



**LOKOREJYONEL KEMOTERAPİ AMAÇLI YENİ BİR DOKU İSKELESİ
GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gizem Fatma ERGÜNER

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sadık KAĞA**

BIYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Temmuz 2023

Bu tez çalışması 22.FEN.BİL.12 numaralı proje ile BAPK tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

LOKOREJYONEL KEMOTERAPİ AMAÇLI YENİ BİR DOKU
İSKELESİ GELİŞTİRİLMESİ

Gizem Fatma ERGÜNER

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Sadık KAĞA

BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Temmuz 2023

TEZ ONAY SAYFASI

Gizem Fatma ERGÜNER tarafından hazırlanan “Lokorejyonel Kemoterapi Amaçlı Yeni Bir Doku İskelesi Geliştirilmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 14 / 07 / 2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Sadık KAĞA

Başkan : Prof. Dr. Levent ÖZCAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Sadık KAĞA
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Mehmet Nuri KONYA
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
..... /..... /..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım
bu tez çalışmada;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

14/07/2023

Gizem Fatma ERGÜNER

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

LOKOREJYONEL KEMOTERAPİ AMAÇLI YENİ BİR DOKU İSKELESİ GELİŞTİRİLMESİ

Gizem Fatma ERGÜNER

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sadık KAĞA

Kanser, anormal gen mutasyonlu hücrelerin kontrolsüz çoğalmaları sonucu oluşan bir hastalık türüdür. Kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi gibi yöntemlere başvurulmaktadır. Cerrahi, katı tümörler için sık başvurulan yöntemlerden biridir. Cerrahi tedavi ile iyi huylu tümörlerde başarılı sonuçlar elde edilmesine rağmen kötü huylu tümörlerde, tedavi sonrası genellikle nüks oluşumu gözlemlenmektedir. Bu sebeple, nüks oluşumuna karşı tedavi sonrası adjuvan kemoterapötikler uygulanmaya devam etmektedir. Ancak, yüksek ilaç toksisiteleri, çoklu ilaç dirençleri ve uzun süreli tedavi rejimleri gibi birçok sınırlandırma, klinik onkoterapiyi başarısızlık ile sonuçlandırmaktadır. Bu sebeple klinikte hedefe yönelik yerel ilaç taşıma sistemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Akıllı ilaç sistemleri, biyomalzemelerin hedef dokuda kontrollü salım mekanizmalarının yönetilebilmesi açısından çeşitli avantajlar sunmaktadır. Tez kapsamında, nüksün engellenmesi amacıyla DOKS yüklü OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin etkinliği in-vitro testler ile belirlenmiştir. Sonuçlar, ilaç salım profilleri ile her iki doku iskelesinin de farklı yapıda kanser türleri için potansiyel bir implante edilebilir ilaç taşıma sistemi olabileceğini doğrulamıştır.

2023, xi + 103 sayfa

Anahtar Kelimeler: Biyobozunur polimer, Doku iskelesi, Tümör, Lokorejyonel kemoterapi.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DEVELOPMENT OF A NEW TISSUE SCAFFOLD FOR LOCOREGIONAL CHEMOTHERAPY

Student Gizem Fatma ERGÜNER

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biomedical Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Sadık KAĞA

Cancer is a type of disease that occurs as a result of uncontrolled proliferation of cells with abnormal gene mutations. In the treatment of cancer, methods such as chemotherapy, radiotherapy and surgery are used. Surgery is one of the most frequently used methods for solid tumors. Although successful results are obtained in benign tumors with surgical treatment, recurrence is usually observed in malignant tumors after treatment. For this reason, adjuvant chemotherapeutics continue to be applied after treatment against recurrence. However, many limitations such as high drug toxicities, multi-drug resistances, and long-term treatment regimens result in failure of clinical oncotherapy. For this reason, there is a need for targeted local drug delivery systems in the clinic. Smart drug systems offer several advantages in terms of managing the controlled release mechanisms of biomaterials in the target tissue. Within the scope of the thesis, the efficacy of DOX loaded OEGMEMA and PLGA/OEGMEMA scaffolds was determined by in-vitro tests in order to prevent recurrence. The results confirmed that both scaffolds with their drug release profiles could be a potential implantable drug delivery system for different types of cancer.

2023, xi + 103 pages

Keywords: Biodegradable polymer, Tissue scaffold, Tumor, Locoregional chemotherapy.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca, mesleki gelişimime katkı sağlayacak her türlü destek ve imkânı sunan, tüm bilgi birikimini benimle paylaşarak tavsiye ve eleştirileriyle bana rehberlik eden kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Sadık KAĞA'ya,

Çalışmam boyunca bana laboratuvarını açarak mesleki anlamda tüm bilgi birikimleri ile beni in-vitro hücre kültür çalışmalarını yürütebilecek yeterliliğe getiren, sabrı ve motivasyonu ile her konuda koşulsuz teşvik ve desteklerini her an yanımda hissettiğim kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Elif KAĞA'ya,

Beni dünyaya getiren ve fırtınanın şiddeti ne olursa olsun elimi hiç bırakmayan eşsiz aileme,

Bu yolculukta en büyük dostum Fatih KILINÇ'a,

Aynı evi paylaştığım ve bu yolda bana aile olan kuzenim Şebnem Esra ERGÜNER'e,

Her anımda bana gururla bakan, sıcacık sözleriyle beni cesaretlendiren canım arkadaşım Ceyda ÇAKMAK'a,

Tezim boyunca enerjisi ve pozitifliği ile yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşım Didem KESGİN'e,

Tez çalışmamı, 22.FEN.BİL.12 numaralı proje kapsamında destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Teşekkür ederim.

Gizem Fatma ERGÜNER
Afyonkarahisar 2023

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
1.GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1 Kanser	3
2.2 Kanser Tedavisi	5
2.2.1 Kemoterapi	5
2.2.1.1 Kemoterapinin Sınırlamaları	7
2.2.2 Radyoterapi.....	8
2.2.3 Cerrahi Tedavi	10
2.2.3.1 Açık Cerrahi	10
2.2.3.2 Minimal İnvaziv Cerrahi	11
2.2.3.3 Kanserde Cerrahi Tedavi Riskleri	11
2.2.3.4 Neoadjuvan Tedavi	12
2.2.3.5 Adjuvan Tedavi	12
2.3 Kanserde Nüks	13
2.4 Kanserde Akıllı İlaç Sistemleri	14
2.5 Akıllı İlaç Sistemleri ile Kanseri Hedefleme	16
2.5.1 Sistemik Hedefleme.....	17

2.5.1.1 Pasif Hedefleme	17
2.5.1.2 Aktif Hedefleme	19
2.5.2 Lokal Hedefleme	20
2.6 Akıllı İlaç Sistemlerinde Doku İskeleleri	21
2.7 Nanofiber Tabanlı Doku İskeleleri	24
2.7.1 Nanofiber Sentez Yöntemleri	26
2.7.1.1 Çekme Yöntemi	26
2.7.1.2 Kalıp Sentez Yöntemi	26
2.7.1.3 Faz Ayrımı Yöntemi	27
2.7.1.4 Kendiliğinden Birleşme Yöntemi	27
2.7.1.5 Elektroeğirme Yöntemi	27
2.8 Hidrojel Tabanlı Doku İskeleleri	29
2.9 Tez Kapsamında Doku İskelelerinin Hazırlanmasında Kullanılan Yapılar	33
2.9.1 Oligoetilenglikol Metil Eter Metakrilat (OEGMEMA)	33
2.9.2 Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)	34
3. MATERYAL ve METOT	37
3.1 Kullanılan Kimyasal Malzemeler	37
3.2 Kullanılan Cihazlar	37
3.3 Doku İskelelerinin Sentezi	38
3.3.1 OEGMEMA Doku İskelesi Sentezi	39
3.3.2 PLGA/OEGMEMA Doku İskelesi Sentezi	39
3.3.3 DOKS Yüklü OEGMEMA Doku İskelesi Sentezi	40
3.3.4 DOKS Yüklü PLGA/OEGMEMA Doku İskelesi Sentezi	41
3.4 İn-Vitro Degradasyon Çalışmaları	42
3.4.1 pH: 4,0 Asetat Tampon Çözeltisinin Hazırlanması	42
3.4.2 pH: 5,5 Asetat Tampon Çözeltisinin Hazırlanması	43

3.4.3 Doku İskelelerinin Degradasyon Testi	43
3.5 Doku İskelelerinin Su Tutma Kapasitesi Testi	44
3.6 İlaç Salım Çalışmaları	45
3.6.1 DOKS'un Kalibrasyon Eğrisinin Elde Edilmesi	45
3.6.2 İlaç Salım Testi	46
3.7 SEM Görüntüsünün Elde Edilmesi	48
3.8 Hücre Kültür Çalışmaları	48
3.8.1 Hücre Ekilmesi	48
3.8.2 Hücre Proliferasyon Testi	49
3.8.3 DOKS Çözeltilerinin Hazırlanması	49
3.8.4 İlaç Uygulanması	50
3.8.5 Sitotoksite Testi	51
4. BULGULAR	52
4.1 İn-Vitro Degradasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	52
4.2 Su Tutma Kapasitesine Ait Bulgular	58
4.3 İlaç Salım Çalışmalarına Ait Bulgular	65
4.4 Doku İskelelerine Ait SEM Görüntüsü	71
4.5 Proliferasyon Testine Ait Bulgular	73
4.6 Sitotoksite Testine Ait Bulgular	73
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	76
6. KAYNAKLAR	84
ÖZGEÇMİŞ	103

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

g	Gram
Mg	Miligram
L	Litre
mL	Mililitre
μ L	Mikrolitre
M	Molar
μ M	Mikromolar
mm	Milimetre
mm^3	Milimetre Küp
nm	Nanometre
sa	Saat
dk	Dakika
mw	Moleküler Kütle
mBar	Milibar
U	Ünite
°C	Santigrat Derece
N	Azot
CO ₂	Karbondioksit

Kısaltmalar

5-FU	5-Fluorourasil
AIBN	Azobis-izobütironitril
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
DOKS	Dokсорubisin HCl
EMA	Avrupa ilaç ajansı
EPR	Arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma
FBS	Fetal bovine serum
FDA	Gıda ve ilaç dairesi
HCl	Hidroklorik asit
IPN	İç içe geçmiş ağ
MÖ	Milattan Önce
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NCI	Ulusal kanser enstitüsü
OEG	Oligo(etilen glikol)
OEGMEMA	Oligo(etilen glikol) metil eter metakrilat
PBS	Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PCL	Polikaprolakton
PDLA	Poli(laktik asit)
PEG	Poli(etilen glikol)
PEG-PLGA	Poli(etilen glikol) - blok- poli (laktik- ko- glikolik asit)
pH	Potansiyel hidrojen
PLGA	Poli(laktik-ko-glikolik asit)
PLLA	Poli(laktik asit)
RNA	Ribonükleik asit
UV-Vis	Ultraviyole ve görünür ışık

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 a) Normal hücre bölünmesi. b) Hasarlı hücre bölünmesi.	4
Şekil 2.2 Sistemik ve lokal hedefleme mekanizmasının şematik gösterimi.....	17
Şekil 2.3 EPR etki ile pasif hedefleme mekanizması.	19
Şekil 2.4 Aktif hedefleme mekanizması.....	20
Şekil 2.5 Doku iskelelerinden ilaç salım mekanizmasının şematik gösterimi.	24
Şekil 2.6 IPN'lerden hidrojel oluşum mekanizması.....	31
Şekil 2.7 OEGMEMA'nın kimyasal yapısı.....	33
Şekil 2.8 POEGMEMA'nın kimyasal yapısı.	34
Şekil 2.9 PLGA'nın kimyasal yapısı.....	35
Şekil 2. 10 Doksorubisinin kimyasal yapısı.	36
Şekil 3.1 PLGA/OEGMEMA doku iskelesi sentez yöntemi.	40
Şekil 3.2 DOKS Yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelesi sentez yöntemi.	42
Şekil 4.1 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları.	52
Şekil 4.2 OEGMEMA doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları.	53
Şekil 4.3 Doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları (pH: 4,0).	54
Şekil 4.4 Doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları (pH: 5,5).	54
Şekil 4.5 Doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları (pH: 7,4).	55
Şekil 4.6 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları.	58
Şekil 4.7 OEGMEMA doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları.	59
Şekil 4.8 Doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları (pH: 4,0).	60
Şekil 4.9 Doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları (pH: 5,5).	61
Şekil 4.10 Doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları (pH: 7,4).	61
Şekil 4.11 DOKS ilacına ait kalibrasyon eğrisi.....	65
Şekil 4.12 PLGA/OEGMEMA doku iskelesi salım testi sonuçları.	66
Şekil 4.13 OEGMEMA doku iskelesi salım testi sonuçları.	66
Şekil 4.14 Doku iskelelerinden zamana bağlı salınan DOKS oranı (pH: 4,0).	68
Şekil 4.15 Doku iskelelerinden zamana bağlı salınan DOKS oranı (pH: 5,5).	68
Şekil 4.16 Doku iskelelerinden zamana bağlı salınan DOKS oranı (pH: 7,4).	69
Şekil 4.17 PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri hücre proliferasyonu.	73

Şekil 4.18 Serbest DOKS ve DOKS yüklü doku iskelelerinin HT-29 hücrelerine karşı sitotoksisite sonuçları.....	74
Şekil 4.19 Serbest DOKS ve DOKS yüklü doku iskelelerinin MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksisite sonuçları.....	75



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1 Tez çalışmasında kullanılan kimyasal malzemeler ve kimyasal malzemelerin markaları.	37
Çizelge 3.2 Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve cihazların markaları.....	38
Çizelge 3.3 DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelelerinin ilaç salım testi örneklerine ait içerdikleri DOKS miktarları.....	47
Çizelge 3.4 DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin ilaç salım testi örneklerine ait içerdikleri DOKS miktarları.....	48
Çizelge 3.5 HT-29 ve MCF-7 hücrelerine uygulanan ilaç formülasyonlarına ait bilgiler.	50

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 3.1 Sentezlenen OEGMEMA doku iskelesi.....	39
Resim 3.2 Sentezlenen PLGA/OEGMEMA doku iskelesi.	40
Resim 3.3 Sentezlenen DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelesi.	41
Resim 3.4 Sentezlenen DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelesi.	42
Resim 3.5 Degradasyon testi örnek grupları.	44
Resim 3.6 Su tutma kapasitesi test düzeneği.	45
Resim 3.7 Salım testinde kullanılan ilaç yüklü doku iskelelerine ait örnek grupları.....	46
Resim 3.8 İlaç salım çalışması örneklerinin inkübasyonu.	47
Resim 3.9 Sitotoksikite testinde kullanılan ilaç yüklü doku iskelesi örnekleri.	51
Resim 4.1 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı degradasyonu.	56
Resim 4.2 OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı degradasyonu.....	57
Resim 4.3 OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı su tutma kapasitesi.	63
Resim 4.4 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı su tutma kapasitesi.	64
Resim 4.5 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı DOKS salımı.....	70
Resim 4.6 OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı DOKS salımı.	71
Resim 4.7 OEGMEMA doku iskelelerine ait SEM görüntüsü.	72
Resim 4.8 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine ait SEM görüntüsü.....	72

1.GİRİŞ

Kanser, hücre döngüsünün kontrollü yönetilememesi sonucu hasar görmüş hücrelerin kontrolsüz çoğalması durumunda tanımlanan bir hastalık türüdür (Collins vd. 1997). Kanser hücreleri çoğalırken çoğu zaman yalnızca tek bir bölge ile sınırlı kalmaz. Dolaşım sistemi ve kan yoluyla, çevre ve uzak dokulara ilerleyerek yayılım göstermektedir (Simpson vd. 2008). Kanser hücrelerinin başlangıç bölgesinden uzaklaşarak farklı doku ve organlara yayılım göstermesi, “metastaz (nüks)” olarak tanımlanmaktadır. Kanser metastazı ise kanser hastalarını ölüme sürükleyen birinci ana sebeptir (Harouaka vd. 2013). Bu sebeple kanser teşhis ve tedavi aşamaları oldukça önemlidir.

Kanser, kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi tedavi gibi geleneksel yöntemler ile tedavi edilmektedir (Nounou vd. 2015). Ancak mevcut tedavilere rağmen dünyada her yıl kanser sebebiyle ölenlerin sayısı giderek artmaktadır (Balaji vd. 2015). Amerika Kanser Derneği istatistiklerine göre, 2023 yılında 1 958 310 yeni kanser vakası ve bu vakaların yaklaşık üçte birinin ölüm ile sonuçlanacağı öngörülmektedir (Siegel vd. 2018).

Cerrahi tedavi, mevcut tedavi stratejileri arasında en yaygın kullanılan tedavi yaklaşımıdır. Bu strateji ile tümörün çıkarılarak ortamdan tamamen uzaklaştırılması amaçlanır. Ancak cerrahi tedavi ile tümörü ortamdan tamamen uzaklaştırmak çoğu zaman mümkün değildir. Cerrahi tedavi sonrası ortamdan uzaklaştırılamamış kanser hücreleri, tekrarlama veya yayılım eğilimi göstermektedir. Cerrahi tedavi sonrası kanser hücrelerinin tekrarlama ile oluşabilecek nüks ihtimalini en aza indirmek için ise, radyoterapi ve kemoterapi gibi adjuvan tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat mevcut tedavi stratejilerindeki düşük etkinlik, kanser hücrelerinin baskılanmasında yeterli değildir (Qian vd. 2021).

Mevcut tedavi stratejilerinin önünde, tedavi etkinliğini sınırlandıracak birçok engel bulunmaktadır. Bu engellerin en büyüğü; geleneksel tedavi yöntemleri ile uygulanan kemoterapötik ajanların tümöre doğrudan yönlendirilememesidir (A Baudino 2015). Dolayısıyla düşük biyoyararlanıma sahip olmaları sebebiyle yüksek dozajlara ihtiyaç duyulmaktadır (Senapati vd. 2018). Ancak yüksek derecede toksisiteye sahip olan

kemoterapötik ajanlar, kanserli doku dışında diğer doku ve organlara da nüfuz ederek, organ yetmezliği, işlev bozukluğu ve arteriyel hipertansiyon gibi birçok yan etkiye sebep olmaktadır (Suter ve Ewer 2013). Aynı zamanda kemoterapötik ajanların düşük çözünürlüğü, kanda kalış sürelerinin kısa olması, çoklu ilaç direnci ve uzun vadeli tedavi süreçleri gerektirmeleri, geleneksel tedavi stratejilerinin önündeki büyük engeller olmaya devam etmektedir (Mattheolabakis vd. 2012, Copeland vd. 2006).

Akıllı ilaç sistemleri, mevcut tedavi stratejilerinin önündeki engellerin üstesinden gelebilmek için gerekli donanıma sahip özgülleştirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesini kapsamaktadır (Kalaydina vd. 2018). İlaçların doğrudan kanser hücrelerine yönlendirilmesini ve burada uyarılara bağlı kontrollü salımının gerçekleşmesini mümkün kılan bu sistemler, ilaç toksisitesini düşürebilir, ilaç çözünürlüğünü arttırabilir, ilaçların kararlılığını arttırarak onları koruyabilir, ilaç salım hızını ayarlayabilir ve böylece ilaçların terapötik etkinliklerini iyileştirebilirler. Aynı zamanda polimerik malzemelerden tasarım imkânı sunması ile vücutta biyolojik olarak parçalanmaları da mümkündür (Singh vd. 2014).

Cerrahi tedavi etkinliğini arttırmak amacıyla rezidüel kalıntıları ortamdaki uzaklaştırabilecek akıllı ilaç sistemlerinin geliştirilmesi bu alanda oldukça önem arz etmektedir (Bu vd. 2019). Bu anlamda, polimerik akıllı ilaç sistemleri, lokal olarak uzun süreli ilaç salımı gerçekleştirebilen, aynı zamanda yüksek biyouyumluluk ve biyoparçalanabilirlik özellikleri sayesinde implantasyonları sonrası ek müdahale gerektirmeyen terapötik seçeneklerdir (Avramović vd. 2020).

Bu tez çalışmasında, cerrahi tedavi sonrası oluşabilecek nüks oranını en aza indirmek amaçlı, lokorejyonel kemoterapi kapsamında, implante edilebilir doksorubisin (DOKS) yüklü polioliigoetilen glikol metil eter metakrilat/poli(laktik-ko-glikolik asit) (PEGMEMA/PLGA) polimerik doku iskeleleri geliştirilmiş ve in vitro sitotoksikite testleri gerçekleştirilmiştir.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

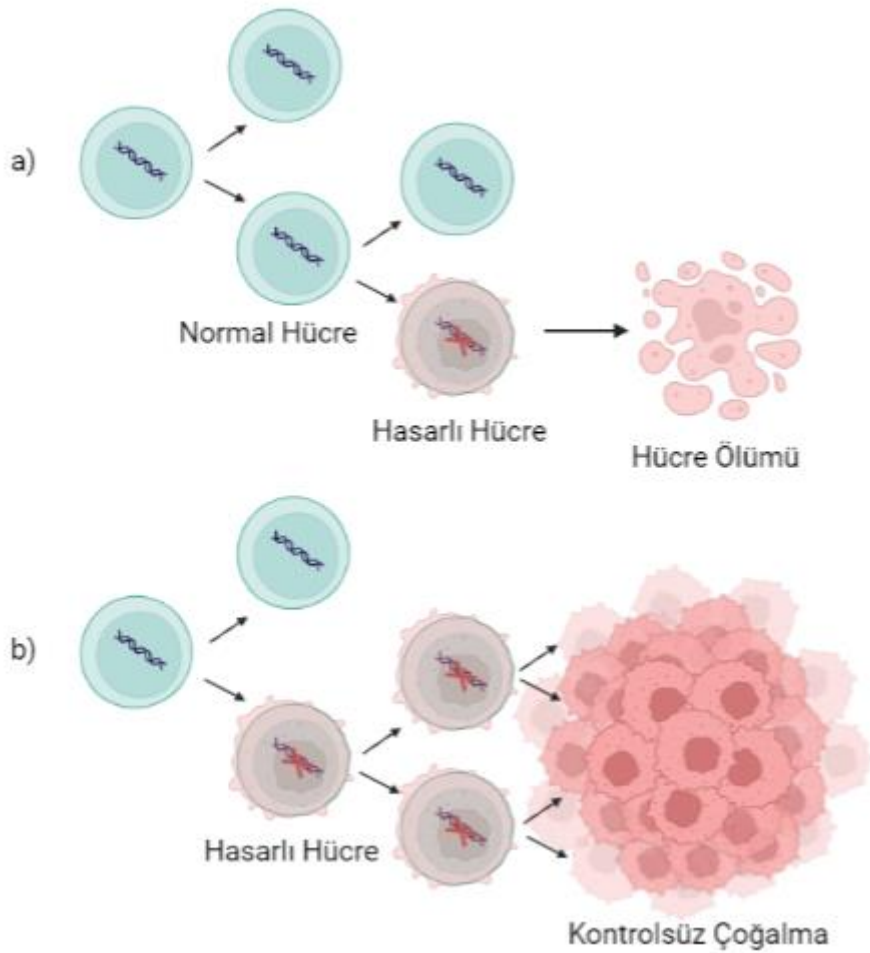
2.1 Kanser

Kansere dair ilk tanım bir meme kanseri vakası ile ortaya çıkmıştır. Kanserin tıptaki en eski tanımı, MÖ 3000 yılına dayanmakta ve Edwin Smith Papirüs'ünde kayda geçtiği bilinmektedir (Hajdu 2011). Aynı yıllarda Ebers Papirüs'ünde rektum, deri, mide, rahim, yutak, tiroid ve polipler gibi tümörlere de yer verildiği görülmektedir (Hajdu 2004). Mısırlılar kansere sebep olan durumları farklı şekillerde yorumlayarak merhem ve macun gibi tedavi araçları kullanmışlardır. Hatta Persler, Çinliler, İbraniler, Sümerler ve Hintliler, haşlanmış lahana ve çay gibi bitkisel yöntemlerin yanı sıra kükürt, civa ve bakır gibi kimyasalları içeren çözeltilerin dahi tedavide uygulanabileceği yaklaşımları savunmuşlardır (Hajdu 2011).

