

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

NANO VE BULK BOYUTLARDA SERYUM (IV) OKSİT BİLEŞİĞİNİN  
GENOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Kader ARSLAN  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA

TEMMUZ-2019  
KARS



T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI



NANO VE BULK BOYUTLARDA SERYUM (IV) OKSİT BİLEŞİĞİNİN  
GENOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Kader ARSLAN  
YÜKSEK LİSANS TEZİ




DANIŞMAN  
Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA

TEMMUZ-2019

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Kader ARSLAN'ın Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “**Nano ve Bulk Boyutlarda Seryum (IV) Oksit Bileşiminin Genotoksik Etkilerinin İncelenmesi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy .....birliği..... ile kabul edilmiştir.

05/07/2019

	Adı ve Soyadı	İmza
<b>Başkan</b>	: Doç. Dr. Rövsen GULİYEV	
<b>Üye</b>	: Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA	
<b>Üye</b>	: Dr. Öğr. Üyesi Cem ÖZİÇ	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ... / ... / 20... gün ve ...  
... / ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fikret AKDENİZ  
**Enstitü Müdürü**

## ETİK BEYAN

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

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

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

**Kader ARSLAN**

**03/06/2019**



## ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

### NANO VE BULK BOYUTLARDA SERİYUM (IV) OKSİT BİLEŞİĞİNİN GENOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Kader ARSLAN

Kafkas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik Anabilim Dalı

**Danışman:** Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA

Bu çalışmada, biyomalzeme olarak kullanılan seryum (IV) oksit ( $CeO_2$ ) bileşiğinin nano ve mikro boyutlarda genotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmada, yaşları 18-25 arasında olan beş sağlıklı erkek bireyin periferal kan hücreleri kullanıldı. Araştırmamız kapsamında *in vitro* koşullarda periferal kan kültürleri  $CeO_2$  bileşiğinin nano ve mikro boyutlardaki farklı konsantrasyonlarına (0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm) maruz bırakıldı. Genotoksisiteyi belirlemek için Mikroçekirdek (MÇ) ve Kromozom Aberasyon (KA) testleri kullanıldı.

Mikroçekirdek testi sonuçları ve Kromozom Aberasyon testi sonuçları değerlendirildiğinde, nano ve bulk boyutlarda seryum oksitin bütün uygulama konsantrasyonlarının negatif kontrol grubuna göre toksik olduğu belirlenmiştir. Kromozom aberasyon frekansları incelendiğinde bulk boyuttaki seryum oksitin nano boyuta göre daha toksik olduğu tespit edilmiştir. Mikroçekirdek testi sonuçlarına göre de bulk boyutun daha toksik olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Seryum (IV) oksit, Biyomalzeme, Genotoksisite, Kromozom Aberasyon, Mikroçekirdek, Nanopartikül

2019, 43 Sayfa

## ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

### INVESTIGATION OF GENOTOXIC EFFECTS OF NANO AND MICRO SIZED CERIUM (IV) OXIDE COMPOUND

Kader ARSLAN

Kafkas University  
Graduate School of Applied and Natural Sciences  
Department of Bioengineering

**Supervisor:** Asst. Prof. Dr. Giray Buğra AKBABA

In this study, it was aimed to determine the genotoxic effects of nano and micro sized cerium oxide (CeO<sub>2</sub>) compound which is used as biomaterial. The peripheral blood cells of five healthy men aged 18-25 years were used. *In vitro*, the peripheral blood cultures were exposed to different concentrations (0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 and 50 ppm) of nano and micro sized CeO<sub>2</sub>. To determine genotoxicity, Micronucleus (MN) and Chromosome Aberration (CA) tests were performed.

When the results of Micronucleus test and Chromosome Aberration test were evaluated, it was determined that all concentrations of cerium (IV) oxide in nano and bulk sized were toxic according to the negative control group. When Chromosome Aberration frequencies were examined, it was found that cerium oxide in bulk size was more toxic than nano sized. According to the results of Micronucleus test, cerium oxide in bulk size was determined to be more toxic.

**Anahtar Kelimeler:** Cerium (IV) oxide, Biomaterial, Genotoxicity, Chromosome Aberration, Micronucleus, Nanoparticle

**2019, 43 pages**

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışma Kafkas Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA danışmanlığında yapılmıştır.

Yüksek lisans ders aşaması ve tez yazım sürecinde her zaman bana yardımcı olup değerli fikirleriyle bana yol gösteren saygıdeğer danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Giray Buğra AKBABA hocama sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Deneylein yapımı aşamasında ve tez yazımında yardımını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Füreya Elif ÖZBEK hocama da teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek Lisans öğrencisi Cem ÖZTÜRK'e desteğinden ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca deneyler için gerekli periferal kan örneklerini temin ettiğim gönüllü katılımcılara, tabii ki en önemlisi aileme ve arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkür ediyorum.

**Kader ARSLAN**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
TABLolar DİZİNİ .....	vii
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
<b>1.GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>1</b>
1.1.Giriş.....	1
1.1.1. Nanoteknoloji ve Nanopartiküller .....	1
1.1.2. Genotoksisite .....	6
1.1.3. Seryum (IV) Oksit (CeO <sub>2</sub> ).....	12
1.1.4. Literatür Bilgileri.....	12
<b>2. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>17</b>
2.1. Materyal.....	17
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	17
2.1.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar .....	18
2.1.3. Seryum (IV) Oksit Bileşiğinin Partikül Büyüklüğünün Belirlenmesi.....	18
2.1.4. Kan Örneklerinin Alınması ve Kültürlerin Kurulması .....	19
2.1.5. Seryum (IV) Oksit Çözeltisinin Hazırlanması.....	19
2.1.6. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması.....	19
2.2. Yöntem .....	20
2.2.1. Kromozom Aberasyon (KA) Yöntemi .....	20
2.2.2. Mikroçekirdek (MÇ) Yöntemi.....	21

2.3. İstatistiksel İşlemler.....	21
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>22</b>
3.1. SEM Sonuçları.....	22
3.2. Kromozom Aberasyon Testi Sonuçları .....	23
3.3. Mikroçekirdek Testi Sonuçları .....	26
<b>4. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>30</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>34</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>43</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Nanoboyutun biyolojik yapılarla gösterimi .....	1
Şekil 1.2. Dünyadaki nanoteknoloji yatırımları .....	3
Şekil 1.3. Kromozomal Aberasyon türleri .....	9
Şekil 1.4. Mikroçekirdek oluşum mekanizması .....	11
Şekil 1.5. Seryum (IV) oksitin yapısı .....	13
Şekil 3.1. Nano boyutta seryum (IV) oksitin SEM görüntüsü .....	22
Şekil 3.2. Bulk boyutta seryum (IV) oksitin SEM görüntüsü .....	23
Şekil 3.3. Bulk seryum (IV) oksite ait Kromozom Aberasyon testi sonuçları .....	24
Şekil 3.4. Nano seryum (IV) oksite ait Kromozom Aberasyon testi sonuçları .....	25
Şekil 3.5. Nano-CeO <sub>2</sub> ve Bulk-CeO <sub>2</sub> 'in aynı konsantrasyonlarda neden olduğu Kromozom Aberasyon frekanslarının istatistiki dağılımı .....	26
Şekil 3.6. Bulk seryum (IV) oksitin Mikroçekirdek testi sonuçları .....	28
Şekil 3.7. Nano seryum (IV) oksitin Mikroçekirdek testi sonuçları .....	28
Şekil 3.8. Nano-CeO <sub>2</sub> ve Bulk-CeO <sub>2</sub> 'in aynı konsantrasyonlarda neden olduğu Mikroçekirdek oranlarının istatistiki dağılımı .....	29

## TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Kullanılan kimyasal maddelerin listesi.....	17
Tablo 2.2. Kullanılan alet ve cihazların listesi.....	18
Tablo 3.1. Nano-CeO <sub>2</sub> ve Bulk-CeO <sub>2</sub> 'in Kromozom Aberasyon testi frekanslarının ayrı ayrı gruplar arası istatistiksel dağılımı .....	24
Tablo 3.2. Seryum (IV) oksit bileşiminin boyuta göre oluşturduğu Kromozom Aberasyon frekanslarının istatistiksel dağılımı .....	25
Tablo 3.3. Nano-CeO <sub>2</sub> ve Bulk-CeO <sub>2</sub> 'in oluşturduğu Mikroçekirdek oranlarının ayrı ayrı gruplar arası istatistiksel dağılımı .....	27
Tablo 3.4. Seryum (IV) oksit bileşiminin boyuta göre oluşturduğu Mikroçekirdek oranlarının istatistiksel dağılımı.....	29

## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

- °C** : Santigrat derece
- cm** : Santimetre
- g** : Gram
- mL** : Mililitre
- µm** : Mikrometre
- nm** : Nanometre
- np** : Nanopartikül
- µg** : Mikrogram
- DNA** : Deoksiribonükleik asit
- KA** : Kromozom Aberasyon testi
- MÇ** : Mikroçekirdek testi
- ppm** : Milyonda bir
- rpm** : Devir/dakika
- RB** : Retinoblastoma Hücre Hattı
- p53** : Tümör Baskılayıcı Protein
- A549** : İnsan Alveolar Epitel Hücre Hattı
- CaCo2**: Epitel Kolorektal Adenokarsinom Hücre Hattı
- HepG2**: İnsan Karaciğer Kanseri Hücre Hattı

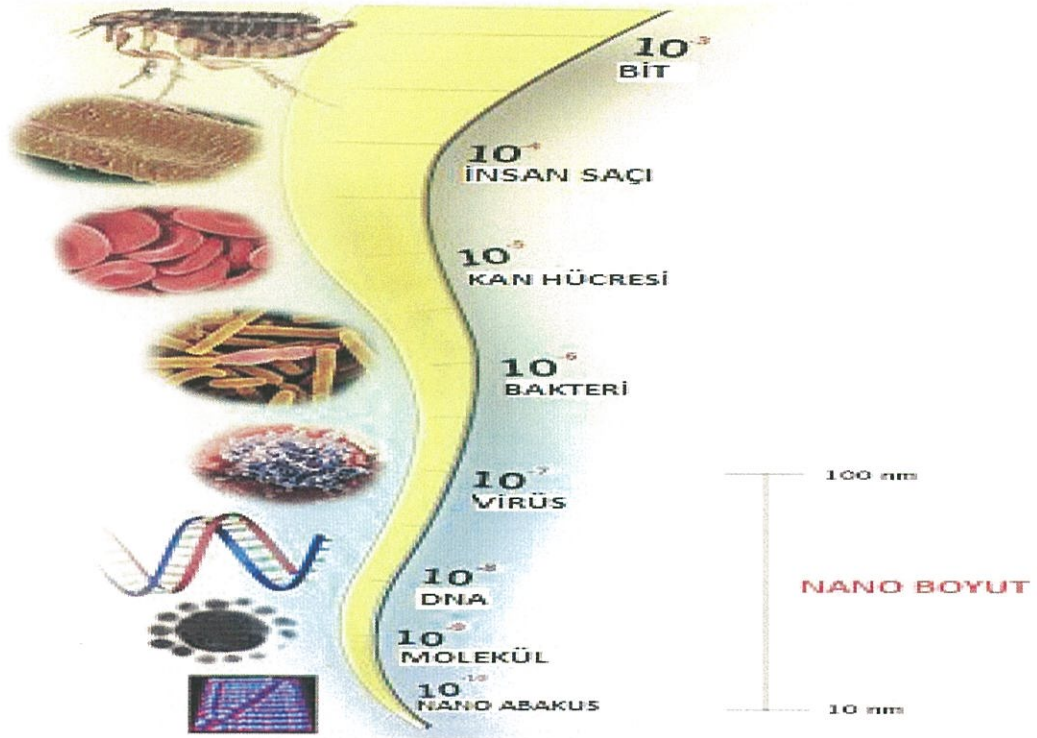


## 1.GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

#### 1.1.1. Nanoteknoloji ve Nanopartiküller

Latince bir kelime olan “nano”, cüce anlamına gelmekte olup bir fiziksel büyüklüğün bir milyarda birini ifade etmektedir (Johal M. S., 2011). Daha iyi anlaşılması amacıyla bazı biyolojik yapıların boyutları nanometre olarak Şekil 1.1’de verilmiştir.



Şekil 1.1: Nanoboyutun biyolojik yapılarla gösterimi (Anonim 1, 2019)

Maddenin atomik boyutta işlenebilme olasılığını 1959 yılında ilk kez ifade eden Richard Feynman, “Yaptığımız şeyleri görebilme ve atomik seviyede iş yapabilme yetimiz geliştirilebilirse, kimya ve biyoloji alanlarında yaşanan sorunları büyük oranda çözmek mümkün olabilecektir” diyerek nanoteknoloji biliminin temellerini attığı kabul edilmektedir (Drexler, 2004). Maddenin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin açığa çıkarılarak atomik düzeyde mühendisliğinin yapılmasına nanoteknoloji denir. Nanoteknolojinin temel amacı fonksiyonel materyallerin nanoboyutta elde edilmesini

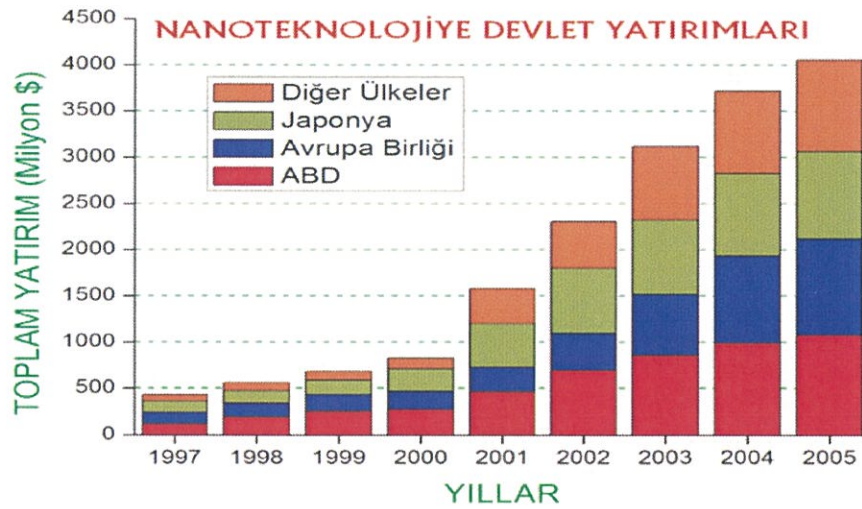
sağlamaktır. Bu sayede malzemelerin ve yapıların moleküler düzeyde işlenerek nano hassasiyette cihazların ve sistemlerin geliştirilmesi sağlanabilir (Erkan ve ark., 2005; Şenol ve ark., 2005; Kut ve Güneşoğlu, 2005). Bir başka ifadeyle nanoteknoloji, atom ve moleküllerin bir araya getirilmesi ile nanometre ölçekli fonksiyonel yapıların oluşturulmasıdır (Erkoç, 2007). Nanoteknoloji daha dayanıklı, daha hafif ve doğaya daha az zarar vererek üretim yapılmasını sağlayacak bir teknolojidir (Özdoğan ve ark., 2006).

Fizik, kimya, biyoloji ve tıp gibi alanlarda geliştirilen ve mühendislik alanında dizayn edilen nanomalzemeler, enerji, çevre, elektronik, telekomünikasyon ve bilgisayar gibi birçok teknolojik alanda geniş bir uygulama potansiyeline sahiptir. Bunun en temel sebebi nanomalzemelerin özelliklerinin makro düzeydeki malzemelerin özelliklerinden farklı olmasıdır. Birçok bilim adamı nano partiküllerin, önümüzdeki dönemlerde yeni nesil tüketim ürünlerinde, minyatürleştirilmiş bilgisayar çiplerinde, nano ölçek sensörlerde, DNA moleküllerini sıralayan cihazlar ve entegre mikrosistemler gibi alanlarda daha etkili olacağı düşünülmektedir (Miyazaki ve Islam, 2007). Nanoteknoloji yukarıda belirtilen alanların tamamında ve daha birçok alanda etkindir. Yeni bir teknoloji olmamakla beraber, mevcut teknolojilere yeni bir bakış açısı olan nanoteknoloji, bir taraftan bilinen ürün ve prosesler için teknik, ekonomik ve ekolojik parametrelerde bir performans artışını ifade ederken; diğer taraftan da mevcut teknolojilerin geliştirilmesiyle üretilen yeni ürünleri ve uygulama alanlarını ifade etmektedir (Süpüren ve ark., 2007).

