

**T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
FİZİKOKİMYA BİLİM DALI**

**Tc-99m İLE İŞARETLİ WHEY PROTEİN'İN
BİYODAĞILIMININ DENEY HAYVANLARI ÜZERİNDE
İNCELENMESİ**

Mert AKINLI

**Danışman
Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI**



MANİSA-2018

**Mert
AKINLI**

**Tc-99m İLE İŞARETLİ WHEY PROTEİN'İN BİYODAĞILIMININ DENEY HAYVANLARI
ÜZERİNDE İNCELENMESİ**

2018

TEZ ONAYI

Mert AKINLI tarafından hazırlanan "**Tc-99m İLE İŞARETLİ WHEY PROTEİN'İN BİYODAĞILIMININ DENEY HAYVANLARI ÜZERİNDE İNCELENMESİ**" adlı tez çalışması 20/06/2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri önünde Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Perihan ÜNAK
Ege Üniversitesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Ümran HIÇSÖNMEZ
Manisa Celal Bayar Üniversitesi

TAAHHÜTNAME

Bu tezin Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Mert AKINLI



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	I
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
TABLO DİZİNİ	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ	1
1.1 Kanser Tedavisi.....	1
1.2 Standart ve Opsiyonel Tedaviler.....	1
1.2.1 Kemoterapi.....	1
1.2.2 Radyoterapi (Işın Tedavisi).....	2
1.2.3 Şiddetli Modulusyonlu Radyasyon Tedavisi (IMRT).....	3
1.3 Cerrahi Yöntemler.....	4
1.4 Tamamlayıcı (Alternatif) Tıp.....	5
1.5 Biofeedback ve Neurofeedback.....	6
1.6 Bilgisayarlı Tomografi.....	6
1.7 Whey Protein.....	7
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Nükleer Tıp.....	8
2.2 Radyofarmasetikler nasıl üretilir?.....	10
2.2.1 Nükleer Fisyon	10
2.2.2 Yüklü Parçacık Bombardımanı.....	10
2.2.2.1 Nötron Bombardımanı.....	10
2.2.3 Radyonüklid Jeneratörleri.....	10
2.3 Protein Tozu.....	11
2.4. Teknesyum	12
2.4.1. Teknesyumun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	13
2.4.1.1 Teknesyumun Fiziksel Özellikleri.....	13
2.4.1.2 Teknesyumun Kimyasal Özellikleri.....	14
2.4.2 Metastabil-Teknesyum İzomerik Çekirdeği (^{99m} Tc)	14
2.4.3 ^{99m} Tc'un İndirgenmesi.....	15
2.4.4 ^{99m} Tc ile işaretleme.....	15
2.4.5 ^{99m} Tc ile yapılan kalite kontrol çalışmaları.....	15
2.5. Kromatografi.....	16
2.5.1. İnce Tabaka Radyokromatografisi (TLRC).....	16
2.5.2. Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC)	18
2.6. Lipofilite.....	20
2.7. Stabilité.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	21
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	21
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar	21
3.1.2 Kullanılan Cihazlar.....	21
3.2. Stok Çözeltilerin Hazırlanması	21
3.2.1. Kalay Klorür Çözeltisi.....	21
3.2.2 Whey Protein'in Çözeltisi.....	21
3.3. İşaretleme Çalışmaları.....	22
3.3.1 Whey Protein'in ^{99m} Tc ile İşaretleme Çalışması.....	22

3.3.2 $^{99m}\text{Tc}^{+7}$, nin $^{99m}\text{Tc}^{+4}$, e indirgenmesinde SnCl_2 Miktarının İncelenmesi	22
3.3.3 Whey Protein'in ^{99m}Tc ile İşaretleme Çalışmasında pH Etkisinin İncelenmesi.....	22
3.4. Radyoaktif İşaretleli Bileşiklerin Kalite Kontrolünde Kullanılan Yöntemler	24
3.4.1 İnce Tabaka Radyokromatografi (TLRC) Yöntemi.....	24
3.4.2. Kağıt Elektrofrez Yöntemi	25
3.5. Lipofilite Çalışmaları.....	26
3.6 Stabilite Çalışmaları.....	26
3.7 Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Biyodağılım Çalışmaları.....	26
3.8 Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Sintigrafi Çalışmaları.....	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
4.1. ^{99m}Tc ile İşaretleli Bileşiklerin Kalite Kontrol Çalışmaları.....	28
4.1.1 $^{99m}\text{Tc}^{+7}$, nin $^{99m}\text{Tc}^{+4}$, e indirgenmesinde SnCl_2 Miktarının İncelenmesi.	28
4.1.2 Whey'in ^{99m}Tc ile işaretleme çalışmasında pH etkisinin incelenmesi	28
4.1.2.1 Whey'in ^{99m}Tc ile işaretleme çalışmasında pH etkisinin HPLRC ile incelenmesi.....	29
4.1.3 Optimum koşullarda elde edilen kağıt elektrofrez sonuçları.....	30
4.2. Stabilite Çalışma Sonuçları.....	32
4.3. Lipofilite Çalışma Sonuçları.....	33
4.4. Biyodağılım Çalışması Sonuçları	34
4.5. Sintigrafi Çalışma Sonuçları.....	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

WH	Whey Protein
Tc	Teknesyum
^{99m}Tc	Metastabil Teknesyum İzomerik Çekirdeği
^{99m}Tc-WH	Metastabil ^{99m} Tc çekirdeği ile işaretli whey proteini
TLRC	İnce Tabaka Radyokromatografisi
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
ACD	Asid Sitrate Dextroz
PBS	Phosphate Buffered Saline
TFA	Trifluoro asetik asit
ACN	Asetonitril
HPLC	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
SnCl₂	Kalay Klorür
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
SPECT	Tek Foton Emisyonlu Bilgisayarlı Tomografi
°C	Santigrat
Rf	Mesafe (Relative Front)
Rt	Alınma Zamanı
PAS	Piridin-Asetik Asit-Su
SF	Serum Fizyolojik
İnd	İndirgenmiş
P	Dağılım Katsayısı
AC	Akciğer
KC	Karaciğer
µg	mikrogram
mg	miligram
g	gram
kg	kilogram
µL	mikrolitre
mL	mililitre
µm	mikrometre
mm	milimetre
cm	santimetre
dk	dakika
M	molar
N	normal
t_{1/2}	yarı ömür
keV	kiloelektron volt
MeV	milyonelektron volt
MBq	megabecquerel
mCi	miliküri
γ	gama ışını
β⁻	beta ışını
EC	elektron yakalama
TcO₄⁻	perteknetat
ReO₄⁻	perrenat
MnO₄⁻	permanganat
Cu	Bakır
Rb	Rubidyum
Zn	Çinko

Ge	Germanyum
Y	İtriyum
Mo	Molibden
Mn	Mangan
Re	Reenyum
Ga	Galyum
Kr	Kripton
Br	Brom
I	İyot
Xe	Ksenon
C	Karbon
Cs	Sezyum
U	Uranyum
U*	Uyarılmış Uranyum



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1	Whey Proteini 7
Şekil 2.1	Nötron Bombardırmanı 10
Şekil 2.2	Farede oluşan tümör görüntüsü 11
Şekil 2.3	^{99m}Mo 'un ^{99m}Tc 'a bozunması 15
Şekil 2.4	İnce tabaka kromatografisi (TLC) 18
Şekil 3.1	Örnek damlatma ve kromatografi yürütme işlemi 24
Şekil 3.2	Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi 25
Şekil 4.1	^{99m}Tc -WH (pH=5)' ye ait HPLRC kromatogramı 28
Şekil 4.2	^{99m}Tc -WH (pH=7)'ye ait HPLRC kromatogramı 29
Şekil 4.3	^{99m}Tc -WH (pH=12)'ye ait HPLRC kromatogramı 30
Şekil 4.4	^{99m}Tc -WH (a), İnd. ^{99m}Tc (b) ve Na^{99m}Tc (c) örneklerinin PAS (piridin/asetik asit/su) (3:5:1,5) banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı 32
Şekil 4.5	^{99m}Tc -WH ye ait stabilite grafiği 33
Şekil 4.6	^{99m}Tc -WH'nin 30-60-90. dakikalarda organlardaki tutulumu 35
Şekil 4.7	^{99m}Tc -WH'nin 30-60-90. dakikalarda organ/kas değerleri 36
Şekil 4.8	^{99m}Tc -WH'nin 30. dakikada elde edilen statik görüntü 37

TABLO DİZİNİ

		Sayfa
Tablo 3.1	Whey Protein'in İşaretleme Çalışmalarına Ait Koşullar	23
Tablo 4.1	^{99m}Tc -WH (pH=5)'ye ait radyoişaretleme verimi	29
Tablo 4.2	^{99m}Tc -WH (pH=5)'ye ait radyoişaretleme verimi	29
Tablo 4.3	^{99m}Tc -WH (pH=12)'ye ait radyoişaretleme verimi	30
Tablo 4.4	^{99m}Tc -WH, ind. ^{99m}Tc ve $\text{Na}^{99m}\text{Tc}^-$ örnekleri için elektriksel yük tayini ve kağıt elektroforez kromatogramları	30
Tablo 4.5	^{99m}Tc -WH, ind. ^{99m}Tc ve $\text{Na}^{99m}\text{Tc}^-$ örneklerine ait kağıt elektroforez R_f değerleri	31
Tablo 4.6	^{99m}Tc -WH'in ACD-EtOH/su-PAS banyosu kullanılarak elde edilen R_f ve verim değerleri	32
Tablo 4.7	^{99m}Tc -WH ye ait lipofilite tablosu	33
Tablo 4.8	Biyodağılım çalışmasında Elde Edilen % ID/g Değerler	34
Tablo 4.9	Biyodağılım çalışmasında elde edilen organ/kas verileri	35
Tablo 4.10	Sintigrafi Sonuçları	37

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Uğur Avcıbaşı'ya, HPLC ve TLRC çalışmalarımı E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü Araştırma Laboratuvarlarında yapabilmem için gerekli her türlü kolaylığı sağlayan ve bu imkanları veren Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK'a, bilgi ve tecrübesi ile lisansüstü öğrenim hayatımın tüm zorlu aşamalarında maddi manevi her yönden yardımcı olan, tecrübeleri ile beni aydınlatan ve desteğini hiç eksik etmeyen, kendisini tanımaktan büyük onur duyduğum sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Fazilet Zümrüt Biber Müftüler'e, yüksek lisans eğitimim sırasında desteği ve HPLC cihazı konusunda her türlü imkan ve desteği veren Sayın Doç. Dr. Çiğdem İçhedef'e, çalışmalarım sırasında manevi desteğini her zaman hissettiğim değerli arkadaşım Volkan Tekin'e, öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen ve hep yanımda olan aileme yürekten teşekkür ederim.

Mert AKINLI
Manisa, 2018

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Tc-99m İLE İŞARETLİ WHEY PROTEİN'İN BİYODAĞILIMININ DENEY HAYVANLARI ÜZERİNDE İNCELENMESİ

Mert AKINLI

Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI

Pek çok çeşidi bulunan sporcu supplementleri (ek besinler) ürün grubunun en önemli ve en çok kullanılan alt türlerinden birini oluşturan protein tozları, dünyada pek çok insan ve sporcu tarafından kullanılmaktadır. Genellikle kişilerin günlük protein ihtiyaçlarına erişmelerinde kolaylık sağlaması açısından kullanılan protein tozu ve benzer türevdeki protein supplementleri, proteinlerin kas gelişimindeki etkisi yüzünden özellikle sporcular tarafından tercih edilmektedirler. Bunun yanı sıra ise, kanser hastaları, kas kaybına sebebiyet veren çeşitli hastalıklar vb. durumlarda da, hastaların beslenmelerine ek olarak destek vermesi açısından kullanılmaktadır.

Peynir altı suyu proteini (Whey Protein), peynirin mayalanması sırasında oluşan peynir altı suyu kullanılarak imal edilen bir proteindir. Başlıca beta-laktoglobulin (~%65), alfa-laktalbumin (~%25) ve albümin (~%8) içerir.

Whey Proteinin biyodağılımı hakkında literatürde herhangi bir detaylı makale yer almamaktadır. Radyoaktif işaretli Whey Protein'in deney hayvanları üzerindeki biyodağılımını görmek için yapılan bu çalışmada WHEY protein'in (WH) deney hayvanları üzerindeki birikiminin kantitatif olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma literatürde ilk defa yapılmıştır.

Buradan hareketle bu çalışmada ilk olarak whey proteini kalay klorür indirgeme yöntemi kullanılarak ^{99m}Tc ile işaretlenmiştir. Bu şekilde bağlanma verimi >%95 olarak bulunmuştur. Bir sonraki aşamada radyoaktif işaretli proteinin (^{99m}Tc-WH) kalite kontrolü kağıt elektroforezi yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan elektroforez çalışmalarında uygun çözgen sistemi olarak Serum Fizyolojik (SF, %0.9 NaCl) kullanılmıştır. Elektroforez çalışmalarından sonra sırasıyla, lipofilite ve stabilite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda ^{99m}Tc-WH'nin 2 saat süreyle rat kan serumunda %85 oranında kararlı kaldığı tespit edilmiştir. Son aşamada ise dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde sintigrafi ve biyodağılım çalışmaları yapılmıştır.

Bu çalışmalar sonucunda işaretli WHEY proteinin dişi sıçanlarda meme, yumurtalık ve pankreasta yüksek oranda birikim yaptığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Whey protein, Radyoışaretleme, ^{99m}Tc,

2017, 42 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

BIODISTRIBUTION OF WHEY PROTEIN LABELED WITH Tc-99m ON THE EXPERIMENTAL ANIMALS

Mert AKINLI

**Celal Bayar University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Chemistry**

Supervisor: Prof. Dr. Uğur AVCIBAŞI

Protein powders, which constitute one of the most important and most used subspecies of athlete supplements with a wide variety of products, are used by many people and athletes around the world. Generally, protein dust and similar derivative protein supplements are used by the athletes especially because of the effect of the proteins on muscle development. In addition to this, cancer diseases, various diseases causing muscle loss and so on. It is also used to provide support to patients in addition to their nutrition.

Whey protein (English 'Whey Protein') is a protein made from whey produced during the fermentation of cheese. The main beta-lactoglobulin (~ 65%) contains alpha-lactalbumin (~ 25%) and albumin (~ 8%).

There is no any detailed study about biodistribution of Whey protein in the literature. In this study done for seeing biodistribution of WHEY protein (WH) on the experimental animals it was aimed to quantitatively determine the accumulation of Whey protein on experimental animals. This study was done for the first time in the literature.

In this study, whey protein was firstly labeled with Tc-99m using tin chloride reduction method. The yield of binding in this way was found to be 95%. In the next step, quality control of radioactively labeled protein (^{99m}Tc -WH) was carried out by paper electrophoresis technique. Serum Physiological (SF, 0,9% NaCl) was used as a suitable solvent system in electrophoresis studies. After electrophoresis studies, lipophilicity and stability studies were carried out, respectively. In these studies ^{99m}Tc -WH was found to be stable at 85% in rat blood serum for 2 hours. At the last stage, scintigraphy and biodistribution studies were carried out on female Albino Wistar rats.