Milattan önce 460 ve 375 yılları arasında tıbbı, hurafelerden ayırarak bir bilim haline getiren Hipokrat, kanserin doğal sebeplerle ortaya çıktığını savunarak, kanseri özel bir hastalık sınıfında tanımlamıştır (Hajdu 2011, Zheng vd. 2010). Büyümekte olan tümörleri, pençeleriyle tutunmuş hareket halindeki bir yengece benzeterek Yunanca'da yengeç anlamı taşıyan “karsinos” ve “karsinoma” kelimeleri ile adlandırmıştır (David ve Zimmerman 2010, Reuben 2005). Aynı zamanda Hipokrat, “kanser” terimini ilk kullanan hekim olarak tarihe geçmiştir (Papavramidou vd. 2010).

Hızla ilerlemelerin ardından, kanser araştırmaları, kanserin hücrelerdeki genetik talimatların düzensizliğine dayanan bir hastalık olduğunu ortaya çıkarmıştır (Hanahan ve Weinberg 2000). Hücreler, vücudumuzda hücre döngüsü olarak adlandırılan mekanizma ile kontrol edilmektedir. Hücre döngüsü, hücre büyüme sinyalleri ve DNA kontrolleri gibi süreçleri yönetmektedir (Williams ve Stoeber 2012). Vücudumuzda gelişimin sürekliliği ve dokuların kendilerini yenileyebilmeleri için hücreler, bölünerek çoğalırlar. Bölünerek çoğalan hücreler, zamanla gelişirler ve büyürler (van der Kooy ve Weiss 2000). Bu süreçte artık bölünemeyecek boyutlara ulaşmış hücreler, DNA hasarı almış hücreler veya artık işlevine gereksinim duyulmayan hücreler, ölüme sürüklenirler (Surova ve Zhivotovsky 2013, Raff 1992). Hücre döngüsü esnasında bölünme, çoğalma ve hücre ölümleri, belirli bir düzen içerisinde

dengelenmektedir (O'Connor vd. 2000). Sağlıklı hücrelerde oldukça düzenli gerçekleşen bu süreç kanserli hücrelerde kontrolsüzdür. DNA hasarı almış hücreler kontrolsüz şekilde çoğalmaya devam etmektedir (Şekil 2.1). Kanserli hücrelerin genellikle, gelişimleri sırasında edinmiş oldukları ve kontrolsüz çoğalmalarını yöneten 6 temel yetenekleri vardır. Bunlardan ilki, kanser hücrelerindeki büyüme sinyallerinin özerkliği olarak tanımlanmaktadır. Kanser hücrelerinin büyüme sinyallerini engelleyici sinyallere karşı duyarsızlıkları, apoptozdan kurtulabilme yetenekleri, sınırsız kopyalanma yetenekleri, sürekli damar oluşumu ile tutunma ve gelişim yetenekleri, dokulara girme ve metastaz yetenekleri onların yaşamsal faaliyetlerini desteklemektedir (Hanahan ve Weinberg 2000).



Şekil 2.1 a) Normal hücre bölünmesi. b) Hasarlı hücre bölünmesi (İnt. Kyn. 1).

Kanserin hücre düzeyinde spesifik bir hastalık olması, teşhis ve tedavileri zorlaştırarak toplum sağlığını ciddi boyutlarda tehdit etmektedir. Kanser, 250'den fazla türüyle,

dünyada hastalık kaynaklı ölüm sebepleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Erkeklerde en yaygın kanser türleri sırasıyla prostat, akciğer, bronş, kolon, rektum ve mesane kanserleridir. Kadınlarda ise sırasıyla, meme, akciğer, bronş, kolon, rektum, korpus uteri ve tiroid kanserleri en yaygın görülen kanser türleridir (Hassanpour ve Dehghani 2017).

2.2 Kanser Tedavisi

2.2.1 Kemoterapi

Kemoterapi, sitotoksik ajanlar ile kanser hücrelerini öldürmeyi amaçlayan tedavi yöntemidir (McKnight 2003). Kemoterapinin temeli, antikanser ilaçların kanserli hücre döngülerindeki süreçleri hedeflemesi esasına dayanmaktadır. Antikanser ilaçların hücre döngüsü süreçlerindeki temel hedefi, hücrenin bölünme aşamalarıdır (Vail vd. 2019).

Tarihte kemoterapi ilk olarak 1940'lı yıllarda nitrojen hardalları ve folik asit antagonistlerinin kanser tedavisinde kullanılması ile başlamıştır (Chabner ve Roberts 2005). Bu kimyasalların kullanımı, klinik deneysel gözlemlere dayanarak, yaklaşık 10 yıl sürmüştür. Folik asit antagonistlerinin kullanımı o yıllarda akut lenfoblastik lösemili çocuklar için kısmen umut ışığı olmuştur. İlacın toksik etki yaratması akut lenfoblastik lösemi hastaları için dezavantaj olmasına rağmen, ölümcül olarak nitelendirilen bu hastalığın getirmiş olduğu semptomları, kemoterapi geçici olarak ortadan kaldırmıştır (Farber vd. 1948, Galmarini vd. 2012). 1955 yılında Ulusal Kanser Enstitüsü'nün (NCI) antikanser etkiye sahip ilaçlar için araştırma başlatması ile birçok antikanser ilaç, karakterize edilmiş ve böylece sağlık kuruluşlarında kanser kemoterapisinin kullanımına zemin hazırlanmıştır (Vail vd. 2019). Kanserde kemoterapötik ajanlar ile tedavinin ilk raporu ise bir folik asit antagonistinin koryokarsinoma tedavisi için kullanımının sonuçlarına dayanmaktadır. Bu rapor sonucu bir grupta ilaç antitümör özellik göstererek tümör volümünün küçülmesini sağlamıştır. Ancak tüm hasta gruplarında aynı özelliği göstermemesi, kanserin belirli

ilaçlara doğal duyarlılık gösterebileceği sonucunu ortaya koymuştur (Li vd. 1958, Galmarini vd. 2012).

1960'lı yıllarda kemoterapi kapsamında antikanser ilaçların öldürücü özelliği, kanser hücrelerine karşı avantaj olarak görülse bile sağlıklı hücrelerde gözlemlenen mevcut zararları ile “zehir” olarak adlandırılmaktaydı. Bu yıllarda akut lenfoblastik lösemi üzerine yapılan çalışmalar devam etmekteydi ve yeni bir olgu olarak tek bir kanser hücresi kalmayana kadar tedavinin devam etmesi gerektiği fikri öne sürülmüştü. Çünkü Furth ve Kahn farelere implante edilmiş tek bir kanser hücresinin bile onları öldürmeye yetebileceğini ispatlamışlardı. Bu olgudan yola çıkarak tam anlamı ile “hücre öldürme” hipotezi öne sürüldü. Hipotez kapsamında belirli dozlarda verilen antikanser ilaçları ile kanser hücrelerinin yalnızca bir kısmının öldürülebildiği gözlemlendi. Bu sebeple her antikanser ilaç dozlamasında başarının, başlangıçtaki mevcut kanserli hücre sayısına bağlı olacağı düşünülmüştü. Fakat bu yaklaşım, artan toksik etki ile agresif kemoterapiyi desteklemekteydi. Elde edilen sonuçlar da antikanser ilaç dozlarının önemli olabileceğini ortaya çıkarmıştır (DeVita ve Chu 2008).

Güncel kemoterapi yaklaşımlarına bakılacak olursa, günümüzde özellikle son yıllarda 100'den fazla ilaç keşfedilmiş olup ilaçlar FDA onayı alarak uygun hastalarda kullanıma açık hale gelmiştir (Kinch 2014). Bu ilaçlar, etki mekanizmalarına göre hedeflendirilmiş ve sitotoksik ilaçlar şeklinde sınıflandırılabilir. Sınıflandırmada sitotoksik ilaçlar, topoizomeraaz inhibitörleri, anti-mikrotübül ajanlar ve alkile edici ajanları içermektedir. Gelişen teknoloji ile birlikte hedefli antikanser ilaçları ise antikor, hormon, apoptoza sürükleyiciler ve sinyal iletim inhibitörleri gibi uyarıcılar içermektedir. Sitotoksik antikanser ilaçların yan etkileri zamanla hedefli ilaç gelişimine yönelimi gerekli kılmış ve 2000'li yıllardan sonra daha fazla hedefli antikanser ilaç keşfi gerçekleşmiştir (Sun vd. 2017).

Kemoterapi, tedavi öncesi (neoadjuvan tedavi), tedavi sonrası (adjuvan tedavi) ve kombinasyon tedavisi şeklinde 3 ana rejimde uygulanmaktadır. Tedavi rejimlerinin

her biri, birbirine bağı ve bir sonraki tedavi sürecine hazırlamak veya tedavi sürecini yönetmek amacıyla uygulanmaktadır (Ferrari ve Palmerini 2007).

2.2.1.1 Kemoterapinin Sınırlamaları

Gelişen teknoloji ve imkanlar ile birlikte kanser kemoterapisi de hızla gelişmeye devam etmiştir. Ancak kemoterapinin keşfinden bu yana kemoterapötik ajanların sınırlandırmaları günümüzde hala geçerliliğini korumaya devam etmektedir (Chabner ve Roberts 2005).

Kemoterapinin vücudun hızlı bölünen tüm hücrelerini hedef alması, kanser hücrelerine karşı avantaj sağlarken, cilt, tırnak matrisi ve saç kökleri gibi diğer hızlı bölünen hücrelere karşı ise dezavantaj oluşturmaktadır (Alley vd. 2002). Bu sebeple aslında kemoterapinin temel hedefi, normal dokuların tolere edebileceği seviyede sitotoksik ilaç dozlaması ile maksimum sayıda kanser hücrelerini inhibe edebilmektir. Fakat doz sınırlamaları tedavi verimini de aynı oranda düşürmektedir (Corrie 2008). Aynı zamanda kemoterapinin doz sınırlandırmaları ikincil bir malignite riski ile de karşı karşıya getirmektedir (Jones 2016).

Toksik etki genellikle toksik ajana, toksik ajanın uygulama şekillerine veya hastaya bağı faktörlere göre değişkenlik göstermektedir (Jones 2016). Örneğin spesifik ajana bağı olarak doksorubisin kullanımı kalp yetmezliğine sebebiyet verirken ifosfamid, sinir sistemi toksisitelerine neden olmaktadır (Jones 2016, Pacher vd. 2002). Bir diğer örnek, hasta faktörlerine bağı olarak yaşlı hastalarda kemoterapi komplikasyonları daha yaygındır ve kemoterapi kaynaklı periferik nöropati, miyelosupresyon ve mukozitlerin gelişmesi tedaviyi olumsuz yönde etkilemektedir (Repetto 2003).

Ek olarak, çoğu kanser türü tedavi başlangıcında kemoterapiye karşı duyarlı olsalar bile zamanla ilaca maruziyetin etkisi, hücresel ve metabolik değişiklikler gibi faktörlerin devreye girmesi ile tümör ilaç direnci geliştirerek hücresel bir yanıt oluşumunu engellemektedir (Luqmani 2005, Housman vd. 2014). Böylece

öldürülemeyen kanser hücreleri gelişmeye devam ederek tedaviyi yanıtızs bırakmaktadır (Housman vd. 2014)

2.2.2 Radyoterapi

Kanserli hücrelerin yok edilmesi için radyoaktivite kullanımı, radyoterapi olarak adlandırılmaktadır (Cassileth vd. 1980). Buradaki radyoaktivite, iyonlaştırıcı radyasyon ile sağlanmaktadır. İyonlaştırıcı radyasyon, elektrik yüküne sahip iyonlar sayesinde hücrelerde enerji birikimi sağlar ve böylece hücreler direkt ölüme sürüklenir veya yüksek enerjili radyasyonlar sayesinde hücrelerde ölüm ile sonuçlanabilecek hasarlar meydana gelir. Ancak radyasyon hem normal hücrelerde hem de kanserli hücrelerde aynı mekanizmada işleyiş göstermektedir. Bu durumda normal hücreler genellikle kendilerini daha hızlı onarabilir ve koruyabilirken kanser hücreleri kendilerini koruyamazlar (Baskar vd. 2012).

Radyasyon ilk olarak 19. yüzyılın sonlarında, Wilhelm Conrad Roentgen'in laboratuvar çalışması esnasında katot ışın tüpünden yayılan x ışınlarını farketmesi ile keşfedilmiştir (Reed 2011). X ışınlarının keşfinden hemen 3 gün sonra x ışınları, 29 Ocak 1896'da doktor Ludlam'ın fikriyle E.H. Grubb şirketi tarafından kanser tedavisi amacıyla ilk kez meme kanserine sahip hastalarda uygulanmıştır (Gianfaldoni vd. 2017).

1898 yılında, Maria ve Pierre Curie tarafından doğal bir radyasyon kaynağı olan radyum keşfedilmiştir. Bununla birlikte radyum ve x ışınının onkolojik alandaki kullanımları oldukça artmıştır (Gianfaldoni vd. 2017). 1920'li yıllara kadar radyasyon, birçok kanser tedavisinde kullanılmış olsa bile radyasyonun oluşturduğu yan etkiler, tedaviden etkin sonuçlar alınmasını önemli ölçüde sınırlandırmıştır (Lederman 1981). 1920'li yıllara gelindiğinde yeni keşfedilen radyoaktif izotoplar, farklı ışınlar ve radyasyon yöntemleri radyasyonları daha iyi tanımlamıştır. Aynı zamanda radyasyonun etkin süre ve dozu hücre ölümleri ile ilişkilendirilmiş ve böylece bu parametreler arasındaki ilişkinin doğru ayarlanması tedavinin yan etkilerini de azaltmıştır (Coutard 1934).

Yüksek enerjili γ -ışınları keşfi ile 1930 ve 1950 yılları arası radyoterapi hızla gelişmeye devam etmiştir (Boone vd. 1977). 1970 ve 1980'li yıllarda da protonun tedaviye dahil edilmesi özellikle iyi huylu olmak üzere birçok kanser türü için yeni avantajlar sağlamıştır (Gianfaldoni vd. 2017). Radyoterapide bir diğer tarihsel gelişme ise 1990'lı yıllarda teknolojik cihaz ve yöntemlerin geliştirilmesi ile radyoterapide daha güvenli tedavi yollarının önünün açılması olmuştur (Mohan 1995).

Günümüzde radyasyon, hedef bölgeye iç ve dış olmak üzere iki şekilde ulaşmaktadır. Dış ışın radyasyonunda, yüksek enerjili ışınlar non-invaziv teknikler ile vücut dışından hedef bölgeye gönderilir ve kullanımı klinikte oldukça yaygındır. Bir diğer yol olan iç ışın radyasyonunda ise radyoaktifler, genellikle cerrahi gibi girişimsel işlemler sonucu hedef bölgeye iletilmektedir. Bu yaklaşım yaygın olmamakla birlikte, bazı kanser türlerinde genellikle ikincil tedavi gereksinimlerinde uygulanmaktadır (Baskar vd. 2012).

Radyasyon tedavisinde, yoğunluk ayarlı radyasyon tedavisi, 3D konformal radyoterapi, stereotaktik vücut radyasyon tedavisi, görüntü klavuzluğunda radyoterapi, proton ve foton radyoterapileri gibi güncel tedavi yaklaşımları mevcuttur (Lin vd. 2021, Fukunaga Johnson vd. 1997, Redler vd. 2018). Bu yaklaşımlar, kanserde tümörü yok edebildiği gibi adjuvan ve neoadjuvan tedavi yöntemleri ile tümörün küçültülmesi, metastazların engellenmesi ve semptomların hafifletilmesi gibi süreçlere katkı sağlayan temel tedavi yaklaşımlarını da kapsamaktadır (Zaghloul 2010, Delaney vd. 2003).

Günümüzde kanser hastalarının %50'sinden fazlası tedavi sürecinin herhangi bir döneminde radyoterapi almaya ihtiyaç duymaktadır (Lin vd. 2021). Radyoterapiye ihtiyacın artması ile birlikte dikkat edilmesi gereken önemli hususlar vardır. Radyoterapide uygun doz ve zamanlamaların dikkate alınarak uygulanması, kanserden iyileşme oranlarına %40 katkı sağlarken, yüksek dozlarda ve uygun olmayan tedavi süreçlerinde uygulanması, nüks oluşumları ve kanser gelişimleri gibi olumsuz biyolojik süreçlere sebebiyet vermektedir (Ahmad vd. 2012, Vieira vd. 2016). Aynı zamanda radyoterapinin, uygulama esnasında risk içeren organlara 1 mm veya 2 mm

uzaklıkta yaklaşabilmesi, özellikle yüksek doz uygulamalarında, mevcut toksisiteleri açısından sağlıklı doku ve organlar için önemli ölçüde risk teşkil etmektedir (Meyer vd. 2018).

Ek olarak radyoterapi, cilt ve eklem rahatsızlıkları, ödem, idrar düzensizlikleri gibi fiziksel etkilerin yanı sıra depresyon ve yorgunluk gibi psikolojik rahatsızlıklara da sebep olmaktadır (Shirzadfar ve Khanahmadi 2018).

2.2.3 Cerrahi Tedavi

Kanserde cerrahi, en eski onkolojik yöntemdir ve tümör dokusunun ortamdan uzaklaştırılması için gerekli işlemleri kapsamaktadır (Wyld vd. 2015). Cerrahi, kanserli hastalarda, önleme, teşhis, palyatif ve tedavi gibi farklı amaçlar doğrultusunda uygulanmaktadır. Kanser hastalarında, önleyici ve koruyucu cerrahi temelinde, kansere evrilmesi muhtemel doku çıkarılabilir. Teşhis kapsamında, biyopsi gibi örnekler alınmak üzere cerrahi uygulanabilir, palyatif kapsamında ise hastanın maksimum yaşam kalitesi için gerekli organ ve uzuvlara cerrahi işlem uygulanabilir. Fakat meme ve kolon gibi kanser türlerinin hızlı ve erken ortaya çıkması, genellikle tümör dokusunun ortamdan çıkarılması için tedavi edici cerrahiye gerekli kılmaktadır (Sullivan vd. 2015).

Cerrahi tedavide temel amaç tümörün ortamdan tam eksizyonunun sağlanmasıdır (Enríquez-Navascués vd. 2011). Bu amaçla, birçok cerrahi girişim yöntemi mevcuttur. Ancak cerrahi tedavi girişimlerini, temelde “açık cerrahi” ve “minimal invaziv cerrahi” olarak ikiye ayırmak mümkündür (Verhage vd. 2009).

2.2.3.1 Açık Cerrahi

Açık cerrahide genellikle, tümörün ortamdan uzaklaştırılması için tümör, bir kısım sağlıklı dokular ile birlikte veya tümör dokusunun yakınındaki lenf nodları ile birlikte çıkarılmaktadır (Verhage vd. 2009).

2.2.3.2 Minimal İnvaziv Cerrahi

Minimal invaziv cerrahinin temeli, bölgede büyük bir kesi yerine daha küçük birkaç kesi oluşturarak, endoskopik aletlerin yardımı ile cerrahinin yönetilmesi esasına dayanmaktadır (Buell vd. 2008). Bu teknik ile cerrahi uygulanacak alana endoskopik aletler yerleştirilmekte ve böylece alanın 2 boyutlu görüntüsünün monitöre iletilmesi sağlanmaktadır. Ardından, gerekli cerrahi ekipmanların ortama girişi ve kontrolü, monitör üzerinden yönetilerek cerrahi operasyon süreci minimal düzeyde invaziv girişim ile tamamlanmaktadır (Marescaux ve Diana 2015).

Minimal invaziv cerrahi, cerrahi tekniklerin gelişmesi ile ortaya çıkmış ve önemli ölçüde mortaliteyi azaltarak hastaların yaşam kalitesini arttırmıştır (Goldfarb vs. 2010). Ancak, açık cerrahi girişimlere göre daha yavaş bir teknik olup, endoskopik cerrahi güvenliği günümüzde hala tartışma konuları arasında yer almaktadır (de Graaf vd. 2021).

2.2.3.3 Kanserde Cerrahi Tedavi Riskleri

Geçmişten bu yana onkolojik tıbbın hızlı ilerlemesi ile birlikte, cerrahi tedaviler ile hastaların sağ kalım oranlarının artırıldığı belgelenmiştir. Örneğin 1967 yılında meme kanserinde cerrahi tedavi sonucu 5 yıllık sağ kalım oranlarının %40'larda olduğu bildirilirken bu oran 50 yıl sonra %87'lere çıkarılabilmektedir (Philip 1967, Wyld vd. 2015). Fakat bununla birlikte, cerrahi tedavinin hala devam eden zorlukları ve beraberinde getirdiği komplikasyonları da cerrahi tedavi etkinliğini sınırlandırmaya devam etmektedir.

Cerrahi esnasında risk barındıran sinir ve dokuların zarar görmesi, agresif cerrahi girişim kaynaklı enfeksiyon ve yeni hastalık semptomları kanserde cerrahi tedavinin risklerine örnek verilebilir (Wyld vd. 2015 ve Zembower 2014). Cerrahi tedavinin getirdiği en büyük problemlerden biri de cerrahi tedavi kaynaklı nüks oranlarıdır (Abulafi ve Williams 1994). Katı tümörlerin cerrahi eksizyonu esnasında, tümör eksizyon alanı sınırları içerisindeki mikroskopik kalıntıları, gizli tümörler açığa

ıkarabilmekte ve bu kalıntılar, tedavi seyrini olumsuz yönde etkilemektedir (Coffey 2003).

