



**TİTANYUM DİOKSİT (TiO₂) NANOPARTİKÜLLERİNİN İĞNE VE
KÜRESEL FORMLARININ *IN VITRO* İNSAN PERİFERAL
LENFOSİTLERİNDEKİ GENOTOKSİK ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Koray AKKURT

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

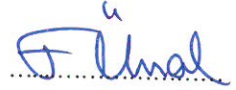
ARALIK 2019

Koray AKKURT tarafından hazırlanan "TİTANYUM DİOKSİT (TiO_2) NANOPARTİKÜLLERİNİN İĞNE VE KÜRESEL FORMLARININ *IN VITRO* İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDEKİ GENOTOKSİK ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Fatma ÜNAL

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

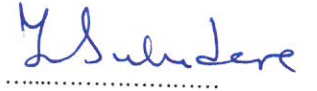
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Başkan : Prof. Dr. Zekiye SULUDERE

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Üye : Prof. Dr. Reyhan ÇOLAK

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 13/12/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

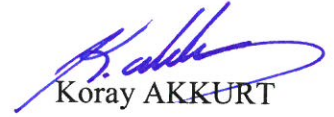
.....
Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.


Koray AKKURT

13/12/2019

**TİTANYUM DİOKSİT (TiO₂) NANOPARTİKÜLLERİNİN İĞNE VE KÜRESEL
FORMLARININ *IN VITRO* İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDEKİ
GENOTOKSİK ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**
(Yüksek Lisans Tezi)

Koray AKKURT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2019

ÖZET

Bu çalışmada, 100 nm'nin altındaki iğnemsî (İ) Titanyum Dioksit Nanopartikülleri (TDNP-İ) ile küresel (K) Titanyum Dioksit Nanopartiküllerinin (TDNP-K) insan periferik lenfositlerindeki genotoksik etkileri kromozom anormallikleri (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD) ve mikronukleus (MN) testleri ile incelenmiştir. Lenfositler, her iki nanopartikülün 125, 250, 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlarına, 24 ve 48 saat maruz bırakılmıştır. 24 saatlik uygulamada, TDNP-İ'nin tüm konsantrasyonları KA frekansı ve KA/Hücre sayısını negatif kontrole kıyasla artırmıştır. Ancak bu artışlar, sadece 250 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda anlamlı düzeydedir. 48 saatlik uygulamada, hem anormal hücre frekansında ve hem de KA/Hücre sayısında artış ve hafif azalışlar olmakla birlikte, sadece 1.000 µg/mL'lik konsantrasyondaki artışlar hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlıdır. TDNP-K'nın da 24 saatlik uygulamasında, hem KA frekansında ve hem de KA/Hücre sayısında artışlar tespit edilmiştir. Ancak bu artış, KA frekansında sadece 1.000 µg/mL'de (çözücü kontrole kıyasla), KA/Hücre sayısında ise sadece 500 µg/mL'de hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlıdır. 48 saatlik uygulamada ise, hem KA frekansında ve hem de KA/Hücre sayısında artış ve hafif azalışlar olmakla birlikte, 250, 500 ve 1.000 µg/mL'de, KA/Hücre sayısının çözücü kontrole kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. TDNP-İ'nin 24 saatlik uygulamasında, 250 ve 500 µg/mL'de, KKD sayısında çözücü kontrole kıyasla anlamlı düşüş gözlenirken, 125 ve 1.000 µg/mL'de anlamlı artış tespit edilmiştir. 48 saatlik uygulamada, KKD sayısı, çözücü kontrole kıyasla, 125 µg/mL'de anlamlı azalış gösterirken, diğer tüm konsantrasyonlarda anlamlı artış göstermiştir. TDNP-K'nın hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamasında, 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda KKD sayısında çözücü kontrole kıyasla anlamlı artış tespit edilmiştir. MN testinde, TDNP-İ 500 ve 1.000 µg/mL'de, TDNP-K ise sadece 1.000 µg/mL'de, MN frekansını çözücü kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artırmıştır. Mitotik İndeks (MI)'in, TDNP-İ'nin 24 saatlik uygulamasında 1.000 µg/mL'de çözücü kontrole kıyasla anlamlı düşüş gösterdiği, diğer konsantrasyonlarda ise artış gösterdiği, bu artışların sadece 250 µg/mL'de negatif kontrole kıyasla anlamlı olduğu belirlenmiştir. 48 saatlik uygulamada, MI'in 500 ve 1.000 µg/mL'de hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı düşüş gösterdiği belirlenmiştir. TDNP-K uygulamasında, 24 saatte 1.000 µg/mL'de (hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla), 48 saatte 250, 500 ve 1.000 µg/mL'de negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde düştüğü belirlenmiştir. Bu iki nanopartikül Nükleer Bölünme İndeksi (NBI) ve Replikasyon İndeksinde (RI), kontrollere kıyasla anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Bu sonuçlar, her iki formdaki nanopartikülün zayıf sitotoksik, genotoksik ve klastojenik olduğunu göstermektedir.

Bilim Kodu : 20316
Anahtar Kelimeler : Titanyum dioksit, nanopartikül, kromozom anormallikleri (KA) testi, mikronukleus (MN) testi, kardeş kromatid değişimi (KKD) testi.
Sayfa Adedi : 85
Danışman : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

COMPARISON OF *IN VITRO* GENOTOXIC EFFECTS OF NEEDLE-LIKE AND
SPHERIC TITANIUM DIOXIDE (TiO₂) NANOPARTICLES (NPs) IN HUMAN
PERIFERAL BLOOD LYMPHOCYTE

(M. Sc. Thesis)

Koray AKKURT

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2019

ABSTRACT

In this study, genotoxic effects of needle-like Titanium Dioxide Nanoparticles (TiO₂ NP-N) and spheric Titanium Dioxide Nanoparticles (TiO₂ NP-S) below 100 nm were examined in human peripheral lymphocyte by using Chromosome Aberration (CA), Sister Chromatid Exchange (SCE) and Micronucleus (MN) assays. Lymphocytes were exposed to 125, 250, 500 and 1,000 µg/mL concentrations of both nanoparticles for 24 h and/or 48h. At 24h treatment, all the concentrations of TiO₂ NP-N increased the frequency of aberrant cells and CA/cell number compared to negative control. However, this increase was significant at the 250 and 1,000 µg/mL concentrations. Although there was an increase and a slight decrease in the frequency of aberrations and in CA/Cell at 48 h treatment, the values observed following 1,000 µg/mL showed statistically significant increase compared to negative and solvent controls. TiO₂ NP-S, at 24 h treatment, increased the frequency of CAs and CA/Cell compared to negative control. However increase in the frequency of CAs was statistically significant at 1,000 µg/mL (compared to solvent control) and, was statistically significant at 500 µg/mL in CAs/Cell compared to both negative and solvent controls. At 48 h treatment, while both increasing and decreasing were observed in the frequency of aberrations and CAs/Cell, only CA/Cell statistically increased at 250, 500 and 1,000 µg/mL compared to solvent control. While TiO₂ NP-N, at 24 h exposure, significantly reduced SCE/Cell at 250 and 500 µg/mL compared to solvent control, it significantly increased SCE/Cell at 125 and 1,000 µg/mL. At 48 h exposure, while SCE/Cell significantly reduced at 125 µg/mL compared to negative control, all the other concentrations (250, 500, and 1,000 µg/mL) significantly increased the same parameter. TiO₂ NP-S significantly increased the number of SCEs at 500 and 1,000 µg/mL compared to solvent control. TiO₂ NP-N at 500 ve 1,000 µg/mL significantly increased the frequency of MN compared to solvent control. In Mitotic Index, at 24 h exposure time, while significant reduction was observed at 1,000 µg/mL following TiO₂ NP-N exposure compared to solvent control, increasing was evident at all the other concentrations, among them only 250 µg/mL was significant compared to negative control. At 48 h exposure, MI significantly reduced at 500 and 1,000 µg/mL compared to both negative and solvent controls. TiO₂ NP-S treatment decreased MI at 1,000 µg/mL for 24 h (compared to both negative and solvent controls) and, at 250, 500, and 1,000 µg/mL for 48 h compared to negative control. Neither of these nanoparticles affects nuclear division index and replication index compared to controls. These results show that both forms of nanoparticles induce low cytotoxic, genotoxic and clastogenic effects.

Science Code : 20316

Key Words : Titanium dioxide, nanoparticle, chromosomal abberation (CA) assay, micronucleus (MN) assay, sister chromatid exchange (SCE) assay

Page Number : 85

Supervisor : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca, ilminden faydalandığım, bir an bile hoşgörüsünü, sabrını ve desteğini esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Fatma ÜNAL'a, bilgi ve görüşleriyle her konuda destek veren değerli Hocam Prof. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU'na ve bu tez çalışmasında kullandığımız nanopartiküllerden birini bize hediye eden değerli Hocam Prof. Dr. Halil İbrahim ÜNAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma da teşekkür ederim. Ayrıca eğitim hayatım boyunca maddi, manevi destekleri ile her zaman yanımda olan saygıdeğer eşim, annem, babam, kardeşim ve tüm aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Nanoteknoloji ve Nanoteknolojik Gelişmelerin Tarihçesi	3
2.2. Nanopartiküller ve Kullanım Alanları.....	4
2.3. Nanopartiküllerin Toksik Etkileri	11
2.4. Nanopartiküllerin Genotoksik Etkileri	16
2.5. TiO ₂ Nanopartikülleri ile Yapılan Toksisite ve Genotoksisite Çalışmaları	20
2.6. Genetik Toksisite Testleri.....	23
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Materyal.....	29
3.1.1. Kromozom incelemesi için materyal.....	29
3.1.2. Test materyali ve kullanılan kimyasallar	29
3.2. Metot	30
3.2.1. Test materyalinin hazırlanması	30
3.3. Preperatların Hazırlanması	31
3.3.1. Kültürdeki insan lenfositlerinde uygulanan testler.....	31

Sayfa

4. ARAŞTIRMA BULGULARI	35
4.1. TiO ₂ Nanopartiküllerinin İğne ve Küresel Formlarının Kromozomal Anormallik ve Mitotik İndeks Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması	35
4.2. TiO ₂ Nanopartiküllerinin İğne ve Küresel Formlarının Kardeş Kromatid Değişimi ve Replikasyon İndeksi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması	44
4.3. TiO ₂ Nanopartiküllerinin İğne ve Küresel Formlarının Mikronukleus ve Nükleer Bölünme İndeksi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması	48
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	85

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. TiO ₂ -NP-iğne formunun insan periferal lenfositlerinde kromozom anormalliklerine etkisi.....	37
Çizelge 4.2. TiO ₂ -NP-küresel formunun insan periferal lenfositlerinde kromozom anormalliklerine etkisi.....	38
Çizelge 4.3. TiO ₂ -NP-iğne formunun insan periferal lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi ve replikasyon indeksine etkisi	45
Çizelge 4.4. TiO ₂ -NP-küresel formunun insan periferal lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi ve replikasyon indeksine etkisi.....	45
Çizelge 4.5. TiO ₂ -NP-iğne formunun insan periferal lenfositlerinde mikronukleus oluşumuna etkisi	49
Çizelge 4.6. TiO ₂ -NP-küresel formunun insan periferal lenfositlerinde mikronukleus oluşumuna etkisi	49
Çizelge 5.1. TiO ₂ -NP-iğne ve TiO ₂ -NP-küresel formlarının, insan periferal lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik uygulamalarının anormal hücre yüzdesi, KA/Hücre, KKD, MI, MN, RI ve NBI sonuçlarının karşılaştırılması.....	66

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde anormal hücre frekansına etkisi	38
Şekil 4.2. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde anormal hücre frekansına etkisi	39
Şekil 4.3. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde KA/Hücre oranına etkisi	39
Şekil 4.4. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde KA/Hücre oranına etkisi	40
Şekil 4.5. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde mitotik indekse etkisi.....	40
Şekil 4.6. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde mitotik indekse etkisi.....	41
Şekil 4.7. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre frekansına etkisi.....	46
Şekil 4.8. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre frekansına etkisi.....	46
Şekil 4.9. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksine etkisi	47
Şekil 4.10. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksine etkisi	47
Şekil 4.11. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının, insan periferel lenfositlerinde mikronukleus frekansına etkisi	50
Şekil 4.12. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının, insan periferel lenfositlerinde nükleer bölünme indeksine etkisi.....	50

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. TiO_2 -NP-iğne formunun SEM görüntüsü	30
Resim 3.2. TiO_2 -NP-küresel formunun SEM görüntüsü.....	30
Resim 4.1. TiO_2 -NP-iğne formunun etkisi sonucunda oluşan kromozom anormallikleri a) kromatit kırığı, b) kromozom kırığı, c)disentrik, d) kardeş kromatitlerde birleşme, e) fragment, f) poliploidi.....	42
Resim 4.2. TiO_2 -NP-küresel formunun etkisi sonucunda oluşan kromozom anormallikleri a) kromatit kırığı, b) kromozom kırığı, c) disentrik, d) kardeş kromatitlerde birleşme, e) fragment, f) poliploidi.....	43
Resim 4.3. NP'lerin etkisi sonucunda oluşan kardeş kromatit değişimleri a) TiO_2 -NP-iğne formu, b) TiO_2 -NP-küresel formu.....	48
Resim 4.4. NP'lerin etkisi sonucunda oluşan mikronukleuslu binükleat hücre a) TiO_2 -NP-iğne formu, b) TiO_2 -NP-küresel formu.....	50
Resim 5.1. Genotoksisite mekanizmaları	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler Açıklamalar

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µg/ml	Mikrogram/ Mililitre
µL	Mikrolitre
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
rpm	Devir sayısı

Kısaltmalar Açıklamalar

Al ₂ S ₃	Alüminyum Sülfür
Au	Altın
BrdU	Bromodeoksiüridin
CHL	Çin hamsteri akciğer hücreleri
CNT	Karbon nano tüpleri
Co	Kobalt
CuO	Bakır oksit
Cyt-B	Sitokalsin-B
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiaminotetra asetik asit
FDA	ABD Gıda ve İlaç Dairesi
Fe	Demir
HEK	İnsan epidermal keratinositleri
HeLA	Henrietta Lacks Hücreleri
HIV	AIDS virüsü
KA	Kromozomal anormallik

Kısaltmalar	Açıklamalar
KCl	Potasyum klorür
KKD	Kardeş kromatid değişimi
Mİ	Mitotik indeks
MMC	Mitomycin-C
MN	Mikronükleus
MWCNTs	Çok duvarlı karbon nanotüpler
NaCl	Sodyum Klorür
NASA	Amerikan Uzay ve Havacılık Araştırma Merkezi
NBİ	Nükleer bölünme indeksi
NEMS	Nanoelektromekanik Sistemler
NHBE	İnsan bronkiyal epitelyal hücreleri
NLS	Nükleer lokalizasyon dizileri
PBS	Fosfat Tamponu
Pt	Platin
QDs	Kuantum dotlar
Rİ	Replikasyon indeksi
SiC	Silisyum Karbür
SiO₂	Silika
SSRI	Seçici serotonin geri alım inhibitörü
SWCNTs	Tek duvarlı karbon nanotüpler
TCA	Trisiklik antidepresan
TDNP-İ	Titanyum dioksit iğne formu
TDNP-K	Titanyum dioksit küresel formu
TiO₂ NP	Titanyum dioksit nanopartikülleri
UV	Ultraviyole
ZnO NP	Çinko oksit nanopartikülleri

1. GİRİŞ

Bilim ve bilimsel araştırmalar, insan hayatını kolaylaştırmak ve daha konforlu hale getirmek amacıyla her geçen gün yeni teknolojiler ve uygulamalar geliştirmektedir. Bu alanlardan biri olan nanoteknolojinin hedefi, “100 nanometrenin altında maddeler tasarlayıp sentezlemek, bu nanoyapılara yeni olağanüstü özellikler kazandırmak ve bu özellikleri yeni işlevlerde kullanmak”tır. Bütün dünyada son hızla gelişen bu teknoloji, elektronik, sağlık ve tıp, tarım, savunma sanayii, enformasyon teknolojileri, evre koruma, kozmetik ve tekstil vb. daha pek çok alanda kullanılmaktadır.

Nanoteknolojinin esasını oluşturan nanopartiküller, kazandıkları iletkenlik, g, dayanıklılık ve reaktivite gibi yeni ve faydalı özellikleri nedeniyle birçok alanda kullanılmaktadır. Bu rnlerin büyük çoğunluğu karbon-esaslı olmakla birlikte, silikon, titanyum, çinko, demir, altın, gümüş ve bakır gibi metal veya metal oksit partiküllerinden de üretilmektedir. Ayrıca, fullerenler, nanotüpler ve quantum noktaları da çokça kullanılmaktadır. Daha yakın yıllarda “biyonanoteknoloji” olarak adlandırılan, nanomateriyallerin biyolojik maddelerle tasarlanmasıyla üretilen ve özellikle biyomedikal amaçlar için kullanılan üretimler de yapılmaktadır. Bunlara biyoip, ilaç salınım sistemleri, nanofiberler ve hibrid nano-biyo cihazlar, moleküler elektronikler ve biyomimetikler (sentetik gen, protein ve virüsler) rnek verilebilir.

Hayatımızın her alanında kullanılmaya başlanan ve bu nedenle insanlara ve diğer canlılara doğrudan veya direkt olarak temas eden nanopartiküllerin sahip oldukları ve onları cazip hale getiren özellikleri, onları aynı zamanda hücreler için toksik hale de getirmektedir. Nanopartiküller, yüksek yüzey-hacim oranına sahip oldukları ve atomlarının büyük bir bölümü yüzeyde yer aldığı için, yakın atomlar veya maddelerle hızlı bir şekilde tepkimeye girme eğilimindedirler. Bu nedenle vücutta hayati öneme sahip hücrelere, hücre içi biyomoleküllere ve organellere (rneğin DNA’ya, proteinlere, diğer hücresel moleküllere ve mitokondrilere) kolaylıkla ulaşabilmektedir. Ayrıca doğal bariyerleri kolayca aşarak vücutta farklı yerlere, farklı dokulara ve hatta beyine kadar ulaşabilirler. Bu nedenle nanopartiküllerin, hem insan ve diğer canlılar üzerindeki ve hem de evre sağlığı üzerindeki potansiyel zararları konusunda, hem Amerika Birleşik Devletleri’nde ve Avrupa lkelerinde ve hem de dünyanın diğer pek çok ülkesinde, bilim insanlarında, devlet

kuruluşlarında, sağlık sigortaları ve devlete bağlı olmayan kuruluşlarda bazı endişeler ortaya çıkmaya başlamıştır.

Titanyum dioksit, kozmetik, kişisel bakım ürünleri, güneş kremleri, diş macunları, filtre, boya ve gıda boyası, elektronik ve fotokataliz için sensör yapımı, kağıt, plastik ve farmasötik tabletlerde yaygın bir şekilde kullanılan, doğal olarak toksik olmamakla birlikte, nanoebatlarda çok küçük boyutlu ve düşük çözünürlükte olduğundan çeşitli bitki ve hayvan hücrelerinde ve kültürdeki hücrelerde toksik etkili olabilen bir metal oksittir. TiO_2 -NP'lerinin reaktif oksijen türlerini artırarak veya hücresel antioksidan savunma mekanizmasını engelleyerek/inaktive ederek redoks dengesini bozduğu belirlenmiştir. TiO_2 'e maruziyetin ratlarda inflamasyona, akciğer hasarına, fibrozise ve akciğerde tümörlere sebep olduğu tespit edilmiştir. Birçok araştırmada TiO_2 'in mitozda düzensizliklere, DNA'da hasarlara ve apoptoza sebep olduğu da belirlenmiştir. Yakın zamanda, Avrupa Kimyasal Ajansından Risk Değerlendirme Komitesi, düşük çözünürlüklü ve bio-kalıcı özellikleri nedeniyle inflamasyona ve oksidatif fosforilasyona neden olduğundan, titanyum dioksidi, memelilerde inhalasyon yoluyla alındığında kansere sebep olma şüphesi bulunan bir madde olarak gruplandırmıştır.

Yukarıda verilen bilgiler, değişik yollarla maruz kalınan titanyum dioksit nanopartiküllerin özellikle genetik materyaldeki toksik etkileri konusunda endişeler oluşturmaktadır. Genetik materyalde meydana gelebilecek değişiklikler, çeşitli hastalıkların ve anormalliklerin ortaya çıkmasına ve özellikle son yıllarda giderek artan kanser vakalarının oluşmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında, gittikçe yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanan titanyum dioksit (TiO_2) nanopartikülünün iki farklı formu olan iğne ve küresel formlarının *in vitro* insan periferik lenfositlerindeki genotoksik etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu hedefe ulaşmak için, genotoksisite çalışmalarında yaygın olarak kullanılan kromozom anormallikleri (KA), kardeş kromatit değişimi (KKD) ve mikronukleus (MN) testleri uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı şekilde değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanoteknoloji ve Nanoteknolojik Gelişmelerin Tarihçesi

Nanoteknoloji, nanoboyutta yürütülen bir bilim, mühendislik ve teknoloji alanıdır. 1 nanometre (nm), 10^{-9} metre (m) olup, metrenin milyarda birine eşittir. Bir insan saçının ve bir gazete kağıdının kalınlığının yaklaşık 100.000 nm olduğu dikkate alınırsa, nanoteknolojinin uğraş alanının ne kadar küçük boyutlu yapılar olduğu açık bir şekilde görülmektedir (Goodsell, 2000; Colvin, 2003).

Nanoteknoloji, normal boyutlu (mikron boyutlu-bulk formu) olanlarına kıyasla, yeni fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler kazandırılan nanoboyuttaki yapılar ve bileşenler ile bunlardan üretilen malzeme ve sistemlerle ilgilenmektedir. Ölçek, mikron seviyelerinden nanoboyutlara indikçe, hem maddenin kendi özellikleri ve hem de gösterdiği davranış biçimleri değişmekte ve daha farklı bir duruma evrilmektedir. Örneğin, bizmut kristalleri makroskobik ebatla yarımetal bir malzeme iken, nanoebatlara indiğinde yarı iletken bir yapıya dönüşmektedir. Altın normal ebatlarda sarı renkte karşımıza çıkarken, nanoebatlarda kırmızı bir renk sergilemektedir (Erkoç, 2010).

Nano kelimesi Yunanca'dan gelen *vávoç* (nanos) kelimesinden türetilmiş olup, bodur ya da cüce anlamına gelmektedir (Colvin, 2003). Nano kelimesini ilk kez 1959 yılında, Richard Feynman dile getirmiştir. Nobel ödülü de bulunan Feynman, Kalifornia Teknoloji Enstitüsündeki bilimsel bir toplantıdaki konuşmasında, eğer atom ve molekül büyüklüklerinde üretim gerçekleştirilebilirse, birçok yeni keşiflerin de yapılabileceğini vurgulamıştır. Ancak böyle bir üretimin gerçekleşebilmesi için öncelikle nano ölçekte özel ölçme ve üretim yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini belirtmiştir (Erkoç, 2010; Gong ve Cheng, 2016). Feynman'ın öngördüğü bu düşünceler, 1980'li yılların başına kadar gerçekleştirilememiştir. 1980'li yıllarda, taramalı tünelleme mikroskobu ve atom kuvveti mikroskobunun keşfiyle, nano ölçekte yapılar üretilmeye ve bu yapıların bazı enteresan fiziksel özellikleri de belirlenmeye başlanmıştır. O yıllarda, bu mikroskoplar sayesinde iletken bir yüzeydeki atomların yerleri değiştirilebiliyordu. Binnig ve Rohrer bu buluşlarıyla 1986'da Nobel Fizik Ödülünü kazanmışlardır. İlerleyen yıllardaki en önemli gelişmeler, 1985'te karbon nanotoplarının, 1991'de ise karbon nanotüplerinin keşfedilmesidir (Erkoç, 2010; Gong ve Cheng, 2016; Salawu ve ark., 2018). Yakın

zamanlardaki bir başka gelişme, 2001’de nanolazerin keşfidir. Bu tarihten sonra bilgisayar teknolojilerinin de hızlı gelişimiyle beraber, laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmesi oldukça zor olan bazı deneyler, teorik olarak simüle edilmiştir. Bütün bu gelişmelerin ışığında, nanomateryal sentezi ve bununla bağlantılı nanoteknoloji sektörü ortaya çıkmıştır. Sağlıktan savunma sanayiine, gıda sektöründen otomotiv sektörüne, kozmetik sektöründen endüstriyel alanlara kadar geniş bir yelpazede kullanılan nanoteknoloji, bugün gelişmiş ülkelerin büyük yatırımlar yaptığı ve araştırma merkezleri kurduğu çok önemli bir alan haline gelmiştir (Gong ve Cheng, 2016; Salawu ve ark., 2018).

2.2. Nanopartiküller ve Kullanım Alanları

Günümüzde nanopartiküllerin uygulama alanları çok geniş olmakla beraber, bazı alanlarda daha yaygın kullanıldığı görülmektedir. En yaygın kullanıldığı alanlar ve bu alanlarda kullanılan nanomateryallerden bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Nanoelektronik ve bilgisayar teknolojisi

Nanoelektronik, tamamen elektronik olan cihazların, elektronik çiplerin ve devrelerin entegrasyonunda kullanılan bir teknolojidir. Günümüzde yeni nesil elektronik cihazların ve bilgisayarların ağırlığı, büyüklüğü, kalınlığı ve kullandığı enerji miktarı azaltılırken, bunların veriminin nasıl artırılabilceği sorusuna yanıt bulmak için büyük çalışmalar yürütülmektedir. Nanoteknoloji sayesinde devre entegrasyonlarında transistörlerin ebatları küçültülürken, hafıza kartlarının kapasitesi artırılmakta, elektronik cihazlarda ve bilgisayarlarda ekran kalitesi her geçen gün daha da iyileştirilmekte, daha hızlı performansta, daha az enerji harcayarak ve daha yüksek kapasitede bilgi depolanmaktadır. Bu alanda özellikle silisyum (Si) ve galyum nitrid (GaN) nanotelleri kullanılarak mantık devreleri üretilebilmektedir. Ayrıca, esnek elektronik devrelerin üretiminde kadmium selenit nanokristalleri plastik bir tabaka üzerine depolanarak kullanılmaktadır (Erkoç, 2010; Jariwala ve ark., 2013; Boyles ve ark., 2016; Gong ve Cheng, 2016; Salawu ve ark., 2018). Karbon nanotüpleri ve metalik nanoteller gibi tek boyutlu nanopartiküller kullanılarak daha yumuşak ve portatif elektronik cihazlar üretilmektedir. Bu elektronik cihazlar da daha kolay taşınabilir telefonlar ve daha küçük ebatlardaki elektronik ürünlerin üretimine olanak sağlamaktadır (Gong ve Cheng, 2016; Manjo’n ve ark., 2011; Mullera ve ark., 2005). Sp^2 hibridize karbon nanomateryallerinin yüksek derecede delokalize

elektronik yapısı, elektronik sistemlerin verimliliği ve etkinliğinde büyük rol oynamaktadır. Yarı iletken karbon nano tüplerinin (CNT) uzunlukları ve çapları kontrollü bir şekilde ayarlanarak, optik ve optoelektronik özellikleri değiştirilebilmekte ve böylece nanoelektronik alanında önemli avantajlar oluşturmaktadır. Bu nedenle, karbon nanopartikülleri, elektronik ve optoelektronik uygulamalarda silikon gibi geleneksel yarı iletken malzemelerin güçlü bir alternatifi olarak kullanılmaktadır (Jariwala ve ark., 2013).

Nanopartiküller baskı teknolojilerinde de kullanılmaktadır. Özellikle Ag nanopartikülleri gibi metalik nanopartiküllerin mürekkep içindeki yoğunluğu ne kadar fazla olursa, desenlerin çözünürlüğü ve kalitesi de o derece artmaktadır. Bu nedenle, dünyaca ünlü baskı cihazı üreticileri yüksek çözünürlük elde etmek için nanopartikül kullanımını yaygınlaştırmaya başlamışlardır (Kamyshny ve Magdassi, 2014). Benzer şekilde, özellikle renkli yazdırılmak istenen yazılarda da özellikle TiO_2 gibi metalik nanopartiküller kullanılmaktadır (Bach ve ark., 2002; Salawu ve ark., 2018).

Havacılık ve uzay çalışmaları

Son yıllarda nanoteknoloji tabanlı materyallerin havacılık ve uzay çalışmalarında da çokça kullanıldığı görülmektedir. Günümüzde roket ve uzay istasyonları yapımında, daha hafif, daha sağlam ve ısıya daha dayanıklı olan nanomateriyaller kullanılmaya başlanmıştır. Bu sektörde, yüksek mekanik ve termal özelliklere, iyi elektrik ve ısı yalıtım özelliklerine ve aşınmaya karşı yüksek direnç gibi özelliklere sahip olan SiO_2 vb. çeşitli nanopartiküller kullanılmaktadır (Sarı ve ark., 2016). Özellikle uzay araçları yapımında, Al_2S_3 ve SiC gibi partiküllerden oluşturulan nanokompozitlerden yararlanılmaktadır (Arslan, 2011).

NASA tarafından yayınlanan bir araştırmada, karbon nanotüplerin, gelecekte uzay sistemlerinin kurulumda, kablolama çalışmalarında, yüksek mukavemetli hafif kompozit malzemeler elde etmede, termal koruma ve soğutma sistemleri ve elektronik sensör üretiminde önemli roller alacağı vurgulanmıştır. NASA, tek duvarlı nanotüplerin (SWNTs) termal iletkenliğinin 3.000 W / m-K 'de, elmas bileşenlerine göre daha büyük olduğunu ve bu nedenle özellikle atmosfere giriş esnasında aşırı ısınma yaşayan uzay araçlarında çok önemli bir koruma sağlayacağını bildirmiştir (https://www.nasa.gov/centers/ames/research/technology-nepagers/carbon_nanotube_growth.html). Ulusal

Nanomateryal Girişim alıştayında da nanopartiküllerin uzay çalışmalarındaki etkinliği üzerinde durulmuştur (Report of the National Nanotechnology Initiative Workshop, 2004).

evre ve enerji

Nanopatikül tabanlı teknoloji, kirleticilerin algılanmasında ve belirlenmesinde, hava, su ve toprak kalitesinin iyileştirilmesiyle çevrenin daha yaşanabilir bir duruma getirilmesinde de kullanılmaktadır (Masciangioli ve ark., 2003). İçme sularından arseniğin uzaklaştırılması ve suyun iyileştirilmesinde nanopartikülden üretilmiş adsorbantlar kullanılmaktadır (Peng ve ark., 2005). Fabrika atıkları gibi çeşitli atıkların azaltılması veya engellenmesinde veya o atıkların faydalı yan ürünlere dönüştürülmesinde de nanomateryaller geniş kullanım alanı bulmaktadır (Biswas ve ark., 2005). TiO_2 ve MgO gibi nanopartiküller, evre ve tekstil ürünlerinde ve elektrostatik veya spreyleme yöntemiyle lif çekme işleminde kullanılmaktadır. Böylece, ipliğe geniş yüzey alanı ve kendi kendini temizleyebilme özelliği kazandırılarak, evre temizliğine daha etkin bir katkı sağlanmaktadır (Özdoğan ve ark., 2006).

Nanoteknolojinin bir başka uygulama alanı da ısıya dayanıklı ve yanmayan tekstil ürünlerinin üretimidir. Normal ebatlardaki materyallere nazaran ısıya dayanıklılığı daha yüksek olan nanopartiküller, naylon 6.6. liflerine uygulandığında, yanma derecesini önemli ölçüde yüksek seviyelere çıkarmaktadır. Örneğin naylon 6.6 filmlerine fonksiyonel nanokil ilave edildiğinde, ısı açığa çıkarma oranının düştüğü gözlenmiştir. Böylece, nanomateryallerin kullanımıyla doğaya bilinçsiz atılan tekstil ürünlerinden kaynaklı yangın riski de azaltılmaktadır (Özdoğan ve ark., 2006). Nanopatikül tabanlı teknoloji, özellikle etkin ve verimli enerji depolamaya yarayan cihazların üretiminde de kullanılmaya başlanmıştır.

Savunma sanayii

Nanoteknoloji ve nanomateryallerin savunma sanayiindeki kullanım oranları son yıllarda oldukça fazla artış göstermiştir. Özellikle nanoyapılarla üretilen elektronik ve haberleşme sistemleri ile savaş teknolojisinde insan gücüne olan bağımlılığın azaltılması hedeflenmektedir. Amerikan Savunma Bakanlığının 2009 yılında savunma sanayiindeki nanoteknolojik çalışma ve ilerlemelere dair hazırladığı çalışma raporunda, çeşitli savunma

sektörlerindeki nanomateriyallerin kullanımı ve bu alandaki gelişmelere değinilmiştir. Örneğin havacılık endüstrisinde plazmon dalgalarını, 100 nm'den daha ince seviyedeki titanyum ve gümüş nanopartiküllerini içeren metal filmlerde oluşturarak, foton-plazmon-elektron dönüşümlü kameralar üretilmeye başlanmıştır. Düşman tarafından tespit edilemeyecek kadar küçük ebatlarda ve daha iyi çözünürlüğe sahip olan bu kameralar, istihbarat operasyonlarında kullanılmaya başlanmıştır (Defense Nanotechnology Research and Development Program Department of Defense Director, Defense Research & Engineering, 2009).

Nanopartiküller askeri kıyafet üretiminde de kullanılmaya başlanmıştır. Askeri kıyafetlerdeki kar ve su geçirmeyen ve kendi kendini temizleyebilen ürünler sayesinde, ordular lojistik ve istihkam açısından daha verimli ve etkin bir hale getirilmektedir (Erkoç, 2010). Ayrıca nanomateriyallerin sergilediği dayanıklılıktan da faydalanılmaktadır. Örneğin, polietilen üretiminde zincir yapısı değişimi sayesinde çelikten daha sağlam taşıyıcı halatlar üretilmektedir (Gogtsi ve ark., 2001). Savunma sanayiinde nanomateriyallerin fayda sağladığı bir diğer alan da bomba imha ve patlayıcı tespittir. TNT ve DNT gibi patlayıcıların tespit edilmesinde kullanılan sensörlerin yüzeyleri, patlayıcı tespitine oldukça duyarlı olan, metal içerikli, tek katmanlı, kendi kendine kümelenebilen ve polimerleşme özelliğine sahip olan nanopartiküllerle (ZnO ve SiO₂ gibi) kaplanmaktadır. (Gogotsi ve ark., 2001; Lim ve ark, 2012).

