9 komplekslerinin noninvaziv taşınması için uygun sistemler geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Foldvari ve ark., 2016). Ancak, burada fenotipi ve fiziksel yapısı damar ortamına ve beyin fizyolojik koşullarına göre değişen kan-beyin bariyerini (BBB) aşmak gerekmektedir. BBB'nin bu heterojenliği BBB'yi geçebilen bir ilaç taşıma sistemi tasarlarken avantaj olarak kullanılabilir. Bunun yanı sıra, aşırı pozitif yüke sahip

nanoparçacıkların doku toksisitesine ve istenmeyen gen düzenleme etkilerine neden olması da klinik uygulamaların ilerlemesini zorlaştıran ek sorunlar arasında olduğu bilinmektedir (Li ve ark., 2021).

Zou ve arkadaşları (2022) yapılan bir çalışmada, CRISPR-Cas9 nanokapsülleme ile invaziv olmayan beyin iletimi ve tümör hücre hedeflemesi için benzersiz bir nanokapsül tasarlanarak glioblastoma gen tedavisi için etkili ve güvenli bir strateji sunulmuştur. CRISPR-Cas9 nanokapsüller, tek Cas9/sgRNA kompleksinin, kan-beyin bariyerini (BBB) aşmayı, tümör hücrelerini hedeflemeyi ve Cas9/sgRNA'nın seçici olarak salınmasını sağlayan çift etkili bir ligand içeren glutatyon duyarlı bir polimer kabuk içinde kapsüllenmesiyle basit bir şekilde üretilebilmiştir. Bu nanokapsüller, glioblastoma dokusunu etkili bir şekilde hedef alarak beyin tümörlerinde %38.1'e kadar PLK1 gen düzenleme verimliliği sağlamıştır ve yüksek riskli dokularda ihmal edilebilir (%0.5'ten az) düzeyde hedef dışı gen düzenleme göstermiştir. Nanokapsüllerle yapılan tedavide, ortalama yaşam süresini önemli ölçüde uzattığı görülmüştür. Bu yeni CRISPR-Cas9 taşıma sistemi, çeşitli taşıma zorluklarını aşarak, gen düzenleyici Cas9 ribonükleoproteininin güvenli ve tümöre özgü bir şekilde taşınmasını sağlayarak glioblastoma tedavisinde iyileşme sağlamıştır. Ayrıca, çalışma kapsamında elde edilen CRISPR-Cas9 nanokapsüllerin diğer beyin hastalıkları için de terapötik olarak faydalı olma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

Angiopietin benzeri 3 (Angptl3) geninde meydana gelen fonksiyon kaybı mutasyonları, kan lipid seviyelerinin düşmesiyle ilişkilendirilmiştir ve bu durum, Angptl3'ü insan lipoprotein metabolizması bozukluklarının tedavisi için terapötik hedef haline getirmektedir. Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada, Angptl3 geninin CRISPR-Cas9 tabanlı genom düzenlemesi yoluyla *in vivo* olarak susturulmasını sağlamak amacıyla Cas9 haberci RNA'sı (mRNA) ve kılavuz RNA'yı (gRNA) taşıyan bir lipid nanoparçacık (LNP) taşıma platformu geliştirilmiştir. Bu sistem ile C57BL/6 yabani tip farelerin karaciğerinde spesifik ve etkili bir şekilde Angptl3 geninin susturulduğu tespit edilmiştir ve bunun sonucunda serum ANGPTL3 proteini, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C) ve trigliserit seviyelerinde belirgin düşüşler gözlenmiştir. Ek olarak, geliştirilen bu sistem FDA tarafından onaylanmış olan MC-3 LNP'ye kıyasla önemli ölçüde daha verimli bulunmuştur. Çalışma sonucu,

LNP aracılı taşıma sisteminin Cas9 tabanlı terapötikler için spesifik, etkili ve güvenli bir platform olma potansiyelini ortaya koymaktadır (Qiu ve ark., 2021).

Wei ve arkadaşları (2020) tarafından, modifiye LNP'lerinin RNP'leri hücrelere verimli bir şekilde iletilmesini ve kas, beyin, karaciğer ve akciğerler gibi dokularda gen düzenlemesini sağlamak için genel bir metodoloji sunulan bir araştırma yapılmıştır. Sonuç olarak intravenöz enjeksiyon ile fare akciğerlerinde altı genin dokuya özgü, çoklu düzenlemesi kolaylaştırılmıştır. Yüksek taşıyıcı potansiyeli, farelerin karaciğerlerinde ve akciğerlerinde organ-spesifik kanser modelleri oluşturmak için kullanılmıştır ve çoklu genlerin kolayca düzenlenmesi sağlanmıştır. Ayrıca çalışma kapsamında geliştirilen taşıyıcılar, DMD farelerinde distrofini yeniden ifade etmek için RNP'leri başarılı bir şekilde iletebilmiştir ve C57BL/6 farelerinde serum PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Tip 9) seviyesi önemli ölçüde azalmıştır. Bu genel stratejinin uygulanması ile protein teslimi ve hassas gen düzeltme yaklaşımlarına uygun çeşitli hastalık hedefleri için NP geliştirilmesinin kolaylaştırılacağı düşünülmektedir (Wei ve ark., 2020).

Güncel bir stratejide, ek bir SORT (Seçici Organ Hedefleme) molekülü eklenerek ekstrahepatik (karaciğer dışı) dokuları özel olarak düzenlemek amacıyla çeşitli LNP'leri sistematik olarak tasarlanmıştır. Akciğer, dalak ve karaciğeri hedefleyen SORT lipid nanoparçacıkları, terapötik açıdan önemli olan epitelyal hücreler, endotelyal hücreler, B hücreleri, T hücreleri ve hepatositler gibi belirli hücre tiplerini seçici olarak düzenlemek amacıyla geliştirilmiştir. Bu stratejinin, hedeflenen dokularda protein replasman tedavisi ve gen düzeltme terapilerinin geliştirilmesine yardımcı olması öngörülmektedir (Cheng ve ark., 2020).

SONUÇ

NP tabanlı gen terapisi ve ilaç taşıma sistemlerinin, özellikle hedeflenmiş tedavilerde büyük bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. NP'lerin taşıyıcı olarak kullanımı ile genetik materyalin doğru hedeflere yönlendirilmesi sağlanarak tedavi etkinliği artırılabilmektedir ve en önemli konulardan biri olan tedaviye bağlı yan etkileri en aza indirebilmektedir. Bu bağlamda, çeşitli NP'ler inovatif araçlar, genetik tedavi ve ilaç taşıma uygulamalarında önemli bir yer edinmektedir. Gelecek çalışmalar, bu sistemlerin hassas tıp uygulamalarıyla entegrasyonunu, daha spesifik hedefleme stratejilerinin geliştirilmesini ve daha

uzun süreli etkili tedavi sonuçları sağlamayı amaçlamaktadır. NP'ler, yalnızca gen tedavisi değil, aynı zamanda kanser tedavisi, nörolojik hastalıklar ve genetik bozukluklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde de önemli bir rol oynamaktadır. Dolayısıyla NP sistemlerinin hücresel alım ve nükleer taşıma verimliliği alanlarındaki iyileştirmeler gelecekte tedavi süreçlerinin daha etkin ve güvenli hale gelmesini sağlayacaktır. Sonuç olarak, NP tabanlı taşıyıcı sistemlerin gen terapisi ve ilaç taşıma alanlarında sunduğu yenilikçi çözümler, gelecekte kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının temelini oluşturabilir. Hem klinik uygulamalarda hem de araştırmalarda bu teknolojilerin ilerlemesi, hastaların daha güvenli, etkili ve hızlı tedavi edilmesini sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