Cerrahi tedavi kapsamında güncel verilere bakılacak olursa 2030 yılına kadar beklenen 21,6 milyon kanser hastası arasından, 17,3 milyon hastaya cerrahi tedavi uygulanması beklenmektedir (Sullivan vd. 2015). Bu sebeple cerrahi tedavinin getirmiş olduğu olumsuzlukların üstesinden gelebilmek için gelişmiş teknolojiler ve tedavi etkinliğini arttırmak amacı ile ek terapötik tedaviler oldukça önem arz etmektedir. Bu doğrultuda günümüzde, cerrahi tedavi etkinliğinin arttırılması amacı ile cerrahi tedaviye ek olarak neoadjuvan ve adjuvan tedavi seçenekleri uygulanmaktadır.

2.2.3.4 Neoadjuvan Tedavi

Rezeksiyon işlemi yapılmadan, cerrahi tedavi öncesinde, uygun evreleme, tümör yanıtı değerlendirilmesi, hastaya uygun tedavi seçimi ve hastayı tedaviye hazırlama gibi koşulların sağlanması için uygulanan tedavi stratejileri, neoadjuvan tedavi olarak adlandırılmaktadır (Akateh vd. 2019). Neoadjuvan tedaviler başlangıçta kemoterapi ile sınırlandırılmış olsada günümüzde, hedefe yönelik tedaviler gibi güncel tedavi yaklaşımlarını da kapsamaktadır (Liu vd. 2010).

Cerrahi girişimlerde hedef, tümörün tamamen çıkarılması olsa bile tümörün her zaman tam anlamı ile çıkarılması uygun görülmemektedir. Bunun en temel sebebi, rezeke edilemeyecek hassasiyete sahip bölgelerdeki risk faktörleridir. Bu bölgelerde, tam rezeksiyon yerine tümörün bir kısmının çıkarılması veya tedavi öncesi optimal tümör küçültme girişimlerini kapsayan neoadjuvan tedavi stratejileri daha uygun ve doğru bir tedavi seçeneği olmaktadır (Schorge vd. 2010).

2.2.3.5 Adjuvan Tedavi

Cerrahi tedavi sonrası, olası gizli tümör gelişimlerinden kaynaklı nüks oluşumlarına karşı, kemoterapi ve radyoterapi gibi hastaya ek tedavilerin uygulandığı tedaviler,

adjuvan tedavi olarak adlandırılmaktadır. Adjuvan tedavi, müdahale edilebilir boyutlarda ve henüz tedaviye direnç kazanmamış mevcut gizli kanser hücrelerinin yok edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Midgley ve Kerr 2000).

2.3 Kanserde Nüks

Nüks, kanserin tekrarlaması veya yayılması olarak tanımlanmaktadır. Primer kanserin teşhisi ve tedavisi sonucunda en önemli soru kanserin yayılıp yayılmadığıdır (Langley ve Fidler 2007). Bu yayılma, gözlemlendiği bölgeye bağlı olarak 3 şekilde sınıflandırılmaktadır. Eğer nüks, primer kanserdeki tümör bölgesi ile aynı konumda ise “lokal nüks”, primer kanserdeki tümör bölgesinin yakınında ise “bölgesel nüks”, primer kanserin oluşturduğu tümör bölgesinden bağımsız, vücudun başka bir konumunda ise de “uzak nüks” olarak adlandırılmaktadır (Botteri vd. 2010).

Her yıl yaklaşık 1,2 milyondan daha fazla insana nüks teşhisi koyulmaktadır (Andersen vd. 2005). Nüks genellikle, kanserli hücrelerin biyolojik davranışları, hastaya bağlı bağışıklık sistemi durumları veya tümörün tedavi şekilleri gibi durumlara bağlı olarak gözlemlenmektedir (Cohen vd. 2006). Bu sebepler arasından, nüks oluşumunun en önemli etmenlerinden biri, ilk tedavinin ortadan kaldıramadığı kanser hücreleridir. Cerrahi tedavi, kemoterapi gibi geleneksel kanser tedavi stratejileri, ilk etapta önemli ölçüde sağ kalımı iyileştirmekte fakat tam anlamıyla kanser hücrelerinin yok edilmesini her zaman mümkün kılmamaktadır (Mahvi vd. 2018). Örneğin tümörler, tedavi esnasında “aktif uyku” olarak adlandırılan konumda aylarca uyku modunda kendilerini tedaviden koruyabilir (Marx 2018). Tüm bu ihtimallere karşı hastalar, primer kanserin, tedavisi tamamlandıktan sonra belli aralıklarda, rutin onkolojik takipler ile izlenmektedir (Burg vd. 2009). Bu takipler sonucu, yeniden kanser hücreleri saptanabilir. Fakat kanserli hücreler her zaman ilk etapta mevcut testler ile saptanabilecek büyüklükte olmayabilir (Ghossein vd. 1999). Bu gibi durumlarda, ilk tedavinin yok edemediği kanser hücreleri, genellikle kanser hastalarının %30-50’sinde yeniden büyüyerek tümör oluşumuna sebep olmaktadır (Guan vd. 2023). Nüks oranları kanser türlerine bağlı değişkenlik gösterebilmektedir. Örneğin bu oran, meme kanserlerinde %30’larda gözlemlenirken, glioblastoma beyin

tümörlerinde, mevcut tedavilere rağmen %90'ları bulabilmektedir (Colleoni vd. 2016, Weller vd. 2013).

Nüks teşhisi koyulmuş hastaların tedavi süreci, birçok olası riski de beraberinde getirmektedir. Kanseri hastalarda ikincil tedavi yaklaşımlarında, aşırı agresif tedavi girişimlerinden kaçınılmakta ve ilaç kaynaklı olası kümülatif toksisite göz önünde bulundurularak ilaç-doza planlamaları yapılmaktadır. İlk tedavi sürecinde kullanılan ilaçların tekrardan kullanılması toksisiteye sebebiyet verecek ise alternatif tedavi süreçleri uygulanmaktadır. Fakat üst düzeyde klinik fayda elde edilmemektedir. Aynı zamanda, gelişen nüks ile birlikte, hastayı bekleyen benzer tedavi süreçleri fiziksel ve psikolojik olarak hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde düşürmektedir (Armstrong 2002).

2.4 Kanserde Akıllı İlaç Sistemleri

Akıllı ilaç sistemleri, halihazırdaki ilaç moleküllerinin terapötik etkilerinin güçlendirilmesi için ilaçların yan etkilerini azaltarak seçici olarak hedef bölgeye ulaşımını ve burada kontrollü bir şekilde salımını sağlayabilen sistemleri ifade etmektedir (Liu vd. 2016).

Akıllı ilaç sistemlerinin geçmişi 1950'li yıllara dayanmaktadır. Bu yıllardan önce geliştirilen mevcut ilaçlar, uygulamadan hemen sonra suda çözünmekte ve ilaçların kontrolsüz olarak vücuda salımı gerçekleşmekteydi. 1952 yılında, Smith Klein Beecham'ın 12 saat boyunca kendi ilaç salımını kontrol edebilen bir ilaç formu geliştirmesi ile akıllı ilaç sistemleri çağı başlamıştır (Yun vd. 2015, Worthen 2002).

Gelişen teknolojilerle birlikte günümüzde hücrelerin, sağlıklı ve anormal koşullardaki davranışlarındaki değişkenliğe dair çalışmalar da arttıkça hücre biyolojisine hakimiyet artmıştır. Bu da özellikle kansere karşı geliştirilen mevcut terapötiklerin daha kapsamlı mühendislik tasarımları ile sonuçlanmıştır (Park ve Mersny 2000).

Kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalma yetenekleri, kanserin en temel biyolojik özelliğidir (Ciavarella vd. 2010). Özellikle kemoterapi başta olmak üzere, mevcut geleneksel tedavi yöntemleri genellikle kanserli hücrelerin bölünme yeteneklerine odaklanmaktadır ancak bu yaklaşımlarla uygulanan terapötikler, kanserli hücrelere karşı düşük özgüllük göstermektedir. Dolayısıyla sağlıklı doku ve hücreler, ilaç toksisitesinden yüksek oranda etkilenmektedir. Aynı zamanda geleneksel tedavi yöntemleri ile uygulanan kemoterapötik ajanların vücuttan hızla atılımı, tedavide düşük biyoyararlanım ile sonuçlanmaktadır (Sanadgol ve Wackerlig 2020). Kanserde, akıllı ilaç sistemlerinin geliştirilmesi ve kullanımı bu alandaki terapötik etkinliği oldukça arttırarak genel sağkalım oranlarını iyileştirmektedir (Kuzajewska vd. 2020).

Kanser biyolojisine bağlı akıllı ilaç tasarımları geliştirilirken, ilaçların uygulama yolu başta olmak üzere ilaç kimyası, taşıyıcı molekülün biyouyumluluğu, boyutları, modifikasyon ajanlarının seçimi ve hangi yolla hedeflenebileceği gibi faktörler kontrollü salımın gerçekleşebilmesi için oldukça önemlidir (Park ve Msrny 2000). Bu anlamda, son yıllarda, malzeme biliminin de gelişmesi ile birlikte, kanserde akıllı ilaç sistemleri geliştirilirken tümör mikro ortamının özgün özelliklerinden faydalanmak amacı ile akıllı polimerler yaygın olarak kullanılmaktadır (Yadav vd. 2021). Polimerler, ayarlanabilir partikül boyutları, yüksek kararlılıkları, biyouyumlulukları ve biyoparçalanabilirlikleri gibi çeşitli özellikleri ile akıllı ilaç sistemlerinde pek çok avantaj sunmaktadır (Ahuja vd 2020).

Akıllı polimerler, tümör mikro çevresindeki pH, sıcaklık, enzim ve redoks gibi çeşitli uyaranlara duyarlılık göstermektedir. Bu duyarlılıkları sayesinde hedef bölgeye ulaştıkları anda uyaranlara tepki olarak ilaç salımını gerçekleştirirler. Aynı zamanda biyoparçalanabilir özellikleri sayesinde ilacın uzun vadede kontrollü bir şekilde salımını sağlamaktadırlar. Böylece geleneksel tedavi yöntemlerinin sınırlamalarını yüksek oranda ortadan kaldırabilirler (Yadav vd. 2021).

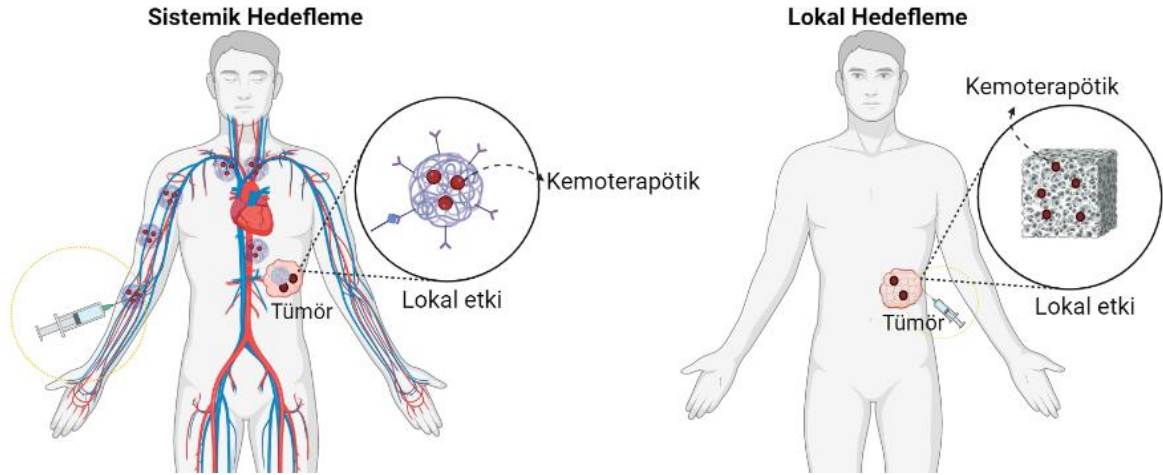
Son yıllarda, akıllı ilaç sistemlerinde boyut odaklı stratejilerin geliştirilmesi kanserde oldukça umut vadeci sonuçlar sunmaktadır. Büyük boyutlu partiküller, tümör içine nüfuz etmek yerine kan damarları çevresinde dağılım gösterirken, nano boyutlardaki

partiküller tümöre nüfuz etme eğilimi göstermektedir. Aynı zamanda nanoparçacıkların kolay modifikasyonları ile geliştirilebilir geniş yüzey alanları tümörün daha güçlü hedeflenmesine katkı sağlamaktadır (Yu vd. 2020). Nanoteknoloji ve polimer kimyasının kombinasyonu akıllı ilaç sistemlerinde devrim niteliğindedir. Nanoparçacıkların biyouyumlu hidrofilik polimerler ile modifikasyonu, kanda kalış süresini arttırmaktadır. Aynı zamanda bu modifikasyonlar sonucu nanoparçacıkların sulu ortamlarda ara yüzey enerjisi azalmakta ve böylece nanoparçacıkların kendi aralarında etkileşimleri sonucu birleşimleri önlenabilir (Park vd. 2008).

Ek olarak, akıllı ilaç sistemleri geliştirilirken, kanserli hücrelerin hayatta kalabilmek için geliştirdikleri antikör, aptamer, protein, peptid veya çeşitli küçük moleküllere karşı, biyolojik maddelerin akıllı ilaç sistemleri ile modifikasyonları sağlanabilmekte ve böylece bu sistemlerde tümöre özgü seçicilik artırılmış olmaktadır (Goddard vd. 2020).

2.5 Akıllı İlaç Sistemleri ile Kanser Hedefleme

Kanserde, ilaçları tümöre doğrudan hedeflendirebilen metodolojilerin geliştirilmesi oldukça önemlidir (Clemons vd. 2018). Akıllı ilaç sistemlerinde temel ve ortak amaç, tümöre lokal etki yaratmaktır. Ancak akıllı ilaç sistemleri geliştirilirken hedefleme stratejileri, uygulama yöntemlerine göre ayrılmaktadır (Ji ve Kohane 2019). Bu anlamda akıllı ilaç sistemleri, uygulama yöntemlerine göre kanseri, sistemik ve lokal olmak üzere iki temel şekilde hedeflemektedir (Florczak vd. 2021). Şekil 2.2 sistemik ve lokal hedefleme şemasını göstermektedir.



Şekil 2.2 Sistemik ve lokal hedefleme mekanizmasının şematik gösterimi (İnt. Kyn. 1).

2.5.1 Sistemik Hedefleme

Sistemik hedefleme, kemoterapötik ajanın kan dolaşımı yolu ile tümöre spesifik olarak iletilmesi olarak tanımlanmaktadır. Kanserde sistemik hedeflemenin temel amacı, kemoterapötik ajanın kanda kalış süresini uzatmaktır. Terapötik faydanın maksimize edilebilmesi için sistemik dolaşımda kararlılık ve tümörde uzun vadede kemoterapötik ajan birikimi oldukça önemlidir. Aynı zamanda, kemoterapötik ajanın hedeflendirilmesi, sistemik uygulamalarda terapötik etkinliğin önündeki en büyük engellerden biri olan retiküloendotelyal sistemin sınırlamalarını önemli ölçüde ortadan kaldırmaktadır (Fang vd. 2019).

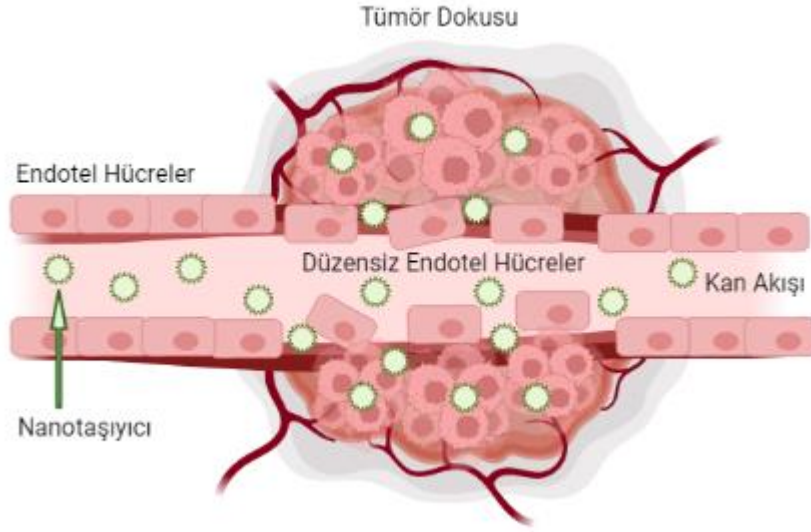
Sistemik hedefleme, aktif ve pasif olarak iki temel şekilde gerçekleşmektedir (Clemons vd. 2018).

2.5.1.1 Pasif Hedefleme

Pasif hedefleme, tümör biyolojisine dayalı olarak, tümör çevresindeki damarların biyolojik açıklıklarının oluşturduğu geçirgen vaskülarite özellikten yararlanılarak etken maddelerin hedef bölgeye iletiminin sağlanmasıdır (Wu 2021).

Tümör dokuları büyürken, sağlıklı dokulara kıyasla daha fazla metabolik talepte bulunurlar (Garber 2006). Tümör dokularında besin ve oksijen gibi temel metabolik ihtiyaçlar, difüzyon yolu ile karşılanmaktadır. Ancak tümör, belirli bir boyuta ulaştığında ($>2-3 \text{ mm}^3$) besin ve oksijen ihtiyaçlarının difüzyon ile karşılanmaya devam etmesi hücrelerdeki yaşam döngüsü için yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple gelişen tümörlerdeki bu temel ihtiyaçların artışı, yeni kan damarı oluşumlarını (anjiyogenez) meydana getirmektedir (Bazak vd. 2014). Tümör dokularında hızla gelişen anjiyogenez süreç, damar endotel hücreleri arası düzensiz boşluk oluşumlarına sebep olmaktadır. Normal kan damarları arasında bu boşluk yok denecek kadar az iken tümör çevresindeki düzensiz endotel hücreler arası oluşan boşluk (200-800 nm) birçok makro ve nano boyutlardaki moleküllerin geçişine izin verecek boyutlarda olmaktadır (Attia vd. 2019).

Aynı zamanda tümör bölgesinde, atık sıvıların uzaklaştırılması görevlerini üstlenen lenfatik drenaj sistemi, işlevini yeterince yerine getirmemektedir. Lenfatik drenaj sisteminin bozuk çalışması ise endotel hücreler arasındaki boşluktan hedef bölgeye geçebilen moleküllerin burada kalışını desteklemektedir (Maeda vd. 2000). Tümör bölgesine izin verilen bu geçiş ve bölgede kalma, arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi (EPR) olarak tanımlanmaktadır (Attia vd. 2019). Şekil 2.3 EPR etki ile pasif hedefleme mekanizmasını göstermektedir.



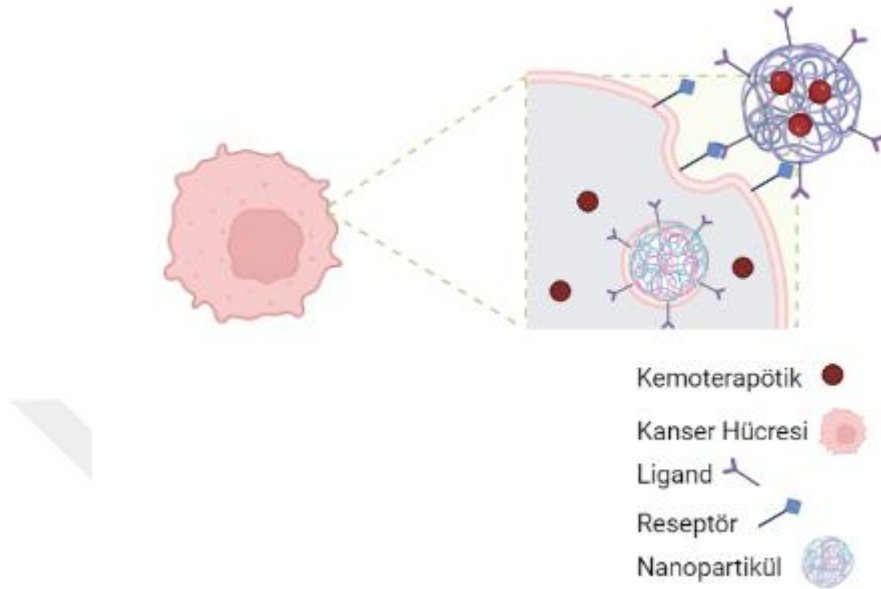
Şekil 2.3 EPR etki ile pasif hedefleme mekanizması (İnt. Kyn. 1).

Gelişen teknolojiler ile birlikte güçlü terapötik etkileri sayesinde kanser tedavilerinde kullanılmak üzere çok sayıda protein ve peptit üretilmektedir. Fakat bu ajanların, vücuttaki renal filtrasyon ve fagositlerin uyarımı gibi faktörler altında dolaşımda kalış süreleri oldukça azdır. Aynı zamanda bu terapötik ajanların hedef dışı doku ve organlara birikimi toksik etkilere sebep olmaktadır. Bu anlamda, protein ve peptit gibi farmasötik ajanların polimerik yapılar ile konjuge edilmesi, bu ajanların böbreklerden atılımını yavaşlatarak kanda dolaşım süresini arttırmaktadır. EPR etki sayesinde de farmasötik ajanların tümörlerde birikimi ve burada kalışı sağlanmaktadır (Torchilin 2011).

2.5.1.2 Aktif Hedefleme

Aktif hedefleme, ilaç taşıma sistemlerinin hedefleme ajanları ile konjugasyonu esasına dayanmaktadır (Zwicke vd. 2012). Kanserde ilaç taşıma sistemlerinde hedefleme ajanı olarak kanser hücrelerinin normal hücrelerden farklı olarak eksprese ettiği reseptörlere özgü ligandlar kullanılmaktadır (Kue vd. 2016). Böylece ilaç taşıma sistemlerindeki ligandlar, kanser hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen reseptörlere bağlanarak, reseptör aracılı endositoz yolu ile hücrelere aktif olarak girmekte ve ilaç salımını

hedef bölgede doğrudan gerçekleştirmektedir (Zwicke vd. 2012). Şekil 2.4 aktif hedefleme mekanizmasını şematik olarak göstermektedir.



Şekil 2.4 Aktif hedefleme mekanizması (İnt. Kyn. 1).

Karbon nanotüpler, katı lipid nanoparçacıklar, miseller, lipozomlar ve dendrimerler olmak üzere birçok akıllı ilaç sistemi, kanser tedavisinde umut vadeci sonuçlar sunmaktadır (Singh vd. 2019). Bu sistemlerin antikör, aptamer, folik asit, protein ve peptit gibi ligandlar ile konjuge edilerek aktif hedeflendirilmesi toksik ilaçların sistemik maruziyetini azaltmakta ve aynı zamanda farmakokinetik ve farmakodinamik etkilerini iyileştirmektedir (Bazak vd. 2015, Mehvar 2003).