As a result of these studies, it was determined that WHEY protein accumulated at high concentrations in the breast, the ovary and the pancreas in female rats.

Keywords: Whey protein, Radiolabeling, ^{99m}Tc ,

2017, 42 pages

1. GİRİŞ

1.1 Kanser Tedavisi

Kanser tedavisi bölümler arasında çok yakın bir işbirliği gerektiren takım oyununa benzer. Tanı aşamasında görüntüleme, patoloji ve biyokimya uzmanları ile endoskopistlerin de dahil olduğu bu takımda tedavi aşamasına gelindiğinde aşağıdaki 3 faktör başrolü oynar.

- 1) Hastalıklı dokuları cerrahi müdahalelerle vücuttan uzaklaştıran cerrahlar ve girişimsel tedaviler uygulayan uzman hekimler
- 2) Kanser hücrelerini çok çeşitli sınıftan ilaçlarla yokeden ve bağışıklık artırıcı ilaçları uygulayan medikal tıbbi onkologlar
- 3) Hastalıklı dokuları radyoaktif ışınlarla yok eden radyasyon onkologları

Bu tedavilerin alanlarında uzmanlaşmış hekimlerce yapılması yaşamsal öneme sahiptir. Hastalar, kendilerine kendilerine tedavi ve kanser ilaçları uygulayan hekimlerin medikal onkolog olup olmadıklarını mutlaka sorgulamalıdır.

1.2 Standart ve Opsiyonel Tedaviler

Kanser tedavisi tıbbın en yoğun emek isteyen ve ciddi alanıdır. Bu alanda keyfiliğe yer yoktur. Toplumda çok ender rastlanan bazı kanser türlerinde standart tedavi kabul edilebilecek tedavi yöntemlerinin henüz oluşmadığı istisnai durumlarda medikal onkologlar kişisel deneyimlerinde yararlanarak uygulayabilirler ki, bu tedavilere “opsiyonel tedaviler” denmektedir. Ancak kanserlerin büyük kısmında uygulanan tedaviler “standart tedavilerdir.” Bu tedavilerde hekimin kendi başına karar vermesi söz konusu değildir.

1.2.1 Kemoterapi

Kanser hücrelerini tahrip eden, büyüme ve çoğalmasını engelleyen kanser ilaçları kullanılarak yapılan tedaviye kemoterapi denir. Kemoterapi tek başına kullanılabileceği gibi radyoterapi ile birlikte, ameliyattan önce ya da sonra uygulanabilmektedir. Kemoterapi ilaçları ağızdan ve kalçadan damar içine verilmek suretiyle cildin üzerine ve altına veya bazı organ ve dokulara yönelik çeşitli yöntemlerle verilebilir. Bazen hastanın ve uygulanacak ilaçların özelliğine göre

önceden takılmış kataterlerden de kemoterapi uygulamaları yapılabilir. Bu kataterlerin bir kısmı tamamen cilt altına yerleştirilmiş olabilir. Kanser tedavisi için ilaç uygulama sıklığı ve toplam ilaç uygulama süresi, hastalığın ve uygulanan ilaçların özelliğine tedavinin amacına ve tedaviye verilen yanıtı bağılı olmak üzere medikal onkoloğun vereceğı karar doğrultusunda belirlenir.

Kanserin türü ve gelişme evresine göre değışmekle birlikte kemoterapinin kullanım amaçları şunlardır:

- Hastalığı tedavi etmek
- Hastalığın yayılmasını önlemek
- Hastalığın büyümesini yavaşlatmak
- Başka bir yere yayılmış olma ihtimali olan kanser hücrelerini yok etmek
- Hastalığa bağılı rahatsızlıkları / şikâyetleri azaltmak

Her gün ilaç uygulanabileceğı gibi birkaç gün üst üste, hatta onbeş günde bir, 21 ve ya da 28 günde bir şekilde değışik uygulamalar da yapılabilir. İlaçların uygulanması ve uygulamayı takip eden istirahat süresinden oluşan birim zamana “1 kür” denilir. Bazı kanser türlerinde toplam kür sayısı baştan belliyken, bazı durumlarda hastalığın seyrine göre zaman içinde medikal onkolog tarafından karar verilir. Kemoterapi uygulamaları tüm dünyada çoğunlukla ayaktan (outpatient) yapılır. Bazı durumlarda hastanın hastaneye yatması gerekebilir. Kan alma ya da herhangi bir enjeksiyon sırasında hissedilenden daha fazla ağrı ya da acı hissedilmez. Bazen ilaç damar dışına sızabilir ve iğnenin takılı olduğı damar çevresinde şişlik, kızarıklık, acı ya da yanma hissedilebilir. Böyle bir durumda hemen hemşirenize haber vermelisiniz. Çünkü bu durum iğnenin damar dışına çıkması sonucu olabilir ve hemen müdahale edilmezse ileride o bölgede doku hasarı meydana gelebilir.

1.2.2 Radyoterapi (Işın Tedavisi)

Radyoterapi, yüksek enerjili x-ışınları, elektron demetleri ve radyoaktif izotoplar yoluyla kanser hücrelerini öldürmek ve tümörleri küçültmek için kullanılan en eski ve etkili kanser tedavi metodlarından biridir. Radyasyon tedavisi ışınlanan tedavi alanındaki hücrelerin genetik materyaline zarar vererek bu hücrelerin

büyüyüp, çoğalmasını önler. Radyasyonun kanser hücrelerine etkisi iyonizasyon yoluyla olmaktadır. Bu etki iki farklı şekilde gerçekleşir; bazı hücreler radyasyon sonrasında direkt etkilendiğinden hemen ölürlür, bazılarının ise kromozom ve DNA'larında hasar oluşur, çoğalamazlar ve ölürlür. Radyasyon tedavisi ile kanser hücrelerinin yanı sıra normal hücreler de hasar gördüğü halde, normal dokuların pek çoğu iyileşir ve normal fonksiyonlarını kazanırlar.

Günümüzde ileri teknolojik gelişmeler sayesinde radyoterapinin kullanımı da çok ilerleme kaydetmiş ve gerek tedavi sonuçları gerekse yan etkilerin azaltılması açısından en başarılı tedaviler arasına girmiştir. Başarılı bir tedavide esas olan, uygun ve etkili radyasyon dozu tümöre uygulanırken, etraftaki normal dokunun mümkün olan en az dozu almasını sağlamaktır. Eskiden kullanılan geleneksel metodlar ile bu amaca ulaşmak çok zor hatta neredeyse olanaksız iken yeni teknik yöntemler ile mümkün olan en iyi ışınlama yapılabilmektedir. Bu yöntemler içerisinde en çok kullanılan üç boyutlu konformal radyoterapidir (3BKRT). Geleneksel yöntemlerde kullanılan 2 boyuta (en, boy), derinlik boyutunun da eklenerek yeni bir bilgisayar yazılımı yardımıyla yapılan tedavi planlamasına 3 boyutlu tedavi planlaması denilir.

Planlama ve tedavi aşamasında tümör volümü ve tedavi alanındaki normal doku volümleri gerçek anlamda değerlendirilebilir, bu sayede doz yetersizliklerinin önüne geçilir. Tedavide multiple sahalar kullanılarak hedef volüm konformal olarak ışınlanır. Bu sayede tümörlü dokuya daha yüksek doz verilebildiğinden hastalığın lokal kontrolü artar ve sağkalıma da etkili olabilir. Tüm bunların yanı sıra normal dokuya ait istenmeyen yan etkiler azalır ve hastanın yaşam kalitesi artar.

1.2.3 Şiddetli Modülasyonlu Radyasyon Tedavisi (IMRT)

3-boyutlu konformal radyoterapinin (3D-CRT) geliştirilmiş bir şeklidir. Binlerce radyasyon hüzmesinin akımı, ileri bir bilgisayar yazılımı yardımıyla, farklı tedavi volümlerine değişik şiddette radyasyon vermek suretiyle ayarlanabilir. Böylece tümörlü dokuyu yok edecek mümkün olan en yüksek doz, normal dokuya en az hasar vererek uygulanabilir. Tedavi planlaması sırasında hastanın üç boyutlu bilgisayarlı tomografi kesitleri kullanılır. Işınlanacak tümör volümü ve yüksek doz radyasyondan korunması gereken sağlıklı dokular belirlenir. Klasik tekniklere göre

IMRT tekniği planlaması ve uygulaması biraz daha uzun sürmektedir ancak yüksek tümör kontrolü ve azalmış yan etkiler nedeniyle özellikle bazı kanserlerde tercih edilmelidir.

Günümüzde IMRT; prostat kanseri, baş-boyun kanserleri, meme kanseri, tiroid ve akciğer kanserinin yanında jinekolojik, karaciğer, beyin tümörleri, lenfoma ve sarkomların tedavisinde de kullanılmaktadır. IMRT ayrıca pediatrik tümörlerin tedavisinde de çok faydalıdır.

1.3 Cerrahi Yöntemler

Bir genel cerrah tarafından tedavi edilebilen kanser türleri geniş bir yelpaze oluşturmaktadır. Sindirim sistemi organlarından yemek borusu, mide, oniki parmak bağırsağı, ince ve kalın bağırsaklar ve makat bölgesinin kanserlerine ilaveten karaciğer, safra kesesi ve safra yolları ile pankreas bezinin kanserleri, karın duvarı, zarları ve yağlı dokuların kanserleri, meme, tiroit ve paratiroit bezlerinin yanı sıra dalak ve böbrek üstü bezlerinin kanserleri ve ayrıca bazı cilt ve yumuşak dokuların kanserleri genel cerrahi alanında tedavi edilebilen hastalıklardır. Bir kitle oluşturarak kendini gösteren tüm kanserlerin tedavisindeki en önemli basamak, mümkünse kitleyi çevresindeki kabul edilebilir temiz bir doku sınırı ile birlikte çıkartmaktır. Hedef genellikle hastalığın bölgesel tekrarlama riskini % 10'un altında tutmak ve hastanın beklenen hayat süresini 5 yıla yaklaştırmaktır.

Günümüzde halen birçok kanserin tedavi sürecinde cerrahi operasyonlar, tedavi programının omurgasını oluşturmaktadır. Kanser cerrahları sadece cerrahi alanındaki başarıları ile kalmayıp hastalığın tanısını koymakta ve operasyon kararını vermeden önceki dönemde hastalığın safhasını belirleme ve cerrahi tedavinin stratejisini şekillendirme konusunda yeterli olmalıdır. Onkolojik cerrah ayrıca hastanın kendisi ve yakınlarını fiziksel ve ruhsal olarak tedaviye hazırlama konusunda yetkin olmalıdır. Aynı zamanda operasyondan sonraki süreçte hastanın günlük hayatındaki beslenmesinden fiziksel aktivitesine, psikolojik ve sosyal durumlarından alternatif tedavi seçimi kararına kadar destek verme konusunda yeteneğe sahip olmalıdır.

Kanserin tedavisi kuşkusuz hastalığın insan vücudunda etkilediği tüm noktaların ve fonksiyonların bilinerek çok yönlü olarak yapılan bir tedavi olup, modern tıpta tamamen bir takım işidir. Genel cerrah veya kanser cerrahı bu takımın bir parçasıdır ve hasta adına başarının yakalanması bu takımın üyelerinin yakın ve uyumlu çalışmasına bağlıdır. Takımın üyeleri onkoloji cerrahının yanında medikal onkoloji uzmanı, radyasyon onkoloji uzmanı, onkoloji (kanser) konusunda psikiyatri uzmanı ve psikolog, yine aynı deneyime sahip olan diyet uzmanı ve fizyoterapisttir. Ayrıca gerektiğinde konu ile ilgili yeterli tecrübeye sahip patoloji ve radyoloji uzmanları, nükleer tıp, enfeksiyon hastalıkları, gastroenteroloji ve diğer sistemleri ilgilendiren uzmanların desteği de tedavi sürecinde vazgeçilmez unsurlardır.

1.4 Tamamlayıcı (Alternatif) Tıp

Günümüzde kanser hastalarının yaşam kalitesini artırmak amacıyla uygulanan yöntemlerden bir tanesi de Tamamlayıcı Tıp'tır. Beslenme desteği, akupunktur, biofeedback ve neurofeedback gibi geniş bir çerçevede uygulama alanına sahip olan Tamamlayıcı Tıp dünyanın önde gelen hastanelerinde kanserle mücadele konusunda kabul edilmekte ve uygulanmaktadır.

Ne yazık ki birçok kanser hastası kulaktan dolma bilgilerle ve çevresindeki insanların önerileriyle tedavi amaçlı olarak bitkisel karışımlar kullanmaktadır. Oysa bu bitkisel karışımlar doğru kullanılmadığında birçok zarara yol açabilir. Kimi bitkisel kökenli desteklerin ameliyattan önce kesilmesi gerekirken, kimileri ise kanser ilaçlarının etkisini azaltmaktadır. Bu gerçekten yola çıkarak birçok hastane bünyelerinde Tamamlayıcı Tıp bölümleri kurarak bilimsel gerçeklerle örtüşen, hastalara kanser tedavisi sürecinde yarar sağlayan bitkisel çözümler önermektedir.

Tamamlayıcı Tıp içerisindeki en önemli uygulamalardan olan akupunktur kemoterapinin bulantı, radyoterapinin göz, ağız kuruluğu gibi yan etkilerinin giderilmesine yardımcı olurken halsizlik, ağrı, depresyon, stres gibi etkilerin giderilmesinde de kullanılmaktadır. Bu sayede kanser tedavisinde oldukça önemli olan hasta moral ve motivasyonu üst seviyelere taşınmaktadır.

Ayrıca yapılan bilimsel çalışmalar akupunkturun kemoterapi sırasında ve sonrasında ortaya çıkabilen uykusuzluk (insomnia) ve lökopeni (kan hücrelerinin azalması) problemlerine karşı da etkiyi olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Akupunktur ayrıca serotonin ve endorfin gibi pozitif duyguları tetikleyen hormonların salgılanmasını kolaylaştırarak kemoterapi sırasında ortaya çıkan ve hastanın yaşam kalitesini düşüren halsizlik, anksiyete, depresyon gibi hislerin giderilmesinde de yardımcı olmaktadır.

1.5 Biofeedback ve Neurofeedback

Kanser tedavisi sürecinde izlenebilen biofeedback ve neurofeedback uygulamaları ise özellikle hastanın moral motivasyonunu yüksek tutmak için kullanılan yöntemlerdir. Hastayı endişe ve sıkıntıdan uzak tutan bu uygulamaların yanı sıra düşüncesele görüntüleme yöntemi adı verilen ve hastaları kendilerine özgü mutluluk yolculuklarına çıkaran Guided Imagery de dünyanın önemli hastanelerinde kullanılan etkili bir yöntemdir.