Dünyada nanoteknoloji uygulamalarına bakıldığında her geçen yıl bu alanlarının arttığı görülmektedir. Pazar yönelimlerini araştıran Lux Research adlı şirketin yayınlamış olduğu bir rapora göre, özel şirketler ve üniversiteler 2004 yılında nanoteknoloji araştırmalarına 8,6 milyar dolar ayırmışlardır. Rapora göre, dünya genelinde 1.500 şirket, giderek artan oranda nanoteknoloji alanına yatırım yapmaktadır (Kut ve Güneşoğlu, 2005). ABD, Japonya, AB ülkeleri, Kore, İsrail, Güney Afrika Birliği ve Kanada gibi ülkelerde çok sayıda nanoteknoloji araştırma merkezleri kurulmuştur (Çıracı, 2006). Nanoteknoloji alanında yapılan Ar-Ge çalışmalarına ABD hükümeti tarafından 2000 yılında sağlanan destek 420 milyon dolar civarında iken 2001 yılı bütçesinde bu alana ayrılan pay yaklaşık 520 milyon dolara ulaşmış, 2003 yılı için ise



yaklaşık 700 milyon dolar olarak belirlenmiştir. 2005 yılından başlayarak 4 yıl süreyle nanoteknoloji alanında gerçekleştirilen araştırma ve geliştirme projelerinde kullanılmak üzere 3,7 milyar dolar tutarında fon ayrılmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yürütülen çalışmalar, nanoyapılı malzemeler, moleküler elektronik, modelleme, simülasyon ve nanorobotlar gibi alanlarda yoğunlaşmıştır (Ayhan, 2004). Nanoteknoloji tüm gelişmiş ve çok sayıda gelişmekte olan ülkenin öncelikli olarak araştırma desteği verdiği alanların başında gelmektedir. Örneğin; ABD, Avrupa ve Hindistan gibi ülkeler, nanoteknolojiye yatırım yapmanın zorunlu olduğunu düşünmektedirler (Üreyen, 2006; El Naschie, 2006). Şekil 1.2'de dünya genelinde nanoteknolojiye ayrılan fon miktarlarının yıllara bağlı olarak gittikçe arttığı görülmektedir. Avrupa Birliği'nin 6. Çerçeve Programı ile Türkiye'de kuramsal ve bireysel düzeyde olan nanoteknoloji araştırmaları yeniden yapılandırılmış ve büyük ivme kazanmıştır (Üreyen, 2006).



**Şekil 1.2:** Dünyadaki nanoteknoloji yatırımları (Anonim 2, 2019)

Nanoteknolojinin temelini oluşturan nanopartiküller 0,1 ile 100 nm arasındaki tanecikler olarak tanımlanmaktadır. Nanomalzemelerin içerisinde nanopartiküller, nanofiberler, nanotüpler ve nanokompozitler bulunmaktadır (Borm ve ark., 2006). Boyutları 100 nm'nin altında olan malzemelerde, kuantum mekanik güçler elektrik ve ısının daha iyi iletilmesini sağlamakta ve mekanik özellikleri modifiye edilebilir hale getirmektedir. Örneğin, karbon atomları grafit gibi çok yumuşak bir malzemeyi oluştururken aynı zamanda karbon nano-tüpler gibi çelikten daha sert malzemeleri de oluşturabilmektedir. Yarı iletken bir malzeme olan silisyum, nano boyuta inildiğinde

iletken özelliğe sahip olabilmektedir. Nanopartiküller sahip oldukları bu özellikler sayesinde ileri teknoloji uygulamalarında yer almış ve geleneksel teknolojilerle ileriye gidemeyen sektörlerle umut ışığı olmuştur. Woodrow Wilson veritabanından alınan verilere göre tüketime yönelik 800'den fazla nanomateryal içeren ürün bulunmaktadır. Bu ürünlerden 2007 yılında yaklaşık olarak 147 milyar dolar gelir elde edilmiştir (Anonim 3, 2019). Richard Feynman'ın 1959'da nano yapılara dikkat çeken konuşmasından günümüze kadar sürekli gelişen nanopartikül üretim teknikleri sayesinde değişik morfolojide ve kimyasal özellikte nanopartiküller üretilebilmektedir. Başlıca nanopartikül üretim teknikleri sol-jel, alev sentezi, mekanik aşındırma, kimyasal buhar yoğunlaştırma, inert gaz yoğunlaştırma ve ultrasonik sprey piroliz tekniği olarak sıralanabilir (Kartal, 2013).

Nanopartikülleri, metal nanopartiküller, metal oksit nanopartiküller ve metal ve metal oksit nanopartiküller şeklinde de sınıflandırılır. **Metal nanopartiküller**, yüksek aktiflikleri nedeniyle özellikle katalizör uygulamalarında kullanımları yaygındır. Demir nanopartiküller kaynak çubuklarında, alev kesicilerde, gıda zenginleştirmede, elektronik, manyetik ve kimyasal uygulamalarda kullanılmaktadırlar (Samal ve Newkirk, 2015). Demir nanopartikülleri toprak ve su kirliliğini gidermede kullanılabilir (Dickinson ve Scott, 2010). Gümüş nanopartikülleri antibakteriyel özelliğinden dolayı tıbbi cihazlar, elektrikli ev aletleri, spor, kozmetik, duvar kaplama ürünleri gibi tüketim ürünleri içerisinde bulunmaktadır. Altın nanopartikülleri ise tıpta tümörlerin tedavisinde, kalp hastalıkları, kanser ve enfeksiyon ajanlarının teşhisinde ve elektronikte rezistansların birleştirilmesinde kullanılmaktadır (Chou ve Ren, 2000; Kartal, 2013). Bakır nanopartikülleri, mürekkep püskürtme, baskı teknolojisi ve organik sentez reaksiyonlarında katalizör olarak kullanılmaktadır (Gençer, 2009). Ayrıca bakır nanopartikülleri klorlu organik kirleticiler, ağır metaller, nitratlar ve boyalar gibi değişik kirleticilerle kirlenen yer altı sularının temizlenmesinde de kullanılırlar (Huang ve ark., 2012).

**Metal oksit nanopartikülleri**, seramik, implant, yeni nesil bilgisayar çipi ve sensör üretiminde kullanılmaktadır. Titanyum dioksit nanopartiküller biyoyumlu ve biyoaktif kaplamalarda, fotokatalitik özelliklerinden dolayı kendi kendini temizleme uygulamalarında, antibakteriyel kaplamalarda ve hava temizleme uygulamalarında



kullanılmaktadır (Othman ve ark., 2012). Alüminyum oksit, demir oksit, kalay oksit, krom oksit nanopartikülleri sertlik ve aşındırma özellikleri dikkate alınarak hassas yapıların ve mücevheratların parlatılmasında kullanılır. Seryum oksit nanopartikülleri, fiber optik ve optik malzemelerin parlatılmasında; çinko oksit ve demir oksit nanopartikülleri sırasıyla genel kataliz uygulamalarında ve oksidasyon redüksiyon süreçlerinde katalizör olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca, demir oksit nanopartiküllerinin manyetik sıvılar, ilaç taşınımı, biyolojik seperasyon, güneş enerjisi dönüşümü, manyetik depolama aygıtları, elektronik sektörü, sensör ve elektrot malzemesi olarak kullanıldığı bilinmektedir (Kartal, 2013). Çinko oksit nanopartikülleri ise nano-tel, nano-çubuk, nano-yüzük ve nano-disk gibi farklı morfolojilerde üretilerek optik, optoelektronik, fotoelektronik, yüzey akustik dalga cihazları, elektronik cihazlar, varistörler ve katalizörler gibi geniş bir uygulama alanına sahiptir (Masoomi ve Morsali, 2012).

Metal ve metal oksit karışımı nanopartiküllerin üretimi ile daha fonksiyonel partiküller elde edilmiştir. Titanyum dioksit nanopartikülleri içerisine gümüş nanopartikülleri eklenerek gümüş titanyum dioksit metal/metal oksit nanopartikülleri üretilmiştir. Gümüş titanyum dioksit nanopartikülleri, antibakteriyel özellikli plastiklerin, kaplamaların, fonksiyonel elyafların, mutfak malzemelerinin ve tıbbi tesislerin imalatında dolgu maddesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Çünkü  $Ag^+$  kasyonu düşük konsantrasyonlarda bile birçok bakteri türüne karşı güçlü bir antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Cheng ve ark., 2006). Gümüş çinko oksit nanopartikülleri fotokatalitik aktiviteyi arttırmaktadır (Whang ve ark., 2012).

Nanoceria olarak bilinen nano yapılı seryum (IV) oksit, nadir toprak ailesinin, en çok bulunan metal oksitidir. Seryum (IV) oksit katalizör, iletken, elektrot, UV absorbent ve cam parlaticı olarak geniş kullanım alanlarına sahiptir. Ayrıca, zayıf lüminesans özelliği nedeniyle yüksek performanslı lüminesans aygıtlarda da kullanılmaktadır. Biyomedikal uygulamaları incelendiğinde düşük toksisitesi nedeniyle biyosensör, retina tabakasında görülen bozuklukların tedavisinde ve cilt kanseri tedavisinde antimutajenik ajan olarak kullanımı önerilmiştir (Liyang ve ark., 2015).

Nanoteknolojik ürünlerin son zamanlarda kullanım alanlarının yaygınlaşması ile doğrudan veya dolaylı olarak insanlar, diğer canlılar ve alıcı ortamlar nanomalzemelere

daha fazla maruz kalmaya başlamışlardır. Çevresel ortamlara salınan nanomalzemelerin miktarları, taşınımı, bozunumu, dönüşümü ve nihai akibetleri tam olarak bilinmemektedir. Solunum, dermal ve oral yolla vücut içerisine girebilen nanopartiküller direkt veya indirekt mekanizmalar ile genetik materyalin bütünlüğünü bozabilmektedir (Coşkun, 2012). Organik bileşiklerin doğada toksik olmayan bileşiklere dönüşebilme imkânı olmasına rağmen, inorganik bileşikler için bu durumun söz konusu değildir. Bu nedenle de mikro ve nano yapıları inorganik bileşiklerin toksik etkilerinin bilinmesi daha önemlidir (Dadook ve ark., 2014). Genotoksisite; çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, klastojenite ve anöploidi gibi hasarlar şeklinde tanımlanır (Choy, 2001; Young, 2002). Bir maddenin genotoksik olup olmadığını belirlemek için birçok genotoksisite testleri yapılmaktadır.

### **1.1.2. Genotoksisite**

Genotoksisite; DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri (Randerath ve ark., 1989; Phillips ve ark., 2000), DNA ipliğindeki kırıklar (Larsen ve ark., 1982; Bradley ve Dysart, 1985), mutasyonlar (Clive ve Spector, 1975), kromozom sayısı veya yapısındaki değişiklikler (Perry ve Evans, 1975; Galloway ve ark., 1994), DNA onarımı (San ve Stich, 1975; Mitchell ve ark., 1983) ve normal hücrelerin malign hücrelere dönüşmesi (Kakunaga, 1973; LeBoeuf ve Kerckaert, 1987) gibi durumları kapsayan genel bir terimdir. Kısaca genotoksisite bir hücrenin genetik materyalinin bütünlüğünü bozulmasıdır. DNA ile etkileşime afinitesine sahip genotoksik bileşikler potansiyel mutajenik ya da karsinojenik ajanlar olarak nitelendirilirler. Bazı bileşikler direkt olarak DNA ile etkileşim içerisine girmese bile çeşitli indirekt mekanizmalarla DNA hasarına ve dolaylı genotoksisiteye neden olabilmektedirler (Bal ve ark., 2011). Benzer şekilde toksik maddeler DNA tamir enzimlerinin sentezinden sorumlu genleri de olumsuz şekilde etkileyerek dolaylı genotoksisiteye neden olabilmektedirler (Zeiger, 2004). DNA molekülünde mutasyonlara yol açan ajanlar ya da mutajenler, DNA üzerindeki etkilerini ya doğrudan, ya da genomik bilgilere göre sentezlenen proteinlere bağlanarak dolaylı yolla gösterirler (Kirsch-Volders ve ark., 2003). Genetik hasarlar; kanser, yaşlanma, infertilite ve doğum kusurları gibi genetik ve multifaktöriyel hastalıklara yol açmaktadırlar (Atlı-Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).



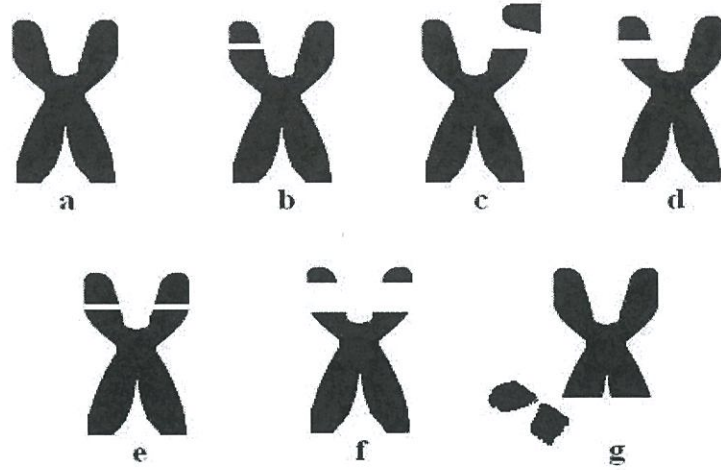
Genotoksisitenin belirlenmesi amacıyla 1970'lerden itibaren genotoksisite testleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Bedir ve ark., 2004). Toksisitenin ve buna bağlı hastalıkların erken teşhisinde "Toksisite ve Epidemiyoloji" alanındaki gelişmelerin takibi ve uygulanması önemlidir (Aykanat, 2010). Genotoksisite testleri, çeşitli mekanizmalarla genetik hasara yol açabilecek pek çok etkenin mutasyonlara, kromozom anormalliklerine veya DNA hasarlarına neden olup olmadığının belirlenmesini sağlar (Zeiger, 2004; Vural, 2005). Günümüzde yaygın olarak kullanılan standart *in vitro* ve *in vivo* genotoksisite testleri; Kardeş kromatid değişimi (KKD), Kromozom anormallikleri (KA), Ames testi, Comet testi ve Mikroçekirdek (MÇ) testleridir (Atlı-Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Bozkurt, 2016). Bu çalışmada CeO<sub>2</sub>'in genotoksisitesini belirlemek amacıyla Kromozom Aberasyon (KA) ve Mikroçekirdek (MÇ) testleri kullanılacaktır.