Otomotiv sektörü

Fizikokimyasal özellikleri nedeniyle, nanomateriyallerin otomotiv endüstrisindeki kullanım oranı da her geçen gün artmaktadır. Son yıllarda özellikle hafif motor ve çerçeve parçalarının yapımı, sürtünmeye karşı dirençli boyaların üretimi ve aşınmaya karşı koruyucu tabakalar geliştirilmesi gibi alanlarda nanomateriyal tabanlı teknolojilerden yararlanılmaktadır. Örneğin motor soğutma sistemlerinde borik asit, tungsten ve bakır gibi çeşitli nanosıvılar kullanılmaktadır (Asmatulu ve ark., 2013). Diğer taraftan petrol ürünleri ile çalışan araçlarda, oksijen redüksiyon reaksiyonları için daha ucuz ve daha sağlam katot katalistlerinin üretilmesi amacıyla platin-bakır çekirdek yapıları nanopartikül elektrokatalistler üretilmektedir (Marcua ve ark., 2012). Ayrıca yakıt tasarrufunu artırmak için polialanin nanofiberlerinin katalizörlüğüyle yakıt içindeki elektrotların morfolojisi

değiştirilerek, oksijen redüksiyonuna yardımcı olması sağlanmaktadır (Pereira ve Coelho, 2015).

Nanoteknolojik yöntemlerle üretilen otomobil lastiklerinde dayanıklılığı, güvenliği, yakıt verimliliğini, kontrolü ve kullanım performansını iyileştirmek için en sık kullanılan nanomateriyaller arasında karbon siyahı ve silika, nanoclay, karbon nanotüpler (CNTs) ve grafenin yanı sıra polibütadien ve stiren-butadien içerikli nano kauçuklar göze çarpmaktadır. Nano ölçekli karbon siyahı bileşenlerinin dağılımı, karbon siyahı ve kauçuk arasındaki kimyasal çift bağ nedeniyle lastiklerin çekme mukavemetini ve aşınma direncini artırmaktadır (Asmatulu ve ark., 2015).

Nanopartiküllerin otomotiv sektöründeki bir diğer kullanım alanı ise yüzey kaplamalarıdır. Cam yüzeylerin kalitesi, yüzeyi hidrofobik hale getiren nano-cam kaplama (örneğin, indiyum-kalay-oksit, titanyum dioksit, vb.) yöntemiyle büyük ölçüde artırılmaktadır. Böylece cam yüzeyinde su birikimi önlenmekte ve yağmurlu hava şartlarında daha net bir görüş elde edilmektedir. Nanocam kaplama (25-300 nm) çevresel faktörlerin neden olduğu mikro çizikleri de önlemektedir (Asmatulu ve ark., 2015).

Tıp ve sağlık

Nanopartiküller son yıllarda özellikle tıp ve sağlık alanında çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Tıpta kullanılan nanomateriyaller dört önemli gruba ayrılmaktadır: karbon esaslı materyaller, metal esaslı materyaller, dendrimerler ve kompozitler (Balogh ve ark., 2002). Tıpta kullanılan nano-yapılı materyallerin geliştirilmesi ve uygulamaları dört faz şeklinde olgunlaşmıştır. a) Birinci nesil (2004-2010) pasif nanoyapıların geliştirildiği dönem; b) ikinci nesil (~2005 ve sonrası), aktif nanoyapıların, yüksek performanslı nanokompozitlerin, seramik, metal vb. geliştirildiği dönem; c) üçüncü nesil (~2012 ve sonrası) yeni robotlar, aygıtlar, 3D ağlar, biyomimetik materyallerin geliştirildiği dönem; d) dördüncü nesil (~2018 ve sonrası), molekül-molekül şeklinde tasarımlara yoğunlaşıldığı dönem; örneğin grafit film sisteminde olduğu gibi (Remião ve ark., 2018; Khan ve ark., 2018; Majumder ve ark., 2006).

Canlıların yapıtaşı olan hücreler, nano ölçeklerdeki yapılardan ve porlardan meydana gelmektedir. Bu nedenle nanopartiküller hücre içerisine kolayca ulaşabilmektedir.

Nanopartiküller taşıdıkları bir çok ekstra spesifik özellikleri nedeniyle tıp ve sağlık alanında, tıbbi nanobilgisayarların, fonksiyonel genomik çalışmaların ve matematiksel modellemelerin yapılmasında, hastalıkların teşhisi ve tedavisinde kullanılmaktadır. Nanopartiküller tanı ve taramada sağladıkları avantajlar nedeniyle kanserin erken teşhisinde kullanılmaktadır. Nanoporlar ve nanospreyler, reseptör, DNA ve protein sekanslama gibi suni hücrel proteinlerin geliştirilmesinde, spesifik ilaç (ve besin) taşıma sistemlerinin üretiminde, gen terapi ve doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmaktadır (Majumder ve ark., 2006; Khan ve ark., 2018; Remiao ve ark., 2018).

Son yıllarda giderek artan şekilde kullanılmaya başlanan nanoilaçlar, farklı işlevleri yerine getirmek üzere nano ölçekte tasarlanan, bir veya daha fazla ilaç katkı maddesi içeren moleküler sistemlerdir. Tıp ve sağlık alanında nanoteknoloji, genellikle etken maddenin fiziko-kimyasal özelliklerini iyileştirmek, bağışıklık sisteminden elimine olmadan gerekli yerlere uygun zaman ve dozda ulaşmasını, kanda uzun süre kalmasını ve etken maddenin bünyede çözünürlüğünü artırmak amacıyla kullanılmaktadır (Xu ve ark., 2009; Boulaiz ve ark., 2011). Probiyotik bakterilerin ağız yoluyla alımında mide asitinden korunarak ince bağırsağa iletilmesinde selülozik nanokapsüller önemli rol oynamaktadır (Khan ve ark., 2018). Bazı kanser ilaçlarının vücut tarafından yüksek düzeyde toksik madde olarak algılanması nedeniyle, nanomateriyaller taşıyıcı olarak kullanılmaktadır (Boulaiz ve ark., 2011). Anti-CA125 antikorları ile yumurtalık kanserinin tespiti için çinko oksit nanorodları, altın ve demir oksit nanopartikülleri ve kadmiyum selenit ve kuantum noktalı silis kaplı altın nanopartiküllerinin yüksek hassasiyetle kullanılabileceği belirlenmiştir (Sua ve ark., 2018; Remiao ve ark., 2018).

Gümüş nanopartikülleri (AgNPs), metalik nanopartiküller arasında en önemli ve en etkili nanomateriyallerden birisi olup, özellikle kanser teşhisi ve tedavisinde kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2016). Nanopartiküller antibadi ve patojenleri tespitite bioalgılayıcı olarak da kullanılmaktadır. Yüzeyi kuantum dotlarla kaplı Ag nanopartikülleri, klinik olarak analitleri saptamada, influenza virüsü ile mücadelede ve gram pozitif ve negatif bakterilerin çoğalmasını engellemek amacıyla kullanılmaktadır (Habiba ve ark., 2015; Su ve ark., 2017). Bu partiküllerin antibakteriyel etkinliğinin, salınan gümüş iyonlarının hücre zarı ile etkileşime girmesi ve hücre içi reaktif oksijen türleri (ROT) üretmesiyle tetiklendiği belirlenmiştir (Long ve ark., 2017). ZnO nanopartikülleri de hem ilaç üretiminde ve hem de antimikrobiyal ajan olarak kullanılmaktadır (Krol ve ark., 2017).

Son yıllarda, nanoelektromekanik sistemler (NEMS) kullanılarak, biyoyumluluğu yüksek olan, inci, mercan, kalsit, mikro-lens ve kolajen gibi doğala en yakın ürünler üretilmektedir. İlk insan NEMS'i olan demir oksit nanopartikülleri, prostat kanserli hastalarda, metastatik lenf nodlarını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Kolloidal altın, demir oksit kristalleri ve QDs ile 1-20 nm ebatlarındaki yarı-iletken nanokristaller, malarya, HIV ve kanser gibi hastalıkların tanısında tercih edilmektedir. SiO₂ nanopartikülleri bir yandan antibady ve tümör spesifik kompleks olarak, diğer yandan çeşitli maddelere kaplanmak suretiyle fonksiyonel hale getirilerek hem biyoyumluluğu ve hem de hedefe yönelimi artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca 20-150 nm ebatlı nanopartiküllerin kullanıldığı yeni teknolojiler sayesinde, damarlardan girilerek solid tümörlerin belirlenmesinde büyük bir aşama kaydedilmiştir. Bütün bu veriler, nanoteknolojinin ve nanopartiküllerin, araştırmacılara, hücresel ve moleküler fonksiyonları araştırma, izleme ve bozulan biyolojik sistemlerin sebep olduğu çeşitli hastalıkları tanıma ve tedavi imkanı sağladığını göstermektedir. Tıbbi nanoteknolojik çalışmalar nihai hedefine ulaşabilirse, ilaç veya besin şeklinde alınmak suretiyle, kan dolaşımı yoluyla etki edebilecek nanomakinalar kullanılarak, mikropları öldürmek, hipoksik organlara oksijen taşımak veya bozuk doku hasarını tamir etmek de mümkün olabilecektir (Baker ve ark., 2001).

Gıda sektörü

Nanopartiküller ve nanoteknoloji, gıda sektöründe daha hafif, daha güçlü ve daha dayanıklı ambalaj üretimi ve kullanımı ile yiyeceklerin daha uzun süre taze tutulması ve atıkların azaltılmasına yardımcı olmak, yiyeceklerin tadını, lezzetini ve besin maddelerinin kullanılabilirliğini arttırmak amacıyla tercih edilmektedir (<https://euon.echa.europa.eu/food1>). Örneğin, zein partikülleri, nanoteknolojik işlemlerden geçirildikten sonra, gıdaların raf ömürlerini uzatmak amacıyla plastik ve biyoaktif gıda ambalajlarının üretim aşamasında kullanılmaktadır. Diğer taraftan nanofiberler, nanoviskırlar veya nanotüpler ile 1 nm kalınlığında ve 30 ila 2.000 nm çap aralığında kristalin tabakalardan oluşan nano-silikat yapıları ambalaj içerisindeki gıda maddesinin difüzyon oranını ayarlayarak hava ile temasının önlenmesinde kullanılmaktadır. Gıda saklama kapları ve kesme tahtaları gibi bazı mutfak ürünlerinde de Ag NP'leri kullanılmaktadır. Meyve suyu paketlerinde de Ag veya ZnO NP'leri yer almaktadır (Sozer ve Kokini, 2009; Asmatulu ve ark., 2015).

Gıda sınıfı sentetik amorf SiO_2 nanopartikülleri pirojenik, jel, sol ve çökelti formlarında bu sektörde sıklıkla kullanılmaktadır. Amorf SiO_2 NP'leri, gıda ürünlerinde, bira ve şarapları temizlemek, akışkanlıklarını korumak, macunları koyulaştırmak ve gıda kokuları veya tatlarını muhafaza ederek taze bir şekilde tüketiciye ulaşmasını sağlamak amacıyla kullanım alanı bulmaktadır (Asmatulu ve ark., 2015).

Bütün bu kaynaklardan da görüleceği gibi, nanomateriyallerin kullanım alanı ve kullanım miktarları her geçen gün artış göstermektedir. Bu da insanların bu partiküllerle doğrudan temasına sebep olmaktadır. Bu nedenle son yıllarda nanopartiküllerin canlılarda oluşturabileceği toksik etkiler konusunda bazı farkındalıklar oluşmuş ve bu alanda çeşitli çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Yürütülen bu çalışmaların bazılarında, nanopartiküllerin bakterilerde, bitki hücrelerinde, insan ve çeşitli hayvan hücrelerinde ve hücre hatlarında toksik etkiler oluşturduğu gözlenirken, bazılarında herhangi bir toksik etki gözlenmemiş ve bu nedenle bazı nanopartiküllerin zararsız olduğu ifade edilmiştir. Aşağıda nanopartiküllerin toksik etkileri konusunda yapılan bazı çalışmalardan kısa bilgiler verilmiştir.

2.3. Nanopartiküllerin Toksik Etkileri

İnsanoğlu evrimsel gelişim sürecinde volkanik patlamalar, toz fırtınaları ve fotokimyasal reaksiyonlar gibi doğal yollarla oluşan ve havayla taşınan çeşitli nanopartiküllere maruz kalmıştır. Ancak antropojenik kaynaklar nedeniyle, örneğin egzoz dumanı, sanayi atıkları, sigara ve benzeri tütün ürünlerinde bulunan çok çeşitli nanopartiküllere maruziyet de son yüzyılda dikkat çekici bir şekilde artış göstermiştir (Bueza ve ark., 2007). Özellikle nanoteknoloji alanındaki gelişmeler neticesinde hem sentezlenme sırasında ve hem de yukarıda kısaca özetlenen alanlardaki kullanımları sırasında nanopartiküllerin solunum, sindirim, dermal ve enjeksiyonel vb. yollarla alınması nedeniyle, maruziyet her geçen gün artış göstermektedir. Bu nedenle nanopartiküllerin güvenilirliği ve potansiyel zararlarının çeşitli hücrelerde, dokularda, organlarda ve organ sistemlerinde çeşitli test sistemleri ile incelenmesi ve araştırılması bir zorunluluk haline gelmiştir. Nanotoksikoloji olarak adlandırılan bu araştırma alanında, yeni sentezlenen nanopartiküllerin epidemiyolojik ve çeşitli toksikolojik etkileri incelenmektedir. Yapılan araştırmalarda, çok küçük ebatlarda olmaları nedeniyle nanopartiküllerin solunması halinde, solunum sisteminin bütün bölgelerine difüzyon mekanizmasıyla depolanabileceği gösterilmiştir. Yine bu partiküllerin

hücre içine kolayca girebileceği, hücreler arasında kolayca geçiş yapabileceği ve epitel ve endotel hücreler vasıtasıyla kan ve lenf dolaşımına katılabileceği, nihayetinde kemik iliği, lenf nodları, dalak ve kalp gibi çok önemli ve hassas organlara ulaşabileceği gösterilmiştir. Hatta bu partiküllerin, nöronların akson ve dendritleri vasıtasıyla merkezi sinir sistemi ve gangliaya kadar ulaşabildikleri de tespit edilmiştir (Oberdörster ve ark., 2005; Davoren ve ark., 2009; Atha ve ark., 2017).

Nanopartiküller, 100 nm'nin altındaki ebatlarda olmaları nedeniyle, bir çok yeni ve spesifik özellikler kazanmış olsalar da biyolojik sistemlerle etkileştiğinde beklenmedik ve zararlı bazı sonuçlara sebep olabilmektedir (Dwahan ve ark., 2009). Bu partiküllerin endositoz ve biyokinetik kabiliyetlerinin hem ebatlarına ve hem de yüzey kimyası ve yüzey modifikasyonuna göre değiştiği belirlenmiştir. Ebatları küçüldükçe yüzey alanları büyümekte ve sonuçta daha büyük partiküllü formlarına kıyasla biyolojik açıdan daha aktif bir hale dönüşmektedirler. Nanomateriyallerin ebatları, şekilleri, kimyasal özellikleri ve hatta yüzeyinin kaplı olup olmaması ve ne tür bir yapıyla kaplı olmasına bağlı olarak hücresel düzeyde farklı derecelerde inflamasyon, otofaji, nekrozis ve apoptozise sebep olabilmektedir (Atha ve ark., 2017). Bilimsel çalışmalar, normal ebatlardaki formlarına kıyasla, nanoboyuttaki materyallerin toksik etkisinin daha fazla olduğunu göstermektedir. Örneğin, titanyum dioksit nanopartiküllerine maruz kalan ratlarda, normal ebatlardaki partiküllere maruz kalan gruba kıyasla, pulmoner inflamasyon oluştuğu ve daha fazla toksik etkiler meydana geldiği tespit edilmiştir (Oberdoerster ve ark., 2005). Karbon nanotüplerinin fibröz yapılı olmaları nedeniyle, özellikle epitel doku ve intestinal sistemdeki hücrelerde sitotoksik ve inflamatuvar yanıt oluşturduğu gözlenmiştir (Monteiro-Riviere ve ark., 2005; Zeni ve ark., 2008; Poland ve ark., 2008). Sıkça kullanılan karbon nanotüpleri ile yapılan çalışmalardan bazıları, bu materyallerin az ya da önemsiz hücresel yanıtlar oluşturduğunu gösterirken, bazıları ise herhangi bir hücresel ya da toksik yanıt oluşturmadığını da göstermiştir (Kisin ve ark., 2007; Colognato ve ark., 2008; Jacopsen ve ark., 2008; Davoren ve ark., 2009).

Nanopartiküllere maruziyet yollarından biri hava yoluyla maruziyettir. Bu maruziyetin inhalasyon ile başlar ve takiben partiküller bronşlar ve alveolar yüzeylere kadar ulaşırlar. 3 boyutlu insan bronşial modeller ve karakterize edilmiş 16 farklı nanomateriyal (yüzeyi fonksiyonellenmiş 15 nm SiO₂ (4 varyant), 10 nm ZrO₂ (4 varyant), ve nanogümüş (3 varyant), ZnO NM-110, TiO₂ NM-105, BaSO₄ NM-220 ve 2 farklı AlOOH nanomateriyali

kullanılarak yapılan bir araştırmada, sitotoksisite LDH ve ATP testleri ile, genotoksisite ise alkalın komet testi ile değerlendirilmiştir. 9 nanomateriyalin hücre içine alımı inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) ile incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, çoğu nanomateriyalin *in vitro* koşullarda sitotoksik ve genotoksik olmadığı tespit edilmiştir. ZnO, 10 ve 25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ arasında doza bağlı genotoksisite göstermiştir. Ag.50.citrate, 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 'de genotoksik bulunmuştur. Modifiye edilmemiş SiO₂, SiO₂.fosfat ve ZrO₂.TODS'ın 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 'lik konsantrasyonları düşük fakat anlamlı genotoksik etki oluşturmuştur. Bütün nanopartiküllerin uygulanan dozlarının %5'inden daha azının hücre içine alındığı ve bu alımın da konsantrasyona bağlı olduğu tespit edilmiştir. ZrO₂.acrylate ve SiO₂.amino formları, ratlara *in vivo* şekilde 5 gün boyunca inhalasyon yöntemi ile uygulandığında, komet ve mikronukleus testi ile her hangi bir genotoksik etki oluşturmadıkları tespit edilmiştir. Bu  alışma, 16 farklı nanomateriyalin genotoksisitesinin, çekirdekdeki esas materyalin kimyasal kompoz sonuna bağlı olduğunu göstermiştir (Haase ve ark., 2017). Kentsel hava ve egzoz dumanından veya başka kaynaklardan oluşan CuO, Co, ZnO ve TiO₂ gibi metal oksitler ile fulleren, karbon nanotüpler ve kuantum dotları (QDs) gibi 50 nm veya daha küçük yapıdaki partiküller, agregasyon, koagülasyon ve yoğunlaşma süreçleriyle insan hücrelerinde, bakterilerde ve rodentlerde toksik etkiler gösterebilmektedir (Handy ve Shaw, 2007; Peterson ve Nelson, 2010). Çok farklı amaçlar için kullanılan tek duvarlı karbon nanotüpleri (SWCNTs), hafif fakat g   l  nanopartiküllerdir. Bunların işlenmemiş formları çok hafif olduğundan havaya karışmakta ve bu nedenle akciğerlere ulaşma riski bulunmaktadır. Bu riskleri nedeniyle, Lam ve arkadaşları (2004), SWCNT'lerin pulmonar toksisitesini incelemişlerdir. Bu amaçla farelere, karbon nanotüplerinin 0, 0,1 ve 0,5 mg'lık konsantrasyonları ve karbon karası (negatif kontrol) ve quartz (pozitif kontrol) partikülleri intratrakeal olarak verilmiştir. Tek doz uygulamadan 7 ve 90 gün sonra farelerde, akciğerlerin histopatolojik incelemesi yapılmıştır. En yüksek doza (0,5 mg) maruz bırakılan farelerde, 7 gün içinde %55'in üzerinde ölüm gözlenmiştir. Bunun sebebinin, CNT'deki nikel ve itriyum nanoyapılarından kaynaklandığı ifade edilmiştir. 7 günlük uygulama sonucunda, bütün nanotüplerin doza bağlı epitelioid granüloma ve bazen de interstisiyal inflamasyon oluşturduğu tespit edilmiştir. 90 günlük uygulama grubunda bu lezyonların daha kalıcı ve daha etkili olduğu, bazı hayvanların akciğerlerinde peribronşial inflamasyon ve alveolar septaya kadar uzanan nekrozların oluştuğu gözlenmiştir. Karbon karası verilen farelerin akciğeri normal iken, yüksek doz quartz verilen farelerde hafif veya orta düzeyde inflamasyon oluştuğu belirlenmiştir. Bu test sonuçlarına dayanarak, karbon nanotüplerinin akciğerlere ulaşması

durumunda, hem karbon karasından ve hem de quartztan daha toksik olabileceği vurgulanmıştır. Bu nedenle karbon nanotüplerine mesleki açıdan kronik maruziyetin ciddi sonuçlara sebep olabileceği vurgulanmıştır (Lam ve ark., 2004). Barlow ve arkadaşları (2005), sığır serumunu çok ince karbon karası nanopartikülleri ile mumele ettikten sonra, kimyasal antioksidanların makrofaj toplama tepkilerini geciktirdiğini gözlemişlerdir. Warheit ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sıçanlar SWCNT'ye 1 ila 5 mg/kg arasında değişen dozlarda ve 24 saat, 1 hafta, 1 ay ve 3 aylık periyotlarda maruz bırakılmıştır. 1 mg/kg'lık doza 24 saat maruziyette ölüm oranının %15 olduğunu tespit eden araştırmacılar, bu oranın doz ve maruziyet süresiyle doğru orantılı olarak arttığını ifade etmişlerdir. Ayrıca, uygulamanın tamamında üst solunum yollarında kısmi mekanik tıkanıklıklara rastlanmıştır. Bunlara ilaveten, uygulamanın üçüncü ayının sonunda akciğerde lezyon oluşumu da tespit edilmiştir (Warheit ve ark., 2004). Sıçanların çok duvarlı karbon nanotüplerine (MWCNT) inhalasyon yoluyla iki ay maruz bırakılması sonucunda kollajen zengini granülomlar, iltihaplanma ve fibroz gibi pulmoner lezyonlar gözlenmiştir. Bu araştırmadan elde edilen en önemli gözlem, MWCNT'lerin akciğerde uzun süre kaldığı ve dolayısıyla nanoparçacıkların akciğer dokusundan kolayca temizlenemediğidir (Muller ve ark., 2005). Kobayların MWCNT'lere maruz bırakılmasından 90 gün sonra, fokal spesifik olmayan deskuamatif interstisyel pnömoni benzeri (DIP benzeri) yaralanmalar olduğu tespit edilmiştir (Grubek-Jaworska ve ark. 2006). Titanyum dioksit gibi metal oksitlerin inhalasyon çalışmalarında da kemirgenlerde toksik etkiler meydana getirdikleri gözlenmiştir. Çok ince TiO_2 NP'lerine (aerosol maruziyeti, 10 mg/m^3) maruz bırakılan fareler ve sıçanlarda, artan sayıda makrofaj ve nötrofil (akciğer bağışıklık savunmalarına ve iltihap reaksiyonlarına katılan hücreler) ile karakterize pulmoner inflamasyon belirlenmiştir (Bermudez ve ark., 2003). Nanopartiküller epitelyal bariyerde de çeşitli toksik etkiler oluşturabilmektedir. Bu etkiler, intestinal bariyerin bütünlüğünün bozulması ve fonksiyonel hasarıyla oluşmaktadır (Pietrojusti ve ark., 2017). Tek katmanlı polarize mukus üretimiyle karakterize T84 insan kolonik epitelyal hücrelerin, 10, 20, 75 ve 110 nm ebatlarındaki gümüş (Ag) nanomateriyallerinin 20 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlarına maruz bırakıldığı bir araştırmada, gen ekspresyonunun ve intestinal permeabilededeki artışın, ebattaki küçülme ve dozdaki artışla doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir (Williams ve ark., 2016). Ranjan ve arkadaşları titanyum dioksite maruz bıraktıkları *E.coli* bakterilerinde, doz artışına bağlı olarak bakteri hücre duvarının parçalandığını ve hücre içeriğinin açığa çıktığını gözlemişlerdir (Ranjan ve ark., 2016).

Shvedova ve arkadaşlarının (2003) yaptığı bir araştırmada, 1,5 nm ebatındaki SWCNT'in 0,24 mg/ml'lik konsantrasyonuna maruz bırakılan insan epidermal keratinositlerinde (HEK) oksidatif stres ve ROT'lerinin oluştuğu tespit edilmiştir (Shvedova ve ark., 2003). Monteiro-Riviere ve arkadaşları (2005), HEK'lerde MWCNT'lerin inflamatuvar faktörleri uyarmada doğrudan etkili olduğunu ve uygulama süresiyle inflamatuvar parametrelerin korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca nanopartiküllerin hücre içerisindeki organellere kadar nüfuz edebildiğini ve sitoplazmik vakuollerde biriktiğini gözlemişlerdir. Bu bulguların tersine, Ema ve arkadaşlarının (2013) gerçekleştirdiği bir çalışmada, erkek ratlarda akciğer hücrelerinin MWCNT'nin 0,2 veya 1,0 mg/kg'lık dozlarına tek seferlik maruziyeti, 0,04 veya 0,2 mg/kg'lık dozlarına 3 ve 24 saat maruziyeti ve 0,04 veya 0,2 mg/kg'lık dozlarına 5 hafta boyunca, haftada bir kez maruziyetinin oksidatif stres ve ROT oluşumunu tetiklemediği tespit edilmiştir.

Nanopartiküllerin toksik etkileri çeşitli parametrelere göre değişkenlikler gösterebilmektedir. Örneğin nanopartiküllerin yüzey yükü ve kimyası, mevcut pH ve iyonik şiddet gibi etkenler, kümelenme özelliğini değiştirebilmektedir. TiO₂ anataz nanopartiküllerinin 15 ve 26 nm'lik bir dizi süspansiyonunda çözünürlük karakteristikleri temel alınarak yapılan bir çalışmada, iyonik ve pH'nın asidik olduğu ortamda zeta potansiyelinin ve kümelenmenin artış gösterdiği ortaya konmuştur (Jiang ve ark., 2009). Nanopartiküllerin hücre içerisine nüfuzunda ve oluşturdıkları toksik etkilerde morfoloji ile birlikte yüzey yükü de önemli rol oynamaktadır. İnsan servikal karsinoma epitelyal hücreleri, özel olarak tasarlanmış mikro boyuttan nano boyuta (150-100 nm) kadar değişen ebatlardaki küresel, iğne, kübik ve çubuk şekilli monodispers hidrojel partiküllerine maruz bırakıldığında, plazma membranının negatif yüklü olması sebebiyle, pozitif yüklü nanopartiküllerin, negatif yüklülere kıyasla, hücre içine daha fazla transfer olabildiği tespit edilmiştir. Küresel formdaki partiküllerin kübik formdaki partiküllere kıyasla hücreye nüfuzunun ve toksik etkisinin daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Gratton ve ark., 2008).

Nanopartiküllerle yapılan birçok araştırma bu partiküllere maruziyetin toksik etkiler oluşturduğunu göstermiş olmasına rağmen, yapılan bazı çalışmalarda toksik etkilerin oluşmadığı da bildirilmektedir. Fare nöroblastoma hücrelerine 30-45 nm boyutlarındaki TiO₂, ZnO, Fe₃O₄, Al₂O₃ ve CrO₃ nanopartiküllerinin >100 µg/mL dozlarının uygulandığı bir araştırmada, ZnO nanopartiküllerinin hücre morfolojisinde anormalliklere ve mitokondriyal fonksiyonda azalmalara sebep olduğu ancak diğer nanopartiküllerin hücreler

üzerinde ölçülebilir bir toksik etki göstermediği saptanmıştır (Jeng ve Swanson, 2006). Benzer şekilde 5-10 nm ebatlarındaki luminesent porlu silikon nanopartiküllerinin *in vivo* ortamda 20 mg/kg dozunun HeLa hücrelerine uygulandığı bir diğer çalışmada bu partiküllerin toksik bir etki göstermediği sonucuna ulaşılmıştır (Park ve ark., 2009). İnsan epidermal keratinositleri, 20-80 nm aralığındaki karbon kaplı ve kaplı olmayan Ag nanopartiküllerinin 0.34 µg/mL ile 1.7 µg/mL arasındaki dozları ile 24 saat muamele edildiğinde, hücre canlılığında doza bağlı azalma tespit edilirken karbon kaplı Ag nanopartiküllerinin toksik etki oluşturmadığı tespit edilmiştir (Ahamed ve ark., 2010). Caco-2 hücreleri ile yapılan bir çalışmada, TiO₂ nanopartikülü ile muamele sonucunda mikrovilluslarda kayıp veya morfolojik değişiklikler meydana geldiği, rutil özlü aliminyum hidroksit ve polidimetilsiloksan kaplı TiO₂ nanomateriyalleri ile muamelenin ise herhangi bir hasar meydana getirmediği gözlenmiştir (Fisichella ve ark., 2012). Benzer şekilde Caco-2 mono tabakaları ve Caco-2/HT29-MTX doku tabakaları üzerine özel tasarlanmış TiO₂, SiO₂ ve Ag nanopartiküllerinin 10-150 nm ebatlarının 1, 3 ve 4 günlük uygulamaları neticesinde epitelyal bariyerlerde ve permeabilitede herhangi bir olumsuz değişim veya toksik etki gözlenmemiştir (Pietroutsi ve ark., 2017).

Bütün bu çalışmalar, insan hayatındaki kullanımları gittikçe yaygınlaşan nanopartiküllerin bir kısmının toksik etkiler meydana getirebileceğini diğer bazılarının ise herhangi bir toksik etki oluşturmayacağını göstermektedir. Ancak, günümüzde kullanılan nanopartikül sayısının çokluğuna rağmen, bunların toksik etkileri konusunda yapılan çalışmaların sayısı aynı miktarda yüksek değildir. Bu nedenle farklı nanopartiküllerin çeşitli toksisite testleriyle değerlendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

2.4. Nanopartiküllerin Genotoksik Etkileri

Son yıllarda nanopartiküllerin çok geniş ve farklı teknolojilerde yaygın şekilde kullanılmaya başlanması, hem tüketicilerin ve hem de bu partiküllerin üretiminde çalışan kişilerin bu partiküllere bilerek veya bilmeyerek gittikçe artan şekilde maruz kalmasına sebep olmaktadır. Diğer yandan, nanopartiküllerin sahip oldukları spesifik özellikleri nedeniyle, çeşitli yan etkilere ve özellikle genotoksik etkilere sahip olabilecekleri yönünde bulgular elde edilmeye başlanmıştır. Bu bulgular, bilim insanlarını bu partiküllerle ilgili genetik toksisite çalışmalarını ve bunların risk değerlendirmelerini yapmaya yönlendirmektedir (Gratton ve ark., 2008; Vijay ve ark., 2018).

Nanomateriyaller çok küçük ebatlı olmaları sebebiyle ökaryotik organizmalarda biyolojik bariyerleri kolayca aşabilmekte ve hücre içerisine ulaşabilmektedir. Nanopartiküller sadece sitoplazmaya değil, sitoplazma içindeki organellere ve çekirdek içine kadar taşınabilmektedir. Makromoleküllerin çekirdek zarı ve sitoplazma arasında iki yönlü taşınmasında, nüklear por kompleksi (NPC) olarak adlandırılan özel kanalların rol oynadığı belirlenmiştir. Yaklaşık 9 nm ebatındaki iyonlar ve küçük moleküller bu komplekslerden pasif difüzyon yoluyla taşınırken, bundan büyük moleküllerin sinyal aracılı mekanizmalarla seçici şekilde taşındığı bilirlenmiştir. Örneğin *Xenopus laevis* oositlerinde yürütülen bir araştırmada, nüklear lokalizasyon dizileri (NLSS) taşıyan nükleoplazmin proteini ile kaplı ve yaklaşık 39 nm ebatlarında olan altın nanopartiküllerinin, reseptör moleküllerle birlikte NPC tarafından sinyal aracılı mekanizmalarla içeriye alındığı belirlenmiştir (Pante ve Kann, 2001). Bu da nanopartiküllerin hem hücre içi organelleriyle ve hem de genetik materyal olan DNA ve kromozomlarla etkileşime girebileceğini göstermektedir. Nanopartiküllerin DNA ile etkileşimi sonucunda gen mutasyonları oluşabilmektedir. Ayrıca, kromozomlarla etkileşimi sonucunda kromozom sayısı ve yapısında hasarlar meydana gelebilir. Nanopartiküller, DNA ve kromozomlardaki etkilerini ya direkt veya indirekt yollarla oluşturmaktadır (Haase ve ark., 2017). Gerek kültür ortamındaki hücrelerde ve gerekse *in vivo* koşullarda deney hayvanlarında yürütülen bir çok araştırmada, bazı nanopartiküllerin DNA hasarları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, kardeş kromatidlerde değişim ve mikronukleus gibi anormallikleri tetiklediği tespit edilmiştir (Oesch ve Landsiedel, 2012; Pietroutsi ve ark., 2017; Gea ve ark., 2019).