2.5.2 Lokal Hedefleme

Akıllı ilaç sistemlerinde lokal hedeflendirme, kemoterapötik ajanın intratümöral veya direkt tümör ile temas eden sistemler aracılığıyla tümör bölgesine iletiminin sağlandığı metodolojileri kapsamaktadır (Aquib vd. 2020).

Akıllı ilaç sistemleri ile tümörün sistemik hedeflenmesi, geleneksel tedavi stratejilerinin getirmiş olduğu birçok zorluğun üstesinden gelebilmiş olsa bile, sistemik hedefleme ile hedef bölgede düşük ilaç derişimi ve buna bağlı düşük ilaç

verimi problemleri hala tam olarak ortadan kaldırılabilmiş değildir. Gelişen teknolojiler ile lokal hedeflendirilmiş akıllı ilaç sistemlerinin kullanımı, sistemin hedef bölgeye doğrudan erişimi sayesinde, yüksek derişimlerde kemoterapötik ajan teslimatı için umut vadecici bir yaklaşım olmuştur (Chew ve Danti 2017).

Lokal hedeflendirilmiş akıllı ilaç sistemleri, kanser tedavisinde cerrahi tedavi sonrası kullanılmakta olup tedavi sürecinde çeşitli avantajlar sunmaktadır. Lokal hedeflendirilmiş akıllı ilaç sistemlerinin kullanımındaki en önemli avantajlardan biri, kanserde cerrahi tedavinin getirdiği en büyük problemlerden biri olan cerrahi tedavi sonrası oluşabilecek nüks oranlarını en aza indirebilmesi ve böylece tedavi verimliliğini arttırabilmesidir (Shang vd. 2022). Aynı zamanda cerrahi tedavi sonrası kemoterapi gibi ek tedavilere ihtiyaç azalmakta ve böylece toksisiteye maruziyet önemli ölçüde önlenmektedir (Paliashvili vd. 2019).

Kanserde lokal hedeflendirilmiş akıllı ilaç sistemleri olarak doku iskeleleri kullanılmaktadır.

2.6 Akıllı İlaç Sistemlerinde Doku İskeleleri

Kanserde doku iskeleleri, akıllı ilaç sistemleri için kontrollü ilaç dağıtım formülasyonlarına alternatif olarak tasarlanan hücre destek yapılarıdır.

Doku iskeleleri, uygulama şekillerine göre implante edilebilir ve enjekte edilebilir sistemler olarak ikiye ayrılmaktadır. Filmler, membranlar ve 3D baskılı sistemler implante edilebilir doku iskelelerine örnek verilirken hidrojeller, hem implante edilebilir hem de enjekte edilebilir doku iskelelerine örnek verilmektedir (Calori vd. 2020). Enjekte edilebilir doku iskeleleri, hazırlanış prosedürlerinin kolaylıkları, düşük maliyetleri, uygun şişme özellikleri ve doku defektlerinin şeklini kolaylıkla alabilmeleri ve uygulamada minimal invaziv teknik gerektirmeleri gibi özellikleri ile akıllı ilaç sistemlerinde çeşitli avantajlar sunmaktadır (Chirani vd 2015). İmplant edilebilir sistemler ise vücuda yerleştirilerek hedef bölgeye doğrudan ulaşabilmekte ve böylece lokal olarak yüksek derişimlerde ilaçların uzun salım profillerinin elde

edilebilmesine olanak tanımaktadır (Jelonek ve Kasperczyk 2013). Aynı zamanda, implante edilebilir sistemlerdeki biyomalzemelerin güçlü, gözenekli ve kanallı yapıları ilaç salım profillerinin daha etkin kontrol edilmesini mümkün kılmaktadır (Calori vd. 2020).

Doku iskeleleri üretiminde kullanılacak biyomalzeme seçimi oldukça önemlidir. Biyomalzemenin çözünürlüğü, su tutma kapasitesi, biyobozunurluğu, hidrofilik ve hidrofobik özellikleri gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri doku iskelelerinin kullanım alanlarına göre farklılık göstermektedir. Bu alanda polimerlerin benzersiz özellikleri son yıllarda büyük ilgi görmüştür. Doku iskelelerinin boyutları, şekilleri, gözenekli yapıları, dayanım ve bozunma hızları gibi optimal özellikleri polimerler tarafından doğrudan ve tekrarlanabilir şekilde kolaylıkla kontrol edilmektedir (Dhandayuthapani vd. 2011).

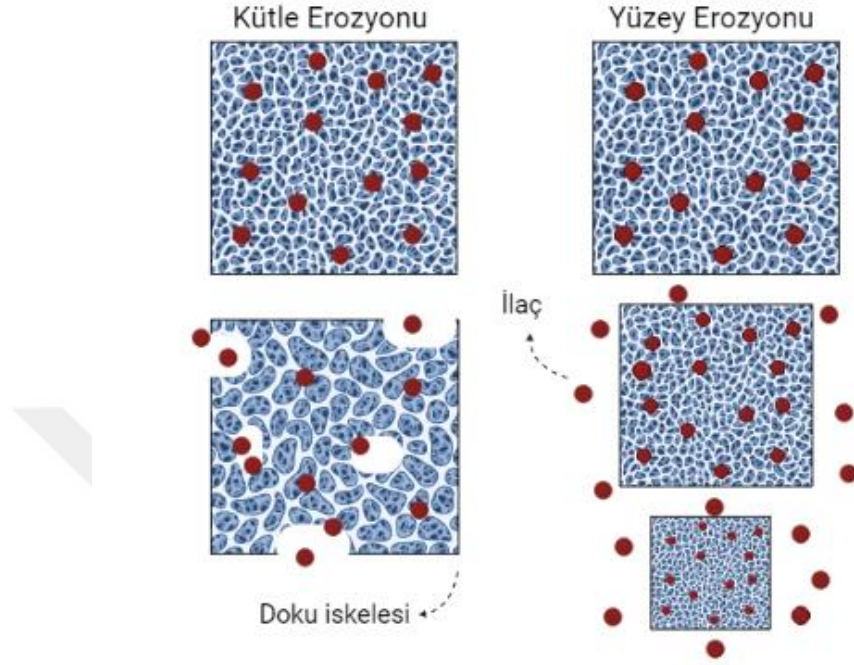
Doku iskelelerinin üretiminde kullanılan polimerler sentetik ve doğal olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Doğal polimerler, proteinler (fibrinojen, ipeki jelatin, elastin ve kollajen gibi), polisakkaritler (aljinat, kitosan ve nişasta gibi) ve polinükleotitler (DNA, RNA) şeklinde sınıflandırılmaktadır (Nair ve Laurencin 2007). Biyobozunurluk özellikleri sebebiyle kullanımları çok eski yıllara dayanmasına rağmen düşük mekanik özelliklerinden dolayı yeni polimer arayışlarına ihtiyaç duyulmuştur (Filippi vd. 2020, Nair ve Laurencin 2007).

Sentetik polimerler, genellikle doğal polimerlere göre daha uygun fiyatlı olup oldukça fazla miktarlarda sentezlenebilir ve uygun koşullar sağlandığında uzun süre saklanabilir (Janoušková 2018, Dhandayuthapani vd. 2011). Aynı zamanda sentetik polimerler, üretim aşamasında çeşitli fonksiyonel gruplar ile tasarlanarak özel yapılarda, farklı alanlarda kullanılmak üzere doku iskelesi üretim imkanı da sunmaktadır (Donnaloja vd. 2020). Sentetik polimerler, doğal polimerlere göre daha yüksek yapısal kararlılık ve mekanik özellik göstermektedir (Amini vd. 2021). Sentetik polimerler, kontrol edilebilir biyobozunurlukları, gözenekli yapıda doku iskelesi üretim imkanı sunmaları ve tolere edilebilir toksisiteleri gibi avantajları sebebiyle ilaç dağıtım sistemlerinde sıklıkla tercih edilmektedir (Place vd. 2009,

Fereshteh vd. 2016). İlaç dağıtım sistemlerinde doku iskelesi tasarımlarında en çok kullanılan sentetik polimerlere örnek olarak poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), Polikaprolakton (PCL) ve polilaktik asit (PDLA, PLLA) verilebilir (Donnalaja vd. 2020). Örneğin, PCL/PEG bazlı nanofiber doku iskeleleri, kanserde ilaç dağıtım sistemleri için in vitro umut vadeci sonuçlar sunmuştur. PCL'nin hidrofobikliği ilacı muhafaza ederken, PEG, PCL'nin yavaş bozunma oranlarına katkı sağlamıştır. Talaei ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı çalışmada, 17-Alilamino-17-demetoksigeldanamisin yüklü PCL/PEG doku iskelelerinin in vitro etkinliği T47D meme kanseri hücrelerinde test edilmiş ve serbest 17-Alilamino-17-demetoksigeldanamisin tedavi grubuna göre ilaç yüklü doku iskelelerinin daha fazla toksik etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Elde edilen bu sonuç, PCL/PEG nanofiber doku iskelelerinin sürekli salım mekanizması ile ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda sonuçlar, PCL/PEG nanofiber ile meme kanseri cerrahisinden sonra oluşabilecek lokal tümör nüksünü engelleme potansiyelini de ortaya koymuştur (Talaei vd. 2019).

Doğal ve sentetik polimerler, biyobozunur ve biyobozunur olmayan polimerler olarak ayrılabilir. Polimerlerde bozunma; hidroliz, enzimatik, kimyasal veya mikrobiyal yollar ile polimerin parçalanması ve çözünmesi esasına dayanmaktadır. Hem biyobozunur polimerler hemde biyobozunmaz polimerler, ilaç dağıtım sistemleri olarak doku iskeleleri üretiminde kullanılmaktadır. Biyobozunmaz polimerlerden ilaç salımı, difüzyon yolu ile gerçekleşmektedir. Difüzyon hızı, ortam koşullarına bağlı çözünürlük, derişim ve moleküler ağırlık gibi parametrelere bağlıdır. Biyobozunur polimerlerde ise, kemoterapötik ajan salımı hem difüzyon yolu ile hem de erozyon yolu ile gerçekleşmektedir. Bu sayede, kemoterapötik ajan salımının kontrol edilmesi için daha fazla parametre mevcuttur (Chew ve Danti 2017). Erozyon, polimerin zamanla bozunması durumudur ve kütle ve yüzey erozyonu olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Kütle erozyonunda ilaç, polimerik matrisin, bozunmasına bağlı olarak salınmaktadır. Yüzey erozyonunda ise ilaçlar, polimerik matrisin yüzeyinin bozunması ile yalnızca yüzeyden salınmaktadır (Şekil 2.5) (Rahmani vd. 2017). Biyobozunur polimerlerden gerçekleşen salım, ilk olarak genellikle polimer matrisin yüzeyine tutunmuş veya yakın yere hapsolmuş ilaçların difüzyon yolu ile salımına bağlı gerçekleşmektedir. Bu ani salım sonrasında polimerik matrisin içine hapsolmuş

ilaçların salımı, bozunmaya bağlı erozyon ve difüzyon kontrollü sistemler ile devam edebilmektedir (Chew ve Danti 2017).



Şekil 2.5 Doku iskelelerinden ilaç salım mekanizmasının şematik gösterimi (İnt. Kyn. 1).

Kanserde doku iskeleleri, lokorejyonel kemoterapi amaçlı kullanılabilir. Kemoterapötik ajan içeren doku iskeleleri, genellikle hastaya implante veya enjekte edilmek üzere, ek bir cerrahiye ihtiyaç duyulmadan cerrahi tedavi esnasında tümör rezeksiyonundan hemen sonra uygulanmaktadır (Li vd 2020, Chew ve Danti 2017). Bu sayede kemoterapötik ajan dozu hedef bölgeye maksimum seviyede iletilmektedir. Aynı zamanda, lokorejyonel kemoterapi amaçlı doku iskelelerinin kullanımı, beyni hedefleyen sistemik ilaçların önündeki en büyük problemlerden biri olan kan beyin bariyeri engelini geçmek için alternatif bir strateji sunmaktadır (Chew ve Danti 2017).

2.7 Nanofiber Tabanlı Doku İskeleleri

Nanofiberler, çapları 1000 nm'den küçük fiberlerin tanımlanmasında kullanılmaktadır (Garg vd. 2015). Nanofiberlerin, gözenekli yapıları, yüksek yüzey alanı/hacim oranlarına sahip olmaları, geliştirilebilir yüzey fonksiyonellikleri, gerilme mukavemetleri ve benzersiz fizikokimyasal özellikleri, nanofiberlerin ilaç taşıma

sistemlerinde kullanılmasında çeşitli avantajlar sunmaktadır (Wang vd. 2011, Garg vd. 2015). Nanofiber doku iskelelerinin ilaç taşıma sistemlerindeki başlıca avantajları; düşük toksisiteye sahip olmaları, çeşitli oranlarda ilaç kapsülleyebilmeleri, yüksek ilaç yükleme kapasiteleri, eşsiz mekanik özellikleri ve ısıya duyarlı ilaç salım sistemlerinde kullanılabilmeleri şeklinde sıralanabilir (Garg vd. 2015).

Nanofiberlerin bu önemli yetenekleri, kanserde kontrollü ilaç dağıtım sistemlerine ilişkin yapılan çalışmalarda, çeşitli antikanser ilaçlarının hedef bölgeye kontrollü salımında başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır (Balaji vd. 2015). 2020 yılında Ozcan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, doksorubisinin kontrollü salımı için folik asit ve glutatyon konjuge albümin-kaliksaren nanofiber doku iskeleleri geliştirilmiştir. Nanofiberlere konjuge edilmiş folik asit ve glutatyonlar, doksorubisinin hedef bölgeye yönlendirilmesini güçlendirmiştir. İn vitro ilaç salım çalışmaları sonucu; nanofiberlerdeki doksorubisin salım kapasitesinin, pH'a bağlı değişkenlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Folik asit ve glutatyon konjuge nanofiberlerdeki doksorubisin salımı, tümör mikro ortamı pH'ına yakın olan pH'larda (pH = 4.0-6.0) daha kontrollü gerçekleşmiştir (Ozcan ve Cagil vd. 2021). 2022 yılında Mozaffari ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise polikaprolakton (PCL) nanofiberlere, kombine ikili ilaç kapsüllenerek MCF-7 meme kanseri hücrelerine karşı sitotoksik etkileri, in vitro ilaç salım profilleri ve BCL-2, kaspaz-3 seviyeleri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, doksorubisin ve berberin yüklü PCL nanofiberler 72 saat boyunca kontrollü salım profili göstermiş ve aynı zamanda MCF-7 hücrelerinde toksisiteyi arttırdığı görülmüştür. Gen ekspresyon sonuçlarında ise kontrol gruplarına göre, doksorubisin ve berberin yüklü PCL nanofiberlerde, BCL-2 seviyesinde önemli bir azalma görülürken kaspaz-3 geninde artış gözlemlenmiştir. Geliştirilen bu doku iskelesi, meme kanseri cerrahisinden sonra oluşabilecek lokal nüksü engelleyebilme potansiyeli sunmuştur (Mozaffari vd. 2022).

2.7.1 Nanofiber Sentez Yöntemleri

Nanofiberlerin sentezinde, çekme, kalıp sentez, faz ayrımı işlemi, kendiliğinden birleşme ve elektroegirme gibi güncel olarak kullanılan stratejiler mevcuttur (Valizadeh ve Mussa Farkhani 2014).

2.7.1.1 Çekme Yöntemi

Çekme yöntemi, nanofiberlerin üretiminde, bir ısıtıcı, çubuk veya mikropipet kullanımına dayanan manuel bir yöntemdir. Yöntemde ilk olarak kullanılacak olan polimer çözülerek bir ısıtıcı yardımı ile ısıtılmaktadır. Ardından çubuk veya mikropipet yardımı ile belirli çekme kuvvetleri uygulanarak çözücünün uçması sağlanmaktadır. Elde edilen viskoelastik yapı çekme kuvvetlerinin de etkisiyle nanofiber oluşumuna izin vermektedir.

Yöntemin ucuz ve tek adımda nanofiber imalatını mümkün kılması, nanofiber üretiminde kolaylık ve erişilebilirlik açısından avantajlar sunmaktadır (Xing vd. 2008). Ancak süreksiz bir işlem olması, fiber boyutlarının kontrol edilememesi ve kullanılacak malzemenin yalnızca viskoelastik özellikte sınırlandırılması gibi dezavantajları sebebiyle yöntem, nanofiber üretimi için çok sık tercih edilmemektedir (Alghoraibi ve Alomari 2018).

2.7.1.2 Kalıp Sentez Yöntemi

Kalıp sentez yöntemi, su basıncı etkisi ile polimer veya seramik gibi kalıpların içerisine yüklenen maddelerin reaksiyonlar sonucu fiber oluşturması esasına dayanmaktadır. Yöntemde, kullanılan kalıpların içerisindeki içi boş kanallardan (gözeneklerden) yararlanılmaktadır. Monomerlerin veya polimerlerin kalıba dökülmesi ile su basıncının da etkisiyle maddelerin kanallardan geçişi sağlanmaktadır (Kumar 2012). Bu geçiş sırasında kimyasal veya elektrokimyasal reaksiyonlar gerçekleşerek fiber oluşumu gözlenmektedir. Son olarak kalıbın çözünmesi ile de nanofiberler elde edilmektedir.

Kullanılan kanalların çaplarının (5-50 mm) belirlenebilmesi, istenilen boyutta nanofiber üretimini mümkün kılmaktadır. Ancak bu yöntemle elde edilen fiberlerin uzunlukları sınırlıdır. Ayrıca bu yöntemde polimerlerin kullanılması ile küçük çaplı nanofiberler elde etmek zordur. Çünkü polimerlerin yüksek viskozitesi, küçük kanalların kullanımını zorlaştırmaktadır (Zhang ve Lu 2014).

2.7.1.3 Faz Ayrımı Yöntemi

Nanofiber sentezinde faz ayrımı yöntemi, iki farklı polimer derişimin belirli sıcaklıkta termodinamik ayrışımı esasına dayanmaktadır. Burada, farklı derişimlerdeki polimerler, belirli sıcaklık altında jelleşme göstererek çapraz bağlanma davranışı sergilemektedir. Böylece fiber oluşumu gözlemlenmektedir. Ancak bu yöntem ile fiber boyutlarını ve sürekliliğini kontrol etmek oldukça zordur (He vd. 2009).

2.7.1.4 Kendiliğinden Birleşme Yöntemi

Bu yöntemde, kullanılan materyallerin foksiyonel grupları, montaj tekniğı ile kendiliğinden birleşme ile nanofiber oluşturmaktadır (Kimizuka 2008). Nanofiber sentezinde kendiliğinden birleşme yöntemindeki en temel iki unsur, seçilecek moleküllerin kimyasal olarak birbirini tamamlayıcı nitelikte ve yapısal uyumlulukta olmasıdır (Zhang 2003). Amfifilik biyomoleküller, doğası gereğı bu oluşumu destekleyen kimyasal tamamlayıcıların en önemli örneklerinden biridir (Kimizuka 2008).

2.7.1.5 Elektroğirme Yöntemi

“Elektrospindleme” olarak da adlandırılan elektroğirme, nanofiber sentezi için elektrostatik bir kuvvet kullanan sistem düzeneğidir (Huang vd. 2003).

Elektroğirme, şırınga pompası, yüksek gerilim güç kaynağı ve kolektör olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır. İlk olarak, hazırlanan polimer çözeltisi şırıngaya alınmakta ve şırınga pompaya yerleştirilmektedir. Şırınga pompası, polimer

çözeltilisinin akış hızını kontrol etmekte ve yüksek voltaj kaynağına bağlı iğne, doğrudan veya alternatif akım sonucu itme kuvveti oluşturmaktadır. Oluşan kuvvet etkisi ile şırıngadaki çözeltiden kolektöre doğru koni şeklinde bir akış gerçekleşmektedir. Bu akış sonucu polimerin uzaması ile çözücü uçmakta ve toplayıcı yüzeyde fiberler oluşmaktadır (Li vd. 2021).

Elektrospindleme terimi ilk olarak 1934 yılında kullanılmış olsa da elektrostatik çekimin keşfi 1600'li yıllara dayanmaktadır (Huang vd. 2003). 1846 yılında Friedrich Schönbe'nin nitratlanmış selüloz üretiminden sonra John Francis Cooley, 1900'li yıllarda elektrospindleme patentini almıştır. Bunun üzerine John Zeleny 1914 yılında, yöntemi daha iyi kavrayabilmek adına, elektrostatiksel bir kuvvet altında, sıvı davranışlarının matematiksel modellenmesine öncülük etmiştir. Gelişmeler devam ederken 1964 ve 1969 yılları arasında ise Sir Geoffrey Ingram Taylor elektriksel alan etkisi altında sıvının oluşturduğu koni (Taylor) şeklini matematiksel olarak modellemiş ve böylece elektrospindleme yönteminin teorik olarak temelini belirlenmesine katkı sağlamıştır. Buna bağlı olarak 1990'lı yıllarda elektrospindleme yöntemi, araştırma grupları tarafından yoğun ilgi görmüş ve nanofiberlerin üretimi hızla artış göstermiştir (Tucker vd. 2012).

Nanoteknolojinin gelişimi ve buna bağlı olarak nanoteknolojiye olan ilginin artması ile özellikle 1990'lardan sonra elektroğirmenin nanoteknolojik alanlara yönelimi bir devir niteliğindedir. Polimerik malzemelerin çaplarındaki küçülmenin (nanoboyut) sağladığı geniş yüzey alanı, geliştirilebilir yüzey işlevselliği sunmaktadır (Huang vd. 2003). Elektroğirme bu anlamda çeşitli polimerler kullanarak nano boyutta geniş yüzeye sahip fiber üretimini mümkün kılmaktadır.

