

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANSER İLİNTİLİ ENFEKSİYONLARIN TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE
DOYMAMIŞ YAĞ ASİDİ TEMELİNE DAYANAN NANOPARTİKÜL KATKILI
KİTOSAN KOMPOZİT MEMBRANLARIN HAZIRLANMASI

NANOTEKNOLOJİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ABDULLAH KIZALOĞLU

HAZİRAN 2019

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANSER İLİNTİLİ ENFEKSİYONLARIN TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE
DOYMAMIŞ YAĞ ASİDİ TEMELİNE DAYANAN NANOPARTİKÜL KATKILI
KİTOSAN KOMPOZİT MEMBRANLARIN HAZIRLANMASI

NANOTEKNOLOJİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Abdullah KIZALOĞLU

DANIŞMAN : Doç. Dr. Ebru KILIÇAY
İKİNCİ DANIŞMAN : Doç. Dr. Zeynep KARAHALİLOĞLU

ZONGULDAK
Haziran 2019

KABUL:

Abdullah KIZALOĞLU tarafından hazırlanan “Kanser İlintili Enfeksiyonların Tedavisinde Kullanılmak Üzere Doymamış Yağ Asidi Temeline Dayanan Nanopartikül Katkılı Kitosan Kompozit Membranların Hazırlanması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 02/07/2019

Danışman: Doç. Dr. Ebru KILIÇAY

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Zonguldak Meslek Yüksek Okulu,
Elektronik ve Otomasyon Bölümü



Üye: Doç. Dr. Barts AVAR

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve
Malzeme Mühendisliği Bölümü



Üye: Doç. Dr. Abdulkadir ALLI

Düzce Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım./..../2019



Prof. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



"Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim."

Abdullah KIZALOĞLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KANSER İLİNTİLİ ENFEKSİYONLARIN TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE DOYMAMIŞ YAĞ ASİDİ TEMELİNE DAYANAN NANOPARTİKÜL KATKILI KİTOSAN KOMPOZİT MEMBRANLARIN HAZIRLANMASI

Abdullah KIZALOĞLU

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Nanoteknoloji Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ebru KILIÇAY

İkinci Danışman: Doç. Dr. Zeynep KARAHALİLOĞLU

Haziran 2019, 69 sayfa

Sunulan çalışma, kanser tedavisi ve antibakteriyel uygulamalar için doymamış yağ asidi temeline dayanan taşıyıcı sistem ile dekore edilmiş kitosan membranının tasarımını içermektedir. Bu amaçla, antitümoral ve antimikrobiyal özelliklere sahip uygun bir ilaç, nanopartiküler formülasyona yüklenmiştir ve nanopartikül formülasyonu, kanser tedavisi sırasında bağışıklık sisteminin zayıflaması nedeniyle oluşabilecek tümörle ilişkili enfeksiyonların önlenmesi için kitosan membran içerisine emdirilmiştir. Bu çalışmada, polistiren-g-poliolenik-g-polietilen glikol (PS-g-Poleic-g-PEG) graft kopolimerleri serbest radikal polimerizasyonu yoluyla sentezlenmiş olup, fizikokimyasal karakterizasyonları Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) ve Proton Nükleer Manyetik Rezonans (¹H-NMR) ile yapılmıştır. Boş PS-Poleic-PEG nanopartikülleri (NPs) ve farklı konsantrasyonlardaki kafeik asit yüklü PS-Poleic-PEG NP'ler (Caff NPs) [2: 1-1: 1 polimer/

ÖZET (devam ediyor)

ilaç (w/w)] çözücü buharlaştırma tekniği ile hazırlanmıştır. NP'lerin boy-boy dağılımı, bazı parametrelerin değiştirilmesi yoluyla yapılmıştır.

NP'lerin kısa süreli stabilitesi 4 ° C' de depolama koşullarında 30 gün boyunca incelenmiştir. İlaç yüklü NP'lerin ilaç enkapsülasyon ve yükleme etkinlikleri değerlendirilmiştir. Kitosan membran (CHT membran) ve Caff NPs-CHT membranlar başarıyla üretilmiştir. Caff NPs-CHT kompozit membranları yaklaşık 50 gün boyunca kontrollü salım göstermiştir. Elde edilen CHT membran ve Caff NPs-CHT membranların mekaniksel özellikleri, Boş NPs-CHT membraninkilerden daha yüksek gözlenmiştir. Caff NPs kompozit membranlar, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı CHT membranına kıyasla mükemmel antibakteriyel özellik göstermiştir. *In vitro* kültür ortamında SaOS-2 insan osteosarkomunun ve MC3T3-E1 preosteoblast hücre hatları, tüm örneklerin antikanser aktivitesi MTT analizi yoluyla değerlendirilmiş olup, akış sitometrisi ve çift boyama metodları ile de doğrulanmıştır. Sonuç olarak, tasarlanan yeni ilaç salım platformu, kemik kanseri vakalarında kanser tedavisi esnasında kansere bağlı enfeksiyonların önlenmesinde büyük bir potansiyel göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kanserle ilişkili enfeksiyonlar; kafeik asit, kitosan; oleik asit; nanopartikül

Bilim Kodu:

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

THE PREPARATION OF CHITOSAN MEMBRANE IMPROVED WITH NANOPARTICLES BASED ON UNSATURATED FATTY ACID FOR USING IN CANCER RELATED INFECTIONS

Abdullah KIZALOĞLU

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Nanotechnology Engineering**

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Ebru KILIÇAY

Co-Advisor: Assoc. Prof. Zeynep KARAHALİLOĞLU

Jun 2019, 69 pages

The present study includes the design of a chitosan membrane decorated with unsaturated fatty acid based carrier system for cancer treatment and antibacterial application. For this purpose, a suitable drug with antitumoral and antimicrobial properties was loaded into nanoparticulate formulation and the nanoparticle formulation was embedded into chitosan membrane in order to prevent tumor-associated infections that may occur due to the weakening of the immune system during the cancer treatment. In this study, poly styrene-graft-poly oleic acid-g-poly ethylene glycol graft copolymers (PS-g-Poleic-g-PEG) were prepared by free radical polymerization and the physicochemical characterization was carried out via Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and proton nuclear magnetic resonance (H-NMR). Pristine PS-Poleic-PEG nanoparticles and the different concentrations [2:1-1:1 polymer/drug (w/w)] of caffeic acid loaded PS-Poleic-PEG NPs were prepared by

ABSTRACT (continued)

solvent evaporation technique. The size-size distribution of NPs was performed by changing the some parameters.

The short term stability of NPs were investigated at 4 °C in storage conditions for 30 days. Drug encapsulation and loading efficiency of drug loaded NPs were also evaluated.

The chitosan membrane and the chitosan membrane with Caff NPs were sucessfully fabricated. The chitosan-caff-NPs composite membrane showed controlled release during about 50 days. The mechanical properties of obtained chitosan membrane-drug loaded nanoparticles and chitosan membrane were observed higher than for chitosan membrane-naked nanoparticles. The Caffeic acid NPs-composite membranes indicated excellent antibacterial properties than the chitosan membrane against the *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *In vitro* culture medium of SaOS-2 human osteosarcoma and MC3T3-E1 osteoblast cell lines, the anticancer activity of the all samples was evaluated by MTT assay and verified through the flow cytometry and double staining methods. As a results, the designed novel drug delivery platform showed great potential to cancer-associated infections treatment in bone cancer cases.

Keywords: Cancer-associated infections; caffeic acid, chitosan; oleic acid; nanoparticle

Science Code:

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyen ve karşılaştığım her sorunda büyük bir özveri ile destek olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Ebru KILIÇAY'a, kendisinden ders alma ayrıcalığına sahip olduğum Prof. Dr. Baki HAZER hocama, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ ve Doç. Dr. Zeynep KARAHALİLOĞLU'na sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Bugünlere beni yetiştiren annem Sultan KIZALOGLU'na, bana her zaman bir adım ilerisini hedeflememi nasihat etmiş olan rahmetli babam Bahri KIZALOGLU'na, görme engelli olmasına rağmen Türkiye'nin en iyi üniversitesinin en iyi bölümünü bitirerek ve hayata tutunma azmi ile bana daima örnek olmuş olan akıl hocam ablam Hatice KIZALOGLU'na, iş disiplini ve ahlakıyla gece gündüz tatil demeden üzerine aldığı projeleri başarıyla tamamlayarak bu konuda bana rol model olan dâhi eniştem Zeynelabidin Valimaki'ye, maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen ablam Nesibe KIZALOGLU VALİMAKİ ve ikiz kardeşim Kaptan Mehmet Emin KIZALOGLU'na sonsuz şükran ve minnet duygularımı sunarım.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL:	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
1.1 KANSER NEDİR	1
1.2 KANSER TÜRLERİ	3
1.2.1 Karsinoma.....	3
1.2.2 Sarkoma	4
1.2.3 Lösemi	4
1.2.4 Lenfoma.....	5
1.2.5 Multipl Miyelom.....	5
1.2.6 Kemik Kanseri	5
1.2.7 Akciğer Kanseri	6
1.3 KANSERE NEDEN OLAN ETKENLER NELERDİR	8
1.4 KANSER VE KANSER İLİNTİLİ ENFEKSİYON OLUŞUMU VE BUNU ÖNLEMeye YÖNELİK TEDAVİ YÖNTEMLERİ	10
1.4.1 Kanser Tedavisinde Kullanılan Anti-Tümör İlaçlar	14
1.4.1.1 Kafeik Asit	15
1.4.1.2 Neokarzinostatin (NCS)	16
1.4.1.3 Mylotarg (Kalikeamisin Kombinasyonu).....	16

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
1.4.1.4 Lidamisin Kromoforu (LDM)	17
1.4.1.5 Esperamicin	18
1.5 KANSER VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI TEDAVİSİNDE KULLANILAN POLİMERİK TAŞIYICI SİSTEMLER	18
1.6 BİYOPOLİMER TEMELİNE DAYANAN MEMBRAN SİSTEMLER	21
1.6.1 Doğal ve Sentetik Polimerler	22
1.6.1.2 Doğal Polimerler	22
1.6.1.3 Sentetik Polimerler	23
1.6.2 Kitosan Temeline Dayanan Membran Yapılar	23
1.6.2.1 Kimyasal Çapraz Bağlı Kitosan	24
1.6.2.2 Gözenekli Kitosan Membranları	24
1.6.3 Kompozit Membran Sistemler	24
1.7 BİTKİSEL KAYNAKLI DOYMAMIŞ YAĞ TEMELİNE DAYANAN GRAFT KOPOLİMER SİSTEMLER VE UYGULAMALARI	25
BÖLÜM 2 DENEYSEL ÇALIŞMALAR	31
2.1 KULLANILAN MATERYALLER VE KİMYASALLAR	31
2.2 GRAFT KOPOLİMER SENTEZİ	31
2.2.1 Otookside Polimerik Oleik Asit	31
2.2.2 PS-g-Poleik graft kopolimerlerin sentezlenmesi	32
2.2.3 PS-g-Poleik-g-PEG graft kopolimerlerin sentezlenmesi	32
2.2.4 Polimer Karakterizasyonu	32
2.3 PS-POLEİK-PEG VE CAFF-PS-POLEİK-PEG NANOPARTİKÜLERİNİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU	33
2.3.1 Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	33
2.3.2. Enkapsülasyon Etkinliği ve Yükleme Kapasitesinin Ölçümü	34
2.4 CHT-MEMBRAN VE NPS CHT-MEMBRANLARIN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU	34
2.4.1 Caff-CHT Membranlardan <i>In vitro</i> İlaç Salımı	35
2.4.2 Mekaniksel Özellikler	35

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.4.3 Antibakteriyel Etki.....	35
2.4.4 Hücre Sitotoksite Analizi.....	36
2.4.5 Live/dead Analizi.....	37
2.5. İSTATİKSEL ANALİZ.....	37
BÖLÜM 3 DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA	39
3.1 PS-G-POLEİK-G-PEG GRAFT KOPOLİMERLERİNİN SENTEZ VE KARAKTERİZASYONU	39
3.2 NANOPARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU	41
3.2.1 Morfoloji.....	43
3.2.2 İlacın Enkapsülasyon ve Yükleme Etkinlikleri	44
3.3 CHT MEMBRANLARIN VE NPS EMDİRİLMİŞ CHT MEMBRANLARIN KARAKTERİZASYONU	44
3.3.1 <i>In vitro</i> İlaç Salımı	46
3.3.2 Mekaniksel Özellikler.....	47
3.3.3 Canlı/Ölü Analizi.....	49
3.3.4 MTT Analizi	51
3.3.5 Antibakteriyel Aktivite	52
3.3.6 Flow Sitometri Analizi	54
BÖLÜM 4 SONUÇLAR.....	57
KAYNAKLAR.....	59
ÖZGEÇMİŞ	69



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1	Kanser oluşumunun gösterimi.....	1
Şekil 1.2	Kanserin özellikleri.	3
Şekil 1.3	Kadınlarda en sık görülen kanser türleri.	7
Şekil 1.4	Erkeklerde en sık görülen kanser türleri	7
Şekil 1.5	Taşıyıcı nanopartiküller.....	20
Şekil 3.1	A) Sırasıyla PS-g-Poleic-g-PEG graft kopolimeri ve NPs'lerin FTIR spektrumları.....	40
Şekil 3.2	(B) Sırasıyla PS-g-Poleic-g-PEG graft kopolimer ve NPs'lerin ¹ H-NMR spektrumları.....	41
Şekil 3.3	(A) NPs; (B) 5Caff NPs ve (C) 10Caff NP'lerin SEM görüntüleri.....	44
Şekil 3.4	(A) Boş CHT membran; (B) NPs-CHT membran; (C) 5Caff NPs-CHT membran; (D) 10Caff NPs-CHT membranın SEM görüntüleri.....	45
Şekil 3.5	(A) CHT membran; (B) NPs-CHT membran; (C) 5Caff NPs-CHT membran; (D) 10Caff NPs-CHT membranların AFM görüntüleri.....	46
Şekil 3.6	5Caff NPs-CHT membrane ve 10Caff NPs-CHT membranlardan kafeik asitin <i>in vitro</i> salım profili.....	47
Şekil 3.7	Boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membranlar ile inkübe edilen MC3T3-E1 hücrelerin Floresan Mikroskop görüntüleri.....	50
Şekil 3.8	Boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membranlar ile inkübe edilen SaOS-2 hücrelerin Floresan Mikroskop görüntüleri.....	50
Şekil 3.9	NPs ve CHT membranların <i>in vitro</i> sitotoksitesi. Hücre canlılığı; MC3T3 (A) ve Saos-2 hücrelerinin (B) NPs ve CHT membranlarla 24 saat muamele edilmesi sonrası MTT analizi yoluyla ölçülmüştür. Değerler ortalama± standart sapma; n=3. *p < 0.05 tüm örneklerle karşılaştırıldığında, **p < 0.005 tüm gruplara karşı.	52

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.10 Agar plate üzerinde örneklerden ayrılan A) <i>S. aureus</i> ve B) <i>E. coli</i> koloni kültürleri.	53
Şekil 3.11 24 saatlik inkübasyondan sonra (A) <i>E.coli</i> ve (B) <i>S.aureus</i> 'a karşı örneklerin antibakteriyel oranları. Tüm veriler ortalama±standard sapma (n=3) olarak açıklanmıştır.	54
Şekil 3.12 MC3T3-E1 hücreleri ile inkübe edilen boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membran ve kontrol grubunun Flow Sitometri görüntüleri.	56
Şekil 3.13 Saos-2 ile inkübe edilen boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membran ve kontrol grubunun Flow Sitometri görüntüleri.	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 NP'lerin boy-boy dağılımı üzerine farklı parametrelerin etkisi.....	43
Çizelge 3.2 Boş Nps ve kafeik asit yüklü NP'lerin karakterizasyonu.	43
Çizelge 3.3 Farklı ilaç konsantrasyonlarında enkapsülasyon ve ilaç yükleme etkinlik değerleri.	44
Çizelge 3.4 Örnek yüzeylerinden elde edilen pürüzlülük değerleri.	46
Çizelge 3.5 CHT membrane, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membranların mekaniksel özellikleri. Değerler ortalama \pm standart sapma; n=3.	48



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

mm	: Milimetre
α	: Alfa
%	: Yüzde
nm	: Nanometre
kHz	: Kilohertz
gr	: Gram
°	: Derece
C	: Santigrat
mL	: Mililitre
dk	: Dakika
g	: Graft
μ g	: Mikrogram
μ m	: Mikrometre
μ l	: Mikrolitre
nM	: Nanomolar
cm ³	: Santimetreküp
cm	: Santimetre
ppm	: Milyonda Bir
mV	: Megavolt

KISALTMALAR

AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
AgNP	: Gümüş Nanopartikül
ANOVA	: Standart varyans analiz
C1QTNF3	: C1q ve tümör nekroz faktörü ile ilişkili protein 3
CA	: Kafeik Asid

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

Caff	: Kafeik Asit
CAL	: Kalikeamisin
CAMNPs	: Kafeik Asit Kaplı Demir Oksit Nanopartiküller
CCA	: Kitosan Kafeik Asit
CDCI3	: deuterated kloroform
CHT	: Kitosan
DEAE	: Sefaroz kromatografisi
DLS	: Dinamik Işık Saçılımı
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DMEM F-12	: Dulbecco'nun Modifiye Eagle Medyumu
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
dsRNA	: Çift Zincirli RNA
DYN	: Dynemisin
EDAC	: Carbodiimid Hidroklorür
EE	: İlaç enkapsülasyon
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
ETOH	: Etanol
ESP	: Esperamicin
FA-PEG-CA	: Kafeik Asit-Poli Etilen Glikol-Folik Asit;
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FBS	: Fetal Sığır Serumumu
FCS	: Fetal Kalf Serumumu
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HBV	: Hepatit B Virüsü
HCC	: Hepatosellüler Karsinoma Hücreleri
HCV	: Hepatit C Virüsü
Hib	: H influenza tip B
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HPV	: İnsan Papiloma Virüsü

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

HSCT	: Hematopoetik Kök Hücre Nakli
¹H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
LDM	: Lidamisin Kromoforu
LE	: Yükleme Etkinliği
MC3T3-E1	: Fare Osteoblastik Hücreleri
MCV4	: Konjuge Meningokok Aşısı
MDA-MB-231	: Meme Kanseri Hücre Dizisi
mRNA	: Mesajcı RNA
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiazol)-2,5-Dipeniltetra-Zolyum Bromür
NCS	: Neo Karzino Statin
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NP	: Nanopartikül
PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
PCL	: Poli ε-Kaprolakton
PEG	: Poli Etilen Glikol
PGA	: Poli Glikolik Asit
PheoA-PEG-CA	: Kafeik Asit-Polietilen Glikol-Feophorbid-A
PLA	: Poli Laktik Asit
PS	: Polistiren
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RPM	: Dakikadaki Devir Sayısı
SaOS-2	: Sarcoma Osteogenic Hücreleri
SD	: Standart Sapma
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SPION	: Süper Paramanyetik Demir Oksit Nanopartiküller
SMX	: Sülfametoksazo
TMP	: Trimetoprim

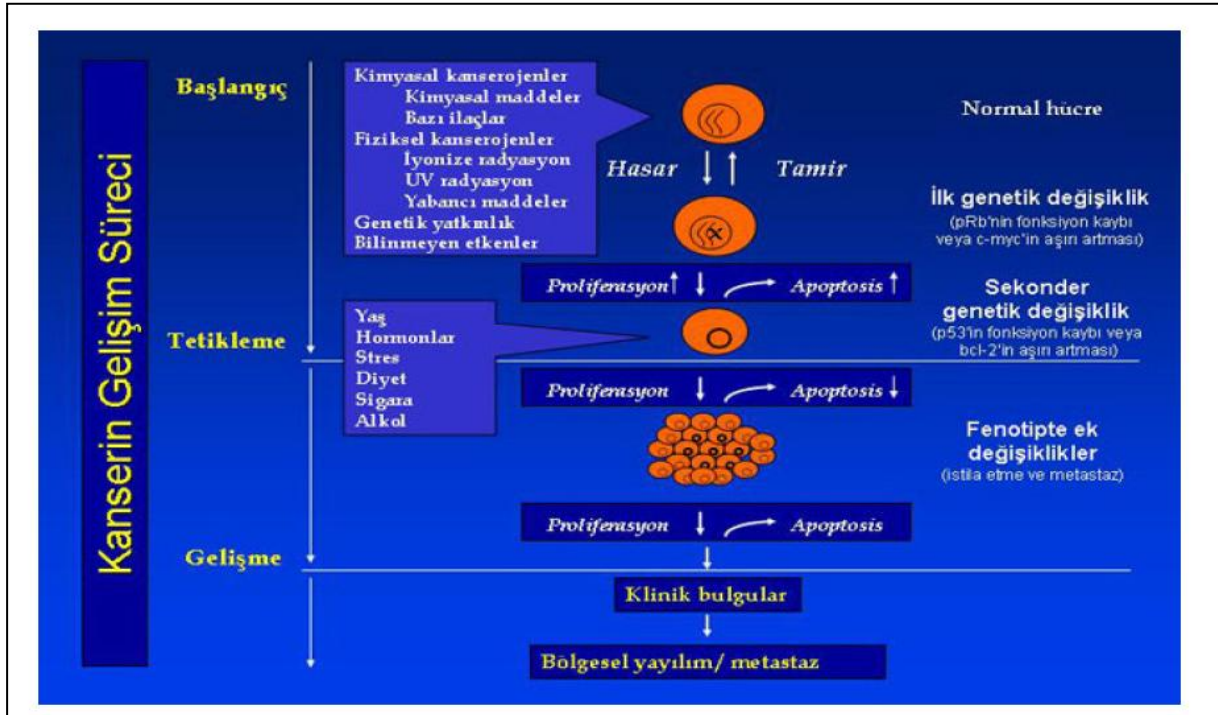


BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 KANSER NEDİR

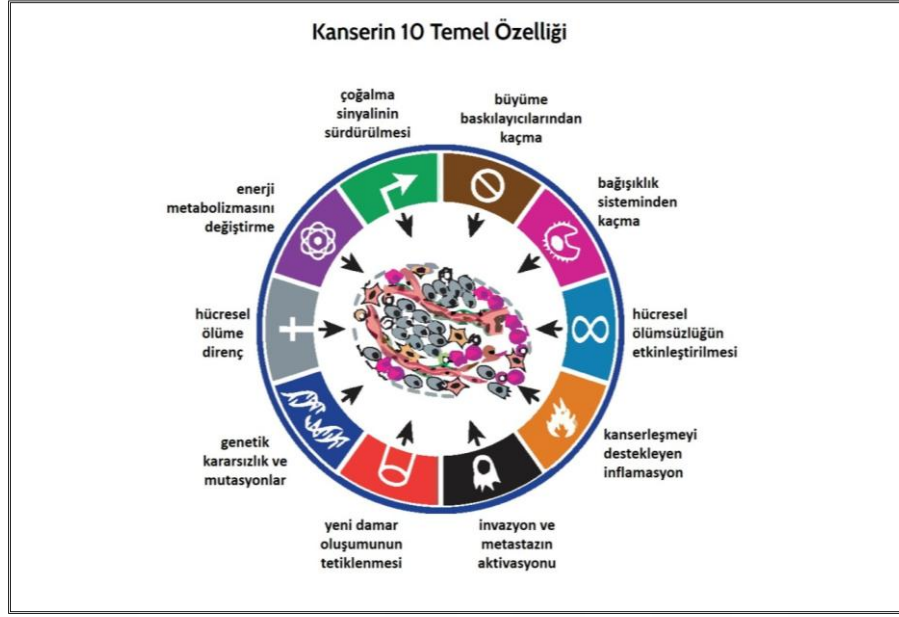
Kanser, bir kısım anormal hücre grubunun normal hücre bölünmesi kurallarını göz ardı ederek kontrolsüz bir şekilde büyüdüğü ve ürediği bir hastalık olarak tanımlanabilir. Normal hücreler sürekli olarak hücrenin bölünmesi, başka bir hücreye ayrılması veya ölmesi gerektiğini belirten otometabolik sinyallere maruz kalmaktadır. Kanser hücreleri bu sinyallere karşı bir ölçüde özerklik geliştirerek kontrolsüz büyüme ve çoğalma eğilimine girerler. Bu çoğalmanın devam etmesine ve yayılmasına izin verilirse sonuç ölümcül olabilir. Aslında, kansere bağlı ölümlerin neredeyse % 90'ı, “Metastaz” adı verilen bir süreç içinde meydana gelen tümör yayılmasından kaynaklanmaktadır [1].



Şekil 1.1 Kanser oluşumunun gösterimi [2].

Modern kanser biyolojisinin temeli basit bir ilkeye dayanır; Hemen hemen tüm memeli canlıların hücreleri, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve hücre ölümünü kontrol eden benzer moleküler ağlara sahiptirler. Kanserin oluşumu ve tedavisi üzerine araştırmaları destekleyen geçerli teori, normal hücrelerin, bu ağlardaki moleküler, biyokimyasal ve hücresel seviyedeki değişiklikler sonucunda hücrelerde bozulma başlaması ve sonunda da kansere dönüşmesidir. Kanser araştırmalarındaki son 50 yılda meydana gelen olağanüstü gelişmeler kanser hücrelerinin bu özelliği nasıl geliştirdiği konusunda önemli bilgilere ulaşılmıştır. Artık kanser, hücre genomundaki değişiklikleri veya mutasyonları içeren bir hastalık olarak görülmektedir. Bu değişiklikler (DNA mutasyonları), hücre bölünmesi ve hassas hücresel dengeyi bozan, kanser oluşturmak için bölünmeye devam eden hücrelerin gelişmesine yol açan proteinler üretmektedir [3].

Günümüzde kabul edilen görüş, kanserin, değiştirilmiş bir DNA sekansına (mutasyona sahip) tek bir anormal hücreden (klonal kökenli) kaynaklanan, çok genli, çok aşamalı bir hastalık olduğu yönündedir. İlk aşamadaki anormal kontrolsüz hücre çoğalmasını, atipik bir aşamaya taşıyan ikinci bir mutasyon izler. Bu mutasyon ardışık ve dönüşümlü olarak ilerler ve buna maruz kalan seçilmiş hücrelerin bir “Tümör” kitlesi oluşturması ile sonuçlanır. Tümör kitlesi içindeki bazı hücreler, daha fazla mutasyon döngüsünden geçerek “Malign” adı verilen hücrelerin oluşmasına, ardından genişleme devresi tümör kitlesinin büyümesine ve ilerlemesine yol açar. Bu da nihayetinde dokuları çevreleyen bazal membran bariyerini kırar ve vücudun diğer kısımlarına metastaz yapar yani yayılır. Kanser sonucu ölüm, istilacı, aşınan ve somatik hücrelerin kontrolsüz klonal genişlemesi nedeniyle tümörlerin normal dokulara yayılmasından kaynaklanmaktadır [4].



Şekil 1.2 Kanserin özellikleri [5].

1.2 KANSER TÜRLERİ

100'den fazla kanser türü vardır. Kanser türleri genellikle kanserlerin olduğu organlar veya dokular için adlandırılır. Örneğin, akciğer kanseri akciğer hücrelerinde ve beyin kanseri de beyin hücrelerinde başlar. Kanserler ayrıca, bir epitelial hücre veya skuamöz bir hücre gibi, onları oluşturan hücre tipi ile tarif edilebilir [6].