Nanopartiküllerin hücre zarından ve çekirdeğinden geçişlerinde, hücrelere ve dokulara absorpsiyonunda ve oluşturduğu genotoksik hasarların düzeyinde, partikülün büyüklüğü ve morfolojisi, partikülün kimyasal yapısı, yüzey alanı, yüzeyinin kaplı olup olmaması ve kaplı ise kaplama maddelerinin kimyasal özellikleri gibi bir çok faktör önemli rol oynamaktadır (Haase ve ark., 2017; Pietroutsi ve ark., 2017; Salawu ve ark., 2018). Partikül büyüklüğü, nanopartikülün hareket, lokalizasyon ve kümelenmesini ve dolayısıyla genotoksik potansiyelini etkileyen önemli bir özelliktir (Manickam ve ark., 2017). Gümüş (Ag), altın (Au) ve platin (Pt) NP'leri, farklı teknolojik solusyonlarda ve ticari ürünlerde kullanılan ve gittikçe daha çok kullanılması düşünülen metalik nanopartiküllerdendir. Bu partiküllerin 5 ve 50 nm ebatlarındaki formlarının insan bronşiyal epitel hücrelerindeki genotoksik potansiyelini belirlemek amacıyla çeşitli testler uygulanmıştır. Yapılan

analizlerde, bütün partiküllerin her iki ebatının da serumsuz ortamda aglomerasyon oluşturduğu tespit edilmiştir. Ag nanopartiküllerinin her iki ebatının ve Au NP'lerinin küçük ebatı olan 5 nm'nin (50 µg/mL'ye kadarlık konsantrasyonları) Alamar mavisi testiyle incelenen hücre canlılığında hafif bir düşüşe sebep olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda, hem 5 ve hem de 50 nm Ag-NP'leri ve 5 nm Au NP'lerinin komet testiyle belirlenen DNA hasarlarında artışa, diğer yandan Pt NP'lerinin sadece 50 nm'lik ebatın DNA hasarında hafif bir artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Bu partiküllerin hiç biri 20 µg/mL'ye kadar olan dozlarda mikronukleus oluşturmamıştır. Kısaca, Au NP'lerinin 5 nm'lik, Pt NP'lerinin ise 50 nm'lik ebatının toksik etki gösterdiği, komet testinde, Au ve Pt nanopartiküllerinin oluşturduğu DNA hasarının ebata bağlı olduğu fakat Ag nanopartiküllerinin genotoksik etkisinin ebattan bağımsız olduğu tespit edilmiştir. MN oluşumu açısından hiçbir nanopartikülün etkili olmadığı bildirilmiştir (Lebedová ve ark., 2018). Anataz TiO₂ nanopartiküllerinin farklı boyutlarının *in vitro* komet ve mikronukleus testleri ile incelendiği bir araştırmada, 10-20 nm ebatlarındaki partiküllerin genotoksik olduğu tespit edilirken, daha büyük ebatlardakinin (200 nm) genotoksik olmadığı vurgulanmıştır (Haase ve ark., 2017). 1-100 nm arasında değişen boyutlardaki Fe, ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin *in vitro* ortamda sıra dışı bir interfasiyal tepkime gösterebileceği bildirilmiştir. Nanopartikül ebatı küçüldükçe, hücre içine ve hücre çekirdeğine aglomere olma oranının da arttığına vurgu yapan araştırmacılar, difüze olan nanopartikül bileşenlerinin yaklaşık %35-40'ının 10 nm ve altındaki inorganik nanopartiküllerden, %20'sinden daha azının ise 30 nm ebatlarındaki nanopartiküllerden oluştuğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, daha küçük ebattaki nanopartiküllerin DNA fragmentleri, kromozom aberasyonu ve mikronukleus oluşumunda anlamlı artışlara sebep olduğu belirtilmiştir (Auffan ve ark., 2009).

Nanopartiküllerin toksik etkileri, kullanılan türe, hücre tipine, doku ve kültür farklılıklarına göre de farklılıklar gösterebilmektedir. Bu konuda Jacobsen ve arkadaşlarının (2007) yaptığı bir çalışmada, siyah karbonun (Printex 90, aglomeratların ortalama partikül büyüklüğü: 1,59 µm) FE1 Muta™ fare akciğer epitel hücre hattında comet testi ile incelenmesi sonucunda genotoksik olduğu gözlenirken, aynı nanopartikülün 37 nm ebatındaki formunun, Çin hamsteri V79 fibroblastları ve insan Hel 299 embriyonik akciğer fibroblastlarında aynı test ile incelenmesi sonucunda her hangi bir genotoksik etki gözlenmemiştir (Zhong ve ark., 1997).

Nanopartikülün sentezlenme tekniği, bileşimindeki minör elementler ve üzerinde taşıdığı kaplama malzemeleri de genotoksitesinde farklılıklara sebep olabilmektedir. Bu farklılıklar, nanopartiküllerin insan intestinal bariyeri ve hücre ve çekirdek zarından geçme yeteneklerini, lenf veya dolaşım sistemindeki translokasyonunu ve makrofajlar tarafından fagosit edilişini de etkilemektedir (Manickam ve ark., 2017). Örneğin, tiyol bazlı bir ligand olan merkaptoundekanoik asit (MUA) ile kaplanan 5 nm boyutundaki CdSe quantum dotlarının insan bronşiyal epitel hücrelerindeki (NHBE) etkisinin komet testiyle incelendiği bir araştırmada, MUA'nın tek başına DNA fragmentasyonuna sebep olmadığı fakat CdSe nanopartikülleriyle birlikte DNA hasarını anlamlı düzeyde artırdığı gözlenmiştir (Atha ve ark., 2017). %75 anataz ve %25 rutil karışımından oluşan ve partikül boyutu 21 nm olan TiO₂ nanopartiküllerinin, model organizma olan farede, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, gama-H2AX odakları, mikronukleus ve DNA delesyonlarını uyardığı tespit edilmiştir. TiO₂ toksisitesinin, inflamasyon ve/veya oksidatif stres yoluyla sekonder mekanizma ile oluştuğu vurgulanmıştır. Elde edilen sonuçlara dayanarak, TiO₂ nanopartiküllerine maruziyetin sağlık açısından potansiyel zararlara sebep olabileceği ifade edilmiştir (Trouiller ve ark., 2009).

Nanopartiküllerin genotoksik etkilerinin partikül büyüklüğü, şekli ve kimyasal kompozisyonu ile bağlantılı olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan bir araştırmada, sferik şekilli karbon karası (CB), iplik şeklindeki tek katmanlı karbon nanotüpler, kristal yapıda olan silikon dioksit (SiO₂) ve çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri incelenmiştir. Bu partiküllerin 5, 10, 20, 50 ve 100 µg/mL'lik eşdeğer dozlarının primer fare embriyo fibroblastlarındaki sitotoksik, genotoksik ve oksidatif etkileri araştırılmıştır. Metil tiazolil tetrazolium (MTT) ve suda-çözünebilen tetrazolium (WST) testleri, ZnO'nun metal-olmayan nanopartiküllerden çok daha sitotoksik olduğunu göstermiştir. Bu etki, nanopartikülün oluşturduğu ve glutatyon azalması, melondialdehit üretimi, süperoksit dismutaz azalması, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve hücre içi oksidatif stres düzeyindeki artışla paralellik göstermiştir. Nanopartikülün sitotoksik etkisinin oksidatif stres oluşumuyla tetiklendiği belirtilmiştir. ZnO'ye kıyasla, karbon nanotüplerinin daha az sitotoksik olduğu fakat komet testiyle belirlenen DNA hasarının daha fazla olduğu gözlenmiştir. CB ve SiO₂'in ise daha az genotoksik olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, nanopartiküllerin sitotoksik etkisinde daha ziyade partikül kompozisyonunun öncü rol oynadığı, fakat genotoksik etkinin daha ziyade partikül şekline bağlı olduğu vurgulanmıştır (Yang ve ark., 2009).

Zebra balığı embriyoları üzerinde yapılan bir araştırmada, LD50 ve LD10 düzeyleri dikkate alınarak Ni nanopartiküllerinin sferik ve dentritik yapılarının genotoksik etkileri karşılaştırılmıştır. Sferik ve dentritik formların genotoksik düzeylerinin birbirinden farklı olduğu ve dentritik formun daha fazla genotoksik olduğu tespit edilmiştir (Ispas C. ve ark., 2009). Diğer yandan CuO nanopartikülünün dört farklı şekli olan toz, küresel, çubuk ve iğne formunun 0,1-100 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarının mürin makrofajları üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkileri comet, MN ve MTT testleriyle incelendiğinde, bütün formların genotoksik olduğu tespit edilmiştir (Bucchianico ve ark., 2013).

2.5. TiO₂ Nanopartikülleri ile Yapılan Toksisite ve Genotoksisite Çalışmaları

TiO₂ nanopartikülleri, bilgisayar üretiminden pek çok teknolojik uygulamaya, tıp ve sağlık alanından çevre ve enerji uygulamalarına, kozmetik alanından savunma sanayisine kadar çok geniş bir alanda kullanılmaktadır. TiO₂ nanopartiküllerinin bu kadar yaygın kullanımı ve buna bağlı olarak insanların bu partiküllerle yakın etkileşimi, günümüzde birçok araştırmacıyı, bu partiküllerin toksik ve genotoksik etkilerini incelemeye yönlendirmiştir. Yapılan bazı araştırmalar, bu materyallerin hem toksik hem de genotoksik etkilerinin olduğunu gösterirken, bazı çalışmalar ise herhangi bir toksik veya genotoksik etkisinin olmadığını göstermektedir (Lu ve ark., 1998; Gea ve ark., 2019).

TiO₂ nanopartiküllerinin inflamatuvar yanıtları ve toksik etkileri üzerine insan doku ve hücrelerinde pek çok çalışma yapılmıştır. İnsan dermal fibroblastlarında yapılan bir çalışmada, güneş kremlerinde modifiye edilmiş bir şekilde sıklıkla kullanılan 10-100 nm arasında değişen TiO₂ nanopartiküllerinin fotonlar etkisiyle reaktif oksijen türleri oluşturduğu belirlenmiştir. TiO₂'nin UVA ışığını absorbladığı, süperoksit anyon radikalleri, hidrojen peroksit ve serbest hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu katalizlediği tespit edilmiştir (Tiano ve ark., 2010). TiO₂ nanopartikülleri, formlarına göre (rutil, anataz vb.) farklı biyolojik ve kimyasal etkiler gösterebilmektedir. Falek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, TiO₂'nin endüstride oldukça yaygın olarak kullanılan 2 farklı formu olan rutil ve anatazın, BEAS 2B (transforme edilmiş insan bronşiyal epiteli) üzerine etkisi incelenmiştir. 25 nm'den daha küçük ebattaki anataz ve rutil formlarının aynı dozlarının (0-180 µg/cm²) 24, 48 ve 72 saatlik uygulamaları neticesinde anataz formunun rutile kıyasla 1,5 kat daha fazla fotokatalitik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Sadece anataz formunun MN frekansını bir miktar artırdığı, rutil

formun ise herhangi bir genotoksik etki oluşturmadağı tespit edilmiştir (Falek ve ark., 2009). Sayes ve arkadaşlarının insan dermal fibroblastlarında ve insan akciğer epitelyal A549 hücrelerinde yaptığı çalışmada, 3-5 nm ebatlarındaki anataz formunun, aynı ölçeklerdeki rutil formuna nazaran, 2 ve 24 saatlik uygulamalar neticesinde 100 kat daha fazla toksik etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur (Sayes ve ark., 2006). 21 nm ebatındaki rutil P-25 TiO₂ NP'lerinin 5, 10, 20 ve 40 µg/mL'lik dozlarının 1, 2, 3 ve 4 gün boyunca insan bronşo epitelyal hücreleri üzerine uygulanması sonucunda, nanopartiküllerin perinükleer bölgede kümелendiğı gösterilmiştir. Diğer yandan, doz artışıyla paralel olacak şekilde ROT'nde artışa ve gen ifadesinde bozulmalara sebep olduğu tespit edilmiştir. Maruziyet süresi arttıkça, oksidatif stresle ilgili hema oksijenaz-1 ve inflamasyonla ilgili interlökin 1, 6 ve 8 ekspresyonlarında anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Park ve ark., 2008). 33 yaşındaki sağlıklı kadın donörden alınan periferel kan hücrelerinin, 25 nm ebatındaki rutil (%30-15) ve anataz (%70-85) TiO₂'ye maruziyeti sonucunda, DNA'da meydana gelen hasardan dolayı hücre döngüsü kontrol noktalarının aktive olduğu ve bu noktalarda kilit role sahip olan p53'te yüksek düzeyde artış olduğu gözlenmiştir (Kang ve ark., 2008). İnsan linfoblast hücrelerinde TiO₂ nanopartiküllerinin 25 ila 155 nm arasında değişen ebatlardaki formlarıyla yapılan bir araştırmada, komet testi, HPRT mutasyon testi ve MN testine dayanılarak, nanopartiküllerin boyutları küçüldükçe genotoksik etkilerinin arttığı tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2007). Akciğerde biriken TiO₂ NP'lerinin analiz edildiğı diğer bir çalışmada, maruziyet kesildikten yıllar sonra bile toksik ve genotoksik etkilerin devam edebildiğı gözlenmiştir. 53 yaşında, 40 yıldır sigara kullanan ve 13 yıldır TiO₂ paketleme bölümünde çalışan bir kadında, TiO₂ NP'lerinin lokal makrofaj yanıtını tetiklediğı ve bu kişide oluşan papiller adenokarsinomanın TiO₂ pnömokonyozu ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Yamadori ve ark., 1986). Her ne kadar birçok araştırmada nanopartiküllerin insan doku ve hücrelerinde toksik ve genotoksik etkiler oluşturduğu bildirilmiş ise de, bunun tersini gösteren araştırmalar da mevcuttur. *In vitro* insan periferel lenfositlerinde komet testi kullanılarak yapılan bir araştırmada, TiO₂ NP'lerinin (<25 nm, anataz) 20, 50, 100 ve 200 µg/mL konsantrasyonlarının 24 saat uygulanması neticesinde herhangi bir DNA hasarına yol açmadığı gösterilmiştir (Hackenberg ve ark., 2011). Bhattacharya ve arkadaşları, insan bronşoepitelyal hücrelerinde (BEAS-2B) ve fibroblastlarında 100 nm'nin altındaki TiO₂ ve Fe₂O₃ nanopartiküllerinin genotoksik etkilerini komet testi ile incelemişler ve TiO₂ NP'lerinin herhangi bir DNA kırığı oluşturmadağı tespit etmişlerdir (Bhattacharya ve ark., 2009).

TiO₂ nanopartikülleri ile ilgili hayvanlar üzerinde de değişik çalışmalar yapılmış ve ilginç bulgulara ulaşılmıştır. Ratlarda yapılan bir araştırmada, çok ince taneli (ultrafine) TiO₂ (<100 nm) inhalasyonunun, ince taneli (fine) TiO₂ (<2,5 µm)'e kıyasla, daha düşük konsantrasyonlarda bile akciğer tümörleri oluşturduğu tespit edilmiştir (Dankovic ve ark., 2007). Başka bir çalışmada, Ferin ve arkadaşları, ratların pulmoner intersitisiyel boşluğuna 20 nm boyutundaki ultrafine TiO₂ nanopartiküllerinin, 250 nm ebatındaki fine partiküllere nazaran daha kolay nüfuz ettiğini gözlemişlerdir. Üç aylık inhalasyondan sonraki takip çalışmasında, 20 nm boyutundaki TiO₂ nanopartiküllerinin vücuttan atılmasının, 200 nm boyutuna kıyasla önemli derecede yavaş olduğu, 20 nm'lik partiküllerin intersitisiyal alana ve lokal lenf nodüllerine translokasyonunun daha fazla olduğu gözlenmiştir (Ferin ve ark., 1992). Farelerde TiO₂ nanopartikülünden kaynaklanan genotoksisite ve olası kronik gastrit tetiklenmesinin kalıcılığının incelendiği bir araştırmada, hücrelerde kalıcı apoptoz ve DNA mutasyonlarının yanı sıra malondialdehit ve nitrik oksit seviyelerinde belirgin kalıcı yükselmelerin ve glutasyon seviyesi ile katalaz aktivitesindeki azalmaların, doz ve maruziyet süreleri ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir (Mohamed ve Ramadan, 2015).

TiO₂ nanopartiküllerinin toksik ve genotoksik etkilerinde, maruziyet dozu ve şekilleri önemli rol oynamaktadır. 100 nm'nin altındaki titanyum dioksit NP'lerinin insan lenfositleri ve eritrositlerinde hemotoksik, sitotoksik ve genotoksik etkilerinin incelendiği bir araştırmada, 0, 25, 50 ve 100 µg/mL'lik dozların 3 saatlik etkileri membran hasarı, mitokondriyal fonksiyon, metabolik aktivite ve lizozomal membran stabilitesi açısından ve komet testi kullanılarak genotoksik etkileri açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca, hemolitik özellikleri, ozmotik kırılabilirliği ve hemoglobinin etkileşimi de incelenmiştir. Sonuçta membran bütünlüğünün etkilenmediği fakat TiO₂ dozundaki artışla birlikte, insan lenfositlerinde mitokondriyal dehidrojenaz aktivitesinde anlamlı bir düşüş ve DNA hasarı ve apoptozda artış tespit edilmiştir (Ghosh ve ark., 2010). Kolon kanseri hastaları ve sağlıklı gönüllülerden elde edilen periferik kan hücrelerinde, 34 nm ebatındaki TiO₂ nanopartiküllerinin 10-80 µg/mL dozlarının 24 ve 48 saatlik uygulamasının DNA hasarı oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir. Mikronukleus ve komet testlerinin uygulandığı araştırmada, TiO₂ NP'lerinin her iki grupta da DNA hasarını doz artışı ile korelasyonlu olarak tetiklediği tespit edilmiştir. Diğer yandan, komet testine göre, TiO₂ NP'leri kolon kanseri olan hastalarda DNA hasarını kontrol grubuna kıyasla daha fazla artırmaktadır (Kurzawa ve ark., 2017). Rodriguez ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları bir araştırmada sferik, çubuk ve tel şeklindeki TiO₂ nanopartiküllerin Caco-2/HT29

hücrelerinde 12,5-350 µg/mL’lik dozlarının etkileri komet testi ile incelenmiş ve genotoksik etkinin en yüksekten en düşüğe doğru sırasıyla tel şeklinde, çubuk şeklinde ve sferik şeklinde olduğu tespit edilmiştir (Rodriguez ve ark., 2018). TiO₂ nanopartiküllerinin levha, çubuk ve bipiramit şekillerinin insan bronşiyal epitel hücreleri (BEAS-2B) üzerine 20, 50, 80, 120 ve 160 µg/mL’lik dozlarda uygulanarak genotoksik etkilerinin komet testi ile incelendiği bir çalışmada bipiramit ve çubuk şekilli TiO₂ NP’leri oksidatif hasar ve genotoksik etki göstermezken, levha şeklinde olanların anlamlı genotoksik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir (Gea ve ark., 2019).

Sonuç olarak insan ve hayvan dokuları ve hücreleri üzerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar neticesinde, TiO₂ nanopartiküllerinin genotoksik olmadığını gösteren sonuçlar mevcut olmakla birlikte, bu partiküllerin dozlarına, uygulanma sürelerine, ebatlarına, şekillerine, kimyasal yapılarına, uygulandığı hücre tipine vb özelliklerine göre çeşitli toksik ve genotoksik etkiler meydana getirebildiği de gözlenmektedir. Bu nedenle, kullanımı gün geçtikçe artan TiO₂ nanopartiküllerinin olası toksik ve genotoksik etkilerinin detaylı ve çeşitli genotoksik testler kullanılarak araştırılması, hem insanların bu nanopartiküllerden en yüksek düzeyde yararlanmaları ve hem de bu kullanımdan zarar görmemeleri açısından büyük önem taşımaktadır.

2.6. Genetik Toksisite Testleri

Genetik toksikoloji, fiziksel veya kimyasal ajanların genlerde veya kromozomlarda meydana getirdiği hasarları, bu ajanların güvenilirliklerini ve kanser meydana getirebilme riskini inceleyen bir bilim dalıdır. Ultraviyole ışınlar ve radyasyon, fiziksel ajanlar olarak bilinirken, kimyasal ajan olarak bilinenler çok büyük bir grubu oluşturmaktadır. Pestisitler, ilaçlar, gıda katkı maddeleri, nanomateriyaller, sigarada bulunan maddeler, lastik tekerleklerin üretimi, arabaların boyanması ve havada bulunan kirli atıklar bunlardan sadece bazılarıdır. Bütün bu ajanların genetik risklerini ve kanser oluşturabilme potansiyellerini belirlemek amacıyla çeşitli testler uygulanmaktadır. Bu testler kısa süreli genetik toksisite testleri olarak bilinmektedir. Genetik toksisite testleri, ayrıca, ilaçların hem piyasaya sürülmeden öncesinde ve hem de sonrasındaki etkilerini incelemede, bazı hastalıklardan kaynaklanan genetik hasarların belirlenmesinde, kansere yatkınlığın incelenmesinde, kanser hastalarında hastalıktan veya tedavi sürecinden kaynaklanan genetik hasarların ve iyileşme süreçlerinin takip edilmesinde, belli bir iş sektöründe

Çalışanlarda o iş yerinden kaynaklı genetik hasarların tespit edilmesinde ve buna benzer daha pek çok alanda kullanılmaktadır (Jacobsen ve ark., 2008; Kumari ve ark., 2009; Mamur ve ark., 2010; Kim ve ark., 2011; Atlı şekeroğlu ve şekeroğlu, 2011; Zengin ve ark., 2011; Timoroğlu ve ark., 2012; Król ve ark., 2017). Günümüzde insanların birçok fiziksel ve kimyasal ajana maruz kaldığı düşünülürse, bu testlerin kullanılması ve bu ajanların genotoksisitesi ve kanser oluşturabilme potansiyellerinin belirlenmesi insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Ekonomik Kalkınma ve işbirliği rgt (OECD) ile Uluslararası Uyum Konferansı (ICH), nanopartiküllerin genotoksik etkilerinin belirlenmesi için çeşitli testlerin uygulanmasını önermektedir. Bu testler, DNA kırıkları, gen mutasyonları ve kromozomal değişiklikler gibi hasarları belirleyen bir dizi testi kapsamaktadır. *Salmonella* mutajenite testi (Ames-testi), komet testi, gen mutasyonu testi, mikronukleus testi ve kromozom anormallikleri testi bunlardan en yaygın kullanılanlarından bazılarıdır. Oksitlenmiş DNA bazlarını ve dolayısıyla indüklenen oksidatif DNA hasarının düzeyini belirlemede bakteri enzimlerinin kullanılması ile komet testinde yeni yöntemler de geliştirilmektedir. Testler *in vivo* olarak uygulanabildiği gibi, *in vitro* koşullarda da uygulanabilmektedir. Söz konusu testler tek başına yeterli ve güvenilir veriyi sağlamadığı için, daha ziyade birkaç tanesi birlikte kullanılarak fiziksel ve kimyasal ajanların genotoksik etkileri belirlenmeye çalışılmaktadır (Efsa Scientific Committee, 2011; Kumar ve Dhawan, 2013; Magdolenova ve ark., 2014; Manickam ve ark., 2017).

Ames testi ekzojen maddelerin mutajenitesini belirlemede kullanılan bakteriyel geri mutasyon testidir. Bu testte, histidin operonunun değişik bölgelerinde çeşitli mutasyonlar içeren *Salmonella typhimurium*'un mutant suşları kullanılmaktadır (Ames ve ark., 1975). Bu testin esası, *S. typhymurium*'un histidin sentezleme yeteneklerini bir mutasyon sonucunda kaybetmiş olan suşların, test maddesi ile muamele edildikten sonra ikinci bir mutasyon geçirerek histidini sentezleme özelliğini yeniden geri kazanmasına ve sonuçta histidinsiz ortamda üreyebilmesi esasına dayanmaktadır. Histidinsiz ortamda üreyebilen koloniler sayılarak mutajenite belirlenmektedir. Bu test kolay ve ucuz olması nedeniyle, çeşitli fiziksel ve kimyasal ajanların genotoksik risklerinin belirlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Zeiger, 2007; Doak ve ark., 2012; Manickam ve ark., 2017; Vijay ve ark., 2018).

Kromozomal anormallik testi, mutajenler tarafından tetiklenen çeşitli yapısal ve sayısal kromozomal anormalliklerin belirlenmesi amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Kimyasalların klastojenik olup olmadığının belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Klastojenite önemlidir, çünkü kromozomların kırılıp sonradan tekrar birleşmesi sonucunda bazı onkogenler aktif hale gelebilirler ya da bazı tümör baskılayıcı genler inaktif hale gelebilirler. KA testinde, homojen olarak boyanan kromozomlardaki yapısal ve sayısal anormallikler incelenmektedir. Bu metotta etkisi araştırılan kimyasal için çok sayıda kromozom preparatlarının hazırlanması, anormallik düzeylerinin ayrı doz ve süreler için belirlenmesi ve yüzlerce ve binlerce hücrenin mikroskopta incelenmesi gerekmektedir. İnsan ya da diğer canlıların kromozomlarını inceleyebilmek için aranan ilk koşul, hücrelerin bölünme evresinde olmasıdır. Bu nedenle *in vivo* olarak herhangi bir dış uyarana gerek kalmaksızın sürekli bölünebilme yeteneğine sahip olan “kemik iliği hücreleri” gibi hücreler kullanılmaktadır. *In vitro* yöntemde ise çeşitli tip hücreler yapay uyarıcılarla mitozu yönlendirilmek suretiyle uygulanmaktadır. *In vitro* şartlarda genellikle “insan periferik kan lenfositleri” kullanılmaktadır. Normal dolaşımında G₀ evresinde olan bu hücreler, kültür ortamında mitojenlerle uyarılarak mitoz bölünme uyarılmaktadır. Bu esnada uygulanan kimyasaldan dolayı kromozomun her iki kolunda DNA çift zincirinde kırılma varsa kromozom kırığından; kromozomun bir kolunda kırık oluşmuşsa kromatid kırığından söz edilir. Eğer kimyasal G₁ evresinde etkili olursa kromozom tipi anormallikler, G₂ evresinde etkili olursa kromatid tipi anormallikler, S evresinde etkili olursa her iki tip anormallik ortaya çıkmaktadır (Zeiger, 2007; Doak ve ark., 2012).

Kromozom anormallikleri testi ile kısaca aşağıda belirtilen sayısal ve yapısal anormallikler gözlenebilmektedir.

- Kromatid kırığı
- Kromozom kırığı
- Fragment
- Disentrik kromozom
- Halka kromozom
- Kardeş kromatidlerde birleşme
- Translokasyon
- İzokromozom

- Endoreduplikasyon (Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Hagmar ve ark., 1998; Bolognesi, 2003; Garcia-Sagredo, 2008; Jain ve ark., 2017; Honda ve ark., 2018).

Kardeş kromatit değişimi testi, Perry ve Evans tarafından 1975 yılında tanımlanan ve ekzojen maddelerin mutajenik ve kanserojenik etkilerinin belirlenmesinde uzun yıllardır kullanılan önemli bir testtir. KKD, bir kromozomdaki kardeş kromatidlerin homolog lokusları arasında DNA replikasyon ürünlerinin karşılıklı yer değişimi sonucunda oluşmaktadır. Değişimin yapıldığı bu bölgeler, DNA çift zincir kırıklarının homolog rekombinasyon yoluyla onarıldığını göstermektedir. Bu test ile özellikle DNA eklentileri oluşturan veya DNA replikasyonu ile etkileşime giren mutajenler belirlenebilmektedir. Bir kimyasalın KKD frekansında artışı neden olması, onun replikasyon mekanizmasını etkileyerek DNA hasarı oluşturabildiğinin göstergesidir. Kardeş kromatit değişimlerini ayırt edebilmek için kromozomlar floresan ile ışınlandıktan sonra Giemsa ile boyanır. DNA replikasyonu sırasında timin analogu olan BrdU (bromodeoksiüridin) girişi yapılan bölgelerin farklı şiddette boyanması nedeniyle, kardeş kromatit değişimi yapılan bölgeler ayırt edilebilmektedir. Değerlendirme bu renk değişimlerinin sayısına göre yapılmaktadır (Latt ve ark., 1980; Perry ve Thompson, 1984; Albertini ve ark., 2000; Wilson III ve Thompson, 2007; Jain ve ark., 2018; Salawu ve ark., 2018).

Kimyasal mutajenlerin ve kanserojenlerin genotoksik etkilerinin araştırılmasında kullanılan bir başka test ise mikronukleus testidir (MN). Fenech ve Marleyn tarafından 1985 yılında tanımlanan bir yöntemdir. Mikronukleuslar (MN), hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar ve klastojenler MN frekansında artışı sebep olmaktadır. Standart lenfosit kültürlerine uygun konsantrasyonda Cyt-B ilavesiyle, çekirdek bölünmesini tamamlamış, ancak sitoplazma bölünmesini gerçekleştirememiş çift çekirdekli hücreler kolaylıkla tanınarak sayılabilmekte ve MN bulunduran hücrelerin frekansı saptanabilmektedir (Bekeschus ve ark., 2018; Arul ve ark., 2018). Heddle ve Countryman'ın kriterlerine göre, bir oluşumun MN olarak tanımlanabilmesi için;

1. MN çapının esas ekirdeğın 1/3'inden küçük olması,
2. Boya alma yoğunluğının esas çekirdek ile aynı olması,
3. Sadece sitokinezi bloke edilmiş çift çekirdekli hücrelerdeki MN'lerin dikkate alınması gerekir.

Bu metotta en az 1.000 adet çift çekirdekli hücre sayılarak bu hücrelerdeki bir, iki ya da daha fazla sayıdaki kronukleuslar tespit edilip toksisitenin seviyesi de değıerlendirilebilmektedir. Memelilerde *in vivo* MN testi kemik iliğı veya periferel kan hücrelerindeki eritrositlerin analiziyle, ilgili kimyasal maddenin, eritroblastların mitotik elemanlar veya kromozomlar üzerindeki hasarının belirlenmesi amacıyla uygulanmaktadır. Çeşitli araştırmalarda MN frekansındaki artış ile kanser hastalığı arasında pozitif bir korelasyon olduğı belirlendiğinden, MN frekansındaki artış, kanserin erken belirteci olarak değıerlendirilmektedir. (elik ve ark., 2004; Kawaguchi S. Ve ark., 2010; Fenech, 2007; Bonassi ve ark., 2011; Bekeschus ve ark., 2018; Arul ve ark., 2018; Avuloğlu Yılmaz, nal ve Yüzbaşıoğlu, 2017; Yüzbaşıoğlu ve diğıerleri, 2018).

Bu tez çalışmasının amacı, günlük hayatımızda çok geniş alanlarda kullanılmaya başlanan ve bu nedenle insanların direkt veya dolaylı olarak maruz kalmaya başladığı TiO₂ nanopartiküllerinin genetik açıdan bir risk oluşturup oluşturmadığını belirlemektir. Bunun için, TiO₂ nanopartiküllerinin küresel ve iğne formlarının genotoksik etkileri *in vitro* insan lenfositlerinde kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi ve mikronukleus testleri kullanılarak karşılaştırmalı olarak değıerlendirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kromozom incelemesi için materyal

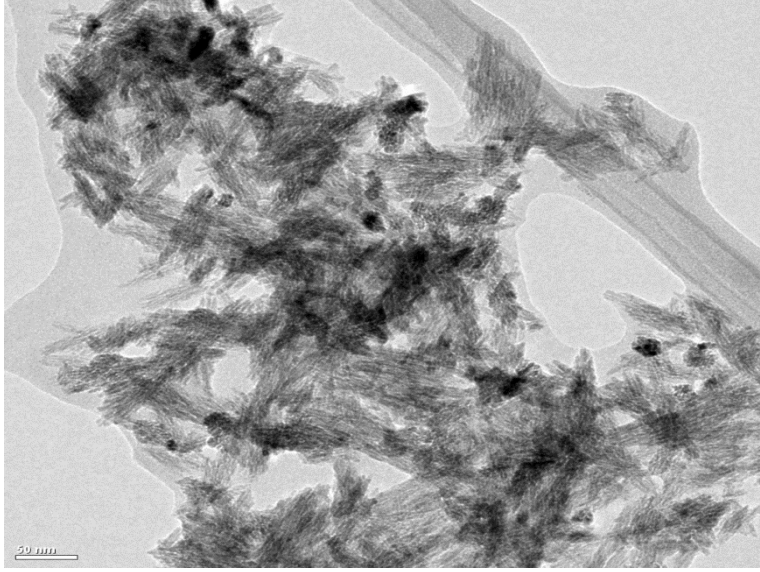
İnsan lenfositlerinde titanyum dioksit nanopartikülünün iğne ve küresel formlarının genotoksik etkilerini incelemek amacıyla kullanılan periferik kan, sigara ve alkol kullanmayan, herhangi bir sağlık problemi olmayan, son 3 ay içinde genotoksik ajanlara ve radyasyona maruz kalma öyküsü olmayan, 21-25 yaşlarında bir bayan ve iki erkek donörden temin edilmiştir. Bu tez çalışması, G.Ü. Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış olup (Tarih: 24.03.2014, Karar No: 168), periferik kan, gönüllü olur formu imzalayan donörlerden alınmıştır.

3.1.2. Test materyali ve kullanılan kimyasallar

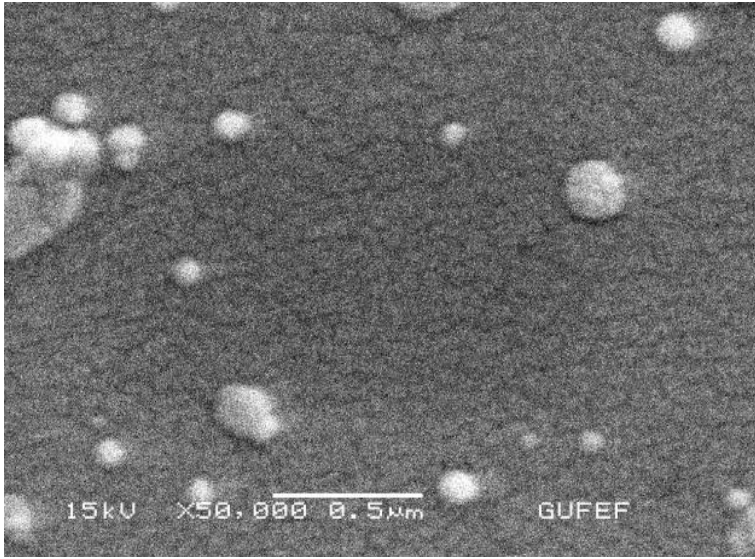
TiO₂ nanopartikülü (iğne ve küresel formları) ve diğer kimyasallar

Test materyali olarak kullanılan iğne formundaki titanyum dioksit nanopartikülü (TiO₂ Rutile), Nanostructured & Amorphous Materials, Inc.'den (CAS No: 13463-67-7) temin edilmiş olup, tarafımıza, G.Ü. Fen Fakültesi, Kimya Bölümü'nden Prof. Dr. H. İbrahim Ünal tarafından hediye edilmiştir. Bu partikülün boyutu 10x40 nm APS, yüzey alanı 160 m²/g, %5 ve daha az oranda SiO₂ kaplı ve %98 saflıktadır. Diğer test materyali olan küresel formdaki titanyum dioksit nanopartikülü (TiO₂ Nanopowder) Sigma-Aldrich'den (CAS no: 13463-67-7) temin edilmiştir. Partikül boyutu <100 nm (BET), yüzey alanı 14 m²/g, %1 Mn katkılı, Erime noktası >350°C (lit.) dir.