Kanser tanı aşamasından tedavisine kadar oldukça zor ve yorucu bir hastalık olmasına rağmen Tamamlayıcı Tıp uygulamalarının pozitif etkisi hastanın moralini üst düzeyde tutmasına yardımcı olmakta, tıbbi faydalarının yanı sıra hastaların yaşam kalitesini de yükselterek hastalığı yenmenin mümkün olduğu inancını artırmaktadır.

1.6 Bilgisayarlı Tomografi

İç organların fonksiyonun görüntülenmesi ve hastalıkların durumu için **radıofarmasötikler** olarak adlandırılan özel amaçlı radyoaktif izleyicilerin kullanımı nükleer tıbbın farklı bir gücüdür. BT, MR, US gibi diğer görüntüleme cihazlarından farklı olarak, nükleer ilaç süreçleri fizyolojik ve metabolik aktiviteleri haritasını çıkarabilir ve diğer taraftan iç organlarımız hakkında daha fazla bilgi verir. Radıofarmasötikler radyoaktif izotoplardır. Damar yoluyla enjekte edilebilir ya da ağız yoluyla alınabilir. Kullanılan farmasötikler eser miktarlar da kullanıldığı için büyük bir kısmı tanı için kullanılmaktadır. Farmasötiklerin üretimi için nükleer tıp laboratuvarları kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalara göre kanserle savaşan etkili bir yöntem olmuş olan farmasötikler ışına yaparak tümörü azaltmakta ya da yok

etmektedir. Nüklidler doğa da bulabileceği gibi yapay yollarla da üretilebilmektedir [1].

1.7 Whey Protein

Protein tozu grubunda akla ilk gelen ürün türü Whey protein'dir. Whey, Türkçede peyniraltı suyu tozu olarak da bilinir ve peynir üretimi sırasında ortaya çıkan bir takım protein içeriği yüksek maddelerin, çeşitli kimyasal işlemlerden geçirilerek saflaştırılması ve konsantre edilmesi ile üretilir. Dünyada en çok kullanılan protein supplementi türü Whey Protein'dir [2].

Her ne kadar protein kendi başına sağlık açısından oldukça önemli bir yapıtaşı ve her insan vücudunun belirli miktarlarda ve çeşitlilikte ihtiyaç duyduğu bir madde olsa da, ek protein besinlerinin kullanımı konusunda sağlık açısından oldukça büyük tartışmalar bulunmaktadır. Fakat bu konuda insan sağlığı üzerine yapılan araştırmalar, aşırı miktarda olmadığı sürece, insan sağlığı üzerinde protein supplementi kullanımının büyük ölçüde tehlikeli olmadığı sonucuna varmışlardır (önceden sağlıklı bireyler üzerinde yapılan testler doğrultusunda) [3].

Çalışmamızın amacı sporcuların kullandığı whey proteinin kalay klorür indirgeme yöntemi kullanılarak Tc-99m ile işaretlenmesi ve sıçanlarda biyodağılım ve sintigrafi çalışmaları yapılarak Tc-99m ile işaretli whey proteinin hangi organda ne kadar süre ile biriktiğinin belirlenmesidir.



Şekil 1.1. Whey Proteinini

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nükleer Tıp Nedir?

Nükleer tıp; güvenli, ağrısız ve ucuz bir şekilde vücudun herhangi bir bölgesinin görüntülenmesini ve hastalıkların tedavisini sağlayan bir tıp branşıdır. Yalnız anatomik bilgiler veren tanısal radyolojiden farklı olarak nükleer tıp yöntemleri ile herhangi bir organın yapı ve fonksiyonu hakkında bilgi sahibi olunur.

Manyetik rezonans, ultrason gibi diğer radyolojik yöntemler ile istenilen bölgenin anatomik yapısı hakkında iyi kalitede görüntüler elde edilebilir. Nükleer tıp yöntemleri ile verilen radyofarmasötiğin organ tarafından tutulum oranı ve vücuttan temizlenme miktarı göz önüne alınarak organın fonksiyonu hakkında bilgi sahibi olunur. Örneğin nükleer tıp kalp, beyin veya böbreklerdeki kan akımı miktarını veya iskelet sistemi içinde tümöral dokunun yayılım alanlarını gösterebilir. Nükleer tıp yöntemleri ile ciddi rahatsızlıkların teşhisi, tedavisi ve takibi mümkün olur. Genellikle hastalıklar diğer radyolojik yöntemlerle saptanabilir hale gelmeden ve klinik bulgular gelişmeden önce, yani hastalığın erken döneminde nükleer tıp yöntemleri ile tespit edilebilirler. Böylece hastalık daha fazla ilerlemeden ve daha başarılı bir şekilde tedavi edilebilir.

Nükleer görüntüleme için çok küçük miktarda radyoaktif madde ve radyofarmasötik kullanılır. Farmasötikler vücuda verildiğinde özgül olarak herhangi bir organa, kemiğe veya dokuya bağlanan maddelerdir. Radyoaktif madde ile bağlandığında radyofarmasötik adını alır ve görüntülenmesini istediğimiz organa gidip bağlanır ve beraberindeki radyoaktivite sayesinde gamma ışınları yayarak o organın gamma veya PET kameraları ile görüntülenmesini sağlar. Bu kameralar bilgisayarlarla bağlantılıdır ve böylece vücudun görüntülenen bölümü hakkında veriler ve bilgiler elde edilir. Nükleer tıp uygulamaları ile vücudun aldığı radyasyon dozu radyolojik X-ışını tanı yöntemleri ile yaklaşık aynı seviyelerdedir.

Tanı amaçlı kullanılan nükleer radyofarmasötik maddeler görüntülemeye yetecek kadar radyasyon yaymalı ve vücuda herhangi bir etkisi olmayacak kadar kısa yarı ömürlü olmalıdır. Bu amaçla kullanılan radyofarmasötikler teknesyum-99m,

galyum-67, indium-111, iyot-123, talyum-201 ve kripton-81m' dir. Bunlardan hiçbirinin insan vücudunda kaydadeğer yan etkisi yoktur.

Günümüzde, neredeyse 100 kadar farklı nükleer görüntüleme çeşidi vardır; nükleer tıp yöntemleri ile görüntülenemeyen herhangi bir ana organ veya sistem mevcut değildir. Nükleer tıpta sık kullanılan teknikler şöyle sıralanabilir. Planar görüntü- organın iki boyutlu görüntüsü ve fonksiyonu hakkında bilgi verir. SPECT- organın üç boyutlu görüntüsü ve fonksiyonu hakkında bilgi elde edilir. PET-spesifik bir organ, tümör veya herhangi bir aktif metabolik alanda fonksiyon hakkında bilgi verirken aynı zamanda üç boyutlu görüntüleme sağlar. Nükleer tıp genellikle tanısal amaçlı kullanılmakla birlikte, bazı hastalıkların tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Nükleer izotopların tedavide en sık kullanıldığı durumlar; tiroid ve prostat kanserleri, hipertiroidizm, polistemia vera (kanda anormal kırmızı hücre artışı) ve kemik kanseri ağrılarıdır.

Yüksek doz radyasyon verilmesinden kısa bir süre sonra dokular tahrip olur ve hücreler ölür. Böylece radyasyon tümör hücrelerinin öldürülmesi ve tedavisinde kullanılabilir. Bu amaçla radyasyon dışarıdan verilebildiği gibi, internal yolla da (yutarak veya damar içine enjeksiyonla) verilebilir ki sözünü ettiğimiz ikinci yöntem nükleer tıp radyasyon tedavisi sahasına girer. Verilen radyoaktif madde tümoral doku içinde birikir ve hücrelerin ölmesini sağlar. Ancak bu etkiyi gösterebilmesi için tedavide kullanılan nükleer radyofarmasötiklerin uzun yarı ömürlü olması ve tümör içerisinde bir süre kalması gerekmektedir. Tedavi amacı ile kullanılan radyofarmasötikler iyot-131, fosfor-32, iridyum-192 ve altın-198'dir. Verilen radyofarmasötüğün sağlam dokularda değil, yalnızca tümöral dokuda birikip bu bölgeyi ışınlamasını istediğimiz için radyoaktif tedavi henüz her çeşit kanser tedavisinde kullanılamamaktadır. Ancak radyoimmun tedavi denilen teknik umut verici görünmekte ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir. Bu teknikle radyoizotoplar yalnızca vücuttaki belirli hücrelere gidip bağlanabilen antikorlarla birleştirilmiştir. Böylece antikor radyoizotopa rehberlik yaparak yol gösterecek, tümöral dokuya ulaşan radyoizotop da kolayca dokuyu tahrip ederek tedaviyi sağlayacaktır [4].

2.2 Radyofarmasötikler Nasıl Üretilir?

2.2.1 Nükleer Fisyon

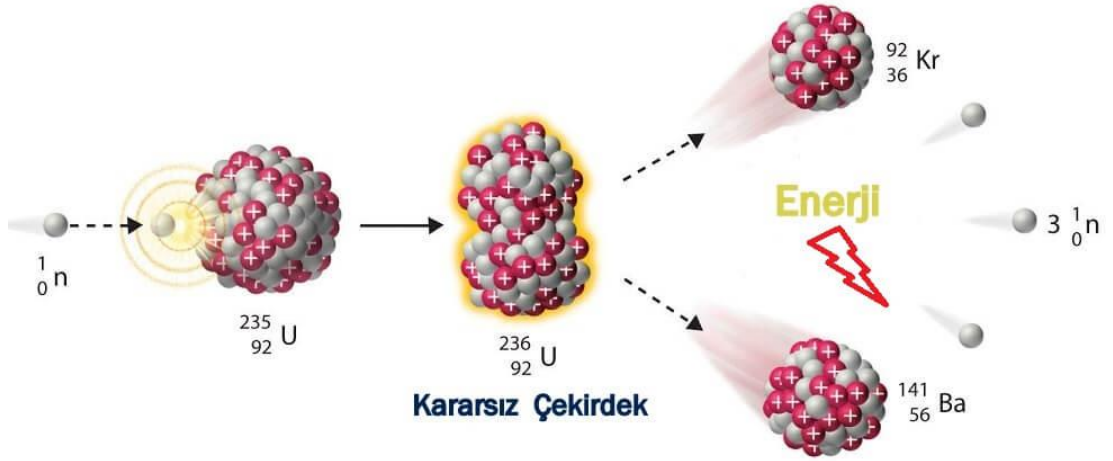
Çok büyük kütle numaralı bir atom çekirdeğinin parçalanarak, daha küçük kütle numarasına sahip iki çekirdeğe dönüşmesine fisyon denmektedir. Uranyum-235 fisyonu en yaygın olan nükleer fisyon işlemidir. Örneğin; İyot-131, Molibden-99 ve Ksenon-133 bu yolla üretilmektedir.

2.2.2 Yüklü parçacık bombardımanı

Radyonüklitler siklotoron gibi parçacık hızlandırıcılar ile yüklü parçacıkların hedef atoma bombardımanı sonucu üretilir.

2.2.2.1 Nötron bombardımanı

Radyonüklitler bir nükleer reaktörde nötronlar ile hedef malzemeye bombardıman yapılarak üretilmektedir.



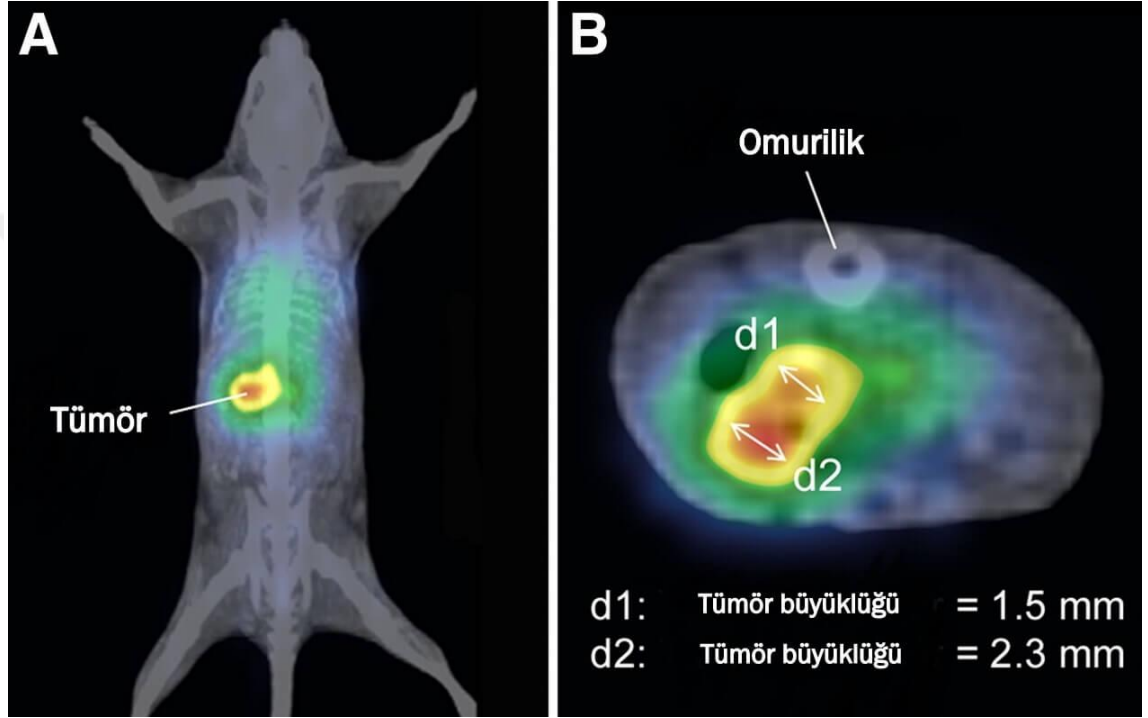
Şekil 2.1. Nötron bombardımanı (<https://www.muhendisbeyinler.net>)

2.2.3 Radyonüklid jeneratörleri

Jeneratör sistemlerinde temel prensip fiziksel ya da kimyasal yöntemlerle, daha uzun yarı-ömürlü radyonüklidten daha kısa yarı ömürlü nüklid elde edilmektedir.

Radyofarmasötikler temelde iki önemli yapısı mevcuttur. Bunların biri, radyoaktif ışın yayan radyonüklid, diğeri ise radyonüklide bağlı farmasötiktir. Bu farmasötik kısımlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerine göre etkili olduğu organa ya da dokuya tutunur ve yanında taşıdığı radyonüklid eleman sayesinde ışınım yaparak bizlere organ fonksiyonlarını ya da bozukluklarını göstermektedir.

Resimde bir farede oluşan tümör PET/BT yardımıyla görüntülenmiştir.



Şekil 2.2. Farede oluşan tümör görüntüsü (<https://www.muhendisbeyinler.net>)

Kısaca radyofarmasötikler hastalıkların erken tanı ve tedavisi için kullanılan önemli nükleer tıp ürünleridir [5-9].

