

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



Drosophila melanogaster'de DEMİR BAZLI METALİK-MANYETİK
NANOPARTİKÜLLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşen Yağmur KURŞUN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2022

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



Drosophila melanogaster'de DEMİR BAZLI METALİK-MANYETİK
NANOPARTİKÜLLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşen Yağmur KURŞUN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2022

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Drosophila melanogaster'de DEMİR BAZLI METALİK-MANYETİK
NANOPARTİKÜLLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşen Yağmur KURŞUN

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2021-5714 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEMMUZ 2022

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Drosophila melanogaster'de DEMİR BAZLI METALİK-MANYETİK
NANOPARTİKÜLLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşen Yağmur KURŞUN

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 06/07/2022 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bülent KAYA (Danışman)

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Prof. Dr. Hakan AŞKIN

ÖZET

***Drosophila melanogaster*'de DEMİR BAZLI METALİK-MANYETİK NANOPARTİKÜLLERİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ayşen Yağmur KURŞUN

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bülent KAYA

Temmuz 2022; 63 sayfa

Nanopartiküllerin (NP'lerin) yeni bir sınıfı olan manyetik NP'ler (MNP) günümüzde ilaç taşıma sistemleri, tıbbi tanı ve tedavi, hücre ayrıştırma, biyosensörler, manyetik rezonans görüntüleme, kanser ve hipertermi tedavileri de dahil olmak üzere birçok alanda sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle MNP'lerin doğrudan insan üzerinde kullanım alanlarına sahip olması, bu NP'lerin insan ve dolayısıyla çevre üzerindeki potansiyel toksisiteleri hakkındaki bilgi eksikliği nedeniyle büyük bir endişe yaratmaktadır. Bu nedenle MNP'lerin toksikolojik değerlendirmelerinin yapılması ve bu değerlendirmelere göre de MNP kullanımlarının tekrar gözden geçirilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada 4 farklı metalik-MNP'ün (Fe_3O_4 NP, CoFe_2O_4 NP, MnFe_2O_4 NP ve NiFe_2O_4 NP) *Drosophila melanogaster* üzerindeki genotoksik potansiyelleri; *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ve *Drosophila* hemositlerinde alkali tek hücre jel elektroforezi testi (KOMET) yöntemleriyle araştırılmıştır. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen SMART yönteminden elde edilen veriler değerlendirildiğinde, NiFe_2O_4 NP'ünün en yüksek konsantrasyonunda ve CoFe_2O_4 NP'ünün ise 3 ve 10 mM'lık konsantrasyonlarında toplam klon sayısı parametresine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde genotoksitenin indüklendiği tespit edilmiştir. Fe_3O_4 NP ve MnFe_2O_4 NP uygulamalarının ise istatistiksel önemde farklılık tespit edilmemiştir. KOMET yönteminden elde edilen veriler 3 parametre açısından değerlendirildiğinde; kuyruk uzunluğu parametresi bakımından Fe_3O_4 NP, CoFe_2O_4 NP, NiFe_2O_4 NP'lerinin çalışılan bütün konsantrasyonlarda (1, 3, 5 ve 10 mM) ve MnFe_2O_4 NP'lerinin ise en yüksek 3 konsantrasyonunda (3, 5 ve 10 mM) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde DNA hasarının indüklendiği belirlenmiştir. Kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından Fe_3O_4 NP ve NiFe_2O_4 NP'lerinin en yüksek konsantrasyonlarında (10 mM) istatistiksel olarak anlamlı bir DNA hasarının indüklendiği tespit edilmiştir. Son parametre olan kuyruk momenti açısından Fe_3O_4 NP ve MnFe_2O_4 NP'lerinin en yüksek 2 konsantrasyonunun (5 ve 10 mM), NiFe_2O_4 NP'lerinin ise 3, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir. CoFe_2O_4 NP'leri ise kuyruk momenti parametresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir DNA hasarına yol açmamıştır.

ANAHTAR KELİMELER: *Drosophila melanogaster*, Genotoksisite, KOMET, Manyetik nanopartiküller, SMART

JÜRİ: Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Prof. Dr. Hakan AŞKIN

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF IRON-BASED METALLIC-MAGNETIC NANOPARTICLES IN *Drosophila melanogaster*

Ayşen Yağmur KURŞUN

MSc. Thesis in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Bülent KAYA

July 2022; 63 pages

Magnetic NPs (MNP), a new class of nanoparticles (NPs), are widely used today in many fields including drug delivery systems, medical diagnosis and therapy, cell separation, biosensors, magnetic resonance imaging, cancer and hyperthermia treatments. In particular, the fact that MNPs have direct use on humans creates a great concern due to the lack of information about the potential toxicities of these NPs on humans and therefore on the environment. For this reason, it is very important to make toxicological evaluations of MNPs and to reassessment the use of MNPs according to these evaluations. In this study, genotoxic potentials of 4 different metallic-MNPs (Fe_3O_4 NP, CoFe_2O_4 NP, MnFe_2O_4 NP and NiFe_2O_4 NP) on *Drosophila melanogaster*; *Drosophila* wing somatic mutation and recombination test (SMART) and alkaline single cell gel electrophoresis test (KOMET) in *Drosophila* hemocytes were investigated. When the data obtained from the SMART method carried out within the scope of the study are evaluated, It was determined that genotoxicity was induced statistically significantly at the highest concentration of NiFe_2O_4 NP and at 3 and 10 mM concentrations of CoFe_2O_4 NP according to the total clone number parameter. No statistically significant difference was found in the Fe_3O_4 NP and MnFe_2O_4 NP applications. When the data obtained from the KOMET method are evaluated in terms of 3 parameters; In terms of tail length parameter, there was a statistically significant difference between Fe_3O_4 NP, CoFe_2O_4 NP, NiFe_2O_4 NPs in all studied concentrations (1, 3, 5 and 10 mM) and the highest 3 concentrations of MnFe_2O_4 NPs (3, 5 and 10 mM). It was determined that DNA damage was induced. In terms of tail density parameter, it was determined that a statistically significant DNA damage was induced at the highest concentrations (10 mM) of Fe_3O_4 NP and NiFe_2O_4 NPs. In terms of tail moment, which is the last parameter, it has been shown that the 2 highest concentrations of Fe_3O_4 NP and MnFe_2O_4 NPs (5 and 10 mM), while the concentrations of 3, 5 and 10 mM of NiFe_2O_4 NPs cause statistically significant DNA damage. CoFe_2O_4 NPs, on the other hand, did not cause statistically significant DNA damage in terms of tail moment parameter.

KEYWORDS: COMET, *Drosophila melanogaster*, Genotoxicity, Magnetic nanoparticles, SMART

COMMITTEE: Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim CİĞERCİ

Prof. Dr. Hakan AŞKIN

ÖNSÖZ

Ülkelerin kalkınmışlık veya gelişmişlik seviyelerini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler arasında en çok dikkat çeken ve belki de en önemlisi ilgili ülkenin teknoloji alanına verdiği önem ve bu alana sağladığı katma değerlerdir. Bu bağlamda teknolojik alanlar içerisinde önemli bir yere sahip olan nanoteknoloji bilimi, günümüzde halen gelişmeye devam etmektedir. Özellikle nanoteknoloji biliminin yeni ve yüksek kullanım potansiyeline sahip ürün geliştirme kapasitesi, bu alanın endüstri gelişimine devrim niteliğinde katkılar sunmasını sağlamıştır. Nanoteknoloji ürünlerinden biri olan nanopartiküllerin üretimleri ve kullanımları ise bu bağlamda hız kazanmıştır.

Nanopartiküllerin yüksek kullanım oranları sebebiyle bu nanopartiküllerin çevreye ve insanlara kontaminasyonu kaçınılmaz hale gelmiştir. Nanopartiküller, vücudun önemli savunma yapıları olan hücre membranları, kan-gonad bariyeri, plasental veya kan-beyin bariyeri gibi önemli bariyerlerden boyutları nedeni ile daha kolay bir şekilde geçebilmektedir. Bu durum ise nanopartikül kullanımını tehlikeli boyutlara taşımaktadır. Özellikle nanopartiküllerin vücuda girişleriyle birlikte organeller, nükleik asitler, proteinler ve lipitler gibi birçok molekülle etkileşime geçebilme potansiyelleri daha büyük olumsuz etkilere yol açabilmektedir.

Bu durum karşısında nanopartiküllerin toksikolojik değerlendirilmelerinin yapılması ve kullanımlarının bu değerlendirmelere göre yeniden gözden geçirilmesi bilim insanları için yeni bir araştırma alanının kapısını açmıştır. Nanotoksikoloji olarak isimlendirilen bu araştırma alanı, nanopartiküllerin vücuda girişi, dağılımı ve atılımı gibi temel noktaları içerebileceği gibi nanopartiküllerin hücresel düzeyde gösterdiği etkiler (potansiyel membran hasarı, DNA hasarı, mitokondriyal bozukluklar vb.) ve bu etkileri hangi mekanizmalarla gerçekleştirdikleri gibi daha moleküler çalışmaları da kapsayan geniş bir araştırma alanıdır.

Nanopartiküllerin önemli bir alt grubu olan manyetik nanopartiküller, özellikle tıp alanında tıbbi görüntüleme, tanı ve tedavi gibi yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Manyetik nanopartiküllerin bu amaçlarla kullanımlarında istenen özellikleri gösterebilmeleri için zaman içerisinde farklı kaplamalar ve farklı moleküllerle kombinasyonları çalışılarak üretilmiş ve kullanımları yaygınlaşmıştır. Özellikle bu kullanım sonucunda insanların mevcut manyetik nanopartikül maruziyetinden kaçınmaz duruma gelmeleri büyük bir endişe yaratmaktadır.

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 , MnFe_2O_4 ve NiFe_2O_4 metalik-manyetik nanopartiküllerinin genotoksik potansiyelleri araştırılmıştır. Özellikle *in vivo* test yöntemlerinin ve ökaryotik submemeli bir model organizmanın çalışma kapsamında kullanılması bu manyetik nanopartiküllerin genotoksik potansiyellerinin değerlendirilmesinde büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda gerçekleştirilen tez çalışmasının manyetik nanopartiküllerin potansiyel toksisitesi ile ilgili bilgi eksikliklerinin giderilmesine katkıda bulunmasını ve yeni çalışmalar için temel oluşturmasını temenni ederim.

Bana bu araştırma konusu kapsamında çalışma olanağı ve desteği sunan akademik danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bülent KAYA'ya (Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü), tez çalışmam sürecince yardımları bulunan Dr. Merve GÜNEŞ ve

doktora öğrencisi Burçin YALÇIN’a, bu çalışmayı maddi olanakla destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’ne (Proje No: FYL-2021-5714) ve ayrıca çalışmam boyunca desteklerini her daim hissettiğim sevgili aileme ve Adnan BURGAZLI’ya teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
AKADEMİK BEYAN	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Nanoteknoloji	3
2.2. Nanopartiküller.....	3
2.3. Manyetik Nanopartiküller	5
2.4. Demir oksit (Fe_3O_4) Nanopartikülleri	8
2.5. Nikel ferrit (NiFe_2O_4) Nanopartikülleri	9
2.6. Kobalt ferrit (CoFe_2O_4) Nanopartikülleri.....	10
2.7. Manganez ferrit (MnFe_2O_4) Nanopartikülleri	11
3. MATERYAL VE METOT.....	13
3.1. Kullanılan Kimyasallar	13
3.2. Nanopartikül Karakterizasyonu.....	13
3.2.1. SEM görüntüleme analizi	13
3.2.2. PSD analizi	13
3.3. <i>Drosophila melanogaster</i>	13
3.3.1. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi	18
3.3.2. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)..	19
3.3.3. <i>Drosophila</i> hemositlerinde tek hücre alkali jel elektroforezi (KOMET/SCGE) testi	26
3.4. İstatistiksel analiz	29
4. BULGULAR	31
4.1. Nanopartikül Karakterizasyonu.....	31
4.1.1. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi	33
4.1.2. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)..	34

4.1.3. <i>Drosophila</i> hemositlerinde tek hücre alkali jel elektroforezi (KOMET/SCGE) testi	36
5. TARTIŞMA.....	43
6. SONUÇLAR	51
7. KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Drosophila melanogaster*’de Demir Bazlı Metalik-Manyetik Nanopartiküllerin Etkilerinin Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

06/07/2022

Ayşen Yağmur KURŞUN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

µg	:Mikrogram
µm	:Mikrometre
Bd ^S	:Beaded serrate
cm	:santimetre
<i>flr</i> ³	:Flare
gr	:gram
mg	:Miligram
mL	:mililitre
mM	:Milimolar
<i>mwh</i>	:Multiple wing hair
nm	:nanometre
°C	:Santigrat
ppm	:Milyonda bir birim

Bu tezde ondalık yazım ayırıcı olarak (,) kullanılmıştır.

Kısaltmalar

DMSO	:Dimetil sülfoksit
DNA	:Deoksiribonükleik asit
EMS	:Etilmetan sülfonat
EtBr	:Etidyum Bromür
KOMET	:Tek Hücre Jel Elektroforezi
MNP	:manyetik nanopartikül
Na ₂ EDTA	:Etilendiamin tetraasetik asit
NaCl	:Sodyum klorür
NP	:nanopartikül

PSD	:Partikül Boyut Dağılımı
RNA	:Ribonükleik asit
SEM	:Taramalı Elektron Mikroskopu
NaOH	:Sodyum hidroksit
ROS	:Reaktif oksijen türleri
SMART	:Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
SOD	:Süperoksit dismutaz
GSH	:Glutatyon
MN	:Mikronüklüs
HepG2	:İnsan hepatom hücre hattı
Caco-2	:İnsan ölümsüz kolorektal adenokarsinom hücre hattı
SH-SY5Y	:Nöroblastom hücreleri
MİH	:Manyetik ilaç hedefleme
PEG	:Poli etilen glikol
H ₂ O ₂	:Hidrojen peroksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Metalik NP'lerin uygulama alanları (Nadaroğlu vd. 2017).....	2
Şekil 2.1. NP'lerin indüklediği oksidatif stres ve yol açtığı hasarlar (Huang vd. 2010) ..	5
Şekil 2.2. Manyetik İlaç Hedefleme. (Lunoo ve Puangmali 2015). (Fm = Manyetik çekim kuvveti, FD=Viskoz bir sıvı içerisinde hareket eden küçük bir cisme uygulanan sürtünme kuvveti, D=Partikül boyutu).....	6
Şekil 2.3. <i>In vivo</i> ve <i>in vitro</i> araştırmalara göre MNP'lerin potansiyel toksik etkileri (Malhotra vd. 2020)	8
Şekil 2.4. FeNP'lerinin toksisite mekanizmaları (Arias vd. 2018).....	9
Şekil 3.1. <i>Drosophila</i> yaşam döngüsü (Stocker ve Gallant 2008).....	15
Şekil 3.2. <i>Drosophila melanogaster</i> imajinal diskleri ve ergin bireyde oluşturduğu yapılar (Aldaz vd. 2010)	16
Şekil 3.3. Standart <i>Drosophila</i> besin içeriği	17
Şekil 3.4. <i>Drosophila flr³</i> ve <i>mwh</i> mutantlarının kanat ve vücut yapıları	20
Şekil 3.5. <i>Drosophila</i> yaban tip trikom görüntüsü (a ve b) ve <i>mwh</i> trikom görüntüsü (c ve d)	20
Şekil 3.6. <i>Drosophila</i> kanat SMART yönteminde kullanılan marker genlerin üçüncü kromozom üzerindeki konumları (Lindsley ve Zimm 1992).....	21
Şekil 3.7. <i>Drosophila</i> SMAR testinde gözlemlenen ikiz ve tek tip klonların oluşum yolları (Graf vd. 1984)	22
Şekil 3.8. <i>Drosophila</i> SMAR testi	24
Şekil 3.9. <i>Drosophila</i> SMART deneyinde hazırlanmış olan kanat preparatı	24
Şekil 3.10. <i>Drosophila</i> kanat bölümleri.....	25
Şekil 3.11. (a) Küçük tek tip klon; (b) Büyük tek tip <i>mwh</i> klon; (c) Büyük tek tip <i>flr³</i> klon; (d) İkiz klon görünümü (100X büyütme)	26
Şekil 3.12. KOMET yöntemi basamakları.....	27
Şekil 4.1. MNP'lerin SEM görüntüleme sonuçları; (a) NiFe ₂ O ₄ NP; (b) Fe ₃ O ₄ NP; (c) CoFe ₂ O ₄ NP; (d) MnFe ₂ O ₄ NP	31
Şekil 4.2. Fe ₃ O ₄ NP (14-29 nm) PSD analiz sonuç grafiği.....	32
Şekil 4.3. MnFe ₂ O ₄ (55 nm) PSD analiz sonuç grafiği	32

Şekil 4.4. CoFe ₂ O ₄ NP (30 nm) PSD analiz sonuç grafiği	33
Şekil 4.5. NiFe ₂ O ₄ NP (25nm) PSD analiz sonuç grafiği	33
Şekil 4.6. <i>Drosophila</i> ergin birey oluşturma başarısı deney sonuçları.	34
Şekil 4.7. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde Fe ₃ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi.	36
Şekil 4.8. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde Fe ₃ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi	37
Şekil 4.9. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde Fe ₃ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk momenti parametresi bakımından değerlendirilmesi	37
Şekil 4.10. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde CoFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi.....	38
Şekil 4.11. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde CoFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi	38
Şekil 4.12. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde CoFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk momenti parametresi bakımından değerlendirilmesi.	39
Şekil 4.13. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde MnFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi.....	39
Şekil 4.14. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde MnFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk momenti parametresi bakımından değerlendirilmesi	40
Şekil 4.15. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde MnFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi	40
Şekil 4.16. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde NiFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi.....	41
Şekil 4.17. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde NiFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi	41
Şekil 4.18. <i>Drosophila</i> KOMET yönteminde NiFe ₂ O ₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk momenti parametresi bakımından değerlendirilmesi	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. <i>Drosophila</i> KOMET solüsyonları ve hazırlanışları.....	29
Çizelge 3.2. Çoklu karar metodu (Frei ve Würgler 1988'den uyarlanmıştır).....	30
Çizelge 4.1. Fe_3O_4 NP, MnFe_2O_4 NP, CoFe_2O_4 NP ve NiFe_2O_4 NP'lerinin <i>Drosophila</i> kanat SMART analiz sonuçları.....	35



1. GİRİŞ

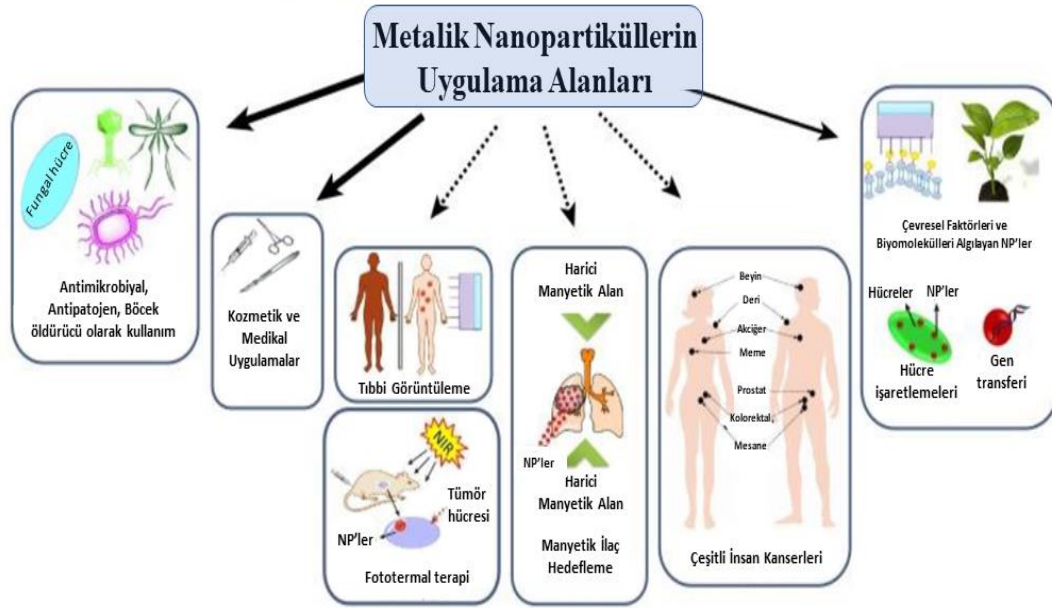
“Nanoteknoloji” kavramı ilk defa 1959 yılında Richard Feynman’ın Kaliforniya Teknoloji Enstitüsünde gerçekleşen Amerikan Fizik Derneğinin yıllık toplantısında yaptığı bir konuşmayla ortaya çıkmıştır. Bu konuşmada öne sürdüğü fikir ise temelinde, nesneleri atomik hassasiyete dayalı bir şekilde üretilebilecek küçük makineler üretme potansiyelinin olduğunu şeklindedir. Nanoteknoloji teriminin ilk kez kullanımı ise 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından gerçekleştirilmiştir (Singh 2016).

Nanoteknoloji, 21.yüzyılın başlangıcından itibaren gıda teknolojisi, mühendislik, tıp, bilim, paketlenme teknolojileri, biyomedikal mühendisliği, giysiler, robotik ve bilgisayar alanlarında büyük gelişmeler oluşumunu sağlamıştır. Bilimsel keşiflerin her zaman için iyi ve kötü etkileri beraberinde getirdiği düşünüldüğünde nanoteknolojide bu özellikleri birlikte taşımaktadır. Bu bağlamda nanoteknoloji ürünlerinin neden olduğu nanokirlilik sadece insanları değil aynı zamanda hayvanlar ve bitkiler gibi diğer canlıları da olumsuz etkileyebilmektedir (Barik vd. 2020).

Nanopartiküller (NP’ler), en az bir boyutunun 1 ila 100 nm olarak üretilen ve kullanılan nanoteknoloji ürünü kimyasal maddeler veya malzemelerdir. NP’lerin sahip oldukları farklı fiziksel özellikler o NP’nin boyutuna ve şekline bağlıdır. Bilim insanları bir maddenin sahip olduğu boyutun, o maddenin kimyasal, elektriksel, optik ve mekanik özellikleri dahil olmak üzere birçok fizikokimyasal özelliklerini etkileyebileceğini keşfettiklerinde NP’lerin ne kadar önemli malzemeler olduğu ortaya çıkmıştır (Saleh 2020).

NP’lerin ortaya çıkışını takiben birçok bilimsel alanda büyük bir etki yaratmıştır. Özellikle günümüzde yer alan birçok uygulamaya yeni özellikler ve işlevler sağlamaları bu büyük etkinin en önemli adımıdır. NP’lerin bazı durumlarda beklenmedik fiziksel ve kimyasal özellik göstermeleri nedeniyle birçok üretici veya endüstri bu özelliklerden faydalanmak için ürünlerine NP’ler ekleyerek geliştirmeye başlamıştır. Birçok NP türü tıp bilimi ve teknoloji alanlarında büyüyerek gelişmeye devam ederken, bu alanlarda yer alan ilgili araştırma ve uygulamalar (örneğin; biyosensörler, ilaç dağıtımı, biyomalzemeler vb.) NP’lerin potansiyel kullanımlarını araştırmaktadır (Yang vd. 2010).

Metalik NP’ler, boyutları (kalınlık, uzunluk, genişlik) 1-100 nm aralığına sahip nano boyutlu metallerdir. Faraday’ın 1857 yılında çözeltide metalik NP’lerin varlığını ilk kez araştırmasıyla önem kazanan metalik NP’ler, günümüzde farklı bileşikler, antikorlar, ligandlar ve ilaçlara bağlanabilme özelliği gösterebilmektedirler. Bu özellikleri sayesinde metalik NP’ler günümüzde farklı bileşik veya maddelerle modifiye edilerek biyoteknoloji, gen transferi, ilaç dağıtımı gibi çeşitli uygulama alanlarında sıklıkla kullanılmaktadırlar (Kumar vd. 2018) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Metalik NP'lerin uygulama alanları (Nadaroğlu vd. 2017)

Manyetik NP'ler (MNP), saf metaller, metal alaşımları ve metal oksitlerden oluşan NP'lerin bir dalıdır. Demir oksit MNP'ler, minimum toksisite özellikleri, süpermanyetizma, sulu çözeltilerde stabilite ve biyoyumluluk gibi üstün fizikokimyasal özellikleri sayesinde tıp bilimlerinde en çok tercih edilen NP'lerdir. Demir oksidin manyetik tepkisinin kararlılığı, oksidasyona karşı dirençli olmasına dayanmaktadır. Ayrıca boyut kontrolünün yapılabilir olması, kaplamalar aracılığıyla agregasyonun önlenmesi, spesifik etkileşim ve dağılım gibi özelliklerin tümü demir oksit MNP'leri diğer metal NP'lere karşı üstün kılmaktadır. Demir oksit MNP'ler, manyetik rezonans görüntülemeye kontrast madde ajanı olarak, ilaç dağıtımında taşıyıcı olarak ve protein saflaştırma gibi birçok alanda sıklıkla kullanılmaktadır. (Tran ve Webster 2010, Coricovac vd. 2017, Malhotra vd. 2020).

MNP'lerin çeşitli alanlarda ve sıklıkla kullanılmaları MNP'lerin toksisitesinin araştırılması ve belirlenmesi öncelikli hedef haline getirmiştir. Özellikle MNP'lerin potansiyel toksisitelerinin, boyut, şekil, yapısal özellikler, yüzey modifikasyonları, konsantrasyon, biyoyumluluk, çözünürlük, immünojenite ve farmakokinetik gibi oldukça fazla faktörden etkilenebildiği düşünüldüğünde toksikolojik çalışmaların önemi gittikçe artmaktadır (Malhotra vd. 2020).

Gerçekleştirilen tez çalışması kapsamında metalik-MNP'ler olan Fe_3O_4 NP, CoFe_2O_4 NP, MnFe_2O_4 NP ve NiFe_2O_4 NP'lerinin olası genotoksik potansiyelleri *in vivo* test sistemleri olan *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ve *Drosophila* hemositlerinde Alkali Tek Hücre Jel Elektrofrez Testi (KOMET) yöntemleriyle araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji veya nanobilim kavramları, “nano” düzeyde geliştirilen araştırma ve bu araştırmalardan türetilmiş uygulamaları temsil etmektedir. Bu kavramlar içerisinde yer alan “nano” ifadesi Yunancada cüce anlamına gelen “nanos” kelimesinden türetilmiştir ve bir metrenin milyarda biri olarak ifade edilmektedir. Hidrojen atomunun 0.25 nm’lik bir elektron yörünge dizgesine sahip olduğu düşünüldüğünde, nanoteknoloji alanının aslında moleküler ve atomik düzeyde yer aldığı sonucuna ulaşılmaktadır (Gavrilescu vd. 2018).

“Nanoteknoloji” teriminin tarihsel olarak ilk kullanımı ve ortaya çıkışı ise Nobel ödüllü bilim insanı Richard P. Feynman tarafından Amerikan Fizik Derneği Yıllık toplantısında gerçekleştirdiği sunumla mümkün olmuştur (Feynman 1960; Khan vd. 2019). Bu gelişmeyi takiben bu alanda devrimsel gelişmeler meydana gelmiş ve nano ölçek düzeyinde çeşitli malzemelerin üretilmesinin önü açılmıştır (Khan vd. 2019). Nanopartiküller (NP’ler) olarak tanımlanan bu nanoteknoloji ürünlerinin, bir boyutunun en az 100 nm’den küçük olması gerekmektedir (Laurent vd. 2008).

Nanoteknolojinin bu şekilde ortaya çıkışının ardından bu kavram üzerindeki araştırmalar hız kazanmış ve son yıllarda dünya çapında araştırmacıların yakından ilgilendiği, NP’lerin eşsiz özelliklerinin ve uygulamalarının keşfedildiği bir çalışma konusu haline gelmiştir (Dubey vd. 2015). Nanoteknolojide gerçekleşen yenilikler, biyoloji ve tıp bilimlerinde yer alan yeni uygulamaları son yıllarda önemli ölçüde arttırmıştır (Schladt vd. 2011). Hatta bazı nanotıp uygulama ürünleri Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış ve bazılarının da onay almak için gerçekleştirilen çalışmalarda sona yaklaşmış oldukları bilinmektedir (Anselmo ve Mitragotri 2019).

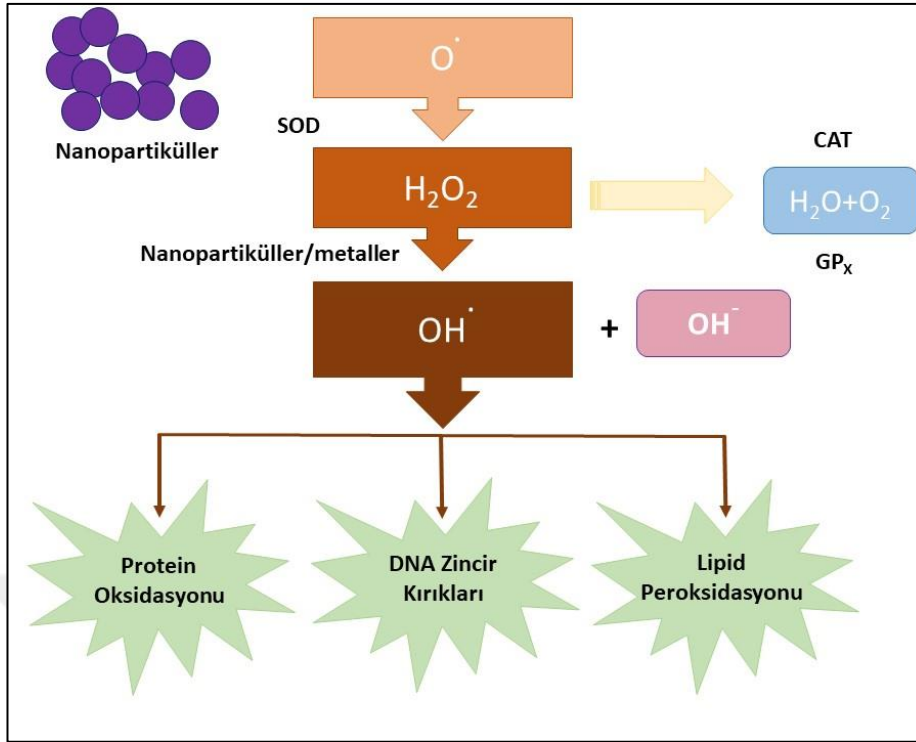
Nanoteknoloji kavramının ortaya konulmasından itibaren geçen yarım asırlık bir zaman diliminde nanoteknoloji, önemli endüstriyel uygulamalar, farmasötik uygulamalar, tanısal biyosensörler, ilaç dağıtım sistemleri ve görüntüleme problemleri gibi tıbbi cihazlar üzerinde dikkate değer bir etki oluşturmayı başarmıştır. Fakat nanoteknolojinin bu şekilde oldukça sık kullanılmaya başlanması insanların NP’lere olan maruziyetini kaçınılmaz bir hale getirmiştir (Hulla vd. 2015).

2.2. Nanopartiküller

Avrupa Birliği Resmi Gazetesi (EU) NP’leri dış boyutlarından en az birinin 1-100 nm aralığında ve hacimce belirli bir yüzey aralığının ise $60 \text{ m}^2 \text{ cm}^{-3}$ ’ten büyük olan doğal veya sentetik kökenli olabilen nesneler olarak tanımlanmıştır (Gavrilescu vd. 2018). NP’ler vücuda inhalasyon, enjeksiyon, dermal yol ve sindirim kanalı gibi çok farklı yollarla girebilmektedir. Vücuda alınan NP’lerden bazıları bozunma işlemi olmadan metabolize edilebilmektedir veya vücuttan atılabilmektedir. Ancak atılamayan ve doku ve organlarda biriken NP’ler çeşitli komplikasyonlara yol açabilecek yan ürünler oluşturabilmektedirler (Oberdörster vd. 2005).