Bu araştırmada kullanılan diğer kimyasallardan Bromodeoksiüridin (CAS-No: 59-14-3), Mitomisin-C (CAS-No: 200-008-6), Kolkisin (CAS-No: 64-86-8), Sitokalsin-B (CAS-No: 14930-96-2) ve NaCl (CAS-No: 7647-14-5) Sigma-Aldrich'den temin edilmiştir. Kromozom Medium B (Katalog No: F 5023) Biochrom'dan, KCl (CAS-No: 7447-40-7) ise AppliChem'den temin edilmiştir.



Resim 3.1. TiO_2 -NP-iğne formunun SEM görüntüsü (Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nden Prof. Dr. Halil İbrahim ÜNAL'dan temin edilmiştir)



Resim 3.2. TiO_2 -NP-küresel formunun SEM görüntüsü (Demirtaş Korkmaz, 2012)

3.2. Metot

3.2.1. Test materyalinin hazırlanması

TiO_2 nanopartiküllerinin hazırlanması

TiO_2 nanopartikülünün iğne formunun (TiO_2 -NP-İ) 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik stok süspansiyonu, deiyonize suda süspanse edilerek hazırlanmış ve ultrasonik banyoda (J.P. Selecta, v: 50-60

Hz) 30 dakika sonikasyona tabi tutulmuştur. Bu stok solusyondan deiyonize su ile 500, 250 ve 125 µg/mL'lik konsantrasyonlar hazırlanmıştır. TiO₂-NP-İ formunun hazırlanan tüm konsantrasyonları kültürdeki hücrelere uygulanmadan önce 10 dakika daha sonikasyona tabi tutulmuştur.

TiO₂ nanopartikülünün küresel formunun (TiO₂-NP-K) stok süspansiyonu da 1.000 µg/mL'lik olacak şekilde deiyonize suda süspanse edilerek hazırlanmıştır. Bu süspansiyon da, yukarıdaki gibi, önce ultrasonik banyoda (J.P. Selecta, v: 50-60 Hz) 30 dakika sonikasyona tabi tutulmuştur. Bu stok solusyondan deiyonize su ile 500, 250 ve 125 µg/mL'lik uygulama konsantrasyonları hazırlanmıştır. TiO₂-NP-K formun hazırlanan tüm konsantrasyonları kültürdeki hücrelere uygulanmadan önce 10 dakika daha sonike edilmiştir.

3.3. Preperatların Hazırlanması

3.3.1. Kültürdeki insan lenfositlerinde uygulanan testler

Kromozom anormallikleri ve kardeş kromatit değişimi testi için preperatların hazırlanması

Bu çalışmada TiO₂ nanopartikülünün iğne ve küresel formlarının olası genotoksik etkilerini tespit etmek ve karşılaştırmak amacıyla kullanılan testlerden ikisi kromozom anormallikleri ve kardeş kromatit değişimi testleridir. Kromozomal anormallik testi için, Evans ve arkadaşlarının (1984) metodunun temel alındığı, Yüzbaşıoğlu ve arkadaşlarının (2006) uyguladığı teknik, bazı değişimler yapılarak uygulanmıştır. Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi ise Perry ve Wolff'un (1974) yönteminin esas alındığı Speit ve Haupter (1985)'in tekniğindeki bazı modifikasyonlar ile uygulanmıştır. Bu testi uygulamak amacıyla, yukarıda belirtilen özelliklere sahip sağlıklı bir bayan ve iki erkek donörden alınan periferik kanın 0,2 ml'si steril şartlarda 2,5 ml'lik kromozom ortamı (Chromosome Medium B) içeren tüplere ilave edilmiştir. Her bir tüpe 10 µg/mL olacak şekilde BrdU ilave edilmiş ve tüpler 37°C'de toplam 72 saat inkübe edilmiştir. Kültür başlangıcından 24 ve 48 saat sonra, TiO₂ NP'ünün iğne ve küresel formlarının 1.000, 500, 250 ve 125 µg/mL'lik konsantrasyonları kültür ortamına ilave edilmiştir. Kültür süresi bitiminden 2 saat önce, kültürler kolkisin ile muamele edilmiştir. Deneylerde bir negatif (besiyeri), bir çözücü (deiyonize su) ve bir pozitif kontrol (MMC; 0,20 µg/mL) grubu da kullanılmıştır.

Kültür süresi bitiminde tüplere 37°C'deki 0,075 M KCl çözeltisinden ilave edilip, 37°C'de 30 dakika bekletildikten sonra kültür tüpleri santrifüj edilip süpernatant atılmıştır. Fiksasyon için tüplere 3:1 metanol:asetik asit ilave edilmiştir. Fiksasyondan sonra tüpün dibinde kalan 0,5-0,7 ml'lik süspansiyon pastör pipeti ile çekilerek, önceden temizlenmiş lamalar üzerine damlatılmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatlar oda sıcaklığında kurutulmuştur.

Mikronukleus testi için preperatların hazırlanması

TiO₂ nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının insan periferik lenfositlerinde mikronukleus oluşturup oluşturmadığını belirlemek ve karşılaştırmak amacıyla, üç farklı donörden alınan periferik kanın 0,2 ml'si, içerisinde 2,5 ml'lik kromozom ortamı bulunan tüplere ilave edilerek 37°C'deki inkübatöre yerleştirilmiştir. İnkübasyon süresi toplam 72 saat uygulanmıştır. Kültürdeki hücreler 24. saatte, TiO₂ NP'lerinin her iki formunun 1.000, 500, 250 ve 125 µg/mL'lik konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. Ayrıca bir negatif (besiyeri), bir çözücü (deiyonize su) ve bir pozitif (MMC; 0,20 µg/mL) kontrol grubu da kullanılmıştır. Tüm kültürlerle inkübasyonun 44. saatinde 7 µL sitokalsin B (Cytochalasin-B) ilave edilmiştir. Kültür süresi bitiminde tüpler santrifüj edilmiş, süpernatant atılmış ve 0,075 M KCl ilave edilerek etüvde 5 dakika bekletilmiştir. Kültürler tekrar santrifüj edilip süpernatant atıldıktan sonra, 3:1 metanol:asetik asitte, üç kez fiksasyon uygulanmıştır. Üçüncü fiksatife formaldehit ilave edilip santrifüj edildikten sonra, tüplerdeki süpernatant atılarak, geriye kalan hücre süspansiyonu pipetaj yapıp önceden temizlenmiş lamalar üzerine damlatılmıştır. Hazırlanan preparatlar, oda sıcaklığında kurutulmuştur.

Preperatların boyanması

Kromozom anormallikleri ve mikronukleus testi için hazırlanan preparatlar, Sorensen tamponunda hazırlanan % 5'lik Giemsa ile (pH 6,8) boyanmıştır. Kardeş kromatid değişimlerinin gözlenebilmesi için, preparatlar floresan+giemsa metoduna göre boyanmıştır (Speit ve Haupter, 1985). Bu metotta preparatlar, 254 nm dalga boyunda 13 dakika ışlandıktan sonra 60°C'deki 1xSSC'de 1 saat inkübe edilmiş ve % 5'lik Giemsa ile (pH 6,8) boyanmıştır. Oda sıcaklığında kurutulan preparatlar, entellan ile daimi hale getirilerek mikroskobik incelemeye alınmıştır.

Mitotik indeks ve kromozom anormalliklerinin belirlenmesi

Mitotik indeksin belirlenmesinde, her bir uygulama için her bir donörden 1.000'er hücre (toplam 3.000 hücre) incelenmiş ve mitoz bölünme geçiren hücre sayısının, toplam hücre sayısına oranının yüzde cinsinden değeri ile tespit edilmiştir. Kromozom anormalliklerinin belirlenmesinde, her bir uygulama için her bir donörden kromozomları iyi dağılmış 100 metafaz (toplam 300 metafaz) değerlendirilmiş, anormal hücrelerin yüzdesi (% KA) ve hücre başına düşen kromozom anormalliği (KA/Hücre) belirlenmiştir.

Replikasyon indeksi ve kardeş kromatit değişiminin belirlenmesi

Replikasyon indeksinin belirlenmesi için her bir uygulama ve her bir donörden 100 hücre (toplam 300 hücre) incelenmiştir. Bunlar arasında birinci (M1), ikinci (M2) ve üçüncü (M3) metafaz evresindeki hücrelerin sayısı belirlenmiş ve replikasyon indeksi ($R\dot{I}$) = $1x(M1) + 2x(M2) + 3x(M3)/N$ (N= incelenen toplam hücre sayısı) formülü ile hesaplanmıştır.

Kardeş kromatid değişimi sayısının belirlenmesinde, her bir uygulama için her bir donörden, kromozomları iyi dağılmış, ikinci mitozdaki 25 hücre (toplam 75 hücre) incelenmiştir.

Nükleer bölünme indeksi ve mikronukleus frekansının belirlenmesi

Hücre bölünme kinetiği olarak da bilinen nükleer bölünme indeksi, her bir uygulama için her bir donörden 500 hücre (toplam 1.500 hücre) incelenerek, $NBI = 1xN1 + 2xN2 + 3x(N3+N4)/n$ formülünden belirlenmiştir. Burada N1 bir çekirdekli hücre, N2 iki çekirdekli hücre, N3 üç çekirdekli hücre, N4 dört ve daha fazla çekirdeğe sahip hücrelerin sayısını, n ise incelenen toplam hücre sayısını ifade etmektedir.

Mikronukleus frekansının belirlenmesi için çekirdek bölünmesi geçirmiş fakat sitoplazmik bölünme geçirmemiş iki çekirdekli (binükleat) hücreler değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, her bir uygulama için her bir donörden 1.000 binükleat hücre (toplam 3.000 binükleat), mikronukleus taşıyıp taşımadığına ve mikronukleus sayısına göre değerlendirilmiştir (Fenech ve ark., 2003).

İstatistiksel analizler

Bu araştırmada, mitotik indeks, replikasyon indeksi, nükleer bölünme indeksi, mikronukleus frekansı, anormal hücre frekansı, hücre başına düşen kromozom anormalliği ve kardeş kromatid değişimi sayısında, doz-etki ilişkisini ortaya koymak amacıyla SPSSwin 13.0 bilgisayar programı ile regresyon analizi uygulanmıştır. Uygulama ve kontrol gruplarından elde edilen verilerin karşılaştırılmasında, mitotik indeks, replikasyon indeksi, nükleer bölünme indeksi, anormal hücre frekansı, hücre başına düşen kromozom anormalliği ve mikronukleus frekansı için z-testi, kardeş kromatid değişimi için ise t-testi uygulanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu araştırmada, titanyum dioksit nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının *in vitro* insan periferik lenfositlerindeki genotoksik etkileri incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.1. TiO₂ Nanopartiküllerinin İğne ve Küresel Formlarının Kromozomal Anormallik ve Mitotik İndeks Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması

Titanyum dioksit nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının dört farklı konsantrasyonunun (125, 250, 500 ve 1.000 µg/mL) insan periferik lenfositlerinde 24 ve 48 saat uygulaması sonucunda elde edilen kromozomal anormallik tipleri, anormal hücre frekansı ve hücre başına düşen kromozomal anormallik sayısı ile mitotik indeks değerleri Çizelge 4.1. ve 4.2.'de gösterilmiştir. TiO₂-NP-iğne ve TiO₂-NP-küresel formlarının her ikisi de periferik insan lenfositlerinde kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatidlerde birleşme ve disentrik kromozom olmak üzere 5 farklı yapısal kromozom anormalliği oluşturmuştur. Bunların dışında, TiO₂-NP-iğne formu, küresel formdan farklı olarak, kromatid değişimine de sebep olmuştur. Her iki nanopartikülün sayısal anormallik tipi olan poliplodi oluşturduğu da belirlenmiştir. Kromatid kırığı, her iki nanopartikül formunun en yüksek frekansta oluşturduğu anormallik olarak ortaya çıkmıştır (Resim 4.1, Resim 4.2).

TiO₂-NP-iğne formunun 24 saatlik uygulaması sonucunda, insan lenfositlerinde, anormal hücre frekansının ve KA/Hücre oranının, uygulanan tüm konsantrasyonlarda negatif kontrole kıyasla artış gösterdiği belirlenmiştir. Ancak bu artış, her iki parametre için de 250 ve 1.000 µg/mL'lik dozlarda anlamlı düzeydedir. Bu konsantrasyonlardaki değerler, çözücü kontrol ile karşılaştırıldığında, her iki parametrenin de sadece 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonda anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Hem anormal hücre frekansı ve hem de KA/Hücre oranı doz artışına bağlı fakat zayıf bir artış göstermiştir ($r=0,668$ ve $r=0,708$, sırasıyla) (Çizelge 4.1, Şekil 4.1., Şekil 4.3.). Benzer şekilde, TiO₂-NP-küresel formun 24 saatlik uygulaması sonucunda da hem anormal hücre frekansında ve hem de KA/Hücre oranında, tüm konsantrasyonlarda, kontrole kıyasla bir artış tespit edilmiştir. Ancak, anormal hücre frekansındaki bu artış, negatif kontrole kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı değilken, çözücü kontrol ile kıyaslandığında, en yüksek konsantrasyon olan 1.000

$\mu\text{g/mL}$ 'de anlamlı düzeydedir. KA/Hücre oranında da sadece 500 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonun hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı olduğu tespit edilirken 1000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozun ise sadece negatif kontrole göre anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Bu uygulamada, iğne formundakine kıyasla, hem anormal hücre frekansı ve hem de KA/Hücre oranında, doza bağlı güçlü bir artış tespit edilmiştir ($r=0,991$ ve $r=0,9849$, sırasıyla) (Çizelge 4.2., Şekil 4.1., Şekil 4.3.).

TiO₂-NP-iğne formunun 48 saatlik uygulamasında, anormal hücre frekansı ve KA/Hücre oranında, 125 ve 500 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda, negatif kontrole kıyasla anlamsız ve küçük bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan 250 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda, her iki göstergede de artış olduğu tespit edilmiştir. Bu artış 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'de, hem anormal hücre frekansında ve hem de KA/Hücre oranında, hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı düzeydedir. 48 saatlik uygulamada, anormal hücre frekansı ve KA/hücre oranındaki artışın, genel anlamda doz artışı ile güçlü bir korelasyon oluşturduğu tespit edilmiştir ($r=0,845$ ve $r=0,882$, sırasıyla), (Çizelge 4.1., Şekil 4.1., Şekil 4.2.). Diğer yandan, TiO₂-NP-küresel formunun 48 saatlik uygulamasında, 125, 250 ve 500 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda, anormal hücre frekansında hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla artış olduğu fakat bunların hiçbirinin anlamlı olmadığı belirlenmiştir. 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda ise anlamsız fakat ani bir düşme olduğu tespit edilmiştir. Küresel formun 48 saatlik uygulamaları, KA/Hücre oranında, negatif kontrole kıyasla anlamlı bir farklılık oluşturmazken, en yüksek üç konsantrasyonun (250, 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$) çözücü kontrole göre anlamlı bir artış oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu uygulamada, konsantrasyon artışı ile anormal hücre frekansında zayıf negatif bir korelasyon gözlenirken ($r= -0,65$), KA/hücre oranında doza bağlı güçlü bir korelasyon gözlenmiştir ($r=0,963$), (Çizelge 4.2., Şekil 4.2., Şekil 4.4.).

Bu çalışmada, TiO₂-NP-iğne formu, insan lenfositlerinde 24 saatlik uygulamada, mitotik indeksi, 125, 250 ve 500 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda, negatif kontrole kıyasla artırmıştır fakat bu artış sadece 250 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda istatistiksel açıdan anlamlıdır. 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda ise, MI'te hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla bir düşüş gözlenmiş ancak bu düşüşün sadece çözücü kontrole göre anlamlı olduğu belirlenmiştir. Doz artışı ile mitotik indeksteki azalma arasında oldukça güçlü bir negatif korelasyon olduğu belirlenmiştir ($r=-0,755$) (Çizelge 4.1., Şekil 4.3.). Diğer yandan TiO₂-NP-küresel formunun tüm konsantrasyonları, 24 saatlik uygulamada, insan lenfositlerinde,

mitotik indekste düşüşe sebep olmuştur. Bu düşüş, 1.000 µg/mL'lik dozda, hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı düzeydedir. Bu formun 24 saatlik uygulamasında, konsantrasyon artışı ile MI arasında doza bağlı güçlü negatif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir ($r = -0,980$) (Çizelge 4.1., Şekil 4.5.).

TiO₂-NP-iğne formunun 48 saatlik uygulamasında, 125 µg/mL'lik konsantrasyonda MI'te negatif kontrole kıyasla anlamsız bir artış olduğu, fakat diğer konsantrasyonlarda mitotik indekste bir azalma tespit edilmiştir. Bu azalma 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda hem negatif ve hem de çözücü kontrole göre istatistiksel olarak anlamlıdır. Burada, genel olarak mitotik indekste, doz artışına bağlı oldukça güçlü bir negatif korelasyon tespit edilmiştir ($r = -0,912$) (Çizelge 4.1., Şekil 4.3.). TiO₂-NP-küresel formun 48 saatlik uygulamasında, bütün konsantrasyonlarda MI'te kontrole kıyasla bir düşüş tespit edilmiştir. Bu düşüşün 250, 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda, kontrole kıyasla anlamlı olduğu belirlenmiştir. MI'teki düşüşün konsantrasyon artışı ile güçlü ve negatif bir korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir ($r = -0,980$), (Çizelge 4.2, Şekil 4.6).

Çizelge 4.1. TiO₂-NP-iğne formunun insan periferik lenfositlerinde kromozom anormalliklerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Anormallikler Yapısal							Sayısal	Anormal hücre ± SH (%)	KA/Hücre ± SH	Mı ± SH (%) ± SH
	Süre (saat)	Dozlar (µg/mL)	ktk	kzk	ktd	f	kkb	dis	p				
N. Kontrol	24	0,00	10	-	-	3	-	-	-	4,33±1,18	0,04±0,01	3,70±0,35	
P. K (MMC)	24	0,20	37	3	-	5	8	2	1	16,33±2,13	0,19±0,02	3,37±0,33	
Ç. K.	24	0	11	-	-	2	7	2	1	7,33±1,51	0,07±0,02	5,27±0,41	
TiO ₂ NP	24	125	11	1	-	3	1	-	-	5,33±1,29	0,05±0,01	4,23±0,37	
		250	18	4	-	3	5	-	1	11,00±1,81**	0,11±0,02***	4,77±0,39*	
		500	8	2	1	5	5	-	-	6,67±1,44	0,07±0,02	4,47±0,38	
		1.000	24	3	-	7	1	3	-	12,67±1,92****	0,13±0,02****	3,67±0,34 ^{aa}	
N. Kontrol	48	0,00	7	-	-	2	2	-	-	3,67±1,09	0,04±0,01	5,07±0,40	
P. K.(MMC)	48	0,20	21	3	2	11	5	1	-	13,67±1,98	0,14±0,02	3,20±0,32	
Ç. K.	48	0	5	-	-	1	2	-	2	3,33±1,04	0,03±0,01	4,77±0,39	
TiO ₂ NP	48	125	5	-	-	1	3	-	2	3,00±0,99	0,03±0,01	5,43±0,41	
		250	7	3	-	2	1	-	-	4,67±1,22	0,04±0,01	4,87±0,39	
		500	7	-	-	-	2	-	1	3,00±0,99	0,03±0,01	3,67±0,34 ^{*aa}	
		1.000	13	2	-	1	4	3	-	8,33±1,59 ^{*aa}	0,08±0,02 ^{*a}	3,33±0,33 ^{***aa}	

ktk: kromatid kırığı, kzk: kromozom kırığı, ktd:kromatid değişimi, f:fragment, kkb: kardeş kromatidlerde birleşme, dis: disentrik kromozom, p:poliploidi, SH: Standart Hata, P.K: Pozitif kontrol, N.K: Negatif kontrol, MMC: Mitomycin-C, Ç.K: Çözücü Kontrol.

*Kontrolle göre $P < 0,05$ anlamlı (z testi)

**Kontrolle göre $P < 0,01$ anlamlı (z testi)

***Kontrolle göre $P < 0,001$ anlamlı (z testi)

^aÇözücü Kontrolle göre $p < 0,05$ anlamlı (z testi)

^{aa}Çözücü Kontrolle göre $p < 0,01$ anlamlı (z testi)

^{aaa}Çözücü Kontrolle göre $p < 0,001$ anlamlı (z testi)

Çizelge 4.2. TiO₂-NP-küresel formunun insan periferel lenfositlerinde kromozom anormalliklerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Anormallikler							Sayısal	Anormal hücre ± SH (%)	KA/Hücre ± SH	Mİ ± SH (%) ± SH
	Süre (saat)	Dozlar (µg/mL)	Yapısal										
			ktk	kzk	ktd	f	kkb	dis	p				
N. Kontrol	24	0,00	4	-	-	1	1	-	1	2,33±0,87	0,02±0,008	5,20±0,41	
P.K.(MMC)	24	0,20	14	-	-	5	4	2	-	7,67±1,54	0,08±0,02	3,17±0,32	
Ç.K.	24	0	4	-	-	-	1	2	-	2,00±0,81	0,02±0,008	4,43±0,38	
TiO ₂ NP	24	125	3	-	-	3	2	-	-	2,67±0,09	0,03±0,01	4,23±0,37	
		250	6	-	-	1	2	-	-	2,67±0,93	0,03±0,01	4,10±0,36	
		500	7	1	-	-	2	-	-	3,67±1,09	0,04±0,01 ^{*a}	3,87±0,35	
		1.000	10	1	-	3	1	-	1	5,33±1,30 ^a	0,05±0,01 [*]	2,70±0,30 ^{***aa}	
N.Kontrol	48	0,00	5	-	-	1	-	-	1	2,00±0,81	0,02±0,008	4,80±0,39	
P.K.(MMC)	48	0,20	15	2	-	1	-	1	-	6,33±1,41	0,06±0,01	2,00±0,26	
Ç.K.	48	0	3	-	-	-	-	1	-	1,33±0,66	0,01±0,006	3,93±0,36	
TiO ₂ NP	48	125	4	-	-	1	1	1	-	2,33±0,87	0,02±0,008	4,07±0,36	
		250	6	-	-	2	-	1	-	3,00±0,99	0,03±0,01 ^a	3,17±0,32 ^{**}	
		500	5	1	-	1	1	1	1	3,00±0,99	0,03±0,01 ^a	3,20±0,32 ^{**}	
		1.000	10	2	-	-	3	-	-	1,67±0,74	0,05±0,01 ^{*aaa}	3,13±0,32 ^{***}	

ktk: kromatid kırığı, kzk: kromozom kırığı, ktd:kromatid değişimi, f:fragment, kkb: kardeş kromatidlerde birleşme, dis: disentrik kromozom, p:poliploidi, SH: Standart Hata, P.K: Pozitif kontrol, MMC: Mitomisin-C, Ç.K: Çözücü kontrol, N.K: Negatif kontrol

*Kontrole göre P< 0,05 anlamlı (z testi)

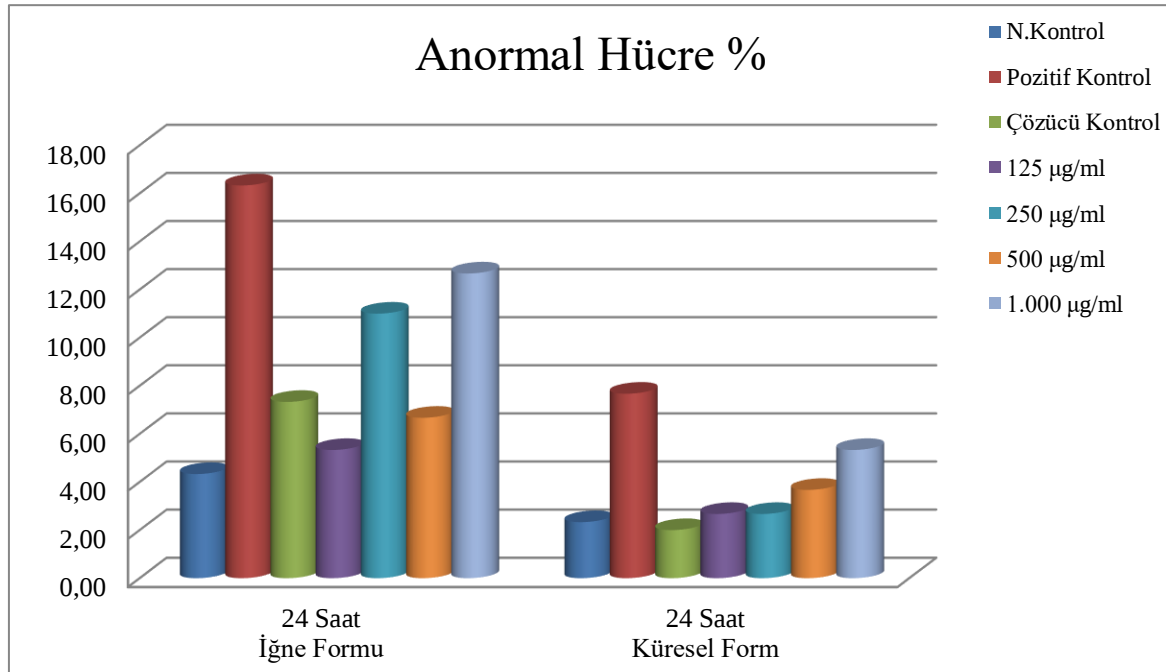
**Kontrole göre P< 0,01 anlamlı (z testi)

***Kontrole göre P< 0,001 anlamlı (z testi)

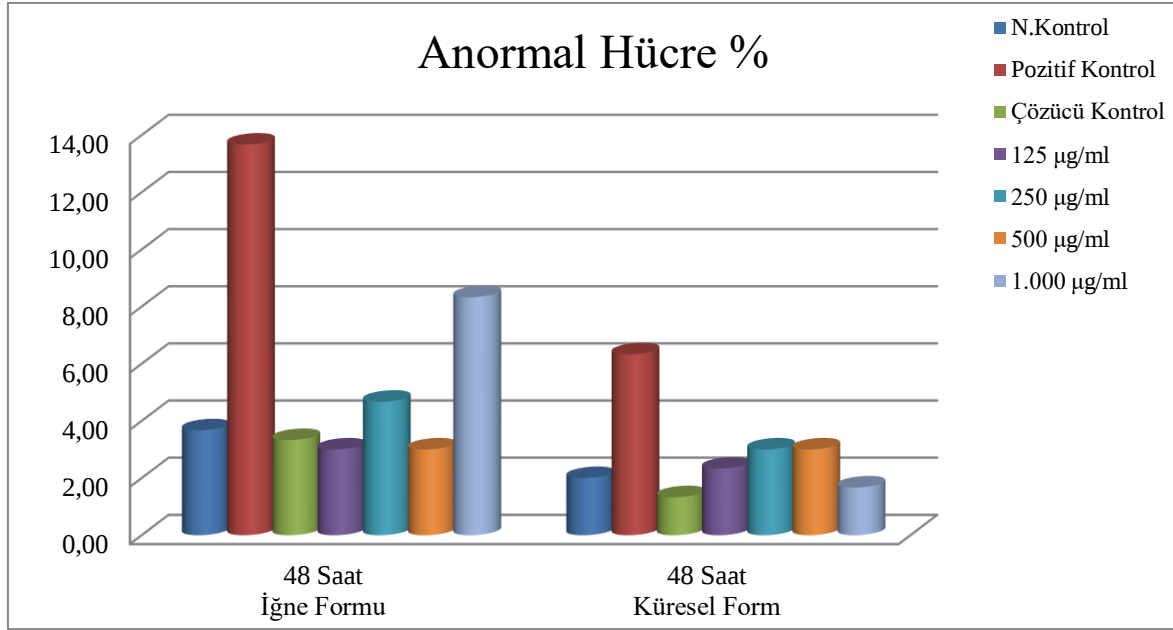
^aÇözücü Kontrole göre p<0,05 anlamlı (z testi)

^{aa}Çözücü Kontrole göre p<0,01 anlamlı (z testi)

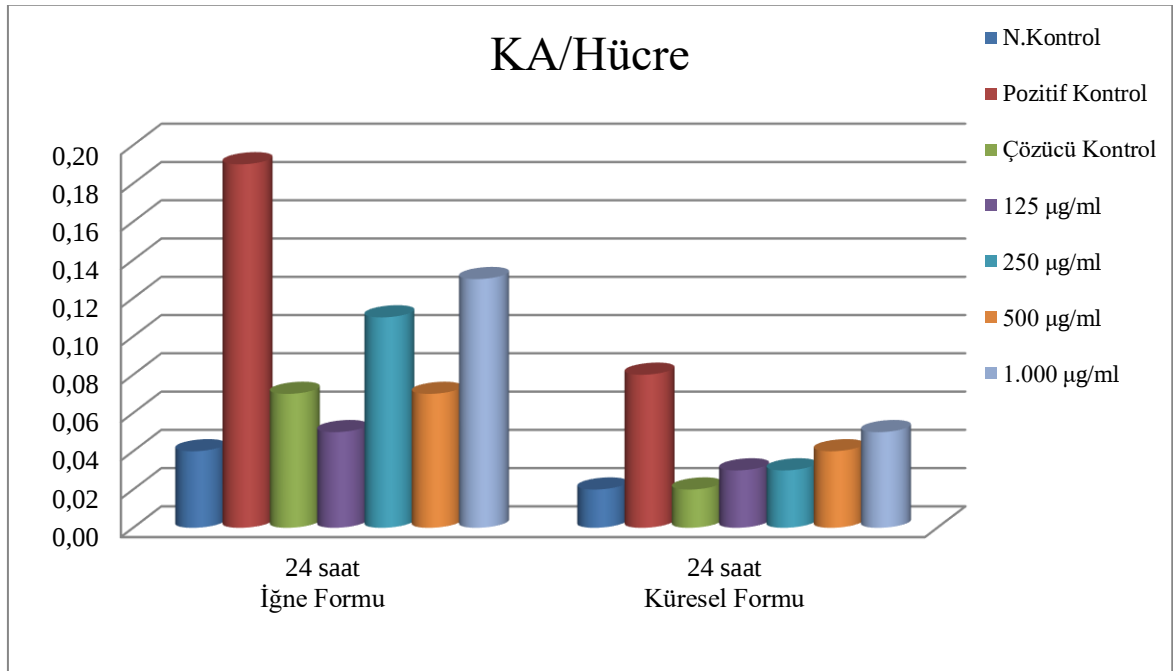
^{aaa}Çözücü Kontrole göre p<0,001 anlamlı (z testi)



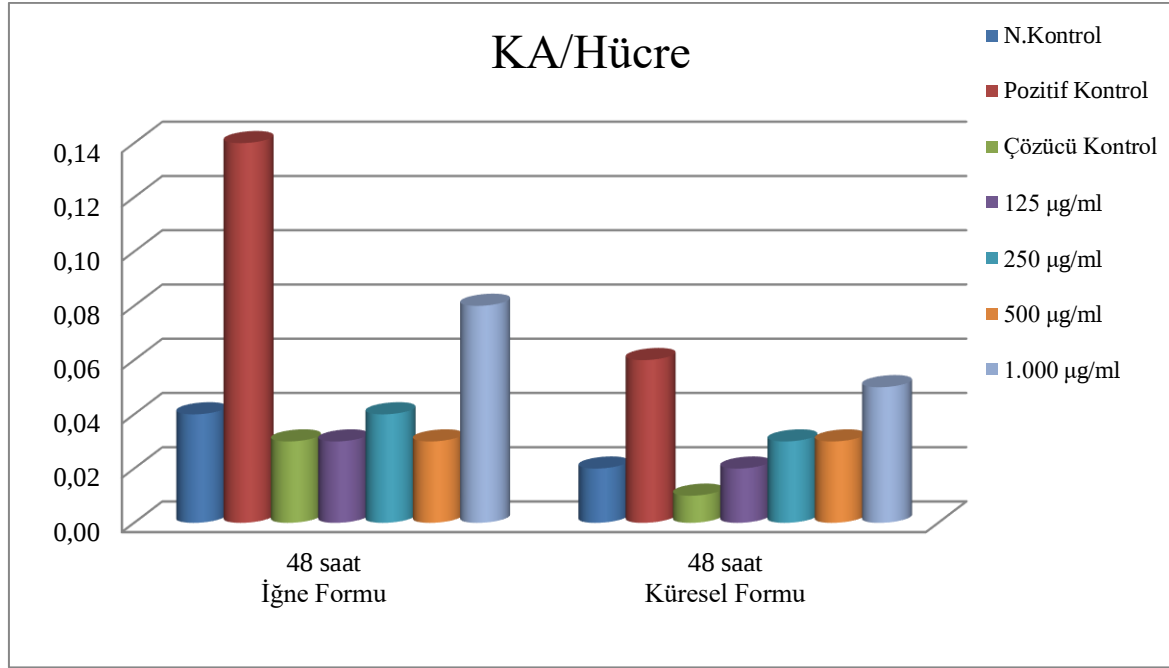
Şekil 4.1. TiO₂-NP-iğne ve TiO₂-NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde anormal hücre frekansına etkisi



