

# Silisyum Dioksit Nanoparçacıklarının Sıçan Kortikal Kemik Biyomekaniği Üzerine Etkileri: Deneysel Çalışma

## Effects of Silica Nanoparticles on Rat Cortical Bone Biomechanics: Experimental Study

Ülkü ÇÖMELEKOĞLU,<sup>a</sup>  
Fatma SÖĞÜT,<sup>b</sup>  
Coşar UZUN,<sup>a</sup>  
Serap YALIN,<sup>c</sup>  
Selma YAMAN<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Biyofizik AD,

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi,

<sup>b</sup>Mersin Üniversitesi Sağlık Hizmetleri  
Meslek Yüksekokulu,

<sup>c</sup>Biyokimya AD,

Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,  
Mersin

<sup>d</sup>Biyofizik AD,

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Tıp Fakültesi,

Kahramanmaraş

Geliş Tarihi/Received: 05.05.2017

Kabul Tarihi/Accepted: 06.06.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:

Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Biyofizik AD, Mersin,

TÜRKİYE/TURKEY

ucomelek@yahoo.com

**ÖZET Amaç:** Silisyum dioksit (SiO<sub>2</sub>) nanoparçacıkları tarım, tekstil, elektronik, kozmetik, boya endüstrisi ve tıp gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nanoparçacıklar vücuda farklı yollardan girerek çeşitli doku ve organlarda toksik etkiye neden olurlar. Bu çalışmada, SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının kemik biyomekaniği üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada 14 adet 12 haftalık erişkin Wistar albino erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar kontrol (n=7) ve deney (n=7) grubu olarak rastgele iki gruba bölünmüştür. Deney grubundaki hayvanlara 150 µg/mL dozunda ve 6 nm boyutunda SiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları 28 gün boyunca periton içine uygulanmıştır. Kontrol grubundaki sıçanlara ise eşit hacimde serum fizyolojik verilmiştir. Kortikal femur biyomekanik değişkenleri çekme testi cihazı kullanılarak ölçülmüş ve bütün femurlar için kırılma kuvveti, deformasyon, enerji, maksimum stres, maksimum strain, dayanıklılık ve Young modül değerleri hesaplanmıştır. **Bulgular:** Deney grubunda kırılma kuvveti, enerji, maksimum stres ve dayanıklılık kontrole göre önemli oranda düşük bulunmuştur (p<0,05). Deformasyon, maksimum strain ve Young modülünde ise kontrole göre önemli bir değişiklik gözlenmemiştir (p>0,05). **Sonuç:** Bu çalışma 150 µg/mL dozunda ve 6 nm boyutunda SiO<sub>2</sub> nanoparçacık uygulamasının kortikal kemiğin biyomekanik kalitesini azalttığını göstermiştir. Bu azalmanın kortikal kemikte kırılma riskini artırabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Nanopartiküller; biyomekanik; kırıklar, kemik

**ABSTRACT Objective:** Silica (SiO<sub>2</sub>) nanoparticles are widely used in fields including agriculture, textile, electronics, cosmetic, painting industry and medicine. SiO<sub>2</sub> nanoparticles enter the body in different ways and have a toxic effect on the tissue and organs. In this study, the effect of SiO<sub>2</sub> nanoparticles were investigated on the bone biomechanics. **Material and Methods:** Fourteen 12-week-old Wistar albino male rats were divided randomly to a control (n=7) and experimental (n=7) groups. Animals in the experimental group were intraperitoneally administered at a dose of 150 µg/mL 6 nm sized SiO<sub>2</sub> nanoparticles for 28 days. The rats in the control group were given an equal volume of saline. Bone biomechanical parameters were measured in cortical femur with tensile testing machine and breaking force, deformation, energy, ultimate stress, ultimate strain, toughness and elastic modulus were calculated for all cortical femurs. **Results:** In the experimental group, breaking force, energy, ultimate stress, and toughness were significantly lower than those of the control group (p<0.05). Deformation, ultimate strain and elastic modulus were not changed in experimental group when compared to control group (p>0.05). **Conclusion:** The results of the present study indicate that the administration 150 µg/mL of 6 nm sized SiO<sub>2</sub> nanoparticles reduce of the biomechanical quality of the bone. This reduction may thought to increase the risk of fracture of cortical bone.

**Keywords:** Nanoparticles; biomechanics; fractures, bone

**B**oyutu 1-100 nm aralığında yer alan parçacıklar “nanoparçacık” olarak adlandırılmaktadır. Nanoparçacıklar; elektron tutuculuğu, parçacık şekilleri, parçacık yüzey kimyası, ısı ve elektriksel iletkenlik, manyetik ve optik olmak üzere birçok fizikokimyasal özelliğe sahiptir.<sup>1-3</sup> Nanoparçacıkların etkileri boyutlarına bağlı olarak değişmektedir. Boyutları

küçüldükçe etkileşim yüzeyleri de artmaktadır.<sup>1,2</sup> Ayrıca bu etkilerin organizmaya verilmiş biçimine bağlı olduğu da bildirilmektedir.<sup>4</sup> Nanoteknolojinin gelişimiyle birlikte nano parçacıkların üretimi ve günlük yaşamdaki kullanımları artmaktadır. Bu parçacıklar başta tıp olmak üzere elektronik, otomotiv, tekstil, boya, kozmetik ve gıda alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır.<sup>5</sup> Nanoteknolojide sıklıkla gümüş, titanyum dioksit, çinko oksit, altın, silisyum dioksit gibi çeşitli metaller kullanılmaktadır. Bunlardan gümüş; atık su ve kaynak su temizliği ile tekstil ve kozmetikte, farmakolojide; titanyum dioksit kozmetikte, gıda sektöründe, araç kaplamalarında, ilaç taşıyıcı sistemlerde, çinko oksit kozmetik, gıda paketlenme ve araç kaplamada; altın ise özellikle tıpta kullanım alanı bulmaktadır.<sup>1</sup>