NP'ler farklı kriterlere göre sınıflandırılabilirler. Bunlar; kökenlerine göre; doğal ve antropojenik, boyutlarına göre; 1-10 nm, 10-100 nm ve 100 nm'den büyük olanlar ve kimyasal bileşenlerine göre; inorganik maddeler, organik maddeler ve elementler şeklindedir (Strambeanu vd. 2015). NP'ler sentetik olarak/laboratuvar koşullarında sentezlenmelerinin yanı sıra doğada da yaygın olarak bulunabilmektedir. NP'lerin doğal kaynakları arasında volkanik kül, çöl tozları, aerosoller örnek olarak verilebilmektedir (Bernhardt vd. 2010; Strambeanu vd. 2015). Hem doğal hem de antropojenik kökenli NP'ler, farklı çevresel matrislerde (hava, su, çamur, tortu ve toprak), olası birikimle (özellikle toprakta, çamurda ve su havzalarında) bulunabilmektedirler. Bitkiler; kökler, gövdeler ve yapraklar ile çevresel matrislerle doğrudan etkileşime girerek diğer canlı organizmalara kıyasla NP kontaminasyonundan daha fazla etkilenebilmektedir (Giorgetti 2019). Bitkiler tarafından bu kadar kolay alınabilmesi ise gerek ekolojik gerekse besin zinciri yolu ile diğer canlıların etkilenebilmesi bakımından ayrı bir önem arz etmektedir. Amerikan Çevre Koruma Örgütü (USEPA)'ne göre NP'ler 4 farklı başlık altında toplanmaktadır. Bunlar; karbon bazlı NP'ler, metal bazlı NP'ler, dendrimerler ve nanokompozitlerdir. Metal bazlı nanomateriyaller kuantum noktaları, nano altın, nano gümüş ve titanyum dioksit gibi metal oksitleri bulundurmaktadır. Ayrıca metal bazlı NP'ler, manyetik nanopartikülleri (MNP'leri de kapsayan bir sınıftır (USEPA 2007).

NP'ler plasenta, kan-beyin bariyeri gibi vücudun kritik öneme sahip engellerini de aşabilmektedir (Sonavane vd. 2008; Muoth vd. 2016). Nükleus porlarından geçebilecek kadar küçük olan NP'ler DNA'ya zarar verebilmektedir (Singh vd. 2009; Behzadi vd. 2017). Ek olarak partiküllerden salınan metal iyonları hücre ve organel zar sistemlerine zarar vererek hücre bütünlüğünün bozulmasına ve yıkıcı enzimlerin açığa çıkmasına neden olabilmektedir (Karlsson 2010). Bunun yanı sıra NP'ler hücre döngüsünde görev alan proteinleri etkiyebilmekte, oksidatif hasar yaratabilmekte ve hücrenin antioksidan dengesini bozabilmektedir (Carmona vd. 2015, 2016). Abudayyak vd.'nin (2017a) insan hepatom hücreleri, ölümsüz insan kolorektal adenokarsinom hücreleri, adenokarsinomik insan alveolar bazal epitel hücreleri ve nöroblastom hücreleri (HepG2, Caco-2, A549, SH-SY5Y) gibi bazı memeli hücrelerinde kobalt ferrit NP maruziyeti sonucunda doza bağlı olarak artan lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres artışı tespit etmişlerdir. Ahamed vd. (2011) nikel ferrit NP'lerinin A549 hücrelerinde reaktif oksijen türleri (ROS) kaynaklı oksidatif strese neden olduğunu belirlemişlerdir. Çinko ferrit NP'lerinin 3 farklı hücre hattında (A549, A431 ve HepG2) doza bağlı olarak oksidatif strese artışa neden olduğu saptanmıştır (Alhadlaq vd. 2015). Ansari vd. (2019) Wistar sıçanlarında Fe₃O₄ NP'lerinin (Demir (II, III) oksit veya magnetit NP'leri) MDA (Malondialdehit) ve ROS seviyelerinde artışa neden olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca nanomateriyallerin genel olarak oksidatif hasar yoluyla hücre ölümüne neden olabileceği bilinmektedir (Fröhlich vd. 2009). Nanoboyutlu metal kontaminantlara sahip materyallerin kullanımının giderek yaygınlaşması bu ürünlerin potansiyel toksisitesi için endişe yaratmaktadır. NP'ler oksidatif hasara neden olabilmekte ve bunun sonucunda proteinlerin oksidasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve DNA zincir kırıklarının oluşumuna sebep olabilmektedir (Şekil 2.1) (Huang vd. 2010).



Şekil 2.1. NP'lerin indüklediği oksidatif stres ve yol açtığı hasarlar (Huang vd. 2010)

NP'lerin üstün fizikokimyasal özellikleri nedeni ile günlük hayatımızda birçok alandaki kullanımları giderek yaygınlaşmaktadır. Bu bağlamda, NP'lere maruz kalınması sonucunda toksik, genotoksik ve/veya karsinojenik etkiler meydana gelebilmektedir. NP'ler oksidatif hasara neden olabilmekte ve dolaylı olarak DNA'da hasar yaratabilmektedir. Bunun yanında yeterince küçük NP'ler nükleus porlarından geçerek DNA'ya ulaşabilmekte ve direkt olarak zarar verebilmektedirler (Singh vd. 2009). Ek olarak nükleus porlarından geçemeyecek kadar büyük NP'ler mitoz evresindeki bir hücreye giriş yaptığından genetik materyal ile direkt olarak temas kurabilmekte ve hasar yaratabilmektedir (Karlsson 2010).

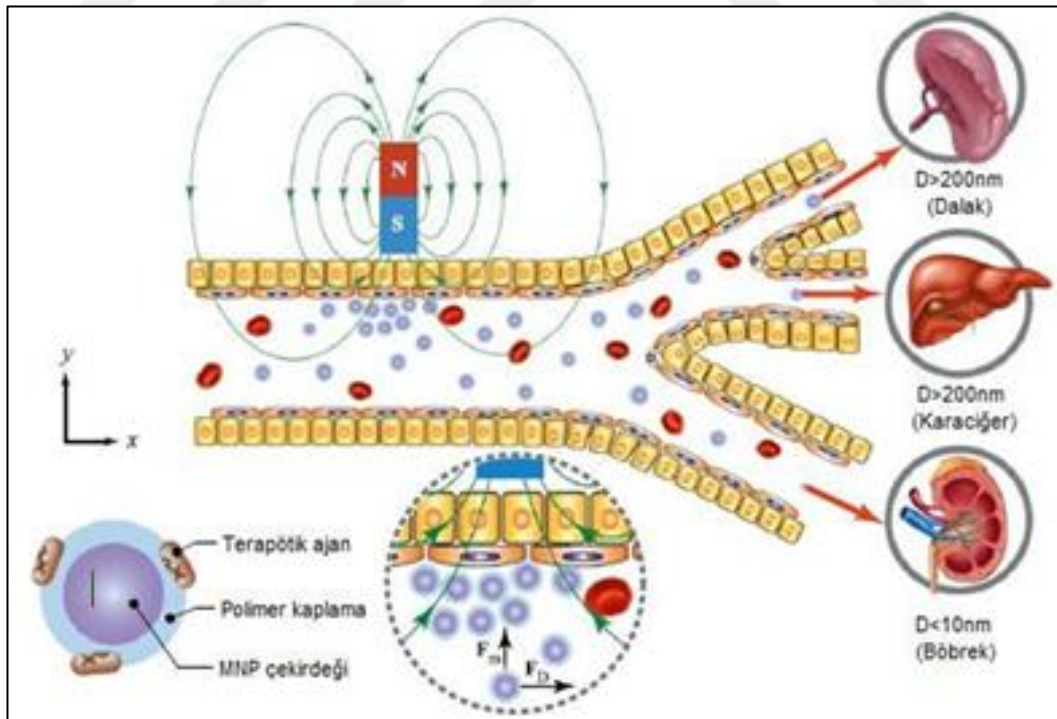
2.3. Manyetik Nanopartiküller

Nanoteknoloji alanında gerçekleşen yeniliklerle birlikte MNP kullanımı biyomedikal bilimlerde de yer almaya başlamıştır (Zhang vd. 2008). İnorganik NP'ler üretimi malzeme bilimi alanında büyük ilgi görmektedir. Tüm inorganik nanoparçacıklar, çok işlevli olacak şekilde yüzey modifikasyonları ile birlikte işlevsellik kazanabilir ve böylece ilaç dağıtımında bir dokunun hedeflenmesinde ve görüntüleme uygulamalarında kullanılabilir (Demirbağ vd. 2011). İnorganik NP'lerin sentezlenmesinde meydana gelen artış, MNP'lerin sentezlenmesini sağlamış ve MNP'lerin nanoteknoloji alanına yeni bir nanomalzeme sınıfı olarak girişini kolaylaştırmıştır. (Solanki vd. 2016). Günümüzde üretilen ve çeşitli alanlarda kullanımı olan MNP'ler için demir oksit, kalsiyum fosfat, altın, karbon malzemeler, silikon oksit, kadmiyum selenid ve çinko selenid örnek olarak verilebilir. Manyetik materyallerin biyolojik ortamda kullanımı 1960'lı yıllarda Heinz Lowenstam ile başlamış olup, günümüzde ilaç taşıma sistemlerinde, kontrast görüntülemelerde, hipertermi tedavilerinde, teranostik uygulamalarda, hücre ayrıştırmada ve biosensörlerde kullanılmaktadır (Kettering vd. 2009; Ghazanfari vd. 2016; Arias vd.

2018; Ansari vd. 2019; Katz 2019). boyutları, fizikokimyasal ve manyetik özellikleri, onları harici manyetik alan gradyanları ile hedeflenen terapötik alanlara yönlendirilmeye ve lokalize edilmeye ve hipertermi ile kanser tedavisinde kullanılmaya uygun hale getirmektedir. Bu gibi avantajları sayesinde MNP'lerin, ilaç dağıtımı ve çeşitli hastalıkların tedavisi için umut verici adaylar olarak görülmesini sağlamıştır (Lübbe vd. 1999; Dandamudi ve Campbell 2007; Jiang vd. 2019). Örneğin MNP'ler, kanser tedavisi için apoferritin içine kapsüllenmiş doksorubisin (antineoplastik aktiviteye sahip bir antrasiklin antibiyotik) için ilaç taşıyıcısı olarak kullanılmıştır (Blazkova vd. 2013). Ferrit/demir NP'leri (FeNP) ilk olarak 1986'da karaciğer görüntülemeye kontrast ajanı olarak kullanılmıştır. Bu tarihten itibaren gelişmiş biyouyumluluk, hedefleme yeteneği ve yüzey işlevselliğine sahip yeni MNP'ler geliştirilmiştir (Yang vd. 2010).

MNP'ler 100 nm'den küçük ve harici bir manyetik alanın etkisi ile manipüle edilebilen bir mühendislik ürünüdür. MNP'ler genellikle demir, nikel, kobalt gibi manyetik elementlerden ve bunların magnetit (Fe_3O_4), maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), kobalt ferrit (Fe_2CoO_4) ve krom dioksit (CrO_2) gibi oksitlerinden oluşmaktadır (Shahri 2020).

Özellikle manyetik ilaç hedefleme (MİH) alanında geniş bir kullanım alanına sahip olan MNP'ler, terapötik maddelerle kaplanarak kan damarlarına enjeksiyonları sağlanır. Daha sonra harici olarak uygulanan bir manyetik alanla belirli hedeflere yönlendirilirler (Şekil 2.2). Bu işlem terapötik konsantrasyonlarını düşük tutarak tedavinin yan etkilerini azaltır ve terapinin hedeflenen anormal dokularda yoğunlaşmasını sağlamaktadır (Lunnoo ve Puangmali 2015). Manyetik olarak duyarlı ilaç taşıyıcıları, magnetit (Fe_3O_4) veya maghemit (Fe_2O_3) olabilmektedir (Leslie-Pelecky ve Rieke 1996).



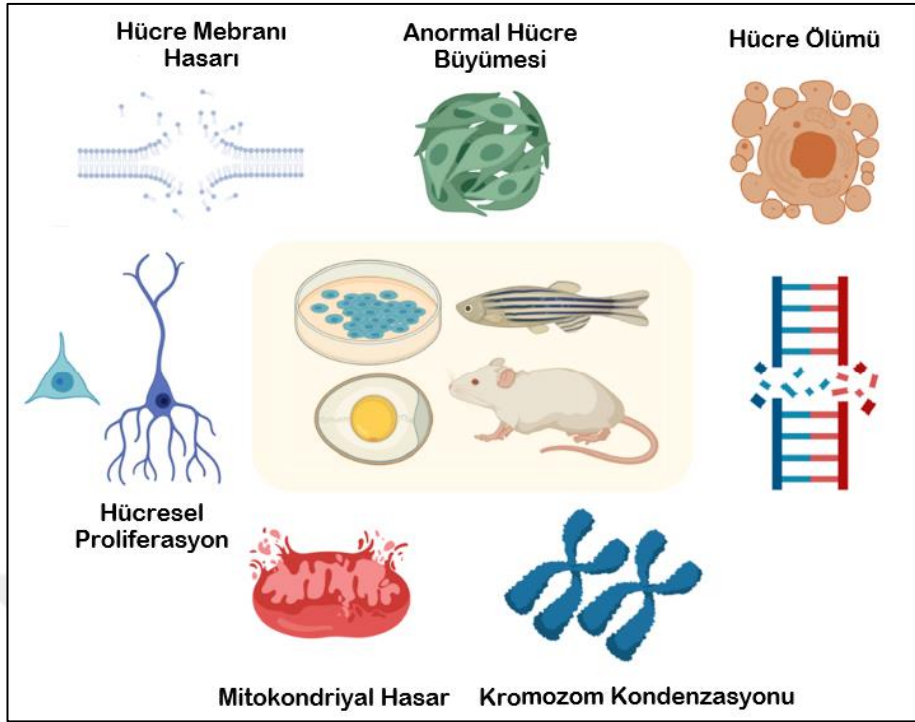
Şekil 2.2. Manyetik İlaç Hedefleme. (Lunnoo ve Puangmali 2015). (F_m = Manyetik çekim kuvveti, F_D =Viskoz bir sıvı içerisinde hareket eden küçük bir cisme uygulanan sürtünme kuvveti, D =Partikül boyutu)

İlaç yüklü taşıyıcı tipik olarak bir manyetik çekirdek ve biyo-uyumlu bir kaplama malzemesinden oluşur. Manyetik çekirdek Fe_3O_4 , Fe_2O_3 veya Fe gibi farklı malzemelerden yapılmaktadır. Kaplama malzemeleri Au, PEG (Poli etilen glikol) veya SiO_2 'dir. Partiküllerin biyokinetiğine bağlı olarak, çapı 10-200 nm arasında değişen bir ilaç taşıyıcı, *in vivo* uygulama için optimaldir, küçük partiküllerin ($D < 10$ nm) böbreklerden atılması yolu ile kaçarken, büyük olanlar ($D > 200$ nm) dalak ve karaciğerin retiküloendotelial sistemi tarafından tutulmaktadır (Shubayev vd. 2009).

Yüksek geçirgenliğe sahip tümör dokuları sağlıklı dokulara göre daha yüksek MNP tutma kapasitesine sahiptir. MNP'ler pasif hedefleme (tümörlü ve sağlıklı soku arasındaki anatomik ve fizyolojik farklılıklara dayanır) ve aktif hedefleme (tümör hücrelerine spesifik ligandlara bağlanabilir) mekanizmaları aracılığı ile kontrast görüntüleme ajanı olarak kullanılmaktadır. Böylece tümörlü doku ile normal doku ayırt edilebilmektedir (Erdoğan 2018). Kemoterapötikler ciddi yan etkiler gösterebildiğinden, tümör dokularında bulunan ligandlara özel olarak bağlanabilen MNP'ler aracılığı ile doğrudan hedef dokuya ulaşması sağlanmaktadır (Danhier vd. 2010). Hipertermi kanser hücrelerinin sıcaklığının $41-45^\circ\text{C}$ 'ye çıkarıldığı normal hücrelerin ise etkilenmediği ilgi çekici bir kanser terapi metodudur. FeNP'ler doğal manyetik özellikleri nedeniyle bu uygulamalar için uygun bir aday olarak görünmektedir. Kan akışına giren MNP'ler hedeflenen bölgeye ulaşmakta, hücreler tarafından alınmakta ve sıcaklığı yükseltmektedir (Karunamoorthi vd. 2014). Bu işlemler normal dokuya zarar vermezken tümör hücrelerinin apoptotik veya nekrotik yıkımının başlatılması sağlanabilmektedir (Mariani vd. 2012).

İnsanların özellikle metal bazlı NP'lere maruziyeti, NP'lerin doğal olarak ortaya çıktıkları su, hava ve NP'lerle kontamine olmuş gıda ürünlerinde bir kirletici madde olarak bulunmaları veya bu NP'lerin antropojenik faktörlerdeki giderek artan kullanımı nedeniyle önemli ölçüde artmaktadır (Mahmoud vd. 2016). Organizmalar NP'leri farklı şekillerde bünyelerine alabilir ve NP'ler organizmada zararlı etkilerini gösterebilir, fakat NP'lerin olası zararını etkilenen önemli faktörler; NP'lerin yüzey kaplaması, boyutu ve yapısıdır (Bhatt ve Tripathi 2011; Baker vd. 2014). Nanoboyutlu metal kontaminantlara sahip materyallerin kullanımının giderek yaygınlaşması bu ürünlerin potansiyel toksisitesi için endişe yaratmaktadır. NP'ler oksidatif hasara neden olabilmekte ve bunun sonucunda proteinlerin oksidasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve DNA zincir kırıklarının oluşumuna sebep olabilmektedir (Huang vd. 2010). Ek olarak partiküllerden salınan metal iyonları hücre ve organel zar sistemlerine zarar vererek hücre bütünlüğünün bozulmasına ve yıkıcı enzimlerin açığa çıkmasına neden olabilmektedir (Karlsson 2010). Bunun yanı sıra NP'ler hücre döngüsünde görev alan proteinleri etkiyebilmekte, oksidatif hasar yaratabilmekte ve hücrenin antioksidan dengesini bozabilmektedir (Carmona vd. 2015, 2016).

MNP'lerin potansiyel toksik etkilerinin araştırıldığı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar MNP'lerin zebra balığı, çeşitli hücre kültürleri, tavuk ve sıçanlarda mitokondriyal hasar, DNA hasarı, hücre ölümü gibi toksik etkilere neden olabileceğini ortaya koymuştur (Şekil 2.3) (Malhotra vd. 2020). NP'lerin biyomedikal uygulamalar için bu şekilde yaygın kullanımları, MNP'lerin çeşitli yollardan insanlara ve çevresine daha fazla maruziyeti ile sonuçlanmıştır. MNP'lerin toksik etkilerinin analizi bu nedenle çok önemlidir (Jacob vd. 2016).



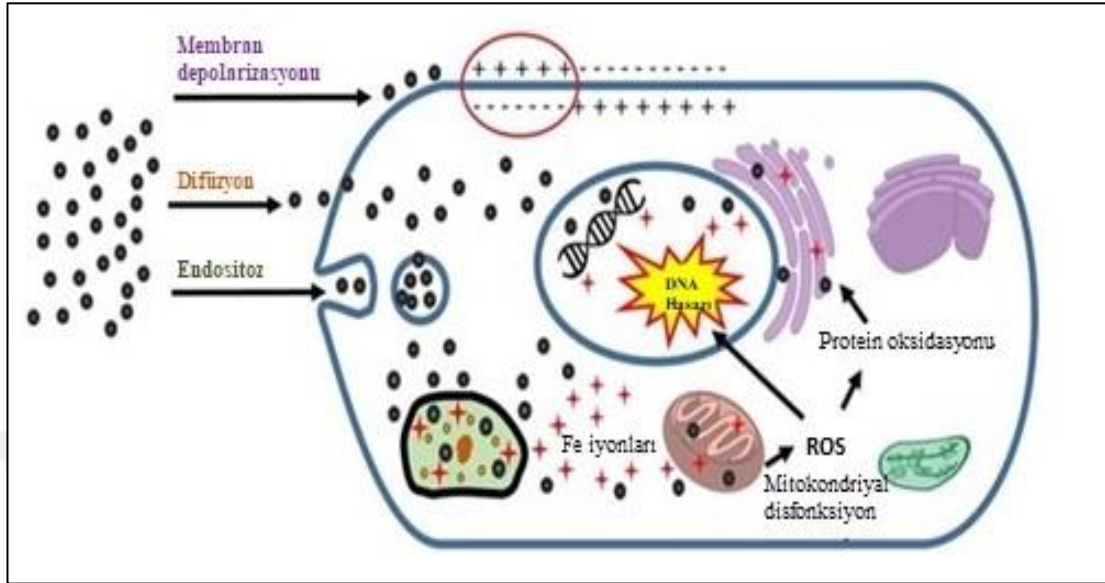
Şekil 2.3. *İn vivo* ve *in vitro* araştırmalara göre MNP'lerin potansiyel toksik etkileri (Malhotra vd. 2020)

Nanoteknoloji endüstrisi yeni malzemeler ve kompozitlerin geliştirilmesinin yanı sıra, hali hazırda bulunan NP'lerin işlevselliğinin artırılarak yeni fonksiyonların kazanılmasını sağlamaktadır. FeNP'lerin fonksiyonelliğini artırmak amacıyla polimer veya sürfaktan tabakalar, inorganik metaller ve oksit yüzeyler eklenerek modifikasyonlar yapılmaktadır. Uygun yüzey özelliklerine sahip manyetik nanoparçacıklar hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamda potansiyel uygulamalara sahiptir (Ma vd. 2007). Kimyasal stabiliteye sahip manyetik FeNP'ler manyetik rezonans görüntüleme, ilaç salınım sistemlerinde, hipertermi tedavilerinde hücre ayrıştırma/hücre etiketleme gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır (Yin vd. 2005; Ionita ve Covaliu 2011; Ionita vd. 2012). Demirin kristal poliformları arasında biyouyumluluğu en yüksek olan tür magnetit (Fe_3O_4). 200 nm'den büyük partiküller dalak tarafından tutulabildiğinden ve 10 nm'den küçük partiküller de böbrek tarafından uzaklaştırılabildiğinden klinik uygulamalarda 10-200 nm arasındaki büyüklüklerdeki MNP'ler tercih edilir (Mamani vd. 2014).

2.4. Demir oksit (Fe_3O_4) Nanopartikülleri

FeNP manyetik özelliğe sahip olmasından dolayı ilaç taşınımı, doku mühendisliği, biyomedikal ve çeşitli tedavi yöntemlerinde kullanılmaktadır (Naqvi vd. 2010). Özellikle tümör hücrelerinde ısıyı kontrol ederek, hasarlı dokuda seçici apoptozis yapılmasında FeNP'lerden yararlanılmaktadır (Saygılı 2015). Bunun yanında atık sulardan ağır metallerin giderilmesi gibi çevresel uygulamalarda da manyetik özelliğe sahip FeNP kullanılmaktadır (Tunca 2015; Gutierrez vd. 2017). FeNP'lerinin bu yaygın ve geniş kullanım alanı çevre ve insan sağlığı açısından endişe yaratmaktadır. FeNP'lerinin toksisite mekanizmalarının süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit

gibi reaktif oksijen türleri oluşumundan kaynaklandığı belirtilmektedir (Liu vd. 2013). Bunun yanında membran bütünlüğünün bozulmasına, lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına da sebep olabilmektedir (Arias vd. 2018) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. FeNP'lerinin toksisite mekanizmaları (Arias vd. 2018)

Önemli bir MNP olan Fe₃O₄-NP'leri, manyetik ilaç dağıtımı, atık su arıtma ve gübreler gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Bununla birlikte, Fe₃O₄-NP'lerinin hızla artan uygulamasıyla, üretimleri ve kullanımları sırasında kitlesel sızıntılar yoluyla çevrenin potansiyel olarak kirlenmesine ilişkin endişeleri artırmaktadır (Pankhurst vd. 2003; Luo vd. 2020). Bu nedenle son zamanlarda Fe₃O₄-NP'lerinin toksisitesinin araştırılması hız kazanmıştır. Lu vd. (2020) *Saccharomyces cerevisiae*'yi kullanarak yapmış oldukları çalışmada, Fe₃O₄-NP'lerinin 326.66 mg/L'lik bir IC₅₀ değeri ile hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca mortalitenin, konsantrasyona bağlı bir şekilde artış gösterdiğini ve Fe₃O₄-NP'lerinin hücre yüzeylerine kuvvetli bir şekilde bağlanarak hücre deformasyonuna neden olduğunu tespit etmişlerdir. Peng vd. (2018) aynı model organizma kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada Fe₃O₄-NP'lerinin *S. cerevisiae* büyümesini engellediğini fakat bu inhibe edici etkinin plazma membran hasarı, hücre duvarı hasarı ya da ROS birikiminden bağımsız olarak gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır.

2.5. Nikel ferrit (NiFe₂O₄) Nanopartikülleri

Nikel (Ni), alaşımların üretiminde, elektrik elektronik sanayi ve çeşitli endüstri alanlarında kullanılmakta ve daha çok mesleki maruziyete sebep olmaktadır (Dumala vd. 2017). Bazı hayvan türlerinin gelişimsel dönemde esansiyel olan Ni artan endüstri faaliyetleri sonucunda açığa çıkmakta ve insanlar için kanserojen olarak kabul edilen metallerden bir tanesidir (Kong vd. 2014). Ni oda sıcaklığında manyetik özellikler sergilediği için biyolojik açıdan ilgi çekici bir metal olarak kabul edilir. Bununla birlikte, toksisitesi ve yüksek reaktivitesi, saf Ni-NP'leri biyomedikal uygulamalar için uygun yapmamaktadır. Ni-NP'lerin bir silika kabuk ile kaplanması veya NiFe₂O₄-NP'lerinin kullanılması önerilmiştir. NiFe₂O₄-NP'lerinin genellikle HeLa (insan serviks hücreleri)

hücreleri için kobalt (Co) veya çinko (Zn) ferritlerden daha az sitotoksik olduğu bilinmektedir (Rodriguez vd. 2015). NiFe_2O_4 -NP'lerinin partikül boyutunun ve yüzey kaplamasının Neuro-2A (fare blastoma hücre hattı) hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin incelendiği bir çalışmada bu faktörlerin hücre canlılıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı, fakat partikül sayısındaki artışın sitotoksikite artışına neden olduğunu tespit etmişlerdir (Yin vd. 2005). Ayrıca NiFe_2O_4 -NP'lerinin insan eritrositlerinde ve mononükleer periferik kan hücrelerinde yapılan *in vitro* bir çalışmada, NiFe_2O_4 -NP'lerinin kırmızı kan hücrelerini hemolize uğratma oranında, toplam protein içeriği ölçümlerinde, ayrıca katalaz ve glutatyon-S-transferaz aktivitelerinde bir değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir (Martinez-Rodriguez vd. 2019). Ahamed vd. (2015) NiFe_2O_4 -NP'leri ile yapmış oldukları çalışmada ise NiFe_2O_4 -NP'lerinin, HepG2 (insan kareciğer kanser hücre hattı) ve MCF-7 (insan meme kanseri hücre hattı) doza bağlı bir sitotoksikite gözlemlemişlerdir. İnsan akciğer epitel hücrelerinde (A549) NiFe_2O_4 -NP'lerinin (26 nm boyutunda) ROS oluşumu ve bir antioksidan olan glutatyon tükenmesiyle oksidatif stresi uyardığı da gösterilmiştir (Ahamed vd. 2011). Nas ve Çolak (2020) gerçekleştirmiş oldukları çalışmada NiFe_2O_4 -NP'lerinin *D. melanogaster* üzerindeki genotoksik etkisini Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon (SMART) testi ile araştırmışlardır. Çalışma sonucunda NiFe_2O_4 -NP'lerinin 200 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonunun genotoksikiteyi indüklediğini tespit etmişlerdir. İnsan eritrositleri $\text{Ni-Fe}_2\text{O}_4$, $\text{Zn-Fe}_2\text{O}_4$ ve Fe_3O_4 'e 50, 100 ve 200 $\mu\text{g/mL}$ dozlarına 1 saat maruz bırakılmış, $\text{Zn-Fe}_2\text{O}_4$ ve Fe_3O_4 glutatyon S transferaz aktivitesini artırmış, hücre canlılığında tüm uygulamalarda anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Martinez-rodriguez vd. 2019). NiFe_2O_4 NP insan akciğer hücre hattı (A549)'nda doza bağlı olarak artan sitotoksikiteye ve p53 ve apoptotik proteinlerin (bax, kaspaz-3 ve kaspaz-9) ifadesinde artışa antiapoptotik proteinlerin (survivin ve bcl-2) ifadesinde azalmaya neden olmuştur. Tomitaka vd. (2009) $\text{Ni-Fe}_2\text{O}_4$ ve Fe_3O_4 sitotoksikitesini HeLa (insan servikal kanser hücre hattı) hücrelerinde araştırmışlar ve Fe_3O_4 (10–500 mg/ml) sitotoksik etki göstermezken $\text{Ni-Fe}_2\text{O}_4$ (10–500 mg/ml) doza bağlı olarak artan sitotoksik etki göstermiştir. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalara bakıldığında demir oksit NP'lerinin hücrelerde oksidatif stresi ve apoptozu artırdığı belirtilmiştir (Stroh vd. 2004; Apopa vd. 2009; Zhu vd. 2010).

2.6. Kobalt ferrit (CoFe_2O_4) Nanopartikülleri

Kobalt (Co) elektrik-elektronik, otomotiv ve havacılık sektörlerinde kullanılan alaşımlarda koruyucu olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra çelik, boya, petrol, cam ve seramik sanayinde de yaygın kullanılması bu alanda çalışan işçilerde kronik Co maruziyeti nedeni ile solunum yolu hastalıkları, hormonal düzensizlikler, astım ve kanser gibi rahatsızlıklara neden olmaktadır (Martin vd. 2010; Magaye vd. 2012; Cavallo vd. 2015; Zeng vd. 2016). Co tabanlı NP'ler, sensörler, katalizörler, pigmentler ve manyetizma ve enerji depolama cihazları gibi farklı teknolojik ürün türlerinde kullanılır. CoFe_2O_4 -NP'ler, orta derecede mıknatıslanma, fiziksel ve kimyasal stabiliteye sahip, iyi bilinen bir sert manyetik malzemedir (Abudayyak vd. 2017a). Bu özellikleri CoFe_2O_4 -NP'lerini biyotıpta ilaç taşıyıcıları olarak, kanser tedavisinde hipertermi tedavileri olarak ve manyetik rezonans görüntülemeye kontrastın artırılması gibi alanlarda da yaygın kullanılmasını sağlamıştır (Di Guglielmo vd. 2010; Amiri ve Shokrollahi 2013).