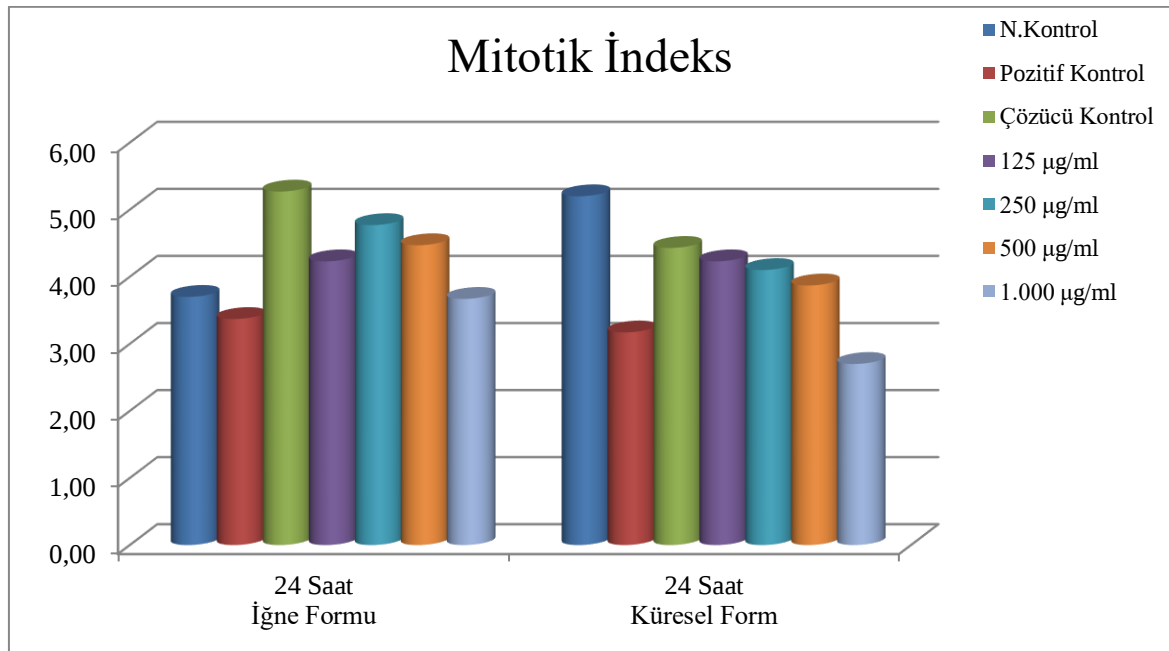
Şekil 4.2. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferik lenfositlerinde anormal hücre frekansına etkisi



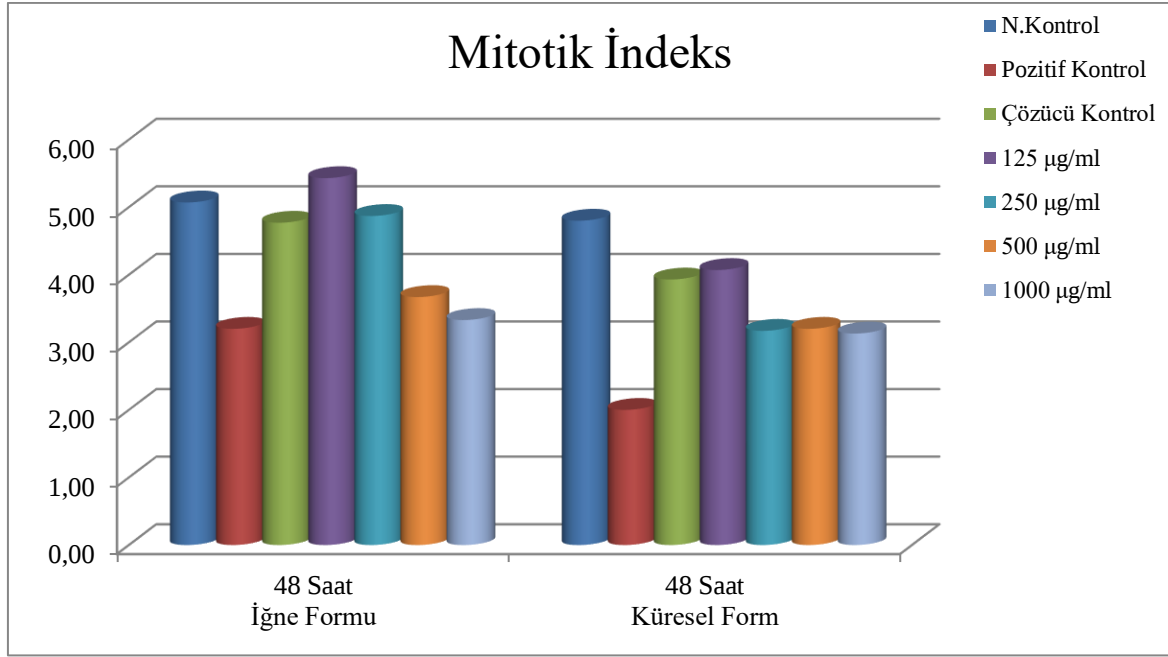
Şekil 4.3. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferik lenfositlerinde KA/Hücre oranına etkisi



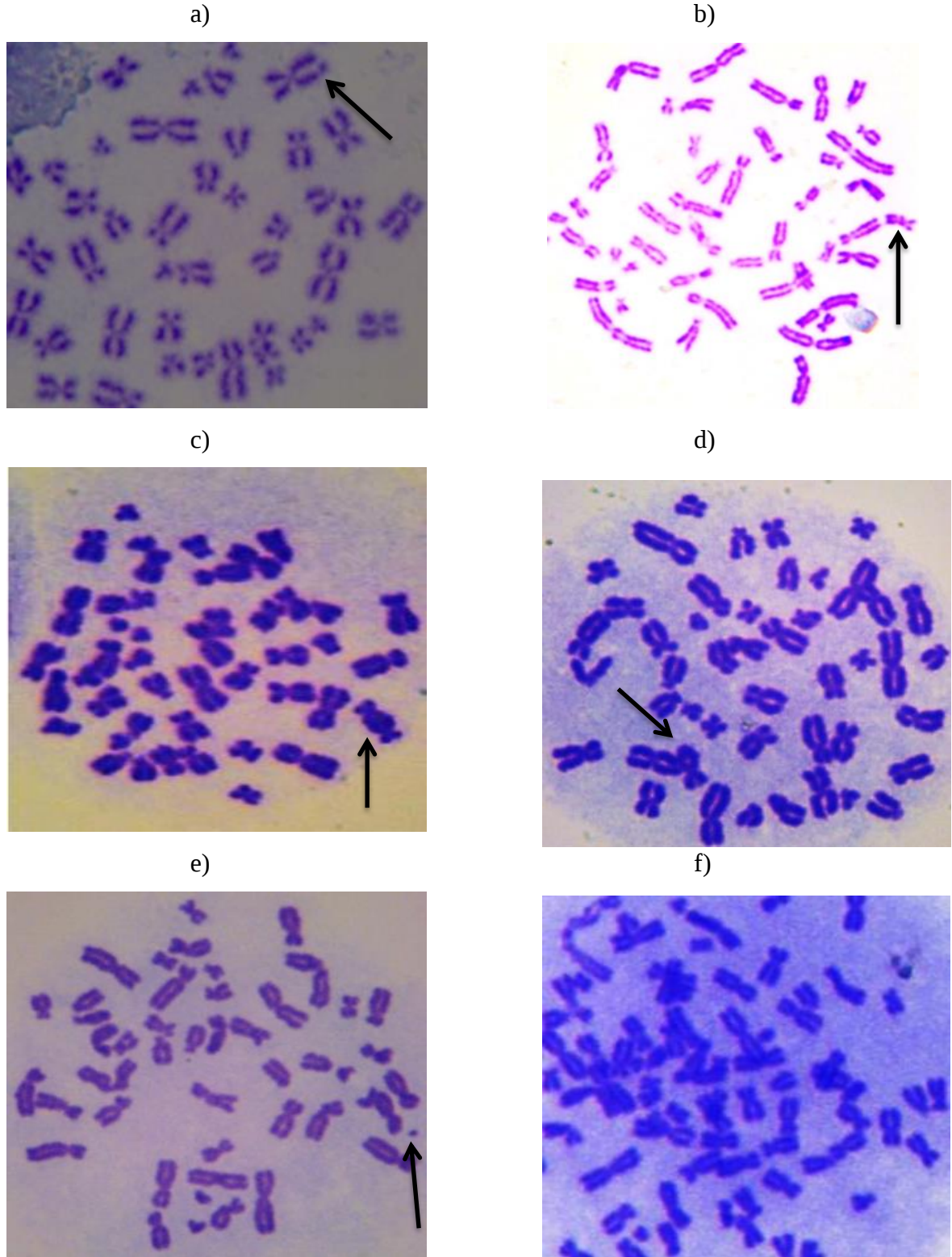
Şekil 4.4. TiO₂-NP-iğne ve TiO₂-NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde KA/Hücre oranına etkisi



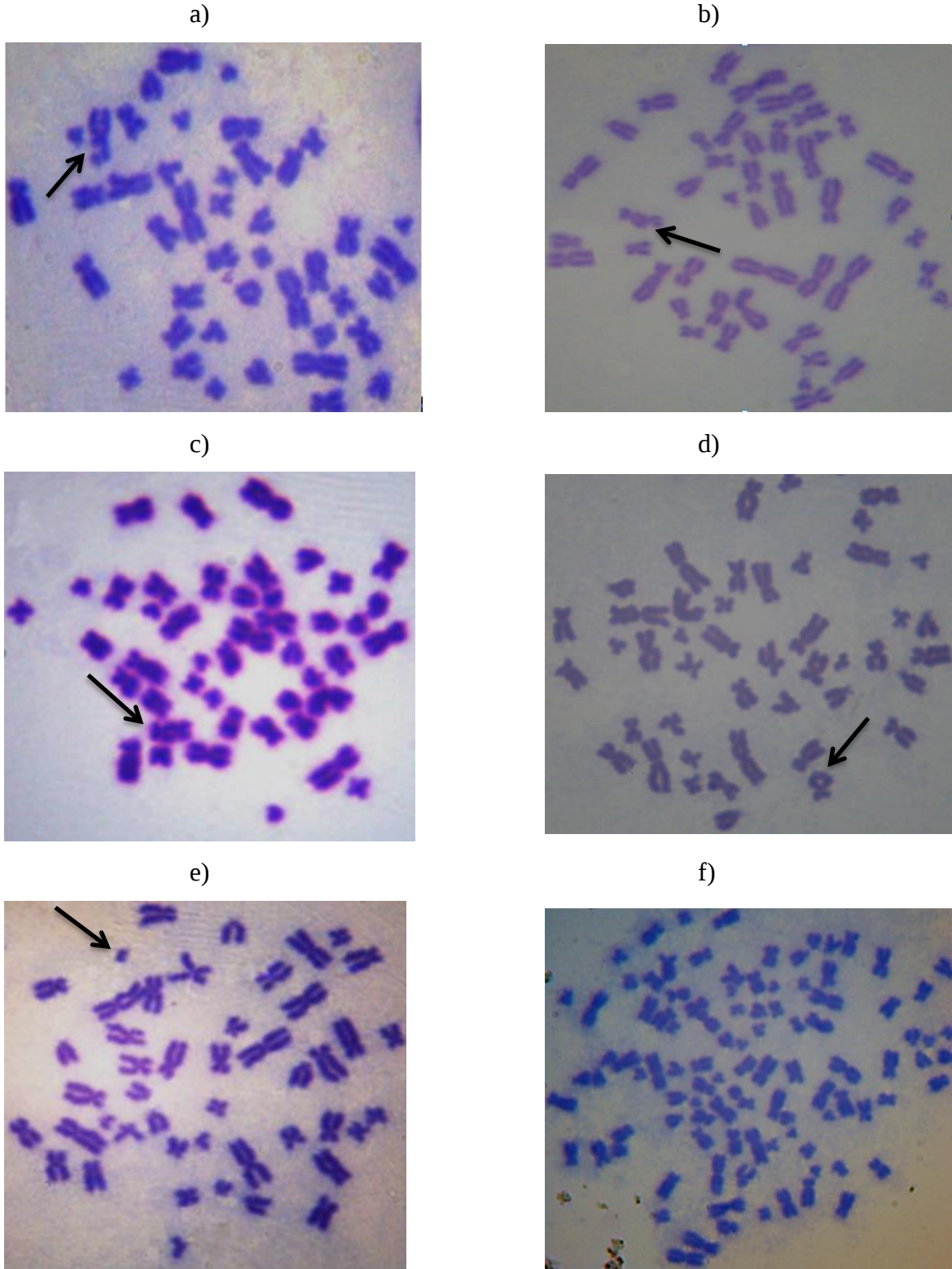
Şekil 4.5. TiO₂-NP-iğne ve TiO₂-NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde mitotik indekse etkisi



Şekil 4.6. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferik lenfositlerinde mitotik indekse etkisi



Resim 4.1. $\text{TiO}_2\text{-NP-igene}$ formunun etkisi sonucunda oluşan kromozom anormallikleri
 a) kromatit kırığı, b) kromozom kırığı, c)disentrik, d) kardeş kromatitlerde birleşme, e) fragment, f) poliploidi



Resim 4.2. TiO_2 -NP-küresel formunun etkisi sonucunda oluşan kromozom anormallikleri
 a) kromatit kırığı, b) kromozom kırığı, c) disentrik, d) kardeş kromatitlerde birleşme, e) fragment, f) poliploidi

4.2. TiO₂ Nanopartiküllerinin İğne ve Küresel Formlarının Kardeş Kromatid Değişimi ve Replikasyon İndeksi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması

TiO₂-NP-iğne formunun ve küresel formunun kardeş kromatid değişimi ve replikasyon indeksi üzerine etkileri sırasıyla Çizelge 4.3. ve Şekil 4.4. ile Çizelge 4.4. ve Şekil 4.7. ve Resim 4.3'te gösterilmiştir. Her iki formun, hücre başına 1-15 kardeş kromatid değişimi oluşturduğu tespit edilmiştir. İğne formunun 24 saatlik uygulamasında, KKD/hücre sayısı, 250 ve 500 µg/mL'lik konsantrasyonlarda negatif kontrole kıyasla düşüş gösterirken, 125 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda ise artış göstermiştir. Bu değişimlerden 250 µg/mL'lik dozda meydana gelen düşüş kontrole göre istatistiksel olarak anlamlıdır. Diğer üç dozda (125, 500 ve 1.000 µg/mL'lik) KKD/Hücre sayısındaki artış, çözücü kontrole göre anlamlıdır. Bu uygulamada, KKD/hücre sayısı ve konsantrasyon artışı arasında hafif bir korelasyon gözlenmiştir ($r=0,64$), (Çizelge 4.3., Şekil 4.4.). Diğer taraftan TiO₂ küresel formdaki NP'lerin 24 saatlik uygulamasında KKD/hücre sayısında doz artışına bağlı güçlü bir artış gözlenmiş ($r=0,99$) olmasına rağmen, burada 125 ve 250 µg/mL'lik uygulamalarda, KKD/Hücre sayısı, negatif kontrole kıyasla anlamsız bir şekilde düşük düzeydedir. Buradaki artışların, sadece 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonda negatif kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Çözücü kontrol ile kıyaslandığında ise, bütün konsantrasyonların KKD/Hücre sayısında artışa sebep olduğu, bunlardan özellikle 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlardaki KKD/Hücre sayısının anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.4., Şekil 4.7.).

TiO₂-NP-iğne formunun 48 saatlik uygulamasında da, 250, 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlar, KKD/hücre sayısında, hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı bir artış meydana getirmiştir. Diğer taraftan 125 µg/mL'lik doz, hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla daha düşük düzeyde olup, bu düşüş çözücü kontrole kıyasla anlamlı, kontrole göre ise anlamsızdır. TiO₂-NP-iğne formunun 48 saatlik uygulamasında KKD/hücre sayısındaki artış doza bağlı değildir ($r=0,347$), (Çizelge 4.3., Şekil 4.4.). Diğer taraftan TiO₂ NP-küresel formun 48 saatlik uygulamasında KKD/Hücre sayısında doza bağlı güçlü bir artış tespit edilmiştir ($r=0,97$). KKD/Hücre sayısı, kontrole kıyasla tüm konsantrasyonlarda artış göstermiştir. Bu artış, 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda hem negatif ve hem de pozitif kontrole kıyasla anlamlıdır (Çizelge 4.4., Şekil 4.8.).

TiO₂-NP-iğne ve küresel formlarının replikatif indekste küçük değişiklikler oluşturduğu ancak bu değişikliklerin ne 24 saatlik ve ne de 48 saatlik uygulamalarda anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3. ve 4.4., Şekil 4.9. ve 4.10.)

Çizelge 4.3. TiO₂-NP-iğne formunun insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi ve replikasyon indeksine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Min.-maks. KKD	KKD/hücre ± SH	M ₁	M ₂	M ₃	Rİ ± SH
	Süre (saat)	Doz (µg/mL)						
N. Kontrol	24	0,00	1-12	3,91±0,20	40	77	183	2,48±0,04
P.K. (MMC)	24	0,20	1-17	7,39±0,50	37	90	173	2,57±0,06
Ç.K.	24	0,00	1-6	2,88±0,17	28	75	198	2,45±0,04
TiO ₂ NP	24	125	1-12	4,15±0,26 ^b	37	76	187	2,50±0,04
		250	1-9	3,24±0,20 ^a	44	76	180	2,45±0,04
		500	1-8	3,85±0,19 ^b	40	81	179	2,46±0,04
		1.000	1-15	4,57±0,27 ^b	36	76	188	2,51±0,03
N. Kontrol	48	0,00	1-8	3,27±0,17	52	80	169	2,40±0,05
P.K. (MMC)	48	0,20	3-34	12,07±0,76	58	85	157	2,33±0,04
Ç.K.	48	0,00	1-7	3,55±0,16	35	76	189	2,51±0,03
TiO ₂ NP	48	125	1-7	3,20±0,17 ^b	34	75	191	2,52±0,04
		250	1-9	4,47±0,15 ^{ab}	35	76	189	2,51±0,04
		500	1-11	4,15±0,20 ^{ab}	54	75	171	2,39±0,05
		1.000	1-9	4,08±0,20 ^{ab}	43	79	178	2,45±0,04

KKD: Kardeş Kromatid Değişimi, Rİ: Replikasyon İndeksi, SH: Standart Hata, Ç.K.: Çözücü Kontrol, P.K.: Pozitif Kontrol, N. K.: Negatif Kontrol, MMC: Mitomisin-C

^aKontrole göre p< 0,05 anlamlı (t testi)

^bÇözücü kontrole göre p< 0,05 anlamlı (t testi)

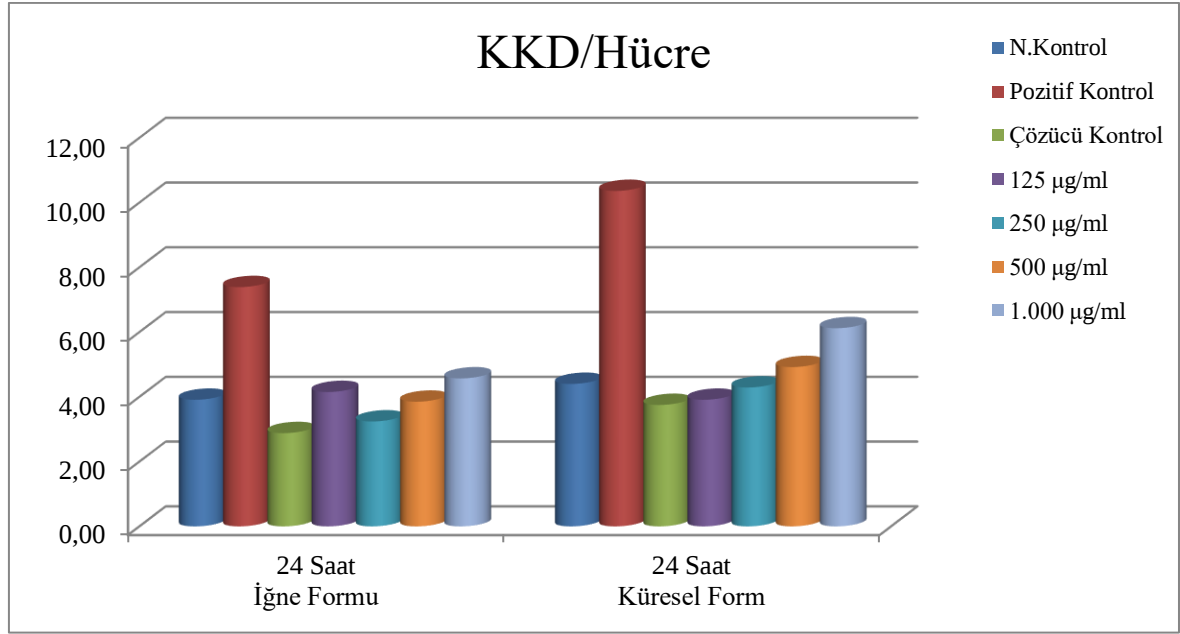
Çizelge 4.4. TiO₂-NP-küresel formunun insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi ve replikasyon indeksine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Min.-maks. KKD	KKD/hücre ± SH	M ₁	M ₂	M ₃	Rİ ± SH
	Süre (saat)	Doz (µg/mL)						
N. Kontrol	24	0,00	1-13	4,40±0,25	60	87	153	2,31±0,05
P.K.(MMC)	24	0,20	3-23	10,36±0,37	64	90	146	2,27±0,05
Ç.K.	24	0,00	1-14	3,75±0,25	37	80	183	2,49±0,04
TiO ₂ NP	24	125	1-13	3,91±0,27	62	81	157	2,32±0,05
		250	1-10	4,29±0,24	70	85	145	2,25±0,05
		500	1-9	4,92±0,23 ^b	58	87	175	2,52±0,05
		1.000	1-12	6,12±0,27 ^{ab}	41	83	176	2,45±0,04
N. Kontrol	48	0,00	1-9	4,20±0,23	50	96	154	2,35±0,04
P.K. (MMC)	48	0,20	7-28	12,23±0,44	53	99	148	2,32±0,04
Ç.K.	48	0,00	1-9	4,31±0,17	55	90	159	2,37±0,05
TiO ₂ NP	48	125	2-15	4,68±0,24	67	83	150	2,28±0,04
		250	1-10	4,28±0,25	76	86	138	2,21±0,05
		500	2-14	5,45±0,29 ^{ab}	58	81	161	2,34±0,05
		1.000	2-13	7,32±0,31 ^{ab}	64	83	153	2,30±0,05

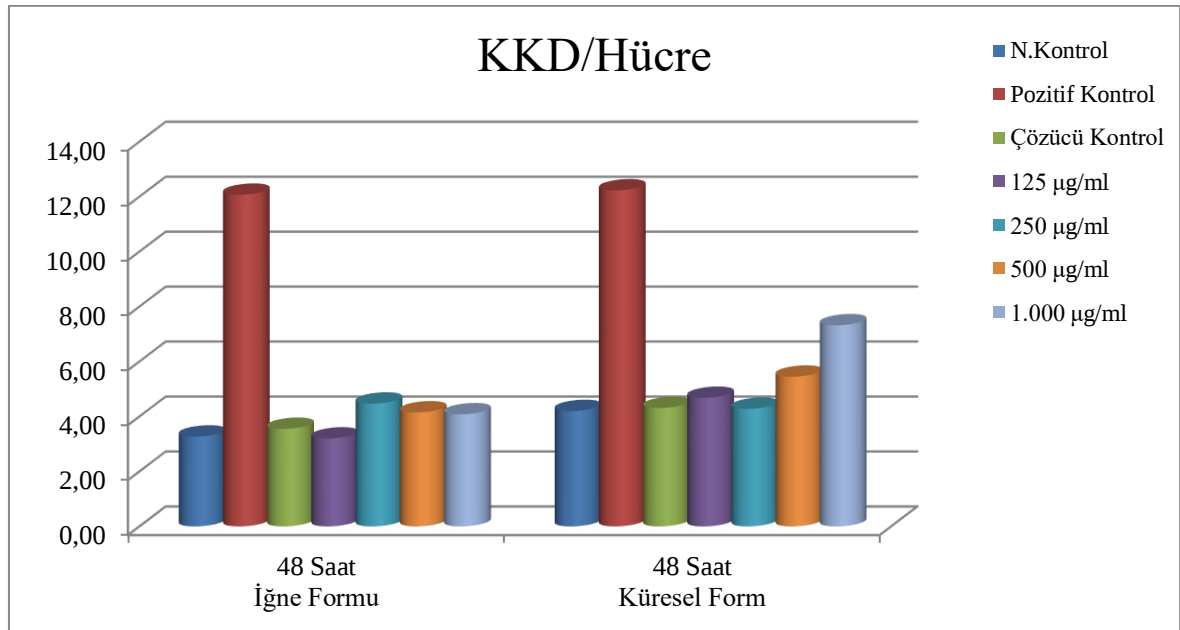
KKD: Kardeş Kromatid Değişimi, Rİ: Replikasyon İndeksi, SH: Standart Hata, Ç.K.: Çözücü Kontrol, P.K.: Pozitif Kontrol, N. K.: Negatif Kontrol, MMC: Mitomisin-C

^aKontrole göre p< 0,05 anlamlı (t testi)

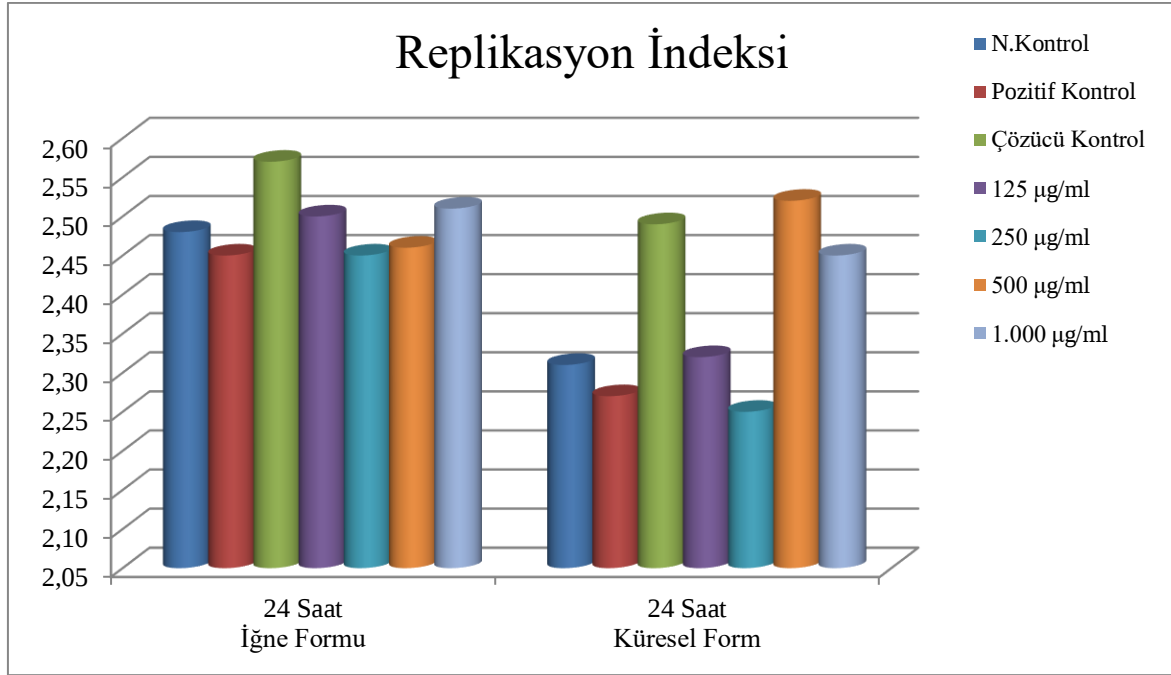
^bÇözücü kontrole göre p< 0,05 anlamlı (t testi)



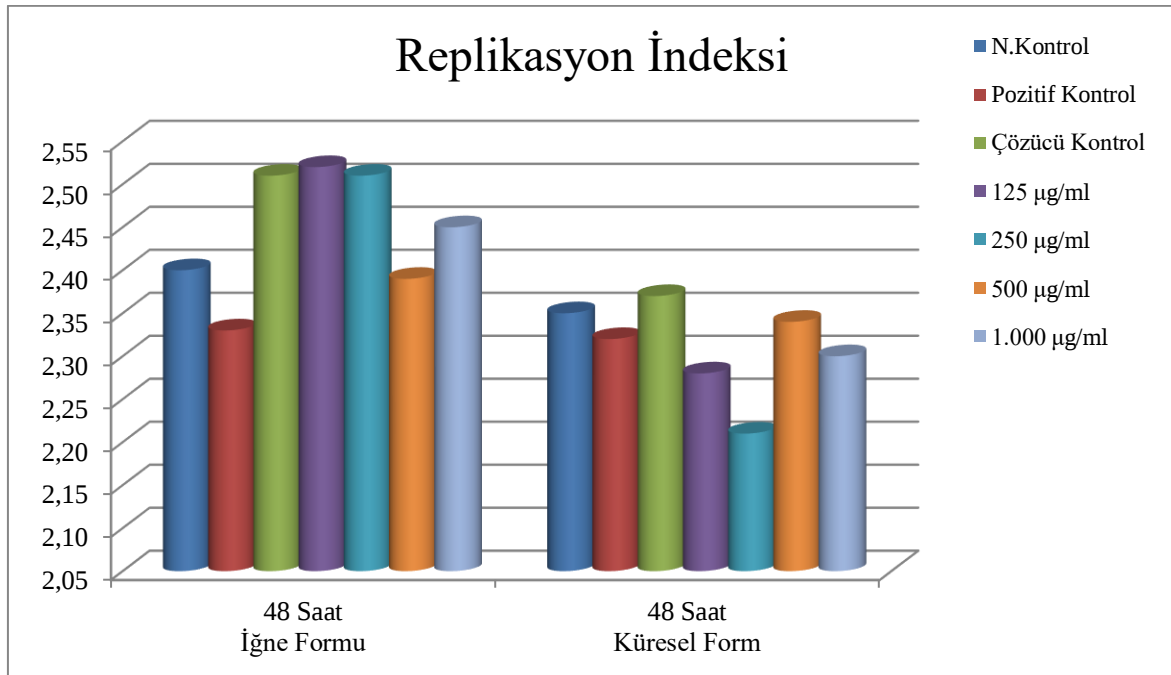
Şekil 4.7. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre frekansına etkisi



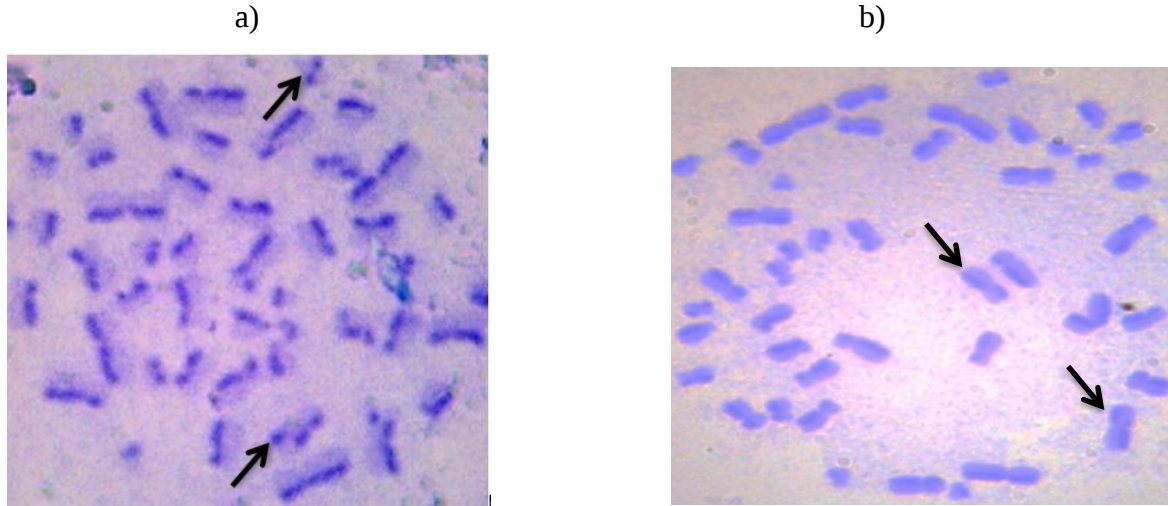
Şekil 4.8. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre frekansına etkisi



Şekil 4.9. TiO₂-NP-iğne ve TiO₂-NP-küresel formlarının 24 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksine etkisi



Şekil 4.10. TiO₂-NP-iğne ve TiO₂-NP-küresel formlarının 48 saatlik uygulamasının, insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksine etkisi



Resim 4.3. NP'lerin etkisi sonucunda oluşan kardeş kromatit değişimleri a) TiO_2 -NP-iğne formu, b) TiO_2 -NP-küresel formu

4.3. TiO_2 Nanopartiküllerinin İğne ve Küresel Formlarının Mikronukleus ve Nükleer Bölünme İndeksi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması

TiO_2 -NP-iğne formunun ve küresel formunun incelenen konsantrasyonlarının insan periferik lenfositlerinde mikronukleus oluşumu üzerine olan etkileri sırasıyla Çizelge 4.5., 4.6. ve Şekil 4.11. ve Resim 4.4.'te gösterilmiştir. TiO_2 -NP-iğne formunun 250, 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları, insan periferik lenfositlerinde mikronukleus frekansında hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla artış meydana getirmiştir. Bu artışlar, 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarda hem negatif kontrole ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı düzeydedir. Genel olarak MN frekansında doza bağlı güçlü bir artış tespit edilmiştir ($r=0,99$). TiO_2 -NP-küresel formun 125 ve 250 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları, insan lenfositlerinde, MN frekansında, hem negatif kontrole ve hem de çözücü kontrole kıyasla bir azalma meydana getirmiştir. 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyon ise, MN frekansında, negatif kontrole kıyasla bir artışa sebep olmuştur. 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonda, nanopartiküllerin oluşturduğu MN frekansındaki artış, hem negatif ve hem de çözücü kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlıdır. Küresel TiO_2 nanopartiküllerinin artan konsantrasyonu ile, MN frekansındaki artış arasında güçlü bir korelasyon tespit edilmiştir ($r=0,99$).