### **Kromozom Aberasyon Testi (KA)**

Hugo de Vries 1918 yılında yaptığı çalışmada *Oenothera* cinsinin farklı türlerinin kromozomlarında translokasyon tipi anormalliklerin olduğunu bildirmiştir (de Vries, 1918). Daha sonra *Drosophila melanogaster*'in tükürük bezi hücrelerinde yapısal kromozom anormallikleri (translokasyon ve duplikasyon) tespit edilmiştir (Morgan, 1922; Bridges, 1923). *Drosophila melanogaster*'in tükürük bezi hücreleri ve mısır bitkisinin pakiten hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda genetik materyalde delesyon, duplikasyon, inversiyon ve translokasyon gibi kararsız aberasyonların kendiliğinden meydana geldiğini saptamıştır (Giles, 1941). Genotoksik kimyasallara ve iyonize radyasyona maruz kalmış insanlarda, kromozom aberasyonu önemli bir toksisite göstergesi olarak kabul edilmiştir (Natarajan, 2002). Kromozom anormalliklerinin kanser riski belirleyicisi olarak doğrulanmasını amaçlayan ilk epidemiyolojik araştırma 1990'ların başında gerçekleştirilmiştir (Bonassi ve ark., 2004). 1960'lı yılların başında, Theodor Boveri'nin öngörüsü ile insan primer tümöründe ilk spesifik kromozom anormalliği ile kromozomal düzenlemelerin karsinogenezdeki ana rolü tam olarak tanımlanmıştır. 1980'lerde, çoğunlukla hematolojik tümörlerde meydana gelen bir dizi yeni kansere özgü düzenlemeler (çoğu translokasyonlar) bulunmuş ve onların mekanik yönleri daha ayrıntılı bir şekilde belirlenmiştir. Hücre büyümesi, gelişimi ve hayatta kalması gibi bazı kritik aşamalar içeren kromozomal yeniden düzenlemelerden etkilenen birçok genin gözlemlenmesi, yeniden düzenlemelerin bu hedef genlerin

işlevini nasıl değiştirdiğini göstermektedir. Bu, kromozomal değişikliklerin oluşum mekanizmalarının ve bunların kanser gelişimindeki rollerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Hematolojik malignitelere ilişkin bazı translokasyon örnekleri ile birlikte kromozomal translokasyonların oluşumunun ve sonuçlarının ilginç bir açıklaması Rowley (1998) tarafından yayınlanan bir inceleme makalesinde verilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre birçok kromozom anomalisi, özellikle translokasyonlar veya inversiyonlar, lösemi, lenfoma ve sarkomun belirli bir morfolojik veya fenotipik alt tipi ile yakından ilişkilidir. Ayrıca, kromozom translokasyon çalışmalarında, bu düzenlemelerin çoğunda tanımlanan eşsiz füzyon genleri ve proteinleri malign hücreler için tümöre özgü belirteçler olduğu için gelecekte daha da büyük bir öneme sahip olacağına değinilmiştir. Solid tümörlerde, kromozom materyali kaybının, özellikle RB, p53 ve BRCA1 gibi tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonunun kaybı, hücrelerin kötü huylu transformasyonunda kritik bir rol oynadığı da çalışmada açıkça belirtilmiştir (Bonassi ve ark., 2004; Boveri, 1914; Rowley, 1998). Kromozom anormallikleri sayısal ve yapısal anormallikler olarak iki ana gruba ayrılır. Sayısal kromozom anormallikleri anöploidi ve poliploidi'dir. Trizomi 21 (Down sendromu) ve Monozomi (Turner sendromu) çok bilinen sayısal kromozom anormallikleridir (De Arce ve Kearns, 1984; Sutherland, 1983; Antonarakis, 1998). Duplikasyonlar, delesyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar, izokromozom ve insersiyon ise yapısal kromozom anormallikleridir (Karkucak, 2016). Kromozom Aberasyon testi yapısal kromozom anormalliklerinin belirlenmesi için kullanılan en etkin ve yaygın yöntemlerden biridir. Özellikle kromozom ve kromatid seviyesinde meydana gelen yapısal aberasyonların tespitinde kullanılmaktadır (OECD, 1997). Kırık ve gap sıklıkla karşılaşılan aberasyon çeşitleridir. Bu aberasyon çeşitleri kromozom seviyesinde görülebileceği gibi kromatid seviyesinde de görülebilir. Eğer yapısal kromozom aberasyonu tek bir kromatidde görülüyorsa buna kromatid tip, her iki kromatidde de görülüyorsa kromozom tip aberasyon denir (Speicher ve ark., 2009). Kromozom veya kromatid tipi aberasyon çeşitlerinin ortaya çıkmasında, etkisi araştırılan maddenin özelliği ve uygulama zamanı belirleyici olmaktadır (Muranlı, 2006). Büyük boyutlarından dolayı DNA molekülleri, interfazın özellikle S evresinde, kimyasal veya fiziksel ajanların hedefi haline gelmektedir (Obe ve ark., 2002).





**Şekil 1.3:** Kromozomal Aberasyon türleri a) normal kromozom, b) kromatid gap, c-d) kromatid kırığı, e) kromozom gap, f-g) kromozom kırığı) (Türkez, 2007)

Kromozom Aberasyon testinde mikroskopik incelemeler yapılırken, 46 kromozomlu metafaz hücreleri bulunmasına; iyi boyanmış kromozomların değerlendirilmesine; kromozomların kollarının ayrılmış olmasına ve kromozomların üst üste gelmemiş olmasına dikkat edilmelidir. Ayrıca dağınık metafaz plaklarının dikkate alınmamadır (Hatayoğlu, 2004).

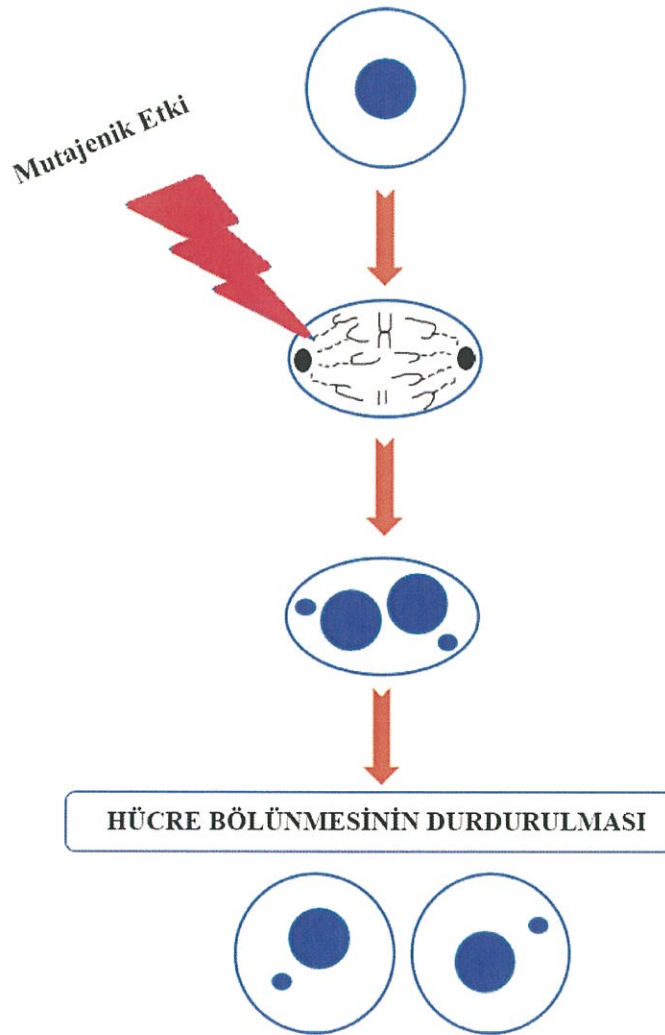
#### **Mikroçekirdek Testi (MÇ)**

İnsan popülasyonunun genetik bütünlüğü, daha önce hiç olmadığı kadar fazla kanser vakasının ortaya çıkması sonucu, çeşitli fiziksel ve kimyasal maddelere maruz kalmaktan dolayı sürekli bir tehdit altındadır. İnsanlarda görülen büyük neoplazi (katı neoplazmalar dahil) çeşitleri kromozomal anormallikler sergiler (Rowley, 1980; Yunis, 1983). Sadece tümör dokusu örnekleri değil, kanser hastalarının periferik kan lenfositlerinin de yüksek oranda sayısal ve yapısal kromozomal anormallikleri gösterdiği bildirilmiştir (Murty ve ark., 1985; Ochi ve ark., 1988; van den Berg-de Ruitter ve ark., 1990; Venkatachalam ve ark., 1999). Mikroçekirdek terimi 1951 yılından itibaren kullanılmaya başlanmış ve mikroçekirdeğin anafazın sonlarına doğru atılan bir asentrik fragmentten veya hücre bölünmesi sırasında geride kalan bütün bir kromozomdan oluştuğu belirlenmiştir (Heddle ve Carrano, 1977). Mikroçekirdekler, 100 yıldan uzun süredir hematolojide Howell Jolly cisimleri olarak bilinmektedir.

Mikroçekirdekler, eritrositlerde görülen düzgün şekilli yuvarlak nükleer kromatin kalıntılarıdır ve hemoglobinin oksidatif hasarından ve çökmesinden kaynaklanan Heinz veya Heinz Ehrlich cisimleri ile karıştırılmamalıdır (Krsihna ve Hayashi 2000; Kirsch-Volders ve ark., 2003). Mikroçekirdekler, hücrelerin ana çekirdeğine kıyasla daha küçük çekirdeklerdir. Küçük mikroçekirdekler içerisinde kromozomal fragmentleri bulundururken, geri kalmış kromozomlar ise daha büyük mikroçekirdeklerin oluşumuna neden olur. Kromozomal fragmentleri barındıran mikroçekirdekler, doğrudan DNA kırılmasından, hasarlı bir DNA'nın çoğaltılmasından veya DNA sentezinin inhibisyonundan kaynaklanır. Bütün kromozomları barındıran büyük mikroçekirdekler, öncelikle mitotik milin, kinetokor veya mitotik aparatın diğer kısımlarının bozulmasından veya kromozomal alt yapıların zarar görmesinden, hücresel fizyolojideki değişikliklerden ve mekanik bozulmadan dolayı oluşurlar. Dolayısıyla, mikroçekirdekli hücrelerin sıklığındaki bir artış, klastojenik (kromozom kırılması; hedef olarak DNA) veya anöjenik (kromozom sayısı üzerindeki etki; çoğunlukla DNA olmayan hedef) etki tarzlarına sahip ajanlara maruz kalmayı yansıtan bir genotoksik etkiyi belirlemektedir. Mikroçekirdek testi uygun şekilde yapıldığında hem klastojeniteyi hem de anöjeniteyi tespit etme imkanı sunar (Schmid, 1975). Kromozomal hasarın nicel bir ölçüsü olarak mikroçekirdek oranının kullanımı ilk olarak Evans ve ark. (1959) tarafından, bir iğ zehirinin daha önce *in vivo* olarak tümör hücrelerinde mikroçekirdeğe sebep olması ile ortaya atılmıştır. O zamandan beri, çeşitli memeli hücre hatlarında genotoksik ajanların taranması için en hızlı yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir (Evans ve ark., 1959). 1970'lerin başında iki bağımsız araştırma grubu, *in vivo* olarak mutajenlere maruz kalan hayvanlarda, kemirgen kemik iliği eritrositlerinde kromozomal hasarın bir ölçüsü olarak mikroçekirdek oluşumunu kullanmışlardır (Matter ve Schmid, 1971; Heddle, 1973). Countryman ve Heddle (1976), kültürlenmiş periferik lenfositleri kullanarak *in vitro* bir yöntem geliştirmişlerdir. Fenech ve Morley (1985) sitokinez blok yöntemini önerdiğinde bu alanda bir atılım gerçekleşmiştir. Bu yöntemde, mitozu bloke etmeden sitokinezi inhibe etmek için *Helminthosporium dematioides*'den izole edilen bir mikotoksin olan sitokalazin-B'yi kullanmışlardır (Carter, 1967). Sitokalazin-B kullanımına bağlı olarak sitoplazma bölünmesi gerçekleşmediği için iki çekirdekli hücreler oluşmuştur. Bu sayede sadece bir defa çekirdek bölünmesi geçiren hücrelerde mikroçekirdek tanımlanması ve skorlanması gerçekleştirilebilir (Doherty ve ark., 2016).

Ayrıca Sitokalazin-B kullanımı, hücrenin sitokinezini inhibe ettiği için sonraki hücre bölünmesiyle ilgili herhangi bir fragman veya kromozom kaybını önleyerek ilk bölünen hücrelerdeki mikroçekirdeğin sayılmasını sağlar (Jagetia ve ark., 2001).

Mikroçekirdek testi, çeşitli ajanların genotoksik özelliklerinin *in vitro* /*in vivo* olarak değerlendirilmesi için kullanılan basit ve hassas bir yöntemdir. Mikronükleus testi, kültürlenmiş memeli hücreleri ve insan hücreleri ile yapılan *in vitro* çalışmalarda da yaygın olarak kullanılır.



Şekil 1.4: Mikroçekirdek oluşum mekanizması



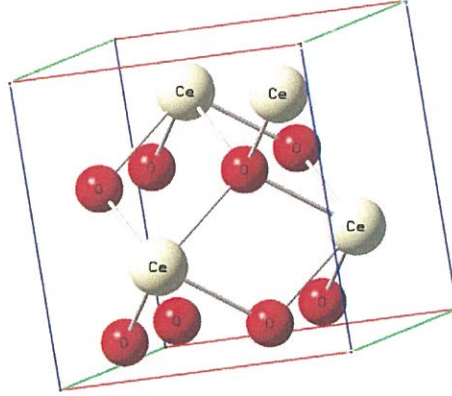
Mikroçekirdek testinde de Kromozom Aberasyon testinde olduğu gibi mikroskobik incelemeler yapılmaktadır. Mikroçekirdekler morfolojik olarak ana çekirdek ile aynıdır. Ancak daha küçüktürler. Bu nedenle mikroçekirdek sayımında dikkat edilmesi gereken bazı hususlar vardır. Bunlar;

- İnsan lenfositlerindeki mikroçekirdeklerin çapı, ana çekirdeğin çapının 1/16 ile 1/3'ü arasında değişir.
- Sayımı yapılan mikroçekirdekler düzgün hatlara sahip yuvarlak veya oval biçimli olmalıdır.
- Ana çekirdek ile mikroçekirdekler birbirinden tamamen bağımsız olmalı, aralarında herhangi bir köprü bulunmamalıdır.
- Boyama yoğunluğuna bakıldığında, mikroçekirdekler ile ana çekirdekler aynı boyama yoğunluğuna sahip olmalıdır. Ancak bazı istisnai durumlarda mikroçekirdekler daha yoğun boyanmış olabilir.
- Mikroçekirdekler ile anaçekirdek kesinlikle üst üste gelmemeli ve sınırları ayırt edilebilir olmalıdır.
- Yalnızca sitokinezi bloke olmuş binükleer hücrelerdeki mikroçekirdekler sayılmalıdır (Titenko-Holland ve ark., 1997; Fenech ve ark., 2003; Yılmaz, 2013).

### 1.1.3. Seryum (IV) Oksit

Seryum, lantanit serisinin ikinci ve en reaktif elementidir. Seryum, 1803 yılında birbirinden bağımsız olarak çalışan Klaproth, Berzelius ve Hisinger tarafından keşfedilmiştir. “Ceria” adını ise 1801’de keşfedilen “Ceres” astreoidinden almıştır (Weeks, 1932). Seryum, en bol bulunan nadir toprak elementidir (Patnaik, 2002). Çeşitli minerallerin bileşiminde bulunmaktadır. Seryum gaz aydınlatıcılarda, ateşleme aygıtlarında, uzay gemisi yakıtı bileşeni olarak ve vakum tüplerinde gaz giderici olarak kullanılmaktadır. Seryum, +3 ve +4 yükseltgenme basamaklarına sahiptir.  $Ce^{+4}$   $[Xe]4f^0$  elektronik konfigürasyonuna sahiptir ve  $Ce^{+3}$  için verilen  $[Xe]4f^1$  elektronik konfigürasyona kıyasla daha kararlı kabul edilmektedir. Yükseltgenme basamaklarına bağlı olarak seryumun bilinen iki oksidi vardır. Bunlar seryum (IV) oksit ve seryum seskioksit ( $Ce_2O_3$ )’dir. Seryum dioksit kübik (florit) bir yapıya sahiptir. Sitokiyometrik

yapısında kübik yapının merkezinde dört oksijen atomu ve merkezi oksijenleri çevreleyen eşgüdümlü sekiz seryum atomu bulunmaktadır. Seryum, köşeleri oksijen atomları tarafından işgal edilen tetrahedronun ortasındadır (Malavasi ve ark., 2010).



**Şekil 1.5:** Seryum (IV) oksitin yapısı (Bumajdad ve ark., 2009).

Seryumun doğada bol miktarda bulunması, onun çeşitli sektörlerde geniş uygulama alanları bulmasını ve teknolojik olarak önemli hale gelmesini sağlamıştır (Patnaik, 2002; Haynes, 2017). Seryum (IV) oksit, absorpsiyon katalizörü, yakıt hücrelerinde elektrolit malzemesi, yüksek refraktif indeks malzemeleri, dizel yakıt katkısı, gaz sensörü, oksijen sensörü, yakıt pili ultraviyole emicisi, optik cihaz, kozmetikte UV önleyici malzeme, oksijen membranı, cam parlatma malzemesi, paslanmaz çeliğin kaplama malzemesi, otomobillerde katalitik dönüştürücü, elektrokromik ince film olarak tıp, biyomedikal, biyoteknoloji ve çevre kimyası alanlarında yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Kargozar ve ark., 2018; Kaspar ve ark., 1999; Jasinski ve ark., 2003; Park ve ark., 2000; Sun ve ark., 2010; Li, 2002; Goubin ve ark., 2004; Yin ve ark., 2006; Feng, 2006; Özer, 2001; Tarnuzzer ve ark., 2005; Asati ve ark., 2009; Ali ve ark., 2017; Masui ve ark., 2000; Mogensen, 2000; El-Toni ve ark., 2005; Patil ve ark., 2002; Niu ve ark., 2007; Chen ve ark., 2006). Ayrıca,  $Ce^{+4}$ 'ün  $Ce^{+3}$ 'e indirgenmesi ile oluşan oksijen boşluğu nedeni ile serbest radikal süpürücü özelliğe sahiptir. Bu özelliği sayesinde biyolojik sistemlerde oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (Niu ve ark., 2007).



Bu çalışmada biyomedikal uygulamalarda kullanılan nano seryum (IV) oksit bileşiminin genotoksisite profilinin belirlenmesi ve aynı koşullarda bulk boyuttaki seryum (IV) oksit genotoksisitesi ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda daha önce de belirtildiği gibi Kromozom Aberasyon ve Mikroçekirdek test yöntemleri kullanılmıştır.