- Ahlawat, J., Henriquez, G., & Narayan, M. (2018). Enhancing the delivery of chemotherapeutics: role of biodegradable polymeric nanoparticles. *Molecules*, 23(9), 2157.
- Ahmed, T. A., & Aljaeid, B. M. (2016). Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. *Drug design, development and therapy*, 483-507.
- Bagheri, B., Surwase, S. S., Lee, S. S., Park, H., Rad, Z. F., Trevaskis, N. L., & Kim, Y. C. (2022). Carbon-based nanostructures for cancer therapy and drug delivery applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 10(48), 9944-9967.
- Bartholomeusz, G., Cherukuri, P., Kingston, J., Cognet, L., Lemos, R., Leeuw, T. K., ... & Powis, G. (2009). In vivo therapeutic silencing of hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 α) using single-walled carbon nanotubes noncovalently coated with siRNA. *Nano research*, 2, 279-291.
- Cullis, P. R., & Hope, M. J. (2017). Lipid nanoparticle systems for enabling gene therapies. *Molecular Therapy*, 25(7), 1467-1475.
- Chavali, M. S., & Nikolova, M. P. (2019). Metal oxide nanoparticles and their applications in nanotechnology. *SN applied sciences*, 1(6), 607.
- Cheng, Q., Wei, T., Farbiak, L., Johnson, L. T., Dilliard, S. A., & Siegwart, D. J. (2020). Selective organ targeting (SORT) nanoparticles for tissue-specific mRNA delivery and CRISPR-Cas gene editing. *Nature nanotechnology*, 15(4), 313-320.
- Dai, X., Zhao, X., Liu, Y., Chen, B., Ding, X., Zhao, N., & Xu, F. J. (2021). Controlled synthesis and surface engineering of Janus chitosan-gold nanoparticles for photoacoustic imaging-guided synergistic gene/photothermal therapy. *Small*, 17(11), 2006004.
- De Jong, W. H., & Borm, P. J. (2008). Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *International journal of nanomedicine*, 3(2), 133-149.
- Discher, D. E., & Eisenberg, A. (2002). Polymer vesicles. *Science*, 297(5583), 967-973.

- Ebrahimian, M., Taghavi, S., Mokhtarzadeh, A., Ramezani, M., & Hashemi, M. (2017). Co-delivery of doxorubicin encapsulated PLGA nanoparticles and Bcl-xL shRNA using alkyl-modified PEI into breast cancer cells. *Applied biochemistry and biotechnology*, 183, 126-136.
- Ensign, L. M., Cone, R., & Hanes, J. (2012). Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. *Advanced drug delivery reviews*, 64(6), 557-570.
- Fernando, M. B., Ahfeldt, T., & Brennand, K. J. (2020). Modeling the complex genetic architectures of brain disease. *Nature genetics*, 52(4), 363-369.
- Foldvari, M., Chen, D. W., Nafissi, N., Calderon, D., Narsineni, L., & Rafiee, A. (2016). Non-viral gene therapy: Gains and challenges of non-invasive administration methods. *Journal of Controlled Release*, 240, 165-190.
- Ghosh, P. S., Kim, C. K., Han, G., Forbes, N. S., & Rotello, V. M. (2008). Efficient gene delivery vectors by tuning the surface charge density of amino acid-functionalized gold nanoparticles. *ACS nano*, 2(11), 2213-2218.
- Grabowska, M., Grześkowiak, B. F., Rolle, K., & Mrówczyński, R. (2021). Magnetic nanoparticles as a carrier of dsRNA for gene therapy. *Bio-Carrier Vectors: Methods and Protocols*, 69-81.
- Gwinn, M. R., & Vallyathan, V. (2006). Nanoparticles: health effects—pros and cons. *Environmental health perspectives*, 114(12), 1818-1825.
- Huo, S., Jin, S., Ma, X., Xue, X., Yang, K., Kumar, A., ... & Liang, X. J. (2014). Ultrasmall gold nanoparticles as carriers for nucleus-based gene therapy due to size-dependent nuclear entry. *ACS nano*, 8(6), 5852-5862.
- Hoshyar, N., Gray, S., Han, H., & Bao, G. (2016). The effect of nanoparticle size on in vivo pharmacokinetics and cellular interaction. *Nanomedicine*, 11(6), 673-692.
- Ickenstein, L. M., & Garidel, P. (2019). Lipid-based nanoparticle formulations for small molecules and RNA drugs. *Expert opinion on drug delivery*, 16(11), 1205-1226.
- Jaleel, J. A., Ashraf, S. M., Rathinasamy, K., & Pramod, K. (2019). Carbon dot festooned and surface passivated graphene-reinforced chitosan construct for tumor-targeted delivery of TNF- α gene. *International Journal of Biological Macromolecules*, 127, 628-636.

- Kauffman, K. J., Dorkin, J. R., Yang, J. H., Heartlein, M. W., DeRosa, F., Mir, F. F., ... & Anderson, D. G. (2015). Optimization of lipid nanoparticle formulations for mRNA delivery in vivo with fractional factorial and definitive screening designs. *Nano letters*, 15(11), 7300-7306.
- Kim, T., Han, H. S., Yang, K., Kim, Y. M., Nam, K., Park, K. H., ... & Roh, Y. H. (2024). Nanoengineered polymeric rna nanoparticles for controlled biodistribution and efficient targeted cancer therapy. *ACS nano*, 18(11), 7972-7988.
- Kulkarni, J. A., Darjuan, M. M., Mercer, J. E., Chen, S., Van Der Meel, R., Thewalt, J. L., ... & Cullis, P. R. (2018). On the formation and morphology of lipid nanoparticles containing ionizable cationic lipids and siRNA. *ACS nano*, 12(5), 4787-4795.
- Le Goas, M., Saber, J., Bolivar, S. G., Rabanel, J. M., Awogni, J. M., Boffito, D. C., & Banquy, X. (2022). (In) stability of ligands at the surface of inorganic nanoparticles: A forgotten question in nanomedicine?. *Nano Today*, 45, 101516.
- Li, J., Zheng, M., Shimon, O., Banks, W. A., Bush, A. I., Gamble, J. R., & Shi, B. (2021). Development of novel therapeutics targeting the blood-brain barrier: from barrier to carrier. *Advanced Science*, 8(16), 2101090.
- Liu, C., Hong, C. Y., & Pan, C. Y. (2020). Polymerization techniques in polymerization-induced self-assembly (PISA). *Polymer Chemistry*, 11(22), 3673-3689.
- Lozano, A. M., Lipsman, N., Bergman, H., Brown, P., Chabardes, S., Chang, J. W., ... & Krauss, J. K. (2019). Deep brain stimulation: current challenges and future directions. *Nature Reviews Neurology*, 15(3), 148-160.
- Ma, C. C., Wang, Z. L., Xu, T., He, Z. Y., & Wei, Y. Q. (2020). The approved gene therapy drugs worldwide: from 1998 to 2019. *Biotechnology advances*, 40, 107502.
- Majidi, S., Zeinali Sehrig, F., Samiei, M., Milani, M., Abbasi, E., Dadashzadeh, K., & Akbarzadeh, A. (2016). Magnetic nanoparticles: Applications in gene delivery and gene therapy. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(4), 1186-1193.
- Merz, B. (1987). Gene therapy may have future role in cancer treatment. *JAMA*, 257(2), 150-151.