2.3 Protein tozu

Peynir altı suyu proteini, gıdada yeni ve doğal bileşenlerin geliştirilmesinde potansiyeli olan çok yönlü bir üründür. Bu ürün doku değiştirici, kalınlaştırıcı ajan, jelleştirici, yüzey aktif olarak kullanılabilir. Peynir altı suyu proteinleri içeren nanokompozitler, aktif gıda ve ilaç bileşenlerinin çözünürlük, taşınma, dağılılabirlik, biyoyararlanım ve biyolojik olarak kullanılabilirlikleri bakımından faydalı olacak şekilde etkili enkapsülasyon sistemleri olarak kullanılmaktadır [10].

Peynir altı suyu asidik protein (WAP), 4-disülfit kor (4-DSC) ile karakterize iki veya üç WAP motifi içeren serin proteaz inhibitörüdür. WAP meme epitel hücrelerinin in vitro ve in vivo proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca MCF-7 ve MDA-MB-453 hücrelerinin progresyonunu da indüklemektedir. Bu nedenle meme kanseri tümör oluşumuna karşı terapötik bir protein olarak görülmektedir [11].

Başka bir çalışmada, peynir altı suyu proteini uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna göre daha yüksek vücut ve kas ağırlık artışı görülmüştür. Peynir altı suyu proteini, MAFbx geni transkripsiyonu ve mTOR gen ekspresyonu arasındaki etkileşim incelendiğinde vücut ve kas ağırlık kazancında muazzam farklılıklar görülmüştür [12].

Tez çalışması ile benzer bir çalışmada ise Elafin proteini kullanılmıştır. Elafin, pro-inflamatuar proteaz lökosit elastaz ve proteaz 3' ün güçlü bir inhibitörüdür ve postoperatif inflammatuar hastalıklarda kullanım için klinik gelişim aşamasındadır. Bu çalışmada ^{99m}Tc ile işaretlenen elafinin, böbrek nakli sonrası görülen kronik allogreft nefropati gibi inflammatuar böbrek hastalıklarının tedavisinde potansiyele sahip olduğu görülmüştür [13].

^{99m}Tc ile işaretli duramycin proteininin infarktüs çekirdeğinde ve penumbra bölgesinde nekroz ve apoptozisin hızlı bir şekilde tanımlanmasında kullanılabilirliğinin araştırıldığı bir çalışmada ise elde edilen SPECT görüntüleri, sol serebral hemisferde ^{99m}Tc-duramycin tutulumunun anlamlı olduğunu göstermiştir. Bu sonuç ^{99m}Tc-duramycin' in SPECT görüntüleme ile devam eden apoptotik bulguların saptanması ve ölçülmesi için yararlı olabileceğini göstermiştir [14].

2.4 Teknesyum

Teknesyum, Yunanca'da yapay anlamına gelen 'technetos' kelimesinden türemiştir. 1937 yılında, İtalya'da Carlo Perrier ve Emilio Segre tarafından Molibden'in siklotronunda hızlandırılmış 5 MeV döteronlarla bombardıman edilmesi sonucu elde edilmiştir. 25 izotopu ve 10 izomeri olan; 88-113 arasında atomik kütle değerlerine sahip yapay bir elementtir [15]. Atom sayısı 43 olup, "Tc" şeklinde sembolize edilir. Periyodik tabloda VII B grubunda bulunan teknesyum, aynı grupta yer alan renyum ve mangan geçiş metallerine kimyasal özellik bakımından benzerlik

göstermektedir. Teknesyum 0, +2, +4, +5, +6, +7 oksidasyon basamaklarına sahiptir. Teknesyumun toz hali oksijenle yanabilir. Nitrik asitte ve konsantre sülfürik asitte çözünür ancak hidroklorik asitte çözünmez. Metal formu zayıf paramanyetik özellik gösterir. Kristal yapısı ile hekzagonaldir. Teknesyum nükleer fisyonla üretilir ve çoğu radyonüklidten daha kolay ayrılır. İnsanlar ve hayvanlar üzerindeki toksisitesinin anlaşılması önemli olmasına rağmen, bu konudaki deneysel sonuçlar yetersizdir. Düşük kimyasal toksisite gösterir. Radyolojik toksisitesi ise, bileşiğin fonksiyonuna, söz konusu izotopun radyasyon türüne ve yarı ömrüne bağlıdır.

Nükleer Tıpta teşhis amacıyla geniş bir spektrumda kullanım alanına sahip Tc-99m isimli kısa yarı ömürlü, γ salıcı bir nükleer izomeri bulunmaktadır [16]. ^{99m}Tc 140 keV'luk saf gama ışını yayar. Bu enerji aralığındaki ışınlar görüntüleme gama kameralar için idealdir. 6 saat yarı ömrü de yine görüntüleme avantaj sağlamaktadır. Ayrıca hastanın aldığı radyasyon dozunun az olması yönünden de idealdir. Birçok farmasötik kısım ile geniş işaretleme yelpazesine sahip olan ^{99m}Tc , üretim zorluğu nedeni ile uzun yıllar kullanılamamıştır. 1965 yılında Richards ve arkadaşlarının $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ jeneratörünü üretmelerinden sonra nükleer tıp alanında ^{99m}Tc radyofarmasetikleri hızla artmıştır [17].

2.4.1 Teknesyumun Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

2.4.1.1 Teknesyumun Fiziksel Özellikleri

Atom numarası 43 olan bu elementin doğada hiçbir izotopu bulunmamaktadır. ^{99m}Tc fiziksel özellikleri bakımından nükleer tıpta teşhis amacıyla kullanılan radyoizotopların en idealidir. Fiziksel yarılanma ömrü 6 saattir. Eksponensiyel olarak azalır ve ^{99}Tc 'a dönüşür. ^{99m}Tc 'un fiziksel yarılanma ömrü (2.1×10^5 yıl) uzundur. O da kararlı Rutenyum-99 izotopuna dönüşür.

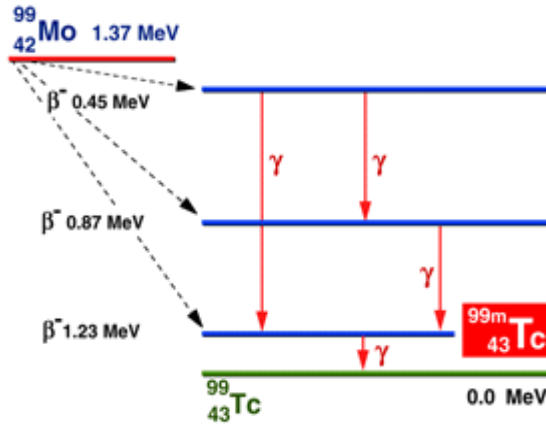
^{99}Tc sadece γ radyasyonu yayar. Enerjisi 140 keV olan tek bir γ fotonuna sahiptir. β yayınlamadığı ve kısa ömürlü olduğu için milikürilerce (mCi) aktivite verilmesine rağmen hastanın maruz kaldığı radyasyon dozu oldukça düşüktür. Monokromatik 140 keV fotonlar nükleer tıpta kullanılan gama kamera gibi cihazlarla kolaylıkla algılanıp kaydedilir ve rozolüsyonu yüksek, oldukça kaliteli görüntüler elde edilir.

2.4.1.2 Teknesyumun Kimyasal Özellikleri

Teknesyum bir geçiş elementi olup periyodik tabloda VIIB grubuna (Mn, Tc ve Re) aittir. Teknesyumun birçok kararlı oksidasyon kademesi +7 değerindedir ve perteknetat (TcO_4^-) halinde bulunur. Bu açıdan permanganat (MnO_4^-) ve perrenat (ReO_4^-) iyonlarına benzer. Geçiş elementi olduğu için şelat özelliği gösteren muhtelif iyon ve moleküllerle birleşerek metal kompleksleri meydana getirir. Radyofarmasötik hazırlamada genellikle teknesyumun bu özelliğinden faydalanılır. Teknesyumun kimyası hakkındaki bilgi çok daha uzun yarı-ömürlü ($t_{1/2}=2.1 \times 10^5$ yıl) olan ve daha yüksek konsantrasyonlarda (10^{-4} - 10^{-5} M) bulunan ^{99}Tc radyoizotopu ile yapılan deneylerle elde edilmiştir [18].

2.4.2 Metastabil-Teknesyum İzomerik Çekirdeği (^{99m}Tc)

Nükleer tıpta özellikle tanısal alanda geniş bir çeşitliliğe sahip olan ^{99m}Tc , ^{99}Tc 'un metastabil (ara kararlı) fazdaki bir izotopudur. Bu metastabil halin yarı-ömrü 6,02 saatir. Temel haldeki Tc'un elektronik enerji düzeyi uyarıldığı zaman, uyarılmış enerji düzeyi kararlılığını korumak için temel enerjili haline geri dönmek isteyecektir. Ancak uyarılmış düzeyin ömrü saniye mertebesine göre, saat metresinde oldukça uzundur. Uzun ömürlü bu uyarılmış düzeye "metastabil (ara kararlı) faz" denmektedir. Metastabil düzeyde bulunan çekirdek bu süre zarfında farklı karakteristikler kazanmaktadır. Artık temel enerjili haline dönse bile, temel enerjili durumdaki Tc'dan farklı bir forma sahip olacaktır. Bu noktadan sonra, kütle ve atom numarası aynı olmasına rağmen, nükleer özellikleri birbirinden farklı olan çekirdekler oluşacaktır. Oluşan bu çekirdeklere "izomer çekirdekler" denmektedir. İzomer çekirdeklerden normal enerji düzeyinde bulunanlar yalnızca kütle numaralarıyla yazılırken, uyarılmış enerji düzeyinde bulunanlar ise, kütle numaralarının yanına "metastabil" yani "ara kararlı" anlamına gelen, m harfi ilave edilerek gösterilmektedir. Metastabil enerji düzeyinde bulunan izomer bir çekirdeğin, bu enerji düzeyindeki nükleon, ya da nükleonlarının belirli bir yaşam süresi sonunda normal enerji düzeyine inmesiyle 0.1405 MeV (140.5 keV) değerinde bir γ -ışını salınmaktadır. Bu olaya " ^{99m}Tc 'un bozunması" da denmektedir [19].



Şekil 2.3. ^{99}Mo 'un ^{99}Tc 'a bozunması (<http://www.monrol.com.tr>)

2.4.3 ^{99m}Tc 'un İndirgenmesi

Jeneratörden elde edilen $^{99m}\text{TcO}_4^-$ iyonu çok kararsızdır ve bu haliyle direkt olarak hiçbir bileşikle bağlanamaz. Biyolojik olarak aktif bir biyomolekülün ^{99m}Tc ile işaretlenmesi için önce $7+$ den $3+$, $4+$ veya $5+$ 'e indirgenmesi gerekmektedir. Bu konuda pek çok metot mevcuttur. Buna yönelik tepkimeler genellikle basit tepkime kaplarında $20-80^\circ\text{C}$ aralığında, $\text{pH}=5-7$ arasında olmakla birlikte, reaksiyonun gerçekleşme süresi $20-120$ dk arasında değişmektedir. ^{99m}Tc 'in yarılanma süresinin ($t_{1/2}=6,02$ saat) kısa olmasından dolayı, reaksiyonunda kısa sürede gerçekleşmesi istenmektedir.

2.4.4 ^{99m}Tc ile İşaretleme

Genellikle ^{99m}Tc komplekslerinin çoğu indirgeyici inorganik bir ajan olan $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tuzu yardımıyla kompleksleştirici ajan varlığında perteknetatı daha düşük değerliğe indirgemesi ile hazırlanır. Bilinen diğer indirgeyiciler sodyum borhidrat, sodyum bisülfid, hidrazin, hidroklorik asit, metalik çinko, askorbik asit, molibden(III), tungsten(III), antimon(III) tuzlarıdır.

2.4.5 ^{99m}Tc ile Yapılan Kalite Kontrol Çalışmaları

Teknesyum radyofarmasetiklerinin kalite kontrolü için çeşitli kontrol prosedürleri geliştirilmiştir. Bu prosedürün biri hidrofilik kompleksler için genellikle kağıt ya da ince tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography) (TLC)'dir. Bunun yanı sıra, kolon kromatografisi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), teknesyum radyofarmasetikleri için kullanılan diğer kalite kontrol

yöntemleridir. İnce tabaka kağıt kromatografisi (TLC) basit, kolay uygulanabilir, çok kullanışlı olup ancak uzun sürmesi kısa yarı ömürlü radyonüklidler içeren radyofarmösetikler için dezavantaj teşkil edebilmektedir. TLC plakaları, destek maddesi (alüminyum, plastik, cam gibi) üzerine bir adsorbanın (selüloz, silikajel ve alüminyum oksit gibi maddeler) kaplanmasıyla oluşmuştur. İnce tabaka şeridi orijinine mikrolitre düzeyindeki örnek uygulanarak içinde uygun çözügen bulunan tank içerisine batırılır. Çözügen çözünebilen radyofarmösetiklerin adsorban boyunca taşınmasını sağlarken durgun fazing elektrostatik çekim kuvvetleri safsızlıkların taşınmasını geciktirir. Bu etki kimyasal özelliklerin hareketli fazla farklı çözünebilirliğe sahip olmasından dolayı farklı hızlarda taşınmasına sebep olur. Böylece, adsorban boyunca radyofarmösetik ve radyokimyasal safsızlıklar ayrılmış olur. Bu radyokimyasalların farklı özelliklere sahip olmaları nedeniyle durgun ve hareketli fazlar arasındaki ilişkiye göre farklı dağılım gösterirler. Çoğunlukla kullanılan çözügenler; hekzan, kloroform, dietil eter, etil asetat, n-bütanol, aseton, izopropil alkol gibi organik maddelerdir. Bu çözügenler bir veya birkaç çözügenin bileşiminde oluşan sistemler de olabilir. İstenilen mesafeye TLC şeritinde çözügen taşındıktan sonra, şerit tanktan çıkarılarak oda sıcaklığında kurutulup daha sonra Cyclone Plus Storage Phospor System ile sayımlar alınarak bağlanma verimi ve R_f (relative front) değeriyle ifade edilir. Bu mesafeler orijinden çözücünün gittiği nokta ve radyokimyasal bileşenlerin konsantr olduğu mesafe orijinden ölçülerek gerekli şekilde tespit edilir [20].

2.5 Kromatografi

Kromatografi, bir durgun ve bir hareketli faz arasında moleküllerin diferansiyel etkileşimlerine dayalı bir ayırma tekniğidir. Durgun faz sıvı veya katı olabilirken, hareketli faz sıvı veya gaz olabilir. Ayrılacak olan maddeler, durgun ve hareketli fazlar arasında belirlenen bir yönde hareket ederek dağılırlar. Farklı maddeler farklı derecelerde dağıldığından dolayı birbirlerinden ayrılır. Kromatografi birbirine çok benzer bileşiklerin ayrılmasına da olanak sağlar [21].

