



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN KEMOTERAPİK
AJANLAR İÇİN NANOTAŞIYICI SİSTEM SENTEZİ VE
KARARLILIĞININ İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ertuğrul ÇELİK

(201592121167)

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Neşe KEKLİKCİOĞLU ÇAKMAK

SİVAS

HAZİRAN 201

Ertuğrul ÇELİK'in hazırladığı ve “**Kanser Tedavisinde Kullanılan Kemoterapik Ajanlar İçin Nanotaşıyıcı Sistem Sentezi ve Kararlılığının İncelenmesi**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı Dr. Öğr. Üyesi Neşe KEKLİKÇİOĞLU ÇAKMAK

Cumhuriyet Üniversitesi

Jüri Üyesi Prof. Dr. Yeşim SAĞ AÇIKEL

Hacettepe Üniversitesi

Jüri Üyesi Prof. Dr. Ünsal AÇIKEL

Cumhuriyet Üniversitesi

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. İsmail ÇELİK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından desteklenmiştir



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Ertuğrul ÇELİK, 2019



Çalışma sırasında bana maddi ve manevi destek olan aileme ve tüm arkadaşlarıma...

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı beyan ederim.

21.05.2019

Ertuğrul ÇELİK

ÖZET

KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN KEMOTERAPİK AJANLAR İÇİN NANOTAŞIYICI SİSTEM SENTEZİ VE KARARLILIĞININ İNCELENMESİ

Ertuğrul ÇELİK

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Neşe KEKLİKÇİOĞLU ÇAKMAK

2019, 123+xviii sayfa

Günümüzde nanoteknoloji ile her alanda yapılan hızlı ve umut verici gelişmeler dikkat çekmektedir. Nanoteknolojinin bu kadar hızlı ve etkili bir şekilde yayılması ile kanser başta olmak üzere birçok hastalığın teşhis ve tedavisinde kullanılabilecek yeni ve etkili nanosistemleri geliştirme konusunda çalışmalar hız kazanmıştır. Bu çalışma kapsamında öncelikle modifiye edilmiş Hummers metodu ile grafen oksit nanoparçacığı (nGO) sentezlenmiş olup daha sonra üretilen nanoparçacığın yüzeyi sitotoksik etkinin azaltılması, süspansiyon içerisinde kararlılığın artırılması ve biyouyumlunanotaşyıcı oluşturulması amacıyla Polietilen Glikol (PEG) ile iyileştirilmiş ve sonrasında ise kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan kemoterapik ajan olan Doksorubisin (DOX) ile etkinleştirerek GO-PEG-DOX nanotaşyıcı tabanlı ilaç sentezlenmiştir. Sentezlenen nanotaşyıcı sistemin karakterizasyon analizleri FTIR, UV, XRD ve SEM ile yapılmıştır. Analizi yapılmış olan nanotaşyıcı sistemin kararlılık analizine ise zeta potansiyel ile DI su, PBS sıvı ortamlarında ve DMEM, EMEM hücre kültürü besi ortamlarında bakılmıştır.

Anahtar kelimeler: Nanoteknoloji, Kanser, Grafen Oksit, Polietilen Glikol (PEG), Doksorubisin (DOX)

ABSTRACT

INVESTIGATION OF STABILITY AND SYNTHESIS OF NANO CARRIER SYSTEM FOR CHEMOTHERAPIC AGENTS THAT ARE USED IN CANCER TREATMENT

Ertuğrul ÇELİK

Master of Science Thesis

Department of Chemical Engineering

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Neşe KEKLİKÇİOĞLU ÇAKMAK

2019, 123+xviii pages

Nowadays, rapid and promising developments in nanotechnology and every field are noteworthy. With such rapid and effective dissemination of nanotechnology, efforts have been made to develop new and effective nanosystems that can be used in the diagnosis and treatment of many diseases, particularly cancer. Within the scope of this study, graphene oxide nanoparticle (nGO) were synthesized by modified Hummers method and then the surface of the nanoparticles produced was improved with Polyethylene Glycol (PEG) for the purpose of reducing the cytotoxic effect, increasing the stability in the suspension and forming a biocompatible nanoparticle. Afterwards, the nGO-PEG-DOX nanoparticle system was synthesized by Doxorubicin (DOX) which is a widely used chemotherapeutic agent in the treatment of cancer. Characterization analysis of the synthesized nanocarrier system was performed with FTIR, UV, XRD and SEM. The stability analysis of the nanostructured system was analyzed with zeta potential in DI water, PBS liquid media and DMEM, EMEM cell culture media.

Key words: Nanotechnology, Graphene Oxide, Cancer, Poly(ethylene glycol) (PEG), Doxorubicin (DOX)

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden daha fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetinin benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Dr. Öğr. Üyesi Neşe KEKLİKCİOĞLU ÇAKMAK'a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım süresince benden yardımını hiç esirgemeyen MervenurÖZTÜRK'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim için benden maddi ve manevi desteğini hiç esirgemeyen değerli babam Şenol ÇELİK, kıymetli annem Songül ÇELİK, sevgili kardeşlerim Ayşegül ÇELİK ve Zehra ÇELİK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. KANSER	1
1.1 Giriş.....	1
1.2 Türkiye’de Kanser Verileri	2
1.3 Kanser Türleri	3
1.3.1 Prostat kanseri	3
1.3.2 Testis kanseri	5
1.3.3 Yemek borusu (özofagus) kanseri	5
1.3.4 Akciğer kanseri.....	5
1.3.5 Tiroid kanseri.....	6
1.3.6 Ağız kanseri (dudak, dil, yanak, ağız tabanı, damak, sinüs ve farenks). 6	
1.3.7 Rahim ağzı kanseri	7
1.3.8 Meme kanseri	9
1.4 Kanserde Tedavi Yöntemleri	10
1.4.1 Kemoterapi	10
1.4.2 Fotodinamik terapi (PDT)	12
1.4.3 Radyoterapi.....	12
1.5. Kanser Aşılıarı.....	13
1.6. Kanser Biyobelirteçleri	14
2. NANOTEKNOLOJİ	15
2.1 Nanoteknolojinin Uygulama Alanları.....	17
2.1.1 Nanotıp: Sağlıkta nanoteknolojinin özel varlığı	17
2.1.1.1 Gen dağıtımında nanoteknoloji	18
2.1.1.2 Teşhis ve görüntüleme konusunda nanoteknoloji	18
2.1.1.3 Terapötik bir araç olarak nanoteknoloji	19
2.1.1.4 İlaç dağıtımında nanoteknoloji	20
2.2 Nanopartikül.....	21
2.2.1 İnorganik nanopartiküller	23
2.2.1.1 Metal nanopartiküller.....	24
2.2.1.2 Mezoporous silika sistemler	25
3. NANOTEKNOLOJİ İLE KANSER İLİŞKİSİ	27
3.1 Kanser Biyobelirteçleri İçin Nanoteknolojideki Gelişmeler.....	29
3.2 Biyomedikal Uygulamalarda Nanoteknoloji İlerlemeler	30
3.2.1 Tümörlerde ilaçların birikmesini ve içselleştirilmesini geliştirmek için nanoteknoloji.....	32

3.2.1.1	<i>Pasif tümör hedefleme</i>	32
3.2.1.2	<i>Dolaşım süresini artırmak için 'gizli' nanoteknoloji</i>	33
3.2.1.3	<i>Aktif tümör hedefleme</i>	35
3.2.1.4	<i>Uyarıcılara duyarlı hücre içi salınım için nanoteknoloji</i>	36
3.3	Tümör İlaç Direncinin Mekanizma: Efflux Taşıyıcıları.....	37
3.4	Dolaşımdaki Tümör Hücrelerini Tespit Etmek İçin Nanoteknoloji	38
3.5	Kanser Metastazı Tedavisi İçin Nanoteknoloji Tabanlı İlaç Tasarımı	39
3.6	Nanoteknoloji Temelli Kemoterapi ve Moleküler Kanser Tedavisi.....	40
3.7	Nanoteknoloji ile Daha Etkili Kanser Aşıları Oluşturmak	42
4.	GRAFEN	44
4.1	Grafenin Özellikleri	45
4.1.1	Grafenin fizikokimyasal özellikleri.....	45
4.1.2	Grafenin biyolojik özellikleri	45
4.1.3	Grafenin termal ve elektriksel özellikleri	46
4.1.4	Grafenin optik özellikleri	47
4.1.5	Grafenin mekanik özellikleri.....	47
4.2	Grafen Oksit (GO).....	47
4.2.1	Grafen oksitin özellikleri.....	48
4.2.1.1	<i>Grafen oksitin mekanik ve optik özellikleri</i>	48
4.2.1.2	<i>PH duyarlılığı</i>	49
4.3	İndirgenmiş Grafen Oksit (rGO).....	49
4.4	Hummers Metoduyla Grafen Oksit Üretimi	49
4.5	Kanser Tedavisinde Grafen, Grafen Oksit (GO) ve Sitotoksitesi.....	50
4.5.1	Fototermal terapide (PTT) grafen ve grafen oksit.....	51
4.5.2	Grafen ve grafen oksitin ilaç taşıyıcısı olarak kullanımı.....	52
5.	PEGİLASYON (PEG)	54
5.1	PEG'lenmiş Grafen Oksit Kullanılarak Kemo-Fototermal Terapi	56
5.2	Grafen Oksit Nano-platelet Kullanarak Nötronla Aktive Olabilen Radyonüklid Kanser Tedavisi	58
5.3	Anjiyojenezin İn Vitro Toksikite Değerlendirmesi ve Gelişen Zebra Balığı Embryosunu Kullanarak Nano-Grafen Oksit ve PEGile Edilmiş Türevlerinin Canlı Dağılımı.....	59
5.4	Mikrobiyal Mühendislikte Fonksiyonelleştirilmiş Grafen Oksit: Bakteriyel Büyüme İçin Etkili Bir Stimülatör.....	60
5.5	Poli (etilen glikol) Varlığında Sulu Grafen Oksit Dispersiyonlarının Koloidal ve Reolojik Davranışı	61
5.6	Enerji Metabolizması Analizi ve PEGilenmiş Modifiye Grafen Oksit Nanotabakların Aracılığıyla Meme Kanseri Hücre Metastazı İnhibisyon Mekanizmasının Açığa Çıkarılması.....	62
5.7	İlaç Taşınması	63
5.8	Gen Tedavisi	65
5.9	PEG Yüzey Modifikasyonu	65
6.	DOKSORUBİSİN (DOX)	67
6.1	Kanser Tedavisi.....	68
6.2	Kanser Tedavisinde Kombinasyon Stratejilerinin Avantajları	69
6.3	Doksorubisin (DOX)'un Farklı Deneysel Organ Sistemlerine Etkisi.....	71
6.3.1	DOX'un dolaşım sistemine etkisi.....	71

6.3.2 DOX tarafından indüklenen çok organlı toksisite	72
6.3.3 DOX tarafından indüklenen toksisiteyle ilgili mekanizmalar	72
6.3.4 DOX'un sindirim sistemi üzerindeki toksik etkisi	73
6.3.5 DOX'un sinir sistemi üzerine etkisi	73
6.3.6 DOX'un üreme sistemi üzerine etkisi	73
7. DENEYSEL YÖNTEMLER.....	74
7.1 Malzemeler.....	75
7.2 Modifiye Hummers Metodu ile Grafen Oksit (GO) Sentezi.....	75
7.3 Nano-grafen Oksit (nGO)- COOH Sentezi	76
7.4 PEGlenmiş nGO-COOH Sentezi	77
7.5 nGO-PEG 'e DOX Yüklenmesi	78
7.6 Karakterizasyon Tayini	79
8. BULGULAR VE TARTIŞMALAR	83
8.1 SEM Analizi.....	83
8.2 XRD Analizi.....	87
8.3 FT-IR Analizi.....	86
8.4 UV Analizi	87
8.5 ZETA Analizi.....	86
9. SONUÇLAR.....	95
KAYNAKLAR	97
ÖZGEÇMİŞ.....	123

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 7.1. Modifiye Hummers metodunda Grafen oksit sentez basamakları.....	76
Şekil 7.2 Nano-Grafen oksit-COOH sentez basamakları.....	77
Şekil 7.3. PEG-nGO-COOH sentez basamakları.....	78
Şekil 7.4 nGO-PEG 'e DOX yüklenmesi işlem basamakları. Not: Üst satır için öncelik işlem sırası soldan sağa, alt satır için ise sağdan sola doğrudur.....	79
Şekil 7.5 Nanoakışkanların hazırlanmasında kullanılan makine-teçhizat a) hassas elektronik terazi, b) sonifikatör banyosu, c) sabit sıcaklık su banyosu, d) pH ölçer.	81
Şekil 7.6. Nanoakışkanların kararlılık testlerinin incelenmesinde kullanılan Malvern Zetasizer Nano Z.	82
Şekil 7.7 Nanoakışkanların kararlılık testlerinin incelenmesinde kullanılan Shimadzu Markaspektrofotometre.....	82
Şekil 8.1 nGO'nun SEM görüntüleri (a) 100 µm (1.00kx), (b) 50 µm (2.00kx), (c) 20 µm (5.00kx), (d) 10 µm (10.0kx), (e) 5 µm (20.0kx), (f) 2 µm (50.0kx)	84
Şekil 8.2 nGO-COOH yapısının SEM görüntüleri a) 500 µm (250kx), b) 200 µm (500kx) c) 100 µm (1.00kx), d) 50 µm (2.00kx), e) 20 µm (5.00kx), f) 10 µm (10.0kx), g) 5 µm (20.0kx), h) 2 µm (50.0kx).....	85
Şekil 8.3. nGO ve nGO-COOH XRD grafikleri.....	86
Şekil 8.4 nGO, nGO-COOH, nGO-PEG' un FT-IR spektroskopi analiz.....	87
Şekil 8.5. nGO, nGO-COOH, nGO-PEG, nGO-PEG-DOX, UV-VIS absorbanst spektrumları.....	88
Şekil 8.6 a) 0.05mg/50ml nGO ve b) 0.05mg/50ml nGO-COOH, UV-VIS dalga boyu absorbanst spektrumlarının zaman ile değişimi.....	89
Şekil 8.7 a) 0.1ml/10ml Saf SU, b) 0.5ml/10ml Saf SU, c) 1.0ml/10ml Saf SU, UV-VIS dalga boyu absorbanst spektrumlarının zaman ile değişimi.....	90
Şekil 8.8 a) 0.1ml/10ml PBS, b) 0.5ml/10ml PBS, c) 1.0ml/10ml PBS, UV-VIS dalga boyu absorbanst spektrumlarının zaman ile değişimi.....	91
Şekil 8.9 a) 0.1/10ml DMEM, b) 0.5/10ml DMEM, c) 1.0/10ml DMEM, UV-VIS dalga boyu absorbanst spektrumlarının zaman ile değişimi.....	92
Şekil 8.10 a) 0.1/10ml EMEM, b) 0.5/10ml EMEM, c) 1.0/10ml EMEM, UV-VIS dalga boyu Absorbanst spektrumlarının zaman ile değişimi.....	93
Şekil 8.11 0.05mg/50 ml konsantrasyonda üretilen nGO ve nGO-COOH'un Zeta potansiyel-zaman eğrisi.....	94
Şekil 8.12 0.1ml, 0.5ml ve 1.0ml nGO-PEG-DOX'un 10ml a) Saf SU, b) PBS, c) DMEM, d) EMEM ortamları içerisindeki Zeta potansiyel-zaman eğrisi....	95

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1 Türkiye’de erkek ve kadınlarda en sık görülen ilk beş kanser türü.....	3
Çizelge 2.1 Nanoboyutlu dağıtım sistemleri.....	21
Çizelge 3.1 Biyomedikal alanlarda yaygın nanoteknoloji uygulamaları.....	32
Çizelge 4.1 Grafen bazlı nanomalzemeler kullanılarak taşınan bazı ilaçlar.....	53
Çizelge 5.1 1970 yılından itibaren gerçekleştirilen önemli PEGilasyon uygulamaları..	55



SİMGELER DİZİNİ

k	Isıl iletkenlik (W/m*K)
τ	Kayma gerilimi (Pa)
γ	Kayma hızı (1/s)
T	Sıcaklık ($^{\circ}$ C)
L	Uzunluk (μ m)
μ	Viskozite (Pas)
ρ	Yoğunluk (g/ml)



KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
APC	: Antijen Sunan Hücre
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
EGTM	: Avrupa Tümör Belirteçleri Grubu
ATP	: Adenozin Trifosfat
HepG2	: Akrilamidin İnsan Karaciğer Hücre Dizini
AR-Ge	: Araştırma ve Geliştirme
Al₂O₃	: Alüminyum Oksit
HNSCC	: Baş ve Boyun Skuamöz Hücreli Karsinom
HbCTC	: Balıksırtı Yongası
BOT	: Borderline Over Tümörü
MDR	: Çoklu İlaç Direnci
EDC	: Çapraz Bağlama Ajanı
DI su	: Deiyonize Su
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
LMIC	: Düşük ve Orta Gelir Ülkeleri
DC	: Dendritik Hücre
DMEM	: Dulbecco'in Modifiye Edilmiş Eagle Ortamı
ICR	: Deneylerde Kullanılan 15-25 Gram Ağırlığında Yetişkin Erkek Fareler
DOX	: Dokсорubisin
EpCAM	: Epitel Hücre Adezyo Molekülü
ERET	: Elektro-kemilüminesans Rezonans Enerji Aktarımı
EMEM	: Eagle'ın Minimum Temel Ortamı
PCM	: Faz Değişim Malzemesi
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
FOCR	: Friends of Cancer Research
PDT	: Fotodinamik Terapi
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
FOBT	: Fekal Gizli Kan Testi
FA	: Folik Asit
PTT	: Fototermal Tedavi
FRET	: Floresan Rezonans Enerji Transferi
H₃PO₄	: Fosforik Asit
GO	: Grafen Oksit
GF	: Grafen Pulu
GON	: Grafen Oksit Nanoplatelet
GNM	: Grafen Nanomalzeme
OXPHOS	: Oksidatif Fosforilasyon
GFN	: Grafenli Nanomalzemeler
TDDS	: Hedeflenmiş İlaç Verme Sistemi
DSS	: Hastalığa Özgü Sağkalım
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
SK1	: Hücre Hattı

HPV	: İnsan Papilloma Virüsü
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
IFP	: İnterstisyel Sıvı Basıncı
rGO	: İndirgenmiş Grafen Oksit
ICMV	: İnterbilayer-Çapraz Bağlanmış Çok-Lamelli Veziküller
CTLA-4	: İpilimumab, Bağışıklık Sistemini Düşüren Bir Protein Reseptörü
-COOH	: Karboksil Grubu
CPT	: Kamptotesin
CSC	: Kanser Kök Hücreleri
CNP	: Karbon Nanopartikül
PD-1	: Kanser Tedavisi İçin Geliştirilmiş Bir Grup Kontrol Noktası İnhibitörü
CEA	: Karsino embriyonik Antijen
CNT	: Karbon Nanotüp
BTE	: Kemik Doku Mühendisliği
KHDAK	: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KHAK	: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
CVD	: Kimyasal Buhar Biriktirme
C₂H₃ClO₂	: Kloroasetik Asit
LOOH	: Lipid Hidroperoksit
MNP	: Manyetik Nanoparçacık
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MDA	: Malondialdehid
MNS	: Mezoporous Silika Nanopartikül
MCF-7	: Meme Kanseri
mPEG	: Metokspolietilen glikol
HMS	: Mezo-Gözenekli Küre
MR	: Multimodal Görüntüleme
MPS	: Mononükleer Fagosit Sistemi
NP-CDT	: Nano Ölçekli Büyüklükteki Partiküller
NP	: Nano Partikül
nGO	: Nano Ölçekli Grafen Oksit
PTX	: Paklitakselin
EPR	: Penetrasyon ve Tutma Fenomeni
PEG	: Polietilen Glikol
PEO	: Polietilen Oksit
PMMA	: Polimetil Metakrilat
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
PEI	: Polietilenimin
KMnO₄	: Potasyum Permanganat
LNCaP	: Prostat Kanseri Hücresi
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
TNF-α	: Proinflamatuvar Sitokin
mTOR	: Rapamisin'in Memeli Hedefini İnhibe Eden Bir İlaç Sınıfı, (İnhibitör)
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RES	: Retikuloendotelial Sistem
RNA	: Ribo Nükleik Asit
H₂SO₄	: Sülfürik Asit
BSA	: Sığır Serum Albümini
S1P	: Sfingosin 1-Fosfat
SOD	: Süperoksit Dismutaz

SiO₂	: Silikon Dioksit
FBS	: Sığır Serumu
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NaBH₄	: Sodyum Borhidrür
siRNA	: Small İnterfering RNA
TEM	: Transmisyon / Geçirimli Elektron Mikroskobu
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
SLC	: Tek Kademeli Hücre
TGCT	: Testiküler Germ Hücreli Tümörler
TÜBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
TAA	: Tümör İlişkili Antijen
STM	: Tünelleme Mikroskobu
TiO₂	: Titanyum Dioksit
TAT	: Transkripsiyon İşlemcisi
CTC	: Tümör Hücreleri
SWCNT	: Tek Duvarlı Karbon Nanotüp
UV	: Ultraviyole
NNT	: Ulusal Nanoteknoloji Girişimi
ICCR	: Uluslararası Kozmetik Yönetmeliği İşbirliği
NNI	: Ulusal Bilim Vakfı ve Ulusal Nanoteknoloji İnisyatifi
ISOBM	: Uluslararası Onkoloji ve Biyobelirteçleri Topluluğu
HRP	: Yaban Turpu Peroksidazı
HIC	: Yüksek Gelirli Ülkeler
SERS	: Yüzey zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi
NIR	: Yüksek Yakın Kızılötesi
XRD	: X-Işını Kırınım Yöntemi
DSPE	: 1,2 distearoil-sn-glisero-3-fosfoetanolamin

1. KANSER

1.1 Giriş

Kanser, hücrelerde DNA'nın hasarı sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalmasdır [1]. Kanser hücrelerinin plazma membranı, lipid bileşiminde anyonik moleküllerin dış zardaki maruziyetini artıran değişikliklere uğrar [2]. Kanser, bir başka ilginç özelliği, karsinogenez sırasında difüzyon sınırlamalarının üstesinden gelmek için yeni kan damarlarının anormal damarlar üretimidir [3]. Kanser, hücre sinyalleme ve apoptoz gibi çok sayıda hücre sel fizyolojik sisteme yol açan ve onu anlaşılabilir ve karmaşık bir hastalık haline getiren çok aşamalı bir karsinogenez süreci ile geliştiği bilinmektedir [4]. Başlangıçta kanserler lokal hastalıklar olarak başlarlar, ancak vücudun içindeki uzak bölgelere yayılmaya eğilimlidirler ve bu da kanseri tedavi edilmez kılar [4]. Bu nedenle hastaların hayatta kalma ve yaşam kaliteleri doğrudan kanserin tespit edildiği aşamaya bağlıdır. Bu yüzden kanser yönetiminde en önemli faktör kanser hücrelerinin erken aşamada tespit edilmesidir [5]. Kanser, dünya çapında ölümün önde gelen nedenlerinden biridir [6]. Kanser, dünya genelinde giderek artan bir sağlık problemidir ve toplumlarda önemli bir sosyoekonomik yüke, bireylerde de maddi ve manevi kayıp ve zorluklara yol açmaktadır. Yeni yayımlanan dünya kanser istatistiklerine göre; ölüm nedenleri arasında kanser ilk sırada yer almaktadır. Dünya'da 14,1 milyon yeni kanser vakası gelişmiş ve 8,2 milyon kansere bağlı ölüm olmuştur [7]. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yayınladığı rapora göre, 2015 yılında küresel çapta 8,8 milyon kişinin ölüm nedeni kanserdir [8]. Kanserde benzer seyir devam ettiği takdirde 2030 yılına gelindiğinde yıllık 22 milyon yeni vaka ortaya çıkması beklenmektedir [7]. WHO'nun raporunda kanserden hayatını kaybedenlerin %70'i düşük gelirli ve orta gelirli ülkelerdendir. Bu rapora göre, düşük ve orta gelirli olan beş ülkeden sadece birinde kanserle mücadele politikaları için gereken verilere ulaşılabilmektedir [8]. Kanser ile mücadele kanser kayıtçılığında tedavi ve palyatif bakıma kadar uzanan geniş bir yelpazeden oluşan oldukça komplike bir süreçtir ve bu sürecin başarılı yönetiminde etkin bir 'Kontrol Programı' nın bulunması en önemli adımı oluşturmaktadır. Çağımızın hastalığı olarak nitelendirilen ve global bir sorun olan kanser ile mücadele de Birleşmiş Milletler 2011 yılında tüm dünya ülkelerine ulusal kanser kontrol programlarını hazırlamaları ve uygulamaya geçmeleri hususunda çağrıda bulunmuştur [9]. Kanser kontrolünde en önemli yapıtaş elinizde doğru, tam ve güvenilir veri olmasıdır.

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı kanser verisinin toplanmasında toplum tabanlı veri toplanmasını temel olarak önermektedir. Belirli bir nüfusta ortaya çıkan tüm kanser vakalarıyla ilgili bilgileri toplama ve bu bilgileri kanserin klinik ve patolojik göstergeleri ile tam olarak belgeleme işlemlerinin tümüne toplum tabanlı kanser kayıtçılığı denir [10]. Kanserle mücadelenin başlıca yolu ise, erken teşhis mekanizmalarının geliştirilmesi olarak tanımlanmaktadır [8]. Kansere bağlı ölümlerde en büyük risk faktörlerinden biri tütünlü ürünlerin kullanımınıdır ve ölümlerin %22'si bundan kaynaklanmaktadır. WHO, ekonominin kansere olan etkisinin büyük olduğunu ve giderek bu bağlantının güçlendiğini söylemektedir. Erken teşhis politikalarının güçlendirilmesi ise, milyonlarca insanın kanserden kurtulması için en önemli konu olarak nitelenmektedir [8].

1.2 Türkiye’de Kanser Verileri

Önümüzdeki yıllarda gelişecek olan kanser olgularının önemli bir kısmının az gelişmiş ülkelerde ortaya çıkması beklenmektedir [7]. Ülkemizde sebebi bilinen ölümler sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra en sık görülen ikinci ölüm sebebi olması açısından önemli bir toplum sağlığı problemidir [11]. WHO’nun Türkiye’de kanser konusunda paylaştığı son veriler, 2014 yılına aittir. WHO’nun 2014’te paylaştığı rapora göre, Türkiye’de erkeklerde kansere bağlı ölümlerin sayısı 58 bin 400, kadınlarda ise 32 bin 500’dür. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Mayıs 2017 verilerine göre ise, Türkiye’de her 5 ölümden 1’i kanserden. TÜİK’in verilerine göre ülkelerin 65 yaş altı kanserden ölüm oranları incelendiğinde 2016 yılında bu oran %28 olarak belirlenmiştir. 65 yaş ve üstü için kanserden ölüm oranları ise Türkiye’de 2014 yılında %17, 2016 yılında %16 olarak gerçekleşmiştir [8]. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü’nün 2017’de yayınladığı rapora göre erkek ve kadınlarda en sık görülen kanser türleri Çizelge 1.1’de sunulmuştur. Amerikan Kanser Derneği’nin 2015’te yayınladığı ‘Kanser Atlası’na göre, Türkiye’de kanser, her yıl ortaya çıkan 148 bin civarındaki yeni vaka ve 91 bin 800 kansere bağlı ölümlerin üçte biri temel davranış ve beslenme alışkanlıklarıyla ilgilidir;

- Yüksek vücut kitle indeksi,
- Meyve ve sebze alımının düşük olması,
- Fiziksel aktivitelerde bulunmamak,
- Sigara kullanımı,
- Alkol tüketimi [8].

Çizelge 1.1 Türkiye’de erkek ve kadınlarda en sık görülen ilk beş kanser türü [12]

	Erkek	Kadın
1	Akçığe	Meme
2	Prostat	Tiroid
3	Kolorektal	Kolorektal
4	Mesane	Uteruskorpus
5	Karaciğe	Akçığe

1.3 Kanser Türleri

ABD’de akciğe, meme, prostat ve kolorektal kanser toplum insidansı üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Dünya Sağlık Örgütü istatistiklerine göre kadınlarda meme, kolorektal, akciğe, serviks ve mide en sık görülen kanser bölgeleridir. Akciğe, prostat, kolorektal, mide ve karaciğe kanseri, 2012’de kanser tanısı alan erkeklerde, en yaygın 5 kanser bölgesidir. Bununla birlikte, yukarıda bahsedilen kanserlerin ana sebebi açık değildir, ancak genetik ve çevresel faktörlerin bir kombinasyonunu içeren bu durumların geliştirilmesinde yer alacak çok boyutlu bir patogenez gibi görünmektedir [13]. Sayısız kanserin tanı ve tedavisindeki ilerlemeler, hastaların iyileşme şansını arttırmıştır. Birçok kanser türü için çocuklarda, ergenlerde ve yetişkinlerde beş yıllık sağkalım%80’e ulaşmaktadır [14,15]. Türkiye kanser insidansı, erkeklerde dünya insidansının üzerinde seyrederken kadınlarda daha düşüktür. Ülkemizde görülen ilk 5 kanser türünün dünyadaki ve diğe gelişmiş ülkelerdeki örüntü ile benzerlikler göstermektedir. Çocukluk çağı kanserlerinde ise çocukluk çağı lösemileri en sık görülen kanser türüdür. Çocukluk çağında her iki cinsiyette de lenfomalar ve merkezi sinir sistemi tümörleri lösemileri takip etmektedir. Gençlerde ise (15-24 yaş grubu) erkeklerde testis kanseri, beyin sinir sistemi kanseri ve non-hodgkin lenfoma, kadınlarda ise tiroid, hodgkin hastalığı ve merkezi sinir sistemi tümörlerinin ön planda olduğu görülmektedir [12].

1.3.1 Prostat kanseri

Prostat kanseri, Amerikalı erkekler arasında en çok teşhis edilen kanserdir ve Amerika Birleşik Devletleri’nde kanser ölümlerinin ikinci önde gelen nedenidir. 2018’de 160,000’in üzerinde yeni vaka teşhis edilmesi ve yaklaşık olarak 30,000 kişinin ölümüne neden olmuştur [16]. Prostat kanseri için tedavi değışir, ancak ilerlemiş hastalık genellikle cerrahi olarak prostat bezinin çıkarılması ve ardından rogenablasyon

tedavisi, radyasyon veya kemoterapi içermektedir. Sfingolipid metabolizmasının, prostat kanseri de dahil olmak üzere, kanserde hücre ölümü, hayatta kalma ve tedaviye direnç sağlamada rol oynadığı bilinmektedir [17]. Sfingolipid metabolizmasında merkezi bir molekül olan Ceramide genellikle antiproliferatif yanıtlarla ilişkilidir, oysa sfingosin 1-fosfat (S1P) sağkalımı, anjiyogenezi, enflamasyonu ve direnci artırır. Bu nedenle kanser tedavisi seramid oluşumunu teşvik etmeyi ve S1P seviyelerini inhibe etmeyi amaçlamaktadır. Son on yıl içinde, sfingolipid metabolizmasının inceliklerini açığa çıkarmak için adımlar atılmıştır, ancak erken çalışmalar bile prostat kanserinde tedavi yanıtlarını ve hücre içi seramidlerin modülasyonu arasındaki korelasyonları tanımlamıştır. Örneğin, LNCaP prostat kanseri hücrelerine ve sinirsel olarak hormon çekme, hücre döngüsünü durdurmaya ve apoptoza neden olmuştur ve sfingolipid metabolizmasının metabolik yolunun inhibitörleri tarafından bloke edilebilen C16-seramidde bir artışa eşlik etmiştir [18]. Yaklaşık 20 yıl önce araştırmacılar, sfingolipidmetabolitlerinin göreceli düzeylerinin radyasyon tedavisine yatkınlıkta da rol oynayabileceğini, seramid ve sfingosin oluşumunun iyileştirilmesinin terapötik değerde olabileceğini öne sürmüşlerdir [19]. Hajj ve Haimovitz-Friedman Sfingolipidlerin radyasyon tedavisindeki rolünü kapsamlı bir şekilde gözden geçirmişlerdir [20]. Radyasyon direnci veya tedavi başarısızlığı ilerlemiş prostat kanserinde önemli bir engel olmaya devam etmektedir. Radyasyon maruziyetiseramid aracılı antitümör etkilere neden olurken, seramidin kendisi sadece radyasyon tedavisine dirençte değil aynı zamanda kemoterapiye karşı çapraz dirençle sonuçlanan hücrelerin bir alt kümesinde koruyucu bir tepki yaratmaktadır [21]. Beslenme alışkanlıklarının ve prostat kanserinin analizleri, prostat kanseri riskinin azalmasıyla ilişkili doğal bileşik olarak resveratrol ve kurkumini tanımlanmıştır [22]. Resveratrol, sfingolipid enzimleri de dahil olmak üzere kanser hücreleri ve sinyal yollarında çok sayıda etkiye sahiptir [23]. Brizuela ve ark. PC3 ve C4-2 prostat kanseri hücrelerinin proliferasyonunda osteoblastik MC3T3 hücrelerinden SLC sinyalizasyonunun rol oynayıp oynamadıklarını araştırmışlar ve SK1'in genetik yıkılmasının ya da Sphingomab kullanılarak S1P'nin nötralizasyonunun kanser hücresi proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiğini gösterip göstermediklerini araştırmışlardır [24]. Ader ve ark. yaptıkları bir çalışmada, Sphingomab'ın tümör vaskülasyonunu geçici olarak normalleştirebildiğini, tümör hipoksisini azalttığını ve tümör büyümesini ve metastazı inhibe ederek kemoterapinin etkinliğini arttırdığını ortaya koymuşlardır [25].

1.3.2 Testis kanseri

Erkeklerde, testis kanseri için 5 yıllık sağkalım 15-45 yaş grubunda %95 ve 55-65 yaş grubunda %97'dir [26]. Testikülergerm hücreli tümörler (TGCT), genel popülasyonda nadir olmakla birlikte, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki 15-44 yaş arası erkeklerde en sık görülen malignitelere ve tüm testikülermalignitelerin%98'ini oluşturmaktadır [27]. 21. yüzyılın başlarından beri ABD'de TGCT insidansı artmaktadır ve bu eğilimin dayanak noktası belirsizdir [28,29]. İyi bilinen TGCT risk faktörleri arasında kriptorşidizm [30], önceki testis kanseri [31], daha büyük yetişkin boyu [32] ve TGCT'nin aile öyküsü bulunmaktadır. TGCT'nin kalıtım derecesi %27-50 [33-35] olarak tahmin edilmektedir. John Lewis Etter ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada testis kanseri olan 34 erkek hastanın kayıtlarının yer aldığı ve testis kanseri olan erkeklerin, yumurtalık kanseri olan bir anne veya kız kardeşi olma ihtimali, testis kanseri olmayan erkeklere göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

1.3.3 Yemek borusu (özofagus) kanseri

Özofagus kanseri dünya çapında en ölümcül ve az çalışılan kanserlerden biridir. Prognoz çok kötüdür ve 5 yıllık sağkalım oranı %25'den azdır [36]. Bununla birlikte, bu hastalığın kesin mekanizmaları ve genetik temelleri tamamen açıklığa kavuşturulmaya devam etmektedir. Bu nedenle, yeni biyobelirteçleri tanısal ve prognostik anlamlar açısından test etmeye ve potansiyellerini terapötik hedefler olarak araştırmaya acil bir ihtiyaç vardır. Konvansiyonel kemoradyoterapiye ve kendini yenilemeye direnme kapasitesine sahip kök benzeri özelliklere sahip kanser hücrelerinin varlığı, kanser tedavisindeki en önemli zorluklardan biridir. Önceki çalışmalar kemoresistans ve kanser kök hücreleri (CSC) fenotipi arasında bir bağlantı kurmuştur [37,38].

1.3.4 Akciğer kanseri

En sık görülen türlerinin biri olmasının yanı sıra, akciğer kanseri dünya çapında kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir [39]. Sadece 2016 yılında, yeni akciğer kanseri tanısı %14 oranında artmış ve akciğer kanseri ile ilişkili ölüm oranı, her 4 kanser ölümünün yaklaşık 1'inde gerçekleşmiştir [39]. Akciğer kanserin 2 ana histolojik alt tipi vardır; küçük hücreli (KHAK) ve küçük hücreli dışı (KHDAK), ikincisi en sık (tüm akciğer kanserlerinin %80-85'ine yakın) ve saldırgan (>%5'lik sağkalım oranı %10'dur) olmaktadır. [40]. İleri evre KHDAK hastalarının genel sağkalım oranı yaklaşık 10 aydır [40]. Bu durum, esas olarak erken evre tümör gelişiminin genellikle

asemptomatik olması nedeniyle hastaların sıklıkla ileri evrede tanı konmasından kaynaklanmaktadır [41]. Akciğer kanserinin evreleri incelendiğinde %52,7'sinin uzak metastaz yaptığı görülmektedir. Akciğer kanserinin teşhisi genellikle geç olmaktadır. Ülkemizde özellikle erkeklerde hem akciğer kanserinden hem de tütüne bağlı kanserlerde görülen azalma eğilimi devam etmektedir. Ancak bu azalma seyri, son yıllarda artan tütün kullanımı ile gelecek yıllardaki, kanser istatistiklerinde artış seyrine dönüşebilmektedir [12]. Akciğer kanserinin tedavisi klasik olarak metastazı tedavi etmek veya önlemek için radyasyon terapisi ve kanser hücrelerini öldürmek için radyofrekans ablasyonu temel alınarak yapılmaktadır. Platin bazlı kemoterapilerin (docetaxel, paklitaksel, gemicitabin, vinorelbin veya pemetrexed gibi sitotoksik ilaçlar ile birleştirilmiş karboplatin veya sisplatin) kullanımına dayalı tedaviler devam etmektedir [42]. Son zamanlarda, immünoterapi temelli yaklaşımlar, yüksek iyileşme oranlarına sahip farklı akciğer kanseri tiplerini (1 ve 2 yıllık sağkalımlarını, akciğer kanseri için sırasıyla %42 ve %23) tedavi etmek için başarıyla kullanılmıştır [43]. Bununla birlikte, immünoterapi, henüz belirlenmemiş olan nedenlerden dolayı tüm akciğer kanseri hastalarında etkili değildir [44].

1.3.5 Tiroid kanseri

Tiroid kanseri kadınlarda en sık görülen ikinci kanserdir. Yıllar içerisinde benzer bir dağılım sergilemektedir. Erkeklerde ise dokuzuncu en sık kanser türüdür. Tiroid kanser sıklığı oldukça dikkat çekici olmakla birlikte son 5 yıl verileri 20/100,000 civarında sabit bir şekilde devam etmektedir. Bu durumun nedeni hem Dünya hem de Türkiye için incelendiğinde, kişilerin teşhis ve tedaviye ulaşımının geçen yıllara göre artmış olması ve teşhis konulan her tiroid vakasının kayıt altına alınması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [45,46].

1.3.6 Ağız kanseri (dudak, dil, yanak, ağız tabanı, damak, sinüs ve farenks)

Orofarengeal kanser, palatin bademcikten kaynaklanan kanserleri, farenks duvarlarını, dilin tabanını (BOT) ve yumuşak damarları içermektedir. Genellikle sigara ve alkol tüketimi ile ilişkili olan diğer baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomların (HNSCC'ler) aksine, orofarengeal kanserlerin yaklaşık %60-70'i insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonu ile ilişkilidir [47]. HPV2 salgını nedeniyle son on yılda orofarengeal kanser oranında belirgin bir artış olmuştur. HNSCC'ler genel olarak kötü tedavi sonuçlarına sahiptir ve sonuç olarak tedavi stratejileri yoğunlaştırılmıştır, bu da ne yazık ki tedavi ile ilişkili morbiditenin artmasına neden olmuştur [48]. Bununla birlikte,

orofarengal kanser için, özellikle HPV-pozitif vakalarda kemo-radyoterapi gibi etkili ancak daha az morbid tedavi yöntemleri olduğundan, bu tür agresif tedavilere ihtiyaç duyulmayabilir. HPV için pozitif olan bademcik ve BOT kanseri hastalarının, olmadıklarından daha iyi prognoza sahip oldukları bilinmektedir. Birçok çalışma, HPV-pozitif tonsil ve BOT kanserli hastaların, HPV-negatif tümörleri ve diğer HNSCC'leri olan hastalara (%80'e karşı %40, 3 yıl) kıyasla 3 yıl daha iyi hastalığa özgü sağkalım (DSS) tespit edilmiştir [49,50]. Yoğunlaştırma tedavisi için hasta seçerken göz önünde bulundurulması gereken birkaç faktör vardır. Chau ve ark. sigara içme ve büyük hacimli nodal hastalık öyküsünün HPV6 ile ilişkili prognozu olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir [51]. Bu bakımdan, özellikle HPV-pozitif hastalar için dejenerasyon tedavisi rejimleri göz önüne alındığında hasta seçimi kritik öneme sahiptir. Bademcik kanserlerinin aksine, BOT kanserleri genellikle geç bulunur, çünkü tümör ileri bir aşamaya gelene kadar asemptomatik kalır ve anatomik bölgeye endoskopik bir sistem olmadan kolayca erişilemez. Kötü prognoza katkıda bulunan bir diğer faktör de, özellikle BOT kanseri dilin ve çevredeki yapıların çoğunu istila ettiğinde, yeterli cerrahi sınırların elde edilmesinin zor olmasıdır. Geçmişte, BOT kanserlerinin çoğu, dudak-bölünme insizyonlumandibulotomi veya mandibulektomi içeren invaziv bir yaklaşım yöntemi ile çıkarılmıştır [52].

1.3.7 Rahim ağzı kanseri

Uluslararası olarak, servikal kanser kadınlarda görülen yaygın dördüncü kanserdir [53]. Başlıca etkeni HPV olan bu kanser ülkemizde düşük sıklıkta görülmesine rağmen, uluslararası kanser ajansı tarafından yapılmış olan analizlerde HPV'ye bağlı kanserler erkek kanserlerinin %1, kadın kanserlerinin ise %5-10'undan sorumludur. Ülkemiz verileri incelendiğinde, HPV ile ilişkili kanserlerin kadınları daha çok etkilediği, kadınlarda erkeklere kıyasla yaklaşık 5 katı HPV ilişkili kanser olduğu tahmin edilmektedir [12]. Bu yüzden en çok kanser yapan bu gibi virüslere karşı Dünya Sağlık Örgütü, 9-13 yaş aralığındaki kız çocuklarına aşı yapılmasını önermektedir [8]. Rahim ağzı kanseri, dünya çapında 500,000 vakanın % 85'nin teşhis edildiği gelişmekte olan ülkelerde ciddi bir onkoloji problemini temsil etmektedir [54]. Rahim ağzı kanseri hem gelişmekte olan hem de sanayileşmiş uluslar için büyüyen küresel bir yüküdür. 2012 yılında serviks kanseri yılda 266,000 ölüme neden olmuş ve 528,000 yeni vaka kaydedilmiştir [55]. Rahim ağzı kanseri kadınlarda tüm kanser vakalarının yaklaşık % 13'ünü oluşturmaktadır. En yüksek risk Afrika ve Güney Amerika'da görülmektedir

[54,56]. Küresel insidans, gelişmekte olan ülkelerde hem daha iyi teşhis ve hem de giderek daha fazla bulunan insan papilloma virüsüne (HPV) karşı aşılar kullanılarak daha iyi korunma sonucunda on yıldan fazla bir süredir azalmaktadır. Ancak yinede, bölgesel olarak ileri evrede kanser tanısı konulduğunda prognoz çok daha kötüdür. Bu bakımdan son yıllarda tedavi sonuçlarında çok az ilerleme kaydedilmiştir. Dünya çapında hastaların yaklaşık %54'ü lokal olarak ilerleyen veya metastatik bir aşamada teşhis edilmeye devam etmektedir ve bölgesel olarak ilerleyen servikal kanseri için beş yıllık nispi sağkalım %57'dir [56]. Lokal olarak ilerlemiş serviks kanseri olan hastalarda neoadjuvan kemoterapinin, hastalık yanıtı açısından, daha maliyetli ve eş zamanlı kemo-radyoterapi de olsa, standart kadar etkilidir [57]. Mümkün olduğunda, neoadjuvan kemoterapi, büyük tümörlerde veya cerrahi için tümör boyutunun küçültülmesi amacıyla ileri hastalık için LMIC'de teşvik edilmektedir. Radyasyon tedavisinin ileri evre hastalık için uygun olmadığı bölgelerde, önceden kemoterapiyle birlikte veya tedavi edilmeden izole edilmiş basit histerektomi, negatif marjlarla güvenli bir şekilde yapılabilirse tercih edilen yöntemdir [58]. Radyasyon tedavisi, kemoterapi ile ileri servikal kanser için bir ana tedavidir. Ne yazık ki, dış ışın radyasyonu ve brakiterapi teknolojileri, az gelişmiş toplumların çoğunda büyük ölçüde erişilememekte ve ileri hastalıkların tedavisi yetersiz kalmaktadır [59]. Rahim ağzı kanserinin tedavisinde lokal ve bölgesel hipertermi kullanılmaktadır. İlk, 5-6 cm çapındaki tümörler için intrakaviter ve interstisyel ısı dağıtımında uygulanmaktadır. Bu yöntem günümüzde en sık interstisyelbrakiterapi ile birleştirilmektedir. Diğer yöntem, pelvis bölgesinde büyük bir doku hacmindeki sıcaklığın, artışı içermektedir [60]. Kapsamlı bir önleme ve kontrol stratejisi, üç önleme katmanını içerir; birincisi HPV aşuları ile korunma, ikincisi kadınların taranması ve tedavi edilmesi ile önleme, üçüncüsü ise tüm tanımlanmış invaziv kanserlerin gerektiği gibi tedavi edilmesi ile önlemedir [61]. Şu anda, HPV enfeksiyonunu önlemek için üç onaylı aşı vardır: iki değerlikli HPV aşısı (Cervarix), dört değerlikli (Gardasil)ve 9 değerlikli (Gardasil 9) [62] aşılardır. %70'lik aşı oranlarına ulaşılabilirse, yılda 344,520 yeni servikal kanser vakasının azalması ve 178,182 ölümden kaçınmanın olacağı tahmin edilmektedir [63]. Aşıların kullanımının olduğu ülkelerde, yüksek dereceli displazide de %38'lik bir oranda azalma olmuştur [64]. Servikal kanser, kadınlarda semptomatik etki olmaksızın yıllarca sürebilen uzun bir ön-klinik faza sahiptir. Etkin bir tarama testinin rolü, prekanseröz lezyonları invazifkansere ilerlemeden önce tespit etmektedir. Anormal servikal hücreleri tanımlamak için 1940'larda Papanicolaou (Pap) sitoloji tabanlı testin gelişiyle birlikte,

birçok HIC tarafından benimsenen standart bir tarama aracı olmuştur. Pap tarama programlarının uygulanmasıyla ülkeler arasında rahim ağzı kanseri insidansında %80'e varan bir azalma olmuştur [65].