TiO_2 -NP-iğne ve küresel formları, nükleer bölünme indeksinde, sırasıyla doza bağlı orta düzeyde bir artış ($r=0,737$) ve küçük bir düşüş ($r=-0,583$) oluşturmakla birlikte, bunların hiç biri anlamlı değildir (Çizelge 4.5., Şekil 4.12.). Diğer taraftan TiO_2 -NP küresel formu,

nükleer bölünme indeksinde negatif yönlü fakat anlamlı olmayan küçük bir artış oluşturmıştır ($r=-0,583$) (Çizelge 4.6., Şekil 4.12.).

Çizelge 4.5. TiO₂-NP-iğne formunun insan periferal lenfositlerinde mikronukleus oluşumuna etkisi

Test maddesi	Uygulama		İncelenen binükleat hücre sayısı	MN $\pm$ SH (%)	NBI $\pm$ SH
	Süre (saat)	Doz (μ g/mL)			
N. Kontrol	48	0,00	3.000	0,40 $\pm$ 0,12	1,82 $\pm$ 0,35
P.K. (MMC)	48	0,20	3.000	2,10 $\pm$ 0,26	1,76 $\pm$ 0,34
Ç.K.	48	0,00	3.000	0,37 $\pm$ 0,11	1,88 $\pm$ 0,35
TiO ₂ NP	48	125	3.000	0,27 $\pm$ 0,09	1,90 $\pm$ 0,35
		250	3.000	0,63 $\pm$ 0,15	1,94 $\pm$ 0,36
		500	3.000	0,93 $\pm$ 0,18 ^{*aa}	1,88 $\pm$ 0,35
		1.000	3.000	1,93 $\pm$ 0,25 ^{***aaa}	2,01 $\pm$ 0,36

MN: Mikronukleus, NBI: Nükleer Bölünme İndeksi, P.K.: Pozitif Kontrol, Ç.K.: Çözücü Kontrol, N. K.: Negatif Kontrol, MMC: Mitomisin-C

*Kontrolle göre $p<0,05$ anlamlı (z testi)

^a Çözücü Kontrolle göre $p<0,05$ anlamlı (z testi)

**Kontrolle göre $p<0,01$ anlamlı (z testi)

^{aa} Çözücü Kontrolle göre $p<0,01$ anlamlı (z testi)

***Kontrolle göre $p<0,001$ anlamlı (z testi)

^{aaa} Çözücü Kontrolle göre $p<0,001$ anlamlı (z testi)

Çizelge 4.6. TiO₂-NP-küresel formunun insan periferal lenfositlerinde mikronukleus oluşumuna etkisi

Test maddesi	Uygulama		İncelenen binükleat hücre sayısı	MN $\pm$ SH (%)	Nükleer bölünme indeksi $\pm$ SH (NBI)
	Süre (saat)	Doz (μ g/mL)			
N. Kontrol	48	0,00	3.000	0,13 $\pm$ 0,07	1,55 $\pm$ 0,32
P.K. (MMC)	48	0,20	3.000	0,47 $\pm$ 0,13	1,65 $\pm$ 0,33
Ç.K.	48	0,00	3.000	0,20 $\pm$ 0,08	1,25 $\pm$ 0,29
TiO ₂ NP	48	125	3.000	0,03 $\pm$ 0,03	1,61 $\pm$ 0,33
		250	3.000	0,07 $\pm$ 0,05	1,80 $\pm$ 0,34
		500	3.000	0,20 $\pm$ 0,08	1,45 $\pm$ 0,31
		1.000	3.000	0,60 $\pm$ 0,14 ^{***a}	1,50 $\pm$ 0,31

MN: Mikronukleus, NBI: Nükleer Bölünme İndeksi, P.K.: Pozitif Kontrol, Ç.K.: Çözücü Kontrol, N. K.: Negatif Kontrol, MMC: Mitomisin-C

*Kontrolle göre $p<0,05$ anlamlı (z testi)

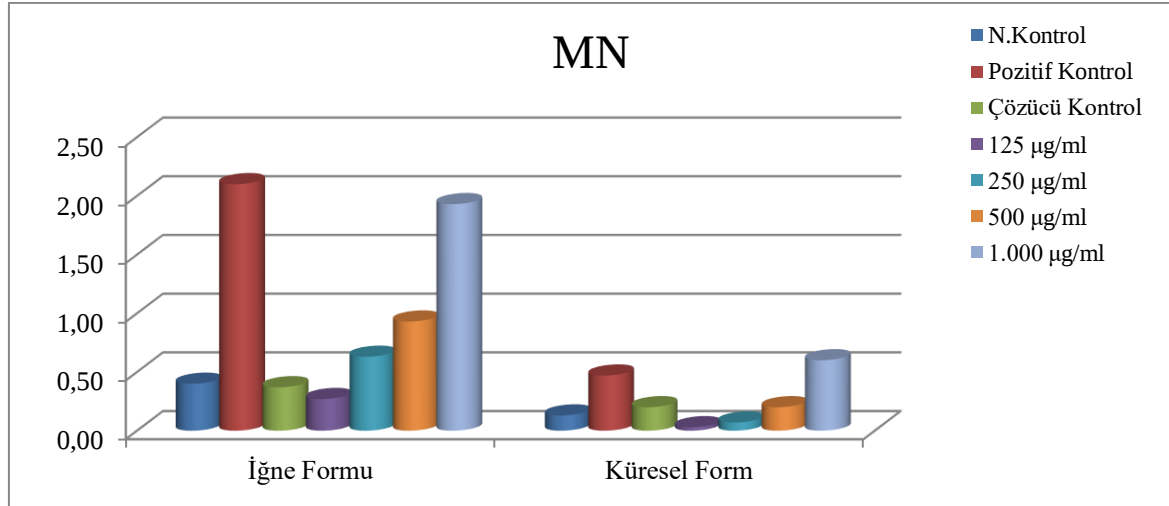
^a Çözücü Kontrolle göre $p<0,05$ anlamlı (z testi)

**Kontrolle göre $p<0,01$ anlamlı (z testi)

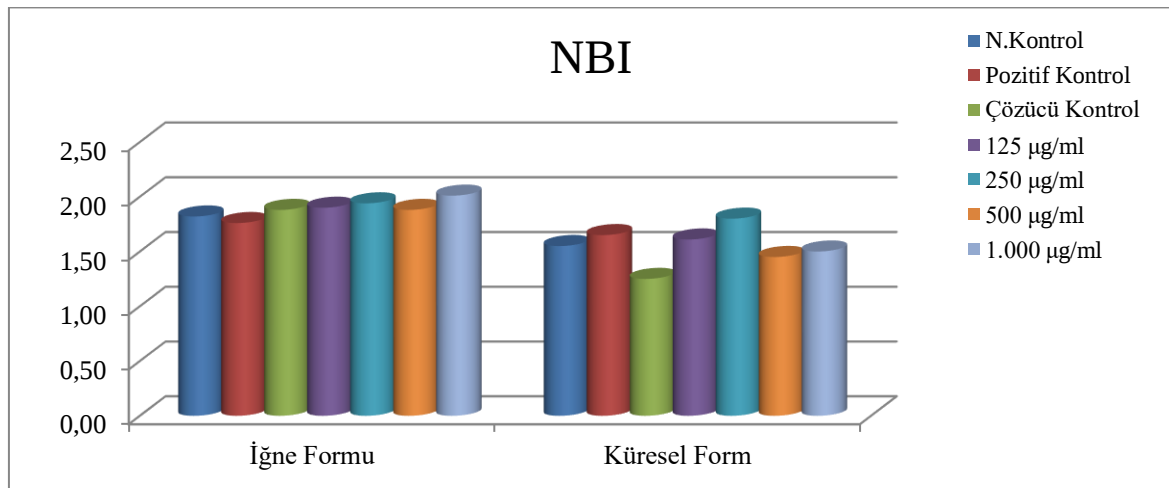
^{aa} Çözücü Kontrolle göre $p<0,01$ anlamlı (z testi)

***Kontrolle göre $p<0,001$ anlamlı (z testi)

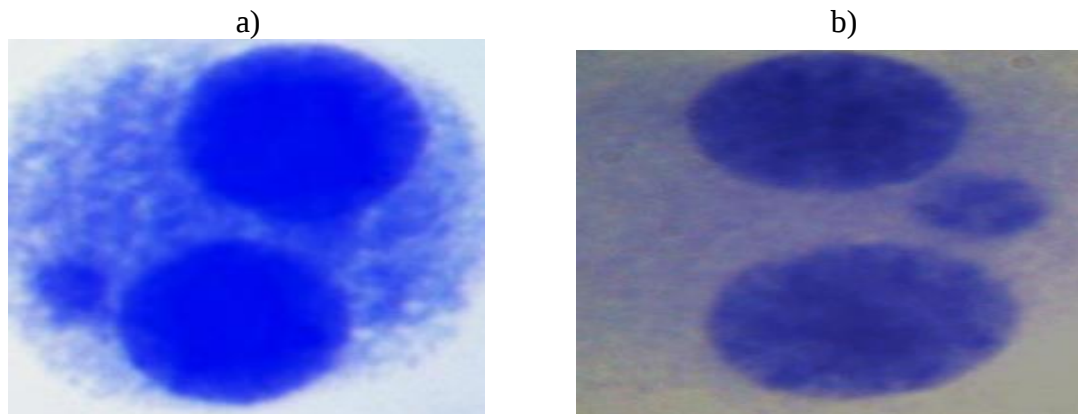
^{aaa} Çözücü Kontrolle göre $p<0,001$ anlamlı (z testi)



Şekil 4.11. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının, insan periferel lenfositlerinde mikronukleus frekansına etkisi



Şekil 4.12. TiO_2 -NP-iğne ve TiO_2 -NP-küresel formlarının, insan periferel lenfositlerinde nükleer bölünme indeksine etkisi



Resim 4.4. NP'lerin etkisi sonucunda oluşan mikronukleuslu binükleat hücre a) TiO_2 -NP-iğne formu, b) TiO_2 -NP-küresel formu

5. TARTIŞMA

Nanoteknoloji, nanoyapılar tasarlayıp sentezlemeyi, bu nanoyapılara yeni olağanüstü özellikler kazandırmayı ve bu özellikleri yeni işlevlerde kullanmayı amaçlamaktadır (Goodsel, 2000; Çıracı, 2006; Gong ve Cheng, 2016). Nanoteknolojide kullanılan nanomateriyaller çok aktif olmaları ve önemli kimyasal süreçlere aracılık etmelerinin yanında, çok farklı biyolojik ve olağanüstü elektronik veya manyetik özellikler de sergileyebilmektedir (Cai ve Xu, 2011; Zhang ve ark., 2016; Remiao ve ark., 2018). Bu nedenle nanoteknoloji ve nanopartiküller, kişisel bakım ürünlerinden savunma sanayiine, eczacılık ve tıp sektöründen otomotiv sektörüne, diş hekimliğinden boya ve tekstil üretimine kadar çok geniş alanlarda kullanılmakta ve her geçen gün daha da fazla yaygınlaşmaktadır. Nanoteknoloji ve nanopartiküller, özellikle sağlık alanında, pek çok hastalığın teşhisinde ve tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. İlacın etki edeceği yere uygun zaman ve dozda ulaşımı bu tekniklerle sağlanabilmektedir. Bütün bu veriler, insanların nanopartiküllere maruziyetinin her geçen gün arttığını göstermektedir (Cai ve ark., 2011).

Çağımızın en yaygın ve ölümcül hastalıklarından biri olan kanserin ortaya çıkmasında genetik yatkınlık %10 gibi küçük bir rol oynarken, çevresel etmenler %90'lara varan düzeylerde etkili olmaktadır. Çevresel faktörler, oksidatif stresi artırarak inflamasyona ve serbest radikal oluşumuna neden olmakta ve gen ekspresyon mekanizmasını bozarak DNA'daki genetik kodlamanın değişmesine veya kromozom düzeyinde hasarların ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Åkerlund ve diğerleri, 2018; Hamzeh ve Sunahara, 2013; Uboldi ve diğerleri, 2016). Son yıllarda, insanların giderek yaygın bir şekilde maruz kalmaya başladıkları ve önemli çevresel faktörlerden biri haline gelmeye başlayan nanopartiküllerin, normal partiküllere nazaran çok küçük boyutlarda olması sebebiyle, yüzey alanları ve kimyasal aktiviteleri de daha yüksektir. Bu sayede hücrelere daha kolay girerek daha fazla toksik ve genotoksik etkiler gösterebilmektedir (Lam ve ark., 2004). Bu nedenle son yıllarda çok farklı tipteki nanopartiküllerin hem toksik ve hem de genotoksik etkileri konusunda *in vitro* ve *in vivo* koşullarda, farklı hücre ve doku tiplerinde ve farklı organizmalarda araştırmalar gittikçe artış göstermektedir (Khan ve ark. 2018; Manickam ve ark., 2017; Trouiller ve ark., 2009; Haase ve ark., 2017; Skocaj ve ark., 2011). Bu araştırmaların bir kısmında NP'lerin toksik, sitotoksik ve genotoksik oldukları ifade edilirken (Federico ve ark., 2007; Liu ve ark., 2008, Chen ve ark., 2009; Kryston ve ark.,

2011), diğ er bazı araştırmalarda nanopartiküllerin anlamlı düzeyde toksik veya genotoksik etki oluşturmadığı bildirilmektedir (Ch avez-Garc a ve diğ erleri, 2018; Khare ve diğ erleri, 2011; Miller ve diğ erleri, 2010). Bir yandan nanopartikül kullanılan alanların sayısında meydana gelen artışlar ve bu artışlara paralel olarak insanların nanopartiküllere maruziyetinin her geçen gün artış göstermesi, diğ er yandan bu partiküllerin güvenilirliği konusunda bir kesinlik bulunmadığı gibi, mevcut sonuçların da oldukça farklı ve hatta bir biriyle çelişir durumdadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında oldukça farklı amaçlar için yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanan TiO₂ nanopartiküllerinin ilk defa iki farklı formu olan iğne ve küresel formun sitotoksik etkileri mitotoik indeks ile, genotoksik etkileri ise kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi ve mikronukleus testleri ile incelenmiş ve elde edilen bulgular karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir. Bu ve buna benzer araştırmalar, hem üretici ve tüketicilerde nanopartikül ve nanomateryal kullanımı konusunda bilinçlenmeye, hem NP'lerin varsa risklerinin ortaya konmasına ve buna uygun tedbirlerin alınmasına ve hem de zararlı etkileri yoksa kullanımlarının güvenli bir şekilde artırılmasına katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada nanopartiküllerin sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla kullanılan mitotoik indeks, hücre bölünmesini-çoğalmasını analiz eden basit ve kolay bir testtir. Mitotik indeksteki azalmanın, hücrelerin mitozaya girmesini sağlayan G₂ safhasının engellenmesinden dolayı ya da ATP seviyesinde azalmadan ve enerji üretim merkezindeki bozukluktan kaynaklandığı düşünülmektedir. DNA sentezinin engellenmesi, DNA sentezi için gerekli ve iė oluşumundan sorumlu olan enzimlerin baskılanması gibi durumlarda da mitotik indekste düşüş gözlenmektedir. Mitotik indeks düzeyi, bazı melanomların (bir çeşit deri kanseri) ve diğ er bazı kanser tiplerinin düzeyini belirlemede de kullanılmaktadır (Hidalgo ve ark., 1989; Yüzbaşıoğlu ve diğ erleri, 2006). Çeşitli kimyasalların ve çevresel ajanların genotoksik risklerini belirlemek amacıyla oldukça yaygın şekilde kullanılan ve OECD tarafından yönergeleri de yayınlanmış olan diğ er testler, kromozom anormallikleri ve mikronukleus testleridir. Kromozomal anormallikler, kendiliğinden veya kimyasal maruziyetin sonucunda, DNA'da veya mitotik elemanlarda meydana gelen hasarlara bağlı olarak normal kromozom yapısı ve sayısında oluşan değişiklikleri ifade etmektedir (Obe ve ark., 2010; Ginzkey ve ark., 2014). Yapılan pek çok bilimsel araştırmada, kromozom anormallikleri ve mikronukleus oluşumu ile kanser oluşumu arasında anlamlı bir bağlantı olduğu ve insanda kanserojen olan pek çok kimyasalın aynı zamanda klastojen olduğu belirlendiği için, KA ve MN oluşumları, kanser oluşma tehlikesine karşı bir indikatör

olarak kullanılmaktadır (Bonassi ve ark., 2000, 2011). Kromozom anormallikleri yapısal ve sayısal olarak iki şekilde ortaya çıkabilmektedir. Yapısal anormallikler, DNA kırıkları, DNA sentezinin inhibisyonu ve DNA replikasyonundaki hatalardan kaynaklanabilirken; poliploidi gibi sayısal anormallikler ise anojenik ajanların mitotik iplikleri etkilemesi ve kromozomların düzensiz şekilde ayrılmasından kaynaklanmaktadır (Albertini ve ark., 2000; Kaur, Singh, Batish ve Kohli, 2014; Türkoğlu, 2012; Krol ve ark., 2017). Kardeş kromatit değişimi testi de çeşitli ajanların DNA'daki genotoksik etkilerini belirlemek amacıyla uzun yıllar kullanılan ancak 2014 yılında OECD'nin yönergelerinden çıkarılan bir testtir. Buna rağmen günümüzde hala birçok pestisit, kimyasal mutajenlerin, karsinojenlerin ve nanopartiküllerin genotoksik etkilerini belirlemek amacıyla bilim insanları tarafından yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu test, kromozomda, homolog bölgelerdeki DNA replikasyon ürünlerinin karşılıklı değişimini, DNA'da mutajene bağlı kırılmaları ve yeniden birleşmeleri göstermektedir (Singh, 1988; Santoro ve ark., 2008; Beg ve ark., 2009; Montoro ve ark., 2012). Homolog rekombinasyon sırasında oluşan bu değişim bölgeleri, özel bir teknik ile kolayca ayırt edilmektedir. KKD testinin potansiyel karsinojen ve mutajenleri tespit etmede oldukça duyarlı olduğu vurgulanmıştır (Latt ve Schreck, 1980; Montoro ve ark., 2012; Soysal ve ark., 2008; Salawu ve ark., 2018; Remiao ve ark., 2018; Gea ve ark., 2019). Bu çalışmada kullanılan son test olan mikronukleus testi, çeşitli kimyasal ve fiziksel ajanların *in vitro* ve *in vivo* genotoksik etkilerini incelemede sıkça kullanılan bir testtir (Gentile ve ark., 2012; Fenech, 2007; Parry ve Kirsch-Volders, 2010; Preston ve ark., 2010; Bonassi ve ark., 2011). Çevresel ajanlara sürekli maruziyetin genetik hasarı tetiklediği ve hücre bölünme mekanizmasını değiştirerek mikronukleus sayısını anlamlı bir şekilde artırdığı kanıtlanmıştır (Hongping ve ark., 2006; Bekeschus ve ark., 2018; Arul ve ark., 2018; Bonassi ve ark., 2011). MN testi kimyasalların hem anöjenik ve hem de klastojenik etkisini belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (Albertini ve ark., 2000; Bekeschus ve ark., 2018; Arul ve ark., 2018).

Bu çalışmada titanyum dioksit nanopartiküllerinin insan lenfositlerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerini incelemek amacı ile hem iğne ve hem de küresel formların 125, 250, 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonları kullanılmıştır. Hazırlanan preparatlarda, her iki nanopartikül formunun sitotoksik etkileri mitotik indeksin analiz edilmesiyle tespit edilmiştir. TiO₂ NP'lerinin iğne formunun 125, 250 ve 500 µg/mL'lik konsantrasyonları mitotik indekste negatif kontrole kıyasla artışlara sebep olmuştur, bu artışlardan 250 µg/mL'deki anlamlı düzeydedir. 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonda ise çözücü kontrole

kıyasla mitotik indekste anlamlı bir düşüş gerçekleşmiştir. 48 saatlik uygulamada, 250, 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonların mitotik indekste düşüslere sebep olduğu, bunlardan en yüksek iki konsantrasyonun oluşturduğu düşüşün, hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı olduğu tespit edilmiştir. TiO_2 NP'lerinin diğer bir tipi olan küresel formun tüm konsantrasyonları hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamada, hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla (125 $\mu\text{g/mL}$ hariç) mitotik indekste düşüşe sebep olmuştur, bunlardan 24 saatlik uygulamada 1.000 $\mu\text{g/mL}$ (hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla) ile 48 saatlik uygulamada 250, 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik (negatif kontrole kıyasla) konsantrasyonlardaki düşüşler anlamlı düzeydedir. Lenfositlerdeki mitotik indeks, fiziksel ve kimyasal toksisitenin göstergesi olarak uzun yıllardır kullanılan ve halen kullanılmaya devam edilen önemli bir parametredir. Mitotik indekste düşüş, kullanılan ajanın, S evresindeki hücrelerde hem DNA sentezinin başlamasını engellemesinden ve hem de devam etmekte olan DNA sentezinin düzeyini azaltmasından kaynaklanabilir. Mitotik indekste azalma, çeşitli enzimlerin engellenmesi ile G_2 safhasının yavaşlatılmasından veya ATP seviyesindeki azalma neticesinde enerji üretim mekanizmasındaki bozulmalardan da kaynaklanmaktadır. Mitotik indekste düşüş, kullanılan kimyasalın hücre metabolizmasında bozulmalara sebep olduğunu da göstermektedir (Yüzbaşıoğlu ve ark., 2006; Alakoç ve Eroğlu, 2011; Hassanane ve ark., 2012; Honda ve ark., 2018). Bütün bu bilgiler dikkate alındığında, TiO_2 NP'lerinin iğne formunun kısa süre ve düşük konsantrasyonlarda mitotik indeksi hafif düzeyde tetiklediği, uzun süre ve yüksek konsantrasyonlarda ise, küresel formda olduğu gibi mitotik indeksi anlamlı şekilde düşürmüş olması nedeniyle (16 uygulama noktasından 7 tanesinde) her iki partikülün de orta derece sitotoksik olduğu ifade edilebilir. Diğer yandan oluşan sitotoksiste, küresel formda, iğne formuna kıyasla daha yüksek görünmektedir.

Bu çalışmada, her iki formdaki TiO_2 NP'lerinin insan lenfositlerindeki genotoksik etkileri, önce kromozom anormallikleri testi ile değerlendirilmiştir. İğne formundaki nanopartiküllerin insan lenfositlerine 24 ve 48 saat uygulamaları sonucunda, hem anormal hücre frekansında ve hem de KA/Hücre sayısında, bazı konsantrasyonlarda hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla artışlara sebep olduğu belirlenmiştir. 24 saatlik uygulamada, KA frekansında ve KA/Hücre sayısında, bütün konsantrasyonlarda negatif kontrole kıyasla artış gözlenmesine rağmen, bunlardan 250 $\mu\text{g/mL}$ ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'deki artışlar anlamlı düzeydedir. 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'deki artış, aynı zamanda çözücü kontrole kıyasla da anlamlıdır. 48 saatlik uygulamada ise 250 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlarda, hem negatif ve

hem de pozitif kontrole kıyasla KA frekansında artışlar olmasına rağmen, sadece 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik doz, hem negatif ve hem de pozitif kontrole kıyasla anlamlı düzeydedir. KA/Hücre düzeyi, sadece en yüksek doz olan 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'de, hem negatif ve hem de pozitif kontrole kıyasla anlamlıdır. Küresel formdaki TiO_2 NP'lerinin 24 saatlik uygulamasında da kromozom anormallikleri frekansında ve KA/Hücre sayısında, tüm konsantrasyonlarda hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla artışlar olmasına rağmen, KA frekansı 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'de (çözücü kontrole kıyasla), KA/Hücre sayısı da 500 $\mu\text{g/mL}$ 'de (hem negatif ve hem de pozitif kontrole kıyasla) anlamlı düzeydedir. 48 saatlik uygulamada ise, KA frekansındaki değişimler anlamlı değilken, KA/Hücre sayısındaki artış, 250, 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'de, çözücü kontrole kıyasla anlamlı düzeydedir. Kısaca, KA frekansı ve KA/Hücre sayısı bakımından, 24 ve 48 saatlik toplam 16 uygulama dikkate alındığında, iğne formundaki TiO_2 NP'leri, altı uygulama noktasında anlamlı artışlar gösterirken, küresel formdaki TiO_2 NP'leri beş uygulama noktasında anlamlı artışlara sebep olmuştur. Bu veriler her iki formdaki nanopartikülün şekilleri ve ebatları (iğne formu ebatı 10x40 nm APS; küresel formu ebatı <100 nm (BET)) farklı olsa da etkilerinin benzer ve zayıf genotoksik olduklarını göstermektedir. Ancak, iğne formundaki nanopartiküllerin hem 24 ve hem de 48 saatte oluşturduğu anormallik frekanları ve KA/Hücre düzeyleri, küresel forma nazaran daha yüksek düzeydedir. Bu da, iğne formundaki TiO_2 nanopartiküllerinin küresel forma nazaran genotoksik düzeyinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Küresel formun 48 saatlik uygulamasında, en yüksek konsantrasyonda, KA frekansının anlamlı düzeyde olmaması, bu konsantrasyonun mitotik indekste anlamlı düşüşler oluşturmamasından kaynaklanmış olabilir. Çünkü mitotik indekste düşüş olması, kimyasalın toksik etkili olduğunu ve dolayısıyla gözlenen hücrelerin sayısında azalmaya sebep olduğunu göstermektedir (Oberdörster ve ark., 2005; Yüzbaşıoğlu ve ark., 2006; Alakoç ve Eroğlu, 2011; Hassanane ve ark., 2012; Correiaa ve ark., 2017; Honda ve ark., 2018).

Bu tez çalışmasında incelenen TiO_2 nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının her ikisi de periferik insan lenfositlerinde kromatit kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatidlerde birleşme ve disentrik kromozom olmak üzere 5 farklı yapısal kromozom anormalliği oluşturmuştur. İğne formu küresel formdan farklı olarak 1 hücrede kromatid değişimi anormalliğine de sebep olmuştur. Ayrıca her iki formdaki nanopartikül, sayısal anormallik tipi olan poliplodi oluşturmuştur. Kromatid kırığı, her iki nanopartikül

formunun en yüksek frekansta oluşturduğu anormallik tipidir. Bunu fragment ve kardeş kromatitlerde birleşme takip etmektedir.

Bu tez çalışmasında gerek mitotik indekste ve gerekse kromozom anormalliği frekansı ile KA/Hücre sayısında gözlediğimiz sonuçlar nedeniyle TiO_2 nanopartiküllerinin hem iğne formu ve hem de küresel formların zayıf toksik ve genotoksik olması, bazı araştırmalardan elde edilen verilerle benzerlik gösterirken, diğer bazı araştırmalardan elde edilenlerden farklılık göstermektedir. Çünkü, nanopartiküllerin toksik etkisinde, partikülün şekli, ebatları, kristal durumları, yüzey alanı, yüzey kimyası, kaplama özellikleri, yüzeylere adsorbsiyonu, pH ve tuzluluk gibi birçok faktör rol oynamaktadır (Handy ve diğerleri, 2008; Yin ve diğerleri, 2015). Örneğin, Warheit ve arkadaşları tarafından, TiO_2 nanopartikülünün 1,4 nm ila 1 μm ebatları arasında değişen iğne formunun CHO hücrelerinde *in vitro* memeli kromozomal anormallik testi ile değerlendirildiği bir çalışmada, bu partikülün 750, 1.250 ve 2.500 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları S9'suz ortamda 4 saat, 62.5, 125 ve 250 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları S9'lu ortamda 4 saat ve 25, 50 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları S9'suz ortamda 20 saat uygulanmıştır. TiO_2 nanopartiküllerinin kromozom anormalliklerinde, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sebep olmadığı ifade edilmiştir (Warheit ve ark., 2007). Bizim çalışmamıza kıyasla daha yüksek konsantrasyonların ve daha kısa süreli muamele sürelerinin kullanıldığı bu çalışmada, kromozom anormalliklerinde artış gözlenmemesi fakat bizim çalışmamızda bazı konsantrasyonlarda anlamlı artışların ortaya çıkması, hem kullanılan nanopartikülün ebatlarından ve hem de kullanılan hücre tiplerinden kaynaklanmış olabilir. 100 nm'nin altındaki ebatlarda olan TiO_2 nanopartiküllerinin etkilerinin incelendiği bir başka araştırmada, insan lenfositleri ve eritrositleri, 0, 25, 50 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlara 3 saat maruz bırakılmıştır. Sitotoksik etkinin belirlenmesinde membran hasarı, mitokondriyal fonksiyon, metabolik aktivite ve lizozomal membran stabilitesi değerlendirilmiş, genotoksik etkinin belirlenmesinde ise komet testi kullanılmıştır. Ayrıca nanopartiküllerin hemolitik özellikleri, ozmotik kırılganlığı ve hemoglobinle etkileşimini de belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, insan lenfositlerinde membran bütünlüğünün etkilenmediğini fakat uygulanan nanopartikülün dozu arttıkça mitokondriyal dehidrojenaz aktivitesinde anlamlı bir düşüş olduğunu, DNA hasarı ve apoptoz düzeyinin tetiklendiğini göstermiştir (Ghosh ve ark., 2010). Bizim çalışmamıza kıyasla daha düşük konsantrasyonlar ve daha düşük maruziyet sürelerinin kullanıldığı bu çalışmada, apoptozun konsantrasyon ve maruziyet süresiyle korelasyonlu olarak tetiklenmesi, bizim çalışmamızda gözlenen sitotoksik ve

genotoksik etkilerin daha zayıf olmasının nedeninin, doz ve maruziyet süresinin daha uzun olması nedeniyle, hücrelerin daha fazla apoptoza yönelmesinden kaynaklanmış olabileceğini göstermektedir. Bu tez çalışmanın yapıldığı laboratuvar da daha önce Korkmaz ve arkadaşlarının incelediği ve bizim çalışmamızda da kullandığımız küresel TiO_2 nanopartikülünün 20, 40, 60, 80 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlarının, 24 ve 48 saatlik uygulamalarında, KA frekansında en fazla artışın en düşük dozlar olan 20 ve 40 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlarda olduğu tespit edilmiştir (Demirtaş Korkmaz., 2012). Nanopartiküllerin aglomerat oluşturma potansiyeli nedeniyle, yüksek konsantrasyonlarda daha büyük partiküllere dönüşmesi ve bunların da hücre içine girememesi nedeniyle, yüksek konsantrasyonlarda daha düşük etkiler meydana gelmiş olabilir.

Moleküler düzeyde yapılan incelemelerde, insan periferik kan hücrelerinin 25 nm ebatındaki rutil (%30-15) ve anataz (%70-85) TiO_2 'ye maruziyeti sonucunda, DNA'da hasar oluşturduğu ve bu nedenle DNA kontrol noktalarının aktive olduğu ve bu noktalarda kilit role sahip p53 proteininde yüksek düzeyde artış olduğu gözlenmiştir (Kang ve ark., 2008). Akciğerde biriken TiO_2 NP'lerinin analiz edildiği diğer bir çalışmada, maruziyet kesildikten yıllar sonra bile toksik ve genotoksik etkilerinin devam edebildiği gözlenmiştir. 53 yaşında, 40 yıldır sigara kullanan ve 13 yıldır TiO_2 paketleme bölümünde çalışan bir kadında, TiO_2 NP'lerinin lokal makrofaj yanıtını tetiklediği belirlenmiş ve bu kişide oluşan papiller adenokarsinomanın TiO_2 pnömokonyozu ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (Yamadori ve ark. 1986). Diğer taraftan rutil ve anataz TiO_2 'in bulk ve nanopartikül formlarının Balb/3T3 fare fibroblastlarındaki uygulaması ile nanopartiküllerin hücre içine alınmasının kristal formundan bağımsız ve boyuta bağlı olduğu, nano-titanyumun bulk formundan daha fazla alındığı bildirilmiştir. Ayrıca, klonojenik aktiviteyi, rutil formun düşürdüğü, anataz formun etkilemediği gözlenmiştir (Uboldi ve diğerleri, 2016). *In vitro* WIL2-NS insan lenfosit hücrelerinde ZnO partikülünün farklı boyutlarının (26, 78 ve 147 nm) etkilerini belirlemek amacıyla uygulanan testler sonucunda, nanopartikülün boyutu küçüldükçe, hücre canlılığı düzeyinin düştüğü tespit edilmiştir. Ayrıca, oluşan genotoksik hasarların NP'ün boyutuna göre değişiklik gösterdiği ve parçacık boyutu küçüldükçe hasarın düzeyinin arttığı vurgulanmıştır. Araştırmacılar bunun sebebinin, nanopartikülün ebatı küçüldükçe, hücreye nüfuz kabiliyetinin artması ve hücre çekirdeğine kadar girerek hücrenin yaşamsal faaliyetini olumsuz şekilde etkilemesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir (Yin ve diğerleri, 2015). Saygılı'nın yaptığı bir çalışmada SiO_2 (12 nm; 10, 50, 250 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$), CuO (<50 nm; 25, 50, 75, 100 $\mu\text{g/mL}$) ve Fe_2O_3 (<50 nm;

39.062, 78.125, 156.250 ve 312.500 $\mu\text{g/mL}$) nanopartiküllerin insan periferall lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik etkileri incelenmiştir. Araştırma bulgularına göre tüm nanopartiküllerin ve tüm konsantrasyonların anormal hücre frekansını ve KA/Hücre sayısını anlamlı bir şekilde artırdığı, tüm nanopartikül uygulamalarının (CuO NP'ü, 24 saatlik uygulama, 25 $\mu\text{g/mL}$ 'lik doz hariç) mitotik indeksi anlamlı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada, araştırmacılar metal oksit nanopartiküllerinin hem primer hem de sekonder genotoksik mekanizmalarla DNA hasarına yol açabileceğini de ifade etmişlerdir (Saygılı, 2015).