Vücudun en sert dokusu olan kemiğin destek, koruma, hareket, mineral depolama ve kan yapımı gibi birçok işlevi bulunmaktadır. Herhangi bir nedenle oluşan doku hasarları kemiğin bu işlevleri yerine getirmesini engellemektedir. Kemik biyomekaniği kemik dokunun yapısal ve işlevsel özelliğini temsil eden değişkenler içermektedir. Bu değişkenlerin ölçülmesi kemiğin kırılabilirliği, esnekliği ve dayanıklılığı hakkında bilgi vermektedir.<sup>6</sup> Son yıllarda kemikte oluşan hasarların giderilmesinde nanoteknolojiden yararlanılmaya başlanmıştır.<sup>7</sup> Nanoparçacıkların kemikteki kullanım alanlarının başında rejeneratif tedavide hücre işaretleme, kanser ve diğer kemik hastalıklarında ilaç taşıyıcı ve gen taşıyıcı, kemik doku mühendisliğinde ise mineralizasyonu aktive etmek için kaplama ve dolgu maddesi olarak kullanımı gelmektedir.<sup>7-9</sup>

Nanoparçacıkların günlük yaşamda kullanımlarına ilişkin çalışmaların artışına paralel olarak, bu parçacıkların insan ve çevre sağlığı üzerine etkilerine ilişkin araştırmalar da giderek artmaktadır. Doğal ortamda veya kullanılan ürünlerde bulunan nanoparçacıklar buldukları ortamdan kolaylıkla ayrılarak havaya, havadan da solunum yoluyla vücuda geçmektedirler. Ayrıca, kozmetikte kullanımı sonucu deri yoluyla, ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanımına bağlı olarak da intravenöz (IV) ve intraperitoneal yollarla giriş yaparak vücuttaki çeşitli organlara dağılmakta ve toksik etkilerini göstermektedirler.<sup>10</sup> Nanoteknolojik biyomateryaller

kemik onarımında ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, literatürde bu parçacıkların kemikteki olası toksik etkilerini araştıran sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların birinde, farklı derişimlerdeki kurşun nanoparçacıklarının sıçan kortikal ve trabeküler femurunda kalsiyum duyarlı reseptörlerin ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir.<sup>11</sup> Kalsiyum duyarlı reseptörler kemik mineral regülasyonunda rol oynayan parathormon üretimini artırmakta ve osteoblast aktivasyonunu sağlamaktadır.<sup>12</sup> Hidroksiapatit nanoparçacıklarının kemik iliği mezenkimal hücreleri ile etkileşiminin incelendiği bir çalışmada, yüksek dozlardaki nanoparçacıkların kemik iliği mezenkimal hücrelerinde sitotoksik etkiye neden olduğu öne sürülmüştür.<sup>13</sup> IV olarak uygulanan silisyum dioksit nanoparçacıklarının biyodağılımının incelendiği bir başka çalışmada ise enjeksiyondan bir gün sonra kemiğin SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının karaciğer ve akciğeri takiben en fazla biriktiği doku olduğu gösterilmiştir.<sup>14</sup> Altın nanopartikülleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, bu partiküllerin fare femurunda yüksek oranda biriktiği ve hematopoietik kemik dokuda lökopoiezis ve megakaryopoiez gibi önemli yan etkilere yol açtığı öne sürülmüştür.<sup>15</sup>

Nanoteknolojide önemli bir yere sahip olan ve yazıcı tonerlerinde, tekstil ve boyada, kozmetikte, tıbbi görüntüleme ve ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan silisyum dioksit nanoparçacıklarının vücuda çeşitli yollarla girebildiği ve kardiyotoksik, sitotoksik, genotoksik etkilerle birlikte kalp, karaciğer ve böbrek gibi yaşamsal organlarda hasara yol açtığı bildirilmektedir.<sup>5,16-19</sup> Bilgilerimize göre, literatürde SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının kemik biyomekaniği üzerine etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, silisyum dioksit nanoparçacıklarının kemiğin biyomekanik kalitesi üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### DENEY HAYVANLARI

Deneylede ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 14 adet 12 haftalık erkek Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar deney süresince 12 saat aydın-

lık, 12 saat karanlık ortamda, oda sıcaklığı 22-25°C ve ortalama nem yaklaşık %50 olacak şekilde galvaniz kafeslerde tutulmuş, deney süresince standart sıçan yemi ile beslenmiş ve su gereksinimleri *ad libitum* olarak karşılanmıştır. Sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde kontrol ve deney grubu olarak rastgele iki gruba ayrılmıştır. Araştırma Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Deneyler Ulusal Sağlık Araştırmaları Kurumu (NIH) "Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanım Rehberine" uygun olarak yapılmıştır.