#### **1.1.4. Literatür Bilgileri**

CeO<sub>2</sub> nanopartikülleri son zamanlarda biyomedikal uygulamalarda ilgi görmektedir. Bu nanopartiküllerin toksik maddelere ve radyasyona maruz kalma sonucunda ortaya çıkan bazı nörolojik bozukluklar, kardiyak-beyin iskemisi/reperfüzyon ve retinal nörodejenerasyon gibi hastalıklarda indüklenen hücrel hasara karşı koruyucu etkiler gösterdikleri tespit edilmiştir (Culcasi ve ark., 2012; Mittal ve Pandey, 2014). Ayrıca CeO<sub>2</sub> nanopartikülleri bazı serbest radikalleri süpürücü etkisi sayesinde antioksidan ve antienflamatuvar (Hirst ve ark., 2009; Xue ve ark., 2011), nöroprotektif (Schubert ve ark., 2006), kardiyoprotektif (Niu ve ark., 2007) ve pankreas kanser hücreleri üzerinde potansiyel antikanserojen (Wason ve ark., 2013; Pulido-Reyes ve ark., 2015) özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Nano-CeO<sub>2</sub>'in antioksidan veya prooksidan aktivitesi üzerinde pH önemli bir rol oynar. Nitekim, nötr pH'da, CeO<sub>2</sub> nanopartikülleri, antioksidan özellik gösterirken, asidik pH'da sitotoksik etkilere yol açan oksidazlar gibi davranırlar (Gao ve ark., 2014; Lord ve ark., 2012; Pešić ve ark., 2015; Rosenkranz ve ark., 2012). Ayrıca, belli konsantrasyonlarda nano-CeO<sub>2</sub> ile mumele edilen insan göğüs tümör hücreleri (MCF-7) ve sağlıklı hücreler üzerine radyoterapinin etkileri Tarnuzzer ve arkadaşları tarafından incelenmiştir. Radyoterapi sonucunda sadece sağlıklı hücreleri (% 99 oranında) korunduğu belirlenmiştir. Yani nano-CeO<sub>2</sub> radyoterapinin zararlı etkilerine karşı sağlıklı hücreleri koruyucu etkiye sahiptir (Tarnuzzer ve ark., 2005). Nitekim, CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin toksisitesi literatür sonuçlarına göre tartışmalı olmaya devam etmektedir. Son raporlar, CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerine maruz kalmanın insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açabileceğini göstermiştir. Aalapati ve araştırma ekibi CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin solunması durumunda pulmoner ve ekstrapulmoner toksisiteye neden olabileceğini bildirmişlerdir (Aalapati ve ark., 2014). Yapılan bir diğer çalışmada, CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin ROS serbest radikalinin neden olduğu DNA hasarı ve hücre döngüsünün bloke oluşuna neden olduğu bildirilmiştir (Mittal ve

Pandey, 2014). A549, CaCo2 ve HepG2 hücre hatları üzerinde yapılan *in vitro* çalışmada, seryum oksit nanopartikülerine uzun süreli maruz kalınması durumunda sitotoksik ve genotoksik olduğunu belirlenmiştir (De Marzi ve ark., 2013). Wu ve arkadaşları nano-CeO<sub>2</sub>'nin dizel yakıt katkısı olarak kullanıldığında uzun süreli maruz kalışın karaciğer, dalak, böbrek ve beyinde lipid peroksidasyonunu tetiklediğini belirlemişlerdir (Wu ve ark., 2019).

Benameur ve arkadaşları (2015) nano-CeO<sub>2</sub>'in 6x10<sup>-5</sup>-6x10<sup>-3</sup> g/L (0,22-22 µM) konsantrasyon aralığında primer insan deri fibroblastlarında genotoksik olduğunu belirlemişlerdir. Auffan ve arkadaşları (2009), nano-boyutlu (7 nm) CeO<sub>2</sub>'in *in vitro* koşullarda insan dermal fibroblastları üzerinde çok düşük dozlarda (6x10<sup>-6</sup>-0,6 g/L) bile oksidatif strese bağlı olarak DNA lezyonlarını ve kromozom hasarını artırdığını ortaya koymuşlardır. Nano ve bulk boyutlarda seryum (IV) oksite *in vivo* koşullarda Wistar ratların uzun süre maruz bırakıldığında (28 gün) artan doza bağlı olarak periferik kan lökosit hücrelerinde DNA lezyonlarının arttığı ve karaciğer, böbrek ve beyin gibi önemli organlarda histopatolojik değişikliklerin ortaya çıktığı belirlenmiştir (Kumari ve ark., 2014). Könen-Adıgüzel ve Ergene (2018) *in vitro* koşullarda, Comet, Mikroçekirdek ve Gama H2AX testleri kullanılarak nano-CeO<sub>2</sub>'e insan kan lenfositleri üzerinde kısa süreli maruz kalındığında (3-24 saat) bile genotoksisiteye neden olduğunu rapor etmişlerdir. Kargar ve arkadaşları (2015) sentezledikleri 10,5 nm boyutundaki CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin farklı konsantrasyonlarda (0-800 µg/mL) L929 hücre hattı üzerine MTT test yöntemi sonuçlarına göre herhangi bir sitotoksik etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır.

Aynı kimyasal bileşime sahip, sadece morfolojileri (çubuk veya oktahedral/kübik) farklı olan CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin morfolojisinin *in vitro* toksisitesi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Üç farklı morfolojiye sahip CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerine maruz bırakılan RAW264.7 hücre hattından gelen makrofajlar üzerinde ROS üretiminin gerçekleşmediği tespit edilmiştir. Ayrıca kübik ve oktahedral nanopartiküllerin aksine, çubuk şekilli nanopartiküllerin önemli ölçüde ve doza bağlı olarak pro-enflamatuar etki ve sitotoksisite gösterdiği belirlenmiştir (Forest ve ark., 2017). İnsan epitelyal akciğer hücre hattına (BEAS-2B) 2,5 µg/mL konsantrasyondaki CeO<sub>2</sub> nanopartikülleri ile ön muamele yapılmış (Rubio ve ark. 2016) ve nanopartikülün oksidatif stresi indükleyici

ajan olarak kullanılan  $KBrO_3$  ile indüklenen ROS'un hücre içi üretimini önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. De Marzi ve arkadaşları (2013) 0,5-5000  $\mu g/mL$  konsantrasyon aralığında  $CeO_2$  nanopartiküllerinin A549,  $CaCo_2$  ve HepG2 hücre hatlarına kısa süreli (24 saat) maruz kalma durumunda nanopartiküllerin toksisite sergilemediğini ancak uzun süreli (10 gün) maruziyetin toksisiteye neden olduğunu MTT ve Comet yöntemlerinin sonuçlarına göre belirlemişlerdir.



## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin isimleri, kimyasal formülleri, temin edilen firma adları ve CAS numaraları Tablo 2.1’de verilmiştir.

**Tablo 2.1:** Kullanılan kimyasal maddelerin listesi

Madde Adı	Kimyasal Formülü	Firma Adı	CAS Numarası
Kromozom Medyum B	-	Gibco™	12557021
Sitokalazin-B	C <sub>29</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>5</sub>	Sigma-Aldrich	14930-96-2
Kolsemid	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>5</sub>	Roche	10 295 892 001
Giemsa Boyası	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>3</sub> S	Sigma-Aldrich	51811-82-6
Mitomisin-C	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>	Sigma-Aldrich	50-07-7
Potasyum Klorür	KCl	Sigma-Aldrich	7447-40-7
Glasiyal Asetik Asit	CH <sub>3</sub> COOH	Sigma-Aldrich	64-19-7
Disodyum Hidrojen Fosfat	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Sigma-Aldrich	7558-79-4
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	Sigma-Aldrich	67-56-1
Potasyum Dihidrojen Fosfat	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Sigma-Aldrich	7778-77-0
Seryum (IV) Oksit Bulk	CeO <sub>2</sub>	Sigma-Aldrich	1306-38-3 Ürün Kodu: 202975
Seryum (IV) Oksit Nano	CeO <sub>2</sub>	Sigma-Aldrich	1306-38-3 Ürün Kodu: 544841
Heparin (Nevparin)	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> N <sub>2</sub> O <sub>37</sub> S <sub>5</sub>	Mustafa Nevzat İlaç Firması	8699541770408

### 2.1.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan alet ve cihazların adı, marka ve modelleri Tablo 2.2’de verilmiştir.

**Tablo 2.2:** Kullanılan alet ve cihazların listesi

<b>Cihaz Adı</b>	<b>Marka</b>	<b>Model</b>
Hassas Terazi	OHAUS Pionner (ABD)	PA214C
Saf Su Cihazı	Nüve (Türkiye)	ND 4
Su Banyosu	Nüve (Türkiye)	BM 101
Etüv	J.P. Selecta (İspanya)	Digiheat
Vorteks Cihazı	ISOLAB (Almanya)	622.01.001
Santrifüj Cihazı	HETTICH (Almanya)	EBA 200
Otomatik Pipet	GILSON	P2, P10, P200, P100, P1000
Otomatik Pipet	NICHIRYO (Japon)	Nichipet EX II
pH Metre	HANNA (Romanya)	H1 2211
Mikroskop	Biological Microscope (Çin)	XSZ-107BN
SEM	Zeiss	Sigma 300

### 2.1.3. Seryum (IV) Oksit Bileşiminin Partikül Büyüklüğünün Belirlenmesi

Ticari olarak satın alınan nano ve bulk boyuttaki seryum (IV) oksit bileşiminin partikül büyüklükleri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) yardımı ile belirlenmiştir.

#### **2.1.4. Kan Örneklerinin Alınması ve Kültürlerin Kurulması**

Bu çalışmada yaşları 18 ile 25 arasında olan 5 sağlıklı erkek bireyin heparinize periferik kan örnekleri kullanılmıştır. Bu bireyler alkol, sigara ve uyuşturucu gibi bağımlılık oluşturacak herhangi bir madde veya tedavi amaçlı herhangi bir ilaç kullanmayan ve belirli bir genetik veya sistemik hastalığı olmayan ayrıca yaptığı meslek dolayısıyla fiziksel ve kimyasal mutajenlere maruz kalmamış gönüllü bireylerdir. Kültürlere uygulanacak dozlar, yapılan ön deneyler ve literatür bilgilerinin taranması sonucunda belirlenmiştir. Bu doğrultuda genotoksik etkisi araştırılan nano ve mikro boyutlarda seryum (IV) oksit'in uygulama konsantrasyonları 0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm olarak belirlenmiştir. Genotoksisite araştırmaları 72 saatlik tam kan kültürleri ile yapılmış ve protokoller doğrultusunda hazırlanan lamlar mikroskopik analiz için uygun koşullarda muhafaza edilmiştir. Negatif kontrol grubu olarak fizyolojik su ve pozitif kontrol grubu olarak ise Mitomisin-C (MMC) ( $10^{-7}$ M) kullanılmıştır.

#### **2.1.5. Seryum (IV) Oksit Çözeltisinin Hazırlanması**

Seryum (IV) oksit çözeltisi, 50 mg nano boyuttaki Seryum (IV) oksit kullanılarak 1 L %0.9 NaCl (izotonik) çözeltisi içerisinde çözülerek hazırlandı. Hazırlanan 50 ppm'lik stok çözeltiden 0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5 ve 25 ppm'lik çözeltiler seyreltilerek hazırlandı. Bulk boyuttaki Seryum (IV) oksit stok çözeltileri de aynı şekilde hazırlandı.

#### **2.1.6. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması**

##### **Hipotonik çözeltinin hazırlanışı**

0,075 M'lık KCl çözeltisi hazırlamak için 0,5592 g KCl tartılıp balon jöjeye alındı. Bir miktar (5-10 mL) suda katı kısım tamamen çözüldükten sonra 100 mL'ye tamamlandı. 0,075 M'lık KCl çözeltisi kullanılmadan önce etüvde 37 °C'de bekletildi.

### **Carnoy fiksatifinin hazırlanışı**

Fiksatif çözeltisi hazırlamak için 1:3 (V/V) oranında glasiyel asetik asit:metanol kullanıldı. Soğuk olarak kullanılması gereken fiksatif çözeltisi deneyler başlatılmadan iki saat önce hazırlanarak buzdolabında (+4 °C'de) bekletildi.

### **Giemsa boya çözeltisinin hazırlanışı**

Boya çözeltisinin hazırlanmasında kullanılmak üzere, 11,88 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 L distile suda (A çözeltisi) ve 9,08 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 L distile suda (B çözeltisi) çözüldü. Şaleye 30 mL A çözeltisi konuldu. pH 6,8 olana kadar B çözeltisinden eklendi. Hazırlanan çözeltinin üzerine 5 mL Giemsa boyası eklendi ve pipetaj ile karıştırıldı. Süzgeç kâğıdı ile çözelti üzerinde biriken yağ tabakası alındı. Çözelti oda sıcaklığında bekletildi.

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Kromozom Aberasyon (KA) Yöntemi**

- Steril hücre kültür tüpleri etiketlenerek içerisine 37 °C sıcaklıkta bekletilen Kromozom Medium B besiyerinden 6 mL konuldu.
- Heparinize enjektöre alınan 0,5 mL tam kan besiyerinin üzerine eklendi.
- Tüplere 0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm konsantrasyonlarda hazırlanmış Seryum (IV) oksit çözeltilerinden 0,5 mL ilave edildi. Kapakları kapatılan tüpler alt üst edilerek karıştırıldı ve etüvde 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.
- 70 saat 15 dakika inkübasyondan sonra, 0,1 mL kolsemid çözeltisinden tüplere eklendi. Tüpler 1 saat 45 dakika daha 37 °C'lik etüvde bekletildi.
- Etüvden çıkarılan tüpler 900 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi.
- Oluşan süpernatant pastör pipeti yardımıyla atıldıktan sonra pipetaj yapılarak tüpte kalan hücre süspansiyonu (pellet) karıştırıldı.
- Pellet üzerine 8 mL hipotonik çözeltisi damla damla ilave edildi.
- Tüpler 37 °C'de 15-20 dakika inkübe edildi.
- Etüvden çıkarılan tüpler 900 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüjlendi ve oluşan süpernatant atıldı.



- Kalan pellet üzerine önceden hazırlanmış olan soğuk tespit çözeltilisinden 7 mL yavaşça eklendi ve tekrar santrifüj yapıldı. Oluşan süpernatant atıldı. Bu işlem iki kez daha tekrar edildi.
- Tüpün alt kısmında kalan son pellet önceden numaralandırılmış, temizlenmiş ve soğutulmuş (+4 °C'de) lamlara pipet yardımı ile 45°'lik açı ile yayıldı. Lamlar karanlık bir ortamda 3 gün süreyle kurumaya bırakıldı.
- 3. günün sonunda preparatlar giemsa boyası ile boyanarak kurumaya bırakıldı.
- İncelemeye hazır hale gelen preparatlar ışık mikroskobunun ×100'lük objektifinde immersiyon yağı kullanılarak incelendi. Her birey için 30 metafaz plağı incelenerek yapısal kromozom aberasyonları sayıldı.

### **2.2.2. Mikroçekirdek (MÇ) Yöntemi**

Mikroçekirdek yöntemi işlem basamakları açısından Kromozom Aberasyon yöntemiyle benzerlikler göstermektedir. Mikroçekirdek yönteminde inkübasyon başlangıcından 44 saat sonra, tüplerdeki son konsantrasyon 3 µg/mL olacak şekilde 0,1 mL sitokalazin-B eklendi. Sitokalazin-B eklendikten sonra 72 saatlik inkübasyon süresinin tamamlanması beklendi. 72 saatin sonunda diğer işlem basamakları Kromozom Aberasyon testindeki ile aynı şekilde uygulanarak elde edilen preparatlar incelemeye hazır hale getirildi. Preparatlar ışık mikroskobunun ×100'lük objektifinde immersiyon yağı kullanılarak incelendi. Mikroçekirdek değerlendirme kriterleri dikkate alınarak her bir birey için her bir konsantrasyonda 1500 binükleuslu hücre sayıldı ve MÇ oranı hesaplandı.