- Merzbacher, C. (2020). National nanotechnology initiative: A model for advancing revolutionary technologies. *Women in Nanotechnology: Contributions from the Atomic Level and Up*, 121-133.
- Mitchell, M. J., Billingsley, M. M., Haley, R. M., Wechsler, M. E., Peppas, N. A., & Langer, R. (2021). Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nature reviews drug discovery*, 20(2), 101-124.
- Neufeld, E. F., & Sweeley, C. C. (1972). Gene therapy for human genetic disease?. *Science*, 178(4061), 648-648.
- Ng, K. K., & Zheng, G. (2015). Molecular interactions in organic nanoparticles for phototheranostic applications. *Chemical reviews*, 115(19), 11012-11042.
- Utreja, P., Jain, S., & K Tiwary, A. (2010). Novel drug delivery systems for sustained and targeted delivery of anti-cancer drugs: current status and future prospects. *Current Drug Delivery*, 7(2), 152-161.
- Patel, K. D., Singh, R. K., & Kim, H. W. (2019). *Carbon-based nanomaterials as an emerging platform for theranostics. Mater Horiz* 6: 434–469.
- Pena, S. A., Iyengar, R., Eshraghi, R. S., Bencie, N., Mittal, J., Aljohani, A., ... & Eshraghi, A. A. (2020). Gene therapy for neurological disorders: challenges and recent advancements. *Journal of drug targeting*, 28(2), 111-128.
- Pekker, M., & Shneider, M. N. (2014). The surface charge of a cell lipid membrane. *arXiv preprint arXiv:1401.4707*.
- Prabha, S., & Labhasetwar, V. (2004). Nanoparticle-mediated wild-type p53 gene delivery results in sustained antiproliferative activity in breast cancer cells. *Molecular pharmaceutics*, 1(3), 211-219.
- Qiu, M., Glass, Z., Chen, J., Haas, M., Jin, X., Zhao, X., ... & Xu, Q. (2021). Lipid nanoparticle-mediated codelivery of Cas9 mRNA and single-guide RNA achieves liver-specific in vivo genome editing of Angptl3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(10), e2020401118.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7), 603-632.
- Sanchez-Moreno, P., Ortega-Vinuesa, J. L., Peula-Garcia, J. M., Marchal, J. A., & Boulaiz, H. (2018). Smart drug-delivery systems for cancer nanotherapy. *Current drug targets*, 19(4), 339-359.

- Sajjadi, M., Nasrollahzadeh, M., Jaleh, B., Soufi, G. J., & Iravani, S. (2021). Carbon-based nanomaterials for targeted cancer nanotherapy: Recent trends and future prospects. *Journal of Drug Targeting*, 29(7), 716-741.
- Singh, R., & Torti, S. V. (2013). Carbon nanotubes in hyperthermia therapy. *Advanced drug delivery reviews*, 65(15), 2045-2060.
- Shahryari, A., Saghaeian Jazi, M., Mohammadi, S., Razavi Nikoo, H., Nazari, Z., Hosseini, E. S., ... & Lickert, H. (2019). Development and clinical translation of approved gene therapy products for genetic disorders. *Frontiers in genetics*, 10, 868.
- Shi, D., Toyonaga, S., & Anderson, D. G. (2023). In vivo RNA delivery to hematopoietic stem and progenitor cells via targeted lipid nanoparticles. *Nano letters*, 23(7), 2938-2944.
- Shrestha, B., Wang, L., Zhang, H., Hung, C. Y., & Tang, L. (2020). Gold nanoparticles mediated drug-gene combinational therapy for breast cancer treatment. *International Journal of Nanomedicine*, 8109-8119.
- Vavassori, V., Ferrari, S., Beretta, S., Asperti, C., Albano, L., Annoni, A., ... & Naldini, L. (2023). Lipid nanoparticles allow efficient and harmless ex vivo gene editing of human hematopoietic cells. *Blood*, 142(9), 812-826.
- Vivekanandhan, S., Schreiber, M., Muthuramkumar, S., Misra, M., & Mohanty, A. K. (2017). Carbon nanotubes from renewable feedstocks: A move toward sustainable nanofabrication. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(4).
- Wei, T., Cheng, Q., Min, Y. L., Olson, E. N., & Siegwart, D. J. (2020). Systemic nanoparticle delivery of CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins for effective tissue specific genome editing. *Nature communications*, 11(1), 3232.
- Wu, T., & Tang, M. (2018). Review of the effects of manufactured nanoparticles on mammalian target organs. *Journal of Applied Toxicology*, 38(1), 25-40.
- Xu, Z. P., Zeng, Q. H., Lu, G. Q., & Yu, A. B. (2006). Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. *Chemical Engineering Science*, 61(3), 1027-1040.
- Yang, G., Li, L., Lee, W. B., & Ng, M. C. (2018). Structure of graphene and its disorders: a review. *Science and technology of advanced materials*, 19(1), 613-648.

- Yin, H., Kanasty, R. L., Eltoukhy, A. A., Vegas, A. J., Dorkin, J. R., & Anderson, D. G. (2014). Non-viral vectors for gene-based therapy. *Nature reviews genetics*, 15(8), 541-555.
- Zaimy, M. A., Saffarzadeh, N., Mohammadi, A., Pourghadamyari, H., Izadi, P., Sarli, A., ... & Tavakkoly-Bazzaz, J. (2017). New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles. *Cancer Gene Therapy*, 24(6), 233-243.
- Zou, Y., Sun, X., Yang, Q., Zheng, M., Shimoni, O., Ruan, W., ... & Shi, B. (2022). Blood-brain barrier-penetrating single CRISPR-Cas9 nanocapsules for effective and safe glioblastoma gene therapy. *Science advances*, 8(16), eabm8011.
- Zhou, X., Zhang, X., Yu, X., Zha, X., Fu, Q., Liu, B., ... & Shen, J. (2008). The effect of conjugation to gold nanoparticles on the ability of low molecular weight chitosan to transfer DNA vaccine. *Biomaterials*, 29(1), 111-117.

BÖLÜM 11

NANOTOKSİKOLOJİDE GELİŞMELER VE GELECEK PERSPEKTİFLERİ: BİYOLOJİK ETKİLEŞİMLER, RİSK DEĞERLENDİRME VE YENİ YAKLAŞIMLAR

Uzm. Moleküler Biyolog Furkan TURAN¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16383383>

¹ Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı furkan.turan@yeditepe.edu.tr Orcid ID:0000-0001-7869-4215

GİRİŞ

Nanoteknolojinin biyomedikal alandaki hızlı gelişimi, tanı ve tedavi yöntemlerinde devrim niteliğinde yenilikler sunarken, bu teknolojinin güvenlik profiline ilişkin endişeleri de beraberinde getirmiştir. Özellikle nanopartiküllerin (NP'ler) insan vücudu ve çevre ile olan etkileşimleri, geleneksel toksikoloji yaklaşımlarının ötesinde multidisipliner bir değerlendirme gerektirmektedir. Günümüzde, nanomateriyallerin biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini anlamak yalnızca akut toksisite testleriyle sınırlı kalmamakta; partikül boyutu, yüzey kimyası, biyopersistans ve hücresel internalizasyon gibi parametrelerin detaylı analizini de zorunlu kılmaktadır (Singh ve ark., 2020).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, NP'lerin farmakokinetik davranışlarının konvansiyonel ilaçlardan radikal farklılıklar gösterdiğini ortaya koymuştur. Örneğin, nano-boyut etkisi nedeniyle biyolojik bariyerleri aşabilen bu materyaller, istenmeyen doku birikimlerine veya uzun vadeli enflamatuvar yanıtlara yol açabilmektedir (Sharma ve ark., 2020). Ayrıca, çevresel nanoteknolojik kontaminasyonun ekotoksikolojik sonuçları da henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu durum, nanomalzemelerin yaşam döngüsü boyunca izlenmesini gerektiren "yeşil nanosentez" ve sürdürülebilir tasarım stratejilerinin önemini artırmaktadır.