CoFe_2O_4 -NP (ortalama 40nm) akut maruziyetinin zebra balığı embriyoları üzerinde doza bağlı gelişimsel toksisite, metabolizmanın aşağı regülasyonu ve apoptoza

neden olduğu bilinmektedir (Ahmad vd. 2015). *Solanum lycopersicum* bitkileri üzerinde yapılan bir araştırma, CoFe_2O_4 -NP'nin 1000mgL^{-1} 'lik konsantrasyonuna kadar toksisitenin tolere edebilebildiği gösterilmiştir (Lopez-Moreno vd. 2016). NRK-52E hücrelerinde (sıçan böbrek hücreleri) CoFe_2O_4 -NP'lerinin ($39\pm 17\text{nm}$) etkisini araştıran bir çalışmada, CoFe_2O_4 -NP maruziyetinin önemli ölçüde DNA hasarına yol açtığı tespit edilmiştir (Abudayyak vd. 2017a). Colognato vd. (2007) farklı boyutlardaki (5.6 nm , $10\mu\text{m}$ ve $120\mu\text{m}$) CoFe_2O_4 sitotoksik ve genotoksik etkilerini araştırmışlar ve 5.6 nm 'nin anlamlı sitotoksik ve genotoksik etkiye, 10nm 'nin anlamlı genotoksik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. $120\mu\text{m}$ 'da anlamlı sitotoksik veya genotoksik etki belirlenmemiştir. CoFe_3O_4 sitotoksik ve genotoksik etkileri MCF-10A (normal meme hücre hattı) ve MDA-MB-231 (metastatik meme kanser hücre hattı)'de incelenmiş, 4 ve 24 saatlik uygulamalarda doza ($15\text{-}500\text{ }\mu\text{g/mL}$) bağlı olarak artan sitotoksik ve genotoksik etkiye gözlenmiştir (Aşık vd. 2016). Bu çalışmalara ek olarak çeşitli hücre hatlarında $\text{Co}_2\text{Fe}_2\text{O}_4$ sitotoksik, embriyotoksik ve genotoksik etkileri Horev-Azaria vd. (2013) tarafından araştırılmış ve yüksek konsantrasyonlardaki Co-FeNP'lerin hücre içinde parçalanmaya uğradığı ve Co iyonlarının salındığı bunun da sitotoksik ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Marmorato vd. 2011). Pershina vd. (2011) $\text{Co}_2\text{Fe}_2\text{O}_4$ 'ün DNA'nın fosfat grupları ve oksijen atomları ile bağlantı kurduğunu, Ahmad vd. (2016) ise $\text{Co}_2\text{Fe}_2\text{O}_4$ 'ün ROS üretimine neden olduğunu göstermiştir.

2.7. Manganez ferrit (MnFe_2O_4) Nanopartikülleri

Mangan (Mn) NP'lerinin son yıllarda atık su arıtımında, sensörlerde, bataryalarda ve kataliz işlemlerinde ve manyetik rezonans görüntüleme, metalürji alanında demir-çelik üretiminde kullanımı giderek artmaktadır. MnNP gerek üretim gerekse kullanım alanlarında işçilerin temel maruziyet yolu solunumdur. Fizyolojik koşullarda Mn metalloenzimlerin bir bileşeni ve bir enzim aktivatörü olarak işlev görmektedir, çok çeşitli dokularda bulunabilir ve hücrede yoğunlukla mitokondride bulunmaktadır (Mauro vd. 2018). Mn nörotoksitesi Parkinson hastalığı ile ilişkilendirilmiştir, ayrıca bu metale aşırı maruz kalma hipokampusta hasara neden olmaktadır (Erikson ve Aschner vd. 2003; Katsnelson vd. 2015). Akut Mn toksisitesi sonucunda manganizm denilen bir hastalık ortaya çıkmaktadır. Başlangıçta şizofreniye benzeyen psikiyatrik bozukluklar ile karakterize olup hiperaktivite, duygusal dengesizlik ve iskelet-kas sistemi rahatsızlıkları ile devam etmektedir (Tomitika vd. 2011; Sanchez-Betancourt vd. 2012; Long vd. 2015). Ferrit NP'lerden özellikle MnFe_2O_4 yüksek termal stabiliteye sahip olduğundan geniş sıcaklık aralığında çeşitli üretim faaliyetlerinde kullanılmaktadır (Malakootikjahh vd. 2018).

MnFe_2O_4 -NP'leri, Mn^{+2} iyonlarının varlığı, ayarlanabilir manyetik özellikleri, yüksek geçiş sıcaklığı ve oda sıcaklığı uygulamaları için sahip oldukları kimyasal stabilite ve doğal biyouyumlulukları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Bu özellikleri sayesinde MnFe_2O_4 -NP'lerin kanser termoterapisinde ve MR (manyetik rezonans) görüntüleme yeni bir kontrast madde ajanı olarak kullanım alanları vardır (Islam vd. 2020). Henüz bir sitotoksik veya genotoksik araştırmasına rastlanılmamıştır.

Gerçekleştirilen tez çalışması ile tıp alanında oldukça sık kullanılan NP'ler olan Fe_3O_4 -NP, CoFe_2O_4 -NP, MnFe_2O_4 -NP ve NiFe_2O_4 -NP'lerin *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Test (SMART) yöntemiyle mutajenik ve rekombinojenik

potansiyelleri, *Drosophila* hemositlerinde Alkali Tek Hücre Jel Elektroforezi (KOMET) yöntemiyle de primer DNA hasarına yol açma potansiyelleri *in vivo* olarak araştırılmıştır.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Çalışma kapsamında kullanılan propiyonik asit (CAS No: 79-09-4), gliserol (CAS No: 56-81-5), orto-fosforik asit (CAS No: 1664-38-2), gum arabik (CAS No: 9000-01-5), sodyum hidroksit (NaOH) (CAS No: 1310-73-2), kloral hidrat (CAS No: 302-17-0), etilendiamin tetraasetik asit (Na_2EDTA) (CAS No: 60-00-4), Trizma Base BioUltra (CAS No: 77-86-1), sodyum hidroklorür (NaCl) (CAS No: 7647-14-5), fosfat tamponu (PBS) (CAS No: 7647-14-5), etidyum bromür (EtBr) (CAS No: 1239-45-8), Triton-X (CAS No: 9036-19-5), Feniltiyoüre (CAS No: 103-85-5), Sarcosine (CAS No: 107-97-1) Sigma Aldrich; Normal melting Agar (NMA) (CAS No: 9012-36-6), Low melting Agar (LMA) (CAS No: 9012-36-6) AppliChem firmalarından satın alınmıştır.

Tez çalışması kapsamında genotoksik potansiyelleri araştırılan Fe_3O_4 NP (CAS No: 1317-61-9), NiFe_2O_4 NP (CAS No: 12168-54-6), CoFe_2O_4 NP (CAS No: 12052-28-7) ve MnFe_2O_4 NP'leri (CAS No: 12063-10-4) NANOGRAFİ (ODTÜ Teknokenti-Ankara) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Nanopartikül Karakterizasyonu

3.2.1. SEM görüntüleme analizi

NP'lerin fiziksel özellikleri, karakterizasyonu ve konsantrasyonu hakkında bilgi edinilmesi amacıyla mikroskopik görüntüleme sistemleri, kromatografik ve spektroskopik yöntemler gibi birçok analitik yöntem vardır (Dağlıoğlu ve Yılmaz 2018). Taramalı elektron mikroskopisi (SEM), analizi gerçekleştirilen NP'lerin yüzey özellikleri, şekli ve boyutu gibi morfolojik özellikleri, bileşimini, tanelerin oryantasyonunu ve kristalografik özellikleri gibi birçok bilgi vermektedir (Akhtar vd. 2018). Bu çalışmada kullanılan Fe_3O_4 , NiFe_2O_4 , CoFe_2O_4 ve MnFe_2O_4 NP'lerinin SEM görüntülemeleri hizmet alımıyla JEOL marka 6400 model SEM cihazı ile Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi (UNAM-Bilkent Üniversitesi- Ankara) tarafından yapılmıştır.

3.2.2. PSD analizi

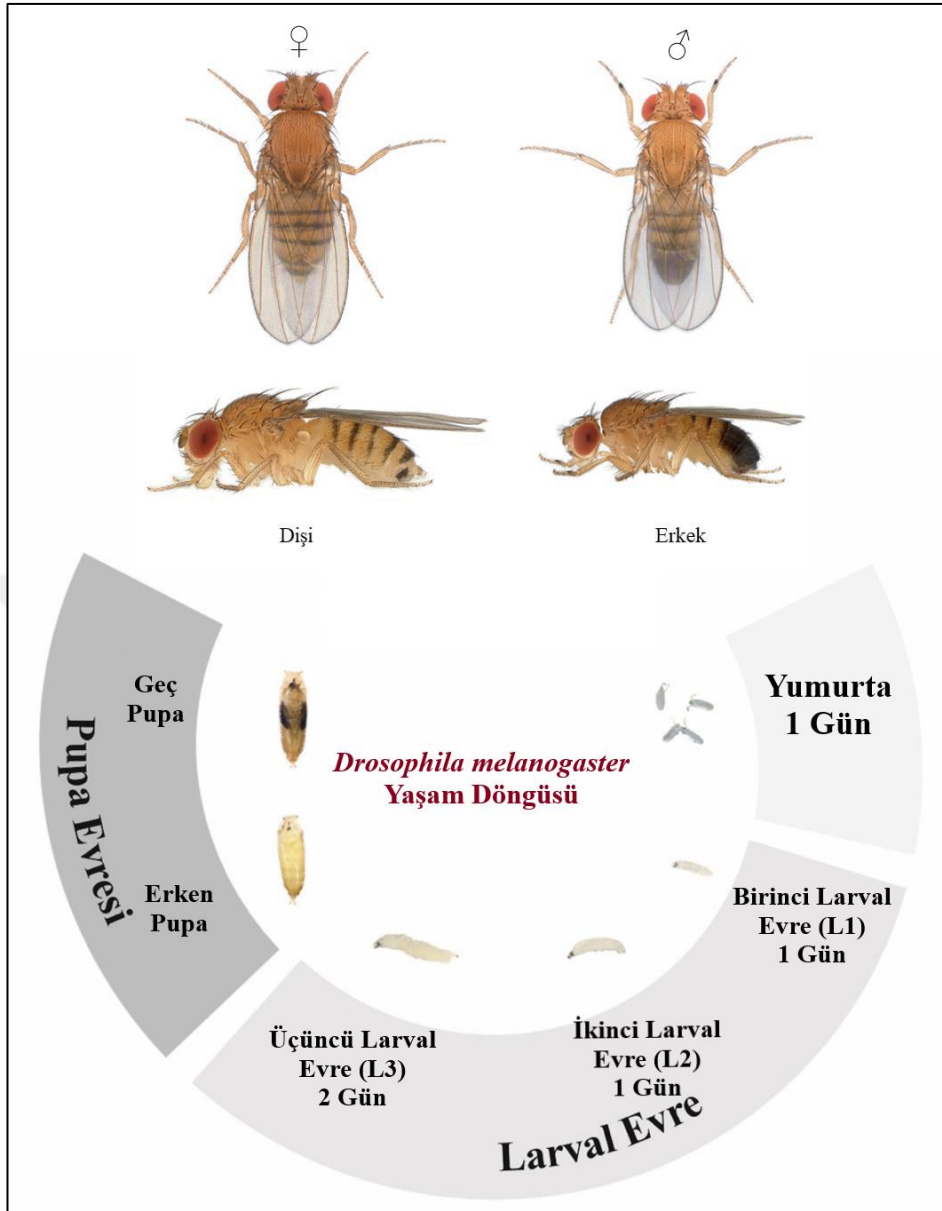
Çalışma kapsamında kullanılan Fe_3O_4 , NiFe_2O_4 , CoFe_2O_4 ve MnFe_2O_4 NP'lerinin Partikül Boyut Dağılım (PSD) analizleri hizmet alımıyla Partica marka LA-960V2 model cihaz ile NANOGRAFİ (ODTÜ Teknokenti- Ankara) firması tarafından yapılmıştır.

3.3. *Drosophila melanogaster*

Meyve veya sirke sineği olarak isimlendirilen, diptera ordosuna ait tam başkalaşım (holometabol) gösteren *Drosophila melanogaster* 100 yıldan fazla süredir modern ve klasik genetik çalışmalar dahil birçok çalışmada sıklıkla kullanılan bir model organizmadır. *D. melanogaster* diploid bir organizmadır ve dört çift kromozom taşımaktadır (Graf vd. 1992; Rothwell 1993; Yamaguchi ve Yoshida 2018). Genetik yapısı dışında hızlı bir yaşam döngüsüne sahip olması, verimli bir çiftleşmeyle kısa bir

süre içerisinde yüzlerce yavru verebilmesi gibi yüksek üreme potansiyeli, kolay bir şekilde kültüre edilebilir olması *Drosophila*'yı kemirgen model organizmalardan daha üstün kılmaktadır. Ek olarak *Drosophila*'nın gelişim evreleri olan yumurta, larva, pupa ve ergin evrelerinin kolaylıkla takip edilebilir olması bu organizmayı iyi bir model organizma yapan özelliklerini destekler niteliktedir (Alaraby vd 2016; Yamaguchi ve Yoshida 2018).

Drosophila'nın göstermiş olduğu yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört evreden oluşan gelişim evreleri *Drosophila*'yı holometabol canlılar grubuna dahil etmektedir. Optimum yaşam koşulları olan 25°C sıcaklık ve %60 bağıl nem ile *Drosophila* yumurtaları 9 ila 11 gün içerisinde olgunlaşarak ergin birey haline gelmektedirler. *Drosophila* yaşam döngüsü daha detaylı incelendiğinde bu döngünün birinci, ikinci ve üçüncü larval evre, pupa ve yetişkin evre olmak üzere çok basamaklı olarak gerçekleştiğini görmek mümkündür (Şekil 3.1) (Flagg 1988).

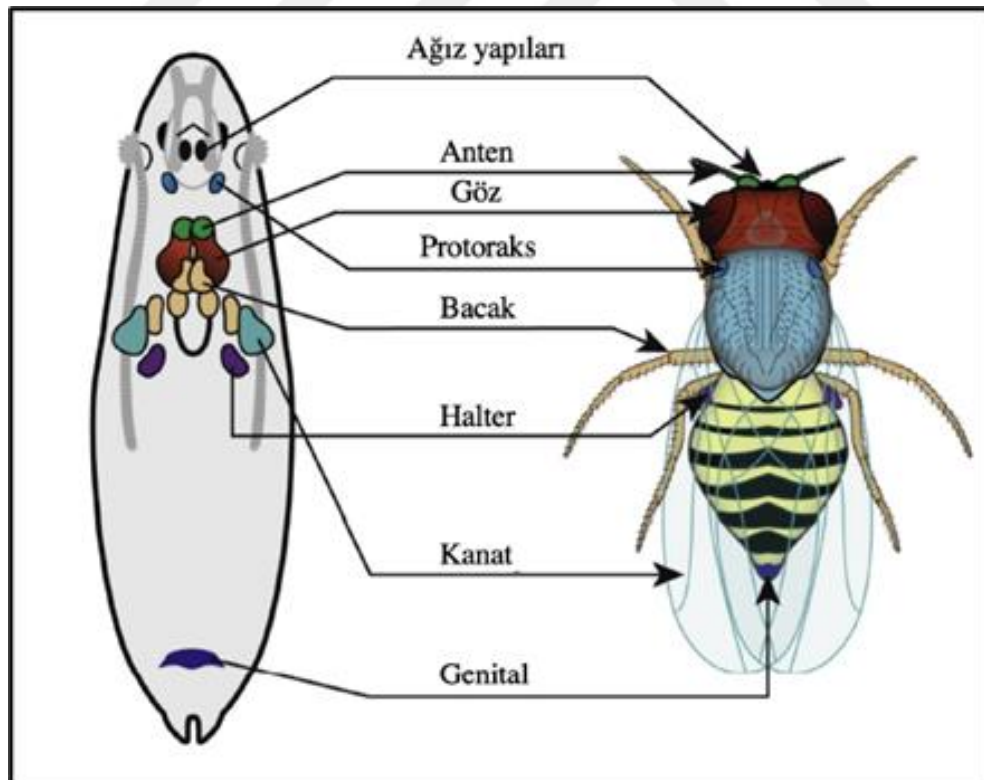


Şekil 3.1. *Drosophila* yaşam döngüsü (Stocker ve Gallant 2008)

Drosophila yumurtaları oval ve lateral açıdan biraz basık bir şekildedir ve beyaz renktedirler. Yaklaşık olarak 0,5 mm uzunluğa ve 0,2 mm çapa sahip olan yumurtaların dorsal yan tarafın ön uç kısmında iki adet filament bulunmaktadır. Bu filamentler, yumurtaların ıslak ortamda batmalarını engellemelerinin yanı sıra aynı zamanda da oksijen ihtiyaçlarını gidermektedir. Bir *Drosophila* dişi ortalama 400 yumurta bırakmaktadır ve 24 saat içerisinde yumurtalar birincil larval evreye geçmektedirler. Ardından larvalar beslenme yoluyla büyür ve iki kere de deri değiştirirler. Bu süreç içerisindeki her bir aşama bir larval evre olarak ifade edilmektedir. Larvaların bu şekilde gerçekleştirmiş oldukları büyüme periyotları 4 gün sürmektedir. Bu süre sonunda ise larvaların ağırlığı başlangıca kıyasla 200 kat daha fazladır. Besin üzerinde beslenmeye devam eden larvalar üçüncü larval evrenin sonunda beslenmeyi durdurarak kuru ve temiz

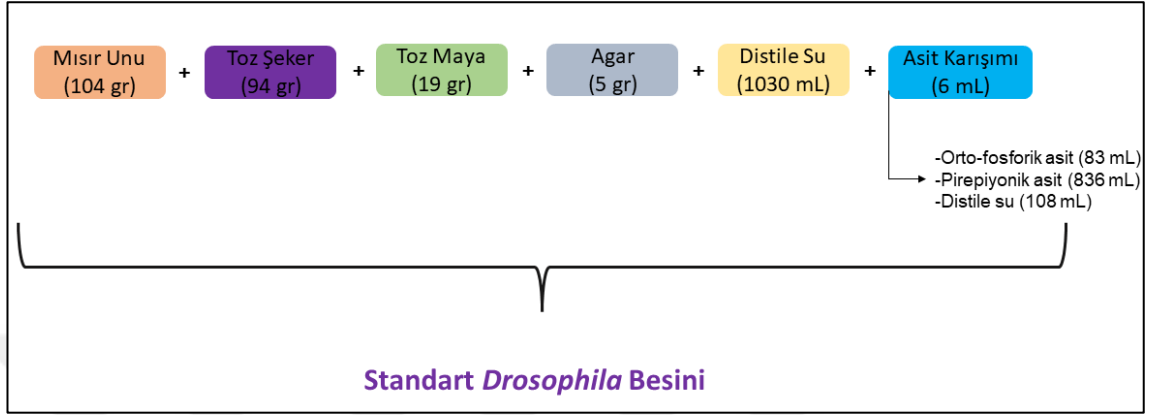
bir alana yerleşip pupa evresine geçişi tamamlamaktadır. Sarımsı beyaz renge sahip pupalar 4,5 günlük süreç içerisinde renkleri gittikçe koyulaşır ve pupa evresi içerisinde de başkalaşım tamamlanarak gelişimini tamamlamış bir böcek (imago) oluşarak süreç tamamlanır (Graf vd. 1992; Stocker ve Gallant 2008; Vijayalakshmi 2013).

Larval süreç içerisinde larvaların ağız açıklıkları yaklaşık olarak 50 ila 200 μm arasında değişmektedir. Bu süreçte larvaların herhangi bir kimyasala oral olarak maruziyeti imajinal disk hücrelerinde genetik farklılaşma meydana getirerek doğrudan fenotipte etkisini göstermektedir (Liu vd. 2009). *Drosophila* larvalarında meydana gelen erken embriyonik gelişim sürecinde vücut planının oluşmasını sağlayan hücre grupları (imajinal disk hücreleri) sürekli olarak bölünme halindedir. İmajinal disk hücreleri üçüncü larval evrenin sonunda farklılaşarak *Drosophila*'da ergin yapıların oluşturmaktadır (Yamaguchi ve Yoshida 2018). Genital disk haricindeki diğer tüm imajinal diskler çiftler halinde bulunmaktadır. Ağız yapılarının oluşturulmasında görev alan 4 imajinal disk, anten ile gözü oluşturan imajinal disklerle birlikte kafayı oluşturmaktadır. *Drosophila* larvaları bacak, kanat, protoraks, halter ve genital diskler olmak üzere toplamda 19 adet imajinal diske sahiptir (Şekil 3.2). Dört gün süren larval dönem sürecinde imajinal diskler yaklaşık olarak 10 saatte bir bölünmektedir. Yaklaşık olarak 50000 hücreden oluşan yapıyla en büyük imajinal diskler kanat imajinal diskleridir (Aldaz vd. 2010)



Şekil 3.2. *Drosophila melanogaster* imajinal diskleri ve ergin bireyde oluşturduğu yapılar (Aldaz vd. 2010)

Drosophila ile gerçekleştirilen deneylerde standart Lewis besin ortamının yanı sıra etkisi araştırılan kimyasal madde ile ıslatılmış *Drosophila* hazır besini de kullanılmaktadır (Graf ve Schaik 1992; Marcos ve Carmona 2013). Standart *Drosophila* besini “Lewis mediumu” olarak bilinmektedir ve içeriği Şekil 3.3’te gösterilmiştir (Lewis 1960).



Şekil 3.3. Standart *Drosophila* besin içeriği

Farklı *Drosophila* araştırma laboratuvarlarında farklı içeriklere sahip farklı besin ortamları kullanılmaktadır. Ancak genel olarak *Drosophila* besini mısır unu, toz şeker, toz maya, agar, distile su ve asit karışımını içermektedir (Graf vd. 1992). Çalışma kapsamında kullanılan *Drosophila* besininin hazırlanması şu şekildedir;

- Pişirme kabına asit karışımı hariç tüm malzemeler hassas terazide tartılarak ve mezür ile ölçülerek eklenir.
- Tüm malzemeler iyice kaynayana ve yoğunlaşana kadar kısık ateşte sürekli olarak karıştırılır.
- Kaynamanın ardından yüksek ateşte 1-2 dakika daha pişirme işlemine karıştırılarak devam edilir ve pişirme kabı ateş üzerinden alınarak pişirme işlemi tamamlanır.
- Pişirme ürününün içerisine besinin kontaminasyonunu engellemek amacıyla önceden hazırlanmış olan asit karışımından 6 mL eklenir ve asitin besin içerisinde homojen bir şekilde dağıldığından emin olana kadar karıştırma işlemi yapılır.
- Hazırlanan besin içeriği katılaşmadan ve sıcak bir haldeyken kültür şişelerine (200 mL) her birinde 1 cm kalınlıkta besin olacak şekilde aktarım gerçekleştirilir.
- Besin aktarılan kültür şişelerinin üzerleri filtre kâğıdı yardımıyla kapatılarak, şişe içerisindeki buharın uzaklaştırılması sağlanır.
- Son olarak hazırlanan şişelere sünger takılarak kültür şişeleri kullanıma hazır hale getirilir.

Drosophila araştırmalarında kullanılan bir diğer besin ise hazır *Drosophila* besini'dir. *Drosophila* hazır besini solüsyon olarak hazırlanan ksenobiyotiklerin farklı derişimlerine larval evredeki *Drosophila*'ların maruz bırakılması amacıyla kullanılan bir besindir. Uygulama sürecinde 4,5 gr *Drosophila* Instant Medium [Formula 4-24 ® (Carolina

Biological Supply co., USA)] maruziyet gerçekleştirilmesi istenen kimyasalın 9 mL ile ıslatılarak hazırlanır.

3.3.1. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi

Tez çalışması kapsamında test edilen Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 , MnFe_2O_4 ve NiFe_2O_4 NP'lerinin uygulama konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla literatürde çalışılmış dozlar da dikkate alınarak geniş bir doz aralığı belirlenmiştir. Bu bağlamda 0,2, 0,5, 0,8, 1, 1,5, 3, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonların *Drosophila* ergin birey oluşturma başarısı üzerine etkileri incelenmiştir.

Drosophila ergin birey oluşturma başarısı deney adımları şu şekildedir;

- *Drosophila* yaban tip (Oregon R+) hattından 8 saat boyunca yumurta toplama işlemi gerçekleştirilmiştir.
- 72 ± 4 saatlik (üçüncü larval evre) aşamaya ulaşan larvalar musluk suyu altında yıkanarak ince gözenekli elek yardımıyla toplanmış ve distile sudan geçirilmiştir.
- Her uygulama grubu için 3 test tüpü ve her bir deney tüpüne de 4,5 gr *Drosophila* hazır besini (*Drosophila* Instant Medium) konularak hazır hale getirilmiştir.
- Her test tüpü uygulama kimyasalının 9 mL'si ile ıslatılarak larvaların aktarılma işlemi öncesindeki son adım tamamlanmıştır.
- Her uygulama grubu için hazırlanan 3 test tüpüne her birinde 50'şer larva olacak şekilde toplamda 150 larva rastgele olarak toplanan larvalar arasından uygulama kimyasalıyla ıslatılmış *Drosophila* hazır besini içerisine aktarılmıştır.
- Aktarılma işlemi ince uçlu pens yardımıyla gerçekleştirilmiş ve larvalara herhangi bir zarar verilmeden aktarım işlemi gerçekleştirilmiştir. Özellikle aktarılan larvaların besinle teması sağlanmış, aktarım sırasında tüp yüzeyine yapışan larvalar küçük bir fırça yardımıyla besin yüzeyine taşınmıştır.
- Uygulamanın ardından test tüpleri 25°C sıcaklık ve %60 bağıl neme sahip olan *Drosophila* kültür odasına alınmıştır.
- Üçüncü larval evrede bulunan *Drosophila* larvalarının ergin birey oluşumuna kadar uygulama kimyasalına kronik olarak maruziyeti sağlanmıştır.
- Ergin birey çıkışı tamamlandığında pupadan çıkan bireyler boş tüpler içerisine aktararak toplanmış ve toplanan bireyler eterizasyon tekniği ile bayıltılarak sayımları gerçekleştirilmiştir.
- Deney sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesi ise 50x3 larvadan yüzde kaçının ergin birey haline geldiğinin hesaplanması ile tamamlanmıştır.
- Negatif kontrol grubu olarak distile su kullanılmıştır.
- Çalışılan bütün nanopartiküller için yapılan LD 50 çalışması sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda 10 mM lık doz en yüksek dçalışma dozu olarak seçilmiş ve toplamda 4 doz (1, 3, 5, 10 mM) çalışmaya dahil edilmiştir.

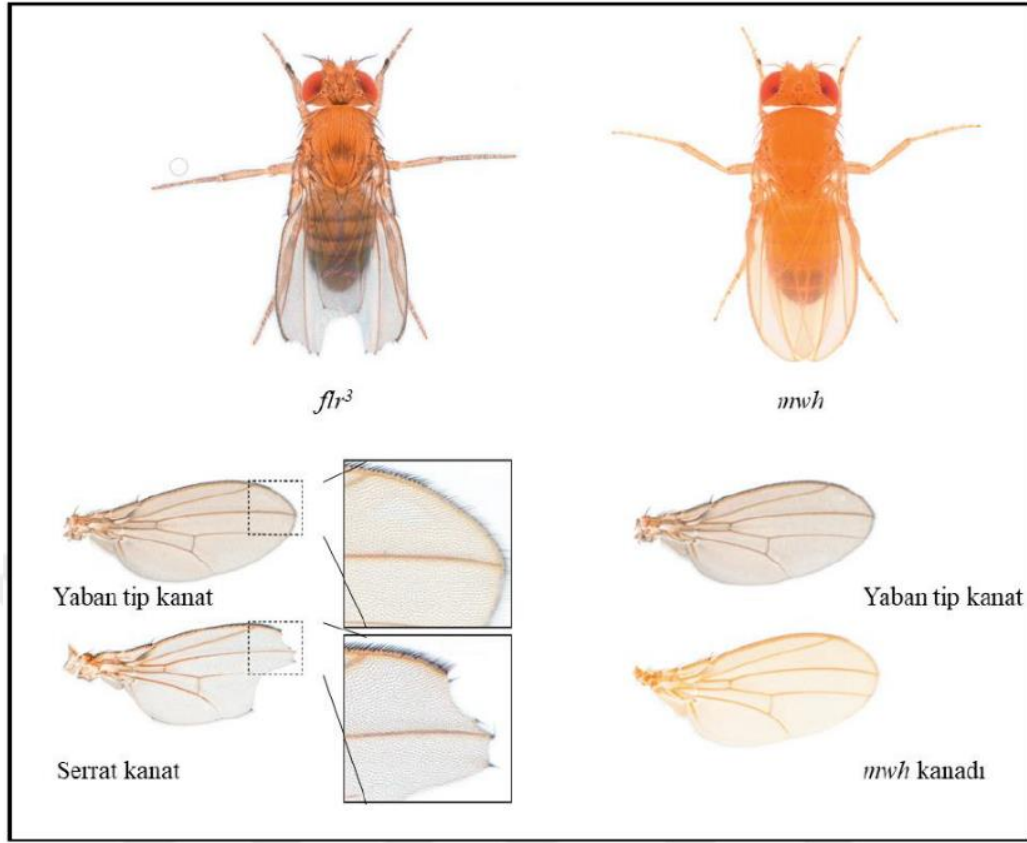
3.3.2. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

Drosophila SMART yönteminde *flare-3* (*flr³*) ve *multiple wing hair* (*mwh*) olmak üzere toplamda 2 farklı *Drosophila* hattı kullanılmaktadır. *flr³* (3-38,8) ve *mwh* (3-0,03) genleri üçüncü kromozom üzerinde yer almaktadırlar. Normal *Drosophila* bireylerinde bir kanat hücrelerinden bir tane trikom çıktığı görülürken, *mwh* mutant geninin homozigot halde bulunduğu mutant bir hatta bir hücreden birden fazla trikom meydana geldiği görülmektedir. *flr³* mutantlarında ise *flr³* geninin homozigot durumda olması embriyonik letal etki oluşturmaktadır. Bu durumda *flr³* geninin homozigot hale geldiği embriyolarda ergin sinek oluşumu görmek mümkün değildir (Marcos ve Carmona 2013). *flr³* mutant bireyler *Ser* (*Bd^S* Beaded Serrate) geni bulunduran ve çoklu inversiyonlar geçirmiş dengeleyici kromozom TM3 taşımaktadırlar. Bu sayede bireylerin embriyonik evrede *flr³* geninin homozigotlaşması önlenerek hayatta kalma sağlanmaktadır. Ayrıca TM3 dengeleyici kromozomu, rekombinasyonu baskılayarak olası mutajenik ve/veya rekombinojenik etkinin birbirinden ayırt edilmesini de sağlamaktadır (Graf vd. 1984; Graf ve Vanschaik 1992). Çalışma kapsamında kullanılan hatların genetik yapısı ise şu şekildedir (Lindsley ve Zimm 1992):

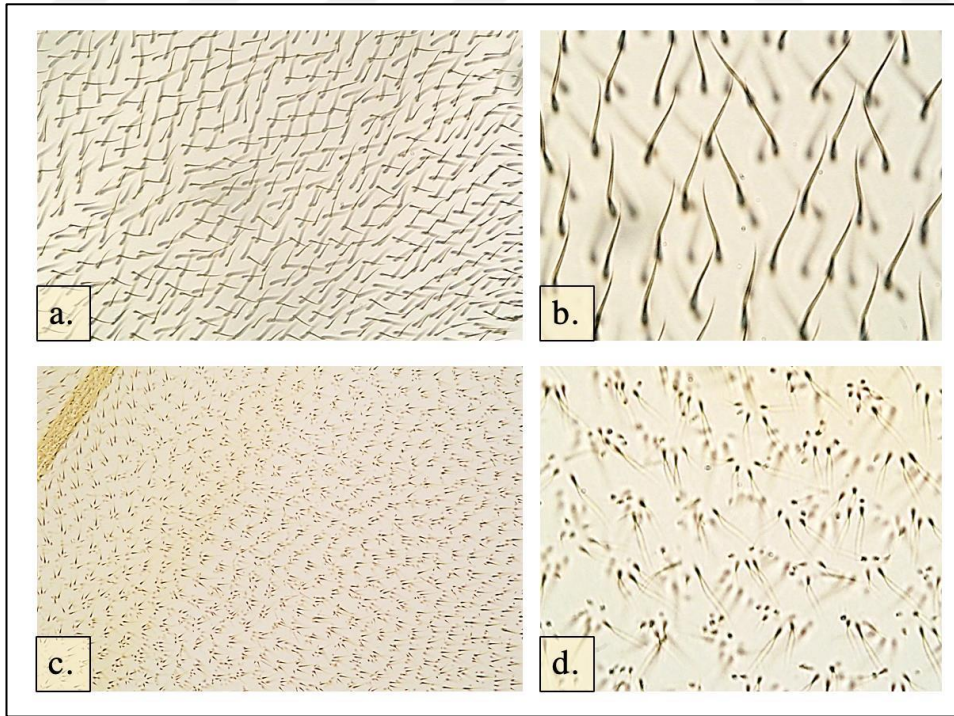
-Erkek bireyler (♂): *mwh* / *mwh*

-Dişi bireyler (♀): *flr³* / *ln* (3LR) TM3, *Bd^S*

Yaban tip *Drosophila* bireylerinde kanat uçları oval bir yapıya, trikomlar ise uzun ve düz bir şekle sahiptir. Ayrıca *flr³* bireylerinin kanat uç kısımları dominant *serrate* geni nedeni ile kesikli bir yapısının olduğu ve trikomlarının ise yaban tip görünümüne sahip olduğu görülmektedir. *mwh* bireyleri ise kanat uçları bakımından yaban tip görünümüne sahipken, trikomları bir trikom kökünden çıkan birden fazla trikom ile karakterizedir. (Şekil 3.4 ve 3.5). *flr³* geni ise nokta şeklinde, kısalmış koyu renge sahip düzgün olmayan bir yapıda bulunan trikomlar şeklinde ayırt edilmektedir. *mwh* geninin fenotipte görünümü ise bir kanat hücrelerinden birden fazla trikom çıkması durumu ile karakterize edilmiştir (Kaya 2000).



