

Farmasötik Uygulamalarda Yaygın Kullanılan Nanoyapıların Toksisitesinin Değerlendirilmesi: Geleneksel Derleme

Evaluation of Toxicity of Nanostructures Widely Used in Pharmaceutical Applications: Traditional Review

¹Ebru Hilal ACAR^a, ²Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT^b

^aTürkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, Türkiye

^bHacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Ankara, Türkiye

ÖZET Nanoteknoloji kavramının hayatımıza girmesiyle nanomalzemeler pek çok farklı sektörde, farklı uygulamalarda kendine yer bulmaya başlamıştır. Boyutlarının nano ölçekte olması bu yapılara aynı malzemenin makro formundan daha farklı ve üstünlüklü özellikler kazandırır. Farmasötik/tıbbi uygulama alanları da nanoyapıların bu özelliğinden faydalanarak konvansiyonel yöntemlerin kısıtlarını aşmayı amaçlamıştır. Bu kapsamda nanoyapılar etkin tedavi, teşhis, görüntüleme gibi amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle ilaç taşıyıcı nanosistemlerin umut verici yapılar olduğu belirlenmiştir. Ancak bu yapıları özel kılan değişken ve modifiye edilebilir fizikokimyasal özellikleri aynı zamanda bu yapıların toksik etkisini öngörülemeden yönde ve oldukça değişken bir ölçekte etkilemektedir. Bu derleme çalışması kapsamında güncel literatür verilerinin değerlendirilmesi ile farmasötik uygulamalarda yaygın kullanılan nanoyapıların belirlenmesi, bu yapılar için rapor edilmiş toksisite verilerinin derlenmesi, belli sınıftaki nanoyapılar için yaygın toksik etkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ancak kullanılan nanoyapıların çeşitliliği, nanopartikül elde edilme ve karakterizasyon yöntemlerinin standart olmaması, nanopartiküllere özel olarak tanımlanmış ve uluslararası kabul görmüş standart test yöntemlerinin bulunmaması gibi nedenlerle farklı çalışma verilerini ortak bir parametre özelinde değerlendirmek ve ilgili nanoyapılar için belli bir fizikokimyasal özelliğe ya da diğer bir deyişle bağli olası toksik etkiyi genellemek mümkün olmamıştır. Bununla birlikte; incelenen literatür verileri farmasötik uygulamalarda organik, inorganik ve karbon-temelli çok sayıda farklı nanopartikülün çalışmalara konu olduğunu; toksisite değerlendirmesi yapılan nanopartiküller için toksik etki edilen durumların toksisite belirlenmeyen durumlardan daha fazla olduğunu; nanoyapıların toksisitesini değerlendirmenin ise zor ve kritik olduğunu göstermiştir. Dolayısı ile nanofarmasötiklerin güvenli kullanımı için; uluslararası ve ulusal otoriteler tarafından nanoyapılar özelinde standart elde etme, karakterizasyon ve toksisite test yöntemleri belirlenmelidir. Bu standartlara bağli kalınarak daha detaylı ve çeşitli çalışmalar yürütülmelidir.

ABSTRACT Nowadays nanomaterials have started to find a place for themselves in many different sectors/applications. The nanoscale sizes give these structures different and superior properties than the macro form of the same material. Pharmaceutical/medical application areas also aimed to overcome the limitations of conventional methods by taking advantage of nanostructures. Within this context, nanostructures have been used for effective treatment, diagnosis and imaging purposes. Especially nano drug delivery systems have been identified as promising structures. However, the variable and modifiable physicochemical properties also affect the toxic effects of them in an unpredictable way, on a highly variable scale. Within the scope of this review study, it was aimed to determine the nanostructures commonly used in pharmaceutical applications, to compile the toxicity data reported for these structures, to determine the common toxic effect for certain classes of nanostructures. However, due to the diversity of nanostructures used, the non-standardization of nanoparticle production-characterization methods, and the lack of internationally accepted standard test methods it was not possible to generalize the possible toxic effects. With this; The reviewed literature data shows that many different organic, inorganic and carbon-based nanoparticles are the subject of studies in pharmaceutical applications; For the nanoparticles for which toxicity evaluation was made, the cases in which toxic effects were detected are more than the cases in which no toxicity was determined; showed that it is difficult and critical to evaluate the toxicity of nanostructures. Therefore; Standardization, characterization and toxicity test methods should be determined by international/national authorities for nanostructures and more detailed, various studies should be carried out by adhering to these standards.

Anahtar Kelimeler: Toksisite; nanoyapılar; nanoteknoloji; nanopartikül; farmasötik müstahzarlar

Keywords: Toxicity; nanostructures; nanotechnology; nanoparticles; pharmaceutical preparations

Correspondence: Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji ABD, Ankara, Türkiye

E-mail: uundege@hacettepe.edu.tr



Peer review under responsibility of Journal of Literature Pharmacy Sciences.

Received: 09 Jun 2022

Received in revised form: 14 Dec 2022

Accepted: 04 Jan 2023

Available online: 10 Jan 2023

2630-5569 / Copyright © 2023 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Nanoteknoloji, nano boyuttaki yapıların kendilerine has özelliklerinden yararlanmak ve bu doğrultuda yeni ürünler, uygulamalar, tasarımlar ortaya koymak amacıyla işleyen multidisipliner bir alandır.¹ Avrupa Birliği Uluslararası Standardizasyon Komisyonu ve Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği tavsiyelerine göre nanomalzeme ifadesinin, bir veya daha fazla boyutu 1-100 nm arasında değişen yapıları kastettiği kabul edilir.² Yapıların boyutunun nano seviyede olması bu yapılara, aynı malzemenin *bulk* formundakinden farklı iletkenlik, mukavemet, stabilite, optik, manyetik, biyokimyasal, elastikiyet özellikleri kazandırır. Bu durum parçacık boyutunun küçülmesi ile birlikte birim hacim başına düşen yüzey alanının ve yüzeydeki fonksiyonel grup yoğunluğunun artmasıyla ilgilidir. Bu mikron-altı parçacıkların farklı hastalıkların önlenmesi, teşhisi ve tedavisi amacıyla kullanımı “nanotıp” kavramını; ilaç keşfi, ilaç hedeflendirmesi ve ilaç taşınması konularında çözüm üretmek amacıyla kullanımı da “nanofarmasötik” kavramını doğurmuştur.^{3,4} Nanofarmasötikler nano yapının kendilerine kazandırdığı özellikler sayesinde konvansiyonel ilaçlara karşı birçok üstünlüğe sahiptir, ancak üstünlük sağlayan bu özellikler aynı zamanda nano yapıların kendinden kaynaklı toksik etkilerini de beraberinde getirir.⁵ Bununla beraber yapıların fizikokimyasal özelliklerini karakterize etmek ve toksik etkilerini tayin etmek için ulusal ya da uluslararası otoriteler tarafından oluşturulmuş standartlar bulunmamaktadır. Bu çeşitlilik ve bilinmezlik ise nanofarmasötiklerin toksik etkilerini güvenilir olarak tespit etmeyi olanaksız kılmaktadır.⁶ Bu derlemenin amacı, farmasötik alanda yaygın olarak çalışılan/kullanılan nano yapıların belirlenmesi ve bu yapılar için rapor edilmiş toksisite verilerinin değerlendirilmesinden ibarettir.