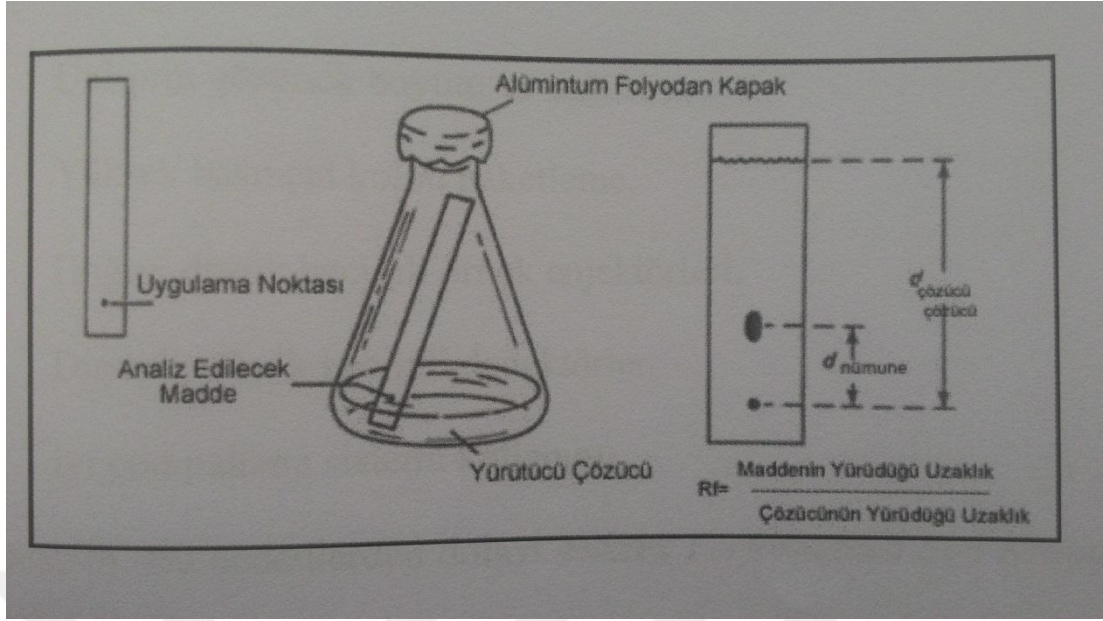
2.5.1 İnce Tabaka Radyokromatografisi (TLRC)

Radyofarmösetiklerin radyokimyasal saflığının saptanması için çok geniş çapta kullanılan bir yöntemdir. TLC plakaları, destek maddesi (alüminyum, plastik,

cam gibi) üzerine bir adsorbanın kaplanmasıyla oluşmuştur. Adsorban maddeleri ise çoğunlukla selüloz, silikajel ve alüminyum oksit gibi maddelerdir. Bu yöntemde, tabanından yaklaşık 0,5-1,0 cm yükseklikte merkez noktaya örnek uygulanmış olan ince tabaka şeridi, içinde uygun bir çözügen bulunan tank içerisine batırılır. Bu tankın çözügenle doyurulmuş bir atmosfere sahip olması gerekir. Çözügen *hareketli*, adsorban ise *durgun faz* olarak adlandırılır. Çözügen çözünebilen radyofarmasetiklerin adsorban boyunca taşınımını sağlarken durgun fazın elektrostatik çekim kuvvetleri çeşitli radyokimyasal özelliklerin taşınımını geciktirir. Bu etki radyokimyasal özelliklerin hareketli fazla farklı çözünebilirliğe sahip olmasından dolayı farklı hızlarda taşınımına sebep olur. Böylece adsorban boyunca radyofarmasetik ve radyokimyasal safsızlıklar ayrılmış olur. Bu radyokimyasalların farklı özelliklere sahip olmaları nedeniyle durgun ve hareketli fazlar arasındaki ilişkiye göre farklı dağılım gösterirler. Çoğunlukla kullanılan çözügenler; hekzan, kloroform, dietil eter, etil asetat, n-bütanol, aseton, izopropil alkol gibi organik maddelerdir. Bu çözügenler bir veya birkaç çözügenin bileşiminden oluşan sistemeler de olabilir.

Tank içinde bulunan TLC şeridinde çözügen istenilen mesafeye taşındıktan sonra, şerit tanktan çıkarılır. Oda sıcaklığında kurutulur ve şerit orijinden itibaren 5 mm parçalar halinde kesilir. Her bir parça sintilasyon dedektöründe sayılır ve sayıma karşı kat edilen mesafe grafiği çizilerek kromatogramlar elde edilir.

Her bir radyokimyasal bileşenin taşınım mesafesi R_f (relative front) değeriyle ifade edilir. Bu mesafeler orijinden çözügenin taşıdığı nokta ve radyokimyasal bileşenlerin konsantre olduğu mesafe orijinden ölçülerek tespit edilir.



Şekil 2.4. İnce tabaka kromatografisi (TLC).

Tespit edilen R_f değerleri radyofarmösetiğin radyokimyasal sağlığının hesaplanmasında önem taşırlar [22].

2.5.2 Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography) en yaygın olarak kullanılan analitik tekniklerden biridir. HPLC’de bir karışımdaki bileşenlerin ayrılmasında sıvı hareketli faz kullanılır. Bu bileşenler ilk olarak çözücüde çözünürleştirilirler ve daha sonra yüksek basınç altında kromatografi kolonundan geçmeye zorlanırlar. Kromatografik bir kolonun ayırma gücü; kolon boyu ve uzunluk başına teorik plaka sayısı ile artmaktadır. Ancak kolon uzunluğunun artması pik yayılmasına sebep olmaktadır. Teorik plaka sayısı ise sabit fazing küçük parçacık boyutuna sahip olması ayırma gücünü iyileştirmektedir. Ancak parçacık boyutu küçüldükçe, hareketli fazing akışına direnç büyür. Bu ise kolonda geri basınç oluşturur ve stasyonier fazing matriks yapısına zarar verir. Böylece elüent akışı ve ayırma gücü azalır. Son yıllarda kolon kromatografi teknolojisindeki gelişme ile yüksek basınçlara dayanıklı kolon dolgu maddeleri ile yüksek basınç altında çalışabilen sistemler geliştirilmiştir. Başlangıçta basınç, modern sıvı kromatografisinin temel kriteri olarak düşünölmekteydi ve bu nedenle *Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi* olarak adlandırılmaktaydı. Ancak bu günümüzde

geçersiz kabul edilmektedir. Çünkü yüksek performans yalnız basıncın değil birçok faktörün birleşmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu faktörler:

- Dar bir dağılım aralığında çok küçük partiküllerin kullanılması,
- Uniform gözenek boyutu ve dağılımı,
- Yüksek basınçta kolon paketleme,
- Doğru, düşük hacimli örnek enjektörleri,
- Duyarlı, düşük hacimli dedektörler,
- İyi pompalama sistemi kullanımı

olarak sıralanabilir. Bu nedenlerden dolayı *Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi* terimi kullanılmaktadır.

HPLC'nin diğer klasik tekniklere göre kıyaslaması yapıldığında küçük boyutlu paslanmaz çelik kolonların kullanılması, partikül boyutları çok küçük (3.5-10 μm) matrikslerin kullanılması, yüksek iç basınç ve kontrollü akış hızı sağlanabilmesi, örnek gereksinimlerinin az olması, sürekli akış dedektörleri ile küçük miktarların tayinine olanak sağlaması, otomasyona müsait olması, hızlı analiz ve yüksek ayırma gücüne sahip olmaları nedeniyle çok yönlü uygulamalara daha açık olduğu görülmektedir. Kromatografik ayırma işlemi örnek moleküllerinin hareketli faz ve sabit faz arasında paylaşımından ibarettir. Ayırma performansı bileşenin alıkonma ve band genişleme faktörüne bağlıdır. Band genişleme genelde bir kinetik parametredir ve adsorbanın partikül büyüklüğü, porosite (gözenek) boyutu, kolon boyutu, şekli ve doldurma performansına bağlıdır. Diğer yandan alıkonma, bu parametrelerin yanı sıra moleküler yüzey etkileşimleri ve toplam adsorbent yüzeyine de bağlıdır.

Kromatografik alıkonmayı bulmanın en kolay yolu ilgili bileşiğin enjeksiyon noktası ve dedektör cevabının maksimumları arasındaki zaman ölçümüdür. Bu parameter genelde *alıkonma zamanı (Retention time, R_t)* olarak adlandırılır. R_t elüentin akış hızı ile ters orantılıdır. HPLC cihazları genelde, hareketli faz deposu, pompa, enjektör, kolon, dedektör ve kaydedici (veya veri sistemi) içerirler. Sistemin kalbi ayırmanın gerçekleştirildiği kolondur. Sabit faz μm boyutlu poröz partiküllerden oluşur, bu nedenle hareketli fazın kolondan geçişi için yüksek basınç pompalarına ihtiyaç vardır. Kromatografik işlem kolona örneğin enjeksiyonu ile

bağlar. Bileşenlerin ayrılması analit ve hareketli fazın kolona pompalanması ile devam eder. Ayrılarak elüe olan her bir komponentin pikleri kaydedilir. Elüe olan bileşenlerin dedeksiyonu önemlidir. Kullanılan dedektöre göre seçimli veya universal olabilir. Her bir komponent için alınan dedektör cevabı bir kaydedici veya bilgisayar ekranında kromatogram olarak görüntülenir. Kromatografik verilerin toplanması, saklanması ve analizi, bilgisayarlar ve diğer data işlemcileri kullanılarak yapılır [23].

2.6 Lipofilite

Lipofilite, bileşiğin lipid faza ilgisidir ve bileşiğin in vivo lipid biyolojik membranları geçme kabiliyetini gösterir. Biri su diğeri organik olmak üzere (birbiri içinde çözünmez) iki sıvı arasında test edilen bileşiğin dağılım katsayısı olarak ölçülür. Standart organik faz olarak n-oktanol tercih edilir. $n_{\text{oktanol}}/n_{\text{su}}$ oranı P dağılım katsayısı olarak verilir ve kantitatif yapı-dağılım ilişkilerinde bu değer "log P" olarak ifade edilir [24].

$$\log P = n_{\text{oktanol}}/n_{\text{su}}$$

2.7 Stabilite

İşaretli proteine ait kalite kontrol çalışmaları yapıldıktan sonra optimum bağlanma veriminin elde edildiği şartlarda işaretleme çalışması yapılarak belirli sıcaklıkta, belirlenen zaman aralıklarında örnek alınarak, işaretli protein için bağlanma verimi değerleri hesaplanır. % bağlanma verimine karşılık zaman grafiği çizilerek işaretli proteinin stabil olduğu zaman belirlenir.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

3.1.1 Kullanılan Kimyasallar

WH (Whey protein), Na^{99m}Tc, Etanol (C₂H₅OH), Piridin, Asetik Asit, Sodyum Hidroksit (NaOH), Kalay Klorür (SnCl₂.2H₂O), pH=7 Tamponu, İnce Tabaka Kromatografi kağıdı ITLC-Selüloz (Merck), Metanol (Merck), n-oktanol (Merck), n-bütanol (Merck), Asetonitril (Sigma), Trifluoro asetik asit (Sigma).

3.1.2 Kullanılan Cihazlar

TLRC scanner (Bioscan AR2000, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü), HPLC sistemi (Shimadzu, LC-10Atpv quaterner pompalı, SPD-10AV UV dedektörlü, FRC-10A fraksiyonlama kollektörlü) (E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü), doz kalibratörü (Biodex AtomLab 100 Plus, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü), RAD-501 Cd(Te) tek kanallı gamma sayım sistemi (RAD-501, E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü), Vorteks cihazı (Ika, E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü), hassas terazi (Ohaus, Pioneer PA214C), Kağıt elektroforezi cihazı (Thermo), Cyclone plus fosfor görüntüleme sistemi, Bench-Top Centrifuge (Nüve) Type= NF 800R, Denver Instrument (TB-224A) (Hassas Terazi), Biodex Medical Systems (Atomlab 100 Dose Calibratör) Type(086-251), Nüve Sanayi Malzemeleri İmalat ve Ticaret A.Ş Water Bath (NB5).

3.2 Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

3.2.1 Kalay Klorür Çözeltisi

1,0 mg SnCl₂.2H₂O tartıldıktan sonra hacmi suyla 1,0 mL'ye tamamlanmıştır. Böylece 1,0 mg/mL SnCl₂ çözeltisi hazırlanmıştır.

3.2.2 Whey Protein'in Çözeltisi

1,0 mg WH, 1 mL saf suda çözülerek stok çözeltisi hazırlanmıştır. Böylece 1,0 mg/mL WH çözeltisi hazırlanmıştır.

3.3 İşaretleme Çalışmaları

3.3.1 Whey Protein (WH)'in ^{99m}Tc ile İşaretleme Çalışması

WH'nin ^{99m}Tc ile işaretlenmesi çalışmasında farklı banyo sistemleri denenmiştir. Ayrıca kalay klorür miktarı ve pH optimizasyonu yapılarak gerçekleştirilen radyoişaretleme çalışmalarının kalite kontrolü yüksek performanslı sıvı radyokromatografisi (HPLRC), kağıt elektroforezi ve ince tabaka radyokromatografisi (TLRC) yönetimleri ile yapılmıştır. WH'nin radyoişaretleme optimizasyonu koşulları Tablo 3.1'de verilmiştir.

3.3.2 $^{99m}\text{Tc}^{+7}$, nin $^{99m}\text{Tc}^{+4}$,e İndirgenmesinde SnCl_2 Miktarının İncelenmesi

$^{99m}\text{Tc}^{+7}$, nin $^{99m}\text{Tc}^{+4}$,e indirgenmesinde kullanılan SnCl_2 miktarını belirlemek için; ependorf içerisinde farklı miktarlarda (100 μg , 200 μg ve 250 μg) SnCl_2 tartılarak, üzerlerine 1,0 mCi $^{99m}\text{Tc}^{+7}$ eklenmiştir. Daha sonra 30 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılarak kağıt elektroforezi yönetimi ile % indirgenmiş ($^{99m}\text{Tc}^{+4}$) belirlenmiştir.