### SiO<sub>2</sub> NANOPARÇACIKLARININ SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

SiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde Stöber yöntemine göre sentez edilmiştir.<sup>20</sup> Bu yöntemde 5 mL etanol içine 1,2 mL tetraetil ortosilikat ve 0,1 mL NH<sub>4</sub>OH eklenerek elde edilen karışım inert atmosferde bir gece karıştırılmıştır. Bu işlem sonunda SiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları istenmeyen reaktiflerden temizlenmek için etanol ile 4 kez yıkanmıştır. Santrifüjlenerek hazırlanan nanoparçacıklar fizikokimyasal karakterizasyon için nitrojen atmosfer altında kurutulmuştur. Sentezi tamamlanan nanoparçacıkların karakterizasyonu için alan emisyon-taramalı elektron mikroskop [field emission scanning electron microscopy (FE-SEM)] (Zeiss Supra 55) ve dinamik ışık dağılımı [dynamic light scattering (DLS), Zetasizer Nano ZS] kullanılmıştır.<sup>21</sup>

### DENEY PROTOKOLÜ

SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının subkronik etkisini belirlemek üzere deney grubundaki sıçanlara günlük 150 µg/mL dozundaki ve 6 nm boyutundaki nanoparçacıklar periton içine 28 gün boyunca uygulanmıştır. Kontrol grubundaki sıçanlara ise aynı hacimde ser um fizyolojik verilmiştir. Doz seçimi, literatürdeki ilgili çalışmalara göre yapılmıştır.<sup>4,22</sup> Son enjeksiyonu izleyen gün sıçanlara yüksek doz ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı İlaç Sanayi, İstanbul, Türkiye) uygulanarak yaşamları sonlandırılmış ve sol femurları izole edilmiştir. Femurlar biyomekanik analiz yapılmaya kadar -20°C'de bekletilmiştir.

### BIYOMEKANİK TEST

Dondurulmuş olarak bekletilen femurlar oda sıcaklığına getirildikten sonra uçları akrilik ile sabitlenerek biyomekanik test cihazına yatay doğrultuda yerleştirilmiştir (MAY BT03 Biomechanical Test Systems, Commat Ltd, Ankara, Türkiye). Biyomekanik test izole femurların kortikal bölümünde gerçekleştirilmiştir. Test cihazına yerleştirilen femurlara yatay doğrultuda çekme kuvveti uygulanmıştır. Kuvvet verileri 16 bitlik analog/sayısal çevirici aracılığıyla örnekleme hızı 1.000 örnek/s olacak şekilde ve daha sonra analiz edilmek üzere bilgisayara aktarılmıştır. Çekme testi için modül çekme hızı 2 mm/dakika, kuvvet ise 5 g/s olarak ayarlanmıştır. Bilgisayara aktarılan veriler BIOPAC MP 100 Acquisition System Version 3.5.7 (Santa Barbara, ABD) programı kullanılarak analiz edilmiş ve kortikal kemiklerin kırılma kuvveti belirlenmiştir. Kemiklerin maksimum uzama miktarı ve boyutları sayısal kumpas ile ölçülmüştür. Uzama miktarı kuvvet-deformasyon eğrisini elde etmek için, boyutlar ise kortikal kemiğin alanını hesaplamak için kullanılmıştır. Kuvvet-deformasyon eğrisinden kemiğin kırılma kuvveti, deformasyonu ve enerjisi hesaplanmıştır.<sup>6</sup> Kırılma kuvveti kemiğin kırıldığı andaki kuvvet değerine (F) karşılık gelmektedir. Deformasyon ( $\Delta L$ ) ise kemiğin çekme kuvveti uygulandıktan sonraki boyu ( $L_2$ ) ile kuvvet uygulanmadan önceki boyu ( $L_1$ ) arasındaki farkla temsil edilmektedir ( $\Delta L=L_2-L_1$ ). Enerji (E) kemiğin kırılmaya karşı gösterdiği direncin bir ölçüsüdür ve kuvvet-deformasyon eğrisinin altında kalan alandan hesaplanabilmektedir ( $E=(F*\Delta L)/2$ ). Kuvvet-deformasyon eğrisi normalize edilerek stres-strain eğrisine dönüştürülmüştür. Stres-strain eğrisinden maksimum stres, maksimum strain, dayanıklılık ve Young modülü hesaplanmıştır.<sup>5</sup> Birim alana etki eden maksimum kuvvet olarak tanımlanan maksimum stres ( $\sigma$ ) maksimum kırılma kuvvetinin alan (A) değerine bölünmesiyle ( $\sigma=F_{max}/A$ ), maksimum strain ( $\epsilon$ ), maksimum deformasyon miktarının kemiğin kuvvet uygulanmadan önceki değerine bölünmesiyle ( $\epsilon=\Delta L/L_1$ ), dayanıklılık (D) stres-strain eğrisinin altında kalan alanın hesaplanmasıyla ( $D=(\sigma*\epsilon)/2$ ) ve Young modül (Y) ise stres/strain oranından hesap-

lanmıştır ( $Y=\sigma/\epsilon$ ).<sup>23</sup> Kayıt tekniği ve veri analizi Şekil 1'de görülmektedir.