NANOYAPILARIN FARMASÖTİK UYGULAMA ALANLARI VE YAYGIN KULLANILAN NANOTAŞIYICILAR

Nanoyapılar tıbbi/farmasötik uygulamalarda; ilaç taşıyıcı sistem olarak tedavi etkinliğini artırmak; mikroçip vb. aygıt formunda kullanılarak teşhis koymak; yapıların dokularda dağılma verimliliği vb. özelliklerinden yararlanılarak görüntüleme yapmak gibi amaçlarla kullanılmaktadır.⁷ Bu yapıları cazip kılan

özellikler; malzemenin nano boyutta iken moleküllerle ve molekül grupları ile bireysel düzeyde etkileşime girebilmesi ve nano yapıların kolaylıkla yeniden tasarlanıp modifiye edilebilmesidir.^{8,9} Bu sayede nanotıp uygulamalarında en çok kullanım alanı bulan sistemlerin ilaç taşıyıcı nanosistemler (nanotaşıyıcılar) olduğu söylenebilir.⁹

Nanotaşıyıcı sistemler; konvansiyonel ilaçların karşılaştığı biyolojik engelleri aşmak, ilacı istenen bölgeye taşımak, ilacın çözünürlüğünü artırmak, istenmeyen bölgelerde ilaç konsantrasyonunu düşürmek ve biyoyararlanımı artırmak üzere tasarlanmaktadır.⁵ İlaç taşıyıcı olarak kullanılan nano yapılar çok çeşitlidir ve bunlar yapı taşına göre; organik nano yapılar, inorganik nano yapılar ve karbon temelli nano yapılar olarak gruplandırılabilir.²

Organik nano yapılar; doğal, sentetik veya yarı sentetik kaynaklardan elde edilir. Lipozom, polimerzom, niozom, nanokapsül, nanoemülsiyon, polimerik nanopartikül (NP), lipid NP, dendrimer ve misel yapıları bu sınıfta yer alır.²

İnorganik nano yapılar; metal, metaloksit, karbon, silika gibi inorganik yapılardan elde edilen partikülleri ifade eder.¹⁰⁻¹² En yaygın kullanılan inorganik NP’ler ise altın (Au), gümüş (Ag), demir oksit, titanyum dioksit (TiO₂), silika, çinko oksit (ZnO), platin (Pt) partikülleri ve kuantum noktalarıdır [quantum dots (QD)].^{2,12,13}

Karbon-temelli nano yapılar; karbon atomlarının kendi aralarında bağ yapması sonucu oluşan ve sadece karbon atomundan müteşekkil yapılardır.^{2,7} Farmasötik alanda kullanılan ve farklı geometrik forma sahip karbon yapıları grafit, fulleren, karbon nanotüp (KNT) ve elmaştır.⁷

NANOFARMASÖTİKLER VE TOKSİSİTE

Nanoyapıları aynı malzemenin *bulk* formuna nazaran daha üstün kılan fizikokimyasal özellikler ve bu özelliklerdeki değişkenlikler aynı zamanda bu yapıların toksik etkisini makro formundakinden farklı ve çok çeşitli hâle getirir. Son yıllarda bu yapıların farklı alanlarda kullanımının hızla artması bunların çevre ve canlı sistemler ile etkileşimini anlamak ve değerlendirmek ihtiyacını doğurmuştur. Bu gereksinimle birlikte nano yapıların zararlı etkilerini, toksisitesini

tayin etmek üzere gerekli metotları tanımlayan “nanotoksosite” kavramı ortaya çıkmıştır.¹⁴ Ancak mevcut durumda nanoyapıların toksisitesini tayin etmede kullanılan yöntemler, aslında makroyapıların toksisite tayininde kullanılan yöntemlerdir. Dolayısı ile her bir nanoyapının çok çeşitli fizikokimyasal özellikleri ile değişen toksisite profilini bu konvansiyonel yöntemler ile belirlemek mümkün değildir.¹⁵ Ayrıca NP yüzeylerinin biyolojik ortamla doğrudan temas hâlinde olması ve bunların mikro boyutlu partiküllere kıyasla öngörülemeyen biyodağılım göstermesi de toksisite profilini belirleme konusunda zorluk yaratan unsurlardır.¹⁶

NANOYAPILARIN TOKSİSİTESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Nanoyapıların fizikokimyasal özellikleri bunların biyolojik ortamlarla etkileşim profilini dolayısıyla da toksisitesini etkiler.¹⁷ Ayrıca partikül büyüklüğü, partikül şekli, yüzey yükü, yüzey kaplaması, yapının malzemesi gibi özelliklerdeki minör değişiklikler, yapının etkinliğini ve toksisitesini oldukça belirgin bir farkla değiştirebilmektedir.¹⁸ Bu sebeple çalışmalara konu nanoyapılar değerlendirilirken öncelikle doğru şekilde karakterize edilmelidir.¹⁴

Partikül Büyüklüğü

Nanoyapının partikül büyüklüğünün küçülmesi ile birim hacim başına düşen yüzey alanı ve yüzeydeki fonksiyonel grup miktarı artar. Bu durum da partikülün biyolojik ortamlar ile etkileşim yetisini artırır. Belli boyuttaki partiküller hücre içine girip organeler ile etkileşebilir.¹⁶ Büyüklüğe bağlı olarak biyodağılım profili değişir ve partikül uygulama yerinden uzaktaki istenmeyen dokulara ulaşabilir.⁴ Ayrıca farklı boyutlardaki yapılar farklı klirens mekanizmaları ile uzaklaştırılabildiğinden dolaşımında kalma süresi de bu özellikten etkilenir.¹⁹

Partikül Şekli

Yapının şekli, dağılımı, hücresele etkileşim mekanizmasını, klirens etkiler.²⁰ Ayrıca endositoz ve fagositozu etkiler.¹⁷

Yüzey Yükü

Nanoyapıların yüzey yükü biyolojik ortamla etkileşim profilini, dolayısı ile toksik etkisini belirler.²¹ Ör-

neğin hücre zarı negatif yüklüdür ve pozitif yüklü bir nanoyapının, negatif yüklü olana kıyasla hücre zarı ile daha şiddetli bir etkileşime girmesi, hücre içine alınımının daha yüksek olması beklenir. Negatif yüklü partiküllerin hücre üzerine net bir etkisi bildirilmemiş iken pozitif yüklü partiküllerin DNA hasarını indüklediği rapor edilmiştir.¹⁶

Yüzey Kaplaması

Biyolojik ortamdaki yazgılarını kontrol etmek üzere nanoyapılar çeşitli malzemeler ile kaplanabilirler.²² Bu durumda biyolojik ortam ile doğrudan etkileşime giren yapı yüzey kaplama malzemesi olduğundan malzemenin karakteristik özellikleri yapının toksisite profilini etkiler.¹⁹

NP'nin Bileşimi

Nanoyapı birden fazla malzemenin kompozisyonu ya da bileşiği olabilir. Bu durumda alt bileşenlerin bireysel özellikleri toksisite özelliklerini etkiler.¹⁷ Örneğin metalik NP sınıfındaki farklı bileşikler kendilerini oluşturan metallerin özelliklerine göre ya da polimer sınıfındaki kompozisyonlar yapıya katılan farklı polimerlerin özelliklerine göre farklı toksisite profili oluştururlar.^{17,23}

NANOTOKSİSİTE MEKANİZMALARI

NP'lerin geniş ve reaktif yüzey alanına sahip olması, yüzeylerinde prooksidant fonksiyonel gruplarının bulunması ve partiküllerin hücre ile etkileşmesi; reaktif oksijen türlerinin [reactive oxygen species (ROS)] ve oksidatif stresin oluşumunu indükler.²⁴ Nanoyapıların öncelikli toksisite mekanizmasının oksidatif stres ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.²⁵ Bu durumda toksik etki; gen ekspresyonu, hücre ölümü, inflamatuvar yanıtın modülasyonu ve genotoksosite ile kendini gösterebilir.²⁶

Yapılan çalışmalar ayrıca oksidatif stresin proinflamatuvar mediatörlerin salımına neden olduğunu, dolayısı ile NP'lerin inflamasyon aracılı nanotoksositeye de neden olabildiğini göstermiştir.²⁷

Bir diğer toksisite mekanizması ise “doğrudan etkileşim” olarak tanımlanmıştır. Hem boyutları hem de reaktif doğaları bu yapıların lipidlerle ve proteinlerle doğrudan etkileşmesine olanak verir. Bu etkileşim de DNA'da, organellerde ve hücrede yapısal hasar ile sonuçlanabilir.²⁸

NANOTOKSİSİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

Nanoyapıların farmasötik uygulamalarda kullanım alanının hızla artması nanotoksikolojik değerlendirmenin önemini artırmaktadır.²⁹ Öte yandan mevcut durumda nanoyapılar için standart karakterizasyon yöntemleri, toksikolojik değerlendirme yöntemleri tanımlı değildir.²⁹ Nanoformülasyonların farmakokinetiğini, etkinliğini ve toksisitesini değerlendirmek için hâlen, Uluslararası Uyum Konseyi, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü gibi çeşitli uluslararası kuruluşların ve yerel otoritelerin kılavuzlarında küçük molekülü ilaçlar için tanımlanmış olan yöntemler kullanılmaktadır.³⁰ Ancak NP'lerin değerlendirilmesinde geleneksel yöntemlerden farklı olarak; partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı, yüzey şekli, yüzey adsorpsiyon özellikleri, suda çözünürlüğü, ROS üretme kapasitesi, ortamdaki stabilitesi gibi özelliklerin göz önünde bulundurulması gerektiği belirlenmiştir.³¹

In Vitro Test Yöntemleri

In vitro testler, nanoyapıların insan hücreleri ile etkileşimini gözlemlemeye olanak sağlayarak birincil toksisite mekanizmaları konusunda fikir verir; ayrıca düşük maliyetli ve hızlı sonuç veren yöntemlerdir.¹⁴ Bu yolla yaygın olarak canlılık, genotoksisite, sitotoksisite ve immünotoksisite tayini gerçekleştirilir.¹⁶ Belli üstünlüklerine karşın in vitro test yöntemlerinin birtakım sınırlayıcı özellikleri bulunmaktadır. NP örneğinin hücrelere, istenen konsantrasyonda ve formda ulaşımını belirlemek, konsantrasyonunu sabit tutmak, stabilitesinden emin olmak oldukça güçtür.¹⁶ Ayrıca sitotoksisite test ortamında gerçek in vivo koşulda bulunabilecek konsantrasyondan daha fazla NP kullanılması, uygulanan NP örneğinde safsızlık bulunması ihtimali; hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri, nanoyapının fizikokimyasal özelliklerinin ve dozun test koşullarına etkisi; in vitro testlerde genellikle kullanılan tek katmanlı (2D) hücre kültürünün nanoformülasyonların hücrelere ve dokulara alınma mekanizmasını etkilemesi vb. ihtimaller yöntemin güvenilirliğini sorgulatar niteliktedir.^{17,32,33} Dolayısı ile uygun işlem koşullarının tanımlanması, ilgili medya özelliklerinin bilinmesi ve bu koşullar altındaki NP'lerin karakterize edilmesi oldukça önemlidir.¹⁶ İlave olarak; tok-

sisite testinde NP miktarının hangi birim ile ifade edileceğinin net olmaması bir sorun olarak karşımıza çıkar. Çünkü geleneksel yaklaşımlarda konsantrasyon mL, cm² veya hücre başına ağırlık cinsinden ifade edilir. Ancak nanoyapılar söz konusu olduğunda hücre başına yüzey alanı, sayı veya ağırlık cinsinden konsantrasyon belirlemek daha makul kabul edilmekte, hatta sonuçların karşılaştırılabilmesi için yüzey alanı ve toksisitede etkili olan yüzey özelliğinin belirtilmesi tavsiye edilmektedir.³⁴

In Vivo Test Yöntemleri

In vivo testler nanoyapıların; çeşitli maruz kalma yollarıyla ilişkilendiren gastrointestinal, pulmoner, karsinogenik, dermal bağlantılı toksisitelerini ve kronik sistemik toksik etkilerini değerlendirmek üzere veri sunabilir.¹⁴ Bununla beraber; çalışmalarda kullanılan tür, suş, yaşam koşulları, diyet, sirkadiyen ritim vb. farklılıklar dolayısıyla farklı sonuçlar elde edilir. Uygulanan NP dozu, uygulama yolu, ilgilenilen organ-doku ve incelenmesi gereken hücre-protein tanımlanmalıdır.¹⁶ Bu yöntemle elde edilen veriler incelenen yapının gerçek vücut ortamındaki toksik etkilerini tahmin etme konusunda gerekli ve kaçınılmazdır.³⁵ Ancak test sonuçlarının insan vücuduna korelasyonu her zaman mümkün değildir.³⁶ Ayrıca nanofarmasötikler için gerçekleştirilen çalışmalarda bu yapıların toksik özelliğini etkileyen karmaşık unsurlar da göz önünde bulundurulmalıdır.⁴

NANOTAŞIYICILARIN TOKSİSİTESİ

ORGANİK NANOTAŞIYICILARIN TOKSİSİTESİ

Farmasötik nanotaşıyıcı olarak polimerik NP ve nanokapsül, lipozom, dendrimer, misel, nanoemülsiyon, lipid NP gibi çeşitli organik malzemeler araştırmalara konu olmaktadır.² Hatta bu yapılardan bazıları mevcut durumda ruhsatlı nano ilaçların yapısında da yer almaktadır. Farmasötik uygulamada kullanılacak nanotaşıyıcı sistemin nontoksik, biyo-parçalanır ve biyo-uyumlu olması beklenir ve özellikle polimerler bu gereklilikleri sağlamaya en yakın sınıftır.³⁷ Ancak nanotaşıyıcı sistem olarak farklı çalışmalara konu olan polimer bazlı malzeme türleri çok çeşitlidir ve bunlar üzerinde yapılan çalışmalar toksik etki profillerinin değişebildiğini göstermektedir.¹³

Kitosan bu alanda yaygın olarak kullanılan bir polimerdir ve Amerika Gıda ve İlaç Dairesi bu polimerin yara örtüleri için kullanımını onaylamıştır. Ayrıca literatürde “biyo-uyumlu ve toksik olmayan” olarak tanımlanmıştır.³⁸ Ancak kitosan NP’lerin olası nörotoksik etkisini değerlendirmek üzere zebra balığı üzerinde gerçekleştirilen bir çalışma; kitosan NP’lerin de Tween 80 ile modifiye edilmiş NP’lerin de doza bağlı olarak malformasyonlarda ve ölüm oranında artışı, kuluçka oranında azalmayı indüklediğini bildirmiştir.³⁹ Zebra balığı embriyosu ile gerçekleştirilen başka bir çalışma düşük konsantrasyondaki kitosan NP’lerin toksik etki göstermediğini; ancak 40 mg/L konsantrasyondaki 200 nm kitosan NP uygulanmasının %100 mortaliteye neden olduğunu; 5 mg/L 200 nm ve 300 nm kitosan NP uygulanmasının kuluçka hızında azalmaya veya mortaliteye neden olmadığını; 5 mg/L 200 nm kitosan NP’lerin malformasyona sebebiyet verdiğini; 5 mg/L 300 nm kitosan NP’lerin ise malformasyon yaratmadığını rapor etmiştir.⁴⁰

Kitosan temelli NP’lerin sentezi ve biyoyoungulamalarını inceleyen bir çalışmada ise Kitosan NP’lerin in vitro ve in vivo deneylerde sitotoksik etkisinin gözlemlendiği, bu sebeple bu yapıların toksik etkilerinin kapsamlı olarak araştırılması gerektiği bildirilmiştir.⁴¹

İmmünotoksisite tayini için yapılan bir araştırma sonucu ise; kitosanın (molekül ağırlığı ve asetilasyon derecesi gibi) fizikokimyasal özelliklerinin kitosan NP’lerin immünotoksisite ve hemo-uyumluluk özelliklerini değiştirdiğini ve düşük moleküler ağırlığa ve asetilasyon derecesine sahip NP’lerin daha toksik olduğunu bildirmiştir.⁴²