### **2.3. İstatistiksel İşlemler**

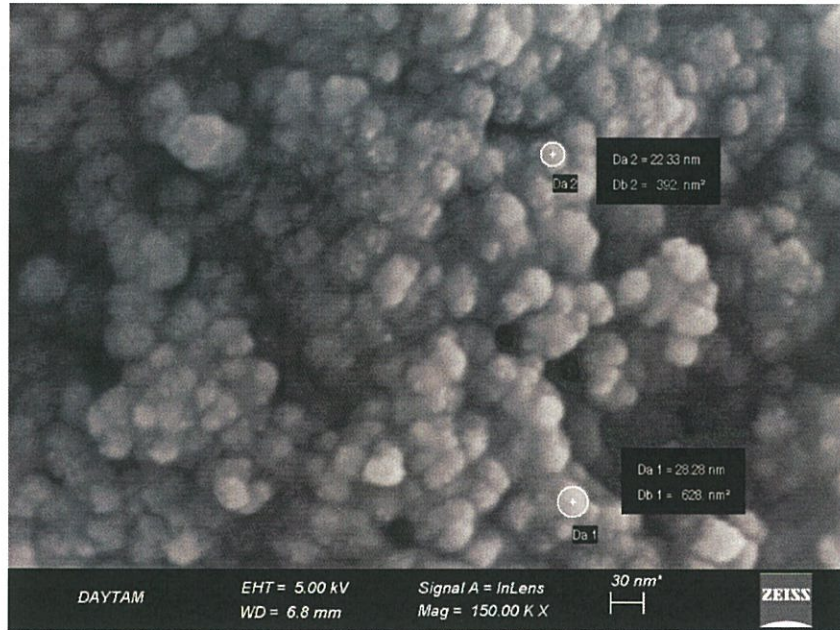
Deneysel çalışmalardan elde edilen verilerin istatistiksel yönden değerlendirilmesinde SPSS 18 paket programı kullanıldı. Gruplar arasında istatistiki olarak fark olup olmadığı Varyans Analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiş ve ANOVA için gerekli olan varsayımlar yerine getirilmiştir. Sonuçlar ortalama ± standart sapma ( $X \pm SD$ ) olarak verildi ve  $p < 0,05$ 'den büyük değerler istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

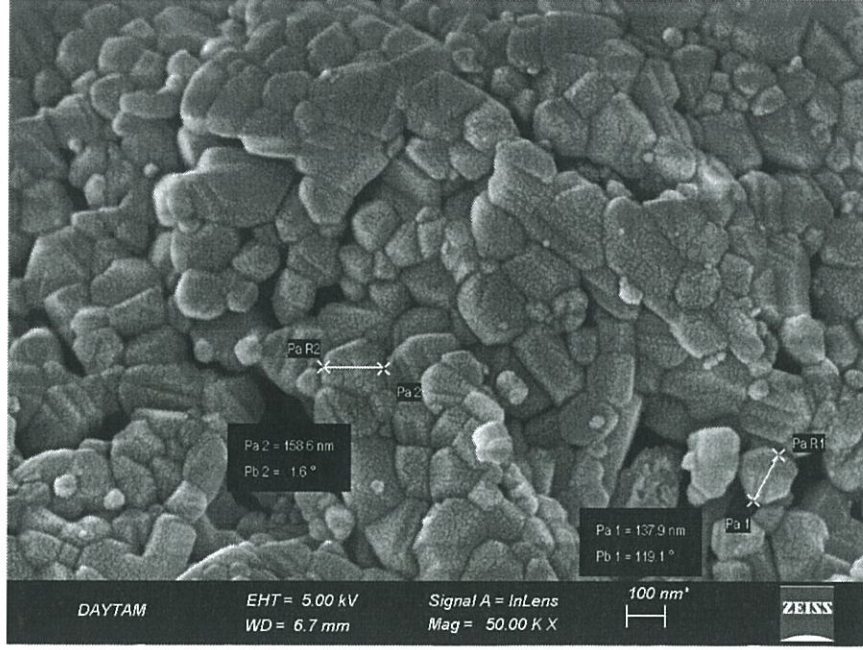
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile nano ve bulk boyutlarda seryum (IV) oksit bileşiminin partikül boyutları belirlendikten sonra genotoksik araştırmalar, Kromozom Aberasyon ve Mikroçekirdek testleri kullanılarak yapıldı. Bu araştırma için *in vitro* koşullarda insan tam kan kùltürlerine, nano ve bulk boyutlarda seryum (IV) oksit bileşiminin; 0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm konsantrasyonlardaki çözeltileri uygulanarak yapıldı. Kùltürlerden elde edilen KA/hücre ve MÇ/1000 hücre değerleri üzerinden istatistikî hesaplamalar yapılarak sonuçlar tartışıldı.

#### 3.1. SEM Sonuçları

Nano ve bulk seryum (IV) oksitin patikül boyutları sırasıyla 22-28 nm ve 138-159 nm arasında değişmektedir (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2)



Şekil 3.1: Nano boyutta seryum (IV) oksitin SEM görüntüsü



Şekil 3.2: Bulk boyutta seryum (IV) oksitin SEM görüntüsü

### 3.2. Kromozom Aberasyon Testi Sonuçları

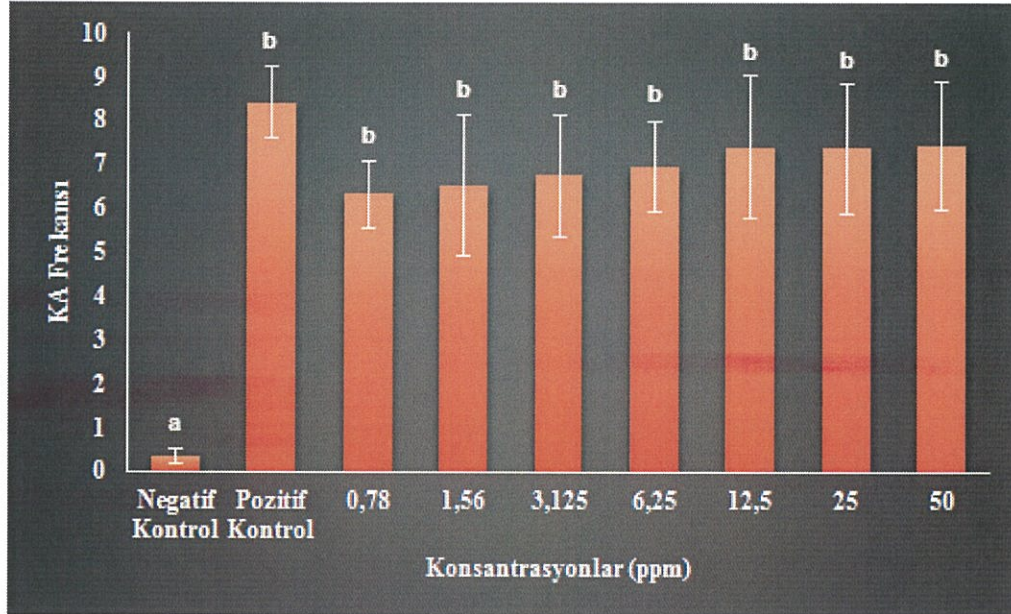
Yapılan istatistiki hesaplamalar sonucunda seryum (IV) oksitin hem nano hem de bulk boyutlarında bütün uygulama konsantrasyonlarında negatif kontrol grubuna göre genotoksik olduğu belirlenmiştir. Ayrıca seryum (IV) oksitin nano ve bulk boyutlarının toksisitesi karşılaştırıldığında aralarında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Bunun yanı sıra kromozom aberasyon frekansları incelendiğinde bulk boyuttaki seryum (IV) oksitin nano boyuttaki seryum (IV) oksite göre daha toksik olduğu tespit edilmiştir.



**Tablo 3.1:** Nano-CeO<sub>2</sub> ve Bulk-CeO<sub>2</sub>'in Kromozom Aberasyon testi frekanslarının ayrı ayrı gruplar arası istatistiksel dağılımı

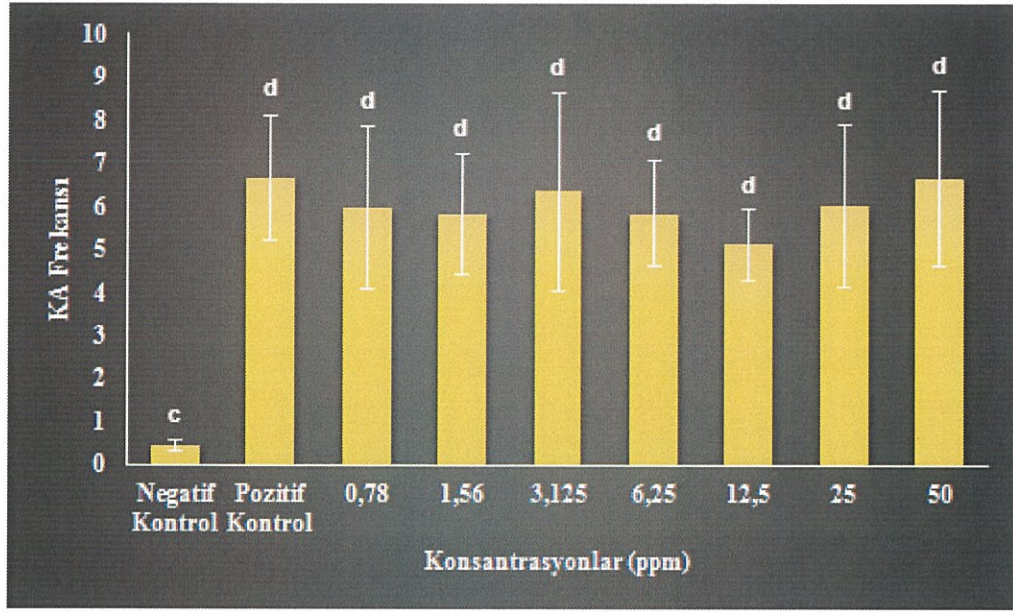
Gruplar	Bulk-CeO <sub>2</sub>	Nano-CeO <sub>2</sub>
	KA/Hücre±S.S	KA/Hücre±S.S
Negatif kontrol	0,35±0,17 <sup>a</sup>	0,45±0,14 <sup>c</sup>
Pozitif kontrol	8,42±0,81 <sup>b</sup>	6,66±1,42 <sup>d</sup>
0,78 ppm	6,32±0,77 <sup>b</sup>	5,97±1,88 <sup>d</sup>
1,56 ppm	6,52±1,60 <sup>b</sup>	5,81±1,39 <sup>d</sup>
3,125 ppm	6,75±1,37 <sup>b</sup>	6,35±2,30 <sup>d</sup>
6,25 ppm	6,96±1,03 <sup>b</sup>	5,85±1,24 <sup>d</sup>
12,5 ppm	7,41±1,62 <sup>b</sup>	5,13±0,84 <sup>d</sup>
25 ppm	7,39±1,48 <sup>b</sup>	6,01±1,88 <sup>d</sup>
50 ppm	7,45±1,45 <sup>b</sup>	6,66±2,02 <sup>d</sup>

\*Değerler Ortalama±Standart Sapma olarak verilmiştir (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. Negatif kontrol= Fizyolojik su, Pozitif kontrol= Mitomisin-C (10<sup>-7</sup>M).



**Şekil 3.3:** Bulk seryum (IV) oksite ait Kromozom Aberasyon testi sonuçları



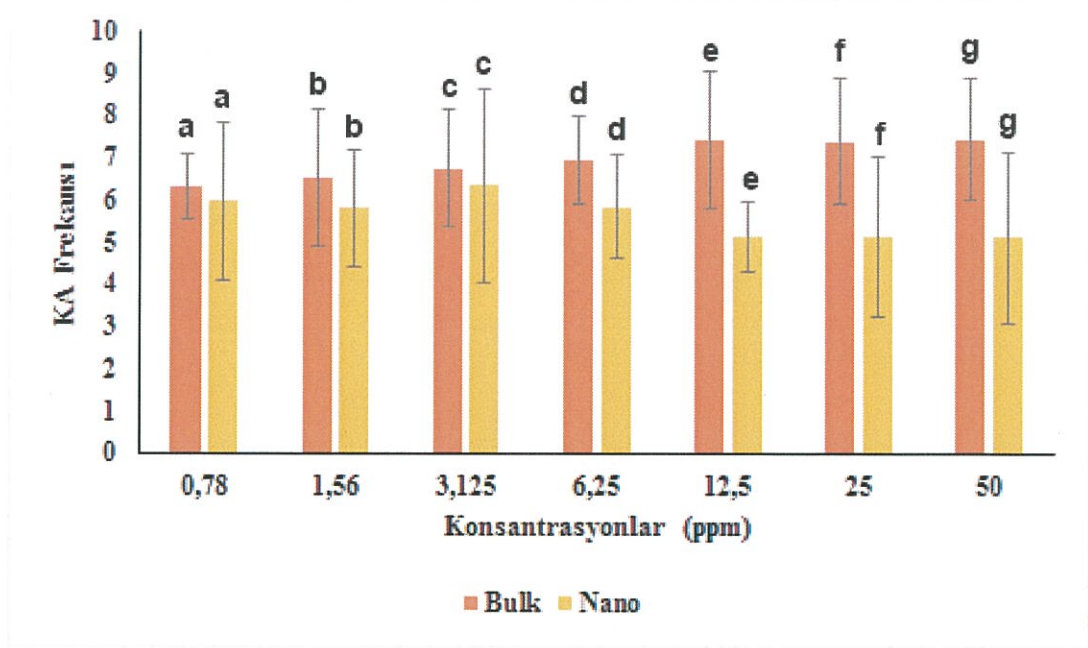


Şekil 3.4: Nano seryum (IV) oksite ait Kromozom Aberasyon testi sonuçları

Tablo 3.2: Seryum (IV) oksit bileşiğinin boyuta göre oluşturduğu Kromozom Aberasyon frekanslarının istatistiksel dağılımı

Gruplar	Sayılan toplam MP	Bulk-CeO <sub>2</sub>	Nano-CeO <sub>2</sub>
		KA/Hücre±S.S	KA/Hücre±S.S
0,78 ppm	150	6,32±0,77 <sup>a</sup>	5,97±1,88 <sup>a</sup>
1,56 ppm	150	6,52±1,60 <sup>b</sup>	5,81±1,39 <sup>b</sup>
3,125 ppm	150	6,75±1,37 <sup>c</sup>	6,35±2,30 <sup>c</sup>
6,25 ppm	150	6,96±1,03 <sup>d</sup>	5,85±1,24 <sup>d</sup>
12,5 ppm	150	7,41±1,62 <sup>e</sup>	5,13±0,84 <sup>e</sup>
25 ppm	150	7,39±1,48 <sup>f</sup>	6,01±1,88 <sup>f</sup>
50 ppm	150	7,45±1,45 <sup>g</sup>	6,66±2,02 <sup>g</sup>

\*Değerler Ortalama±Standart Sapma olarak verilmiştir (n=4). Aynı satırdaki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. Kontrol<sup>-</sup>= Fiziyojik su, Kontrol<sup>+</sup>= Mitomisin-C (10<sup>-7</sup>M). MP=Metafaz plağı



**Şekil 3.5:** Nano-CeO<sub>2</sub> ve Bulk-CeO<sub>2</sub>'in aynı konsantrasyonlarda neden olduğu Kromozom Aberasyon frekanslarının istatistiki dağılımı

### 3.3. Mikroçekirdek Testi Sonuçları

Mikroçekirdek testi sonuçları değerlendirildiğinde, Kromozom Aberasyon testi sonuçlarına benzer olarak nano ve bulk boyutlarda seryum (IV) oksitin bütün uygulama konsantrasyonlarının negatif kontrol grubuna göre toksik olduğu belirlenmiştir. Bulk boyutundaki seryum (IV) oksitin uygulama konsantrasyonları kendi aralarında karşılaştırıldığında, 3,125; 6,25; 12,5 ve 25 ppm konsantrasyonlarda toksisite açısından istatistiki olarak fark olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde 0,78 ve 1,56 ppm'lik konsantrasyonların toksisiteleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Çalışılan en yüksek konsantrasyon olan 50 ppm'de bulk seryum (IV) oksit pozitif kontrol grubu ile aynı toksik etkiye neden olduğu tespit edilmiştir. Nano boyuttaki seryum (IV) oksitin incelenen konsantrasyonları kendi aralarında karşılaştırıldığında, 0,78 ve 1,56 ppm'lik konsantrasyonlarda toksisiteleri birbiri ile istatistiki olarak aynı, diğer konsantrasyonlardan ise farklı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm'lik uygulama dozlarının toksisiteleri istatistiksel olarak aynıdır. Mikroçekirdek oranları kıyaslandığında toksisitenin artan doza bağlı olarak arttığı

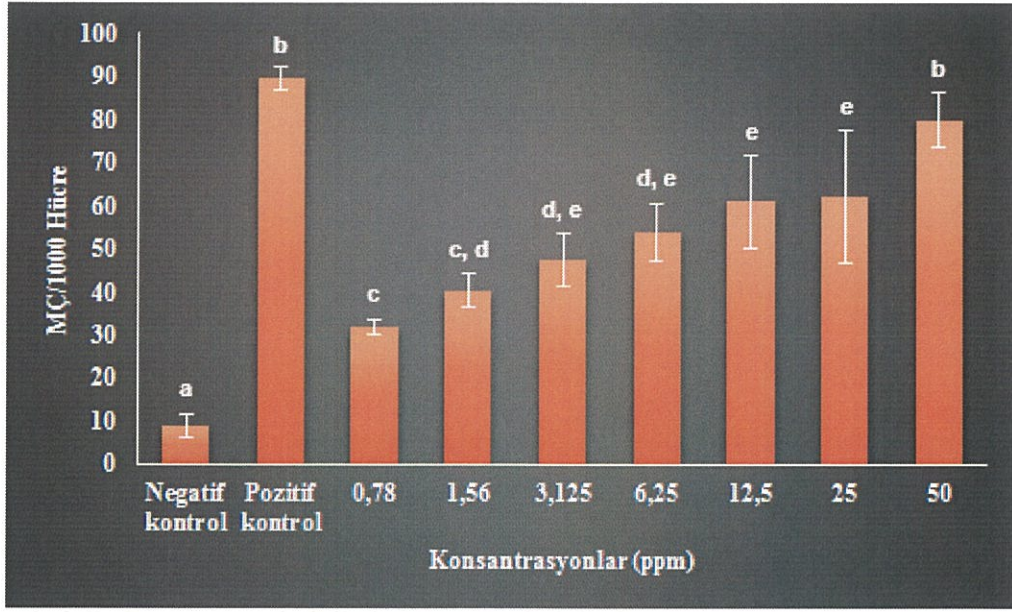
belirlenmiştir. Mikroçekirdek yönteminden elde edilen datalar kullanılarak yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre aynı derişimler dikkate alındığında, seryum (IV) oksitin nano ve bulk boyutlarda 0,78; 1,56; 3,125 ve 6,25 ppm'deki toksisitelerinin aynı olduğu saptanmıştır. Benzer bir değerlendirme ile 12,5; 25 ve 50 ppm'lik konsantrasyonların toksik etkisinin birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir. Genel olarak seryum (IV) oksitin nano ve bulk boyutlarının toksisitesi birbiriyle kıyaslandığında bulk boyutun daha toksik olduğu belirlenmiştir.