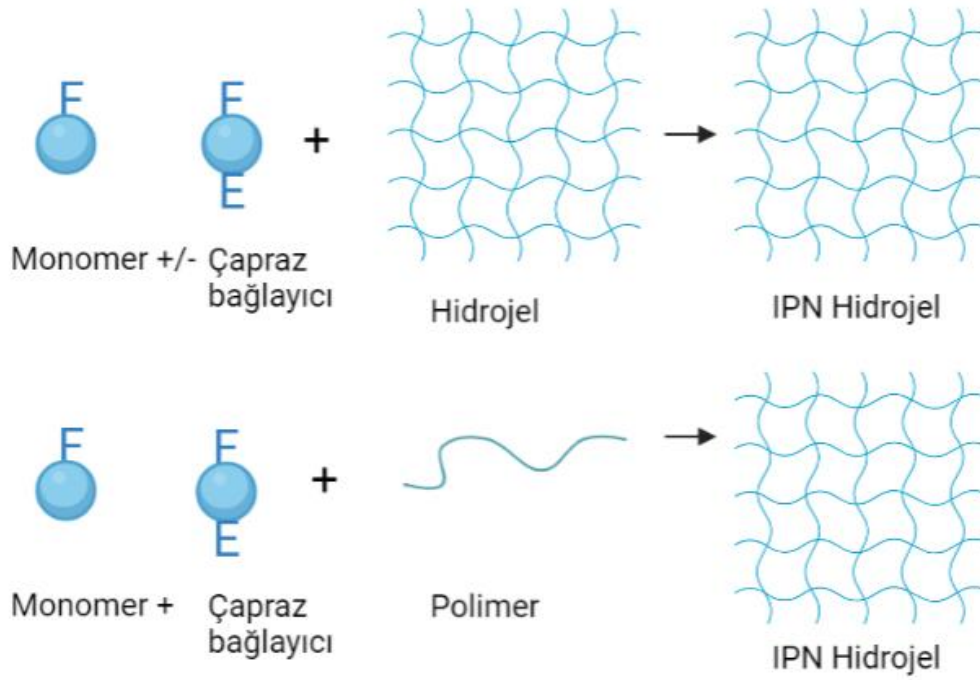
Ek olarak, elektroğirme yöntemi ile fiber üretimi birçok yönüyle geleneksel fiber üretim yöntemlerinden oldukça üstündür. Yaygın kullanılan diğer geleneksel nanofiber üretim yöntemlerindeki en büyük mevcut problem süreksiz ve düşük üretim oranlarıdır. Elektroğirme yöntemi ise düşük maliyetlerde yüksek üretim imkanı sunarak geleneksel nanofiber üretim yöntemlerine göre avantaj sağlamaktadır (Zhang ve Lu 2014).

2.8 Hidrojel Tabanlı Doku İskeleleri

Doğal ve sentetik polimerlerden üretilen, genellikle yüksek sıvı tutma kapasitesine sahip olmaları sebebiyle 3 boyutlu esnek yapıdaki polimer ağları, hidrojel olarak tanımlanmaktadır. Hidrojeller, canlı dokularla benzer morfolojik yapıya sahip olmaları sebebiyle birçok biyomedikal araştırmada kullanılmakta ve bu alanda çok sayıda çeşitli avantajlar sunmaktadır (Ullah vd. 2015, Akhtar vd. 2016). Esnek yapıları sayesinde çevre dokulara zararı minimuma indirebilir veya önleyebilir. Düşük toksisiteye sahip maddelerden üretilibilmeleri sayesinde vücutta metabolize olabilir veya glomerüler filtrasyondan geçerek vücuttan atılabilir (Akhtar vd. 2016). Hidrojellerin biyomedikal araştırmalarda tercih edilmelerinin en büyük sebeplerinden biri de tersinir davranış sergileyebilme yetenekleridir (Ullah vd. 2015). Tersinir özellikte şekil hafızasına sahip hidrojeller, çeşitli uyaranlara yanıt vererek başlangıç ve maksimum şişme noktası olmak üzere iki farklı noktada kararlı halde bulunmaktadır. Bu özellikleri, mekanik olarak programlanabilmelerine olanak sağlamaktadır (Zhao vd. 2016). Aynı zamanda hidrojeller, yüksek biyoyumlulukları, yüksek mekanik özellikleri ve işlevselleştirilebilmeleri gibi karakteristik özellikleri sayesinde çeşitli terapötik ajanların lokal olarak kontrollü salımını yönetebilen üstün akıllı ilaç taşıma sistemlerinden biridir (Akhtar vd. 2016, Norouzi vd. 2016). Sıcaklık, pH, ultrason, ışık gibi uyaranlara duyarlı olarak istenilen ortam koşullarında aktif olarak ilaç salımını gerçekleştirebilen akıllı ilaç sistemleri tasarlanabilmektedir. Ek olarak hidrojeller, nanoparçacık temelli akıllı ilaç taşıma sistemlerine göre daha düşük toksisite gösterirler (Sun vd. 2019).

Optimum tasarıma sahip hidrojellerin üretiminde, yenilikçi ve yüksek düzeyde kontrol edilebilir hidrojel mimarisi sunan üretim tekniklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir (Zhang ve Khademhosseini 2017). Hidrojeller, birçok parametreye bağlı olarak sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma temelinde, hidrojellerin kaynağına, sentez yöntemlerine, çapraz bağlanma şekillerine ve içerdikleri yan grupların iyon yüklerine bağlı olarak 4 ana şekilde yapılmaktadır (Ulusoy ve Dikmen 2020).

Hidrojellerin kaynağı, kullanılacak olan polimerin veya polimerlerin elde ediliş şekillerine göre belirlenmektedir. Hidrojel üretiminde, doğal, sentetik ve hibrit (hem doğal hem sentetik polimerlerin karışımı) polimerler kullanılmaktadır (Bashir vd. 2020). Üretim aşamasında, belirlenen polimer türünün ardından, farklı hidrojel sentez yöntemleri uygulanabilir. Hidrojeller, homopolimer, kopolimer veya iç içe geçmiş ağ yapılı polimerlerden sentezlenmektedir. Homopolimerler, tek tip monomerlerin çapraz bağlanması ile oluşan polimerik ağları, kopolimerler iki veya daha fazla monomerin çapraz bağlanması ile oluşan polimerik ağları ifade etmektedir (Ahmad vd. 2022). Çoklu polimerik ağ yapıları olarakta bilinen iç içe geçmiş polimer ağları (IPN) ise birbirinden farklı yapı ve özellikle olan iki polimerin kombinasyonu ile elde edilirler. IPN'ler temelde iki şekilde oluşturulabilirler. Bunlardan ilki, halihazırda sentezlenmiş hidrojellerin bir monomer ve çapraz bağlayıcı içeren polimerizasyon çözeltisi ile birleşimi sonucu uyum içerisinde polimerizasyonun gerçekleşmesi esasına dayanmaktadır (Özkan 2019). İkincisi ise bir polimerin, monomer ve çapraz bağlayıcı içeren polimerizasyon çözeltisi ile birleşerek polimerizasyonu başlatması esasına dayanmaktadır (Nicholas vd. 2013). Bu durum, Şekil 2.6'da gösterilmektedir. IPN oluşumunda, polimerlerden biri lineer, diğeri çapraz bağlı ise bu iki polimerin birleşimi yarı IPN hidrojellerin oluşumuna sebep olmaktadır (Dai vd. 2021).



Şekil 2.6 IPN’lerden hidrojel oluşum mekanizması (İnt. Kyn. 1).

Polimerlerin fiziksel ve kimyasal kombinasyonları hidrojellerin var olan özelliklerini iyileştirmekte veya hidrojellere yeni özellikler kazandırmaktadır. Bu sayede, IPN oluşumu ile elde edilen hidrojeller özellikle kontrollü ilaç salım sistemlerinde oldukça avantaj sunmaktadır (Soman vd. 2014). 2012 yılında Varaprasad ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, poli(N-izopropilakrilamid-ko-2-akrilamido-2-metil-1-propanasülfonik asit) ve kitosan (Poly(NIPAAm-AMPS)/CS) polimerleri kullanılarak 5-fluorourasil (5-FU) yüklü yarı IPN hidrojeller geliştirilmiştir. Kullanılan polimerlerin iyonlaşabilen fonksiyonel grupları sayesinde hidrojellere pH duyarlılığı kazandırılmıştır. Burada kitosan, yüksek biyobozunurluk sebebiyle seçilirken AMPS’nin seçilmesinin ana sebebi bünyesinde barındırdığı asit grupları sayesinde ilaç yükleme kolaylığı sunması olmuştur. Kombinasyon sonucu elde edilen hidrojellerden sıcaklığa bağlı kontrollü ve uzun süreli salım profili elde edilmiş ve ayrıca elde edilen hidrojellerin oldukça yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Varaprasad vd. 2012).

Polimerik ağ formundaki hidrojellerin oluşumu, kimyasal grupların çapraz bağlanması temeline dayanmaktadır (Akhtar vd. 2016). Hidrojeller arası bu çapraz bağlanma, fiziksel veya kimyasal yollar ile meydana gelebilir (Ahmed 2015). Kimyasal çapraz

bağlanmalar, kimyasal reaksiyonlar ile kovalent bağların varlığında gerçekleşir. Kimyasal çapraz bağlı hidrojeller arası bağlar kuvvetli ve kalıcıdır. Bu sebeple oldukça kararlı yapıya sahiptirler (Ahmad vd. 2022). Fiziksel çapraz bağlı hidrojeller ise, ortamda bir çapraz bağlayıcı madde olmaksızın, hidrojen bağları, iyonik ve hidrofobik etkileşimler gibi fiziksel yollar ile meydana gelmektedir (Rizwan vd. 2021, Ahmed 2015). Fiziksel çapraz bağlı hidrojeller, kimyasal çapraz bağlı hidrojellerin aksine, pH ve sıcaklık gibi uyarılara bağlı bozunabilir ve tersinir özellik sergileyebilirler (Rizwan vd. 2021).

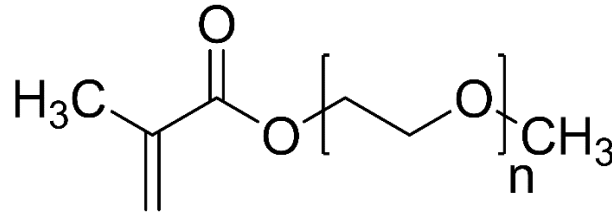
Hidrojeller, eşsiz özellikleri ve sınırsız mühendislikleri ile özellikle kanser alanında akıllı ilaç sistemleri tasarımında geleceğe umut vadeditici yaklaşımlar sunmaktadır. Bu kapsamda, Kuddushi vd. (2021) nin yaptığı çalışmada, hidrofobik kemoterapötik ajanın (doksorubisin), uyarılara bağlı olarak tümör bölgesine sürekli ve kontrollü salımının gerçekleştirilebilmesi için enjekte edilebilir, hibrit iyonik hidrojel geliştirilmiştir. Geliştirilen hidrojel tabanlı doku iskelesinin in vitro salım çalışmaları sonucu doksorubisinin 57 saat boyunca sürekli salımı gözlemlenmiştir. Ayrıca pH: 5.0'da doksorubisinin salım mekanizmasının etkilendiği gözlemlenmiştir. Geliştirilen doku iskelesinin in vitro çalışmaları MCF-7 meme kanseri hücre hattında gerçekleştirilmiştir. Sitotoksikite sonuçlarına bakıldığı zaman, geliştirilen hidrojel bazlı doku iskelesinin MCF-7 hücrelerine karşı antitümör etkisi doğrulanmıştır (Kuddushi vd. 2022). 2017 yılında Shen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise hem hidrofilik hem de hidrofobik antikanser ilaç kombinasyonunun sürekli ve birlikte salımı için, enjekte edilebilir hidrojel geliştirilmiştir. Geliştirilen hidrojel tabanlı doku iskelesinin in vitro salım çalışmaları sonucunda, sisplatin ve paklitakselin 2,5 ay boyunca kontrollü ve sürekli salım profili sergilediği gözlemlenmiştir. Aynı zamanda bu sonuç, bu ikili ilaç kombinasyonunun en uzun salım profili olarak bildirilmiştir. Geliştirilen doku iskelelerinin in vitro çalışmaları, SKOV-3 yumurtalık kanseri hücrelerinde gerçekleştirilmiş ve SKOV-3 hücrelerine karşı sinerjistik antikanser etkinlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Son olarak çalışmanın in vivo deneyleri sonucu SKOV-3 modeli oluşturulmuş farelerde, serbest ilaç kombinasyonunun enjekte edildiği gruba kıyasla kombine ilaç yüklü doku iskelesi enjekte edilerek tedavi edilmiş

grupta tek enjeksiyondan sonra bile antitümör etkinlik gözlemlenmiş aynı zamanda ilaçların yan etkilerinin önemli derecede azaldığı bildirilmiştir (Shen vd. 2017).

2.9 Tez Kapsamında Doku İskelelerinin Hazırlanmasında Kullanılan Yapılar

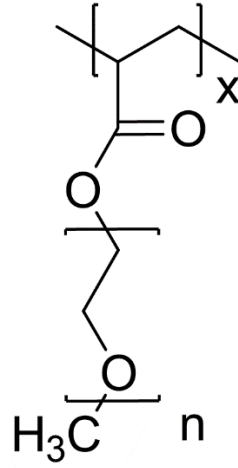
2.9.1 Oligoetilenglikol Metil Eter Metakrilat (OEGMEMA)

OEGMEMA, hidrofilik yapıda OEG (Oligoetilenglikol) bazlı metakrilat monomerler olarak tanımlanmaktadır. Yüksek biyouyumlulukları ile akıllı ilaç sistemlerinde oldukça ilgi çekmektedirler. Aynı zamanda ısıya duyarlılıkları ve iyonik olmayan yapıları sebebiyle vücuttaki iç ortamın pH dengesini etkilememeleri de bu alanda çeşitli avantajlar sunmaktadır (Li vd. 2022). Özellikle, OEGMEMA monomerleri ile OEG yan zincirlerine sahip polimerlerin elde edilmesi ile yapısal çeşitlilik genişlemekte ve akıllı ilaç sistemlerine yeni olanaklar sağlanmaktadır (Geng vd. 2021).



Şekil 2.7 OEGMEMA'nın kimyasal yapısı.

Polioligoetilen glikol metil eter metakrilat (POEGMEMA), yan dalları Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı bir polimer olan PEG (poli(etilen glikol)) bazlı bir polimerdir (Hussain vd. 2008, Alconcel vd. 2011). Hidrofobik bir omurga ve PEG yan dalları sayesinde hidrofilik yan zincirlere sahip amfifilik kopolimerlerdir (Bo vd. 1992). Şekil 2.8'de POEGMEMA'nın kimyasal yapısı gösterilmiştir.



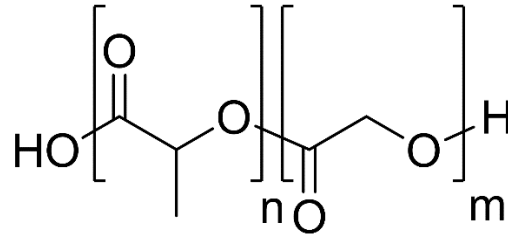
Şekil 2.8 POEGMEMA'nın kimyasal yapısı.

Akrilik bazlı monomerlerin oluşturduğu çapraz bağlı polimerler, yüksek biyoyumluluğa ve pH duyarlılığına sahiptir. Yüksek pH duyarlılıkları sebebiyle akıllı ilaç taşıma sistemlerinde kullanılmaktadırlar. Hidrojeller gibi akrilik bazlı tasarlanmış biyomalzemeler, mide pH koşullarında (pH: 1,2) büzülerek ilacın midedeki salımını engelleyebilmekte ve böylece ilacın burada oluşturacağı tahribatı önleyerek ilacın olası yan etkilerinin azaltılmasını sağlamaktadır (Yue vd. 2019).

Bu kapsamda POEGMEMA, hidrofilik ve hidrofobik yapısı ve eşsiz özellikleri ile çok yönlü işlevselleştirilebilir akıllı ilaç sistemi tasarımları sunmaktadır (Yue vd. 2019).

2.9.2 Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)

Poli(laktik-ko-glikolik) asit (PLGA), laktik asit ve glikolik asitin belirli oranlarda karışımları sonucu halka açma polimerizasyonu yolu ile sentezi gerçekleştirilen bir kopolimerdir. Mevcut iki farklı monomer, birbirlerine ester bağları ile bağlanır. Bu iki farklı monomerin farklı oranlarda karıştırılması, farklı formlarda PLGA sentezini mümkün kılmaktadır (Lü vd. 2009). Şekil 2.9'da PLGA'nın kimyasal yapısı gösterilmiştir.



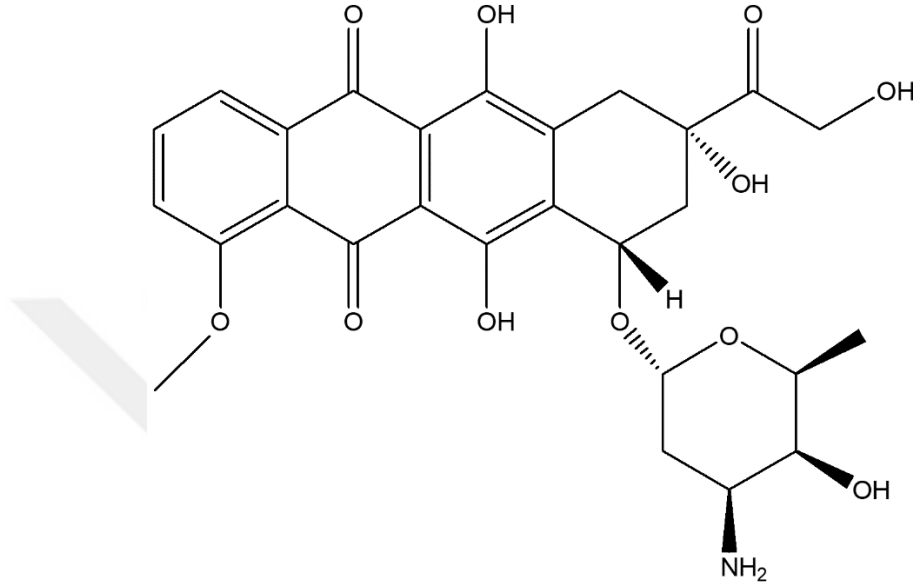
Şekil 2.9 PLGA'nın kimyasal yapısı.

Laktik asit ve glikolik asidi birbirine bağlayan ester bağları, biyolojik sıvılarda hidrolize olarak karboksilik asit ve hidroksil gruplarını meydana getirir. Eş zamanlı olarak PLGA'da gerçekleşen kütle kayıpları ile kovalent bağların da çözünmesi başlar. Polimer zincirinin bölünmesi ile parçalar çözünmeye devam eder ve parçalanma sonucu toksik olmayan ürünler, vücut tarafından eliminasyona uğrayarak vücuttan atılır (El-Hammadi ve Arias 2022, Chavan vd. 2022). PLGA'nın bu biyolojik parçalanabilirliği, güvenliği ve yüksek biyouyumluluğu, yaklaşık 50 yıl önce 1970'li yıllarda PLGA'nın biyomedikal amaçlı kullanımına ışık tutmuştur (Jain 2000).

PLGA, güçlü özellikleri ile günümüzde, birçok biyomedikal uygulama için FDA ve EMA (Avrupa İlaç Ajansı) tarafından onay almış, akıllı ilaç sistemlerinde çalışılan en aktif polimer olarak karşımıza çıkmaktadır (Chavan vd. 2022, Singh vd. 2014). İlaç moleküllerinin en verimli şekilde taşınarak hedefe ulaştırılabilmesi ve ardından kontrollü salımının gerçekleştirilebilmesi için etkili bir strateji sunmaktadır. Mevcut biyobozunur polimerlere kıyasla hem hidrofobik hem hidrofilik ilaç taşınımı yapabilmesi, ilaçları kararlı halde koruyabilmesi, kontrollü ve sürekli uzun vadeli salım profilleri sergilemesi ve yüksek işlevselleştirilebilir yapıya sahip olmaları gibi özellikleri sayesinde ilgi çekmektedir (Chavan vd. 2022). Molekül kütlesi ve monomer oranları gibi parametrelerin değişimi ile ilaç kimyasına bağlı olarak ilaç salım profillerinin ve ilaç dozajlarının kontrolünü mümkün kılmaktadır (Makadia ve Siegel 2011). Aynı zamanda, farklı polimerler veya moleküller ile modifikasyonu, PLGA'yı özelleştirerek, PLGA'ya çeşitli fonksiyonel özellikler kazandırmaktadır (Martins vd. 2018).

2.9.3 Doksorubisin (DOKS)

Doksorubisin, *Streptomyces peucetius* bakterilerinden üretilen antibiyotik türevli, kemoterapötik ajan olarak kullanılan bir ilaçtır. Doksorubisinin kimyasal yapısı Şekil 2.10'da gösterilmiştir.



Şekil 2.10 Doksorubisinin kimyasal yapısı.

Doksorubisin, meme kanseri, yumurtalık kanseri, mesane kanseri, lösemi, yumuşak doku ve kemik sarkomları olmak üzere birçok kanser türünde yaygın olarak kullanılmaktadır (Johnson-Arbor ve Dubey 2017). Doksorubisin, kanserli hücre bölünmesini hedef alır ve DNA ile etkileşime girmesi sonucu topoizomeraz II enzim aktivasyonunu etkileyerek DNA replikasyon sürecini durdurur.

Yüksek toksisiteye sebep olabileceği için kullanım dozları sınırlıdır. Kardiyotoksisite ile ilişkili kalp hastalıkları, doksorubisin kullanımının en önemli sınırlandırmasıdır (Rivankar 2014).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Tez kapsamında kullanılan kimyasalların listesi çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Tez çalışmasında kullanılan kimyasal malzemeler ve kimyasal malzemelerin markaları.

Kimyasal Malzemeler	Kimyasal Malzemelerin Markaları
PLGA	Sigma
OEGMEMA	Sigma
AIBN	Sigma
Sodyum Asetat	Riedel de Haen
Asetik asit	Sigma
Ethanol	Sigma
Yüksek saflıkta azot gazı	Linde
DMSO	Sigma
Thiazolyl blue tetrazolium bromide	Sigma
HT-29 Hücre hattı	Merck
RPMI	Biowest
Tripsin-EDTA	Biowest
Fetal Bovine Serum (FBS)	Merck
Tripan Blue	Biowest
Penisilin-Streptomisin	Sigma
Doksorubisin HCl	Koçak Farma

3.2 Kullanılan Cihazlar

Tez kapsamında kullanılan cihazların listesi çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve cihazların markaları.