Dendrimer taşıyıcı ile uygulanan ilacın biyoyararlanımının, serbest ilaca nazaran yüksek olduğu tespit edilmiştir.¹³ Bu sebeple dendrimerler farklı uygulama yolları ve tümör içine enjeksiyon için çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır.¹³ İlaç taşıyıcı sistem olarak kullanılan dendrimer yapıları arasında, çekirdeğinde etilendiamin bulunan ve metil akrilat ve etilendiamin dallardan oluşan poli(amidoamin) (PAMAM) dendrimerler başı çekmektedir.⁴³ Dendrimerler üzerinde yapılan çeşitli toksisite değerlendirmelerde; PAMAM ve polipropilenimin dendrimerlerinin katyonik yapılarının in vivo ve in

vitro koşulda toksik etki gösterdiği, toksik etkinin zincir uzunluğuna bağlı olarak değiştiği; katyonik dendrimerlerin negatif yüklü hücre zarı ile etkileşime girerek sitotoksisite, hemolitik toksisite ve hematolojik toksisiteye neden olabildiği; çekirdek yükünün (anyonik, katyonik, nötral) yanı sıra dallanma durumunun ve yüzey grupları sayısının toksisitede etkili olduğu; özellikle artan dallanma sayısı ve yüzeydeki pozitif yükün yüksek sitotoksisite yarattığı bu zorlukların üstesinden gelmek üzere kaplama, modifikasyon gibi çeşitli stratejiler belirlenmesi gerektiği rapor edilmiştir.⁴⁴⁻⁴⁶

Nanotaşıyıcı yapıları arasında lipozomlar nonimmünojenik, nontoksik ve biyoparçalanır doğaları sebebi ile oldukça popülerdir. Klinik araştırmalar bu yapıların terapötik ajanların farmakokinetiğini ve biyodağılımını iyileştirdiğini ve hedef dokuda birikmeleri sebebi ile ilacın toksisitesini azalttığını göstermiştir.⁴⁷ Günümüzde klinik kullanım onayı almış ve hâlen klinik araştırması devam eden pek çok lipozom temelli ilaç bulunmaktadır.⁴⁷ Ancak bu alanda yapılan farklı çalışmalar; lipozomun yapısına katılan lipidlerin kimyasal bileşiminin hücre proliferasyonu ve canlılığı üzerinde etkili olduğunu; lipozom yükünün lipozomun sitotoksik etkisini ve hemo-uyumluluk özelliğini değiştirdiğini göstermiştir.³⁸

İnsan umbilikal ven endotel hücreleri kullanılarak farklı koşullar altında gerçekleştirilen in vitro test sonuçları polimerik misellerin sitotoksisiteyi, oksidatif stresi ya da inflamatuvar yanıtı indüklemediğini göstermiştir. Ancak farklı toksisite çalışmaları, kendisini oluşturan malzemeye bağlı olarak misellerin toksik etki yaratabileceğini de tespit etmiştir.⁴⁸ Ayrıca misel formunu oluşturan sürfaktan miktarının artmasının da toksik etkiyi artırdığı bildirilmiştir.⁴⁹

Nanoemülsiyon formülasyonlarında yüzey etkin maddenin, yapının toksik özelliğini belirlediği ve iyonik yüzey aktif maddelerin noniyonik yüzey aktif maddelerden daha toksik olduğu belirlenmiştir.³⁸

Katı lipid NP’ler ile yapılan araştırmalar; partikül büyüklüğü, partikül büyüklüğü dağılımı, yapıya katılan yüzey etkin madde gibi unsurların yapının toksik etki profilini değiştirdiğini göstermiştir.⁵⁰

İNORGANİK NANOTAŞIYICILARIN TOKSİSİTESİ

Nanotaşıyıcı yapılar arasında inorganik malzemeler, partikül boyutunun, şeklinin ve bileşiminin ayarlanabilmesi sebebi ile avantajlıdır.¹⁰ Ayrıca nano seviyede iken elektron hareketlerinin belli enerji seviyelerinde sınırlanması bu yapılara benzersiz özellikler kazandırır.² Elektriksel, optik ve manyetik özelliklerinin sağladığı üstünlükler her ne kadar bu yapıları tedavi ve görüntüleme alanlarında cazip kılsa da bunların toksik etkileri ciddi bir sınırlayıcı unsur olarak karşımıza çıkar.^{2,7,11}

Metalik NP'lerin Toksikitesi

Ag NP'ler terapötik kullanım alanında özellikle antimikrobiyal etkileri ile ön plana çıkarlar.¹⁴ Beyin mikrovasküler endotel hücre hattı (hCMEC/D3) kullanılarak gerçekleştirilen in vitro incelemelerde Ag NP'lerin farklı mekanizmalarla nörotoksositeye neden olabildiği; Wistar sıçanları ile yapılan bir başka çalışmada da nörotoksik etkilerin gözlemlendiği; Ag NP'lerin hipokampusta apoptozu ve koyu nöron oluşumunu indüklediği belirlenmiştir.^{51,52}

Fare beyin hücrelerinde farklı büyüklükteki partiküllerin etkisi incelendiğinde küçük boyutlu (20 nm) NP'lerin hücre kültüründe büyük boyutlu (100 nm) NP'lerden daha çok hassasiyet yarattığı; değişik suşlarda (C57BL/6 ve A/J) ise benzer sitotoksik etki gözlemlendiği ancak hücre içine alım mekanizmalarının farklı olduğu tespit edilmiştir.⁵³ Zebra balığı embriyosu üzerinde yapılan incelemeler sonucunda aynı büyüklükteki (12 nm) partikülün gelişimsel toksisite üzerindeki etkisinin yüzey yüküne bağlı olarak değiştiği, partikülün büyüklüğünün değişmesi ile de toksik etkinin deformasyon ya da ölüm ile sonuçlanabildiği bildirilmiştir.⁵⁴ Genotoksosite değerlendirmelerinde ise örneğin erkek ve dişi farelere oral uygulanan 20 nm Ag NP'lerin kan, böbrek, karaciğer, dalak hücrelerinde genotoksik etkisinin bulunmadığı; ancak polivinilpirolidon ile stabilize edilmiş Ag NP'lerin in vitro insan bronşiyal epitelyal BEAS 2B hücrelerinde genotoksik etkiye neden olduğu rapor edilmiştir.⁵⁵

İnert metal olması sebebi ile zaten yüzyıllardır çeşitli amaçlarla kullanılan Au son yıllarda biyomedikal uygulamalarda da yerini almaya başlamıştır. Bu nedenle Au NP'lerin toksisitesini değerlendirmek de

önem kazanmıştır.¹⁴ In vitro fare fibroblast Balb/3T3 hücre hattı üzerinde yapılan değerlendirmeler farklı boyutlardaki (5 ve 15 nm) NP'lerin hücre içi endozomal kompartmanlarda biriktiğini, ancak küçük NP'lerin (5 nm) hücre iskeletine daha şiddetli hasar verdiğini göstermiştir.⁵⁶ Negatif yüzey yüküne sahip 50 nm Au NP'lerin zebra balığı embriosunda epidermal toksisite yarattığı, 1,3 nm pozitif yüklü NP'lerin ise göz hasarına neden olduğu belirlenmiştir. Yüzey kaplamasının değişkenliğine ilişkin çalışmalarda ise; sodyum sitrat veya PAMAM ile kaplanmış Au NP'lerin insan hepatoselüler karsinom hücreleri (HepG2) ve periferik kan mononükleer hücrelerinin her ikisi için sitotoksik/genotoksik etki gösterdiği, hücre hattına göre etki şiddetinin değiştiği; sıçanlara intravenöz olarak uygulanmış 20 nm sitrat ve pentapeptid sistein-alanin-lösin-asparajin-asparajin [cysteine-alanine-leucine-asparagine (CALNN)] kaplı Au NP'lerin her ikisinin de karaciğerde biriktiği, ayrıca CALNN-Au NP uygulanan sıçanlarda hafif anemi ile uyumlu dalak atrofi ve hematolojik bulgular gözlemlendiği bildirilmiştir.^{57,58}