1.3.8 Meme kanseri

Meme kanseri, meme bezlerinde ortaya çıkan belirgin malignitelerin bir derlemesidir. Karsinomlar meme kanserlerinin çoğunu oluştururken, filloides tümörleri ve anjiyosarkomlar gibi sarkomlar nadiren görülmektedir [66]. Meme kanseri dünya çapında en yaygın ikinci kanserdir ve her yıl kadınlar arasında yüksek sayıda ölüme neden olmaktadır [67]. Dünyada kadınlarda ise en sık görülen kanser türlerinden biri olan meme kanseri, agresif invazyon, erken metastaz, mevcut kemoterapötik ilaçlara direnç ve yüksek mortalite gibi çeşitli faktörlerden dolayı öne çıkmaktadır. Tanı konulan her 4 kadın kanserinden 1'i meme kanseridir. Ülkemizde meme kanseri tanısı alan kadınların %44,5'i 50-69 yaş arasında olduğu, %40,4'ünün ise 25-49 yaş aralığında olduğu bilinmektedir. Meme kanseri evreleri incelendiğinde veri tabanında yer alana invaziv vakaların %11,1'i uzak evrededir [12]. Hastalar daha ölümcül kanserler ile kıyaslandığında daha iyi hayatta kalma şansına sahiptirler, çünkü meme dokusu fiziksel olarak insan sağkalımı için gerekli bir organ değildir. Bununla birlikte, majör cerrahilerden kaynaklanan zihinsel ve duygusal rahatsızlıkların yanı sıra nüks veya metastaz ile ölümler kadınların sağlığını ciddi bir şekilde tehlikeye atmaktadır. Mastektomi ve kemoterapi, meme kanseri hastalarının sağ kalımını büyük ölçüde artırmıştır ve tedavi sonrası psikolojik etkinin en aza indirilmesi için zarif cerrahi prosedürler uygulanmaktadır [66]. Genel olarak meme kanseri, biyobelirteç ifadesine uygun olarak birkaç gruba ayrılabilir. Bu işaretçiler, Her2, ER ve PR'yi içermektedir. Hastalar ayrıca tümörün yeri ve metastatik evresi temelinde de sınıflandırılabilir de hastalar genellikle üç hormon reseptörünün Her2 pozitif olarak ekspresyon seviyelerine göre kategorize edilmektedir. ER ve PR güçlü pozitif (lümen A), ER ve PR zayıf pozitif (lümen B) ve üçlü negatiftir [68]. Luminal A meme kanseri olan hastaların yüksek iyileşme oranlarına sahiptir. Bu hasta grubu %40'tan fazla ancak meme kanseri vakalarının yarısından azını oluşturmaktadır. Luminal A meme kanseri kemoterapiye kötü yanıt verir ancak hormon tedavisine iyi yanıt vermektedir. Hormon tedavisi, güçlü bir antikanser etkisi gösterir ve bu hasta grubunun başlangıcında tümör büyümesini büyük ölçüde engeller. Luminal A meme kanseri olan hastalarda 5 yıllıksağkalım oranları yüksektir [69]. Luminal B meme kanseri olan hastalar ikinci en

büyük meme kanseri hastasını ve meme kanseri vakalarının yaklaşık % 20'sini oluşturmaktadır. Hormon tedavisi, Luminal B meme kanseri olan hastalarda tümör büyümesini inhibe edebilmektedir. Luminal B meme kanseri, geleneksel tedavi olarak sağlanan kemoterapiye iyi bir terapötik tepkiye sahiptir. Luminal B vakaları ayrıca Her2-pozitif vakalar içermektedir. Tüm meme kanseri vakalarının yaklaşık %15'ini oluşturmaktadır. Her2 pozitif hasta, güçlü bir şekilde Her2 ekspresyonuna sahiptir. Her2 ekspresyonu, normal koşullarda normal hücrelerde bile hücre büyümesini teşvik etmektedir. Her2-pozitif hücreleri, Her2-negatif hücrelerinden daha hızlı çoğalmaktadır [69]. Anti-Her2 ilacı, (Transtuzumab) herceptin bu hastalığın tedavisi için geliştirilmiştir. Bu ilaç, doğrudan Her2 reseptörü üzerinde çalışarak tümör proliferasyonunu ve büyümesini destekleyen Her2 sinyalizasyon yolunu inhibe etmektedir. Herceptin' in gelişmesinden bu yana Her2-Pozitif meme kanseri alt tipini tedavi etmek daha kolay hale gelmiştir. Üçlü negatif kanser alt tipi, hormon yanıtının olmaması nedeniyle hormon tedavisi uygulanamaz. Böylece, bu kanser alt tipi sadece kemoterapi ile tedavi edilebilmektedir. Bununla birlikte, üç-negatif meme kanseri, çeşitli tedaviden sonra kemoresistans geliştirmektedir. Bu yanıt, tümör kontrolünü engellemektedir. Üçlü negatif meme kanseri en inatçı meme kanseri tipidir ve bu nedenle sıklıkla incelenmektedir. Sağkalım oranı ise yaklaşık %25'dir [69].

1.4 Kanserde Tedavi Yöntemleri

Kanserle mücadele yaygın olarak kullanılan geleneksel stratejiler arasında cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, kök hücre transplant tedavi, immünoterapi ve çeşitli hedefe yönelik tedaviler bulunmaktadır [70].

1.4.1 Kemoterapi

Kanserler her yıl dünya çapında milyonlarca ölüme neden olmaktadır ve kemoterapi, kanser tedavisinin birincil tedavi yöntemidir [71]. Bununla birlikte kemoterapi ilaçlarının ve MDR'nin özgülüğü kolayca tümör nüksüne yol açabilmektedir. Bu nedenle, tümör hücrelerinin MDR'sini tersine çevirmek ve kemoterapötik ilaçlara olan duyarlılıklarını arttırmak büyük önem taşımaktadır [72]. Kemoterapi direnci, esas olarak düşük birikim seviyesi ve ilaçların düşük duyarlılığı ve etkili klinik stratejilerinin olmaması nedeniyle klinik kanser tedavisine engel olmaktadır. Bir başka engel ise, kemoterapi ilaçlarının tümör hücrelerini seçici olarak hedeflememesidir. Hemen hemen tüm antikanser ajanları normal doku ve organlarda ciddi yan etkilere sahiptir [73]. Klasik kemoterapötikler; alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, topoizomeraz inhibitörleri

ve anti mikrotübül ajanları olarak sınıflandırılabilirlerdir. Alkilleyici ajanlar; Alkilleyici maddeler, bir hidrojen atomunun başka bir molekülde bir alkil radikali ile ikame edilebilen bileşiktir. Alkilleyici ajanlar (siklofosfamid, ifosfamid, klorambüsil) farklı dozlarda toksik, mutajenik, karsinojenik veya teratojenik olabilmektedirler. Hücre bölünme oranını azaltır, kırılmaya ve kromozomların diğer anormalliklerine neden olabilirler [74]. Alkilleyici ajanlar, DNA iplikçiklerinin çapraz bağlanmasıyla DNA replikasyonu ile etkileşime girerek DNA iplikçikleri kırılmasına ve anormal baz eşleşmesine neden olmaktadır. Hızlı bölünen hücrelere karşı daha etkili olma eğilimindedirler. Nitrosoureas, DNA replikasyonu ve onarımının müdahale eden alkilleyici maddelerin bir alt grubudur. Platin içeren bileşikler, Cisplatin, Carboplatin ve Oxaliplatin gibi maddeleri içerir ve bunların sitotoksik özellikleri, hücre membranı taşıma sistemlerinin değişmesine ve mitokondriyal fonksiyonun baskılanmasına da uzanırlar [75]. Cisplatin, testis, akciğer ve yumurtalık kanseri gibi çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için kullanılmaktadır. Bu ilaç redoks dengesizliği ile multiorgantoksitesini olası bir mekanizma olarak göstermektedir [76,77]. Topoizomeraz inhibitörleri; Topoizomerazlar I ve II, DNA iplikçiklerinin belkemiğini kırarak ve yeniden birleştirerek DNA 'nın üst üste binmesini (Örneğin, replikasyon veya transkripsiyon sırasında) sağlamaktadır. Ayrıca zararlı kimyasallara veya UV ışınlarına maruz kalmanın sonucu olarak ortaya çıkan DNA hasarını sabitlemede önemli bir rol oynamaktadırlar. Topoizomeraz I inhibitörleri (Örneğin, Topotekan, kamptotesin) ve topoizomeraz II (Örneğin, Etoposid, doksorubisin), topoizomeraz enzimlerine bağlanarak ve iplik ayrılmasından sonra DNA religasyonunu bloke ederek çalışırlar [78,79]. Anti-mikrotübül ajanlar; Tübülün proteinleri, hücre bölünmesi için gerekli olan iğsi lifler (mikrotübüller olarak da adlandırılır) oluşturur. Vinkaalkaloidleri (Vinblastine, Vincristine), sitokeletal dinamikleri inhibe ederek tübülüne bağlanır [80]. Antimetabolitler; Antimetabolitler (metotreksat, 5-florurcil ve sitozinarabinozid), DNA ve RNA sentezine müdahale eden nükleotitlerin analogları gibi davranırlar. Bu ajanların çoğu S fazına özgüdür, bu nedenle hızlı büyüyen tümörlere karşı çoğunlukla etkilidirler [81]. Epigenetik yediden programcılar; Çeşitli hematolojik malignitelerin (örneğin, miyelodisplastik sendrom ve farklı lösemi formları) patogeneğinde kritik bir olay, tümör süpresör genlerinin, promotörlerinin hipermetilasyonu yoluyla susturulmasıdır. Sitosin analogları 5-azasitidin ve 5-aza-2-deoksisitidin (aynı zamanda desitabin olarak da bilinir) DNA metiltransferazının aktive edebilir ve böylece baskılanan genlerin aktivitesini geri yükleyebilir [82].

1.4.2 Fotodinamik terapi (PDT)

Fotodinamik tedavi (PDT), ışık ve ışığa duyarlı ilaçların kombinasyonu kullanılmaktadır [83]. Spesifik bir dalga boyu ile ışığa maruz bırakıldığında, ışığa duyarlılaştırıcılar (Örneğin, Porfimer sodyum), tekli oksijen üretir. Tekli oksijen, diğer hedeflerin arasında DNA'daki proteinlere ve bazlara histidin atak yapan bir dienofildir. Dalga boyu ışığın vücuda ne kadar gidebileceğini belirler. Genel olarak, çoğu foto-hassaslaştırıcıyı aktive etmek için gerekli olan ışık 1 cm'den fazla geçemez. Fotosensitize edici ajan (sistemik olarak verilir) tümör hücrelerinde birikmektedir. Enjeksiyonun çoğu normal hücrelerden elimine edildiğinde, tümör enjeksiyondan 24 ile 72 saat sonra ışığa maruz bırakılır. PDT iki ek yolla da hareket edebilir; Tümörleri öldürmek için bağışıklık sistemini harekete geçirebilir veya kan damarlarına zarar vererek tümörlerin metabolizmasını engelleyebilir. PDT lokal bir tedavidir (tipik olarak ciltte veya hemen altında) ve genellikle metastaz yapmış kanseri tedavi etmek için kullanılmaz, ancak diğer terapilerle kombine edilebilir. Lazer ışığı optik fiberlerle yönlendirebildiğinden, vücudun iç kısmına ışık verebilir, böylece özofagus veya akciğer kanserleri de tedavi edilebilir. Singlet oksijeni, membranların çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipidhidroperoksitler (LOOH) üretir [84]. PDT'nin etkinliği çeşitli faktörlere bağlıdır. Askorbat ve demirin eklenmesi, lipid peroksidasyonunu ve LOOH'lerin daha sitotoksik türlere dönüşmesini hızlandırarak PDT'nin sitotoksik etkisini artırmaktadır [84]. Fotodinamik tedavi ile üretilen tekli oksijen hücrel antioksidan enzimleri (katalaz, SOD1 ve SOD2), sitotoksositeye katkıda bulunan hücrel antioksidan enzimleri inaktive edebilir [85]. Diğer fosfolipidhidroperoksitglutatyonperoksidaz (PhGPx) enzim aktivitesi E1, tümör hücrelerinin PDT'ye direncine katkıda bulunabilir [86].

1.4.3 Radyoterapi

Radyoterapi, tümör hücrelerini (küratif tedavi) ortadan kaldırmak veya hastaların semptomlarını hafifletmek (palyatif tedavi) için verilir. Dâhili olarak (radyoaktif bir malzeme ile) veya dışarıdan (etkilenen bölgede yüksek enerjili x ışınları) uygulanabilir. Radyoterapi, yüksek enerjili ışınları kullanır ve ana hücrel hedefi DNA'dır [87]. Tek ve çift iplikli kopmalar, DNA iplikleri ve kromozomal proteinler arasındaki çapraz bağlar indüklenir. Elektromanyetik radyasyon hidroksil radikallerinin oluşumunu indükleyerek dolaylı olarak iyonize olurken lafa partikülleri [88] ve karbon iyonları [89] gibi ağır partiküller doğrudan DNA hasarına ve dolayısıyla daha yüksek biyolojik

etkinliğe neden olabilir. Alfa partikülleri, kısmi tümör ışınlanması ve sınırlı öldürme ile sonuçlanan nispeten kısa aralığa ($\leq 100 \mu\text{m}$) sahiptir. $^{223}\text{Radyum}$ ve birçok yeni geliştirilmiş alfa yayıcıları, spesifik antikolar veya hedefli nanopartiküller ile konjugasyon yoluyla hedefli tedavi için potansiyel sunabilir [90]. Karbon iyonu kanser tedavisi için oldukça uygun fiziksel ve biyolojik özelliklere sahiptir [89]. Çevreleyen normal dokularda kabul edilebilir hasara yol açarken, tümöre yeterli radyasyon dozu sağlar. Adenokarsinom, adenoidkistikarsinom, malignmelanom, hepatoma ve kemik/yumuşak doku sarkomu, karbon iyonu radyoterapisine olumlu yanıt vermektedir. Döngü tutulması Radyasyon tümör hücresi ölümüne veya kalıcı hücelere neden olur [91]. Kanser hücelerini yok eder, ancak normal hücelere de zarar verebilir [92]. Bununla birlikte, transforme edilmemiş hücelere karşılaştırıldığında, kanser hücelerinde DNA onarımı sıklıkla arızalı hale gelir ve bu da onları radyoterapiye karşı daha savunmasız hale getirir [93].

1.5. Kanser Aşılıarı

Terapötik kanser aşılıarı, bağışıklık sistemini tümörle ilişkili antijenlere (TAA) karşı eğiterek yerleşik kanserleri tedavi etmek için geniş bir strateji yelpazesi ile temsil edilir. Kanser aşılıarı tipik olarak immün tepkilerini arttırmak için bir tümör antijeni ve bir adjuvan içerir. Bu TAA'lar, tümörde aşırı eksprese edilen kendinden antijenler veya normal dokuda bulunmayan tümöre özgü mutasyonlar tarafından üretilen neoantijenler olabilir. 1995 ve 2004 arasındaki klinik çalışmalarında, Ulusal Kanser Enstitüsü, 440 hastayı, bir adjuvan içinde emülsifiye edilmiş, virüslerle verilen veya DNA'da kodlanan peptid aşılıarı ile tedavi etmiştir [94]. Tümör mikroçevresinde T hücelerinin karşılaştığı kapsamlı immüno baskılayıcı mekanizmalar nedeniyle bu tedavi için toplam cevap oranı sadece %2,6'dır. Dendritik hücelere (DC'ler), ana antijen sunan hücelere (APC'ler) olduğundan, antitümör bağışıklığını en üst düzeye çıkarmak için hem dolaşım hem de kemik iliği türevli DC'lerin kullanımıyla DC aşılıarı geliştirilmiştir [95]. İki kanser aşısı şimdiye kadar klinik kullanım için onaylanmıştır [96]. İlk terapötik DC aşısı, metastatikkastrasyona dirençli prostat kanserinin tedavisi için prostatik asit fosfataz-GM-CSFrekombinant füzyon proteini [95] ile atılımlı otologperiferik kan mononükleer hücelere üretilen Sipuleucel-T (Provenge®), ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 2010 yılında onaylanmıştır. Bir kez ümit verici olmayan DC aşısı, nelipepimut-S (E75) aşısı (NeuVax™), adjuvan, granülofatemofaj koloni uyarıcı faktörle karıştırılmış (GM-CSF) [97,98], E75 antijen peptidi içeren insan epidermal

büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) + meme kanseri için GalenaBiopharmaInc. Tarafından desteklenen bir Faz III klinik deneylerinde yakın zamanda test edilmiştir. Yeni jenerasyon sıralamasındaki son gelişmelerle birlikte, terapötik kanser aşuları ile melanom hastalarının tedavisindeki başarısı kanıtlandığı gibi terapötik aşular şuanda bir hastaya özgü mutantneoantijenepitop grubunu hedefleyecek şekilde de uyarlanabilir [99-101].

1.6. Kanser Biyobelirteçleri

Biyobelirteçler, insan vücudundaki normal biyolojik fonksiyon, hastalık ilerlemesi, tedavi etkinliği ve ateatik reaktifin yan etkilerini izlemek için ölçülebilen biyolojik moleküler varlıklardır [102]. Kanser biyobelirteçleri, kanser gelişiminin bir sonucu olarak tümör hücreleri veya insan dokuları tarafından üretilen biyolojik molekülleri ifade ederler. Kanser ilerlemesini gösterirler ve objektif olarak ölçülebilirler [103]. Kanserlerin oldukça heterojen hastalıklar olması nedeniyle [104], bir hastanın spesifik moleküler kusurlarını giderebilen tıp, kanser hastaları için etkili bir tedavinin aracı haline gelmektedir [105]. Bu nedenle güvenilir ve onaylanmış bir kanser biyobelirteç tahlili için acil bir ihtiyaç vardır. Kanser biyobelirteçleri; Proteinler, DNA, RNA, Mikro-RNA, Peptitler, Hormonlar, Onkofetal antijenler, Sitokeratinler ve Karbonhidratlar gibi farklı biyokimyasal gruplardan ve biyolojik moleküllerden oluşmaktadır. Kanser biyobelirteç tespiti için yerler dolaşım sistemini (tam kan, serum veya plazma), salgıları (dışkı, idrar, balgam) ve diğer insan biyolojik sıvılarını içermektedir [106]. Onkologlar, hasta numunelerindeki kanser biyobelirteçlerinin miktarını ölçerek şunları yapabilirler; 1) kanser gelişim riskinin öngörmek, 2) erken kanser teşhisi için tarama, 3) önceden beri kanser semptomları yaşıyan hastaları teşhis etmek, 4) sistemik tedavinin sonucunun prognozunu sağlamak, 5) tedavi yanıtını tahmin etmek ve izlemek, 6) farmakodinamiğini tahmin etmek, 7) tümör nüksünü tahmin etmek. Son teknoloji ürünün genomik ve proteomik teknolojilerindeki son gelişmelerin bir sonucu olarak, prelinik ve klinik araştırmalar altında çok sayıda aday kanser biyobelirteçleri bulunmaktadır. Şu anda, ABD FDA, yalnızca 11 tanesi kanda saptanabilen 19 protein kanseri biyobelirteçini onaylamıştır [107]. Ne yazık ki, FDA onaylı kanser biyobelirteçleri, tek başlarına kullanıldığında klinik kullanım için gereken duyarlılığı ve özgüllüğü göstermezler ve onkoloji hastaları için rutin klinik bakımda kullanılmak üzere sadece birkaç biyobelirteç analizi kabul edilmiştir. Örneğin, alfa-fetoprotein (AFP, α -fetoprotein) seminom olmayan testis kanserinin evrelemesinde ve

hepatoselülerkarsinomun izlemesinde, nispet düşük duyarlılıkta (%50) ve özgüllükte (%70) kullanılmaktadır [108]. Diğer bazı biyobelirteçler de klinik uygulamalarda kullanılır; kanser antijeni-125 (CA-125) ve yumurtalık kanserinin izlenmesi için insan epididimis proteini 4 (HE4), tiroid kanserinin izlenmesi için tiroglobulin (Tg), prostat kanserinin izlenmesi ve görüntülenmesi için PSA, pankreas kanserini izlemek için karsinoembriyonik antijen (CEA) ve meme kanserini izlemek için CA15-3/CA27-29 ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'yi (HER2/neu) içermektedir [109]. Bugüne kadar, yeni kanser biyobelirteçlerinden elde edilen sonuçlar tatmin edici değildir. Çünkü hiçbiri klasik protein biyobelirteçlerine kıyasla gelişmiş özgünlük ve duyarlılık göstermemiştir [110].



2. NANOTEKNOLOJİ

Nanoteknoloji, en az bir boyutta nanometre ölçeğinde veya bir metrenin milyarda biri olan malzeme ve cihazların tasarımında, sentezinde, karakterizasyonunda ve uygulamasında yer alan bilim ve mühendislik olarak tanımlanmaktadır [16]. Nanoteknolojinin ilk destekçisi Albert Franks, ölçü ve toleransların 0,1-100 nm aralığında olduğu bilim ve teknoloji alanı olarak tanımlamıştır [111]. İlk nanoteknolojik stratejiler kavramı, 1959'da Amerikan Fizik Cemiyeti'nde Nobel Ödüllü fizikçi Richard P. Feynman'ın '*There's Plenty of Room at the Bottom*' başlıklı bir konferansta tanıtılmıştır [112]. Bununla birlikte, nanoteknoloji terimi, 1974 yılında Profesör Norio Taniguchi tarafından ilk kez kullanılmıştır. Daha sonra E. Drexler, 1986'da Feynman'ın fikirlerini '*Engines of Creation*' kitabında geliştirmiş ve yayınlamıştır [113]. Nanoteknolojilerin uygulanmasındaki ilk adım, nano boyutlu nesnelerin görüntülenmesi ve manipülasyonunda devrim yaratan taramalı tünelleme mikroskopunun (STM) (Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer tarafından icat edilmiştir) [114] ve atomik kuvvet mikroskopunun (AFM) (Gerd Binnig, Clavin Quate ve Christoph Gerber tarafından icat edilmiştir) bulunmasıdır [115]. Gerçekten de bu buluşlar farklı alanlardaki bilim insanlarına nano dünyasının kapılarını açmıştır ve böylece görüntü yüzeylerini atomik çözünürlükte incelemek ve ayrı ayrı atomları hareket ettirmek için araçlar sağlamıştır [116]. Yapılan çalışmaya göre şu anda dünyada ulusal nanoteknoloji programlarını daha önceden başlatmış olan 60'dan fazla ülke olduğunu belirtmişlerdir [117]. Bilgiyi zenginliğe dönüştürmek için dünyadaki tüm hükümetlerin nanoteknoloji alanında temel programları vardır. Örneğin ABD 2000 yılında Ulusal Nanoteknoloji Girişimi'ne (NNT) başlamıştır. ABD Kongresi'nin nanoteknoloji AR-Ge'si için öngördüğü bütçe FY2016'ye kadar yaklaşık 21,8 milyar dolardır [117]. Hatta birçok ülkede tüm eğitim seviyeleri için nanoteknoloji ile ilgili eğitim programlarının geliştirilmesine ilgi artmıştır [118]. Şu anda, ABD ve Çin nanoteknoloji tabanlı stratejileri geliştirmek için verimli bir nanoteknoloji topluluğu olan nanoteknoloji araştırma ve geliştirme alanında iki lider ülke olarak tanımlanmaktadır [119]. Tahminlere göre, nanoteknoloji 2020 yılına kadar küresel ekonomiyi en az 3 trilyon \$ etkileyecek ve dünya çapında nanoteknoloji endüstrileri, on yılın sonunda onları destekleyecek en az 6 milyon çalışana ihtiyaç duyabileceği düşünülmektedir [120].

2.1 Nanoteknolojinin Uygulama Alanları

Zamanla, nanoteknoloji, enerji, elektronik, gıda ve tarım, kozmetik ve sağlık gibi farklı alanlarda çeşitli uygulamalarda yer almıştır. Nanoteknoloji uygulamalarına örnek olarak; Moleküler/hücreyel çözünürlükle başa çıkmak için, nanoteknolojiye dayalı ürünlerin tasarımı, geleneksel formülasyon oluşturma faaliyetinden fizikokimyasal ve biyofarmasötik prensiplere ve ilgili karakterizasyon araçlarına dayanan bilimsel bir uzmanlığa doğru ilerlemektedir [121].

2.1.1 Nanotıp: Sağlıkta nanoteknolojinin özel varlığı

Canlı hücrelerin birkaç bileşeni aslında nano ölçekli aralıkta olduğu için, nanoteknolojinin biyoloji ve tıpta yararlı olacağı tahmin edilmektedir. Bugün nano ölçekli materyallerin bir kısmı klinik uygulamaları bulunmuş ve nano tıp alanı ortaya çıkmıştır [117]. Bugün nano tıp alanının ortaya çıkması sayesinde, nano ölçekli materyallerin bir kısmının, klinik uygulamaları bulunmuştur. Nanoteknoloji alanının en önemli bölümlerinden biri olan nanotıp, çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için daha verimli araçlar sağlamak üzere biyoloji, kimya, mühendislik ve tıbbi birleştiren disiplinler arası bir alandır. Nanotıp tabanlı stratejiler kanser gibi ciddi hastalıkların önlenmesi, teşhisi ve tedavisi için biyomedikal mühendislerine ve klinisyenlere yeni ufuklar açmıştır [122]. İlaç taşıyıcı sistemlerinde, tıbbi görüntüleme ve tanı platformlarında [117], implante edilebilir materyallerde [123] ve doku rejenerasyon stratejilerinde [124,125] kayda değer iyileştirmeler yapılması, sağlık ve tıpta nanoteknoloji etkileri olarak kabul edilmektedir. Şu anda piyasada, FDA tarafından onaylanmış olan piyasada birçok nanotıp ürünü bulunmaktadır. Bobo ve ark. [126], 51 nanoilaçın FDA onaylı ve 77 ürünün de klinik deneylerde olduğunu ve bunlarında yaklaşık %40'ının denenmesine 2015 veya 2016 da başladığını bildirmişlerdir. FDA onaylı malzemelerin çoğunun polimerik, lipozomal ve nanokristal formülasyonlara sahip olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, son zamanlarda klinik denemelerde miseller, protein bazlı NP'ler ve çeşitli inorganik ve metalik partiküller içeren daha karmaşık materyaller geliştirilmesine özel önem verilmiştir [127,128]. Nanomalzemelerin etkileri malzemenin boyutuna bağlı olarak değişebilir. Toksik olmayan 100 nm boyutlu parçacıkların, boyutları 1 nm'ye düştüğünde veya bunun tam tersi olarak boyutları 100 nm den daha fazla olduğunda toksik elemanlara dönüşebileceği anlamına gelebilmektedir. Toksik olmayan nanomalzemeler de toksik nanopartiküller oluşturarak parçalanabilir veya parçacıklar bir araya gelerek

toplanabilir [129]. Vücudumuzun nanomalzemelere nasıl tepki verdiğinin bu öngörülemezliği, sadece büyüklüğe dayanmakla kalmaz, aynı zamanda bağışıklık sistemimizin nano ürüne nasıl tepki verdiğine de dayanır, çünkü çalışmalar nano parçacıkların bir hücre kültüründe bir organizmadan farklı şekilde tepki gösterebildiğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar nanopartiküllerin solunabileceğini ve hücre zarlarını geçebileceğini ve karaciğer, lenf düğümleri, dalak ve kemik iliğine ulaşabileceğini göstermişlerdir [129]. Solunumdan sonra nano-toksik etki iddiaları açıkça ifade edilmiş olsada, literatürde bu iddiaları doğrulayan ya da reddeden somut bilimsel kanıtlar yoktur [130].

2.1.1.1 Gen dağıtımında nanoteknoloji

Gen transferi geleneksel olarak viral, fiziksel ve kimyasal sistemler dahil olmak üzere üç ana yöntemle gerçekleştirilmektedir [131]. Nanoteknolojinin ortaya çıkmasıyla birlikte, NP'lerin, DNA, RNA, vb. gibi farklı moleküller sağlamada vektörler olarak büyük bir potansiyele sahip olduğu ileri sürülmektedir. Günümüzde nanoteknoloji temelli gen dağıtım sistemleri, hedeflenen gen dağıtım uygulamalarında kullanılabilirliği ile nanomalzemelerin sentezi, karakterizasyonu ve işlevselleştirilmesine odaklanan bir bölüm olarak kabul edilmektedir [117]. Lipidlere (lipidnanoemülsiyonlar, katı lipidnanoparçacıklar), polimerlere (PEI, PLGA), grafene, karbon nanotüplere (CNT'ler), nanokürecikli ve farklı inorganik parçacıklara (silika NP'ler gibi), dayanan gen dağıtım sistemleri olarak bir dizi nanomalzeme kullanılmıştır. Farklı nanomalzemelere dayalı gen dağıtım platformları arasında, fonksiyonelleştirilmiş tipler, hedef dokudaki gen dağıtım etkilerini sürdürmesi ve genetik materyalin üstün stabilitesinden dolayı umut verici sistemlerdir [117]. NP bazlı gen dağıtım sistemleri kullanılarak çeşitli ölümcül kalıtsal hastalıkların tedavisi için büyük bir umut vaat etse de Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmamıştır. Bunun nedenleri ise, in vivo da nanomalzemelerin düşük gen transfeksiyon etkinliği ve bilinmeyen uzun süreli toksisitesidir [132].

2.1.1.2 Teşhis ve görüntüleme konusunda nanoteknoloji

Moleküllerin yüksek çözünürlüklü görüntülerini sağlamak son on yılda tanı ve klinik tıpta önemli bir rol oynamaktadır. Bu bakımdan, X-ışını tabanlı sistemler, MR sistemleri, ultrason, iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik görüntüleme, nükleer tıp görüntüleme sistemler gibi çeşitli görüntüleme teknikleri geliştirilmiştir [133].

Görüntülenme problemlerinin tasarımında kullanılan ana nanopartiküller, QD, PD, UCNP, AuNP ve polimerik veya küçük gözenekli silis nanopartikülleridir. Örneğin, silika bazlı NP'ler şu anda kişiselleştirilmiş tıpta kullanım için etken bir biyo-görüntüleme ve terapötik madde olarak kullanılmaktadır [117].

2.1.1.3 Terapötik bir araç olarak nanoteknoloji

Nanoteknolojinin terapötik bir araç olarak kullanılması son yıllarda oldukça dikkat çekmiştir. Mikro ve nano ölçekli akıllı sistemler, çeşitli yollarla terapötik tedavilerin etkinliğini en üst düzeye çıkarabilmektedir. Çünkü bunlar, hastalık durumlarını hızla doğrudan yerinde tespit edip yanıt verebilme, fizyolojik olarak sağlıklı hücreleri ve dokuları koruma ve böylece hastanın yaşam kalitesini artırma yeteneğine sahiptir. Bu yeni 'akıllı terapötikler' sınıfı, hastalıklı durumların tedavisi için terapötik ajanların saptanması, izole edilmesi ve/veya serbest bırakılması gibi çeşitli işlevleri yerine getirmek üzere tasarlanmış akıllı ve duyarlı dağıtım sistemleri anlamına gelmektedir [134]. Bugün, dünya çapında pek çok tıbbi ve biyomedikal bilim insanı nanoteknolojinin yarattığı fırsatlardan yararlanmaktadır. Nanoteknoloji temelli stratejilerin sonucu olarak daha etkili tedaviler, çeşitli kanserlerin tedavisinde büyük başarıya katkıda bulunmuştur. Çoklu ligand- hedefli terapötik stratejilerin sağlanması, nanoteknoloji temelli yaklaşımların geleneksel kemoterapötik ilaçlar üzerindeki başlıca avantajlarından biridir. Bu, nanopartiküllerin kullanılmasının, mikrobiyal ilaç direncinin üstesinden gelmek için en umut verici stratejilerden biri olduğu iddia edilmektedir [135]. Antimikrobiyal etkilere atıfta bulunarak potansiyel nanoteknoloji yaklaşımlarını sergilemek için sayısız araştırma yapılmıştır. Örneğin, nitrik oksit salıcı NP'lerin, kitosan içeren NP'lerin ve metal içeren NP'lerin, güçlü antibakteriyel maddeler olduğu tespit edilmiştir. Yakın zamanda nanoteknolojinin doku onarımı ve yenilenmesi açısından olumlu etkileri hakkında bazı önerilerde bulunulmuştur [18]. Canlı hücreler ve dokular nano boyutlu bir yapıya sahip olduklarından, nanofiberler, nano-paternaler ve hücrelerin davranışlarını yönlendirmek ve aynı zamanda doğal dokuları taklit etmek için kontrollü salımlı nanoparçacıkları oluşturmak için nanoteknoloji tabanlı yaklaşımlar kullanılabilir. Mikro-yapılandırılmış biyomalzemelere kıyasla nano-biyomalzemeler hücre bağlanması ve büyümesi bakımından daha etkilidir [136,137].

2.1.1.4 İlaç dağıtımında nanoteknoloji

Hedeflenen ilaç uygulamasında nanoteknolojinin ana uygulaması, tümörlerin tedavisinde özellikle yararlı olan nanopartiküller olarak ortaya çıkmıştır [138]. İlk nanopartikül ilaç verme sistemi, 1974 yılında Dr. Gregory Gregoriadis tarafından önerilen lipozomdu [139]. O zamandan beri, çeşitli araştırma yaklaşımlarının ve dolayısıyla farklı ticari ürünlerin üretilmesine yol açan nanoparçacık bazlı ilaç taşıyıcıları kullanılarak sayısız yenilikçi keşif gerçekleştirildi. Bugün farklı formülasyonlara sahip çeşitli nanopartiküller, klinikte kullanılan polimer miselleri, emülsiyon ve katı partikülleri olarak tasarlanmıştır. Şu an kanser tedavisinde Caelyx®, Doxil®, Transdrug®, Abraxane® gibi nano bazlı ilaçlar kullanılmaktadır. İlaç dağıtımı, istenen hücre grubuna ilaçları veya genleri hedeflemeye odaklanan bir alandır. Bu hedeflenen dağıtımın amacı, ilaçların diğer dokular üzerindeki istenmeyen yan etkilerini en aza indirirken, arzu edilen bölgelere (tümörler, hastalıklı dokular vb.) uygun miktarlarda ilaç taşımaktadır [117]. FDA ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından klinik kullanım için onaylanmış bazı nanoteknoloji bazlı ilaç dağıtım sistemleri Çizelge 2.1’de sunulmuştur. Nano nesnelerin difüzyon koşullarının ve ilacın çözünme/salınması koşullarının, ilaç dağıtım mantığının kilit yönleri olduğunu göz önünde bulundurarak, aşağıdaki hususlar, verilen bir uygulama yolu için dikkate alınmaya değer;

- anatomi; nano taşıyıcının kanda ve /veya dokuda difüzyonunu/seyreltilmesini şartlandıran geometrik kısıtlamalar (en ince kılcal damarın çapı, vitreusun hacmi, saç köklerinin erişebilirliği, vb.),
- nano nesnelerin difüzyon/seyreltme ve çözülme/salınım zaman çizelgesini şart koşan biyolojik zaman ölçekleri (bağırsak epitel devri, korneada kalma süresi),
- ilacın çözünmesini/salınmasını şartlandıran biyolojik sıvılar,
- hacimler ve akışlar (GI sıvıları, kan, vitröz salgı, perilenf),
- fizikokimyasal koşullar (pH, iyon gücü),
- çözüldürücü maddelerin varlığı; safra tuzları (besin etkisi), plazma proteinleri vb.ilaç/partikül ilişkisinin niteliği (bir kristal için ilaç-ilaç etkileşimi, polimerik bir partikülü için partisyon katsayısı veya yağlı bir damlacık, protein bazlı nanopartiküller için bağlanma sabiti),
- biyolojik sıvılarda stabilite,
- enzimlerin varlığı (bazı ön ilaçlar için enzimatik aktivite gerekebilir),

Nano nesnelerin difüzyon koşulları ve ilacın çözünme/salınması koşulları, küçük boyut ve yüksek yüzey/hacim oranına bağlı olduğundan, nano nesnelerin toplanmasının, performanslarında önemli bir bozulmaya yol açtığı düşünülmektedir [140]. Nano kristallerin oral olarak verilmesi için, partikül boyutunun hafif bir çeşitlemesi, çözünme kinetiği ve elde edilen biyoyararlanıma etkilenemeyebileceği için farmasötik formun kalitesi üzerinde saptanabilir bir etkiye sahip olmayabilir. Aynı zamanda, ilaca plazmatik maruz kalma ile ilgili ise, güvenlik profilinin özünde standart bir katı dozaj formundan farklı olduğu düşünülmektedir. İnfüzyon hızı, vücudun dağılım ve ‘çözünme’ kapasitesinin ötesine geçmemelidir [141]. Aynı zamanda, daha uzun bir infüzyon süresi, maruz kalma artışını sabit duruma getirme süresine kıyasla kısa olduğu sürece (yarı ömrünün yaklaşık 8 katı) sınırlandırmaz. Bununla birlikte, tamamlayıcı ve pıhtılaşma kademesinin dikkat çekmeyen nano nesnelere tarafından aktifleştirilmesinin daha büyük parçacıklar olarak toplanmaya yol açabileceği akılda tutulmalıdır. Yine burada, infüzyon hızının kanın dağılım ve çözünme kapasitesine adaptasyonu da dikkate alınması gereken bir nokta olarak ortaya çıkmaktadır [142].

Çizelge 2.1 Nanoboyutlu dağıtım sistemleri [5]

Adı	Hedef	Aktif bileşen	Nano sistem
Myocet™	Meme kanseri	Doksorubisin	Lipozomal
Abraxane	Metastatik meme kanseri	Paclitaxel	Albumin’e bağlı
Doksil	Yumurtalık kanseri	Doksorubisin	PEG’lenmiş lipozomal
Eligard	Prostat kanseri	Leuprolidasetat	Biyobozunur polimer
Caelyx	Kaposi’ninsarcoma	Doksorubisin	PEG’lenmiş lipozomal
DaunoXome	Kaposi’nin sarcoma	Daunorubicin	PEG’lenmiş lipozomal
Oncaspar	Lenfoblastiklösemi	L-asparaginaz	Polimerik misel

2.2 Nanopartikül

NP’ler, 1 ile 100 nanometre arasında boyuta sahip parçacıklardır [143]. Nanoteknolojide, nanopartiküller, özelliklerine ve taşınmasına göre bütün bir birim gibi davranan küçük nesnelere olarak tanımlanır [144,145]. Nanopartiküller, büyük yüzey alanı, optik ve manyetik özellikler, düşük erime noktası ve manyetik kuvvet gibi bazı benzersiz özelliklere [146] ve aynı zamanda gelişmiş aksiyon hızı, daha fazla hassasiyet ve özgüllük hem maliyet hem de invazivitede (yayılabirlik) azalma gibi çok çeşitli avantajlara sahiptirler [147]. Bu ölçekte, malzemelerin fizikokimyasal ve biyolojik

özellikleri temel olarak tek atomlardan, molekülerden ve yığın malzemelerden farklıdır [117]. Örneğin, nanoparçacıkların birim hacmi başına daha yüksek yüzey alanı, kimyasal reaksiyonların ve kataliz hızının arttığı ve böylece birçok işlemin etkinliğini artıran daha yüksek yüzey aktivitesi ile sonuçlanır. Yukarıdan aşağıya, aşağıdan yukarıya ve hibrit yöntemi de dahil olmak üzere farklı nanomalzemelerin sentezi için üç ana yaklaşım vardır [148]. Np'lerin yukarıdan aşağıya yöntemiyle sentezlenmesi için, bir dökme malzeme, kontrollü dağıtma, eleme ve başlangıçtaki maddenin tabakalaşması yoluyla tercih edilen nano boyutlu şekle indirgenir [117]. Yukarıdan aşağıya yöntemi, optik litografi, E-beam litografi, yumuşak ve nanobaskı litografi, blok ko-polimer litografi, tarama probu litografi olarak çeşitli tekniklerden oluşur [110]. Aşağıdan yukarıya yaklaşımda, malzemeler atomların, moleküllerin, makro moleküllerin veya supramoleküllerin düzenlenmesi kontrol edilerek nanoskopik ölçekte toplanır [149]. Bu yaklaşımda atomik tabaka çökeltme, sol-jel nanofabriasyon, moleküler kendi kendine derleme, fiziksel ve kimyasal buhar fazı biriktirme, DNA iskelesi gibi birkaç teknik kullanılır. Yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yaklaşımların kombinasyonu, bu iki yaklaşımla birlikte var olan teknik sorunları kapsayan alternatif bir yöntemdir (hibrit yöntem) [117]. Nano imalat, endüstriyel ölçekte nano ölçekli materyalleri, yapıları, bileşenleri, cihazları ve sistemleri üretmek anlamına gelir [150]. Nano boyutlu yapıların bazı örnekleri, nanoçubuklar, nanoteller, nanotüpler, nanokayışlar, nanoşeritler, nanofiberler, nanoparçacıklar, kuantum noktaları ve içi boş kürelerdir [151-155]. Nanoboyutlu malzemeleri düzenlemek için çeşitli sınıflandırma sistemleri oluşturulmuştur. Nanomalzemeler, boyutlarına ve yapılarına göre sınıflandırılabilir. Bu maddeler için üç ayrı boyut önerilmiştir; tek boyut (ince filmler, tabaklar ve yüzeyler), iki boyut (nanotüplere sarılabilecek nanoteller ve grafen tabakları) ve üç boyut (nanoparçacıklar, fullerenler, grafit levhalar, dendrimerler ve kuantum noktaları) [156]. Bileşime bağlı olarak nanomalzemeler; tek fazlı katılar (kristalimsi, amorf parçacıklar ve katmanlar), çok fazlı katı maddeler (matris kompozitler, kaplanmış parçacıklar) ve çok fazlı sistemler (koloidler, arojeller, ferrofluidler) olarak kategorize edilebilir. Tüm nano boyutlu maddeler, metallere, seramiklere, polimerlere veya kompozit malzemelere olarak sınıflandırılır [157]. Elde edilen veriler ve çalışmalar hastalık tanısı, önleme ve tedavi için potansiyel olarak nanopartiküllerin kullanılma olasılığını göstermektedir [147].

2.2.1 İnorganik nanopartiküller

İnorganik nanopartiküller, nanometre aralığında en az bir uzunluk ölçğine sahip metal oksit veya metalik kompozisyon partikülleri olarak tanımlanabilir. Bu nano yapılar, nano boyutlarının büyüklüğü nedeniyle önemli ölçüde yeni ve farklı kimyasal, fiziksel ve biyolojik özellikler ve işlevsellik sergiler. İnorganik nanopartiküllerin hazırlanması çeşitli zorluklar sunmaktadır. Nanopartiküller uygun bir üretim süreci yoktur ve çoğu prosedür farklı araştırma kurumları ve endüstriyel ölçekli laboratuvar arasında önemli ölçüde farklılık göstermektedir [134]. Nanoparçacık sentezi için en geleneksel hazırlama yöntemi, bir organik öncü çözeltisinin hazırlanmasını ve çözeltinin ısı veya pH koşullarında parçacık büyümesinin kontrolünün sağlayan sol-jel rotasıdır [158]. Metal tuzları, metal halojenürler ve inorganik alkoksitler içeren tipik inorganik öncüler, ilgili metal oksit türlerine hidroliz ve yoğunlaşma reaksiyonları ile sentezlenmektedir. Mineralizatörlerin (asit veya baz) kullanımı, hidroliz ve yoğunlaşma oranlarının bağımsız olarak kontrol edilmesine, kinetik bazlı dengeden partikül büyüme mekanizmalarına geçiş ve sonuçta farklı yüzeylerin büyüme hızlarının kontrolüne izin vermektedir. Püskürtürerek kurutma işleminin kullanılmasında kapsamlı bir tekniktir [159]. Bu yöntem, inorganik bileşiklerden ve ilgili katkı maddelerinden oluşan homojenleştirilmiş bir prekürsör solüsyonunun, çözücünün kaynama noktasındaki veya üzerindeki sıcaklıklarda özel olarak tasarlanmış bir haznenin içine püskürtülmesini gerektirmektedir. Öncü çözelti, bir nozül içinden akan gaz kullanılarak damlacıklar halinde atomize edilir. Damlacık, damlacıkların hızlı buharlaşmasına ve nano partikülün oluşumuna yol açan bir sıcak hava veya nitrojen akışının verildiği bir odaya püskürtülür. Damlacık büyüklüğü büyük ölçüde partikül büyüklüğünü ve dolayısıyla nozul ve atomizer ünitesinin tipini, bu tekniği nanometre parçacıklarının üretimi için kullanma olasılıklarını belirler [160]. Ayrıca, etkili bir yol, bir yanma alevi, lazer ablasyonu, kimyasal buhar biriktirme ve sprey-piroliz kullanımını içeren gaz fazı yöntemlerinin kullanılmasıdır [134]. Nanopartiküllerin hazırlanması için başka bir yöntem mikro emülsiyon işlemidir. Mikro emülsiyonlar metalik nanopartiküllerin yanı sıra manyetik ve süper iletken nanopartiküllerin üretimi için kullanılmıştır [161]. Mikro emülsiyonlar, kendiliğinden basit mekanik bir çalkalamaya ihtiyaç duymadan kendiliğinden üretilirler. Bu teknik basittir ve homojen partikül boyutlarıyla yüksek verim sağlayan ucuz ekipman kullanılmaktadır [162]. Uzun süreli doku hasarı, toksisite, immünojenisite, karsinogenez ve iltihaplanma ile ilgili endişeler açılığa kavuşturulmalıdır. Uzun süreli maruz kalma nedeniyle kısa süreli terapötik ve

potansiyel yan etkilerin taleplerini optimize etmek için stabilite, dolaşım zamanları ve lokalizasyonun, terapötik etkilerden ödün vermeden modüle edilebilecek inorganik nanopartiküllerin tasarlanması gerekli olacaktır [134].

2.2.1.1 Metal nanopartiküller

Metal nanopartiküllerin uygulamaları, Faulk ve Taylor (Immun, 1989) tarafından yapılan immün altın etiketlemesi keşfedildikten sonra 1971'de başlayan nanobiokonjugatların kullanımı ile baskın hale gelmiştir. Metal nanopartiküller, hücresel bileşenleri, ilaç dağıtımını (ilaçlar, proteinler, peptitler, plazmidler, DNA'lar vb. vermek için araç), tespit, teşhis ve tedaviyi (hedefli ve hedeflenmemiş) görselleştirmek ve elektron mikroskobu için problemler dahil çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Altın veya gümüş gibi metalik nanoparçacıkları, büyüklüklerinden ve bileşiminden elde edilen birçok optik ve elektronik özelliğe sahiptir [134]. Bu nanomalzemeler, afinite ligandlarına bağlandığında kimyasal sensörler olarak önemli uygulamalar bulmuşlardır, örneğin, spesifik oligonükleotidlerle konjuge edilmiş altın nanoparçacıkları, renk değişimleriyle tespit edilebilen tamamlayıcı DNA ipliklerini algılayabilmektedir [163]. Ayrıca, altın nanoparçacıkları, antikorlar, enzimler, nükleotidler, vb. gibi prob molekülleri ile kolayca fonksiyoneleştirilebilir. Bu hibritnanoyapılar, bir dizi biyosensör analizinin, ilaç ve gen dağıtım sistemlerinin, lazer konfokalmikroskopi teşhis araçlarının ve diğer biyomateryal tabanlı görüntüleme sistemlerinin aktif unsurlarıdır [164]. Gümüş, eski zamanlardan beri çok etkili bir antimikrobiyal ajan olarak bilinmektedir. Nanometre aralığındaki gümüş partikülleri, protezler, kateterler, vaskülogreftler ve insan derisi üzerindeki geniş bir mikroorganizma spektrumunun saldırılarını önlemek için rutin olarak kullanılmıştır; memeli hücrelerinde düşük toksisite göstermekle birlikte, tıpta yanık tedavisinde, artroplastide vb. enfeksiyonları azaltmak için de kullanılırlar [165]. Şu anda, manyetik nanoparçacıklar (MNP'ler), benzersiz manyetik özelliklere ve biyolojik etkileşimlerin hücresel ve moleküler düzeyde işlev yapabilme yeteneklerine sahip olduklarından, onları manyetik rezonans görüntüleme (MRI için kontrast ajanlar ve ilaç dağıtım için taşıyıcılar olarak son yıllarda çekici bir platform haline getirmiştir. Nanoteknolojideki son gelişmeler, bu biyomedikal uygulamalar için MNP'lerin özelliklerini ve karakteristiklerini özellikle uyarılma yeteneğini geliştirmiştir [166]. Bununla birlikte, metal nanoparçacıkların kullanmanın güvenliği ve etkinliği bilim insanları arasında tartışılabilir. Uygun olduğu yerde, metal nanoparçacıkların toksisitesini rapor eden

çalışmalar dahil edilmiştir. Mu ve ark. Biyoyumluluk ve karbon kaplı demir NP'lerin (Fe @ CNP'ler) yüzey kimyası arasındaki ilişki hakkında araştırma yapmışlardır. Sonuçlar, Fe @ CNP'lerin biyoyumluluğunun hem hücre tipine hem de nanopartiküllerin yüzey kimyasına bağlı olduğunu göstermiştir [134].

2.2.1.2 Mezoporous silika sistemler

Son on yılda, Mezoporous katıların sentezi ve uygulamaları, çok düzenli yapılar, daha büyük gözenek boyutu ve yüksek yüzey alanı nedeniyle yoğun ilgi görmüştür [167]. Kararlı Mezoporous yapısı ve iyi tanımlanmış yüzey özellikleri nedeniyle, Mezoporous materyalleri farmasötik ilaçların, proteinlerin ve diğer biyojenik moleküllerin kapsüllemesi için idealdir. Günümüzde, çeşitli farmasötik ilgi alanlarına sahip moleküllerin barındırılması ve daha fazla verilmesi için gözenekli malzemelerin kullanılması ortaya çıkmıştır [168]. İlaç sunumunda M41S, SBA, MSU ve HMS gibi çeşitli mezo materyaller kullanıldı. Mezoporous silisin yüzey alanı ve gözenek büyüklüğü, biyoteknolojik ve biyomedikal uygulamalar için önemlidir [134]. Örneğin, mikrosfer malzemeleri gen transfeksiyonu için etkili ajanlar veya hücre içi ilaç dağıtımı için taşıyıcı olarak görev yapamaz, çünkü hücreler büyük parçacıkları endositoz yoluyla verimli bir şekilde tutamazlar. Ayrıca, mezoforik silika mikro küreleri bakteri boyutundadır ve potansiyel olarak in vivo da akut immün tepkisini tetikleyebilir. Bu sorunları aşmak için araştırmacılar, bir dizi Mezoporous silika nanopartiküllerini (MNS) hazırlamak için sentetik bir yaklaşım geliştirmişlerdir. MNS'in aşağıdaki benzersiz özellikleri, çeşitli kontrollü sürüm teslim uygulamaları için çok fazla dikkat çekmiştir.

- 1) MNS'nin ayarlanabilir parçacık boyutu, herhangi bir önemli sitotoksikite olmadan canlı hayvan ve bitki hücreleri tarafından kolay endositoza izin verecek şekilde 50 ile 300 nm arasında ayarlanabilir.
- 2) MSN, diğer polimer bazlı ilaç taşıyıcılarına kıyasla ısı, pH, mekanik stres ve hidrolize kaynaklı bozulmalara karşı daha karardır.
- 3) MSN'nin düzgün gözenek boyut dağılımı çok dardır ve gözenek çapı 2 ile 6 nm arasında ayarlanabilir. Bu özellik farklı ilaç moleküllerinin yüklenmesinin ayarlamasına ve ilaç salınımının kinetiğini yüksek hassasiyetle incelemeye izin verir [134].
- 4) Yüksek yüzey alanı (> 900 m² / g) ve büyük gözenek hacmi (> 0.9 cm³ / g) MSN, ilaç moleküllerinin çok yüklenmesine izin verir.