Belirli hücre türlerinde başlayan bazı kanser kategorileri şu şekildedir:

1.2.1 Karsinoma

En sık görülen kanser türü karsinomlardır. Vücudun iç ve dış yüzeylerini örten hücreler olan epitel hücreleri tarafından oluşturulurlar. Mikroskop altında bakıldığında genellikle sütun benzeri bir şekle sahip birçok epitel hücresi türü vardır. Farklı epitel hücre tiplerinde başlayan karsinomların spesifik isimleri vardır:

Adenokarsinom, sıvı veya mukus üreten epitel hücrelerinde oluşan bir kanserdir. Bu tip epitel hücreli dokulara bazen glandüler dokular denir. Meme, kolon ve prostat kanserlerinin çoğu adenokarsinomlardır.

Bazal hücreli karsinom, bir kişinin dış derisi olan epidermisin alt veya bazal (baz) tabakasında başlayan bir kanserdir.

Skuamöz hücreli karsinom, derinin dış yüzeyinin hemen altında yatan epitelyal hücreleri olan skuamöz hücrelerde oluşan bir kanserdir. Skuamöz hücreler ayrıca mide, bağırsaklar, akciğerler, mesane ve böbrekler dahil olmak üzere diğer birçok organı da kapsar. Skuamöz hücreler, mikroskop altında bakıldığında balık kantarı gibi düz görünür. Skuamöz hücreli karsinoma bazen epidermoid karsinomlar denir.

Geçiş hücresi karsinomu, geçiş epiteli veya ürotelium adı verilen bir tür epitel dokusunda oluşan bir kanserdir. Büyüyen ve küçültülebilen birçok epitel hücre katmanından oluşan bu doku, mesanenin astarlarında, üreterlerde ve böbreklerin bir kısmında (renal pelvis) ve birkaç başka organda bulunur. Mesane, üreter ve böbreklerin bazı kanserleri, geçiş hücreli karsinomlardır [7].

1.2.2 Sarkoma

Sarkomalar, kas, yağ, kan damarları, lenf damarları ve fibröz doku (tendonlar ve bağlar gibi) dahil kemik ve yumuşak dokularda oluşan kanserlerdir.

Osteosarkom en sık görülen kemik kanseridir. En sık görülen yumuşak doku sarkoma tipleri, leiomyosarkom, kaposi sarkoma, malign fibröz histiyositoma, liposarkoma ve dermatofibrosarkoma protuberanslardır [8].

1.2.3 Lösemi

Kemik iliğinin kan oluşturucu dokusunda başlayan kanserlere lösemi denir. Bu kanserler, katı tümörler oluşturmaz. Bunun yerine, kanda ve kemik iliğinde çok sayıda anormal beyaz kan hücresi (lösemi hücreleri ve lösemik patlama hücreleri) birikerek normal kan hücrelerinin toplanmasına neden olur. Düşük seviyedeki normal kan hücreleri vücudun dokularına oksijen almasını, kanamayı kontrol etmesini veya enfeksiyonlarla savaşmasını zorlaştırabilir.

Hastalığın ne kadar çabuk kötüye gittiğine (akut veya kronik) ve kanserin başladığı kan hücresi türüne (lenfoblastik veya miyeloid) göre gruplanan dört yaygın lösemi türü vardır.

1.2.4 Lenfoma

Lenfoma, lenfositlerde (T hücreleri veya B hücreleri) başlayan kanserdir. Bunlar bağışıklık sisteminin bir parçası olan hastalıklarla savaşan beyaz kan hücreleridir. Lenfomada, lenf bezlerinde ve lenf damarlarında ve vücudun diğer organlarında anormal lenfositler oluşur. İki ana lenfoma türü vardır:

Hodgkin lenfoma - Bu hastalığı olan kişilerin Reed-Sternberg hücreleri olarak adlandırılan anormal lenfositleri vardır. Bu hücreler genellikle B hücrelerinden oluşur.

Non-Hodgkin lenfoma - Bu lenfositlerde başlayan büyük bir kanser grubudur. Kanserler hızlı veya yavaş büyüyebilir ve B hücrelerinden veya T hücrelerinden oluşabilir.

1.2.5 Multipl Miyelom

Multipl miyelom, başka bir immün hücre tipi olan plazma hücrelerinde başlayan kanserdir. Miyelom hücreleri adı verilen anormal plazma hücreleri, kemik iliğinde birikir ve tüm vücuttaki kemiklerde tümörler oluşturur. Multipl miyelom ayrıca plazma hücreli miyelom ve kahler hastalığı olarak ta adlandırılmaktadır [9].

1.2.6 Kemik Kanseri

Kemik kanseri birincil veya ikincil olabilir.

- Birincil kemik kanseri

Kemiklerde başlar. Kemiğin dış tabakasında veya ortasından başlayabilir ve kemik yüzeyinde gelişebilir. Kanseri oluşturan tümör büyüdükçe, kanser hücreleri çoğalır ve kemiği yok eder. Eğer tedavi edilmezse, birincil kemik kanseri vücudun diğer bölgelerine yayılabilir.

- İkincil (metastatik) kemik kanseri

Kanserin vücudun başka bir bölgesinde başladığı göğüs veya akciğer gibi yerlerden vücuda yayılmış ve kemiklere metastaz yapmış olanıdır. Kemik kanseri nadirdir. Her yaşta insanı

etkiler ancak yaşlılarda daha fazladır. Erkeklerde kadınlardan daha yaygındır. İlerlerse başka bir kemiğe sıçrayabilir. Paget hastalığı (osteitis deformans), lifli displazi veya çoklu enkondromlar yüksek kemik kanseri riski oluşturan bazal hastalıklardır. Bazı çalışmalar ayrıca yumuşak bir doku sarkoması oluşması durumunda kemik kanseri gelişme riskinin de arttığını göstermiştir. Genetik faktörler de kemik kanseri riskine etki eder. Örneğin kalıtsal Li-Fraumeni sendromu kemik kanser riskini arttırmaktadır. 30'dan fazla primer kemik kanseri türü vardır. Kemik kanserlerinin % 35'i osteosarkoma, % 30'u kondrosarkoma, % 15 kadarı da ewing's sarkoma türündendir [10].

1.2.7 Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, akciğerlerden birinde veya ikisinde kontrolsüz şekilde büyüyen habis bir tümördür. Akciğerlerde başlayan kanser, primer akciğer kanseri olarak da bilinir. Kanser, vücudun lenf bezleri, beyin, adrenal bezler, karaciğer ve kemikler diğer bölgelerine yayılabilir. Bazen bir kanser vücudun başka bir yerinde başlar ve akciğerlere de yayılabilir. Bu, ikincil tür olarak bilinir. Çeşitli primer akciğer kanseri türleri vardır.

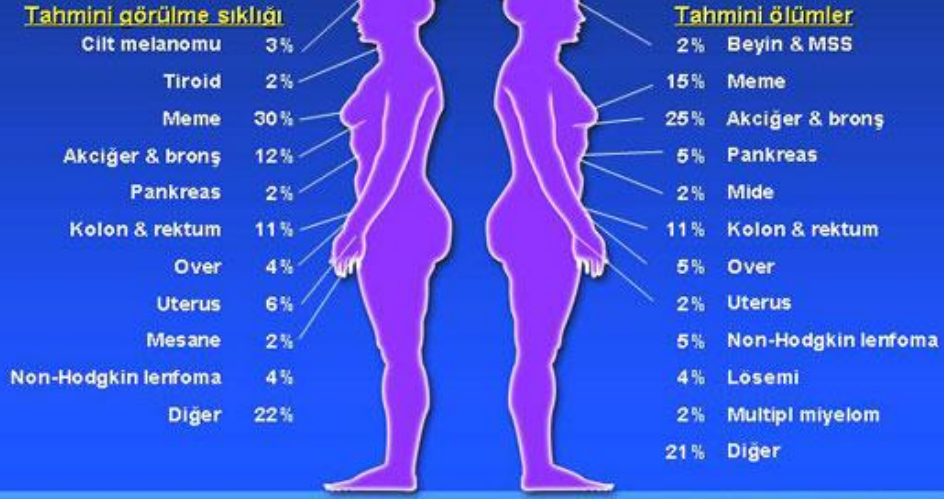
- Adenokarsinom (mukus üreten hücrelerde başlar ve daha sık akciğerlerin dış kısmında gelişir)
- Skuamöz hücreli karsinom (en sık gelişendir ve daha çok büyük hava kanallarında gelişir)

Büyük hücreli farklılaşmamış karsinomlar; Bunlardan başlıcalarıdır.

Akciğer kanseri nedenleri tam olarak anlaşılmamış olsa da, bir dizi risk faktörünün hastalığı tetiklediği bilinmektedir. Bunlar şunları içerir:

Sigara içmek etkin bir faktördür. 10 akciğer kanseri tanısından 9'u sigara içmektedir. Sigara içmeyenler ile karşılaştırıldığında, sigara içenlerde akciğer kanseri gelişme olasılığı 25 kat fazladır. Asbeste maruz kalmak da kanser gelişimi açısından yüksek risk taşıyır [11].

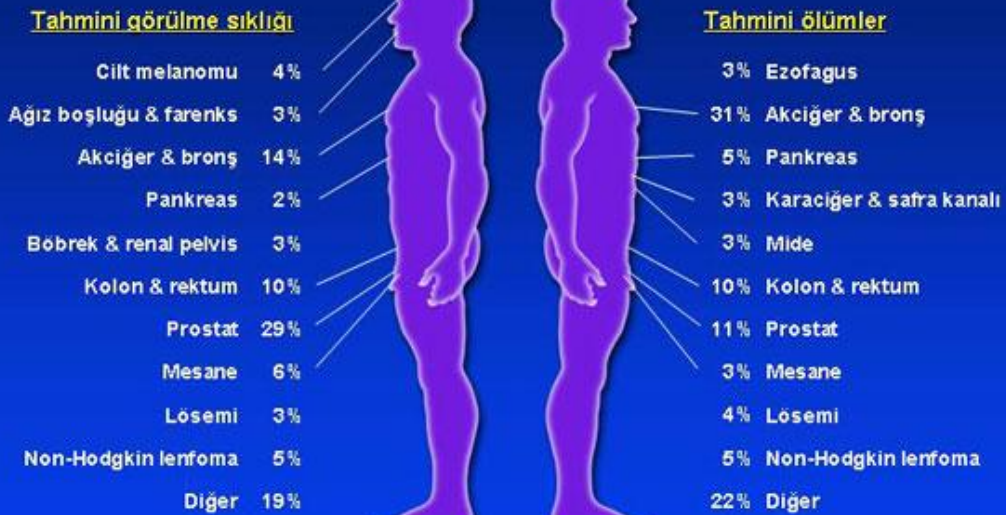
Kadınlarda kanser



Adapted from Greenlee RT, et al. CA Cancer J Clin. 2000;50:16.

Şekil 1.3 Kadınlarda en sık görülen kanser türleri [12].

Erkeklerde kanser



Adapted from Greenlee RT, et al. CA Cancer J Clin. 2000;50:16.

Şekil 1.4 Erkeklerde en sık görülen kanser türleri [12].

1.3 KANSERE NEDEN OLAN ETKENLER NELERDİR

Kanserin başlaması ve ilerlemesi, hem ortamdaki dış etkenlere (tütün, kimyasallar, radyasyon ve bulaşıcı organizmalar) hem de hücre içindeki faktörlere (kalıtsal mutasyonlar, hormonlar, bağışıklık koşulları ve metabolizmadan kaynaklanan mutasyonlar) bağlıdır. Bu faktörler birlikte ya da sırayla hareket ederek anormal hücre davranışı ve aşırı proliferasyonla sonuçlanabilir. Sonuç olarak, hücre kütleleri büyür ve genişler, normal dokuları çevreler (beyindeki gibi) ve ayrıca vücuttaki diğer bölgelere de yayılabilir (metastaz). Bununla birlikte, yaygın kanserlerin çoğunun, bu DNA mutasyonlarının birikmesi ve tespit edilebilir bir kanserle sonuçlanması için aylar ve yıllar sürdüğünü hatırlamak gerekir.

Kanserler yaklaşık olarak her 3 kişiden birinde ortaya çıkar. DNA mutasyonları normalde hücre bölünmesi açısından gen başına her 20 milyonda 1 olasılıklıdır. Ortalama bir ömür boyunca herhangi bir bireyde oluşan ortalama hücre sayısı 10^{16} 'dır (her saniye 10 milyon hücre değiştirilir). Bu nedenle, dünyanın herhangi bir yerindeki insan nüfusunun benzer kanser sıklığı göstereceğini varsaymak mantıklı olacaktır. Bununla birlikte, kanser insidansı oranları (teşhis edilen birey sayısı) ülkeler arasında büyük ölçüde değişmektedir. Buradan anlaşıldığı üzere bazı faktörler, bazı popülasyonlarda kanser vakalarını dramatik şekilde arttırmada etkili olmaktadır. Açık olan bu durum, kansere neden olan etkin faktörlerin kalıtsal veya çevresel olduğudur. Bu, belirli popülasyonların çok sayıda kansere duyarlı gen taşıdığı veya popülasyonların yaşadığı çevrenin büyük ölçüde kanser insidansı oranlarına etki ettiği anlamına gelmektedir [13].

Gündemde olan soru genlerin mi yoksa çevrenin mi kanser gelişiminde daha baskın bir rol oynadığıdır. Genler popülasyonlar arasında eşit olarak dağılmasa da, dünyadaki kanser insidansı oranlarındaki farklılıkları açıklamamaktadır. Şu örnekte en çarpıcı şekilde görülmüştür ki, mide kanseri insidansı, Japonlara göre Amerikalılarda 6-8 kat daha yüksektir. Bununla birlikte, Amerika'ya yerleşen göçmen Japonlar, Amerikan popülasyonuna benzer mide kanseri oranlarını göstermektedir. Dolayısıyla kanser oluşumu riski büyük ölçüde çevresel görünmektedir ki bu da tüm kanserlerin % 90'ından fazlasını içermektedir.

Kanser oluşumu ile ilgili yaşam tarzına ilişkin bilinen ilk rapor, burun kanseri ile tütün kullanımı arasındaki bağlantıyı belirten bir İngiliz doktor olan John Hill'e aittir. 18. yüzyılın

sonlarında, Sir Percival Pott, baca temizleyicilerindeki skrotal kanserin zayıf hijyen ve teoride kansere neden olan faktörlerin birikimi ile bağlantılı olduğunu bildirmiştir. Danimarka Baca temizleyicisi loncası o tarihlerde her gün banyo yapılmasını, baca temizleyicileri için banyonun nasıl yapılması gerektiğini tanımlamış ve antitoksik beslenmeye ilişkin önerilerde bulunmuş ve sonuç olarak Avrupa'da, işyerlerinde kurum ve kömür tozuna maruz kalanlarda sık görülen skrotal kanser insidansı oranlarında büyük düşüş görülmüştür.

1950'de ortaya konulan epidemiyolojik kanıtlar, sigara içenlerin sigara içmeyenlere göre 20 kat daha fazla akciğer kanseri riski taşıdığını göstermiştir. O tarihten beri, ABD'de yılda yaklaşık 170.000 ağız ve boğaz kanseri nedeniyle meydana gelen ölümlerin tütün ve alkol tüketimi ile bağlantılı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca her yıl yarım milyondan fazla ölüm obezite, fiziksel hareketsizlik, beslenme (düşük sebze meyve, yüksek tuz ve nitrat tüketimi) gibi yaşam tarzlarından kaynaklı mide, özofagus, bağırsak, pankreas, meme ve prostat kanserlerine bağlı olarak meydana gelmektedir.

Kanser riski, virüsler, hepatit B virüsü (HBV), papilloma virüsü (HPV), bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) (nazofarenks, servikal karsinomlar ve kaposi sarkoması) ve *Helicobacter pylori* gibi bakteriler (mide kanserleri) de dahil olmak üzere enfeksiyöz ajanlarla da artış göstermiştir. Güneş ışınlarından kaynaklı yüksek düzeyde ultraviyole radyasyona maruz kalınması ve bronzlaşma salonlarının popülerliği nedeniyle, özellikle Avustralya'da, cilt kanseri (melanom) vakaları artmıştır.

Kanserin başlaması ve ilerlemesi, kansere direk olarak neden olan maddelere (kanserojenler, mutajenler) maruz kalmadan da olabilmektedir. Gıdada, suda, havada bulunan, insanların maruz kaldığı kimyasallar ve güneş ışığı da kanseri provoke edebilmektedir. Epitel hücreleri cildi kapladığında, solunum ve beslenme yollarını kapattığından ve yenilen kanserojenleri metabolize ettiğinden dolayı kanserlerin % 90'undan fazlasının epitelden (karsinomlar) kaynaklanması şaşırtıcı değildir. Vakaların % 10'undan daha azında, genetik yatkınlık kanserin çok erken yaşlarda gelişme riskini arttırmaktadır. (örneğin bazı çocukluk lösemileri, retina kanserleri vb.)

Kanser her yaşta insanlarda görülebilmesine rağmen, yaşlanan nüfus arasında daha yaygındır. Yeni kanser vakalarının yüzde altmış ve kanser ölümlerinin üçte ikisi 65 yaşından büyük kişilerde görülmektedir. Yaygın kanserlerin görülme sıklığı (örneğin, meme, kolorektal,

prostat, akciğer) yaşla birlikte artmaktadır. Yaşlılarda kanser insidansının neden arttığı ile ilgili birkaç teori söz konusudur; bağışıklık sistemindeki yaşa bağlı değişiklikler (azalan bağışıklık sürveyansı); rastgele oluşan genetik mutasyon olasılığının yaşam süresine bağlı olarak artması veya yaşam boyu kanserojen etkenlere maruz kalmanın birikmesi (özellikle kolorektal ve akciğer kanserleri için); hormonal değişikliklerin meydana gelmesi, bu teoriler arasında sayılabilmektedir.

Kanserin gelişimi için çok faktörlü genetik değişiklikler gereklidir. Çevresel etkilerle kansere maruz kalma, geç evrelerde tedaviye cevap vermeme yaşlı kişilerde bir çok kanser türü için üstsel artış göstermiştir. Ömür boyu östrojene maruz kalma meme veya uterus kanserine, testosterona maruz kalma prostat kanserine yol açabilmektedir. Hücresel bağışıklığın azalması yüksek oranda immünojenik (örneğin, lenfomalar, melanomlar) kanser türlerine de yol açabilir. Bir kanserin oluşması için DNA mutasyonlarının birikmesi gerekir. Bu nedenle yaşam süresi uzadıkça, kanser gelişimi riski de artmaktadır [14].

1.4 KANSER VE KANSER İLİNTİLİ ENFEKSİYON OLUŞUMU VE BUNU ÖNLEMENE YÖNELİK TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Kanserli hastalar, hastalıkları ve tedavileri sırasında bulaşıcı komplikasyonlarla karşılaşma riski altındadır. Bulaşıcı hastalıklardan kaynaklı enfeksiyonlar kanserli hastalarda önemli morbidite ve mortalite nedenleridir. Bazı durumlarda, malignitenin kendisi hastaları ağır veya tekrarlayan enfeksiyonlara karşı hassas hale getirebilmektedir. Nötropeni, uzun yıldır kemoterapi gören hastalarda enfeksiyon gelişiminde başlıca bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Her ne kadar nötropeni, enfeksiyonlar için kilit bir risk faktörü olsa da, kanserli hücrenin gelişimini durdurmak için uygulanan immün sistemi baskı altına alan tedavilerde en az nötropeni kadar risk taşımaktadır.

Graft-host hastalığı nötrofil tedavisi için yoğun immünsupresif (bağışıklık baskılayıcı) uygulama içeren allojeneik hematopoetik kök hücre nakli ile oluşan bir hastalıktır ve nötropenik olmayan alıcılar için bakteriyel, viral ve fırsatçı enfeksiyonlar açısından da büyük risk taşımaktadır. Kronik lenfositik lösemili hastalar sıklıkla kapsüllenmiş bakterilere, başlıca *Streptococcus pneumoniae*'ye duyarlılığı arttıran hipogamaglobülinemiye sahiptir. Bu hastalarda tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonları ve septisemi olabilir. Multipl miyelomlu hastalar genellikle fonksiyonel olarak hipogamaglobülinemiktir [15].

Katı tümörler, anatomik faktörlerden dolayı hastaları enfeksiyona maruz bırakabilir. Kan dolaşımını artıran tümörler nekrotik hale gelebilir, böylece enfeksiyon için bir nidus oluşturur.

Endobronşiyal tümörler, rekürren postobstrüktif pnömonilere neden olabilmektedir. Abdominal tümörler genito üriner veya hepatobiliyer yolları tıkayarak hastaları sırasıyla piyelonefrit (üst idrar yolları enfeksiyonu) ve kolanjit (safra yolları enfeksiyonu) için hassas hale getirebilmektedir. Maligniteler nedeniyle ameliyat geçiren hastalar, ameliyat tipi (örneğin, özofagektomi ve hepatobiliyer rekonstrüksiyonun enfeksiyon riski ile ilişkili ameliyatlar), tümör yükünün büyüklüğü, preoperatif performans durumu ve önceki sonuçları nedeniyle enfeksiyon komplikasyonları için yüksek risk altında olabilirler. Cerrahi, kemoterapi ve radyasyon tedavisi alan ileri derecede malignitesi olan hastalar da çoğunlukla yetersiz beslenmekte, bu da enfeksiyon riskini arttırmaktadır [16]. İleri ya da refrakter malignitesi olan hastalar, enfeksiyöz komplikasyonlar için tedaviye yanıt veren hastalardan daha fazla risk altındadır. Çoklu kemoterapötik tedavi alan hastalar, ciddi enfeksiyonların gelişmesinde önemli derecede risk altındadır.

Gastrointestinal, sinopulmoner ve genitoüriner kanalların mukozal astarları, çeşitli patojenlere karşı ilk savunmayı oluşturur. Kemoterapi ve radyasyon tedavisi, birkaç farklı seviyede mukozal bağışıklığı bozar. Epitel astarının sağladığı fiziksel koruyucu bariyer tehlikeye girdiğinde, bu bölgeler mikroorganizmalarca istila edebilir. Nötropeni ve epitel hücre anatomik bariyerinin kaybı, hastaları tirolite (nötropenik enterokolit) yöneltebilir. Kemoterapiyle ilişkili gastrointestinal mukozit, viridans grubu streptokoklar, gram negatif çubuklar ve Candida türleri kan dolaşımı yoluyla hastaları, enfeksiyonlara karşı yatkın hale getirebilmektedir. Otolog HSCT alıcıları genellikle allojenik nakil alıcılarından daha az bulaşıcı komplikasyonlara sahiptir. Otolog HSCT alıcılarında enfeksiyonların çoğu, nötropeni sırasında veya hücresel bağışıklığın yeniden oluşturulmasından önce nakil sonrası ilk birkaç ay içinde meydana gelir. Beklenen süresi 7 gün veya daha uzun olan nötropeni olan hastalar, enfeksiyon komplikasyonlarının gelişiminde daha yüksek risk altında kabul edilmektedir.

Otuz yıldan uzun bir süre önce yapılan çalışmalar, nötrofil sayısı 500/mcL'nin altına düştüğünde (nötropeni olarak tanımlanır), enfeksiyona karşı yatkınlığın da arttığını göstermiştir. Enfeksiyon sıklığı ve derecesi, nötrofil sayımı ile ters orantılıdır; nötrofil sayısı 100 / mcL'den az olduğunda ciddi enfeksiyon ve kan dolaşımı enfeksiyonu riskleri en fazladır.

Nötrofil sayısındaki düşüş oranı ve nötropeni süresi de kritik faktörlerdir. Bu durum kemik iliği rezervinin bir ölçüsüdür ve enfeksiyonun ciddiyeti ile yüksek oranda ilişkilidir [17].

Kanserli hastalarda enfeksiyonlara karşı önleyici tedbirler, genellikle yüksek riskli hastalarda, en yaygın enfeksiyon patojenlerine (bakteriyel, viral ve mantar dahil) yönelik geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanlar kullanılarak ön profilaksi veya koruyucu tedavileri içermektedir.

Nötropeni sırasında antibakteriyel profilaksi kanser ve kemoterapiye bağlı nötropenisi olan hastalar ciddi bakteriyel enfeksiyon riski altındadır. Florokinolonlar kemoterapinin neden olduğu nötropenisi olan erişkinlerde en sık kullanılan, profilaktik antibakteriyel ajanlardır. Florokinolonların plasebo veya TMP / SMX ile karşılaştırıldığında bir meta-analizde florokinolon profilaksisi, gram-negatif enfeksiyon insidansını profilaksisi olmayanlara kıyasla yaklaşık % 80 oranında azaltmıştır. (bağıl risk, 0.21; % 95 CI, 0.12-0.37) ve toplam enfeksiyonlarda genel bir azalmaya yol açmıştır. Florokinolon profilaksisinin bu meta-analizinde enfeksiyonla ilişkili ölüm oranları değişmemiş, gram-pozitif enfeksiyonların ve fungal enfeksiyonların oranı, florokinolon profilaksisinden önemli ölçüde etkilenmemiştir. Bu, florokinolon profilaksisinin bazı denemelerinde artan bir gram-pozitif enfeksiyon oranının meydana gelmesi göz önüne alındığında önemli bir husustur. Viridans grup streptokokal bakteremi atılımlar, nötropenik hastalarda bu patojen ile ilişkili önemli morbidite ve mortalite potansiyel ikinolon profilaksisi ile ilişkilendirilmiştir. Enfeksiyonlar için bireysel risk değerlendirmesi ve önleyici tedbirlerin alınması, kanser tedavisinin temelini oluşturmakta ve hastalar için tedavi sonuçlarının optimize edilmesine katkıda bulunmaktadır [18].

Kanserli nötropenik hastalarda enfeksiyöz komplikasyonları öngörme, önleme ve yönetme konusundaki etkili stratejilerden olumlu sonuçlar alınmıştır. Antimikrobiyal tedavideki ilerlemeler nedeniyle, nötropenik dönemdeki akut lösemili hastalarda veya kök hücre nakli yapılan hastalarda enfeksiyon dolayısı ile ölüm vakaları nadirdir. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri için Bağışıklama Uygulamaları Danışma Komitesi, asplenik kişilerin pnömokok polisakkarit ve meningokok aşılıları ile aşılınmalarını önermektedir. Konjuge meningokok aşısı (MCV4) 55 yaş veya üstü yetişkinlerde tercih edilmektedir. Yetişkinlere uygulanan pediatrik H influenzae tip B (Hib) aşısı ile immünizasyonu, daha yaşlı çocuklarda ve erişkinlerde etkinliği bilinmediğinden dolayı isteğe bağlı olarak uygulanmaktadır, ancak çalışmalar immün sistemi baskılanmış hastalarda iyi immünojenik etki göstermektedir.