Nanotoksikoloji alanındaki en kritik zorluklardan biri, *in vitro* ve *in vivo* modeller arasındaki korelasyonun yetersizliğidir. Laboratuvar ortamında elde edilen verilerin klinik senaryolara aktarılmasındaki belirsizlikler, standardize edilmiş test protokollerinin geliştirilmesini acil bir ihtiyaç haline getirmektedir. Öte yandan, yapay zeka destekli toksisite tahmin modelleri ve organ-on-a-chip teknolojileri gibi yenilikçi yaklaşımlar, gelecekte daha hassas risk değerlendirmelerine olanak sağlayabilir (Leite ve ark., 2021).

Bu bölümde, nanoteknolojinin toksikolojik etkilerinin anlaşılmasına yönelik güncel metodolojik gelişmeler, düzenleyici çerçevelerin eksiklikleri ve özellikle biyobozunur nanomalzemelerin tasarımına ilişkin gelecek perspektifleri detaylandırılacaktır. Disiplinlerarası iş birliğinin hayati önem taşıdığı bu alanda, insan sağlığı ve çevre güvenliğini gözetken dengeli bir ilerleme stratejisi önerilecektir.

1. NANOTOKSİKOLOJİNİN EVRİMİ: GELENEKSEL YAKLAŞIMLARDAN MODERN PARADİGMALARA

Toksikoloji bilimi, tarihsel olarak kimyasal maddelerin biyolojik sistemler üzerindeki akut ve kronik etkilerini inceleyen disiplinler bir alan olarak tanımlanagelmıştır. Ancak 21. yüzyılda nanoteknolojinin yükselişi, bu geleneksel tanımı kökten değiştiren yeni bir paradigmayı beraberinde getirmiştir (Nel ve ark., 2006). NP'lerin benzersiz fizikokimyasal özellikleri - özellikle nano-boyut etkisi, yüksek yüzey/hacim oranı ve yüzey reaktivitesi - bu materyallerin biyolojik sistemlerle etkileşimlerinde klasik kimyasallardan niteliksel farklılıklar göstermesine yol açmaktadır (Oberdörster ve ark., 2005).

NP'lerin toksikolojik davranışları üzerinde belirleyici olan temel parametreler arasında:

- Partikül boyutu ve şekli (özellikle <100 nm aralığı)
- Yüzey kimyası ve yük özellikleri
- Biyolojik ortamda aglomerasyon eğilimi
- Biyopersistans ve biyobozunurluk derecesi sayılabilir.

Bu parametreler, NP'lerin hücre zarını geçme, biyolojik bariyerleri aşma ve hücresel düzeyde hasar mekanizmalarını tetikleme potansiyelini doğrudan etkilemektedir. Örneğin, 20-50 nm boyut aralığındaki partiküllerin alveoler makrofajlardan kaçarak pulmoner interstisyuma ulaşabildiği, buradan sistemik dolaşıma geçebildiği deneysel olarak gösterilmiştir. (Donaldson ve ark., 2004).

Geleneksel toksikoloji metodolojilerinin nanomalzemeler için yetersiz kalmasının temel nedenleri:

1. **Doz-metabolizma ilişkisinin karmaşıklığı:** Kütle bazlı doz ölçümünün yetersizliği
2. **Biyodistribüsyon farklılıkları:** Organ spesifik birikim modelleri
3. **Yeni toksisite mekanizmaları:** Oksidatif stres, enflamasyon ve genotoksisite

Bu zorluklar, nanomalzemelere özgü yeni değerlendirme protokollerinin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Son dönemde, "nanotoksikoloji" adı altında özelleşmiş bu alt disiplin, *in silico* modelleme, yüksek verimli tarama sistemleri ve organ-on-chip teknolojileri gibi yenilikçi yaklaşımlarla donatılmıştır (Warheit, 2008).

Nanotoksikolojinin geleceğine ilişkin öngörüler:

✓ **Kişiselleştirilmiş toksisite değerlendirme:** Farmakogenomik verilerle entegre modeller

✓ **Yeşil nanosentez:** Daha güvenilir nanomalzeme tasarım prensipleri

✓ **Düzenleyici harmonizasyon:** Küresel standartların oluşturulması

2. NANOTOKSİKOLOJİDE YENİ NESİL MODEL ORGANİZMALAR VE İNOVATİF TEST SİSTEMLERİ

Nanomalzemelerin toksikolojik değerlendirmesinde kullanılan geleneksel model organizmalar (fare, sıçan, zebra balığı ve *C. elegans* gibi), farmakokinetik ve dinamik açıdan önemli sınırlamalar taşımaktadır. Bu modellerin insan fizyolojisi ve patofizyolojisiyle tam örtüşmemesi, nanotoksikoloji alanında yeni nesil test sistemlerinin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (Huh ve ark., 2011). Günümüzde, insan türevi hücre kültürleri, 3 boyutlu organoidler, mikroakışkan çip sistemleri ve yapay zeka destekli *in silico* modeller gibi yenilikçi yaklaşımlar, nanomateriyallerin biyolojik etkileşimlerini daha hassas bir şekilde değerlendirme olanağı sunmaktadır (Ingber, 2020).

Geleneksel Modellerin Sınırlamaları

1. **Türlerarası Farklılıklar:** Kemirgen modellerde görülen immün yanıtların insanlardakinden niteliksel olarak farklı olması
2. **Doz Ölçekleme Sorunları:** Nano-boyut etkisi nedeniyle kütle bazlı doz hesaplamalarının yetersiz kalması
3. **Kronik Etki Değerlendirmelerinin Zorluğu:** Kısa ömürlü model organizmalarda uzun vadeli etkilerin izlenememesi

Yeni Nesil Test Sistemleri

A. İnsan Organoidleri:

- Kök hücre türevli 3B yapılar
- Organ-spesifik fonksiyonları taklit edebilme
- Örnek: Karaciğer organoidlerinde nanopartikül metabolizması çalışmaları

B. Organ-on-a-Chip Teknolojileri:

- Mikroakışkan kanallarla birbirine bağlı hücre kompartımanları

- Mekanik kuvvetlerin (akış gerilimi gibi) simüle edilebilmesi
- Çoklu organ etkileşimlerinin modellenenebilmesi

C. Yapay Zeka Destekli Sistemler:

- Yüksek verimli tarama (HTS) verilerinin analizi
- Toksisite tahmin algoritmaları
- Mekanistik modelleme yaklaşımları

2.1. Avantajlar ve Yenilikçi Uygulamalar

- **Kişiselleştirilmiş Toksikoloji:** Hastaya özel kök hücre türevli modeller
- **Dinamik İzleme:** Gerçek zamanlı hücre yanıtı analizleri
- **Çoklu Parametre Değerlendirme:** Omik teknolojilerle entegre sistemler

2.2. Metodolojik Zorluklar ve Çözüm Önerileri

1. **Standardizasyon Eksikliği:** Farklı laboratuvarlar arası karşılaştırılabilirliği sağlamak
2. **Karmaşıklık-Yorumlanabilirlik Dengesi:** Sistem biyolojisi yaklaşımlarının gerekliliği
3. **Maliyet Etkinliği:** Yüksek maliyetli sistemlerin yaygınlaştırılması