3.3.3 WH 'nin ^{99m}Tc ile İşaretleme Çalışmasında pH Etkisinin İncelenmesi

Ependorf içerisine optimum miktar olan 100 μg SnCl_2 , 250 μg WH ve 1,0 mCi ^{99m}Tc ilave edildikten sonra işaretleme pH'ları sırasıyla 5, 7 ve 12'ye 1,0 M NaOH ile ayarlanarak işaretli bileşiğe ait bağlanma verimi kağıt elektroforezi yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.1. WH'nin işaretleme çalışmalarına ait koşullar

İşaretleme Çalışması	WH miktarı (µg)	SnCl₂ (µg)	^{99m}Tc (mCi)	İnkübasyon süresi (dak)	Ortam sıcaklığı (°C)	İşaretleme pH
Çalışma 1	100 (çözücüsü:su)	100	1	30	25 °C	5
Çalışma 2	100 (çözücüsü:su)	100	1	30	25 °C	7
Çalışma 3	100 (çözücüsü:su)	100	1	30	25 °C	12
Çalışma 4	250 (çözücüsü:su)	200	1	30	25 °C	7
Çalışma 5	250 (çözücüsü:su)	200	0.5	30	25 °C	7
Çalışma 6	250 (çözücüsü:su)	100	1	30	25 °C	5
Çalışma 7	250 (çözücüsü:su)	100	1	30	25 °C	7
Çalışma 8	250 (çözücüsü:su)	100	1	30	25 °C	12

Tablo 3.1’de WH’nin işaretleme optimizasyon çalışmalarına ait deney protokolleri verilmiştir. İşaretleme çalışmalarında ependorf içerisinde önce $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ eklenir ve belirlenen protein miktarı stok çözülden mikropipet yardımıyla çekilerek ilave edilir. Daha sonra belirlenen aktiviteye ait $^{99\text{m}}\text{Tc}$ miktarı ilave edilerek tepkime istenen sıcaklıkta belirlenen sürede inkübasyona bırakılır. pH ayarlamalarında ise işaretleme yapıldıktan sonra pH kağıdı ile son çözeltinin pH’ına bakılır ve ayarlanmak istenen pH, asit ya da baz eklenerek istenilen pH aralığına ayarlanır. Çalışmamızda pH’ın bazik olması için 1,0 M NaOH çözeltisi kullanılmıştır.

3.4 Radyoaktif İşaretleli Bileşiklerin Kalite Kontrolünde Kullanılan Yöntemler

3.4.1 İnce Tabaka Radyokromatografi (TLRC) Yöntemi

TLRC çalışmalarında 1.2×10 cm’lik kesilmiş silika kaplı TLRC tabakalar (Merck 5552) kullanılmıştır. Tabakaların tabanından 1 cm yukarısına işaretleli örnekten alınan çözeltiler kapiler yardımıyla damlatılıp ve örnekler tabaka üzerinde kuruduktan sonra ağzı kapalı olan TLRC tanklarına uygulama noktası değmeyecek şekilde konulmuştur.



Şekil 3.1. Örnek damlatma ve kromatografi yürütme işlemi

Çözgen tabaka üzerinde tepe noktasının yaklaşık 1-2 cm aşağısına kadar yürüdüktan sonra TLRC tabaka tank içerisinde çıkarılıp oda sıcaklığında kurutulmuştur. Daha sonra Cyclone Plus Fosfor görüntüleme sistemi kullanılarak

$^{99m}\text{Tc-WH}$, $^{99m}\text{Tc}^{+7}$ ve ind. ^{99m}Tc ($^{99m}\text{Tc}^{+4}$)'ye ait radyokromatogramlar elde edilmiştir.

Radyoaktif maddenin taşındığı mesafe çözücünün ilerlediği mesafeye bölünerek R_f değerleri, Aktivite (DLU)-kat edilen mesafe değerleri grafiğe geçirilerek de TLRC kromatogramları elde edilir. Ayrıca, işaretli örneklerin bağlanma verimleri pik alanının sayımı toplam sayıya bölünerek hesaplanır.



Şekil 3.2. Cyclone Plus Fosfor görüntüleme sistemi [21]

3.4.2 Kağıt Elektrofrez Yöntemi

Kağıt elektrofrez araştırılarda kullanılabilir. Destek ortamı olarak kaliteli filtre kağıdı kullanılır. Metodun avantajı, ucuz olması ve yüksek gerilime dayanabilmesidir. Ancak deney süresi uzun olduğundan rutinde pek kullanılmaz. Özellikle aminoasitlerin ayrımında kullanılır.

Bu çalışmada kağıtlar 30 cm olacak şekilde kesildikten sonra tam orta noktaları işaretleyip 1 cm aralığında ayarlanır. Elektrofrez cihazına yerleştirildikten sonra üzerine elektriksel geçişi sağlamak için SF eklenir. Kağıtlar SF çözeltisine daldırdıktan sonra damlatma işlemi gerçekleştirilir. ^{99m}Tc ile işaretli WH'den 4,0 μL , indirgenmiş ^{99m}Tc için 2,0 μL , saf ^{99m}Tc için 1,0 μL çekilerek kağıtların tam orta

noktasına damlatılmıştır. Damlatma işleminde kağıtların uç kısımlarını mıknatıslar ile tutturduktan sonra cihaza yerleştirilmiştir. Son olarak 300 V'a ayarlanarak 2 saat süre ile beklenmiştir. Bu sürenin sonunda çıkarılan kağıtlar kurumaya bırakılarak, damlatma noktalarından kesildikten sonra bioscan cihazında sayılmıştır.

3.5 Lipofilite Çalışmaları

Lipofilite, bileşiğin lipid faza ilgisidir ve bileşiğin *in vivo* lipid biyolojik membranları geçme kabiliyetini gösterir. Biri su diğeri organik olmak üzere (birbiri içinde çözünmez) iki sıvı arasında test edilen bileşiğin dağılım katsayısı olarak ölçülür. Standart organik faz olarak n-oktanol tercih edilir. $n_{oktanol}/n_{su}$ oranı P dağılım katsayısı olarak verilir ve kantitatif yapı-dağılım ilişkilerinde bu değer "log P" olarak ifade edilir. $\log P = n_{oktanol}/n_{su}$

Lipofilite, proteinin biyolojik sistemde dağılımını tahmin etmekte kullanılan çok yararlı bir parametredir. Bu çalışmada ^{99m}Tc -WH bileşiğine ait lipofilite değerleri tayin edilmiştir. Bunun için işaretli bileşiğin 100 μL 'si, içerisinde 300 μL n-oktanol ve 300 μL pH=7 tampon çözeltileri bulunan karışıma ilave edilir ve karışım 15 dk oda sıcaklığında vorteksledikten sonra, 2500 rpm de 30 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında alt faz (su) ve üst faz (oktanol) ayrılarak aktiviteleri Cd(Te) dedektörlü RAD501 tek kanallı sayım sisteminde sayılır ve $n_{oktanol}/n_{su}$ oranı ile log P değerleri hesaplanır. Aynı işlemler dörder kez tekrarlanarak standart sapma değeri belirlenir.

3.6 Stabilite Çalışmaları

^{99m}Tc -WH'ye ait kalite kontrol çalışmaları yapıldıktan sonra optimum bağlanma veriminin elde edildiği şartlarda işaretleme çalışması yapılarak 25°C'de 0, 30, 60, 90, 120 ve 240. dakikalarda örnekler alınmış ve ^{99m}Tc -WH için bağlanma verimi değerleri hesaplanmıştır. % Bağlanma Verimi- zaman grafiği çizilerek proteinin stabil olduğu zaman belirlenmiştir.

3.7 Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Biyodağılım Çalışmaları

İşaretlenen molekülün canlılar üzerindeki biyodağılımını incelemek için 18 haftalık, 150-200 g ağırlığında dişi Albino Wistar cinsi sıçanlar üzerinde biyodağılım çalışmaları yapılmıştır. ^{99m}Tc -WH'ye ait kalite kontrol ve stabilite

çalışmalarına ait veriler elde edildikten sonra işaretli protein sıçanlara kuyruktan enjekte edilmiştir. Sıçanlar belirlenen zaman periyodu sonunda (30, 60 ve 90 dakikalarda) yoğun eter ortamında sakrifiye edilerek çıkarılan organlar, önceden daraları alınan küçük kaplar içine konulmuştur. Önce her bir organa ait tartım değeri, daha sonra aktivite değerleri Cd (Te) dedektörü ile iki kez sayılmış ve her bir organ için gram başına düşen % doz değerleri (% ID/g) hesaplanmıştır. Her bir zaman noktası için 3'er adet hayvan kullanılmıştır. Elde edilen biyodağılım verileri kullanılarak Excel programında zamana karşı biyodağılım grafikleri çizilmiştir.

3.8 Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Sintigrafi Çalışmaları

Sıçanların tedirginliklerinin giderilmesi ve acı hissetmemeleri amacıyla enjeksiyon öncesi her bir sıçana ketamine+ksilazin (75-100 mg/kg+5-10 g/kg) anestezi intraperitoneal (IP) olarak uygulanmıştır. ^{99m}Tc-WH bileşiğinden 37 MBq/0.1 mL/250 µg (1 mCi/0.1 mL) (radyonüklitin yarı ömrüne göre hesaplanan en uygun miktarı) Wistar Albino sıçanın kuyruk veninden intravenöz olarak gama kamera altında enjekte edilmiştir. Enjeksiyon yapıldığı anda gama kamera ile 5. dk, 15. dk, 30. dk, 120. dk ve 240. dk da statik görüntüler alınmıştır. Statik görüntüler ve bu görüntülerden elde edilen ROI değerleri sonuçlar kısmında verilmiştir. Görüntüleme çalışmalarında (statik görüntüler için) 256x256 matrix, 1 zoom ve düşük enerjili genel amaçlı kolimatör kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 ^{99m}Tc ile işaretli bileşiklerin kalite kontrol çalışmaları

4.1.1 $^{99m}\text{Tc}^{+7}$, nin $^{99m}\text{Tc}^{+4}$, e indirgenmesinde SnCl_2 miktarının incelenmesi

100 µg, 200 µg, 250 µg SnCl_2 miktarlarının hepsinin işaretleme çalışmalarında kullanılacak olan 1,0 mCi ^{99m}Tc 'in tamamını indirgemek için yeterli olduğu görülmüştür. Bu parametre belirlendikten sonra işaretleme çalışmalarında optimum miktar olan 100 µg SnCl_2 ile devam edilmiştir.

4.1.2 Whey'in ^{99m}Tc ile işaretleme çalışmasında pH etkisinin HPLRC ile incelenmesi

Bu çalışmada kullanılan HPLC analiz koşulları; sabit faz olarak C18 kolon (Gl sciences Inc.) hareketli faz olarak ACN/ H_2O (%0.1 TFA) (4:1), akış hızı: 0,5 mL/dak., dalga boyu: 275 nm, sıcaklık 26 °C şeklindedir.

pH optimizasyonu doğrultusunda, radyoışaretleme çalışmaları 3 farklı pH'ta (pH=5, 7 ve 12) gerçekleştirilmiştir. Farklı pH'larda radyoışaretlenen örneklerin HPLRC analizi sonuçları aşağıda verilmektedir.

pH=5'te radyoışaretlenen WH proteinine ait HPLRC kromatogramına göre ^{99m}Tc için alıkonma zamanı 4.127 dk, ^{99m}Tc -WH için ise 4.258 ve 5.449 dk şeklindedir. WH'nin pH=5'teki radyoışaretleme verimi % 44.53 olarak bulunmuştur.

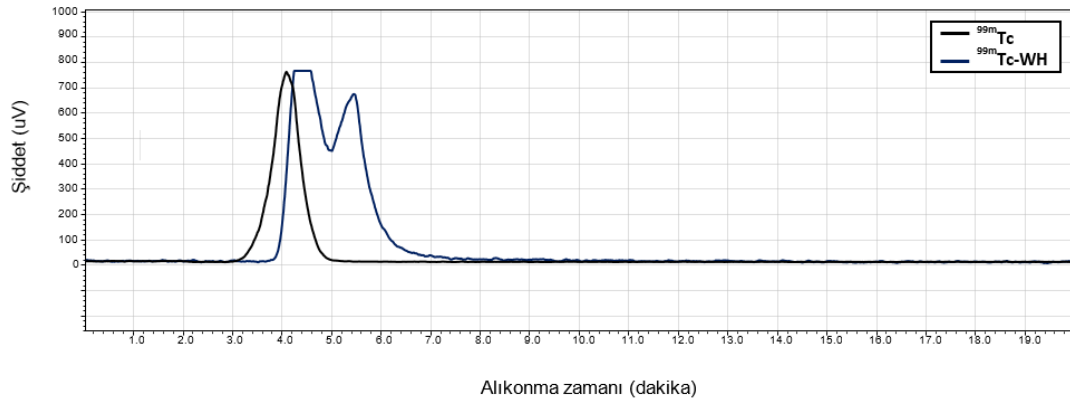


Şekil 4.1. ^{99m}Tc -WH (pH=5)'ye ait HPLRC kromatogramı.

Tablo 4.1. ^{99m}Tc -WH (pH=5)' ye ait radyoişaretleme verimi.

ID#	Name	Ret. Time	Conc.	Channel	Peak#	Area	Height	Mark	Peak Start	Peak End	Area%
1	RT4.258	4.258	0.00000	AD2 - Ch1	1	64201585	1335638		3.825	5.008	55.4638
2	RT5.449	5.449	0.00000	AD2 - Ch1	2	51552354	1157714		5.008	7.300	44.5362

pH=7'de radyoişaretlenen WH proteinine ait HPLRC kromatogramına göre ^{99m}Tc için alıkonma zamanı 4.127 dk, ^{99m}Tc -WH için ise 4.386 ve 5.436 dk şeklindedir. WH'nin pH=7' teki radyoişaretleme verimi %51.10 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.2. ^{99m}Tc -WH (pH=7)'ye ait HPLRC kromatogramı.

Tablo 4.2. ^{99m}Tc -WH (pH=7)'ye ait radyoişaretleme verimi.

ID#	Name	Ret. Time	Conc.	Channel	Peak#	Area	Height	Mark	Peak Start	Peak End	Area%
1	RT4.386	4.386	0.00000	AD2 - Ch1	1	47573683	1135644		3.775	4.950	48.8927
2	RT5.436	5.436	0.00000	AD2 - Ch1	2	49728451	1063744		4.975	6.592	51.1073

pH=12'de radyoişaretlenen WH proteinine ait HPLRC kromatogramına göre ^{99m}Tc için alıkonma zamanı 4.127, ^{99m}Tc -WH için ise 4.346 ve 5.738 şeklindedir. WH'nin pH=12'deki radyoişaretleme verimi % 94.21 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.3. ^{99m}Tc -WH (pH=12)'ye ait HPLRC kromatogramı.

Tablo 4.3. ^{99m}Tc -WH (pH=12)'ye ait radyoışaretleme verimi.