Demir oksit, manyetik özelliği sebebiyle rağbet gören metal bileşiklerinden biridir.²⁸ İlgili toksisite çalışmalarında; 72 nm NP'lerin CD(R) IGS dişi sıçanlara ve THP-1 hücre hattına uygulaması sonucunda eritrositlerde sitotoksositeye neden olduğu; 15 nm NP'lerin zebra balığına 10 ppm uygulanmasının nörodavranışsal toksisiteye neden olduğu; A549 hücre hattına ve erkek Balb/c farelerine uygulanan 15 nm ve 225 nm NP'lerin ise toksik etki yaratmadığı bildirilmiştir.⁵⁹⁻⁶¹ Ayrıca insan deri epiteli hücre hattına (A431) ve akciğer epiteli hücre hattına (A549) demir oksit (Fe₃O₄, 25-100 µg/mL) uygulandığında, her iki hücre için de kuyruk DNA yoğunluğunun demir oksit konsantrasyonundaki artış ile artış gösterdiği belirlenmiştir.⁵⁵

Klinikte özellikle kanser tedavisinde kullanılan metallere biri de Pt'dir. Pt nontoksik olarak bilinir. Ancak yapılan toksisite testlerinde; 5 nm ve 70 nm Pt NP'lerin kardiyak elektrofizyoloji üzerinde benzer akut toksik etkilere neden olduğu bildirilmiştir.⁶² Ayrıca intratrakeal olarak Pt NP'lere maruz kalan hayvanların akciğerinde inflamatuvar yanıt geliştiği; intravenöz uygulama sonrası hepatotoksisite ve nefrotoksitenin indüklediği; oral uygulama sonrası in-

flamatuar yanıt geliştiği ve oksidatif stresin indüklediği; belirgin bir sitotoksikite olmaksızın DNA hasarı ve selüler apoptoz gerçekleştiği gözlemlenmiştir.⁶³

Kanser tedavisinde kullanılan bir diğer metal bileşiği ZnO'nun sitotoksik olduğu bilinmektedir. Zebra balığı, fare, bakteri gibi farklı türler üzerinde gerçekleştirilen bazı çalışmalar toksisitenin ZnO NP'lerden açığa çıkan Zn⁺ iyonu ile ilişkili olduğunu gösterir iken, bazı çalışmalar ise Zn⁺ iyonunun böyle bir etkisi olmadığını tespit etmiştir.⁶⁴

TiO₂ NP'ler ile yapılan çalışmalar bu yapıların partikül büyüklüğüne ve kristal forma bağlı olarak toksik etki gösterdiğini; uzun süreli dermal maruziyetin dermal ve sistemik toksisiteye neden olduğunu göstermiştir. Dermal uygulamalardaki fototoksik etkinin UVA ışığının neden olduğu reaktif oksijenden kaynaklandığı, ayrıca inhalasyon ile maruziyetin de toksisiteye neden olduğu tespit edilmiştir.⁶⁵ Ayrıca insan epidermal hücreleri farklı konsantrasyonlarda (0,008-80 µg/mL) 50 nm TiO₂ NP'ler ile 6 saat inkübe edildiğinde, 0,8 µg/mL'den yüksek konsantrasyonlarda DNA hasarının ve mikronükleus oluşumunun arttığı belirlenmiştir.⁵⁵

Silika NP'lerin Toksisitesi

Silika NP'ler de biyomedikal uygulamalarda çokça kullanılan inorganik yapılar arasında yer alır.⁵⁴ Genelde güvenli olarak bilinen silika NP'ler üzerinde yapılan incelemelerde; 20-200 nm arasında değişen büyüklükteki NP'ler NIH/3T3 fibroblastlara, HepG2 ve A549 hücre hatlarına uygulanmış ve NP'lerin büyüklüğüne, dozuna ve NP uygulanan hücre hattına bağlı olarak sitotoksikite profilinin değiştiği; ayrıca 20-200 nm aralığındaki partiküllerden hücre içine en çok alınanların 60 nm partiküller olduğu belirlenmiştir.⁶⁶ Ayrıca yapılan çeşitli çalışmalarda bu yapıların genotoksik etkisinin bulunduğu ve bulunmadığı çıkarımı ile sonuçlanan veriler elde edilmiş, bu da çalışma yöntemlerinin ve koşullarının standardize olmaması ile ilişkilendirilmiştir.⁶⁷

QD'lerin Toksisitesi

QD; yarı iletkenler, soy metaller ve manyetik geçiş metalleri gibi çeşitli metal komplekslerinden oluşabilen bir metaloid çekirdek ile bu çekirdeği koruyan

bir kabuktan müteşekkil yapılardır. Örneğin indiyum fosfat, galyum arsenat, çinko sülfür, çinko-selenyum, kadmiyum-selenyum.⁶⁸ Floresans özellikleri sebebi ile QD'ler biyomedikal uygulamalar için cazip hâle gelirken bu yapıların toksik etkileri ise sınırlayıcı bir unsur olarak karşımıza çıkar.²⁸ Partikül büyüklüğünün, uygulama yolunun, dozun, çekirdek ve kabuğu oluşturan malzeme özelliklerinin QD'lerin toksisite profilini değiştirdiği belirlenmiştir.⁶⁹ In vivo çalışmalar QD biyodağılımının partikül büyüklüğüne bağlı olduğunu göstermiştir.¹⁴ CdS kabuklu QD'lerin çeşitli hücre hatlarına uygulanması neticesinde ise Cd²⁺ iyonlarının sitotoksik etkiye neden olduğu rapor edilmiştir.¹⁴ Genotoksik potansiyelini karşılaştırmak üzere farklı hücre hatlarına (NIH3T3, MDA-MB-231 ve A549) QD uygulanması neticesinde A549 hücre hattının diğerlerine nazaran daha az duyarlı olduğu, bununla birlikte hücrelerin DNA'sındaki kuyruklanma oranının artan konsantrasyon ile arttığı belirlenmiştir.⁵⁵

KARBON-TEMELLİ NANOYAPILARIN TOKSİSİTESİ

Karbon temelli nanoyapılar güçlü mekanik özelliklere sahiptir, ayrıca kolay işlevselleştirilebilirler. Bu sayede çok farklı alanlarda kullanılmaları tercih edilir. Ancak toksik özellikleri iyi değerlendirilmelidir.⁵⁴

KNT'lerin Toksisitesi

KNT'lerin toksisitesi üzerine gerçekleştirilen çalışmalar bu yapıların; dokularda birikme, oksidatif stresi artırma, mitokondriyal stres ve DNA hasarı yaratma gibi etkilerinin bulunduğunu göstermiştir. Bu etkiler ise asbest liflerine benzerlik, yüksek en boy oranı, yüksek yüzey alanı, yüzey kusurları, yapılarındaki safsızlıklar, lipofilik yapı ve işlevselleştirme gibi özelliklerle ilişkilendirilmiştir.⁷⁰ Örneğin tek katlı ve çok katlı KNT'lerin uzunluğunun sitotoksisiteyi ve proinflamatuvar yanıtı; yüzey yükü ve fonksiyonunun sitotoksisiteyi; KNT'lerin yapısındaki metal varlığının da sitotoksisiteyi etkilediği belirlenmiştir.⁷¹ Ayrıca farelere abdominal boşluktan verilen KNT'lerin ise asbest uygulanmasına benzer bir yanıt ile mezotelyomayı tetiklediği rapor edilmiştir.¹⁴ Genotoksikite çalışması kapsamında insan bronşiyal epitel hücre hattına (BEAS-2B) farklı zaman aralıklarında uygulanan KNT'lerin doza bağlı olarak DNA hasarını indüklediği belirlenmiştir.⁵⁵ Yapılan çalışmaların