Nanopartiküllerin toksik ve genotoksik etkilerinin, onların şekillerinden etkilenebileceği düşünülerek, son yıllarda nanopartiküllerin farklı şekillerinin genotoksik etkilerini belirlemeye yönelik çeşitli çalışmalar da yürütülmektedir. TiO_2 nanopartiküllerin sferik, çubuk ve tel şeklindeki formlarının 100 nm'den küçük ebatlarının Caco-2/HT29 hücrelerindeki genotoksik etkilerinin incelendiği bir çalışmada, 12,5-350 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlar kullanılmıştır. Uygulanan komet testi sonuçlarına göre, genotoksik etkinin yüksekten düşüğe doğru sırasıyla en fazla tel şeklinde, sonrasında çubuk şeklinde ve en az etkinin ise sferik şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar genotoksik etkideki bu farkın, kullanılan NP'lerin şekillerindeki farktan kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Çünkü farklı şekillerdeki nanopartiküllerin hücre zarından geçiş oranlarında farklılıklar olabileceğini belirtmişlerdir (Rodriguez ve ark., 2018). TiO_2 nanopartiküllerinin levha, çubuk ve bipiramit şekillerinin 1-100 nm arasındaki ebatlarının insan bronşiyal epitel hücreleri (BEAS-2B) üzerine 20, 50, 80, 120 ve 160 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlarda uygulandığı ve genotoksik etkilerin komet testi ile incelendiği başka bir çalışmada, bipiramit ve çubuk şekilli TiO_2 NP'lerinin oksidatif hasar ve genotoksik etki göstermediği fakat levha şeklinde olanların anlamlı DNA hasarı oluşturduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, levha şeklinde olan NP'lerin hücre içine nüfuz oranının diğerlerine oranla daha yüksek olduğunu ve bu nedenle meydana gelen DNA hasarının bu formda anlamlı olduğunu belirtmişlerdir (Gea ve ark., 2019).

Literatürde, TiO_2 nanopartiküllerinin dışında, farklı nanopartiküllerin farklı formlarıyla yapılmış araştırmalar da yer almaktadır. Fe_2O_3 NP'lerinin, 1.000 nm=1 μm küresel, 36 nm küresel ve 50X100X500 nm ebatlarında çubuk olmak üzere üç farklı formunun, fare makrofaj hücrelerindeki sitotoksik etkisinin, çubuk formundakinde en düşük, küresel formlarda ise daha yüksek fakat bir biriyle eşdeğer düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Genotoksik etkinin ise en fazla çubuk şeklindeki nanopartikülde, en az ise mikro boyuttaki küresel partikülde olduğu gözlenmiştir. Genotoksik etkinin çubuk formunda en yüksek olmasının, yüzey alanının büyük olması nedeniyle daha reaktif olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Lee ve diğerleri, 2014). Amorf yapıdaki küresel (100 nm) ve çubuk (100x10 nm) silika NP'leri ile yapılan bir araştırmada, boyut arttıkça toksik etkinin azaldığı ve küresel olanların, çubuk şeklinde olanlardan daha toksik olduğu gözlenmiştir. Bu durum, büyük aglomerat oluşturan partiküllerin daha az toksik olduğu şeklinde açıklanmıştır. Çünkü çubuk şeklinde olan nanopartiküller 91 µm boyutunda aglomeratlar oluştururken, küresel formdaki nanopartiküller 260 nm boyutunda aglomeratlar oluşturmuştur. Yapılan araştırmalarda nanopartiküllerin oluşturduğu aglomeratların ebatları büyüdükçe, hücreye girişlerinin zorlaştığı, bu sayede genetik materyalin daha az bozulmaya uğradığı belirtilmektedir. Bununla birlikte yapılan araştırmalarda aglomeratların fazlalığı, inceleme ve analizleri de zorlaştırdığından genotoksisite verilerinde düşüşler gözlenebilmektedir. (Brown ve diğerleri, 2007; Demirtaş Korkmaz., 2012; Gea ve ark., 2019). Küre (7 nm), çubuk (7x40 nm) ve mil şeklinde (1200x270x30 nm) CuO NP'leri ile fare makrofajları ve periferel kanda yapılan diğer bir araştırmada, her iki hücre kültüründe de küresel formun daha sitotoksik olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, CuO NP'lerinin, şekli ve boyutu dikkate alınmaksızın, pozitif kontrol olarak kullanılacak kadar toksik olduğu bildirilmiştir (Di Bucchianico ve diğerleri, 2013).

Sonuç olarak, sitotoksisite (mitotik indeks) ve kromozom anormallikleri testlerinden elde ettiğimiz bulgular, literatürdeki bazı kaynakları desteklerken, diğer bazı çalışmaların sonuçlarından farklılıklar da göstermektedir. Bu farklılıklar, NP'ün türü, şekli, ebatları, kimyasal yapısı ve yüzey kaplaması gibi pek çok özellikten kaynaklanmaktadır. Bu tez çalışmasında iğne formundaki TiO₂ nanopartikülü küresel formdakine kıyasla daha fazla genotoksik etki göstermiştir.

Bu tez çalışmasında, titanyum dioksit nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının insan lenfositlerindeki genotoksik etkileri, ikinci bir test olan kardeş kromatid değişimi testi ile de incelenmiştir. İğne formunun 24 saatlik uygulamasında, negatif kontrole kıyasla 500 µg/mL'lik doz, KKD/Hücre sayısında anlamlı olmayan, 250 µg/mL'lik doz ise anlamlı bir düşüşe sebep olmuştur. 125 ve 1.000 µg/mL'lik dozlar ise negatif kontrole kıyasla anlamlı olmayan artışlara sebep olmuştur. Çözücü kontrol ile karşılaştırıldığında, bütün konsantrasyonlar (250 µg/mL hariç) KKD/Hücre sayısında anlamlı artışlar oluşturmuştur.

Küresel formun 24 saatlik uygulamasında, KKD/Hücre sayısı, 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlarda çözücü kontrole kıyasla, 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozda ise sadece negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Küresel formun 48 saatlik uygulamasında ise, bütün konsantrasyonlarda KKD/Hücre sayısı hem negatif ve hem de pozitif kontrole kıyasla artış göstermiş ancak bu artışların, 500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$ 'de anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Kısaca bu çalışmada, her iki nanopartikül formunun sadece iki yüksek konsantrasyonu (500 ve 1.000 $\mu\text{g/mL}$) KKD oluşumunu anlamlı şekilde tetiklemiştir. Kardeş kromatid değişimi, kromozom kararsızlığının göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Herhangi bir maddenin KKD sayısında artışa neden olması, o maddenin replikasyon mekanizmasını etkilediğini ve DNA hasarı oluşturabildiğini göstermektedir. Yapılan araştırmalarda, KKD sayısının normal bireylere nazaran kanser hastalarında anlamlı düzeyde yüksek olduğu, hatta sporadik kanserlere nazaran ailesel kanserlerde anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, KKD frekansının sadece kanserleri değil, ailesel kanserleri belirlemede de biyogösterge olarak kullanılabileceği ifade edilmektedir (Perry ve Thomson, 1984; Wilson III ve Thompson, 2007; Santoro ve ark., 2008; Beg ve ark., 2009; Montoro ve ark., 2012; De Pascalis ve ark., 2015; Pandey ve ark., 2016). Bu çalışmada elde edilen bulgular, daha önce gerek TiO_2 nanopartikülleri ile yapılan gerekse diğer nanopartiküller ile yapılan bazı genotoksik araştırmaların sonuçlarıyla benzerlik gösterirken, bazı araştırma sonuçlarından farklılıklar göstermektedir. Aynı laboratuvarında Demirtaş Korkmaz'ın yaptığı çalışmada da TiO_2 nanopartikülünün (Partikül boyutu <100 nm (BET), yüzey alanı $14 \text{ m}^2/\text{g}$, %1 Mn katkılı, Erime noktası $>350^\circ\text{C}$ (lit.)) hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamalarında 20, 60, 80 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlarının KKD frekansında kontrole göre anlamlı artışa sebep olduğu belirlenmiştir (Demirtaş Korkmaz, 2012). TiO_2 nanopartikülünün 0-5 mikrometre konsantrasyonları ile 24 saat muamele edilen CHO-K1 hücrelerinde de KKD frekansında anlamlı ve doza bağlı bir artış tespit edilmiştir. Bu nedenle TiO_2 'in potansiyel mutajen olduğu bildirilmiştir (Lu et al., 1998). Di Virgilio ve arkadaşları, Çin hamster ovaryum hücrelerinde, 20 nm TiO_2 NP'nin 1 ve 5 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonlarının 24 saatlik uygulamasının KKD frekansında anlamlı bir artışa sebep olduğunu, fakat Al_2O_3 NP'nin herhangi bir artış oluşturmadığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar farklı metal NP'lerinin farklı etkiler gösterebileceğini ve bu farklılığın nanopartiküllerin farklı kimyasal yapılarıya sahip olmaları nedeniyle hücre içine nüfuz etme düzeylerinin farklı olmasından kaynaklandığını vurgulamışlardır (Di Virgilio ve ark., 2010). 3 mM, 5 mM ve 10 mM TiO_2 -NP'leri (<100 nm) ile muamele edilen insan lenfositlerinde de KKD frekansında artış

olduğu rapor edilmiştir (Turkez, 2011). SiO₂ (12 nm; 10, 50, 250 ve 1000 µg/mL), CuO (<50nm; 25, 50, 75, 100 µg/mL) ve Fe₂O₃ (<50nm; 39.062, 78.125, 156.250 ve 312.500 µg/mL) nanopartiküllerinin tüm konsantrasyonlarının 24 ve 48 saatlik uygulamalarında da KKD sayısında anlamlı bir artış olduğu, bu nedenle bu partiküllerin genotoksik olduğu bildirilmiştir. NP'lerin fiziksel ve kimyasal özellikleri birbirinden farklı olması nedeniyle, en fazla genotoksik etkinin CuO NP'leri tarafından oluşturulduğu vurgulanmıştır (Saygılı, 2015). NP'lerin şekil, ebat ve kimyasal yapıları, aglomerat oluşturma özellikleri ve uygulandığı hücrelerin farklılıklarının yanında, kullanılan konsantrasyonlar ve uygulama sürelerindeki farklılıklar nedeniyle, bazı çalışmalarda güçlü pozitif genotoksik etki gözlenirken, bizim çalışmamızda daha az genotoksik etki tespit edilmiştir. KKD sonuçlarına göre iğne formundaki TiO₂ nanopartikülünün küresel formuna nazaran şekil farklılığı sebebiyle daha fazla genotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu araştırmada, titanyum dioksit nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının mikronukleus oluşumuna etkileri de incelenmiştir. İnsan lenfositlerinin iğne formundaki nanopartiküllere 48 saat maruziyeti, 500 ve 1.000 µg/mL'lik konsantrasyonlarda, MN frekansını hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı şekilde artırmıştır. Lenfositlerin küresel formdaki nanopartiküllere maruziyeti sonucunda ise sadece 1.000 µg/mL'lik konsantrasyon, MN frekansını hem negatif ve hem de çözücü kontrole kıyasla anlamlı düzeyde yükseltmiştir. Her iki formda da MN oluşumunun doz artışı ile artış gösterdiği tespit edilmiştir. Burada gözlenen sonuçlar, bazı araştırma sonuçlarına uygunluk gösterirken, bazılarına göre de tam tersi sonuçlar göstermektedir. Örneğin, insan linfoblast hücrelerinde 25 ila 155 nm arasındaki fine TiO₂ nanopartikülleriyle yapılan bir araştırmada, 26, 65 ve 130 µg/mL'lik dozların 6, 24 ve 48 saatlik uygulamasında, MN frekansı istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiş ve bu nedenle bu nanopartikülün genotoksik olduğu ifade edilmiştir (Wang ve ark., 2007). Partikül boyutu <20 nm (ultrafine) ve >200 nm (fine) TiO₂ partiküllerinin genotoksik etkileri Suriye hamsteri embriyo hücrelerinde MN testi ile incelendiğinde, ultrafine TiO₂ partiküllerinin test edilen tüm konsantrasyonlarda (0,5-5 µg/mL) MN frekansını artırdığı ve bu nedenle etkinin klastojenik olduğu rapor edilmiştir (Rahman ve ark., 2002). Bunların aksine, Sadiq ve arkadaşlarının yaptığı incelemede, 10 nm anataz TiO₂ nanopartiküllerinin 0.5, 5 ve 50 mg/kg dozlarının fare kemik iliğinde sitotoksositeye sebep olduğu fakat MN frekansında anlamlı bir artış oluşturmadığı belirlenmiştir (Sadiq ve ark., 2012). Laboratuvarımızda Demirtaş Korkmaz'ın yaptığı araştırmada, bu tez çalışmasında da kullanılan küresel TiO₂

nanopartikülünün 20, 40, 60, 80 ve 100 µg/mL’lik dozlarının insan lenfositlerine 48 saatlik maruziyet sonucunda, tüm uygulamaların MN frekansını kontrole kıyasla artırdığı fakat bu artışın sadece en yüksek konsantrasyon olan 100 µg/mL’lik uygulamada anlamlı, diğer uygulamalarda ise anlamsız olduğu tespit edilmiştir (Demirtaş Korkmaz, 2012). Bu tez çalışmasında, Demirtaş Korkmaz’ın konsantrasyonlarına nazaran daha yüksek konsantrasyonlar kullanılmasına rağmen, sadece en yüksek iki konsantrasyonda (500 ve 1.000 µg/mL) MN frekansında hem negatif ve hem de çözücü kontrole göre anlamlı artış gözlenmiştir. Bu bilgiler de sadece nanopartikülün tipi, şekli ve ebatı gibi özellikleri değil, aynı zamanda kullanılan primer hücrenin elde edildiği bireyin genetik ve belki de beslenme ve diğer çevresel farklılıklarının da toksik etkilerde farklılıklar oluşturabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada, TiO₂ nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının, insan lenfositlerinde replikasyon indeksini ve nükleer bölünme indeksini anlamlı şekilde tekilemediği tespit edilmiştir. Bu sonuç, nanopartikülün her iki formunun da DNA replikasyonu ve hücre proliferasyonu üzerinde anlamlı etki göstermediğine işaret etmektedir. Bu durum, hem TiO₂ NP’nin farklı tipleri, şekilleri, ebatları ve konsantrasyonları ile ve hem de diğer bir çok nanopartikülün farklı konsantrasyon ve sürelerde uygulanması sonucunda elde edilen verilerle benzerlik göstermektedir (Horie ve ark., 2009; Demirtaş Korkmaz, 2012; Saygılı, 2015; Korkmaz, 2018).

Sonuç olarak her iki nanopartikül formunun da sitotoksik ve genotoksik etkiler oluşturmakla birlikte, bu etkilerin bütün uygulamalarda anlamlı düzeyde olmaması ve anlamlı değişikliklerin genellikle yüksek konsantrasyonlarda ortaya çıkması nedeni ile (Çizelge 5.1), bu nanopartiküllerin zayıf sitotoksik, zayıf genotoksik ve zayıf klastojenik olduğu ifade edilebilir. Bununla birlikte bazı yüksek konsantrasyonlarda, genotoksik hasarların, düşük dozlara nazaran daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum, ya hücrelerin apoptoza gitmesi veya sitotoksik etki nedeniyle mitotik indeksin azalması sonucunda bölünmekte olan hücre sayısındaki azalmadan kaynaklanabilir, ya da yüksek konsantrasyonlarda aglomerasyon düzeyi de arttığından, nanopartiküllerin toplam ebatları büyüdüğü için hücre içine girmediği zorlanacaklarından genotoksik etkilerinin de düşük düzeyde kalmasını sağlayabilir (Churg ve ark., 1998; Gurr ve ark., 2005; Horie ve ark., 2011; Allouni ve ark., 2009; Mohamed, 2015). Her iki partikül benzer sitotoksik etki gösterirken, kromozom anormalliği ve mikronukleus oluşumunda iğne formu, küresel

forma kıyasla daha etkili rol oynamış, kardeş kromatid değişiminde ise küresel form iğne formuna kıyasla daha etkili olmuştur (Çizelge 5.1.). Bu farklılıklar hem nanopartikülün tipinden, hem şeklinden ve hem de uygulanan testlerin mekanizmalarındaki farklılıktan kaynaklanabilmektedir (Ispas ve ark. 2009; Bucchianico ve ark. 2013).

Nanopartiküllerin toksisitesine yönelik olarak gerek bu çalışmada ve gerekse diğer bir çok çalışmada gözlenen sitotoksik ve genotoksik etkilerin, nanopartiküllerin sahip olduğu spesifik özellikler nedeniyle oluşturulan iki farklı ve önemli mekanizma ile ortaya çıktığını göstermektedir. Bu mekanizmalar primer ve sekonder genotoksik mekanizma olarak adlandırılmaktadır (Şekil 5.1.) (Golbamaki et al., 2015; Modrzynska ve ark., 2018).

“Sekonder genotoksisite”, genotoksisitenin partikülden kaynaklı inflamasyon nedeniyle üretilen reaktif oksijen türleri vasıtasıyla oluşturulması, “primer genotoksisite” ise, inflamasyon yokluğunda oluşturulan genotoksisite olarak adlandırılmaktadır (AshaRani ve ark., 2009). Araştırmalar, primer genotoksik mekanizmanın, nanomateriyallerin ya direkt olarak DNA ile etkileşime girmesi sonucunda ya da NM-kaynaklı reaktif oksijen türleri veya çözünebilen veya az çözünen nanomateriyallerden salınan toksik iyonlardan kaynaklandığını göstermektedir. Sekonder genotoksik mekanizmada DNA hasarı, nanomateriyal kaynaklı inflamasyon esnasında aktive edilen fagositler tarafından üretilen reaktif oksijen türleri tarafından oluşturulmaktadır (Şekil 5.1) (AshaRani ve ark., 2009; Wang ve ark., 2012; Golbamaki ve ark., 2015).

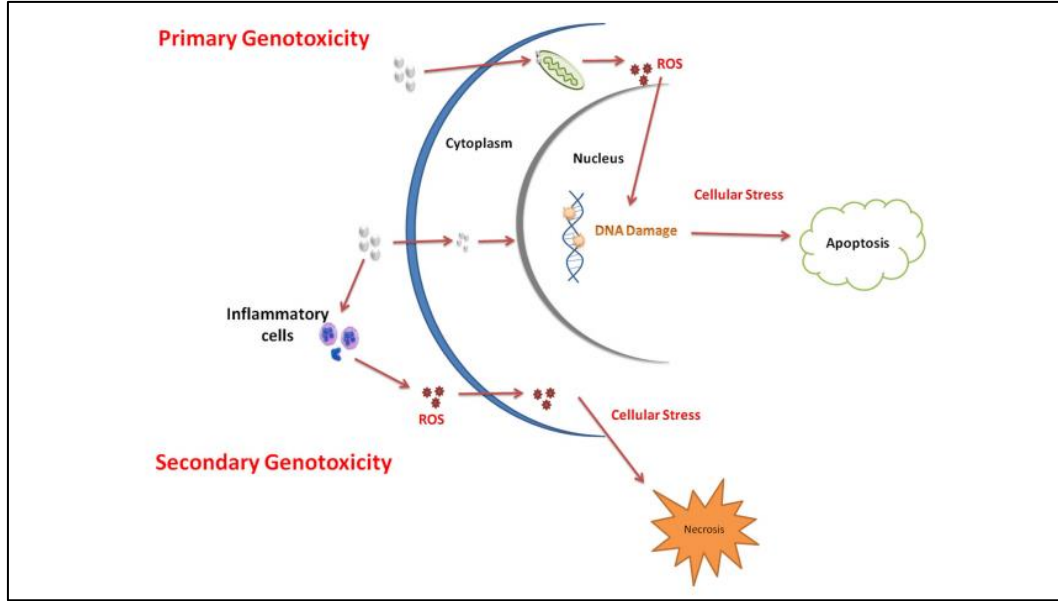
Primer genotoksik mekanizma

Primer genotoksik mekanizmanın, direkt ve indirekt mekanizma olmak üzere iki şekilde ortaya çıktığı ifade edilmektedir. Direkt genotoksisite, nanopartiküllerin hücreye ve çekirdeğe girmesinden sonra, direkt olarak DNA moleküllerine bağlanması (bazlara veya DNA fragmentlerine) ve DNA replikasyonu ve transkripsiyonu gibi moleküler mekanizmaları bozmasıyla ortaya çıkmaktadır. Birçok araştırmada nanomateriyallerin bu şekilde etkili olduğu belirtilmiştir. Primer genotoksisitenin indirekt mekanizmasında, aslında nanomateriyallerin DNA hasarı oluşturabilmesi için direkt olarak DNA ile etkileşime girmesi gerekmediği belirtilmektedir. Bu mekanizma, nanopartiküllerin nükleer proteinlerle (replikasyon, transkripsiyon ve tamir) etkileşimi, hücre döngüsünde ve onarım sisteminde hasar oluşturması, nanopartikül yüzeyinden ROT’lerinin ve toksik metal

iyonlarının salınması, hücre komponentleri tarafından ROT'lerinin oluşturulması ve antioksidan savunma sisteminin bozulması gibi yollarla ortaya çıkmaktadır (Şekil 5.1) (Doak ve ark., 2007; Gonzalez ve ark., 2008; Golbamaki et al., 2015; Manickam ve ark., 2017).

Sekonder genotoksik mekanizma

Sekonder genotoksik mekanizmada genotoksisite, nanomateriyallerin etkisiyle inflamatuvar hücreler (nötrofil ve makrofajlar) tarafından üretilen ROT'leri ve reaktif nitrojen türlerinin (RNT) etkisiyle oluşmaktadır. Bu durumda ROT'leri nanopartikülün kendisi veya yüzeyinden salınan iyonlar tarafından değil, nanomateriyal etkili inflamasyon işleminden kaynaklanmaktadır (Wang ve ark., 2012; Golbamaki et al., 2015). Ayrıca, inflamasyon boyunca üretilen sekonder medyatörlerin etkileri (sitokinez ve kemokinez gibi) ve hepatik akut faz cevabını da içeren DNA hasar süreci ile de oluşabilir. Son olarak karaciğerdeki akut faz lezyonları ile de meydana gelebilmektedir (Modrzynska ve ark., 2017). Sekonder genotoksik mekanizma, kısaca, nanomateriyalin kronik inflamatuvar yanıtı tetiklemesi ve o bölgeye akın eden nötrofil ve makrofajlar tarafından oluşturulan aşırı ROT'lar tarafından tetiklenmektedir (Federico ve ark., 2007; Correia ve ark., 2017). Bu durum hücre membranı ve yapısındaki proteinlere ve daha makro boyutlardaki dokulara da zarar vermektedir. En önemlisi de genetik materyalde ve kromozomlarda yapısal hasarlara yol açmaktadır (Şekil 5.1) (Petersen ve ark., 2010; Golbamaki ve ark., 2015; Akhtar ve ark., 2016; Correia ve ark., 2017; Manickam ve ark., 2017) .



Resim 5.1. Genotoksisite mekanizmaları (Manickam ve ark., 2017)

Çizelge 5.1. TiO₂-NP-iğne ve TiO₂-NP-küresel formlarının, insan periferik lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik uygulamalarının anormal hücre yüzdesi, KA/Hücre, KKD, MI, MN, RI ve NBI sonuçlarının karşılaştırılması

Titanium dioksit iğne NPs		Anormal Hücre Yüzdesi	KA/Hücre	KKD	MI	MN	RI	NBI
24 saat	125 µg/mL	↑	↑	↑	↑		↑	
	250 µg/mL	↑	↑	↓	↑		↓	
	500 µg/mL	↑	↑	↓	↑		↓	
	1000 µg/mL	↑	↑	↑	↓		↑	
48 saat	125 µg/mL	↓	↓	↓	↑	↓	↑	↑
	250 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↑
	500 µg/mL	↓	↓	↑	↓	↑	↓	↑
	1000 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↑
Titanium dioksit küresel NP								
24 saat	125 µg/mL	↑	↑	↓	↓		↑	
	250 µg/mL	↑	↑	↓	↓		↓	
	500 µg/mL	↑	↑	↑	↓		↑	
	1000 µg/mL	↑	↑	↑	↓		↑	
48 saat	125 µg/mL	↑	—	↑	↓	↓	↓	↑
	250 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↓	↓	↑
	500 µg/mL	↑	↑	↑	↓	↑	↓	↓
	1000 µg/mL	↓	↑	↑	↓	↑	↓	↓

↑ Negatif Kontrole göre anlamlı artış ↑ Negatif Kontrole göre anlamsız artış
 ↓ Negatif Kontrole göre anlamlı azalış ↓ Negatif Kontrole göre anlamsız azalış
 — Negatif Kontrole göre aynı

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanoteknolojide son yıllarda yaşanan gelişmelerle birlikte, nanopartiküllerden üretilen ürünlerin sayısında da artışlar olmuştur. Nanoteknolojinin temelini oluşturan nanopartiküller, büyük formlarına kıyasla, nano boyutları sayesinde kazandıkları pek çok fizikokimyasal özellikleri nedeniyle, hayatımızın birçok alanında yer edinmeye başlamıştır. Nanopartiküller elektronikten kozmetiğe, teşhis ve tıbbi tedaviden spor malzemelerinin üretimine, boya sanayiinden tekstile, askeri malzemelerden gıdaya kadar pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yaygın kullanımla birlikte hem insanlar ve hem de ekosistemde bulunan tüm canlılar doğrudan ve dolaylı olarak bu partiküllere maruz kalmaya başlamıştır. Bu da nanopartiküllerin potansiyel zararları konusunda birçok bilim insanının endişe duymasına sebep olmuş ve bunların toksik ve özellikle genotoksik etkilerinin araştırılması gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu tür araştırmalardan elde edilen bazı sonuçlar, nanopartiküllerin hem sitotoksik ve hem de genotoksik olduğunu gösterirken, diğer bazı araştırma sonuçları ciddi bir toksik etki hatta bazılarında hiçbir toksik etki olmadığını göstermektedir.

TiO₂ nanopartikülleri, kişisel bakım ürünlerinden duvar ve gıda boyalarına, dış macunlarından kağıt ve plastik üretimine, elektronik uygulamalardan ilaç kapsüllerinin üretimine kadar çok geniş alanlarda kullanılmaktadır. Bu nanopartiküllerin genotoksik etkileri konusunda yapılan araştırmalarda da hem pozitif ve hem de negatif sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Hem nanopartiküllerin insan hayatında birçok alanda kullanılmaya başlanması ve hem de bunların sitotoksik ve genotoksik olabileceği yönünde çelişkili sonuçların bulunması, bu partiküllerin toksik etkilerinin de detaylı bir şekilde incelenmesi gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle, bu tez çalışmasında TiO₂ nanopartiküllerinin iğne ve küresel formlarının sitotoksik ve genotoksik etkileri, kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi ve mikronukleus testi kullanılarak incelenmiştir.

TiO₂ nanopartikülünün her iki formu da benzer sitotoksik etkili olup, bu etki zayıf düzeydedir. Kromozomal anormallik testine göre her iki nanopartikül zayıf genotoksik ve klastojenik olup, iğne formunun etkisi küresel forma nazaran biraz daha yüksektir. Kardeş kromatid değişimi testine göre her iki nanopartikül de hücre başına düşen KKD sayısında, aynı miktardaki uygulamada istatistiksel olarak anlamlı artışa sebep olurken, iğne formunun 24 saatlik bir uygulamasında anlamlı düşüş tespit edilmiştir.

Ancak her ikisi de zayıf genotoksik ve mutajenik etki göstermiştir. Mikronukleus testine göre, iğne formu daha fazla uygulamada, küresel form ise daha az uygulamada mikronukleus oluşturmuştur. Bütün bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, TiO₂ nanopartikülünün iğne ve küresel formlarının zayıf sitotoksik, zayıf genotoksik, zayıf klastojenik ve zayıf mutajenik olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak, bu nanopartiküllerin sitotoksik ve genotoksik etkilerinin ortaya konulabilmesi için, hem *in vitro* koşullarda farklı organizmaların farklı hücre tiplerinde, hem de *in vivo* koşullarda çeşitli canlı türlerinde daha detaylı genotoksik araştırmaların yapılması gerekmektedir. Böylece nanopartiküllerin toksik etkileri konusunda daha fazla bilgilere ulaşılabileceği gibi, bunlardan en az zararlı en fazla yararlanmanın yolları da belirleniyor olacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahamed, M., AlSalhi M. S., and Siddiqui, M. K. J. (2010). Silver nanoparticle applications and human health. *Chilina Chemica Acta*, 411, 1841-1848.
- Åkerlund, E., Cappellini, F., Di Bucchianico, S., Islam, S., Skoglund, S., Derr, R. and Karlsson, H. L. (2018). Genotoxic and mutagenic properties of Ni and NiO nanoparticles investigated by comet assay, γ -H2AX staining, Hprt mutation assay and ToxTracker reporter cell lines. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 59(3), 211-222.
- Akhtar, M. J., Kumar, S., Alhadlaq, H. A., Alrokayan, S. A., Abu-Salah, K. M., and 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.
- Alakoç, C., and Eroğlu, H.E. (2011). Determining mitotic index in peripheral lymphocytes of welders exposed to metal arc welding fumes. *Turkish Journal of Biology*, 35(3), 325-330.
- Albertini, R. J., Anderson, D., Douglas, G. R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A. T., Norppa, H., Shaker, D. E., Tice, R., Waters, M. D., and Aitio, A. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research*, 463(2), 111-172.
- Allouni, Zouhir E., Cimpan, M. R., Hølb. Paul, J., Skodvin, T., and Gjerdet, N. R. (2009). Agglomeration and sedimentation of TiO₂ nanoparticles in cell culture medium. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 68(1), 83-87.
- Ames, B. N., Mccann, J., and Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/Mammalian-Microsome Mutagenicity Test. *Mutation Research*, 31(6), 347-364.
- Arslan, F. (2011). *Karbon Nanotüp Takviyeli Polimer Nanokompozit Geliştirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Arul, P., Smitha, S., Masilamani, S., and Akshatha, C. (2018). Micronucleus assay in exfoliated buccal epithelial cells using liquid based cytology preparations in building construction workers. *Iran Journal of Pathology*, 13(1), 30-37.
- AshaRani, P. V., Mun, G. L. K., Hande, M. P., and Valiyaveetil, S. (2009). Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells, *ACS Nano*, 3(2), 279-290.
- Asmatulu, R., Nguyen, P., and Asmatulu, E. (2013). Nanotechnology safety in the automotive industry. *Nanotechnology Safety*, 57-72.
- Atha, D. H., Nagy, A., Steinbrück, A., Dennis, A. M., Hollingsworth, J. A., Dua, V., Iyer, R. and Nelson, B. C. (2017). Quantifying engineered nanomaterial toxicity: comparison of common cytotoxicity and gene expression measurements. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), 79.

- Auffan, M., Rose, J., Bottero, Jean-Yves, Lowry, G. V., Jolivet, J.-P., and Wiesner, M.R. (2009). Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nature Nanotechnology*, 10.1038/NNANO.2009.242.
- Australian Bureau of Statistics. (1991). Estimated resident population by age and sex in statistical local areas. *New South Wales, June 1990 (No.3209.1)*. Canberra, Australian Capital Territory: Mary Peters, 187.
- Avuloğlu Yılmaz, E., Ünal, F., and Yüzbaşıoğlu, D. (2017). Evaluation of cytogenetic and DNA damage induced by the antidepressant drug-active ingredients, trazodone and milnacipran, in vitro. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(1), 57-66.
- Bach, U., Corr, D., Lupo, D., Pichot, F., and Ryan, M. (2002). Nanomaterials-based electrochromics for paper-quality displays. *Advanced Materials*, 14(11), 845-848.
- Baker, J. R., Quintana, A., Piehler, L., Banaszak-Holl, M., Tomalia, D., and Raczka, E. (2001). The Synthesis and Testing of Anti-Cancer Therapeutic Nanodevices, *Biomedical Microdevices*, 3(1), 59-67.
- Balogh, L., Bielinska, A., Eichman, J. D., Valluzzi, R., Lee, I., Baker, J. R., Lawrence, T. S., and Khan, M. K. (2002). Dendrimer nanocomposites in medicine. *Chimica OGG/Chemistry Today*, 20(5), 85-40.
- Beg, T., Siddique, Y. H., Ara, G., Gupta, M., and Afzal, J. (2009) Protective action of EGCG against anticancer drugs MMS and CP. *The Internet Journal of Pharmacology*, 6(2), 1-7
- Bekeschus, S. Schmidt, A., Kramer, A. Metelmann, H. R., Adler, F., vonWoedtke, T., Niessner, F., Weltmann, K. D., and Wende, K. (2018). High throughput image cytometry micronucleus assay to investigate the presence or absence of mutagenic effects of cold physical plasma. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 59(4), 268-277.
- Bermudez, E., Mangum, J. B., Wong, B. A., Asgharian, B., Hext, B. M., Warheit, D. B., and Everitt, J. I. (2003). Pulmonary Responses of Mice, Rats, and Hamsters to Subchronic Inhalation of Ultrafine Titanium Dioxide Particles. *Toxicological Sciences*, 77(2), 347-357.
- Bhattacharya, K., Davoren, M., Boertz J., Schins R.P., Hoffmann, E., and Dopp, E. (2009). Titanium dioxide nanoparticles induce oxidative stress and DNA-adduct formation but not DNA-breakage in human lung cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 6(1), 17.
- Biswas, P., and Wu C. Y. (2005). Nanoparticles and the environment. *Journal of the Air & Waste Management Association* 55(6), 708-746.
- Bonassi, S., El-Zein, R., Bolognesi, C., and Fenech, M. (2011). Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis*, 26(1), 93-100.