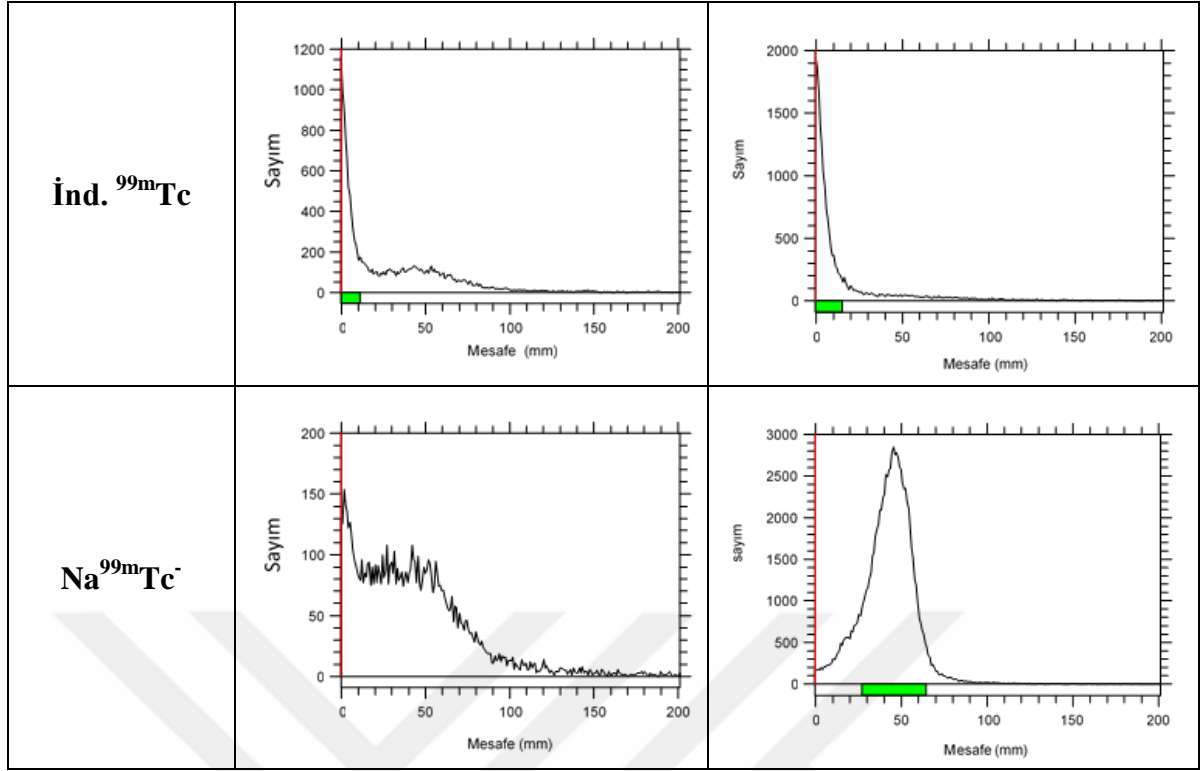
ID#	Name	Ret. Time	Conc.	Channel	Peak#	Area	Height	Mark	Peak Start	Peak End	Area%
1	RT4.346	4.346	0.00000	AD2 - Ch1	1	4598301	126304		3.758	4.800	5.7867
2	RT5.738	5.738	0.00000	AD2 - Ch1	2	74865567	606343		4.800	11.958	94.2133

pH optimizasyonuna ait yapılan bu çalışmalar neticesinde yapılan kalite kontrol, stabilite ve lipofilite çalışmalarında işaretleme pH'ı 12 yapılarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.3 Optimum koşullarda elde edilen kağıt elektroforez sonuçları

Tablo 4.4. ^{99m}Tc -WH, İnd. ^{99m}Tc ve $\text{Na}^{99m}\text{Tc}^-$ örnekleri için elektriksel yük tayini ve kağıt elektroforez kromatogramları.

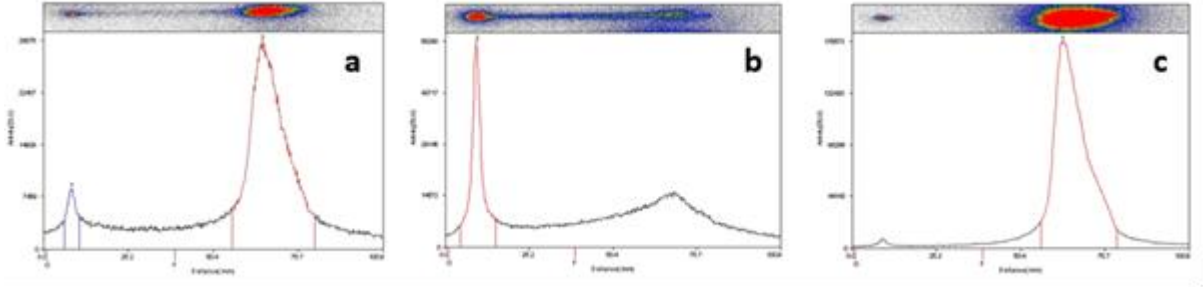
Elektroforez Kromatogram	Elektriksel yük	
	Pozitif (+)	Negatif (-)
Örnek		
^{99m}Tc -WH		



Tablo 4.5. ^{99m}Tc -WH, İnd. ^{99m}Tc ve $\text{Na}^{99m}\text{Tc}^-$ örneklerine ait kağıt elektroforez R_f değerleri.

Elektroforez R_f	Elektriksel yük	
	Pozitif (+)	Negatif (-)
Örnek		
^{99m}Tc -WH	X	0.17
İnd. ^{99m}Tc	0.02	0.02
Na^{99m}Tc	X	0.30

Tablo 4.4 ve 4.5 incelendiğinde $\text{Na}^{99m}\text{Tc}^-$ 'nin elektriksel yükü negatif iken indirgeniğinde yüksüz olduğu görülmektedir. Ayrıca işaretleme sonrası nötr olan ind. ^{99m}Tc 'nin tekrar negatif yüklendiği ve $\text{Na}^{99m}\text{Tc}^-$ 'ye göre R_f 'in başlangıç noktasına daha yakın çıkarak bir ayırım sağlandığı görülmüştür.



Şekil 4.4. ^{99m}Tc -WH (a), İnd. ^{99m}Tc (b) ve Na^{99m}Tc (c) örneklerinin PAS (piridin/asetik asit/su) (3:5:1,5) banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı

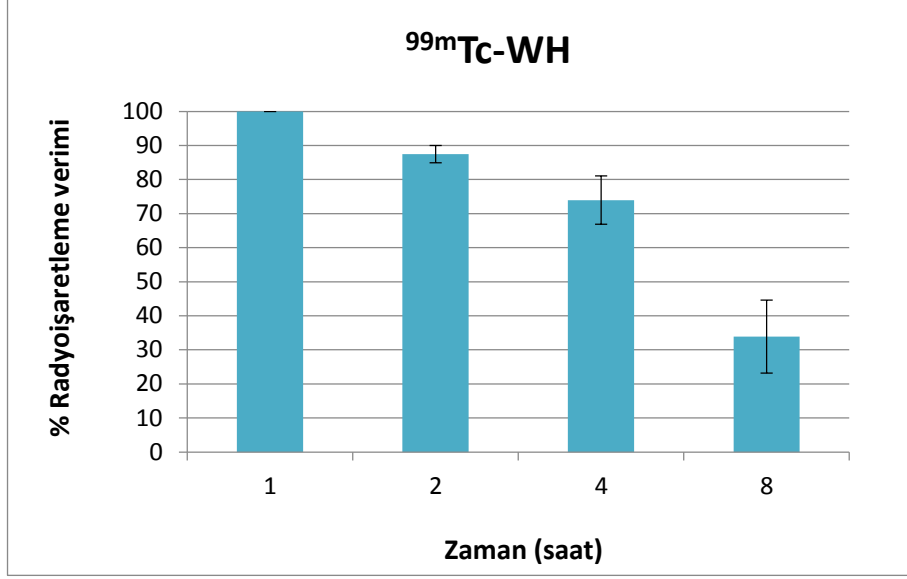
Tablo 4.6. ^{99m}Tc -WH'in PAS banyosu kullanılarak elde edilen R_f ve verim değerleri

Örnek	R_f	Verim
^{99m}Tc -WH	0.794	95.4
İnd. ^{99m}Tc	0.111	100
^{99m}Tc	0.788	100

Şekil 4.4 ve Tablo 4.6 incelendiğinde ^{99m}Tc -WH'in PAS banyosu kullanılarak elde edilen sonuçları elektroforez sonuçları ile paralellik göstermektedir. ^{99m}Tc R_f değeri 0.788, İnd. ^{99m}Tc 'in 0.111 ve ^{99m}Tc -WH değeri ise 0.794 olarak bulunmuştur. ^{99m}Tc -WH için radyoışartleme verimi $\%95.4 \pm 2$ (n:10) olarak tespit edilmiştir.

4.2. Stabilite Çalışması Sonuçları

Stabilite çalışması, optimum radyoışartleme olan $\text{pH}=12$ 'de ve elektroforez cihazı (Thermo) ile yapılmıştır. ^{99m}Tc -WH'nin stabilitesini incelemek için, radyoışartleme verimi, 1. 2. 4. ve 8. saatlerde hesaplanarak stabilite grafiği çizilmiştir. Elektroforez koşulları, whatmann selüloz şeritler, serum fizyolojik mobil fazı, 300V'de 1 saat şeklinde şeklindedir.



Şekil 4.5. $^{99m}\text{Tc-WH}$ ye ait stabilite grafiği.

Şekil 4.5 incelendiğinde $^{99m}\text{Tc-WH}$ ' nin %100 olan radyoışaretleme verimini ilk 1 saat içinde koruduğu görülmüştür. Bu değer 2. saatte %85'e, 4. saatte ise %75'e düşmüştür. 8. saatin sonunda ise stabilitesini kaybederek radyoışaretleme verimi %35'e kadar düşmüştür.

4.3 Lipofilite Çalışması Sonuçları

0,3 mL n-oktanol ve 0,3 mL PBS tamponu karıştırıldıktan sonra 0,1 mL $^{99m}\text{Tc-WH}$ eklenerek 5 dak. vortekslenmiştir. Karışım 1 saat bekletildikten sonra ayrılan n-oktanol ve PBS fazları ayrı ependorflara alınarak Cd(Te) dedektöründe sayılmıştır. Sayımların ortalamaları alınarak Log P değeri hesaplanmıştır.

Tablo 4.7. $^{99m}\text{Tc-WH}$ ye ait lipofilite tablosu.

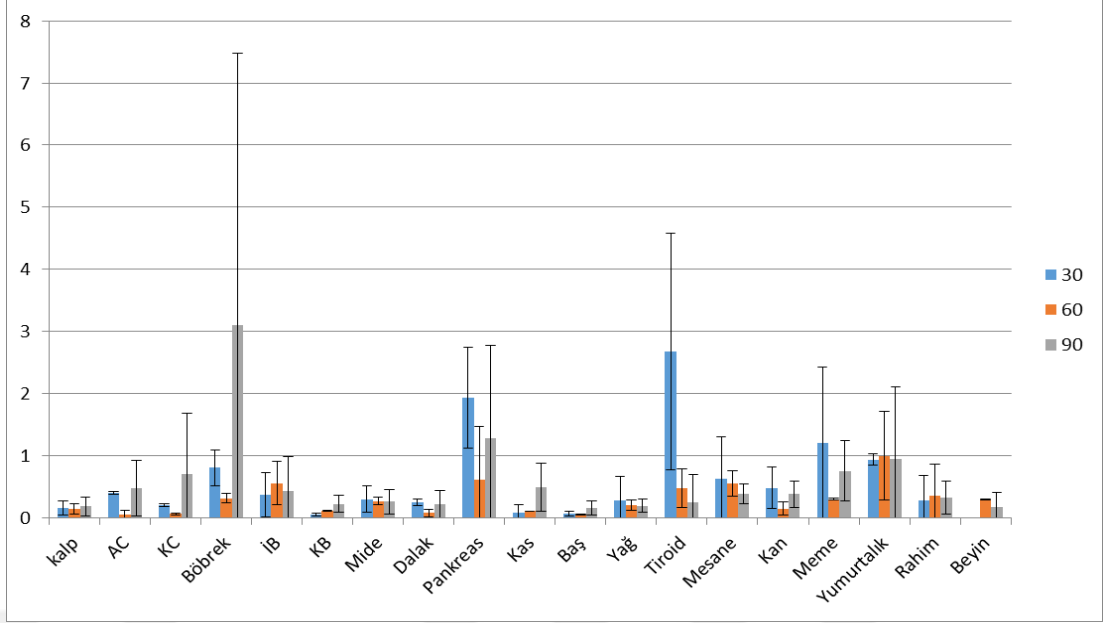
Log P (n=3)	
Deneysel	-0.13±0.02

4.4 Biyodağılım Çalışması Sonuçları

Tablo 4.8. Biyodağılım çalışmasında elde edilen % ID/g değerleri

	30 dak.	60 dak.	90 dak.
Kalp	0,159±0,110	0,140±0,084	0,183±0,153
AC	0,395±0,022	0,049±0,069	0,480±0,451
KC	0,201±0,018	0,059±0,016	0,700±0,983
Böbrek	0,805±0,286	0,316±0,079	3,095±4,378
İB	0,367±0,354	0,555±0,346	0,429±0,551
KB	0,049±0,020	0,113±0,007	0,225±0,132
Mide	0,299±0,211	0,270±0,066	0,259±0,200
Dalak	0,250±0,051	0,076±0,060	0,221±0,224
Pankreas	1,935±0,817	0,610±0,862	1,287±1,484
Kas	0,089±0,126	0,105±0,002	0,494±0,389
Baş	0,068±0,040	0,045±0,008	0,156±0,116
Yağ	0,275±0,388	0,205±0,079	0,190±0,105
Tiroid	2,680±1,901	0,478±0,315	0,256±0,443
Mesane	0,628±0,675	0,555±0,202	0,391±0,159
Kan	0,482±0,335	0,148±0,105	0,382±0,211
Meme	1,212±0,212	0,301±0,009	0,754±0,488
Yumurtalık	0,936±0,091	0,999±0,718	0,953±1,156
Rahim	0,285±0,402	0,359±0,508	0,327±0,262
Beyin	0	0,291±0,007	0,180±0,227

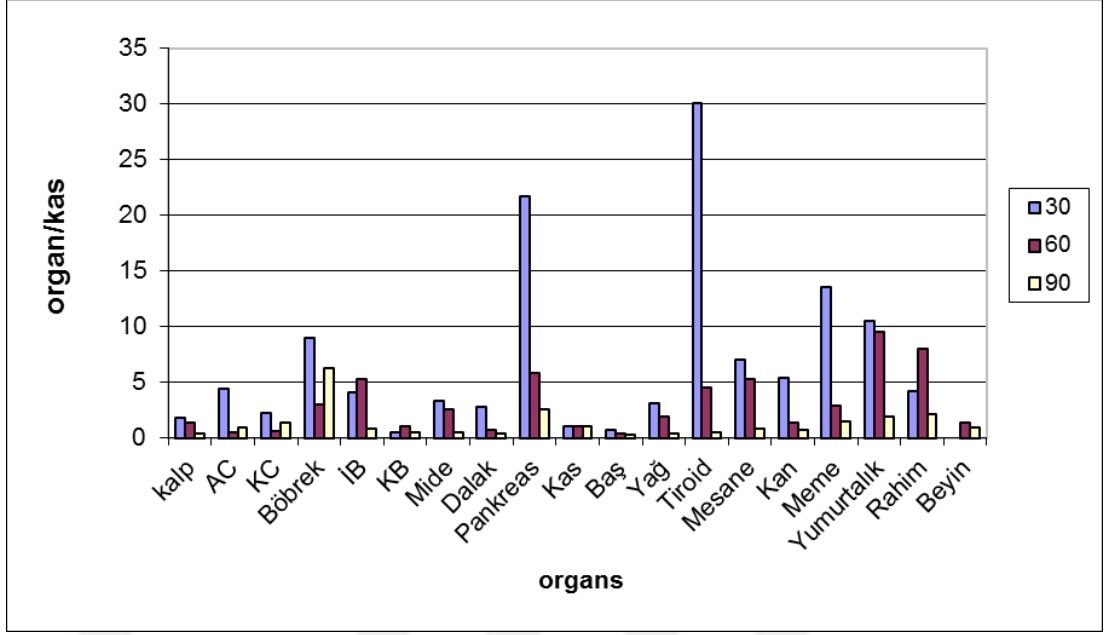
Albino Wistar sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen biyodağılım çalışmalarında sırasıyla kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, ince bağırsak, kalın bağırsak, mide, dalak, pankreas, kas, baş, yağ, tiroid, mesane, kan, meme, yumurtalık, rahim, beyin organlarına ait %ID/g değerleri 30, 60 ve 90. dakikalarda ölçülmüş ve bunlara ait sonuçlar Tablo 4.8’de ve Şekil 4.6’da verilmiştir. Tablo değerleri incelendiğinde tüm organlardaki en yüksek tutulumun 3,095±4,378 olarak böbrekte ve 90. dakikada olduğu görülmektedir. ^{99m}Tc-WH’nin diğer organlardaki tutulumlarına baktığımızda pankreas, meme ve yumurtalıktada kayde değer birikimlerin olduğu görülmektedir. Bu organlardaki 30. dakikaya ait %ID/g değerleri sırasıyla 1,935±0,817, 1,212±0,212 ve 0,936±0,091’dir.