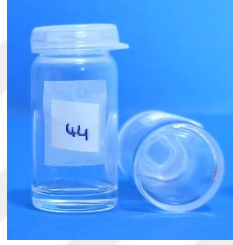
Kullanılan Cihazlar	Cihazların Markaları
Vorteks	Dlab
Çalkalayıcı İnkübatör	N-Biotek
Liyofilizatör	Telstar
Hassas Terazı	Radwag
UV-Vis Spektrofotometre	Shimadzu
Mikroskop	Zeiss
pH metre	Mettler Toledo
Buzdolabı	Arçelik
Sonikatör	CALISKAN
İnkübatör	Nüve
Otomatik Pipet	Dlab
Otoklav	İldam
Saf Su Cihazı	Isolab
SEM	LEO
Santrifüj	Elektromag
Su Banyosu	HH- 4
Hücre Kültür Kabini	Mikrotest
Sıvı Çekme Pompası	CLS
-86 Ultra Derin Dondurucu	Nüve
Kaplama Cihazı	BAL-TEC
Çeker Ocak	KRC
Plaka Okuyucu	Thermo Fisher Scientific

3.3 Doku İskelelerinin Sentezi

Doku iskelelerinin sentezleri, monomer ve polimer-monomer karışımlarını içeren hibrit sentez yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.1 OEGMEMA Doku İskelesi Sentezi

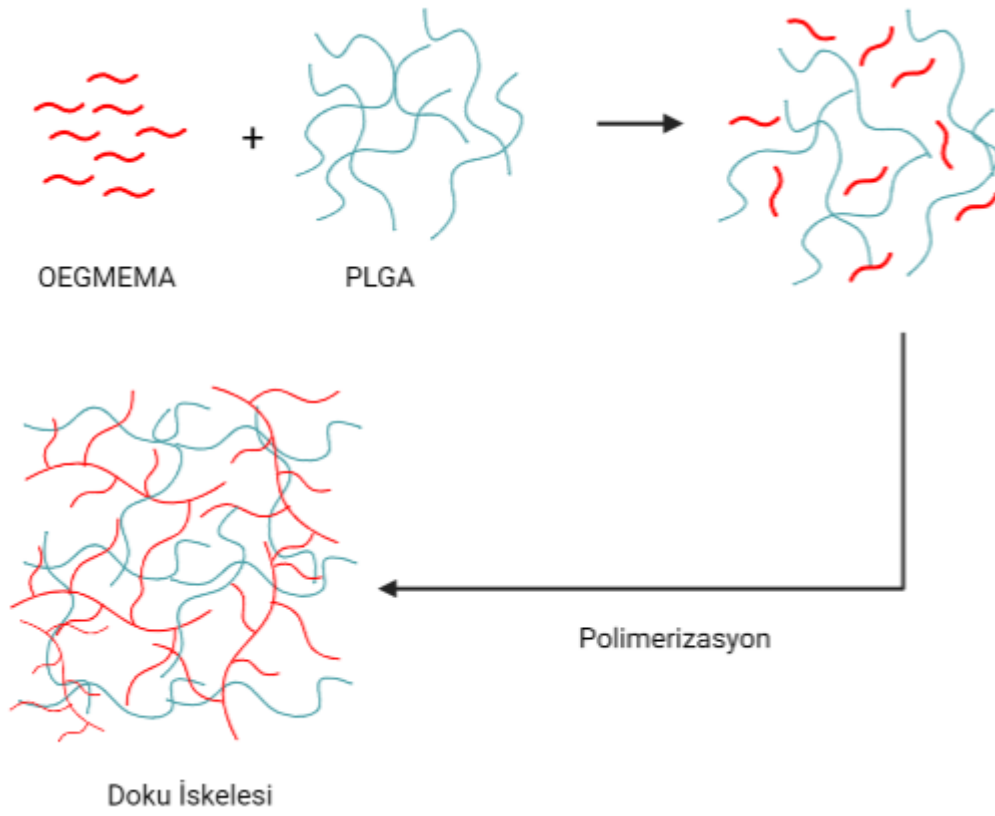
1 g OEGMEMA (Mw: 500) monomeri ve polimerizasyon başlatıcısı olarak 0,5 mg Azobis-İzobütironitril (AIBN) tartılıp, 1,66 mL etil asetat ve 500 µL etanol karışımı içerisinde çözülmüştür. Ardından karışım viallere alınarak ağzı kapatılmış ve 3 dk boyunca yüksek saflıkta N₂ gazı ile ortamdaki O₂ uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon 70° C'de 24 saat boyunca etüv içerisinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonunda, hazırlanan doku iskeleleri 3 mL etil asetat çözeltisi ile 3 kez sonikatör ile yıkanmış ve ardından 24 saat boyunca 37° C'de etüvde kurutulmuştur. Sentezlenen OEGMEMA doku iskelesi Resim 3.1'de gösterilmiştir.



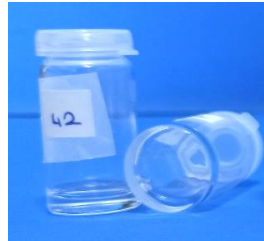
Resim 3.1 Sentezlenen OEGMEMA doku iskelesi.

3.3.2 PLGA/OEGMEMA Doku İskelesi Sentezi

100 mg PLGA, 1,66 mL etil asetat ve 500 µL etanol karışımı içerisinde çözülmüştür. Ardından karışıma, 900 mg OEGMEMA (Mw: 500) monomeri ve polimerizasyon başlatıcısı olarak 0,4 mg AIBN eklenmiştir. Karışım viallere alınarak ağzı kapatılmış ve 3 dk boyunca yüksek saflıkta N₂ gazı ile ortamdaki O₂ uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon 70° C'de 24 saat boyunca etüv içerisinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonunda, hazırlanan doku iskeleleri 3 mL etil asetat çözeltisi ile 3 kez sonikatör ile yıkanmış ve ardından 24 saat boyunca 37° C'de etüvde kurutulmuştur. PLGA/OEGMEMA doku iskelesinin sentez yöntemi Şekil 3.1'de, sentezlenen PLGA/OEGMEMA doku iskelesi Resim 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 PLGA/OEGMEMA doku iskelesi sentez yöntemi.

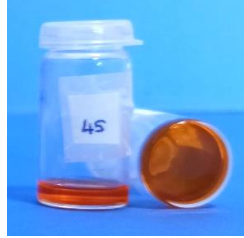


Resim 3.2 Sentezlenen PLGA/OEGMEMA doku iskelesi.

3.3.3 DOKS Yüklü OEGMEMA Doku İskelesi Sentezi

1 g OEGMEMA (Mw: 500) monomeri ve polimerizasyon başlatıcısı olarak 0,5 mg AIBN tartılıp, 1,66 mL etil asetatta çözülmüştür. Ardından karışıma 500 μ L etanol içerisinde çözülmüş 5 mg DOKS ilave edilmiştir. Elde edilen son karışım viallere alınarak ağzı kapatılmış ve 3 dk boyunca yüksek saflıkta N_2 gazı ile ortamdaki O_2 uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon $70^\circ C$ 'de 24 saat boyunca etüv içerisinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonunda, hazırlanan doku iskeleleri 3 mL etil asetat

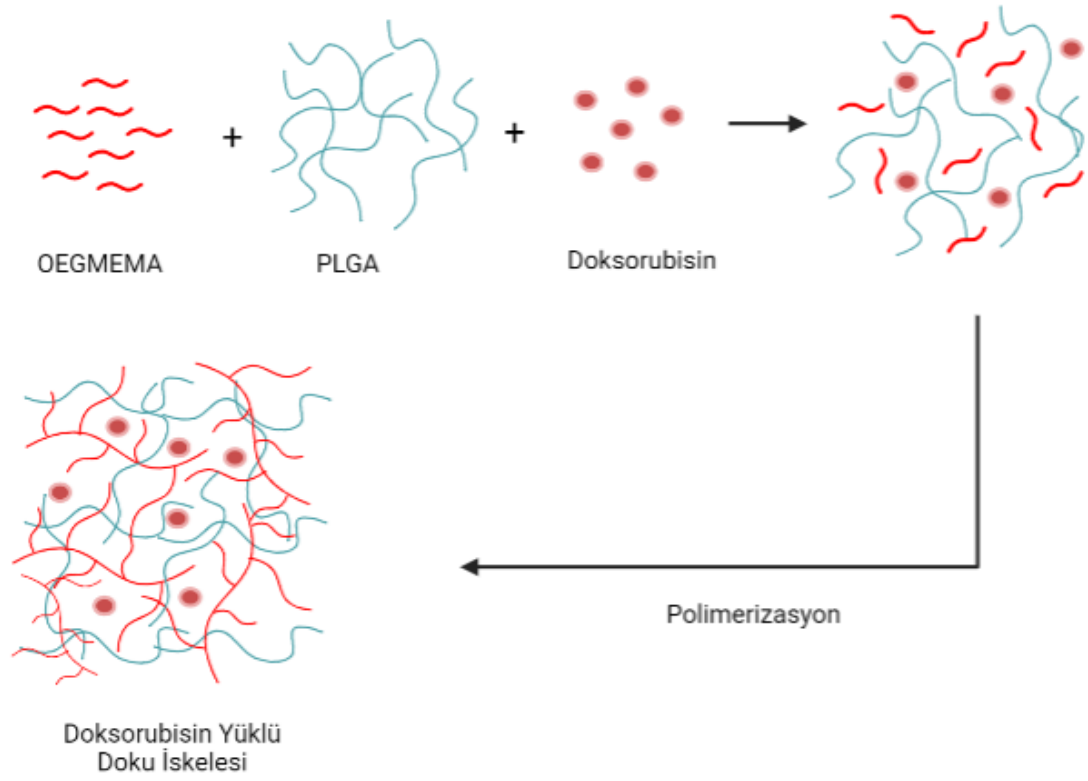
çözeltisi ile 3 kez sonikatör ile yıkanmış ve ardından 24 saat boyunca 37° C'de etüvde kurutulmuştur. Sentezlenen DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelesi Resim 3.3'te gösterilmiştir.



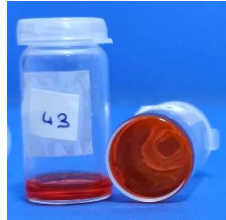
Resim 3.3 Sentezlenen DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelesi.

3.3.4 DOKS Yüklü PLGA/OEGMEMA Doku İskelesi Sentezi

100 mg PLGA, 1,66 mL etil asetatda çözülmüştür. Ardından karışıma, 900 mg OEGMEMA (Mw: 500) monomeri ve polimerizasyon başlatıcısı olarak 0,4 mg AIBN eklenmiştir. Son olarak, karışıma 500 µL etanol içerisinde çözülmüş 5 mg DOKS ilave edilmiştir. Karışım viallere alınarak ağzı kapatılmış ve 3 dk boyunca yüksek saflıkta N₂ gazı ile ortamdaki O₂ uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon 70° C'de 24 saat boyunca etüv içerisinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonunda, hazırlanan doku iskeleleri 3 mL etil asetat çözeltisi ile 3 kez sonikatör ile yıkanmış ve ardından 24 saat boyunca 37° C'de etüvde kurutulmuştur. DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelesi sentez yöntemi Şekil 3.2'de, sentezlenen DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelesi Resim 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.2 DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelesi sentez yöntemi.



Resim 3.4 Sentezlenen DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelesi.

3.4 İn-Vitro Degradasyon Çalışmaları

Sentezlenen doku iskelelerinin degradasyon çalışmaları, 37° C'de pH: 4,0, pH: 5,5 ve pH: 7,4 olmak üzere 3 farklı pH'ta gerçekleştirilmiştir.

3.4.1 pH: 4,0 Asetat Tampon Çözeltisinin Hazırlanması

500 mL, 0,1 M asetat tampon çözeltisi hazırlamak için 4,1 g sodyum asetat tartılarak 400 mL saf suda çözülmüştür. Elde edilen çözeltinin pH'ı, pH metre yardımı ile kontrol

edilerek eş zamanlı olarak asetik asit eklenmiş (14 mL) ve pH: 4,0'da dengelenmiştir. Son olarak çözelti, saf su ile 500 mL'ye tamamlanmıştır.

3.4.2 pH: 5,5 Asetat Tampon Çözeltisinin Hazırlanması

1 L, 0,1 M asetat tampon çözeltisi hazırlamak için 8,2 g sodyum asetat tartılarak 800 mL saf suda çözülmüştür. Elde edilen çözeltinin pH'ı, pH metre yardımı ile kontrol edilerek eş zamanlı olarak asetik asit eklenmiş ve pH: 5,5'te dengelenmiştir. Son olarak çözelti, saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

3.4.3 Doku İskelelerinin Degradasyon Testi

Degradasyon testi, Wang vd. (2012) nin yaptığı test metotlarından uyarlanarak yapılmıştır. Degradasyon testleri, OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri olmak üzere iki farklı grupta gerçekleştirilmiştir. Öncelikle her bir doku iskelesinin başlangıçtaki kuru ağırlıkları (W_0) tartılıp kayıt altına alınmıştır. Ardından, hazırlanan çözeltilere (her doku iskelesi için 10 mL) her bir pH grubu için 3 tekrarlı olacak şekilde doku iskeleleri eklenerek 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 5., 10., 15., 20., 30., 40., 50., 60. ve 70. günlerinde doku iskeleleri çözeltilerden alınarak 24 saat boyunca 37° C'de etüvde kurumaya bırakılmıştır. 24 saatin sonunda doku iskelelerinin son kuru ağırlıkları (W_t) tartılmıştır. Doku iskelelerinin son kuru ağırlığı ile başlangıç kuru ağırlığı arasındaki fark ile bozunma miktarları hesaplanmış ve % (yüzde) hesabı yapılmıştır.

Hesaplama;

$$Degradasyon\ Oranı(\%) = \left(\frac{W_0 - W_t}{W_0} \right) \times 100 \quad (3.4.3)$$

şeklindedir.

Doku iskelelerinin degradasyon testi için kullanılan örnek grupları Resim 3.5'te gösterilmiştir.



Resim 3.5 Degradasyon testi örnek grupları (38: PLGA/OEGMEMA, 40: OEGMEMA).

3.5 Doku İskelelerinin Su Tutma Kapasitesi Testi

Su tutma kapasitesi testi, Li vd. (2021) nin yaptığı test metotlarından uyarlanarak yapılmıştır. Doku iskelelerinin su tutma kapasitesi, OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri olmak üzere iki farklı grupta ve pH: 4,0, pH: 5,5 ve pH: 7,4 olmak üzere 3 farklı pH'ta gerçekleştirilmiştir. İlk olarak her bir doku iskelesinin başlangıçtaki kuru ağırlıkları (W_0) tartılıp kayıt altına alınmıştır. Ardından örnekler, hazırlanan pH çözeltilerine (15 mL) 3 tekrarlı olacak şekilde sırasıyla daldırılmıştır. Çözeltilere daldırılan örnekler, 5., 10., 20., 30., 60., 90. dakikalarında ve 2., 4., 6., 8., 10., 12., 24., 36., 48., 60., 72. saatlerinde çözeltilerden alınarak ıslak ağırlıkları (W_w) tartılmıştır. Belirlenen zaman aralıklarında, doku iskelelerinin son ıslak ağırlığı ile başlangıç kuru ağırlığı değerleri kullanılarak su tutma kapasiteleri aşağıdaki formül kullanılarak % cinsinden hesaplanmıştır.

Hesaplama;

$$Su\ Tutma\ Kapasitesi\ (\%) = \left(\frac{W_w - W_0}{W_0} \right) \times 100 \quad (3.5)$$

şeklindedir.

Doku iskelelerinin su tutma kapasitesi test düzeneği Resim 3.6'da gösterilmiştir.



Resim 3.6 Su tutma kapasitesi test düzeneği.

3.6 İlaç Salım Çalışmaları

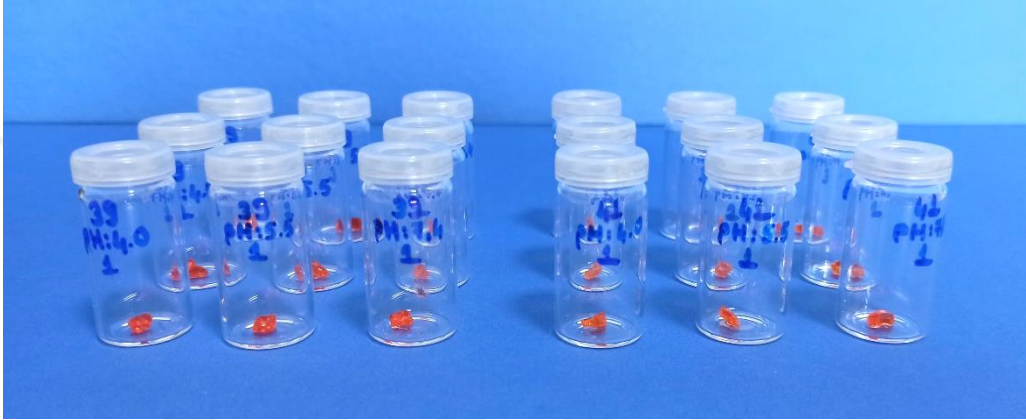
Hazırlanan DOKS yüklü doku iskelelerinin in vitro ilaç salım kinetiği UV-Vis spektrofotometre cihazı kullanılarak belirlenmiştir. İlaç salım deneyi esnasında salınan ilaç derişimlerinin belirlenebilmesi amacıyla ilk olarak DOKS'un kalibrasyon eğrisi grafiği elde edilmiştir.

3.6.1 DOKS'un Kalibrasyon Eğrisinin Elde Edilmesi

DOKS'un kalibrasyon eğrisi grafiğini elde etmek için ilk olarak DOKS için stok çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözelti için 4 mg DOKS 2 mL pH: 7,4 tampon çözeltisinde çözölmüştür. Elde edilen stok çözeltisine belirli oranlarda seri seyreltme işlemi uygulanarak, 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01, 0,005 ve 0,002 mg/mL derşimlere sahip standart çözeltieler elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltieler 483 nm'de UV-Vis spektrofotometre cihazında ölçölmüştür. Okunan absorbans değeri ile DOKS'un kalibrasyon eğrisi grafiği ve denklemi elde edilmiştir.

3.6.2 İlaç Salım Testi

İlaç salım testi Wu vd. (2019) nin yaptığı test metotlarından uyarlanarak yapılmıştır. DOKS yüklü OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri için salım kinetiği, pH: 4,0, pH: 5,5 ve pH: 7,4 olmak üzere 3 farklı pH'ta 3 tekrarlı olacak şekilde gözlemlenmiştir. İlaç salım testinde kullanılan DOKS yüklü doku iskeleleri örnek grupları Resim 3.7’de gösterilmiştir.



Resim 3.7 Salım testinde kullanılan ilaç yüklü doku iskelelerine ait örnek grupları (39: DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA, 41: DOKS yüklü OEGMEMA).

Testin ilk aşamasında DOKS yüklü doku iskelelerinin her biri tartılmış ve içerdikleri ilaç miktarları hesaplanmıştır. Testte kullanılan ilaç yüklü doku iskelelerinin içerdikleri ilaç miktarları Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2’de gösterilmiştir. Doku iskeleleri ilgili pH çözeltilerine (5 mL) daldırılarak 37° C’de çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İlaç salım çalışmaları test düzeneği Resim 3.8’de gösterilmiştir.



Resim 3.8 İlaç salım çalışması örneklerinin inkübasyonu.

İnkübasyonun 15., 30., 60. dakikası ve 2., 4., 6., 8., 10., 12., 24., 48., 72., 96., 120., 148. saatlerinde 2 mL örnek alınarak her bir pH değerindeki her bir örnek için 483 nm’de UV-Vis spektrofotometre cihazında absorbans değerleri ölçülmüştür. Okuma sonunda, örnekler numune kaplarına alınarak inkübasyona devam etmiştir. Okunan absorbans değerleri, kalibrasyon eğrisi denkleminde yerine koyularak salınan DOKS derişimleri ve zamana bağlı yüzde salım değerleri hesaplanmıştır.

Çizelge 3.3 DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelelerinin ilaç salım testi örneklerine ait içerdikleri DOKS miktarları.

pH: 4,0		pH: 5,5		pH: 7,4	
Örnek No	Kütle	Örnek No	Kütle	Örnek No	Kütle
1	0,214 mg	1	0,226 mg	1	0,246 mg
2	0,214 mg	2	0,249 mg	2	0,247 mg
3	0,237 mg	3	0,241 mg	3	0,248 mg

Çizelge 3.4 DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin ilaç salım testi örneklerine ait içerdikleri DOKS miktarları.

pH: 4,0		pH: 5,5		pH: 7,4	
Örnek No	Kütle	Örnek No	Kütle	Örnek No	Kütle
1	0,212 mg	1	0,238 mg	1	0,257 mg
2	0,201 mg	2	0,238 mg	2	0,244 mg
3	0,232 mg	3	0,244 mg	3	0,247 mg

3.7 SEM Görüntüsünün Elde Edilmesi

PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin karakterizasyonu, yüzey morfolojileri ve gözenek geometrileri analizi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Örneklerin hazırlanması için ilk aşamada, PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri -80° C'de dondurulmuştur. Dondurulmuş örnekler liyofilizatör cihazında 8 saat boyunca 0,600 mBar'da kurutulmuştur. Elde edilen örneklerin yüzey iletkenliğinin artırılması için örnek yüzeyleri, kaplama cihazı kullanılarak altın kaplanmıştır. Hazırlanan örnekler SEM ile incelenmiştir.

3.8 Hücre Kültür Çalışmaları

Hücre kültür çalışmalarında insan kolon kanseri hücre hattı (HT-29) ve insan meme kanseri hücre hattı (MCF-7) kullanılmıştır.

3.8.1 Hücre Ekilmesi

Hücre kültür çalışmaları için %10 fetal bovin serumu (FBS) ve 100 U/mL penisilin-streptomisin içeren RPMI hücre kültür besiyeri hazırlanmıştır. HT-29 ve MCF-7 hücre hatları, hazırlanan RPMI besiyerinde %5 CO₂ varlığında 37° C'de kültürlenmiştir. Proliferasyon ve sitotoksite deneyi için, 24 kuyucuklu plaka kullanılmış olup proliferasyon testi için her bir kuyucuğa 2000, sitotoksite testi için her bir kuyucuğa 10000 hücre ekimi (1 mL) gerçekleştirilmiştir. Plakalar, 37° C'de %5 CO₂ varlığında 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.8.2 Hücre Proliferasyon Testi

Proliferasyon testi, Cacicedo vd. (2016) ve Ahearne vd. (2010) nin yaptığı test metotlarından uyarlanarak yapılmıştır. Hücre proliferasyon testi, MTT (3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür) analizi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlk olarak 24 kuyucuklu plakalara, her kuyucuğa 2000 hücre (HT-29) olacak şekilde hücre ekilmiş ve hücreler 24 saat boyunca 37° C'de %5 CO₂ varlığında inkübasyona bırakılmıştır. HT-29 hücrelerinin 24 saatlik inkübasyonunun sonunda, HT-29 hücreleri 3 tekrarlı olacak şekilde PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri (4,5 mg/mL) ile muamele edilerek 24 ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Doku iskeleleri kuyucuklara eklenmeden önce 20 dk boyunca UV ışığı altında sterilize edilmiştir. Hücre canlılığının değerlendirilebilmesi için belirlenen inkübasyon süreleri sonunda doku iskeleleri ortamdan aspire edilerek, her bir kuyucuk için 200 µL MTT çözeltisi (0,5 mg/mL PBS) eklenmiş ve 37° C'de %5 CO₂ varlığında 3 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, ortamdaki MTT çözeltileri aspire edilmiş ve her kuyucuğa 200 µL DMSO eklenerek 15 dk daha inkübe edilmiştir. Son olarak, plaka okuyucu ile 620 nm'de her bir kuyucuğun absorbans değerleri okunmuştur.