**Tablo 3.3:** Nano-CeO<sub>2</sub> ve Bulk-CeO<sub>2</sub>'in oluşturduğu Mikroçekirdek oranlarının ayrı ayrı gruplar arası istatistiksel dağılımı

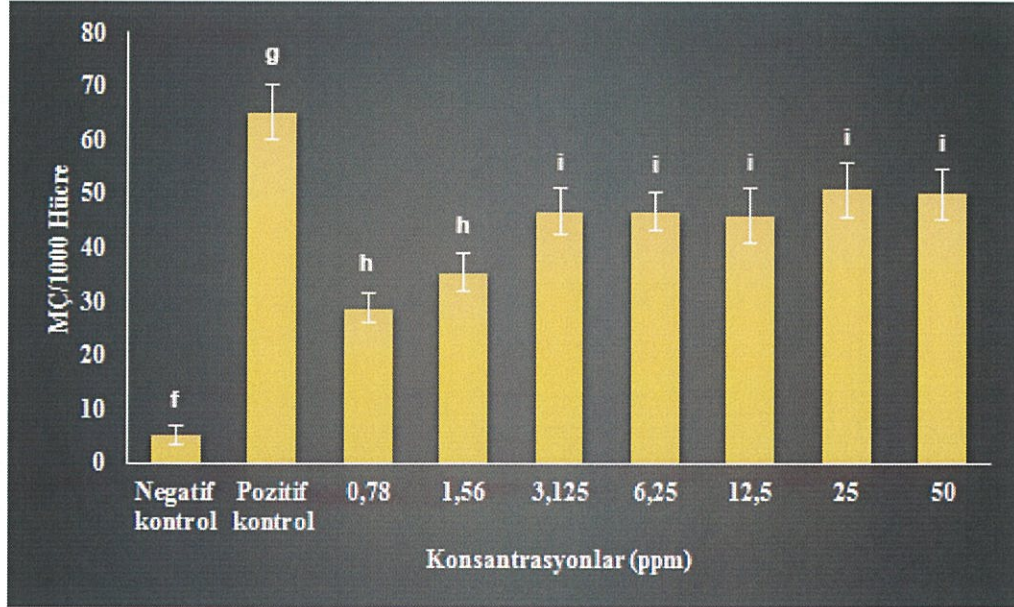
	Bulk-CeO <sub>2</sub>	Nano-CeO <sub>2</sub>
<b>Gruplar</b>	MÇ/1000 Hücre	MÇ/1000 Hücre
Negatif kontrol	8,80±2,64 <sup>a</sup>	5,20±1,85 <sup>f</sup>
Pozitif kontrol	89,73±2,73 <sup>b</sup>	65,20±4,93 <sup>g</sup>
0,78 ppm	31,87±1,85 <sup>c</sup>	28,80±2,64 <sup>h</sup>
1,56 ppm	40,40±3,90 <sup>c, d</sup>	35,33±3,50 <sup>h</sup>
3,125 ppm	47,60±6,30 <sup>d, e</sup>	46,80±4,15 <sup>i</sup>
6,25 ppm	53,87±6,77 <sup>d, e</sup>	46,80±3,54 <sup>i</sup>
12,5 ppm	61,07±10,59 <sup>e</sup>	46,00±5,06 <sup>i</sup>
25 ppm	62,27±15,29 <sup>e</sup>	50,80±5,04 <sup>i</sup>
50 ppm	80,00±6,38 <sup>b</sup>	50,13±4,72 <sup>i</sup>

\*Değerler Ortalama±Standart Sapma olarak verilmiştir (n=5). Aynı sütundaki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. Negatif kontrol= Fizyolojik su, Pozitif kontrol= Mitomisin-C (10<sup>-7</sup>M).





Şekil 3.6: Bulk seryum (IV) oksitin Mikroçekerdek testi sonuçları

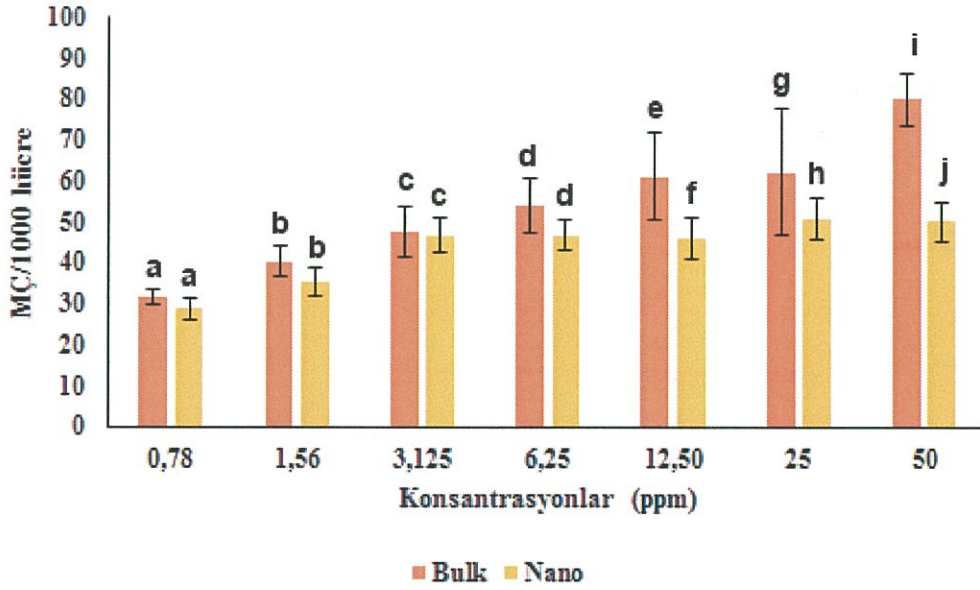


Şekil 3.7: Nano seryum (IV) oksitin Mikroçekerdek testi sonuçları

**Tablo 3.4:** Seryum (IV) oksit bileşiminin boyuta göre oluşturduğu Mikroçekirdek oranlarının istatistiksel dağılımı

Gruplar	Sayılan toplam ÇÇH	Bulk-CeO <sub>2</sub>	Nano-CeO <sub>2</sub>
		MÇ/1000 Hücre	MÇ/1000 Hücre
0,78 ppm	7500	31,87±1,85 <sup>a</sup>	28,80±2,64 <sup>a</sup>
1,56 ppm	7500	40,40±3,90 <sup>b</sup>	35,33±3,50 <sup>b</sup>
3,125 ppm	7500	47,60±6,30 <sup>c</sup>	46,80±4,15 <sup>c</sup>
6,25 ppm	7500	53,87±6,77 <sup>d</sup>	46,80±3,54 <sup>d</sup>
12,5 ppm	7500	61,07±10,59 <sup>e</sup>	46,00±5,06 <sup>f</sup>
25 ppm	7500	62,27±15,29 <sup>g</sup>	50,80±5,04 <sup>h</sup>
50 ppm	7500	80,00±6,38 <sup>i</sup>	50,13±4,72 <sup>j</sup>

\*Değerler Ortalama±Standart Sapma olarak verilmiştir (n=5). Aynı satırdaki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir. Kontrol= Fizyolojik su, Kontrol\*= Mitomisin-C (10<sup>-7</sup>M). ÇÇH= Çift Çekirdekli Hücre



**Şekil 3.8:** Nano-CeO<sub>2</sub> ve Bulk-CeO<sub>2</sub>'in aynı konsantrasyonlarda neden olduğu Mikroçekirdek oranlarının istatistiksel dağılımı



#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Mevcut tez çalışması kapsamında özellikle biyomedikal uygulamalar olmak üzere çok geniş kullanım alanına sahip olan nano boyuttaki Seryum (IV) oksit bileşiğinin genotoksik etkileri Kromozom Aberasyon (KA) ve Mikroçekirdek (MÇ) yöntemleri ile araştırılmış ve aynı zamanda bulk boyutlardaki Seryum (IV) oksit'in genotoksik etkileri ile karşılaştırılmıştır. Deneysel çalışmalar, *in vitro* koşullarda insan periferel kan lenfosit kültürleri ile yürütülmüştür. Deneysel sonuçlar istatistiki olarak değerlendirilmiş ve Seryum (IV) oksit'in hem nano hem de bulk boyutlarda en düşük konsantrasyonda (0,78 ppm) bile genotoksik olduğu belirlenmiştir. Bu bölümde güncel literatür bilgileri değerlendirilmiş ve bu çalışmada elde edilen veriler ile kıyaslanmıştır.

Nano-CeO<sub>2</sub>'nin toksisitesi üzerine yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde genel olarak bu nanopartiküllerin toksik olduğu bildirilmesine rağmen birkaç çalışmada toksik olmadığı ve hatta düşük konsantrasyonlarda antioksidan ve antigenotoksik özellikler sergileyebileceği rapor edilmiştir. Örneğin, *in vitro* koşullarda nano-CeO<sub>2</sub>'nin (<25 nm) 2,5-7,5 µg/mL konsantrasyon aralığında BEAS-2B akciğer hücre hattı üzerinde antigenotoksik etkisi olduğu ve oksidatif stresi ortadan kaldırarak antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (Rubio ve ark., 2016). Bu çalışmada üç farklı (2,5; 5 ve 7,5 µg/mL) konsantrasyonda Nano-CeO<sub>2</sub>'nin antigenotoksik ve antioksidan özellikleri desteklenmiş olsa da maruz kalınan dozun düşmesi ve yükselmesinin bu nanopartikülün toksisitesinin değerlendirilmesinde önemli bir parametre olduğunu düşünmekteyiz. Nano-CeO<sub>2</sub>'nin L929 hücreleri üzerine sitotoksitesi MTT testi ile *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. 10,5 nm partikül boyutunda 800 µg/mL konsantrasyonda herhangi bir toksisite saptanmamıştır (Kargar ve ark., 2015). Bu verilerin aksine farklı konsantrasyonlar, farklı hücre hatları, farklı toksisite testleri, farklı deney koşulları (*in vitro-vivo*) ve değişen maruz kalma sürelerine göre nano-CeO<sub>2</sub>'nin sito-genotoksik olduğunu bildiren çalışmalarda mevcuttur. İncelenen literatürde neredeyse her çalışmada farklı konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Ancak maruz kalma süresinin özellikle değerlendirildiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır. *In vitro* çalışma koşullarında De Marzi ve ark. (2013) tarafından 0,5-5000 µg/mL konsantrasyon aralığında 40 nm boyutta CeO<sub>2</sub>'nin sitotoksik ve genotoksik özellikleri araştırılmıştır. A549, CaCo2 ve HepG2 hücre hatları üzerinde bileşiğin sitotoksitesi MTT yöntemi ile



genotoksisitesi ise Comet yöntemiyle değerlendirilmiştir. 24 saat süre ile nanopartiküle maruz kalan hücre hatlarında herhangi bir toksisiteye rastlanmazken 10 gün süren maruziyet sonucunda partikülün hem sitotoksik hemde genotoksik olduğu belirlenmiştir (De Marzi ve ark., 2013). 25 nm'den daha küçük boyutlara sahip CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin farklı konsantrasyonlarda (6; 12 ve 18 µg/mL) insan lenfosit kültürleri üzerinde genotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Aynı zamanda 3, 24 ve 72 saat maruz kalma sonucunda kullanılan genotoksisite yöntemleri arasında farklılıklar gözlenmiştir. Şöyle ki, H2AX ve Comet testinde 3 saat maruz kalma ve mikroçekirdek yönteminde ise 24 saatlik maruz kalma süresinde DNA hasarının arttığı rapor edilmiştir. Doza bağlı genotoksisite değerlendirildiğinde konsantrasyonlar arasında önemli bir fark görülmezken, 72 saatlik maruz kalma süresine bağlı olarak genotoksik etki önemli derecede artmıştır (Könen-Adıgüzel ve Ergene, 2018). *In vivo* olarak yürütülen bir diğer çalışmada ise dizel yakıtlarda katkı maddesi olarak kullanılan CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerine uzun ve kısa vadede maruz kalışın toksik etkileri araştırmıştır. Dizel motorda yanma sonrası CeO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin kristal boyutu 20 nm'nin üzerine çıkmaktadır. Bu nedenle kıyaslama yapabilmek için bu değerden daha küçük (7 nm) ve daha büyük (25 nm) partikül boyutuna sahip CeO<sub>2</sub> nanopartikülleri kullanılmıştır. Yapılan biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirmeler sonucunda intranazal damlatma yoluyla farelere verilen nano-CeO<sub>2</sub>'nin her iki boyutta da pulmoner toksisiteye ve oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca akciğere nüfuz eden bu nanopartiküller kan bariyerini aşarak dolaşım sistemine geçer ve akciğer dışındaki diğer organlara ve merkezi sinir sistemine kadar ulaşabilir. Bu sistemik birikim sonucu nano-CeO<sub>2</sub>, karaciğer, dalak, böbrek ve beyinde lipid peroksidasyonunu tetiklemiştir. Buna ek olarak 7 nm boyutta nano-CeO<sub>2</sub> daha şiddetli pulmoner hasara neden olurken, sistemik toksisite üzerindeki etkileri ise 25 nm boyuttaki nano-CeO<sub>2</sub>'nin etkileri ile benzerdir (Wu ve ark., 2019). Çalışmanın bulguları nano-CeO<sub>2</sub>'nin dizel yakıt katalizörü olarak kullanılmasının bile ciddi sağlık sorunlarına neden olabileceğini vurgulamaktadır. Bu nedenle CeO<sub>2</sub> nanopartikülünün dizel yakıt katkısı olarak dahi kullanımı tavsiye edilmezken, biyomedikal uygulamalarda malzeme olarak önerilmesi tartışmaya açık bir konudur. Biyolojik sistemdeki nano-CeO<sub>2</sub>'nin oksidasyon durumu XANES spektrumları ile belirlenmiştir. Spektrumlarda seryum hem Ce<sup>+4</sup> (CeO<sub>2</sub>) hem de Ce<sup>+3</sup> (Ce<sub>2</sub>(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)<sub>3</sub>) halinde bulunmaktadır. Bu yükseltgenme basamaklarındaki geçiş ve Ce<sup>+4</sup>'ün Ce<sup>+3</sup>'e

indirgenmesi reaktif oksijen türlerinin açığa çıkmasını tetiklemekte ve oksidatif strese bağlı olarak insan deri fibroblast hücrelerinde DNA lezyonları ve kromozomal hasara neden olmaktadır (Auffan ve ark., 2009). Boyutları 5-70 nm arasında değişen seryum (IV) oksit nanopartiküllerinin *in vitro* olarak toksisitesi RAW264.7 hücre hattı üzerinde değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada LDH salınımı, reaktif oksijen türleri (ROS) ve Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$ 'nın üretimi üzerine partikül boyutunun yanı sıra CeO<sub>2</sub>'nin morfolojik yapısı ve konsantrasyonun (15, 30, 60 ve 120 mg/mL) etkisi de araştırılmıştır. Çalışma sonuçları nanopartikülün kristal yapısının toksisite üzerinde daha etkili olduğunu göstermiştir. Kübik ve oktahedral kristal yapıya sahip CeO<sub>2</sub>'nin herhangi bir toksisiteye neden olmadığı rapor edilmiştir. Çubuk şeklinde kristal yapıya sahip nanopartiküllerin, LDH salınımında ve TNF- $\alpha$  üretiminde doza bağlı olarak artışa neden olduğu gösterilmiştir (Forest ve ark., 2017). Wistar ratlar üzerinde *in vivo* olarak yürütülen ve Comet, Mikroçekirdek ve Kromozom Aberasyon test yöntemlerinin kullanıldığı çalışmada nano-CeO<sub>2</sub>'nin genotoksik olduğunu bunun aksine bulk-CeO<sub>2</sub>'nin toksik etkiye neden olmadığı belirlenmiştir. Çalışmada 28 gün boyunca oral olarak 30, 300 ve 600 mg/kg dozlarda seryum (IV) oksite maruz bırakılan ratların periferik lökositlerinde DNA hasarının arttığı ve histopatolojik durumların ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada Kumari ve çalışma ekibi (2014) seryum (IV) oksit nanopartiküllerinin farklı organlarda (karaciğer, böbrek ve beyin) glutasyon seviyesini düşürerek genotoksik ve histopatolojik etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (Kumari ve ark., 2014).