- Bonassi, S., Hagmar, L., Strömberg, U., Montagud, A. H., Tinnerberg, H., Forni, A., Heikkilä, P., Wanders, S., Wilhardt, P., Hansteen, Inger-Lise, Knudsen, Lisbeth E. and Hannu, N. (2000). Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. *Cancer Research*, 60(6), 1619-1625.
- Boulaiz H., Alvarez P. J., Ramirez A., Marchal J. A., Prados J., Rodríguez-Serrano F., Perán M., Melguizo C., and Aranega A. (2011). Nanomedicine: application areas and development prospects. *Molecular Sciences*, 12(5), 3303-3321.
- Boyles, M. S. P., Ranninger, C., Reischl, R., Rurik, M., Tessadri, R., Kohlbacher, O., Duschl, A., and Huber, C. G. (2016). Copper oxide nanoparticle toxicity profiling using untargeted metabolomics. *Particle and Fibre Toxicology*, 13(1), 49.
- Brown C.S., Kamal M., Nasreen N., Baumuratov A., Sharma P., Antony V.B., and Moudgil B.M. (2007). Influence of shape, adhesion and simulated lung mechanics on amorphous silica nanoparticle toxicity. *Advanced Powder Technology*, 18(1), 69-79.
- Bucchianico S. D., Fabbri M. R., Misra S. K., Valsami-Jones E. Berhanu D., Reip P., Bergamaschi E., and Migliore L. (2013). Multiple cytotoxic and genotoxic effects induced in vitro by differently shaped copperoxide nanomaterials. *Mutagenesis*, 28(3), 287-299.
- Bueza, C., Pacheco, I., and Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointherphases*, 2(4), 18-65.
- Cai, X. J., and Xu, Y. Y. (2011). Nanomaterials in controlled drug release. *Cytotechnology*, 63(4), 319-323.
- Chávez-García, D., Juárez-Moreno, K., Campos, C. H., Tejeda, E. M., Alderete, J. B., and Hirata, G. A. (2018). Cytotoxicity, genotoxicity and uptake detection of folic acid-functionalized green upconversion nanoparticles Y₂O₃/Er³⁺, Yb³⁺ as biolabels for cancer cells. *Journal of Materials Science*, 53(9), 6665-6680.
- Chen, J., Dong, X., Zhao, J., and Tang, G. (2009). In vivo acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles to mice after intraperitoneal injection. *Journal of Applied Toxicology*, 29(4), 330-337.
- Churg, A., Stevens, B. and Wright, J. L. (1998). Comparison of the uptake of fine and ultrafine TiO₂ in a tracheal explant system. *American Journal of Physiology*, 274(1), 81-86.
- Colognato, R., Bonelli, A., Ponti, J., Farina, M., Bergamaschi, E., Sabbioni, E., and Migliore, L. (2008). Comparative genotoxicity of cobalt nanoparticles and ions on human peripheral leukocytes in vitro. *Mutagenesis*, 23(5), 377-382.
- Colvin, V. L. (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*, 21(10), 1166-1170.

- Correiaa, B., Lourençoa, J., Marquesa, S., Nogueirac, V., Gavinac, A., Rasteiroe, M. G., Antunese, F., Mendoa, S., and Pereirac, R. (2017). Oxidative stress and genotoxicity of an organic and an inorganic nanomaterial to eisenia andrei: sds/ddab nano-vesicles and titanium silicon oxide. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 140, 198-205.
- Çelik, M., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D., Ergün, M. A., Arslan, O., and Kasap, R. (2004). *In vitro* effect of karathane lc (dinocap) on human lymphocytes. *Mutagenesis*, 20(2), 101-104.
- Çıracı, S. (2006). Bilkent Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi, *Metrenin Bir Milyarda Birinde Bilim ve Teknoloji. TÜBİTAK Bilim ve Teknik Eki Yeni Ufuklar*, 2-4.
- Dankovic, D, Kuempel, E., and Wheeler, M. (2007). An approach to risk assessment for TiO₂. *Inhalation Toxicology*, 19(1), 205-212.
- Davoren, M., Herzog, E., Casey, A., Cottineau, B., Chambers, G., Byrne, H. J., and Lyng, F. M. (2009). *In vitro* toxicity evaluation of single walled carbon nanotubes on human A549 lung cells. *Toxicology In Vitro*, 21(3), 438-448.
- De Pascalis, I., Pilato, B., Mazzotta, A., and Dell'Endice, T.S. (2015). Sister chromatid exchange: A possible approach to characterize familial breast cancer patients. *Oncology Reports*, 33(2), 930-934.
- Demirtaş Korkmaz, F. (2012). *Titanyum dioksit ve çinko oksit nanopartiküllerinin in vitro insan lenfositlerindeki genotoksik etkilerinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Department of Defense Director, Defense Research and Engineering (2009). *Defense Nanotechnology Research and Development Program*.
- Di Bucchianico, S., Fabbri, M.R., Misra, S.K., Valsami-Jones, E. Berhanu, D., Reip, P., Bergamaschi, E., and Migliore, L. (2013). Multiple cytotoxic and genotoxic effects induced in vitro by differently shaped copper oxide nanomaterials. *Mutagenesis*, 28(3), 287-299.
- Di Virgilio, A.L., Reigosa, M., Arnal P.M., and Fernández Lorenzo de Mele, M. (2010). Comparative study of the cytotoxic and genotoxic effects of titanium oxide and aluminium oxide nanoparticles in Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1-3), 711-8.
- Doak, S. H., Jenkins, G. J. S., Johnson, G. E. J., Quick, E., Parry, E. M., and Parry J. M. (2007) Mechanistic influences for mutation induction curves after exposure to dna-reactive carcinogens. *American Association for Cancer Research*, 67(8), 3904-3911.
- Ema, M., Masumori S., Kobayashi N., Naya M., Endoh S., and Maru J. (2013). *In vivo* comet assay of multi-walled carbon nanotubes using lung cells of rats intratracheally instilled. *Journal Application of Toxicology*, 33(19), 1053-60.
- Erkoç, Ş. (2010). Nanobilim ve nanoteknoloji. *Orta Doğu Teknik Üniversitesi Toplum ve Bilim Merkezi*, 4. Baskı.

- Falck, G.C.M., Lindberg, H.K., and Suhonen, S. (2009). Genotoxic effects of nanosized and fine TiO₂. *Human and Experimental Toxicology*, 28(6-7), 339-352.
- Federico, A., Morgillo, F., Tuccillo, C., Ciardiello, F., and Loguercio, C. (2007). Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *International Journal of Cancer*, 121(11), 2381-2386.
- Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 2(5), 1084-1104.
- Ferin J., Oberdörster G., and Penney D. P. (1992). Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 6(5) .
- Garcia-Sagredo, J.M. (2008). Fifty years of cytogenetics: A parallel view of the evolution of cytogenetics and genotoxicology. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1779(6-7), 363-375.
- Gea M., Bonetta S., Iannarelli L., Giovannozzi A. M., Maurino V., Bonetta S., Hodoroaba V. D., Armato C., Rossi A. M., and Schiliro T. (2019). Shape-engineered titanium dioxide nanoparticles (TiO₂-NPs): cytotoxicity and genotoxicity in bronchial epithelial cells. *Food and Chemical Toxicology*, 127, 89-100.
- Gentile, N., Man˜as, F., Bosch, B., Peralta, L., Gorla, N., and Aiassa, D. (2012). Micronucleus assay as a biomarker of genotoxicity in the occupational exposure to agrochemicals in rural workers. *Bull Environmental Contamination Toxicology*, 88(6),816-822.
- Ghosh, M., Bandyopadhyay, M., and Mukherjee, A. (2010). Genotoxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles at two trophic levels: plant and human lymphocytes. *Chemosphere*, 81(10), 1253-1262.
- Gogotsi, Y., Welz, S., Ersoy, D. A., and McNallan, M. J. (2001). Conversion of silicon carbide to crystalline diamond-structured carbon at ambient pressure. *Mcmillian Magazines Ltd.*, Vol: 411(6835).
- Golbamaki, N., Rasulev, B., Cassano, A., Robinson, R. L. M., Benfenati, E., Leszczynskib, J., and Croninc, M.T.D. (2015). Genotoxicity of metal oxide nanomaterials: review of recent data and discussion of possible mechanisms. *Nanoscale*, 7(6), 2154-2198.
- Gong, S. and Cheng, W. (2016). One-dimensional nanomaterials for soft electronics. *Advanced Electronic Materials*, 3(3),1-29.
- Gonzalez, A., Larroy, C., Biosca, J. A., and Arino, J. (2008). Use of the TRP1 auxotrophic marker for gene disruption and phenotypic analysis in yeast: a note of warning. *FEMS Yeast Research*, 8(1), 2-5.
- Gonzalez, L., Lison, D., and Kirsch-Volders M. (2009). Genotoxicity of engineered nanomaterials: a critical review. *Nanotoxicology*, 2(4), 252-273.
- Goodsell, D. S. (2000). Biomolecules and nanotechnology. *American Scientist*, 88(3), 230.

- Gratton S. E. A., Ropp P. A., Pohlhaus P. D., Luft J. C., Madden V. J., Napier M. E., and DeSimone J. M. (2008). The effect of particle design on cellular internalization pathways. *Cell Biology*, 105(33), 11613-11618.
- Gurr, J-R., Wang, A. S. S., Chen, C-H. and Jan, K-Y. (2005). Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology*, 213(1-2), 66-73.
- Haase, A., Dommershausen, N., Schulz, M., Landsiedel, R., Reichardt, P., Krause, B. C., Tentschert, J., and Luch, A. (2017). Genotoxicity testing of different surface-functionalized SiO₂, ZrO₂ and silver nanomaterials in 3D human bronchial models. *Archives of Toxicology*, 91(12), 3991-4007.
- Habiba, U., Ali, S., Farid, M., Shakoor, M. B., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbasi, G. H., Hayat, T., and Ali, B. (2015). EDTA enhanced plant growth, antioxidant defense system and phytoextraction of copper by *Brassica napus* L. *Environmental Sciences of Pollution Research*, 22(2), 1534-1544.
- Hackenberg, S., Friehs, G., Kessler, M., Froelich, K., Ginzkey, C., Koehler, C., Scherzed, A., Burghartz, M. and Kleinsasser, N. (2011). Nanosized titanium dioxide particles do not induce DNA damage in human peripheral blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 52(4), 264-268.
- Hagmar, L., Bonassi, S., Strömberg, U., Brögger, A., Knudsen, L. E., Norppa, H., and Reuterwall C. (1998). Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the european study group on cytogenetic biomarkers and health (ESCH). *Cancer Research*, 58(18), 4117-4121.
- Hamzeh, M., and Sunahara, I.G. (2013). In vitro cytotoxicity and genotoxicity studies of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in Chinese hamster lung fibroblast cells. *Toxicology in Vitro*, 27(2), 864-873.
- Handy D. R., Kammer V. F., Lead R. J., Hassello M., Owen R., and Crane M. (2008). The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*, 17(4), 287-314.
- Handy, R. D., and Shaw, B. J. (2007). Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health, Risk and Society*, 9(2), 125-144.
- Hassanane, M. S., Hafiz, N., Radwan, W., and El-Ghor, A.A. (2012). Genotoxic evaluation for the tricyclic antidepressant drug, amitriptyline. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-6. 35(4), 450-455.
- Hidalgo, A., Gonzalez-Reyes, J. A., Navas, P., and Garcia-Herdugo, G. (1989). Abnormal mitosis and growth inhibition in *Allium cepa* roots induced by protham and chlorprotham. *Cytobios*, 57(228), 7-14.
- Honda, H. Fujita, Y. Kasamatsu, T., Fuchs, A., Fautz, R., and Morita, O. (2018). Necessity for retrospective evaluation of past-positive chemicals in *in vitro* chromosomal aberration tests using recommended cytotoxicity indices. *Genes and Environment*, 40(1), 2.

- Hongping, D., Jianlin, L., Meibian, Z., Weic, W., Lifen, J., Shijie, C., Wei, Z., Baohonga, W., and Jiliang, H. (2006). Detecting the cytogenetic effects in workers occupationally exposed to vincristine with four genetic tests. *Mutation Research*, 599(1-2), 152-159.
- Horie, M., Kato, H., Fujita, K., Endoh, S., and Iwahashi, H. (2011). *In vitro* evaluation of cellular response induced by manufactured nanoparticles. *Chemical Research in Toxicology*, 25(3), 605-619.
- Horie, M., Nishio, K., Fujita, K., Endoh, S., Miyauchi, A., Saito, Y., Iwahashi, H., Yamamoto, K., Murayama, H., Nakano, H., Nanashima, N., Niki, E., and Yoshida, Y. (2009). Protein Adsorption of Ultrafine Metal Oxide and Its Influence on Cytotoxicity toward Cultured Cells. *Chemical Research in Toxicology*, 22(3), 543-553.
- Ispas C., Andreescu D., Patel A., Goia D.V., Andreescu S. and Wallace K. (2009). Toxicity and developmental defects of different sizes and shape nickel nanoparticles in zebrafish. *Environ. Science of Technoogy*, 43(16), 6349-6356.
- İnternet: European Union Observatory for Nanomaterials. URL: <https://euon.echa.europa.eu/food1>. Son Erişim Tarihi: 13.05.2019.
- İnternet: NASA. URL: https://www.nasa.gov/centers/ames/research/technology-nepagers/carbon_nanotube_growth.html. Son Erişim Tarihi: 10.04.2018.
- Jacobsen, N. R., Saber, A. T., White, P., Miller, P., Pojana, G., Vogel, U., Loft, S., Gingerich, J., Soper, L., Douglas, G.R. and Wallin, H. (2007). Increased mutant frequency by carbon black, but not quartz, in the lacZ and cii transgenes of mutattmmouse lung epithelial cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48(6), 451-461.
- Jacobsen, N.R., Pojana, G., White, P., Moller, P., Cohn, C.A., Korsholm, K.S., Vogel, U., Marcomini, A, Loft S., and Wallin, H. (2008). Genotoxicity, cytotoxicity, and reactive oxygen species induced by single walled carbon nanotubes and C(60) fullerenes in the FE1-Mutatrade mark-Mouse lung epithelial cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 49(6), 476-487.
- Jain, A. K., and Pandey, A. K. (2017). Chromosomal abberations. *Mutagenicity: Assays and Applications*, 69-92.
- Jain, A. K., Singh, D., Dubey, K., Maurya, R., Mittal, S., and Pandey, A. K. (2018). Models and methods for *in vitro* toxicity. *In Vitro Toxicology*, 45-65.
- Jariwala, D., Sangwan, V. K., Lauhon, L. J., Marksab, T. J., and Hersam, M. C. (2013). Carbon nanomaterials for electronics, optoelectronics, photovoltaics and sensing. *Cheical Society Reviews*, 42(7), 2824-2860.
- Jaworska, H. G., Nejman, P., Czumin, K., Przybyłowski, T., Huczko, A., Lange, H., Bystrzejewski, M., Baranowski, P., and Chazan, R. (2006). Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one-dimensional nanocarbons. *Carbon*, 44(6), 1057-1063.

- Jiang, J., Oberdorster, G., and Biswas, P. (2009). Characterisation of size, surface charge and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *Journal Nanopart Research*, 11(1), 77-89.
- Kamyshny, A. and Magdassi, S. (2014). Conductive nanomaterials for printed electronics. *Small* 2014, 10(17), 3515-3535.
- Kang, S. J., Kim, B. M., Lee, Y. J., and Chung, H. W. (2008). Titanium dioxide nanoparticles trigger p53-mediated damage response in peripheral blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 49(5), 399-405.
- Kaur, G., Singh, H. P., Batish, D. R., and Kohli, R. K. (2014). Pb-inhibited mitotic activity in onion roots involves DNA damage and disruption of oxidative metabolism. *Ecotoxicology*, 23(7), 1292-1304.
- Khan A., Wen Y., Huq, T., and Ni, Y. (2018). Cellulosic nanomaterials in food and nutraceutical applications: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(1), 8-19.
- Khare, P., Sonane, M., Pandey, R., Ali, S., Gupta, K. C., and Satish, A. (2011). Adverse effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 7(1), 116-117.
- Kim, H. R., Kim, M. J., Lee, S. Y., Oh, S. M., and Chung, K. H. (2011). Genotoxic effects of silver nanoparticles stimulated by oxidative stress in human normal bronchial epithelial (BEAS-2B) cells. *Mutation Research*, 726(2), 129-35.
- Kisin E. R., Murray A. R., Keane M.J., Shi X-C., Schwegler-Berry D., Gorelik O., Arepalli S., Castranova V., Wallace W. E., Kagan V. E., and Shvedova A. A. (2007). Single-walled carbon nanotubes: geno- and cytotoxic effects in lung fibroblast V79 cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 1528-7394, 70(24), 1087-2620.
- Korkmaz N. (2018). *İğnemi ve polirodanin kaplı iğnemi Tio₂ nanopartiküllerinin insan lenfositlerindeki genotoksik etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Król, A., Pomastowski, P., Rafińska, K., Railean-Plugaru, V., and Buszewski, B. (2017). Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249, 37-52.
- Kryston, T. B., Georgiev, A. B., Pissis, P., and Georgakilas, A. G. (2011). Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research*, 711(1-2), 193-201.
- Kumari, M., Mukherjee, A., Chandrasekaran, A. (2009). Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of the Total Environment*, 407(19), 5243-5246.

- Kurzawa Z., Malgorzata., Sharma V., Najafzadeh, M., Reynolds, P. D, Davies, J. P., Shukla, R., K.; Dhawan, A., Anderson, D. (2017). Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage in peripheral blood lymphocytes from polyposis coli, colon cancer patients and healthy individuals: an *ex vivo/in vitro* study. *Nanoscience and Nanotechnology*, 17(12), 9274-9285.
- Lam C.W., James J.T., McCluskey R. and Hunter R.L. (2004). Pulmonary toxicity of single- nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicological Sciences*, 77(1), 126.
- Latt, R.R., Sehrek, K.S., Loveday, C.P., and Dougherty, C.F. (1980). Sister chromatid exchange. *Advanced Human Genetics*, 10, 267-331.
- Lebedová, J., Hedberg, Y. S., Wallinder, I. O., and Karlsson, H. L. (2018). Size-dependent genotoxicity of silver, gold and platinum nanoparticles studied using the mini-gel comet assay and micronucleus scoring with flow cytometry. *Mutagenesis*, 33(1), 77-85
- Lee, J.H, Ju, J.E, Kim, B., Pak, P.J., Choi, E.K., Lee, H.S., and Chung N. (2014). Rod shaped iron oxide nanoparticles are more toxic than sphere-shaped nanoparticles to murine macrophage cells. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(12), 2759-2766.
- Lim, M. A., Kim, D. H., Park, C. O., Lee, Y. W., Han, S. W., Li, Z., Williams, R. S., and Park, I. (2012). A new route toward ultrasensitive, flexible chemical sensors: metal nanotubes by wet-chemical synthesis along sacrificial nanowire templates. *American Chemical Society*, 6(1), 598-608.
- Liu, L., Takenaka, T., Zinchenko, A. A., Chen, N., Inagaki, S., and Asada, H. (2008). Cationic silica nanoparticles are efficiently transferred into mammalian cells. *International Symposium Micro-NanoMechatronics and Human Science*, 1, 281-5.
- Long, Y. M., Hu, L. G., Yan, X. T., Zhao, X. C., Zhou, Q. F., Cai, Y., and Jiang, G. B. (2017). Surface ligand controls silver ion release of nanosilver and its antibacterial activity against *Escherichia coli*. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 3193-3206.
- Lu, P. J., Ho, I. C., and Lee, T. C. (1998). Induction of sister chromatid exchanges and micronuclei by titanium dioxide in Chinese hamster ovary-K1 cells. *Mutation Research*, 414(1-3), 15-20.
- Majumder D., Banerjee, R. Ulrichs, Ch. Mewis, I. Samanta, A., Das, A. Mukhopadhyay, S. K., Adhikary, S. and Goswami, A. (2006). Nano-fabricated materials in cancer treatment and agri-biotech applications: buckyballs in quantum holy grails. *IETE Journal of Research*, Special Issue on Nanoscience, September- October 2006 , 52(5), 339-356.
- Mamur, S., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., and Yılmaz, S., (2010). Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes. *Toxicology In Vitro*, 24(3), 790-794.

- Manickam, V., Velusamy, R. K. Amith, L. R., Rajendran, B., and Tamizhselvi, R. (2017). Applications and genotoxicity of nanomaterials in the food industry. *Environmental Chemical Letters*, 15(3), 399-412.
- Manjo'n, A. M., Moldenhauer, K., Wagener, P., and Barcikowski, S. (2011). Nano-energy research trends: bibliometrical analysis of nanotechnology research in the energy sector. *Journal of Nanopart Research*, 13(9), 3911-3922.
- Marcua, A., Totha, G., Srivastava, R., and Strasser, P. (2012). Preparation, characterization and degradation mechanisms of PtCu alloy nanoparticles for automotive fuel cells. *Journal of Power Sources*, 208, 288-295
- Masciangioli, T., and Zhang, W. X. (2003). Environmental technologies at the nanoscale. *Environmental Sciences Technology*, 37: 102a-108a.
- Miller R. J., Lenihan H. S., Muller E. B., Tseng N., Hanna S. K., and Keller A. A. (2010). Impacts of metal oxide nanoparticles on marine phytoplankton. *Environmental Science and Technology*, 44(19), 7329-7334.
- Modrzynska, J., Berthing, T., Ravn-Haren, G., Jacobsen, N., R., Weydahl, I., K., Loeschner, K., Mortensen, A., Saber, A. T., and Vogel, U. (2018). Primary genotoxicity in the liver following pulmonary exposure to carbon black nanoparticles in mice. *Particle and Fibre Toxicology*, 15(1), 2.
- Mohamed, H. R. H. (2015). Estimation of TiO₂ nanoparticle-induced genotoxicity persistence and possible chronic gastritis-induction in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 76-83.
- Monteiro-Riviere N. A., Nemanich, R. J., Inmana, A. O., Wang, Y. Y. and Riviere, J. E. (2005). Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicology Letters*, 155(3), 377-384.
- Montoro, A., Soriano, J. M., Barquinero, J. F., Almonacid, M., Montoro, A., Verdu G., Sahuquillo, V., Villaescusa, J. I., and Sebastia, N. (2012). Assessment in vitro of cytogenetic and genotoxic effects of propolis on human lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 50(2), 216-221.
- Mullera, J., Huauca, F., Moreau, N., Missona, P., Heilera, J. F., Delosc, M., Arrasa, M., Fonseca, A., Nagy, J. B., and Lison, D. (2005). Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 207(3), 221– 231.
- Obe, G., Johannes, C., Ritter, S. (2010). The number and not the molecular structure of DNA double-strand breaks is more important for the formation of chromosomal aberrations: a hypothesis. *Mutation Research*, 701(1), 3-11.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., and Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), 823-839.
- Oesch, F., and Landsiedel, R. (2012). Genotoxicity investigations on nanomaterials. *Arch Toxicol*, 86(7), 985-994.

- Özdoğan, E., Demir, A., and Seventekin, N. (2006). Nanotechnology and its applications in textile industry. *Tekstil ve Konfeksiyon*, 16(4), 225-229.
- Pandey, N., Dhiman, S., Srivastava, T., and Majumder, S. (2016). Transition metal oxide nanoparticles are effective in inhibiting lung cancer cell survival in the hypoxic tumor microenvironment. *Chemico-Biological Interactions*, 254, 221-230.
- Pante, N., and Kann, M. (2001). Nuclear pore complex is able to transport macromolecules with diameters of - 39 nm. *Molecular Biology of the Cell*, 13(2), 425-434.
- Park, E. J., Yi, J., Chung, K. H., Ryu, D. Y., Choi, J., and Park, K. (2008). Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology Letters*, 180(3), 222-229.
- Park, J. H., Gu, L., Maltzahn, G., Ruoslahti E., Bhatia S. N., and Sailor, M. J. (2009). Biodegradable luminescent porous silicon nanoparticles for in vivo applications. *Nature Materials*, 8(4), 331-336.
- Parry, J. M., and Kirsch-Volders, M. (2010). Special issue on in vitro MN trial. *Mutation Research*, 702(2), 132-134.
- Peng, X. J.; Luan, Z. K.; Ding, J.; Di, Z. H.; Li, Y. H., and Tian, B. H. (2005). Ceria nanoparticles supported on carbon nanotubes for the removal of arsenate from water. *Materials Letters*. 59(4), 399-403
- Pereira, S. R., and Coelho, M. C. (2015). Can nanomaterials be a solution for application on alternative vehicles? - a review paper on life cycle assessment and risk analyses. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40(14), 4969-4979.
- Perry, P., and Evans, H.J. (1975). Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature*, 258 (5531), 121-125.
- Petersen, E. J., and Nelson, B. C. (2010). Mechanisms and measurements of nanomaterial-induced oxidative damage to DNA. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 398(2), 613-50.
- Pietroiusti, A., Bergamaschi, E., Campagna, M., Campagnolo, L., Palma, G. D., Iavicoli, S., Leso, V., Magrini, A., Miragoli, M., Pedata, P., Palombi, L. and Iavicoli, I. (2017). The unrecognized occupational relevance of the interaction between engineered nanomaterials and the gastro-intestinal tract: a consensus paper from a multidisciplinary working group. *Particle and Fibre Toxicology*, 14(1), 47.
- Poland, C.A., Duffin, R., Kinlock, I., Maynard, A., Wallace, W. A., Seaton, A., Stone, V., Brown, S., Macnee, W., and Donaldson, K. (2008). Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nature Nanotechnology*, 3(7), 423-8.
- Preston, R. J., Skare, J. A., and Aardema, M. J. (2010). A review of biomonitoring studies measuring genotoxicity in humans exposed to hair dyes. *Mutagenesis*, 25(1), 17-23.

- Ranjan, S., and Ramalingam, C., (2016). Titanium dioxide nanoparticles induce bacterial membrane rupture by reactive oxygen species generation. *Environ Chem Lett.*, 14(4), 487-494.
- Remião, M. H., Segatto, N. V., Pohlmann, A., Guterres, S. S., Seixas, F. K., and Collares, T. (2018). The Potential of Nanotechnology in Medically Assisted Reproduction. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 1-9.
- Report of the National Nanotechnology Initiative Workshop (2004). *Nanotechnology in Space Exploration*, United States of America, Palo Alto, CA.
- Rodriguez, A. G., Vila, L., Cortes, C., Hernandez, A., and Marcos, R. (2018). Effects of differently shaped TiO₂ NPs (nanospheres, nanorods and nanowires) on the in vitro model (Caco-2/HT29) of the intestinal barrier. *Particle and Fibre Technology*, 15(1), 33.
- Sadiq, R., Bhalli, J. A., Yan, J., Woodruff, R.S., Pearce, M.G., Li Y., Mustafa, T., Watanabe, F., Pack, L.M., Biris, A.S., Khan Q.M., and Chen T. (2012). Genotoxicity of TiO₂ anatase nanoparticles in B6C3F1 male mice evaluated using Pig-a and flow cytometric micronucleus assays. *Mutation Research*, 745(1-2), 65-72.
- Salawu, A. Wright, K., Al-Kathiri, A., Wyld; L., Reed, M., and Sisley, K. (2018). Sister chromatid exchange and genomic instability in soft tissue sarcomas: potential implications for response to dna-damaging treatments. *Hindawi Sarcoma*, 2018, 1-8.
- Santoro, A., Bianco, G., Picerno, P., Aquino, R. P., Autore, G., Marzocco, S., Gazzero, P., Lioi, M. B., and Bifulco, M. (2008). Verminoside and verbascoside-induced genotoxicity on human lymphocytes: Involvement of PARP-1 and p53 proteins. *Toxicology Letters*, 178(2), 71-76.
- Sarı, M., Gemi, L., Yazman, S., and Akdemir, A. (2016). Investigating mechanical properties of sio₂ nanoparticle reinforced epoxy/nanocomposites. *International Materials Symposium*.
- Sayes, C. M., Wahi, R., Kurian, P. A., Liu, Y., West, J. L., Ausman, K. D., Warheit, D. B. and Colvin, V. L. (2006). Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. *Toxicological Sciences*, 92(1), 174-185.
- Saygılı, Y. (2015). *Bazı nanopartiküllerin (SiO₂, CuO, Fe₂O₃) in vitro periferik insan lenfositlerinde genotoksik etkileri*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Shvedova, A., Castranova, V., Kisin, E., Schwegler-Berry, D., Murray, A, Gandelsman, V., Maynard, A., and Baron, P. (2003). Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 66(20), 1909-1926.
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., and Schneider, E. L. (1988) A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1), 184-191

- Skocaj, M., Filipic, M., Petkovic, J., and Novak, S. (2011). Titanium dioxide in our everyday life; is it safe? *Radiol. Oncol.*, 45(4), 227-247.
- Sozer, N. and Kokini, J. L. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, 27(2), 82-89.
- Sua, H., Wanga, Y., Gua, Y., Bowmanb, L., Zhaoa, J., and Ding, M. (2017). Potential applications and human biosafety of nanomaterials used in nanomedicine. *Journal of Applied Toxicology*, 38(1), 3-24.
- Şekeroğlu, Z. A., ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik Toksisite Testleri. *TUBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229.
- Tiano, L., Armeni, T., Venditti, E., Barucca, G., Mincarelli, L., and Damiani, E. (2010). Modified TiO₂ particles differentially affect human skin fibroblasts exposed to UVA light. *Free Radical Biology & Medicine*, 49(3), 408-415.
- Timoroğlu, İ, Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H., and Çelik, M. (2012). Assessment of the genotoxic effects of organophosphorus insecticides phorate and trichlorfon in human lymphocytes. *Inc. Environ Toxicol*, 29(5), 577-587.
- Trouiller, B., Reliene, R., Westbrook, A., Solaimani, P., and Schiest, R. H. (2009). Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice. *Cancer Research*, 69(22), 1-16.
- Turkez H. (2011). The role of ascorbic acid on titanium dioxide induced genetic damage assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Experimental Toxicology and Pathology*, 63(5), 453-457.
- Türkoğlu, Ş. (2012). Determination of genotoxic effects of chlorfenvinphos and fenbuconazole in *Allium cepa* root cells by mitotic activity, chromosome aberration, DNA content, and comet assay. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(3), 224-230.
- Uboldi, C., Urbán, P., Gilliland, D., Bajak, E., Valsami-Jones, E., Ponti, J., and Rossi, F. (2016). Role of the crystalline form of titanium dioxide nanoparticles: Rutile, and not anatase, induces toxic effects in Balb/3T3 mouse fibroblasts. *Toxicology in Vitro*, 31, 137-145.
- Vijay, U., Gupta, S., Mathur, P., Suravajhala, P., and Bhatnagar, P. (2018). Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test. *Bio Protocol*, 8(6), 1-15.
- Wang, J. J., Sanderson, B. J., and Wang, H. (2007). Cyto- and genotoxicity of ultrafine TiO₂ particles in cultured human lymphoblastoid cells. *Mutation Research*, 628(2), 99-106.
- Wang, Z., Li, N., Zhao, J., White, J. C., Qu, P., and Xing, P. (2012). CuO nanoparticle interaction with human epithelial cells: Cellular uptake, location, export, and genotoxicity. *Chemical Research Toxicology*, 25(7), 1512-1521.

- Warheit, D. B., Hoke, R. A., Finlay, C., Donner, E. M., Reed, K. L., and Sayes, C. M. (2007). Development of a base set of toxicity tests using ultrafine TiO₂ particles as a component of nanoparticle risk management. *Toxicology Letters*, 171(3), 99-110.
- Warheit, D. B., Laurence, B. R., Reed, K. L., Roach, D. H., Reynolds, G. A. M., and Webb, T. R. (2004). Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats. *Toxicological Sciences*, 77(1), 117-125.
- Williams, K. M., Gokulan, K., Cerniglia, C. E., and Khare, S. (2016). Size and dose dependent effects of silver nanoparticle exposure on intestinal permeability in an in vitro model of the human gut epithelium. *Journal of Nanobiotechnology*, 14(1), 62.
- Wilson, III, D. M., and Thompson, L. H. (2007). Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange. *Mutation Research*, 616(1-2), 11-23.
- Xu, A., Chai, Y., Nohmi, T., and Hei, T. K. (2009). Genotoxic responses to titanium dioxide nanoparticles and fullerene in gpt delta transgenic MEF cells. *Partical and Fibre Toxicology*, 6(1), 3.
- Yamadori, I., Ohsumi, S., and Taguchi, K. (1986) Titanium dioxide deposition and adenocarcinoma of the lung. *Acta Pathologica Japan*, 36(5), 783-790.
- Yang, H., Liu, C., Yang, D., Zhang, H., and Xi, Z. (2009). Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by four typical nanomaterials: the role of particle size, shape and composition. *Journal of Applied Toxicology*, 29 (1), 69-78.
- Yin, Y.F., Xu, W., Sun, Q., Xiao, L., and Sun, J. (2015). Deformation and fracture behavior of commercially pure titanium with gradient nano-to-micron-grained surface layer. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 25(3), 738-747.
- Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M., Yılmaz, S., Ünal, F., and Aksoy, H. (2006). Clastogenicity of the fungicide afugan in cultured human lymphocytes. *Mutation Research*, 604(1-2), 53-59.
- Yüzbaşıoğlu, D., Enguzel-Alperen, C., and Ünal, F. (2018). Investigation of in vitro genotoxic effects of an anti-diabetic drug sitagliptin. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 245-241.
- Zeiger, E. (2007). Strategy for genotoxicity testing: hazard identification and risk assessment in relation to in vitro testing. *Mutation Research*, 627(1), 41-58.
- Zengin, N., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., and Aksoy, H. (2011). The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4), 763-769.
- Zeni, O., Palumbo, R., Bernini, R., Zeni, L., Sarti, M., and Scarfi, M. R. (2008). Cytotoxicity investigation on cultured human blood cells treated with single-wall carbon nanotubes. *Sensors*, 8(1), 488-499.

- Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., and Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9), 1534.
- Zhong, Bao-zhen, Whong, Wen-zong and Ong, Tong-man (1997). Detection of mineral-dust-induced dna damage in two mammalian cell lines using the alkaline single cell gel/comet assay. *Mutation Research*, 393(3), 181-187.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AKKURT, Koray
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 03.06.1989, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (506) 980 34 13
 e-mail : akkurt-k@hotmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji A.B.D.	Devam Ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji	2011
Lisans	Anadolu Üniversitesi/Uluslararası İlişkiler	2013
Lise	Polis Koleji	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2014-halen	Türkiye Cumhuriyet Merkez Bankası	Uzman Yardımcısı
2011-2014	Kriminal Polis Laboratuvarı	Komiser Yardımcısı /Adli Biyolog

Yabancı Dil

İngilizce, Almanca

Yayınlar

1. Akkurt, K., Ünal, F., ve Yüzbaşıoğlu, D. (2017). *Genotoxicity of Spherical TiO₂ Nanoparticles in Human Periferal Lymphocytes Assessed by Chromosomal Aberration Assay in vitro*. 2nd Gazi Symposium Series, Ankara.

Hobiler

Yüzme, Bağlama, Kitap Okuma



GAZİ GELECEKTİR..