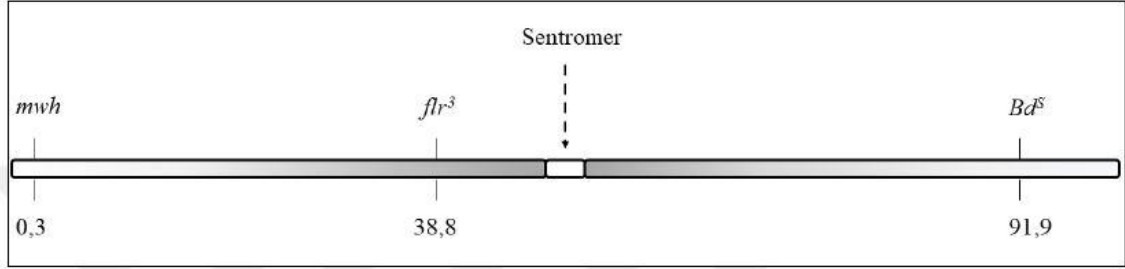
Şekil 3.4. *Drosophila flr³* ve *mwh* mutantlarının kanat ve vücut yapıları



Şekil 3.5. *Drosophila* yaban tip trikom görüntüsü (a ve b) ve *mwh* trikom görüntüsü (c ve d)

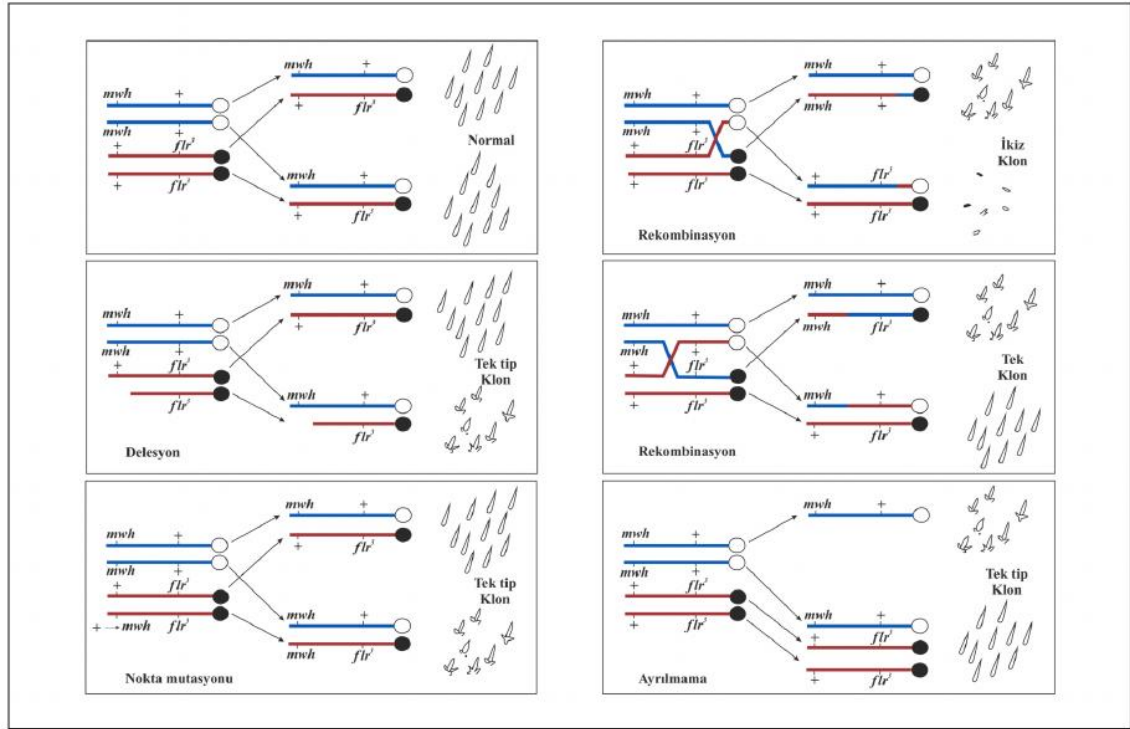
Çalışma kapsamında gerçekleştirilen SMART deneyinde yapılan çaprazlamalarda dişi ve erkek bireylerin hangi mutant hatta ait olduğunun bir önemi yoktur. Çünkü bu çaprazlamada kullanılan marker (belirteç) mutant genlerin otozomal kromozom üzerinde yer aldığı bilinmektedir. *flr³* genine sahip dişi bireylerin *mwh* geni taşıyan dişi bireylere kıyasla daha yüksek oranda yumurta verme potansiyeline sahiptirler. Bu nedenle çalışmalarda *flr³* bireyleri dişi ebeveynler olarak seçilirken, *mwh* bireyleri erkek ebeveyn olarak seçilmektedir (Marcos ve Carmona 2013).

Drosophila SMART deneyi kapsamında gerçekleştirilen çaprazlama sonucunda transheterozigot (Normal kanatlı) ve balancer-heterozigot (Serrat kanatlı) sinekler olmak üzere iki farklı fenotipte bireyler oluşmaktadır. Transheterozigot sineklerde görülen klonlar rekombinasyon veya mutasyon sonucunda ortaya çıkarken, balancer-heterozigot sineklerin (TM3 dengeleyici kromozom taşıyan sinekler) kanatlarında görülen klonlar rekombinasyon balancer kromozom tarafından baskılandığı için sadece mutasyonlar (non-disjunction, delesyon, nokta mutasyon) sonucunda oluşmaktadır (Spano vd. 2001).



Şekil 3.6. *Drosophila* kanat SMART yönteminde kullanılan marker genlerin üçüncü kromozom üzerindeki konumları (Lindsley ve Zimm 1992)

mwh ve *flr³* genleri *Drosophila*'da 38,8 cM (SantiMorgan) mesafe arayla 3. Kromozom üzerinde bulunmaktadır. *flr³* geni ile sentromer arasında 9 cM'lık bir mesafe bulunmaktadır (Şekil 6). Bu genlerin hem kendi aralarındaki hem de sentromerle olan uzaklıkları ise rekombinasyonun gerçekleşmesini sağlamaya yetmektedir. İkiz klonlar sentromer ve *flr³* geni arasında bir bölgede meydana gelen rekombinasyon sonucu oluşurken, sadece *mwh* içeren klonlar *mwh* ve *flr³* bölgeleri arasında meydana gelen rekombinasyon sonucunda oluşmaktadır (Şekil 3.7) (Ramel ve Magnusson 1992).



Şekil 3.7. *Drosophila* SMART testinde gözlemlenen ikiz ve tek tip klonların oluşum yolları (Graf vd. 1984)

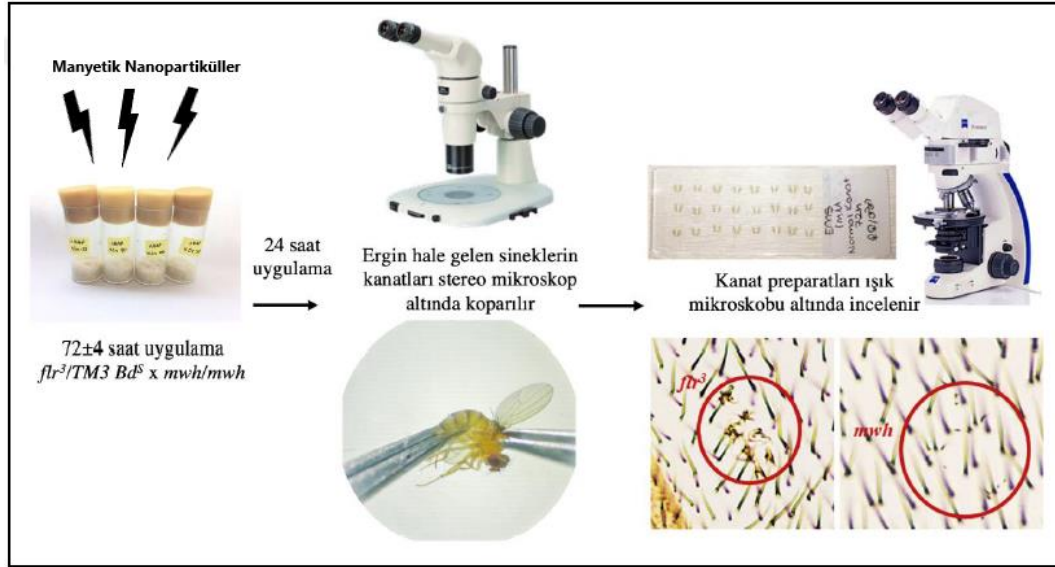
Drosophila SMART yöntemi için uygulama zamanı ve süresi açısından birbirinden farklı uygulama şekilleri bulunmaktadır (Graf vd. 1984; Guzman-Rincon vd. 2001). Graf (1995) gerçekleştirmiş olduğu çalışmada *Drosophila*'nın kanat hücrelerindeki mutant klon indüksiyon zamanı ile mutant klon frekansları arasında bir korelasyon olduğu sonucuna ulaşmıştır. Buradan yola çıkarak SMART testinde larvaya kimyasal madde uygulaması için en uygun zamanın üçüncü larval evrenin başlangıç zamanı olan 72. Saati belirlemiştir. Bu bağlamda, tez çalışmaları kapsamında da kimyasal uygulamaları 72 ± 4 saatlik larvalara yapılarak üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışması kapsamında kullanılan Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 , MnFe_2O_4 ve NiFe_2O_4 NP'leri beherde distile su içerisinde seyreltilerek 1 saatlik bir süre boyunca sonikatöre alınmıştır. Bu sayede distile su içerisinde yer alan NP'lerin homojen olarak dağılmaları sağlanmıştır.

Drosophila SMART yönteminin gerçekleştirilmesinde aşağıda yer alan yollar takip edilmiştir (Şekil 3.8) (Graf vd. 1984; Marcos ve Carmona 2013);

- *Drosophila* standart besini bulunan kültür şişelerinde 40 adet virjin flr^3 dişileri ile 40 *mwh* erkek sinekleri 24-48 saatlik süreç boyunca çaprazlandıktan ebeveynler şişeden uzaklaştırılır.
- Gerçekleşen yumurta toplama işleminin ardından toplanan yumurtaların 72 ± 4 saatlik yani üçüncü larval evre başlangıcına ulaşmaları beklenmiştir.

- Üçüncü larval evreye ulaşan larvaların bulundukları kültür şişleri çeşme suyu altında yıkanarak ince gözenekli elek yardımıyla larvaların toplanması sağlanmıştır (Graf vd. 1984).
- NP uygulamaları için her test tüpüne 4,5 gr *Drosophila* Instant Medium eklenmiştir. Ayrıca her konsantrasyon için 3 ayrı test tüpü hazırlanmıştır.
- *Drosophila* Insant Medium 1, 3, 5 ve 10 mM'lık Fe_3O_4 , $CoFe_2O_4$, $MnFe_2O_4$ ve $NiFe_2O_4$ NP solüsyonlarının 9 mL'si ile ıslatılmıştır.
- İnce gözenekli elek yardımıyla toplanan transheterozigot larvalardan 1-2 mikrospatül larva uygulama kimyasalı ile ıslatılmış besin içerisine aktarılmış ve ergin birey haline gelene kadar test tüpü içerisinde kalmaları sağlanmıştır.
- Çalışma kapsamında pozitif kontrol grubu olarak 1 mM'lık EMS, negatif kontrol grubu olarak ise distile su kullanılmıştır.
- Uygulama tüplerinde yer alan larvalar ergin birey haline gelene kadar geçen süreç içerisinde 25°C sıcaklık ve %60 bağıl neme sahip olan *Drosophila* kültür odasında bekletilmiştir.
- Ergin hale gelen *Drosophila* bireyleri eter yardımıyla bayıltılarak toplanmış ve içerisinde %70'lik etil alkol bulunan tüplere aktararak preparat hazırlama aşamasına kadar +4°C'de saklanmıştır.
- Alkol içerisinde bulunan sineklerden normal kanatlı olan bireyler rastgele olarak seçilerek distile su içerisine alınarak alkolden arındırılmıştır.
- Alkolden arındırılan sinekler çukur lam üzerine damlatılan faure solüsyonu (20 mL gliserol, 30 gr gum arabik, 50 gr kloral hidrat ve 50 mL distile su) içerisinde ince uçlu pens yardımıyla kanatları kopartılmıştır.
- Her bir preparatta 40 bireyden toplanan 40 çift kanat çiftler halinde lama yapıştırılmıştır.
- Hazırlanmış olan preparatlar 24 saat boyunca tozsuz bir ortamda kurumaya bırakılmıştır.
- Süre sonunda lamlara birkaç damla faure solüsyonu damlatılmış ve lamel (24X60 mm) ile kanatlar üzerinde hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatılmıştır (Şekil 3.9).
- Hazırlanan preparatlar 40X büyütmeye ışık mikroskopunda analiz edilmiştir.

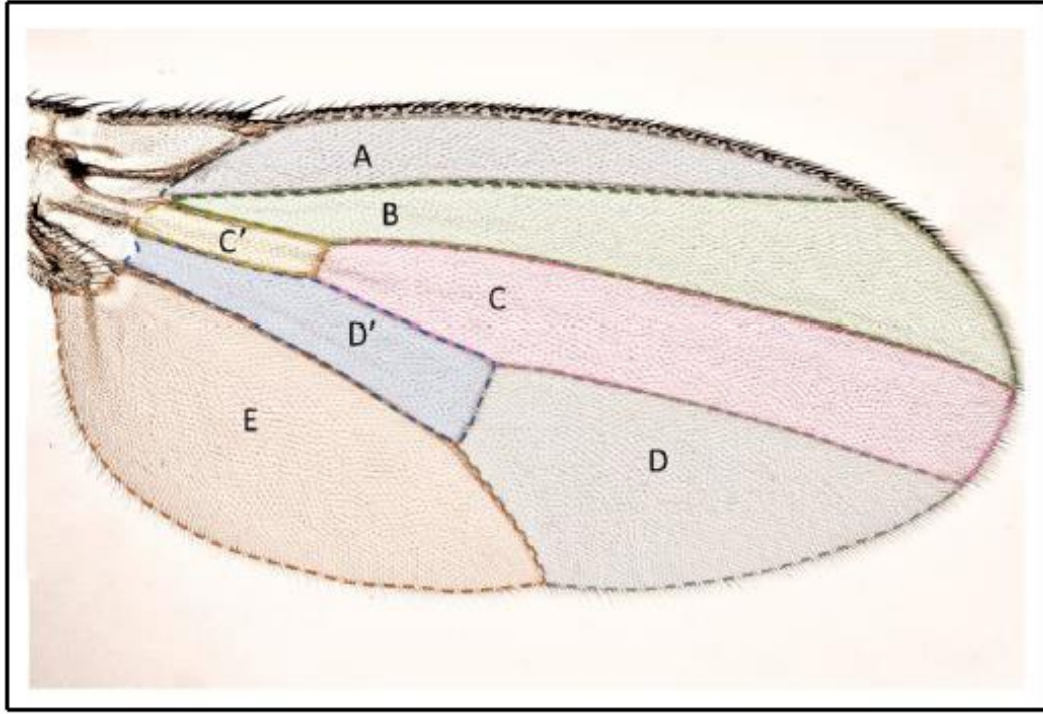


Şekil 3.8. *Drosophila* SMAR testi



Şekil 3.9. *Drosophila* SMART deneyinde hazırlanmış olan kanat preparatı

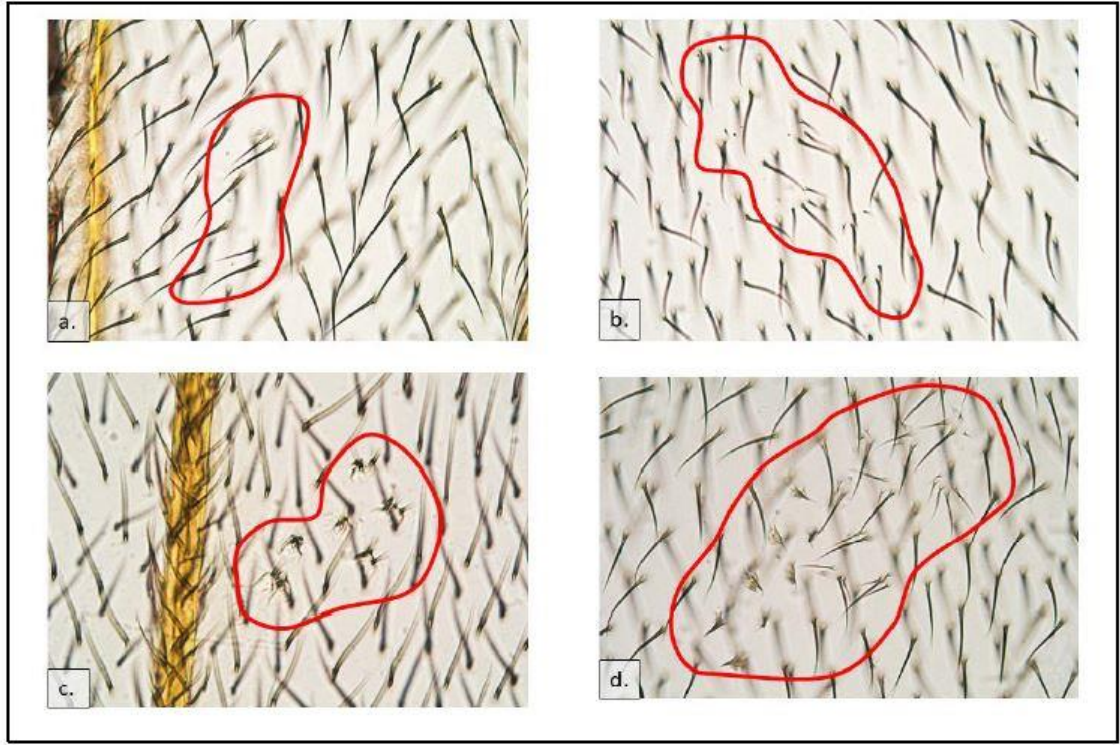
Mutant klonların incelenmesi ve analiz edilmesinde kolaylık sağlanması amacıyla *Drosophila* kanatları A, B, C, C', D, D' ve E olmak üzere 6 farklı bölgeye ayrılmıştır (Şekil 3.10) (Graf vd. 1984; Marcos ve Carmona 2013).



Şekil 3.10. *Drosophila* kanat bölümleri

Mutant klonlar üç farklı kategori altında analiz edilmektedir (Şekil 3.11). Bunlar;

- **Büyük tek tip klon:** 4 ve 4'ten fazla olacak şekilde flr^3 klonu veya 3 ve 3'ten fazla mwh klonu büyük tek tip klon olarak değerlendirilmektedir. Dörtten az miktarda tek başına bulunan flr^3 klonlarının varyasyon aracılığıyla oluşma ihtimalinin yüksek olması nedeniyle klon değerlendirmesine alınmaması önerilmektedir (Szabad vd. 1983).
- **Küçük tek tip klon:** 1 veya 2 adet mwh klonunun bir arada bulunduğu durumlar kanatların değerlendirilme aşamasında küçük tek tip klon olarak kabul edilmektedir.
- **İkiz klon:** Hem flr^3 hem de mwh klonlarının aynı klonda bir arada bulunması durumunda oluşan klonlardır (Graf vd. 1984).



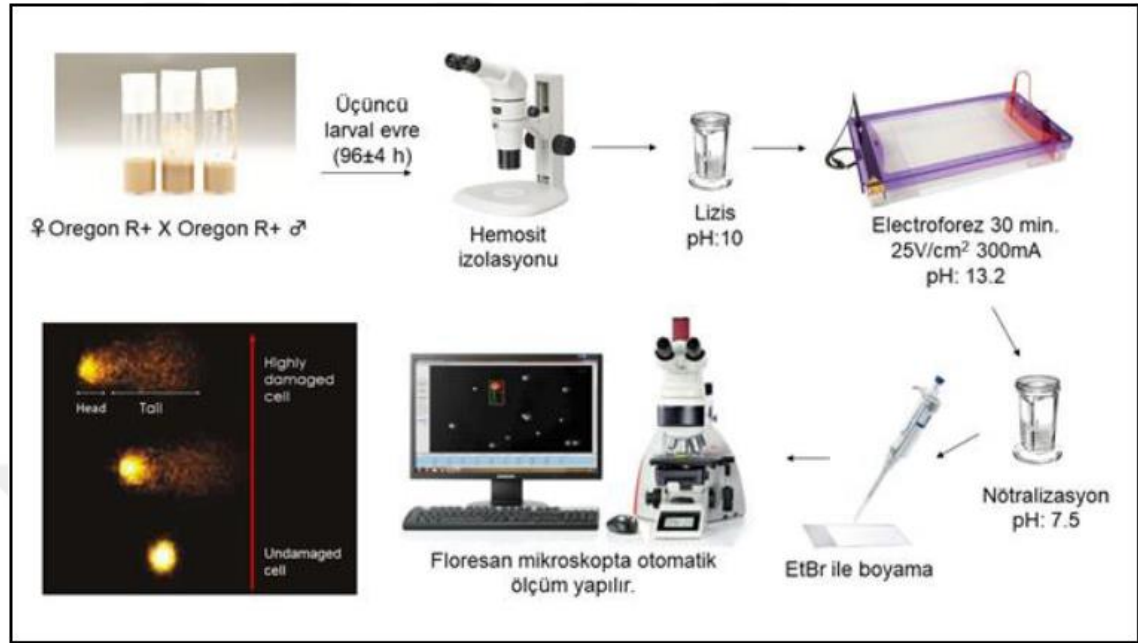
Şekil 3.11. (a) Küçük tek tip klon; (b) Büyük tek tip *mwh* klon; (c) Büyük tek tip *flr*³ klon; (d) İkiz klon görünümü (100X büyütme)

3.3.3. *Drosophila* hemositlerinde tek hücre alkali jel elektroforezi (KOMET/SCGE) testi

KOMET yöntemi hasar gören hücrelerin görsel skora ve bilgisayar yazılımı yollarıyla otomatik ölçümünü esas almaktadır. Görsel skorlama en az hasarlı olan hücreye 0, en çok hasarlı görülen hücreye ise 4 puan verilerek gerçekleştirilmektedir. Başka bir ifadeyle hasarlı hücreler 0 ila 4 arasında skorlama yapılarak değerlendirilmektedir (Collins vd. 1995). Bilgisayar yazılımı aracılığıyla gerçekleştirilen otomatik ölçümler için birbirinden farklı ölçüm yazılım programları bulunmakta ve kullanılmaktadır. Bu yazılımlar sayesinde hasar gören hücreye ait 30'dan fazla parametre hızlı bir şekilde ölçülebilmektedir (Kumaravel vd. 2009). Bu parametreler arasından KOMET verilerinin değerlendirilmesinde çoğunlukla kuyruk momenti, kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğu parametreleri kabul edilen ve kullanılan ölçüm parametreleridir (Moller vd. 2020).

KOMET programlarında KOMET prosedürü sonucunda ortaya çıkan hücre çekirdeğinin önce "Kuyruk" ve "Baş" bölgeleri tanımlanır, ardından kuyruk uzunluğu piksel türünden ölçülerek mikrona dönüştürülmektedir. Ayrıca baş ve kuyruk bölgelerindeki ışık yoğunluğu değerleri farklı KOMET parametrelerinin hesaplanmasında da kullanılmaktadır (Kumaravel vd. 2009). Kuyruk momenti parametresini, kuyruk uzunluğunun ve kuyrukta yer alan toplam DNA fraksiyonunun bir ürünü olarak tanımlamak mümkündür. Kuyruk momenti değeri, kuyruk uzunluğu ve

kuyruktaki DNA yüzdesinin çarpımı aracılığıyla KOMET yazılımları ile otomatik olarak hesaplanmaktadır (Mozaffarich vd. 2008; Moller vd. 2014).



Şekil 3.12. KOMET yöntemi basamakları

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen KOMET deneyinde izlenen yol aşağıdaki gibidir (Şekil 3.12);

- *Drosophila* yaban tip (Oregon R+) hattından 8 saat boyunca yumurta toplama işlemi gerçekleştirilir. Toplanan yumurtalar 72 ± 4 saatlik yani 3.larval evreye ulaştıklarında larvalar, çalışma kapsamında kullanılan 1, 3, 5 ve 10 mM'lık Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 , MnFe_2O_4 ve NiFe_2O_4 NP'lerine 24 saatlik maruz bırakılmıştır.
- Uygulama sürecinde, üçüncü larval evredeki larvalar 4,5 gr kuru halde bulunan *Drosophila* hazır besininin (*Drosophila* Instant Medium) 1 ila 10 mM'lık konsantrasyon aralığına sahip NP'lerin 9 ml ile ıslatılmış besin ortamına aktarılmış ve 24 saatlik maruziyet gerçekleştirilmiştir.
- *Drosophila* larvaları 96 ± 4 saatlik olduklarında her uygulama tüpünde yer alan larvalar elek yardımıyla musluk suyu altında yıkanarak toplanmıştır. Bu işlemi takiben larvalar distile su yardımıyla yıkanarak %5'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 2 dakikalık süreç boyunca steril edilmiştir. Ardından steril edilen larvalar kurutma kağıdı yardımıyla kurutularak hemosit izolasyonu için hazır hale getirilmiştir.
- Çalışma kapsamında 4 mM konsantrasyona sahip EMS pozitif kontrol, distile su ise negatif kontrol grubu olarak kullanılmıştır.
- KOMET yöntemi kapsamında kullanılacak olan solüsyonlar (Çizelge 3.1) bir gün önceden hazırlanmıştır.
- Her bir uygulama grubundan 40-60 larva toplanarak, *D. melanogaster* hemosit izolasyonu Irving vd. (2005) metoduna göre gerçekleştirilmiştir.

- İki adet ince uca sahip pens yardımıyla *Drosophila* hemosit ve hemolenfi larvalardan %0,07 feniltiroüre içeren fosfat tamponu (PBS) içerisine toplanmıştır.
- İzolasyonu gerçekleştirilen hemositler santrifüj tüplerine (1,5 mL) alınarak +4°C sıcaklıkta 10 dakika boyunca 300Xg'de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemini takiben tüplerden süpernatant atılmış ve pellet 20 µl PBS solüsyonuyla süspanse edilmiştir.
- Singh vd. (1988) metoduna göre süspanse edilen hemositler düşük erime ısisına sahip agaroz (LMA)'un 80 µL'si ile hızlı olarak karıştırılmış ve bir gün önceden normal erime ısisına sahip agaroz (NMA) ile kaplanmış lamalar üzerine 100 µl şeklinde yayılarak preparatlar lamelle kapatılmıştır.
- Hazırlanan preparatlar 10 dakika boyunca soğuk bir levha üzerinde bekletilmiş, ardından lameller preparattan uzaklaştırılarak preparatın 3.katmanı olarak tekrar LMA (80 µl) eklenmiştir. Preparatlar tekrar lamelle kapatılarak soğuk levha üzerine alınmış ve 10 dakika bekletilmiştir.
- Süre bitiminden sonra preparatların üzerinde yer alan lameller uzaklaştırılmış ve içerisinde lizis solüsyonu bulunduran ışık geçirmeyen şaleler içerisine preparatlar aktarılmıştır. Lizis solüsyonu içeren şalelerdeki preparatlar buzdolabında +4 °C de en az 1 saat bekletilmiştir.
- Lizis sürecinin bitişini takiben preparatlar içerisinde elektroforez solüsyonu bulunan elektroforez tankına alınmış ve 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Süre bitiminde preparatlar 30 dakika boyunca 25 V (1 V/cm) 300 mA'de yürütülmüştür.
- Elektroforez işleminin tamamlanmasının ardından lamalar, içerisinde nötralizasyon solüsyonu bulunduran şaleler içerisine alınarak soğuk ortamda 5 dakika boyunca bekletilmiş ve bu işlem nötralizasyon solüsyonu değiştirilerek 2 defa tekrarlanmıştır.
- Tüm işlemlerin ardından analiz edilecek lamalar 50 µl etidyum bromür (EtBr, 60 µg/ml) eklenmiş ve üzerleri lamelle kapatılarak preparatlar KOMET analizi için hazır hale getirilmiştir.
- Elde edilen her bir preparat için 50 hücre 40X büyütmede floresans mikroskop (Nikon Eclipse E200) ile sayılmıştır.
- Çalışma kapsamında KOMET değerlendirme parametrelerinden olan kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu (%DNA) ve kuyruk momenti parametrelerinin değerleri ölçülmüştür.
- Tüm ölçümler floresan mikroskop yardımıyla KOMET-IV (Version 4.11) paket programıyla otomatik olarak ölçüm yapılmıştır.