Şekil 4.6. $^{99m}\text{Tc-WH}$ 'nin 30, 60 ve 90. dakikalarda organlardaki tutulumu.

Tablo 4.9 Biyodağılım çalışmasında elde edilen organ/kas verileri.

	30 dak.	60 dak.	90 dak.
Kalp	1,788	1,335	0,371
AC	4,430	0,465	0,971
KC	2,252	0,564	1,417
Böbrek	9,029	3,009	6,263
İB	4,110	5,294	0,867
KB	0,547	1,077	0,454
Mide	3,351	2,579	0,524
Dalak	2,807	0,729	0,447
Pankreas	21,670	5,812	2,604
Kas	1	1	1
Baş	0,758	0,426	0,315
Yağ	3,079	1,959	0,385
Tiroid	30,050	4,557	0,518
Mesane	7,043	5,291	0,791
Kan	5,399	1,415	0,773
Meme	13,585	2,867	1,525
Yumurtalık	10,490	9,520	1,929
Rahim	4,209	8,054	2,103
Beyin	0	1,415	0,948



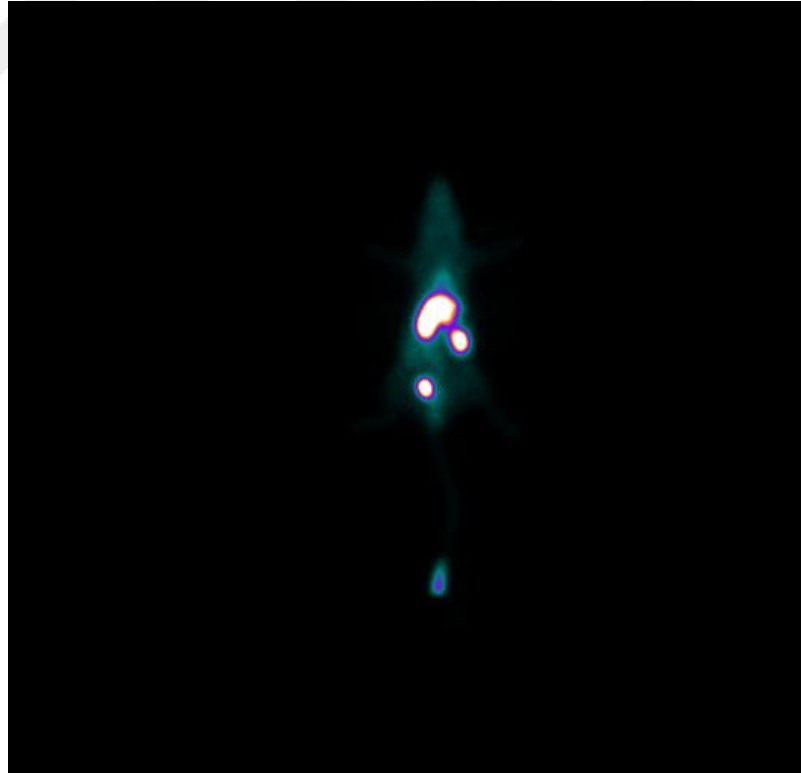
Şekil 4.7. $^{99m}\text{Tc-WH}$ 'nin 30, 60 ve 90. dakikalarda organ/kas değerleri.

Hedef/Hedef Olmayan Organ değerleri sırasıyla Tablo 4.9 ve Şekil 4.7'de verilmiştir. Tablo 4.9'da verilen değerler incelendiğinde 30. dakikadaki pankreas, meme ve yumurtalığa ait organ/kas değerleri sırasıyla 21,670, 13,585 ve 10,490 olarak tespit edilmiştir.

4.5 Sintigrafi Çalışması Sonuçları

Tablo 4.10 Sintigrafi çalışmasına ait ROI değerleri

	Tiroid	Kalp	SağAC	SolAC	Mide	KC	Yumurtalık		Böbrek		Uterus
							Sağ	Sol	Sağ	Sol	
30 dk	4.05	6.04	9.13	8.91	13.26	7.71	5.20	2.90	17.36	23.50	22.00
60 dk	3.14	8.38	6.72	6.05	20.00	5.27	5.50	3.60	23.60	26.00	27.42
90 dk	2.43	6.15	4.17	4.05	14.1	8.90	4.80	2.90	21.60	26.80	28.40
120 dk	2.90	6.60	5.30	4.50	2.30	8.50	4.50	3.00	22.70	27.60	28.00
150 dk	2.36	6.00	4.23	3.16	14.00	6.90	4.20	2.80	22.80	27.70	24.20
180 dk	3.20	7.60	4.00	3.90	20.70	9.60	6.00	4.00	29.60	38.40	31.60
210 dk	2.20	5.60	3.70	3.30	15.8	7.80	5.00	3.00	39.00	31.60	28.60



Şekil 4.8. ^{99m}Tc -WH'nin 30. dakikada elde edilen statik görüntü.

Sintigrafi çalışmalarına ait ROI (Ratio of Interest) değerleri Tablo 4.10'da, $^{99m}\text{Tc-WH}$ 'nin 30. dakikadaki statik görüntüsü ise Şekil 4.8'de verilmiştir. ROI değerleri troid, kalp, sağ akciğer (RA), sol akciğer (LA), Mide, karaciğer, sağ böbrek (R-böbrek), sol böbrek (L-böbrek), sağ yumurtalık (R-Over), sol yumurtalık (L-Over) ve uterus için verilmiştir. Bu değerler incelendiğinde en yüksek tutulumların 180. Dakikada sırasıyla böbrek, uterus ve mideğe ait olduğu görülmektedir. Bu oranın yüksek olması biyodağılım sonuçlarını desteklemesi açısından son derece önemlidir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada WH, ^{99m}Tc ile işaretlenmiş ve deney hayvanları üzerinde hangi organda ne kadar süre ile biriktiğinin belirlenmesi araştırılmıştır. Tüm yapılan çalışmalar sonucunda;

- Yapılan TLRC ve kağıt elektroforezi çalışmasına göre en uygun banyo sistemi SF olarak tespit edilmiştir.
- Optimizasyon çalışmaları sonucunda işaretlemede kullanılacak olan SnCl₂ ve WH miktarı sırasıyla 100 µg ve 250 µg olarak belirlenmiştir. Ayrıca en uygun pH 12 olarak tespit edilmiştir.
- Yapılan stabilite çalışmaları sonucunda WH'nin ^{99m}Tc ile %97± 2 bağlanma verimiyle işaretlendiği tespit edilmiştir.
- Biyodağılım sonuçlarına göre tiroid, pankreas, meme, yumurtalık ve böbreklerde yüksek oranda tutulum olduğu görülmüştür.
- Sintigrafi sonuçlarına göre en yüksek tutulumun 180. dakikada böbreklerde olduğu görülmüştür. Aynı zamanda abdominal bölgede yoğun bir aktivitenin olduğu tespit edilmiştir.

Tüm bu sonuçların ışığı altında literatürde ilk kez bu çalışmada ^{99m}Tc ile yüksek bir bağlanma verimi ile (>%95) işaretlenen WH'nin nükleer tıp alanında özellikle pankreas, meme ve yumurtalık için görüntüleme ajanı olarak kullanılabilme potansiyelinin olduğu söylenebilir.

WHEY proteinin sürekli alınmasına ve alınan doza bağlı olarak zaman içerisinde ilgili organlarda bir takım patolojilerin ortaya çıkması mümkündür. Bu durum ancak bu çalışmanın devamında deney hayvanları üzerinde yapılacak olan organlar için doz-zaman parametresinin incelenmesi neticesinde aydınlatılabilir. İleride bu yönde bir çalışmanın yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. <http://www.kanserhastanesi.com.tr/kanser-tedavisi/>, Erişim Tarihi:10.05.2018)
2. https://tr.wikipedia.org/wiki/Protein_tozu, Erişim Tarihi: 20.08.2017)
3. https://tr.wikipedia.org/wiki/Whey_protein, Erişim Tarihi: 20.08.2017)
4. <http://www.cardiospect.com/nukleer-tip-nedir.html>, Erişim Tarihi:10.05.2018)
5. Wadsak, W., Mitterhauser, M. Basics and principles of radiopharmaceuticals for PET/CT. *European Journal of Radiology*. 2010, 73, 461-9.
6. Papathanassiou, D., Bruna-Muraille, C., Liehn, JC., et al. Positron Emission Tomography in oncology: present and future of PET and PET/CT. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2009, 72, 239-54.
7. Serdons, K., Verbruggen, A., Bormans GM. Developing new molecular imaging probes for PET. *Methods*. 2009, 48, 104-11.
8. Li, Z., Conti PS. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2010, 62, 1031-51.
9. Ocak, M. PET Radyofarmasötikleri. *Toraks Cerrahisi Bülteni*, 2015, 6, 154-60.
10. De Castro, RJS., Domingues, MAF., Ohara, A., Okuro, PK., Dos Santos, JG., Brexó, RP., Sato, HH. Whey protein as a key component in food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications. *Food Structure*. 2017, 14, 17–29.
11. Nukumi, N., Iwamori, T., Kano, K., Naito, K., Tojo, H. Reduction of tumorigenesis and invasion of human breast cancer cells by whey acidic protein (WAP). *Cancer Letters*. 2007, 252, 65–74.
12. Haraguchi, FK., De Brito Magalhaes, CL., Neves, LX., Dos Santos, RC., Pedrosa, ML., Silva, ME. Whey protein modifies gene expression related to protein metabolism affecting muscle weight in resistance-exercised rats. *Nutrition*. 2014, 30, 876–881.
13. Kaschwich, M., Lützen, U., Zhao, Y., Tjong, A., Marx, M., Haenisch, S., Wiedow, O., Preuss, S., Culman, J., Zuhayra, M. Biodistribution and pharmacokinetics of the ^{99m}Tc labeled human elastase inhibitor, elafin, in rats. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2016, 31, 146-155.
14. Zhang, Y., Stevenson, GD., Barber, C., Furenlid, LR., Barrett, HH., Woolfenden, JM., Zhao, M., Liu, Z. Imaging of rat cerebral ischemia-reperfusion injury using ^{99m}Tc-labeled duramycin. *Nuclear Medicine and Biology*. 2013, 40, 80–88
15. Welch, MJ., ve Redvanly, CS. *Handbook of radiopharmaceuticals*, John Wiley & Sons, New York. 2003.
16. Sampson, CB., *Textbook of Radiopharmacy Theory and Practice*, Gordon and Breach Science Publishers, 1999, ISBN 90-5699-154-X.
17. Durak, FG., Kemik Sintigrafisi İçin Yeni ^{99m}Tc Bifosfonat Radyofarmasötiklerin Geliştirilmesi. Ege Üniversitesi, Radyofarmasi Anabilim Dalı, İzmir, 2005, (Yüksek Lisans Tezi).
18. Ercan, MT., Teknesyum-^{99m} radyofarmasötikleri. Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi, 1989, 9, 69-84
19. Koçan, F., ^{99m}Tc ile işaretli bleomycin ve bleomycin-glukuronid'in radyofarmasötik potansiyelinin incelenmesi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizikokimya Anabilim Dalı, Manisa, 2010, (Yüksek Lisans Tezi).

20. Durkan, K., Bombesin'e benzer peptidlerden Litorin'in Tc-99m ile işaretlenme yöntemlerinin araştırılması ve radyofarmasötik potansiyelinin incelenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı, İzmir, 2008, (Doktora Tezi)
21. Telefoncu, A., Salnikow, J., Zihnioğlu, F., Kılınç A. Biyokimyada Temel ve Modern Teknikler, 2000.
22. Yurt, F., Benzodiazepin (DIAZAPAM) ve Cyclopyrrole (ZOPGCLONE) Grubu Farmösetiklerin I-131 ile işaretlenmesi. E.Ü., Nükleer Bilimler Enstitüsü, İzmir, 1998, 22-29s, (Doktora Tezi).
23. Medine, EG., ¹²⁵I/¹³¹I işaretli Urasil'in Glukuronid Sentezi ve Manyetik Özellik Kazandırılarak Yeni Bir Manyetik İlaç Oluşturulması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2008, 222s, (Doktora Tezi)
24. Demiroğlu H., ¹³¹I ile İşaretli Bleomycin ve Bleomycin-glukuronid'in Radyofarmösetik Potansiyelinin İncelenmesi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizikokimya Anabilim Dalı, Manisa, 2009, (Yüksek Lisans Tezi).



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mert AKINLI

Doğum Yeri ve Yılı : Manisa, 1992

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : mertakinli@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Manisa Lisesi, 2010

Lisans : Celal Bayar Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2014

Yüksek Lisans : Celal Bayar Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2018

Mesleki Deneyim

Deneysel Fen Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEFAM), 2013-2014

Manisa-Yunusemre-Muradiye Atatürk Ayser- Kani Çelikel Ortaokulu,
Matematik Öğretmenliği 2015

Manisa-Şehzadeler-Avni Gemicioğlu Ortaokulu, Matematik Öğretmenliği, 2016

Manisa-Yunusemre-Ticaret Borsası Anadolu Lisesi, Kimya Öğretmenliği, 2017

Manisa-Yunusemre-MABEM, Kimya Öğretmenliği, 2018