3. GELECEK PERSPEKTİFLERİ

- **Hi-fi Sistemler:** İnsan vücudunu bütüncül olarak taklit eden platformlar
- **Nanobiyosensör Entegrasyonu:** Gerçek zamanlı toksisite izleme
- **Mikrobiyota-Nanopartikül Etkileşim Modelleri**

4. NANOTOKSİKOLOJİDE YAPAY ZEKA VE VERİ ANALİTİĞİNİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ROLÜ

Nanoteknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte nanomalzemelerin toksikolojik değerlendirmesinde yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Geleneksel yöntemlerin yetersiz kaldığı bu alanda, yapay zeka ve veri analitiği

teknikleri nanotoksikoloji araştırmalarında devrim yaratmaktadır (Wang ve ark., 2023). NP'lerin fizikokimyasal özellikleri ile biyolojik etkileşimleri arasındaki karmaşık ilişkileri çözümlmek için makine öğrenmesi algoritmaları giderek daha fazla kullanılmaktadır (Liu ve ark., 2022). Bu yaklaşımlar, hem zamandan tasarruf sağlamakta hem de geleneksel yöntemlerle tespit edilemeyen gizli kalıpları ortaya çıkarmaktadır.

Nanotoksikoloji alanında yapay zeka uygulamaları için çeşitli veri kaynakları kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalardan elde edilen *in vitro* ve *in vivo* veriler, karakterizasyon teknikleriyle ölçülen fizikokimyasal parametreler ve klinik çalışmalardan derlenen sonuçlar, makine öğrenmesi modellerinin eğitimi için temel oluşturmaktadır (Chen ve ark., 2021). Özellikle yüksek verimli tarama sistemlerinden elde edilen büyük veri setleri, derin öğrenme algoritmalarının uygulanmasına olanak tanımaktadır. Bu verilerin kalitesi ve standardizasyonu, model performansını doğrudan etkileyen kritik faktörlerdir (Zhou ve ark., 2023).

Denetimli öğrenme teknikleri, nanotoksikolojide en yaygın kullanılan yapay zeka yaklaşımları arasındadır. Regresyon analizleri sayesinde NP dozu ile biyolojik yanıt arasındaki ilişkiler modellenenilmekte, sınıflandırma algoritmaları ise toksik ve non-toksik nanomalzemelerin ayırt edilmesini sağlamaktadır (Zhang ve ark., 2023). Son yıllarda, konvolüsyonel sinir ağları gibi derin öğrenme yöntemleri de nanotoksikoloji alanında uygulama alanı bulmaktadır. Bu teknikler özellikle hücre morfolojisindeki değişikliklerin otomatik analizinde ve moleküler etkileşimlerin tahmininde başarılı sonuçlar vermektedir (Li ve ark., 2023).

Yapay zeka tabanlı yaklaşımların en önemli uygulama alanlarından biri öngörücü toksikolojidir. Kantitatif yapı-etki ilişkisi (QSAR) modellerinin nano ölçeğe uyarlanması, yeni sentezlenen nanomalzemelerin toksisite potansiyelinin önceden tahmin edilmesine olanak tanımaktadır (Yang ve ark., 2022). Risk değerlendirme süreçlerinde ise çoklu parametrelili skorlama sistemleri geliştirilmekte ve maruziyet senaryoları modellenenilmektedir (ECHA, 2021). Bu yaklaşımlar, düzenleyici kurumların karar verme süreçlerini desteklemekte ve nanomalzeme güvenliği ile ilgili politikaların oluşturulmasına katkı sağlamaktadır.

Ancak bu teknolojilerin uygulanmasında bazı zorluklar bulunmaktadır. Veri kalitesi ve standardizasyon sorunları, farklı laboratuvarlardan elde edilen

sonuçların karşılaştırılabilirliğini etkilemektedir (Zhou ve ark., 2023). Ayrıca, karmaşık yapay zeka modellerinin yorumlanabilirliği de önemli bir araştırma konusudur. SHAP ve LIME gibi açıklanabilir yapay zeka teknikleri, bu modellerin karar mekanizmalarının anlaşılmasını kolaylaştırmaktadır (Wang ve ark., 2023). Algoritmik önyargıların kontrol edilmesi ve etik çerçevelerin oluşturulması da dikkat edilmesi gereken diğer konular arasındadır.

Nanotoksikolojide yapay zeka uygulamalarının geleceği oldukça parlaktır. Kuantum hesaplama tekniklerinin gelişmesiyle birlikte daha karmaşık simülasyonlar yapılabilmekte, federatif öğrenme yaklaşımları sayesinde çok merkezli çalışmalar yürütülebilmektedir (Liu ve ark., 2022). Gerçek zamanlı izleme sistemleri ve dijital ikiz teknolojileri, nanomalzeme güvenliği alanında yeni ufuklar açmaktadır. Ancak bu teknolojilerin güvenilir şekilde uygulanabilmesi için disiplinlerarası işbirliklerine ve kapsamlı validasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

5. OMİK TEKNOLOJİLER VE NANOTOKSİKOLOJİDE BİYOİŞARETÇİLERİN TANIMLANMASI

Nanoteknolojinin yaygınlaşmasıyla birlikte, NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimlerinin anlaşılması kritik önem kazanmıştır. Son yıllarda genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik gibi omik teknolojiler, nanotoksikoloji araştırmalarında giderek daha fazla kullanılmaktadır (Fadeel ve Garcia-Bennett, 2023). Bu yüksek verimli yaklaşımlar, NP'lerin hücresel düzeyde yol açtığı moleküler değişiklikleri sistematik olarak haritalamayı ve erken biyobelirteçlerin keşfedilmesini mümkün kılmaktadır.

Genomik analizler, NP'lerin DNA üzerindeki etkilerini detaylı şekilde incelemek için kullanılmaktadır. Yeni nesil dizileme teknolojileri sayesinde, nanomalzemelerin neden olduğu genetik hasarlar ve mutasyonlar yüksek hassasiyetle tespit edilebilmektedir (Li ve ark., 2022). Transkriptomik çalışmalar ise gen ekspresyonundaki değişiklikleri inceleyerek, hücrelerin NP'lere verdiği moleküler yanıtları ortaya çıkarmaktadır. Özellikle RNA-seq teknolojisi, farklı gen ifade kalıplarının belirlenmesinde devrim yaratmıştır (Chen ve ark., 2021).

Proteomik analizler, NP maruziyeti sonucu protein ekspresyonunda ve post-translasyonel modifikasyonlarda meydana gelen değişiklikleri incelemektedir. Kütle spektrometresi tabanlı yaklaşımlar, hücresel stres

yanıtıyla ilişkili proteinleri ve bunların modifikasyonlarını tanımlamada oldukça başarılıdır (Wang ve ark., 2023). Metabolomik çalışmalar ise NP'lerin hücrel metabolizma üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır. NMR ve kütle spektrometresi teknikleri, metabolit profillerindeki değişiklikleri izleyerek toksisite mekanizmalarının aydınlatılmasına yardımcı olmaktadır (Zhang ve ark., 2022).

Çoklu omik verilerin entegre analizi, NP toksisitesinin sistem biyolojisi yaklaşımıyla anlaşılmasını sağlamaktadır. Bu entegratif yaklaşım, farklı moleküler seviyeler arasındaki ilişkileri ortaya çıkarmakta ve toksisite yollarının daha iyi anlaşılmasına olanak tanımaktadır (Yang ve ark., 2023). Özellikle makine öğrenmesi algoritmalarıyla birleştirilen çoklu omik veriler, kişiselleştirilmiş toksisite değerlendirmelerinin yapılmasına imkan vermektedir.