KNT'lerin toksisitesini net olarak belirlemek için yeterli olmadığı ve bu konuda daha çok çalışma yapılması gerektiği bildirilmiştir.³¹

Fullerenlerin Toksisitesi

Fulleren toksisitesini belirlemek üzere yapılan incelemelerde fullerenin temel nanotoksosite mekanizmasının ROS ve serbest radikal oluşumu olduğu; bu yapıların balık beyinlerinde hasar yarattığı, su pirelerini öldürdüğü ve bakterisidal özellikler gösterdiği tespit edilmiştir.⁷²

SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanomalzemelerin kendilerine has ve üstün özellikleri bu yapıların pek çok alanda olduğu gibi tıbbi/farmasötik uygulamalarda da kullanımını artırmıştır. Yapılan çalışmalar nanofarmasötiklerin tedavi etkinliğini artırma, ilacın toksik etkisini azaltma, teşhis ve görüntüleme kalitesini artırma konularında başarılı sonuçlar verdiğini göstermiştir. Ancak NP'lerin kendisinden kaynaklanan toksik etkiyi tespit etmek de ayrıca önem kazanmıştır. NP'ler malzeme türüne göre "organik", "inorganik" ve "karbon-temelli" olarak sınıflandırılabilir, bununla birlikte her bir sınıf altında çok sayıda farklı nano yapı yer almaktadır. Bu yapıların toksisite değerlendirmelerine ilişkin literatür verileri incelendiğinde; nanoyapıların farklı uygulama yolları için farklı dozlarda, farklı in vivo ve in vitro test koşullarında değerlendirildiği; ayrıca partikül büyüklüğü, yüzey yükü gibi fizikokimyasal özel-

liklerin etkisini değerlendirmek üzere çok değişkenli deneyler yapıldığı anlaşılmıştır. Bu değişkenliklerin yapının toksik etkisini öngörülemez yönde etkileyebileceği görülmüştür. İncelenen çalışma koşulları/verileri arasındaki çeşitlilik sebebi ile söz konusu verileri derlemek ve NP türlerinin belli koşullar altındaki olası toksik etkilerine ilişkin genelleme yapmak mümkün olmamıştır. Bununla birlikte mevcut çalışmaya da dayanak oluşturan bir tez çalışmasında "nanomalzeme" konusunda yapılan taramaya ait 226 bilimsel makale içerisindeki 135 yayında nanoyapıların toksisite özelliklerine de yer verildiği; bu yayınların %82,96'sında inorganik yapıların, %46,7'sinde organik yapıların ve %20'sinde karbon temelli yapıların toksisite verisinin irdelendiği; tüm yapı grupları için en çok bildirilen toksik etkinin ise sitotoksosite olduğu tespit edilmiştir.⁷³ Dolayısıyla ile NP türlerinin belli koşullar altındaki olası toksik etkilerine ilişkin genelleme yapmak mümkün olmamışsa dahi inorganik yapıların, organik ve karbon temelli yapılara nazaran daha toksik olmasının beklendiği, bu sebeple de daha çok çalışmaya konu edildiği çıkarımı yapılmıştır. Yayınların içeriği ve konuya göre dağılım bilgisi Tablo 1'de verilmiştir.

Ayrıca incelenen konuda güvenilir ve kesin veriler elde edilebilmesi için:

■ Uluslararası ve ulusal düzenleyici kurumlar tarafından nanoyapıların karakterizasyon parametrelerinin, karakterizasyon yöntemlerinin tanımlanması; nanoyapılar için toksisite tayin yöntemlerinin belir-

TABLO 1: Literatür verilerinin nanoyapılara göre dağılımı.

Literatür taraması	Yayın sayısı-Oranı
Nanomalzeme konulu yayın sayısı	226
Nanoyapıların toksik etkilerine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı	135
Organik nanoyapıların toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"toksisite" konulu yayın içerisindeki oranı	63-%46,7
Lipozomların toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"organik yapıların toksisitesi" konulu yayın içerisindeki oranı	29-%46
Dendrimlerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"organik yapıların toksisitesi" konulu yayın içerisindeki oranı	14-%22
İnorganik nanoyapıların toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-toksosite konulu yayın içerisindeki oranı	112-%82,96
Altın NP'lerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"inorganik yapıların toksisitesi" konulu yayın içerisindeki oranı	20-%17,85
Titanyum dioksit NP'lerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"inorganik yapıların toksisitesi" konulu yayın içerisindeki oranı	15-%13,39
Silika NP'lerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"inorganik yapıların toksisitesi" konulu yayın içerisindeki oranı	13-%11,61
Gümüş NP'lerin toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"inorganik yapıların toksisitesi" konulu yayın içerisindeki oranı	13-%11,61
Kuantum noktaları toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"inorganik yapıların toksisitesi" konulu yayın içerisindeki oranı	12-%10,71
Karbon temelli nanoyapıların toksisitesine ilişkin değerlendirme içeren yayın sayısı-"toksisite konulu" yayın içerisindeki oranı	27-%20

NP: Nanopartikül.

lenmesi; NP elde etme yöntemlerinin tanımlanması ve bu konuda kılavuzlar yayınlanması gerekmektedir.

■ Her bir yapı/malzeme üzerinde standart yöntemler kullanılarak daha ileri ve kapsamlı toksisite çalışmaları yapılmalıdır.

■ Uluslararası ve ulusal otoriteler ile akademi arasında iş birliği sağlanarak ortak bir veri tabanı oluşturulması; bu sayede (standardize edilmiş yöntemler kullanılarak) elde edilecek çok sayıda verinin yazılım aracılığı ile anlamlı veriye dönüştürülmesi ve NP'ye özgü değişkenler ile olası toksik etkiler arasında bağlantı kurulması bu alanda yapılacak çalışmalar için yol gösterici olacaktır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğru-

dan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Ebru Hilal Acar, Ülkü Ündeğer Bucurgat; **Tasarım:** Ebru Hilal Acar, Ülkü Ündeğer Bucurgat; **Denetleme/Danışmanlık:** Ülkü Ündeğer Bucurgat; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Ebru Hilal Acar; **Analiz ve/veya Yorum:** Ebru Hilal Acar; **Kaynak Taraması:** Ebru Hilal Acar; **Makalenin Yazımı:** Ebru Hilal Acar; **Eleştirel İnceleme:** Ülkü Ündeğer Bucurgat.