İmmünizasyon ideal olarak splenektomiden en az 2 hafta önce yapılır. Bu mümkün değilse, splenektomiden sonra bağışıklık kazandırılması tavsiye edilir, çünkü bu hastalar hala koruyucu bir antikor tepkisi oluşturabilmektedir. Asplenik kişilerde ilk aşılama 5 yıl sonra pnömokok aşısı ile bir kez yeniden immünizasyon önerilmektedir. MCV4 veya MPSV4 alan fonksiyonel asplenik hastalarda 5 yıl sonra MCV4 ile yeniden aşılanma önerilir. Asplenik hastalarda pnömokokal hastalığı önlemek için penisilinli profilaksi önerilir. Lgh-doza kortikosteroidlerin nötrofillerin, monositlerin ve lenfositlerin dağılımı ve işlevi üzerinde önemli etkileri vardır. Kanserli hastalarda, kortikosteroidler nadiren uygulanan sadece immüno-supresif ajanlardır ve bu nedenle tek başına kortikosteroid rejiminin neden olduğu konakçı savunmasında bozulma derecesinin tanımlanması zordur. Enfeksiyon riski, kortikosteroidlerin doz ve süresinin, eşlik eden immün yetmezliklerin (nötropeni ve diğer immüno-supresif ajanların kullanımı gibi) ve malignitenin durumunun bir fonksiyonudur. Kortikosteroidler ateş ve peritonit gibi lokal enfeksiyon belirtilerini körleştirir. Hematolojik maligniteleri ve allojenik HSCT alıcıları olan hastalar, lenfosit alt gruplarının tükenmesine neden olan yeni monoklonal antikorlarla giderek daha fazla tedavi edilebilmektedir. Anti-CD20 monoklonal antikorları (örneğin, rituximab, ofatumumab), B hücreli lenfoid malignitesi olan hastaların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [19].

Escherichia coli, bakterisi, düzenli genler tarafından oluşturulan üst kanonik yollarının tümünün iltihaplanmasına yol açmakta ve patojenleri tetiklemektedir. *E.coli*, tümör nekroz faktörü kodlayan mRNA konsantrasyonlarını 8 kat, interlökinleri ise yaklaşık olarak 14 kat artırmıştır. Bu veriler, indükleyici meme tümörü iltihabının, *E. coli* enfeksiyonundan sonra çok daha erken meydana geldiğini göstermektedir. *E.coli*, sitokin ve patojen sinyalleşmesini doğrudan azaltmak için bir dizi uyarı sinyali göndermektedir. Bu sinyaller negatif geri besleme döngülerini oluştururlar ve bunların tümü hedef hücrenin sitoplazmasında çalışırlar. Bununla birlikte, bu bağışıklığı ortadan kaldıran mekanizmaları, iltihaplanmayı teşvik eden çok sayıda faktör ve yol takip etmektedir. Sonuç olarak, *E.coli*'nin mevcudiyetinde inflamasyon baskın şekilde sürmektedir.

Staphylococcus aureus bakterisi iltihaplanmaya karşı direnç gösteren çeşitli faktörlerin ekspresyonunu tetiklemiştir. *S. aureus* bakterisi, liposakkarit ile indüklenen iltihaplanmaya karşı olduğu bilinen homolog 2 proteinini, mikro-RNA miR-143 ve C1QTNF3 (C1q ve tümör nekroz faktörü ile ilişkili protein 3)'ü kodlayan mRNA seviyelerini artırmıştır [20]. *S.aureus* ve *E.coli*, klinik mastiti yani meme iltihabını indükleyen sırasıyla gram pozitif ve gram

negatif bakteri türlerinin başında gelir. Mastitis, meme içi bakteriyel enfeksiyona cevap olarak sıklıkla gelişen meme bezlerinin iltihabıdır. Mastitis, gelişmekte olan ülkelerdeki insanlarda olduğu kadar, dünya çapında tarımda kullanılan evcil hayvanlarda da önemli bir halk sağlığı sorunudur. İnsanlarda mastitis, anne-çocuk insan immün yetmezlik virüsü (HIV) ile ilgilidir. Ayrıca, konakçı enfeksiyona karşı konak tepkisi sırasında üretilen enflamatuar mediatörler, bebek bağırsak hasarına neden olmuştur. İnsanlarda hastalığın patogeneziindeki etkilerine ek olarak, mastitis süt ürünleri endüstrisinde ekonomik kayıplar sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık 2 milyar dolara yaklaşırken, hayvancılıkta en pahalı hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir. Doğal bağışıklık sistemi, enfeksiyona karşı verilecek cevabın ilk savunma hattını oluşturur ve enfeksiyonun en erken evrelerini derhal tanımaya ve bunlara karşılık vermeye hazırdır. Ayrıca, doğal bağışıklık sistemi daha önce karşılaşılmayan patojenlere de cevap verebilmektedir [21].

1.4.1 Kanser Tedavisinde Kullanılan Anti-Tümör İlaçlar

Enedinler diğer adıyla anti-tümör antibiyotikler, bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen olağanüstü yapıları ile doğal bir ürün sınıfıdır. Yüksek nitelikli biyolojik profilleri ve kanıtlanmış klinik etkinliği ile güçlü antitümör ve antimikrobiyal aktivitelere sahiptirler. Bu antibiyotikler; neokarzinostatin (NCS), kalikeamisin (CAL), esperamicin (ESP), dynemisin (DYN), lidamisin (LDM), kedaridin ve benzeri yaklaşık 20 ayrı türde sınıflandırılmışlardır. Enedin antibiyotiklerin çoğu, kanser hücrelerine karşı hızlı ve güçlü aktivite göstermektedir. Adriamisin gibi yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ilaçlara göre daha yüksek antitümör aktivitesine sahiptirler. Enedinle ilgili birçok klinik deneyler yapılmıştır. Hayvan deneklerde çeşitli tümör hücrelerinin büyümesini belirgin bir şekilde önlediği gözlenmiştir. Enedin, antibiyotikler DNA iplikçik kesimi için ortak bir mekanik yolu paylaşır ve biyolojik olarak aktif değildir. Ancak sitotoksik ve yüksek oranda reaktif radikallere yol açan sikloaromatizasyon reaksiyonlarına neden olmaktadır. Bu yüksek oranda reaktif radikaller, düşük konsantrasyonda DNA hasarını tetiklemek için DNA zincirlerinden hidrojen atomlarını çıkarabilmektedir. Kalikeamisin söz konusu olduğunda, aktive edilmiş bir hücre çekirdeğinin oluşumuna yol açan bir reaksiyonlar kademesi anlaşılmalıdır. Bu çekirdek, DNA zincirinden hidrojen atomlarını soyutlar. Moleküler oksijen ile kesiştiğinde, sonuçta bir 5'-aldehit üretilerek iplik kopmasına yol açan bir ara peroksit oluşur.

Bu antitümöralları başlıcaları şöyledir;

1.4.1.1 Kafeik Asit

Kafeik asidin, antioksidan, antiinflamatuvar, antimutagenik, antimetastatik, antidepresif, antianksite, antikarsinojenik aktiviteler ve HIV replikasyonunun inhibisyonu dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik fonksiyonları gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca, çalışmalar kafeik asidin, kanser hücre hatlarında apoptozun bir indükleyicisi olduğunu ve hayvanlarda tümör büyümesinin inhibisyonu ve gerileme yeteneğini geliştirdiğini tanımlamıştır. Oral uygulamadan sonra kafeik asit bağırsaktan kolayca absorbe edilmekte ve plazma ile sirküle olabilmektedir [22]. Kafeik asit, bitkilerde fenil propanoid yolundan elde edilen ve iyi bilinen bir doğal aromatik bileşiktir. Kafeik asit, antioksidan, antikanser, antiviral, antidiyabetik ve anti-depresif dahil olmak üzere önemli özellikleri nedeniyle bilim adamları tarafından büyük ilgi görmüştür. Farmasötik uygulamaları nedeniyle, kafeik asit üretimi yaygınlaşmıştır. Kafeik asit, SPION'un yüzey oksidasyonunu önlemek için yüzey aktif maddesi olarak ve en küçük nanoboyut SPION'ları sentezlemek için kullanılmış ve sonuç olarak kafeik asidin kanserojenizleri inhibe ettiği görülmüştür [23].

Kafeik asit içerikli ligand (kafeik asit-polietilen glikol-folik asit; FA-PEG-CA, kafeik asit-polietilen glikol-feophorbid-a; PheoA-PEG-CA) kaplı demir oksitten imal edilen, geleneksel SPION ışığa duyarlı hale getirici ve tümör hedefleyici ligandlarla kaplanan nanopartiküllerin sulu bir ortamda yüksek suda çözünürlükle ve folat aracılığı ile aktif olarak tümörleri hedeflediği belirlenmiştir. Kafeik asit içerikli demir oksit kaplı ligand partiküllerinin suda çözünürlüğü ve mikroskopik görüntüleri ile değerlendirildiğinde sitotoksitesinin bir lazer ışınıyla MDA-MB-231 hücrelerinde iki kat arttığı, tümör seçici terapötik ajanlar olarak işlev yapma yeteneklerini korudukları, bu sonuçlara göre kafeik asit içerikli ligand nanopartiküllerin bu verimli özelliklerinin uygulamalara dahil edilebileceği ve böylece klinik kanser tedavisinin etkinliğini arttırabileceği öngörülmektedir [24].

Kafeik asidin% 5 kitosan içine katkılандırılmasından sonra, aynı koşullarda kitosanın moleküler ağırlığı azaltılarak aşılama etkinliği arttırılmıştır. Kafeik asit, antioksidan aktivitesinde ana role sahiptir. Türev içeren en yüksek kafeik asitte maksimum radikal temizleme aktivitesinin (0.064 mg / ml) olduğu gözlenmiştir. Suda çözünür kitosan ve kafeik asit türevleri aktivite kaybı olmadan elde edilebilmektedir. Kafeik asit doğal olarak fenolik bir

bileşiktir ve kahve, zeytinyağı, beyaz şarap, lahana vs. de bulunmaktadır. Modifikasyonları, etil ester ve fenetil ester kanserojen inhibitörleridir ve ayrıca, *in vitro* anti radikal temizleyici aktivite göstermektedirler. Ayrıca, kafeik asidin kitosan oligomerleri, polimer oluşumunda görülmeyen antioksidan aktivite göstermektedir [25].

Araştırmalar gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) hem indirgeyici bir madde hem de dengeleyici olarak kafeik asit ile birlikte kullanıldığında hızlı ve basit bir şekilde sentezlenebileceğini göstermiştir. Sentezlenen AgNP'ler, sulu çözeltide stabil olmalarının yanı sıra küçük boyutlu, dar dağılımlı ve yüksek yüzey negatif yüke sahip olma özelliklerine sahiptirler. Ayrıca, AgNP'ler hücrelere girebilmekte ve apoptozun indüklenmesi yoluyla tümör hücrelerinin canlılığını etkili bir şekilde önleyebilmektedir. Sonuç olarak, AgNP'leri hepatoma tedavisinde potansiyel alternatif bir ajan olarak hazırlanması için kafeik asidin aracı olarak kullanıldığı bir metod başarıyla geliştirilmiştir. Yağ ve kahve orijinli kafeik asidin, antioksidanlar, antitromboz, antihipertansif, antifibroz ve antiviral aktiviteler de dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Bazı çalışmalar da, kafeik asidin, çeşitli kanser hücre hatlarına karşı anti kanserojen etkiler gösterdiğini kanıtlamıştır [26].

1.4.1.2 Neokarzinostatin (NCS)

NCS 109 amino asitli bir tek polipeptit zincirinden ve protein olmayan bir kromofordan oluşan, lösemi, gastrik karsinom ve pankreas adenokarsinomlarının tedavisinde klinik kullanımda olan ilk enedin antitümör antibiyotiktir. NCS'nin işlevinin ana hedefi DNA'dır [27]. Klinik çalışmalarda NCS'nin akut lösemiye karşı aktif olduğu gösterilmiştir. Çalışmalar, NCS'nin 51 hastadan 9'una tamamen, 9'unun da kısmen olumlu sonuç verdiğini ortaya koymuştur. NCS ayrıca hepatomaya ve hematolojik malignitelere karşı etkilidir. NCS, hem sürekli hem de aralıklı olarak intravenöz infüzyonla malign hastalığı olan hastalara uygulanmaktadır. Aralıklı NCS tedavisi alan lösemili hastalar, kemik iliği hücrelerine yönelik sürekli infüzyonla tedavi edilenlere göre daha büyük olumlu değişiklikler göstermiştir. Anoreksi, bulantı ve kusma NCS uygulamasının en sık görülen yan etkileridir [28].

1.4.1.3 Mylotarg (Kalikeamisin Kombinasyonu)

Kanser tedavisi için geliştirilmiş özgüllük ve farmakolojik özelliklerine sahip olan modifiye enedin bileşikler üretmek, bilim adamlarının her zaman dikkatini çeken bir konu olmuştur.

Calicheamicin, CD33 antijenine bağlanan bir antikorla kombinasyonu olan mylotarg, 2000 yılında FDA tarafından bir kemik iliği kanseri olan akut miyeloid lösemisinin tedavisinde denenmek için onaylanmıştır. CD33 pozitif, akut miyeloid lösemi ile ilk tekrarlama 60 yaş ve üstü hastaların tedavisinde “antikor hedefli kemoterapi” kategorisinde ilk sıralarda yer almıştır. Mylotarg, sitotoksik enedine, antitümör antibiyotik, kalikeamisin ile konjüge edilmiş bir rekombinant hümanize IgG4, kappa antikorundan oluşur. Mylotarg'ın antikor kısmı spesifik olarak CD33 antijenine bağlanır. CD33 antijeni, lösemik patlamalar ve olgunlaşmamış normal miyelomonositik hücrelerin olgun hücrelerinin yüzeyinde bulunan sialik aside bağımlı adezyon bir proteindir. Ancak normal hematopoetik kök hücrelerde yoktur. Anti-CD33 hP67.6 antikor, bir miyelom NS0 hücre zinciri kullanılarak memeli hücre süspansiyon kültürü tarafından üretilir ve virüsleri elimine etmek veya etkisiz hale getirmek için saflaştırılır. Retrovirüsün etkisizleştirilmesi ve saflaştırılması ve sonunda hP67.6 antikorunun elde edilmesi için üç ayrı ve bağımsız işlem yapılmaktadır. Bu işlemler, düşük pH işlemi, DEAE-Sefaroz kromatografisi ve viral filtrasyonudur. Mylotarg, 5 mg ilaç konjugatı içeren steril, beyaz, koruyucu içermeyen liyofilize bir tozudur. İlaç ışığa duyarlıdır ve infüzyonun hazırlanması ve uygulanması sırasında doğrudan ve dolaylı güneş ışığından ve korumasız floresan ışığından korunmalıdır. Mylotarg, kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatmakta veya engellemektedir. Genellikle en az 60 yaşında olan, hastalığın nüks ettiği ve başka kanser ilaçları alamayan hastalara uygulanmaktadır [29].

1.4.1.4 Lidamisin Kromoforu (LDM)

Lidamisin, DNA ve RNA sentezini kuvvetle inhibe etmekte ve çeşitli kanser hücrelerine karşı son derece güçlü sitotoksikite göstermektedir. LDM'nin IC50 değerinin, insan kanser hücrelerinde, mitomisin C ve adriamisininkinden 1000 kat daha güçlü olduğu görülmüştür. LDM, lösemi L1210, P388, ascites hepatoma H22, sarkom 180 ve melanom Harding-Passey gibi farelerde transplante edilebilir tümörlerin inhibisyonunu sağlamaktadır. LDM ile tümör büyümesinin inhibisyon oranının, tolere edilen dozda mitomisin C'den daha yüksek olduğu bulunmuştur. LDM, minimum etkili bir dozda anjiyogenezin baskılanmasında oldukça etkilidir. LDM, reseptörün bFGF bağlanmasını bloke ederek bFGF reseptörü immün kompleksinin oluşumunu inhibe etmektedir. Bu gibi güçlü aktivite ile LDM, belirgin bir şekilde anti-metastatik aktivite gösteren yeni bir güçlü antianjiyogenez ajanı olabilmektedir. LDM ayrıca, BEL-7402 hücrelerinin çoğalması üzerinde sisplatin ile kombinasyon halinde sinerjetik etkiler göstermekte olup, Bcl-2 ekspresyonunun azalmasıyla internükleozomal

DNA fragmentasyonu üretmektedir. LDM'nin, Distamisin A ile tatbik edildiğinde, DNA bölünmesinin amplifikasyonu ile arttırılmış apoptoz ve sitotoksisite gösterdiği bulunmuştur. Bu nedenle, bir antikanser ajan, DNA-bağlayıcı ligand ve MAPK inhibitörü ile bir LDM kombinasyonu, kanser kemoterapisi için yeni bir stratejiyi temsil etmektedir [30].

1.4.1.5 Esperamicin

Esperamicinler, sıradışı bir kimyasal çekirdekle karakterize edilen bir sınıf antitümör antibiyotik grubudur. Bu ilaçların sitotoksisite ürettiği mekanizma araştırılmış, tek ve çift kanatlı DNA kırılmalarının oluşumu ile ilgilerinin olduğu anlaşılmıştır. Esperamicinin aromatik kromoforu, ilacın hücrelere alımına katkıda bulunabilirken aynı zamanda da egelleyebilmektedir. Esperamicin ve analogları, her biri spesifik, genetik olarak işlenmiş DNA içeren bir dizi izojenik *E.coli* suşu üzerine uygulanmış, sonuçta mekanizma olarak DNA kırılmasına ilişkin onarım hatalarının giderilmesine yönelik olacak şekilde sitotoksisite ürettiği görülmüştür [31].

1.5 KANSER VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI TEDAVİSİNDE KULLANILAN POLİMERİK TAŞIYICI SİSTEMLER

Nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler, nanometrik parçacıkların, kanser hücrelerinin çevresel damarları üzerinden penetrasyon yoluyla kanser hücresine girerek kanser tedavisini etkinleştiren sistemlerdir. Antikanser ilaçların kapsüllemesi için taşıyıcı olarak kullanılan nanopartiküller tercihen doğal polimerler kullanılarak hazırlanmaktadır. Özellikle polisakaritler bu konuda elverişli polimerlerdir [32].

Nanopartiküllü taşıyıcı sistemler antikanser ilaçlarının farmakolojik ve terapötik özelliklerini artırabilecek şekilde bu ilaçların taşınmasında kullanılacak alternatif bir yaklaşımdır [33]. Bu sistem, bir antikanser ilacını hedef dokuya taşıma sırasında bozulmaya karşı koruyabilmekte ve ayrıca belirli organ bölgelerinde ilacın terapötik seviyede bulunmasını da sağlayabilmektedir. Polimerik nanopartikül, nanovezikül ve nanoemüsyon içeren sistemler ilaç taşıyıcı olarak da kullanılmaktadır [34]. Bu tür nanopartiküllerin doğal biyopolimerle kullanımı, toksik ve biyobozunur olmamaları, biyoyumlulukları, koruyucu ve hidrofilik özellikleri nedeniyle tercih edilmektedir [35]. Hidrojel nanopartiküller, ilaçların kapsüllemesi ve hedef bölgeye taşınması için uygun niteliklere sahip partiküllerdir [36].

Antikanser ilaç taşıyıcı sistem kullanımı ile ilgili girişimlerin çoğu, ilacı hedef bölgeye ulaştırmak ve kapsüllenmiş ilacı istenen bölgeye serbest bırakmak için sulu süspansiyon bir nanopartiküler sistemi içine hidrofobik ilaçları dahil etme girişimleridir [37]. Bu sistemler için gerekli polimerler biyobozunur, biyoyumlu ve toksik olmayan özelliklere sahip aljinat ve kitosan gibi doğal biyopolimerler ile karşılanmaktadır.

Cerrahi operasyon, tüm kanser türleri için birincil tedavidir. Ancak kanser hücreleri vücudun diğer bölgelerine yayıldığı durumlarda uygun değildir. Ağrı, yorgunluk, kanama, enfeksiyon ve lenfödemin gibi yan etkiler söz konusu olabilmektedir. Kemoterapi ve radyoterapinin sağlıklı hücrelerin tahrip olması, toksisite ve saç dökülmesi gibi yan etkileri söz konusudur [38]. Bu nedenle, yeni türden kanser tedavilerinin keşfedilmesi gündeme gelmiştir. Bu açıdan antikanser ilaçların hedef organa verilmesi için nanopartiküler taşıyıcı sistemlerle ilgili araştırmalar artmaktadır. Antikanser ilacının taşınmasında hastaların güvenliğinin sağlanması ve ilacın terapötik etkisinin artırılması için nanopartiküllerden faydalanılmaktadır [39].

Nanopartiküler taşıyıcı sistemler,

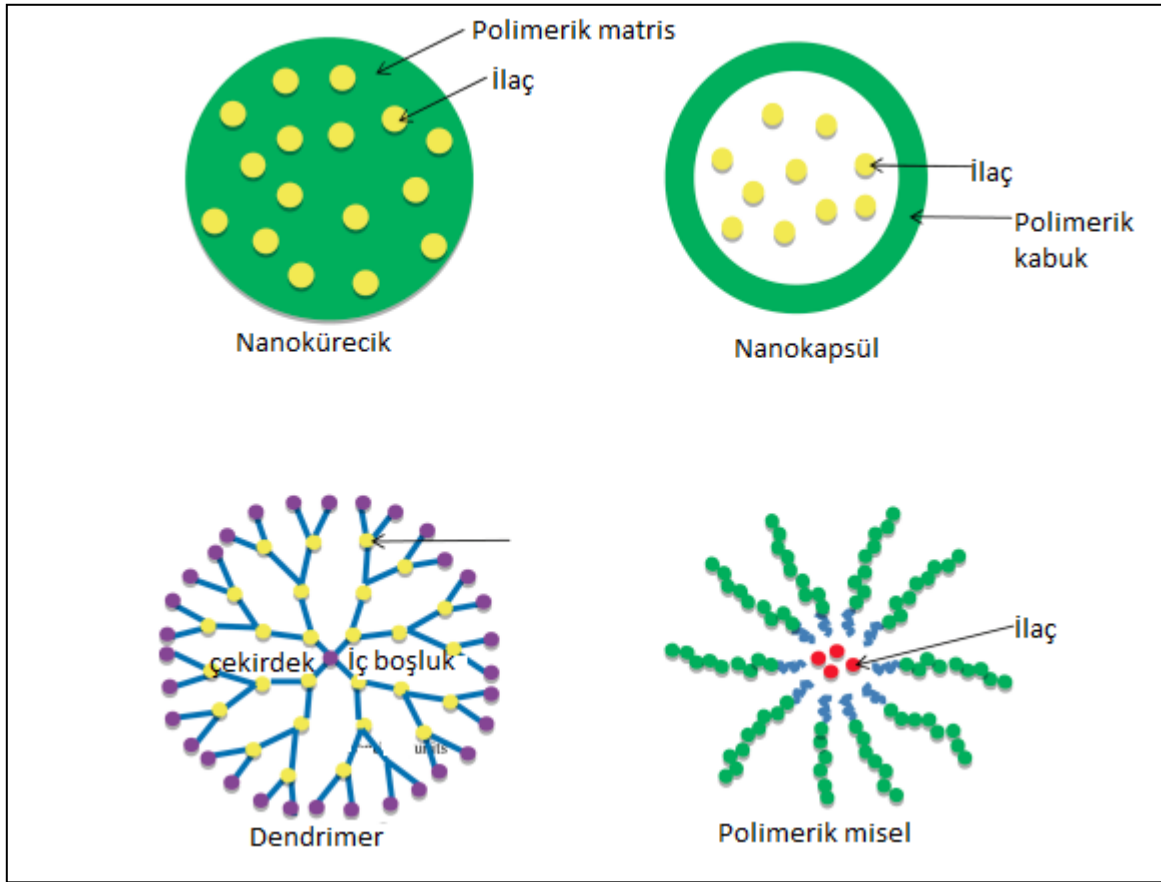
1. Bir antikanser ilacının özel hedefleme ve taşınma verimliliğinin artırılması,
2. Yan etkilerin azaltılması,
3. Daha fazla güvenlik ve biyoyumluluğun iyileştirilmesi ve ilaçların daha hızlı ve kalıcı etkisi için nanoteknoloji kullanan modifiye bir ilaç taşıma sistemleridir [40].

Nanopartiküller çok yönlü özellikleri nedeniyle intravenöz uygulama için uygundur. Örneğin, 10-100 nm büyüklüğündeki nanopartiküller, intravenöz kılcal damar çapından (5–6 μm) daha küçüktür. Bu sayede kılcal damara kolaylıkla penetrasyon sağlayabilmektedir [41].

Nanopartiküller daha büyük partiküllerin ulaşamadığı bölgelere dokulardan da nüfuz edebilmektedir. Kemoterapötik ilaç, nanopartiküllerin, uzun dolaşım süresi sayesinde tümör hücreleri içinde birikebilmekte ve mikro damar sistemi içinde oluşan penetrasyon delikleri yoluyla tümör hücrelerine taşınabilmektedir [42]. Bilindiği üzere nanopartiküller sentetik ve doğal olabilmektedir. Bazı sentetik nanopartiküller toksik olabilmekte ve insanlara, hayvanlara ve çevreye zarar verebilmektedir [43]. Dolayısıyla doğal ve bazı sentetik polimer temeline dayanan nanopartiküller biyomedikal uygulamalar için sıkça kullanılmaktadır. Bu

uygulmalar için çeşitli biyopolimerler kullanılmıştır. Bunlar poli (3-hidroksibutirat), poli (laktik asit) içeren nanopartiküller, poli (ε-kaprolakton) ve poliglikolit kopolimerleri olan aljinat ve kitosandır [44].

Kanser tedavisi için taşıyıcı olarak kullanılan ve çeşitli biyopolimerlerden üretilen nanopartiküller Şekil 1.5'de gösterilmektedir. Bu biyopolimerler arasında kitosan ve aljinat, biyolojik olarak parçalanabilmeleri, biyoyumlu olmaları, hidrofilik, muko yapışkan ve koruyucu özellikleri nedeniyle özel bir yere sahiptirler [45].



Şekil 1.5 Taşıyıcı nanopartiküller [46].

Aljinat, guluronat ve manuronat lineer (doğrusal) kopolimerlerinden oluşan bir anyonik polisakarittir. Aljinat yine biyolojik olarak parçalanabilen, biyoyumlu, toksik olmayan, jelleşme ve mukoadhezyon gibi pek çok istenen özelliğe sahiptir. Hemo uyumlu olup, organlar içinde birikmez ve bozulmazlar [47]. Bu nedenle, aljinat sayısız biyomedikal uygulamalarda ve özellikle ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadır [48].

Kitosan, glukozamin ve N-asetil glukozamin birimlerinin kopolimerlerinden oluşan katyonik bir polisakarittir. Kitosanın biyoyumluluğu, toksisite olmama, jelleşme, biyolojik parçalanabilme ve membran geçirgenliği gibi özellikleri, tıbbi ve farmasötik uygulamalar için tercih edilen bir polimer olmasını sağlamaktadır [49]. Kitosan, insan enzimleri, özellikle lizozim tarafından bozunabilmekte ve filmler, boncuklar, mikropartiküller ve nanopartiküller gibi çeşitli formlarda üretilmektedir [50]. Kitosan, aljinat gibi negatif yüklü polimerlerle etkileşime girebilmekte ve ilaç kapsüllemesi ve ilaç taşınımı için arzu edilen özelliklere sahip hidrojeller oluşturabilmektedir [51]. Kitosan nanopartiküller aljinatın karboksilat grupları ve kitosanın amino grupları arasındaki etkileşim üzerine kurulu iyonotropik jelleşme ile meydana gelebilmektedir. Aljinat-kitosan nanoparçacıkları, kapsüllenmiş ilacı enzimatik bozulmadan korurken, ilacı hedef organa iletebilmekte ve ilacın kontrollü salımına sağlayabilmektedir [52]. Bu konudaki birçok çalışma, bu tür özelliklerinden dolayı çeşitli antikanser ilaçlarını içeren ve farklı kanser hücrelerini hedef alan aljinat-kitosan nanopartiküllerinin hazırlanmasına odaklanmıştır [53]. Bunlara ek olarak, kitosan ve aljinat mikropartiküller çok katmanlı formlarda üretilmektedir.