3.8.3 DOKS Çözeltilerinin Hazırlanması

DOKS'un kullanımı için ilk olarak 1000 µM DOKS stok çözeltisi hazırlanmıştır. DOKS stok çözeltisi için 5,8 mg DOKS tartılmış ve 100 µL dimetil sülfoksitte (DMSO) çözülerek fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti, belirli oranlarda RPMI besiyeri ile seyreltilerek 10, 15 ve 20 µM derişimlere sahip DOKS çözeltileri elde edilmiştir.

3.8.4 İlaç Uygulanması

İnkübasyon sonrası HT-29 ve MCF-7 hücrelerine sırasıyla 10, 15 ve 20 μM ilaç (1 mL) uygulanmıştır. Hücreler, her biri 3 tekrardan oluşan, serbest DOKS, DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA, DOKS yüklü OEGMEMA, OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri ile 72 saat boyunca 37° C'de %5 CO₂ varlığında tedavi edilmiştir. Doku iskeleleri kuyucuklara eklenmeden önce 20 dk boyunca UV ışığı altında sterilize edilmiştir. HT-29 ve MCF-7 hücrelerine uygulanan ilaç formülasyonlarına ait bilgiler Çizelge 3.3'te verilmiştir.

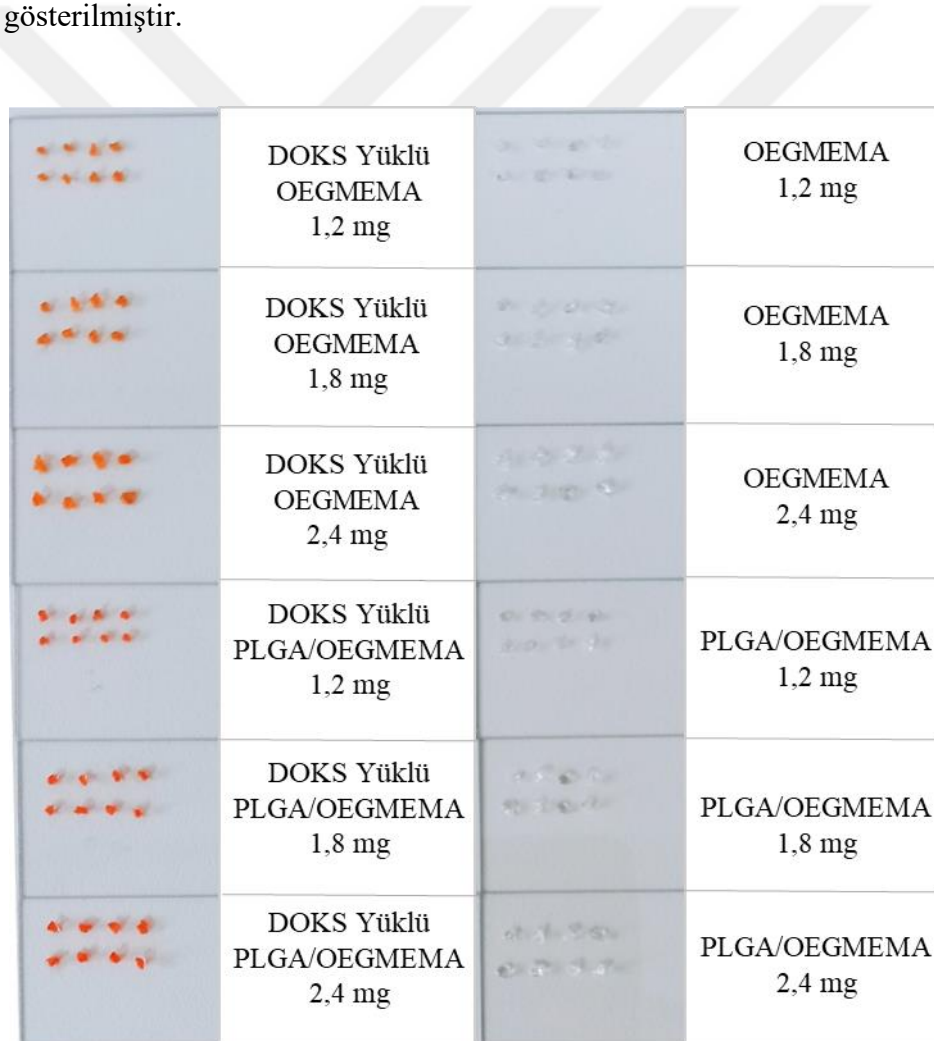
Çizelge 3.5 HT-29 ve MCF-7 hücrelerine uygulanan ilaç formülasyonlarına ait bilgiler.

Gruplar	Örnek No	DOKS Derişimi (μM)	Doku İskelesi Miktarı (mg)
DOKS Yüklü PLGA/OEGMEMA	1	10	1,2
	2	15	1,8
	3	20	2,4
DOKS Yüklü OEGMEMA	1	10	1,2
	2	15	1,8
	3	20	2,4
Serbest DOKS	1	10	0
	2	15	0
	3	20	0
OEGMEMA	1	0	1,2
	2	0	1,8
	3	0	2,4
PLGA/OEGMEMA	1	0	1,2
	2	0	1,8
	3	0	2,4
Kontrol (RPMI)	1	0	0

*Herbir örnek için; n=4

3.8.5 Sitotoksisite Testi

Sitotoksisite testi, Abedi vd. (2021) nin yaptığı test metodundan uyarlanarak yapılmıştır. Sitotoksisite testi için MTT analizi kullanılmıştır. İlaç uygulamasının 72. saatinin sonunda, ilaç çözeltileri ve ilaç yüklü doku iskeleleri ortamdan aspire edilerek, her bir kuyucuk için 200 μ L MTT çözeltisi (0,5 mg/mL) eklenmiş ve 37° C'de %5 CO₂ varlığında 3 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, ortamdaki MTT çözeltileri aspire edilmiş ve her kuyucuğa 200 μ L DMSO eklenerek 15 dk daha inkübe edilmiştir. Son olarak, plaka okuyucu ile 620 nm'de her bir kuyucuğun absorbans değerleri okunmuştur. Sitotoksisite testinde kullanılan doku iskelesi örnekleri Resim 3.9'da gösterilmiştir.



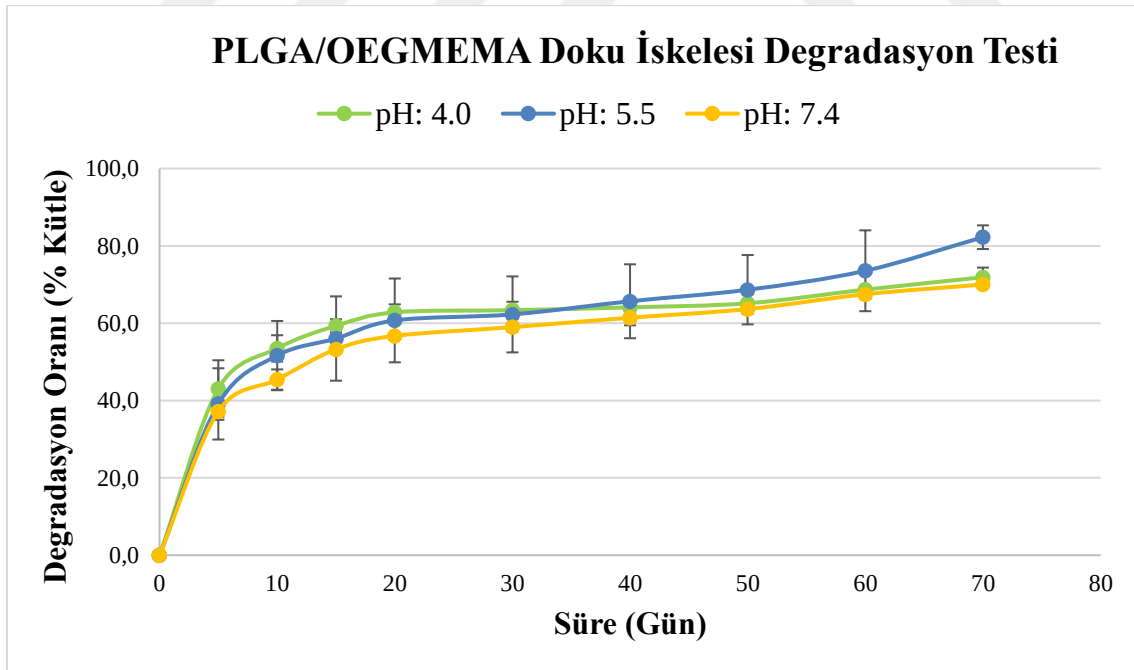
Resim 3.9 Sitotoksisite testinde kullanılan ilaç yüklü doku iskelesi örnekleri.

4. BULGULAR

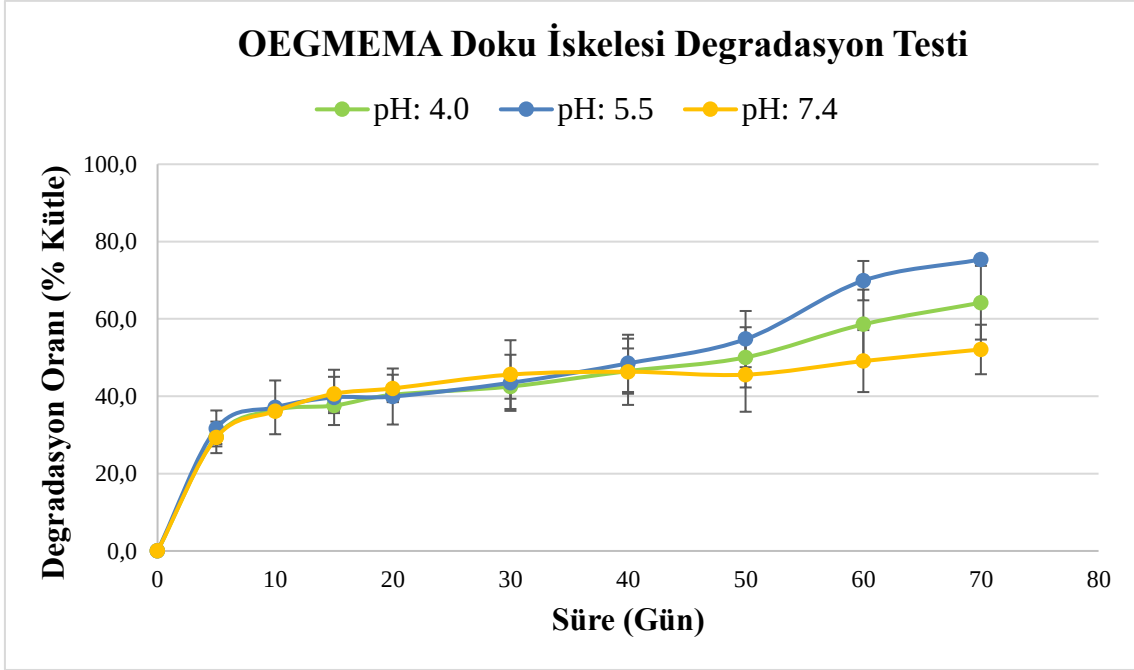
4.1 İn-Vitro Degradasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin degradasyon testi, pH: 4,0, 5,5 ve 7,4 olmak üzere 3 farklı pH tampon çözeltisinde gerçekleştirilmiştir. Doku iskelelerinin zamana bağlı degradasyon oranları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.

Test sonuçlarına göre 50 günün sonunda, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde yaklaşık %70 kütle kaybı gözlemlenirken (Şekil 4.1) OEGMEMA doku iskelelerinde bu oran %55’e ulaşabilmiştir (Şekil 4.2). 70 günün sonunda ise PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde yaklaşık %70-80, OEGMEMA doku iskelelerinde ise %50-75 kütle kaybı gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bu fark, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin yapısındaki PLGA’nın biyobozunur özelliği ile açıklanabilmektedir (Kumar vd. 2019).

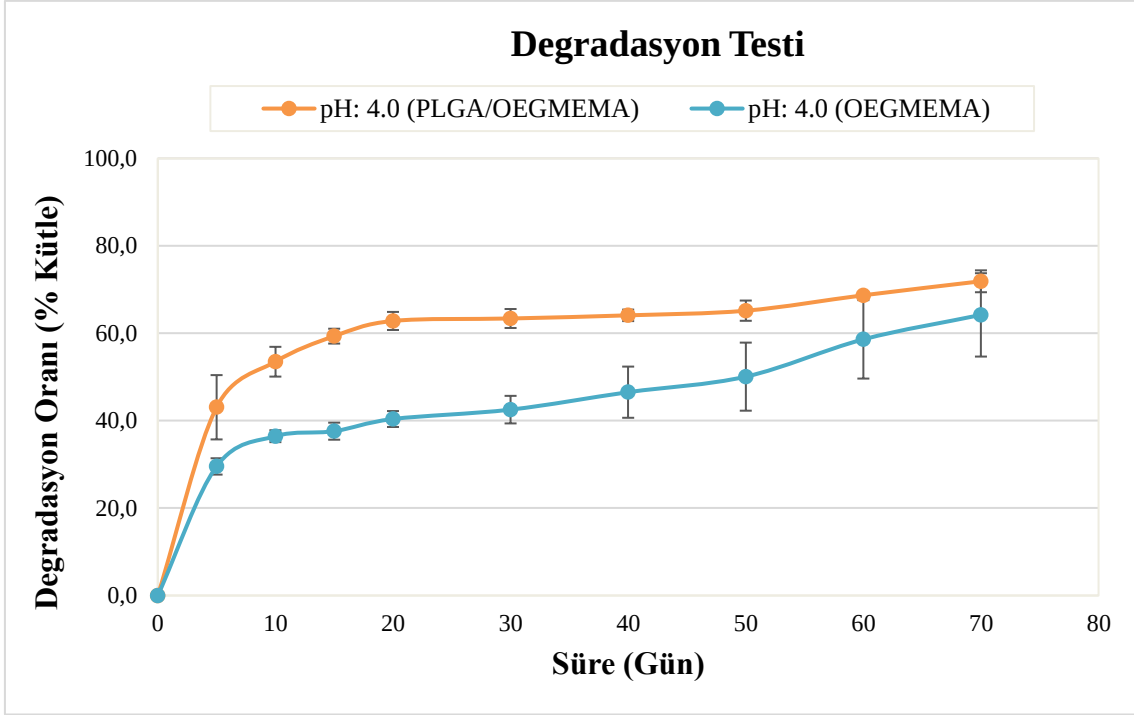


Şekil 4.1 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları.

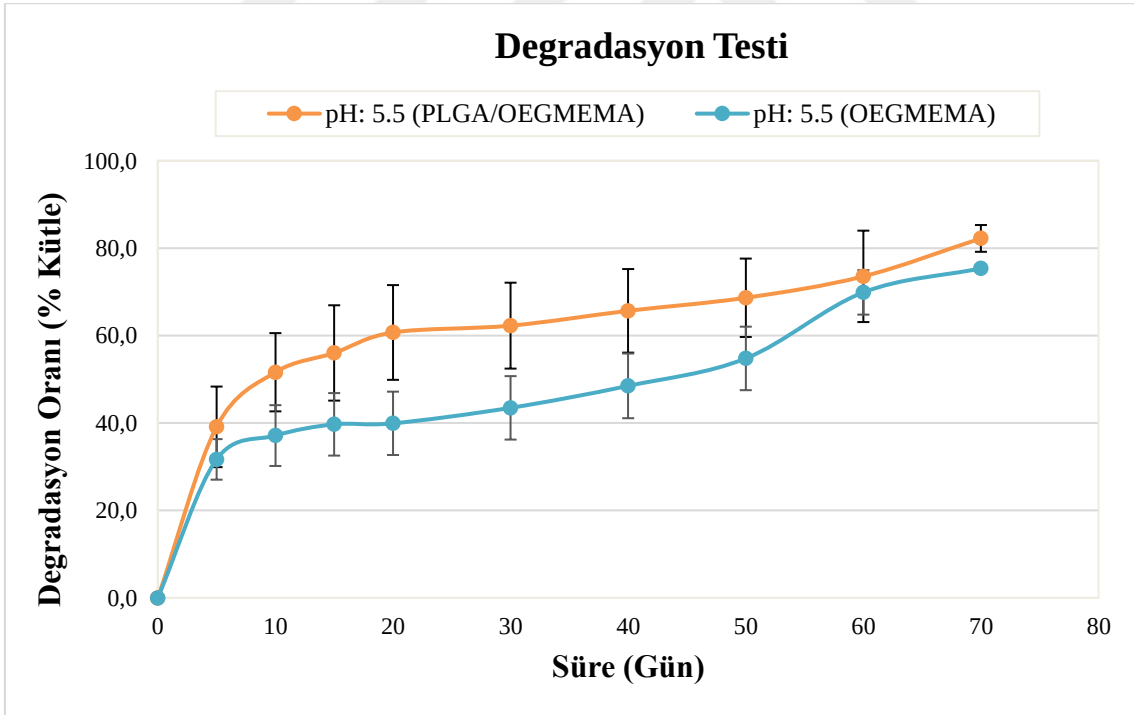


Şekil 4.2 OEGMEMA doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları.

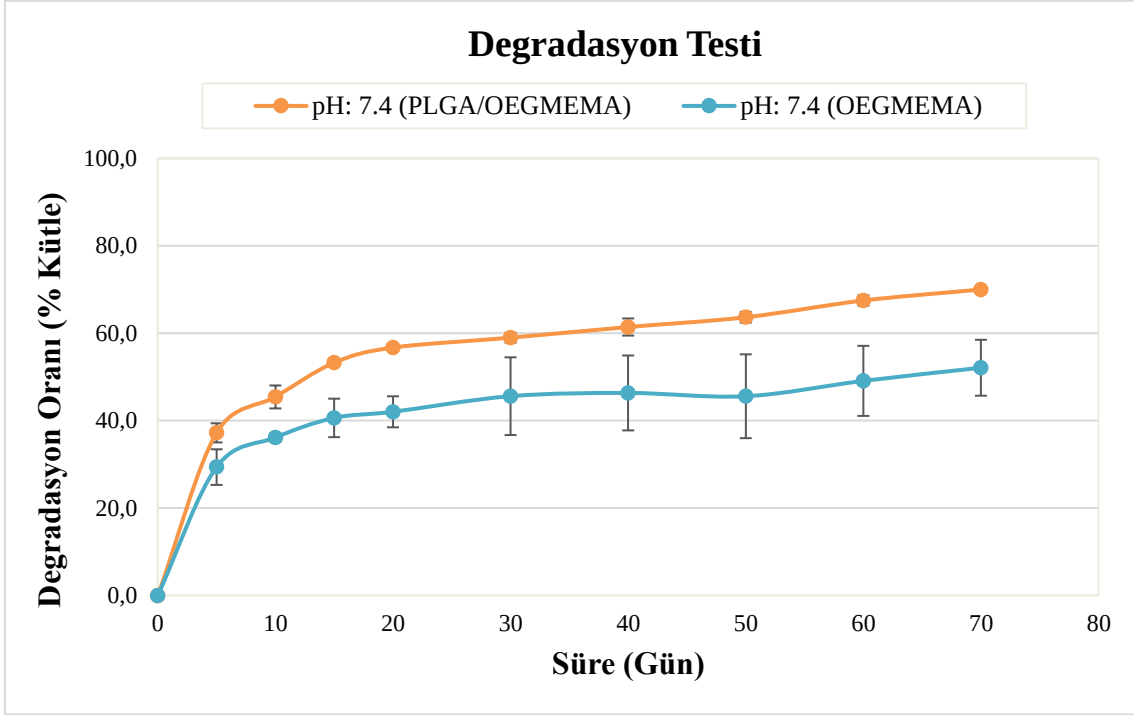
PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri her pH grubu için birbirleriyle kıyaslandığı zaman, pH'a bağlı degradasyon oranları arasında önemli farklar gözlemlenmiştir. PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde pH: 4,0'da, 70. günün sonunda %70 kütle kaybı gözlemlenirken, aynı günün sonunda OEGMEMA doku iskelelerinde %65 kütle kaybı gözlemlenmiştir. Aynı şekilde, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde pH: 5,5'te, 70. günün sonunda %80 kütle kaybı gözlemlenirken, aynı günün sonunda OEGMEMA doku iskelelerinde %75 kütle kaybı gözlemlenmiştir. Son olarak, pH: 7,4'te, 70. günün sonunda PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde %70 kütle kaybı gözlemlenirken, aynı günün sonunda OEGMEMA doku iskelelerinde %50 kütle kaybı gözlemlenmiştir. 50. günden sonra, asidik ortamda OEGMEMA doku iskelelerinin degradasyon hızı artmış ancak OEGMEMA doku iskeleleri pH: 7,4'te PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla oldukça yavaş bir degradasyon profili göstermiştir. PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin pH'a bağlı degradasyon oranları pH: 4,0, 5,5 ve 7,4 için sırasıyla Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'deki verilerin farklı pH'lardaki karşılaştırması).



Şekil 4.3 Doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları (pH: 4,0).