Çizelge 3.1. *Drosophila* KOMET solüsyonları ve hazırlanışları

<i>Drosophila</i> KOMET yöntemi kimyasallarının hazırlanışı			
Solüsyon Türü	Kimyasal	Miktar	Açıklama
10 M NaOH	NaOH	40 g	100 ml'ye distile su yardımıyla tamamlanır
0.4 M EDTA	Na ₂ EDTA	1,488 g	Isıtıcılu manyetik karıştırıcı ısı yardımıyla karışması sağlanır.
	Distile su	10 ml	
Lizis solüsyonu	NaCl	84.6 g	Elde edilen karışım 10 M NaOH ile pH:10 olacak şekilde ayarlanır. Karışımdan 12 ml alınır. 6 ml Triton-X ve 6 ml Sarcosin eklenir.
	Na ₂ EDTA	22.4 g	
	Trizma	0.72 g	
	Distile su	540 ml	
Elektroforez solüsyonu	NaOH	60 ml	NaOH veya HCl ile pH:13.20 olacak şekilde ayarlama yapılır.
	Na ₂ EDTA	10 ml	
	Distile su	1930 ml	
Nötralizasyon solüsyonu	Trizma		HCl ile pH: 10 olacak şekilde ayarlanır.
	Distile su	600 ml	
Normal erime ısılı agar (NMA)	Agar	1 g	Isıtıcılu manyetik karıştırıcı ısı yardımıyla karışması sağlanır.
	Distile su	100 ml	
Düşük erime ısılı agar "DNA grade" (LMA)	Agar	0.075	
	Distile su	10 ml	
Etidyum Bromür	EtBr	0.01 g	Işık görmeyecek şekilde +4°C'de saklanır.
	Distile su	100 ml	
PBS	PBS	1 tablet	Manyetik karıştırıcıda karıştırılır.
	Distile su	200 ml	
%0.07'lik Feniltiyoüre	Feniltiyoüre	0.07 g	Manyetik karıştırıcıda en az 12-18 saat karıştırılır.
	PBS	100 ml	

3.4. İstatistiksel analiz

Drosophila SMART yöntemi kapsamında hazırlanan preparatların sayılması sonucu elde edilen klon sayı verilerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi MICROSTA paket programında yer alan Kastenbaum ve Bowman (1970) binominal koşullu test yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi ise 0,05 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel değerlendirme kapsamında 2 farklı hipotez kurulmuştur.

H₀: Uygulama kimyasalları (Fe₃O₄, CoFe₂O₄, MnFe₂O₄ ve NiFe₂O₄ NP'leri) ile negatif kontrol grubu arasından herhangi bir farklılık bulunmamaktadır.

H_A: Uygulama kimyasalları (Fe₃O₄, CoFe₂O₄, MnFe₂O₄ ve NiFe₂O₄ NP'leri) ile negatif kontrol grubu arasında çarpım faktörü (m) katında anlamlı bir farklılık bulunmaktadır.

Çarpım faktörünün belirlenmesinde; toplam klon ve küçük tek tip klon yüksek spontan (rastgele) frekanslara sahip oldukları için m=2 olarak kabul edilirken, ikiz ve büyük tek tip klonların düşük frekans göstermesi kaynaklı m=5 olarak kabul edilmiştir (Graf ve Singer 1992). Uygulanan kimyasalların oluşturdukları frekans değerleri değerlendirilirken negatif (-), pozitif (+), zayıf pozitif (w) ve ihmal edilebilir farklılık (i) değerlendirmeleri Frei ve Würbler (1995) çoklu karar metoduna göre yapılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Çoklu karar metodu (Frei ve Würbler 1988'den uyarlanmıştır)

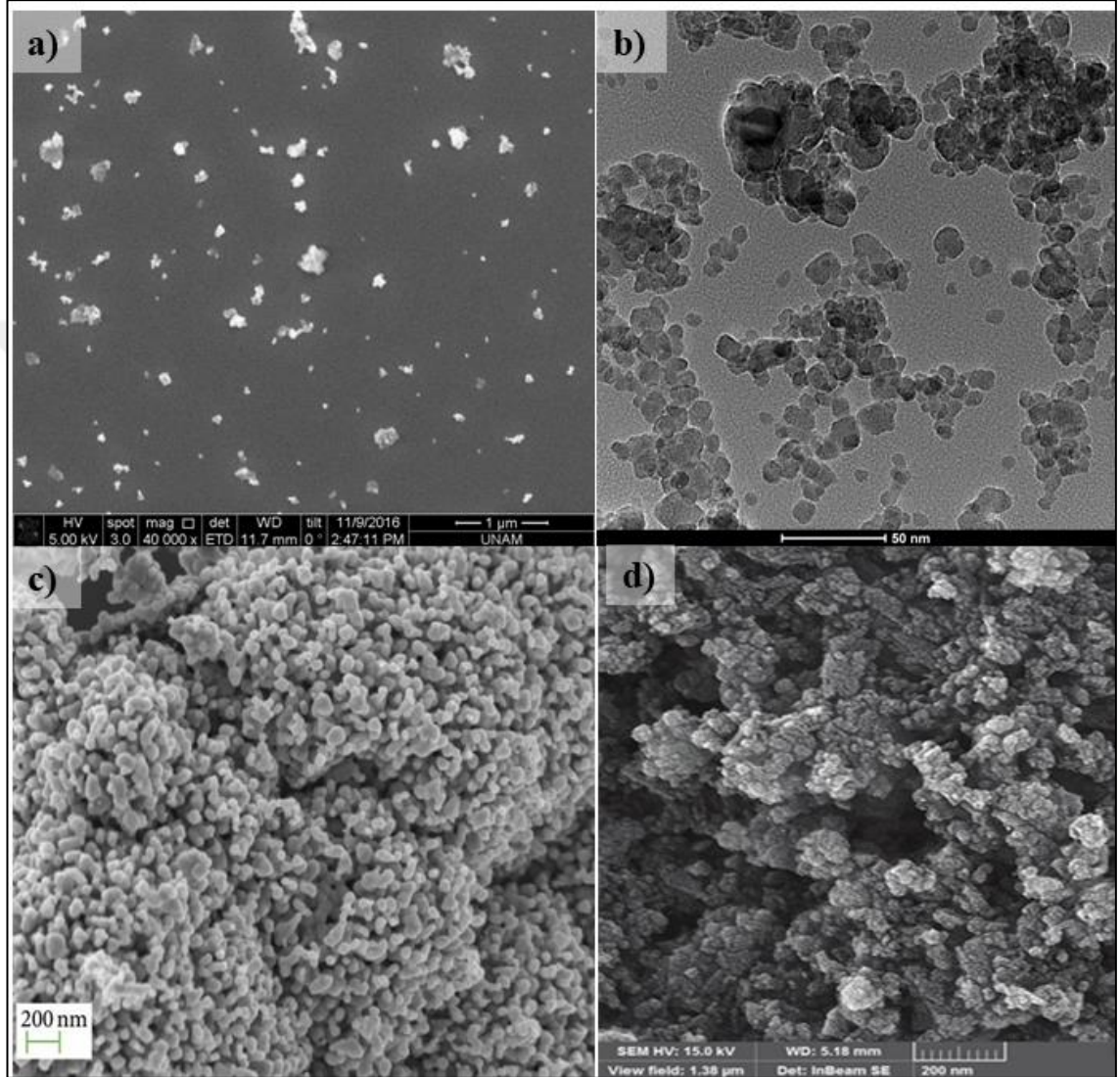
		H _A hipotezi	
		Kabul	Ret
H ₀ hipotezi	Kabul	Anlamsız (i)	Negatif (-)
	Ret	Pozitif (+)	Zayıf pozitif (w)

Drosophila KOMET yönteminden elde edilen veriler IBM SPSS 20 paket programında yer alan varyans analizi (ANOVA) kullanılarak Dunnet Çoklu Karşılaştırma Testi ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

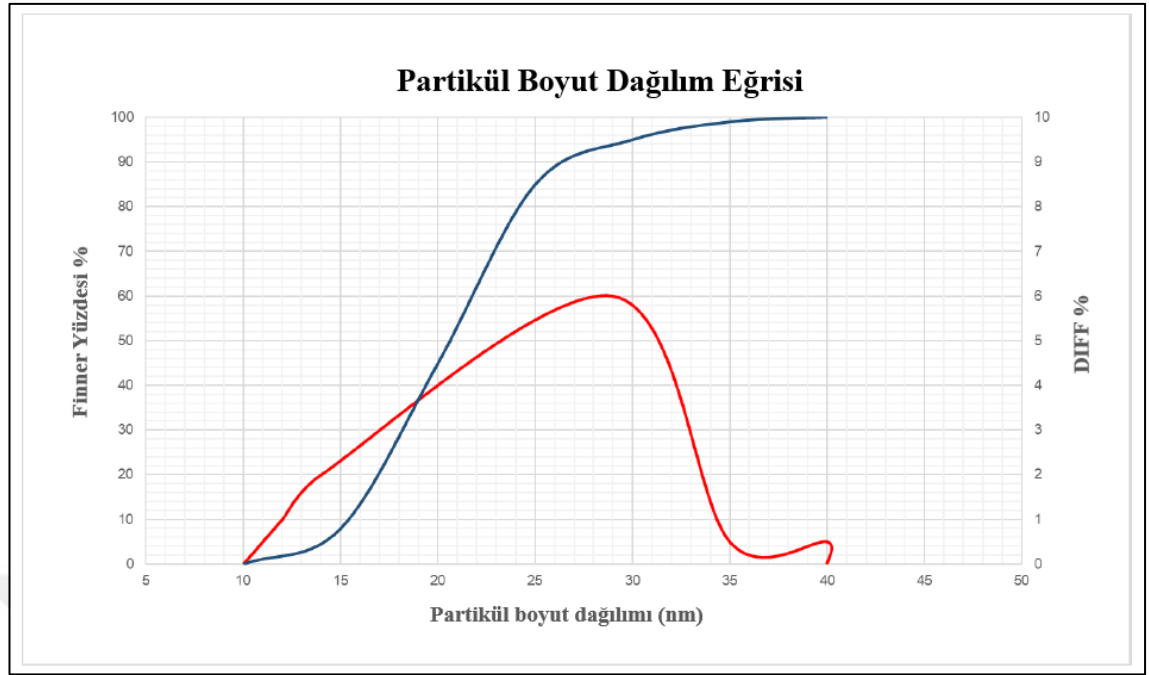
4.1. Nanopartikül Karakterizasyonu

Tez çalışması kapsamında kullanılan MNP'lerin SEM analizinden elde edilen görüntüleme sonuçları Şekil 4.1'de verilmiştir.

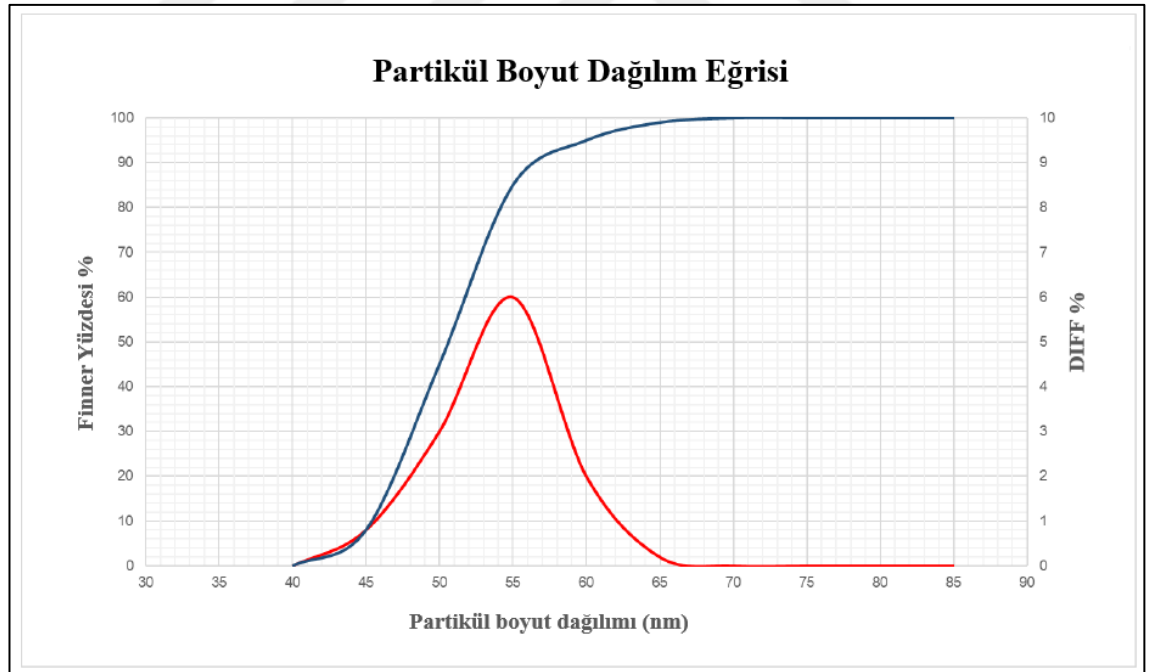


Şekil 4.1. MNP'lerin SEM görüntüleme sonuçları; **a)** NiFe₂O₄ NP; **b)** Fe₃O₄ NP; **c)** CoFe₂O₄ NP; **d)** MnFe₂O₄ NP

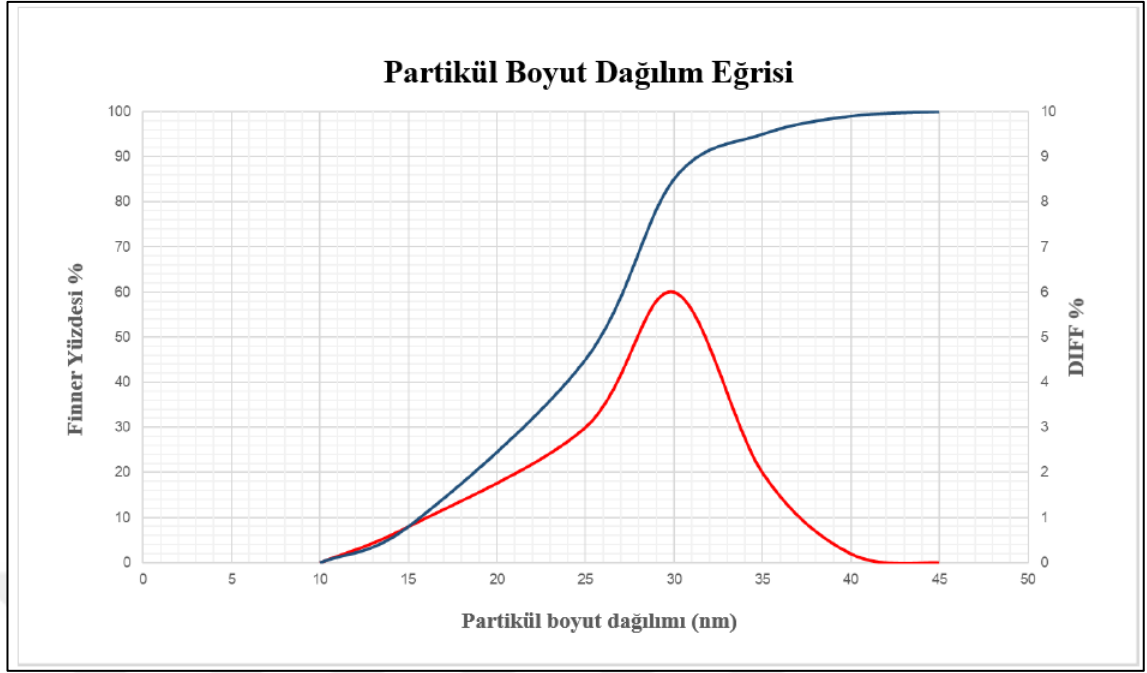
Çalışma kapsamında gerçekleştirilen PSD analizlerinden elde edilen verilere MNP'lerin partikül boyut dağılımları Fe₃O₄ NP (14-29 nm), CoFe₂O₄ NP (30 nm), MnFe₂O₄ NP (55 nm) ve NiFe₂O₄ NP (25 nm) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.2, 4.3, 4.4, 4.5).



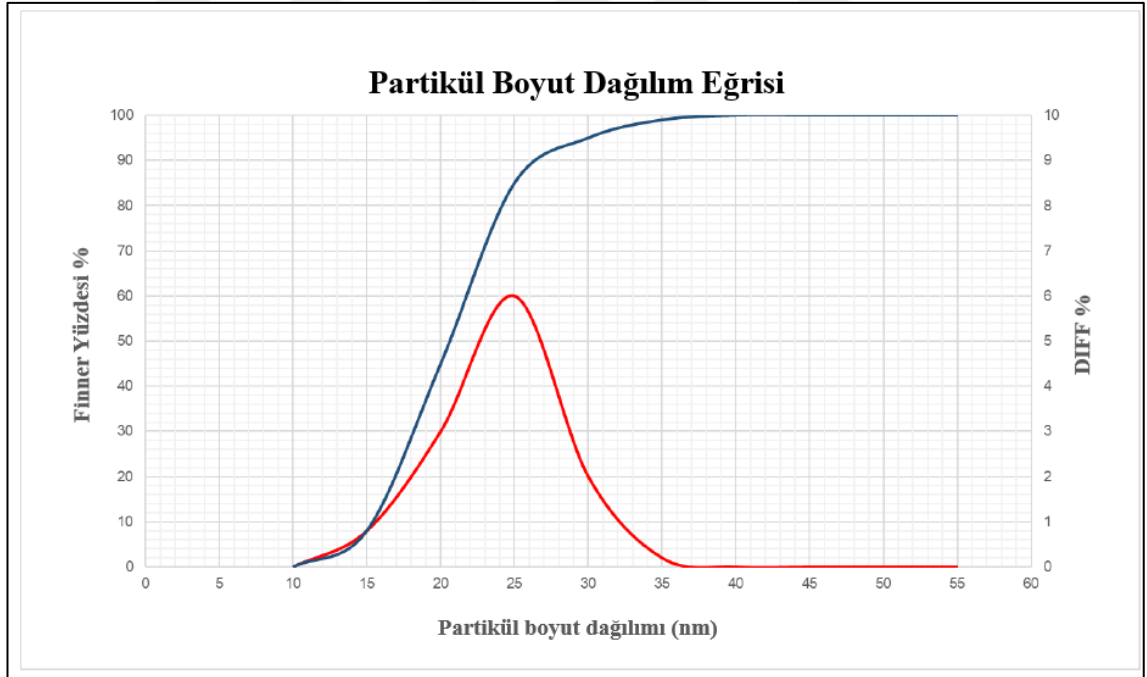
Şekil 4.2. Fe_3O_4 NP (14-29 nm) PSD analiz sonuç grafiği



Şekil 4.3. MnFe_2O_4 (55 nm) PSD analiz sonuç grafiği



Şekil 4.4. CoFe₂O₄ NP (30 nm) PSD analiz sonuç grafiği

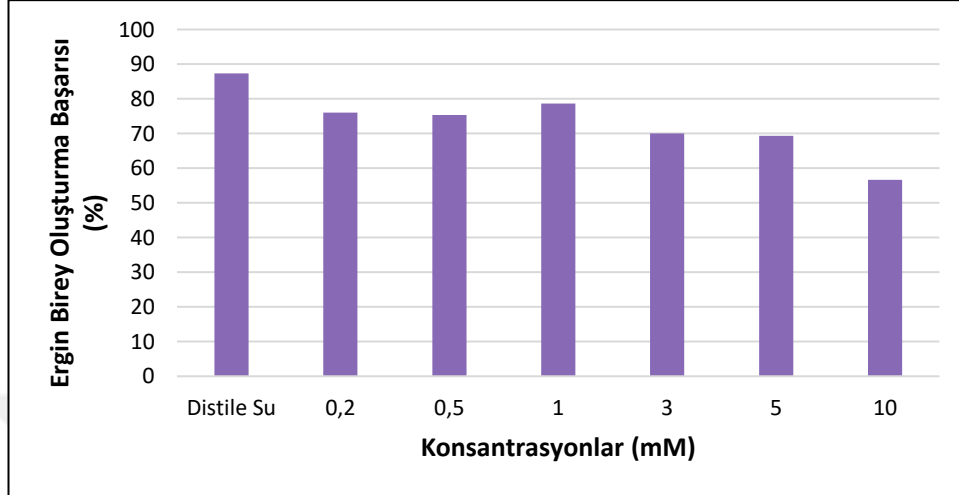


Şekil 4.5. NiFe₂O₄ NP (25nm) PSD analiz sonuç grafiği

4.1.1. Çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi

Tez çalışması kapsamında kullanılan MNP'lerinin uygulama konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen *Drosophila* ergin birey oluşturma başarısı deneyi

çalışılmıştır. Deneyden elde edilen veriler doğrultusunda larval popülasyonun sadece %56,66'sının ergin birey aşamasına ulaşabildiği 10 mM'lık konsantrasyon en yüksek çalışma konsantrasyonu olarak seçilmiştir. Diğer çalışma konsantrasyonları ise 5 mM (%69,32), 3 mM (%70) ve 1 mM (%78,66) olarak seçilmiştir (Şekil 6).



Şekil 4.6. *Drosophila* ergin birey oluşturma başarısı deney sonuçları.

4.1.2. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

Çalışma kapsamında MNP'lerin çözücüsü ve negatif kontrol grubu olan distile su uygulamasında 14 adet küçük tek tip, 2 adet büyük tek tip klon sayılarak toplam klon sayısı 16 olarak belirlenmiştir. Pozitif kontrol grubu olarak kullanılan EMS (1 mM) uygulamasında sayılan 20 kanatta 72 adet küçük tek tip, 26 adet büyük tek tip, 6 adet ikiz klon olmak üzere toplamda 105 klon tespit edilmiştir. İstatistiksel analizler doğrultusunda EMS'nin büyük tek tip klon, ikiz klon, küçük tek tip klon, toplam *mwh* klon ve toplam klon olmak üzere tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde genotoksisteyi indüklediği belirlenmiştir. Fe₃O₄ NP ve MnFe₂O₄ NP uygulama konsantrasyonlarının (1, 3, 5 ve 10 mM) hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı pozitif sonuç tespit edilmemiştir.

CoFe₂O₄ NP'lerinin 3 mM uygulamasının toplam *mwh* klon ve toplam klon sayısı parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir. Ayrıca CoFe₂O₄ NP'lerinin en yüksek konsantrasyon uygulamasının (10mM), küçük tek tip klon, toplam *mwh* klon ve toplam klon sayısı parametrelerinde istatistiksel olarak pozitif sonuca yol açtığı tespit edilmiştir.

NiFe₂O₄ NP'lerinin 3 mM konsantrasyon uygulamalarında sadece toplam *mwh* klon sayısında, 10 mM konsantrasyon uygulamasında ise toplam *mwh* klon ve toplam klon parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı pozitif sonuç verdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Fe₃O₄ NP, MnFe₂O₄ NP, CoFe₂O₄ NP ve NiFe₂O₄ NP'lerinin *Drosophila* kanat SMART analiz sonuçları

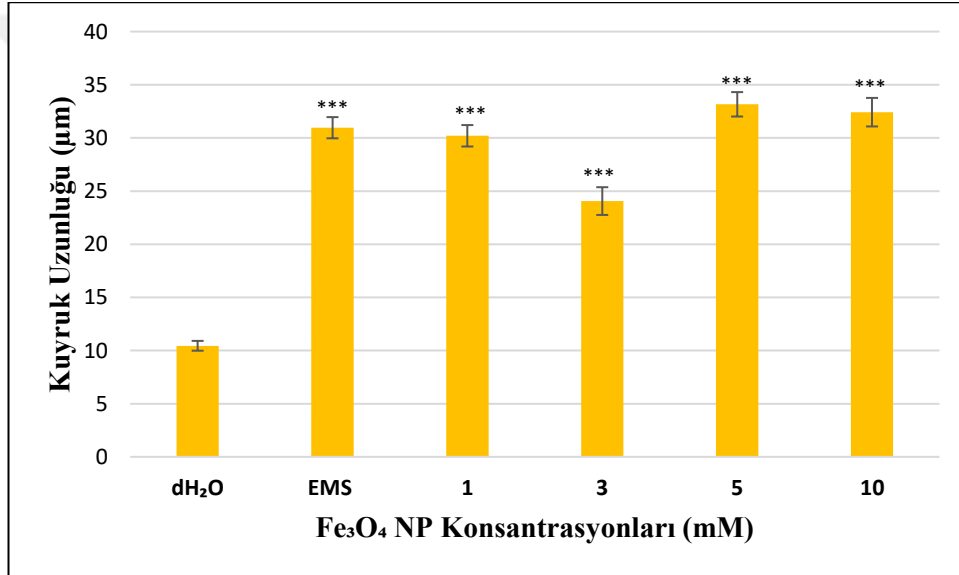
Derişimler	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre)			Büyük tek tip klonlar (> 2 hücre)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam mwh klonlar (m=2)			Toplam klonlar (m=2)			Klon İndüsiyon Frekansı (10 ⁵ hücre)
		(m=2)			(m=5)						(m=2)			(m=2)			
		No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	No.	Fr.	D.	
Normal Kanat																	
Distile Su	80	14	0.18		2			0			15			16			0.77
EMS (1mM)	20	72	3.60	+	26	1.30	+	6	0.3	+	92	4.6	+	105	5.25	+	4.71
Fe ₃ O ₄ NP																	
1 mM	80	16	0.20	i	6	0.08	i	0	0.00	i	21	0.26	i	22	0.28	i	1.08
3 mM	80	14	0.18	-	5	0.06	i	2	0.03	i	20	0.25	i	21	0.26	i	1.02
5 mM	80	21	0.26	i	2	0.03	i	0	0.00	i	21	0.26	i	23	0.29	i	1.08
10 mM	80	17	0.21	i	3	0.04	i	2	0.03	i	21	0.26	i	21	0.26	i	1.08
MnFe ₂ O ₄ NP																	
1 mM	80	14	0.18	-	0	0.00	-	1	0.01	i	15	0.19	-	15	0.19	-	0.77
3 mM	80	18	0.23	i	8	0.10	i	0	0.00	i	25	0.31	i	26	0.33	i	1.28
5 mM	80	23	0.29	i	3	0.04	i	0	0.00	i	26	0.33	i	26	0.33	i	1.33
10 mM	80	17	0.21	i	7	0.09	i	2	0.03	i	22	0.28	i	26	0.33	i	1.12
CoFe ₂ O ₄ NP																	
1 mM	80	14	0.18	-	5	0.06	i	1	0.01	i	20	0.25	i	20	0.25	i	1.02
3 mM	80	20	0.25	i	8	0.10	i	2	0.03	i	30	0.38	+	30	0.38	+	1.54
5 mM	80	23	0.29	i	3	0.04	i	1	0.01	i	27	0.34	+	27	0.34	i	1.38
10 mM	80	38	0.48	+	3	0.04	i	2	0.03	i	43	0.54	+	43	0.54	+	2.20
NiFe ₂ O ₄ NP																	
1 mM	80	14	0.18	-	4	0.05	i	1	0.01	i	19	0.24	i	19	0.24	i	0.97
3 mM	80	23	0.29	i	3	0.04	i	1	0.01	i	27	0.34	+	27	0.34	i	1.38
5 mM	80	17	0.21	i	2	0.03	i	1	0.01	i	20	0.25	i	20	0.25	i	1.02
10 mM	80	24	0.30	i	8	0.10	i	1	0.01	i	33	0.41	+	33	0.41	+	1.69
Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m= çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.																	

Fr., frekans; D., istatistik sonuçlarının gösterimi; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz fark; m= çarpım faktörü; olasılık düzeyi= 0.05.

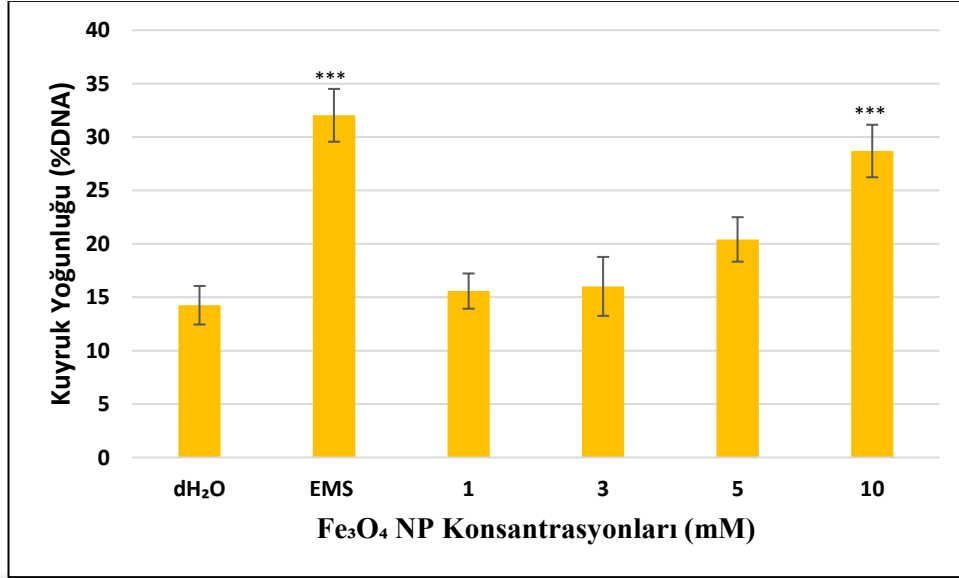
4.1.3. *Drosophila* hemositlerinde tek hücre alkali jel elektroforezi (KOMET/SCGE) testi

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen KOMET yönteminden elde edilen verilere göre çalışma kapsamında pozitif kontrol grubu olarak kullanılan EMS (4mM) negatif kontrol grubu olarak belirlenen distile suya göre tüm parametrelerde (kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti) istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) bir şekilde DNA hasarını indüklediği sonucuna ulaşılmıştır.

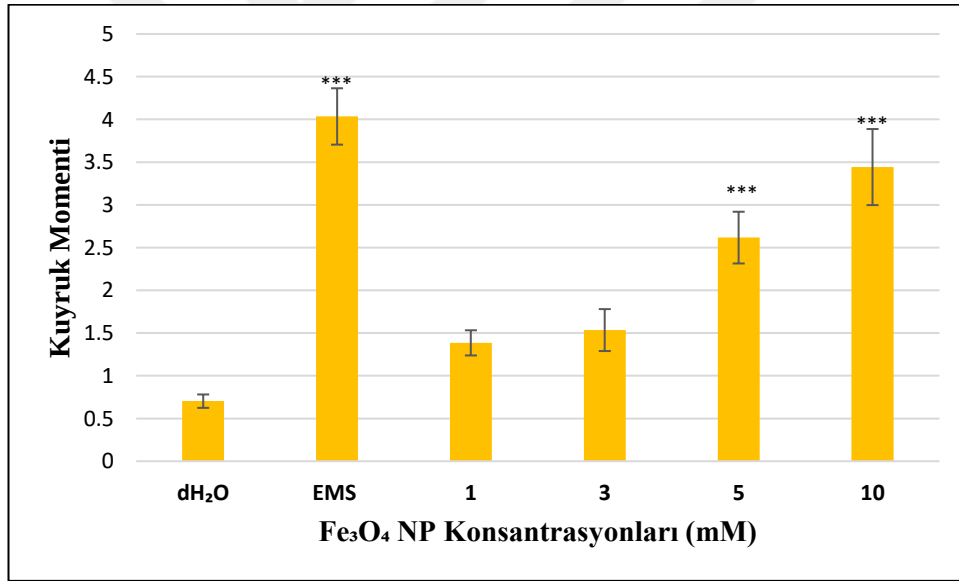
Fe_3O_4 NP maruziyeti *Drosophila* hemositlerinde kuyruk uzunluğu parametresinde tüm konsantrasyonlarda (1, 3, 5, ve 10 mM), kuyruk yoğunluğu parametresinde sadece en yüksek konsantrasyonda (10mM) ve kuyruk momenti parametresinde ise en yüksek iki konsantrasyonda (5 ve 10 mM) istatistiksel olarak anlamlı seviyede ($p<0,001$) DNA tek iplik kırığı hasarına yol açmıştır (Şekil 4.7-4.9).



Şekil 4.7. *Drosophila* KOMET yönteminde Fe_3O_4 NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi.