5) MSN bir iç yüzeye (yani, silindir gözeneklerine) ve bir dış yüzeye (yani dış parçacık yüzeyine) sahiptir. Bu özellik, MSN'nin iç ve/veya dış yüzeylerinin farklı kısımlarla seçici olarak işlevselleştirilmesine izin verir.

6) Birçok ilaç dağıtım materyali, dallanma gözenekli yapıya sahip dendrimerler ve geniş bir boşluk çekirdeğine ve gözenekli bir kabuğa sahip lipozomlar gibi birbirine geçen gözenekli yapılara sahiptir.

Önemli olarak sentezlenen mezopöz materyallerinden biri olan MCM-41, ilk olarak bir ilaç verme matrisi olarak kullanılmıştır [169]. SBA-15, SBA-16, SBA-1, SBA-3, HMS ve MSU dahil SBA gibi daha büyük gözenek boyutuna sahip diğer gözenekli malzeme grupları da ilaç dağıtımını için kullanılmıştır. Mezoporous materyallere dayalı ilaç dağıtımını için, organik olarak modifiye edilmiş mezo gözenekli silika kullanılarak yapılan birkaç araştırma rapor edilmiştir. Zeng ve ark. Aspirinin ilaç kontrollü dağıtım sistemi olarak aminopropil grupları tarafından modifiye edilmiş MCM-41 materyallerini kullanarak bir çalışma yürütmüşlerdir. Sonuçlar, bu dağıtım sisteminin serbest bırakma özelliklerinin, gözenek duvarındaki aminopropil gruplarının miktarından ve mesoporous malzemelerin sıralı yapısından etkilendiğini göstermiştir. SBA-15'in hacimli moleküllerin verilmesi için daha az kısıtlamaya sahip olası beklenir, çünkü SBA-15'in gözenek boyutu, genellikle 6 nm çapında olup MCM-41'in 3 nm gözeneginden daha büyüktür. Song ve ark. ilaç matrisi olarak amin gruplarıyla fonksiyonelleştirilmiş Mezoporous SBA-15 materyallerini bildirmişlerdir. İbuprofen (IBU) ve sığır serum albümini (BSA) model ilaçlar olarak seçilmiştir ve modifiye edilmemiş ve fonksiyonel hale getirilmiş SBA-15'e yüklenmiştir. Fonksiyonelleştirilen SBA-15'den ibuprofenin salım hızının, saf SBA-15'e kıyasla etkili bir şekilde kontrol edildiği bulunmuştur. Bu nedenle, ilaçlarla özel konakçı-konuk etkileşimini sağlamak için SBA-15 yüzeyine fonksiyonel grupların eklenmesi, kontrollü ilaç dağıtımını için önemli ve iyi olacaktır. İçi boş mezo-gözenekli küreler (HMS), ilaç uygulamasında kullanılan bir başka önemli yapı malzemesi grubudur. Zhu ve ark. HMS'nin hazırlanması için kolay bir yol bildirmişlerdir ve ibuprofen kullanılarak ilaç depolanması ve verilmesi için kullanılmıştır. İlaç yüklemesini MCM-41 ile karşılaştırmışlar ve HMS'nin MCM-41'den çok daha fazla depolama kapasitesi sergilediğini bulmuşlardır [134]. Ayrıca, MSU mesopoz silika, ilaç dağıtımını için de kullanılmıştır. Tourne-Peteilh ve ark. MSU'yu ilaç pentapeptidinin taşıyıcısı olarak kullanmışlardır. Pentapeptidin, mesoporous silika içinde kapsüllenebileceğini ve dimetilformamid ile katı yıkamadan hemen sonra salınacağını buldular. Mezo gözenekli silika malzeme bazlı ilaç sistemi için,

biyoaktivite, potansiyel uygulaması için önemli bir faktördür. Biyoaktivite çalışmaları, gözenekli silikaların MCM-48, MCM-41 ve SBA-15'in ilaç verme sistemi için biyoaktif malzemeler olduğunu göstermiştir. Silisin fosforlu malzeme veya hidroksiapatit gibi aktif bileşenlerle değiştirilmesi biyolojik uyumluluğunu önemli ölçüde geliştirecektir [134].



3. NANOTEKNOLOJİ İLE KANSER İLİŞKİSİ

Kanser tanı ve tedavisinde önemli ilerlemelere rağmen, kemoterapötik ajanların ve çoklu ilaç direncinin (MDR) sınırlı etkinliği nedeniyle, ikinci en yaygın ölüm nedenidir [170]. Bu sınırlamalar sıklıkla, kemoterapinin neden olduğu tümör hücresi DNA'sındaki hasara rağmen apoptozu geçersiz kılan tümör hücrelerinde genetik mekanizmaların gelişiminden kaynaklanmaktadır. Ek olarak hayatta kalan hastalar mevcut anti-neoplastik ilaçların çeşitli ciddi yan etkilerine maruz kalmaktadır [170]. Nanoteknoloji geleneksel yöntemlerin kanser tedavisi, tanı ve tespitinde karşılaştığı sorunların çoğunun üstesinden gelmek için muazzam bir potansiyele sahiptir [171]. Özellikle, nanopartiküller (nano ölçekli büyüklükteki partiküller) kanser teşhisi ve terapötikleri için geliştirilmiş ve araştırılmıştır. Bu malzemeler bundan sonra NP-CDT'ler olarak anılmıştır. Klinik öncesi çalışmalar bu NP-CDT'lerin küçük moleküllü yaklaşımlara göre birçok avantaj sunduğunu göstermiştir. Örneğin, NP-CDT'ler zayıf in vivo biyodağılımın problemlerini ve küçük moleküllü ajanlarla (örneğin ilaçlar, görüntü kontrast ajanları vb.) bağlantılı yan etkilerini hafifletebilir. Bu problemler, kanser hücrelerini hedef alan ajanların spesifik olmayışı nedeniyle ortaya çıkar ve retikuloendotelyalsistemin (RES) hızlı alımı; Amaçlanan hedef hücreler MPS organlarında bulunmuyorsa, MPS (Mononükleer Fagosit Sistemi) organlarındaki makrofajların temizlenmesi ve bariyerlerin varlığı (örneğin, kan-beyin bariyeri (BBB) gibi bir dizi etkiden kaynaklanmaktadır [172]. Kanser hücreleri, normal hücrelerle birçok özelliği paylaşır ve bu nedenle, istenen hedef özgüllüğü olmayan maddeler, sağlıklı normal hücreleri de hedefler ve onlara zarar verir, böylece vücutta ters yan etkilere neden olmaktadır. İlaç dağıtımında, ilacın zayıf biyolojik dağılımı, tümör bölgesinde düşük ilaç konsantrasyon seviyelerine neden olabilir. Bu düşük konsantrasyon seviyeleri, doz sınırlayıcı toksik yan etkilerle birlikte ilacın genel terapötik etkinliğini azaltır. NP-CDT'ler, terapötik ve tanısal ajanların dolaşım süresini ve etkinliğini artırabilir. Genel olarak, ilgilenilen madde küçük, hidrofilik bir nanopartiküle bağlanırsa dolaşım süreleri artar. Küçük boyutlar RES tarafından alınma olasılığını azaltırken hidrofiliklik tanı/tedavi edici maddenin genel çözünürlüğünü artırır. Ek olarak, fonksiyonelleştirilmiş nanopartiküller, kanser hücrelerinin yüzeylerinde aşırı eksprese edilen spesifik reseptörleri hedefler ve bu da endositik yollarla ilaç yüklü nanopartiküllerin alımını kolaylaştırır [171]. 2005 yılında FDA (Gıda ve İlaç İdaresi), NP-CDT'lerinterapötik kullanımı için metastatik meme kanserinin

tedavisinde [173] bir paklitaksel yüklü albümin nanoparçacık formülasyonunu onaylamıştır.

3.1 Kanser Biyobelirteçleri İçin Nanoteknolojideki Gelişmeler

Kanser hastalıklarında en önemli ölüm nedenlerinden biri gecikmiş tanı ve tedavidir. Çünkü semptomlar genellikle hastalık ilerlemiş bir aşamaya gelen kadar ortaya çıkmaz. Kanser hastalarının hayatta kalması temel olarak aşağıdakilere bağlıdır:

- Erken dönemde kanserin doğru tespiti,
- Kansere özgü belirteçlere dayalı hedefli tedaviler,
- Bireysel genetik profil rehberleri kişileştirilmiş tıp kanserlerin erken tespiti, invaziv öncesi aşamada (metastazdan önce) kanser teşhisi ve tedavisi ile hastalığın kontrolünü büyük ölçüde etkileyebilir ve böylece başarılı tedavi şansını artırabilir.

Bununla birlikte rahim ağzı kanseri için Papsmear, meme kanseri için mamografi, prostat kanseri için prostat spesifik antijen (PSA) kan testi ve kolon kanseri için kolonoskopi ile takip edilen fekal gizli kan testi(FOBT) gibi geleneksel kanser tarama yöntemleri, aşırı tanı problemleri, bireysel belirteçlerin yetersiz duyarlılığı/ özgüllüğü ve düşük uyum [174] nedeniyle erken evre tespiti için yeterince kesin değildir. Daha yakın zamanlarda, belirli kanserlerin teşhisinde moleküler biyobelirteçlerin kullanımı ortaya çıkmıştır ve klinik uygulamaları için Avrupa Tümör Belirteçleri Grubu (EGTM) Uluslararası Onkoloji ve Biyobelirteçleri Topluluğu (ISOBM) gibi çeşitli kuruluşlar tarafından yayımlanmıştır. Bu kılavuzlar, verilen klinik durumlar için en etkili tümör markörlerini önerir ve ayrıca analitik öncesi, analitik ve analitik sonrası fazlardaki tümör markörü ölçümlerinin gerekliliklerini ve tuzaklarını vurgular. Giderek artan bir şekilde, biyobelirteç tespiti ve etkili kanser tedavisi için yeni analizlerin geliştirilmesi, yeni kanser biyobelirteçlerinin tanımlanmasına büyük ölçüde bağlıdır. Bir kanser biyobelirteç ölçülebilir bir göstergedir. Örneğin, belirli bir moleküler varlığın seviyesi veya aktivitesi, kanser hücrelerinin kendisi tarafından veya kansere cevaben vücut tarafından salgılanmaktadır. Nesnel olarak ölçülebilen ve patojenik bir sürecin veya belirli bir tedaviye farmakolojik yanıtın bir göstergesi olarak değerlendirilebilen, tanımlanabilir özelliklere sahip eşsiz bir moleküler imzaya sahiptir [175,176]. Bu nedenle erken kanser saptamasına vurgu, tümör taramasına genomik, proteomik ve epigenetik imzalar aramak için doku taraması veya kan numuneleri yoluyla kanser biyobelirteçlerinin aranmasına neden olmuştur. Amaç, gelişimin ilk aşamasında

tümörlerin erken saptanmasını sağlamak, hastalığın moleküler tanımını, evreyi ve alt tipini, ilaç metabolizmasının mekanizmalarını ve tedavilere yanıtın güvenliğini ve öngörülmesini anlamamızı sağlar. Birkaç yeni biyoanalitik teknoloji geliştirilmekle ve kanser biyobelirteçlerinin güvenilir ve doğru tespiti için hassasiyet geliştirme alanında büyük çaba sarf edilmektedir. Geleneksel tarama yöntemlerinde sınırlı sayıda yararlı belirteç tarafından ileri sürülen, DNA, RNA, protein ve antikor dizileri gibi yüksek seviyeli platformların araştırılması çok sayıda aday biyobelirteç tanımlamıştır. Bir biyobelirteç paneli, belirli bir neoplazmın öngörücüsü olarak tek bir biyobelirteçten daha umut verici görünür ve seçilen biyobelirteçler bağımsız yollardaki değişiklikleri yansıtmalıdır [109]. Bu arada, tümör ilerlemesi sırasında, normal ve tümör dokularından kanın içine biyobelirteçlerin dökülmesine dayanan bir plazma biyobelirteç kinetiğinin matematiksel bir modeli oluşturulmuştur. Model, bir biyobelirteç tahlilinin dökülme oranının veya tespit limitinin, erken (milimetre altı) tümör tespiti için ne kadar yaygınlaştırılması gerektiğini öngörür [177]. Biyobelirteç temelli erken kanser tespitindeki en büyük zorluklardan bazıları, belli biyobelirteçlerin düşük konsantrasyonlarını içerir, sıklıkla biyobelirteçler kanseri etkili bir şekilde yansıtmaz ve şu anda mevcut biyobelirteçlerin hiçbiri % 100 duyarlılık ve özgüllük sağlayamaz. Giderek artan çabalar, sadece erken kanser teşhisi için yeni, güvenilir, kantitatif veya onaylanmış biyobelirteçlerin keşfedilmesine değil, aynı zamanda ortaya çıkan nanosensör teknolojilerinin daha kolay tespiti için tahlil duyarlılıklarının iyileştirilmesine ve biyobelirteç büyütme sisteminin kurulmasına odaklanır [109].

3.2 Biyomedikal Uygulamalarda Nanoteknoloji İlerlemeler

Nanomalzemeler, benzersiz nanometrik büyüklüğüne dayalı olarak çeşitli alanlarda önemli ve yaygın olarak uygulanabilir kompozitler olarak ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak, nanomalzemeler daha kimyasal olarak reaktiftir ve orijinal büyük ölçekli materyallerden farklı özelliklere sahiptir [178]. Biyomedikal nano-cihazlar, tıpta önemli bir geleceğe sahip olacak şekilde iyi konumlandırılmıştır. Geliştirilmiş hareket hızı, daha fazla hassasiyet ve özgüllük, hem maliyet hem de istiladaki azalma gibi geniş bir avantaj yelpazesine sahiptirler [179,180]. Elde edilen veriler ve çalışmalar NP'ler hastalığın teşhisi, önlenmesi ve tedavisi için potansiyel olarak kullanıldığını göstermektedir. Biyomedikal alanlarındaki yaygın nanoteknoloji uygulamaları Çizelge 3.1'de sunulmuştur. Anti-kanser uygulamaları, geleneksel kanser kemo veya radyoterapi ile çözülemeyen yüksek ölüm oranlarının üstesinden gelmek için kapsamlı

bir şekilde çalışılmaktadır [178]. Çok uzak olmayan bir gelecekte, kanser nanoteknolojisinin disiplinlerarası alanı, daha parlak bir gelecek için bir bakış açısı sağlayan daha etkili, daha az istilacı bir tedavi şekli sunabilir. Böylelikle kanser patogenezinin sorumlu olan moleküler değişiklikler erken tespit edilebilir ve normal hücreler korunurken terapötik maddeler spesifik olarak tümör bölgesine iletilebilir. Bu gelişme, hem algılama hem de tedavi için aynı anda kullanılabilir çok işlevli sistemleri yapacaktır. Ek olarak, in vivo ilaç verimliliği raporuna yönelik araçlar, nano ölçekli cihazlara kadar tasarlanabilir [178]. Aslında, nano hedefli ilaç dağıtımı ve görüntüleme yöntemleri, kansere yaklaşma perspektifimizde devrim yaratmıştır. Kanser seçici ajanlar olarak olağanüstü özellikler seti, kanserin doğası ve ilerleyişinin kapsamlı anlaşılmasının bir göstergesidir [181]. Tümörün gelişmiş penetrasyon ve tutma fenomenleri (EPR), 50-100 nm boyutlarındaki NP'lerle pasif hedefleme teknolojisine izin vermiştir. Bu durumda, nanokompozitler, daha sonra spesifik olarak kanser hücrelerine verilebilecek bir veya daha fazla sinyal/ terapötik madde taşıyacak şekilde tasarlanmıştır bu da gelişmiş algılama ve tedavi ile sonuçlanmıştır. Hedeflenen stratejinin daha da geliştirilmesi için, NP'lerin, seçici olarak tümör hücrelerini hedefleyen antikorlar, lektinler veya peptitler dahil olmak üzere çeşitli ligandlarla fonksiyonel hale getirilmesiyle aktif hedefleme geliştirilir. Aktif hedeflemenin, tümör interstitiumundaki lokal salıverme yerine, nanotaşıyıcının endositoz ve hücre içi ilaç salımı ile içselleştirilmesine bağlı olarak önemli bir anti-tümör etkinliğine sahip olduğu kaydedilmiştir. Tümör alanındaki seçici kontrollü ilaç salımı hem normal dokuya sitotoksiteyi hem de ilaç uygulama sıklığını azaltmıştır. Tümör asidik mikro-ortamı, sıcaklık değişiklikleri ve spesifik analitin varlığı dahil olmak üzere ilaç salımını 'açmak' için çeşitli tetikleyiciler kullanılmaktadır. Ek olarak, polimerik kaplama kullanan gizli parçacık teknolojisi, bağışıklık sistemi görünmeyen zırlı nanotaşıyıcılara sahiptir ve kan dolaşımını, stabilitesini ve biyoyararlanımını uzatmıştır [178]. Bu akıllı tümör seçici strateji, kombinasyon biyosensörleri / ajanları, fototerapinin yanı sıra kombine ve theranostik (hem teşhis hem tedavi için kullanılan) yaklaşımları içerecek şekilde uygulamasını genişletmiştir [182].

Çizelge 3.1 Biyomedikal alanlarda yaygın nanoteknoloji uygulamaları [178]

Uygulama alanı	Yaklaşım
İn vitro diagnostik	POC tanısı, biyosensörler
İn vivo tanı görüntüleme	Ultrason, CT taraması
Doku mühendisliği iskeleleri	Uygun nanomalzeme ve büyüme faktörleri
Kök hücre araştırması	Kök hücrelerin izolasyonu izlenmesi, gruplanması ve ayrımı
Protein ve peptidlerin iletimi	Protein antijenlerinin belirli hastalıkların tedavisi için NP'ler verilmesi
İlaç teslimi	Serbest radikallere bağlanır ve mast hücrelerinin histamin salgılanmasını önler
İlaç dağıtım görselleştirmesi	İzleme ajanları olarak QD'ler
Tıbbi üretim amaçları	Nano modifiyeli antibakteriyel tekstiller
Bağışıklık tepkisi	Serbest radikallere bağlanır ve mast hücrelerinin histamin salgılanmasını önler
Ortopedik uygulamalar	Kemik implantlar

3.2.1 Tümörlerde ilaçların birikmesini ve içselleştirilmesini geliştirmek için nanoteknoloji

Nano taşıyıcılarda kapsüllenen ilaçlar, serbest ilaçlar ile aynı farmakokinetik profillere sahip değildir. Nanomalzemelerin ve nanotaşıyıcıların fiziksel ve kimyasal özellikleri, sistemik uygulamada ilacın biyolojik dağılımını ve farmakokinetiğini belirler. Bu yaklaşım, ilaç biyo-dağılımını değiştirmek için uygun bir strateji sağlar ve hedef bölgeye ilaç dağıtımını artırır. Bir taşıyıcı sistem için istenen bir farmakokinetik profili elde etmek için nanotaşıyıcıların özelliklerini özelleştirmek kolaydır. Örneğin, bir nanotaşıyıcı sisteminin boyutu, yükü, yoğunluğu ve yüzey modifikasyonu, tümör birikimini ve ilaçların hücre içselleştirmesini arttırmak için manipüle edebilir [183].

3.2.1.1 Pasif tümör hedefleme

Katı tümörlerde arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma (EPR) etkisi ilk olarak Matsumura ve Maedatarafından tanıtılmıştır [184]. EPR etkisi, sızan tümör vaskülatörü yoluyla tümör içinde makromoleküllerin veya nanoilaçların difüzyonunu artırabilir. EPR etkisi, zayıf tümör lenfatik drenajına bağlı olarak makro-moleküllerin tümör dokularında daha fazla tutulmasına neden olur. EPR, katı tümörlerde (prostat kanseri veya pankreas

kanseri gibi hipovasküler tümörler hariç) evrensel bir fenomendir. EPR'nin sonucu, bir tümör bölgesinde nispeten daha yüksek nanotaşıyıcıların birikmesidir. Bu birikim pasif tümör hedeflemesi yaratır. Pasif tümör hedeflemede anahtar faktörlerden biri, partikül boyutuyla tümör vaskülatürünün gözenek boyutuyla eşleşmesidir. Her ne kadar anormal tümör vaskülatürüyle ilişkili fenestasyonlar 10 nm ila 100 nm arasında değişebilse de, hücre aralığı kavşakları tümör tipine, maligniteye ve hastalığın evresine bağlıdır [183]. EPR etkisi ayrıca 1000 nm'den büyük bakterilerde de (örneğin *Lactobacillus* sp. ve *Salmonellatyphimurium*) işlev görebilir. 10 nm'den daha küçük parçacıklar üretilebilse de, böbreklerin glomerüllerinde bazal membranları geçebilirler ve kısa bir kan yarı ömrüne yol açarak hızlıca temizlenebilir [185]. EPR etkilerine dayanan in vivo hedefleme uygulaması için 10-100 nm partikül büyüklüğü optimal olabilir [186]. Ne yazık ki, tümör vasküler geçirgenliğinin derecesi ve daha kesin olarak tümör vaskülatürünün gözenek büyüklüğü, nanoilaçların gelişiminin gerisinde kalmaktadır ve katı tümörlerin EPR etkisine dayanan nanoteknoloji ile antitümör ilaçların hedeflenmiş dağıtımını engellemektedir. EPR etkisi, tümör mikro-ortamının özelliklerinden uygun şekilde yararlanılarak artırılabilir. Tümör vaskülatüründe kan basıncı ve akış hacminin düzenlenmesinde hayati bir rol oynayan düz kas tabaksı yoktur. Maeda ve ark., hipertansiyonun indüklenmesinin EPR etkisini artırdığını ve makromoleküler ilaçların verilmesini artırdığını bulmuşlardır [187]. Bağırsaklar, böbrek, karaciğer ve kemik iliği gibi sağlıklı organlara verilen ilaç miktarı azalmıştır, çünkü ilaç yüklü nano-taşıyıcıların ekstravazyonu, vazokonstriksiyon ve endotel aralığı kavşaklarının sıkılması ile bastırılmıştır. Düşük ekstravazyonun bir sonucu, sağlıklı organlardaki ilaçtoksisitesinin azalmasıdır [183].

3.2.1.2 Dolaşım süresini artırmak için 'gizli' nanoteknoloji

EPR etkisi, tümördeki nanoparçacıkların korunmasına yardımcı olmakla birlikte, nano taşıyıcıların ilk önce bir tümörün bölgesine ulaşması için yeterince dolaşımında kalmaları gerekmektedir. Kan akışına girdikten sonra, nanopartiküller konakçı bağışıklık sistemi tarafından tanınabilir. Nanopartiküller böbrek, karaciğer, dalak ve lenf nodlarını içeren retikuloendotelial sistem (RES) ile temizlenir. Nanoparçacıklarınhidrofilik polimerler/ yüzey aktif cisimleri ile modifiye edilmesi veya bunların hidrofilik özelliklere sahip biyobozunur kopolimerlerle (örneğin polietilen glikol (PEG), poli (etilen oksit) (PEO), polioksamer, poloksamin ve Tween 80) blok kopolimerleri ile formüle edilmesi gibi stratejiler parçacık dolaşımını arttırmak için kullanılmaktadır. Bu modifikasyonlar,

mononükleer fagositler [183] ile fagositozu inhibe ederek ve nano-taşıyıcıların RES ile alımını azaltarak pasif hedefli dağıtım sağlayabilir. Hidrofilik polimerler, sıkıca bağlı bir su ağı oluşturarak parçacıkları fagositozdan korur. Bu hidrofilik yüzey, makrofajlar tarafından alınması ve temizlenmesi için gerekli olan partikül tanıma ve etkileşimi önler. PEG'nin moleküler ağırlığı arttıkça, bir nanoparçacık sisteminin sistemik yarı ömrü artar. PEG zincirlerinin moleküler kütlesi 6'dan 50 kDa'ya yükseldiğinde yarı ömür yaklaşık 972 dakika artar [188]. İlginç bir şekilde, PEG'in yapısı da koruyucu etkilerini belirleyebilir. Polimer yoğunluğu arttığında, her polimer ile serbestlik dereceleri arasında boşluk azalır. PEG molekülünün şekli daha sonra 'mantar' dan 'fırça' yapısına dönüştürülür. Fırça benzeri ve ara konfigürasyonlu PEG molekülleri, fagositozu ve kompleman aktivasyonunu azaltır. Buna karşılık, mantar benzeri PEG yapıları güçlü bir şekilde aktive edici kompleman ve fagositozu destekler. PEG ile modifiye edilmiş nanotaşıyıcı sistemlerinin farmakokinetik profilleri, uygulama yolundan da büyük ölçüde etkilenir. Tercih edilen uygulamayoluvasküler enjeksiyondur [189]. Zeta potansiyeli ± 30 mV'un üzerinde olan nanopartiküller, yüzey yükü parçacıkların birikmesini önleyebilmesinden dolayı süspansiyonda stabil olduğu gösterilmiştir. Pozitif bir nanoparçacık yüzey yükü, nano-taşıyıcılarla tümör hücreleri arasında bağlamayı da teşvik edebilir. Örneğin, katyoniklipozomlar genellikle nötr veya anyoniklipozomlardan daha yüksek miktarda hücrenel alım gösterir. Bununla birlikte, katyonik taşıyıcı sistemler, anyonik ve nötr sistemlerden daha hızlı böbrekler tarafından uzaklaştırılır. Katyonik taşıyıcılar, toplanmayla sonuçlanabilecek negatif yüklü serum proteinleriyle güçlü bir elektrostatik etkileşime sahip olabilir [190]. Katyonik taşıyıcıların toplanması, in vivo olarak daha az etkili bir teslimat ve öngörülme farmakokinetik özelliklere neden olur. Bir PEG kabuğunun, parçacıkların yüzeyine eklenmesi, pozitif yükleri koruyabilir ve plazma proteinlerinin bağlanmasını ve bunun sonucunda dolaşımdaki nanoparçacıklarınmakrofajlar tarafından yakalanmasını önleyebilir. Tersine, PEGilasyon, hücre yüzeyine nanoparçacık (NP) bağlanmasını inhibe eder ve pozitif yüzey yükünü azaltarak, kısmen NP'lerinendositozunu azaltır. Bu nedenle, PEGilasyon bir 'PEG ikilemi' olarak adlandırılabilir. PEGilasyonun bu olumsuz etkisi en sonunda, ayrılabilir veya ayrıştırılabilir yüzey koruması uygulanarak giderilebilir. Stratejilerin çoğu, düşük pH ve spesifik endozomal enzimler gibi tümör hücrelerinin eşsiz hücre içi mikro ortamlarından faydalanır [183]. İlginç bir şekilde, PEG'in koruyucu etkisi, MDR'nin hedef tedavisi için pH'a duyarlı bir pop-uppolimerik misel sistemi geliştirmek için kullanılmıştır [191]. TAT (transkripsiyon işlemcisi)

peptidi, 1 ve 2 insan immün yetmezlik virüslerinden (HIV-1 ve HIV-2) türetilen spesifik olmayan bir hücreye nüfus eden bir peptittir. Karmaşık ve tamamıyla anlaşılmayan bir endositik mekanizmaya rağmen, TAT peptidi, aksi takdirde minimal olarak endositozlanmış nanopartiküllerin hücresel içselleştirmesini arttırmak için yaygın olarak kullanılmıştır [192].

3.2.1.3 Aktif tümör hedefleme

Kanser hücreleri ve normal hücreler biyokimyasal ve moleküler makinelerinde ince farklılıklar gösterir. Bu farklılıklardan yararlanan aktif hedefleme, deneysel ve klinik araştırmalarda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bununla birlikte, ilaç bazlı moleküler hedeflemenin son klinik sonuçları biraz hayal kırıklığı yaratmıştır ve sadece % 4-5'lik bir yanıt oranı elde edilmiştir [193]. Seçici hedefleme için immüno-konjüгатlar oluşturmak üzere ilaçlara monoklonal antikorlar gibi ligandların eklenmesi, farmakolojik hareketi ve ilacın in vivo kaderini olumsuz etkileyebilir. Hayal kırıklığı yaratan sonuçlar için bir başka açıklama, aktif ilacın (veya proteinler, enzimler veya nükleik asitlerin), kanser dokularında süperoksit anyon radikal, hidrojen peroksit, NO, ONOO⁻ ve hipoklorit gibi endojen serbest radikallere maruz kaldığında etkisiz hale getirilmiş veya modifiye edilmiş olmasıdır [193]. EPR etkisi kullanılarak, bağlı tümör seçici ligandlara sahip olan ilaç yüklü NP dağıtım sistemleri, kargonun farmakolojik etkisini değiştirmeden daha fazla seçicilik sağlamıştır [194]. Bu sistem, aktif ilaçların endojen radikaller tarafından etkisiz hale gelmesini veya modifiye edilmesini önlemiştir. Aktif hedefleme, yalnızca EPR etkisini kullanan 'pasif hedeflemeden' farklıdır. Bununla birlikte, aktif hedefleme pasif hedeflemeden tamamen ayrılamaz çünkü aktif hedefleme ancak tümörlerin içindeki partiküllerin pasif birikmesinden sonra gerçekleşir [192]. Genel teori, nano taşıyıcılarda ligandların varlığının, taşıyıcıları tümöre yönlendirmeye yardımcı olduğu ve bir tümörde nano taşıyıcı birikimini önemli ölçüde artırdığı yönünde olmuştur. Bununla birlikte, Bartlett ve ark. ve Kirpotion ve ark. [183], artmış tümör birikimi yerine artmış hücresel içselleşmenin, aktif hedefleme nanotaşıyıcılarının antitümoral etkinliğinden sorumlu olduğunu göstermişlerdir. Tümör stromasındaki nano taşıyıcıların denge konsantrasyonu, kan basıncı, tümör stoğundaki interstisyel sıvı basıncı, vaskülatördeki ozmotik basınç ve tümör stoması, nano-taşıyıcıların konsantrasyon gradyanı, nano-taşıyıcıların tümör hücreleri tarafından içselleştirilmesi ve EPR etkisi etkileyebilecek diğer konular gibi birçok faktörün dengesinden kaynaklanır. Bu faktörler iki basit kategoriye ayrılabilir: tümör

hücrelerinin nano-taşıyıcıların içselleştirilmesi gibi tümör lokalizasyonunu arttıranlar ve tümör stomanın yüksek interstisyel sıvı basıncı gibi tümörlerdeki nano-taşıyıcıların birikimini zayıflatanlar. Bu tümör içindeki partikül lokalizasyonu, bu iki meselenin dinamik dengesinden kaynaklanır. Yüksek interstisyel sıvı basıncı, nano taşıyıcıların tümör dokusuna girmesini ve ilaçların tümör hücresine ‘aktif hedefleme’ yapmasını önler. Bu nedenle aktif hedefleme nanoparçacıkların, in vivo olarak tümöre lokalize edilmesinde pasif hedefleme nanoparçacıkları kadar güçlük çeker. Lokalize nano-taşıyıcılar, tümör hücresi veya tümör stromasındaki diğer hücreler tarafından hızlı bir şekilde içselleştirilebilirse, nano-taşıyıcılar sürekli olarak tümör mikro-ortamına sızabilir [183]. Spesifik olmayan endositozda ortaya çıkan hızlı doyma fenomeni, aktif endositoz sırasında daha az olasıdır çünkü reseptörler hızlı bir şekilde hücre zarına geri dönüştürülür. Aktif endositoz, tümörde nano-taşıyıcıların birikmesine neden olan bir nano taşıyıcı sızıntı pompasıdır. Tümör hücrelerindeki nano taşıyıcıların aktif endositozu, bu hücrelerin etkili bir şekilde öldürülmesine neden olur. Bu, kan damarlarının etrafındaki taşıma direncini azaltabilir ve nano-taşıyıcıların tümör dokusuna daha derine taşınmasına olanak sağlayabilir. Taşınan artış, daha fazla gelişmiş parçacık lokalizasyonu ile sonuçlanır. Ancak, eğer ‘fonksiyonelleşmiş nano-taşıyıcılar’ verimli ve hızlı bir şekilde taşınmazlarsa, ekstrasvazasyonun ardından, sızıntı yapan kan damarlarının yakınında, tümörlerin derinliklerine göç etmek yerine birikeceklerdir. Bu yol bloğu etkisi, tümör bölgelerinde taşıyıcıların ilave birikmesini engelleyebilir [195]. Bununla birlikte, ‘embolus’ un distal ucunda, nano-taşıyıcıların aktif içselleştirmesi hala gerçekleşir. Bu iki işlemin birleştirilmesi, tümörde nano-taşıyıcı birikimini arttırmadan içselleştirmeyi geliştirir [183]. Başka bir deyişle, aktif endositoz, tümör dokularındaki nano-taşıyıcıların konsantrasyonunu veya tümör lokalizasyonunu belirlemede çok önemli olabilir.

3.2.1.4 Uyarıcılara duyarlı hücre içi salınım için nanoteknoloji

Etkin hedefleme, örneğin etkinlik artışı gibi faydalar olsada, aktif hedefleme stratejileri, antijenlerin, karbonhidratların ve reseptörlerin bazal ekspresyonu nedeniyle hastalıklı olmayan hücrelerde yüksek oranda nanotaşıyıcı birikimine neden olabilir. Lokalize ilaç salımı elde etmenin alternatif bir yaklaşımı, uyarıcılara duyarlı formülasyonlar kullanmaktır. Uyarıcıya cevap veren geçit tutma kavramı, pH ve fiziksel kuvvetler (örneğin, manyetik alanlar, ultrason, hipetermi veya ışık) dahil olmak üzere uyarıcılarla ilaç salımını düzenleme ve kontrol etme aracı olarak tanıtılmıştır. Bu

teknoloji, MDR'nin üstesinden gelmek için nano-sistemlerin aktivasyonuna odaklanmasına ve tetiklenmesine yardımcı olabilir [183].

3.3 Tümör İlaç Direncinin Mekanizması: Efflux Taşıyıcıları

Kanser tanı ve tedavisinde büyük ilerlemelere rağmen, ilaç direnci ve tümör nüksü gelişimi sıklıkla görülür. Tümör hücreleri, çoklu mekanizmalarla ölümden kaçarken, akış taşıyıcılarının ekspresyonu, önemli bir ilaç direnci kaynağıdır. Tümör hücreleri doğal olarak ya akış taşıyıcılarını eksprese eder ya da kemoterapiye cevap olarak ekspresyonlarını yükseltir. Efflux taşıyıcılar, çok çeşitli substratları hücrelerden aktif olarak temizleyebilir. Bu, sub-optimal hücre içi ilaç konsantrasyonları ve etkinlik eksikliği ile sonuçlanır [196]. Tümörlerde akış taşıyıcılarının inhibe edilmesine yönelik birkaç çaba gösterilmiştir. Birçok küçük moleküllü akış önleyici, klinikte kemoterapötiklerle kombinasyon halinde test edilmiştir. Bununla birlikte, elverişsiz farmakokinetik ve önemli doz sınırlayıcı toksisiteler ilerlemelerini engellemiştir. Kemoterapötik ve akış inhibitörünün NP'ler içinde birlikte uygulanması, bu moleküllerin geçici olarak ortak lokalizasyonuna izin verebilir, spesifik olmayan dağılımlarını sınırlandırır ve dolayısıyla toksisitelerinde [197]. Bununla birlikte, NP bazlı tedavilerin başarılı olması için NP'ler tümör hücrelerine verimli bir şekilde taşınması esastır. Tümörler yetersiz kan temini ve yüksek interstisyel sıvı basıncı (IFP) ile karakterizedir [198]. Sonuç olarak, tümör içinde taşınma engellenir. Kemoterapötiklerin çoğunun hücre içi hedefleri vardır. Bu nedenle, tümör hücrelerini öldürmek için birçok antikanser ilacı hücre içinde yeterli konsantrasyonlarda birikir. Yeterli hücre içi ilaç konsantrasyonlarına ulaşılmasındaki en büyük engel, tümör hücre zarı üzerindeki akış çizgisi proteinlerinin varlığıdır [196]. İlaç akışı pompaları, ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıları adı verilen bir taşıyıcı ailesine aittir. ABC taşıyıcıları, proteinlerin en büyük üst ailesinden biridir. İnsan genomu 48 ABC proteini kodlar. Bunlar, 7 alt aileye, ABC A-G'e bölünmüş 20 taşıyıcı protein içerir. Önemli ve iyi çalışılmış taşıyıcıların bazıları, ABCB 1 [P-glikoprotein (P-gp)], çok ilaca dirençli protein 1 (MDR1), ABCC 1-3 (çok ilaca direnç ile ilişkili protein (MRP) 1.3) ve ABCG2 (meme kanseri direnç proteini (BCRP)). 1983 yılında Kartner ve ark. ilk önce tümör hücrelerinde P-gp'nin ekspresyonunun artması ile ilaç direncinin gelişmesi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuşlardır. Bunu MDR1 cDNA'nın sırasını ve iki bakteri taşıyıcısının homolojisini tanımlayan Chen ve ark. takip etmiştir, böylece ABC taşıyıcı ailesinin ilk üyesini tanımlamışlardır. Ueda ve ark. insan MDR1 geni için tam uzunlukta

bir cDNA ifadesinin, tümör hücrelerinde ilaç direnci sağladığını ve MDR1 geninin ilaç direncindeki rolünü doğruladığını göstermişlerdir [199]. Daha sonra, P-gp seviyelerinin yükselmesi olmayan bazı tümör hücrelerinin aktif olarak ilaç akışını da sağlayabileceği keşfedildi. Bu, MRP1'in keşfedilmesine yol açmıştır [196]. O zamandan beri, ek taşıyıcılar tespit edilmiştir ve ilaç taşımacılığındaki rolleri araştırılmıştır. Bunlardan P-gp, ilaca dirençli tümörlerde en tutarlı şekilde aşırı eksprese edilen taşıyıcılardan biridir [200]. Normal fizyolojik koşullar altında bile, akış taşıyıcıları vücutta geniş ölçüde eksprese edilir [201]. Örneğin, P-gp, BCRP ve MRP2, akciğer, testis, plasenta ve beyin apikal taraflarında yüksek oranda eksprese edilir. Bu taşıyıcılar, önemli organları toksiksenobiyotiklerden koruyan korkunç bir bariyer oluşturur. Sonuç olarak, bu taşıyıcılar ilaçların emilimini, dağılımını, metabolizmasını ve atılımını değiştirmede anahtar rol oynar [196].

3.4 Dolaşımdaki Tümör Hücrelerini Tespit Etmek İçin Nanoteknoloji

Genellikle, metastaz, kanseri en önemli klinik göstergesi olarak kabul edilir ve kansere bağlı ölümlerin %90'ı doğrudan metastaz ile ilişkilidir. Metastatik işlem, primer tümörden gelen habis hücrelerin ilk önce bazal membranı istila ettiği, ardından doğrudan bir kan damarı yoluyla veya dolaylı olarak bir lenf damarı yoluyla metastaz oluşturmak üzere uzak bölgelere yayılması için sirküle olan karmaşık bir olaylar dizisidir [202]. Bu nedenle, nadir hücrelerin periferik kandan alınması farklı kanserlerin anlaşılmasını ve tedavisini ilerletme potansiyeline sahiptir. Dolaşımdaki tümör hücreleri (CTC'ler), dolaşım sistemine primer tümörden dökülen nadir bir hücrenin bir örneğidir ve daha sonraki metastaz gelişimin temelidir. CTC'ler metastatik süreçte önemli bir faktör olarak kabul edilir. Metastazı geliştirmek için primer kanser dokularından kan dolaşımına göç eden malign hücrelerdir [203-205]. CTC'ler tam kanda çok nadir olsa da, kolon, karaciğer, pankreas ve prostat kanseri gibi hemen hemen her türlü kanseri olan hastalarda bulunurlar. İlerlemiş hastalıkları olan hastalarda bile, CTC'lerin kanda çok nadir görülür ve bunların izolasyonunda önemli teknik zorluklar olduğu ve CTC'lerin gerçek zamanlı bir sıvı biyopsi olarak kullanılması son yıllarda önemli bir ilgi görmüştür [202]. Bu nedenle, bu nadir CTC'lerin milyarlarca kan hücresinden izole edilmesi, son zamanlara kadar zor olmuştur. CTC'ler periferik kanda nadir olduğundan ve heterojen ve toplayıcı olduklarından izolasyonları büyük bir engel haline gelmiştir. Günümüzde nanoteknoloji, kanser teşhisi ve tedavi yöntemi üzerinde önemli bir etki yaratmaktadır; CTC'lerin eş zamanlı tespiti ve tedavisi için nano ölçekli cihazların

geliştirilmesinde [206]. Birçok inceleme, nanoteknoloji uygulamaları ile elde edilen CTC tespitindeki son gelişmeler hakkında bilgi sağlamıştır [202]. Wu ve ark. tarafından, kandaki CTC'lerin doğrudan tespiti için yüzey zenginleştirilmiş Raman saçılımı (SERS) nanopartikülleri geliştirmişlerdir. Optimize edilmiş deneysel koşullar altında, bu SERS nano-parçacıkları, tavşan kanındaki kanser hücrelerinin doğrudan tespiti için etkin performans sergilemiştir. SERS yoğunluğu ile kanser hücrelerinin konsantrasyonu arasında iyi bir doğrusal ilişki elde edildi, bu SERS nano-partiküllerinin kandaki kanser hücrelerinin kantitatif analizi için kullanılabileceğini göstermiştir. Sonuçlar, SERS nano-parçacıklarının, kandaki CTC'lerin mükemmel özgüllük ve yüksek hassasiyet ile doğrudan tespiti için kullanılabileceğini güçlendirmiştir [202]. Li ve ark. çeşitli spesifik hücre yüzeyi işaretleyicileri için antikorlarla konjuge edilmiş biyolojik olarak parçalanabilen nano filmler ile modifiye edilmiş mikro-akışkan HbCTC yongalarını (balıksırtı yongası) kullanılarak CTC'lerin yakalanması ve invazif olmayan şekilde salınması için yeni bir yaklaşım ortaya koymuşlardır [207]. HbCTC'çipleri, hem çivili prostat kanseri hücreleri hem de değişken epitel hücre adezyo molekülü (EpCAM) yüzey markerlerinin ifadesiyle kanser hücre çizgilerinin karışımı için %80 yakalama verimi ve % 95 salım verimi göstermiştir [202]. Başka bir çalışmada Min ve ark. kuantum noktaları ve manyetik boncuklar kullanarak etkili yakalama ve CTC'lerin basit bir şekilde nicelendirilmesi için bir strateji geliştirmişlerdir [208]. CTC'lerin hedeflenmesi ve miktar tayini için Anti-EpCAM antikor konjuge kuantum noktaları kullanmışlardır ve kuantum-noktaya bağlı CTC'ler, anti-IgG ile modifiye edilmiş manyetik boncuklar kullanılarak izole edilmiştir. Bu yaklaşım, kuantum noktalarının floresan yoğunluğuna bağlı olarak yakalanan CTC'lerin basit bir şekilde nicelendirilmesini mümkün kılan yaklaşık %70-% 80'lik bir yakalama verimliliği ile gösterilmiştir.

3.5 Kanser Metastazı Tedavisi İçin Nanoteknoloji Tabanlı İlaç Tasarımı

Kanser, dünya çapında önde gelen ölüm nedeni olmaya devam etmektedir [209]. Kanser metastazı, kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %90'ına atfedilir [210]. Her ne kadar immünoterapi, termal tedavi, fototerapi ve gen terapisi kanser tedavisi yöntemleri olarak mevcut olsada, her biri kendi sınırlamaları olan birçok kanser için terapötik seçenekler olmaya devam etmektedir. Cerrahi ve radyasyon tedavisi primer tümör için etkili olabilir, ancak metastazlar için iyi bir tedavi seçeneği olmayabilir. Sitotoksik ajanlarla kemoterapi, tekrarlayan hastalığın tüm vücut tedavisi için yaygın olarak kullanılır.

Ancak geleneksel antikanser ilaçları genellikle klinikte ciddi yan etkilere neden olur. Yan etkiler, ilacın zayıf suda çözünürlüğü, spesifik olmayan dağılım, normal hücrelere ciddi toksisite, tümörlerde veya kanserli hücrelerde yetersiz ilaç konsantrasyonları ve birçok ilaca direnç gelişimi nedeniyle formülasyonla ilişkilidir [209]. Bu nedenle araştırmacılar, sürekli olarak normal dokular üzerinde en az yan etki ile tümör hücrelerini hedef alabilen gelişmiş anti-kanser tedavileri aramaktadırlar. Nanoteknoloji, nano (10⁻⁹) boyut aralığındaki malzemelerin anlaşılmasıdır ve bu çerçevede malzemelerin görüntülenmesi, ölçülmesi, modellenmesi ve manipüle edilmesini içerir. Bulduğundan beri, nanoteknoloji çok çeşitli tıbbi ürünlerde, jenerik aletlerde ve biyoteknolojik ekipmanlarında devrim yaratmıştır. Nanotıp, hastalığın teşhisi, önlenmesi, tespiti ve tedavisi için tıpta nanoteknolojinin uygulanmasına odaklanır. Özellikle, terapötik ilaçları yaralanma bölgelerine veya spesifik hücrelere güvenli bir şekilde iletebilecek olan hedefli ilaç dağıtım sisteminin (TDDS) tasarımı ve geliştirilmesi için kullanılmıştır [211]. Onkoloji alanında, TDDS, (1) çözünürlüğün artırılması için klinik formülasyonun yan etkilerinden kaçınılması, (2) sıkışmış olan terapötik ilacın bozulmasının önlenmesi, (3) ilacın arttırılması için farmakokinetik ve doku dağılım profilinin değiştirilmesi, (4) normal hücrelere toksisitenin azaltılması ve (5) kanser hücrelerinde hücre alımının ve içselleşmenin arttırılması gibi birçok potansiyel yarar sunmaktadır. Kanser tedavisi için ilaç verme sistemleri (DDS'ler) olarak kullanılmasının yanı sıra, görüntüleme ajanları ile yüklü nanopartiküller de tümör teşhisi için uygulanan görüntüleme tekniklerinde yararlı bulunmuştur [212].

3.6 Nanoteknoloji Temelli Kemoterapi ve Moleküler Kanser Tedavisi

Yaşam bilimlerinde nanobilim ve nanoteknoloji ile ilgili disiplinlerarası teorik ve deneysel sonuçlar, batı dünyasında önde gelen bir ölüm nedeni olan kanser gibi hastalıkların teşhisini, izlenmesini, önlenmesini ve tedavisini destekler [213]. Geleneksel kemoterapinin bazı kanser türleri için düşük etkinliği vardır ve sağlıklı dokularda ciddi olumsuz etkiler yaratma eğilimindedir [214]. Nanoteknolojinin tıpta ortaya çıkışı hayati bir teknolojik değişim, onkoloji ve diğer alanlarda bir devrim yaratmıştır. Bibliometrics, nanoteknolojinin yeni ortaya çıkan alanlarını araştırmak için önemli bir yaklaşımdır. Aslında, yayınlara dayanan bazı çalışmalar, nanoteknoloji araştırma modellerinin, temel olarak kimya, tıp ve mühendislik araştırma alanlarında yeni teknolojik yörüngeler oluşturan, farklı bilimsel alanlar arasında yayıldığını gösterir. No ve Park, patent atıflarını kullanarak, biyoteknoloji ve nanoteknoloji arasındaki

etkileşimin, nano-biyotıpta gelecekteki kalıplar için önemli sinyaller sağlayabileceğini savunur. İnovasyon ekonomisi ve teknolojik öngörü alanında analiz edilmeye hak eden ilginç bir problem, onkolojideki çığır açan anti-kanser tedavilerine dayanan teknolojik yörüngelerin yol gösteren yönlerinin nasıl belirleneceğidir. Bu ana konuyu, aşağıdakileri tespit etmek ve analiz etmek için bibliyometriklerin belirttiği kritik değişkenler ve ağlara dayanan bir yaklaşımla karşı karşıyayız:

- Yeni teknolojik yörüngeler ve nano-teknolojiye dayalı yeni ilaç dağıtım sistemleri tarafından uygulanan önemli antikanser tedavilerinin (kemoterapi ajanları, hedef tedaviler ve kemopreventif maddeler) yönelimleri,
- Nanoteknoloji ve farklı kanserler kullanan yeni ilaç verme sistemlerine dayanan antikanser tedavileri arasındaki hayati ilişkiler,
- Kanserleri tedavi etmek için nanoteknoloji uygulamalarında en iyi performans gösteren ülkeler ve nano-teknolojiye dayanan yeni ilaç dağıtım sistemleriyle belirli kanserleri tedavi etme konusundaki uzmanlıkları.