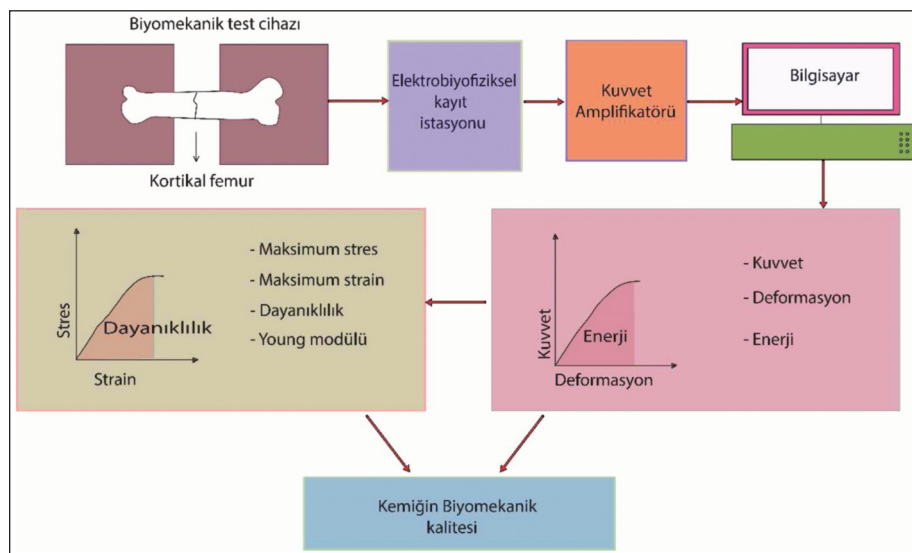
## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS 17.0 istatistiksel paket programı kullanılarak bilgisayar ortamında analiz edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile gruplar arasında fark olup olmadığı ise student-t testi ile saptanmıştır. Veriler ortalaması±standart sapma olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel önemliliğin sınırı  $p<0,05$  olarak belirlenmiştir.

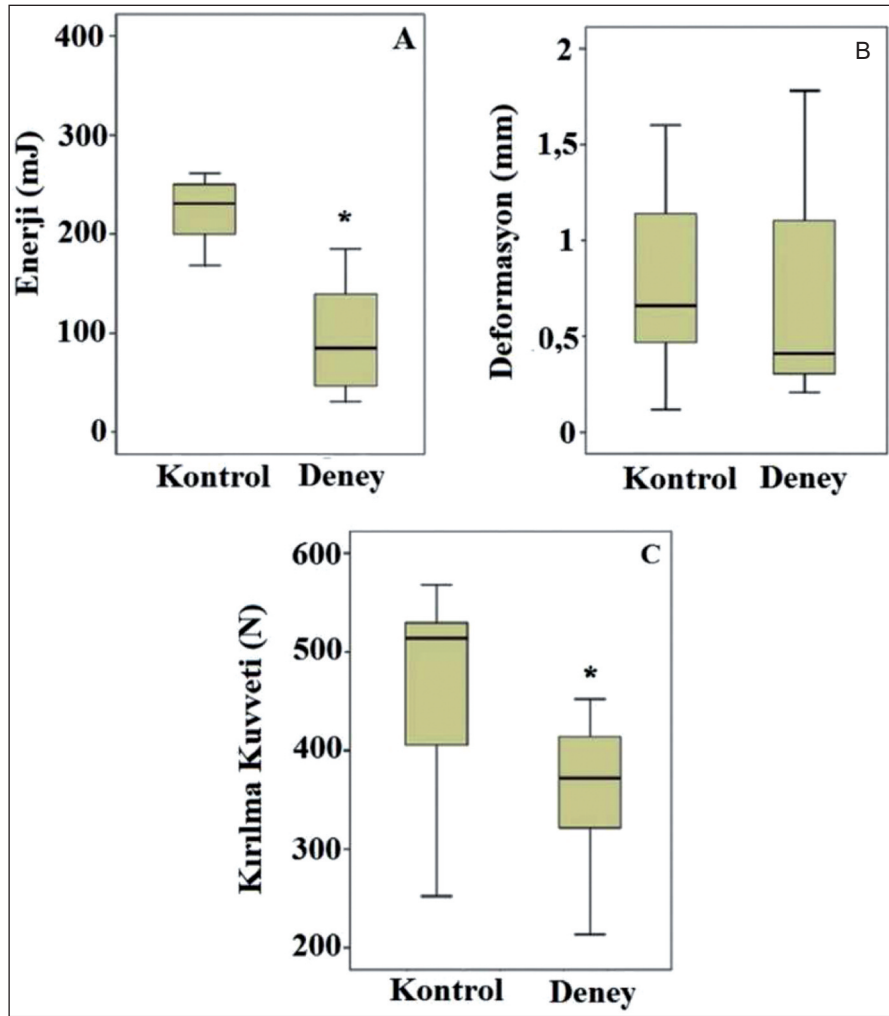
## BULGULAR

Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde sentez edilen ve FE-SEM ve DLS ile şekillerinin küresel ve çaplarının ortalama  $6\pm 0,09$  nm olduğu doğrulanan  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının kemiğin biyomekanik kalitesi üzerine etkisini belirlemek için çekme testi kullanılmıştır. Çekme testiyle kortikal kemik maksimum kırılma kuvveti, deformasyon, enerji, stres, strain, dayanıklılık ve Young modül değerleri ölçülmüştür. Kontrol grubunda kırılma kuvveti ortalama  $457,85\pm 44,30$  N, deney grubunda ise bu değer  $358,46\pm 30,41$  N olarak ölçülmüştür (Şekil 2A). Kırılma kuvveti deney grubunda kontrol grubuna göre %21,7 oranında azalmıştır ve bu azalma ista-

tistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p=0,048$ ). Kemikteki ortalama deformasyon kontrol grubunda  $0,83\pm 0,20$  mm, deney grubunda ise  $0,74\pm 0,22$  mm olarak ölçülmüştür (Şekil 2B). Deformasyon, deney grubunda kontrol grubuna göre %10,8 oranında azalmış, ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p=0,860$ ). Kemikte absorplanan ortalama enerji kontrol grubunda  $239,73\pm 26,77$  mJ olarak hesaplanır iken, deney grubunda bu değer  $96,02\pm 22,53$  mJ olarak ölçülmüştür (Şekil 2C). Enerji deney grubunda kontrole göre %59,9 oranında azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p=0,001$ ). Stres değeri kontrol grubunda ortalama  $32,80\pm 0,93$  MPa, deney grubunda ise  $23,72\pm 2,88$  MPa olarak ölçülmüştür (Şekil 3A). Deney grubunda stresteki azalma %25,3'tür ve istatistiksel olarak önemlidir ( $p=0,011$ ). Ortalama strain değeri kontrol grubunda  $0,30\pm 0,08$ , deney grubunda  $0,28\pm 0,05$  olarak ölçülmüştür (Şekil 3B). Deney grubunda strain değeri kontrol grubuna oranla %6,6 oranında azalmış, ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p=0,902$ ). Dayanıklılık stres-strain eğrisinin altında kalan alandan hesaplanmıştır ve ortalama değeri kontrol grubunda  $4,83\pm 1,22$  MPa, deney grubunda  $3,30\pm 0,85$  MPa olarak bulunmuştur (Şekil 3C). Bu değer deney grubunda kontrole göre %31,05 oranında azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak



ŞEKİL 1: Kemik biyomekanik kayıt tekniği ve veri analizinin şematik gösterimi.



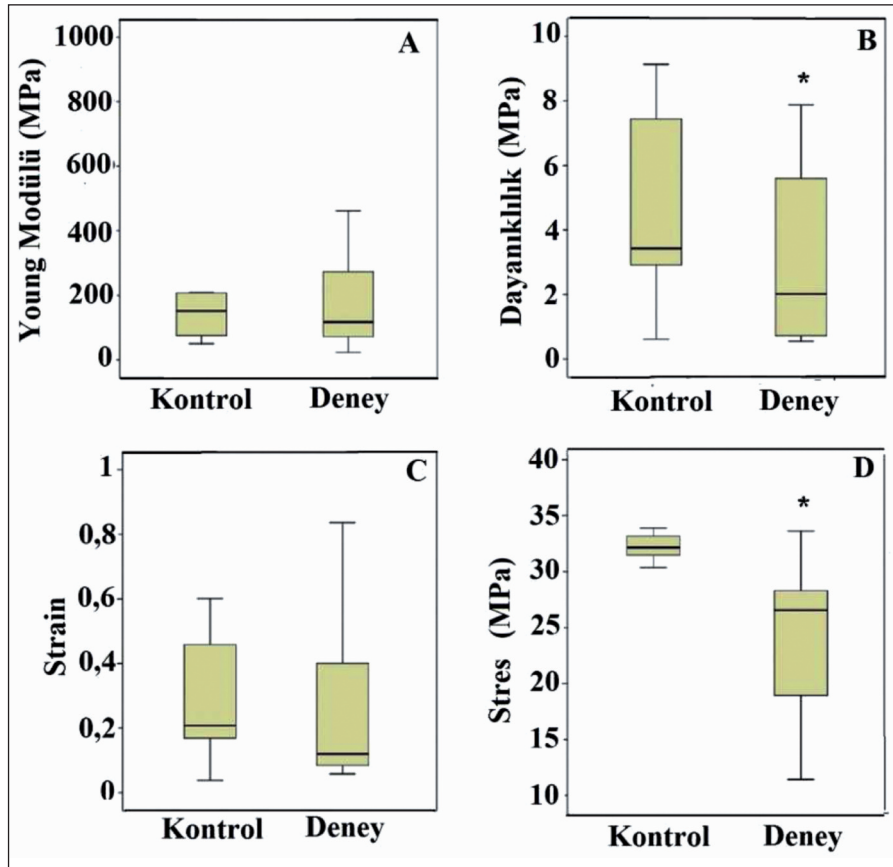
**ŞEKİL 2:** Kemiğin mineral özelliklerine ait biyomekanik değişkenler. A. Kırılma kuvveti, B. Deformasyon, C. Kemiğin kırılmaya karşı absorpladığı enerjiyi göstermektedir. \*Deney ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

önemli bulunmuştur ( $p=0,049$ ). Young modülü ise kontrol grubunda ortalama  $229,03 \pm 32,53$  MPa, kontrol grubunda  $184,35 \pm 25,67$  MPa olarak ölçülmüş (Şekil 3D) ve deney grubunda kontrole göre %19,5 oranında azalmasına rağmen bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p=0,376$ ).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, 6 nm boyutundaki  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının sıçan kortikal femuru biyomekanik kalitesi üzerine etkisi araştırılmış ve günlük  $150 \mu\text{g/mL}$  dozunda 28 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanan  $\text{SiO}_2$ 'nin kemik biyomekanik kalitesini bozarak kemiğin kırılabilirliğini artırabileceği sonucu elde edilmiştir.