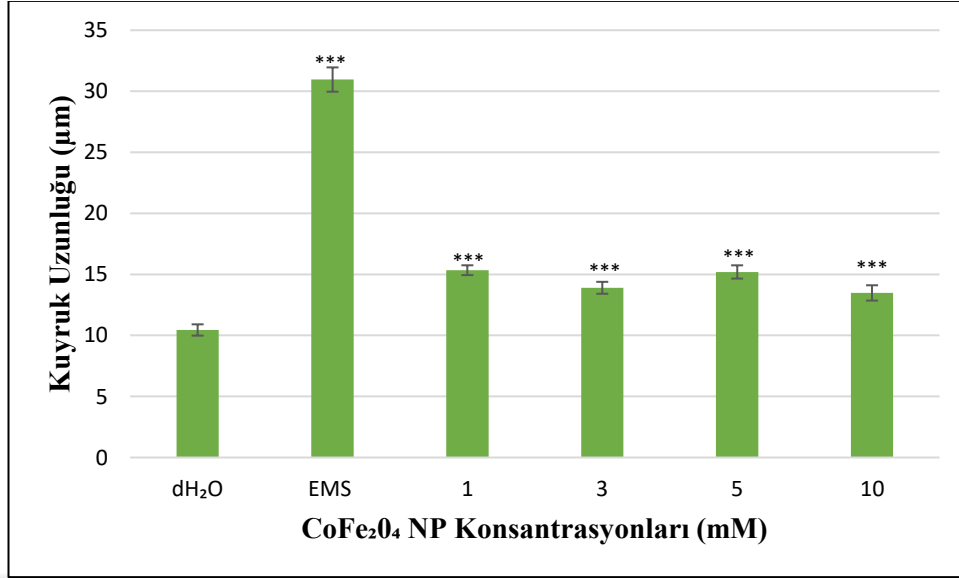


Şekil 4.8. *Drosophila* KOMET yönteminde Fe₃O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi

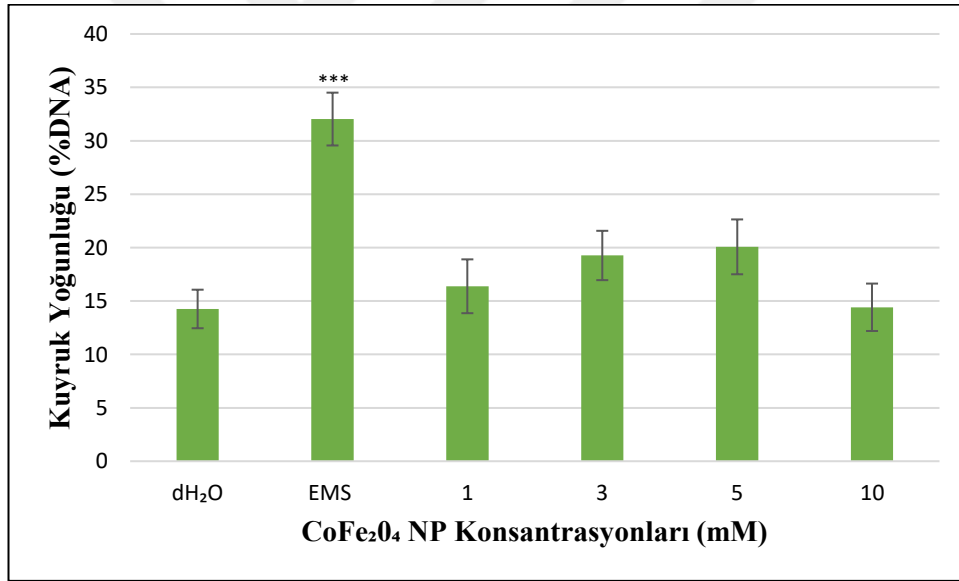


Şekil 4.9. *Drosophila* KOMET yönteminde Fe₃O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk momenti parametresi bakımından değerlendirilmesi

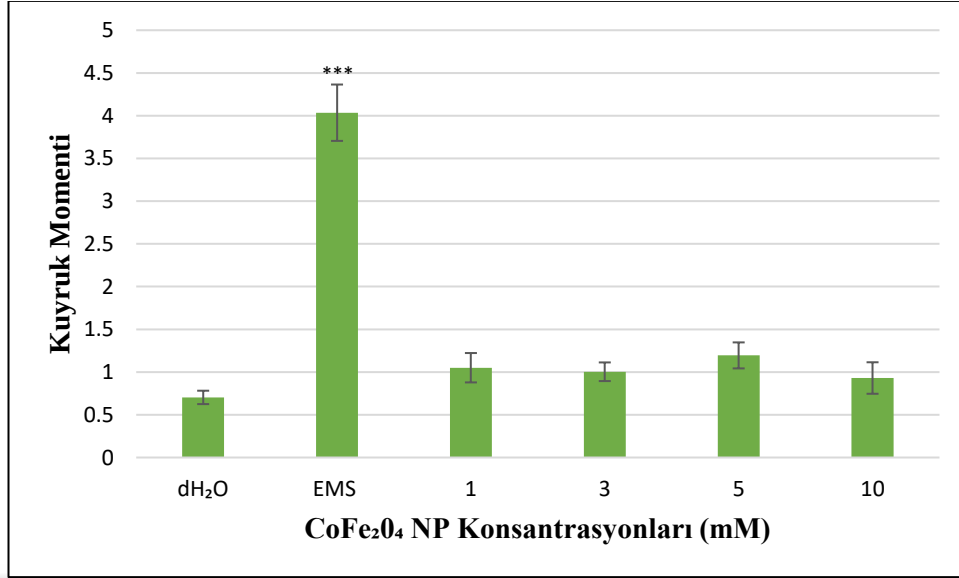
CoFe₂O₄ NP maruziyeti *Drosophila* hemositlerinde kuyruk uzunluğu parametresinde tüm konsantrasyonlarda (1, 3, 5, ve 10 mM) istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) DNA hasarına yol açmıştır. Kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti parametrelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir DNA hasarı tespit edilmemiştir (Şekil 4.10-4.12).



Şekil 4.10. *Drosophila* KOMET yönteminde CoFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi

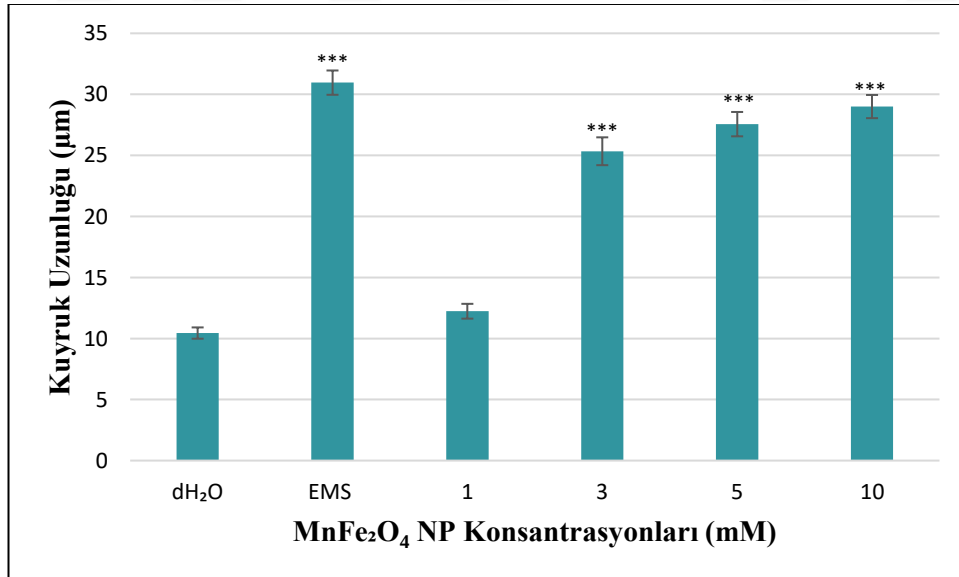


Şekil 4.11. *Drosophila* KOMET yönteminde CoFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi

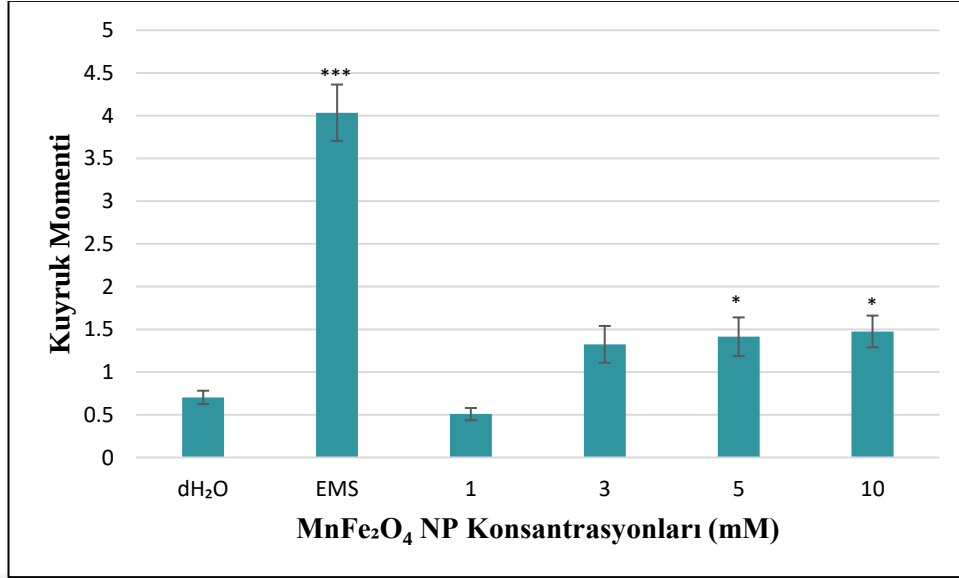


Şekil 4.12. *Drosophila* KOMET yönteminde CoFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk momenti parametresi bakımından değerlendirilmesi.

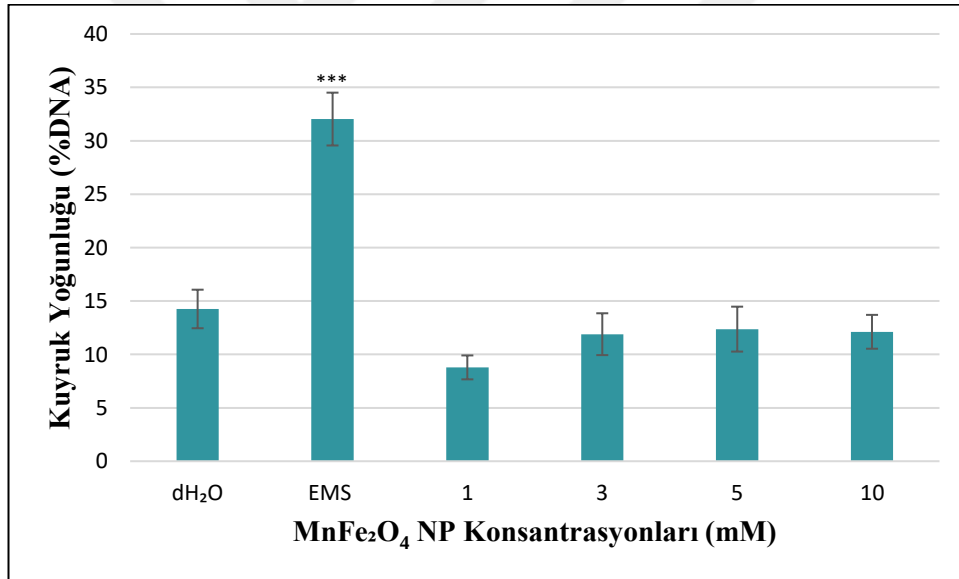
MnFe₂O₄ NP maruziyeti *Drosophila* hemositlerinde kuyruk uzunluğu parametresinde 3, 5, ve 10 mM ($p < 0,001$) ve kuyruk momenti parametresinde en yüksek iki konsantrasyonda (5 ve 10 mM) ($0,01 < p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı DNA hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. Kuyruk yoğunluğu parametresinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 4.13-4.15).



Şekil 4.13. *Drosophila* KOMET yönteminde MnFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi.

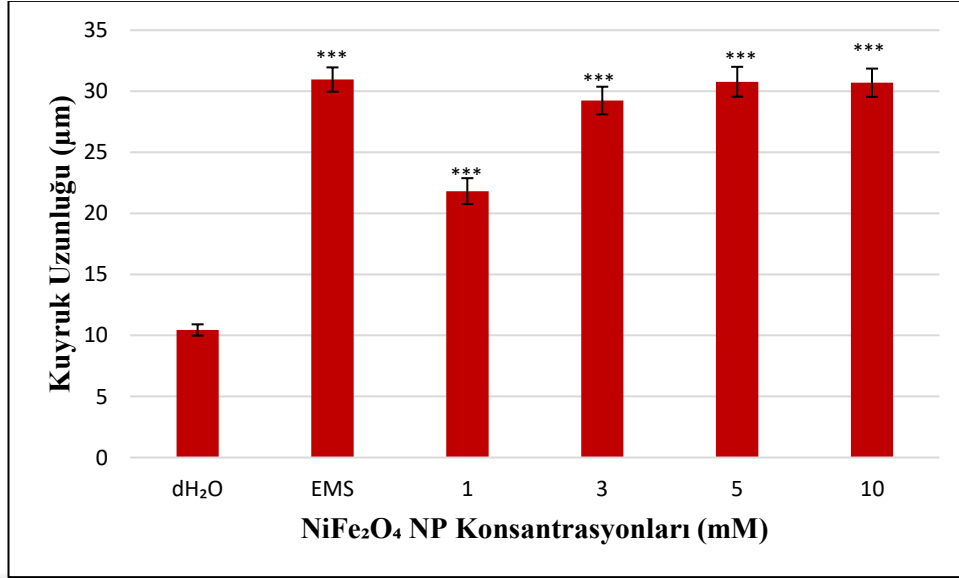


Şekil 4.14. *Drosophila* KOMET yönteminde MnFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk momenti parametresi bakımından değerlendirilmesi

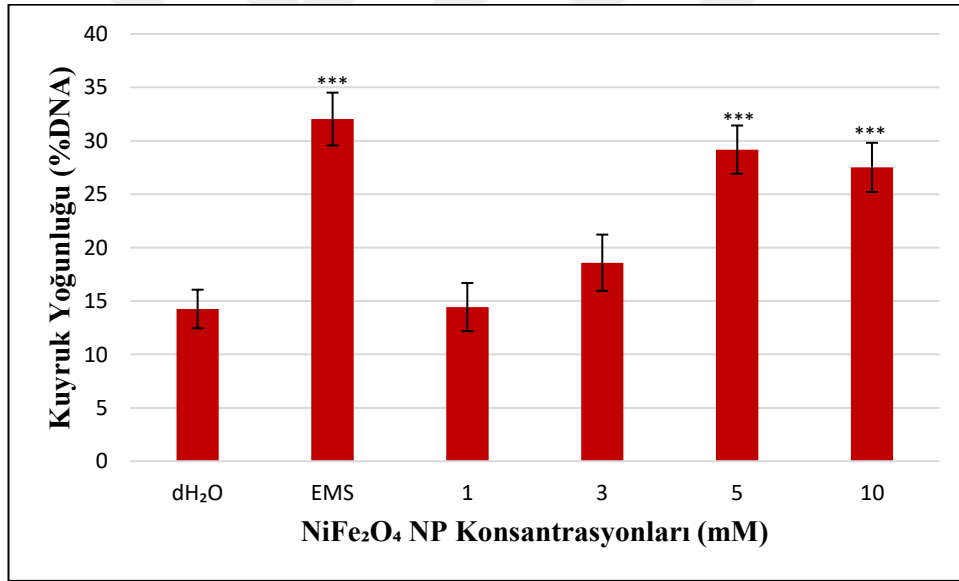


Şekil 4.15. *Drosophila* KOMET yönteminde MnFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi

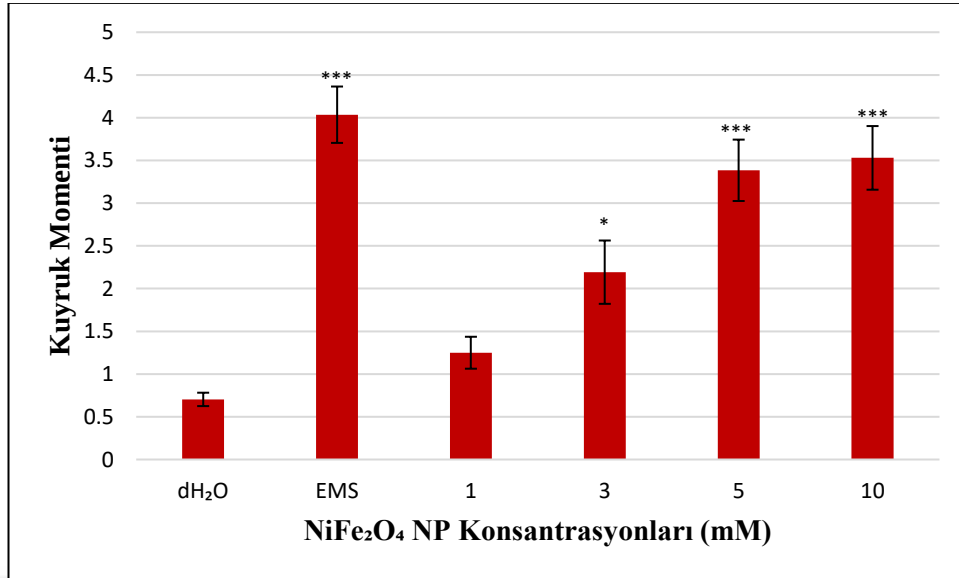
NiFe₂O₄ NP maruziyeti *Drosophila* hemositlerinde kuyruk uzunluğu parametresinde tüm konsantrasyonlarda (1, 3, 5 ve 10 mM), kuyruk yoğunluğu parametresinde en yüksek iki konsantrasyonda (5 ve 10 mM) ve kuyruk momenti parametresinde 3 mM (0,001<p<0,01), 5 ve 10 mM konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001) DNA hasarını indüklediği tespit edilmiştir (Şekil 4.16-4.18).



Şekil 4.16. *Drosophila* KOMET yönteminde NiFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk uzunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi



Şekil 4.17. *Drosophila* KOMET yönteminde NiFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından değerlendirilmesi



Şekil 4.18. *Drosophila* KOMET yönteminde NiFe₂O₄ NP'lerinin meydana getirdiği DNA hasarının kuyruk momenti parametresi bakımından değerlendirilmesi

5. TARTIŞMA

Nanoteknoloji alanında meydana gelen gelişmeler, tıp alanındaki çeşitli uygulamalara altyapı sağlayarak, biyolojik tespit, tanılama, tedavi ve ilaç dağıtımı gibi önemli alanların gelişerek ilerlemelerini sağlamıştır. Bu bağlamda manyetik NP'ler, hipertermi tedavisi, ilaç dağıtımında ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanımlarının fayda sağlayabileceği özellikler içermektedir. Özellikle demir oksit NP'leri, fiziksel ve kimyasal olarak kararlılıkları, biyouyumlulukları sayesinde klinik uygulamalar açısından büyük potansiyel taşımaktadır (Arias vd. 2018). Fakat metal NP'lerinin çeşitli alanlarda kullanımlarının giderek artması bu NP'lerin potansiyel toksisitesi açısından büyük bir endişeye neden olmaktadır (Huang vd. 2010).

MNP'lerin günümüzde tıbbi uygulamalarda yaygın bir şekilde yer almaktadır. Diğer taraftan gelecekteki sağlık uygulamalarında potansiyel kullanım ihtimali doğrultusunda MNP'lerin toksisitelerinin araştırıldığı çalışmaların kısıtlılığı büyük endişe yaratmaktadır. Ayrıca MNP'lerin doğası gereği birçok doku ve organa kolaylıkla ulaşabilmektedir. Bu nedenle MNP'ler, organlara dağılabilme ve birikim gösterebilme, hücre proliferasyonunu bozma, hücre canlılığını olumsuz etkileme, hücre metabolizmasında bozukluklar oluşturma gibi büyük sorunlara yol açabilmektedirler. Bu bağlamda üretilen veya kullanım alanına sahip bütün MNP'lerin toksisite mekanizmalarının farklı boyutlarıyla araştırılması gerekmektedir (Malhotra vd. 2020).

Kaygısız ve Cigerci (2017) gerçekleştirdikleri genotoksisite çalışmasında Fe_2O_3 (Maghemit) NP'lerinin (<50, 100nm) potansiyel genotoksik etkilerini *D. melanogaster* ve *Allium cepa* üzerinde araştırmışlardır. *Drosophila* ile gerçekleştirilen SMART yöntemi sonucunda 50 nm'den küçük boyuta sahip Fe_2O_3 NP'lerinin genotoksik etki gösterdiği tespit etmişlerdir. *A. cepa* üzerinde gerçekleştirilen KOMET deneyi sonucunda ise çalışmada kullanılan farklı boyutlara sahip iki NP'ün de kök meristem hücrelerinde genotoksisiteyi indüklediği tespit etmişlerdir. Ayrıca *A. cepa*'da Fe_2O_3 maruziyetinin doza bağlı olarak kromozomal aberasyonları arttırdığı fakat KOMET yöntemi sonucunda tespit edilen DNA hasarının doza bağlı olarak gerçekleşmediğini gözlemlemişlerdir. Fe_2O_3 NP'lerinin genotoksik ve mutajenik etkilerinin dişi lepidistes (*Poecilia reticulata*) balıkları üzerinde araştırıldığı bir çalışmada toplamda 21 günlük bir maruziyet gerçekleştirilmiştir. Fe_2O_3 NP'lerinin genotoksik potansiyelleri ise KOMET, mikronükleus (MN) testi ve eritrosit çekirdek aberasyon (ENA) frekansları ölçülerek gerçekleştirilmiştir. KOMET yönteminden elde edilen veriler hem akut (3 ve 7 günlük maruziyetler) hem de uzun süreli (14 ve 21 günlük maruziyetler) gerçekleşen Fe_2O_3 NP maruziyetlerinin her ikisinde de DNA hasarının indüklendiğini göstermiştir. MN ve ENA testleriyle değerlendirilen mutajenik etkinin ise sadece 14 ve 21 günlük maruziyetlerin sonucunda indüklenebildiği, akut maruziyetlerde etkisini göstermediği sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca maruziyet süresi arttıkça eritrositlerde meydana gelen klastojenik ve anaojenik bozuklukların da arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler

özellikle maruziyet sürelerinde meydana gelen farklılıkların, farklı genotoksik ve mutajenik sonuçların ortaya çıkarabileceğini göstermektedir (Qualhato vd. 2017). α -Fe₂O₃ NP'lerinin (30 nm) sucul organizmalar üzerindeki ekolojik etkilerinin incelendiği bir çalışmada zebra balığı (*Danio rerio*) model organizma olarak kullanılmıştır. Gerçekleştirilen çalışma sonucunda α -Fe₂O₃ NP maruziyetinin (10 mg/L) zebra balığı embriyolarında gelişimsel toksisiteyi indüklediği, kuluçka sürelerinde uzama, morfolojik bozukluklar ve hatta ölümlere yol açtığı sonuçlarına ulaşılmıştır. Bu durum demir oksit NP'leri ile kontamine olmuş sucul ekosistemde yaşayan canlıların gelişimlerinde bozukluklara yol açabileceğini ortaya koymaktadır (Zhu vd. 2012).

Oreochromis niloticus üzerinde gerçekleştirilen çalışmada α ve β Fe₂O₃'lerinin kronik maruziyeti sonucunda bu NP'lerin organlarda oluşturdıkları birikimler ve hematolojik değişiklikler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Özellikle Fe₂O₃ NP'lerinin dalakta oldukça fazla birikim gösterdiği tespit edilmiştir. Fe₂O₃ NP'lerinin birikim gösterdiği diğer yapıların ise sırasıyla barsak, böbrek, karaciğer, solungaçlar, beyin ve kas dokusu olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan Fe₂O₃ NP'lerinin hematolojik parametreler açısından (hemogloblin, hematokrit, alyuvar ve akyuvar sayımları) bir farklılığa yol açmadığı ortaya konmuştur (Ateş vd. 2016). Zebra balığı (*Danio rerio*) üzerinde gerçekleştirilen farklı bir çalışmada Fe₂O₃ NP'lerine yarı statik su bazlı ortamda kronik maruziyetin (52 gün boyunca) canlıda meydana gelen birikim ve eliminasyon değerleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda Fe₂O₃ NP'lerinin zebra balığında gövdede birikim gösterdiği ve bu birikimin 12 gün boyunca zebra balığının gastrointestinal sisteminde absorbe edilerek korunabileceği gösterilmiştir (Zhang vd. 2015). İki farklı donörden alınan insan kemik iliği mezenkimal stromal hücreleri (hBMSCs-1 ve hBMSCs-2) üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada Fe₂O₃ NP'lerinin hBMSCs hücrelerinde lipit, proteinde oksidasyona neden olduğu ve DNA'da oksidatif hasar ile mutajenik etkiyi arttırdığı tespit edilmiştir. Özellikle çalışma kapsamında kullanılan Fe₂O₃ NP konsantrasyonunun günümüzde MRI'de yer alan Fe₂O₃ miktarı (15,4 g Fe/mL) olarak seçildiği göz önüne alındığında biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılan demir oksit NP miktarlarının tekrar gözden geçirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır (Novotna vd. 2012).

Fe₃O₄ NP'lerinin (<50 nm) mutajenik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada memeli metabolik aktivasyon sistemi S9'un varlığında ve yokluğunda *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535 ve TA1537) suşları ve *Escherichia coli* (WP2uvrA) suşu üzerinde bakteriyel geri mutasyon testi (AMES) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda 6,9 ila 5000 µg/petri gibi geniş bir uygulama aralığında yer alan 7 farklı Fe₃O₄ NP konsantrasyon maruziyetlerinin hiçbirinde mutajenik etki göstermediği tespit edilmiştir (Szalay vd. 2012). Tez çalışması kapsamında yürütülen *Drosophila* SMART yönteminden elde edilen veriler incelendiğinde Fe₃O₄ NP'lerinin çalışılan dozların hiçbirinde genotoksisiteyi indüklemediği tespit edilmiştir. Bu bağlamda çalışmamız literatürü destekler nitelik taşımaktadır. Fe₃O₄ NP'ler pH'a bağlı enzim benzeri aktivite gösterebilmektedir. Örneğin asidik pH'a sahip bir çözeltide Fe₃O₄ NP'ler, peroksidaz

benzeri aktivite göstererek H_2O_2 'i (hidrojen peroksit) parçalayarak hidroksil radikalleri ($OH^\cdot$) oluştururken, nötr ortama sahip çözeltilerde ise katalaz benzeri aktivite göstererek H_2O_2 molekülünü H_2O ve O_2 'ye ayrıştırmaktadır. Ergin *Drosophila* bireylerinin Fe_3O_4 NP'leri ile beslenmesi sonucunda ise ROS seviyelerini indirgeyerek oksidatif hasarın azaltılabildiği bu nedenle Fe_3O_4 NP'lerinin *in vivo* katalaz benzeri aktiviteye sahip olabileceği düşünülmektedir (Zhang vd. 2016). Bu bağlamda *Drosophila* SMART çalışmasından elde edilen sonuçlar Fe_3O_4 NP'lerinin *Drosophila*'da sergiledikleri bu davranışlarla açıklanabilir niteliktedir.

İnsan merkezi sinir sistemi hücreleri olan D384 (astrozit) ve SH-SY5Y (nöron) ile gerçekleştirilen bir çalışmada, Fe_3O_4 NP ($19,07 \pm 5,5$ nm) maruziyetinin sitotoksik etkileri mitokondriyal fonksiyon testi (MTT) ve membran bütünlüğü testi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen kısa süreli maruziyetin sonucunda D384 hücre hattında mitokondriyal fonksiyon bozukluklarına yol açtığı gözlemlenirken SH-SY5Y hücre hattının Fe_3O_4 NP maruziyetine karşı daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca astrosit hücrelerinin nöronlara kıyasla daha yüksek oranda Fe_3O_4 NP birikimi oluşturdıkları tespit edilmiştir (Coccini vd. 2017). Fe_3O_4 NP'lerinin (30 ve 47 nm) BRL 3A hücre hattı (sıçan karaciğer hücre hattı) üzerinde düşük konsantrasyonda (10-50 $\mu g/mL$) mitokondriyal bozukluklara yol açmadığı fakat yüksek konsantrasyona (100-250 $\mu g/mL$) maruziyetin sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olduğu tespit edilmiştir (Hussain vd. 2005). Ahamed vd. (2013) gerçekleştirmiş oldukları çalışma kapsamında, Fe_3O_4 NP'lerinin (25 nm) insan cilt deri (A431) ve akciğer epitel (A549) hücre hatları üzerinde oluşturulan maruziyeti sonucunda meydana gelen sitotoksikite, oksidatif hasar ve genotoksikite arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmanın sitotoksikite aşamasından elde edilen veriler Fe_3O_4 NP (25-100 $\mu g/mL$) maruziyetinin her iki hücre tipinde de sitotoksikiteyi indüklediği gösterilmiştir. Oksidatif stres analizi kapsamında Fe_3O_4 NP'lerin hücrede glutasyon tükenmesi, reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumu ve lipid peroksidasyonuna neden olarak oksidatif stresi indüklediği tespit edilmiştir. Çalışmanın son aşamasında gerçekleştirilen KOMET yönteminden elde edilen veriler ise Fe_3O_4 NP'lerinin her iki hücre tipinde de DNA hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda Fe_3O_4 NP'lerinin hücreler üzerinde sergiledikleri genotoksik etkinin ROS oluşumu, lipid peroksidasyonu ve glutasyon tükenmesi aracılığıyla oluştuğunu söylemek mümkündür. Çalışmamız kapsamında gerçekleştirilen KOMET deneyinden elde edilen veriler Fe_3O_4 NP'lerinin istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) bir şekilde DNA hasarı aracılığıyla genotoksikiteyi indüklediği belirlenmiştir. Ayrıca çalışmamızdan elde edilen veriler literatür çalışmalarına paralellik göstermektedir. Özellikle literatür çalışmaları incelendiğinde Fe_3O_4 NP'lerinin, genotoksikiteyi ROS oluşumu, oksidatif hasar ve lipid peroksidasyonu aracılığıyla indüklediğine işaret etmektedir. Bu bağlamda Fe_3O_4 NP'lerinin *Drosophila*'da da muhtemelen benzer yollar aracılığıyla DNA hasarını indüklediği düşünülmektedir. Literatürde yer alan çalışmaların çoğunlukla *in vitro* olarak gerçekleştirildiği dikkate alındığında tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen *in vivo* deneyler ve bu deneylerden

elde edilen veriler literatür eksikliklerinin giderilmesine katkıda bulunmaktadır. Çalışmamız doğrultusunda gerçekleştirilen SMART ve KOMET yöntemlerinin birbirine karşıt sonuçlar verdiği görülmektedir. *Drosophila* SMART çalışmasının mekanizması ile KOMET çalışmasının mekanizmaları ve tespit ettikleri genotoksik sonuçların birbirinden farklı olması olası farklı sonucunda görülebileceğine işaret etmektedir. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan test yöntemlerinin *in vivo* yöntemler olduğu da dikkate alındığında elde edilen verilerin önemi daha da dikkat çekici hale gelmektedir.