Ulusal Kanser Enstitüsü'nün nanoteknoloji stratejisi, yeni ilaç dağıtım sistemlerine dayanan antikanser tedavilerine, nanoteknoloji uygulamalarında multidisipliner araştırmacıları desteklemek amacıyla 2004 yılında başlamıştır [215]. Nitekim, nanoteknolojinin ortaya çıkışı, ilaç dağıtımının ileri düzey kanser tedavileri ile onkoloji gibi birçok alanda devrim yaratacak harika bir vaaddir. Buna paralel olarak, biyomedikal ve nano-ilaçlara yönelik Ar-Ge yatırımları 2000'li yılların başından bu yanaüssel bir büyüme yaşamıştır [216]. Ayrıca, ilaç şirketleri, çığır açan antikansertedavilerinin ilaç keşif sürecini geliştirmek ve hızlandırmak için biyoteknolojik firmalarıyla stratejik ittifaklar ve ortaklıklar kurmuşlardır [214]. Thomas ve ark. kanser araştırmalarında yer alan nanomalzemelerin altında yatan bilgiyi temsil etmek için kanser nano-teknolojisi araştırmaları için nano-parçacık ontolojisini tartışmaktadırlar. Hayat, bilimsel alanların (örneğin, Genetik, genomik, proteomik vb.) yakınsamaları yenilikçi antikanser tedavilerini ve onkolojideki bir devrimi destekler. Nanoparçacık, kuantum noktaları ve karbon nanotüp gibi antikanser tedavileri desteklemek için biyotıpta uygulananbirçoknanoteknoloji vardır [217]. Gao ve ark. nano-ilaçların, hedeflenen bir ilaç dağıtım sistemine dayanarak, kanser metastazı tedavilerinin etkinliğini önemli ölçüde geliştirdiğini göstermişlerdir. Bu nedenle, nanoteknoloji temelli yaklaşımlar erken evre tanı ve yüksek mortalite oranına sahip

gelişmiş kanser tedavileri için umut verici bir araştırma alanıdır. Genel olarak, kanseler aşağıdaki maddelerle tedavi edilebilirler:

- a) Kanser hücrelerini yok etmek için sitotoksik anti-neoplastik ilaçlar olan kemoterapi ajanlar,
- b) Hedeflenen kanser tedavileri; tümör büyümesi ve ilerlemesinde rol oynayan belirli moleküllere müdahale ederek kanser büyümesini ve yayılmasını engelleyen ilaçlar veya diğer maddeler,
- c) Östrojen hormonunun memedeki etkilerini engelleyen, tamoksifen gibi anti-östrojen tedavisi,
- d) Kanser siRNA tedavisi (siRNA, antikorlardan önemli ölçüde daha iyi görünmektedir, çünkü hücre içi faktörler ve hatta transkripsiyon faktörleri dahil olmak üzere herhangi bir terapötik hedefe kolayca uygulanabilir. Gen ekspresyonunun siRNA inhibitörlerinin seçiciliği, hedeflenen kanser terapötiklerini iyileştirebilir, ancak sistematik uygulama ve yayılmış metastatik lezyonlara hedefli dağıtım için araçlar gereklidir [218].
- e) Kurkumingibikemopreventif maddeler [214].

3.7 Nanoteknoloji ile Daha Etkili Kanser Aşıları Oluşturmak

Kanser aşıları alanındaki iki önemli zorluk-spesifik immün hücre popülasyonlarının hedeflenmesi ve bu hücelere antijen ve adjuvan verilmesi- nanoteknoloji tabanlı yaklaşımlar için çok uygun problemlerdir. Diğer kanser ilaç dağıtım uygulamalarında, ilaç dolaşım sürelerini uzatmak için MPS ile ilaç taşıyan nano-partiküllerin temizlenmesinden kaçınılması gerekirken, DC'ler ve diğer antijen sunan hücreler tarafından antijen taşıyan nano-partiküllerin etkili bir şekilde alınması, aşı uygulamalarında arzu edilen bir özellik haline gelir. Gelişmiş aşılamaya stratejilerini mümkün kılmak için nano-parçacık sistemleri, bağışıklık eğitimi için DC'lere, aşı sağlamadaki fizyolojik engellerin üstesinden gelmek ve optimal bağışıklık yanıtlarının uyarılması ve kombinatoryal yükleri taşımak için tasarlanabilir [219]. Bu stratejilerin birçoğu, Sipuleucel-T gibi DC bazlı kanser aşılarını geliştirmek için de kullanılabilir [70]. Bazı araştırmacılar daha küçük nano-parçacıkların (30-50 nm hidrodinamik boyutta) subkutan enjeksiyondan sonra lenfatik damarlardan lenf nodlarına hızlı bir şekilde geçtiklerini belirlerken, daha büyük olanları (100 nm'ye eşit veya 100 nm'den büyük bir hidrodinamik boyutta) enjeksiyon bölgesinin hücre dışı matrisinde kalmışlardır [70]. Bu yüzden 50 nm altı nano-parçacıklar sıklıkla lenf nodu yerleşik APC'leri hedef almak için aşı adayları olarak kullanılır. Özellikle, tümör boşaltan lenf

düğümleri, immüno-terapötik uyarınları takiben yeniden aktive olabılen, immün baskılanmış, antıjen deneyimli T hücrelerini içerır. Jeanbart ve ark. nano-parçacık aşıllarını tümör boşaltan lenf düğümlerıne uygulamanın, tümör boşalmayan düğümlerı hedeflemekten daha etkili olduğunu ve nano-parçacık aracılı antıjen ve adjuvan verılması gerektiğini bulmuşlardır [70]. Kranz ve ark. Lenfoid organları hedeflemek için bir mRNA kanser aşısı verme sistemini optimize etmişlerdir ve 200-400 nm in çapındaki nötr veya hafif negatif RNA-lipit lipoplekslerinin, fare modellerinde özel splenik ekspresyon, dendritik hücre alımı ve arttırılmış anti-tümör etkinliği gösterdiğini bulmuşlardır [291]. Çalışma ayrıca Faz I çalışmasında test edilen hastalarda antıjene spesifik yanıtları da ortaya koymuştur [220]. Nanoteknolojinin aşılların mühendislik nanoparçacık büyüklüğü ile nasıl faydalanabileceğinin bir başka örneği, Moon ve ark. tarafından tasarlanan ara katmanlar arası çapraz bağlanmış çok hücreli veziküllerden gelir. Bu kavram çekirdek partikülün çoklu tabakları arasında bir protein antıjeninin kapsüllenmesine, partikül yüzeyinde antıjenin maruz kalmasına ve çeşitli immünomodülatör ajanların birlikte verilmesine izin verir. Bu tasarım APC'lerin hem enjeksiyon bölgesinde hem de yerleşik lenf düğümlerinde çok aşamalı partikül çözünmesi ve çeşitli büyüklüklere bağlı antıjen verme mekanizmalarının bağlanması yoluyla uyarılmasını sağlamıştır. Sonuç olarak, ICMV'ler geleneksel aşılardan daha büyük ve daha uzun süreli humoralimmün yanıtı uyarımıştır [221-222]. Kanser aşıllarının lenfoid organlara başarılı bir şekilde hedeflemesi bu nedenle araç tasarımı ve uygulama yolunu içeren çeşitli stratejilerle gerçekleştirilebilir. Birkaç grup, negatif yüzey yükündeki artışla, nanopartikül aşıllarının, subkutan enjeksiyondan sonra lenf bezlerine daha etkili bir şekilde alındığını göstermiştir [70].

4. GRAFEN

Grafen ilk olarak 2004 yılında yapışkan bant ve bir kalem kullanılarak tek bir grafen tabakası soyularak hazırlanmıştır [223]. 2004 yılında izole edilmiş olmasına rağmen, tek atomlu bir aromatik kristal olan grafen, 2010 yılında Fizikte Nobel Ödülü'nün Andre Geim ve Konstantin Novoselov'a duyurulmasıyla materyal biliminin ilgi odağı haline gelmiştir [143]. İki boyutlu, tek atom kalınlığında olması ve kuvvetli bağ yapısı ile eşsiz moleküler bir yapı olan grafen, çok iyi elektrik, elektrokimyasal, optik, termal ve mekanik özelliklere sahiptir [224]. Bunun için tek katmanlı nano-yapı olan grafen bazlı nano-taşıyıcılar, yüklerin sistemik, hedefe yönelik ve lokal dağılımını yapabilmeleri nedeniyle popülerlik kazanmışlardır. Grafen, küresel yapılara (0-D fullerenes), tüp yapılarına (tek boyutlu karbon nano-tüpler, (1-D CNT'ler) veya katmanlı yapılara (3-D) dönüştürülebilir. Bu özellikler grafenin bir uygulama yelpazesi için ideal bir materyal olarak kabul edilmesini sağlamıştır [225]. Bunlardan antibakteriyel aktivite, hipertermi, inorganik bileşenler, DNA/ RNA ekstraksiyonu [225], bakteriyel inhibisyonu, termal ve elektrik iletkenliğinde, nanokompozitleri güçlendirmede, saydam iletken filmlerde, ultra ince karbon filmlerde, elektronik devrelerde, sensörlerde (kimyasal ve biyo-sensörler), ilaç ve gen salınım araçlarında, ağır metalleri ayırtmada, nano-elektronikte, ekranlar için saydam ve esnek elektrotlarda, enerji depolama cihazları gibi karbon tabanlı malzemelerde yaygın olarak kullanılmaktadır [224]. Geim, Novoselov ve arkadaşları yapışkan selobantı grafit üzerinde tekrar tekrar yapıştırıp kaldırarak tek katmanlı grafen yapı elde etmişlerdir [226]. Grafen elde etme yöntemleri; kaydırma yöntemi, epitaksiyal büyüme yöntemi, silisyum karbon yöntemi, mikro-mekanik soyulma, kimyasal buhar biriktirme (CVD), kimyasal ayırma yöntemi en yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. Farklı yapılarda, fonksiyonel özelliklerde ve boyutlarda grafen materyallerinin geliştirilmesi, özellikle polimer kompozit çalışmalarında farklı uygulamalar için ilgi alanı oluşturmaktadır. Grafen yüzeyinde bulunan polar gruplar, polimer matrisler ile uyumluluğu geliştirir. Oksidasyon yöntemi ile elde edilen grafen türevleri, grafen tabanlı materyal / kompozit üretiminde fonksiyonel gruplar sebebiyle bağ yaparak yüzey oluşumuna daha uygundur [224]. Bu sebepten polietilen glikol (PEG), polietilen (PE), poliüretan (PU), polimetilmetakrilat (PMMA), polivinilalkol (PVA), polibütülen süksinat (PBS), polipropilen (PP), poliakrilonitril (PAN), termopoliüretan (TPU), poliamid 6 (PA6) gibi farklı polimerler ile nanokompozitleri güçlendirme amaçlı birçok çalışma yapılmıştır.

Kimyasal yöntemle üretilen grafen örnekleri kimyasal olarak modifiye grafen (CMG) olarak da adlandırılmaktadır [224]. 2004 yılında grafen izolasyonundan buna yana, malzemenin potansiyel kullanımları hızla genişlemiş ve çok çeşitli biyomedikal uygulamalar için önerilmiştir.

4.1 Grafenin Özellikleri

4.1.1 Grafenin fizikokimyasal özellikleri

Grafenin bir atom-katman ve petek yapısı, delokalize bir elektron ağına katkıda bulunan, serbest elektronlara sahip olan her bir karbon atomu ile σ bağları ile birbirine bağlanan iki eşdeğer alt kafeslerden oluşur; p-orbitalin geri kalanı, diğer bitişik karbon atomlarına sahip bir konjuge sistem oluşturur. Her karbon atomu üç diğer karbon atomuna bağlanmıştır. C /C bağ uzunluğu 120° 'lik bir bağ açısı ile 1.42 \AA 'dır. Bu konjuge sistemde, her bir karbon atomu bir p-elektron sağlar. Bu nedenle, grafenin karbon iskeleti, iskeletin üstünde ve altında eşleştirilmiş elektron bulutlarına sahip σ -bağlarından yapılmıştır. Yapışma formülü, benzen yapısındakine özdeştir [227]. Bu nedenle, grafen muazzam bir polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) olarak kabul edilebilir. Grafen özel yapısı benzersiz özelliklere izin verir. Grafen bir PAH'inkine benzer bir yapıya sahiptir. Bu nedenle, grafen muhtemelen grafit ve PAH'ların özelliklerine sahiptir. Bu benzersiz özellikler çeşitli alanlarda kullanılabilir [228]. Serbest elektronlar, grafen 2D düzleminin üstünde ve altında yüksek elektron yoğunluğu sağlar [223]. Bu serbest elektronlar, birkaç organik bileşiğin sınır moleküler orbitalleri ile kolaylıkla etkileşime girer ve nükleofilik ikame ile karşılaştırıldığında elektrofilik ikameyi daha kolay hale getirir. Bu serbest elektronlar, birkaç organik bileşiğin sınır moleküler orbitalleri ile kolaylıkla etkileşime girer ve nükleofilik ikame ile karşılaştırıldığında elektrofilik ikameyi daha kolay hale getirir. Bozulmamış grafen doğada hidrofobiktir ve su temas açısı $95\text{--}100^\circ$ arasındadır [229]. Grafenin eşsiz düzlemsel 2D yapısı, yüksek özgül yüzey alanı ve serbest elektronlara sahip olması gibi fizikokimyasal özellikleri, organik moleküller ile etkileşim için iyi bir adaydır ve ilaç dağıtım da geniş bir şekilde araştırma konusudur.

4.1.2 Grafenin biyolojik özellikleri

Farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olan grafen aile nanomalzemelerinin varlığı göz önüne alındığında, bunların, katman sayısı, boyutlar, kimyasal fonksiyonizasyon, hidrofilitate vb. sayısına bağlı olarak biyomoleküller, hücreler ve dokular ile benzersiz

etkileşim modları sergileyecekleri beklenir. Bu etkileşimlerin anlaşılması önemlidir ve iki bakış açısı vardır, biri biyomedikal uygulamalar ve diğeri toksisite ve biyouyumluluk. Grafen bazlı materyaller, DNA ve RNA ile benzersiz etkileşimler gösterir [230]. DNA ve RNA ile etkileşime karşı, grafenlerin proteinlerle etkileşimi konusunda en az veri mevcuttur. Kaba taneli moleküler dinamik simülasyonlar, Titov ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada grafenin lipitlerle stabil ve fonksiyonel hibrit yapıları oluşturduğunu göstermişlerdir. Bu tür çalışmalar, grafenin hücre zarındaki lipit iki katman ile etkileşimini anlamak için önemli olacaktır. Grafen ve diğerkarbon bazlı materyaller, potansiyel akciğertoksitesisi ve çevresel tehlikeler için biyo-bozunmaya yol açmaya neden olan faktörlerdir. Tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNTler) biyolojik bozulma göstermez. Bununla birlikte karboksilatlıSWCNT'ler hidrojen peroksit ve yaban turpu peroksidazına ya da hipoklorite ve memeli miyeloperoksidaza maruz kaldığında bozulmaya uğrayabilir [231].

4.1.3 Grafenin termal ve elektriksel özellikleri

Grafenin benzersiz yapısı ve güçlü C/C bağlaması, düşük termal genleşme katsayısı ile mükemmel termal ve elektriksel iletkenlik sağlar. Tek katmanlı grafen kristal kafesindeki düşük kusur yoğunluğundan dolayı daha yüksek termal ve elektriksel iletkenliğe sahiptir. Tek tabakalı, grafen termal iletkenliği, $5000 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ [227]. Grafenin elektron taşıma özellikleri eşsizdir. Bu özelliklerinden biri, bir elektrik akımının ışık hızına yaklaşan süratle akmasına izin veren yüksek bir taşıyıcı konsantrasyonu ve mobilitesi olmasıdır. Yani elektrik akımını ileten taşıyıcı elektronların ışık hızına yakın hızlarda malzeme içinde hareket etmesiyle elektrik akımı da diğerbilindik malzeme malzemelerden daha hızlı bir biçimde iletilmektedir. Bunun sonucunda da daha hızlı bilgisayarlar, performansı yüksek elektronik aygıtlar üretebileceğiz. Columbia Nanoteknoloji merkezinden araştırmacılar, elektronların fotonlar gibi relativistik parçacıkların iletimine benzer bir davranışla oda sıcaklığında çok düşük etkin kütleleleri ile grafen boyunca taşınabileceğini keşfetmişlerdir. Bu keşif düşük sıcaklıklarda grafende güçlü manyetik alanlar boyunca elektronların hareketini tanımlayan kuantum hall etkisi yerine oda sıcaklığı gibi yüksek sıcaklıklarda böyle bir olayın gerçekleşmesiyle alışılmadık kuantum hall etkisini kanıtlamıştır. Oda sıcaklığında, grafende herhangi bir saçılma olmaksızın elektronlar uzun mesafelerde hareket edebilir. Bu nedenle grafen, çoğu malzemeye göre daha iyi elektriksel özellik gösterir. Bu üstün özelliklere sahip olan grafenkompozit materyaller için takviye olarak

kullanılmaktadır. Polimer matrislikompozitler için takviye olarak kullanılan grafen ve türevleri birçok önemli uygulamada büyük bir atılım göstermiştir. Geçen birkaç yıl içerisinde, araştırmacılar CNT-bazlı polimer kompozitlere benzer olarak grafit oksit ve grafen bazlı polimer kompozitler için başarılı adımlar atmışlardır. 2 boyutlu grafen daha iyi elektriksel, termal ve mekanik özelliklere sahip olmasının yanı sıra diğer CNT karbon fiberleri ve kevlar gibi destek materyallerinden daha geniş bir yüzey alanına sahiptir. Grafenin katkısı kompozitler elektronik alan, uzay, otomotiv ve yeşil enerji uygulamalarına çok iyi özellikler sunabilir [232].

4.1.4 Grafenin optik özellikleri

Grafen, mükemmel elektrik yükü taşıması ve optik özellikleri nedeniyle çok ilgi toplamıştır. Grafen, 268 nm'de maksimum emilim ile ışık emme özelliğini gösterir [233]. Tek katmanlı grafenin, toplam gelen ışığın %97,7'sini geniş bir dalga boyu aralığında iletir [234]. Grafen bazlı, optoelektronik cihazlar, elektrikli geçit ve yük enjeksiyonu ile ayarlanabilir kızılötesi dedektörler, modülatörler ve yayıcılar olarak da geliştirilebilir [235]. Grafenin nanoribbons ve kuantum noktaları doğada ışıldama gösterirken, elektron ağının gevşemesi fotoluminesansla sonuçlanır [236].

4.1.5 Grafenin mekanik özellikleri

Tek tabaklı arızasız grafen kırılma mukavemeti, çelikten yaklaşık 200 kat daha yüksektir, bu da onu test edilen en güçlü malzemelerden biri haline getirmiştir [237]. Karbon-karbonun bağlanma uzunluğu yaklaşık 0.14 nm ve izdüşüm aralığı 0.34 nm'dir [238]. 1 metrekarelik grafen tabakasının 4 kg malzemeyi destekleyebileceği şekilde basitleştirilebilir [238]. Grafen 1100 GPa civarında mekanik dayanıma sahip en güçlü malzemelerden biridir [224]. Young's modülü, 1 Tpa [239]. İlginç bir şekilde, grafen karbon nanotüpler (CNTler) veya nanodiamonds (elmas nanoparçacıkların) gibi diğer karbon aile materyalleri ile birlikte kullanıldığında, polimer kompozitlerin mukavemeti, sertliği, tek başına nanomalzemelerle hazırlanmış olan kompozitlere kıyasla %400'e kadar artmıştır [240]. Ayrıca, ince, sert, şeffaf ve kimyasal olarak dirençli bir malzeme olan grafen, implantların üretimi, iskeleler, doku mühendisliği ve biyosensörleri için çok iyi bir eşdeğer gibi görünür.

4.2 Grafen Oksit (GO)

Grafen oksit (GO) ilk olarak 1859'da sentezlendi [241]. GO, kimyasal olarak modifiye edilmiş grafitin oksitlenmiş bir şeklidir [223]. Grafen ve türevlerini sentezlemek için

çeşitli yöntemler vardır. GO ağırlıklı olarak üç ana teknikle sentezlenir; Hummers, Brodie ve Staudenmaier yöntemleri [242]. Grafen oksit, karbon mono-tabakanın, hidroksil, karbonil, karboksil ve epoksi grupları ile rasgele bağlandığı ve amorf ve heterojen bir kafes oluşturan [243]. Yoğunluğu yaklaşık olarak da 1.8 g/cm^3 'dür [244]. GO, çeşitli oranlarda karbon, oksijen ve hidrojen içeren katmanlı grafit benzeri bir malzemedir [242]. GO, grafit kafesinde dağılmış enol, keto ve epoksi gruplarından oluşan kovalentinterkalasyon bileşikleri grubuyla ilişkili olabilir [242]. GO, grafitin lamel yapısına sahiptir, daha yüksek ara katman aralığı vardır (d_{002} , 0.562 nm ile 0.902 nm arasında değişir) [242]. GO, grafen, grafen oksit ve soyulmuş grafit gibi farklı grafen ve grafit ile ilişkili materyallerin üretimi ve organik kirleticilerin su çözeltilerinden uzaklaştırılması için kullanılabilir [242]. GO'nun dikkat çekici özellikleri esas olarak kimyasal değişiklikler, polimerler ve manyetik nanopartiküller gibi çeşitli maddelerle kombine etkisi ile ilişkilidir [225]. GO ve kimyasal olarak dönüştürülen türevleri saf suda stabil süspansiyonlar oluştururlar [245], ancak GO, fizyolojik koşullar altında (tuzların, iyonların ve proteinlerin varlığından dolayı) toplanmaya eğilim gösterdiğinden, etkinliğini ve sitotoksitesini azaltır [225]. Bu durum elektrostatik yüklerin taranmasından ve yüklü grafen bazlı materyaller ve proteinler arasındaki spesifik olmayan etkileşimlerden kaynaklanır. Bu nedenle istenen özellikleri elde etmek için kimyasal fonksiyonelleştirme veya modifikasyon gerektirir [246]. GO suda dağılılabilişinden dolayı biyo-uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir. Ayrıca, potansiyel olarak insan hücre tipinde daha az toksisitesi ve biyolojik uygulamalar için de daha güvenlidir [236]. GO'nun geniş yüzey alanı, yüksek ilaç yükleme verimliliği sağlasa da, birçok oksijen içeren fonksiyonel gruplar, bazal düzlemlerini işgal eder [247]. Nano-GO, normal olarak 100 nm'den daha küçük olan küçük yanal boyutta GO'dur. Hem ultra yüksek ilaç yükleme verimliliği hem de fototermal etki, nGO ışınlanması yoluyla ilaç terapötik etkisini arttırmak için bir kooperatif sistemi haline getirir [248].

4.2.1 Grafenoksitin özellikleri

4.2.1.1 Grafenoksitin mekanik ve optik özellikleri

GO'nun tematik özellikleri, saf grafeninkinden (Young'ın 0.15-0.35 TPa aralığında olan modülü) daha düşüktür. Örneğin, kâğıt benzeri katmanlı GO trombositleri 32 GPa elastik modül ve 120 MPa kırılma dayanımı sergiler. Işık geçirgenliği, GO'nun grafene dönüşümü ile azalır [236]. İzole edilmiş GO'nun, bozulmamış grafen veya rGO'nun

aksine daha yüksek geçirgenliği olup, farklı elektronik yapılara bağlanır [249]. Görünür ve kızılötesi bölge kırılmalarında nanoGO'nun fotoluminesan özellikleri, hücre sel görüntüleme de uygulanmasını sağlar [236].

4.2.1.2 PH duyarlılığı

Grafen bazlı nanomalzemeler yüzey özellikleri, pH değişikliğinden etkilenebilir. Yapılan araştırmalarda, GO levhalarının 3 ila 12 arasında değişen pH değerlerinde dağılabileceğini ve pH 7 veya 8'de stabil olduğu kanıtlanmıştır. Tümör dokuları genellikle normal hücrelerden (pH 7.4) daha asidik (pH ~ 6.8) bir ortamdır. Düşük pH'da, protonasyon için ilaç ve GO arasındaki hidrojen bağı etkileşimi zayıflar [250].

4.3 İndirgenmiş Grafen Oksit (rGO)

Kimyasal arıtma veya termal tavlama, GO üzerinde fonksiyonel grupları ortadan kaldırır ve bunun sonucunda da (rGO) üretilir [251]. İndirgenmiş grafen oksit (rGO), hidrazin veya (sodyum borohidrit, askorbik asit, hidroiyodik asit, hidrokinon, pirogallol) gibi indirgeyici maddelerle indirgeyici koşullar altında GO'nun termal, kimyasal ve UV tedavisi ile elde edilebilir. Bunlar arasında, hidrazin, sodyum borohidrit ve hidroiyodik asit daha güçlü indirgeyici maddelerdir. Bu yöntem daha ekonomiktir, çünkü ılımlı ısıtma veya oda sıcaklığında yapılır. Elektrokimyasal yöntemle yüksek kaliteli rGO elde edilebilir, indirgeme elektron değişiminin GO'yu düşürmek için yeterli olduğu bir elektrokimyasal hücre ile gerçekteştirilir [252]. GO ile karşılaştırıldığında, daha düşük oksijen içeriği, daha yüksek hidrofobiklik ve daha yüksek yüzey alanı nedeniyle rGO aromatik kirleticiler için daha iyi adsorpsiyon performansı gösterir [236]. rGO, esnek yapısı, iyi elektriksel iletkenliği, iyi morfolojik yapısı, biyo-uyumluluğu, hücre sel görüntüleme, nöral arayüz ve ilaç salım uygulamaları nedeniyle nöral rejenerasyon için iyi bir iskeledir [253].

4.4 Hummers Metoduyla Grafen Oksit Üretimi

Grafenin aksine yapısında çeşitli oranlarda karbon, oksijen ve hidrojen bulunduran [224] grafen oksit, 19. yy. başlarından bu yana Brodie, Staundenmaier, Offeman ve Hummers yöntemleri ile sentezlenir. Bu yöntemler, kuvvetli asit ve oksidantlar ile grafitin oksidasyonu işlemine dayanır. Oksidasyonun derecesi kullanılan yöntemle, reaksiyon koşullarına ve grafitin özelliklerine göre değişir [224]. Ancak, GO üretim yöntemlerinde toksik kimyasallar kullanılır ve proses esnasında zehirli gaz ortaya çıkar. Hummers metodunda ise grafit, potasyum permanganat gibi kuvvetli oksidasyon

ajanları ve yüksek konsantrasyonlu sülfürik asit ile reaksiyona sokulur. Hummers metodu ile oksidasyondan sonra epoksi ve hidroksil fonksiyonel grupları grafit yapısı içerisine yerleşir. Su ve oksijen içeren fonksiyonel gruplar, karıştırma işlemi ile tabaklar arasına girdirilerek kuvvetli etkileşim kurdurulur ve tabakların birbirinden uzaklaştırılması sağlanır. Böylece hidrofobik olan grafit, hidrofilik ve dağılma gösteren GO'ya dönüşmüş olur [254]. Geniş yüzey alanlarına sahip grafit tozlarının yükseltgenler ve oksidantlar ile ekzotermik reaksiyona girmesi, beklenmedik yüksek ısıların ortaya çıkması, zararlı gazların oluşması gibi tehlikeli işlemler içeren Hummers yöntemi, modifiye işlemler sayesinde güvenilir bir GO sentezi yöntemine dönüştürülebilir [255]. Grafitin boyutlarının küçültülmesi, kullanılan kimyasalların miktarlarının ve reaksiyon sürelerinin değiştirilmesi ve farklı kimyasalların kullanılması gibi işlemler, yapılan bazı modifiye işlemlerdir. Modifiye Hummers yöntemiyle üretilen GO'nun kimyasal indirgeme reaksiyonları ile seri ve fazla miktarda grafen üretilebilir. Böylece bu yöntemin maliyeti de daha düşük olur. Burada grafenin istenen özellikleri (iletken, mekanik vb.) sergilemesi için ilk aşama olan GO sentezi çok önemlidir [256].

4.5 Kanser Tedavisinde Grafen, Grafen Oksit (GO) ve Sitotoksitesi

GO, biyomedikal uygulamada, in vitro ve in vivo anti-kanser ilaç uygulaması ve tümör tedavisi için fototermal ajan olarak büyük başarılar elde etmiştir [248]. Grafenin biyobozunur olmayan yapısı, sağlık tehlikelerine ve çevresel tehlikelere katkıda bulunur [236]. GO ve rGO, suda dağılılabirlikleri, insan hücre tipinde potansiyel olarak daha az toksisitesi ve biyolojik uygulamalar için daha güvenli olmaları nedeniyle biyolojik olarak parçalanabilir. Geniş yüzey alanına sahip olan grafen, biyolojik dokularla etkileşime girer ve reaktif oksijen türlerinin üretimini tetikler [236]. Grafenin polar gruplarla fonksiyonelleştirilmesi, hidrofobikliklerini ve dolayısıyla potansiyel toksisiteyi en aza indirir [236].

Grafenin tümör terapisine olan büyük ilgisi nedeniyle hem kanser hem de normal hücreler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi son derece önemlidir. Genellikle, karbon esaslı nanomalzemeler güvenli olmalıdır, çünkü karbon yaşayan organizmaların ana elementidir [257]. Nitekim karbon nanomalzemeleri, çeşitli hücre hatlarını içeren çalışmalarda karbon nanotüplerisitotoksisiteyi göstermektedir [143]. Grafen, normal hücreler üzerindeki düşük etkisi ile ilişkili iken, tümör hücreleri üzerindeki toksik etki, invivografenin farklı türevlerinin hem tümör hem de normal hücre çizgileri üzerindeki etkileri bugüne kadar yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. Literatürde, grafen tabakları,

grafen oksit, indirgenmiş grafen ve bunların işlevselleştirilmiş (X-GO, X-RGO) formları analiz edilmiştir. Zang ve ark. SWCNT ile karşılaştırıldığında kanser nöronal PC12 hücrelerini kullanarak grafen pullarının (GF) in vitro toksisitesini incelemişlerdir [258]. Zang ve ark. hem GF hem de SWCNT'nin, test edilen maddenin konsantrasyonuna ve türüne bağlı olan bir sitotoksik etki yarattığını tespit etmişlerdir. Zang ve ark. tarafından elde edilen sonuçlar, karbon nanotüplere kıyasla grafen pulları daha az sitotoksik PC12 hücreleridir [143]. Lammel ve ark. grafen oksit ve karboksil formunun (CXYG nanoplates) kanser HepG2 hücre çizgisi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Grafen türevlerinin kültür ortamı içinde serum ile süspansiyonu hazırlanmıştır. Lammel ve ark. her iki grafen türevinin hücre zarı için yüksek afiniteye (yakınlık, eğilim) sahip olduğunu göstermişlerdir. Hem GO hem de CXYG nanoplatları hücre zarlarına nüfuz ettiğini ve sitozolde (hücre sıvısı) biriktiğini söylemişlerdir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesi artmıştır. Ayrıca, konsantrasyona ve maruz kalma süresine bağlı olan hücrelerin metabolik aktivitesinde değişiklikler meydana gelmiştir. Test edilen grafen formları HepG2 hücrelerine yüksek bir afiniteye sahip olmuştur. Hu ve ark. [259] GO'nun ve modifiye edilmiş formunun, yani, sığır serumu (FBS-GO) ile kaplanmış grafen oksidin akciğer kanseri A549 hücre çizgisi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kaplanmamış GO'nun durumunda, araştırmacılar, konsantrasyonun artmasıyla birlikte A549 hücrelerinin, hücre canlılığının azaldığını belirtmişlerdir. Bununla birlikte, hücre canlılığı, sığır serumu miktarına bağlıydı. Kültür ortamında FBS miktarının artmasıyla birlikte GO, düşük sitotoksikite sergilemiştir. Ek olarak, sığır serumu (FBS) ile kaplanmış GO, sitotoksitesinde bir miktar düşüşe izin vermiştir. TEM görüntüleme, kaplanmamış GO ile muameleden sonra A549 hücre zarının hasar gördüğünü göstermiştir. Bununla birlikte FBS kaplı GO A549 hücresiyle işlemiden sonra sağlam membran bütünlüğüne sahip olmuştur [143].

4.5.1 Fototermal terapide (PTT) grafen ve grafen oksit

Son yıllarda, PTT, kanser hasarının çok popülasyonlu deneysel bir yöntemidir. Bu yöntem, nanoparçacıkların yerleştirilmesine ve daha sonra elektromanyetik radyasyona, tipik olarak kızılötesi lazer radyasyonuna maruz bırakılmasına dayanmaktadır [143]. Radyasyonla aktive edilen nanopartiküller ısınır ve tümör hücrelerinin ölümünün neden olmaktadır [260]. Bugüne kadar çeşitli fototermal nanoterapötikler geniş bir şekilde araştırılmıştır. Grafen veya türevleri, aynı anda elektromanyetik radyasyona maruz bırakıldıktan sonra diğer nanoparçacıklara göre daha fazla ısı ürettikleri için fotosentez

tedavisinde kullanılabilir. Markovic ve ark. [261] tarafından grafen nanoparçacıklarla fototermal terapi çalışması yürütülmüştür. PTT'nin tek grafen nanopartiküller (nG) ile insan malign glioma U251 hücre çizgisi üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Buna ek olarak, bu tedaviyi karbon nanotüplerle (CNT) fototermal tedaviyle karşılaştırmışlardır. Markovic ve ark. her iki karbon nanopartikülleri için fototermal etkisinin (hücre canlılığı), konsantrasyonlarına ve maruz kalma sürelerine bağlı olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar, grafenin fototermal aktivitesinin, oksidatif stres ve mitokondriyal hasar oluşumundan kaynaklandığını açıklamışlardır. Ayrıca, araştırmacılar, daha iyi dağılma ve grafen nanoparçacıkların daha küçük çapları nedeniyle, nG ile antikanser fototermal tedavinin etkinliğinin, karbon nanotüplerle aynı tedaviden daha büyük olduğunu öne sürmüşlerdir. Robinson ve ark. fototermal terapi [262] etiketli peptide (RGD ve RAD) nano- rGO (indirgenmiş grafen oksit formu) kullanma ihtimalini araştırmışlardır. Test edilen grafen türevleri, seçilen hücre hattında sitotoksik etki göstermemiştir. Nano- rGO- RDG ile fototermal muameleden sonra, U87MG hücre yaşayabilirliği %90 oranında azaldığını tespit etmişlerdir. Nano- rGO – RDG, hücrelerde nano- rGO – RAD'den daha iyi birikim olduğunu göstermişlerdir [143].

4.5.2 Grafen ve grafenoksitin ilaç taşıyıcısı olarak kullanımı

Grafen ve GO, avantajlı özellikleriyle, yakın zamanda, sistemik, hedefleyici ve yerel ilaç dağıtım sistemleri için uygulanabilecek yeni ve rekabetçi ilaç dağıtım sistemleri olarak ortaya çıkmıştır [263]. Daha düşük toksisitesi, üstün biyo-uyumluluğundan ve yüksek yüzey alanı nedeniyle, grafen nanomalzemelerin ilaç yükleme oranı diğer ilaç taşıyıcı sistemlerden çok daha yüksektir bundan dolayı ilaç dağıtım uygulamalarında son yıllarda kullanımı artmaktadır. Sahip olduğu bu yüzey alanı özelliğinden dolayı biyolojik dokularla etkileşime girer ve reaktif oksijen türlerinin üretimini tetikler [236]. $\pi - \pi$ istifleme ve hidrofobik etkileşimler, ilaç veriminden ödün vermeden, zayıf çözünür ilaçların yüksek ilaç yüklemesi elde etmek için kullanılabilir [143]. Yüzey alanı, yüzey kimyası ve saflığı temel alınarak, grafen bazlı ilaç taşıyıcı araçlar, küçük ilaç moleküllerini, antikorları, proteinleri, genetik materyalleri vb. taşımak için kullanılabilir [264]. İlaç verme durumunda ise, grafen nanomalzemelerinin (GNM'ler) yükleme oranının (yükli ilacın taşıyıcılara ağırlık oranı) %200'e ulaşabileceği, nanoparçacıklar ve diğer ilaç dağıtım sistemleri ile karşılaştırıldığında oldukça yüksektir [263]. Grafen bazlı nanomalzemeler kullanılarak taşınmış ilaçlar Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Grafen,

antikanser aktivitesi veya sitotoksositeye [236] sahiptir, antikanser ajanlarının antikanser aktivitesini artırır ve ayrıca kanser tedavisi için taşıyıcı / dağıtım sistemleri olarak kullanılır [263]. Grafenin tümör terapisine olan büyük ilgisi nedeniyle hem kanser hem de normal hücreler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi son derece önemlidir [143]. Nitekim nano-hedefli ilaç sunumu ve görüntüleme yöntemleri kanser yaklaşımına bakış açımızı değiştirmiştir [178].

Çizelge 4.1 Grafen bazlı nanomalzemeler kullanılarak taşınan bazı ilaçlar [265]

Taşıyıcılar	İlaçlar	Uygulamalar
nGO-PEG	Cisplatin	Hücre proliferasyonunun ve morfoloji deformasyonununinhibisyonu
nGO-folik asit	DOX ve camptothecin teslimi	Karışık antikanser ilaçların hedefli teslimi
GO-PEG	Ce6 ışığa duyarlılaştırıcı	Fotodinamik tedavi
Chitosan-GO	Ibuprofen, 5-florourasil	Kimyasal olarak çeşitli ilaçların kontrollü salımı
GN-CNT-Fe ₃ O ₄	5-florourasil	pH'a bağlı ilaç salımı
GO	Hypocrellin	Fotodinamik terapi

5. PEGİLASYON (PEG)

Polietilen glikol (PEG), genellikle su gibi polar çözücülerde çözünebilen hidrofilik polimerdir [266]. Büyük bir dışlama hacmine neden olan, hidrojen bağı kabul edebilen, yüksek oranda hidratlanmış polimer omurgalarına sahiptir. PEG'in biyolojik olarak uyumlu, sınırlayıcı protein ve hücresel adsorpsiyon olduğu gösterilmiştir. PEG'nin moleküler ağırlığı (MW) bağlıdır ve PEG renal ve hepatik yolların bir kombinasyonu ile elimine edilebilir. PEG'nin bir kullanımı, protein formülasyonlarında bir yardımcı madde olarak kullanılmaktadır [266]. PEG, biyolojik moleküllerde ve hücrelerde spesifik olmayan adsorpsiyonunu azaltmak, biyolojik uyumluluklarını geliştirmek, dolaşım süresini arttırmak, çeşitli nanomalzemeleri işlevselleştirmek ve daha iyi tümör hedeflemesi için in vivo farmako kinetiklerini geliştirmesini sağlayan hidrofilik biyo-uyumlu bir polimer [267]. İlaç yükleme kapasitesini arttırmak için PEG, protein ve polimer konjugasyonları gibi farklı bağlama stratejileri kullanarak grafen üzerine ilaç moleküllerinin yüklenmesi gibi çeşitli yöntemleri vardır. Sonuç olarak, PEG ve türevleri ilaç endüstrisinde sıklıkla kullanılan polimerdir ve şu anda piyasada bulunan formülasyonlarında PEG içeren en az 11 biyoterapötik vardır [266]. Örneğin, küçük moleküllü bir çekirdek kullanan multimerize PEG'ler, artan yarı ömür gibi geleneksel PEGilasyon yararlarını korurken, daha yüksek bir ilaç yüklemesi elde etmek için kullanılmıştır. 1970 yılından itibaren gerçekleştirilen önemli PEGilasyon uygulamaları Çizelge 5.1'de sunulmuştur. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, Selie ve ark. PEGilasyonun, hedef antijeni tanıma kabiliyetleri pahasına Fab parçalarının yarı ömrünü arttırdığını ve bağlanma bölgesine yakın olan PEGilasyonun sterik engel nedeniyle biyolojik aktivite kaybına neden olabileceğini göstermiştir [266]. Dai ve ark. suda çözünmeyen kanser ilaçlarının verilmesi için PEG'lenmiş GO ve fonksiyonelleşmiş nanografen tabaklarının belirgin toksisite olmaksızın biyo-uyumlu olduğunu ve yüksek verimle aromatik antikanser ilacı yüklenebileceğini bulmuşlardır [268]. Son zamanlarda ise bir grup, hayvanlarda grafenin in vivo toksisitesini araştırmışlardır. Küçültülmüş boyutlarda (10-50 nm) ve önemli ölçüde geliştirilmiş biyo-uyumluluğa sahip olan PEGlenmiş nanografen levhalar, 90 gün içinde 20 mg/kg'lık bir dozda fototermal olarak tedavi edilen fareler üzerinde belirgin toksik yan etki göstermediğini ortaya koymuşlardır [263]. Yakın zamanda bir başka çalışmada ise I-ışaretleli nanografen levhalar-PEG'nin, karaciğer ve dalakta intravenöz enjeksiyondan (damar içi) sonra ihtimal edilebilir akciğer birikimi ile

lokalize (sınırlı, yerleşik) olduğunu ve yavaş yavaş farelerden atılabildiğini bulmuşlardır [263]. PEG'lenmiş nGO'ların, nGO'lar üzerinde önemli avantajlarına rağmen, PEG kaplama, biyolojik uygulamasını engelleyen difüzyon bariyeri nedeniyle hızlı ilaç salınımını olumsuz yönde etkilemektedir [246]. Nano-taşıyıcıların türlerine ve uygulamalarına bağlı olarak, geleneksel nano-taşıyıcıları akıllı olanlara dönüştürmek için bazı adımlar vardır. İlk olarak, nano taşıyıcılar, retiküloendotelial sistemin (RES) hedeflenen bölgeye giderken temizlenmesi de dahil olmak üzere birçok biyolojik engelle karşı karşıya kalır. RES, nano taşıyıcıyı kısa süre içinde dolaşımdan alır ve karaciğer, dalak veya kemik iliğinde kanser karşıtı ilaç taşıyan nano taşıyıcıları biriktirir. PEGilasyon bu temizleme işlemini önlemek için eşsiz bir çözümdür ve PEGilasyon, nano taşıyıcıların RES'den kaçmasına da yardımcı olur. Davies ve Abuchowsky, PEGilasyonun bu davranışını ilk kez raporlarında belirtmişlerdir [269]. Ayrıca, PEGilasyon, hücreler tarafından ilaç alımını önemli ölçüde azaltır. Bu büküm PEGilasyonun ikilemi olarak bilinmektedir [269].

Çizelge 5.1 1970 yılından itibaren gerçekleştirilen önemli PEGilasyon uygulamaları [267]

Yıl	
1977	PEG'nin serum albuminine ve katalaz enzimine kovalan olarak bağlanması sonucunda antikörlara karşı immün etkinin azaldığının gösterilmesi
1977	Alerjenlerin PEGilasyonu
1986	Hidrofilik-hidrofobik enzimlerin PEGilasyonu
1990	Kalıtısal adenozeaminaz eksikliğine bağlı immün zayıflığın tedavisinde kullanılan yetim ilaç (orphan drug) olan Adagen ®'in (PEG-adenozindeaminaz) FDA'dan onay alması
1994	Lenfoblastik lösemi ve diğer lenfoid malignitelerin tedavisinde kullanılan Oncaspar ®'in (PEG-L-asparginaz) onay alması.
1995	Kaposi sarkoma, metastazikover kanseri tedavisinde kullanılan Doxil ®'in (doksorubisinin PEG ile edilmiş lipozomal formülasyonun) onay alması
2000	Hepatit C tedavisinde kullanılan PEG-Intron ®'un (Peginterferon alfa-2b) onay alması
2002	Hepatit C tedavisinde kullanılan Pegasys ®'in (Peginterferon alfa-2a) onay alması
2002	Kemoterapi sırasında meydana gelen granülosit azalmasının tedavisinde

	kullanılan, Pegfilgrastim ®'in (PEG-granülositstimule edici faktör) onay alması
2002	Akromegali tedavisinde kullanılan Pegvisomant ®'in (PEG-büyüme hormonu reseptör antagonisti) onay alması
2004	Yaşa bağlı makular dejenerasyon tedavisinde kullanılan Pegaptanib ®'in (PEG-anti-vasküloepitelyal büyüme faktörü aptameri) onay alması

5.1 PEG'lenmiş Grafen Oksit Kullanılarak Kemo-Fototermal Terapi

Kemoterapi, çok çeşitli kanserlerin tedavisinde önemli bir tedavi yaklaşımıdır [270]. Bununla birlikte, kemoterapötik ajanların spesifik olmayan bir şekilde verilmesi, normal dokulara istenmeyen yan etkilere ve kanser hücrelerini öldürmek için yetersiz dozajlara yol açar. Bu nedenle, hedeflenen ilaç teslimatları ve kombine tedaviler zorlukların üstesinden gelmek için geliştirilmiştir. Kemoterapi ile kombine tedavilerden biri, bazı kemoterapötik ajanların sitotoksitesini arttırdığı kanıtlanmış olan hipertermidir [270]. NanoGO, rGO'ya indirildiğinde π konjugasyon derecesinde artış olur ve bu da kızılötesi absorpsiyonun artmasına neden olarak foto-termal aktivitenin artmasına neden olur [236]. Konjugasyon için PEG gibi polimerlerin kullanılması, rGO'nun foto-termal etkinliğini daha da artırır [236]. Amino sonlu PEG, yüzey aktif madde ve işlevsel molekülleri amido bağı ile nano-malzemelerle bağlamak için bir köprü görevi görür [248]. Tian ve ark., grafen foto-termal etkisinin, bir fotosensitizer olan Ce6 moleküllerinin verilmesini teşvik eden ve kanser hücrelerine karşı foto-dinamik tedavi etkinliğini artıran GO-PEG-Ce6'nın hücresel alımını arttırmada kullanılabileceğini göstermişlerdir [248]. Bu sistem yakın kızılötesi ışığa maruz kaldığında Singlet oksijen üreterek kanser hücrelerini tahrip eder [236]. PEG kullanılarak stabilize edilmiş süperparamanyetik GO, manyetik olarak DOX'u hedefler, tümör hücrelerinin in vivo görüntülenmesini sağlar ve kanser hücrelerinin lokalize foto-termal ablasyonunu sergiler [236]. Tümör taşıyan fare modellerinde yapılan in vivo bir çalışma sırasında, PEG ile edilmiş nanografen tabakları, pasif hedefleme ve yakın kızılötesi bölgeye maruz bırakma yoluyla tümörde biriktirilmiştir, foto-termal tedavide grafen bazlı nano ajanın etkinliğini gösteren tümör ablasyonu ile sonuçlanmıştır [236]. Daha önceki yapılmış çalışmalarda, lokal hipertermi için ısı taşıyıcıları olarak hizmet etmek üzere NIR emici foto-termal ajanları geliştirmişlerdir [270]. Bu materyaller NIR ışığını güçlü bir şekilde absorbe edebilir ve NIR ışınlanması üzerine sitotoksik ısıya dönüştürülebilir. Kemoterapi ile kombinasyon halinde kullanıldığında, bazı kemoterapötik ajanların sitotoksitesinin yüksek sıcaklıklarda artması nedeniyle sinerjistik etki gösterilmiştir [271]. Bununla

birlikte, bu foto-terapötik maddeler, herhangi bir ilaç olmadan sadece tümörjenik bölgeye ısı verir. Hem ilaç hem de ısıyı aynı anda tümörjenik bölgeye veren tedavilerin, minimal yan etkiler ile birlikteterapötik etkinliğini önemli ölçüde artırabileceği beklenir. Bunu başarmak için, seçilmiş tümör bölgesine fototermal ajanlarla birlikte kemoterapötik ajanların birlikte uygulanmasını sağlayan sistemler geliştirilmiştir [270]. Kim ve ark. PC1 ve HeLa hücre hatlarında hücre ölümünü indüklemeye ilaç ve NIR ışınması arasında sinerjik bir etki sergileyen endozom bozulması yoluyla sitozolik ilaç dağıtımını foto-termal olarak tetiklemek için fonksiyonelleştirilmiş bir rGO (PEG-BPEI- rGO) geliştirmişlerdir [248]. Park ve ark. DOX yüklü poli (etilen glikol) poli (laktik-ko-glikolik asit) Au yarım kabuklu nanopartiküller (DOX yüklü PEG-PLGA-Au H-S NP'ler) ve Liu ve ark, foto-termal terapi ve kemoterapinin birleşimi için silika nano savaşıları (GSN'ler) üzerindeki altın nano-kabuklara dayanan bir platform geliştirmişlerdir. Bu sistemlerin sinerjik etkileri in vitro ve in vivo çalışmalar ile kanıtlanmış olsada, bu nanomateryaller oldukça düşük ilaç yükleme kapasitesine sahiptir. Son zamanlarda, nGO, ilaç vermeve foto-termal tedavi için çalışılmıştır. İlaç taşıyıcı olarak kullanıldığında, nGO %200'e kadar yüksek verimli yükleme kapasitesi göstermiştir [272]. Aynı koşullar altında karbon CNT'lere karşı üstün bir fototermal duyarlılık da göstermiştir. Bu iki yeteneği bir sistemde birleştirmek için, Sherlock ve ark. kombine ilaç dağıtımını ve in vitro NIR foto-termal terapi için entegre bir sistem olarak görev yapmak üzere parçacıklardan DOX ve PH'ye duyarlı DOX salınmasının yüksek verimli yükleme kapasitesine sahip olan ultra çok fonksiyonlu FeCo/ Graphitic Shell nano-kristallerini sentezlemişlerdir [270]. Wen Zhank ve ark. kombine kemoterapi ve fototermal tedaviyi kolaylaştırmak için hem ısıyı hem de ilacı tümörjenik bölgeye verebilen nGO-PEG-DOX geliştirmişlerdir. nGO-PEG'ye yükledikleri DOX miktarı % 142,5 olarak hesaplanmıştır. Böyle bir yükleme değeri, her zaman %100'ün altında olan yaygın ilaç taşıyıcı malzemelerin ötesindedir. Bu nGO-PEG'nin ilaç dağıtımını için umut verici bir malzeme olduğunu göstermiştir. nGO-PEG'nin bir başka avantajı, PH'ye bağlı ilaç salım özelliğidir. DOX'undaunosamin grubu protonize edilmiştir ve asidik koşullarda su çözünürlüğü artmıştır [270], nGO-PEG'den DOX salınımı PH 5,5'te hızlandırılmıştır. Bu PH-bağımlı ilaç salımı, kontrollü ilaç dağıtım uygulamaları için kullanılabilir, çünkü hem tümörlerin ve hücre içi lizozomların hem de endozomların hücre dışı dokularındaki mikro ortamlar, nGO-PEG dağıtım araçlarından ilaç salımını düzenleyen asidiktir [270]. Wen Zhank ve ark. aynı çalışmada nGO-PEG'in, hücre salımını teşvik ettiğini, ilaç

akışını azalttığını ve daha sonra ilaç hücre-içi birikimini arttırdığı için bir transmembran taşıyıcı olarak rol oynayabileceğini göstermişlerdir. Aynı zamanda kombine DOX ve nGO-PEG foto-termal tedavisi, tümörlerin tamamen yok edilmesiyle sonuçlanmıştır. Bu sonuçlar, nGO-PEG-DOX'a dayanan kemo-fototermal tedavinin, sadece kemoterapi veya foto-termal tedaviden daha üstün olduğunu göstermiştir [270].