1.6 BİYOPOLİMER TEMELİNE DAYANAN MEMBRAN SİSTEMLER

Membran teknolojisi 40 yıldan bu yana gelişmeye devam etmektedir. Ancak bu teknoloji hammadde olarak fosil bazlı polimerlere ihtiyaç duyduğu için, membran üretimi açısından sürdürülebilirlik imkanları da oldukça düşüktür. Plastik atıklar küresel çapta çevresel bir sorundur ve bu atıkları bertaraf edebilecek teknik imkanlar da sınırlıdır. Dolayısı ile artan çevre kirliliği, membran üretimi için geleneksel olanların yerini alabilecek diğer potansiyel polimerlerin araştırılmasını zorunlu hale getirmiştir.

Hayvansal (polilaktik asit, polihidroksiyalkanatlar, polibütilen süksinat) veya bitkisel kaynaklardan (selüloz bazlı polimerler, aljinat, poliizopren, nişasta) ve ayrıca bakteri fermantasyon ürünlerinden (kitin, kitosan, kolajen, serisin) türetilen biyopolimerler biyomedikal alanda popüler olmuştur. Membranların hazırlanması için biyopolimerlerin kullanımı ve daha büyük ölçeklerde uygulanmaları halen zor olsa bile, bu konu literatürde üst seviyede ele alınmış ve belgelenmiştir. Ayrıca, biyopolimerler, son on yıl boyunca biyobazlı membranların, mikro ve ultrafiltrasyon, pervaporasyon, gaz ayrıştırma ve tıbbi uygulamalar dahil olmak üzere farklı teknoloji alanlarında kullanılmak üzere üretilmesi ile ilgili araştırmaların odak konusu olmuştur [54]. Biyoplastikler, biyolojik kaynaklardan

ve/veya fosil (kömür veya petrokimya) kaynaklarından elde edilip edilmediğine bağlı olarak, biyobazlı ve/veya biyobozunur olarak tanımlanabilmektedir. Genel olarak, iki terim birbirine karıştırıldığından üretim yöntemlerine göre üç biyoplastik kategorisini ifade eden kesin tanımlar yapmak gerektirmiştir.

Biyobozunur polimerler, fiziksel ve kimyasal özellikleri bozulmaya uğrayan ve mikroorganizmalara, karbon dioksit, metan, ve suya maruz kaldıklarında tamamen bozulan malzemeler olarak tanımlanmaktadır. Biyopolimerler biyolojik olarak bozunabilir (örneğin polilaktik asit) veya bozunamaz (örneğin, biyopolietilen) nitelikte olabilir. Benzer şekilde, birçok biyopolimerler biyolojik olarak parçalanabilir (örneğin nişasta ve polihidroksialkanoatlar) olmasına rağmen, biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerin tümü biyopolimer değildir (örneğin polikaprolakton).

Yenilenebilir kaynakları kullanarak biyopolimer üretmenin üç temel yolu vardır:

- Kısmi modifikasyon ile doğal biyopolimerlerin kullanılması (örneğin nişasta)
- Fermantasyon/geleneksel kimya ile biyo-bazlı monomerlerin üretilmesi, ardından polimerizasyon, (örneğin polilaktik asit, polibütilen süksinat ve polietilen)
- Biyopolimerlerin doğrudan bakteri tarafından üretilmesidir. (örneğin, polihidroksialkanatlar) [55].

1.6.1 Doğal ve Sentetik Polimerler

1.6.1.2 Doğal Polimerler

Adından da anlaşılacağı üzere, bu polimerler doğada oluşmaktadır. Metabolizmalar iki ana doğal polimerden oluşur. Bunlar DNA-RNA ve enzimlerdir. Diğer bazı doğal polimerlere ağaçlardaki selüloz, ve patatesteki polimerler örnek gösterilebilir. Tahta, ipek ve diğer birçok imalat ürünü de doğal polimerlerdir. Bu polimerlerin tümü, bilimsel isimlerle sınıflandırılmışlardır. Örneğin polisakaritler (şeker polimerleri) DNA, RNA, nişasta, selüloz, odun ve kitin doğal polimerler sınıfındadır. Kitin, iştakoz, yengeç ve karides gibi kabukluları oluşturan maddedir. Kitin sert ve çözünmez bir maddedir. Ancak ileri derecede esnek hale gelebilmesi şaşırtıcı olmuştur. Diğer bir polisakarit ise ağaçlarda bulunan doğal kauçuktur.

Dünya çapında birçok yerde kauçuk kullanılmaktadır. Doğal polimerler, saç, cilt, tırnak, gergedanın boynuzu, ipek ve enzimlerdeki proteinleri taşıyan polipeptitlerdir.

1.6.1.3 Sentetik Polimerler

Doğal polimerler dışındaki makromoleküller grubundaki diğer kategoridir. Sentetik polimerler, hayatı kolaylaştırmak için diğer polimerlerin keşfedilmesiyle insanlar tarafından değiştirilmiş veya suni olarak üretilmiş polimerlerdir. Örneğin naylon sentetik bir polimerdir. Diğer faydalı bir sentetik polimer de petrolden üretilen benzindir. Benzin, otomobillerin icadından itibaren beri kullanılmış ve moleküler yapıları değiştirilerek daha verimli hale getirilmişlerdir. Bilim insanları, nasıl değiştirileceğini görmek için hidrokarbonları da parçalamışlar ve bunları kullanarak polimer zincirleri elde etmeye çalışmışlardır.

Leo Baekland tarafından Bakalit keşfedilmiş, Stephanie Kwolek de Kevler isimli sentetik bir polimer üretmiş bu da kurşun geçirmez yelek yapımında kullanılmaya başlanmıştır [56].

1.6.2 Kitosan Temeline Dayanan Membran Yapılar

Kitosan, D-glukozamin ve N-asetil-D-glukosaminden oluşan bir kopolimerdir ve ticari olarak kabuklu deniz hayvanlarının dış iskeletinden deasetilasyon yoluyla üretilmiştir. Kitosanın doku mühendisliği için bir yapı iskelesi ve güçlü bir metal iyon bağlayıcı olduğu kanıtlanmıştır. Saf kitosan membranların, açık yara örtüsü olarak kullanımında bazı sınırlamalar sözkonusudur. Buna rağmen kitosan yara iyileşmesini hızlandırmakta ve çeşitli hemostatik özellikleriyle genel bir antimikrobiyal etki göstermektedir. Membran oluşumu sürecinde gliserol varlığı, artan gliserol içeriği ile artan ağ genişliği, membran zarının geçirgenliğini etkilemiştir. Basit kitosan membranların orta derecede geçirgenliğe sahip olduğu rapor edilmiştir. Tüm kitosan bazlı membranlar esnektir. Gliserol kadar olmasa bile, modifikasyon sonucu asgari değeri aşmaya yetecek kadar deforme olabilme özelliklerini kazanabilmektedirler.

1.6.2.1 Kimyasal apraz Bağlı Kitosan

Kitosanın dialdehitlerle veya epoksitlere kimyasal çapraz bağlanması daha yoğun ağ yapılarına neden olur ve geçirgenliklerini değiştirir. Çapraz bağlama membranın mekanik özelliklerini iyileştirir ve geçirgenliğini genellikle azaltmaktadır.

1.6.2.2 Gözenekli Kitosan Membranları

Gözenekli kitosan membranlar geçirgenliği artırabildikleri gibi istenen büyüklükte de hazırlanabilmektedir. Gözenekli bir yapı elde etmeyi mümkün kılan bir yol da membran oluşumu sırasında sert silika parçacıklarının veya bazı polimerik yapıların membrana eklenmesidir. Kitosan membranlarının geçirgenliği ve mekanik dayanımı, birkaç farklı yöntemle ayarlanabilmektedir. Kitosan membranlarının geçirgenliği arttırılırken aynı zamanda membran yapı gliserol ile genişletilip esnetilebilmektedir [57].

1.6.3 Kompozit Membran Sistemler

Kompozit membranlar genellikle, bir malzemenin gözenekli alt tabakası üzerine ince bir st tabakanın entegre edilmesi ile oluşturulan “asimetrik yapı” şeklinde tanımlanabilir. Kompozit membranlar, istenen seçiciliği, geçirgenliği, kimyasal ve termal kararlılığı vs. elde etmek için modifiye edilebilmektedir. Kompozit membranları hazırlama aşaması dört sınıfta gruplandırılabilir:

- 1) İnce tabakanın ayrı olarak dökülmesi (rneğin, bir su banyosunun yüzeyine çok seyreltilmiş bir polimer zeltisinin yayılmasıyla) ve daha sonra bir mikro gözenekli destek üzerinde lamine edilmesi;
- 2) Mikro gözenekli desteğin bir polimer, reaktif bir monomer veya bir ön polimer zeltisi ile kaplanması, ardından kurutma, ısıl işlem veya radyasyon işlemi;
- 3) Plazma polimerizasyonu;
- 4) Mikro gözenekli desteğin yüzeyi üzerinde reaktif monomerlerin ara yüzey polimerizasyonu [58].

Kompozit membranlar en az iki farklı malzemeden oluşur. Bunlar genellikle, seçici, geçirgen ve gözenekli destek görevi gören alt tabaka bir membran malzeme ve bunun üzerine yayılan ince tabaka halindeki malzemedir. Bu tip membranın bütünsel olarak kaplanmış olanlara göre avantajı, istenen performansı elde etmek için her katmanın bağımsız olarak optimize edilebilmesidir. Bir destek üzerine ince bir üst tabaka uygulamak için bilinen bazı teknikler vardır. Çok çeşitli hazırlama teknikleri nedeniyle, neredeyse tüm polimerik malzemeler kompozit membranları üretmek için kullanılabilir [59].

1.7 BİTKİSEL KAYNAKLI DOYMAMIŞ YAĞ TEMELİNE DAYANAN GRAFT KOPOLİMER SİSTEMLER VE UYGULAMALARI

Yenilenebilir tüm biyopolimerler oldukça ilgi çekmektedir. Yenilenebilir kaynakların kullanımı, giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Doğal biyolojik kaynaklar, tarımsal üretim ve biyobazlı malzemelerdeki yeni gelişmelerle yakından bağlantılıdır. Gelecek yüzyıl boyunca sürdürülebilir kalkınma, yenilenebilir kaynaklardan doğal polimer bazlı malzemelerin dünyanın sınırlı petrol kaynaklarına alternatif olarak kullanılmasını zorunlu hale getirmiştir. Doğal biyopolimerler doğada bulunan en bol polimerlerdir. Diğer biyokütle ile birlikte bitkilerde ve ağaçlarda da bulunmaktadır. Biyopolimerler üzerindeki araştırmalar yaygın olmasına rağmen, biyobazlı materyallerle ilgili çalışmalar sentetik polimerlere kıyasla sınırlıdır. Bunun başlıca nedeni, hidrofilik yapı ve kimyasallara/iklim koşullarına karşı zayıf direnç gibi birtakım dezavantajları olmasıdır. Oysa ki, graft kopolimerizasyonu yoluyla diğer bir ifadeyle aşılama yoluyla elde edilen biyo polimerlerin yüzey modifikasyonundaki gelişmeler, uygulama kapsamını genişleteceği için son derece önemlidir. Mükemmel mekanik ve bariyer özelliklerine sahip biyopolimerlerden yeni graft kopolimer malzemelerinin geliştirilmesi, endüstriyel ürünlerin gelecekteki uygulamaları için önemli bir araştırma konusu olmuştur. Graft kopolimerlerin otomotiv, toksik iyon giderimi, biyomedikal, savunma vb. gibi farklı uygulama alanları söz konusudur. Grafting (aşılama) türleri ve uygulama alanları şu şekildedir;

Hidroksiapatit aşılama: Hidrofilik monomerlerin, tıbbi uygulamalar için selülozik polimerler üzerine aşılama; plazma destekli yüzey graftı ve plazma kaynaklı graft polimerizasyonu yoluyla biyopolimerlerle yüzey işlevselliği sağlama; poliakrilamid aşılama; zamk suda çözünür yapışkan malzeme olarak sentezleme ve uygulama amacıyla yapılmaktadır [60].

Hazer ve ekibi yaptıkları çalışma sonunda serbest radikal polimerizasyonun ve yoğunlaşma reaksiyonlarının kombinasyonu yoluyla, yeni bir yeşil makroperoksit başlatıcı kullanarak çift hidrofilik bir kopolimerin sentezini bildirmiştir. İlk olarak, *oleik asit*, karboksil gruplarına sahip doymamış yağ asidi makroperoksit başlatıcısını elde etmek için, oda sıcaklığında birkaç hafta boyunca petri kaplarında ayrı ayrı otoksidazlanmıştır. Çift hidrofilik poli NIPAM-g-poliioleikasitg-PEG aşırı kopolimeri, NIPAM, PEGNH₂ ve makroperoksit yağ asidi içeren karışım, azot atmosferi altında 95 ° C'de 5 saat süren reaksiyon ile üretilmiştir. Elde edilen kopolimerin fizikokimyasal ve termal karakterizasyonları tanımlanmıştır.

Bu çalışmada molar kütleli diamin uçlu polietilen glikol, MW ~ 2000 g / mol, 2-aminopropil, polipropilen glikol-blok polietilen-glikol-blok-polipropilen glikol kullanılmıştır. Etilen glikol ünitelerinin propilen glikol ünitelerine mol oranı 36/9 olarak belirlenmiştir [61].

Kanser hastaları kemoterapi gibi kanser tedavisi esnasında yüksek enfeksiyon riski taşımaktadır. Kanser ve enfeksiyon hastalıkları çoğu açıdan benzer yönlerde sahip olup, ev sahibi immün cevabı aktive etmekte ve patojenlere sebebiyet vermektedir. Patojenlere karşı savunma, direnç ve tolerans olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Direnç, patojenlere karşı ev sahibini korumakta ve enfeksiyonu etkisiz hale getirmektedir. Tolerans ise enfeksiyonun negatif etkisini elimine etmek yoluyla ev sahibini korumaktadır [62,63].

Onkoloji hastaları, virüs, parazit [64] ve bakterilerin neden olduğu geniş spektrumdaki enfeksiyonlardan dolayı acı çekmektedirler. Enfeksiyonlar, çoklu ilaç direnci gösteren organizmaları içeren bakteriyel patojenlerin kolonileşmesinden meydana gelmektedir. Bu türden komplikasyonlar, kanser hastalarının ölümüne sebebiyet verebilmektedir. Çeşitli kateterler, cerrahi aletlerin kullanımı ve bazı uygulamalardan dolayı ortaya çıkan hastane enfeksiyonu bu tür hastalarda oldukça önemli enfeksiyon riskleri oluşturmaktadır. Ek olarak, immün baskılayıcı tedavi, aktif veya latent dönemdeki enfeksiyonların tekrar aktif hale gelmesine neden olabilmektedir. Çoklu ilaç dirençli mikroorganizmaların gelişimi de aynı zamanda bu tür hastaların antibiyotik ile tedavi edilebilmesini önlemektedir [65]. Günümüzde kanserin tedavisinde ve aynı zamanda tedavi esnasında olabilecek enfeksiyonlara karşı hastayı korumak için farklı terapötik tedavi yaklaşımları geliştirilmektedir.

Polimerik membranlar, hazırlama kolaylığı, pahalı olmayan materyallerin kullanımı, gözenek oluşumunun kontrol altına alınması, esnek yapıya sahip olabilmesi ve diğer geniş çapta

uygulama alanlarından dolayı cazip özelliklere sahiptirler. Ancak, biyokirlenmeye maruz kalması, mekaniksel kuvvet ve az akışkan özelliklerinden dolayı da bazı dezavantajları da sözkonusudur. Bu tür dezavantajların üstesinden gelebilmek için polimerik membran içerisine emdirilmiş nano boyutta materyaller membran yapının iyileştirilmesi yoluyla sinerjistik etki sağlamaktadırlar [66]. Polimerik kitosanı oluşturan nano ve mikro partiküller ve membranlar, gözenekli yapı oluşturmamasından dolayı kontrollü ilaç salım sistemleri ve örtü materyali olarak güvenli bir şekilde kullanılabilir [67, 68].

Kitosan, polimerik 1-4-bağlı-2-amino-2-deoksi- β -D-glukozdan oluşan lineer hidrofilik polisakkarittir. Kitosan, kitinin poli(β -(1-4)-N-acetyl-D-glucosamine) kısmi deasetilasyonundan elde edilmektedir. Doğal, antibakteriyel, biyoyenilenebilir, anti-immunojenik, toksik olmayan, anti-tümör ve biyouyumlu özelliklerinden dolayı kitosan muazzam özelliklere sahiptir [69, 70]. Doğal glikosaminoglikanları taklit ettiğinden ve insan ekstrasellüler matriksin başlıca bileşeni olduğundan dolayı kitosanın biyouyumluluğu mükemmeldir [71]. Üzerinde pozitif yük olmasından ve biyouyumlu özelliğinden dolayı kitosan etkin bir şekilde hücre büyümesini desteklemektedir. Ek olarak, kitosanın hidrofilik yüzeyi ona, hücre yapışması, çoğalması ve farklılaşması gibi muazzam özellikler kazandırmaktadır [72, 73, 74]. Pozitif yüke sahip olan kitosan kolaylıkla negatif yüklü hücre membranı ile reaksiyona girebilmekte ve sıkı bağlantılı proteinlerin açılması yoluyla kolaylıkla penetre olabilmektedir [75]. Bu sebeple, membran temeline dayanan kitosan gibi kitosan ve kitosan türetmeleri, biyomedikal uygulamalarda kapsamlı bir şekilde kullanılmaktadır [76, 77, 78]. Kitosanın farklı çözücülerdeki çözünürlüğü sınırlıdır. Az miktarda asetik asit ve su karışımında çözünmektedir [78, 79]. Bu dezavantaj, membranı hazırlama aşamasında polimer çözeltisi içerisine doldurucunun dağılmasını veya karışmasını sınırlamaktadır. Sürfektantla birlikte nanopartiküller, membranı elde etmek için kitosan çözeltisi ile karıştırılabilir. Bu şekilde sürfektant molekülü, dispersiyonu ve membran oluşumunu kolaylaştırmaktadır [80]. Boş kitosan membranı sulu ortamda oldukça yüksek şişme davranışı göstermektedir. Bu sebeple, bu tür dezavantajların üstesinden gelmek için kitosanın diğer polimerler ile karışması veya çapraz bağlanması gerekmektedir [81, 82].

Tüm bunlar göz önüne alındığında doku rejenerasyon uygulamaları için uzun süreli, istenen etkiye sahip nanoölçekteki polimerler ile kitosanın iyileştirilmesi önemlidir. Örnek olarak, Huang ve arkadaşları kemik rejenerasyon uygulamaları için kitosan membran içerisine nano-hidroksiapatit/CS mikroküre entegre etmişlerdir [83]. Bir diğer çalışmada çözelti-kalıplama

dönüştürme yoluyla kitosan/ZnO nanopartikül (CS/ZnO) kompozit membranları elde edilmiştir. % 10'un üzerinde ZnO içeriğindeki Saf CS membran ile karşılaştırıldığında CS membran içerisindeki ZnO içeriği mekaniksel özellikleri iyileştirmiş ve *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, ve *Staphylococcus aureus*'a karşı daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir [84].

Yenilenebilir kaynaklardan elde edildiğinden dolayı bitkisel-yağ temeline dayanan polimerler cazip özelliklere sahiptirler. Bu yenilenebilir özellikler, çok amaçlı uygulanabilirlik, düşük maliyet, non toksik ve biyobozunur özelliklerinden kaynaklanmaktadır [85]. Polidoymamış yağ asitleri ve esterler, kimyasal maddeleri elde etmek için otooksidasyona maruz kalması açısından hassas ham materyallerdir. Bunlar arasında linoleik asit, oleik asit, soya yağı, keten tohumu yağı gibi yağlar, polimerik makroperoksit başlatıcıyı elde etmek için kolaylıkla otooksidasyona maruz kalabilmektedirler [86].

Kafeik asit, 3,4-dihidroksisinamik asit, bitkilerde fenil alaninden biyosentetik olarak türetilmektedir. Kafeik asit, bitki, zeytin, meyve, şarap, kahve ve zeytin yağında bulunmaktadır [87]. Bu doğal bitkisel fenolik bileşik, antikarsinojenik etki, antioksidatif ve antiviral, anti enflamatuar, anti tromboz ve antihipertensif aktiviteyi içeren cazip özelliklere sahiptir [88]. Bunların tümör büyümesini ve ilerlemesini inhibe edebildiği ve bazı kanser hücre hatlarında apoptozu başlattığı literatürde rapor edilmiştir [89, 90].

Aytekin ve arkadaşları, antioksidan aktivitesini arttırmak için farklı molekül ağırlığı ve graflama oranlarında kitosan-kafeik-asit örnekleri hazırlanmış ve saf kitosan formuyla karşılaştırmışlardır. Bu graflama prosesleri, kafeik asitin karboksil grubuyla kitosanın amino grubunun reaksiyona girmesi yoluyla kovalent bağlayıcı, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimid hidroklorür (EDAC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. En yüksek radikal temizleme aktivitesi, en yüksek miktarda kafeik asit örneklerinde gözlenmiştir. Ek olarak, kitosan ve kafeik asit türevleri, proses esnasında aktivitelerini korumuşlardır [91].

Tüm bu bilgilerin ışığı altında sunulan yüksek lisans tez konusunun amacı, kanser tedavisi esnasında enfeksiyonu önlemek ve tümörü inhibe etmek için doymamış bitkisel yağ temeline dayanan PS-Poleic-PEG NPs (NPs) ve Caff-PS-Poleic-PEG NPs (Caff NPs) emdirilmiş biyotaklit edici yeni kompozit kitosan membranı geliştirmektir. Bu nedenle, poliolenik asit, makroperoksit başlatıcı, oda sıcaklığında hava oksijeni altında oleik asitin otooksidasyonu

yoluyla elde edilmiştir. Poliolenik makroperoksit başlatıcı, serbest karboksilik asit gruplarını içeren PS-g-Poleik graft kopolimerini elde etmek için stirenin serbest radikal polimerizasyonunu başlatmıştır. Sonrasında, PS-g-Poleik-g-PEG amfifilik graft kopolimerini elde etmek için amin uçlu polietilen glikol (PEG), karboksilik asit grubu ile reaksiyona girmiştir. Elde edilen PS-g-Poleik-g-PEG graft kopolimeri, çözücü buharlaştırma yoluyla nanopartikül ve kafeik asit yüklü nanopartikülü hazırlamak için kullanılmıştır. Hazırlanan örneklerin fiziksel, morfolojik ve biyolojik özellikleri karakterize edilmiştir. PS-Poleik-PEG NPs veya Caff-PS-Poleik-PEG NPs içeren CHT membranların mekaniksel performansı, antikanser, antibakteriyel, sitotoksik aktivitesi ve hücresel alım etkinliği detaylı bir şekilde incelenmiştir. Boş membran ve NPs-CHT membranla karşılaştırıldığında daha çok antikanser aktivite gösteren kompozit kitosan membranların biyoyumluluk çalışmaları SaOS-2, insan osteosarkoma hücre hattı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, ilaç içeren CHT membranlar, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakteri türlerine karşı mükemmel antibakteriyel aktivite göstermiştir.



BÖLÜM 2

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

2.1 KULLANILAN MATERYALLER VE KİMYASALLAR

Düşük molekül ağırlıklı kitosan toz (50.000-190.000 Da) Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Polietilen glikol-bis- (2-aminopropil eter) (2000 g / mol, MW) Hunstman Corp.'dan (Basel, İsviçre) hediye olarak alınmıştır. Oleik asit (saflık:% 85-88) CHS Endüstriyel Ürünler San. Tic.A.Ş.'den alınmıştır. Stiren Sigma-Aldrich'ten (Almanya) elde edildi ve CaH₂ üzerinden vakumla damıtılarak saflaştırıldı. Diğer tüm kimyasallar (Sigma-Aldrich, Almanya) reaktif dereceliydi ve daha fazla saflaştırılmadan kullanıldı. Diklorometan (DCM) ve Tween 80, Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alındı. Tripsin-EDTA, Dulbecco'nun Modifiye Eagle's Medium'u (DMEM F-12),% 1 penisilin / streptomisin,% 10 fetal sığır serumu (FBS) ve dimetilsülfoksit (DMSO), Biological Industries'den (Beit Haemek Israel) temin edildi. MTT (4,5-Dimetiltiazol-2-il) -2,5-Difenil tetrazolyum bromür (MTT), canlı/ölü hücreli çift boyama kiti ve TACS Annexin V-Florescein Apoptoz Saptama Kiti, Sigma-Aldrich ve R&D Systems'den temin edildi. , Inc. (MN, USA).

2.2 GRAFT KOPOLİMER SENTEZİ

2.2.1 Otookside Polimerik Oleik Asit

18 g oleik asit petri kabına döküldü ($\Phi = 14.5$ cm, oil kalınlığı: 1.0 mm) ve yaklaşık 4 ay boyunca oda sıcaklığında hava oksijenine maruz bırakıldı. Sonuçta sarı renkli viskoz sıvı polimer elde edildi [85, 92, 93]

2.2.2 PS-g-Poleik Graft Kopolimerlerin Sentezlenmesi

Polistiren-poleik-PEG graft kopolimer sentezi tek reaksiyon basamağında serbest radikal polimerizasyonu yoluyla gerçekleştirilmiştir. Poliolenik asit, stirenin serbest radikal polimerizasyonunu başlatmak için kullanıldı. Bu amaçla 8 gr stiren ve 3 gr Poleik asit (Poleik), 10 ml saf toluende çözüldü ve bu karışım, 5 saat boyunca 95°C’de manyetik karıştırıcı kullanarak yağ banyosu içerisinde karıştırıldı. Elde edilen polimer 20 ml kloroformda çözüldü, metanolde çöktürüldü ve süzüldü. Sonrasında graft kopolimer 24 saat boyunca 40 °C’de vakum altında kurutuldu [86].

2.2.3 PS-g-Poleik-g-PEG Graft Kopolimerlerin Sentezlenmesi

PS-g-Poleik-g-PEG graft kopolimerini elde etmek için kondenzasyon reaksiyonu (PEGNH₂’nin amin ucu ile PS-g-Poleik asitin karboksil grubu arasında). Kısaca 3 gr PS-g-Poleik ve 0.25 gr Polietilen glikol-bis- (2-aminopropil eter) (PEG 2000NH₂) polimerleri 10 ml saf toluende çözüldü, içerisinde azot gazı geçirildikten sonra 5 saat süresince yağ banyosu varlığında 95°C’de ısıtılarak karıştırıldı. Çözücü kısmen rotary evapoartörde buharlaştırıldı. Metanolde çöktürüldü ve filtre edildi. Filtre kağıdındaki polimer küçük petri kabına aktarıldı ve 24 saat oda sıcaklığında ve ertesi gün vakum altında 40 °C’de 24 saat kurutuldu. İleri saflaştırma işlemi için kurutulan polimer küçük kapaklı cam tüpün içerisine konuldu üzerine 15 mL kadar saf kloroform ilave edildi ve ağzı kapatılarak karıştırılıp çözünmesi sağlandı. Çözündükten sonra polimer çözeltisi adi süzgeç kağıdında süzdürüldü ve alttaki polimer çözeltisi 0.5-0.6 gr ağırlığındaki petri kabına düzgün bir şekilde döküldü. 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Ertesi gün üstünü kaplayacak kadar saf su konularak 30 dk beklendi ve daha sonra polimer filmi düzgün bir şekilde sıyrarak alındı ve su dolu beher içerisine koyularak 24 saat bekletildi. Böylelikle reaksiyona girmemiş olan PEG’ler ortamdan uzaklaştırıldı [86, 93].