Kemiğin kırılmaya karşı gösterdiği direnç geometrik ile materyal özelliklerine bağlıdır. Kuvvet ve enerji kemiğin mineral fazını içeren geometrik özelliğini temsil ederken; stres, strain, dayanıklılık ve Young modülü kemiğin kollajen fazını içeren materyal özelliklerini temsil etmektedir ve bu değişkenlerin değerlerinin azalması kemiğin kırılma riskini artırmaktadır.<sup>6</sup> Bu çalışmada,  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının kemiğin mineral fazında oluşturduğu etkileri belirlemek için maksimum kuvvet, deformasyon ve enerji değişkenleri; materyal fazındaki etkilerini belirlemek için de stres, strain, dayanıklılık ve Young modül ölçülmüştür. Deney grubunda kuvvet ve enerji değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda



**ŞEKİL 3:** Kemiğin materyal özelliklerine ait biyomekanik değişkenler. A. Stres, B. Strain, C. Dayanıklılık ve D. Young modülünü göstermektedir. \*Deney ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).

azalma gözlenirken, deformasyon değerinde bir değişiklik saptanmamıştır. Kuvvet ve enerjinin azalması kemik kırılma riskindeki artışın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.<sup>6</sup> Kemiğin materyal özelliğini temsil eden değişkenlerden stres ve dayanıklılık da deney grubunda kontrol grubuna göre önemli miktarda azalmıştır. Stres, strain ve dayanıklılıktaki azalma kemik kollajenindeki azalmayla ilişkilendirilmektedir.<sup>6</sup> Bu çalışmada elde edilen bulgular  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının kemiğin hem mineral hem de kollajen yapısında değişikliğe yol açarak kemik kırılma riskinde artışa yol açabileceği ipuçlarını vermektedir. Yapılan literatür incelemesinde, nanoparçacıkların kemik biyomekaniği üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle sonuçları karşılaştırma olanağı olmamıştır. Ancak,  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının kemikteki etkisine ilişkin farklı çalışmalar mevcuttur. Pre-osteoblastik hücre hat-

tında (MC3T3-E1) in vitro olarak yapılan bir çalışmada, 50 nm boyutundaki  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının osteoblastik aktiviteyi uyarır iken osteoklastik aktiviteyi baskıladığı bildirilmiştir.<sup>24</sup> Aynı çalışmada,  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının farelerde in vivo olarak ölçülen kemik mineral yoğunluğunu artırdığı, bunun da kemik kırılma riskinde azalmaya yol açacağı rapor edilmiştir. Ha ve ark.nın, MC3T3-E1 hücre hatlarında yaptıkları bir başka çalışmada, 50 nm  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının osteoblast farklılaşmasını artırdığı bildirilmiştir.<sup>25</sup> Weitzmann ve ark.nın, 50 nm boyutunda  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarını kullanarak yaşlı farelerde yaptıkları bir başka çalışmada bu nanoparçacıkların kemik kaybını önlediği öne sürülmüştür.<sup>26</sup> Çalışmamızda ise 6 nm boyutundaki  $\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının kemik biyomekanik kalitesini bozarak kemiğin kırılma riskini artırdığı gözlenmiştir. Bu sonuç Beck ve ark., Ha ve ark. ile Weitzmann ve ark. tarafından yapılan ça-

lişmalarda elde edilen sonuçlardan farklıdır. Araştırmacıların elde ettiği sonuçlar SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının kemikteki anabolizan etkisine işaret ederken, çalışmamızda elde edilen bulgular bu nanoparçacığın kemikte hasara yol açarak kemiğin biyomekanik kalitesini azalttığı yönündedir. SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının kemikteki etkisine ilişkin çalışmamızla önceki çalışmalar arasındaki farklılık, kullanılan SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının boyutuyla ilişkili olabilmektedir. Bu çalışmada 6 nm, anabolizan etkinin gözlemlendiği çalışmalarda ise 50 nm boyutunda nanoparçacık kullanılmıştır. Nanoparçacığın çapının azalması yüzey alanını eksponansiyel olarak artırmaktadır. Aynı kimyasal yapıya sahip parçacık, boyutuna ve yüzey alanına bağlı olarak farklı hücresel etkiler göstermektedir.<sup>27</sup> Boyutu küçük nanoparçacıklar hücresel bariyerleri çok kolay geçerek hücrelerde hasara neden olmaktadır. İnsan endotel hücrelerinde boyutları 14-16 nm aralığındaki SiO<sub>2</sub> nanoparçacıkların boyutlarının 60, 120 ve 335 nm olan nanoparçacıklara göre daha fazla sitotoksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.<sup>28</sup> Bağ dokusu fibroblastları, epitel hücre, makrofaj ve melanoma hücre hatlarında boyutları 0,8-15 nm arasında değişen altın nanoparçacıklarının sitotoksik etkisinin incelendiği çalışmada, 1-2 nm boyutundaki nanoparçacıkların, 15 nm boyutundaki nanoparçacıklara göre çok daha yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.<sup>29</sup> Bakterilerde gümüş nanoparçacıkları kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise boyutları 5 nm'den küçük nanoparçacıkların daha toksik etkiye sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır.<sup>30</sup> Bu çalışmalar 6 nm boyutundaki SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının kemiğin biyomekanik kalitesinde oluşturduğu bozulmanın nanoparçacığın boyutuyla ilişkili olabileceği düşüncesini desteklemektedir.