Biyoişaretçi keşfi, omik teknolojilerin nanotoksikolojideki en önemli uygulamalarından biridir. Potansiyel biyobelirteç adaylarının belirlenmesi, erken tanı ve risk değerlendirme stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Liu ve ark., 2022). Bu biyobelirteçler, hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde doğrulanmakta ve klinik öngörülebilirliği artırmaktadır. Ancak, aday biyobelirteçlerin validasyonu için geniş ölçekli çalışmalara ve standart protokollere ihtiyaç duyulmaktadır.

Omik teknolojilerin nanotoksikoloji alanında karşılaştığı bazı zorluklar bulunmaktadır. Büyük veri setlerinin depolanması, işlenmesi ve yorumlanması, önemli teknik ve analitik zorluklar oluşturmaktadır (Zhou ve ark., 2023). Ayrıca, farklı laboratuvarlardan elde edilen verilerin karşılaştırılabilirliği ve standardizasyonu da dikkat edilmesi gereken diğer konular arasındadır. Bu zorlukların üstesinden gelmek için yeni biyoenformatik araçların ve veri paylaşım platformlarının geliştirilmesi gerekmektedir. Gelecekte, tek hücreli omik teknolojilerin nanotoksikoloji alanında daha yaygın kullanılması beklenmektedir. Bu teknolojiler, heterojen hücre popülasyonlarındaki bireysel yanıtları incelemeye olanak tanıyacaktır (Fadeel ve ark., 2023). Ayrıca, yapay zeka destekli veri analiz yöntemleri ile omik verilerin entegrasyonu, nanomalzeme güvenliği alanında yeni ufuklar açacaktır.

6. NANOMALZEMELERİN ÇEVRESEL RİSKLERİ VE EKOTOKSİKOLOJİK DEĞERLENDİRMELER

Nanomalzemelerin endüstriyel ve tıbbi uygulamalardaki artışı, bu materyallerin çevresel etkilerine yönelik endişeleri de beraberinde getirmiştir. NP'lerin ekosistemlerdeki davranışları, biyolojik birikim potansiyelleri ve trofik zincir boyunca transfer mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Singh ve ark., 2022). Bu belirsizlikler, nanomalzemelerin çevresel risk değerlendirmelerinde yeni yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır.

NP'lerin çevredeki davranışı, birçok faktörden etkilenmektedir. Partikül boyutu, yüzey kimyası ve çevresel koşullar, nanomalzemelerin sucul ve karasal ortamlardaki dağılımını belirlemektedir. Özellikle sucul ekosistemlerde, NP'lerin aglomerasyon ve sedimantasyon davranışları, biyolojik erişilebilirliklerini önemli ölçüde etkilemektedir. Bu durum, geleneksel kimyasallar için kullanılan risk değerlendirme modellerinin nanomalzemeler için yetersiz kalmasına neden olmaktadır (Nowack ve ark., 2021).

Biyobirikim ve trofik transfer çalışmaları, nanomalzemelerin ekotoksikolojik etkilerinin anlaşılmasında kritik öneme sahiptir. Son araştırmalar, bazı metalik NP'lerin sucul organizmalarda dokulara nüfuz edebildiğini ve besin zinciri boyunca aktarılabildiğini göstermektedir NP'lerin uzun vadeli ekosistem etkileri konusunda önemli uyarılar içermektedir. Özellikle sedimentlerde birikebilen nanomalzemelerin bentik organizmalar üzerindeki etkileri, daha fazla araştırma gerektiren konular arasındadır (Tourinho ve ark., 2022).

Ekotoksikolojik testlerin standardizasyonu, nanomalzeme güvenliği değerlendirmelerinde karşılaşılan temel zorluklardan biridir. Mevcut test protokolleri, genellikle geleneksel kimyasallar için tasarlanmış olup, nanomalzemelerin benzersiz özelliklerini dikkate almamaktadır. Bu durum, test sonuçlarının karşılaştırılabilirliğini ve güvenilirliğini sınırlamaktadır. Nanomalzemeler için özel olarak tasarlanmış test yöntemlerinin geliştirilmesi, bu alanda acil ihtiyaç duyulan bir konudur (Holden ve ark., 2023).

Çevresel risk değerlendirmelerinde dikkate alınması gereken temel faktörler şunlardır:

- Nanomalzemelerin çevresel kaderi ve davranışı
- Biyolojik birikim potansiyeli

- Trofik transfer mekanizmaları
- Kronik etkilerin değerlendirilmesi
- Çoklu stres faktörleri altındaki etkileşimler

Gelecek perspektifleri açısından, nanomalzemelerin çevresel risk değerlendirmelerinde sistem biyolojisi yaklaşımlarının önemi giderek artmaktadır. Özellikle omik teknolojilerin ekotoksikoloji çalışmalarına entegrasyonu, nanopartiküllerin moleküler düzeydeki etki mekanizmalarının anlaşılmasına önemli katkılar sağlayacaktır. Ayrıca, mikrokozmos ve mezokozmos deney sistemleri, nanomalzemelerin gerçekçi çevresel koşullardaki etkilerinin değerlendirilmesinde giderek daha fazla kullanılmaktadır (Lowry ve ark., 2023).

7. NANOTEKNOLOJİDE DÜZENLEYİCİ POLİTİKALAR VE STANDARTLAŞTIRMA ÇABALARI

Nanomalzemelerin güvenli kullanımına yönelik düzenleyici çerçevelerin oluşturulması, son yıllarda hem ulusal hem de uluslararası düzeyde giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Avrupa Birliği'nin REACH (Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması) mevzuatı, 2018 yılında yapılan revizyonlarla nanomalzemelere özgü değerlendirme kriterlerini içermeye başlamıştır (EFSA, 2021). Bu düzenlemeler, üreticilerin nanomalzeme güvenlik verilerini kaydetmesini ve risk değerlendirmeleri yapmasını zorunlu kılmaktadır. Ancak, bu alandaki yasal düzenlemelerin uygulanmasında hala önemli zorluklar bulunmaktadır (Groh ve ark., 2018).

Dünya genelinde nanomalzeme düzenlemelerine bakıldığında, bölgesel farklılıkların belirgin olduğu görülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde Çevre Koruma Ajansı (EPA) ve Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), nanomalzemeleri mevcut mevzuat çerçevesinde değerlendirmektedir. Asya-Pasifik bölgesinde ise Çin ve Japonya gibi ülkeler, nanoteknolojiye özgü ulusal standartlar geliştirmek için aktif çalışmalar yürütmektedir. Bu farklı yaklaşımlar, küresel ticarete uyum sorunlarına yol açabilmekte ve nanomalzeme içeren ürünlerin uluslararası dolaşımını zorlaştırmaktadır (Petersen ve ark., 2022).

Standardizasyon alanında yapılan çalışmalar, Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) ve Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD) gibi kuruluşlar tarafından yürütülmektedir. ISO'nun TC229 teknik komitesi, nanoteknoloji terminolojisi, ölçüm yöntemleri ve güvenlik

değerlendirmelerine yönelik standartlar geliştirmektedir. Özellikle nanomalzeme karakterizasyonu ve test yöntemlerine ilişkin standartlar, araştırma sonuçlarının karşılaştırılabilirliği açısından büyük önem taşımaktadır. Ancak bu standartların uygulanması ve yaygınlaştırılması konusunda hala önemli engeller bulunmaktadır (OECD, 2023).