2.2.4 Polimer Karakterizasyonu

Elde edilen graft kopolimerlerin fizikokimyasal karakterizasyonunu gerçekleştirmek amacıyla FTIR ve ¹H-NMR analizleri yapıldı. FTIR-ATR, Perkin Elmer Spektrum 100 Model FTIR spektrometre kullanılarak gerçekleştirildi. Graft kopolimerlerin ¹H-NMR spektrumu, Bruker

mq 20 Minispec model Pulsed NMR Spektrometre yoluyla çözücü olarak CDCl₃ ve iç standart olarak tetra metilsilan kullanılarak gerçekleştirildi.

2.3 PS-POLEİK-PEG VE CAFF-PS-POLEİK-PEG NANOPARTİKÜLERİNİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

PS-g-PLina-g-PEG graft kopolimerlerinden çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak nanopartiküller hazırlanmıştır. Bu amaçla 10 mg PS-g-Poleik-g-PEG graft kopolimeri 10 ml diklorometanda çözüldükten sonra homojenizatör varlığında (IKA T 125 Digital Ultra Turrax Homogenizer) ve buz banyosu eşliğinde Tween 80 içeren sulu dağılma ortamına damla damla enjekte edilerek sulu süspansiyon çözeltisi oluşturuldu. Organik çözücüğü uzaklaştırmak amacıyla sulu çözelti ultrasonik banyo ve mekanik karıştırıcı (2000 rpm) varlığında 2 saat karıştırılmıştır. Sonrasında ortamda reaksiyona girmeden kalan Tween 80, polimer ve organik çözücüğü uzaklaştırmak amacıyla süspansiyon haldeki çözelti 12.000 rpm hızda 30 dk süre ile suyla yıkanarak çöktürülmüştür. Alttaki çökelek -80 °C’de dondurularak ileride yapılacak olan deneysel çalışmalar için liofilize edilmiştir.

Kafeik asit yüklü nanopartikülleri (Caff-NPs) elde etmek için aynı prosedür uygulanmıştır. Kısaca 5 mg ve 10 mg Caff (5Caff ve 10Caff) etanolde (ETOH) çözümlenerek polimerik organik faza eklenmiştir. Elde edilen organik çözelti homojenizatör kullanılarak süspansiyon ortamına damla damla ilave edilmiştir. Ortamdan organik çözücüğü uzaklaştırmak için ultrasonik banyo (Alex, Germany) ve mekanik karıştırıcı (Heidolph RZR 2021) kullanılmıştır. Kullanım öncesi elde edilen NPs, 5Caff NPs ve 10Caff NPs liofilize edilmiştir [94].

2.3.1 Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

NPs ve Caff-NPs’lerin morfolojik araştırması SEM (Quanta FEG 450 Model SEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. NPs’lerin optimizasyonu, çeşitli sentez koşulları altında ortalama boy ve boy dağılımı ve zeta potansiyel (Malvern Instruments, Model 3000 HSA, England) değerlerinin belirlenmesi yoluyla elde edilmiştir. Boş NPs ve Caff-NPs’lerin fonksiyonel gruplarını belirlenmesi FTIR analizi yoluyla gerçekleştirildi

2.3.2. Enkapsülasyon Etkinliği ve Yükleme Kapasitesinin Ölçümü

Belirli miktarda Caff-NPs (5 ve 10 mg Caff) sonike edilerek 12.000 rpm'de 20 dakikada santrifüj edildi. Süpernatant ve yıkama çözeltileri toplandı ve ilacı çözmek için karışıma belirli miktarda etanol ilave edildi. Nanodrop (Thermo Scientific Nano Drop 1000 Spektrofotometre) yoluyla spektrofotometrik olarak 362 nm dalga boyunda [95] ilacın absorbans ölçümü tayin edildi. İlaç enkapsülasyon (EE) ve yükleme etkinliği (LE), aşağıdaki eşitlik yoluyla hesaplandı.

$$\text{Enkapsülasyon etkinliği (\%)} = \frac{\text{toplam ilaç miktarı} - \text{serbest ilaç miktarı}}{\text{toplam ilaç miktarı}} \times 100 \quad (2.1)$$

$$\text{Yükleme etkinliği (\%)} = \frac{\text{toplam ilaç miktarı} - \text{serbest ilaç miktarı}}{\text{kuru nanopartiküllerin ağırlığı}} \times 100 \quad (2.2)$$

2.4 CHT-MEMBRAN VE NPS CHT-MEMBRANLARIN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

CHT-membran, çözücü kalıplama metodu kullanılarak ve gliserol eklenerek hazırlanmıştır [96]. Bu amaçla esnek ve dirençli kitosan filmi, % 2'lik (w/v) asetik asit çözeltisi içerisinde % 2'lik (v/v) kitosanın çözülerek teflon petri kabına dökülmesi ve kitosan çözeltisinin buharlaştırılması yoluyla elde edilmiştir [97]. Havada çözücünün yavaş bir şekilde buharlaşması ve ardından 40 °C'de vakum altında kurutulması yoluyla transparan membranlar oluşturulmuştur [98].

Benzer şekilde kompozit membranlar, Caff NPs emdirilmiş CHT solüsyonunun, boş NPs, 5 ve 10Caff NPs'lerle karıştırılması yoluyla hazırlanmıştır. Bunun için liyofilize NP'ler, Tween 80'in sulu çözeltisiyle birlikte gliserol katkılı kitosan solüsyonu (% 1, CHT kütlesine bağlı olarak (w/w)) içerisinde dağıtılmıştır ve homojen bir karışım elde edilene kadar tüm bileşenler karıştırılmıştır. Son olarak, çözelti teflon petri kabına dökülerek çözücü buharlaştırıldıktan sonra 40 °C'de vakum altında kurutulmaya bırakılmıştır [99-101].

Boş ve kompozit membranların morfolojik değerlendirmesi SEM ve Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM, Nanomagnetics, Turkey) kullanılarak araştırılmıştır. İletken membranları oluşturmak için kesit yüzeyi altın ile kaplanmıştır ve membranların yüzey pürüzlülüğü ve

morfolojisi SEM ve AFM yoluyla araştırılmıştır. 5 µm x 5 µm'lik alanın taranması için membranlar ufak kareler halinde kesilmiştir.

2.4.1 Caff-CHT Membranlardan In vitro İlaç Salımı

Membranlardan ilaç salımını gerçekleştirmek için iki grup ilaç yüklü NPs emdirilmiş membranlar (5 ve 10Caff NPs-CHT membran) kullanıldı. 1 cm genişlik ve boyunda kare şeklindeki örnekler pH 7.4'de 5 ml fosfat tampon çözeltisi (PBS) içeren cam tüp içerisine yerleştirildi. Tüpler çalkalamalı inkübatöre yerleştirildi ve yaklaşık olarak 50 gün boyunca hafif bir şekilde sallanarak 37 °C'de inkübe edildi. Belirlenen zaman aralıklarında 40 µl süpernatant ortamdan alındı ve cam tübe aynı miktarda taze PBS anında ilave edildi. İlacı çözmek amacıyla 40 µl ethanol 40 µl süpernatanta ilave edilerek sonike edildi ve sonra nanodrop kullanılarak 362 nm dalga boyunda süpernatanttaki Caff'in absorbands ölçümü gerçekleştirildi [91].

2.4.2 Mekaniksel Özellikler

CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff ve 10Caff NPs-CHT membranların gerilme kuvveti (örnek alanının minimum kesit yüzeyi/kırılmadaki maksimum yükleme) ve kırılmadaki uzama (örneğin başlangıçtaki ölçüm boyu/örneğin kırılma anındaki uzaması x 100), oda sıcaklığında 10 mm/dak piston başlık hızında universal test cihazı yoluyla (Zwick/Roell Z250 kN, Ulm, Germany) araştırıldı [97]. Membranlar 2x2 cm (uzunluk x genişlik) boyutunda kesildi ve ölçümler 3 tekrarlı yapıldı.

2.4.3 Antibakteriyel Etki

Boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membranların *E.coli* (gram negatif) and *S.aureus* (gram positif) bakteri türleri üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi plaka sayım metodunun kullanılması yoluyla araştırıldı. Bakteriyel büyüme, canlı sayımı metoduyla tayin edilmiştir. 250 rpm çalkalama hızında inkübatör içerisinde at 37 °C'de 24 saat boyunca sırasıyla Luria-Bertani ve nutrient broth besiyerinde *E.coli* ve *S.aureus* büyütülmüştür. 4 membran grubu 2 x 2 cm boyutunda (uzunluk x genişlik) kesildi ve 30 dakika UV ışını altında steril edildi. Bakteriyel popülasyonu yeteri derecede arttıktan sonra bakteriyel süspansiyon, McFarland 0.5 standart (yaklaşık 1.5×10^8 CFU/ml

hücre yoğunluğu) yoğunluğunda steril tuz (su içerisinde % 0.85 NaCl w/v) içerisinde bakteri kolonilerinin dağıtılması yoluyla elde edildi ve spektroskopik olarak kontrol edildi. 24 saat boyunca tüm örnekler bakterilerle kültüre edildikten sonra yıkama yoluyla bağlanmamış bakterileri uzaklaştırmak için PBS kullanıldı. Yapışan bakteriler hafif vorteksleme ve ultrasonifikasyon yoluyla ayrıldı. En son çözelti dilüe edildi, dağıtıldı ve 24 saat boyunca nutrient agar plakalar üzerinde kültüre edildi. Agar plakalar üzerinde CFU'ların miktarı sayıldı [102, 103]. Örneklerin antibakteriyel aktivitesi aşağıdaki eşitlik yoluyla tayin edildi:

$$\text{antibakteriyel oran (\%)} = \frac{\text{kontrol CFU} - \text{deneysel gruplar CFU}}{\text{kontrol CFU}} \times 100 \quad (2.3)$$

2.4.4 Hücre Sitotoksite Analizi

Membranların in vitro sitotoksiteleri SaOS-2, insan osteosarkoma kanser ve MC3T3-E1, fare preosteoblastik hücre hatlarının kullanılması yoluyla belirlendi. Bu amaçla, membranlarda hücre çoğalması üzerine NP'lerin entegre edilmesinin etkisini değerlendirmek için MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) analiz kiti kullanıldı. SaOS-2 ve MC3T3-E1 hücreleri, 9×10^3 cell/well yoğunluğunda 96-well platelere ekildi. Hiçbirşeyle muamele edilmemiş hücreler kontrol grubu olarak değerlendirildi. Membranlar 1x1 cm boyutunda kesildi ve yaklaşık 20 dakika boyunca UV ışını altında steril edildi. Steril edilen membranlar ve NP'ler (25 µg/mL), 5 ml DMEM ortamına daldırıldı ve 37 °C de % 5 CO₂ etüvünde 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan sonra membranlardan 200µl medyum alındı ve bu miktar hücre kültürü içeren 96 well kuyucuklara transfer edildi. 24 saatlik inkübasyondan sonra medyum ortamdaki uzaklaştırıldı ve her bir kuyucuğa fenol kırmızısı içermeyen 5µg/ml of RPMI 1640 ile dilüe edilmiş 200µl 3 mg/ml MTT çözeltisi ilave edilerek karanlıkta 3 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bundan sonra medyum ortamdaki uzaklaştırıldı ve formazan kristalini çözmek için her bir kuyucuğa 200µl isopropanol/HCl çözeltisi ilave edildi. MTT formazan ürünü mikropłaka okuyucusu (Biochrom Asys Expert Plus, Microplate Reader, Holliston, Ma) ile 570 nm dalga boyunda ölçüldü. Hücre canlılığı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Hücre canlılığı (\%)} = \frac{A_{570}(\text{örnek})}{A_{570}(\text{kontrol})} \times 100 \quad (2.4)$$

Flow Sitometri analizi için, MC3T3-E1 and SaOS-2 hücreleri flask içerisinde 1×10^3 yoğunluğunda hücre sayısına ulaşana kadar kültüre edildi. $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de CO_2 inkübatörde 24 saat boyunca CHT-membranlar ile muamele edildikten sonra üreticinin talimatına göre apoptotik analizi sağlandı. Bunun için hücreler tripsinize edildi ve 5 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi. Sonrasında hücreler PBS ile yıkandı. Analiz için, hücreler, 1 μL annexin V-FITC, 10 μL PI ve tampon çözelti içeren 100 μL boyama çözeltisi ve 400 μL tampon çözeltisi içerisinde süspansiyon edildi ve örnekler BD FACSDiva yazılım yoluyla analiz edildi.

2.4.5 Live/dead Analizi

Membranların üzerinde canlı/ölü hücrelerin oranını değerlendirmek amacıyla hücreler, live/dead canlılık analiz kiti ile boyandı. İlk olarak, MC3T3-E1 hücreler (15×10^3 cells/well), % 1 penisilin-streptomisin ve % 10 fetal kalf serumu (FCS) ile desteklenen α -MEM üzerinde, SaOS-2 hücreleri (15×10^3 cells/well) ise, % 15 fetal bovin serum (FBS) ve 1 PenStrep eklenmiş McCoy's 5A (Modified) (serum içermeyen L-Glutamin) içerisinde $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de % 5 CO_2 ortamında büyütüldü ve sonrasında 24 saat boyunca $0.25 \mu\text{g/ml}$ oranında serbest kafeik asit, NPs, Caff yüklü NPs içeren formülasyonlar ve boş CHT membran, NPs, 5 ve 10Caff NPs emdirilmiş CHT membran (1x1 cm) ile muamele edildi. Hücre kültür plakası kontrol olarak seçildi. Bundan sonra medyum uzaklaştırıldı ve hücreler calcein-AM ve PI çözeltisi ile boyanarak 10 dakika beklendi. Canlılık oranı, FITC ve Texas Red filtreleri içeren inverted floresan mikroskop (Leica, Wetzlar, Germany) kullanılarak değerlendirildi. Tüm örneklerle muamele sonrası hücre hatlarındaki yaşam oranlarını tayin etmek için canlı ve ölü hücreler sayıldı [104].

2.5. İSTATİKSEL ANALİZ

Standart varyans analiz (ANOVA) metodu kullanılarak tüm örnekler 3 tekrarlı olacak şekilde analiz edildi. Sonuçlar ortalama değerler \pm standard sapma (SD) şeklinde rapor edildi.



BÖLÜM 3

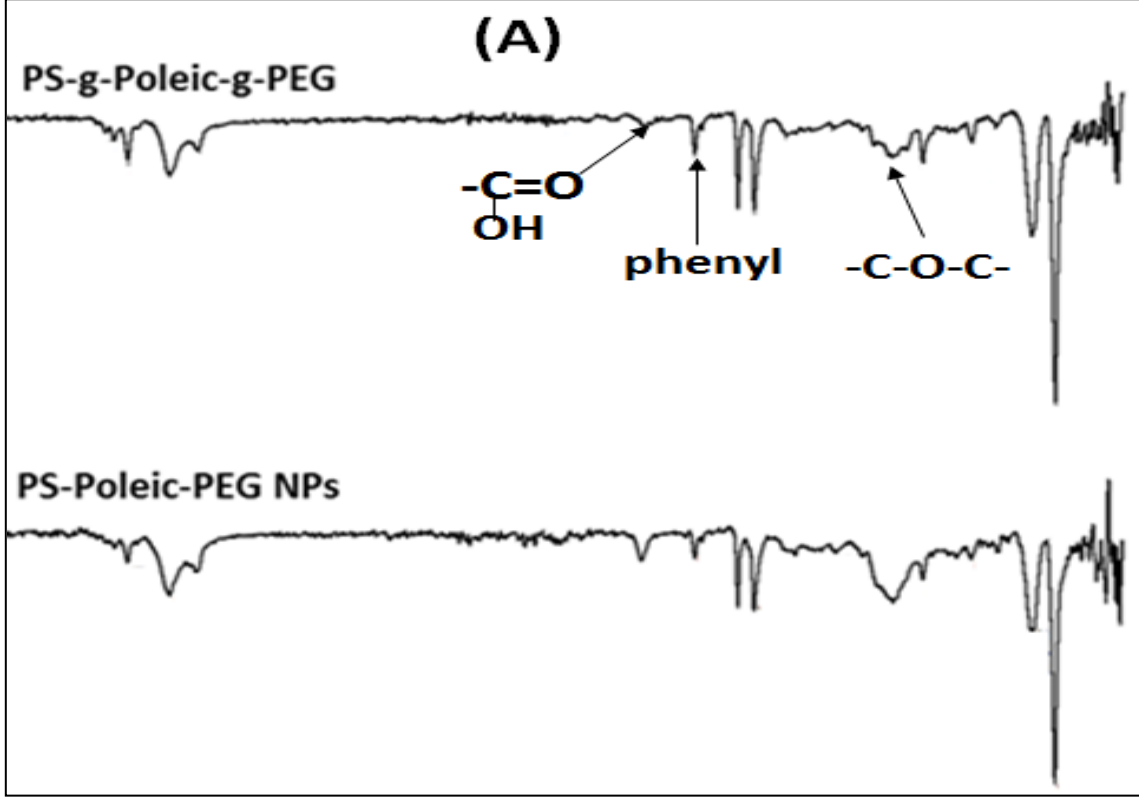
DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

3.1 PS-G-POLEİK-G-PEG GRAFT KOPOLİMERLERİNİN SENTEZ VE KARAKTERİZASYONU

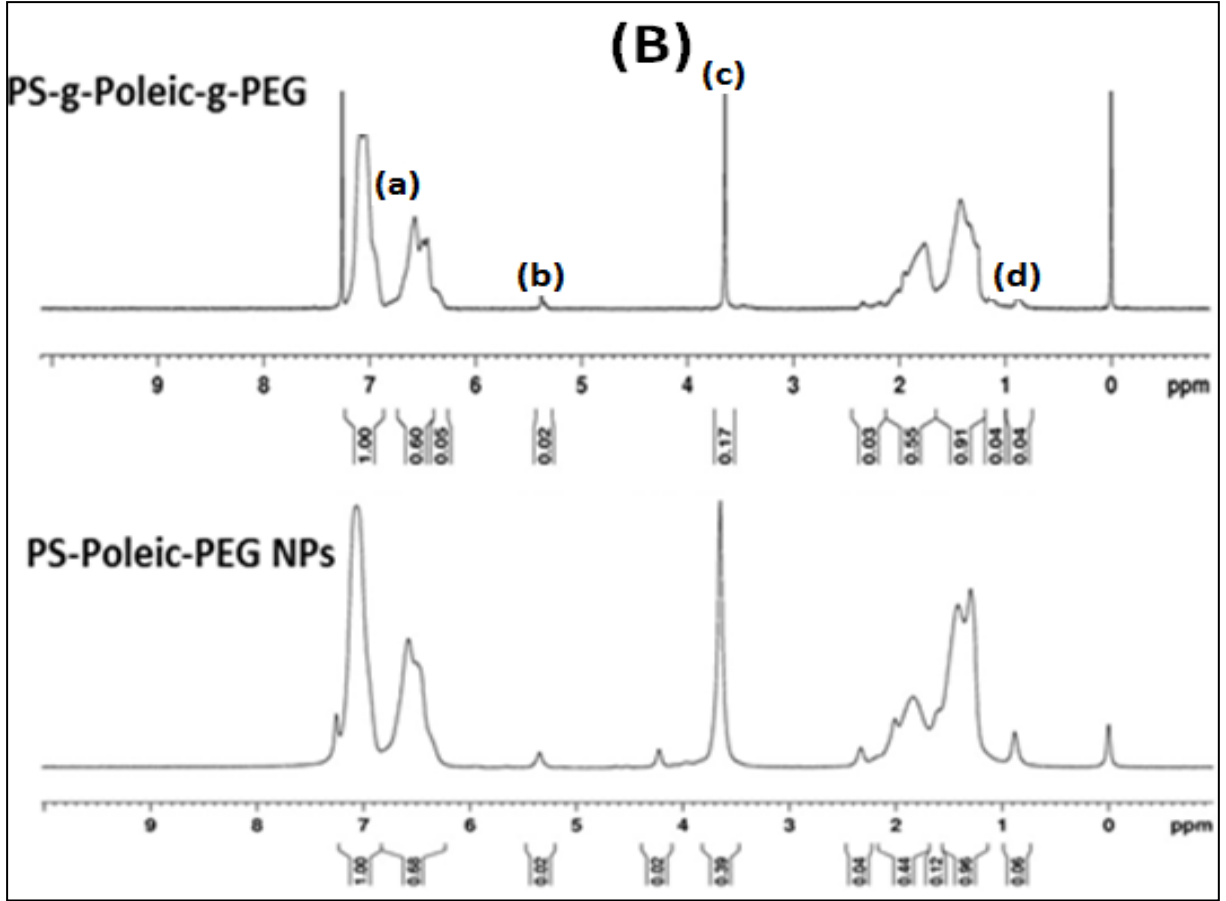
Poliolenik asit, peroksit oluşumu için 2 allilik grup ve tek çift bağın varlığından dolayı graft kopolimerizasyonu daha az komplike olup, basit yapısal karakterizasyona sahiptir. Diğer çoklu doymamış yağ asitleri, yüksek sıcaklıkta polimerin çapraz bağlanmasından dolayı yaklaşık 80 °C gibi düşük sıcaklıkta polimerize olurken, oleik asit herhangi bir çapraz bağlanma olmaksızın yaklaşık 95 °C'de daha yüksek sıcaklıkta polimerize olabilmektedir. Oleik asit makroperoksiti elde etmek için oleik asitin otooksidasyonu, oda sıcaklığında gün ışığı altında oleik asitle hava oksijeninin reaksiyona girmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Otooksidasyon reaksiyonu allilik hidrojene oksijen molekülünün saldırması yoluyla gerçekleşmektedir ki bu reaksiyon karbon atomu üzerinde radikal oluşumuna neden olmaktadır. Sonuç olarak, hidroperoksit ve peroksitler, bu karbon radikale oksijenin saldırması yoluyla oluşabilmektedir [93]. Serbest karboksilik grubu içeren PS-g-Poleik asit graft kopolimerini elde etmek için polistirenin serbest radikal polimerizasyonu, poliolenik asit ile başlatılmıştır. Amfifilik PS-g-Poleik-g-PEG graft kopolimerini oluşturmak için PS-g-Poleik graft kopolimerinin serbest karboksilik asit grubu, PEG'nin amin ucu ile reaksiyona girmiştir.

Elde edilen graft kopolimerlerinin fizikokimyasal karakterizasyonu, FTIR ve ¹H-NMR kullanılması yoluyla gerçekleştirilmiştir. PS-g-Poleik-g-PEG graft kopolimerlerinin FTIR spektrumunda 1728 cm⁻¹'de Poleik asitin karboksilik asidinin karbonil bandı, 1600 cm⁻¹'de stirenin fenil grupları ve 1105 cm⁻¹'de ise PEG'e ait karakteristik pikler görülmüştür (Şekil 3.1(A)).

PS-g-Poleic-g-PEG graft kopolimerlerinin $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarına bakıldığında Şekil 3.1(B) polistirenin fenil grupları 6.5-7.1 ppm de; Poleik asitin allilik groupları 5.3 ppm'de; Poleik asitin metil protonları 0.9 ppm'de; PEG ve Poleik asitin $-\text{CH-O}-$ gruplar 3.6 ppm'de karakteristik sinyal göstermişlerdir [86].



Şekil 3.1 A) Sırasıyla PS-g-Poleic-g-PEG graft kopolimeri ve NPs'lerin FTIR spektrumları.



Şekil 3.2 (B) Sırasıyla PS-g-Poleic-g-PEG graft kopolimer ve NPs'lerin ¹H-NMR spektrumları.

3.2 NANOPARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

NP'ler çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak hazırlanmıştır [105]. Nanopartikülleri oluşturmak için organik çözücü olarak diklorometan ve surfektant olarak non-iyonik Tween 80 kullanılmıştır. Kafeik asit etanolde çözülmüştür ve Caff NP'leri hazırlamak için diklorometan içeren polimer çözeltisi ile karıştırılmıştır. Boş NP'ler, farklı parametrelerin (polimer ve surfektant miktarı, karıştırma hızı) değiştirilmesi yoluyla optimize edilmiştir (Çizelge 3.1). Optimize boyut, polidispersite ve zeta potansiyel değerleri sırasıyla 189 ± 3 nm, 0.017 ± 0.020 ve -28.5 ± 0.10 mV olarak bulunmuştur. Polimer miktarı arttıkça presipitasyon arttığından dolayı partikül boyutu artmıştır. En yüksek polimer miktarında partikül boyutu 401 ± 2 nm olarak bulunmuştur. Nanopartiküller arasındaki sterik itmeyi arttırmasından dolayı Tween 80'nin artması ile stabilizasyon artmıştır ve partikül boyutu küçülmüştür. 189 ± 3 nm boyutundaki optimize partikül boyutu, en düşük Tween 80 konsantrasyonu ile gözlenmiştir. Süspansiyon ortamına verilen enerjinin artması ve nanopartiküllerin daha iyi dağılmasından

dolayı homojenizasyon hızının artması ile daha küçük nanopartiküller elde edilmiştir. % 90 genlikteki en hızlı homojenizasyon oranı, en düşük 189 ± 3 nm boyutu ile sonuçlanmıştır [94]. Boş partiküller ve ilaç yüklü partiküllerin polidispersite, boyut ve zeta potansiyel değerleri Dinamik Işık Saçılma (DLS) yoluyla değerlendirilmiştir (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2). Boş NP'ler için, partiküllerin ortalama boyut ve polidispersite değerleri sırasıyla 189 ± 3 nm ile 0.017 ± 0.020 'den 401 ± 2 nm ve 0.125 ± 0.022 'ye ve zeta potansiyel değerleri de -17.5 ± 0.35 'den -28.5 ± 0.10 mV'a oranlanmıştır. NPs içerisinde belirli miktardaki ilacın enkapsülasyon etkinliğinden dolayı kafeik asit yüklü NP'lerin boyut değeri boş olanlarından hafif yüksek çıkmıştır. NPs ve Caff-NP'lerin polidispersite indeksi ve zeta potansiyel değerleri arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2'de görüldüğü gibi NP'ler hemen hemen dar bir boyut dağılımı göstermiştir ve optimize nanopartikül değeri yaklaşık olarak 183 nm olarak bulunmuştur. Poleik oleik asitin karboksil grubundan dolayı tüm partiküllerin zeta potansiyel değerleri negatif yüklüdür. Graft kopolimer hazırlama basamağında, PEG miktarı arttığında çapraz bağlanmadan dolayı graft kopolimerin çözünürlüğü azalmıştır [106]. Bu sebeple bu çalışmada graft kopolimer hazırlama aşamasında PEG miktarı azaltılmıştır. Sonuç olarak az miktarda amin uçlu PEG'den ve ayrıca karboksil grubunun negatif yükünün perdeleme etkisinden dolayı zeta potansiyel değeri negatif yüke doğru kayma eğilimi göstermiştir. Nanopartiküllerin zeta potansiyel değeri ± 30 mV'a yaklaşmıştır. Yüksek negatif zeta potansiyel değeri NP'lere ekstra stabilite katmıştır. Benzer negatif yükler partiküller arasında elektrostatik itmeye sebep olmuştur ve böylelikle partiküllerin agregasyonu önlenmiştir ve sonuçta koloidal sistemin stabilitesi artmıştır [107-109].