5.2 Grafen Oksit Nano-platelet Kullanarak Nötronla Aktive Olabilen

Radyonüklid Kanser Tedavisi

Nanotıp alanında, grafen oksit nano-plateletleri (GON), ilaç dağıtım sistemi olarak grafen yerine tercih edilen bir seçenektir, çünkü grafenin hidrofobik doğası sulu çözücüler içinde dağılmayı zorlaştırır. İki spesifik bulgu, GON'lerin bir ilaç dağıtım taşıyıcısı olarak potansiyelini çarpıcı bir şekilde artırmıştır. Biyolojik olarak uyumlu olduklarını ve ardından fonksiyonelleştirme (örneğin; Polietilen glikol (PEG) ile) yaptıklarını ve istisnai derecede yüksek yükleme kapasitesi (%400 w/w) sunan aromatik yapıli kemoterapötikler (örneğin; Doksorubisin) ile istifleme sergilediklerini gösterdiler [273]. Metal adsorpsiyonu için yüksek eğilim, GON'leri terapötik radyonüklidler için bir taşıyıcı olarak çekici kılan ek bir özellik. Nötron aktivasyonu, ek bir nötronun yakalanması yoluyla stabil izotopların radyoaktif izotoplara dönüştürüldüğü bir süreç ve radyoaktivitenin doğrudan kullanımını en aza indiren umut verici bir yaklaşımdır. Dahası, bu strateji, nötron akı veya ışınlama zamanını değiştirerek üretilen radyoaktivite miktarını kontrol edebilen yardımcı maddelerin asgari kullanımının ek faydalarını sunabilir. Bu avantajlara rağmen, nötron aktivasyon süreci, radyoterapötiklerin üretimi için yaygın olarak kullanılmamıştır. Bunun nedeni, nötron aktivasyon sürecinde, geleneksel nano-taşıyıcıların bozulmasına neden olabilecek önemli miktarda ısı üretilmesidir [274]. Junghyum Kim ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, PEGilasyon, şarj maskelemesinden sonra ek dağıtılabirlik sağlayabildiğinden, Ho-GONs-PEG daha yüksek Ho oranlarıyla toplanmamıştır ve Ho yükleme kapasitesi %4.38'den ağırlıkça %8.38'e yükselmiştir. Kovalent olmayan PEGilasyon yoluyla, dağılırlıkları ve biyo-uyumlulukları geliştirilmiştir ve Ho yükleme kapasitesi yaklaşık iki kat artmıştır [273].

5.3 Anjiyogenezin İn Vitro Toksikite Değerlendirmesi ve Gelişen Zebra Balığı

Kullanarak Nano-Grafen Oksit ve PEGile Edilmiş Türevlerinin Canlı Dağılımı

Grafen oksit pratik kullanımından önce biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi kritik olduğundan, son birkaç yıldır GO'nun in vitro ve mikroplar, memeli hücreleri ve hayvan modelleri dahil çeşitli organizmalarda sitotoksikite ve biyo-uyumluluğunu doğrulamaya yönelik birçok çaba gösterilmiştir [275]. Örneğin, GO'ların apoptoz, oksidatif stres veya inflamasyona neden olarak fibroblast ve nöronal hücreler gibi insan hücrelerinde doza ve zamana bağlı toksisiteye neden olduğuna bildirilmiştir. Ayrıca, in vivo çalışmalar yüksek dozda GO'nun maruz kalmasının farelerde kronik toksisiteye ve patolojik değişime yol açtığını göstermiştir. Ayrıca, in vivo çalışmalar yüksek dozda GO'nun maruz kalmasının farelerde kronik toksisiteye veya tolojik değişime yolaçtığını göstermiştir [276]. Fonksiyonelleştirme, GO'ların toksisitesini etkilemek için önemli bir faktördür. Örneğin, GO'ların polietilen glikol ve dekstran gibi biyo-uyumlu polimerlerle kaplanması, fizyolojik stabiliteyi arttırdığı ve hücrel toksisiteyi azalttığı bildirilmiştir. Embriyonik zebra balığı kullanarak son zamanlarda keşfedilen karbon nanomalzeme olan GO'nun in vitro toksisitesinin araştırılması gereklidir. Zebra balığı, küçük boyutu, düşük bakım maliyeti, göreceli genetik manipülasyon kolaylığı ve gelişimsel süreçleri görselleştirmek için optik netliği nedeniyle biyomedikal araştırmalarda güçlü bir omurgalı model sistemidir [277]. Bu özellik, zebra balıklarının, bir nano-malzemenin toksisitesini içeren uygun bir değerlendirme için izlenebilir bir in vivo model sistem olarak hizmet etmesine izin verir, çok miktarda nanomalzemeler için potansiyel bir toksikite tarama platformu sağlar [278]. Jinyoung Jeong ve ark. nGO ve PEG kaplı türevlerinin toksisitesini ve in vivo dağılımını ve model sistem olarak embriyonik zebra balığı kullanarak anjiyogenez üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. nGO ve PEGile türevlerinin enjeksiyonu, kalp ödemi, küçük retina/ beyin ve zebra balığı embriyolarının doza bağımlı bir şekilde geliştirilmesinde kırık cisim dahil olmak üzere apoptoz ile ilişkili morfolojik anormalliklere yol açtığını bulmuşlardır [275]. PEG ve türevlerinin kaplama materyalleri olarak avantajları vardır. Çünkü bunlar nGO'yu fizyolojik çözelti içinde kararlı hale getirir, biyo-uyumludur ve floroforlar gibi diğer moleküller ile işlevselleşmeyi sağlar. Bu daha az toksik PEGile edilmiş grafen nanomalzemeleri, bir antikör konjugatı ile tümör vaskülatürünü hedef almak, kanser ilaçlarını yüklemek ve kemo-fototerml tedaviyi azaltılmış yan etkiler ile uygulamak için başarıyla işlevselleştirilmiştir. Farelerde intravenöz enjeksiyonla verilen PEGile

edilmiş GO'ların, çoğunlukla karaciğerde, akciğerde ve dalakta tutulduğu bildirilmiştir [275].

5.4 Mikrobiyal Mühendislikte Fonksiyonelleştirilmiş GrafenOksit: Bakteriyel

Büyüme İçin Etkili Bir Stimülâtör

Daha önce yapılmış birkaç çalışma, GO'nun ROS oluşumu, GO tabakalarının keskin kenarlarının bakteriyel hücre duvarı ve hücre zarı ile hücre bütünlüğünü bozmak için hücre kenarı ile etkileşimi ve sarılması dahil olmak üzere olası mekanizmalar yoluyla bakterileri öldürmek veya etkisiz hale getirmek için kullanılabileceğini göstermiştir [279]. Ayrıca, Akhavan ve ark. GO'da bakteri büyümesinin sırayla GO'yu bakterisit grafene indirgeyebileceğini bildirmişlerdir [280]. Aksine, birkaç rapor GO'nun bazı bakterilerin büyümesini veya aktivitesini arttırdığını göstermiştir. Ek olarak, sade GO'nun bakteriler üzerinde çok az etkisi olduğu da bildirilmiştir [279]. Raporlanan sonuçlardaki bu farklılıklar, farklı deneysel koşullardan (örneğin, GO örneklerinin hazırlanmasındaki farklılıklar, GO örneklerinin büyüklük farklılıkları ve kimyasal durumlarının yanı sıra proteinlerin varlığında veya yokluğunda bakteri kültürlenmesi) olabilir. Yinchan Lu ve ark. GO ile bakteri arasındaki etkileşimler araştırılmış olsada, PEG konjugasyonu gibi biyolojik olarak uyumlu kaplamalarda nano-GO'nun, mikroorganizmaların aktivitelerini ve bunun altında yatan mekanizmaların nasıl etkileneceğini incelemişlerdir. Ayrıca, yeni bir dizi PEG'lenmiş nano-GO (nGO-PEG) geliştirmişler ve biyolojik araştırma, mikrobiyal mühendislik ve endüstride yoğun bir şekilde kullanılan gram negatif bakteri *Escherichiacoli* (*E.coli*)'nin genetik olarak işlenmiş türleri ile etkileşimini araştırmışlardır [279]. Yinchan Lu ve ark. değişken PEGilasyon derecelerine sahip üç tip nGO-PEG, GO'nun farklı besleme GO: 10k-6br-PEG-NH₂ ile konjuge edilmesiyle altı kol dallı PEG sentezlemişlerdir. PEG oranları (GO: PEG $\frac{1}{4}$ 1:1, 1:2.5, 1:5). İlginç olan, nispeten düşük bir PEGilasyon seviyesine sahip olan nGO-PEG (1:1) bakteri üremesini büyük ölçüde uyarabilirken, PEGilasyon derecesinin yüksek olduğu sade GO veya nGO-PEG'ler için hücre canlılığı üzerinde belirgin bir etki gözlenmemiştir. Daha da önemlisi nGO-PEG (1:1) bakterilerdeki rekombinant protein üretimini dikkat çekici şekilde arttırmak için mikrobiyal mühendislikte iler uygulamalar için potansiyelini gösterecek şekilde yeni, pozitif bir düzenleyici olarak kullanılabileceği ortaya çıkmıştır [279].

5.5 Poli (etilen glikol) Varlığında Sulu Grafen Oksit Dispersiyonlarının Kolloidal ve Reolojik Davranışı

Özellikle, grafen / polimer nano-kompozitler, mükemmel elektriksel, mekanik özellikleri ve termal stabiliteleri nedeniyle polimer bazlı nano-kompozitler alanında sıcak bir konu haline gelmiştir. Bununla birlikte, grafen / polimer nano-kompozitler, işlem sırasında, polimer matrisinde grafen homojen dispersiyonu, arayüzey etkileşimleri ve grafen dolgu maddelerinin nano-kompozitleri visko elastisitesi üzerindeki etkisi gibi bazı zorluklarla karşılaşılır [281]. Reolojik karakterizasyonun, polimer bazlı nano-kompozitlerin işleme özelliği hakkında çok değerli bilgiler sağlayabildiği iyi bilinir. Bugüne kadar, dikkatlerini grafen / polimer eriyiklerine odaklayan grafen / polimer nano-kompozitlerin, reolojik davranışları hakkında birçok rapor yayınlanmıştır. Bununla birlikte, grafen genellikle su, N, N N-dimetilformamid (DMF) ve N-metil pirolidon (NMP) gibi bazı genel çözücülerde dağılmış grafen oksitten işlenir [282]. Ayrıca, sulu GO dispersiyonları, büyük ölçüde kimyasal olarak dönüştürülmüş, grafen üretmek için öncül olarak yaygın şekilde kullanılmıştır [281]. Bu nedenle, GO/ polimerin sulu dispersiyonlarının reolojik davranışlarının araştırılması temel olarak önemlidir [283]. Poli (etilen glikol) (PEG), sulu dispersiyonlarda kolloidal parçacıklar arasındaki etkileşimi uyarlamak için ve bir tür model polimer olarak yaygın şekilde kullanılan, suda çözünür bir noniyonik polimerdir. PEG varlığında silis küresi, montmorillonoid ve Laponite® gibi inorganik nano-partiküllerin sulu dispersiyonlarının kolloidal ve reolojik davranışları yaygın olarak bildirilmiştir. Bu nedenle, PEG, GO / polimerin sulu dispersiyonlarının koloidal ve reolojik davranışlarını araştırmak için ideal bir polimerik katkı maddesidir [281]. RuiwenShu ve ark. yapmış oldukları çalışmada, GO'nun konsantre sulu dispersiyonları, karakteristik kayma inceltme davranışı göstermiştir ve bu nedenle bir tür verim stres sınırları olarak sınıflandırmışlardır. Ayrıca GO dispersiyonlarında izotropik nematik sıvı kristal geçişinin kritik konsantrasyonu yaklaşık 6 mg/ml idi. GO / PEG'in sulu dispersiyonlarının koloidal ve reolojik davranışlarının incelenmesi, büyük boy oranına sahip iki boyutlu bir anizotropik kolloid tabaka sınıfının faz geçişini anlamaya ve ayrıca GO / polimer nano-kompozitlerin işlenmesi için bir rehberlik sağlayabilir [281]. Ruiwenshu ve ark. yaptıkları çalışmada, PEG ilavesiyle indüklenen mutlak zeta potansiyelindeki azalma, PEG zincirlerinin GO levhaları üzerine adsorpsiyonundan kaynaklanmıştır. Tüm PEG konsantrasyonları için, GO/ PEG dağılımlarının viskozitesi, test edilen bölgedeki kesme hızının artmasıyla azalır ve karakteristik bir kesme inceltme davranışları sergilemiştir. Çıkan araştırma

sonuçlarına göre ise, PEG konsantrasyonunun, GO/ PEG dispersiyonlarının lineer ve lineer olmayan reolojik davranışları üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, GO/ PEG veya GO/ diğer polimerin sulu dispersiyonlarının mikroyapısı ile mekanik tepkisi arasındaki etkileşimin anlaşılması için önemli bir adımdır ve ayrıca GO/ polimer nano-kompozitlerinin işlenmesi için bazı rehberlikler sağlar [281].

5.6 Enerji Metabolizması Analizi ve PEGilenmiş ModifiyeGrafen Oksit Nano-Tabakların Aracılığıyla Meme Kanseri Hücre Metastazı İnhibisyon Mekanizmasının Açığa Çıkarılması

Kanser ölümleri metastaz nedeniyle uzak bölgelere primer tümörden daha sık neden olmaktadır [284]. Önemli ilerlemelere rağmen, konvansiyonel kanser kemoterapisinin etkinliği, normal hücrelere sitotoksikite, primer tümör ve metastatik bölgelere erişilmesi ve çok ilaca dirençli tümör hücrelerinin seçimi ile sınırlıdır [285]. Nano-malzemeler pasif veya aktif hedefleme ile seçici olarak kanser hücrelerine erişebildiğinden, kanser tedavisi için büyük umut vaat etmektedir. Örneğin, bir faz III klinik çalışmasında, metastatik meme kanserli hastalar albümin bağlı paklitakselnano-parçacıklarla (ABI-007) tedavi edilmiştir ve bu formülasyon standart paklitakselden daha etkili ve daha güvenli olmuştur [286]. Faz I çalışmasında, yarı sentetik kamptotesin analogu S-CKD602'nin PEG ile modifiye edilmiş lipozomalformülasyonu, düşük toksisite ile uzun süreli dolaşım süresinin yanı sıra artmış anti-tümör aktivitesi göstermiştir [287]. Grafen kullanılarak üretilen nano-malzemeler, benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarda kullanım için büyük dikkat çekmiştir. PEG (PEG-GO) ile fonksiyonelleştirilmiş GO, sulu çözeltilerde stabilitenin yanı sıra gelişmiş biyo-uyumlulukta, ilacın verilisinde ve foto-termal tedavide kullanılabilir. PEG-GO, hücreleri nükleik asitlerle transfekte etmede (plazmid DNA ve küçük girişimci RNA) ve geleneksel ilaç tedavisini uygulamak için üstün verimlilik gösterir [284]. Dahası, düşük güçlü bir yakın-kızılötesi lazer ile ışınlama kullanılarak transfeksiyon etkinliği artırılabilir. Kamptotesin analog SN38 gibi hidrofobik aromatik moleküllerle birleşmiş PEG-GO, kanser hücrelerine sitotoksik kalırken, sulu çözücüler içinde yüksek oranda çözünür. Ayrıca, doksorubisin-birleşik GO üzerine biriktirilmiş gümüş gömülü nano-parçacıklar, çok yüksek ilaç yükleme etkinliği sergiler ve mükemmel kemofototermaletapötik etkinlik, tümör hedeflemesi ve lazer kontrollü ilaç salımı, ayrıca, gelişmiş X-ışını görüntülemeye yardımcı olurlar [288]. TengZhou ve ark. yapmış

oldukları çalışmada, PEG-GO'nun sitotoksitesini, insan göğüs kanserlerinden türetilmiş üç temsili hücre dizisi kullanarak değerlendirmişlerdir: MDA-MB-231, MDA-MB-436 ve SK-BR-3. Bu hücrelerin 24 saat boyunca çok çeşitli PEG-GO konsantrasyonlarına maruz bırakılması hücre canlılığını azaltmadığını ve PEG-GO'nun kanserli olmayan MCF-10A insan meme epitel hücrelerine ve primer murin peritoneal makrofajlarına belirgin bir sitotoksite göstermediğini bulmuşlardır [284]. Ayrıca, PEG-GO tedavisi, göç eden MDA-MB-231 hücrelerinin sayısında konsantrasyona bağlı bir düşüşe neden olmuştur. PEG-GO tedavisi ayrıca MDA-MB-231 hücrelerinin invazif yeteneğini de önemli ölçüde azaltmıştır. Yani, bu veriler PEG-GO'ya maruz kalmanın çoklu insan meme kanseri hücre dizilerinin göçünü ve işgalini önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir. Kanser hücrelerinin göçü, metastazda anahtar bir adımdır ve lamellipodia veya filopodia ekstrasitruzyonundaki değişiklikleri içerir. PEG-GO ile inkübasyon, MDA-MB-231, MDA-MB-436 ve SK-BR-3 meme kanseri hücrelerinde ATP seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. Buna karşılık, PEG-GO, kanserli olmayan MCF-10A hücrelerinin veya makrofajların ATP seviyeleri üzerinde belirgin bir etki göstermemiştir [284]. Aynı çalışmada, PEG-GO ön tedavisinin MDA-MB-231 hücrelerinin *in vivo* akciğer metastatik aktivitesini önemli ölçüde azaltabildiğini göstermiştir. Teng Zhou ve ark. PEG-GO'nun sadece bir ilaç taşıyıcı olmadığını, aynı zamanda üç göğüs kanseri hücre hattının mitokondriyal OXPHOS ve ATP üretimini kendi başına inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca, PEG-GO, normal hücrelere toksite göstermediğinden, ilaç verme ve foto-termal terapi için bir nano platform olarak hareket edebilir. Daha önemlisi, PEG-GO'nun *in vitro* ve *in vivo* olarak kanser hücresi migrasyonu üzerindeki kendiliğinden inhibe edici etkileri, antikanser ilaçlarla işlevselleştirilerek potansiyel olarak artırılabilir [284].

5.7 İlaç Taşınması

İlaç teslimi için standart yöntemler, terapötik ilaçların olanaklarını tam olarak kullanmamaktadır [143]. Bu durum, ilacın verildiği sırada başlayan ilacın vücuttaki dağılımı nedeniyle [143]. Bu gerçek, hedefe çok sayıda ilaç dozu alma şansını azaltır, bu da onu artırma ihtiyacına neden olur. Kansere karşı olmak için, polimer miseller, termal jeller ve inorganik nano-materyaller gibi birçok yeni ilaç verme sistemi, ilaç ve gen verilmesi için incelenmiştir [236]. Grafen bazlı ilaç dağıtımı, ilaçların ve diğer moleküllerin etkili yüklenmesi ve konjugasyonunu kolaylaştıran geniş yüzey alanlarından dolayı ortaya çıkan bir araştırma alanıdır [236]. GFN, çözünürlük

problemlerini yenerek hidrofobik ilaçlar için taşıyıcı görevi görür. Birçok hidrofobik ilaç, çözünürlük problemleri nedeniyle terapötik kullanımda sınırlıdır [236]. PEG'in nGO'ya konjuge edilmesiyle geliştirilen stabil, biyo-uyumlu bir GO türü; kolon kanseri tedavisi için camptothecin (CPT) analogu SN-38 (7-etil-10-hidroksi kamptotesin)'nin çözünürlük ve tümör öldürme özelliğini arttırmıştır. nGO-PEG taşıyıcısının kendisi <100 mg / L konsantrasyona kadar sitotoksik değildir. Amin uçlu altı silahlı PEG ile modifiye edilmiş nano-ölçekli GO, kovalent olmayan adsorpsiyon yoluyla SN-38 için etkili bir taşıyıcı görevi görür ve insan kolon kanseri hücre hattında sitotoksik etkilerini göstermiştir [43]. Dai ve ark. kanser ilaçları için poli (etilen glikol) (PEG) ile işlevselleştirilmiş nGO (NGO-PEG) üretmişlerdir [236]. Liu ve ark. yüzey kimyasının etkisini ve PEG'lenmiş nGO'nun boyutunu fototermal tedavide bildirmişlerdir [246]. Liu ve ark. doksorubisin için bir ilaç taşıyıcısı olarak grafen oksit ile bir araştırma yürütmüştür [143]. Örneğin, Liu ve ark. GO'nun istikrarını arttırmak için altı kollu PEG ile kovalentite yoluyla GO'yu değiştirmişlerdir [289]. PEG ile fonksiyonelleştirme, nGO'nun tampon çözeltilerdeki ve diğer biyolojik ortamlardaki stabilitesini arttırmak için kullanılmıştır. Liu ve ark. buna ek olarak, ilaç yüklemesinden önce, kanser hücrelerine seçici hedef kompleksini arttırmak için Rituxan (CD20 + antikor) ile NGO-PEG'yimodifiye etmişlerdir [143]. ChunzhiHuang ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, Folik asit (FA), yaygın olarak kullanılan bir hedefleme kısmıdır ve son çalışmalara, folat reseptörlerin (FR), kanser hücrelerinde seçici olarak aşırı eksprese edildiğini göstermişlerdir. Böylece, FA ile birleştirilen nano-taşıyıcılar, tümör hedefleyebilir ve reseptör aracılı endositoz yoluyla içselleşebilir [289]. PEG-FA'in GO yüzeyine dahil edilmesi, nano-kompozitlerin MCF-7 ve B16 hücreleri gibi FR-pozitif kanser hücrelerine aktif hedefleme sağlayabilir. Bu hipotez, ChunzhiHuang ve ark. in vitro ve in vivo deneysel sonuçlarıyla desteklenmiştir [289]. Kanser hedeflemesi, rituxan antikoruna ile gerçekleştirilir ve ilacın etkili bir şekilde salınması ile tümörün yıkımına neden olur [236]. Geliştirilmiş polimer-GO kompozit, CPT'nin üstün yükleme kapasitesine ve yüksek kanser öldürme etkinliğine sahiptir [236]. PEG-GO'nunkonjugatı, insan akciğer kanseri ve insan meme kanseri hücrelerine yüksek sitotoksikite ile paklitakselin daha fazla yüklendiğini göstermiştir [236]. Amin uçlu altı silahlı PEG ile modifiye edilmiş nano-ölçekli GO, kovalent olmayan adsorpsiyon yoluyla SN-38 için etkili bir taşıyıcı görevi görür ve insan kolon kanseri hücre hattında sitotoksik etkilerini göstermiştir [236]. Aynı sisteme DOX yüklenirken, ortaya çıkan ilaç taşıyıcısı, CD20 pozitif Raji B hücrelerinin antikor aracılı hedeflemesi yoluyla pH'a

duyarlı bir ilaç salımı sağlamıştır. DOX'un karakteristik çözünürlük özelliği, normal fizyolojik pH'a kıyasla, asidik tümör ortamında önemli ölçüde daha yüksek bir oranda nano-taşıyıcıdan salınmasına katkıda bulunmuştur [236].

5.8 Gen Tedavisi

Gen terapisi, grafen ve türevlerinin araştırılmasında büyüyen bir alandır. Gen terapisinin zaferi, vektörün enzimatik bozulmadan koruyarak, terapötik geni hedef bölgeye etkili bir şekilde transfekte etme yetisine bağlıdır [290]. Grafen içeren gen terapisi için, genellikle katyonik bir yüzey elde etmek ve elektrostatik etkileşimle negatif yüklü DNA'yı bağlamak için polimerlerle konjuge edilirler. Geniş yüzey alanı ve oksijen içeren GO grupları, GO'nunviral olmayan vektörler gibi davranarak genlerin çeşitli polimerlerle etkin şekilde konjugasyonunu kolaylaştırır. Ek olarak, geniş yüzey alanı gelişmişgen yüküne katkı da bulunur [236]. Grafen bazlı nano-taşıyıcılar, ilaçların ve terapötik genlerin birleşik teslimi için kullanılabilirler. Hem siRNA hem de DOX taşıyan polietilenimin (PEI) işlevselleştirilmiş GO, sinerjik bir antikanser etkisi yaratır. SiRNA'nın B hücreli lenfoma 2'ye (Bcl-2) hedeflenmesi, anti-apoptotik savunma proteinlerinin üretimini inhibe edilmesine neden olurken, DOX'in neden olduğu tümör baskılama etkisi kemoterapötik aktiviteyi artırır [291]. PEI'ye ek olarak, nGO'nunkonjuge edilmesi için PEG kullanımı da rapor edilmiştir. PEG ile konjuge edilmiş nGO, foto-termal aktiviteye sahip ışığa duyarlı, fizyolojik olarak stabil, verimli bir gen iletim vektörü üretmiştir. Ayrıca, taşıyıcı tarafından üretilen foto-termal etki, düşük güçlü bir yakın kızılötesi ışınlama altında yüksek transfeksiyon verimliliğine katkıda bulunmuştur [236].

5.9 PEG Yüzey Modifikasyonu

PEG, nano taşıyıcıların yüzey modifikasyonunda kullanılan en yaygın malzemedir. Polimerik misellerde, PEG bir blok kopolimerin parçası olarak sokulabilir. Lipozomlarda, mPEG-DSPE gibi bir PEG konjuge lipit olarak dahil edilebilir. Alternatif olarak, PEG nano-partiküllerin yüzeyine konjuge edilebilir. İlk olarak, PEGilasyon, nano-taşıyıcılarla hedef kanser hücreleri arasındaki etkileşimi ve endositoz ile içselleştirmelerini engelleyebilir. Bir nano-taşıyıcıda hedefleyici bir ligand kullanıldığında, PEGilasyonsterik engelleme sağlayarak, reseptörüne ligand bağlanmasına müdahale edebilir. Bu engelin üstesinden gelmenin bir yolu, yüzey modifikasyonu için daha kısa PEG kullanmak ve / veya bir PEG bağlayıcısı kullanarak hedefleme ligandınınano-partiküle bağlamaktır [292]. PEGilasyon, rGO'nunkovalent

veya kovalent olmayan konjugasyonla suda daha fazla stabilite sağlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır [248]. Bir antijen bağlayıcı antikor fragmanı (Fab) gibi terapötik bir proteinin PEG ile kovalent modifikasyonu, konjugasyonu, çözünürlük, biyoyararlanım, yarı ömür, azalan immünojeniklik ve daha birçok şey nedeniyle artan stabilite gibi arzu edilen özelliklere erişme olasılığını başlatır [266]. PEG'nin bir yaygın yoluda, bir proteini PEGilasyon adı verilen bir işlem olan kovalent olarak modifiye edilmesidir [266]. Polimerlerin proteine kovalent olarak bağlanması birçok durumda protein stabilitesini artırır. Bir PEG zincirine kovalent olarak bağlanmış birkaç protein ilacı piyasada mevcuttur [293]. PEG'in proteinlere (PEGilasyon) kovalent bağlanması, ilk olarak Abuchowski ve ark. tarafından PEG'lenmiş sığır serum albümini için indirgenmiş bir immünojeniklik ve sığır karaciğer katalazı için uzun süreli dolaşımdaki yarı ömrünü gösterdiğini bildirmişlerdir [293]. Örneğin, Liu ve ark. GO'nun stabilitesini artırmak için altı kollu PEG ile kovalent bağ yaparak GO'yu modifiye etmişlerdir. Elde edilen sistem, 5 dakika süre içerisinde 10000 g'de santrifüjleme yoluyla gidebildi ve ayrıca farklı çözücüler içerisinde stabilite göstermiştir [289]. Kovalent olmayan protein PEGilasyonuna üç farklı yaklaşım vardır; kovalent olmayan ilişki hidrofobik etkileşimlere, iyonik etkileşimlere ve şelasyona dayanır [293], Literatürde tarif edilen kovalent olmayan PEGilasyona yönelik ilk girişim, değiştirilmiş bir PEG kısmı (dansil-PEG) ve bir protein arasındaki hidrofobik etkileşimlerin kullanılması Mueller ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir [293]. Mera ve ark. tarafından yayınlanan kovalent olmayan PEGilasyonun bir başka yaklaşımı, His-etiketli biyo-polimerleri sık sık saflaştırmak için kullanılan bir teknik olan immobilize metal iyon kromatografisinden esinlenmişlerdir [294].

6. DOKSORUBİSİN (DOX)

Genellikle meme kanseri tedavisinde kullanılan Doksorubisin (DOX), geniş spektrumlu bir anti-kanser ilacıdır [289]. Birçok tümör tedavisinin önemli bir bileşeni ve en aktif maddesi olarak kabul edilir. Hedefe yönelik bir tedavi sağlayan, pH duyarlı ilaç salınımı için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Süper paramanyetik GO ve DOX'un folik asit içerisinde fonksiyonelleştirilmiş kitosana kapsüllendiği, kanser hedeflemesi için GO kullanılarak üçlü fonksiyonelleştirilmiş bir nano taşıyıcı üretilmiştir. Sistem tümör bölgesinde birikmiş ve kitosan degradasyonu (bozulma) ile pH'ye duyarlı bir ilaç salımı sergilemiştir [236]. GO'ya yüklenen DOX miktarı önemli ölçüde pH değerine bağlıdır [268]. DOX ile yüklenen GO, ilerlemiş hücre toksisitesini ve tümör büyüme inhibisyonunu (engelleme) teşvik ederek, yaklaşık olarak %66-91 hücre ölümüne neden olmuştur [295]. Zhang ve ark. hem in vivo hem de in vitro olarak DOX ile yüklü PEGlenmiş GO kullanarak kemo-fototermal terapinin sinerjik etkisini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, kombine edilmiş DOX ve nGO-PEG fototermal tedavinin, DOX kemoterapisi tek başına ya da DOX içermeyen nGO-PEG fototermal tedavi uygulanırken tümörlerin nüksetmediği ya da kilo kaybı olmadığı ve tümörlerin tamamen yok edilmesiyle sonuçlandığını göstermişlerdir [263]. Süperparamanyetik GO, PEG kullanılarak hedef DOX'ı manyetik olarak stabilize eder, tümör hücrelerinin in vivo görüntülenmesini gerçekleştirir ve kanser hücrelerinin lokalize fototermal ablasyonunu (kesip çıkarma) sergiler [236]. DOX yüklü PEGlenmiş nano okside konjuge edilmiş transferrin içeren etkili bir glioma (beyin tümörü) hedefleme sistemi rapor edilmiştir. Glioma hücrelerine karşı daha güçlü sitotoksik aktivitesi nedeniyle bu sistem glioma taşıyan sıçanların ömrünü uzatmıştır [236]. DOX, kamptotesin (CPT) ve türevi gibi aromatik ilaç molekülleri, GO yüzeyinde $\pi - \pi$ istiflemesi ve hidrofobik etkileşimler ile adsorbe edilir [248]. Yani p-p istiflemesi ($\pi - \pi$ istiflemesi), bir miktar fizyolojik olarak (fiziksel soğurma) kanser hücrelerinin seçici olarak öldürülmesi için antikorlar ile Doksorubisin ve Doksetaksel gibi birçok hidrofobik ilacın yüklenmesi için kullanılabilir. Büyük özgül yüzey alanı, p-p istiflenmesi ve grafenin elektrostatik veya hidrofobik etkileşimleri, potansiyelden veya etkiden ödün vermeyen, çözünebilir ilaçların altında yüksek ilaç yüklemesine katkıda bulunabilir [296].

6.1 Kanser Tedavisi

Grafen (ve GFN), doğal antikanser aktivitesine veya sitotoksositeye sahiptir, antikanser ajanların antikanser aktivitesini artırır [236] ve ayrıca kanser tedavi için taşıyıcı / dağıtım sistemleri olarak kullanılır [236]. Grafen trombositlerinin konsantrasyonu arttıkça hücrelerin canlılığının azaldığı bulunmuştur. Grafen trombosit maruziyetinden sonra tümör baskılayıcı genleri içeren genlerin, aşağı regülasyonu apoptozu daha da arttırmıştır [297]. Çoklu ilaç direnci, kemoterapiye dayalı tümör tedavisinin önemli bir kısıtlamasıdır. DOX ve anti-miR-2 yüklü nano-kompleks, DOX'e dirençli meme kanseri hücre hattında biriktirildi ve çoklu ilaç direncinin tersine çevrildiğini teyit eden gelişmiş sitotoksite göstermiştir [236]. DOX yüklü ve mesopoz silika kaplı grafen nano-levhalar bir hedefleme peptidi ile glioma hücrelerinde sıcaklığa duyarlı, pH duyarlı ve sürekli antikanser ajan salınımı sağlamıştır [298]. Taşıyıcı kanser hücrelerine hedefli ve kontrollü bir DOX iletimi sergilemiştir [236]. Wu ve ark. DOX yüklü grafen oksit ile ilgili araştırma yapmışlardır [263]. İnsan çoklu miyelom hücrelerine DOX yüklü GO, DOX ve GO anti-tümör etkisini değerlendirmişlerdir. Akış sitometrisi analizi, GO / DOX kompleksi ve DOX ile ana hücre ölümü formunun hücre apoptozisi olduğunu göstermiştir. Bu grup tarafından elde edilen sonuçlar, GO'nun, doksorubisinin anti-tümör aktivitesini arttırmadığını göstermiştir [263]. Doksorubisin, grafenin farklı fonksiyonelleştirilmiş türevlerine de eklenir [143]. DOX ile birlikte nano formüle edilmiş ilaçlar, farklı kanser modelleri üzerindeki anti-kanser etkileri için çalışılmıştır. Lipozomal leonalik asit DOX'un kardiyotoksik etkilerini hafifletmiştir ve altı haftalık dişi BALB / c-çıplak ve Kunming HepG2 hepatoselüler karsinom faresi modelinde sinerjistik bir anti-kanser etkisi yaratmıştır [299]. Bazı kemoterapi türleri, tümör hücrelerinde immünojenik hücre ölümüne neden olabileceğinden, kontrol noktası inhibisyonu, normal olarak kontrol noktası inhibitör terapisine cevap vermeyen hastalarda terapötik immün yanıtları başlatarak, ortaya çıkan immün yanıtları arttırabilir. PEG ile lipozomal DOX gibi nano-teknolojiyle formüle edilmiş onkoloji ilaçları bu konuda ümit vermiştir. DOX, hem profilaktik hem de terapötik ortamlar dahil olmak üzere iki ayrı singenik tümör modelinde anti-CTLA-4 veya anti-PD-1 kontrol noktası inhibitörleriyle sinerjize olduğu gösterilmiştir. Önemli olarak, DOX'un tümör büyümesini geciktirmede serbest DOX'a göre daha etkili olduğunu ve DOX'a olan yararın immün yetmez bir ortamda ortadan kalktığını göstermiştir [70]. Anti-kanser ilaç DOX, PEG'lenmiş bir lipozom formülasyonu olan Doxil® / caelyx'in klinikte uygulama için onaylanan ilk formülasyonu [146]. Kanser ilaçlarının kanserli dokulara spesifik

olarak ulaştırılması amacıyla, lipozomların yzeyi, kanser hücresi zarlarında aşırı eksprese edilen reseptörleri hedef alan ligandlar veya antikorlarla modifiye edilebilir [146]. Zhu ve ark. ikili pH / redoks duyarlılığına sahip ve meme kanseri dirençli protein, siRNA ve paklitakselin (PTX) kodlu ürününü hedef alan ikili polimer düşük yoğunluklu lipoporetin-N-süksinilkitosan-sitamin-ürokanik asit (LDL-NSC-SS-UA) miselleri geliştirmişlerdir. Bu siRNA-PTX yüklü miseller, fizyolojik koşullar altında stabilite göstermiştir. Tümör mikro ortamında ((pH / redoks), miseller, gen ve ilaç moleküllerinin hızlı salınımını göstermiştir. Bu miseller, arttırılmış anti-tümör aktivitesi göstermiştir ve MCF-7 / Taxol hücrelerinde meme kanseri direnç proteinin, protein ve mRNA ekspresyon seviyelerini düşürmüştür. İn vivo çalışma sonuçları, siRNA-PTX yüklü misellerin, dikkate değer bir tümör hedefleme etkisiyle uzun süreli dolaşım süresi gösterdiğini ve tümör büyümesini etkili bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir [300]. Chen ve ark. Hidrojen-bağlı çok tabaklı tanik asit ve poli (N-vinilpirolidon) içeren polimer mikro-kapsülleri kullanarak bir ultrason görüntüleme kontrastı ve ultrasonla tetiklenen DOX geliştirmişlerdir. Araştırmacılar DOX salınımını düşük güçte kademeli, yüksek güçte hızlı olduğunu gözlemlədiler. İn vitro sonuçlar, DOX salınımının %50'sinin MCF-7 meme kanseri hücrelerinde %97 sitotoksositeyi indüklediğini gösterirken, ultrason ışınımı yokluğunda hiçbir sitotoksosite bulunmadığını göstermiştir [300].

6.2 Kanser Tedavisinde Kombinasyon Stratejilerinin Avantajları

Kombinasyon terapilerinin kullanılmasının gerekçesi, terapötik maddelerin, kanser hücrelerinde direnç azalmasına yol açan farklı etki mekanizmaları ile çalışmasıdır [301]. Kombinasyon terapisinde, her bir terapötik madde, toksisiteyi azaltmak için sağlıklı dokular tarafından tolere edilebilen optimal dozda kullanılabilir. Kombinasyon tedavileri, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, özofagus kanseri veya mesane kanseri gibi gelişmiş kanserler için daha uygundur [302]. Günümüzde, farklı kemoterapötik ilaçların bir kemoterapi rejimindeki kombinasyonları, etkili anti-kanser tedavisi için cazip bir stratejidir. Klinik bir ortamda, tedavi edilen hastaların, tek ajan kemoterapi deneyimlerini başaramadıkları tespit edilmiştir. Çünkü spesifik kanser sağkalım yollarına etki etmekle sınırlı kalmıştır ayrıca, düşük yanıt oranları ve tümör relapsını göstermiştir [303]. Kanser hastalarında tek ajan kemoterapötik tedaviyi takiben zayıf kanser prognozu ile ilişkili ana sınırlayıcı faktörler; MDR, belirgin toksisite ve istenmeyen yan etkiler. Kanser kemoterapisinin terapötik potansiyelini arttırmak için, tek ilaç kemoterapisinde yer alan problemlere bir çözüm sağlayabilecek alternatif

yaklaşımlar oluşturmak esastır. Bu amaçla, daha iyi bir uzun süreli prognoz için kombinasyon yaklaşımlarına ve yüksek dozda tekli ilaç tedavisiyle ilişkili yan etkilerin azaltılmasına büyük önem verilmiştir. Tek ajan terapisinden farklı olarak, kombinasyon terapisi toksisitenin üstesinden gelmek suretiyle terapötik etkiyi maksimuma çıkarmak ve ayrıca kanser tedavisiyle ilişkili ilaç direnci mekanizmalarının üstesinden gelmek üzere farklı sinyal yollarını modüle edebilir. Kanser tedavisi kombinasyon terapisinin kullanımı son yıllarda iyi bir şekilde belirlenmiştir ve kanser terapisine uygulanan avantajlar; Kombinasyon terapilerinin en önemli faydalarından biri, sinerjik etkiler sağlama potansiyelidir. Kombinasyon terapisinde, kombinasyon halinde ilaçların genel terapötik faydasının, ilaçların bireysel olarak etkilerinin toplamından daha büyük olduğu bulunmuştur. Bu avantajlar, kombinasyon tedavilerinin aranmasına yönelik ilaç keşif çabalarına yol açmıştır. Maksimum anti-tümör etkinliği ile iyi ilaç kombinasyonu, ilaçların sinerjistik olarak çalıştığını göstermenin etkili bir yolu olan çoklu ilaç etkisi / kombinasyon indeksi (CI) izoblogram analizi ile hesaplanabilir [303]. Kombinasyonel ilaç tedavisinin ardından sinerjistik etkinin ana mekanizması, eşit veya arttırılmış etkinliği olan daha düşük bir dozda daha elverişli sonuçlar elde etmek için aynı veya farklı sinyalleme yolları üzerinde etkili olabilir [304]. Örneğin, bir kombinasyon yaklaşımında, selekoksibin (bir siklooksijenaz-2 inhibitörü), emodinin birlikte işlenmesiyle sinerjistik olarak etki gösterdiği ve Akt'nin aktive edilmesini ve kaspaz -9 ve -3 'ün aktivasyonunun arttırılması içeren bir mekanizma vasıtasıyla sıçan kolanjiyo karsinomunun büyümesini, baskıladığı bulunmuştur. Son zamanlarda, Chiang ve ark. Hodgkin olmayan lenfoma (NHL) hücre hatlarının heterojen bir grubunda antikanser tedavisi için RAD001'in (bir mTOR inhibitörü) gemsitabin veya paklitaksel ile sinerjistik etkileşimini açıklamışlardır. RAD001 ve kombinasyon halinde gemsitabin veya paklitaksel ile muameleyi takiben NHL hücre hatlarında RAD001 nedeniyle mTOR sinyal yolağının aşağı regülasyonu ile gemsitabin veya paklitaksel tarafından uygulanan artmış kaspaza bağımlı apoptozis göstermişlerdir [304]. Kemoterapi tedavisinin kanserleri tedavi edememesinin ana nedeni, tümör hücrelerinin birkaç farklı anti-kanser ilacına aynı anda dirençli hale gelmesidir. Son zamanlarda Hubensack ve ark. kan beyninin bariyerinde ifade edilen P-gp'nin regüle edilmesinin neden olduğu, elacridar ve tariquidar (her ikisi de üçüncü kuşak P-gp inhibitörleridir) ile uygulandığında, çıplak farelerin beyin bölgesinde belirgin bir paklitaksel konsantrasyonu göstermiştir [303]. Bir başka Faz I klinik çalışmasında, zosuguidar, daha eski akut miyeloid lösemi hastalarına daunorubisin ve sitarabisinle birlikte verilmiştir ve sonuçlar, ilaç direncini

aşan hastaların yaşadığı anti-kanser aktivitesinin arttığını göstermiştir [305]. Son zamanlarda, Dasanu ve ark. metastatikover kanseri olan küçük bir grup hastada iki farklı ilacın (yani karboplatin ve gemitabin) kombinasyon tedavisinin, hemotolojiktoksosite olmadan önemli anti-tümör aktivitesi ile sonuçlandığını göstermişlerdir. Çok ilaç dağıtım kavramının basit fikri Zhang ve ark. aynı anda iki anti-kanser ilacı olan DOX ve CPT'yi FA-GO'ya yükleyerek uygulamışlardır. İki ilacın FA-GO ile birlikte alınmasının, sadece DOX veya CPT ile yüklenen GO'dan daha iyi bir hedefleme etkinliği ve daha yüksek sitotoksositeye sahip olduğu gösterilmiştir [303].

6.3 Doksorubisin (DOX)'un Farklı Deneysel Organ Sistemlerine Etkisi

Antrasiklinler kalbe kronik toksisiteye neden olabilen bir kemoterapötik ilaç sınıfıdır. Bu etki, en bilinen antrasiklin DOX alan hastalarda daha sık görülür [306]. DOX maksimum önerilen kümülatif doz 500 veya 450 mg /m² olan çeşitli hematolojik ve katı tümör malignitelerin durumunda kırk yıldan fazla bir süredir kanser önleyici ilaç olarak kullanılmaktadır. Kardiyotoksik kümülatif DOX dozu 550 mg/m² vücut yüzey alanına ayarlanır [306]. Antikanser ilaç olarak standardize edilmiş olmasına rağmen, hayatı tehdit eden kardiyomiyopati ve konjestif kalp yetmezliği gibi potansiyel kardiyotoksitesi, göz önünde bulundurulması gereken yan etkilerdir [307]. Yan etkiler göz önüne alındığında, DOX'un en olası toksisite mekanizması oksidatifstresde bir artış yaratmaktadır.

6.3.1 DOX'un dolaşım sistemine etkisi

Örneğin, DOX'un hatırlatma reaksiyonu, radyoterapiden 25 yıl sonra ülseratif idi ve bazı durumlarda olumsuz reaksiyonu yoktu [306]. Siklofosamid ve DOX ile takip edilen meme kanseri 60 yaşındaki beyaz bir kadının kanser tedavisi, ardından tek ajan paklitaksel, kanserin 4 yıl sonra akciğer ve karaciğere metastaz yapmasına neden olmuştur [308]. Diğer bazı kanıtlar DOX'un karaciğer üzerinde zararlı bir etkisi olmadığını göstermiştir [309]. Bir başka önemli çalışma, DOX-fareye yönelik önemli bir parametre olan insanla ilgili ilaç dozajının, Gıda ve İlaç İdaresi düzenlenmelerine (UCM078932) göre, 60 kg ve 1.62 m²'de insan ağırlığı ve vücut yüzey alanı kullanılarak hesaplandığını ortaya koymuştur. Elde edilen doz 16 ile 400 mg/ m² idi, 16 günlük CD-1 dişi farelerde 0.1 ile 10 mg / kg'a eşdeğer. Düşük bir dozda 0.4 ve 2 mg/ kg organ tepkileri gözlenmiştir. Bu dozda DOX, folikül büyümesini ve oosit polar vücut ekstrüzyonunu önemli ölçüde etkilememiştir, ancak oosit mayotik bölünmesini ve kromozom ayrışmasını ters yönde etkilemiştir [306]. DOX gerçekten yaşlanmada

doğrudan rol oynayan hücresel yaşlanmaya neden olabilir. Uzun vadeli etkiler ateroskleroz ile ilişkili olabilir [306].

6.3.2 DOX tarafından indüklenen çok organlı toksisite

Daha önce yapılmış bir çalışmada, insan hepatosellülerkarsinomu HepG2 / C3A, insan kaynaklı pluripotent kök hücre farklılaşmış kardiyomiyositler, insan iskelet miyofiberleri, insan motonöronları, insan kaynaklı pluripotent kök hücre farklılaştırılmış kortikal benzeri nöronlar, dört-organlı bir karaciğer sistemi kullanılarak serumsuz bir ortamda en az 14 gün (doğal yerde ve doğal olmayan yerde) DOX 'un toksisitesi test edilmiştir. Apoptoz indüksiyonu ve artan reaktif tür üretimi ile 5 µM dozunda DOX, hücre canlılığının bozulmasına neden olmuştur. Ancak üre ve albümin seviyeleri üzerinde hiçbir etki gözlenmemiştir. Nöronal sistem sağlıklı ve işlevsel kalmıştır [310]. DOX'un erkek albino Wistar Kyoto sıçanlarına intraperitoneal tedavisi, 2 mg/ kg vücut ağırlığı dozunda yaklaşık 200-250 g ağırlığında kalp, karaciğer, böbrek ve testiste belirgin tıkanma ve dejeneratif değişiklikler ile sonuçlanmıştır [311].

6.3.3 DOX tarafından indüklenen toksisiteyle ilgili mekanizmalar

Kardiyotoksisiteyi analiz etmek için özel bir dikkatle, insan kaynaklı pluripotent kök hücre kaynaklı kardiyomiyositler DOX (450 nM) ile muamele edilmiştir. DOX ile tedavi edilen üç farklı orijinli (Kore, Amerika Birleşik Devletleri, Japonya) ICR fareleri arasında, kardiyotoksisite çeşitli parametrelerle kanıtlanmıştır. Bu çalışmada, oksidatif stresin DOX kaynaklı kardiyotoksisiteden sorumlu olduğu görüşünü destekler [306]. DOX'untoksik etkilerini incelendikten sonra, toksisite mekanizmasının açıklanması gerekir. Başlamak için, oksidatif stres, iltihaplanma ve apoptozundoksine bağlı kardiyotoksisite ile ilgili olduğu gerçeğini destekleyen kanıtlar vardır. Üçü arasında oksidatif stresin, DOX kaynaklı kardiyotoksisitenin temel bir mekanizması olduğu gösterilmiştir [312]. İlk vücut kütlesi 165-195 g olan erkek wistar sıçanları 7 hafta boyunca DOX ile haftada bir kez periton içine tedavi edilmiştir. DOX'un neden olduğu kardiyotoksisite kalpte oksidatif strese neden olmuş ve kalbin histopatolojik değişiklikleri kanıtın bir bölümünü oluşturmuştur. DOX, yağ asidi bağlayıcı protein, beyin natriüretikpeptidi ve kardiyak süperoksitdismutaz gibi kan biyokimyasal parametrelerinde değişikliklere neden olmuştur [313]. Antioksidan sistemindeki azalma ile birlikte artan oksidatif stres, DOX kaynaklı kardiyotoksisitede önemli rol oynar. Birlikte verilen ilaçlar, kalpte DOX birikimini azaltabilir [306].