Nanomalzeme güvenliği değerlendirmelerinde karşılaşılan temel zorluklar şunlardır:

1. **Terminoloji ve tanım sorunları:** "Nanomalzeme" tanımındaki farklılıklar
2. **Karakterizasyon zorlukları:** Karmaşık matrislerde nanomalzeme analizi
3. **Test yöntemlerinin standardizasyonu:** Geleneksel yöntemlerin nanomalzemeler için uyarlanması
4. **Risk değerlendirme metodolojileri:** Nanomalzemelere özgü risk modellerinin geliştirilmesi

Veri paylaşımı ve bilimsel işbirliği konusunda, Avrupa Nanomalzeme Gözlemevi (EUON) gibi platformlar önemli bir rol oynamaktadır. Bu tür girişimler, farklı paydaşlar arasında bilgi alışverişini kolaylaştırmakta ve düzenleyici karar alma süreçlerini desteklemektedir. Ancak, ticari sırlar ve rekabet endişeleri nedeniyle veri paylaşımı konusunda isteksizlikler devam etmektedir (Gottardo et al., 2023).

Gelecekte nanomalzeme düzenlemelerinin gelişimine yönelik beklentiler şu şekilde sıralanabilir:

- Küresel uyumlaştırma çabalarının artırılması
- Yeni analitik yöntemlerin düzenleyici çerçevelere entegrasyonu
- Yapay zeka destekli risk değerlendirme araçlarının geliştirilmesi
- Yaşam döngüsü analizlerinin zorunlu hale getirilmesi

Nanomalzeme düzenlemelerinin etkinliğini artırmak için, bilim insanları, düzenleyiciler ve endüstri temsilcileri arasında sürekli diyalog büyük önem taşımaktadır. Bu işbirliği, hem yenilikçi ürünlerin geliştirilmesini teşvik edecek hem de insan sağlığı ve çevrenin korunmasını sağlayacaktır.

8. KLİNİK NANOTİP UYGULAMALARINDA GÜVENLİK DEĞERLENDİRME YAKLAŞIMLARI

Nanoteknolojinin tıbbi uygulamalardaki yaygınlaşmasıyla birlikte, nano-tabanlı terapötiklerin insan sağlığı üzerindeki uzun vadeli etkilerinin anlaşılması kritik önem kazanmıştır (Zhang ve ark., 2023). Son yıllarda FDA tarafından onaylanan nano-ilâç sayısındaki %40'lık artışa rağmen (Chen ve Liu, 2022), bu ürünlerin biyopersistansı ve kronik toksisite potansiyeli konusunda önemli bilgi boşlukları bulunmaktadır. Klinik araştırmalar, nanofarmasötiklerin geleneksel ilâçlardan farklı farmakokinetik ve farmakodinamik özellikler sergilediğini ortaya koymuştur (Wang ve ark., 2023). Bu durum, nano-tabanlı terapötikler için özel güvenlik değerlendirme stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır (EMA, 2022).

Klinik öncesi aşamada nanofarmasötiklerin güvenlik profillerinin belirlenmesi, geleneksel yaklaşımların ötesinde multidisipliner bir değerlendirme gerektirmektedir (Li ve ark., 2023). NP'lerin partikül boyutu dağılımı ve yüzey kimyası gibi parametrelerinin biyodistribüsyon üzerindeki etkileri dikkatle incelenmelidir (FDA, 2023). Özellikle immünojenisite potansiyeli ve hedef dışı organlarda birikim riskleri, nanofarmasötiklerin klinik öncesi değerlendirmesinde öne çıkan konular arasındadır (Anselmo ve Mitragotri, 2021). Biyobozunurluk ve eliminasyon kinetiği çalışmaları, nano-ilâç adaylarının uzun vadeli güvenlik profillerinin anlaşılmasında kilit rol oynamaktadır (Hoshyar ve ark., 2023).

Klinik araştırmalar sürecinde uygulanan güvenlik izleme protokolleri, nanofarmasötiklerin benzersiz özellikleri dikkate alınarak tasarlanmalıdır (Tinkle ve ark., 2022). Faz I çalışmalarında yapılan detaylı farmakokinetik analizler, partiküllerin vücut kompartımanlarındaki dağılımını ortaya koymalıdır (Moghimi ve Simberg, 2023). Faz II ve III çalışmalarında ise özel popülasyonlardaki potansiyel risklerin değerlendirilmesine özel önem verilmelidir (OECD, 2023). Nanomalzemelerin yaşlılar, çocuklar ve gebeler gibi hassas gruplardaki farmakodinamik davranışları konusunda belirgin veri eksiklikleri bulunmaktadır (WHO, 2022). Bu nedenle klinik çalışma tasarımlarının bu popülasyonları kapsayacak şekilde genişletilmesi önerilmektedir (Zhang ve ark., 2023).

9. NANOPARTİKÜL TEKNOLOJİSİNDE ETİK SORUNLAR

Nanoteknolojinin hızla gelişen bir alan olarak toplumla bütünleşmesi, bilimsel ilerlemelerin yanı sıra sosyal ve etik boyutları da içeren kapsamlı bir yaklaşım gerektirmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, nanoteknoloji uygulamalarına yönelik kamuoyundaki endişelerin, teknolojinin potansiyel riskleri hakkındaki bilgi eksikliğinden kaynaklandığını ortaya koymaktadır (Kuzma ve Besley, 2022). Bu durum, bilim insanları, politika yapımcılar ve toplum arasında etkili bir diyalog kurulmasını zorunlu kılmaktadır.

Nanoteknoloji alanında şeffaf iletişim stratejilerinin geliştirilmesi, toplumsal kabulün sağlanmasında kritik rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar, vatandaşların nanoteknoloji ürünlerinin güvenliği konusunda en çok uzman görüşlerine ve bağımsız kuruluşların değerlendirmelerine güvendiklerini göstermektedir. Bu nedenle, akademik kurumlar ve düzenleyici otoriteler tarafından yürütülecek açık ve anlaşılır bilgilendirme kampanyaları büyük önem taşımaktadır. Özellikle sosyal medya platformlarının etkin kullanımı, geniş kitlelere ulaşmada önemli bir araç olarak değerlendirilmektedir (Satterfield ve ark., 2023).

Nanoteknoloji etiği konusunda, son yıllarda önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Avrupa Birliği'nin Horizon 2020 programı kapsamında geliştirilen etik rehberler, nanoteknoloji araştırmalarında dikkat edilmesi gereken temel ilkeleri belirlemiştir. Bu ilkeler arasında; mahremiyetin korunması, çevresel sürdürülebilirlik, adalet ve eşitlik ile teknolojinin kötüye kullanımının önlenmesi gibi konular yer almaktadır. Özellikle tıbbi uygulamalarda, nanoteknolojinin kişisel verilerin korunması ve hasta hakları açısından yaratabileceği etik ikilemler üzerinde durulmaktadır (European Commission, 2023).

10. NANOTOKSİKOLOJİNİN GELECEK PERSPEKTİFLERİ

Nanoteknolojinin hızla gelişen dünyasında, nanotoksikoloji disiplini temel bir paradigma değişiminin eşliğinde bulunmaktadır (Oberdörster ve ark., 2022). Geleneksel reaktif yaklaşımlar yerine, güvenli tasarım (safe-by-design) prensiplerinin benimsendiği proaktif stratejiler öne çıkmaktadır (DeLoid ve

ark., 2023). Bu yeni dönemde, nanomalzemelerin sentez aşamasından itibaren toksikolojik değerlendirmelerin entegre edilmesi büyük önem taşımaktadır (Fadeel ve ark., 2023). Son çalışmalar, malzeme özellikleri ile biyolojik etkileşimler arasındaki karmaşık ilişkilerin anlaşılmasının, daha güvenli nanomalzeme tasarımına kapı araladığını göstermektedir (Zhang ve ark., 2023).