NP'lerin fizikokimyasal karakterizasyonu da FTIR and $^1\text{H-NMR}$ yoluyla gerçekleştirilmiştir. NP'lerin FTIR spektrumuna bakıldığında Poleik karboksilik asitin karbonil bandı 1736 cm^{-1} 'de, stirenin fenil grubu 1601 cm^{-1} 'de ve PEG 1103 cm^{-1} 'de karakteristik sinyal göstermiştir (Şekil 3.1(A)). Graft kopolimerle karşılaştırıldığında benzer sonuçlar bulunmuştur. NP'lerin $^1\text{H-NMR}$ spektrumuna bakıldığında graft kopolimerden elde edilen benzer sonuçlar gözlenmiştir (Şekil 3.1(B)).

Çizelge 3.1 NP'lerin boy-boy dağılımı üzerine farklı parametrelerin etkisi.

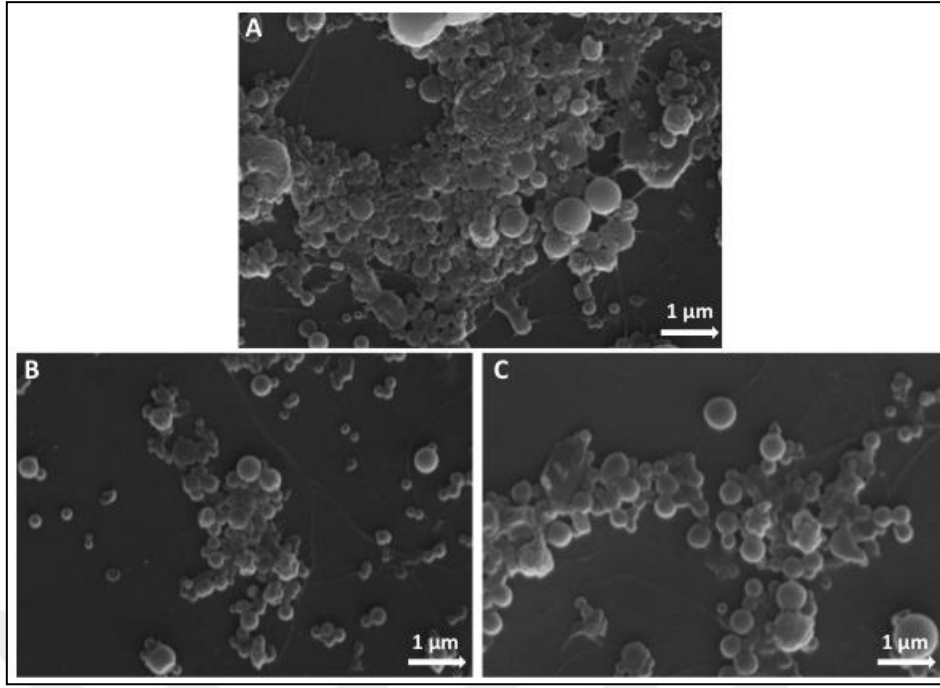
Örnek	Polimer konsantrasyonu (mg/ml DCM)	Tween 80 konsantrasyonu (mg/ml)	Homojenizasyon oranı (genlik,%)	Boyut (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
	5	0.06	90	338±7	0.121±0.055	-22.3±0.40
	3	0.06	90	230±4	0.038±0.026	-27.1±0.13
	1	0.06	90	189±3	0.017±0.020	-28.5±0.10
	1	0.10	90	253±2	0.095±0.017	-21.6±0.33
PS-Poleic-PEG NPs	1	0.06	90	343±5	0.119±0.037	-19.9±0.09
	1	0.03	90	401±2	0.125±0.022	-19.1±0.11
	1	0.06	90	189±3	0.017±0.020	-28.5±0.10
	1	0.06	70	228±6	0.132±0.030	-18.7±0.26
	1	0.06	50	379±9	0.128±0.040	-17.5±0.35

Çizelge 3.2 Boş Nps ve kafeik asit yüklü NP'lerin karakterizasyonu.

Örnekler	Ortalama Boyut (nm)	PDI	Zeta Potansiyel (mV)
NPs	189±3	0.017±0.020	-28.5±0.10
5Caff-PS-Poleic-PEG NPs	201±2	0.032±0.045	-23.2±0.05
10Caff-PS-Poleic-PEG NPs	225±4	0.043±0.012	-20.8±0.13

3.2.1 Morfoloji

Optimize NPs ve kafeik asit yüklü NP'lerin yüzey morfolojisi SEM (Taramalı Elketron Mikroskobu) yoluyla gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.2'ye bakıldığında iyi küresel şekle sahip düz yüzeyli partiküller elde edilmiştir. NP'lerin ve Caff-NP'lerin boyutları DLS sonuçlarındakinden daha düşük gözlenmiştir.



Şekil 3.3 (A) NPs; (B) 5Caff NPs ve (C) 10Caff NP'lerin SEM görüntüleri.

3.2.2 İlacın Enkapsülasyon ve Yükleme Etkinlikleri

Çizelge 3.3, NP'lerin ilaç enkapsülasyon (EE) ve yükleme etkinliğini (LE) göstermektedir. İlaç konsantrasyonu arttıkça hazırlama basamağı esnasında ilaç NP'ün dışına çıkma eğilimi göstermiştir. Sonuç olarak, ilaç enkapsülasyon etkinliği arttıkça ilaç yükleme kapasitesi azalmıştır [84, 110].

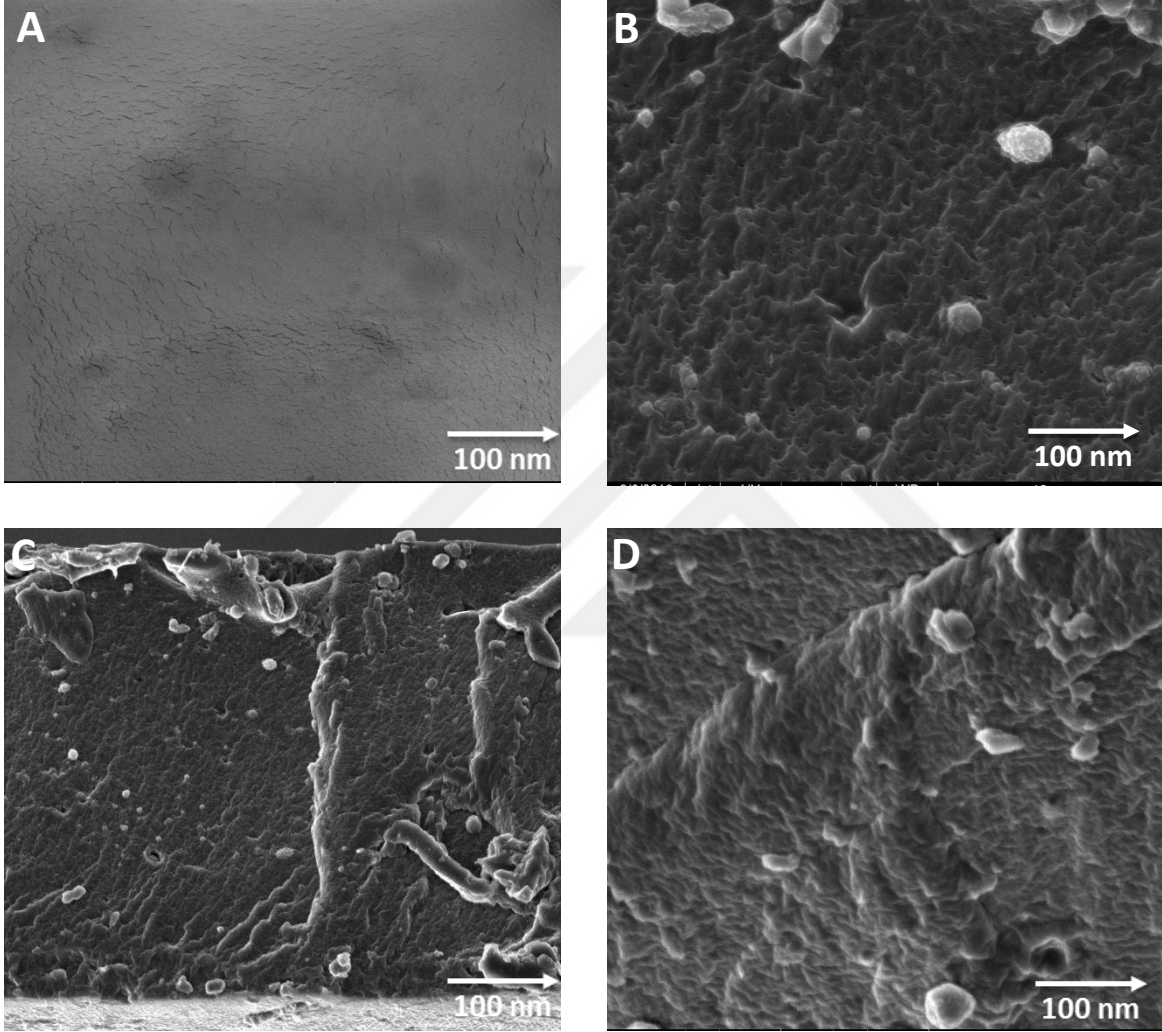
Çizelge 3.3 Farklı ilaç konsantrasyonlarında enkapsülasyon ve ilaç yükleme etkinlik değerleri.

Örnekler	Caff/Polimer (mg/mg)	Enkapsülasyon Etkinliği (%)	Yükleme Etkinliği (%)
5 Caff NPs	5:10	59±0.12	19.3±0.02
10 Caff NPs	10:10	50±0.20	24.5±0.05

3.3 CHT MEMBRANLARIN VE NPS EMDİRİLMİŞ CHT MEMBRANLARIN KARAKTERİZASYONU

CHT membranlar, boş NPS, 5Caff NPs ve 10Caff NPs emdirilmiş CHT membranlar başarılı bir şekilde hazırlanmıştır ve membranların içerisindeki NP'ler SEM (Şekil 3.3) ve AFM (Şekil 3.4) yoluyla onaylanmıştır. SEM görüntülerine bakıldığında CHT membranların yüzeyi

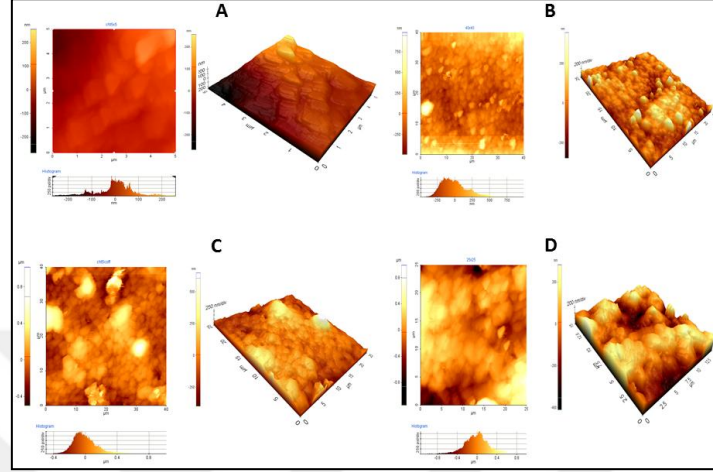
düz iken NPs ve Caff NPs emdirilmiş CHT membranların yüzeyi nano ölçek karakteristiği göstermiştir. CHT membran içerisindeki Caff NPs konsantrasyonu arttıkça nanofaz topolojik karakteristiğine sahip membran ortaya çıkmıştır ve NPs, membranın morfolojisini önemli ölçüde değiştirmiştir. Sonuç olarak; NPs ve Caff NPs'nin eklenmesi membranın yüzey pürüzlülüğünün artmasına sebep olmuştur [101, 111].



Şekil 3.4 (A) Boş CHT membran; (B) NPs-CHT membran; (C) 5Caff NPs-CHT membran; (D) 10Caff NPs-CHT membranın SEM görüntüleri.

Boş ve NPs emdirilmiş CHT membranların yüzey topografisi AFM kullanılarak araştırıldı. Şekil 3.4'ten görüldüğü gibi boş NPs-CHT membran, 5Caff ve 10Caff NPs-CHT membranın yüzeyi pürüzlüken CHT membranın yüzeyi çok daha düzdür ve bu pürüzlülük etkisi özellikle 10Caff NPs-CHT membranda çok daha fazla gözlenmiştir. Bunun sebebi NPs ve ilaç hidrofobik özelliklere sahiptir ve hidrofilik membran ve sulu dış ortam çevresi arasındaki bu hidrofobik katkılama çok daha kolay bir şekilde sudan kaçabilmiş ve yapının iç bölgesine

itilerek çukur bölgenin içerisine penetre olmasından dolayı bunların yüzey pürüzlülüğü artmıştır. Bu yapıların çift hidrofobik özelliğinden dolayı Caff NPs-CHT membran üzerinde bahsedilen bu etki çok daha fazla artmıştır. Çizelge 3.4'te yüzey pürüzlülüğü için elde edilen değerler bu etkiyi kanıtlayıcı niteliktedir [96].



Şekil 3.5 (A) CHT membran; (B) NPs-CHT membran; (C) 5Caff NPs-CHT membran; (D) 10Caff NPs-CHT membranların AFM görüntüleri.

Çizelge 3.4 Örnek yüzeylerinden elde edilen pürüzlülük değerleri.

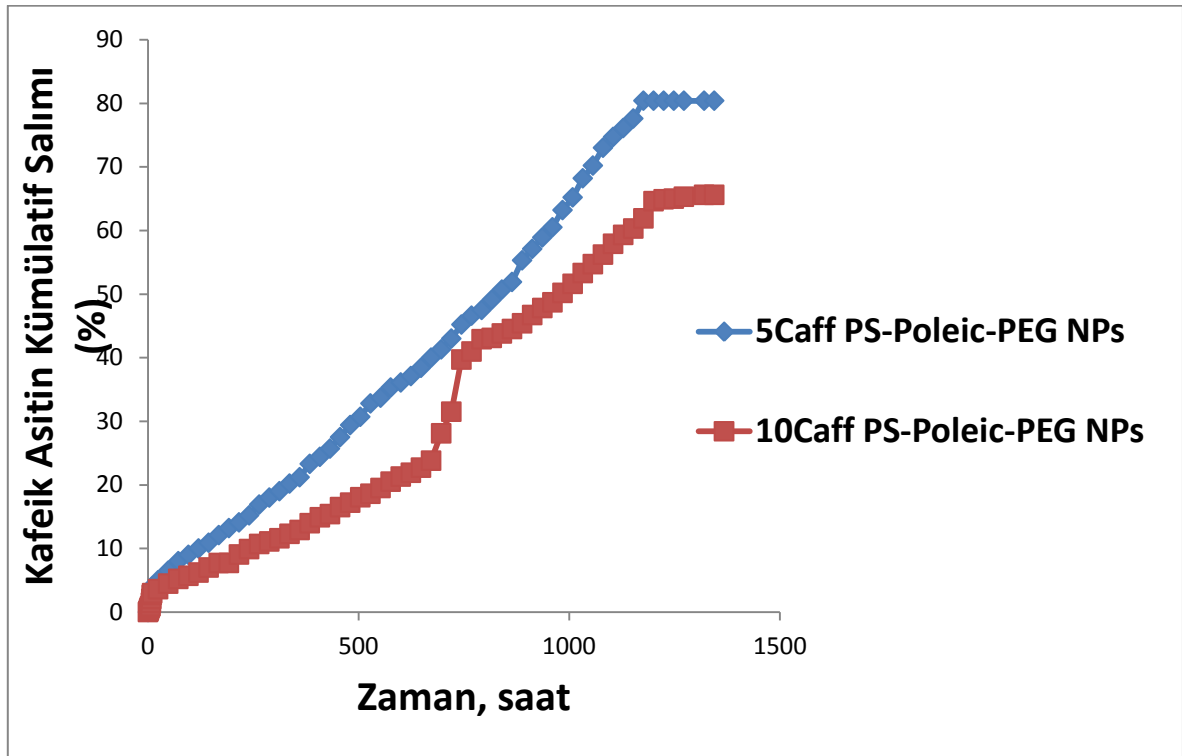
Örnekler	Pürüzlülük Ra (nm)
CHT Membran	33.51
Boş NPs-CHT Membran	40.60
5 Caff NPs-CHT Membran	67.09
10 Caff NPs-CHT Membran	106.64

3.3.1 In vitro İlaç Salımı

5Caff ve 10Caff NPs-CHT membranların in vitro ilaç salım profili Şekil 3.5'te gösterilmiştir. Başlangıçta, ilk patlama etkisi hafif gözlenmiştir. Sonraki aşamada her bir örnekte kontrollü ve yavaş salım profili elde edilmiştir. En yüksek salım profili % 80 salım hızı ile 5 mg kafeik asitte gözlenirken, 10Caff-CHT membranda bu oran % 62 olarak bulunmuştur. Nanopartikülde ilaç salım yüzdesi ve ardından membrandan salım daha kolay gözlenmiştir ve dış sulu ortama ilacın küçük miktarının daha kolay salınmasından dolayı 5Caff NPs-CHT membran örneğinde salım daha hızlı olmuştur. 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membrandan kafeik asit sırasıyla 1152. ve 1176. saatleri içerisinde tamamen salınmıştır.

Sonuç olarak; tüm ilaç yüklü CHT membran sistemleri kararlı, sürdürülebilir ve uzatılmış kontrollü salım profili göstermiştir ve sonunda sistem platoya ulaşmıştır.

Giovino ve arkadaşları; 3 farklı konsantrasyonda (1, 3 ve 5 mg NPs/film) bukkal kitosan film içerisine peptid yüklü nanopartikülü entegre etmişlerdir. 3 mg NPs/film mükemmel mukoadesyon ve şişme özellikleri göstermiştir. Filmlerden insülin yüklü NP'lerin kontrollü salımı 6 saatten sonra gerçekleşmiş olup, 360 saat sonra enkapsüle edilmiş insülinin % 70 oranında salımı gözlenmiştir [112].



Şekil 3.6 5Caff NPs-CHT membrane ve 10Caff NPs-CHT membranlardan kafeik asitin *in vitro* salım profili.

3.3.2 Mekaniksel Özellikler

Çekme gerilme-uzama test metodu yoluyla CHT membran, boş NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membranların mekaniksel özellikleri değerlendirildi. Örneklerin çekme direnci ve kırılmadaki uzama değerleri Çizelge 3.5'te gösterilmiştir. En yüksek çekme direnci 10Caff NPs-CHT membranda gözlenmiştir. CHT membran ile karşılaştırıldığında CHT membrana NPs ve ilaç yüklü NPs'nin ilave edilmesi sıkıştırma kuvveti veya sıkıştırma direncini arttırmaktadır. CHT membran ile

karşılaştırıldığında, özellikle ilaç yüklü NPs çok fazla miktarda doldurucu olarak davranmış olup çok daha fazla membranla etkileşime girmiştir ve böylelikle katkılandırıcı, membran içerisinde daha iyi dağılmıştır. Doldurucu/membran etkileşiminin sonucu olarak, kompozit membran gerildiğinde uygulanan yük doldurucu/membran ara yüzeyi boyunca transfer edilebilmektedir ve bu yük nanopartikül tarafından paylaşılabilir. Ancak aşırı miktarda nano-doldurucunun eklenmesi kümelenmeye ve zamanından önce yapının çatlamasına neden olmakta, kırılmayı iletmemekte ve mekaniksel etkiyi zayıflatmaktadır [113].

10Caff NPs emdirilmiş kompozit membranların gerilme kuvveti, 5Caff NPs-CHT membranından hafif yüksek çıkmıştır. 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membranların mekaniksel özellikleri, boş CHT-membran ve NPs-CHT membranlarından daha yüksektir. Bunun sebebi, boş partikülle karşılaştığımızda ilaç yüklü NPs'lerin boyutu arttığından dolayı membran yapıyla etkileşim ve yapı içerisindeki boşlukları doldurma etkinliği artmıştır. Bu sebeple Caff NPs-CHT membran etkileşimi artmıştır ve bu etki mekaniksel özellikleri iyileştirmiştir. Bu türden mekaniksel davranışları açıklamak mümkündür. CHT geniş miktarda dairesel yapı içermektedir. CHT membran içerisindeki moleküllerarası ve molekül içi hidrojen bağları, OH ve NH₂ tarafından sağlanmaktadır. Bu durum CHT'nin dönmesini önlemektedir. NP'lerin ortama eklenmesi molekül içi hidrojen bağlarını zayıflatmıştır ve PEG'nin NH₂ grubuyla CHT'nin OH grubu arasında yeni hidrojen bağlarının oluşmasına neden olmuştur. Bu tür etkileşim molekül zincirlerinin kolaylıkla hareket etmesine neden olup dönme etkisini arttırmıştır. Bu sebeple gerilme kuvveti ve kırılmadaki uzama artmıştır. Ancak ortama belirli miktardan daha fazla NP'lerin eklenmesi kompozit membranın daha kırılğan olmasına neden olduğundan bu etkiyi kısmen azaltmıştır. Sonuç olarak, bu tür kompozit membranların mekaniksel özellikleri membran yapısına uygun miktarda NP veya ilaç yüklü NP'lerin eklenmesiyle artırılabilir [114-117].

Çizelge 3.5 CHT membrane, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membranların mekaniksel özellikleri. Değerler ortalama \pm standart sapma; n=3.

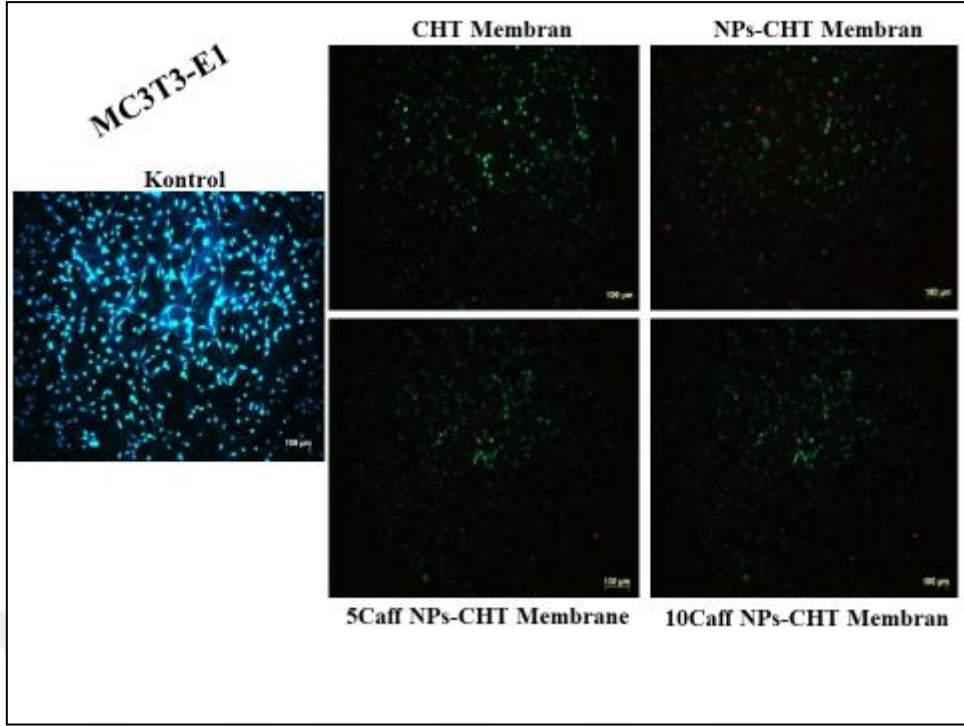
Örnekler	Gerilme Kuvveti (MPa)	Kopmadaki Uzama (%)
CHT Membran	13.3	2.5
NPs-CHT Membran	30.5	4.2
5 Caff NPs-CHT Membran	33.9	4.9
10 Caff NPs-CHT Membran	40.4	5.5

Benzer şekilde Li ve arkadaşları; chitosan/ZnO nanopartikül (CS/nano-ZnO) kompozit membranları sentezlemişlerdir. ZnO nanopartiküllerin kitosan matrisine iyi bir şekilde dağıldığı görülmüştür. ZnO içeriği CS/nano-ZnO kompozit membranların mekaniksel özelliklerini etkilemiştir ve ZnO içeriği ağırlıkça ve bu miktar % 3'ün üzerinde olduğunda CS/nano-ZnO kompozit membranların mekaniksel özelliklerinin saf CS membrandan çok daha iyi olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda kompozit membranların çekme kuvvetlerinin, ZnO içeriğinin % 10'un üzerinde olması durumunda da saf CS membranındaki ile karşılaştırıldığında artış gösterdiği gözlenmiştir.

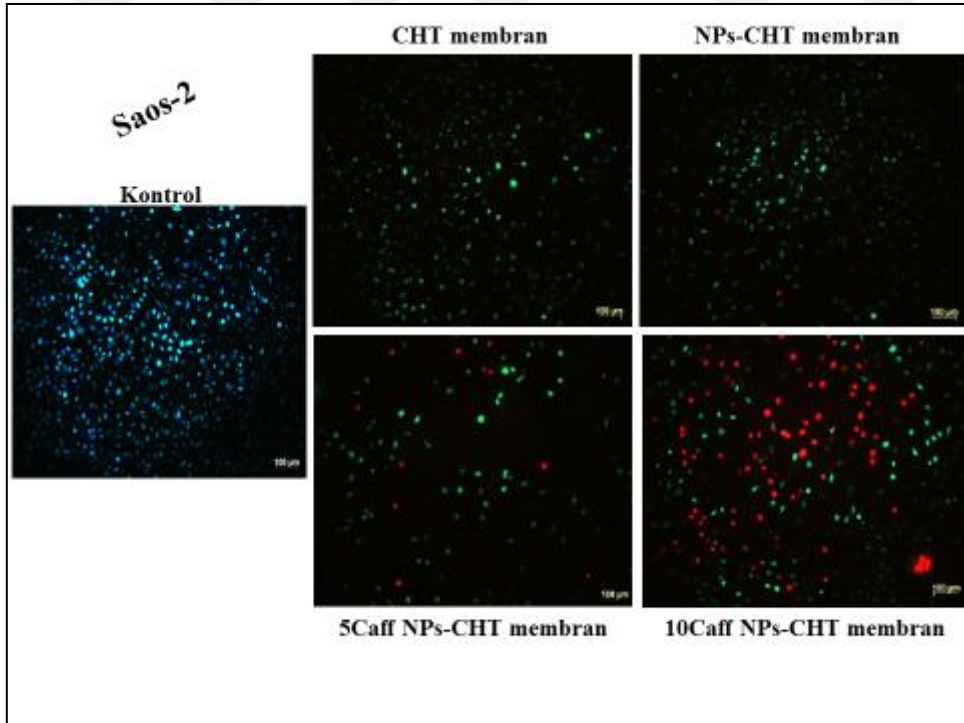
Giovino ve çalışma grubu; makromoleküllerin bukkal salımı için kitosan bağlı insülin yüklü poli(etilen glikol) metil eter-blok-polilaktid (PEG-b-PLA) nanopartikülleri hazırlamış ve karakterize etmişlerdir. İnsülin yüklü NPs'ler farklı kopolimer konsantrasyonlarında (% 5 ve 10 w/v) ve 2, 5 ve % 10'luk ilaç yüklenmesiyle hazırlanmıştır. 3 mg ve 5 mg film başına NP'ler sırasıyla daha yüksek ve daha düşük kırılmada uzama göstermiş olup boş kitosan filme göre değerleri yüksek kalmıştır. 3-NPs-kitosan filmlerin young modülüsü, boş kitosan filmlerinkine çok benzerken, 1-NPs-kitosan filminkinden daha düşük ve 5-NPs-kitosan filminkinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak 3 mg insülin yüklü NP emdirilmiş kitosan filmler mükemmel fiziko-mekaniksel özellik göstermiştir [101].