6.3.4 DOX'un sindirim sistemi üzerindeki toksik etkisi

Kardiyotoksisite analizinden sonra, malondialdehit (yüksek) ve glutatyonperoksidaz (düşük) gibi karaciğer parametreleri, kontrol dışı 36 deneysel wistar sıçanın intraperitoneal tedaviden sonra (10 hafta boyunca her üç haftada bir) DOX (1.8mg/kg) ile değiştirilmiştir [314]. Kontrol dışı gruplarda intraperitoneal olarak 2,5 mg/ kg DOX ile tedavi edilen her iki cinsiyette kırk deney faresinde ölüm oranı ve vücut ağılığında önemli bir düşüş görülmüştür. DOX ile tedavi edilmiş farelerde, artan plazma alaninaminotransferaz ve aspartattransaminaz aktiviteleri izlenmiştir. Oksidatif stres, apoptoz ve nekrozdaki artış, DOX kaynaklı hepatotoksisiteden sorumlu mekanizmalardır [306].

6.3.5 DOX'un sinir sistemi üzerine etkisi

Sinir sistemindeki toksisite göz önüne alındığında, yaklaşık 180-200 g ağırlığındaki 12-16 haftalar arasındaki erkek Sprague- Dawley sıçanlarına DOX (2 hafta boyunca altı enjeksiyon halinde toplam 15 mg/ kg kümülatif doz) ile muamele edilmiştir. DOX ile tedavi edilen beyin dokusunda TNF- α düzeyi %19,29, MDA artışı %25,72 oranında artmıştır. Beyin SOD düzeylerinde %18,97 oranında bir azalma gözlenmiştir. Çalışma, antikanser rejimi olarak DOX tedavisinin inflamasyon ve oksidatif stres ile beyin hasarına neden olabileceği sonucuna varmıştır [306]. DOX (0-200 μ M) 'ninnöroblastik PC12 hücrelerine tedavisi, ROS düzeyinde (%164) anlamlı bir artışa ve glutation seviyelerinde kontrollere kıyasla % 40 oranında bir azalmaya neden olmuştur [315].

6.3.6 DOX'un üreme sistemi üzerine etkisi

Üreme sisteminde meydana gelen toksisiteyi incelemek için, 250-280 g ağırlığındaki 48 erkek albino wistar sıçanın hücreleri ve organları incelenmiştir. DOX ile indüklenen grubun histopatolojik çalışmaları (haftada bir kez intraperitoneal haftada 4 mg/kg ağırlığında), semnifertübüllerde vakumlama ile germ hücrelerinin kaybı, interstisyel boşluklarda pıhtılaştırıcı tipte nekroz türü ve ödem göstermiştir. Daha sonraki aşamalarda, 250-280 g ağırlığındaki 48 erkek albino wistar sıçanında, germ hücrelerinin ve dev hücrelerin kaybına neden olan semnifertübüllerin ciddi atrofisine rastlanmıştır [316]. Oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz, DOX'un üreme toksisitesinde rol oynayan mekanizmalardır [317].

Bu çalışma kapsamında öncelikle modifiye edilmiş Hummers metodu ile grafen oksit nanoparçacığı (nGO) sentezlendi daha sonra üretilen nanoparçacığın yüzeyi sitotoksik

etkinin azaltılması, süspansiyon içerisinde kararlılığın artırılması ve biyoyumlu nanotaşıyıcı oluşturulması amacıyla nanoparçacığın yüzeyi Polietilen Glikol (PEG) ile iyileştirildi ve sonrasında ise kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir kemoterapik ajan olan Doksorubisin (DOX) ile nGO-PEG-DOX nanotaşıyıcı sistem sentezlendi. Sentezlenen nanotaşıyıcı sistemin karakterizasyon analizi FTIR, UV, XRD, SEM ve Zeta potansiyel analizi ile yapıldı. Analizi yapılmış olan nanotaşıyıcı sistemin kararlılık analizine DI su, PBS (fosfat salinbuffer) sıvı ortamlarında ve DMEM ve EMEM besi yeri ortamlarında bakılmıştır.



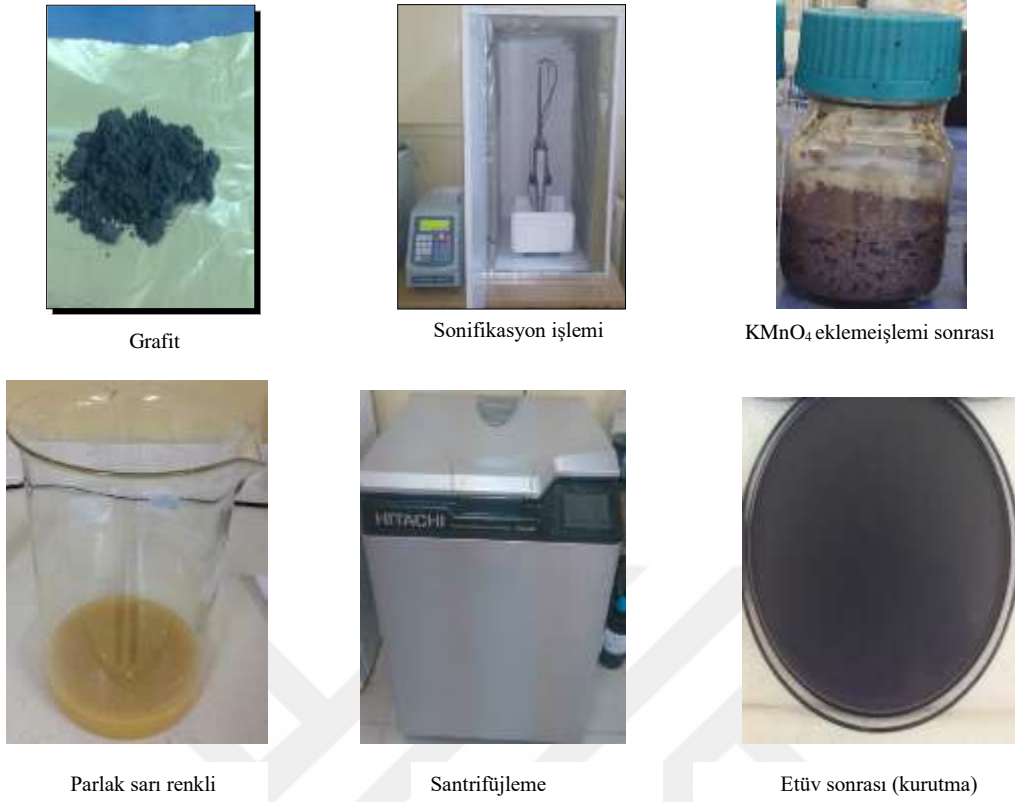
7. DENEYSEL YÖNTEMLER

7.1 Malzemeler

Modifiye Hummers yöntemi ile GO sentezi için gerekli malzemelerden grafit tozu, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve sülfürik asit (H_2SO_4), fosforik asit (H_3PO_4). HCl asit ve potasyum permanganat ($KMnO_4$), üretilen nGO'e COOH bağlanması için kloroasetik asit ($C_2H_3ClO_2$), sodyum hidroksit (NaOH), ilaç taşıyıcısı olarak Poli etilen glikol (PEG)'i ve ilaç olarak DOX, Sigma-Aldrich Corporation firmasından temin edilmiştir.

7.2 Modifiye Hummers Metodu ile Grafen Oksit (GO) Sentezi

Hummers metodu ile Grafitten, Grafen Oksit sentezlenmesinde uygulanan basamaklar şu şekildedir; İlk olarak tartılan 1 gram grafit tozunun üzerine 22,5 ml %95-97'lik H_2SO_4 ve 2,5 ml %85'lik H_3PO_4 karışımı eklenerek karıştırma işlemi yapılmıştır. Elde edilen bu karışım, manyetik bir ısıtıcı yardımıyla yaklaşık 55-60⁰C'de 6 saat boyunca hem ısıtılmış hem de karıştırılmıştır. 2. gün de grafit pullarının daha iyi çözünmesi için tekrar sonikatör işlemine bırakılmıştır. Diğer gün ise karıştırma işlemi devam ederken 6 g $KMnO_4$ kademeli olarak eklenerek 35 ⁰C'de 7 saat boyunca karıştırılmıştır. Sonrasında 400 ml saf su içerisine 5 ml %30 'luk H_2O_2 hazırlanmıştır. Hazırlanan bu karışım daha önce yedi saat boyunca karışan $KMnO_4$ içeren çözeltiliye eklenerek parlak sarı renkli bir karışım elde edilmiştir. Çözeltideki faz ayrımını sağlayabilmek için santrifüjleme işlemi yapılmıştır. İçindeki metal kirliliğinin giderilmesi için 0,1 M HCl ile 6 defa yıkanarak saflaştırılmıştır. Ardından 6 defa saf su ile yıkanarak kahverengimsi çökeleğin süzöntü pH'nın 7 olması sağlanmıştır. Sonrasında ise elde edilen çözelti 55 ⁰C sıcaklıkta etüve konularak yaklaşık 48 saat boyunca kuruması sağlanmıştır. Şekil 7.1'de Modifiye Hummers metodu ile 1 gr Grafitten, GO'nun sentezlenmesi için uygulanan sentez basamakları gösterilmiştir.



Şekil 7.1. Modifiye Hummers metodunda Grafen oksit sentez basamakları.

7.3 Nano-grafen Oksit (nGO)- COOH Sentezi

Üretilen nGO'nun saf su taban akışkanı içerisindeki kararlılıklarının artırılması diğer bir ifade ile su sever hale getirilmesi amacı ile nGO'nun yüzeyleri –COOH grupları ile bağlanır. Üretilen nGO'dan 10 mg alınıp 100 ml 'lik saf su içerisine atılıp yaklaşık 30 dak. sonifikasyon işlemine bırakılarak homojen olarak çözünmesi sağlanmıştır. Pegilasyon işlemi için öncelikle GO üzerindeki karboksil grupları sodyum hidroksit (NaOH) ve kloroasetik asit (ClCH₂COOH) eklenerek ve probsonikatörle 3 saat 500 W 'da karıştırılmıştır. Bu sürenin bitiminde alınan örneğin pH'ı 12-12,5 arası çıkmıştır. pH'mı nötralize etmek için HCl asitle pH'ı 7 'ye indirilmiştir. Bu işlemin ardından numune santrifüj tüplerine konularak santrifüjleme işlemi yapılmıştır. Ardından saf su ile 4 defa yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işleminin ardından baz (NaOH) /asitle (HCl) pH'ı 7.2-7.4 olacak şekilde ayarlanmıştır. Son olarak, etüve 46⁰C'de, 18 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır. Şekil 7.2'de Nano-Grafen oksit-COOH sentez basamakları gösterilmiştir.



Grafen oksit



ProbSonifikasyon işlemi



pH ölçümü



Santrifüjleme



Etüv sonrası (kurutma)

Şekil 7.2 Nano-Grafen oksit-COOH sentez basamakları.

7.4 PEG-nGO-COOH Sentezi

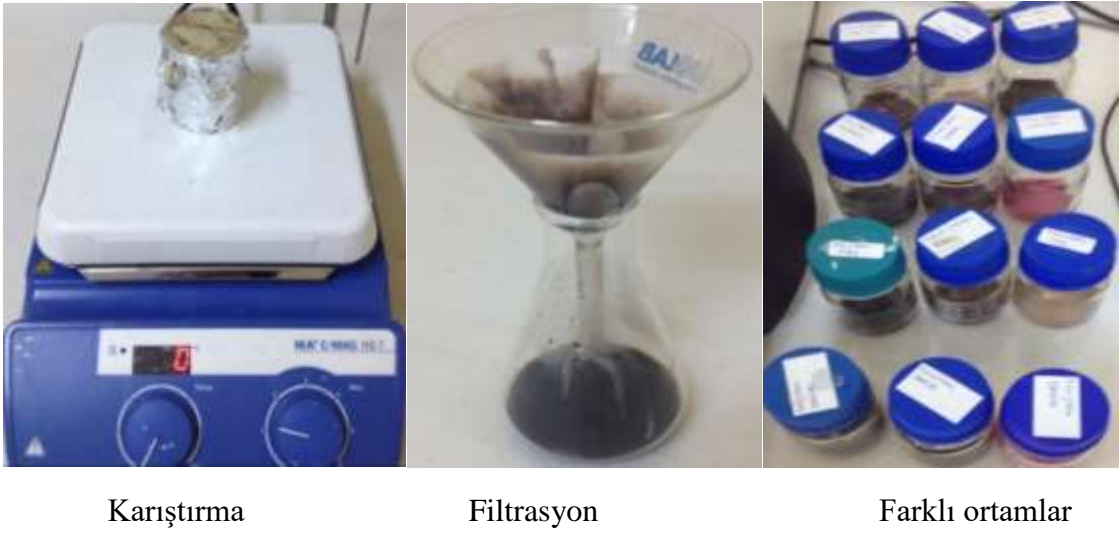
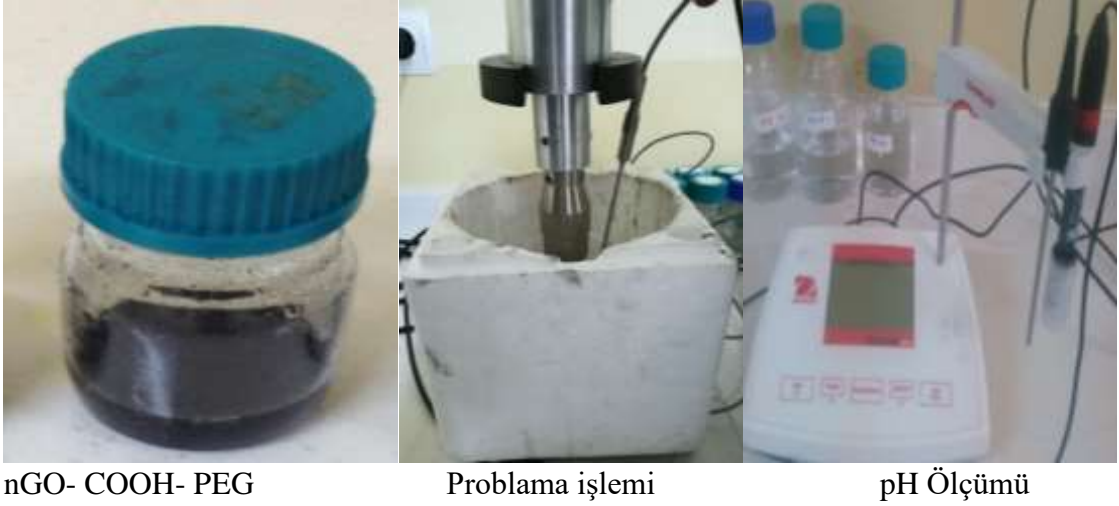
Pegilasyon işlemi için öncelikle GO üzerindeki karboksil grupları sodyum hidroksit (NaOH) ve kloroasetik asit (ClCH₂COOH) eklenerek ve probsonikatörle 3 saat 500 W 'da karıştırılmış ve aktive edilmiştir. Asetik asit gruplarının OH gruplarına konjugasyonu, COOH gruplarının oluşumuna yol açar, bu nedenle GO-COOH üretilir. Elde edilen ürün, hidroklorik asit ile nötrleştirilmiş, ardından kalan asitleri uzaklaştırmak için tekrar tekrar yıkama ve süzme yapılmıştır. Tekrar tekrar yıkama ve süzme yoluyla iyi dağılmış bir sulu GO-COOH çözeltisi elde edilmiştir. Daha sonra GO-COOH çözeltisine N- (3-dimetilaminopropil-N-etilkarbodiimid) hidroklorür (EDC) ilave edilmiş ve pH'ı 5.6' ya ayarlanmıştır. Sonrasında 5 dakika boyunca probsonikasyona tutulmuştur. Ardından çözeltiliye PEG-NH₂ ilave edilmiş ve 24 saat oda sıcaklığında sürekli karıştırma altında karıştırılmıştır.



Şekil 7.3. PEG-nGO-COOH sentez basamakları.

7.5. nGO-PEG 'e DOX Yüklenmesi

NGO-PEG (%5'lik) çözeltisi içerisinde DOX eklenip 30 dakikalık sürede prob karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra pH'ı 8 olacak şekilde HCl asitle ayarlandı ve numune karıştırıcıda çok yavaş karışacak şekilde ve etrafı güneş ışığı görmeyecek biçimde alüminyum folyo ile kapatılarak 24 saat boyunca karıştırıcıya bırakıldı. Bağlanmamış DOX 100 kDa filtreden (milipore) tekrarlanan yıkama ve filtrasyon yoluyla uzaklaştırıldı. Daha sonra elde edilen nGO-PEG-DOX yeniden süspanse edilerek 4 °C sıcaklıkta saklandı. Kararlılık analizi için nGO-PEG-DOX 10 ml'lik Pbs, Dmem, Emem ve saf su ortamlarında karıştırılarak 5 gün boyunca zeta potansiyel analizi ile kararlılıkları incelendi. Şekil 7.4'den nGO-PEG 'e DOX yüklenmesi işlem basamakları gösterilmiştir.



Şekil 7.4 nGO-PEG 'e DOX yüklenmesi işlem basamakları. Not: Üst satır için öncelik işlem sırası soldan sağa, alt satır için ise sağdan sola doğrudur.

7.6 Karakterizasyon Tayini

Bu çalışmada sentezlenen nGO'nun, nGO-COOH'un, nGO-COOH-PEG-DOX'un (PBS, DMEM, EMEM ve su ortamlarında) kararlılık analizlerinin gerçekleştirilmesinde kullanılan makine-teçhizat ve deney düzenekleri detaylı olarak anlatılmıştır. Şekil 7.5 (a-d) sırasıyla nano-akışkanların hazırlanmasında kullanılan hassas elektronik teraziye, sonifikatör banyosunu, pHölçer'i göstermektedir. Şekil 7.5 (a)'da gösterilen Dikoman model elektronik terazi 0.001 hassasiyete sahip olup kütlece istenilen farklı fraksiyonlarda hazırlanacak olan nano-akışkanlarda taban akışkanı içerisine eklenecek olan nanoparçacık miktarının belirlenmesinde kullanılmıştır. İstenilen kütlece % fraksiyonlarda nanoakışkanların hazırlanabilmesi için taban akışkanı içerisine eklenmesi gereken Nanoparçacık miktarı eşitlik (1) yardımıyla hesaplanmıştır. Örneğin kütlece %1

'likGrafen oksit-DI su nanoakışkanı için 50 ml DI-su içerisine eklenmesi gereken grafen oksit miktarı eşitlik 1'den 0.5 gram olarak hesaplanmıştır.

$$\frac{x}{100} = \frac{m(np)}{m(np) + (Vt * \rho t)}$$

x: istenilen kütlece % fraksiyon
m_{np}: nanoparçacığın kütlesi
V_t: taban akışkanının hacmi
ρ_t: taban akışkanının yoğunluğu

Nanoparçacık kümeleşmesini kırmak ve nanoakışkan kararlılığını arttırmak için Şekil 7.5 (b)'de gösterilen 150 W ultrasonik güç'e ve 40 kHz frekans'a sahip Jeitech model sonifikatör banyosu kullanılmıştır. Farklı kütleli fraksiyonlarda ve taban akışkanları ile hazırlanmış olan nanoakışkanların pH değerleri Adwa model pHmetre ile gerçekleştirilmiştir. Farklı kütleli yüzde bölüntülerde üretilen nanoakışkanların kararlılık testleri ise sırası ile Şekil 7.6 ve 7.7'de gösterilen Malvern marka Zetasizer Z ve Shimadzu marka spektrofotometre cihazları ile belirlenmiştir. DOX ilacının nGO-COOH-PEG içerisinde polimorfların ve safsızlıkların tespiti için XRD cihazı, moleküler bağ karakterizasyonunu belirlemek için Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) analizi yapılmıştır.



(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 7.5 Nanoakışkanların hazırlanmasında kullanılan makine-teçhizat a) hassas elektronik terazi, b) sonifikatör banyosu, c) sabit sıcaklık su banyosu, d) pH ölçer.



Şekil 7.6. Nanoakışkanların kararlılık testlerinin incelenmesinde kullanılan Malvern ZetasizerNano Z.



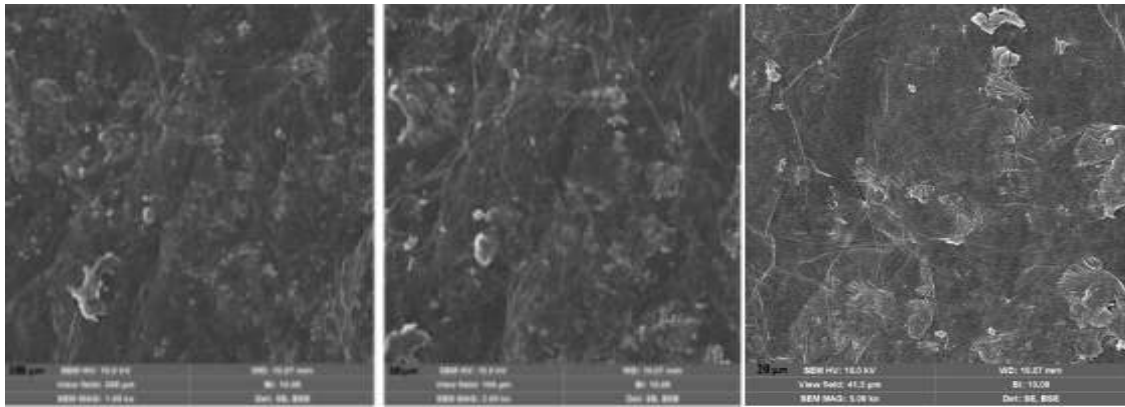
Şekil 7.7 Nanoakışkanların kararlılık testlerinin incelenmesinde kullanılan Shimadzu Marka spektrofotometre

8. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

Yapısında çeşitli oranlarda karbon, oksijen ve hidrojen elementleri ile epoksi, hidroksil, karbonil ve karboksil grupları bulunduran grafen oksitte oksidasyonun derecesi, kullanılan yöntem, reaksiyon koşullarına ve grafitin özelliklerine göre değişmektedir. Literatürde bilinen GO üretim yöntemlerine kıyasla Hummers yönteminde daha az kimyasal toksik ve zehirli gaz açığa çıkmakta olup, daha ucuz ve daha fazla miktarda grafen oksit sentezlenebilmektedir. Bu çalışmada PEGlenmiş GO tabakaları, üzerindeki karboksilik asit grupları ve ilaç taşıyıcı özelliğini göstermek için bütün karakterizasyon tayini yapılmış ve elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak sunulmuş, deney sonuçları ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

8.1. SEM Analizi

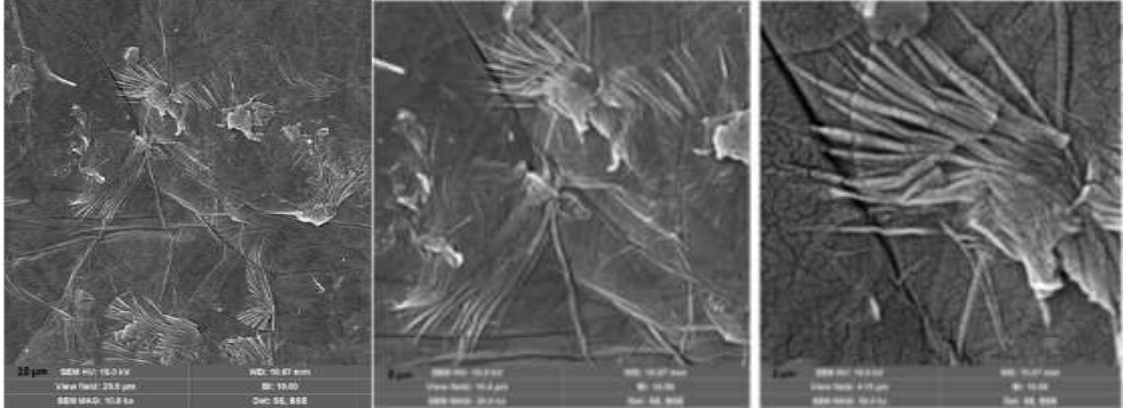
SEM cihazı ile a) 100 μm (1.00kx), b) 50 μm (2.00kx), c) 20 μm (5.00kx), d) 10 μm (10.0kx), e) 5 μm (20.0kx), f) 2 μm (50.0kx) yakınlaştırarak, modifiye Hummers metoduyla sentezlenen nGO yapısının SEM görüntüleri verilmiştir (Şekil 8.1). SEM fotoğraflarında görülen tabakalı haldeki nGO yapılarının bir birkaç katman ile bazen de dağınık halde üst üste binmiş nGO yapıları olduğu gözlenmiştir.



a)

b)

c)



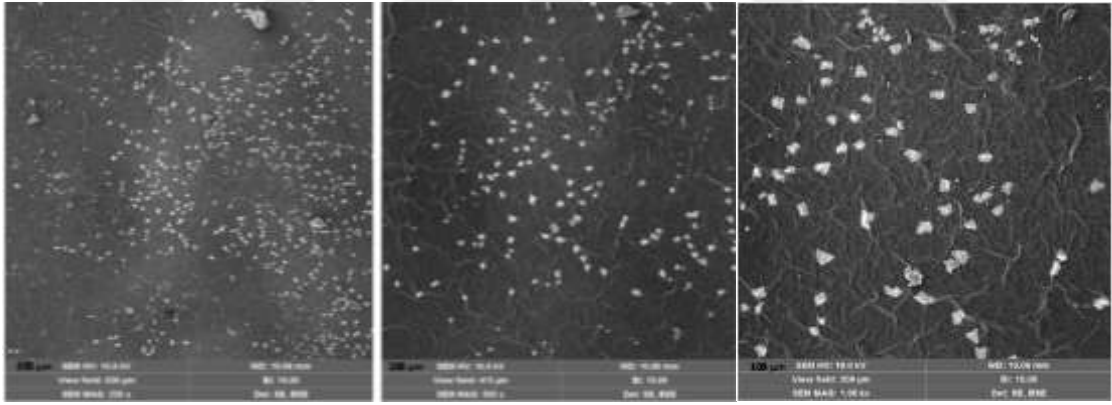
d)

e)

f)

Şekil 8.1 nGO'nun SEM görüntüleri (a) 100 μm (1.00kx), (b) 50 μm (2.00kx), (c) 20 μm (5.00kx), (d) 10 μm (10.0kx), (e) 5 μm (20.0kx), (f) 2 μm (50.0kx)

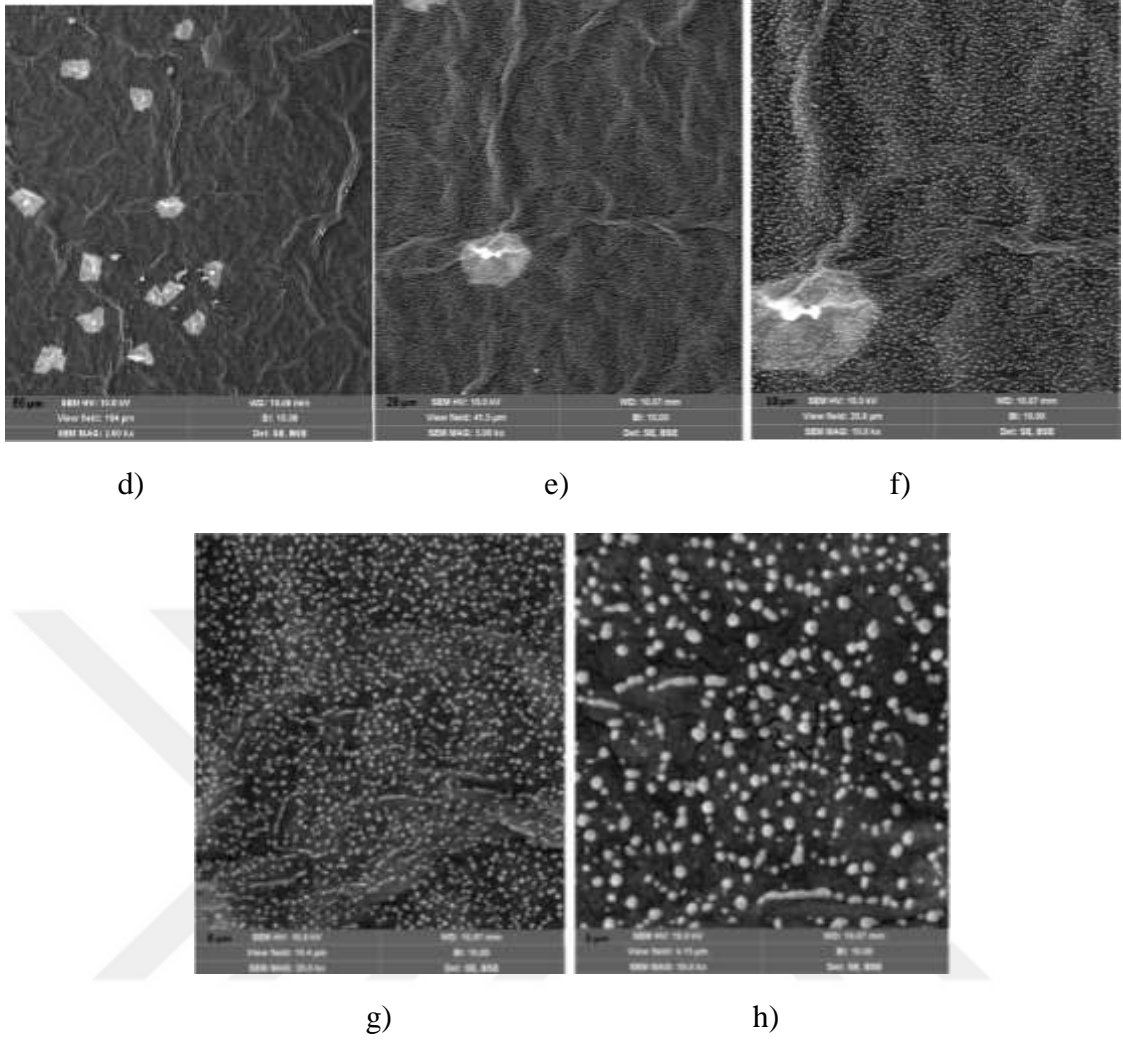
SEM cihazı ile a) 500 μm (250kx), b) 200 μm (500kx), c) 100 μm (1.00kx), d) 50 μm (2.00kx), e) 20 μm (5.00kx), f) 10 μm (10.0kx), g) 5 μm (20.0kx), h) 2 μm (50.0kx) yakınlaştırarak nGO-COOH yapısının SEM görüntüleri verilmiştir (Şekil 8.2). Görüntülerde gösterildiği gibi -COOH grubu nGO yüzeyine homojen olarak yayılmıştır.



a)

b)

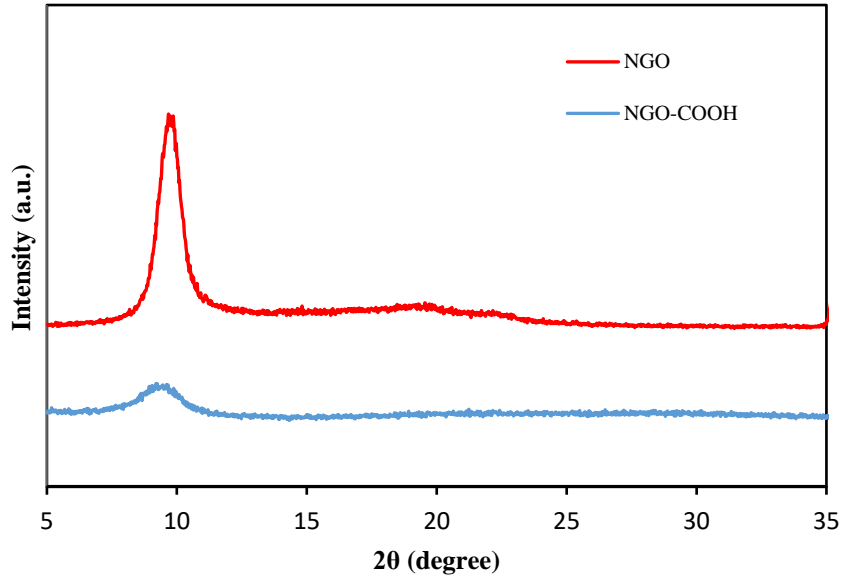
c)



Şekil 8.2 nGO-COOH yapısının SEM görüntüleri a) 500 μm (250kx), b) 200 μm (500kx) c) 100 μm (1.00kx), d) 50 μm (2.00kx), e) 20 μm (5.00kx), f) 10 μm (10.0kx), g) 5 μm (20.0kx), h) 2 μm (50.0kx)

8.2. XRD Analizi

XRD analizi, malzemenin tabakaları arası değişikliği ve kristal özelliklerini incelemek amacıyla kullanılmaktadır. nGO ve nGO-COOH' a ait XRD grafikleri verilmiştir (Şekil 8.3). XRD ile ortaya konulan atomik yapılar ve tabakalar arası boşluk, hazırlanmış nGO ve nGO-COOH örneklerinin niteliklerini belirlemek için önemli faktördür. nGO ve nGO-COOH'un en yüksek pikinin oluştuğu değer literatürdeki sonuçlarla uyuşmakta ve nGO yapısının düzgün olarak elde edildiğini göstermektedir. Bu durum nGO yapısının yüksek oranda karbonik bir malzeme olduğunu göstermektedir.

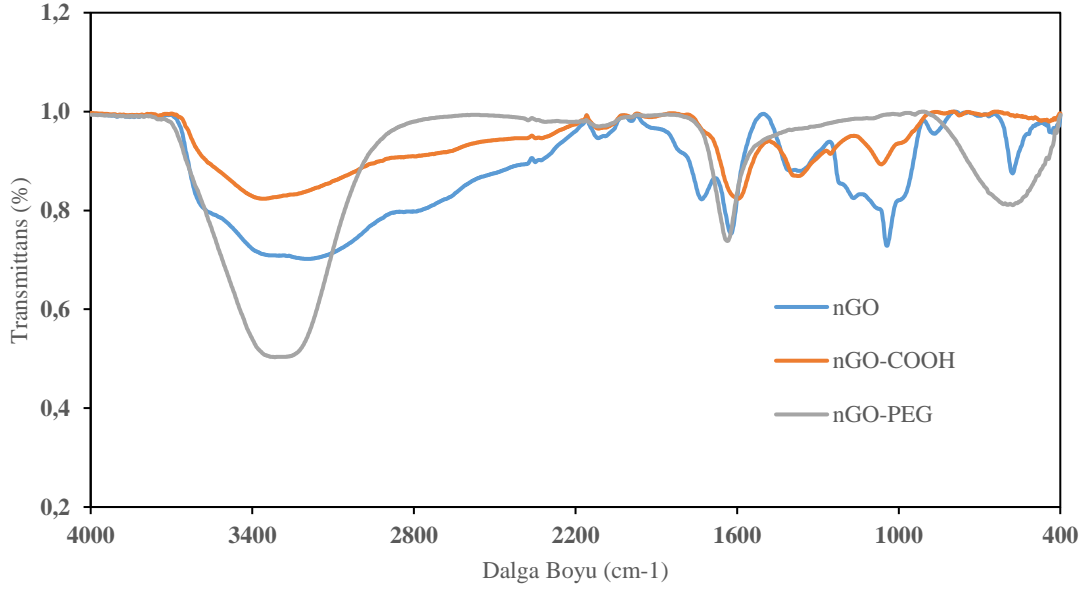


Şekil 8.3. nGO ve nGO-COOH XRD grafikleri

8.3 FT-IR Analizi

FT-IR spektroskopisinde nGO, nGO-COOH, nGO-PEG'in karakteristik pikleri görülmüş yani beklenen bağ yapıları tespit edilmiştir (Şekil 8.4). FT-IR spektroskopi analizleri ile nGO, nGO-COOH, nGO-PEG'in moleküller arasındaki bağ yapıları, fonksiyonel grupları ve dalga sayıları incelenmiştir. FTIR spektrumunda C=O (1720 cm^{-1}) ve O-H (3423 cm^{-1}) pikleri nGO'nun oksitlenmesini doğrulamıştır. nGO-PEGde var olan O-H (3471 cm^{-1}) ve C=O-N-H (1654 cm^{-1}) nanoilacı doğrulamıştır.

XRD ve FT-IR analizinde görülen pikler grafit tozundan modifiye Hummers yöntemiyle başarılı bir şekilde GO sentezlendiğini ve -COOH karboksil grubu ile PEG'in başarılı bir şekilde bağlandığı görülmüştür. Modifiye Hummers yöntemiyle daha kolay ve daha fazla miktarda sentezlenen GO'nun yapısında oksijen bulunduran fonksiyonel gruplar içermesi, GO'nun potansiyel uygulamaları için daha fazla imkan sağlayacaktır.

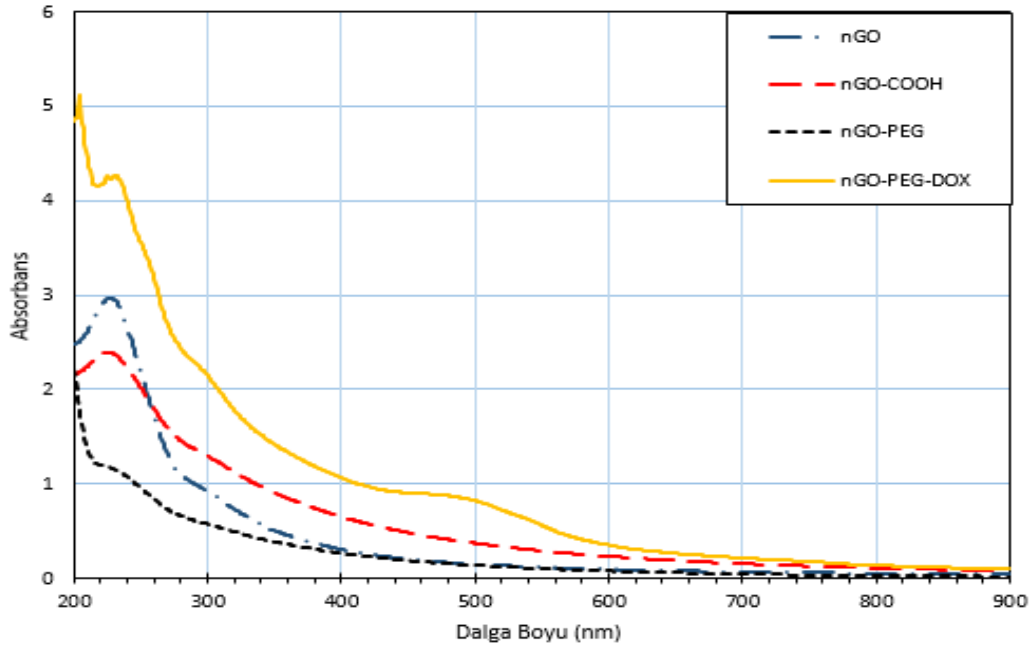


Şekil 8.4 nGO, nGO-COOH, nGO-PEG' un FT-IR spektroskopi analizi

8.4 UV Analizi

Literatürde nanoakışkan kararlılığını kontrol etmek ve zaman ile değişimini belirlemek üzere uygulanan iki yöntem vardır. Bunlardan ikincisi nanoparçacıkların görünür bölgedeki absorbans değerlerinin zaman ile değişiminin incelenmesidir. Görünür bölge dalga boyu aralığında ölçülen nanoakışkan maksimum absorbans değerinin zaman ile değişimi üretilen nanoakışkanın kararlılık durumu hakkında bilgi verir. nGO, nGO-COOH, nGO-PEG, nGO-PEG-DOX'un UV-VIS spektrumları gösterilmiştir (Şekil 8.5). %5'lik nGO-PEG içerisine 0.01 mg DOX eklenerek nGO-PEG-DOX'un görünür ve yakın kızılötesi aralıkta, aynı konsantrasyona sahip nGO, nGO-COOH, nGO-PEG'den daha yüksek bir optik absorpsiyona sahip olduğu görülmektedir. Böyle bir değişimin sebebi kimyasal aktivasyon ve PEGilasyon işlemi sırasında bazik koşullar altında epoksit grupların açılmasına ve nGO üzerindeki esterlerin hidrolize edilmesi şeklinde yorumlanabilir. Bu durum nGO'nun mikro yapısında yerel değişikliklere ve GO tabakalarında daha fazla konjugasyona neden olması ve bu da NIR aralığında optik absorpsiyonun artmasına yol açmıştır. NIR aralığındaki bu yüksek absorbans, hedeflenen ilaç dağıtımını ve fototermal kombinasyon tedavisini sağlamak için umut verici bir fırsat olduğunu gösterir. nGO-PEG'e DOX yüklemesi, nGO-PEG arkaplanı boyunca yaklaşık 230 nm'de kuvvetli bir emme zirvesiyle de ölçüldüğü görülmektedir. Karbonun π -plazmonundan kaynaklanan 230 nm'deki optik absorpsiyon zirvesi esasen

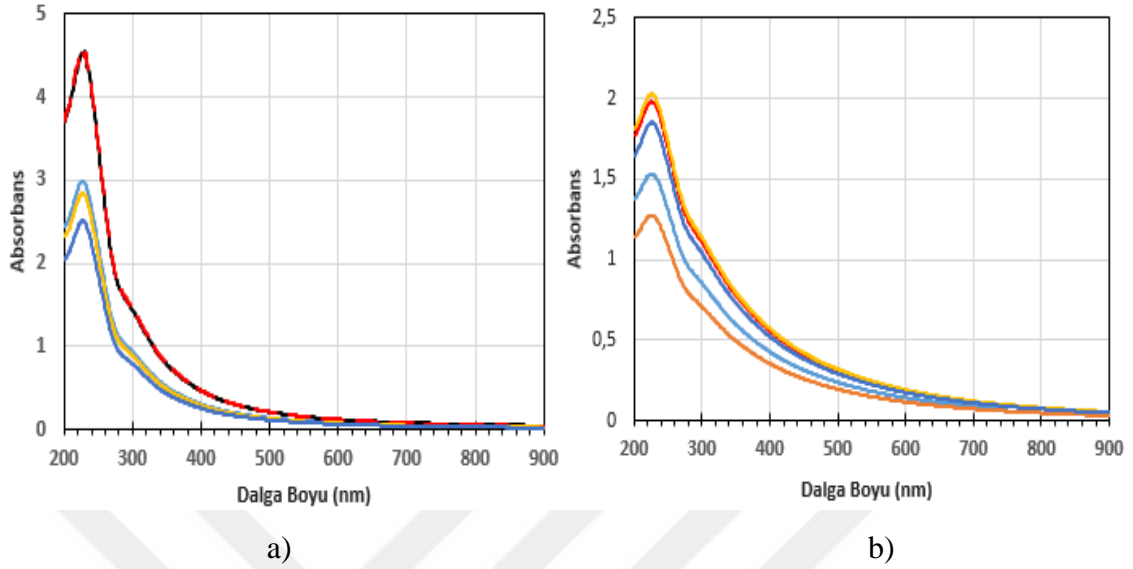
değişmeden kaldı. Literatürle kıyasladığımız zaman, bu nGO-PEG'in ilaç dağıtım için umut verici bir materyal olduğu belirlenmiştir.



Şekil 8.5. nGO, nGO-COOH, nGO-PEG, nGO-PEG-DOX, UV-VIS absorbans spektrumları.

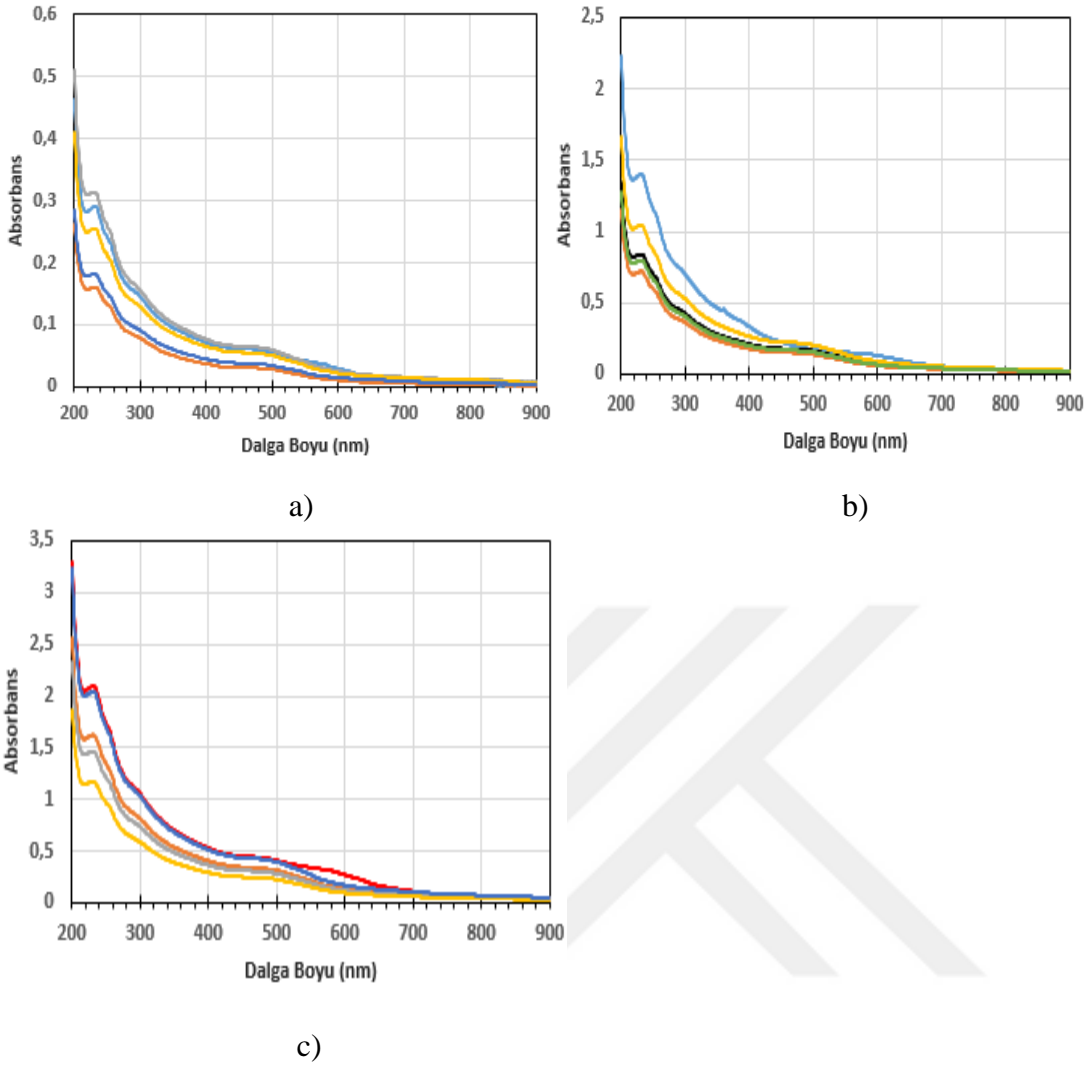
Belirtmek gerekir ki UV görünür bölge spektrofotometre ile ölçülen ve maksimum absorbans değerini veren dalga boyu değeri nanoparçacıkların karakterizasyonunda kullanılmaktadır. Nano-taneciklerin stabilitesini değerlendirmek için, 0.05mg/50ml nGO ve 0.05mg/50ml nGO-COOH, UV-VIS absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi gösterilmiştir (Şekil 8.6). Modifiye Hummers metodu ile sentezlenen 0.05mg/50ml nGO ve 0.05mg/50ml nGO-COOH konsantrasyonlarındaki (nGO ve nGO-COOH)/DI su nanoakışkanlarının 25 °C'da ve 230 nm dalga boyunda ölçülen maksimum absorbans değerlerinin zaman ile değişimini göstermektedir. Ölçümler birbirini takip eden 5 gün içerisinde ve gün içerisinde belirlenen aynı zaman diliminde gerçekleştirilmiştir. nGO, nGO-COOH, yaklaşık 230 nm'de kuvvetli bir emme zirvesiyle ölçülmüştür. Karbonun π -plazmonundan kaynaklanan 230 nm'deki optik absorpsiyon göstermiştir. Nanografen oksit ve nGO-COOH nanoparçacıklarının bilinen en büyük karakteristik özelliği (nGO ve nGO-COOH)/DI su tabanlı nanoakışkanlarının 229-234 nm dalga boyu aralığında maksimum absorbans değeri vermeleridir. Sentezlenen nGO ve nGO-COOH nanoparçacıklarının belirtilen dalga boyu aralığında

maksimum absorbans vermeleri üretilen nanoparçacıklarının nGO ve nGO-COOH olduklarını gösterir.



Şekil 8.6 a) 0.05mg/50ml nGO ve b) 0.05mg/50ml nGO-COOH, UV-VIS dalga boyu absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi.