KAYNAKLAR

1. Akçan R, Aydoğan HC, Yıldırım MŞ, Taştekin B, Sağlam N. Nanotoxicity: a challenge for future medicine. Turk J Med Sci. 2020;50(4):1180-96. [Crossref] [PubMed] [PMC]
2. Bisso S, Leroux JC. Nanopharmaceuticals: a focus on their clinical translatability. Int J Pharm. 2020;578:119098. [Crossref] [PubMed]
3. Çalış S, Öztürk Atar K, Arslan FB, Eroğlu H, Çapan Y. Nanopharmaceuticals as drug-delivery systems. In: Mohapatra S, Ranjan S, Dasgupta N, Mishra R, Thomas S, eds. Nanocarriers for Drug Delivery. 1st ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2019. p.133-54. [Crossref]
4. Erkekoglu P, Kocer-Gumusel B. Toxicity assessment of nanopharmaceuticals. In: Grumezescu AM, ed. Inorganic Frameworks as Smart Nanomedicines. 1st ed. Cambridge, MA: William Andrew; 2018. p.565-603. [Crossref]
5. Lu W, Yao J, Zhu X, Qi Y. Nanomedicines: redefining traditional medicine. Biomed Pharmacother. 2021;134:111103. [Crossref] [PubMed]
6. Mühlebach S. Regulatory challenges of nanomedicines and their follow-on versions: a generic or similar approach? Adv Drug Deliv Rev. 2018;131:122-31. [Crossref] [PubMed]
7. Ho JQ, Arabi L, Basu M, Khaled F, Gonzalez Y, Ghegeliiu D, et al. Nanotechnology and nanomedicine. In: Mahmoudi M, ed. Nanomedicine for Ischemic Cardiomyopathy. 1st ed. London: Academic Press; 2020. p.9-21. [Crossref] [PMC]
8. Damodharan J. Nanomaterials in medicine-An overview. Materials Today: Proceedings. 2021;37:383-5. [Crossref]
9. Germain M, Caputo F, Metcalfe S, Tosi G, Spring K, Åslund AKO, et al. Delivering the power of nanomedicine to patients today. J Control Release. 2020;326:164-71. [Crossref] [PubMed] [PMC]
10. Peng Y, Chen L, Ye S, Kang Y, Liu J, Zeng S, et al. Research and development of drug delivery systems based on drug transporter and nano-formulation. Asian J Pharm Sci. 2020;15(2):220-36. [Crossref] [PubMed] [PMC]
11. Zhang C, Yan L, Wang X, Zhu S, Chen C, Gu Z, et al. Progress, challenges, and future of nanomedicine. Nano Today. 2020;35. [Crossref]
12. Wang T, Zhang D, Sun D, Gu J. Current status of in vivo bioanalysis of nano drug delivery systems. J Pharm Anal. 2020;10(3):221-32. [Crossref] [PubMed] [PMC]
13. Zırh-Gürsoy A. Nanofarmasötikler ve Uygulamaları. 1. Baskı. İstanbul: Kontrolü Salım Sistemleri Derneği; 2014.
14. Aguilar ZP. Conclusions. Nanomaterials for Medical Applications. 1st ed. Oxford: Elsevier; 2013. p.409-51. [Crossref]
15. Madhyastha H, Madhyastha R, Nakajima Y, Daima HK, Navya PN, Maruyama M. An opinion on nanomedicine and toxico-cellular crosstalk: considerations and caveats. Materials Today: Proceedings. 2019;10:100-5. [Crossref]
16. Ojer P, Iglesias T, Azqueta A, Irache JM, López de Cerain A. Toxicity evaluation of nanocarriers for the oral delivery of macromolecular drugs. Eur J Pharm Biopharm. 2015;97(Pt A):206-17. [Crossref] [PubMed]
17. Khare V, Saxena AK, Gupta PN. Toxicology considerations in nanomedicine. In: Thomas S, Grohens Y, Ninan N, eds. Nanotechnology Applications for Tissue Engineering. 1st ed. Amsterdam: Elsevier; 2015. p.239-61. [Crossref] [PubMed] [PMC]
18. Desai N. Challenges in development of nanoparticle-based therapeutics. AAPS J. 2012;14(2):282-95. [Crossref] [PubMed] [PMC]
19. Zhao Y, Sultan D, Liu Y. Biodistribution, excretion, and toxicity of nanoparticles. In: Cui W, Zhao X, eds. Theranostic Bionanomaterials. 1st ed. Amsterdam: Elsevier; 2019. p.27-53. [Crossref]
20. Augustine R, Hasan A, Primavera R, Wilson RJ, Thakor AS, Kevadiya BD. Cellular uptake and retention of nanoparticles: Insights on particle properties and interaction with cellular components. Materials Today Communications. 2020;25. [Crossref]
21. Cedervall T, Lynch I, Lindman S, Berggård T, Thulin E, Nilsson H, et al. Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(7):2050-5. [Crossref] [PubMed] [PMC]