3.3.3 Canlı/Ölü Analizi

SaOS-2 ve MC3T3-E1 hücrelerinin toksisitesi canlı/ölü analizi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.6 ve 3.7'den görüldüğü gibi her iki hücre hattı üzerinde ödürücü etki yaratacak şekilde en fazla apoptotik etki 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membranda gözlenmiştir. Model ilaç kafeik asit SaOS-2 osteosarkoma kanser hücre hattına karşı spesifik olduğu için sağlıklı MC3T3-E1 preosteoblast hücre hattına göre çok daha öldürücü etki göstermiştir. En az apoptotik etki CHT membran ve NPs-CHT membran üzerinde gözlenmiştir. Ek olarak, Caff NPs-CHT membranlar MC3T3-E1 sağlıklı hücre hattı üzerinde hiçbir etki göstermemiştir ve SaOS-2 ile karşılaştırıldığında canlı hücre sayısı oldukça yüksek bulunmuştur.



Şekil 3.7 Boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membranlar ile inkübe edilen MC3T3-E1 hücrelerin Floresan Mikroskop görüntüleri.



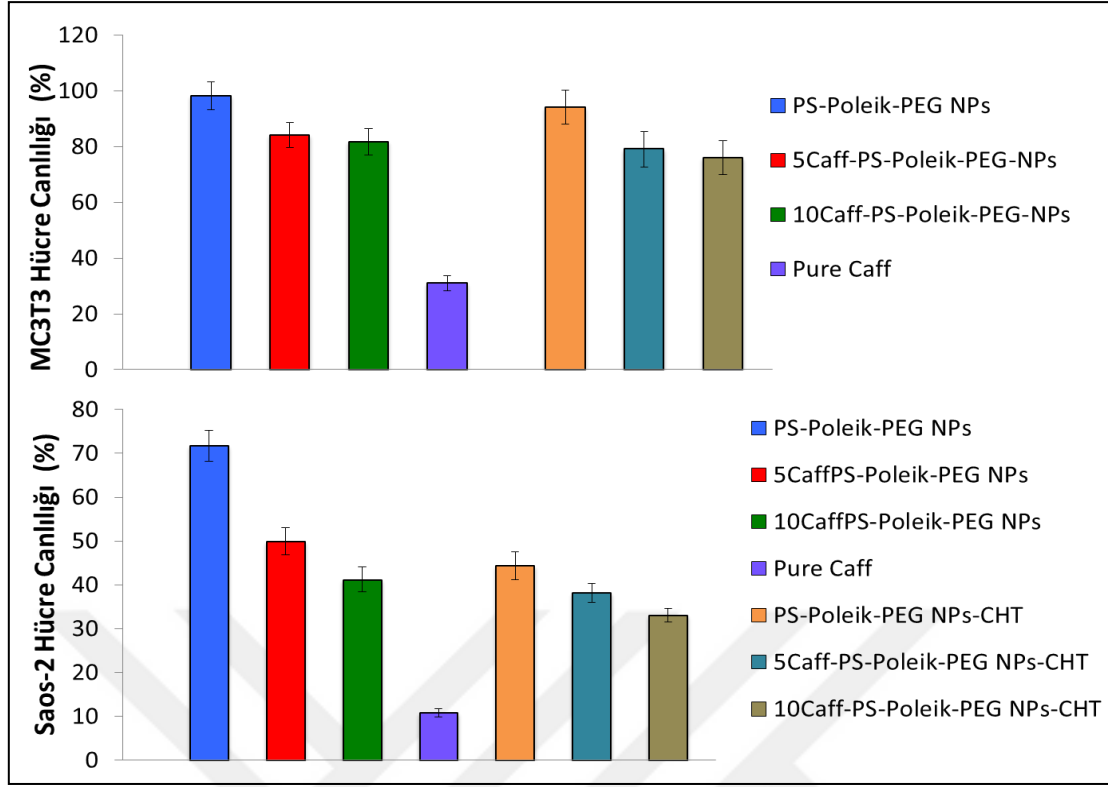
Şekil 3.8 Boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membranlar ile inkübe edilen SaOS-2 hücrelerin Floresan Mikroskop görüntüleri.

Tamburici ve Tihminoğlu, kemik rejenerasyonu için diatomit entegre edilmiş kitosan kompozit membranlar üzerine çalışma yapmışlardır. Kompozit membranların *in vitro* sitotoksosite ve hücre çoğalması, ıslanabilirlik, termal, kimyasal, morfolojik ve mekaniksel özelliklerini incelemişlerdir. Floresan görüntüsüyle, diatome entegre edilmiş yüzeyin üzerine hücre bağlanmasını araştırmışlardır. 7 gün boyunca kitosan ve kitosan kompozit membranlar üzerinde kültüre edilen SaOS-2 hücreleri, DAPI/Phalloidin ile boyanmış ve floresan mikroskopuyla görüntülenmiştir. Boş kitosan membran ile karşılaştırıldığında SaOS-2 hücrelerinin kompozit membranlar üzerine iyi bağlandığı ve iyi bir şekilde dağıldığı görülmüştür. Ek olarak, *in vitro* sitotoksosite sonuçları göstermiştir ki diatome emdirilmiş kitosan membranlar MC3T3-E1 fibroblast ve SaOS-2 hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermemiştir. Sonuç olarak, yeni kitosan kompozit membranların kemik doku mühendisliği uygulamalarında yapı iskelesi olarak büyük bir potansiyele sahip olduğu gözlenmiştir.

3.3.4 MTT Analizi

MC3T3-E1 ve SaOS-2 hücrelerinin ortalama canlılık yüzdesi MTT analizi kullanılarak araştırılmıştır ve Şekil 3.8 (A-B)'de gösterilmiştir. Boş NPs'nin hücre canlılığı sırasıyla her bir MC3T3-E1 ve SaOS-2 hücreleri üzerinde yaklaşık olarak % 98 ve % 72 olarak gözlenmiştir. Boş NPs ile karşılaştırıldığında, NPs-CHT membranlar SaOS-2 hücreleri üzerinde yaklaşık olarak % 44 oranında daha yüksek etki göstermiştir. SaOS-2 hücreleri üzerinde özellikle Caff NPs-CHT membranların hücre canlılığı önemli oranda düşük bulunmuştur ($*p < 0.05$). Ancak MC3T3-E1 hücreleri üzerinde kafeik asit hariç tüm örnekler için sitotoksik etki gözlenmemiştir (Şekil 3.8 A).

Şekil 3.8 B'de MC3T3-E1 hücreleri ile karşılaştırıldığında SaOS-2 hücreleri üzerinde 5 ve 10Caff NPs, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membranlar yaklaşık olarak sırasıyla % 50; % 41; % 44; % 38 ve % 33 oranında daha düşük hücre canlılığı göstermişlerdir. NPs ve NPs-CHT membranlar arasında SaOS-2 hücreleri üzerinde hücre canlılığı açısından önemli farklılıklar görülmektedir ($*p < 0.05$). SaOS-2 hücreleri üzerinde kafeik asitin (% 10) hücre canlılık oranı MC3T3-E1 hücreleri ile karşılaştırıldığında SaOS-2 hücreleri üzerinde en düşük değere sahip olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak; kafeik asitin spesifik tanıma özelliğinden dolayı Caff NPs-CHT membranlar, SaOS-2 hücreleri üzerinde daha düşük hücre canlılık oranı göstermiştir.



Şekil 3.9 NPs ve CHT membranların in vitro sitotoksitesi. Hücre canlılığı; MC3T3 (A) ve Saos-2 hücrelerinin (B) NPs ve CHT membranlarla 24 saat muamele edilmesi sonrası MTT analizi yoluyla ölçülmüştür. Değerler ortalama± standart sapma; n=3. *p < 0.05 tüm örneklerle karşılaştırıldığında, **p < 0.005 tüm gruplara karşı.

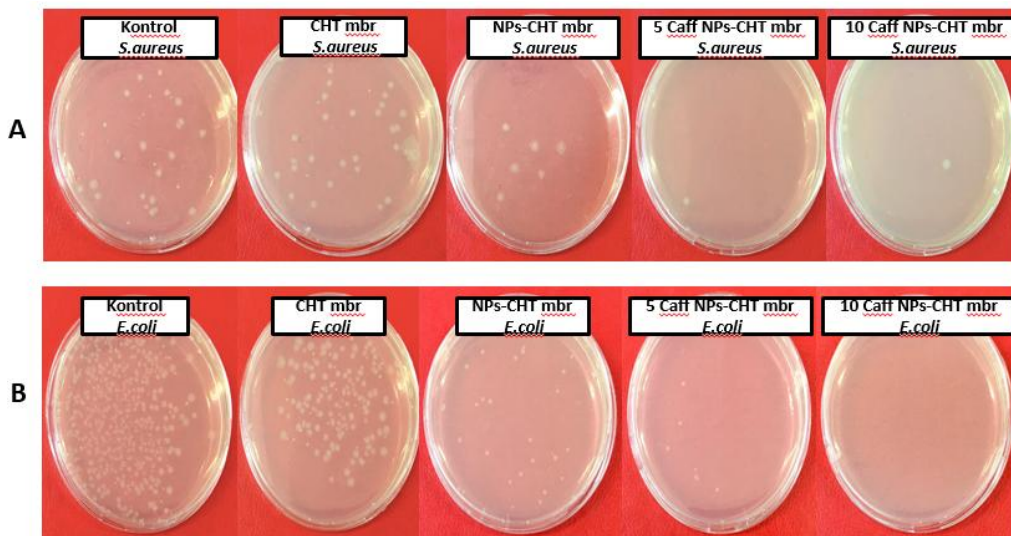
Lee ve arkadaşları; tümör hastalarının tedavisi için çift ligand kafeik asit-polietilen glikol-folik asit; FA-PEG-CA, kafeik asit-polietilen-feophorbite-a; PheoA-PEG-CA kaplı demir oksit nanopartiküller hazırlamışlardır. Kafeik asit kaplı demir oksit nanopartiküller (CAMNPs), MDA-MB-231 hücreleri üzerinde folat aracılı aktif tümör hedefleme ve 2 kat sitotoksite artışı gözlenmiştir. Sonuç olarak CAMNPs kliniksel kanser tedavisinde mükemmel etkinlik göstermiştir [118].

3.3.5 Antibakteriyel Aktivite

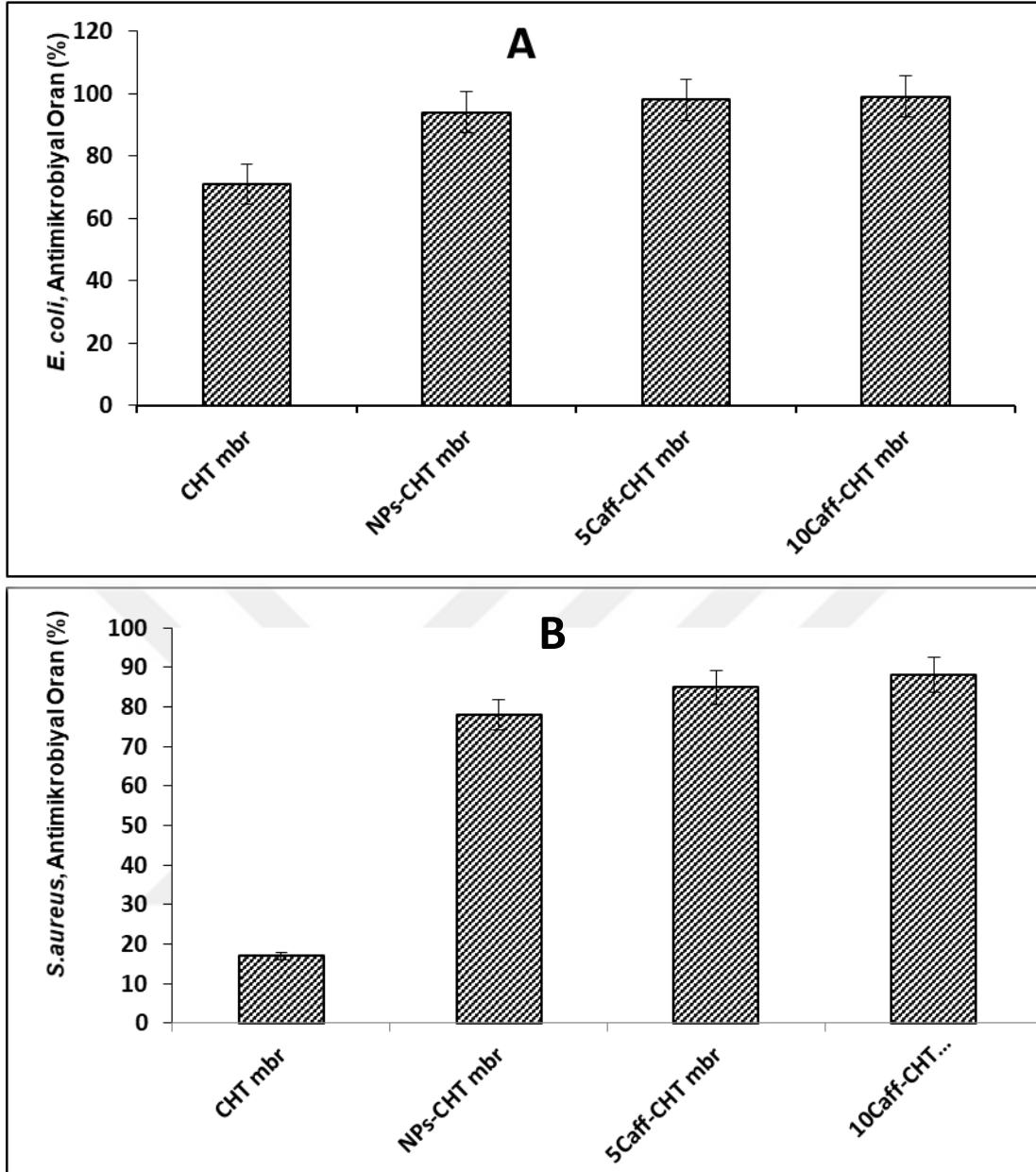
Tüm örneklerin antibakteriyel aktivitesi plaka sayma metodu yoluyla araştırılmıştır. Bunun için, yapışmış bakteri örneklerden uzaklaştırılmıştır ve agar plaka üzerinde tekrar kültüre edilmiştir. Şekil 3.9 A-B'de görüldüğü gibi 24 saatlik inkübasyondan sonra *E.coli* ile karşılaştırıldığında, *S.aureus* üzerinde bakteri popülasyon sayısı daha yüksek çıkmıştır. CHT membran pozitif yüklü olduğundan dolayı hücre duvarı negatif yüklü olan *E.coli*, pozitif yüklü CHT membran ile elektrostatik etkileşim yoluyla kolayca bağlanabilmiştir. CHT

membran da negatif yüklü Caff NPs ile kolayca entegre olabilmıştır. NPs'ye kafeik asitle yüklendiğinde NPs'nin negatif potansiyel değeri hafifçe pozitif değere bir kayma göstermiştir ve bu durum *S.aureous* ile karşılaştırıldığında, *E.coli*'nin bakteriyel çevresine CHT membrandan ilacın salınmasını kolaylaştırmıştır. Bu sonuçlara göre, her bir *E.coli* ve *S.aureous* bakteri türlerine karşı 5Caff ve 10Caff NPs-CHT membranlarda bakteriyel çoğalmanın azaltıcı etkisi, CHT-membran ve NPs-CHT membraninkine göre daha yüksektir. 24 saatlik inkübasyondan sonra kontrolle karşılaştırıldığında *S.aureous* üzerinde CHT-membran için % 17; NPs-CHT membran için % 78; 5Caff NPs-CHT membran için % 85 ve 10Caff NPs-CHT membran için % 88 oranında canlılıkta azalma gözlenirken, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *E.coli* üzerinde CHT membran için % 71; NPs-CHT membran için % 94; 5Caff NPs-CHT membran için % 98; 10Caff NPs-CHT membran için % 99.3 oranında canlılıkta azalma gözlenmiştir (Şekil 3.10 A-B). Sonuç olarak, *E.coli*'ye üzerinde 10Caff NPs-CHT membranının antibakteriyel aktivitesi *S.aureous*'a göre daha iyidir.

Oh ve çalışma grubu; yara örtü uygulamaları için elektrospinleme tekniği yoluyla poli(ϵ -kaprolakton) (PCL), kitosan (CH) ve kitosan-kafeik asit konjuge (CCA) hazırlamışlardır. PCL/CCA fibröz mat, PCL ve PCL/CH fibröz mat ile karşılaştırıldığında daha yüksek hücre bağlanması ve hücre çoğalması ve ayrıca PCL ve PCL/CH fibröz mat ile karşılaştırıldığında *S.aureous*'a karşı yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. Sonuç olarak, PCL/CCA fibröz mat yara örtüsü ve deri doku mühendisliği tasarımı için umut vaat eden biyomateryal özelliğine sahip olduğu ispatlanmıştır [119].



Şekil 3.10 Agar plate üzerinde örneklerden ayrılan A) *S. aureus* ve B) *E. coli* koloni kültürleri.



Şekil 3.11 24 saatlik inkübasyondan sonra (A) *E.coli* ve (B) *S.aureus*'a karşı örneklerin antibakteriyel oranları. Tüm veriler ortalama±standard sapma (n=3) olarak açıklanmıştır.

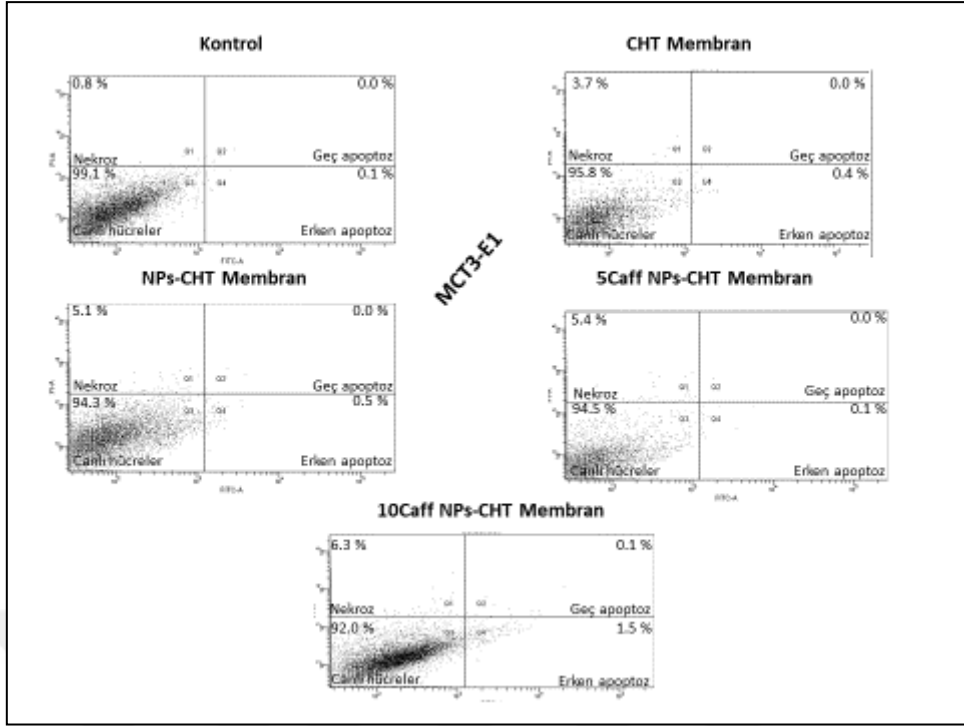
3.3.6 Flow Sitometri Analizi

MC3T3-E1 ve SaOS-2 hücreleri üzerinde CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membranın apoptotik veya nekrotik etkilerini tayin etmek için Annexin V-FITC ve PI boyama metodu kullanılmıştır. Her bir hücre hattında herhangi bir örnek ile muamele edilmemiş kontrol grubu kullanılmıştır. Şekil 3.11 ve 3.12'de sağlıklı MC33T3-E1 osteoblast ve SaOS-2 insan osteosarkoma kanser hücreleri üzerinde

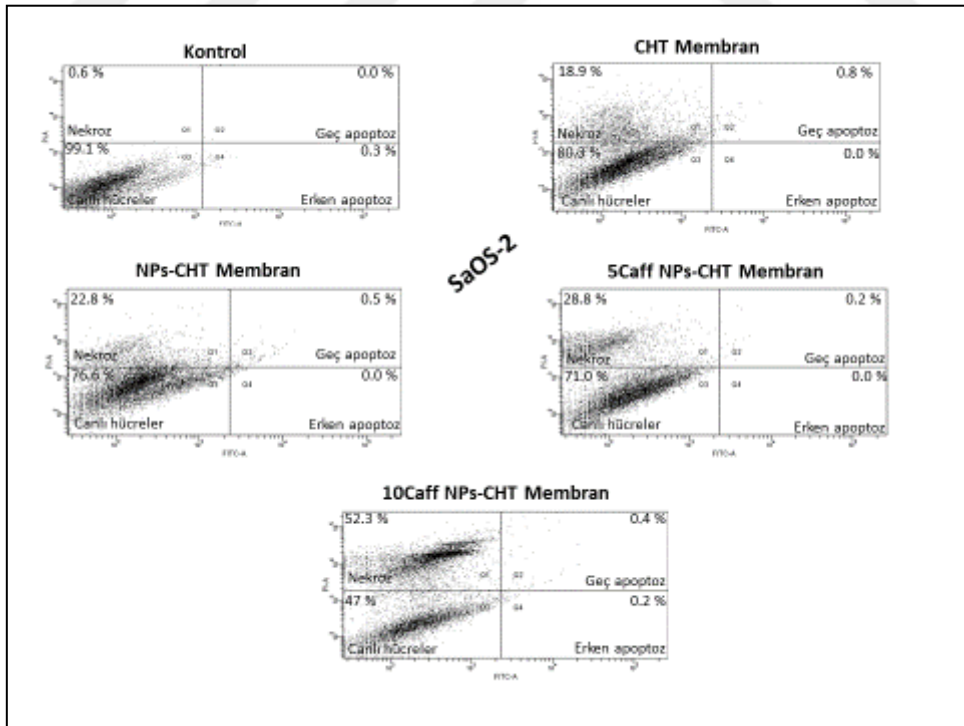
canlılık oranları kontrol grupları için sırasıyla % 99.2 ve % 99.1 olarak bulunmuştur. Tüm örneklerin hücrelerle etkileşimi sonrasında erken ve geç apoptoz hücreleri gözlenmemiştir. MC33T3-E1 hücreleri tüm örneklerle etkileştirildiğinde, ilacın MC33T3-E1 hücrelerine karşı spesifik etkisi olmadığından dolayı apoptotik ve nekrotik etkiler görülmemiştir. Bu sebeple SaOS-2 hücreleri ile karşılaştırıldığında MC33T3-E1 hücreleri üzerinde canlı hücrelerin daha fazla olduğu gözlenmiştir. İlacın SaOS-2 insan osteosarkoma hücre hattına karşı spesifik tanıma etkisinden dolayı ilaç konsantrasyonu arttıkça SaOS-2 hücreleri üzerinde nekrotik hücre sayıları artmıştır. SaOS-2 hücreleri üzerinde erken nekrotik etki CHT membran, boş NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membran için sırasıyla % 18.9; % 22.8; % 28.8 ve % 52.3 olarak bulunmuştur. SaOS-2 hücreleri üzerinde en yüksek nekrotik etki 10Caff NPs-CHT membrandan elde edilmiştir. Sonuç olarak, kafeik asit içeren NPs-CHT membran sistemi SaOS-2 hücre hattına karşı spesifik tanıma özelliğinden dolayı, MC33T3-E1 hücre hattına göre nekrotik etkiyi daha fazla arttırabilmiştir.

Brautigan ve grubu; hepatosellüler karsinoma hücrelerine (HCC) karşı kafeik asitin (CA) toksik etkilerini araştırmıştır. CA'nın kimyasal yapısının diğer sinamik asitlere benzer olduğu gözlenmiştir. CA'nın, HCC'nin çoğalmasını inhibe ettiği ve apoptoza sebep olarak hücre sayısını azalttığı görülmüştür. Sonuç olarak, sinamik asit türevleri ile karşılaştırıldığında CA'nın seçici olarak hepatositler üzerinde HCC hedeflemesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur [120].

Ulah ve çalışma arkadaşları; doku mühendisliği uygulamaları için kitosan-kolajen 3D poröz yapı iskelesi içerisine entegre edilmiş farklı konsantrasyonlardaki çinko oksit (% 0.5, % 1.0, % 2.0, % 4.0) biyobozunurluk, sitouyumluluk ve mekaniksel özelliklerini araştırmışlardır. Yapı iskelesinin sitotoksitesisi üzerine çinko oksit entegre edilmesinin etkisi konfokal mikroskop ve flow sitometri yoluyla tayin edilmiştir. Tüm çinko oksit nanopartikül yapı iskeleleri sitouyumlu olup, insan fibroblastlarda canlı hücre miktarı daha yüksek görülmüştür. % 2 oranında çinko oksit nanopartikül yapı iskelesinde en yüksek canlı hücre miktarı bulunmuştur. Sonuç olarak, çinko oksit nanopartikül kitosan-kolajen 3D poröz yapı iskelelerinin, doku mühendisliği ve rejenerasyon uygulamaları için umut vaat eden materyaller olduğu görülmüştür [104].



Şekil 3.12 MC3T3-E1 hücreleri ile inkübe edilen boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membran ve kontrol grubunun Flow Sitometri görüntüleri.