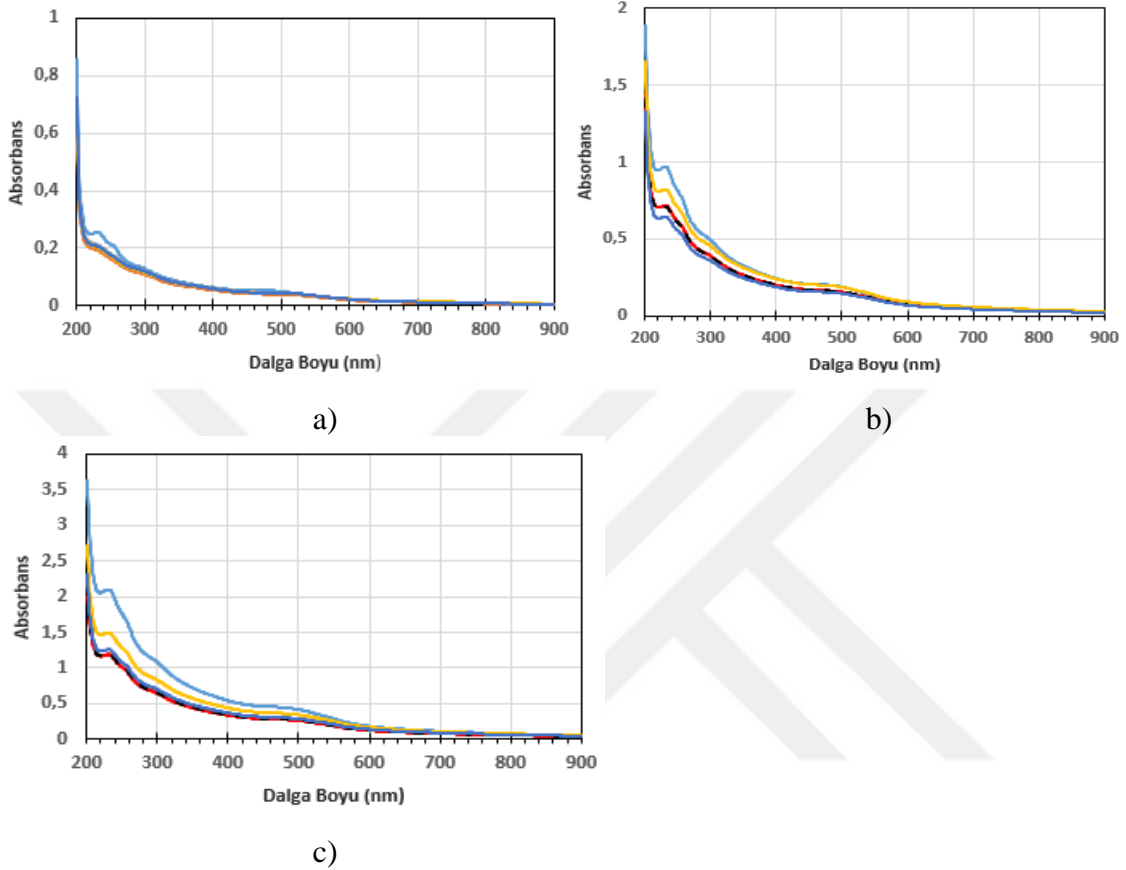
İlacın çözünürlüğü ve PEG kararlılığını değerlendirmek için, 0.1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml konsantrasyonlarında üretilen nGO-PEG-DOX'un (PBS, Saf SU, EMEM, DMEM) ortamları içerisinde çözülerek test edildi ve 5 günlük bir süre boyunca inkübe edildi. Çeşitli zaman noktalarında her ortam için 10 ml (PBS, Saf SU, EMEM, DMEM) kültür ortamlarına salınan 1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml konsantrasyonlarındaki nGO-PEG-DOX'un UV-VIS spektroskopisi kullanılarak ölçülmüştür. Ayrıca nanotaniciklerin stabilitesini değerlendirmek için, 0.1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml konsantrasyonlarında üretilen nGO-PEG-DOX'un, Saf SU içerisinde, UV-VIS absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi gösterilmiştir (Şekil 8.7). Hazırlanan nGO-PEG-DOX, DI içerisinde önemli bir topaklaşma olmadan 5 gün boyunca stabildi. 0.1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml konsantrasyonlarında üretilen nGO-PEG-DOX'un, Saf su içerisinde 5 gün süre boyunca maksimum absorbans değerleri 230 nm'de çıkmıştır. Farklı oranlarda hazırlanmış çözeltilerin farklı ortamlarda taban akışkanı için maksimum absorbans değerini verdikleri dalga boyu değerleri karakteristik olup birbirinden farklıdır.



Şekil 8.7 a) 0.1ml/10ml Saf SU, b) 0.5ml/10ml Saf SU, c) 1.0ml/10ml Saf SU, UV-VIS dalga boyu absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi.

PBS biyolojik uygulamalarda canlı organizmadaki pH koşullarını sağladığı için kullanılmaktadır. Invitro hücre kültürü çalışmalarında hücrelere uygulanacak örnekler PBS tamponunda hazırlanır. Nano-taneciklerin stabilitesini değerlendirmek için, 0.1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml nGO-PEG-DOX konsantrasyonlarının PBS kültür ortamı içerisinde, UV-VIS absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi gösterilmiştir (Şekil 8.8). 0.5 ml/10 ve 1.0ml/10'lik konsantrasyona sahip nanoakışkanlar 230 nm'de kuvvetli bir emme zirvesi gösterirken, 0.1 ml/10ml konsantrasyonuna sahip nanoakışkan ise 5 gün boyunca yavaş bir salım hızı göstermiştir. Nanoakışkanın kararlı olup olmadığı maksimum absorbans değerinin zaman ile değişimi ölçülerek belirlenebilmektedir. 0.1 ml/10ml konsantrasyonda hazırlanmış olan nanoakışkanın zaman ile salınım gösteriyorsa süspansiyon içerisindeki nanoparçacıkların aglomera olduğu söylenebilir. Standart yöntemler, partikülleri fosfat

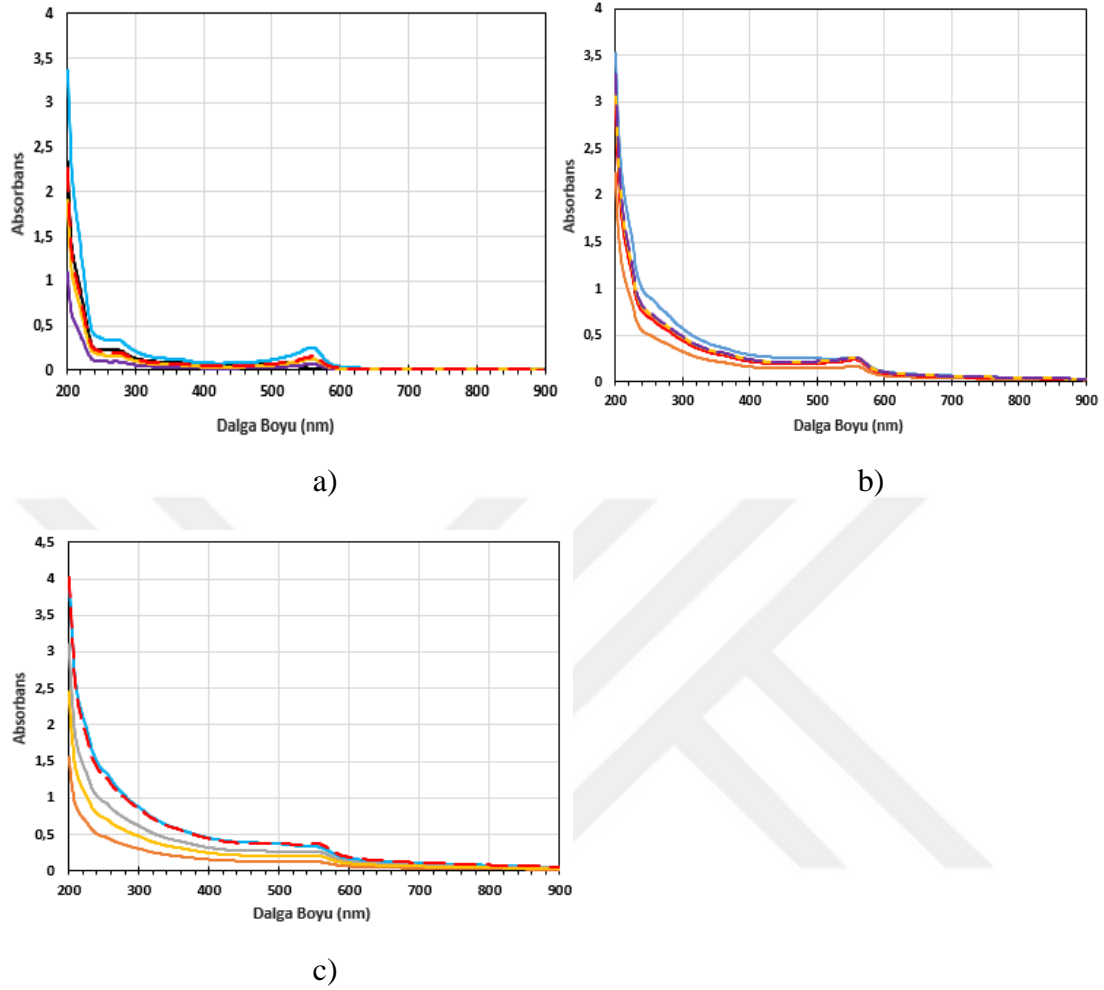
tamponlu salin (PBS) içinde askıya alır. Potansiyel olarak absorbanları veya etkileyebilecek iyonik türleri, pulların yüzey kimyası, kırmızı kan hücreleriyle etkileşimlerini değiştirmiş şeklinde yorumlanabilir. Diğer deneysel yaklaşımlar farklı deney sistemlerinde eşdeğer olmayabilir.



Şekil 8.8 a) 0.1ml/10ml PBS, b) 0.5ml/10ml PBS, c) 1.0ml/10ml PBS, UV-VIS dalga boyu absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi.

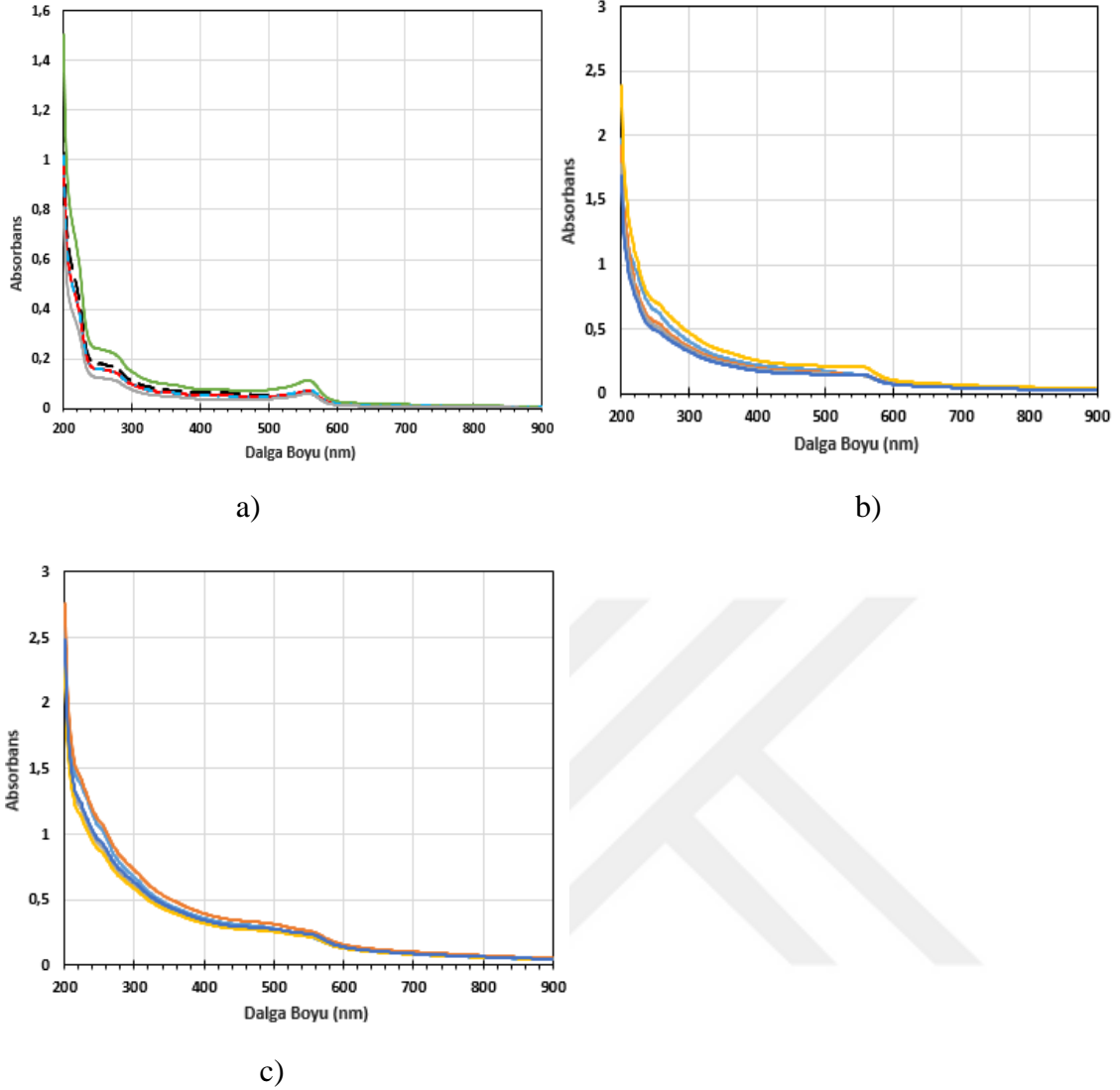
DMEM, EMEM ile kıyaslandığında iki kat daha yüksek konsantrasyonda amino asit ve dört kat yüksek konsantrasyonda vitamin ile ayrıca demir nitrat, sodyum piruvat ve bazı takviye amino asitleri içerir. Asıl formülasyonunda 1000 mg/L glikoz bulunur. DMEM herhangi bir protein veya büyüme faktörü içermeyen bazal bir hücre kültürü besi ortamıdır. Nano-taneciklerin stabilitesini değerlendirmek için, 0.1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml nGO-PEG-DOX konsantrasyonlarının DMEM kültür ortamı içerisinde, UV-VIS absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi gösterilmiştir (Şekil 8.9). Çeşitli zaman noktalarında DMEM kültür ortamına salınan 1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml konsantrasyonlarındaki nGO-PEG-DOX'un UV-VIS spektroskopisi kullanılarak ölçülmüştür. 1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml konsantrasyonda hazırlanmış olan nanoakışkanın zaman ile salınım gösteriyorsa süspansiyon içerisindeki

nanoparçacıklarınaglomera olduğu söylenebilir. 1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml konsantrasyonlara sahip nanoakışkanlar kuvvetli bir emme zirvesi göstermemişlerdir.



Şekil 8.9 a) 0.1/10ml DMEM, b) 0.5/10ml DMEM, c) 1.0/10ml DMEM,UV-VIS dalga boyu absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi.

EMEM, çok daha basit bir bazal ortmadan Harry Eagle tarafından formüle edilmiş ve çok sıklıkla kullanılmakta olan bir hücre kültür ortamıdır. Dengeli tuz çözeltisi, önemsiz derecede amino asitler ve sodyum piruvat içerir. Basit bir hücre kültürü besi ortamı olduğu için genellikle takviyeler veya daha yüksek serum konsantrasyonları ile birçok memeli hücre için kullanılır. Nano-taneciklerin stabilitesini değerlendirmek için, 0.1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml nGO-PEG-DOX konsantrasyonlarının EMEM kültür ortamı içerisinde, UV-VIS absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi gösterilmiştir (Şekil 8.10). EMEM ortamı içerisinde, 1ml/10ml, 0.5ml/10ml ve 1.0ml/10ml konsantrasyonlara sahip nanoakışkanlar kuvvetli bir emme zirvesi göstermemişlerdir.

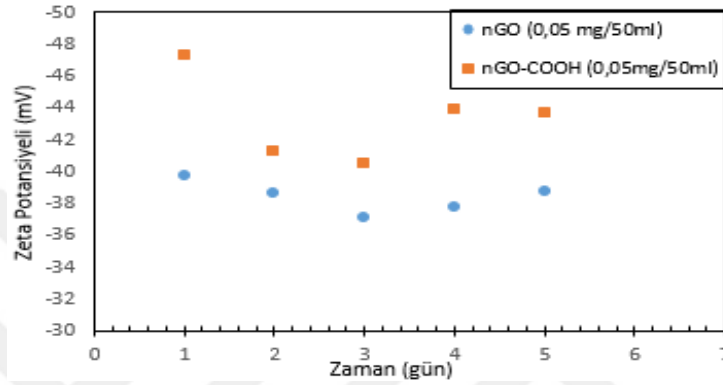


Şekil 8.10 a) 0.1/10ml EMEM, b) 0.5/10ml EMEM, c) 1.0/10ml EMEM, UV-VIS dalga boyu Absorbans spektrumlarının zaman ile değişimi.

8.5. ZETA Analizi

Nanoakışkan kararlılığı, nanoparçacıkların belli bir süre boyunca durgun taban akışkanı içerisinde çökmeden asılı durumda kalmaları olarak tanımlanır. Nanoakışkanların hazırlanmasında tüm araştırma grupları tarafından belirtilen ve büyük bir sorun olarak adlandırılan, nanoparçacıkların kümeleşme davranışında olmaları ve sonucunda kararlılıklarını kaybederek çökmeleridir. nGO ve nGO-COOH'un DI içerisinde modifikasyonlarını doğrulamak için Zeta potansiyel analizi kullanılmıştır (Şekil 8.11). Hazırlanan nGO ve nGO-COOH, DI içerisinde önemli bir kümeleşme olmadan 5 gün boyunca stabil kalmıştır. nGO ve nGO-COOH'un zeta potansiyeli (-37 ile -48) arasındadır bu da onları güçlü elektrostatik itme nedeniyle DI içerisinde tamamen dağılık ve stabil hale getirir. Bunun temel nedeni modifiye Hummers metodu ile

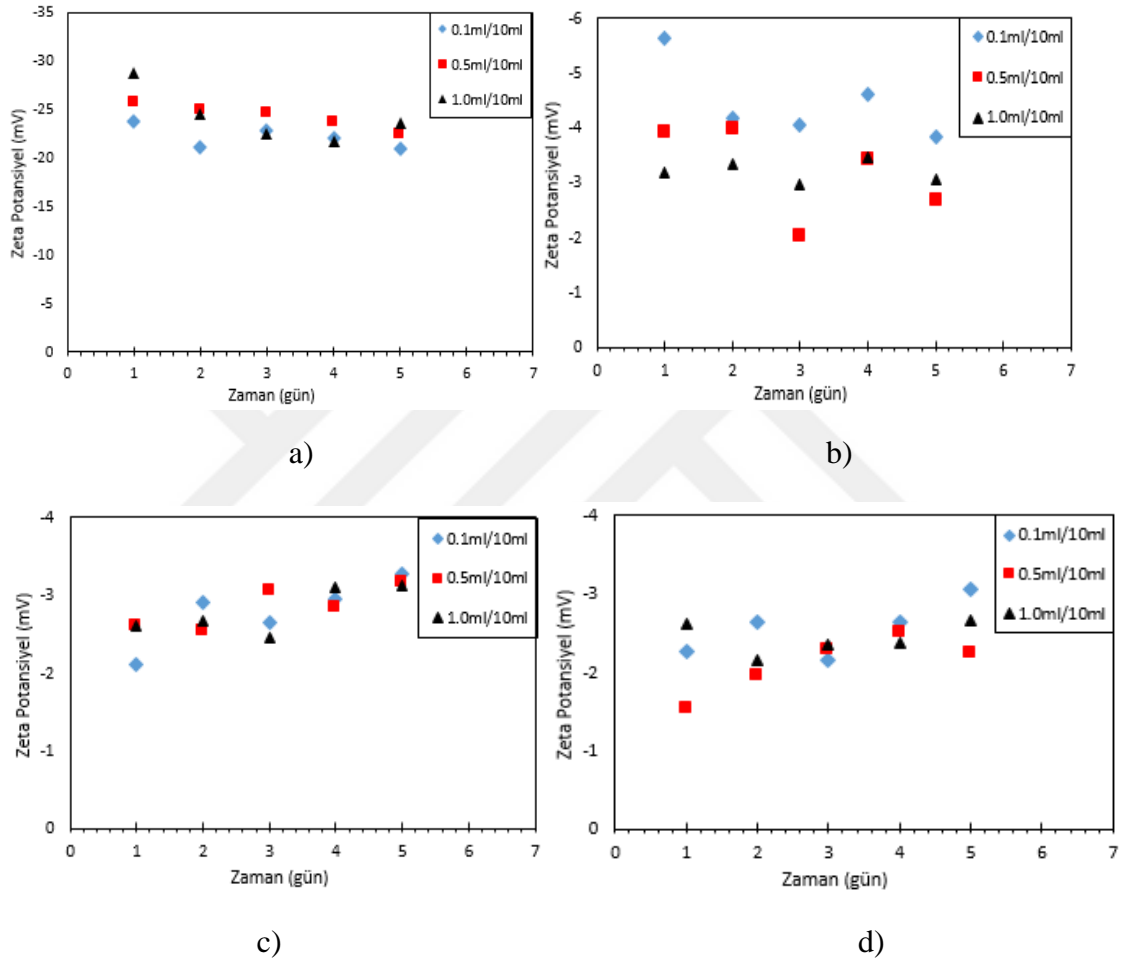
üretilen nGO'nun diğer üretilen metotlara göre daha iyi oksitlenmiş olduğu düşünülmektedir. Bilindiği üzere nanoparçacık yüzeyine bağlı olan hidroksil gruplar, nanoparçacıkların hidrofilik (su sever) özelliklerini arttırlar. Bu kapsamda modifiye Hummers metodu ile sentezlenen nGO ve nGO-COOH'un DI içerisindeindeki kararlılığı diğer metotlara göre daha iyi olduğundan modifiye Hummers metodu ile sentezlenen nanoparçacık yüzeylerine bağlanan -OH gruplarının diğer metotlara göre daha fazla sayıda olduğu tahmin edilmektedir.



Şekil 8.11 0.05mg/50 ml konsantrasyonda üretilen nGO ve nGO-COOH'un Zeta potansiyel-zaman eğrisi.

Literatürde nanoakışkan kararlılığını kontrol etmek ve zaman ile değişimini belirlemek üzere uygulanan iki yöntem vardır. Bunlardan birincisi nanoparçacıkların taban akışkanı içerisindeki zeta potansiyel değerlerinin zaman ile değişiminin incelenmesidir. Zeta potansiyel, nanoparçacık yüzeyi ve taban akışkanı arasında var olan elektriksel potansiyel olarak tanımlanmakta olup zeta potansiyel mutlak değeri nanoakışkan kararlılığı ile ilişkilidir. 0.1ml, 0.5ml ve 1.0ml konsantrasyonuna sahip nGO-PEG-DOX'un, Saf su, PBS, DMEM, EMEM ortamları içerisinde modifikasyonlarını doğrulamak için Zeta potansiyel analizi kullanılmıştır (Şekil 8.12). Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan nGO-PEG-DOX, Saf SU, DMEM, EMEM tampon çözeltilerinde önemli bir topaklaşma olmadan 5 gün süre boyunca stabil kalmıştır. PBS ortamında görünür şekilde ve diğer ortamlarda görünmez şekilde meydana gelen stabilitedeki azalmalar nGO tabakaları üzerindeki PEG zincirinin adsorpsiyonuna bağlıdır. PEG, PBS ortamında sürekli olarak polimer ağı oluşturamamıştır. Ayrıca, PBS ortamında viskozitesinin azalması, nGO yüzeyindeki aktif kısımların neden olduğu degradasyon etkisiyle ilişkili olabilir. Ayrıca nanoparçacık şekli, boyutu, kristal yapısı, taban akışkanı ve nanoparçacık yüzde fraksiyonu nanoakışkan kararlılığını etkileyen en

önemli parametrelerdir. Nanoparçacıkların yüksek enerji yüzeylerinden dolayı kolay kümeleşme eğiliminde bulunmaları, taban akışkanları içerisine çok iyi dağıtılmalarını güçleştirmektedir. Bu nedenle nanoakışkan araştırmalarında nanoparçacıkların taban akışkanı içerisindeki kümeleşme eğilimini kontrol etmek en önemli araştırma konuları arasındadır. Sonuç olarak, nGO-PEG-DOX, PBS ortamında daha kararsız olduğu görülmektedir.



Şekil 8.12 0.1ml, 0.5ml ve 1.0ml nGO-PEG-DOX'un 10ml a) Saf SU, b) PBS, c) DMEM, d) EMEM ortamları içerisindeki Zeta potansiyel-zaman eğrisi.

9. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında modifiye Hummers yöntemiyle nGO ve nGO-COOH nanoparçacıklarının sentezlenmesi ve sentezlenen bu nanoparçacıklara PEG bağlanması ve ardından DOX kanser ilacı bağlanarak farklı oranlarda DI su taban akışkanı ve EMEM, DMEM, PBS kültür ortamları içerisine dağıtılması ile üretilen nanoakışkanların karakterizasyonu, kararlılığı incelenerek elde edilen sonuçlar ayrıntılı olarak tartışılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

- Grafen Oksit (GO) nanomalzeme modifiye Hummers metodu kullanılarak sentezlenmiştir.
- Nanografen Oksit (nGO) nanomalzemeye karboksilgrubu -COOH bağlanmıştır.
- Fonksiyonel gruplar oksidasyon yoluyla eklenmiş ve PEG molekülleri N-(3- dimetilaminopropil-N'-etilkarbodiimid) hidroklorür (EDC) ile başarılı bir şekilde aşılmıştır.
- Daha sonra, çeşitli kanserleri tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan kemoterapi ilacı olan DOX nGO-PEG'e bağlanmıştır.
- nGO, nGO-COOH, nGO-PEG-DOX nanomalzemelerinin eldesi karakterizasyon analizleri ile doğrulanmıştır.
- Hazırlanan nGO-PEG-DOX diğer ortamlara kıyasla su içerisinde daha iyi bir kararlılık sergilemiştir.

KAYNAKLAR

- [1] **Carmona, M.M., Colilla, M., and Vallet-Regí M.** (2015), Smart Mesoporous Nanomaterials for Antitumor Therapy. *Nanomaterials*.5, 1906-1937.
- [2] **Wang, C., Chen, Y.-W., Zhang, L., Gong, X.-G., Zhou, Y., & Shang,** (2015a). Melanoma cell surface-expressed phosphatidylserine as a therapeutic target for cationic anticancer peptide, temporin-1CEa. *Journal of Drug Targeting*, 24, 548–556
- [3] **Byrne, J. D., Betancourt, T., & Brannon-Peppas, L.** (2008). Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*,60,1615–1626
- [4] **Ranjita M., Sarbari A. and Sanjeeb K. Sahoo** (2010). Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. *Drug Discovery Today* 15, 842,842-850.
- [5] **Hirak K. Patra and Anthony P.F. Turner**(2014). The potential legacy of cancer nanotechnology: cellular selection. *Trends in Biotechnology*, 22, 21-31
- [6] **L.A. Torre, F. Bray, R.L. Siegel, J. Ferlay, J. Lortet-Tieulent, A. Jemal,**(2015) Global cancer statistics 2012, *CA Cancer J. Clin.* 65,87–108
- [7] **Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN** (2012), Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Erişim Adresi: <http://globocan.iarc.fr>, Erişim Tarihi:16.01.2019
- [8] URL (<https://www.bbc.com/turkce/haberler-dunya-42936386>) Dünya Kanser Günü'nde Türkiye ve dünyada durum ne? Erişim Adresi: Alındığı tarihi: 04.03.2019
- [9] **Bray F, Znaor A, Cueva P, Korir A, Swaminathan R, Ullrich A, Wang SA, Parkin DM.** Planning and Developing Population-Based Cancer Registration in Low- and Middle- Income Settings IARC Technical Publication No. 43. Erişim Adresi: (<https://www.iarc.fr/>) Erişim Tarihi: 16.01.2019.
- [10] **Young JL Jr, Ward KC (eds).** (2013) *Kanser Kayıtlılığında Standartlar İçin El Kitabı Çeviri* Ed: Eser S, Ozalan S. Ankara
- [11] TÜİK. URL(<http://www.tuik.gov.tr>) “ Ölüm Nedeni İstatistikleri, 2014”.Erişim Adresi: Erişim Tarihi: 16.01.2019
- [12] **T.C Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu,** URL:(https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/2014-RAPOR_uzuuun.pdf) Erişim Tarihi: 15.02.2019.

- [13] **Youssef F, Cardwell C, Cantwell MM, Galway K, Brian T, Johnston BT, Murray L.** (2008). The incidence of esophageal cancer and high-grade dysplasia in Barrett's Esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*;168:237–249
- [14] **Desandes E., Lacour B, Belot A, Molinie F, Delafosse P, Tretarre B.** (2013) Cancer incidence and survival in adolescents and young adults in France 2000–2008. *Pediatr Hematol Oncol*;30 (May (4)):291–306
- [15] **Cowppli-Bony A, Uhry Z, Remontet L, Voirin N, Guizard AV, Tretarre B.** (2017) Survival of solid cancer patients in France, 1989–2013: a population-based study. *Eur J Cancer Prev* ;26 (November (6)):461–8.
- [16] **Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A.** (2018). CA: A Cancer Journal for Clinicians,68, 7-30.
- [17] **Beckham, T. H., Cheng, J. C., Marrison, S. T., Norris, J. S., & Liu, X.** (2013). *Advances in Cancer Research*, 117, 1-36
- [18] **Eto, M., Bennouna, J., Hunter, O. C., Hershberger, P. A., Kanto, T., Johnson, C. S.** (2003). *The Prostate*, 57, 66-79
- [19] **Nava, V. E., Cuvillier, O., Edsall, L. C., Kimura, K., Milstien, S., Gelmann, E. P.** (2000). *Cancer Research*, 60, 4468-4474
- [20] **Hajj, C., & Haimovitz-Friedman, A.** (2013). *Hand book of Experimental Pharmacology*, 115-130
- [21] **Cheng, J. C., Bai, A., Beckham, T. H., Marrison, S. T., Yount, C. L., Young, K** (2013). *Journal of Clinical Investigation*, 123, 4344-4358
- [22] **Bemis, D. L., Katz, A. E., & Buttyan, R.** (2006). *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 15, 1191-1200.
- [23] **Casasampere, M., Ordonez, Y. F., Pou, A., & Casas, J.** (2016). *Chemistry and Physics of Lipids*, 197, 33-44.
- [24] **Brizuela, L., Martin, C., Jeannot, P., Ader, I., Gstalder, C., Andrieu, G.** (2014). *Molecular Oncology*, 8, 1181-1195.
- [25] **Ader, I., Gstalder, C., Bouquerel, P., Golzio, M., Andrieu, G., Zalvidea, S.** (2015). *Onco target*, 6, 13803-13821.
- [26] **Cowppli-Bony A, Uhry Z, Remontet L, Voirin N, Guizard AV, Tretarre B.** (2017) Survival of solid cancer patients in France, 1989–2013: a population-based study. *Eur J Cancer Prev*;26(November (6)):461–8
- [27] **A.A. Ghazarian, B. Trabert, S.S. Devesa, K.A. McGlynn** (2015). Recent trends in the Incidence of testicular germ cell tumors in the United States, *Andrology* 3 (1)13–18.

- [28] **M.N. Shah, S.S. Devesa, K. Zhu, K.A. McGlynn**, (2007) Trends in testicular germ cell tumours by ethnic group in the United States, *Int. J. Androl.* 30 (4) 206–213 discussion 213–4.
- [29] **T. Zheng, T.R. Holford, Z. Ma, B.A. Ward, J. Flannery, P. Boyle**, (1996). Continuing increase in incidence of germ-cell testis cancer in young adults: experience From Connecticut, USA, 1935–1992, *Int. J. Cancer* 65 (6) 723–729.
- [30] **M.B. Cook, O. Akre, D. Forman, M.P. Madigan, L. Richiardi, K.A. McGlynn**, (2010) A systematic review and meta-analysis of perinatal variables in relation to the risk of testicular cancer—experiences of the son, *Int. J. Epidemiol.* 39 (6) 1605–1618.
- [31] **S.D. Fossa, J. Chen, S.J. Schonfeld, K.A. McGlynn, M.L. McMaster, M.H. Gail, L.B. Travis**, (2005) Risk of contralateral testicular cancer: a population-based study of 29,515 U.S. men, *J. Natl. Cancer Inst.* 97 (14) 1056–1066. .
- [32] **C.C. Lerro, K.A. McGlynn, M.B. Cook**, (2010) A systematic review and meta-analysis of the relationship between body size and testicular cancer, *Br. J. Cancer* 103 (9) 1467–1474
- [33] **K. Litchfield, H. Thomsen, J.S. Mitchell, J. Sundquist, R.S. Houlston, K. Hemminki, C. Turnbull**, (2015). Quantifying the heritability of testicular germ cell tumour using both population-based and genomic approaches, *Sci. Rep.* 5 13889
- [34] **L.A. Mucci, J.B. Hjelmborg, J.R. Harris, K. Czene, D.J. Havelick, T. Scheike, R.E. Graff, K. Holst, S. Moller, R.H. Unger, C. McIntosh, E. Nuttall, Brandt, K.L. Penney, M. Hartman, P. Kraft, G. Parmigiani, K. Christensen, M. Koskenvuo, N.V. Holm, K. Heikkila, E. Pukkala, A. Skytthe, H.O. Adami, J. Kaprio, Nordic Twin Study of Cancer C**, (2016). Familial risk and heritability of Cancer among twins in nordic countries, *JAMA* 315 (1) 68–76.
- [35] **John Lewis Ettera, Kevin Engb, Rikki Canniotoa, Jasmine Kaurc, Hani Almohannaa, Emad Alqassima, J. Brian Szenderc, Janine M. J osepha, Shashikant Lelec, Kunle Odunsi, d, Kirsten B. Moysicha**, (2018). *Cancer Epidemiology* 53 184–186
- [36] **Y. Zhang**, (2013) Epidemiology of esophageal cancer, *World J. Gastroenterol.* 19 5598-5606.
- [37] **N.A. Dallas, L. Xia, F. Fan, M.J. Gray, P. Gaur, G. van Buren 2nd, S. Samuel, M.P. Kim, S.J. Lim, L.M. Ellis**, (2009). Chemoresistant colorectal cancer cells, the cancer stem cell phenotype, and increased sensitivity to insulin-like growth factor-I receptor inhibition, *Canc. Res.* 69 1951-1957.
- [38] **T.K. Lee, A. Castilho, V.C. Cheung, K.H. Tang, S. Ma, I.O.** (2011) Ng, CD24(+) liver tumor-initiating cells drive self-renewal and tumor initiation through STAT3-mediated NANOG regulation, *Cell Stem Cell* 9 50-63.

- [39] **Siegel, R.L., Miller, K.D., Jemal, A.**(2016). Cancer statistics, 2016. CA. Cancer J. Clin. 66 (1), 7–30.
- [40] **Zang, J., Hu, Y., Xu, X., Ni, J., Yan, D., Liu, S., He, J., Xue, J., Wu, J., Feng, J.** (2017). Elevated serum levels of vascular endothelial growth factor predict a poor prognosis of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Oncol.Targets Ther.*10, 409–415.
- [41] **Chatziandreou, I., Tsioli, P., Sakellariou, S., Mourkioti, I., Giannopoulou, I.,Levidou, G.,Korkolopoulou, P., Patsouris, E., Saetta, A.A.,** 2015. Comprehensive molecular analysis of NSCLC; clinicopathological associations. *PLoS One* 10 (7), -e 0133859.
- [42] **Rossi, A., Di Maio, M.** (2016). Platinum-based chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: optimal number of treatment cycles. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 16(6), 653–660
- [43] **Keating, G.M.** (2016). Nivolumab: a review in advanced nonsquamous non-Small cell Lung cancer. *Drugs* 76 (9), 969–978.
- [44] **Cristina Alguacil-Núñez, Inés Ferrer-Ortiz, Elena García-Verdú, Pilar López- Pireza, Irene Maria Llorente-Cortijo, Bruno Sainz Jra,** (2018). Current perspectives on the crosstalk between lung cancer stem cells and cancer-associated fibroblasts, *Critical Reviews in Oncology / Hematology.*102,103, 102–110
- [45] URL http://seer.cancer.gov/csr/1975_2011/browse_csr.php?sectionSEL NCI Cancer SEER Erişim Adresi: Erişim Tarihi: 20.04.2019.
- [46] *Kanser Daire Başkanlığı. Tiroid Kanserleri, Dünyada ve Türkiye’de Tiroid Kanserleri. Rapor No:5, Ankara, 2012.*
- [47] **Mellin H, Friesland S, Lewensohn R, Dalia-nis T, Munck-Wikland E.** (2000) Human papilloma-virus (HPV) DNA in tonsillar cancer: clinical correlates, risk of relapse, and survival. *Int J Cancer*; 89:300–4
- [48] **Dalianis T.** (2014), Human papillomavirus and oro-pharyngeal cancer, the epidemics, and significance of additional clinical biomarkers for prediction of response to therapy (Review). *Int J Oncol*;44:1799–805.
- [49] **Marklund L, Nasman A, Ramqvist T, Dalia-nis T, Munck-Wikland Hammarstedt L.** (2012) Prevalence of human papillomavirus and survival in Oropharyngeal cancer other than tonsil or base of tongue cancer. *Cancer Med* ;1:82–8.
- [50] **Attner P, Du J, Nasman A, Hammarstedt L, Ramqvist T, Lindholm J, Marklund L, Dalianis T, Munck-Wikland E.** (2011), Human papilloma-virus and survival in patients with base of tongue cancer. *Int J Cancer*; 128: 2892–7.

- [51] **Ljokjel B, Haave H, Lybak S, Aarstad HH, Karlsdottir A, Vintermyr OK, Aarstad HJ.**(2014). The impact of HPV infection, smoking history, age and operability of the patient on disease-specific survival in a geographically defined cohort of patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngol*;134:964–73.
- [52] **Machtay M, Perch S, Markiewicz D, Thaler E, Chalian A, Goldberg A, Weinstein G.** (1997) Combined surgery and postoperative radiotherapy for carcinoma of the base of tongue: analysis of treatment outcome and prognostic value of margin status. *Head Neck*;19:494–9.
- [53] URL <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/en/>. World Health Organization. Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer. Erişim Tarihi: 03.03. 2019
- [54] URL <http://onkologia.org.pl/nawotworzyjki-macicy-kobiet/>; Cancer statistics reports for Poland, KRN. Erişim Tarihi: 03.03.2019
- [55] URL http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx. GLOBOCAN 2012 v1.0. Cervical Cancer Estimated Incidence, Mortality and Prevalence World wide in . Erişim Tarihi:02.03.2019
- [56] URL <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cervix.html>;National Cancer Institute. Erişim Tarihi: 24.02.2019
- [57] **Dastidar GA.**(2016). Is neo-adjuvant chemotherapy a better option for of cervical management cancerpatients of rural India? *Indian J Cancer* ;53:56-59.
- [58] **Chuang LT.** (2016) Management and care of women with invasive cervical cancer: American Society of Clinical Oncology resource-stratified clinical practice guideline. *J Glob Oncol* ;2(5):311-340
- [59] **LaVigne AW.** (2017). Cervical cancer in low and middle income countries: addressing barriers to radiotherapy delivery. *Gynecol Oncol Rep* ;22:16-20.
- [60] **Behrouzkia Z, Joveini Z, Keshavarzi B, Eyvazzadeh N, AghdamRZ.**(2016) Hyperthermia: how can it be used? *Oman Med J*,(2):89–97.9
- [61] **Bosch FX.** (2013). Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*.;31 suppl 7:H1-31.
- [62] Food and Drug Administration. Human Papilloma virus Vaccine. <https://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/vaccines/approvedproducts/ucm172678.htm>. Erişim Tarihi: 02.03.2019
- [63] **Van Krieking G.** (2014) Estimation of the potential overall impact of human Papi-lloma virus v accination on cervical cancer cases and deaths. *Vaccine*;32(6):733-9

- [64] **Brotherton JM.** (2011) Early effect of the HPV vaccination programme on cervical abnormalities in Victoria, Australia: an ecological study. *Lancet*; 377 (9783):2085.
- [65] **Chakkalakal RJ.**(2013). Implementing clinical guidelines in low-income settings: a review of literature. *Glob Public Health*;8(7):784-95.
- [66] **Yixiao Feng, Mia Spezia, Shifeng Huang , Chengfu Yuan, Zongyue Zeng, Linghuan Zhang, Xiaojuan Ji, Wei Liu, Bo Huang, Wenping Luo,Bo Liu Yan Lei, Scott Du, Akhila Vuppalapati, Hue H. Luu, Rex C. Haydon Tong-Chuan He, Guosheng Ren**(2018). Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular b Pathogenesis. (www.sciencedirect.com) 79, 77-106
- [67] **T. Sorlie, C.M. Perou, R. Tibshirani,**(2001), Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Nat Acad Sci U S A*,98(19): p. 10869-74.
- [68] **J.S. Parker, M. Mullins, M.C. Cheang,**(2009)., Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol*, **27**(8): p. 1160-7.
- [69] **Liu H-Tien, Ho Y-Soon,** (2018) Anticancer effect of curcumin on breast cancer and stem cells, *Food Science and Human Wellness* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.fshw.06.001>
- [70] **Enping Hong, Marina A. Dobrovolskaia.** (2018), Addressing barriers to effective cancer immunotherapy with nanotechnology: achievements, challenges, and road map to the next generation of nano immuno therapeutics, (www.elsevier.com/locate/addr), 5,1-20
- [71] **R. Siegel, D. Naishadham, A. Jemal.** (2012), Cancer statistics, *CA Cancer J. Clin.* 62 10–29.
- [72] **X. Dong, R.J. Mumper,** (2010) Nanomedicinal strategies to treat multi drug resistant tumors: current progress, *Nanomedicine (Lond.)* 5 (4) 597–615.
- [73] **X.J. Liang, C. Chen, Y. Zhao, P.C. Wang,** (2010) Circumventing tumor Resistance to chemotherapy by nanotechnology, *Methods Mol. Biol.* 596 467–488.
- [74] **L.P. Bignold,** (2006). Alkylating agents and DNA polymerases, *Anticancer Res.* 26 (2B) 1327–1336.
- [75] **EdCaN,** (2017). Alkylating and alkylating-like agents,
- [76] **Y. Tsutsumishita,** (1998)., Involvement of H₂O₂ production in cisplatin-induced nephrotoxicity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 242 (2) 310–312.
- [77] **H. Masuda, T. Tanaka, U. Takahama,** (1994). Cisplatin generates superoxide anion by interaction with DNA in a cell-free system, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 203(2) 1175–1180

- [78] **H.J. Shin**, (2016) Etoposide induced cytotoxicity mediated by ROS and ERK in human kidney proximal tubule cells, *Sci. Rep.* 6,34064.
- [79] URL (<http://chemoth.com/types/topois> F. Dr, Topoisomerase Inhibitors. erase). Erişim Tarihi: 03.02.2019
- [80] **E. Manchado, M. Guillaumot, M. Malumbres**, (2012). Killing cells by targeting mitosis, *Cell Death Differ.* 19 (3), 369–377.
- [81] **Csaba Hegedűsa, Katalin Kovácsb, Zsuzsanna Polgára, Zsolt Regdona, Éva Szabóc, Agnieszka Robaszkiewicz, Henry Jay Formane, Anna Martnerf, László Virága.**(2018). Redox control of cancer cell destruction, *Redox Biology* 16,59–74
- [82] **E.J. Derissen, J.H. Beijnen, J.H. Schellens**, (2013), Concise drug review azacitidine and decitabine, *Oncologist* 18 (5), 619–624.
- [83] URL (<https://www.cancer.gov>).N.C. Institute, Photodynamic Therapy for Cancer, 2011
- [84] **E.E. Kelley**, (1997) Increased efficacy of in vitro Photofrin photosensitization of human oral squamous cell carcinoma by iron and ascorbate, *J. Photochem Photobiol. B* 40 (3),273–277.
- [85] **J. Luo**, (2006). Inactivation of primary antioxidant enzymes in mouse Keratinocytes by photodynamically generated singlet oxygen, *Antioxid. Redox Signal.* 8 (7– 8). 1307–1314
- [86] **H.P. Wang**, (2001). Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase protect against singlet oxygen-induced cell damage of photodynamic therapy, *Free Radic. Biol. Med.* 30 (8) 825–835.
- [87] **D.W. Kufe, R. P, R.R. Weichselbaum**, (Eds.), (2003). *Holland-Frei Cancer Medicine*, 6th edition, BC Decker, Hamilton, ON
- [88] **C. Zhu**, (2017) Alpha-particle radiotherapy: for large solid tumors diffusion, trumps targeting *Biomaterials* 130, 67–75.
- [89] **T. Okada**. (2010). Carbon ion radiotherapy: clinical experiences at National Institute of Radiological Science (NIRS), *J. Radiat. Res.* 51 (4) 355–364
- [90] **O. Sartor, B. M, C.R. Hauck, R.M. Macklis**, (2012). Targeted use of alpha particles: current status in cancer therapeutics, *J. Nucl. Med. Radiat. Ther.* 3,136.
- [91] **D. Eriksson, T. Stigbrand**, (2010). Radiation-induced cell death mechanisms *Tumour Biol.*31 (4) 363–372

- [92] URL (<https://www.macmillan.org.uk>). M.C. Support, What is Radiotherapy?, (2017).
- [93] **L.P. Bignold**, (2006) Alkylating agents and DNA polymerases, *Anticancer Res.* 26(2B) 1327–1336.
- [94] **S.A. Rosenberg, J.C. Yang, N.P.**(2004).Restifo, Cancer immunotherapy:moving beyond current vaccines, *Nat. Med.* 10, 909–915.
- [95] **P.W. Kantoff, C.S. Higano, N.D. Shore, E.R. Berger, E.J. Small, D.F. Penson, C.H. Redfern, A.C. Ferrari, R. Dreicer, R.B. Sims, Y. Xu, M.W. Frohlich, P.F. Schellhammer**, (2010). I.S. Investigators, Sipuleucel-T immunotherapy for Castrationresistant prostate cancer, *N. Engl. J. Med.* 363 (5) 411–422.
- [96] **L.G. Gomella, F. Gelpi-Hammerschmidt, C. Kundavram**, (2014). Practical guide to immunotherapy in castration-resistant prostate cancer: the use of sipuleucel-T immunotherapy, *Can. J. Urol.* 21,48–56.
- [97] **E.A. Mittendorf, G.T. Clifton, J.P. Holmes, K.S. Clive, R. Patil, L.C. Benavides, J.D. Gates, A.K. Sears, A. Stojadinovic, S. Ponniah, G.E.** (2012). Peoples, Clinical trial results of the HER-2/neu (E75) vaccine to prevent breast cancer recurrence in high-risk patients: from US Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study I-01 and I-02, *Cancer* 118 (10) 2594–2602.
- [98] **G.T. Clifton, V. Gall, G.E.** (2016). Peoples, E.A. Mittendorf, development of the Clinical E75 vaccine in breast cancer, *Breast Care (Basel)* 11 (2) 116–121.
- [99] **P.A. Ott, Z. Hu, D.B. Keskin, S.A. Shukla, J. Sun, D.J. Bozym, W. Zhang, A. Luoma, A. Giobbie-Hurder, L. Peter, C. Chen, O. Olive, T.A. Carter, S. Li, D.J. Lieb, T. Eisenhaure, E. Gjini, J. Stevens, W.J. Lane, I. Javeri, K. Nellaiappan, A.M. Salazar, H. Daley, M. Seaman, E.I. Buchbinder, C.H. Yoon, M. Harden, N. Lennon, S. Gabriel, S.J. Rodig, D.H. Barouch, J.C. Aster, G. Getz, K. Wucherpfennig, D. Neuberg, J. Ritz, E.S. Lander, E.F. Fritsch, N. Hacohen, C.J. Wu**, (2017). An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma, *Nature* 547 (7662) 217–221.
- [100] **U. Sahin, E. Derhovanessian, M. Miller, B.P. Kloke, P. Simon, M. Lower, V. Bukur, A.D. Tadmor, U. Luxemburger, B. Schrors, T. Omokoko, M. Vormehr, C. Albrecht, A. Paruzynski, A.N. Kuhn, J. Buck, S. Heesch, K.H. Schreeb, F. Muller, I. Ortseifer, I. Vogler, E. Godehardt, S. Attig, R. Rae, A. Breitkreuz, C. Tolliver, M. Suchan, G. Martic, A. Hohberger, P. Sorn, J. Diekmann, J. Ciesla, O. Waksman, A.K. Bruck, M. Witt, M. Zillgen, A. Rothermel, B. Kasemann, D. Langer, S. Bolte, M. Diken, S. Kreiter, R. Nemecek, C. Gebhardt, S. Grabbe, C. Holler, J. Utikal, C. Huber, C. Loquai, O. Tureci**, (2017). Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer, *Nature* 547 (7662) 222–226.