Ni elementlerinin gittikçe artan endüstriyel uygulamaları sonucunda Ni'nin insan sağlığı üzerindeki etkileri hakkında önemli endişeler oluşmaya başlamıştır. Ni maruziyetinin en belirgin toksikolojik etkisi ise alerjik deri reaksiyonlarıdır ve Ni toksisitesinin hedef organı ise sinir sistemidir. Ni kaynaklı nörotoksitenin moleküler mekanizması hala net olmamasına rağmen, mitokondride hücresel enerji metabolizması üzerinde bozukluklar oluşturarak oksidatif stres ve mitokondriyal fonksiyon bozuklukları gibi hasarlar bu bağlamda öne çıkmaktadır. Özellikle Ni NP'lerinin, boyutu itibarı ile hücrelere girişinin kolaylığı ve muhtemel oluşturabileceği hasar Ni partiküllerine kıyasla daha büyük bir nörotoksositeye neden olabileceği düşünülmektedir (Song vd. 2017). Genotoksosite açısından incelendiğinde ise Ni NP'lerinin A549 (akciğer kanseri hücre hattı) hücrelerinde apoptozu indükleyebileceği ve bu etkiyi ise Ni'in amino asitlere, proteinlere ve peptitlere bağlanabilme özellikleriyle ROS oluşumuna neden olmalarıyla sağladığı düşünülmektedir (Magaye ve Zhao 2012).

Geçekleştirilen literatür incelemeleri sonucunda tez çalışması kapsamında çalışılan NiFe_2O_4 NP'lerinin genotoksik etkileri hakkında kısıtlı bilgi olduğu tespit edilmiştir. Ancak Ni NP'lerinin farklı bileşiklerle olan kombinasyonlarının çeşitli toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur (Akerlund vd. 2019). Örneğin nanonikel hidroksit (nano-NH)'lerinin pulmoner toksisitesinin araştırıldığı bir çalışma kapsamında, 3 aylık C57BL/6 erkek farelerine inhalasyon yolu ile maruziyet çalışılmıştır. Çalışma sonucunda nano-NH'lerin pulmoner toksisiteye neden olduğu ve bu toksisitenin sadece nano-NH'lerden salınan Ni iyonlarıyla oluşmadığı bu durumun daha karmaşık bir mekanizmaya sahip olabileceğinden dolayı ek çalışmalara ihtiyaç duyulduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle Ni bazlı NP'lerin farklı model organizma ve test sistemleriyle çalışılması büyük önem taşımaktadır (Kang vd. 2011). NiO (nikel oksit) NP'leri ile gerçekleştirilen bir çalışmada NiO NP'lerinin herhangi bir cilt hassasiyetine neden olmadığı tespit edilmiştir (Kim vd. 2021). Özellikle Ni NP'lerinin alerjik deri reaksiyonlarına neden olduğu göz önüne alındığında, yapısına bir molekül (oksijen) eklenen Ni NP'lerinin ciltte üzerinde farklı bir etki oluşturduğu görülmektedir. Bu bağlamda Ni NP'lerinin farklı formlarının farklı toksik etkiler oluşturabileceği veya toksisiteye neden olmayabileceği görülmektedir. Bu nedenle Ni NP'lerine eklenen farklı gruplarla oluşturulan yeni NP'lerin toksisitesinin yeniden gözden geçirilmesi büyük önem taşımaktadır. Capasso vd. (2014) NiO NP maruziyetinin akciğer epitel hücreleri üzerindeki inflamasyon oluşturma ve genotoksik potansiyellerini araştırmak üzere BEAS-2B (insan tümörjenik olmayan akciğer epitel hücreleri) ve A549 (akciğer kanseri

hücreleri) hücre hatlarıyla çalışmışlardır. Araştırma kapsamında kullanılan NiO NP'lerinin (20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) 24 saatlik maruziyetinin hücre canlılığında azalmaya ve apoptotik ve nekrotik hücrelerde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Hatta maruziyetin ardından geçen ilk 45 dakikalık süreç içerisinde hücre içi ROS miktarında artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu nedenle NiO NP'lerinin sitotoksik ve proinflatuar potansiyeline sahip olduğu ayrıca ROS oluşumunu indükleyerek de DNA hasarına yol açabileceği gösterilmiştir. Cho vd. (2012)'nin A549 hücreleri ile gerçekleştirdikleri NiO NP maruziyeti çalışmasında NiO NP'lerinin inflamasyon oluşturma ve sitotoksik potansiyele sahip olabileceğini desteklemiştir. Albino dişi Wistar sıçanları ile yürütülen bir çalışmada sıçanlar NiO NP'lerinin 125, 250 ve 500 mg/kg'lık konsantrasyonlarına oral yoldan maruz bırakılmıştır. Araştırma kapsamında elde edilen veriler değerlendirildiğinde akut NiO NP maruziyetinin sıçanlarda hepatoksisiteyi indüklediği ve doza bağlı olarak antioksidan enzimler olan alkalın fosfotaz, laktat dehidrojenaz, glutatyon ve süperoksit dismutaz üzerinde değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir. Özellikle NiO NP maruziyeti alkalın fosfotaz ve laktat dehidrojenaz enzimlerinin miktarında artışa neden olurken, glutatyon ve süperoksit dismutaz enzim miktarlarında azalışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Bu bağlamda gerçekleştirilen bu çalışma NiO NP'lerinin genotoksik potansiyellerinin lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres aracılığıyla oluştuğuna işaret etmektedir (Dumala vd. 2018). NiO NP maruziyetinin toksik etkileri üzerine gerçekleştirilen bu çalışmalar NiO NP'lerinin yüksek oranda toksik potansiyeline sahip olabileceğine dikkat çekmektedir. Artık NiO NP'lerinin sahip oldukları sitotoksik etki ve oksidatif hasar oluşturma potansiyel etkilerine karşın koruyucular çalışılmaya başlanmıştır (Mohamed vd. 2018).

NiFe₂O₄ NP'lerinin sitotoksik, apoptotik ve oksidatif stres potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada A549 hücre hattı kullanılmıştır. Çalışmanın sitotoksite basamağında A549 hücreleri 26 nm boyuta sahip NiFe₂O₄ NP'lerine maruz bırakılmış ve MTT, nötral kırmızı alım (NRU) ve laktat dehidrojenaz sızıntı testi (LDH sızıntı testi) ile sitotoksik potansiyel araştırılmıştır. Sitotoksisite testlerinden elde edilen veriler NiFe₂O₄ NP'lerinin doza bağlı olarak sitotoksisiteyi indüklediği sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca NiFe₂O₄ NP'lerinin ROS oluşumunda artışa ve antioksidan bir enzim olan glutatyon miktarında azalmaya neden olarak oksidatif stresini indüklediği tespit edilmiştir. Bu çalışmayla NiFe₂O₄ NP'lerinin A549 hücrelerinde ROS üretimiyle apoptozun ve p53, survivin, bax/bcl-2 ve kaspaz yolları aracılığıyla da oksidatif stresin indüklenebileceği gösterilmiştir (Ahamed vd. 2011). Ayrıca farklı bir çalışmada NiFe₂O₄ NP'lerinin HepG2 (insan karaciğer hücreleri) ve MCF-7 (insan meme hücreleri) hücre hatlarında da doza bağlı olarak sitotoksite ve oksidatif stresini indüklediği tespit edilmiştir. Özellikle NiFe₂O₄ NP maruziyetinin ROS oluşumunda artışa, glutatyon miktarında azalışa ve lipid peroksidasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir (Ahamed vd. 2015). Bu bağlamda NiFe₂O₄ NP'lerinin genotoksik etkilerini, ROS oluşumu ve lipid peroksidasyonu aracılığıyla gösterdiği düşünülmektedir. Yin vd. (2005) gerçekleştirmiş

oldukları sitotoksikite çalışmasıyla NiFe_2O_4 NP'lerinin sitotoksik potansiyellerinin partikül boyutuyla ilişkili olmadığı tespit edilmiştir.

NiFe_2O_4 NP'lerinin genotoksik potansiyellerinin araştırıldığı literatür çalışmalarının çoğunlukla *in vitro* olarak gerçekleştirildiği göz önüne alındığında bu çalışma kapsamında *in vivo* olarak gerçekleştirilen KOMET deneyinden elde edilen veriler literatüre katkı sağlamaktadır. NiFe_2O_4 NP konsantrasyonlarından en yüksek iki konsantrasyonunun (5 ve 10 mM) DNA hasarını indüklediği görülmüştür. Özellikle uygun miktarlarda kullanılmayan maddelerin olumsuz sonuçlar oluşturabileceği dikkate alındığında NiFe_2O_4 NP'lerinin kullanım miktarlarının düşük tutulması oldukça önemlidir. İndüklenen genotoksikitenin hangi mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştiğini literatür incelemeleri aracılığıyla çıkarımsal olarak yapmak mümkündür. Literatür incelemesine göre NiFe_2O_4 NP'lerinin *Drosophila*'daki mevcut genotoksikitesinin, potansiyel oksidatif stres, ROS oluşumu ve lipid peroksidasyonu mekanizmaları aracılığıyla gerçekleştiğini yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.

NiFe_2O_4 NP'lerinin 26 nm boyuta sahip formunun genotoksik potansiyellerinin *Drosophila* SMART yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada 25, 50, 75, 100 ve 200 $\mu\text{g/mL}$ 'lik NiFe_2O_4 NP konsantrasyonlarının maruziyeti gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğine sadece 200 $\mu\text{g/mL}$ 'lik (8,5 mM) en yüksek konsantrasyonda genotoksikitenin indüklendiği, diğer çalışma konsantrasyonlarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir (Nas ve Çolak 2020). Tez çalışmasında NiFe_2O_4 NP uygulamalarının *Drosophila* kanat SMART yöntemiyle potansiyel genotoksikitesi belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre NiFe_2O_4 NP'ünün çalışılan 3 ve 10 mM genotoksikiteyi istatistiksel önemde artırdığı tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler ile literatür verileri paralellik göstermektedir.

Gerçekleştirilen literatür incelemesi sonucunda tez çalışması kapsamında çalışılan MnFe_2O_4 NP'leriyle ilgili herhangi bir toksisite çalışmasının olmadığı tespit edilmiştir. Ancak Mn grubu içeren farklı NP'lere ait birkaç toksite çalışması literatürde mevcuttur. Örneğin Mn_3O_4 NP'lerinin *Pseudokirchneriella subcapitata* (tatlısu algi) üzerinde gerçekleştirilen risk ve sitotoksikite değerlendirmeleri sonucunda Mn_3O_4 NP'leri zararlı olarak katagorize edilmiştir. Mn_3O_4 NP'lerinin alg üzerindeki zararlı etkilerinde (membran bütünlüğünde kayıp olmadan gerçekleşen büyüme inhibisyonu) ROS oluşumu kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Sousa vd. 2019). Ghosh vd. (2019) gerçekleştirmiş oldukları çalışmada MnO NP'lerinin (mangan oksit NP'leri) *Physcomitrella patens* yosunlarında genotoksikite ve DNA hipometilasyon oluşturma potansiyelleri KOMET ve metilasyon hassasiyetli KOMET yöntemleri aracılığıyla incelenmiştir. Çalışma sonucunda MnO NP (30 nm) maruziyetinin ROS oluşumunda artışla birlikte DNA hasarını indüklediği ve DNA hipometilasyonuna yol açtığı tespit edilmiştir. Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen *Drosophila* hemositlerinde KOMET yönteminden elde edilen veriler değerlendirildiğinde MnFe_2O_4 NP'lerinin kuyruk uzunluğu (3, 5 ve 10mM)

ve kuyruk momenti (5 ve 10 mM) parametreleri açısından DNA hasarını indüklediği belirlenmiştir. Literatürde *in vivo* veya *in vitro* $MnFe_2O_4$ NP'lerinin toksitesinin veya genotoksitesinin araştırıldığı herhangi bir çalışmanın olmadığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda özellikle *in vivo* olarak gerçekleştirilen KOMET deneyinden elde edilen veriler literatürde yer alan eksikliğin giderilmesine önemli katkı sağlayacaktır. MnO_2 NP (45 nm) akut oral maruziyetinin genotoksik etkilerinin araştırıldığı farklı bir çalışmada dişi albino Wistar sıçanları üzerinde KOMET, mikronükleus (MN) ve kromozomal aberasyon test yöntemleri kullanılmıştır. Gerçekleştirilen araştırma sonucunda MnO_2 NP'lerinin periferik kan lökositlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir DNA hasarı indüklemeye potansiyeline ve kemik iliği hücrelerinde ise mikronükleus oluşumu ve kromozomal aberasyonlara yol açtığı gözlemlenmiştir (Singh vd. 2013). Gerçekleştirilen $MnFe_2O_4$ NP uygulamalarının SMART yöntemi açısından genotoksitesiyi indüklemediği sonucuna ulaşılmıştır. Bu durum gerçekleştirilen tez çalışmasının, $MnFe_2O_4$ NP'lerinin toksikolojik değerlendirilmelerine dair literatürde ilk yapıtaşını oluşturma özelliğini taşımaktadır. Literatürde Mn NP'leriyle ilgili kısıtlı toksisite çalışma olması ve $MnFe_2O_4$ NP'lerinin toksitesisiyle ilgili herhangi bir çalışmanın bulunmaması, tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen genotoksisite analizlerinden elde edilen verileri literatür eksikliğini gidermesi açısından oldukça önemli kılmaktadır. Özellikle gelecekte farklı alanlarda kullanım potansiyeli olan $MnFe_2O_4$ NP'lerinin toksisiteilerinin farklı model organizmalarla, *in vivo* ve/veya *in vitro* olarak çalışılması gerekmektedir. Ayrıca KOMET deneyinde tespit edilen DNA hasarının nasıl gerçekleştiğinin daha net anlaşılabilmesi için etki mekanizmalarının çalışılması büyük önem taşımaktadır.

Farklı boyutlara sahip $CoFe_2O_4$ NP'lerinin (5,6 nm, 10µm ve 120µm) insan lenfositlerinde mikronükleus testi ile genotoksik potansiyelleri araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildiğinde 5,6 nm boyuta sahip $CoFe_2O_4$ NP'lerinin sitokinez bloke proliferasyon indeksi (CBPI) ve mikronükleus binükleuslu lenfositler (BNMN) parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir. 10µm boyuta sahip $CoFe_2O_4$ NP maruziyetinin BNMN miktarında artışa neden olduğu tespit edilirken 120µm boyuta sahip $CoFe_2O_4$ NP'lerinde iki parametre bakımından da anlamlı bir farklılığa yol açmadığı gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler farklı boyutlara sahip $CoFe_2O_4$ NP'lerinin farklı genotoksik etkiler gösterebileceğine işaret etmektedir (Colognato vd. 2007). Aşık vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada $CoFe_2O_4$ NP'lerinin (8-20 nm) sitotoksik ve genotoksik potansiyelleri MCF-10A (normal meme hücre hattı) ve MDA-MB-231 (metastatik meme kanser hücre hattı) hücre hatlarında KOMET ve sitokinez bloke mikronükleus test (CBMN) yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler $CoFe_2O_4$ NP'lerinin istatistiksel olarak anlamlı ve doza bağlı olarak DNA hasarını ve MN oluşumunu indüklediği sonucuna ulaşılmıştır. Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen SMART yönteminden elde edilen veriler $CoFe_2O_4$ NP'lerinin özellikle yüksek konsantrasyon uygulamalarının *Drosophila*'da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde genotoksitesiyi indüklediği tespit edilmiştir. Özellikle literatür çalışmaları incelendiğinde

CoFe₂O₄ NP'lerinin göstermiş oldukları genotoksik etkiyi çoğunlukla oksidatif stres ve ROS oluşumu yoluyla sergiledikleri tespit edilmiştir. Bu doğrultuda *Drosophila*'da SMART yöntemi ile belirlenen genotoksisitenin muhtelemen oksidatif stres ve/veya ROS oluşumu aracılığıyla gerçekleştiği düşünülebilmektedir. CoFe₂O₄ NP'lerinin (39±17nm) NRK-52E hücre hattı (sıçan böbrek proksimal tübüler epitel hücreleri) ile sitotoksik ve genotoksik potansiyellerinin araştırıldığı çalışmada 100-1000 µg/mL konsantrasyon aralığı gibi geniş bir doz aralığında araştırma yapılmıştır. CoFe₂O₄ NP'lerinin sitotoksisite değerlendirmeleri MTT ve NRU yöntemleriyle belirlenirken, genotoksisite değerlendirmeleri için KOMET yöntemi kullanılmış, ek olarak ise apoptoz tayini yapılmıştır. Çalışma sonucunda CoFe₂O₄ NP maruziyetinin hücre canlılığı ve apoptoz üzerinde etki göstermediği gözlenirken, 100 µg/mL'den düşük konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilen bir DNA hasarı oluşumu tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu durumu literatürdeki diğer çalışmaları gözden geçirerek oksidatif stress kaynaklı olabileceği çıkarımına ulaşmışlardır (Abudayyak vd. 2017a). Bu çalışmalara ek olarak çeşitli hücre hatlarında CoFe₂O₄ NP'lerinin sitotoksik, embriyotoksik ve genotoksik etkileri tarafından araştırılmış ve yüksek konsantrasyonlardaki CoFe₂O₄ NP'lerinin hücre içinde parçalanmaya uğradığı ve Co iyonlarının salındığı bunun da sitotoksisite ile ilişkili olabileceği bildirilmişlerdir (Marmorato vd. 2011). Pershina vd. (2011)'nin gerçekleştirmiş oldukları çalışma ise CoFe₂O₄'ün DNA'nın fosfat grupları ve oksijen atomları ile bağlantı kurduğunu, Ahmad vd. (2016) ise CoFe₂O₄ NP'lerinin ROS üretimine neden olarak genotoksisiteyi indükleyebileceğini göstermişlerdir. Yapılan tez çalışmasında KOMET yönteminden elde edilen veriler CoFe₂O₄ NP'lerinin kuyruk uzunluğu parametresi bakımından tüm konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı (p<0,0019) olarak DNA hasarına yol açarak genotoksisiteyi indüklediği belirlenmiştir. Elde edilmiş olan veriler literatür verileri ile paralellik göstermektedir. Tespit edilmiş olan pozitif sonuçların literatürde de gösterildiği gibi ROS oluşumu veya oksidatif stres aracılı gerçekleşebileceğine düşünülmektedir. Diğer taraftan bir NP'ün veya herhangi bir maddenin toksisitesinin veya genotoksisitesinin belirlenebilmesi için farklı model organizmalar veya hücreler üzerinde *in vivo* veya *in vitro* birçok çalışmanın gerçekleştirilmesi ve muhtemel etki mekanizmalarının da belirlenmesi gerekmektedir. Bu bağlamda çalışmamız CoFe₂O₄ NP'lerinin genotoksik potansiyellerinin belirlenebilmesi açısından hem farklı genotoksik etkileri belirlemeleri hem de *in vivo* çalışmalar olması nedeni ile literatüre önemli katkıda bulunmaktadır.

6. SONUÇLAR

MNP'ler yüksek derecede yüzey modifikasyonlarına uyumlu partiküllerdir ve bu özellikleri sayesinde çeşitli biyouyumlu, biyoaktif malzemeler, ligandlar veya antikörlerle birleşerek farklı uygulama alanlarında sıklıkla tercih edilmektedirler. Bunların yanı sıra MNP'ler, terapötik alanlarda kolaylıkla hedeflenme, kontrol edilme ve izlenebilme özellikleriyle de oldukça dikkat çeken NP'ler arasına girmiştir.

MNP'lerin sıklıkla farklı alanlarda kullanımları beraberinde bu NP'lerin toksik potansiyelleriyle ilgili endişeler getirmiştir. MNP'lerin toksisitesinin belirsizliğinden kaynaklanan endişeler bu NP'lerin klinik tedavilerde kullanımlarını güçleştirmiştir. Bu duruma rağmen oldukça farklı uygulamalarda kullanım kolaylığı sağlamaları nedeniyle MNP'lerin toksik potansiyelleri görmezden gelinmekte ve kullanıma devam edilmektedir. Ancak zaman içerisinde biriken toksikolojik değerlendirmeler ve çalışmalar doğrultusunda, MNP'lerin formülasyonların da değişikliklere gidilmiştir. MNP'lere eklenen farklı gruplar aracılığıyla gerçekleştirilen bu değişiklikler sonucunda üretilen ve kullanılan bu yeni malzemelerin ise toksikolojik değerlendirmeleri henüz başlangıç aşamasındadır. Bu bağlamda MNP'lerin toksisite potansiyellerinin bilinmezliği bilim insanları açısından büyük bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Bu nedenle MNP'lerin günümüzde kullanılan veya kullanıma sunulmadan önce gerçekleştirilen ön testlerde toksikolojik değerlendirmelerinin yapılması büyük önem taşımaktadır.

Bu bağlamda tez çalışması kapsamında 4 farklı metalik-MNP (Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 , MnFe_2O_4 ve NiFe_2O_4 NP), insanla hem genetik hem de hastalıklar açısından oldukça benzer özellikler taşımasıyla dikkat çeken *D. melanogaster* ile genotoksik potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla SMART ve KOMET yöntemleri kullanılarak çalışılmıştır.

Drosophila kanat SMAR testi sonucunda; CoFe_2O_4 NP'lerinin 3 mM konsantrasyon uygulamasının *D. melanogaster* kanat imajinal disk hücrelerinde toplam *mwh* klon ve toplam klon parametrelerinde, 5 mM konsantrasyonunun toplam klon parametresinde ve 10 mM konsantrasyon uygulamasının ise küçük tek tip klon, toplam *mwh* klon ve toplam klon olmak üzere 3 farklı parametre açısından istatistiksel olarak anlamlı pozitif sonuç vererek genotoksisiteyi indüklediği belirlenmiştir. NiFe_2O_4 NP'lerinin 3 mM konsantrasyon uygulamasında toplam *mwh* klon parametresinde ve 10 mM konsantrasyon uygulamasının ise toplam *mwh* klon ve toplam klon parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı pozitif sonuç vererek genotoksisiteyi indüklediği tespit edilmiştir. Fe_3O_4 NP ve MnFe_2O_4 NP'lerinin ise *D. melanogaster* kanat imajinal disk hücrelerinde genotoksisiteyi indüklediği tespit edilmiştir.

Drosophila hemositlerinde KOMET yönteminden elde edilen veriler çalışmada kullanılan 3 parametre açısından değerlendirildiğinde; kuyruk uzunluğu parametresi bakımından Fe_3O_4 NP, CoFe_2O_4 NP, NiFe_2O_4 NP'lerinin çalışılan bütün konsantrasyonlarda ve MnFe_2O_4 NP'lerinin ise en yüksek 3 konsantrasyonunda (3, 5 ve

10 mM) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde DNA hasarının indüklendiği gösterilmiştir. Kuyruk yoğunluğu parametresi bakımından Fe_3O_4 NP ve NiFe_2O_4 NP'lerinin en yüksek konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir DNA hasarının indüklendiği tespit edilmiştir. Son parametre olan kuyruk momenti açısından Fe_3O_4 NP ve MnFe_2O_4 NP'lerinin en yüksek 2 konsantrasyonunun, NiFe_2O_4 NP'lerinin ise 3, 5 ve 10 mM'lık konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı DNA hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. CoFe_2O_4 NP'leri ise kuyruk momenti parametresi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir DNA hasarına yol açmamıştır.

Tez çalışmasında kullanılan *D. melanogaster* model organizması, DNA hasar-tamir mekanizması, hücre döngüsü, bir çok ortak genetik hastalık gibi genetik özellikler bakımından insanla olan benzerliği ile dikkat çekmektedir. Bu nedenle çalışmamızdan elde edilen sonuçlar büyük önem taşımaktadır. Özellikle kimyasal maddelerin vücutta sergiledikleri davranışlar veya vücudun bu gibi maddelere karşı kullandığı bir savunma mekanizması olduğu düşünüldüğünde gerçekleştirilen *in vivo* testler metalik-MNP'lerin potansiyel toksisitelerinin tespit edilmesi bakımından literatüre katkı sağlayacağı çok açıktır. Ayrıca çalışılan metalik-MNP'lerin hepsinin de *D. melanogaster* üzerinde genotoksisiteyi indüklemiş olması bu NP'lerin kullanımlarının yaygınlaşması sonucunda oluşan endişeyi artırmaktadır. Çalışma kapsamında tespit edilen genotoksisitenin hangi mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştiğinin farklı test yöntemleri kullanılarak araştırılması ve metalik-MNP'lerin bu doğrultuda toksikolojik değerlendirmelerinin yapılmaya devam edilmesi insan ve çevre sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda olası mekanizmaların farklı test ve model organizmalar kullanılarak tespit edilmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abudayyak, M., Altınçekiç Gürkaynak, T. and Özhan, G. 2017a. *In Vitro* Evaluation of the Toxicity of Cobalt Ferrite Nanoparticles in Kidney Cell. *Turk J Pharm Sci*, 14(2): 169-173 s.
- Abudayyak, M., Altınçekiç Gürkaynak, T. and Özhan, G. 2017b. *In Vitro* Toxicological Assessment of Cobalt Ferrite Nanoparticles in Several Mammalian Cell Types. *Biol Trace Elem Res*, 175: F458–465.
- Ahamed, M., Akhtar, M.J., Alhadlaq, H.A., Khan, M.A.M. and Alrokayan, S.A. 2015. Comparative cytotoxic response of nickel ferrite nanoparticles in human liver HepG2 and breast MFC-7 cancer cells. *Chemosphere*, 135: 278-288 s.
- Ahamed, M., Akhtar, M.J., Siddiqui, M.A., Ahmad, J., Musarrat, J., Al-Khedhairi, A.A., AlSalhi, M.S. and Alrokayan, S.A. 2011. Oxidative stress mediated apoptosis induced by nickel ferrite nanoparticles in cultured A549 cells. *Toxicology*, 283(2-3): 101-108 s.
- Ahamed, M., Alhadlaq, H.A., Alam, J., Khan, M.A.M., Ali, D. and Alarafi, S. 2013. Iron Oxide Nanoparticle-induced Oxidative Stress and Genotoxicity in Human Skin Epithelial and Lung Epithelial Cell Lines. *Curr Pharm Des*, 19(37): 6681-6690 s.
- Akerlund, E., Islam, M.S., McCarrick, S., Alfaro-Moreno, E. and Karlsson, H.L. 2019. Inflammation and (secondary) genotoxicity of Ni and NiO nanoparticles. *Nanotoxicology*, 13(8): 1060-1072 s.
- Akhtar, K., Khan, A.A., Khan, S.B. and Asiri, A.M. Scanning Electron Microscopy: Principle and Applications in Nanomaterials Characterization. In: Sharma, S. (Ed), *Handbook of Materials Characterization*. Springer, Switzerland, pp. 113-145.
- Alaraby, M., Annangi, B., Marcos, R. and Hernandez, A. 2016. *Drosophila melanogaster* as a Suitable *in vivo* Model to Determine Potential Side Effects of Nanomaterials: A Review. *J Toxicol Environ Health, Part B Crit Rev*. 19(2):65-104.
- Aldaz, S., Escudero, L. M. Freeman, M. 2010. Live imaging of *Drosophila* imaginal disc development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(32): 14217-14222.
- Alhadlaq, H. A., Akhtar, M. J. and Ahamed M. 2015. Zinc ferrite nanoparticle-induced cytotoxicity and oxidative stress in different human cells. *Cell Biosci*, 5(55).
- Amiri, S. and Shokrollahi, H. 2013. The role of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in medical science. *Materials Science and Engineering C*, 33: 1-8.
- Ansari, A. A. M. K., Ficiarà, E., Ruffinatti, F. A., Stura, I., Argenziano, M., Abollino, O., Cavalli, R., Guiot, C. and D'Agat, F. 2019. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Functionalization for Biomedical Applications in the Central Nervous System. *Materials*, 12: 465.
- Anselmo, A.C. and Mitragotri, S. 2019. Nanoparticles in the clinic: An update. *Bioeng Transl Med*, 4(3): 1-16.
- Apopa, P. L., Qian, Y., Shao, R., Guo, N. L., Schwegler-Berry, D., Pacurari, M., Porter, D., Shi, X., Vallyathan, V., Castranova, V. vd. 2009. Iron oxide nanoparticles induce human microvascular endothelial cell permeability through reactive oxygen

- species production and microtubule remodeling. *Particle and Fibre Toxicology*, 6(1).
- Arias, L.S., Pessan, J.P., Vieira, A.P.M., de Lima, T.M.T., Delbem, A.C.B. and Monteiro, D.R. 2018. Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications: A Perspective on Synthesis, Drugs, Antimicrobial Activity, and Toxicity. *Antibiotics*, 7(2): 46 s.
- Aşık, E., Akpınar, Y., Güray, N.T., İşcan, M., Demircigil, G.Ç., and Volkan, M. 2016. Cellular uptake, genotoxicity and cytotoxicity of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in human breast cells. *Toxicol Res*, 5(6): 1649-1662 s.
- Ateş, M., Demir, V., Arslan, Z., Kaya, H., Yılmaz, S. and Camas, M. 2016. Chronic exposure of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to iron oxidenanoparticles: Effects of particle morphology on accumulation, elimination, hematology and immune responses. *Aquat Toxicol*, 177: 22-32 s.
- Baker, T.J., Tyler, C.R. and Galloway, T.S., 2014. Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms. *Environmental Pollution*, 186: 257-271.
- Barik, T.K., Mandal, S.M., Mitra, A., Maity, G.C., Roymahapatra, G., Santra, T.S. 2020. *J Indian Chem Soc*, 97(11) 2372-2384.
- Behzadi, S., Serpooshan, V., Tao, W., Hamaly, M. A., Alkawareek, M. Y., Dreaden, E. C., Brown, D., Alkilany, A. M., Farokhzad, O. and C., Mahmoudi, M. 2017. Cellular uptake of nanoparticles: journey inside the cell. *Chem Soc Rev*, 46(14): 4218-4244.
- Bernhardt, E.S., Colman, B.P., Hochella, M.F., Cardinale, B.J., Nisbet, R.M., Richardson, C.J. and Yin, Liyan., 2010. An Ecological Perspective on Nanomaterial Impacts in the Environment. *J. Environ. Qual.* 39:1-12.
- Bhatt, I. and Tripathi, B.N., 2010. Interaction of engineered nanoparticles with various components of the environment and possible strategies for their risk assessment. *Chemosphere* 82: 308-317.
- Blazkova, I., Nguyen, H.V., Dostalova, S., Kopel, P., Stanisavljevic, M., Vaculovicova, M., Stiborova, M., Eckschlager, T., Kizek, R. and Adam, V., 2013. Apoferritin Modified Magnetic Particles as Doxorubicin Carriers for Anticancer Drug Delivery. *Int. J. Mol. Sci.*, 14:13391-13402.
- Capasso, L., Camatini, M. and Gualtieri, M. 2014. Nickel oxide nanoparticles induce inflammation and genotoxic effect in lung epithelial cells. *Toxicol Lett*, 226(1): 28-34 s.
- Carmona, E. R., Inostroza-Blancheteau, C., Rubio, L. and Marcos, R. 2015. Genotoxic effects of copper oxide nanoparticles in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research (GTEM)*, 791: 1-11.
- Carmona, E. R., Inostroza-Blancheteau, C., Rubio, L. and Marcos, R. 2016. Genotoxic and oxidative stress potential of nanosized and bulk zinc oxide particles in *Drosophila melanogaster*. *Toxicol and Indus Health*. 32(12): 1987-2001.
- Cavallo, D., Ciervo, A., Fresegna, A. M., Maiello, R., Tassone, P., Buresti, G., Casciardi, S., Iavicoli, S. and Ursini, C L. 2015. Investigation on cobalt-oxide nanoparticles cyto-genotoxicity and inflammatory response in two types of respiratory cells. *Journal of Applied Toxicology*, 35(10): 1102-1113.