Şekil 3.13 Saos-2 ile inkübe edilen boş CHT membran, NPs-CHT membran, 5Caff NPs-CHT membran ve 10 Caff NPs-CHT membran ve kontrol grubunun Flow Sitometri görüntüleri.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR

- PS-g-Poleik-g-PEG graft kopolimerleri, serbest radikal polimerizasyonu yoluyla başarılı bir şekilde sentezlenmiştir
- NPs ve Caff NPs, çözücü buharlaştırma tekniğiyle hazırlanmıştır
- Yüksek konsantrasyonla karşılaştırıldığında, daha düşük konsantrasyondaki kafeik asitin daha yüksek enkapsülasyon ve daha düşük yükleme etkinliğine sahip olduğu bulunmuştur
- Caff NPs-CHT membranlardan kafeik asitin salımı, CHT yapı iskelesinin erozyona uğraması yoluyla gerçekleşmiştir
- Caff NPs-CHT membranlar ilk gün ılımlı bir patlama etkisi gösterdikten sonra bunu izleyen günlerde sürdürülebilir ve kontrollü salım hızı en az 50 gün boyunca gözlenmiştir
- Farklı konsantrasyonlarda kafeik asit yüklü NPs emdirilmiş CHT membranlar, çözücü kalıplama tekniği yoluyla hazırlanmış ve optimize edilmiştir
- 10 mg kafeik asit yüklü NPs-CHT membranlar çok iyi fiziko-mekaniksel ve sitotoksik etki göstermiştir
- CHT membranlar ile muamele edilen SaOS-2 ve MC3T3-E1 hücreleri oldukça yüksek canlı hücre yüzdesi göstermişlerdir
- Kafeik asit yüklü NPs entegre kompozit membranlar ile muamele edilen SaOS-2 hücreleri en düşük canlı hücre yüzdesi göstermiştir
- 5Caff NPs-CHT membran ve 10Caff NPs-CHT membranlar SaOS-2 insan osteosarkoma hücreleri üzerinde daha yüksek erken nekrotik göstermişlerdir
- Tüm örnekler MC3T3-E1 osteoblast hücre hattı üzerinde nekrotik ve apoptotik etki göstermemiştir
- Her bir gram pozitif, *S.aureous* ve gram negatif, *E.coli* bakteri türlerine karşı Caff NPs-CHT membranlar, kafeik asitin varlığı ve CHT'nin mikroorganizma yapışmasına karşı direnç göstermesinden dolayı oldukça iyi antibakteriyel aktivite göstermiştir
- Bu araştırmaların ışığı altında yeni ilaç salım platformunu temsil edecek şekilde optimize NPs-CHT membranların, antikanser, antimikrobiyal etkinlik ve mekaniksel

özelliklerinden dolayı kemik kanseri ile ilintili enfeksiyonları tedavi etmek için mükemmel bir potansiyel sahip olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada tasarlanan Caff NPs katkılanmış CHT membranların mükemmel ve umut vaat eden antikanser ve antimikrobiyal özellik göstermesi nedeniyle bu türden taşıyıcı sistemlerin ileride yapılması planlanacak olan *in vivo* uygulamalarda yüksek etkinlikte kullanılması mümkün olacaktır.



KAYNAKLAR

- [1] **Hejmadi M** (2010) *Introduction to Cancer Biology*. 2nd edition, ISBN 978-87-7681-478-6, Ventus Publishing Aps, e-book, 6
- [2] **Lowitz BB and Casciato DA** (2000) *Manual of Clinical Oncolog*. 4th edition, ISBN 0 781 72159 8, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, 768
- [3] **Kumar A, Vashist H, Sharma R B and Garg D** (2018) An Anthology of Cancer. *International Journal Of Medical & Pharmaceutical Sciences*, 3 (4): 7
- [4] **Hejmadi M** (2010) *Introduction to Cancer Biology*. 2nd edition, ISBN 978-87-7681-478-6, Ventus Publishing Aps, e-book, 8
- [5] **URL-1** <<https://www.drozdogan.com/kanserin-10-temel-ozelligi>>, Ziyaret tarihi: 21.06.2019.
- [6] **Hanahan D and Weinberg R A** (2000) The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100 (1), 8
- [7] **Ramaswamy D** (2019) Everything to Know about Cancer and Future of Cancer Care. Witan World.
- [8] **Kahn P, Frykberg L, Brady C, Stanley I, Beug H, Vennström B and Graf T** (1986) v-erbA Cooperates with sarcoma oncogenes in leukemic cell transformation. *Cell*, 45 (3): 349-356
- [9] **Hejmadi M** (2010) *Introduction to Cancer Biology*. 2nd edition, ISBN 978-87-7681-478-6, Ventus Publishing Aps, e-book, 10-11
- [10] Australian Institute of Health and Welfare (2017) *Australian Cancer Incidence and Mortality (ACIM) books*. Bone cancer, AIHW, Canberra.
- [11] Cancer Council Australia (2016) Understanding Lung Cancer Guidelines Working Party. ISBN 978 1925136 26 5, Sydney.
- [12] **URL-2** < <http://gunluksaglik.com/kadin-ve-erkeklerde-en-sik-gorulen-kanserler> >, Ziyaret tarihi: 21.06.2019.
- [13] **Hejmadi M** (2010) *Introduction to Cancer Biology*. 2nd edition, ISBN 978-87-7681-478-6, Ventus Publishing Aps, e-book, 12
- [14] **Hejmadi M** (2010) *Introduction to Cancer Biology*. 2nd edition, ISBN 978-87-7681-478-6, Ventus Publishing Aps, e-book, 13

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [15] **Baden L R, Bensinger W, Angarone M, Casper C, Dubberke E R, Freifeld A G, Shead D A** (2012). Prevention and treatment of cancer-related infections. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 10 (11): 1412-1445, 1420
- [16] **Baden L R, Bensinger W, Angarone M, Casper C, Dubberke E R, Freifeld A G, Shead D A** (2012). Prevention and treatment of cancer-related infections. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 10 (11): 1412-1445, 1421
- [17] **Baden L R, Bensinger W, Angarone M, Casper C, Dubberke E R, Freifeld A G, Shead D A** (2012). Prevention and treatment of cancer-related infections. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 10 (11): 1412-1445, 1422
- [18] **Baden L R, Bensinger W, Angarone M, Casper C, Dubberke E R, Freifeld A G, Shead D A** (2012). Prevention and treatment of cancer-related infections. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 10 (11): 1412-1445, 1425
- [19] **Baden L R, Bensinger W, Angarone M, Casper C, Dubberke E R, Freifeld A G, Shead D A** (2012). Prevention and treatment of cancer-related infections. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 10 (11): 1412-1445, 1427
- [20] **Gunther J, Petzl W, Bauer I, Ponsuksili S, Zerbe H, Schuberth H J, Brunner M and Seyfert H M** (2017) Differentiating *Staphylococcus aureus* from *Escherichia coli* mastitis: *S. aureus* triggers unbalanced immune-dampening and host cell invasion immediately after udder infection. *Scientific Reports*, 7(1): 4811, 2-6
- [21] **Bannerman D D, Paape M J, Lee J W, Zha, X, Hope J C and Rainard P** (2004) *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 11 (3), 463-472.
- [22] **Zhang Y, Yue Y, Li J and Chen X** (2008) Studies on the interaction of caffeic acid with human serum albumin in membrane mimetic environments. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 90 (3):141-151, 142.
- [23] **Baykal A, Amir M, Günerb S and Sözeri H** (2015) Preparation and characterization of SPION functionalized via caffeic acid. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 395, 199-204.
- [24] **Lee J, Kim K S and Na K** (2016) Caffeic acid-coated multifunctional magnetic nanoparticles for the treatment and bimodal imaging of tumours. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 160: 210-216, 211
- [25] **Aytekin A O, Morimura S and Kida K** (2011) Synthesis of chitosan-caffeic acid derivatives and evaluation of their antioxidant activities. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111 (2): 212-216, 212
- [26] **Guo D, Dou D, Ge L, Huang Z, Wang L and Gu N** (2015) A caffeic acid mediated facile synthesis of silver nanoparticles with powerful anti-cancer activity. *Colloids and Surfaces B Biointerfaces*, 134: 229-234

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [27] **Kuo W L, Meyn R E and Haidle C W** (1984) Neocarzinostatin-mediated DNA damage and repair in wild-type and repair-deficient Chinese hamster ovary cells. *Cancer Research*, 44:1748-1751, 1748
- [28] **Bag S S** (2013) *NPTEL – Chemistry Phase II*, 3 Eylül 2013, Chennai Hindistan, 35
- [29] **Bag S S** (2013) *NPTEL – Chemistry Phase II*, 3 Eylül 2013, Chennai Hindistan, 37
- [30] **Rong-guang S and Yong-su Z** (2008) Eneidyne Anticancer Antibiotic Lidamycin: Chemistry, Biology and Pharmacology. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 8(2): 123-131, 123
- [31] **Long B H, Golik J, Forenza S, Ward B, Rehfuss R, Dabrowiak J C, Musial S T, Brookshire K W and Doyle T W** (1989). Esperamicins, a class of potent antitumor antibiotics: Mechanism of action. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86, 2-6, 2
- [32] **Bhunchu S and Rojsitthisak P** (2014) *Biopolymeric alginate-chitosan nanoparticles as drug delivery carriers for cancer therapy*, 69: 563-570
- [33] **Chellat F, Merhi Y, Moreau A and Yahia L** (2005) Therapeutic potential of nanoparticulate systems for macrophage targeting. *Biomaterials*, 26(35): 7260-7275
- [34] **Mohanraj V J and Chen Y** (2006) Nanoparticles-A review. *Trop J Pharm Res*, 5: 561–573.
- [35] **Kumari A, Yadav S K, Yadav S C** (2010) Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 75: 1–18.
- [36] **Das R K, Kasoju N and Bora U** (2010) Encapsulation of curcumin in alginatechitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. *Nanomedicine*, 6 (1): 153–160.
- [37] **Kumar MNVR** (2000) Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 3: 234–258
- [38] **Decker-Baumann C, Buhl K, Frohmüller S, Herbay AV, Dueck M, Schlag PM** (1999) Reduction of chemotherapy-induced Side-effects by parenteral glutamine supplementation in patients with metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer*, 35 (2): 202–207
- [39] **Kumar MNVR** (2000) Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 3: 234–258.
- [40] **Singh R and Lillard Jr J W** (2009) Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and Molecular Pathology*, 86: 215–223
- [41] **Davis ME** (2006) Nanoparticles for systemic medicines and imagining agents. *Nanotechnology Law Business*, 3:255-261

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [42] **Bawa R** (2008) Nanoparticle-based therapeutics in humans: a survey. *Nanotechnology Law Business*, 5: 135–155
- [43] **Colvin V L** (2003) The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*, 21 (10): 1166–1170.
- [44] **Shukla R K and Tiwari A** (2012) Carbohydrate polymers: Applications and recent advances in delivering drugs to the colon. *Carbohydr Polym*, 88 (2): 399–416
- [45] **Coppi G and Iannuccelli V** (2009) Alginate/chitosan microparticles for tamoxifen delivery to the lymphatic system. *International Journal of Pharmaceutics*, 367: 127–132
- [46] **Mohanraj V J and Chen Y** (2006) Nanoparticles-A review. *Trop J Pharm Res*, 5: 561–573.
- [47] **Lapasin R, Pricl S** (1995) Rheology of industrial polysaccharides: Theory and applications. *Blackie Academic and Professional*, ISBN 0-7 514-021 1-7, 620
- [48] **Motwani S K, Chopra S, Talegaonkar S, Kohli K, Ahmad F J and Khar R P** (2008) Chitosan-sodium alginate nanoparticles as submicroscopic reservoirs for ocular delivery: Formulation, optimization and in vitro characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68 (3): 513–525.
- [49] **Agnihotri S A, Mallikarjuna N N and Aminabhavi TM** (2004) Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 100 (1): 5–28.
- [50] **George M and Abraham T E** (2006) Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan- a review. *Journal of Controlled Release*, 114 (1): 1–14.
- [51] **Lertsutthiwong P, Rojsitthisak P and Nimmannit U** (2009) Preparation of turmeric oil-loaded chitosan-alginate biopolymeric nanocapsules. *Materials Science and Engineering: C*, 29 (3): 856–860.
- [52] **Li P, Dai Y N, Zhang J P, Wang A Q and Wei Q** (2008) Chitosan-alginate nanoparticles as a novel drug delivery system for nifedipine. *International journal of biomedical science : IJBS*, 4 (3): 221–228.
- [53] **Parveen S, Mitra M, Krishnakumar S and Sahoo SK** (2010) Enhanced antiproliferative activity of carboplatin-loaded chitosan-alginate nanoparticles in a retinoblastoma cell line. *Acta Biomater*, 6 (8): 3120–3131
- [54] **Galianoa F, Briceñob K, Marino T, Molino A, Christensen K V, Figoli A** (2018). Advances in biopolymer-based membrane preparation and applications. *Journal of Membrane Science*, 562-586, 564.
- [55] **Babu R P and O'Connor K and Seeram R** (2013) Current progress on bio-based polymers and their future trends. *Progress in Biomaterials*, 2 (1): 8

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [56] **URL-3** < <https://jordanspolymers.weebly.com/natural--synthetic-polymers.html>>, Ziyaret tarihi: 15.05.2019.
- [57] **Clasen C, Wilhelms T and Kulicke W M** (2006) Formation and Characterization of Chitosan Membranes. *Institute of Technical and Macromolecular Chemistry*, 3210-3218, 3218,
- [58] **Drioli E, Criscuoli A and Curcio E** (2006) Fundamentals, Applications and Potentialities. *Membrane Science and Technology*, 11 (2) : 1-502, 40-104.
- [59] **Drioli E, Giorno L and Fontanavo E** (2010) *Comprehensive Membrane Science and Engineering*, 2nd edition, ISBN 9780080932507, Elsevier Science, e-book, 1720, 91
- [60] **Thakur V K** (2017) *Biopolymer Grafting: Applications*, 1st edition, ISBN: 9780128104637. Elsevier Science, e-book, 540
- [61] **Hazer B, Ayyıldız E and Bahadır F** (2017) Synthesis of PNIPAM–PEG Double Hydrophilic Polymers Using Oleic Acid Macro Peroxide Initiator. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94 (9), 1141-1151
- [62] **Schneider D S and Ayres J S** (2008) Two ways to survive infection: what resistance and tolerance can teach us about treating infectious diseases. *Nature Reviews Immunology*, 8: 889–895.
- [63] **Raberg L, Graham A L and Read A F** (2009) Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci*, 364: 37–49.
- [64] **Nesher L and Rolston K V** (2014) The current spectrum of infection in cancer patients with chemotherapy related neutro-penia. *Infection*, 42 (1): 5–13.
- [65] **Aguadoa J M, Cruzb J J, Virizuelac J A, et al** (2017) Management of infection and febrile neutropenia in patients with solid cancer. *Enferm Infec Microbiol Clin*, 35: 451–460.
- [66] **Ng LY, Mohammad A W, Leo C P and Hilal N** (2013) Polymeric membranes incorporated with metal/metal oxide nanoparticles. *A comprehensive review Desalination*, 308: 15–33, 19
- [67] **Denkbas E B and Ottenbrite R M** (2006) Perspectives on: chitosan delivery systemsbased on their geometries. *J. Bioact. Compat. Pol*, 21: 351–368.
- [68] **Dias K B, Silva D P, Ferreira L A, et al.** (2013) Chitin and chitosan: characteristics, uses and production current perspectives. *J Biotechnol. Biodivers*, 4: 184–191.
- [69] **Shenvi S S, Rashid S A, Ismail A F, et al.** (2013) Preparation and characterization of PPEES/chitosan composite nanofiltration membrane. *Desalination*, 315, 135-141

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [70] **Shenvi S, Ismail AF, Isloor A M** (2014) Preparation and characterization study of PPEES/chitosan composite membrane crosslinked with tripolyphosphate. *Desalination*, 344, 90-96
- [71] **Kumar A, Vimal A and Kumar A.** (2016) Why Chitosan? From properties to perspective of mucosal drug delivery. *Int J Biol. Macromol*, 91: 615– 622
- [72] **Alves N M and Mano J F** (2008) Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. *Int J Biol Macromol*, 43: 401–14.
- [73] **Lu H H, El-Amin S F, Scott KD, et al.** (2003) Three-dimensional, bioactive, biodegradable, polymer–bioactive glass composite scaffolds with improved mechanical properties support collagen synthesis and mineralization of human osteoblast-like cells in vitro. *J Biomed Mater Res A*, 64: 465–74.
- [74] **Zhang M, Li X H, Gong Y D, Zhao N M and Zhang X F.** (2002) Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. *Biomaterials*, 23: 2641–8.
- [75] **Schipper N G, Olsson S, Hoogstraate JA, et al.** (1997) Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs 2: mechanism of absorption enhancement. *Pharm Res*, 14: 923–929.
- [76] **Wu P and Imai M** (2012) Novel biopolymer composite membrane involved with selective mass transfer and excellent water permeability. in: R.Y. Ning (Ed.), *Adv. Desalin. InTech*, Rijeka, Croatia, 57–81.
- [77] **Lee Y M and Shin E M** (1991) Pervaporation separation of water-ethanol through modified chitosan membranes. IV. Phosphorylated chitosan membranes. *Journal of Membrane Science*, 64 (1): 145–152
- [78] **Thakur V K and Voicu S I** (2016) Recent advances in cellulose and chitosan based membranes for water purification: a concise review. *Carbohydr. Polym*, 146: 148–165
- [79] **Thakur V K and Thakur M K** (2014) Recent advances in graft copolymerization and applications of chitosan: a review. *ACS Sustain Chem Eng*, 2: 2637–2652
- [80] **Rassu G, Salis A, Porcu EP, et al.** (2016) Composite chitosan/alginate hydrogel for controlled release of deferoxamine: a system to potentially treat iron dysregulation diseases. *Carbohydr Polym*, 136: 1338–1347
- [81] **Kim C H and Choi K S.** (2002) Synthesis and antibacterial activity of quaternized chitosan derivatives having different methylene spacers. *J Ind Eng Chem*, 8: 71–76.
- [82] **Patil M B and Aminabhavi T M.** (2008) Pervaporation separation of toluene/alcohol mixtures using silicalite zeolite embedded chitosan mixed matrix membranes. *Sep Purif Technol*, 62: 128–136

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [83] **Huang D, Niu L, Li J, et al.** (2018) Reinforced chitosan membranes by microspheres for guided bone regeneration. *J Mech Behav Biomed Mater*, 81, 195-201
- [84] **Li L H, Deng JC, Deng H R, et al.** (2010) Synthesis and characterization of chitosan/ZnO nanoparticle composite membranes. *Carbohydrate Research*, 345: 994–998.
- [85] **Hazer B and Akyol E** (2016) Efficiency of Gold Nano Particles on the Autoxidized Soybean Oil Polymer: Fractionation and Structural Analysis. *J Am Oil Chem Soc*, 93: 201-2013.
- [86] **Ince O, Akyol E, Sulu E, et al.** (2016) Synthesis and characterization of novel rod-coil (tadpole) poly(linoleic acid) based graft copolymers. *J Polym Res*, 23 : 5
- [87] **Shahidi F and Naczki M** (1995) *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company,
- [88] **Touaibia M, Jean-Francois J and Doiron J** (2011) Caffeic Acid, A Versatile Pharmacophore: An Overview. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 11 (8) : 695
- [89] **Orsolich N, Knez'evic AH, Šver L, et al.** (2004) Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. *J Ethnopharmacol*, 94: 307–315.
- [90] **Chung T, Moon S, Chang Y, et al.** (2004) Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth by dual mechanism. *Faseb J*, 18: 1670-1681.
- [91] **Aytekin AO, Morimura S and Kida K** (2011) Synthesis of chitosan–caffeic acid derivatives and evaluation of their antioxidant activities. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111: 212-216.
- [92] **Köckritz A and Martin A** (2008) Oxidation of unsaturated fatty acid derivatives and vegetable oils. *Eur J Lipid Sci Technol*, 110: 812–824.
- [93] **Hazer B, Ayyildiz E and Bahadır F** (2017) Synthesis of PNIPAM–PEG Double Hydrophilic Polymers Using Oleic Acid Macro Peroxide Initiator. *J Am Oil Chem Soc*, 94: 1141-1151.
- [94] **Kilicay E, Karahaliloglu Z, Hazer B, et al.** (2016) Concanavaline A conjugated bacterial polyester-based PHBHHx nanoparticles loaded with curcumin for breast cancer therapy. *Journal of Microencapsulation*, 33: 274-285.
- [95] **Gajendiran M, Gopi V, Elangovan Vellaichamy, et al.** (2013) Isoniazid loaded core shell nanoparticles derived from PLGA–PEG–PLGA tri-block copolymers: In vitro and in vivo drug release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 104: 107-115.
- [96] **Tamburaci S and Tihminlioglu F.** (2017) Diatomite reinforced chitosan compositemembrane as potential scaffold for guided bone regeneration. *Materials Science and Engineering C*, 80: 222-231.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [97] **Pereira I C, Duarte A S, Neto A S, et al.** (2019) Chitosan and polyethylene glycol based membranes with antibacterial properties for tissue regeneration. *Materials Science Engineering C*, 96: 606-615.
- [98] **Mota J, Yu N, Caridade SG, et al.** (2012) Chitosan/bioactive glass nanoparticle composite membranes for periodontal regeneration. *Acta Biomaterialia*, 8: 4173-4180.
- [99] **Leceta I, Guerrero P and Caba K** (2013) Functional properties of chitosan-based films. *Carbohydr Polym*, 93: 339–346.
- [100] **Wang L, Dong Y, Men H, et al.** (2013) Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloid*, 32: 35–41.
- [101] **Giovino C, Ayensu I, Tetteh J, et al.** (2012) Development and characterisation of chitosan films impregnated with insulin loaded PEG-b-PLA nanoparticles (NPs): A potential approach for buccal delivery of macromolecules. *International Journal of Pharmaceutics*, 428: 143-151.
- [102] **Zhu Y, Cao H, Qiao S, et al.** (2015) Hierarchical micro/nanostructured titanium with balanced actions to bacterial and mammalian cells for dental implants. *International Journal of Nanomedicine*, 10: 6659-6674.
- [103] **Xua T, Xin M, Li M, et al.** (2010) Synthesis, characteristic and antibacterial activity of N,N,N-trimethyl chitosan and its carboxymethyl derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 81: 931-936.
- [104] **Ullah S, Zainol I, Idrus R H** (2017) Incorporation of zinc oxide nanoparticles into chitosan-collagen 3D porous scaffolds: Effect on morphology, mechanical properties and cytocompatibility of 3D porous scaffolds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104: 1020-1029.
- [105] **Ritsema J A S, Herschberg E M A, Borgos S E, et al.** (2018) Relationship between polarities of antibiotic and polymer matrix on nanoparticle formulations based on aliphatic polyesters. *International Journal of Pharmaceutics*, 548: 730-739.
- [106] **Alli S, Alli A and Hazer B** (2012) Hyperbranched Homo and Thermoresponsive Graft Copolymers by Using ATRP-Macromonomer Initiators. *Applied Polymer Science*, 124: 536-548.
- [107] **Zhao Y, Zou B, Shi Z Y, Wu Q, Chen G Q.** (2007) The effect of 3-hydroxybutyrate on the in vitro differentiation of murine osteoblast MC3T3-E1 and in vivo bone formation in ovariectomized rats. *Biomaterials*, 28: 3063–73.
- [108] **Jeong I, Kim B S, Lee H, et al.** (2009) Prolonged analgesic effect of PLGA-encapsulated bee venom on formalin induced pain in rats. *Int J Pharm*, 380: 62–6.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [109] Shah M, Naseer M I, Choi M H, et al. (2010) Amphiphilic PHAmPEG copolymeric nanocontainers for drug delivery: Preparation, characterization and in vitro evaluation. *Int J Pharm*, 400: 165–75.
- [110] Anita A, Sreeranganathan M, Chennazhi K P, et al. (2014) In vitro combinatorial anticancer effects of 5-fluorouracil and curcumin loaded N,O-carboxymethyl chitosan nanoparticles toward colon cancer and in vivo pharmacokinetic studies. *Eur J Pharm Biopharm*, 88: 238–51.
- [111] Munnawar I, Iqbal S S, Anwar M N, et al. (2017) Synergistic effect of Chitosan Zinc Oxide Hybrid Nanoparticles on Antibiofouling and Water Disinfection of Mixed Matrix Polyethersulfone Nanocomposite Membranes. *Carbohydrate Polymers*, 175: 661-670.
- [112] Giovino C, Ayensu I, Tetteh J, et al. (2013) An integrated buccal delivery system combining chitosan films impregnated with peptide loaded PEG-b-PLA nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112: 9-15.
- [113] Cai N, Li C, Han C, et al. (2016) Tailoring mechanical and antibacterial properties of chitosan/gelatin nanofiber membranes with Fe₃O₄ nanoparticles for potential wound dressing application. *Applied Surface Science*, 369: 492-500.
- [114] Chen L, Schadler L S and Ozisik R (2011) An experimental and theoretical investigation of the compressive properties of multi-walled carbon nanotube/poly(-methyl methacrylate) nanocomposite foams. *Polymer*, 52 (13) : 2899-2909.
- [115] Lv Y, Du Y, Qiu W Z, et al. (2017) Nanocomposite membranes via the Codeposition of polydopamine/polyethyleneimine with silica nanoparticles for enhanced mechanical strength and high water permeability. *ACS Appl Mater Interfaces*, 9: 2966-2972
- [116] Adolhassan S, Vossoughi M, Mahmoodi M N, et al. (2018) Efficient dye removal from aqueous solution by high-performance electrospun nanofibrous membranes through incorporation of SiO₂ nanoparticles. *Journal of Cleaner Production*, 183: 1197-1206.
- [117] Li L H, Deng J C, Deng H R, et al. (2010) Synthesis and characterization of chitosan/ZnO nanoparticle composite membranes. *Carbohydrate Research*, 345: 994-998.
- [118] Lee J, Kim K S and Na K. (2016) Caffeic acid-coated multifunctional magnetic nanoparticles for the treatment and bimodal imaging of tumours. *Journal of Photochemistry & Photobiology B: Biology*, 160: 210–216.
- [119] Oh G-W, Chun K S, Young J J, et al. (2016) Fabrication, characterization and determination of biological activities of poly(ϵ -caprolactone)/chitosan-caffeic acid composite fibrous mat for wound dressing application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93: 1549–1558.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- [120] Brautigan D L, Gielata M, Heo J, et al. (2018) Selective toxicity of caffeic acid in hepatocellular carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 505: 612-617.



ÖZGEÇMİŞ

Abdullah KIZALOGLU, 1980 yılında ADANA’da doğdum. 2008 yılında Başkent Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği bölümünden mezun olarak Türkiye’nin ilk Biyomedikal Mühendisleri arasına katıldım. Lisans eğitimimden sonra 10 yıldan fazla bir süredir biyomedikal sektörünün içerisindeyim. Bugüne kadar gerek firmaların gerekse hastanelerin Biyomedikal Mühendisliğiyle ilgili tüm ihtiyaçlarının karşılanmasına yönelik; tıbbi cihazların bakım ve onarımı, kalibrasyonu, akreditasyon ve kalite yönetim standartları (ECRI, JCI, SKS, TS-17025, ISO-9001, ISO-60601, ISO-14644, OHSAS 18001), kamu ihaleleri (4734), tıbbi cihaz enformasyonu (TİTUBB), sektörel yazılım programı (BioPro), İş Güvenliği, Risk Analizi ve Yönetimi, piyasa ve maliyet analizleri gibi sektörün her alanında geniş bir bilgi birikimi ve tecrübeye sahip oldum. Meslek hayatım boyunca “hep bir adım ileri gitmek” vizyonu ile hareket ettim.

2015-2018 yılları arasında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi ISM (Integrated Service Management) proje yöneticiliği görevimle eş zamanlı olarak Zonguldak BEÜ Sağlık Kurumları İşletmeciliği Yüksek Lisansımı tamamladım. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nanoteknoloji Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimimi sürdürmekteyim. Şuan da; NKY Müşavirlik & ITEC (Japon) Ortaklığı firmasında Biyomedikal Ekipmanlar Uzmanı (Medikal Mühendis) olarak çalışmaktayım. Sağlık Bakanlığı adına; 2.700 yataklı İstanbul İkitelli Şehir Hastanesi’nin Medikal Müşavirlik (bütün tıbbi cihazların; teknik özelliklerinin, kurulumlarının & montajlarının ve devreye alınması işlemlerinin, PPP teknik şartnamesine göre denetlenmesi) hizmetlerinin yürütülmesini gerçekleştirmekteyim.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Eyüpsultan Mahallesi, Merve Caddesi, Hale Sokak, Begonya Evleri Sitesi D-blok
Daire:1 Sancaktepe / İSTANBUL

Tel : (+90) 543 374 97 12

E-posta: a_kizaloglu@hotmail.com