22. Chatterjee S, Mankamna Kumari R, Nimesh S. Nanotoxicology. In: Nimesh S, Chan R, Gupta N, eds. *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*. 1st ed. Duxford: Woodhead Publishing; 2017. p.187-201. [Crossref] [PMC]
23. Gao H, Jiang X. Perspective on strategies to reduce the neurotoxicity of nanomaterials and nanomedicines. *Neurotoxicity of Nanomaterials and Nanomedicine*. 1st ed. London: Academic Press; 2017. p.331-6. [Crossref]
24. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160(1):1-40. [Crossref] [PubMed]
25. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri [Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA]. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*. 2015;6(3):331-6. [Crossref]
26. Fu PP, Xia Q, Hwang HM, Ray PC, Yu H. Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *J Food Drug Anal*. 2014;22(1):64-75. [Crossref] [PubMed] [PMC]
27. Gupta AK, Gupta M. Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles. *Biomaterials*. 2005;26(13):1565-73. [Crossref] [PubMed]
28. Soenen SJ, Rivera-Gil P, Montenegro J-M, Parak WJ, De Smedt SC, Braeckmans K. Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation. *Nano Today*. 2011;6(5):446-65. [Crossref]
29. Soares S, Sousa J, Pais A, Vitorino C. Nanomedicine: principles, properties, and regulatory issues. *Front Chem*. 2018;6:360. [Crossref] [PubMed] [PMC]
30. Agrahari V, Burnouf PA, Burnouf T, Agrahari V. Nanoformulation properties, characterization, and behavior in complex biological matrices: challenges and opportunities for brain-targeted drug delivery applications and enhanced translational potential. *Adv Drug Deliv Rev*. 2019;148:146-80. [Crossref] [PubMed]
31. Zhao X, Liu R. Recent progress and perspectives on the toxicity of carbon nanotubes at organism, organ, cell, and biomacromolecule levels. *Environ Int*. 2012;40:244-55. [Crossref] [PubMed]
32. Du R, Niu W, Hong H, Huo S. Nanotoxicity and regulatory aspects in musculoskeletal regeneration. In: Razavi M, ed. *Nanoengineering in Musculoskeletal Regeneration*. 1st ed. London: Academic Press; 2020. p.197-235. [Crossref]
33. Agrahari V, Agrahari V. Facilitating the translation of nanomedicines to a clinical product: challenges and opportunities. *Drug Discov Today*. 2018;23(5):974-91. [Crossref] [PubMed]
34. Marques MRC, Choo Q, Ashtikar M, Rocha TC, Bremer-Hoffmann S, Wacker MG. Nanomedicines-Tiny particles and big challenges. *Adv Drug Deliv Rev*. 2019;151-152:23-43. [Crossref] [PubMed]
35. Kumar V, Sharma N, Maitra SS. In vitro and in vivo toxicity assessment of nanoparticles. *International Nano Letters*. 2017;7(4):243-56. [Crossref]
36. Collins AR, Annangi B, Rubio L, Marcos R, Dorn M, Merker C, et al. High throughput toxicity screening and intracellular detection of nanomaterials. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2017;9(1):e1413. [Crossref] [PubMed] [PMC]
37. Rostami E. Progresses in targeted drug delivery systems using chitosan nanoparticles in cancer therapy: a mini-review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020;58. [Crossref]
38. Tavakol S, Kiani V, Tavakol B, Derakhshan MA, Joghataei MT, Rezayat SM. Toxicity concerns of nanocarriers. In: Mishra V, Kesharwani P, bin Mohd Amin MCI, Iyer A, eds. *Nanotechnology-Based Approaches for Targeting and Delivery of Drugs and Genes*. 1st ed. London, United Kingdom: Academic Press, an imprint of Elsevier; 2017. p.453-84. [Crossref]
39. Yuan Z, Li Y, Hu Y, You J, Higashisaka K, Nagano K, et al. Chitosan nanoparticles and their Tween 80 modified counterparts disrupt the developmental profile of zebrafish embryos. *Int J Pharm*. 2016;515(1-2):644-56. [Crossref] [PubMed]
40. Hu YL, Qi W, Han F, Shao JZ, Gao JQ. Toxicity evaluation of biodegradable chitosan nanoparticles using a zebrafish embryo model. *Int J Nanomedicine*. 2011;6:3351-9. [Crossref] [PubMed] [PMC]
41. Rizeq BR, Younes NN, Rasool K, Nasrallah GK. Synthesis, bioapplications, and toxicity evaluation of chitosan-based nanoparticles. *Int J Mol Sci*. 2019;20(22):5776. [Crossref] [PubMed] [PMC]
42. Jesus S, Marques AP, Duarte A, Soares E, Costa JP, Colaço M, et al. Chitosan nanoparticles: shedding light on immunotoxicity and hemocompatibility. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8:100. [Crossref] [PubMed] [PMC]
43. Babadi D, Dadashzadeh S, Osouli M, Abbasian Z, Daryabari MS, Sadrai S, et al. Biopharmaceutical and pharmacokinetic aspects of nanocarrier-mediated oral delivery of poorly soluble drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021;62. [Crossref]
44. Bodewein L, Schmelter F, Di Fiore S, Hollert H, Fischer R, Fenske M. Differences in toxicity of anionic and cationic PAMAM and PPI dendrimers in zebrafish embryos and cancer cell lines. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2016;305:83-92. [Crossref] [PubMed]
45. Jain K, Kesharwani P, Gupta U, Jain NK. Dendrimer toxicity: let's meet the challenge. *Int J Pharm*. 2010;394(1-2):122-42. [Crossref] [PubMed]
46. Janaszewska A, Lazniewska J, Trzepiński P, Marcinkowska M, Klajnert-Maculewicz B. Cytotoxicity of dendrimers. *Biomolecules*. 2019;9(8):330. [Crossref] [PubMed] [PMC]
47. Zylberberg C, Matosevic S. Pharmaceutical liposomal drug delivery: a review of new delivery systems and a look at the regulatory landscape. *Drug Deliv*. 2016;23(9):3319-29. [Crossref] [PubMed]
48. Shiraishi K, Yokoyama M. Toxicity and immunogenicity concerns related to PEGylated-micelle carrier systems: a review. *Sci Technol Adv Mater*. 2019;20(1):324-36. [Crossref] [PubMed] [PMC]
49. Yousefpour Marzbali M, Yari Khosroushahi A. Polymeric micelles as mighty nanocarriers for cancer gene therapy: a review. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2017;79(4):637-49. [Crossref] [PubMed]
50. Doktorová S, Kovačević AB, Garcia ML, Souto EB. Preclinical safety of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: Current evidence from in vitro and in vivo evaluation. *Eur J Pharm Biopharm*. 2016;108:235-52. [Crossref] [PubMed]
51. Khan AM, Korzeniowska B, Gorshkov V, Tahir M, Schröder H, Skytte L, et al. Silver nanoparticle-induced expression of proteins related to oxidative stress and neurodegeneration in an in vitro human blood-brain barrier model. *Nanotoxicology*. 2019;13(2):221-39. [Crossref] [PubMed]
52. Bagheri-abassi F, Alavi H, Mohammadipour A, Motejaded F, Ebrahimzadeh-bideskan A. The effect of silver nanoparticles on apoptosis and dark neuron production in rat hippocampus. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2015;18(7):644-8. [Link]
53. Weldon BA, Park JJ, Hong S, Workman T, Dills R, Lee JH, et al. Using primary organotypic mouse midbrain cultures to examine developmental neurotoxicity of silver nanoparticles across two genetic strains. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2018;354:215-24. [Crossref] [PubMed]
54. Jia HR, Zhu YX, Duan QY, Chen Z, Wu FG. Nanomaterials meet zebrafish: toxicity evaluation and drug delivery applications. *J Control Release*. 2019;311-312:301-18. [Crossref] [PubMed]
55. Raja IS, Lee JH, Hong SW, Shin DM, Lee JH, Han DW. A critical review on genotoxicity potential of low dimensional nanomaterials. *J Hazard Mater*. 2021;409:124915. [Crossref] [PubMed]
56. Coradeghini R, Gioria S, Garcia CP, Nativo P, Franchini F, Gilliland D, et al. Size-dependent toxicity and cell interaction mechanisms of gold nanoparticles on mouse fibroblasts. *Toxicol Lett*. 2013;217(3):205-16. [Crossref] [PubMed]
57. Paino IM, Marangoni VS, de Oliveira Rde C, Antunes LM, Zucolotto V. Cytotoxicity and genotoxicity of gold nanoparticles in human hepatocellular carcinoma and peripheral blood mononuclear cells. *Toxicol Lett*. 2012;215(2):119-25. [Crossref] [PubMed]

58. Fraga S, Brandão A, Soares ME, Morais T, Duarte JA, Pereira L, et al. Short- and long-term distribution and toxicity of gold nanoparticles in the rat after a single-dose intravenous administration. *Nanomedicine*. 2014;10(8):1757-66. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
59. Ran Q, Xiang Y, Liu Y, Xiang L, Li F, Deng X, et al. Eryptosis indices as a novel predictive parameter for biocompatibility of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles on erythrocytes. *Sci Rep*. 2015;5:16209. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
60. Malhotra N, Chen JR, Sarasamma S, Audira G, Siregar P, Liang ST, et al. Ecotoxicity assessment of Fe₃O₄ magnetic nanoparticle exposure in adult zebrafish at an environmental pertinent concentration by behavioral and biochemical testing. *Nanomaterials (Basel)*. 2019;9(6):873. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
61. Shen S, Wang S, Zheng R, Zhu X, Jiang X, Fu D, et al. Magnetic nanoparticle clusters for photothermal therapy with near-infrared irradiation. *Biomaterials*. 2015;39:67-74. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
62. Lin CX, Gu JL, Cao JM. The acute toxic effects of platinum nanoparticles on ion channels, transmembrane potentials of cardiomyocytes in vitro and heart rhythm in vivo in mice. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:5595-609. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
63. Czubacka E, Czerczak S. Are platinum nanoparticles safe to human health? *Med Pr*. 2019;70(4):487-95. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
64. Rasmussen JW, Martinez E, Louka P, Wingett DG. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. *Expert Opin Drug Deliv*. 2010;7(9):1063-77. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
65. Ziental D, Czarczynska-Goslinska B, Mlynarczyk DT, Glowacka-Sobotta A, Stanisz B, Goslinski T, et al. Titanium dioxide nanoparticles: prospects and applications in medicine. *Nanomaterials (Basel)*. 2020;10(2):387. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
66. Kim IY, Joachim E, Choi H, Kim K. Toxicity of silica nanoparticles depends on size, dose, and cell type. *Nanomedicine*. 2015;11(6):1407-16. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
67. Yazdimaghani M, Moos PJ, Dobrovolskaia MA, Ghandehari H. Genotoxicity of amorphous silica nanoparticles: status and prospects. *Nanomedicine*. 2019;16:106-25. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
68. Hardman R. A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors. *Environ Health Perspect*. 2006;114(2):165-72. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
69. Gidwani B, Sahu V, Shukla SS, Pandey R, Joshi V, Jain VK, et al. Quantum dots: prospectives, toxicity, advances and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021;61. [[Crossref](#)]
70. Ravi Kiran AVVV, Kusuma Kumari G, Krishnamurthy PT. Carbon nanotubes in drug delivery: focus on anticancer therapies. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020;59. [[Crossref](#)]
71. Sharma S, Naskar S, Kuotsu K. A review on carbon nanotubes: influencing toxicity and emerging carrier for platinum based cytotoxic drug application. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019;51:708-20. [[Crossref](#)]
72. Malhotra N, Audira G, Castillo AL, Siregar P, Ruallo JMS, Roldan MJ, et al. An update report on the biosafety and potential toxicity of fullerene-based nanomaterials toward aquatic animals. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:7995223. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
73. Acar EH. Nanoteknolojinin farmasötik uygulamalarda kullanımının ve nanopartiküllerin toksik etkilerinin değerlendirilmesi [Yüksek lisans tezi]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2021. p.76. [Erişim tarihi: 6 Aralık 2022] [Erişim linki: [Link](#)]