## SONUÇ

Bu çalışmada, 28 gün boyunca intraperitoneal olarak uygulanan 6 nm boyutunda ve 150 µg/mL dozundaki SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının kemiğin bi-

yomekanik kalitesini bozarak osteoporoz benzeri değişikliklere yol açabileceği gösterilmiştir. Ancak, SiO<sub>2</sub> nanoparçacıkların kemikte oluşturduğu değişikliklerin mekanizmasının açıklanabilmesi için bu bulguların başta moleküler teknikler olmak üzere farklı teknikler kullanılarak yapılacak çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Ayrıca, yapılacak çalışmalarda kemikteki nanoparçacık biyodağılımının nanoparçacıkların verilmiş yoluna göre saptanması kemik biyomekaniğindeki değişikliklerin anlaşılmasına katkıda bulunacaktır. Nanoteknolojinin yaşama önemli oranda girdiği ve yeni nanoteknolojik ürünlerin üretiminin ve tüketiminin büyük oranda desteklendiği günümüzde, bu ürünlerin oluşturabileceği toksik etkilerin de dikkate alınarak kullanıma sunulmasının ve bu konuda yeni yaklaşımların geliştirilmesinin halk sağlığının korunması açısından yararlı olacağı düşünülmektedir.

## Teşekkür

*Yazarlar Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının sentez ve karakterizasyonu çalışmalarını gerçekleştiren Tarsus Teknoloji Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kasım Ocakoğlu'na teşekkür ederler.*

## Çıkar Çatışması

*Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.*

## Yazar Katkıları

*Yazarlar arasında çalışma hazırlanırken; **Fikir/kavram:** Ülkü Çömelekoğlu, Serap Yalın; **Tasarım:** Ülkü Çömelekoğlu, Serap Yalın; **Denetleme/danışmanlık:** Ülkü Çömelekoğlu; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Ülkü Çömelekoğlu, Fatma Söğüt, Coşar Uzun, Serap Yalın, Selma Yaman; **Analiz ve/veya yorum:** Ülkü Çömelekoğlu, Fatma Söğüt, Coşar Uzun, Serap Yalın, Selma Yaman; **Kaynak taraması:** Ülkü Çömelekoğlu, Fatma Söğüt, Coşar Uzun, Serap Yalın, Selma Yaman; **Makalenin Yazımı:** Ülkü Çömelekoğlu, Serap Yalın, Coşar Uzun, Fatma Söğüt, Selma Yaman; **Eleştirel İnceleme:** Ülkü Çömelekoğlu, Serap Yalın; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Ülkü Çömelekoğlu, Serap Yalın; **Malzemeler:** Ülkü Çömelekoğlu, Fatma Söğüt, Coşar Uzun, Serap Yalın, Selma Yaman katkıda bulunmuşlardır.*