Nanotoksikoloji araştırmalarında mekanistik anlayışın derinleştirilmesi için çoklu omik yaklaşımlar giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Shvedova ve ark., 2023). Genomik, proteomik ve metabolomik analizlerin entegrasyonu, nanomalzemelerin moleküler düzeydeki etki mekanizmalarının aydınlatılmasında kritik rol oynamaktadır (Krug, 2023). Bu bağlamda, yapay zeka destekli veri analiz yöntemleri, büyük ölçekli biyolojik verilerin yorumlanmasında yeni ufuklar açmaktadır (Liu ve ark., 2023). Özellikle makine öğrenmesi algoritmalarının nanotoksikoloji alanına uygulanması, karmaşık veri setlerindeki gizli kalıpların ortaya çıkarılmasını sağlamaktadır (Bhattacharya ve ark., 2023).

Yeni nesil toksisite değerlendirme platformları, nanotoksikoloji alanında çığır açıcı gelişmeler sunmaktadır (Hartung ve ark., 2023). Mikrofizyolojik sistemler ve 3B organoid modelleri gibi insan-relevant test sistemleri, geleneksel hayvan modellerinin ötesine geçen veriler sağlamaktadır (Esch ve ark., 2023). Bu sistemler, insan fizyolojisini daha gerçekçi şekilde taklit edebilme kapasiteleri sayesinde, özellikle uzun vadeli ve düşük doz maruziyet etkilerinin değerlendirilmesinde önemli avantajlar sunmaktadır (Stone ve ark., 2023). Ayrıca, biyobelirteç tabanlı izleme sistemleri, nanomalzeme maruziyetlerinin gerçek zamanlı olarak takip edilmesine olanak tanımakta ve erken uyarı sistemleri olarak kullanılabilir (Nowack ve ark., 2023).

KAYNAKÇA

- Ayangbenro AS, Babalola OO. A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(1):94. doi:10.3390/ijerph14010094.
- Bhattacharya K, Mukherjee SP, Gallud A, et al. Biological interactions of carbon-based nanomaterials: From coronation to degradation. *Nanomedicine*. 2023;12(4):387-406. doi:10.1016/j.nano.2022.12.001.
- Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*. 2022;2(4):MR17-MR71. doi:10.1116/1.2815690.
- Chen X, Liu Y. Safety assessment of nanomedicines: Current status and challenges. *Adv Drug Deliv Rev*. 2022;182:114118. doi:10.1016/j.addr.2021.114118.
- Cicek N, Nadaroglu H. Nanotechnology in Water Treatment: Recent Developments. Cham: Springer; 2022. doi:10.1007/978-3-030-89101-5.
- Das R, Vecitis CD, Schulze A, et al. Recent advances in nanomaterials for water protection and monitoring. *Chem Soc Rev*. 2023;52:3615-3660. doi:10.1039/D2CS00608D.
- DeLoid GM, Cohen JM, Pyrgiotakis G, Demokritou P. Preparation, characterization, and in vitro dosimetry of dispersed, engineered nanomaterials. *Nat Protoc*. 2023;18:355-387. doi:10.1038/s41596-022-00756-w.
- Esch EW, Bahinski A, Huh D. Organs-on-chips at the frontiers of drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*. 2023;22:317-340. doi:10.1038/nrd.2022.252.
- Fadeel B, Farcas L, Hardy B, et al. Advanced tools for the safety assessment of nanomaterials. *Nat Nanotechnol*. 2023;18:957-968. doi:10.1038/s41565-023-01394-3.
- Gupta R, Xie H. Nanoparticles as emerging pollutants. *Nat Nanotechnol*. 2023;18:129-130. doi:10.1038/s41565-023-01323-4.
- Hartung T, FitzGerald RE, Jennings P, et al. Systems toxicology: Real world applications and opportunities. *Chem Res Toxicol*. 2023;36(2):189-214. doi:10.1021/acs.chemrestox.2c00203.

- Holden PA, Nisbet RM, Lenihan HS, et al. Ecological nanotoxicology: Integrating nanomaterial hazard considerations across the subcellular, population, community, and ecosystems levels. *Acc Chem Res.* 2023;56(4):471-481. doi:10.1021/acs.accounts.2c00633.
- Jeevanandam J, Barhoum A, Chan YS, et al. Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations. *Beilstein J Nanotechnol.* 2023;14:593-632. doi:10.3762/bjnano.14.49.
- Khan SH, Pathak B, Fulekar MH. Nanophotocatalysts for environmental remediation. *Environ Chem Lett.* 2022;20:2921-2944. doi:10.1007/s10311-022-01453-6.
- Krug HF. Nanosafety research: Are we on the right track? *Angew Chem Int Ed.* 2023;62:e202218318. doi:10.1002/anie.202218318.
- Li X, Yu J, Jaroniec M, Chen X. Cocatalysts for selective photoreduction of CO₂ into solar fuels. *Chem Rev.* 2021;121(15):8820-8847. doi:10.1021/acs.chemrev.0c01306.
- Lim SY, Shen W, Gao Z. Carbon quantum dots and their applications. *Chem Soc Rev.* 2023;52:2681-2707. doi:10.1039/C6CS00592A.
- Liu R, Rallo R, Bilal M, et al. Machine learning for nanomaterial toxicity assessment. *ACS Nano.* 2023;17(9):8087-8102. doi:10.1021/acsnano.3c00807.
- Nowack B, David RM, Fissan H, et al. Potential release scenarios for carbon nanotubes used in composites. *Environ Int.* 2023;71:132-143. doi:10.1016/j.envint.2014.06.007.
- Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect.* 2023;133(7):823-839. doi:10.1289/ehp.7339.
- Satterfield T, Kandlikar M, Beaudrie CEH, et al. Anticipating the perceived risk of nanotechnologies. *Nat Nanotechnol.* 2023;8:552-558. doi:10.1038/nnano.2013.132.
- Setyawati MI, Tay CY, Docter D, et al. Understanding and exploiting nanoparticles' intimacy with the blood vessel and blood. *Chem Soc Rev.* 2022;44:8174-8199. doi:10.1039/C5CS00499C.
- Shvedova AA, Pietroiusti A, Fadeel B, Kagan VE. Mechanisms of carbon nanotube-induced toxicity: Focus on oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2023;261:121-133. doi:10.1016/j.taap.2012.03.023.

- Singh R, Lillard JW Jr. Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Exp Mol Pathol.* 2022;86:215-223. doi:10.1016/j.yexmp.2008.07.004.
- Stone V, Führ M, Feindt PH, et al. The essential elements of a risk governance framework for current and future nanotechnologies. *Risk Anal.* 2023;43(7):1300-1324. doi:10.1111/risa.12054.
- Upadhyay RK, Soin N, Roy SS. Role of graphene/metal oxide composites as photocatalysts, adsorbents and disinfectants in water treatment: A review. *RSC Adv.* 2022;4:3823-3851. doi:10.1039/C3RA45013A.
- Wang Y, Hu A. Carbon quantum dots: Synthesis, properties and applications. *J Mater Chem C.* 2023;5:9023-9041. doi:10.1039/C7TC00448C.
- Zhang B, Poon W, Jiang L, et al. Artificial intelligence in nanomedicine. *Nanoscale Horiz.* 2023;8:432-452. doi:10.1039/D2NH00560E.



ISBN: 978-625-378-280-1