Literatürde primer insan deri fibroblastları üzerine nano ve bulk boyutta CeO<sub>2</sub>'in genotoksik etkilerinin araştırıldığı bir diğer çalışma bulunmaktadır. Çalışma sonuçlarımızın aksine, yaklaşık olarak 10-1000 ppm konsantrasyonda bulk boyutta CeO<sub>2</sub>'in primer insan deri fibroblastları üzerine herhangi bir toksik etkisi bulunmadığı belirtilirken bizim çalışmamızın sonuçlarında insan lenfosit hücrelerinde bulk-CeO<sub>2</sub> en düşük konsantrasyonda (0,78 ppm) bile toksik bulunmuştur. Bu farkın çalışılan hücre hatları ve partikül boyutundan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Çalışma sonuçlarımıza benzer olarak nano-CeO<sub>2</sub>'in ROS üretimini tetikleyerek asentrik kromozom fragmentleri oluşumu nedeniyle klastojenik etkiye neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca nano-CeO<sub>2</sub>'in lipid peroksidasyonu artışına ve glutasyon



seviyesinin düşmesine neden olduğu ve buna bağlı olarak genetik hasarın ortaya çıkmasını tetiklediği rapor edilmiştir (Benameur ve ark., 2015).

Sonuç olarak teknolojik gelişmeler nedeniyle malzeme bilimine ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda gerek yeni malzemelerin sentezi gerekse var olan malzemelerin uygulamaya yönelik incelenmesi önemlidir. Biyoteknoloji ve biyomedikal uygulamalarda nanopartiküller yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bu nanopartiküllerden biri olan seryum (IV) oksitinin toksik etkilerini araştırmak amacıyla yaptığımız literatür taraması özellikle otomotiv sektöründe salınımının riskleri noktasında bile tartışmaya neden olurken çeşitli hücre hatları ve canlılar üzerinde kullanımına ilişkin bir belirsizlik söz konusudur. Sito-genotoksik etkisinin araştırıldığı neredeyse her çalışmada daha fazla yöntem, daha çeşitli hücre hattı ve daha geniş ölçekte partikül boyutu ile ilgili çalışmaların yapılması önerilmiştir. Literatüre katkıda bulunabilmek adına bu çalışmada ilk kez 0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm konsantrasyonlardaki nano-CeO<sub>2</sub>'in insan kan lenfositleri üzerinde genotoksik etkileri Kromozom Aberasyon yöntemi ile belirlenmiş ve bulk boyuttaki CeO<sub>2</sub>'in genotoksitesisi ile kıyaslanmıştır. Literatürde Mikroçekirdek yöntemi ile 6; 12 ve 18 ppm konsantrasyonlar kullanılarak yapılan çalışmaya alternatif olarak bu konsantrasyonlardan daha düşük ve daha yüksek konsantrasyonlarda da çalışılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlara göre seryum (IV) oksit bileşiğinin hem nano hem de bulk boyutta önceki çalışmalara paralel olarak genotoksik olduğu tespit edilmiştir. İnsan sağlığı üzerinde oluşturduğu ve oluşturabileceği olumsuz etkiler değerlendirildiğinde, bu bileşiğin biyomedikal, tıp ve biyoteknoloji alanlarında, kozmetik, cam ve otomotiv sanayinde kullanımının sınırlandırılması gerektiğini düşünmekteyiz.



## KAYNAKLAR

- Aalapati, S., Ganapathy, S., Manapuram, S., Anumolu, G. and Prakya, B. M. (2014). Toxicity and bio-accumulation of inhaled cerium oxide nanoparticles in CD1 mice. *Nanotoxicology*, 8(7), 786-798.
- Ali, M. M., Mahdi, H. S., Parveen, A. and Azam, A. (2017). Optical properties of cerium oxide (CeO<sub>2</sub>) nanoparticles synthesized by hydroxide mediated method. 2nd International Conference on Condensed Matter and Applied Physics-ICC 2017, November 24-25, 2017 Bikaner, India, p. 30044.
- Anonim 1. <https://tiande.uk/?portfolio=nanotechnology>, 20 04 2019.
- Anonim 2. <https://docplayer.biz.tr/6034788-Nanoteknoloji-devrimi-geliyor-doc-dr-mehmet-bayindir.html>, 20 04 2019.
- Anonim 3. <http://www.nanotechproject.org>, 10.05.2019.
- Antonarakis, S. E. (1998). 10 Years of Genomics, Chromosome 21, and Down Syndrome. *Genomics*, 51(1), 1-16.
- Aronson, N. N. and Yannarell, A. (1975). Effects of membrane ribonuclease and 3'-nucleotidase on the digestion of polyuridylic acid by rat liver plasma membrane. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 413(1), 135-142.
- Asati, A., Santra, S., Kaittanis, C., Nath, S. and Perez, J. M. (2009). Oxidase-Like Activity of Polymer-Coated Cerium Oxide Nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(13), 2308-2312.
- Atlı-Şekeroğlu, Z. ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229.
- Auffan, M., Rose, J., Orsiere, T., De Meo, M., Thill, A., Zeyons, O., Proux, O., Masion, A., Chaurand, P., Spalla, O., Botta, A. Wiesner, M. R. and Bottero, J. Y. (2009). CeO<sub>2</sub> nanoparticles induce DNA damage towards human dermal fibroblasts in vitro. *Nanotoxicology*, 3(2), 161-171.
- Ayhan, A. (2004). Yeni Bir Teknolojik Çağın Kapısı Aralanırken: Nanoteknoloji. SÜ Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Konya. İpek Yolu Dergisi, Konya Ticaret Odası, Mart sayısı.
- Aykanat, B. (2010). Çocuklarda Kronik Böbrek Hastalığı ve Böbrek Nakli Sonrası Genotoksik Hasarın Biyoizlenmesi (Doktora Tezi). Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmasötik Toksikoloji ABD, Ankara.
- Bal, W., Protas, A. M. and Kasprzak, K. S. (2011). Genotoxicity of Metal Ions: Chemical Insights. In A. Sigel, H. Sigel, and R. K. O. Sigel (Eds.), *Metal Ions in Toxicology: Effects, Interactions, Interdependencies* (Vol. 8, pp. 319-373). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürsel, B. Ş. ve Alvir, M. (2004). DNA hasarı analizinde  $\mu$ -fadu ve comet yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3), 97-103.
- Benameur, L., Auffan, M., Cassien, M., Liu, W., Culcasi, M., Rahmouni, H., Stocker, P., Tassistro, V., Bottero, J. Y., Rose, J., Botta, A. and Pietri, S. (2015). DNA damage and oxidative stress induced by CeO<sub>2</sub> nanoparticles in human dermal fibroblasts: Evidence of a clastogenic effect as a mechanism of genotoxicity. *Nanotoxicology*, 9(6), 696-705.
- Bonassi, S., Znaor, A., Norppa, H. and Hagmar, L. (2004). Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiologic perspective. *Cytogenetic and Genome Research*, 104(1-4), 376-382.

- Borm, P. J., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, W., Lademann, J., Krutmann, J., Warheit, D. and Oberdorster, E. (2006). The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and fibre toxicology*, 3(11), 1-35.
- Boveri, T. (1914). *Zur frage der entstehung maligner tumoren*. Gustav Fischer.
- Bradley, M. O. and Dysart, G. (1985). DNA single-strand breaks, double-strand breaks, and crosslinks in rat testicular germ cells: Measurements of their formation and repair by alkaline and neutral filter elution. *Cell Biology and Toxicology*, 1(3), 181-195.
- Bridges, C. B. (1923). Aberrations in chromosomal materials. *Eugenics, genetics and the family*, 1, 76-81.
- Bumajdad, A., Eastoe, J. and Mathew, A. (2009). Cerium oxide nanoparticles prepared in self-assembled systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, 147-148, 56-66.
- Carter, S. B. (1967). Effects of cytochalasins on mammalian cells. *Nature*, 213(5073), 261-264.
- Chen, J., Patil, S., Seal, S. and McGinnis, J. F. (2006). Rare earth nanoparticles prevent retinal degeneration induced by intracellular peroxides. *Nature Nanotechnology*, 1(2), 142-150.
- Cheng, Q., Li, C., Pavlinek, V., Saha, P. and Wang, H. (2006). Surface-modified antibacterial TiO<sub>2</sub>/Ag<sup>+</sup> nanoparticles: Preparation and properties. *Applied Surface Science*, 252(12), 4154-4160.
- Chou, K.S. and Ren, C.Y. (2000). Synthesis of nanosized silver particles by chemical reduction method. *Materials Chemistry and Physics*, 64(3), 241-246.
- Choy, W. N. (2001). *Genetic toxicology and cancer risk assessment*. CRS press, New York, 406 pages.
- Çıracı, S. (2006). Nanobilim ve Nanoteknolojide Türkiye'nin Bir Mükemmeliyet Merkezi. *Bilim ve Teknik dergisi, Aralık sayısı eki*, (4), 2-4.
- Clive, D. and Spector, J.F. (1975). Laboratory procedure for assessing specific locus mutations at the TK locus in cultured L5178Y mouse lymphoma cells. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 31(1), 17-29.
- Coşkun, M. (2012). Fulleren Nanopartüküllerinin Radyasyona Maruz Bırakılan A549 İnsan Akciğer Epitel Hücreleri Üzerindeki Koruyucu Etkilerinin Mikronukleus ve gH2AX Test Yöntemlerii Kullanılarak Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji ABD, Bursa.
- Countryman, P. I. and Heddle, J. A. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 41(2-3), 321-331.
- Culcasi, M., Benameur, L., Mercier, A., Lucchesi, C., Rahmouni, H., Asteian, A., Casano, G., Botta, A., Kovacic, H. and Pietri, S. (2012). EPR spin trapping evaluation of ROS production in human fibroblasts exposed to cerium oxide nanoparticles: Evidence for NADPH oxidase and mitochondrial stimulation. *Chemico-Biological Interactions*, 199(3), 161-176.
- Dadook, M., Mehrabian, S., Salehi, M. and Irian, S. (2014). Morphological, Biochemical and Molecular Characterization of Twelve Nitrogen-Fixing Bacteria and Their Response to Various Zinc Concentration. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(4), e9415.



- De Arce, M. A. and Kearns, A. (1984). The fragile X syndrome: the patients and their chromosomes. *Journal of Medical Genetics*, 21(2), 84-91.
- De Marzi, L., Monaco, A., De Lapuente, J., Ramos, D., Borrás, M., Di Gioacchino, M., Santucci, S. and Poma, A. (2013). Cytotoxicity and Genotoxicity of Ceria Nanoparticles on Different Cell Lines in Vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), 3065-3077.
- de Vries, H. (1918). Mass Mutations and Twin Hybrids of *Oenothera Grandiflora* Ait. *Botanical Gazette*, 65(5), 377-422.
- Dickinson, M. and Scott, T. B. (2010). The application of zero-valent iron nanoparticles for the remediation of a uranium-contaminated waste effluent. *Journal of Hazardous Materials*, 178(1-3), 171-179.
- Doherty, A., Bryce, S. M. and Bemis, J. C. (2016). The In Vitro Micronucleus Assay. *Genetic Toxicology Testing*, 161-205.
- Drexler, K. E. (2004). Nanotechnology: From Feynman to Funding. *Bulletin of Science, Technology and Society*, 24(1), 21-27.
- El Naschie, M. S. (2006). Nanotechnology for the developing world. *Chaos, Solitons and Fractals*, 30(4), 769-773.
- El-Toni, A. M., Yin, S., Yabe, S. and Sato, T. (2005). Coating of calcia-doped ceria with amorphous silica shell by seeded polymerization technique. *Materials Research Bulletin*, 40(7), 1059-1064.
- Erkan, G., Erdoğan, Ü. ve Kayacan, O. (2005). Tekstil Sektöründe Nano-Teknoloji Uygulamaları. *Tekstil Teknolojileri ve Tekstil Makinaları Kongresi, Gaziantep*, 19-27.
- Erkoç, Ş. (2007). *Nanobilim ve nanoteknoloji*. ODTÜ yayıncılık, Ankara, 107 sayfa.
- Evans, H. J., Neary, G. J. and Williamson, F. S. (1959). The Relative Biological Efficiency of Single Doses of Fast Neutrons and Gamma-rays on *Vicia Faba* Roots and the Effect of Oxygen: Part II. Chromosome Damage: The Production of Micronuclei. *International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine*, 1(3), 216-229.
- Fenech, M., Chang, W., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S. and Zeiger, E. (2003). HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 534(1-2), 65-75.
- Fenech, M. and Morley, A. A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 147(1-2), 29-36.
- Feng, X. (2006). Converting Ceria Polyhedral Nanoparticles into Single-Crystal Nanospheres. *Science*, 312(5779), 1504-1508.
- Forest, V., Leclerc, L., Hochepeid, J.-F., Trouvé, A., Sarry, G. and Pourchez, J. (2017). Impact of cerium oxide nanoparticles shape on their in vitro cellular toxicity. *Toxicology in Vitro*, 38, 136-141.
- Galloway, S. M., Aardema, M. J., Ishidate, M., Ivett, J. L., Kirkland, D. J., Morita, T., Mosesso, P. and Sofuni, T. (1994). Report from working group on in vitro tests for chromosomal aberrations. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 312(3), 241-261.
- Gao, Y., Gao, F., Chen, K. and Ma, J. (2014). Cerium oxide nanoparticles in cancer. *OncoTargets and Therapy*, 835.



- Gençer, Ö. (2009). Bakır ve bakır oksit nanopartiküllerinin ultrasonik spreylendirme (USP) yöntemi ile üretimi. (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Metalurji ve Malzeme Mühendisliği ABD, İstanbul.
- Giles, N. (1941). Spontaneous Chromosome Aberrations in Triploid *Tradescantia* Hybrids. *Genetics*, 26(6), 632-649.
- Goubin, F., Rocquefelte, X., Whangbo, M.-H., Montardi, Y., Brec, R. and Jobic, S. (2004). Experimental and Theoretical Characterization of the Optical Properties of  $\text{CeO}_2$ ,  $\text{SrCeO}_3$ , and  $\text{Sr}_2\text{CeO}_4$  Containing  $\text{Ce}^{4+} (f^0)$  Ions. *Chemistry of Materials*, 16(4), 662-669.
- Hatayoglu, Ş. E. (2004). In vitro radyasyon uygulaması sonucu lenfositlerde meydana gelen kalıcı olmayan kromozom aberasyonları ile mikronükleus oluşumları arasındaki ilişkinin incelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji ABD, İstanbul.
- Haynes, W. M. (2017). Handbook of chemistry and physics: a ready-reference book of chemical and physical data. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida, USA, 20643 pages.
- Heddle, J. (1973). A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 18(2), 187-190.
- Heddle, J. A. and Carrano, A. V. (1977). The DNA content of micronuclei induced in mouse bone marrow by  $\gamma$ -irradiation: evidence that micronuclei arise from acentric chromosomal fragments. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 44(1), 63-69.
- Hirst, S. M., Karakoti, A. S., Tyler, R. D., Sriranganathan, N., Seal, S. and Reilly, C. M. (2009). Anti-inflammatory Properties of Cerium Oxide Nanoparticles. *Small*, 5(24), 2848-2856.
- Huang, C.C., Lo, S.L. and Lien, H.L. (2012). Zero-valent copper nanoparticles for effective dechlorination of dichloromethane using sodium borohydride as a reductant. *Chemical Engineering Journal*, 203, 95-100.
- Jagetia, G. C., Jayakrishnan, A., Fernandes, D. and Vidyasagar, M. (2001). Evaluation of micronuclei frequency in the cultured peripheral blood lymphocytes of cancer patients before and after radiation treatment. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 491(1-2), 9-16.
- Jasinski, P., Suzuki, T. and Anderson, H. U. (2003). Nanocrystalline undoped ceria oxygen sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 95(1-3), 73-77.
- Johal, M. S. (2011). Understanding Nanomaterials. CRC Press by Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA, 328 pages.
- Kakunaga, T. (1973). A quantitative system for assay of malignant transformation by chemical carcinogens using a clone derived from BALB/3T3. *International Journal of Cancer*, 12(2), 463-473.
- Kargar, H., Ghasemi, F. and Darroudi, M. (2015). Bioorganic polymer-based synthesis of cerium oxide nanoparticles and their cell viability assays. *Ceramics International*, 41(1), 1589-1594.
- Kargozar, S., Baino, F., Hoseini, S. J., Hamzehlou, S., Darroudi, M., Verdi, J., Hasanzadeh, L., Kim H.W. and Mozafari M. (2018). Biomedical applications of nanoceria: new roles for an old player. *Nanomedicine*, 13(23), 3051-3069.
- Karkucak, M. (2016). Kromozom anomalileri ve fertilité problemleri (Derleme). *Androloji Bülteni*, 18(64), 33-39.