## KAYNAKLAR

- Vance ME, Kuiken T, Vejerano EP, McGinnis SP, Hochella MF Jr, Rejeski D, et al. Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J Nanotechnol* 2015;6(1):1769-80.
- Kharisov BI, Kharissova OV, Méndez UO. Nanomaterials on the basis of chelating agents, metal complexes, and organometallics for environmental purposes. In: Kharisov BI, Kharissova OV, Rasika Dias HV, eds. *Nanomaterials for Environmental Protection*. 1st ed. New York: John Wiley & Sons; 2014. p.109-24.
- Yu J, Yin W, Peng T, Chang YN, Zu Y, Li J, et al. Biodistribution, excretion, and toxicity of polyethyleneimine modified NaYF<sub>4</sub>: Yb, Er upconversion nanoparticles in mice via different administration routes. *Nanoscale* 2017;9(13):4497-507.
- Kim JH, Kim CS, Ignacio RM, Kim DH, Sajo ME, Maeng EH, et al. Immunotoxicity of silicon dioxide nanoparticles with different sizes and electrostatic charge. *Int J Nanomedicine* 2014;9 Suppl 2:183-93.
- Yu X, Hong F, Zhang YQ. Bio-effect of nanoparticles in the cardiovascular system. *J Biomed Mater Res A* 2016;104(11):2881-97.
- Burr DB. The contribution of the organic matrix to bone's material properties. *Bone* 2002; 31(1):8-11.
- Tautzenberger A, Kovtun A, Ignatius A. Nanoparticles and their potential for application in bone. *Int J Nanomedicine* 2012;7(1): 4545-57.
- Kim K, Fisher JP. Nanoparticle technology in bone tissue engineering. *J Drug Target* 2007; 15(4):241-52.
- Heo DN, Ko WK, Bae MS, Lee JB, Lee DW, Byun W, et al. Enhanced bone regeneration with a gold nanoparticle-hydrogel complex. *J Mater Chem B* 2014;2(11):1584-93.
- Ivanov S, Zhuravsky S, Yukina G, Tomson V, Korolev D, Galagudza M. In vivo toxicity of intravenously administered silica and silicon nanoparticles. *Materials* 2012;5(10):1873-89.
- Leonas R, Noor Z, Rasyid HN, Madjid TH, Tanjung FA. Effect of lead nanoparticles inhibition on bone calcium sensing receptor, hydroxyapatite crystal and receptor activator of nuclear factor-kappa B in rats. *Acta Inform Med* 2016;24(5):343-6.
- Díaz-Soto G, Rocher A, García-Rodríguez C, Núñez L, Villalobos C. The calcium-sensing receptor in health and disease. *Int Rev Cell Mol Biol* 2016;327:321-69.
- Remya NS, Syama S, Gayathri V, Varma HK, Mohanan PV. An in vitro study on the interaction of hydroxyapatite nanoparticles and bone marrow mesenchymal stem cells for assessing the toxicological behaviour. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2014;117:389-97.
- Xie G, Sun J, Zhong G, Shi L, Zhang D. Biodistribution and toxicity of intravenously administered silica nanoparticles in mice. *Arch Toxicol* 2010;84(3):183-90.
- Berce C, Lucan C, Petrushev B, Boca S, Milecan M, Sarpataki O, et al. In vivo assessment of bone marrow toxicity by gold nanoparticle-based bioconjugates in CrI:CD1(ICR) mice. *Int J Nanomedicine* 2016;11:4261-73.
- Shamsi A, Ahmed A, Bano B. Structural transition of kidney cystatin induced by silicon dioxide nanoparticles: an implication for renal diseases. *Int J Biol Macromol* 2017;94(Pt B):754-61.
- Battal D, Çelik A, Güler G, Aktaş A, Yıldırımcan S, Ocakoglu K, et al. SiO<sub>2</sub> nanoparticle-induced size-dependent genotoxicity-an in vitro study using sister chromatid exchange, micronucleus and comet assay. *Drug Chem Toxicol* 2015;38(2):196-204.
- Maser E, Schulz M, Sauer UG, Wiemann M, Ma-Hock L, Wohlleben W, et al. In vitro and in vivo genotoxicity investigations of differently sized amorphous SiO<sub>2</sub> nanomaterials. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2015; 794:57-74.
- Niu M, Zhong H, Shao H, Hong D, Ma T, Xu K, et al. Shape-dependent genotoxicity of mesoporous silica nanoparticles and cellular mechanisms. *J Nanosci Nanotechnol* 2016; 16(3):2313-18.
- Costa CAR, Valadares LF, Galembek F. Stöber silica particle size effect on the hardness and brittleness of silica monoliths. *Colloids Surfaces A: Physicochem Eng Aspects* 2007;302:371-6.
- Balli E, Comelekoglu U, Yalin S, Battal D, Ocakoglu K, Sogut F, et al. Toxic effects of silica nanoparticles on heart: electrophysiological, biochemical, histological and genotoxic study. *Fresen Environ Bull* 2016;25(2):612-22.
- Liu X, Xue Y, Ding T, Sun J. Enhancement of proinflammatory and procoagulant responses to silica particles by monocyte-endothelial cell interactions particle and fibre. *Part Fibre Toxicol* 2012;9(1):36.
- Nigg BM, Herzog W. Biological materials. In: Nigg BM, Herzog W, eds. *Biomechanics of the Musculo-Skeletal System*. 2nd ed. New York: Wiley & Sons; 1999. p.49-55.
- Beck GR Jr, Ha SW, Camalier CE, Yamaguchi M, Li Y, Lee JK, et al. Bioactive silica-based nanoparticles stimulate bone-forming osteoblasts, suppress bone-resorbing osteoclasts, and enhance bone mineral density in vivo. *Nanomedicine* 2012;8(6):793-803.
- Ha SW, Sikorski JA, Weitzmann MN, Beck GR Jr. Bio-active engineered 50 nm silica nanoparticles with bone anabolic activity: therapeutic index, effective concentration, and cytotoxicity profile in vitro. *Toxicol In Vitro* 2014;28(3):354-64.
- Weitzmann MN, Ha SW, Vikulina T, Roser-Page S, Lee JK, Beck GR Jr. Bioactive silica nanoparticles reverse age-associated bone loss in mice. *Nanomedicine* 2015;11(4):959-67.
- Shin SW, Song IH, Um SH. Role of physicochemical properties in nanoparticle toxicity. *Nanomaterials (Basel)* 2015;5(3):1351-65.
- Napierska D, Thomassen LC, Raboll V, Lison D, Gonzalez L, Kirsch-Volders M, et al. Size-dependent cytotoxicity of monodisperse silica nanoparticles in human endothelial cells. *Small* 2009;5(7):846-53.
- Pan Y, Neuss S, Leifert A, Fischler M, Wen F, Simon U, et al. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles. *Small* 2007;3(11):1941-9.
- Choi O, Hu Z. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environ Sci Technol* 2008;42(12):4583-8.