- Cho, W., Duffin, R., Poland, C.A., Duschil, A., Oostingh, G.J., Macnee, W., Bradley, M., Megson, I.L. and Donaldson, K. 2012. Differential pro-inflammatory effects of metal oxide nanoparticles and their soluble ions in vitro and in vivo; zinc and copper nanoparticles, but not their ions, recruit eosinophils to the lungs. *Nanotoxicology*, 6(1): 22-35 s.
- Coccini, T., Caloni, F., Cando, L.J.R. and Simone, U.D. 2017. Cytotoxicity and proliferative capacity impairment induced on human brain cell cultures after short- and long-term exposure to magnetite nanoparticles. *J Appl Toxicol*, 37: 361-373 s.
- Collins, A. R., Ma, A. G. and Duthie, S. J. 1995. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cells. *Mutat Res*, 336(1): 69-77.
- Colognato, R., Bonelli, A., Bonacchi, D., Baldi, G. and Migliore, L. 2007. Analysis of cobalt ferrite nanoparticles induced genotoxicity on human peripheral lymphocytes: comparison of size and organic grafting-dependent effects. *Nanotoxicology*, 1(4): 301-308 s.
- Coricovac, D., Moaca, E., Pinzaru, L., Citu, C., Soica, C., Mihali, C., Pacurariu, C., Tutelyan, A.T. and Dehelean, C. 2017. Biocompatible Colloidal Suspensions Based on Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Toxicological Profile. *Frontiers of Pharmacology*, 8:154.
- Dandamudi, S. and Campbell, R.B. 2007. The drug loading, cytotoxicity and tumor vascular targeting characteristics of magnetite in magnetic drug targeting. *Biomaterials*, 28: 4673-4683.
- Danhier, F., Feron, O. and Pr  at, V. 2010. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 148: 135–146.
- Demirbag, B., Kardesler, S., Buyuksungur, A., Kucukturhan, A., Eke, G., Hasirci, N., Hasirci, V. 2011. Nanotechnology in Biomaterials: Nanoparticulates as Drug Delivery Systems. In: Reisner, D. E. (ed). *Bionanotechnology II: Global Prospects*, CRC Press.
- Di Guglielmo, C., Lopez, D.R., De Lapuente, J., Mallafre, J.M.L. and Suarez, M.B. 2010. Embryotoxicity of cobalt ferrite and gold nanoparticles: A first *in vitro* approach. *Reproductive Toxicology*, 30, 271-276.
- Dubey, P., Matai, I., Kumar, S.U., Sachdev, A., Bhushan, B. and Gopinath, P. 2015. Perturbation of cellular mechanistic system by silver nanoparticle toxicity: Cytotoxic, genotoxic and epigenetic potentials. *Advances in Colloid and Interface Science*, 221: 4–21.
- Dumala, N., Mangalampalli, B., Kalyan-Kamal S. S. and Grover, P. 2017. Biochemical alterations induced by nickel oxide nanoparticles in female Wistar albino rats after acute oral exposure. *Biomarkers*, 23(1): 33-43.
- Dumala, N., Mangalampalli, B., Kamal, S.S.K. and Grover, P. 2018. Biochemical alterations induced by nickel oxide nanoparticles in female Wistar albino rats after acute oral exposure. *Biomarkers*, 23: 33-43 s.

- Erdoğan, A. 2018. Magnetic Nanoparticles In The Diagnosis And Treatment of Cancer. *Natural & Applied Sciences Journal*, 1(1): 23-30.
- Erikson, K. M. and Aschner, M. 2003. Manganese neurotoxicity and glutamate-GABA interaction. *Neurochemistry International*, 43: 475–480.
- Feynman, R.P. 1960. There's Plenty of Room at the Bottom. *Engineering and Science magazine*, 23(5).
- Flagg, R.O. 1988. Carolina *Drosophila* Manual. Carolina Biological Supply Company, North Carolina.
- Frei, H. and Wurgler, F.E. 1988. Statistical methods to decide whether mutagenic test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive results. *Mutation Research*, 203: 297-308.
- Frei, H. Würigler, F. E. 1995. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination tests (SMART) in *Drosophila*. *Mutation Research* 334: 247-258.
- Fröhlich, E., Samberger, C., Kueznik, T., Absenger, M., Roblegg, E., Zimmer, A. and Pieber, T. R. 2009. Cytotoxicity of nanoparticles independent from oxidative stress. *The Journal of Toxicological Sciences*, 34(4): 363-75.
- Gavrilescu, C., Paraschiv, C., Horjinec, P., Sotropa and Barbu, R. 2018. The Advantages and Disadvantages of Nanotechnology. *Roman J of Oral Rehab*, 10(2): 153-159.
- Ghazanfari, M. R., Kashefi, M., Shams, S. F., Jaafari, M. R. 2016. Perspective of Fe₃O₄ Nanoparticles Role in Biomedical Applications. *Biochemistry Research International*, Article ID 7840161.
- Ghosh, I., Sadhu, A., Moriyasu, Y., Bandyopadhyay, M. and Mukherjee, A. 2019. Manganese oxide nanoparticles induce genotoxicity and DNA hypomethylation in the moss *Physcomitrella patens*. *Mutat Res Gen Tox En*, 842: 146-157 s.
- Giorgetti, L. 2019. Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms Concepts and Controversies Volume 2, Tripathi, D.K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D.K. and Dubey, N.K., Academic Press, 65-88.
- Graf, U. and Singer, D. 1992. Genotoxicity Testing of Promutagens in the Wing Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. *Rev Int Contam Ambient*, 8(1): 15-27.
- Graf, U. 1995. Analysis of the relationship between age of larvae at mutagen treatment and frequency and size of spots for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Experimentia*, 51: 168-173.
- Graf, U. 1995. Analysis of the relationship between age of larvae at mutagen treatment and frequency and size of spots for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Experimentia*, 51: 168-173.
- Graf, U. Vanschaik, N. 1992. Improved High Bioactivation Cross for the Wing Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, 271(1): 59-67.

- Graf, U., Wurgler, F. E., Katz, A. J., Frei, H., Juon, H., Hall, C. B. Kale, P. G. 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ Mutagen*, 6(2): 153-188.
- Gutierrez, A. M., Dziubla, T. D., and Hilt, J. Z. 2017. Recent Advances on Iron Oxide Magnetic Nanoparticles as Sorbents of Organic Pollutants in Water and Wastewater Treatment. *Rev Environ Health*. 32(1-2): 111–117.
- Guzman-Rincon, J., Ramirez-Victoria, P. Benitez, L. 2001. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila* used for biomonitoring of environmental pollutants. *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change 2: A Handbook*, 56: 221-237.
- Horev-Azaria, L., Baldi, G., Beno, D., Bonacchi, D., Golla-Schindler, U., Kirkpatrick, J.C., Kolle, S., Landsiedel, R., Maimon, O., Marche, P.N. vd. 2013. Predictive toxicology of cobalt ferrite nanoparticles: comparative in-vitro study of different cellular models using methods of knowledge discovery from data. *Part Fibre Toxicol*, 10: 32.
- Huang, Y., Wu, C. and Aronstam, R. S. 2010. Toxicity of Transition Metal Oxide Nanoparticles: Recent Insights from in vitro Studies. *Materials*, 3: 4842-4859.
- Huang, Y., Wu, C. and Aronstam, R.S. 2010. Toxicity of Transition Metal Oxide Nanoparticles: Recent Insights from *in vitro* Studies. *Materials*, 3: 4842-4859 s.
- Hulla, J.E., Sahu, S.C. and Hayes, A.W. 2015. Nanotechnology: History and future. *Hum Exp Toxicol*, 34(12): 1318-1321.
- Hussain, S.M., Hess, K.L., Gearhart, J.M., Geiss, K.T. and Schlager, J.J. 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol In Vitro*, 19(7): 975-983 s.
- Ionita, V., Covaliu I., Petrescu L., Bordianu, A., Tabără O. 2012. Magnetic Characterization Of Fe₃O₄ Nanoparticles Used in Biomaterials. *Rev. Roum. Sci. Techn. Electrotechn. et Energ.*, 57(2): 154–161.
- Ionita, V. and Covaliu, C. 2011. Magnetic Experimental Investigation of Ferrite Nanoparticles Used in Hybrid Biomaterials. 7th International Symposium On Advanced Topics In Electrical Engineering (ATEE), Bucharest, 2011.
- Islam, K., Haque, M., Kumar, A., Hoq, A., Hyder, F. and Hoque, S.M. 2020. Manganese Ferrite Nanoparticles (MnFe₂O₄): Size Dependence for Hyperthermia and Negative/Positive Contrast Enhancement in MRI. *Nanomaterials*, 10.
- Jacob, J.A., Salmani, J.M.M. and Chen, B. 2016. Magnetic nanoparticles: mechanistic studies on the cancer cell interaction. *Nanotechnol. Rev.*, 5(5): 481-488.
- Jiang, Z., Shan, K., Song, J., Liu, J., Rajendran, S., Pugazhendhi, A., Jacob, J.A. and Chen, B. 2019. Toxic effects of magnetic nanoparticles on normal cells and organs. *Life Sciences*, 220, 156-161.
- Kang, G.S., Gillespie, P.A., Gunnison, A., Rengifo, H., Koberstein, J. and Chen, L. 2011. Comparative pulmonary toxicity of inhaled nickel nanoparticles; role of deposited dose and solubility. *Inhal Toxicol*, 23(2): 95-103 s.

- Karlsson, H. L. 2010. The comet assay in nanotoxicology research. *Anal Bioanal Chem*, 398: 651–666.
- Karunamoorthi, R., Kumar, G. S., Prasad, A. I., Vatsa, R. K., Thamizhavel, A., and Kreedapathy, Girija, E. K. 2014. Fabrication of a Novel Biocompatible Magnetic Biomaterial with Hyperthermia Potential. *J Am Ceram Soc*, 97(4): 1115–1122.
- Kastenbaum, M. A. Bowman, K. O. 1970. Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies. *Mutat Res* 9(5): 527-549.
- Katsnelson, B. A., Minigaliyeva, I. A., Panov, V. G., Privalova, L. I., Varaksin, A. N., Gurvich, V. B., Sutunkova, M. P., Shur, V. Y., Shishkina E. V., Valamina I. E. vd. 2015. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *Food and Chemical Toxicology*, 86: 351–364.
- Katz, E. 2019. Synthesis, Properties and Applications of Magnetic Nanoparticles and Nanowires—A Brief Introduction. *Magnetochemistry*, 5: 61.
- Kaya, B. 2000. Bazi Pestisitlerin Drosophila Melanogaster Hatlarında Mutajenik ve Rekombinojenik Etkilerinin Araştırılması Akdeniz Üniversitesi. Antalya 151.
- Kaygısız, Ş.H. and Cigerci, İ.H. 2017. Genotoxic evaluation of different sizes of iron oxide nanoparticles and ionic form by SMART, Allium and comet assay. *Toxicol Ind Health*, 33(10): 802-809 s.
- Kettering, M., Zorn, H., Bremer-Streck, S., Oehring, H., Zeisberger, M., Bergemann, C., Hergt, R., Halbhuber, K. J., Kaiser, W. A. and Hilger, I. 2009. Characterization of iron oxide nanoparticles adsorbed with cisplatin for biomedical applications. *Phys Med Biol.*, 54(17): 5109-5121.
- Khan, I., Saeed, K., and Khan, I. 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12: 908-931.
- Kim, S., Lee, D., Lee, J., Yang, J., Seok, J., Jung, K. and Lee, J. 2021. Evaluation of the skin sensitization potential of metal oxide nanoparticles using the ARE-Nrf2 Luciferase KeratinoSens™ assay. *Toxicol Res*, 37(2): 277-284 s.
- Kong, L., Tang, M., Zhang, T., Wang, D., Hu, K., Lu, W., Wei, C., Liang, G. and Pu, Y. 2014. Nickel Nanoparticles Exposure and Reproductive Toxicity in Healthy Adult Rats. *Int J Mol Sci*, 15: 1253-21269.
- Kumar, H.K., Venkatesh, N., Bhowmik, H. and Kuila, A. 2018. Metallic Nanoparticle: A review. *Biomed J Sci & Tech Res*, 4(2): 3765-3775.
- Kumaravel, T. S., Vilhar, B., Faux, S. P. Jha, A. N. 2009. Comet Assay measurements: a perspective. *Cell Biol Toxicol*, 25(1): 53-64.
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L. and Muller, R.N., 2008. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications. *Chem Rev* 108: 2064-2110.
- Leslie-Pelecky, D.L. and Rieke, R.D., 1996. Magnetic Properties of Nanostructured Materials. *Chem. Mater*, 8: 1770-1783.

- Lewis, E. B. 1960. A new standard food medium. *Drosophila Information Service*, 34: 118-119.
- Lindsley, D. L. Zimm, G. G. 1992. The Genome of *Drosophila melanogaster*.
- Liu, G., Gao, J., Ai, H. Chen, X. 2013. Applications and Potential Toxicity of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Small*, 9(9-10): 1533-1545.
- Liu, X. Y., Vinson, D., Abt, D., Hurt, R. H. Rand, D. M. 2009. Differential Toxicity of Carbon Nanomaterials in *Drosophila*: Larval Dietary Uptake Is Benign, but Adult Exposure Causes Locomotor Impairment and Mortality. *Environmental Science & Technology*, 43(16): 6357-6363.
- Long, N. V., Yang, Y., Teranishi, T., Thi, C. M., Cao, Y. and Nogami, M. 2015. Biomedical Applications of Advanced Multifunctional Magnetic Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15, 10091-10107.
- Lopez-Moreno, M., Aviles, L.L., Perez, N.G., Irizarry, B.A., Perales, O., Cedeno-Mattei, Y. and Roman, F. 2016. Effects of cobalt (CoFe₂O₄) nanoparticles on the growth and development of *Lycopersicon lycopersicum* (tomato plants). *Science of the Total Environment*, 550: 45-52.
- Lunnoo, T. and Puangmali. T., 2015. Capture Efficiency of Biocompatible Magnetic Nanoparticles in Arterial Flow: A Computer Simulation for Magnetic Drug Targeting. *Lunnoo and Puangmali Nanoscale Research Letters*, 10: 426.
- Luo, F., Zhu, S., Hu, Y., Yang, K., He, M., Zhu, B., Wang, G. and Ling, F. 2020. Biocompatibility assessment of Fe₃O₄ nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism. *Comparative Biochemistry and Physiology*.
- Lübbe, A.S., Bergemann, C., Brock, J. and McClure, D.G. 1999. Physiological aspects in magnetic drug- targeting. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194: 149-155.
- Ma, Z. and Liu, H. 2007. Synthesis and surface modification of magnetic particles for application in biotechnology and biomedicine. *China Particuology*, 5: 1-10.
- Magaye, R. and Zhao, J. 2012. Recent progress in studies of metallic nickel and nickel-based nanoparticles' genotoxicity and carcinogenicity. *Environ Toxicol Pharmacol*, 34(3): 644-650 s.
- Magaye, R., Zhao, J., Bowman, L. and Ding, M. 2012. Genotoxicity and carcinogenicity of cobalt-nickel- and copper-based nanoparticles (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 4: 551-561.
- Mahmoud, A. Öztaş, E., Arici, M. and Özhan, G., 2016. In Vitro Toxicological Assessment of Magnesium Oxide Nanoparticle Exposure in Several Mammalian Cell Types. *International Journal of Toxicology*, 1-9.
- Malakootikhah, J., Rezayana, A. H., Negahdarib, B., Nasseric, S. and Rastegare, H. 2018. Porous MnFe₂O₄ and SiO₂ magnetic glycopolymer: A multivalent nanostructure for efficient removal of bacteria from aqueous solution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 166: 277-284.

- Malhotra, N., Lee, J., Liman, R.A.D., Ruallo, J.M.S., Villaflores, O.B., Ger, T. and Hsiao, C. 2020. Potential Toxicity of Iron Oxide Magnetic Nanoparticles: A Review. *Molecules*, 2: 3159s.
- Mamani, J. B., Gamarra, L. F. and de Souza Brito G. E. 2014. Synthesis and Characterization of Fe₃O₄ Nanoparticles with Perspectives in Biomedical Applications. *Materials Research*, 17(3): 542-549.
- Marcos, R. Carmona, E. R. 2013. The Wing-Spot and the Comet Tests as Useful Assays Detecting Genotoxicity in Drosophila. *Genotoxicity Assessment: Methods and Protocols*, 1044: 417-427.
- Mariani, V., Ponti, J., Giudetti, G., Broggi, F., Marmorato, P., Gioria, S., Franchini, F., Rauscher H. and Rossi, F. 2012. Online monitoring of cell metabolism to assess the toxicity of nanoparticles: The case of cobalt ferrite. *Nanotoxicology*, 6(3): 272-287.
- Marmorato, P., Ceccone, G., Gianoncelli, A., Pascolo, L., Ponti, J., Rossi, F., Salome, M., Kaulich, B. and Kiskinova, M. 2011. Cellular distribution and degradation of cobalt ferrite nanoparticles in Balb/3T3 mouse fibroblasts. *Toxicol Lett*, 207(2): 128-136 s.
- Martin, A., Bois F. Y., Pierre F. and Wild, P. 2010. Occupational exposure to cobalt: a population toxicokinetic modeling approach validated by field results challenges the biological exposure index for urinary Cobalt. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 7, 54.
- Martinez-Rodriguez, N.L., Tavarez, S. and Gonzalez-Sanchez, Z.I. 2019. In vitro toxicity assessment of zinc and nickel ferrite nanoparticles in human erythrocytes and peripheral blood mononuclear cell. *Toxicology in Vitro*, 57, 54-61.
- Mauro, M., Croser, M., Bovenzi, M., Adami, G., Baracchini, E., Maina, G. and Filon, F. L. 2018. In vitro meningeal permeation of MnFe₂O₄ nanoparticles. *Chemico-Biological Interactions*, 293: 48–54.
- Mohamed, K., Zine, K., Fahima, K., Abdelfattah, E., Sharifudin, S.M. and Duduku, K. 2018. NiO nanoparticles induce cytotoxicity mediated through ROS generation and impairing the antioxidant defense in the human lung epithelial cells (A549): Preventive effect of Pistacia lentiscus essential oil. *Toxicol Rep*, 5: 480-488 s.
- Moller, P., Azqueta, A., Boutet-Robinet, E., Koppen, G., Bonassi, S., Milic, M., Gajski, G., Costa, S., Teixeira, J. P., Costa Pereira, C., vd. 2020. Minimum Information for Reporting on the Comet Assay (MIRCA): recommendations for describing comet assay procedures and results. *Nat Protoc*, 15(12): 3817-3826.
- Mozaffarieh, M., Schoetzau, A., Sauter, M., Grieshaber, M., Orgul, S., Golubnitschaja, O. and Flammer, J. 2008. Comet assay analysis of single-stranded DNA breaks in circulating leukocytes of glaucoma patients. *Mol Vis*, 14: 1584-1588.
- Nadaroğlu, H., Alaylı Güngör, A. and İnce, S. 2017. Synthesis of Nanoparticles by Green Synthesis Method. *International Journal of Innovative Research and Reviews*, 1(1): 6-9.
- Nas, B. and Çolak, D.A. 2020. Genotoxic analysis of nickel–iron oxide in *Drosophila*. *Toxicol Ind Health*, 36(11): 835-843 s.

- Novotna, B., Jendelova, P., Kapcalova, M., Jr, P.R., Turnovcova, K., Bagryantseva, Y., Babic, M., Horak, D. and Sykova, E. 2012. Oxidative damage to biological macromolecules in human bone marrow mesenchymal stromal cells labeled with various types of iron oxide nanoparticles. *Toxicol Lett*, 210(1): 53-63 s.
- Oberdörster, G., Stone, V. and Donaldson, K. 2007. Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. *Nanotoxicology*, 1(1): 2-25.
- Pankhurst, Q.A., Connolly, J., Jones, S.K. and Dobson, J. 2003. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 36: R167-R181.
- Peng, Q., Huo, D., Li, H., Zhang, B., Li, Y., Liang, A., Wang, H., Yu, Q. and Li, M. 2018. ROS-independent toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles to yeast cells: Involvement of mitochondrial dysfunction. *Chemico- Biological Interactions*, 287: 20-26.
- Pershina, A. G., Sazonov, A. E., Novikov, D. V., Knyazev, A. S., Izaak, T. I., Itin, V. I., Naiden, E. P., Magaeva A. A. and Terechova, O. G. 2011. Study of DNA Interaction with Cobalt Ferrite Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(3): 2673-2677.
- Pershina, A.G., Sazonov, A.E. and Ogorodova, L.M. 2009. Investigation of the interaction between DNA and cobalt ferrite nanoparticles by FTIR spectroscopy. *Bioorg Khim*, 35(5): 674-680 s.
- Qualhato, G., Rocha, T.L., Lima, E.C.O., Silva, D.M., Cardoso, J.R., Grisolia, C.K. and Saboia-Moaris, S.M.T. 2017. Genotoxic and mutagenic assessment of iron oxide (maghemite- γ -Fe₂O₃) nanoparticle in the guppy *Poecilia reticulata*. *Chemosphere*, 183: 305-314 s.
- Ramel, C. Magnusson, J. 1992. Modulation of genotoxicity in *Drosophila*. *Mutat Res*, 267(2): 221-227.
- Rezk, M.M., Dhmees, A.S., El-Magied, M.I.A., Manaa, E.A. and El-Gendy, H.S. 2020. The influence of cobalt manganese ferrite nanoparticles (Co_{0.5}Mn_{0.5}Fe₂O₄) on reduction of hazardous effects of vanadate in adult rats. *Toxicol Res*, 9(2): 81-90 s.
- Rodrigues, A.R.O., Gomes, I.T., Almeida, B.G., Araujo, J.P., Castanheira, E.M.S. and Coutinho, J.G. 2015. Magnetic liposomes based on nickel ferrite nanoparticles for biomedical applications. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 17.
- Saleh, T. 2020. Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environ Tech & Inn*, 20.
- Sanchez-Betancourt, J., Anaya-Martinez, V., Gutierrez-Valdez, A. L., Ordonez-Librado, J. L., Montiel-Flores, E., Espinosa-Villanueva, J., Reynoso-Erazo, L. and Avila-Costa, M. R. 2012. Manganese mixture inhalation is a reliable Parkinson disease model in rats. *NeuroToxicology* 33: 1346–1355.
- Saygılı, Y. 2015. Bazı Nanopartiküllerin (SiO₂, CuO, Fe₂O₃) In Vitro Periferik İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Schladt, T. D., Schneider, K., Schild, H. and Tremel, W. 2011. Synthesis and bio-functionalization of magnetic nanoparticles for medical diagnosis and treatment. *Dalton Trans*, 40: 6315.

- Shahri, M.M. 2020. Harnessing Nanoscale Surface Interactions. Chapter3: Magnetic materials and magnetic nanocomposites for biomedical application. Henry, D.J., Elsevier Inc. All.
- Shubayev, V.I., Pisanic II, T.R. and Jin, S., 2009. Magnetic nanoparticles for theragnostics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61: 467-477.
- Singh, N., Manshian, B., Jenkins, G. J. S, Griffiths, S. M., Williams, P. M., Maffei, T. G. G., Wright, C. J. and Doak, S. H. 2009. NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*, 30: 3891–3914.
- Singh, S.P., Kumari, M., Kumari, S.I., Rahman, M.F. Kamal, S.S.K., Mahboob, M. and Grover, P. 2013. Genotoxicity of nano- and micron-sized manganese oxide in rats after acute oral treatment. *Mutat Res*, 754(1-2): 39-50 s.
- Solanki, V., Lebedev, O. I. Seikh, M., Mahato, N. K., Raveau, B. and Kundu A. K. 2016. Synthesis and characterization of Co–Ni and Fe–Ni alloy nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 420: 39–44.
- Sonavane, G., Tomoda, K. and Makino, K. 2008. Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: Effect of particle size, Colloids and Surfaces. *Biointerfaces*, 66: 274–280.
- Song, X., Kenston, S.S.F., Kong, L. and Zhao, J. 2017. Molecular mechanisms of nickel induced neurotoxicity and chemoprevention. *Toxicology*, 392: 47-54 s.
- Sousa, C.A., Soares, H.M.V.M. and Soares, E.V. 2019. Chronic exposure of the freshwater alga *Pseudokirchneriella subcapitata* to five oxide nanoparticles: Hazard assessment and cytotoxicity mechanisms. *Aquat Toxicol*, 214: 1-10 s.
- Stocker, H. and Gallant, P. 2008. Getting started : an overview on raising and handling *Drosophila*. *Methods Mol Biol*, 420: 27-44.
- Strambeanu, N., Demetrovici, L., Dragos, D. and Lungu, M., 2015. Nanoparticles' Promises and Risks. Chapter 1: Nanoparticles: Definition, Classification and General Physical Properties. In: Lungu, M. (ed), Springer International Publishing, Switzerland.
- Stroh, A., Zimmer, C., Gutzeit, C., Jakstadt, M., Marschinke, F., Jung, T., Pilgrim, H. and Grune T. 2004. Iron Oxide Particles For Molecular Magnetic Resonance Imaging Cause Transient Oxidative Stress In Rat Macrophages. *Free Radical Biology & Medicine*, 36(8): 976 – 984.
- Szabad, J., Soos, I., Polgar, G. and Hejja, G. 1983. Testing the mutagenicity of malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mosaic and the sex-linked recessive lethal tests. *Mutation Research*, 113:117-133.
- Szalay, B., Tatray, E., Nyiro, G., Vezér, T. and Dura, G. 2012. Potential toxic effects of iron oxide nanoparticles in *in vivo* and *in vitro* experiments. *J Appl Toxicol*, 32: 446-453 s.
- Tomitaka, A., Koshi, T., Hatsugai, S., Yamada, T. and Takemura, Y. 2011. Magnetic characterization of surface-coated magnetic nanoparticles for biomedical application. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 323: 1398–1403.

- Tran, N. and Webster, T.J. 2010. Magnetic nanoparticles: biomedical applications and challenges. *J Mater Chem*, 20: 8760-8767.
- Tunca, E. Ü. 2015. Nanoteknolojinin Temeli Nanopartiküller ve Nanopartiküllerin Fitoremediasyonu. *Ordu Üniv. Bil. Tek. Derg.* 5(2):23-34.
- USEPA (U.S. Enviromental Protection Agency), 2007. Nanotechnology White Paper. U.S. Enviromental Protection Agency, Washington, DC 20460.
- Vijayalakshmi, M. 2013. *Drosophila melanogaster*-Life Cycle. <http://nptel.ac.in/courses/102106035/Module%202/Lecture%206/Lecture%206.pdf>
- Yamaguchi, M. Yoshida, H. 2018. *Drosophila* as a Model Organism. *Drosophila Models for Human Diseases*, 1076: 1-10.
- Yang, H., Zhang, C., Shi, X., Hu, H., Du, X., Fang, Y., Ma, Y., Wu, H., Yang, S. 2010. Water-soluble superparamagnetic manganese ferrite nanoparticles for magnetic resonance imaging. *Biomaterials*, 31, 3667–3673.
- Yin, H., Too, H. P. and Chow, G. M. 2005. The effects of particle size and surface coating on the cytotoxicity of nickel ferrite. *Biomaterials*, 26: 5818–5826.
- Zeng, X., Xu, X., Boezen, H. M. and Huo, X. 2016. Children with health impairments by heavy metals in an e-waste recycling area. *Chemosphere*, 148: 408-415.
- Zhang, L., Gu, F. X., Chan, J. M., Wang, A. Z., Langer, R. S. and Farokhzad O. C. 2008. Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(5).
- Zhang, Y., Wang, Z., Li, X., Wang, L., Yin, M., Wang, L., Chen, N., Fan, C. and Song, H. 2016. Dietary Iron Oxide Nanoparticles Delay Aging and Ameliorate Neurodegeneration in *Drosophila*. *Adv Mater*, 28(7): 1387-1393 s.
- Zhang, Y., Zhu, L., Zhou, Y. and Chen, J. 2015. Accumulation and elimination of iron oxide nanomaterials in zebrafish (*Danio rerio*) upon chronic aqueous exposure. *J Environ Sci*, 30: 223-230 s.
- Zhu, M., Wang, Y., Feng, W., Wang, B., Wang, M., Ouyang, H. and Chai, Z. 2010. Oxidative Stress and Apoptosis Induced by Iron Oxide Nanoparticles in Cultured Human Umbilical Endothelial Cells. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10: 8584–8590.
- Zhu, X., Tian, S. and Cai, Z. 2012. Toxicity Assessment of Iron Oxide Nanoparticles in Zebrafish (*Danio rerio*) Early Life Stages. *PLOS ONE*, 7(9): 1-6 s

ÖZGEÇMİŞ

Ayşen Yağmur KURŞUN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2019-2022	Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Antalya
Lisans	Bursa Uludağ Üniversitesi
2015-2019	Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bursa

ESERLER

Ulusal / Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Yalçın, B., Güneş, M., Kurşun, A.Y., Kaya, N., Marcos, R., and Kaya, B. 2022. Genotoxic hazard assessment of cerium oxide and magnesium oxide nanoparticles in *Drosophila*. Nanotoxicology. Doi: 10.1080/17435390.2022.2098072
- 2- Kurşun, A.Y., Güneş, M., Yalçın, B., Ertuğrul, H. ve Kaya, B. 2022. Bazı Fungusitlerin Genotoksik Potansiyellerinin *Drosophila* SMART ve KOMET Yöntemleri ile Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26(1): 122-131. Doi: 10.19113/sdufenbed.984820
- 3- Kurşun, A.Y., Yalçın, B., Güneş, M., Tagorti, G. ve Kaya, B. 2021. MgO Nanopartiküllerinin *Drosophila melanogaster* Üzerindeki Davranışsal Toksisitesinin Değerlendirilmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 21(6): 1283-1294. Doi: <https://doi.org/10.35414/akufemubid.931922>

Ulusal / Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- Kurşun, A.Y., Tagorti, G., Güneş, M., Yalçın, B. ve Kaya, B. 2020. MgO Nanopartikülleri'nin *Drosophila melanogaster* Üzerindeki Davranış ve Gelişim

Biyolojisi Üzerine Etkisi. 3 rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences. (Özet Bildiri)

2- Tagorti, G., Akkurt, S., Kurşun, A.Y., Yalçın, B., Güneş, M., Kaya, N. and Kaya, B. 2020. Genotoxic effects of nutritive sweeteners in *Drosophila*. 3 rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences. (Özet Bildiri)

3- Kurşun, A.Y., Ateş, K., Güneş, M., Yalçın, B., Özen, Ş. Ve Kaya, B. 2021. Melatoninin 900 Mhz Elektromanyetik Radyasyona Karşı Koruyucu Etkisinin *Drosophila melanogaster*'da Araştırılması. 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences. (Özet Bildiri)

4- Kurşun, A.Y., Yalçın, B., Güneş, M., Tagorti, G. ve Kaya, B. 2021. *Drosophila melanogaster*'in somatik hücrelerinde kobalt nanopartiküllerinin indüklediği genotoksisiteye karşı resveratrol'ün antigenotoksik etkisi. 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences. (Özet Bildiri).

5- Kurşun, A.Y., Yalçın, B., Güneş, M. ve Kaya, B. 2022. Çok Duvarlı Karbon Nanotüplerin *Drosophila melanogaster* Üzerindeki Genotoksik Potansiyelleri. 2nd International Symposium on Advanced Engineering Technologies. (Özet Bildiri).