- Kartal, L. (2013). İndüktif Enerji Kaynaklı Ultrasonik Sprey Piroлиз Sisteminde Nano-metal, Nano-metal Oksit Ve Nano-metal/metal Oksit Karışık Tozları Üretimi. (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Metalurji ve Malzeme Mühendisliği ABD, İstanbul.
- Kaşpar, J., Fornasiero, P. and Graziani, M. (1999). Use of CeO<sub>2</sub>-based oxides in the three-way catalysis. *Catalysis Today*, 50(2), 285-298.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U. and Decordier, I. (2003). Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicology Letters*, 140-141, 63-74.
- Könen-Adıgüzel, S. and Ergene, S. (2018). In vitro evaluation of the genotoxicity of CeO<sub>2</sub> nanoparticles in human peripheral blood lymphocytes using cytokinesis-block micronucleus test, comet assay, and gamma H2AX. *Toxicology and Industrial Health*, 34(5), 293300.
- Krishna, G. and Hayashi, M. (2000). In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1-2), 155-166.
- Kumari, M., Kumari, S. I. and Grover, P. (2014). Genotoxicity analysis of cerium oxide micro and nanoparticles in Wistar rats after 28 days of repeated oral administration. *Mutagenesis*, 29(6), 467-479.
- Kut, D. ve Güneşoğlu, C. (2005). Nanoteknoloji ve tekstil sektöründeki uygulamaları. *Tekstil ve Teknik*, Şubat, 2, 224-230.
- Larsen, K. H., Brash, D., Cleaver, J. E., Hart, R. W., Maher, V. M., Painter, R. B. and Sega, G. A. (1982). DNA repair assays as tests for environmental mutagens. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 98(3), 287-318.
- LeBoeuf, R. A. and Kerckaert, G. A. (1987). Enhanced morphological transformation of early passage Syrian hamster embryo cells cultured in medium with a reduced bicarbonate concentration and pH. *Carcinogenesis*, 8(5), 689-697.
- Li, R. (2002). Synthesis and UV-shielding properties of ZnO- and CaO-doped CeO<sub>2</sub> via soft solution chemical process. *Solid State Ionics*, 151(1-4), 235-241.
- Liyang, H. E., Yumin, S. U., Lanhong, J. and Shikao, S. H. I. (2015). Recent advances of cerium oxide nanoparticles in synthesis, luminescence and biomedical studies: a review. *Journal of rare earths*, 33(8), 791-799.
- Lord, M. S., Jung, M., Teoh, W. Y., Gunawan, C., Vassie, J. A., Amal, R. and Whitelock, J. M. (2012). Cellular uptake and reactive oxygen species modulation of cerium oxide nanoparticles in human monocyte cell line U937. *Biomaterials*, 33(31), 7915-7924.
- Makar, A. B., McMartin, K. E., Palese, M. and Tephly, T. R. (1975). Formate assay in body fluids: application in methanol poisoning. *Biochemical Medicine*, 13(2), 117-126.
- Malavasi, L., Fisher, C. A. J. and Islam, M. S. (2010). Oxide-ion and proton conducting electrolyte materials for clean energy applications: structural and mechanistic features. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4370-4387.
- Masoomi, M. Y. and Morsali, A. (2012). Applications of metal-organic coordination polymers as precursors for preparation of nano-materials. *Coordination Chemistry Reviews*, 256(23-24), 2921-2943.
- Masui, T., Yamamoto, M., Sakata, T., Mori, H. and Adachi, G. (2000). Synthesis of BN-coated CeO<sub>2</sub> fine powder as a new UV blocking material. *Journal of Materials Chemistry*, 10(2), 353-357.



- Matter, B. and Schmid, W. (1971). Trenimon-induced chromosomal damage in bone-marrow cells of six mammalian species, evaluated by the micronucleus test. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 12(4), 417-425.
- Mitchell, A. D., Casciano, D. A., Meltz, M. L., Robinson, D. E., San, R. H. C., Williams, G. M. and Von Halle, E. S. (1983). Unscheduled DNA synthesis tests. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 123(3), 363-410.
- Mittal, S. and Pandey, A. K. (2014). Cerium Oxide Nanoparticles Induced Toxicity in Human Lung Cells: Role of ROS Mediated DNA Damage and Apoptosis. *BioMed Research International*, 2014, 1-14.
- Miyazaki, K. and Islam, N. (2007). Nanotechnology systems of innovation—An analysis of industry and academia research activities. *Technovation*, 27(11), 661-675.
- Mogensen, M. (2000). Physical, chemical and electrochemical properties of pure and doped ceria. *Solid State Ionics*, 129(1-4), 63-94.
- Morgan, T. H. (1922). Croonian Lecture: On the Mechanism of Heredity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 94(659), 162-197.
- Muranlı, F. D. (2006). Kültürü yapılan insan lenfositlerinde triasulfuron'un genotoksik etkileri. (Doktora Tezi), Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji ABD, Edirne.
- Murty, V. V. V. S., Mitra, A. B. and Luthra, U. K. (1985). Spontaneous chromosomal aberrations in patients with precancerous and cancerous lesions of the cervix uteri. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 17(4), 347-354.
- Natarajan, A. T. (2002). Chromosome aberrations: past, present and future. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1-2), 3-16.
- Niu, J., Azfer, A., Rogers, L., Wang, X. and Kolattukudy, P. (2007). Cardioprotective effects of cerium oxide nanoparticles in a transgenic murine model of cardiomyopathy. *Cardiovascular Research*, 73(3), 549-559.
- Obe, G., Pfeiffer, P., Savage, J. R. ., Johannes, C., Goedecke, W., Jeppesen, P., Natarajan, A. ., Martínez-López, W., Folle, G. A. and Drets, M. E. (2002). Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1-2), 17-36.
- Ochi, H., Watanabe, S. and Yamamoto, H. (1988). New Heritable Fragile Site on Chromosome 8 Induced by Distamycin A. *Japanese Journal of Cancer Research*, 79(2), 145-147.
- Othman, S. H., Abdul Rashid, S., Mohd Ghazi, T. I. and Abdullah, N. (2012). Dispersion and Stabilization of Photocatalytic TiO<sub>2</sub> Nanoparticles in Aqueous Suspension for Coatings Applications. *Journal of Nanomaterials*, 2012, 1-10.
- Özdoğan, E., Demir, A. ve Seventekin, N. (2006). Lotus Etkili Yüzeyler. *Tekstil Ve Konfeksiyon Dergisi*, 16(1), 287-290.
- Özer, N. (2001). Optical properties and electrochromic characterization of sol-gel deposited ceria films. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 68(3-4), 391-400.
- Park, S., Vohs, J. M. and Gorte, R. J. (2000). Direct oxidation of hydrocarbons in a solid-oxide fuel cell. *Nature*, 404(6775), 265-267.



- Patil, S., Kuiry, S. C., Seal, S. and Vanfleet, R. (2002). Synthesis of nanocrystalline ceria particles for high temperature oxidation resistant coating. *Journal of Nanoparticle Research*, 4(5), 433-438.
- Patnaik, P. (2002). *Handbook of inorganic chemicals*. McGraw-Hill, New York, 1086 pages.
- Perry, P. and Evans, H. J. (1975). Cytological detection of mutagen–carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature*, 258(5531), 121-125.
- Pešić, M., Podolski-Renić, A., Stojković, S., Matović, B., Zmejkoski, D., Kojić, V., Bogdanović, G., Pavićević, A., Mojović, M., Savić, A., Milenković, I., Kalauzi, A. and Radotić, K.. (2015). Anti-cancer effects of cerium oxide nanoparticles and its intracellular redox activity. *Chemico-Biological Interactions*, 232, 85-93.
- Phillips, D. H., Farmer, P. B., Beland, F. A., Nath, R. G., Poirier, M. C., Reddy, M. V. and Turteltaub, K. W. (2000). Methods of DNA adduct determination and their application to testing compounds for genotoxicity. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35(3), 222-233.
- Pulido-Reyes, G., Rodea-Palomares, I., Das, S., Sakthivel, T. S., Leganes, F., Rosal, R., Seal, S. and Fernández-Piñas, F. (2015). Untangling the biological effects of cerium oxide nanoparticles: the role of surface valence states. *Scientific Reports*, 5(1), 15613.
- Randerath, E., Miller, R. H., Mittal, D., Avitts, T. A., Dunsford, H. A. and Randerath, K. (1989). Covalent DNA Damage in Tissues of Cigarette Smokers as Determined by 32P-Postlabeling Assay. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 81(5), 341-347.
- Rosenkranz, P., Fernández-Cruz, M. L., Conde, E., Ramírez-Fernández, M. B., Flores, J. C., Fernández, M. and Navas, J. M. (2012). Effects of cerium oxide nanoparticles to fish and mammalian cell lines: An assessment of cytotoxicity and methodology. *Toxicology in Vitro*, 26(6), 888-896.
- Rowley, J. D. (1980). Chromosome Changes in Acute Leukaemia. *British Journal of Haematology*, 44(3), 339-346.
- Rowley, J. D. (1998). The Critical Role of Chromosome Translocations in Human Leukemias. *Annual Review of Genetics*, 32(1), 495-519.
- Rubio, L., Annangi, B., Vila, L., Hernández, A. and Marcos, R. (2016). Antioxidant and anti-genotoxic properties of cerium oxide nanoparticles in a pulmonary-like cell system. *Archives of Toxicology*, 90(2), 269-278.
- Samal, P. K. and Newkirk, J. W. (2015). *ASM Handbook*. ASM International, New York, 907 pages.
- San, R. H. C. and Stich, H. F. (1975). DNA repair synthesis of cultured human cells as a rapid bioassay for chemical carcinogens. *International Journal of Cancer*, 16(2), 284-291.
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 31(1), 9-15.
- Schubert, D., Dargusch, R., Raitano, J. and Chan, S. W. (2006). Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 342(1), 86-91.
- Şenol, F., Tayyar, E., Doğan, G. and Yaman, N. (2005). Nanolifler ve Uygulama Alanları. *Tekstil Maraton*, 3, 20-25.

- Speicher, M., Antonarakis, S. E. and Motulsky, A. G. (2009). *Vogel and Motulsky's Human Genetics: Problems and Approaches*. Springer Science and Business Media, New York, 961 pages.
- Sun, C., Hui, R. and Roller, J. (2010). Cathode materials for solid oxide fuel cells: a review. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 14(7), 1125-1144.
- Süpüren, G., Kanat, Z. E., Çay, A., Kırıcı, T., Gülümser, T. ve Tarakçıoğlu, I. (2007). Nano Lifler (Bölüm 1). *Tekstil ve Konfeksiyon*, 17(1), 15-17.
- Sutherland, G. R. (1983). The Fragile X Chromosome. *International Review of Cytology-A Survey of Cell Biology*, 81, 107-143.
- Swett, C. (1975). Outpatient phenothiazine use and bone marrow depression. A report from the drug epidemiology unit and the Boston collaborative drug surveillance program. *Archives of General Psychiatry*, 32(11), 1416-1418.
- Tarnuzzer, R. W., Colon, J., Patil, S. and Seal, S. (2005). Vacancy Engineered Ceria Nanostructures for Protection from Radiation-Induced Cellular Damage. *Nano Letters*, 5(12), 2573-2577.
- OECD, (1997). In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test (Test No. 473). OECD Publishing, [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-473-in-vitro-mammalian-chromosome-aberration-test\\_9789264071261-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-473-in-vitro-mammalian-chromosome-aberration-test_9789264071261-en), 21 Mayıs 2019.
- Titenko-Holland, N., Windham, G., Kolachana, P., Reinisch, F., Parvatham, S., Osorio, A. and Smith, M. (1997). Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: A study of malathion-exposed workers. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 388(1), 85-95.
- Türkez, H. (2007). Bazı bor bileşiklerinin in vitro şartlarda periferal insan kanı üzerine genetik ve biyokimyasal etkileri. (Doktora Tezi), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji ABD, Erzurum.
- Üreyen, M. E. (2006). Nanoteknoloji ve Tekstil Uygulamaları. *Gemsan Teknik Bülten*, Mayıs-Ağustos, (48), 2-7.
- van den Berg-de Ruyter, E., de Jong, B., Mulder, N. H., te Meerman, G. J., Schraffordt Kooops, H. and Sleijfer, D. T. (1990). Chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes of patients treated for testicular cancer. *Human Genetics*, 84(2), 191-194.
- Venkatachalam, P., Paul, S. F., Mohankumar, M. N., Prabhu, B. K., Gajendiran, N., Kathiresan, A. and Jeevanram, R. (1999). Higher frequency of dicentrics and micronuclei in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 425(1), 1-8.
- Vural, N. (2005). *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 659.
- Wason, M. S., Colon, J., Das, S., Seal, S., Turkson, J., Zhao, J. and Baker, C. H. (2013). Sensitization of pancreatic cancer cells to radiation by cerium oxide nanoparticle-induced ROS production. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 9(4), 558-569.
- Weeks, M. E. (1932). The discovery of the elements. XVI. The Rare Earth Elements. *Journal of Chemical Education*, 9(10), 1751-1773.
- Wang, T.J., Hsieh, M. T. and Chen, H.H. (2012). Visible-light photocatalytic degradation of methylene blue with laser-induced Ag/ZnO nanoparticles. *Applied Surface Science*, 258(7), 2796-2801.



- Wu, J., Ma, Y., Ding, Y., Zhang, P., He, X. and Zhang, Z. (2019). Toxicity of Two Different Size Ceria Nanoparticles to Mice After Repeated Intranasal Instillation. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 19(5), 2474-2482.
- Xue, Y., Luan, Q., Yang, D., Yao, X. and Zhou, K. (2011). Direct Evidence for Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Cerium Oxide Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 115(11), 4433-4438.
- Yin, X., Hong, L. and Liu, Z. L. (2006). Oxygen permeation through the LSCO-80/CeO<sub>2</sub> asymmetric tubular membrane reactor. *Journal of Membrane Science*, 268(1), 2-12.
- Yılmaz, F. (2013). Etofenprox'un genotoksik etkilerinin Çin hamsteri ovaryum hücrelerinde mikronükleus ve komet testleri kullanılarak araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Genel Biyoloji ABD, Bursa.
- Young, R. R. (2002). Genetic toxicology: web resources. *Toxicology*, 173(1-2), 103-121.
- Yunis, J. (1983). The chromosomal basis of human neoplasia. *Science*, 221(4607), 227-236.
- Zeiger, E. (2004). History and rationale of genetic toxicity testing: An impersonal, and sometimes personal, view. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 44(5), 363-371.



## ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı : Kader ARSLAN
- Doğum Yeri ve Tarihi : Arpaçay-1977
- Yabancı Dili : İngilizce
- İletişim (e-posta) : kader3636kars@hotmail.com
- Eğitim Durumu
- Lise : Artvin Sağlık Meslek Lisesi 1997
- Lisans : Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü -2010
- Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik ABD. 2015-Devam ediyor.
- Çalıştığı Kurum ve Yıl : Kars Harakani Devlet Hastanesi (1997- Devam ediyor)