- [101] **B.M. Carreno, V. Magrini, M. Becker-Hapak, S. Kaabinejadian, J. Hundal, A.A. Petti, A. Ly, W.R. Lie, W.H. Hildebrand, E.R. Mardis, G.P. Linette**, (2015) Cancer immunotherapy. A dendritic cell vaccine increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen-specific T cells, *Science* 348 (6236) 803–808.
- [102] **Biomarkers definitions working group**, *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001) 69,89–95.
- [103] **A.K. Füzéry, J. Levin, M.M. Chan, D.W. Chan**, *Clin. Proteom.* 10, 13.
- [104] **F. Beca, K. Polyak**, (2016) *Adv. Exp. Med. Biol.* 882 169–189
- [105] **G.J. Kelloff, C.C. Sigman**, *Nat. Rev. Drug Discov.* 11 201–214.
- [106] **A. Mordente, E. Meucci, G.E. Martorana, A. Silvestrini**, (2015). *Adv. Exp. Med. Biol.* 867,9–26.
- [107] **A.B. Chinen, C.M. Guan, J.R. Ferrer, S.N. Barnaby, T.J. Merkel, C.A. Mirkin**, *Chem. Rev.* 115, 10530–10574.
- [108] **S. De Masi, M.E. Tosti, A. Mele**, *Dig. Liver Dis.* 37 (2005) 260–268.
- [109] **Fei Yea, Ying Zhaoa, Ramy El-Sayed, Mamoun Muhammed, Moustapha Biswas A, Bayer IS, Biris AS, Wang T, Dervishi E, Faupel F** (2012). Advances in top–down and bottom–up surface nanofabrication: Techniques, applications & future prospects. *Advances in colloid and interface science*;170:2-27.
- [110] **Sahoo, S.K. and Labhassetwar, V.** (2003) Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discov. Today* 8, 1112–1120
- [111] **Feynman RP.** (1960) There's plenty of room at the bottom. *Engineering and science* ;23:22-36
- [112] **Tolochko N.**(2009). History of nanotechnology. *Nanoscience and nanotechnology*
- [113] **Binnig G, Rohrer H.** Scanning tunneling microscopy. *Surface* 1983;126:236–44
- [114] **Binnig G, Quate CF, Gerber C.** (1986) Atomic force microscope. *Physical review letters science* ;56:930
- [115] **Schaming D, Remita H.** (2015). Nanotechnology: from the ancient time To nowadays. *Foundations of Chemistry*; 17:187-205.
- [116] **Saeid K., Masoud M.** (2018). Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big *Materials Today: Proceedings* 5, 15492–15500

- [117] **Feynman RP.** (1960) There's plenty of room at the bottom. *Engineering and science* ;23:22-36.
- [118] **Tolochko N.**(2009).History of nanotechnology. *Nanoscience and nanotechnology*
- [119] **Binnig G, Rohrer H.** Scanning tunneling microscopy. *Surface* 1983;126:236 44
- [120] **Stern S.T., Hall J.B., Yu L.L., Wood L.J., Paciotti G.F., Tamarkin L., Long S.E., McNeil S.E.**(2010)- Translational considerations for cancer nanomedicine. - *J. Control.Release*, 146, 164-174,
- [121] **F. Yuan, M. Leunig, S.K. Huang, D.A. Berk, D. Papahadjopoulos, R.K. Jain**(1994) Microvascular permeability and interstitial penetration of sterically stabilized (stealth) liposomes in a human tumor xenograft, *Cancer Res.* 54 3352–3356.
- [122] **Ameya R. Kirtane, Stephen M. Kalscheuer , Jayanth Panyam** (2013). Exploiting nanotechnology to overcome tumor drug resistance: Challenges and opportunities, *Advanced Drug Delivery Reviews* 65,1731–1747
- [123] **Khazima Muazim, Zakir Hussain** (2017), Graphene oxide — A platform towards theranostics, *Materials Science and Engineering C* 76, 1274–1288
- [124] **Kargozar S, Mozafari M, Hashemian SJ, Brouki Milan P, Hamzehlou S, Soleimani M, et al.** (2016). Osteogenic potential of stem cells-seeded bioactive nanocomposite scaffolds: A comparative study between human mesenchymal stem cells derived from bone, umbilical cord Wharton's jelly, and adipose tissue. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*
- [125] **Peng X, Peng L, Wu C, Xie Y.** (2014). Two dimensional nanomaterials for flexible supercapacitors. *Chemical Society Reviews* ; 43:3303-23.
- [126] **Johari B, Kadivar M, Lak S, Gholipourmalekabadi M, Urbanska AM, Mozafari M, et al.** (2016). Osteoblast-seeded bioglass/gelatin nanocomposite: a promising bone substitute in critical-size calvarial defect repair in rat. *The International journal of artificial organs*;39:524-33
- [127] **Samadikuchaksaraei A, Gholipourmalekabadi M, Erfani Ezadyar E, Azami M, Mozafari M, Johari B, et al.** (2016). Fabrication and in vivo evaluation of an osteoblast-conditioned nano-hydroxyapatite/gelatin composite scaffold for bone tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*;104:2001-10
- [128] **Resnik, D.B. Tinkle, S.S.** (2007). Ethics in nanomedicine. *Nanomedicine*(London, England). 2 (3), 345–350

- [129] **Bobo D, Robinson KJ, Islam J, Thurecht KJ, Corrie SR.** (2016). Nanoparticle-based medicines: a review of FDA-approved materials and clinical trials to date. *Pharmaceutical research* ;33:2373-87.
- [130] **Dobrovolskaia MA.** (2015).Pre-clinical immunotoxicity studies of nanotechnology-formulated drugs: Challenges, considerations and strategy. *Journal of Controlled Release*;220:571-83
- [131] **Stander, L., Theodore, L.**(2011).Environmental implications of nanotechnology —an update. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 8 (2), 470–479
- [132] **M. Hamidi, A. Azadi, P. Rafiei,** (2008), Hydrogel nanoparticles in drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60, 1638–1649
- [133] **J.G. Huang, T. Leshuk, F.X. Gu,** (2011), Emerging nanomaterials for targeting subcellular organelles, *Nano Today* 6,478–492.
- [134] **K. Ueda, C. Cardarelli, M.M. Gottesman, I. Pastan,** (1987). Expression of a full-length cDNA for the human “MDR1” gene confers resistance to colchicine, doxorubicin, and vinblastine, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 84,3004–3008
- [135] **E.M. Leslie, R.G. Deeley, S.P. Cole,** (2005), Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 204,216–237
- [136] **A. Zuchowska, M. Chudy, A. Dybko, Z. Brzozka,** (2017), Graphene as a new material in anticancer therapy-in vitro studies. *Sensors and Actuators B* 243, 152–165
- [137] **C. Lee, X. Wei, J.W. Kysar, J. Hone,** (2008). *Science* 321,385–388
- [138] **Williams. Hummersjr, And Richarde. Offeman** (1957), Preparation of Graphitic Oxide, 1339
- [139] **Gao X, Jang J, Nagase S.** (2009). Hydrazine and thermal reduction of graphene oxide:reaction mechanisms, product structures, and reaction design. *J Phys Chem C* ;114:832-42
- [140] **Jingquan Liu, Liang Cui , Dusan Losic** (2013), Graphene and graphene oxide as new nanocarriers for drug delivery applications, *Acta Biomaterialia* 9, 243–9257
- [141] **Zerrin Sezgin Bayındır, Nilüfer Yüksel,** (2007). Pegilasyon: Peg Konjugatlarının Hazırlanması Ve Uygulamaları, *Ankara Ecz. Fak.Derg. J.Fac.Pharm,* Ankara 36 (4) 249 - 266,
- [142] **Vestal, C.R., Zhang, Z.J.,** (2002). *Chem. Mater.* 14, 3817–3822.

- [143] **Nijssen J, Zonnenberg B, Woittiez J, Rook D, Swildens-van Woudenberg I, Van Rijk P, et al.**(1999) Holmium-166 poly lactic acid microspheres applicable for intra-arterial radionuclidetherapy of hepatic malignancies: effects of preparation and neutron activation techniques. *Eur J Nucl Med* ;26:699–704
- [144] **Jinyoung Jeong , Hyun-Ju Cho, Mijin Choi, Wang Sik Lee, Bong Hyun Chung, Jeong-Soo Lee,**(2015) In vivo toxicity assessment of angiogenesis and the live distribution of nano-graphene oxide and its PEGylated derivatives using the developing zebrafish embryo, *Carbon*, 93431-440
- [145] **Teng Zhou, Bo Zhang, PengWei, Yipeng Du, Hejiang Zhou, Meifang Yu, Liang Yan, Wendi Zhang, Guangjun Nie, Chunying Chen, Yaping Tu, Taotao Wei,** (2014), Energy metabolism analysis reveals the mechanism of inhibition of breast cancer cell metastasis by PEG-modified graphene oxide nanosheets, *Biomaterials* 35 9833-9843
- [146] **Chunzhi Huang, Jilian Wua, Wei Jianga, Ruiling Liua, Zhonghao Lib, Yuxia Luan,**(2018). Amphiphilic prodrug-decorated graphene oxide as a multi-functional drug delivery system for efficient cancer therapy, *Materials Science & Engineering C* 89,15–24
- [147] **H. Shen, L. Zhang, M. Liu, Z. Zhang,** (2012) .Biomedical applications of graphene, *Theranostics* 2, 283–294, <http://dx.doi.org/10.7150/thno.3642>
- [148] **Mero A, Ishino T, Chaiken I, Veronese F, Pasut G.**(2011). Multivalent and flexible PEG entrilotriacetic acid derivatives for non-covalent protein pegylation. *Pharm Res.* ;28:2412-2421
- [149] **M. Khatamian, B. Divbandb, F. Farahmand-zahed,** (2016). Synthesis and characterization of Zinc (II)-loaded Zeolite/Graphene oxide nanocomposite as a new drug carrier, *Materials Science and Engineering C* 66, 251–258
- [150] **S. Jaworski, E. Sawosz, M. Grodzik, A. Winnicka, M. Prasek, M. Wierzbicki, A. Chwalibog,** (2013). In vitro evaluation of the effects of graphene platelets on glioblastoma multiforme cells, *Int. J. Nanomedicine* 8, 413–420.
- [151] **Liu,F.S.**(2009).Mechanisms of chemotherapeutic drug resistance in cancer therapy A quick review. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*, 48(3), 239–244. [https://doi.org/10.1016/S1028-4559\(09\)60296-5](https://doi.org/10.1016/S1028-4559(09)60296-5)
- [152] **Lai, G.H. et al.** (2003) Celecoxib acts in a cyclooxygenase-2-independent manner and in synergy with emodin to suppress rat cholangiocarcinoma growth in vitro through a mechanism involving enhanced Akt inactivation and increased activation of caspases-9 and -3. *Mol. Cancer Ther.* 2, 265–271
- [153] **P. Shivakumar, M.U. Rani, A.G. Reddy, Y. Anjaneyulu,** (2012). A study on the toxic effects of doxorubicin on the histology of certain organs, *Toxicol. Int.* 19, 241–244.

- [154] **J. Zhang, L. Cui, X. Han, Y. Zhang, X. Zhang, X. Chu, F. Zhang, Y. Zhang, L. Chu**, (2017). Protective effects of tannic acid on acute doxorubicin-induced cardiotoxicity: involvement of suppression in oxidative stress, inflammation, and apoptosis, *Biomed Pharmacother* 93, 1253–1260
- [155] **S. Mandziuk, R. Gieroba, A. Korga, W. Matysiak, B. Jodlowska-Jedrych, F. Burdan, E. Poleszak, M. Kowalczyk, L. Grzycka-Kowalczyk, E. Korobowicz, A. Jozefczyk, J. Dudka**, (2015). The differential effects of green tea on dose-dependent doxorubicin toxicity, *Food Nutr. Res.* 59
- [156] **M. Modarresia, Y. Manoochehrib, F. Ahmadia, L. Hosseinzadeha**, Protective effects (2017). of glabridin against cytotoxicity and oxidative stress induced by doxorubicin in PC12 cells, *J. Rep. Pharm. Sci.* 6, 1–12
- [157] **A.M. Kabel**, (2018). Zinc/alogliptin combination attenuates testicular toxicity induced by doxorubicin in rats: role of oxidative stress, apoptosis and TGF- β 1/NF- κ B signaling, *Biomed Pharmacother* 97,439–449
- [158] **İsmail Tiyek, Utkay Dönmez, Behzat Yıldırım, Mehmet Hakkı Alma, Mehmet Sabri Ersoy, Şükrü Karataş, Mustafa Yazıcı** (2016). Kimyasal yöntem ile indirgenmiş grafen oksit sentezi ve karakterizasyonu. *SAÜ Fen Bil Der* 20. Cilt, 2. Sayı, s. 349-357,
- [159] **S. Divya, D. Madhuri, M. Lakshman, A. Gopal Reddy**, (2017). Pathological and ultrastructural changes in testis of rats due to dox toxicity and its amelioration with quercetin, *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6, 2295–2306.
- [160] **Jackman JA, Cho D-J, Lee J, Chen JM, Besenbacher F, Bonnell DA, et al.** (2016). Nanotechnology education for the global world: training the leaders of tomorrow. ACS Publications
- [161] **Dong H, Gao Y, Sinko PJ, Wu Z, Xu J, Jia L.** (2016). The nanotechnology race between China and the United States.;11:7-12.
- [162] **Roco MC, Mirkin CA, Hersam MC.** (2011). Nanotechnology research directions for societal needs in 2020: summary of international study. Springer;.
- [163] **Naghavi Alhosseini S, Moztarzadeh F, Kargozar S, Dodel M, Tahriri M.** (2015). Development of polyvinyl alcohol fibrous biodegradable scaffolds for nerve tissue engineering applications: In vitro study. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*; 64:474-80.
- [164] **Ranjbar-Mohammadi M, Kargozar S, Bahrami SH,** (2015). Joghataei MT. Fabrication of curcumin-loaded gum tragacanth/poly(vinyl alcohol) nanofibers with optimized electrospinning parameters. *Journal of Industrial Textiles*, 46:1192
- [165] **Gao L., Zhang D., Chen M., Duana C., Dai W., Jia L., Zhaoa W.** (2008)- Studies on pharmacokinetics and tissue distribution of oridonin nanosuspensions. - *Int. J. Pharm.*,355, 321-327.

- [166] **Pileni, M., Fendler, J.H.**,(1998). *Nanocrystals Forming Mesoscopic Structures*. Wiley-VCH, New York
- [167] **Chow EK-H, Ho D.** (2013). Cancer nanomedicine: from drug delivery to imaging. *Science translational medicine*;5:216rv4-rv4.
- [168] **Kargozar S, Hashemian SJ, Soleimani M, Milan PB, Askari M, Khalaj V, et al.** (2017). Acceleration of bone regeneration in bioactive glass/gelatin composite scaffolds seeded with bone marrow-derived mesenchymal stem cells over-expressing bonemorphogenetic protein-7. *Materials Science and Engineering: C*;75:688-98.
- [169] **Ramamoorth M, Narvekar A.**(2015). Non viral vectors in gene therapy-an overview. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*;9:GE01.
- [170] **Saadatpour Z, Rezaei A, Ebrahimnejad H, Baghaei B, Bjorklund G, Chartrand M, et al.**(2016). Imaging techniques: new avenues in cancer gene and cell therapy. *Cancer gene therapy*
- [171] **Pelgrift RY, Friedman AJ.**(2013). Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Advanced drug delivery reviews*;65:1803-15.
- [172] **Amjadi I, Rabiee M, Hosseini M, Mozafari M.** (2012). Synthesis and characterization of doxorubicin-loaded poly (lactide-coglycolide) nanoparticles as a sustained-release anticancer drug delivery system. *Applied biochemistry and biotechnology* ;168:1434-47
- [173] **Gregoriadis G, Swain C, Wills E, Tavill A.** Drug-carrier potential of liposomes in cancer chemotherapy. *The Lancet* 1974;303:1313-6
- [174] **Tyner K., Sadrieh N.** (2011)- Considerations when submitting nanotherapeutics to FDA/CDER for regulatory review. - In: S.E. McNeil (Ed.), *Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery, Method in Molecular Biology*, vol. 697, 2011, doi 10.1007/978-1-60327-198_3
- [175] **Mohammadi MR, Nojoomi A, Mozafari M, Dubnika A, Inayathullah M, Raja-das J.**(2017). Nanomaterials engineering for drug delivery: a Hybridization approach. *Journal of Materials Chemistry B*;5:3995-4018
- [176] **Liu Y, Mai S, Li N, Yiu CKY, Mao J, Pashley DH, et al.** (2011). Differences between top-down and bottom-up approaches in mineralizing thick, partially demineralized collagen scaffolds. *Acta Biomaterialia*;7:1742-51
- [177] **Cooper KP, Wachter RF.** (2013). Nanomanufacturing: path to implementing nanotechnology. *International Journal of Nanomanufacturing*; 9:540-54.
- [178] **Vasiliev, P.O., Faure, B., Sing Ng, J.B., Bergstrom, L.** (2008). *J. Colloid Interface Sci.* 319, 144–151
- [179] **Trommelen, A.M., Crosby, E.J.**,(2004). *AIChE J.* 16, 857–867.

- [180] **Mirkin, C.A., Letsinger, R.L., Mucic, R.C., Storhoff, J.J.**, (1996). *Nature* 382, 607–609.
- [181] **Jiang, W., Zhang, X., Sun, Z., Fang, Y., Li, F., Chen, K., Huang, C.**, (2011). *J. Magn. Magn. Mater.* 323, 2741–2747.
- [182] **A.T. Woolley**, (2001) Biomedical microdevices and nanotechnology, *TRENDS Biotechnol.* 19,38-39.
- [183] **P. Boisseau, B. Loubaton**,(2011) Nanomedicine, nanotechnology in medicine, *Comptes Rendus Phys.* 12 620-636.
- [184] **L. Brannon-Peppas, J.O. Blanchette**,(2012) Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy, *Adv. drug Deliv. Rev.* 64 ,206-212.
- [185] **Nair, R.R. et al.** (2008) Fine structure constant defines visual transparency of graphene *Science* 320 1308–1308
- [186] **Lee C, Wei X, Kysar JW, Hone J.** (2008). Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene. *Science*;321(5887):385–8.
- [187] **F. Alexis, J.-W. Rhee, J.P. Richie, A.F. Radovic-Moreno, R. Langer, O.C. Farokhzad**, *New frontiers in nanotechnology for cancer treatment*, in: *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, Elsevier, 2008, pp. 74-85.
- [188] **Y. Matsumura, H. Maeda**, A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumor tropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs, *Cancer Res.* 46 (1986) 6387–6392.
- [189] **H.S. Choi, W. Liu, F. Liu, K. Nasr, P. Misra, M.G. Bawendi, J.V. Frangioni**, (2010). Design considerations for tumour-targeted nanoparticles, *Nat. Nanotechnol.* 5, 42–47.
- [190] **A.K. Gupta, M. Gupta**,(2005) Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Biomaterials* 26,3995–4021
- [191] **Lavanya R, Surya VJ, Lakshmi I, Iyakutti K, Vasu V, Mizuseki H, Kawazoe Y.**(2014).Hydrogen storage in TiO₂ functionalized (10, 10) single walled carbon nanotube(SWCNT) e First principles study. *International journal of hydrogen energy*; 39 : 4973-4980
- [192] **C.J. Li, Y. Miyamoto, Y. Kojima, H. Maeda**, Augmentation of tumour delivery of macromolecular drugs with reduced bone marrow delivery by elevating blood pressure, *Br. J. Cancer* 67 975–980.
- [193] **E.S. Lee, Z. Gao, D. Kim, K. Park, I.C. Kwon, Y.H. Bae**,(2008) Super pH-sensitive multifunctional polymeric micelle for tumor pH(e) specific TAT exposure and multidrug resistance, *J. Control. Release* 129 228–236.

- [194] **H. Maeda, G.Y. Bharate, J. Daruwalla**, (2009) Polymeric drugs for efficient tumor-targeted drug delivery based on EPR-effect, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 71,409–419.
- [195] **N. Dinauer, S. Balthasar, C. Weber, J. Kreuter, K. Langer, H. von Briesen**, (2005) Selective targeting of antibody-conjugated nanoparticles to leukemic cell and primary T-lymphocytes, *Biomaterials* 26,5898–5906
- [196] **M.Y. Kim, T. Oskarsson, S. Acharyya, D.X. Nguyen, X.H. Zhang, L. Norton, et al.**, (2009) .Tumor self-seeding by circulating cancer cells, *Cell* 139,1315–1326
- [197] **W.S. Tsai, J.S. Chen, H.J. Shao, J.C. Wu, J.M. Lai, S.H. Lu, et al.**, (2016) Circulating tumor cell count correlates with colorectal neoplasm progression and is a prognostic marker for distant metastasis in non-metastatic patients, *Sci. Rep.* 24517 doi:10.1038/srep24517
- [198] **Mills JK, Needham D.** (1999); Targeted drug delivery. *Expert Opin Ther Pat* 9:1499–513
- [199] **Schiffelers, R.M., Ansari, A., Xu, J., Zhou, Q., Tang, Q., Storm, G., Molema, G., Lu, P.Y., Scaria, P.V., Woodle, M.C.**, (2004). Cancer siRNA therapy by tumor selective delivery with ligand-targeted sterically stabilized nanoparticle. *Nucleic Acids Res.* 32 (19), e149.
- [200] **Chen, W., Cormode, D.P., Fayad, Z.A., Mulder, W.J.M.**, (2011) Nanoparticles as magnetic resonance imaging contrast agents for vascular and cardiac diseases. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 3 (2), 146–161
- [201] **D.J. Irvine, M.C. Hanson, K. Rakhra, T. Tokatlian**, (2015) Synthetic nanoparticles for vaccines and immunotherapy, *Chem. Rev.* 115,11109–11146.
- [202] **L.M. Kranz, M. Diken, H. Haas, S. Kreiter, C. Loquai, K.C. Reuter, M. Meng, D. Fritz, F. Vascotto, H. Hefesha, C. Grunwitz, M. Vormehr, Y. Husemann, A. Selmi, A.N. Kuhn, J. Buck, E. Derhovanessian, R. Rae, S. Attig, J. Diekmann, R.A. Jabulowsky, S. Heesch, J. Hassel, P. Langguth, S. Grabbe, C. Huber, O. Tureci, U. Sahin**, (2016) Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy, *Nature* 534,396–401.
- [203] **D.J. Irvine, J.J. Moon**, (2014). Lipid vesicle compositions and methods of use,.
- [204] **J.J. Moon, H. Suh, A.V. Li, C.F.** (2012) Ockenhouse, A. Yadava, D.J. Irvine Enhancing humoral responses to a malaria antigen with nanoparticle vaccines that expand Tfh cells and promote germinal center induction, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109,1080–1085
- [205] **Akbudak S.**, “**Grafenin keşfi**”, (2012). Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi, *Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Nanobülten-16: 5-10*

- [206] **K. Spyrou, P. Rudolf**, (2014). An Introduction to Graphene, in: V. Georgakilas (Ed.), *Functionalization of Graphene*, first ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, pp. 1–20
- [207] **S. Pei, H.M. Cheng**,(2012) The reduction of graphene oxide, *Carbon* 50, 3210–3228, <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbon.2011.11.010>.
- [208] **Park S. And Ruoff R.**,(2009) “Chemical methods for the production of graphene”, *Nature Nanotechnology*, 4: 217-224,
- [209] **Topçu A.A.**, (2012) “A green pathway for the production of chemically exfoliated graphene sheets with the assistance of microwave irradiation”, Master of Science, Koç University, Material Science and Engineering, İstanbul, 15,.
- [210] **Song N.,Yang J. Ding P., Tang S., Liu Y., And Shi L.**, (2014) “Effect of covalent-functionalized graphene oxide with polymer and reactive compatibilization on thermal properties of maleic anhydride grafted polypropylene”, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(51): 19951–19960,.
- [211] **Y. Zhang, S.F. Ali, E. Dervishi, Y. Xu, Z. Li, D. Casciano, A.S. Biris**, (2010) Cytotoxicity effects of graphene and single-wall carbon nanotubes in neuralphaeochromocytoma-Derived PC12Cells, *ASC Nano* 4,3181–3186.
- [212] **W. Hu, C. Peng, M. Lv, X. Li, Y. Zhang, N. Chen, C. Fan, Q. Huang**, (2011).ProteinCorona-mediated mitigation of cytotoxicity of graphene oxide, *ASC Nano* 5,3693–3700.
- [213] **V. Rastogi, P. Yadav, S.S. Bhattacharya, A.K. Mishra, N. Verma, A. Verma, J.Kumar Pandit**, (2014), Carbon nanotubes: an emerging drug carrier for targetingcancer cells, *J. Drug Deliv.*.
- [214] **D.G. Wang, Z.A. Xu, H.J. Yu, X.Z. Chen, B. Feng, Z.R. Cui, et al.**,(2014).Treatment of metastatic breast cancer by combination of chemotherapy and photothermal ablation using doxorubicin-loaded DNA wrapped goldnanorods, *Biomaterials* 35, 8374–8384.
- [215] **Z.M. Markovic, L.M. Harhaji-Trajkovic, B.M. Todorovic-Markovic, D.P. Kepi,K.M. Arsin, S.P. Jovanovi, A.C. Pantovic, M.D. Dramicanin, V.S. Trajkovic**,(2011) In vitro comparison of the photothermal anticancer activity of graphenenanoparticles and carbon nanotubes, *Biomaterials* 32 1121–1129.
- [216] **J.T. Robinson, S.M. Tabakman, Y. Liang, H. Wang, H.S. Casalongue, D. Vinh, H.Dai**, (2011) Ultrasmall reduced graphene oxide with high near-infrared absorbancefor photothermal therapy, *J. Am. Chem. Soc.* 133,6825–6831.

- [217] **Rezvani Z, Venugopal JR, Urbanska AM, Mills DK, Ramakrishna S, Mozafari M** (2016). A bird's eye view on the use of electrospun nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering: Current state-of-the-art, emerging directions and future trends. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*;12:2181-200.
- [218] **Mozafari M, Moztarzadeh F, Seifalian AM, Tayebi L.** (2013) Self-assembly of PbS hollow sphere quantum dots via gas-bubble technique for early cancer diagnosis. *Journal of Luminescence*;133:188-93.
- [219] **Touri R, Moztarzadeh F, Sadeghian Z, Bizari D, Tahriri M, Mozafari M.** (2013) The Use of Carbon Nanotubes to Reinforce 45S5 Bioglass-Based Scaffolds for Tissue Engineering Applications. *BioMed Research International* ;2013:8.
- [220] **Mozafari M, Moztarzadeh F, Tahriri M.**(2011) Green synthesis and characterisation of spherical PbS luminescent micro-and nanoparticles via wet chemical technique. *Advances in Applied Ceramics*;110:30-4.
- [221] **Hauck TS, Jennings TL, Yatsenko T, Kumaradas JC, Chan WCW.** (2008) Enhancing the toxicity of cancer chemotherapeutics with gold nanorod hyperthermia. *Adv Mater*;20:3832-8.
- [222] **Yang X, Zhang X, Liu Z, Ma Y, Huang Y, Chen Y.** (2008) High-efficiency loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride on graphene oxide. *J Phys Chem C*;112:17554-8
- [223] **Zhang X, Yin J, Peng C, Hu W, Zhu Z, Li W, et al.**(2011) Distribution and biocompatibility studies of graphene oxide in mice after intravenous administration. *Carbon*;49:986–95.
- [224] **Lieschke GJ, Currie PD.** (2007) Animal models of human disease: zebrafish swim into view. *Nat Rev Genet*;8:353–67.
- [225] **Fako VE, Furgeson DY.**(2009) Zebrafish as a correlative and predictive model for assessing biomaterial nanotoxicity. *Adv Drug Deliv Rev*;61:478–86.
- [226] **O. Akhavan, E. Ghaderi,** (2012) *Escherichia coli* bacteria reduce graphene oxide to bactericidal graphene in a self-limiting manner, *Carbon* 50 (5) 1853-1860.
- [227] **D.R. Dreyer, S. Park, C.W. Bielawski, R.S. Ruoff,**(2010).The chemistry of graphene oxide, *Chem. Soc. Rev.* 39,228–240
- [228] **Y. Tan, Y. Song, Q. Zheng,** (2012) Hydrogen bonding-driven rheological modulation of chemically reduced graphene oxide/poly (vinyl alcohol) suspensions and its application in electrospinning, *Nanoscale* 4, 6997–7005.
- [229] **Binnig G, Quate CF, Gerber C.** Atomic force microscope. *Physical review letters science* 1986;56:930

- [230] **Schaming D, Remita H.** (2015). Nanotechnology: from the ancient time to nowadays. *Foundations of Chemistry*;17:187-205.
- [231] **Saeid K., Masoud M.** (2018). Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. *Materials Today: Proceedings* 5, 15492–15500
- [232] **Lina A. Al-Ani , Mohammed A. AlSaadi , Farkaad A. Kadir, Najihah M. Hashim, Nurhidayatullaili M. Julkapli , Wageeh A. Yehye** (2017). Graphene gold based nanocomposites applications in cancer diseases; Efficient detection and therapeutic tools, *European Journal of Medicinal Chemistry* 139, 349-366
- [233] **Javad Safari , Zohre Zarnegar** (2014). Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design A review, *Journal of Saudi Chemical Society* 18, 85–99
- [234] **Zibin Gao, Linan Zhang, Yongjun Sun** (2012). Nanotechnology applied to overcome tumor drug resistance. *Journal of Controlled Release* 162 ,45–55
- [235] **Barbara Zavan, Eriberto Bressan** (2016) Dental Stem Cells: Regenerative Potentia (1-249)
- [236] **D.B. Warheit, M.Ch. Sayes, K.L. Reed, et al.,** (2008). Health effects for assessing hazards and risk, *Pharmacol. Ther.* 120, 35–42.
- [237] **Resnik, D.B. Tinkle, S.S.** ,(2007). Ethics in nanomedicine. *Nanomedicine (London,England)*. 2 (3), 345–350
- [238] **Stone, V., Hankin, S., Aitken, R., Aschberger, K., Baun, A., Christensen, F., et al,** (2010). Engineered Nanoparticles: Review of Health and Environmental Safety (ENRHES). Project Final Report. European Commission
- [239] **D.V. Bazile** (2014), Nanotechnologies in drug delivery – An industrial perspective, *J. DRUG DEL. SCI. TECH.*, 24 (1) 12-21
- [240] **Yu Gao, Jingjing Xie, Haijun Chen, Songen Gu , Rongli Zhao, Jingwei Shao, LeeJia** (2014). Nanotechnology-based intelligent drug design for cancer metastasis treatment, *Biotechnology Advances* 32,761–777
- [241] **Yong Xin, Qian Huang, Jian-Qin Tang, Xiao-Yang Hou, Pei Zhang, Long Zhen Zhang, Guan Jiang** (2016). Nanoscale drug delivery for targeted chemotherapy. *Cancer Letters* 379,24–31
- [242] **Nie S, Xing Y, Kim GJ, Simons JW.** (2007) Nanotechnology applications in cancer. *Annu Rev Biomed Eng*;9:257–88
- [243] **Lina A. Al-Ani, Mohammed A. AlSaadi, Farkaad A. Kadir, Najihah M. Hashim, Nurhidayatullaili M. Julkapli, Wageeh A. Yehye** (2017). Graphene gold based nanocomposites applications in cancer diseases; Efficient detection and therapeutic tools. *European Journal of Medicinal Chemistry* 139,349-366

- [244] **Buddolla Viswanath, Sanghyo Kim** (2016), Recent insights into the development of nanotechnology to detect circulating tumor cells. *Trends in Analytical Chemistry* 82,191–198
- [245] **T. Masuda, N. Hayashi, T. Iguchi, S. Ito, H. Eguchi, K. Mimori**, (2016). Clinical and biological significance of circulating tumor cells in cancer, *Mol. Oncol* doi:10.1016/j.molonc
- [246] **H. Min, S.M. Jo, H.S. Kim**, (2015). Efficient capture and simple quantification of circulating tumor cells using quantum dots and magnetic beads, *Small* 11,2536–2542
- [247] **Hou W-C, Westerhoff P, Posner JD**. (2013) Biological accumulation of engineered nanomaterials: a review of current knowledge. *Environmental Science: Processes & Impacts*;15:103-22
- [248] URL <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la304645w>. What Is the Contact Angle of Water on Graphene? Erişim Tarihi: 02.03,2019
- [249] **Bayram Yıldız** (2016), grafenin kaymalı yataklara uygulanması (yüksek lisans tezi), amukkale üniversitesi fen bilimleri enstitüsü makina mühendisliği anabilim dalı
- [250] **Evren Erikli Arif Hasanoğlu**, (2018) Grafen Oksit/ Aramid ve Grafen/Aramid Kompozitlerinin Geliştirilmesi. *Ç.Ü Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* Yıl Cilt: 35-6
- [251] **K. Spyrou, P. Rudolf**, (2014) An Introduction to Graphene, in: V. Georgakilas (Ed.), *Functionalization of Graphene*, first ed., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, pp. 1–20.
- [252] **L. Torrisi, L. Silipigni, M. Cutroneo** (2018). Radiation effects of IR laser on graphene oxide irradiated in vacuum and in air *Vacuum* 153,122-131
- [253] **Jumana Abdul Jaleel, S.Sruthi,K.Pramod** (2017) Reinforcing nanomedicine Using graphene family nanomaterials,*Journal of Controlled Release* 255,218–230
- [254] **R. Heyrovska**,(2008). Atomic structures of graphene, Benzene and methane with bond lengths as sums of the single, double and resonance bond radii of carbon, eprintar Xiv:0804.4086, *General Physics [physics.gen-ph]*, 1–4.
- [255] **Williams. Hummersjr, And Richarde. Offeman** (1957), Preparation of Graphitic Oxide, 1339
- [256] **A.G. Bannov, A. Manakhov, A.A. Shibaev, A.V. Ukhina, J. Polčák, E.A.Maksimovski**, (2018). Synthesis dynamic of graphite oxide. *Thermochimica Acta* 663,165–175

- [257] **Yu Gao, Jingjing Xie, Haijun Chen, Songen Gu , Rongli Zhao, Jingwei Shao, Lee Jia** (2014). Nanotechnology-based intelligent drug design for cancer metastasis treatment, *Biotechnology Advances* 32, 761–777
- [258] **H. He, T. Riedl, A. Lerf, J.**(1996), Klinowski, Solid-state NMR studies of the structure of graphite oxide, *J. Phys. Chem.* 100 (51) 19954–19958
- [259] **C. Zheng, X. Zhou, H. Cao, G. Wang, Z. Liu,** (2014). Synthesis of porous graphene/activated carbon composite with high packing density and large specific surface area for supercapacitor electrode material, *J. Power Sources* 258, 290-296.
- [260] **Xiaoming Sun, Zhuang Liu, Kevin Welsher, Joshua Tucker Robinson, Andrew Goodwin, Sasa Zaric, and Hongjie Dai,** (2008) Nano-Graphene Oxide for Cellular Imaging and Drug Delivery, *Nano Res.* ; 1(3): 203–212. doi:10.1007/s12274-008-8021-8.
- [261] **Honglian Xiong, Zhouyi Guo, Wen Zhang, Huiqing Zhong, Songhao Liu, Yanhong Ji** (2014). Redox-responsive biodegradable PEGylated nanographene oxide for efficiently chemo-photothermal therapy: A comparative study with non-biodegradable PEGylated nanographene oxide, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 138,191–20
- [262] **Jingqin Chen, Hongyu Liu, Chubiao Zhao, Guiqi Qin, Gaina Xi, Tan Li, Xiaoping Wang, Tongsheng Chen** (2014), One-step reduction and PEGylation of graphene oxide for photothermally controlled drug delivery, *Biomaterials* 35,4986-4995
- [263] **Ying Qua, Feng Hea, Chenggong Yua, Xuewu Lianga, Dong Lianga, Long Mab, Qiuqiong Zhanga, Jiahui Lva, Jingde Wua,** (2018) , Advances on graphene-based nanomaterials for biomedical applications. *Materials Science & Engineering C* 90,764–780
- [264] **Lian Yu, Long Wang, Weicheng Xu, Limin Chen, Mingli Fu, Junliang Wu, Daiqi Ye,** (2018). Adsorption of VOCs on reduced graphene oxide. *Journal of Environmental Sciences* 67,171–178
- [265] **Sathish Reddy, Xiaoting Xu, Ting Guo, Rong Zhu, Liumin He and Seeram Ramakrishana** (2018) Allotropic carbon (graphene oxide and reduced graphene oxide) based biomaterials for neural regeneration, www.sciencedirect.com
- [266] **Yan Li, Yuan Gao, Chunai Gong, Zhuo Wang, Qingming Xia, Fenfen Gu, Chuling Hu, Lijuan Zhang, Huiling Guo, Shen Gao** (2018), A33 antibody-functionalized exosomes for targeted delivery of doxorubicin against colorectal Cancer. *S1549-9634,30473-8*
- [267] **Hong Zhao, Ruihua Ding, Xin Zhao, Yiwei Li, Liangliang Qu, Hao Pei, Lara Yildirim, Zhengwei Wu and Weixia Zhang,** (2017), Graphene-based nanomaterials for drug and/or gene delivery, bioimaging, and tissue engineering *Drug Discovery Today*, Volume 22, Number 9 September 2017

- [268] **Mahapatra, S.S., Karak, N.**, (2008). *Mater. Chem. Phys.* 112, 1114–1119.
- [269] **Hartmann, M.**,(2005). *Chem. Mater.* 17, 4577–4593.
- [270] **Jonathan Zarzara,1, Whitney Shatzb,1, Nikhil Peerc, Rosalynn Tainga, Brian McGarryd, Yun Liue,f, Daniel G. Greenef, Isidro E. Zarraga,** (2018). Impact of polymer geometry on the interactions of protein-PEG conjugates, *Biophysical Chemistry* 236, 22–30
- [271] **Xiaoying Yang, Xiaoyan Zhang, Zunfeng Liu, Yanfeng Ma, Yi Huang, and Yongsheng Chen,** (2008). High-Efficiency Loading and Controlled Release of Doxorubicin Hydrochloride on Graphene Oxide, *J. Phys. Chem. C*, 112, 17554–17558
- [272] **Sarwar Hossen, M. Khalid Hossain, M.K. Basher, M.N.H. Mia, M.T. Rahman, M. Jalal Uddin,** Smart nanocarrier-based drug delivery systems for cancer therapy and toxicity studies: A review, S2090-1232(18)30079-1
- [273] **Wen Zhang, Zhouyi Guo*, Deqiu Huang, Zhiming Liu, Xi Guo, Huiqing Zhong,** (2011). Synergistic effect of chemo-photothermal therapy using PEGylated graphene oxide, *Biomaterials* 32, 8555-8561
- [274] **Junghyun Kim, Michael Jay,** (2017). Neutron-activatable radionuclide cancer therapy using graphene oxide nanoplatelets, *Nuclear Medicine and Biology* 52, 42–48
- [275] **Yinchan Luo , Xinxing Yang, Xiaofang Tan , Ligeng Xu , Zhuang Liu, Jie Xiao, Rui Peng,**(2016). Functionalized graphene oxide in microbial engineering: An effective stimulator for bacterial growth, *Carbon* 103, 172-180
- [276] **Ruiwen Shu, Qing Yin, Honglong Xing, Dexin Tan, Ying Gan, Guocai Xu,** (2016). Colloidal and rheological behavior of aqueous graphene oxidedispersions in the presence of poly(ethylene glycol), *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 488, 154–161
- [277] **Liu Z, Robinson JT, Sun X, Dai H.** (2008). PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs. *J Am Chem Soc*;130:10876-7.
- [278] **L. Zhang, Z. Lu, Q. Zhao, J. Huang, H. Shen, Z. Zhang,** (2011). Enhanced chemotherapy efficacy by sequential delivery of siRNA and anticancer drugs using PEI-grafted graphene oxide, *Small* 7, 460–464, <http://dx.doi.org/10.1002/sml.201001522>
- [279] **Jing Xie, Zhaogang Yang, Chenguang Zhou, Jing Zhub, Robert J. Lee, Lesheng Teng,** (2016). Nanotechnology for the delivery of phytochemicals in cancer therapy, *Biotechnology Advances* 34, 343–353
- [280] **Christian Reichert, Gerrit Borchard,** (2016). Noncovalent PEGylation, An Innovative Subchapter in the Field of Protein Modification, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 105, 386-390

- [281] **Rui Li, Yan Xie**, (2017). Nanodrug delivery systems for targeting the endogenous tumor microenvironment and simultaneously overcoming multidrug resistance properties, *Journal of Controlled Release* 251,49–67
- [282] **Y. Wang, K. Wang, J. Zhao, X. Liu, J. Bu, X. Yan, R. Huang**, (2013). Multifunctional mesoporous silica-coated graphene nanosheet used for chemophotothermally synergistic targeted therapy of glioma, *J. Am. Chem. Soc.* 135, 4799–4804,
- [283] **M. Sarfraz, A. Afzal, S.M. Raza, S. Bashir, A. Madni, M.W. Khan, X. Ma, G. Xiang**, (2017). Liposomal co-delivered oleanolic acid attenuates doxorubicin-induced multi-organ toxicity in hepatocellular carcinoma, *Oncotarget* 8, 47136–47153
- [284] **Narsireddy Amreddy, Anish Babu, Ranganayaki Muralidharan, Janani Panne-erselvam, Akhil Srivastava, Rebaz Ahmed, Meghna Mehta, Anupama, Munshi, Rajagopal Ramesh**, (2018). Recent Advances in Nanoparticle-Based Cancer Drug and Gene Delivery, *Advances in Cancer Research* Volume 137 # Elsevier <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2017.11.003>
- [285] **Herman, T. S., Teicher, B. A., Jochelson, M., Clark, J., Svensson, G. Coleman, C. N.**(1988). Rationale for use of local hyperthermia with radiation therapy and selected anticancer drugs in locally advanced human malignancies. *International Journal of Hyperthermia*, 4(2), 143–158
- [286] **Priyambada Parhi, Chandana Mohanty and Sanjeeb Kumar Sahoo**, (2012). Nanotechnology-based combinational drug delivery: an emerging approach for cancer therapy, *Drug Discovery Today* Volume 17, Numbers 17/18
- [287] **Arivalagan Pugazhendhia, Thomas Nesakumar Jebakumar Immanuel Edison, Bharath Kumar Velmuruganc, Joe Antony Jacobd, Indira Karuppusamy**, (2018). Toxicity of Doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems, *Life Sciences* 200, 26–30
- [288] **Lancet, J.E. et al.** (2009) A phase I trial of continuous infusion of the multidrug resistance inhibitor zosuquidar with daunorubicin and cytarabine in acute myeloid leukemia. *Leuk. Res.* 33, 1055–1061
- [289] **Y. QuanJun, Y. GenJin, W. LiLi, H. YongLong, H. Yan, L. Jie, H. Jin Lu, L. Jin, G. Run, G. Cheng**, (2017). Protective effects of dexrazoxane against doxorubicin-induced cardiotoxicity: a metabolomic study, *PLoS One* 12,0169567
- [290] **Y. Wang, K. Wang, J. Zhao, X. Liu, J. Bu, X. Yan, R. Huang**, (2013). Multifunctional mesoporous silica-coated graphene nanosheet used for chemophotothermally synergistic targeted therapy of glioma, *J. Am. Chem. Soc.* 135, 4799–4804, <http://dx.doi.org/10.1021/ja312221g>

- [291] **G. Di Stefano, L. Fiume, M. Domenicali, C. Busi, P. Chieco, F. Kratz, M. Lanza, A. Mattioli, M. Pariali, M. Bernardi**, (2006). Doxorubicin coupled to lactosaminated albumin: effects on rats with liver fibrosis and cirrhosis, *Dig. Liver Dis.* 38, 404–408
- [292] **Oleaga, C. Bernabini, A.S.T. Smith, B. Srinivasan, M. Jackson, W. McLamb, V. Platt, R. Bridges, Y. Cai, N. Santhanam, B. Berry, S. Najjar, N. Akanda, X. Guo, C. Martin, G. Ekman, M.B. Esch, J. Langer, G. Ouedraogo, J. Cotovio, L. Breton, M.L. Shuler, J.J. Hickman**, (2016). Multi-Organ toxicity demonstration in a functional human in vitro system composed of four organs, *Sci. Rep.* 6, srep20030.
- [293] **S. Kocahan, Z. Dogan, E. Erdemli, E. Taskin**, (2017). Protective effect of quercetin against oxidative stress-induced toxicity associated with doxorubicin and cyclophosphamide in rat kidney and liver tissue, *Iran. J. Kidney Dis.* 11, 124–131
- [294] **Brinker, C.J., Scherer, G.**, (1990). *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Elsevier, The Netherlands
- [295] **Loo, C., Hirsch, L., Lee, M., Chang, E., West, J., Halas, N., Drezek, R.**, (2005). *Opt. Lett.* 30, 1012–1014
- [296] **Moghim SM, Hunter AC, Murray JC**. (2001). Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory and practice. *Pharmacol Rev.*;53(2):283–318
- [297] **Scott, B.J., Wirnsberger, G., Stucky, G.D.**, (2001). *Chem. Mater.* 13,3140–3150
- [298] **Kresge, C.T., Leonowicz, M.E., Roth, W.J., Vartuli, J.C., Beck, J.S.**, (1992). *Nature* 359, 710–712
- [299] **Monfared AH, Zamanian A, Beygzadeh M, Sharifi I, Mozafari M** (2017). A rapid and efficient thermal decomposition approach for the synthesis of manganese-zinc/oleylamine core/shell ferrite nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds* ;693:1090-5
- [300] **V. Cottet, A. Pariente, B. Nalet, J. Lafon, C. Milan, S. Olschwang, et al.**, (2006). *Aliment. Pharm. Therap.* 24, 101–109.
- [301] **Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, Shaw H, Desai N, Bhar P, et al.** (2005). Phase III Trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol* ;23(31):7794–803
- [302] **N.L. Henry, D.F. Hayes**, *Mol. Oncol.* 6 (2012) 140–146.
- [303] **D. Iglesias-Gato, P. Wikström, S. Tyanova, C. Lavallee, E. Thysell, J. Carlsson, et al.**, (2016) *Euro. Urol.* 69 942–952

- [304] **S.S. Hori, S.S. Gambhir**, (2011) *Sci. Transl. Med.* 3 109 ra116.
- [305] **Mario Coccia, Lili Wang** (2015). Path-breaking directions of nanotechnology-based chemotherapy and molecular cancer therapy. *Technological Forecasting & Social Change* 94,155–169
- [306] **Bertrand, N., Wu, J., Xu, X., Kamaly, N., Farokhzad, O.C.** (2014). Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 66 (Feb.), 2–25.
- [307] **Xiaowen Yu, Huhu Cheng, Miao Zhang, Yang Zhao, Liangti Qu, Gaoquan and Shi** (2017). Graphene-based smart materials, 1-13
- [308] **Mustafa Yazıcı, İsmail Tiyek, M. Sabri Ersoy, M. Hakkı Alma, Utkay Dönmez, Behzat Yıldırım, Tufan Salan, Şükrü Karataş, Serhan Uruş İbrahim Karteri, Kübra Yıldız** (2016). Modifiye Hummers Yöntemiyle Grafen Oksit(GO) Sentezi ve Karakterizasyonu. *Gazi University Journal of Science GU J Sci Part C* 4(2):41-48
- [309] **M. Hamidi, P. Rafiei, A. Azadi**, (2008) Designing PEGylated therapeutic molecules: advantages in ADMET properties, *Expert Opin. Drug Discov.* 3,1293–1307
- [310] **S.D. Li, L. Huang**, (2006), Targeted delivery of antisense oligodeoxynucleotide and small interference RNA into lung cancer cells, *Mol. Pharm.* 3 ,579–588.
- [311] **Y. Patil, T. Sadhukha, L. Ma, J. Panyam**, (2009) Nanoparticle-mediated simultaneous and targeted delivery of paclitaxel and tariquidar overcomes tumor drug resistance, *J. Control. Release* 136, 21–29.
- [312] **R.K. Jain, T. Stylianopoulos**,(2010) Delivering nanomedicine to solid tumors, *Nat. Rev. Clin.Oncol.* 7,653–664.
- [313] **M.M. Gottesman**,(2002) Mechanisms of cancer drug resistance, *Annu. Rev. Med.* 53 615–627
- [314] **D.E. Campton, A.B. Ramirez, J.J. Nordberg, N. Drovetto, A.C. Klein, P. Varshavskaya, et al.**,(2015), High-recovery visual identification and single-cell retrieval of circulating tumor cells for genomic analysis using a dual-technology platform integrated with automated immunofluorescence staining, *BMC Cancer* 15,360
- [315] **W. Li, E. Reategui, M.H. Park, S. Castleberry, J.Z. Deng, B. Hsu, et al.**, (2015) Biodegradable nano-films for capture and non-invasive release of circulating tumor cells, *Biomaterials* 65 93–102.
- [316] **Veiseh O, Kievit FM, Ellenbogen RG, Zhang M.** (2011) Cancer cell invasion treatment and monitoring opportunities in nanomedicine. *Adv Drug Deliv Rev*;63:582– 96.

- [317] **Davis ME, Chen ZG, Shin DM.** (2008). Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer. *Nat Rev Drug Discov*;7:771–82.
- [318] **Fonseca, N.A., Gregório, A.C., Valério-Fernandes, A., Simões, S., Moreira, J.N.,**(2014). Bridging cancer biology and the patients' needs with nanotechnology-based approaches. *Cancer Treat. Rev.* 40 (5), 626–635.
- [319] **Hull, L.C., Farrell, D., Grodzinski, P.,** (2014). Highlights of recent developments and trends in cancer nanotechnology research — view from NCI alliance for nanotechnology in cancer. *Biotechnol. Adv.* 32 (4), 666–678.





ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Ertuğrul Çelik
Doğum Yeri ve Tarihi	Ankara, 22.01.1988
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü 58140 Sivas
E-posta Adresi	ertugrulcelik88@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Ş.Koçhisar Süper Lisesi, 2006
Ön Lisans	Aksaray Üniversitesi, 2010
Lisans	Anadolu Üniversitesi, 2013
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2015
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2019

İş Tecrübesi

Mutlucan Tuz Fabrikası	Kimya Mühendisi, 2015
Ş.Koçhisar Fen Lisesi	Matematik ve Kimya Öğretmeni, 2019