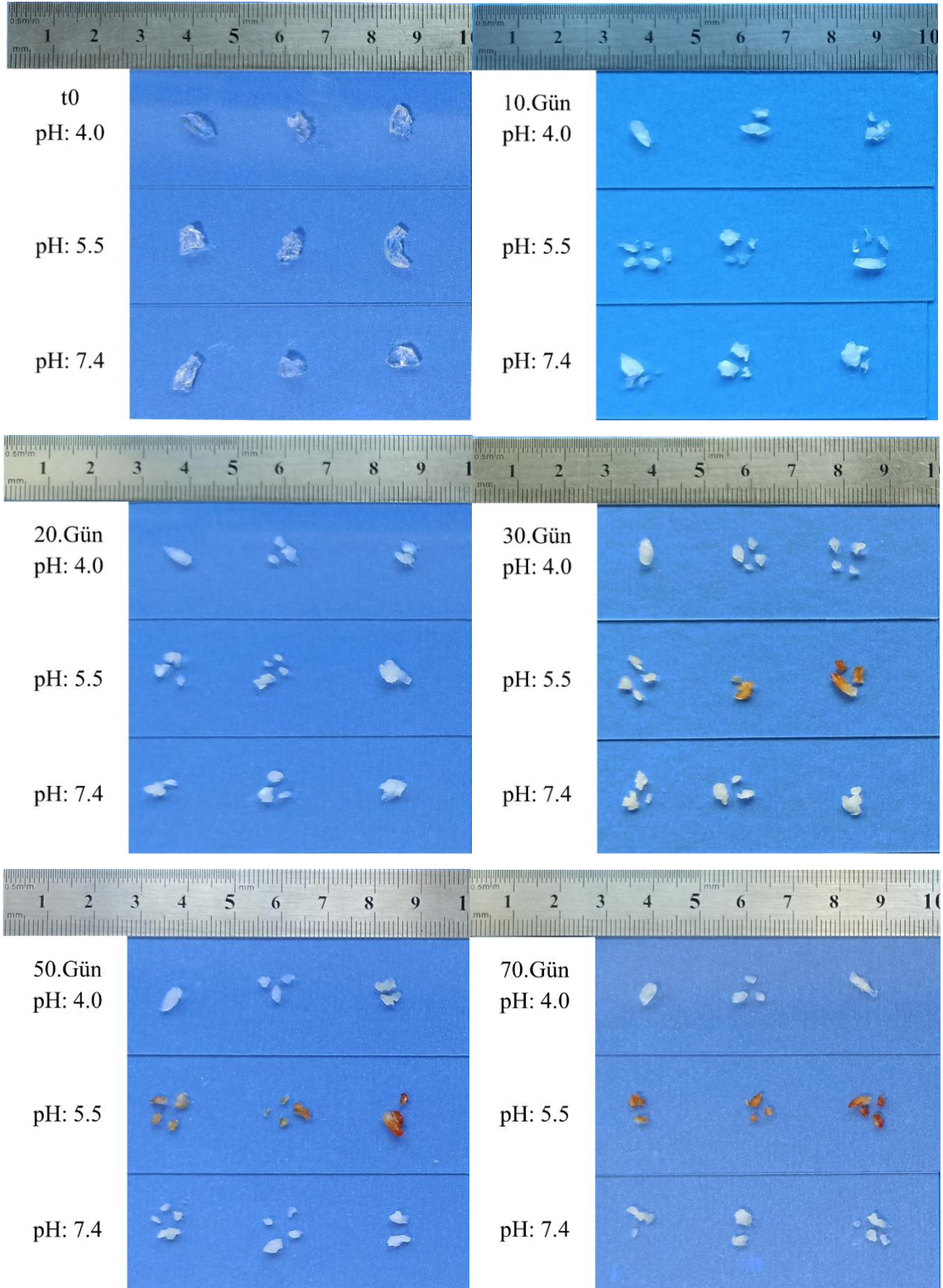


Şekil 4.4 Doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları (pH: 5,5).

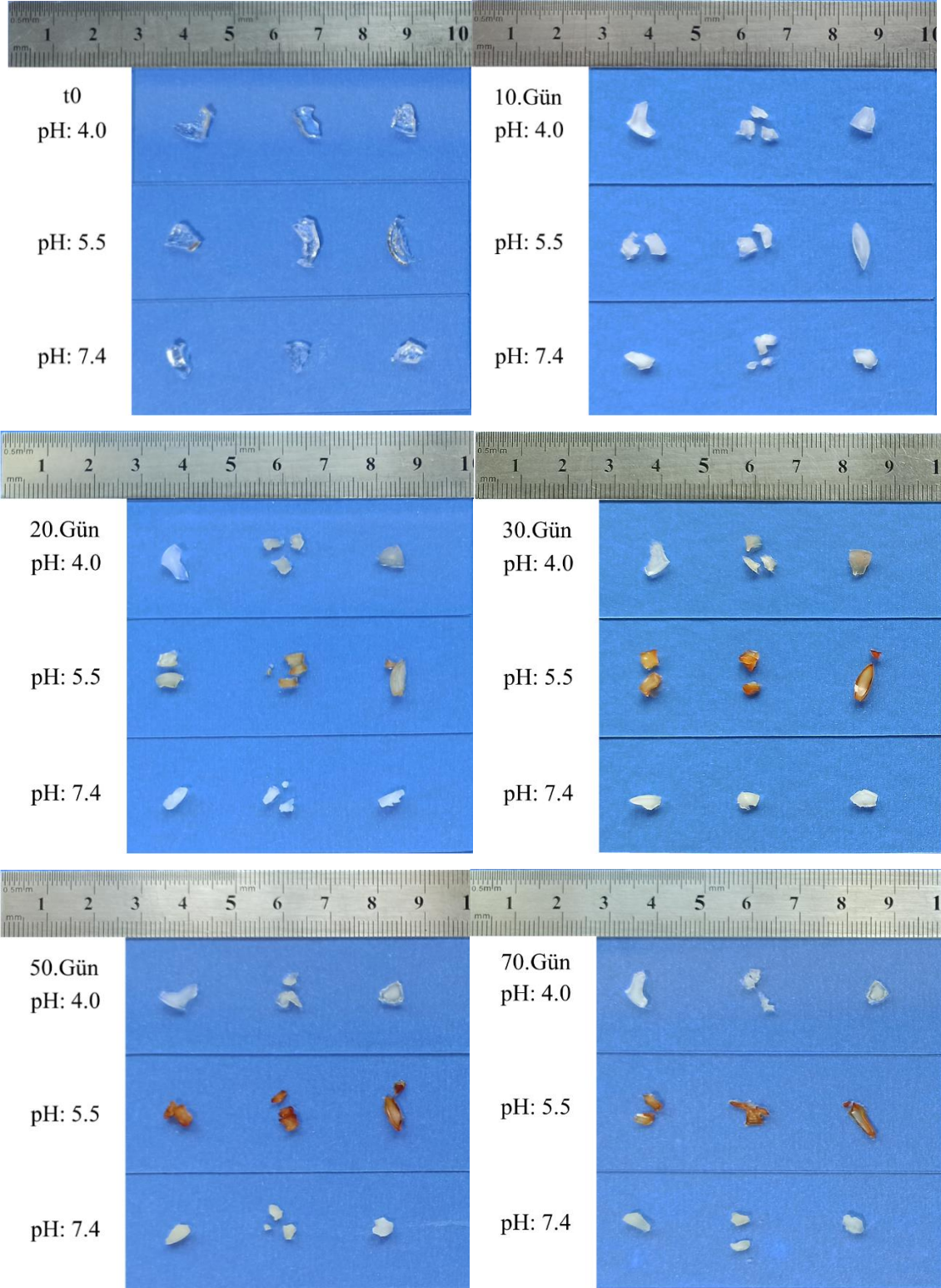


Şekil 4.5 Doku iskelelerine ait degradasyon testi sonuçları (pH: 7,4).

PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı degradasyon görüntüleri sırasıyla Resim 4.1 ve Resim 4.2’de gösterilmiştir. Doku iskelelerinin t_0 zamanları ile 70. gün görüntüleri kıyaslandığı zaman, zamana bağlı kütle kayıpları açıkça görülmektedir. Aynı zamanda PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin, OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla daha fazla parçalanma gösterdiği belirlenmiştir.



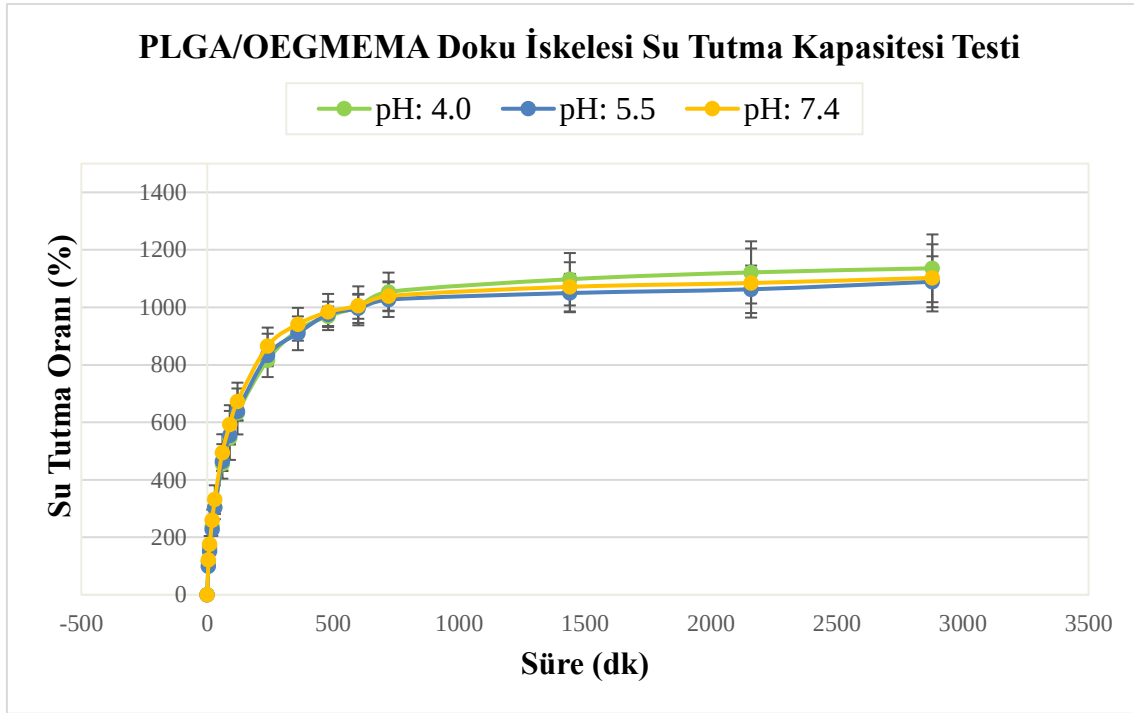
Resim 4.1 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağılı degradasyonu.



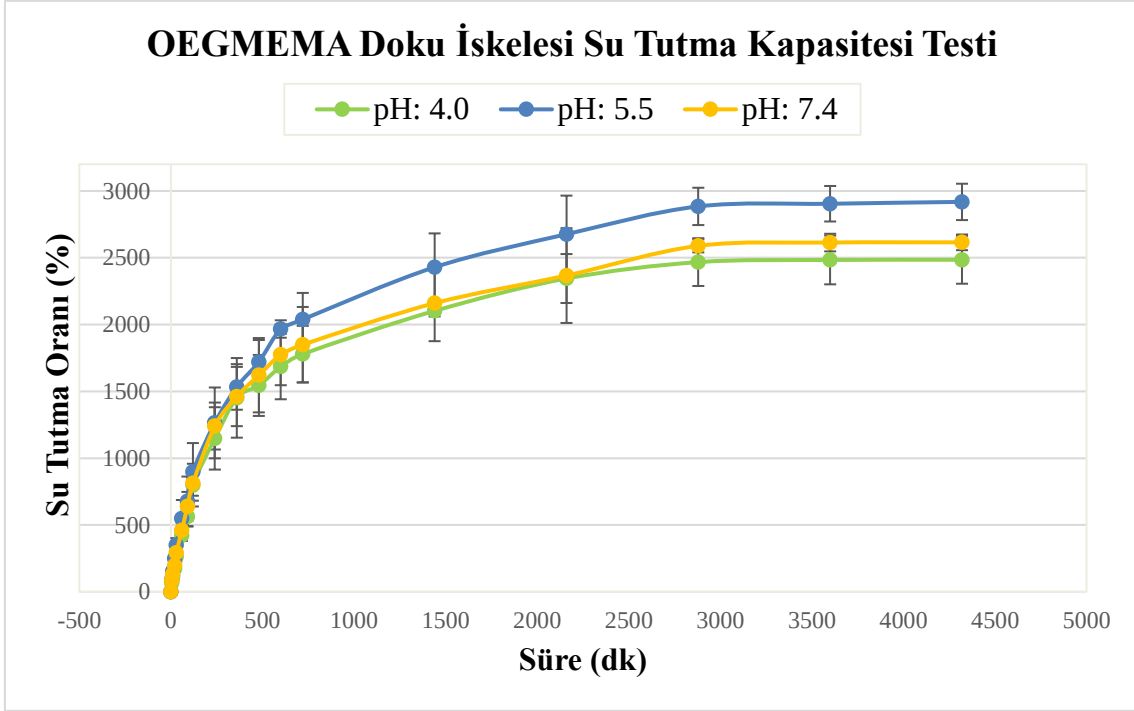
Resim 4.2 OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı degradasyonu.

4.2 Su Tutma Kapasitesine Ait Bulgular

Hidrojel bazlı doku iskelelerinin su tutma kapasiteleri, pH: 4,0, pH: 5,5 ve pH: 7,4 olmak üzere 3 farklı pH'ta incelenmiştir. Doku iskelelerinin su tutma kapasitesi test sonuçlarına ait bulgular Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.6 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları.

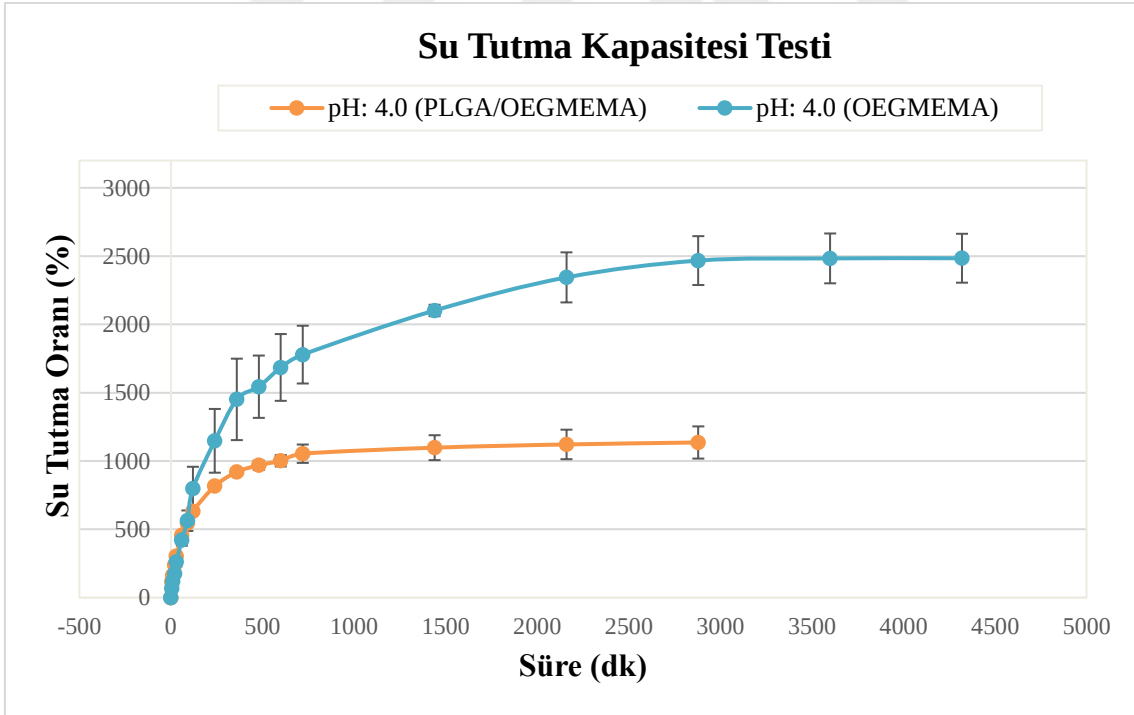


Şekil 4.7 OEGMEMA doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları.

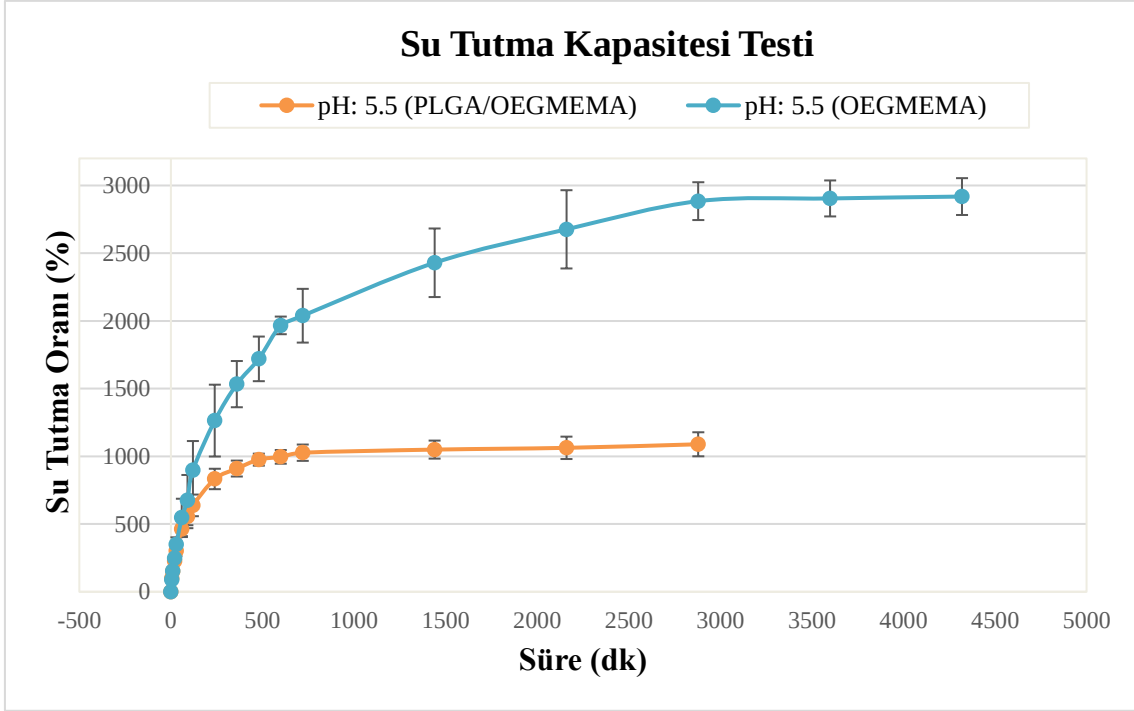
PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin 48 saat, OEGMEMA doku iskelelerinin ise 72 saat boyunca su tutma kapasiteleri gözlemlenmiştir. PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri ilk 5 dakikada %100 su tutma kapasitesine ulaşırken, OEGMEMA doku iskeleleri ilk 10 dakikada %100 su tutma kapasitesine ulaşmıştır. PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri, 12 saatin sonunda yaklaşık %1000 su tutma kapasitesine ulaşarak maksimum su tutma kapasitesi noktasına gelmiştir (Şekil 4.6). OEGMEMA doku iskelelerinde ise bu durum 48 saat boyunca doğrusal artış göstererek yaklaşık %2500 su tutma kapasitesi ile maksimum su tutma kapasitesi noktasına ulaşmıştır (Şekil 4.7).

Her iki grupta da kendi arasında (PLGA/OEGMEMA – OEGMEMA) pH'a bağlı su tutma kapasitesi, kayda değer değişkenlik göstermemiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). Ancak PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri her pH grubu için birbirleriyle kıyaslandığı zaman, pH'a bağlı su tutma kapasitesi oranları arasında önemli farklar gözlemlenmiştir. Örneğin; OEGMEMA doku iskeleleri pH: 4,0'da, 48. saatin sonunda %2467 su tutma oranına sahipken, aynı sürenin sonunda PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin %1135 su tutma oranına ulaşabildiği gözlemlenmiştir. Aynı şekilde, OEGMEMA doku iskeleleri pH: 5,5'te, 48. saatin sonunda %2918 su tutma oranına

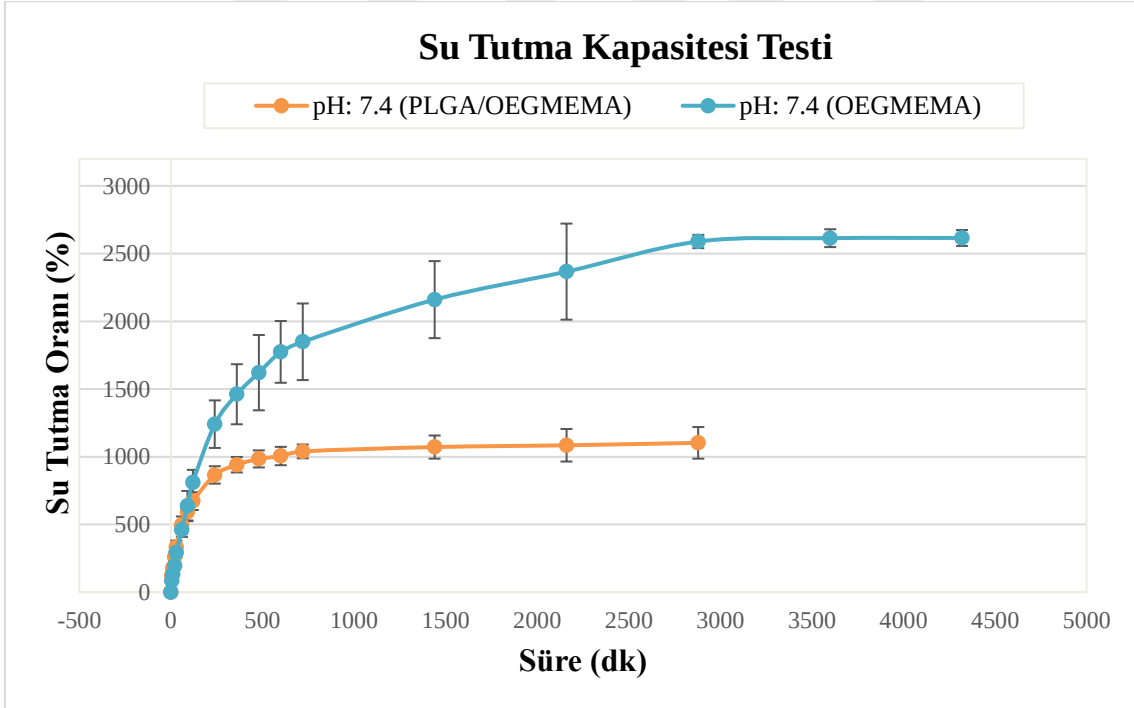
sahipken, aynı sürenin sonunda PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin su tutma oranının %1089 olduğu gözlemlenmiştir. Son olarak, pH: 7,4'te, 48. saatin sonunda OEGMEMA doku iskeleleri %2615 su tutma oranına sahipken, aynı sürenin sonunda PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin su tutma oranının %1102 olduğu gözlemlenmiştir. OEGMEMA doku iskeleleri, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla her pH değerinde yaklaşık 2,5 kat daha fazla su tutma kapasitesi göstermiştir. Bu durum OEGMEMA'nın hidrofilik yapısından kaynaklı sulu ortamda polimer zincirleri arasında kolay şekilde girebilen çözeltiler ile ilişkilendirilmektedir. Sulu ortam, OEGMEMA'nın polimer zincirleri etkileşimlerini tetikleyerek, polimer zincirleri arası itme kuvveti oluşturmakta ve şişme davranışı gözlemlenmektedir (Kleine vd. 2014). OEGMEMA'ya, hidrofobik özellikte olan PLGA'nın dahil edilmesi ise tam tersi etki ile açıklanabilmektedir. PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin pH'a bağlı su tutma oranları pH: 4,0, 5,5 ve 7,4 için sırasıyla Şekil 4.8, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.8 Doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları (pH: 4,0).



Şekil 4.9 Doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları (pH: 5,5).

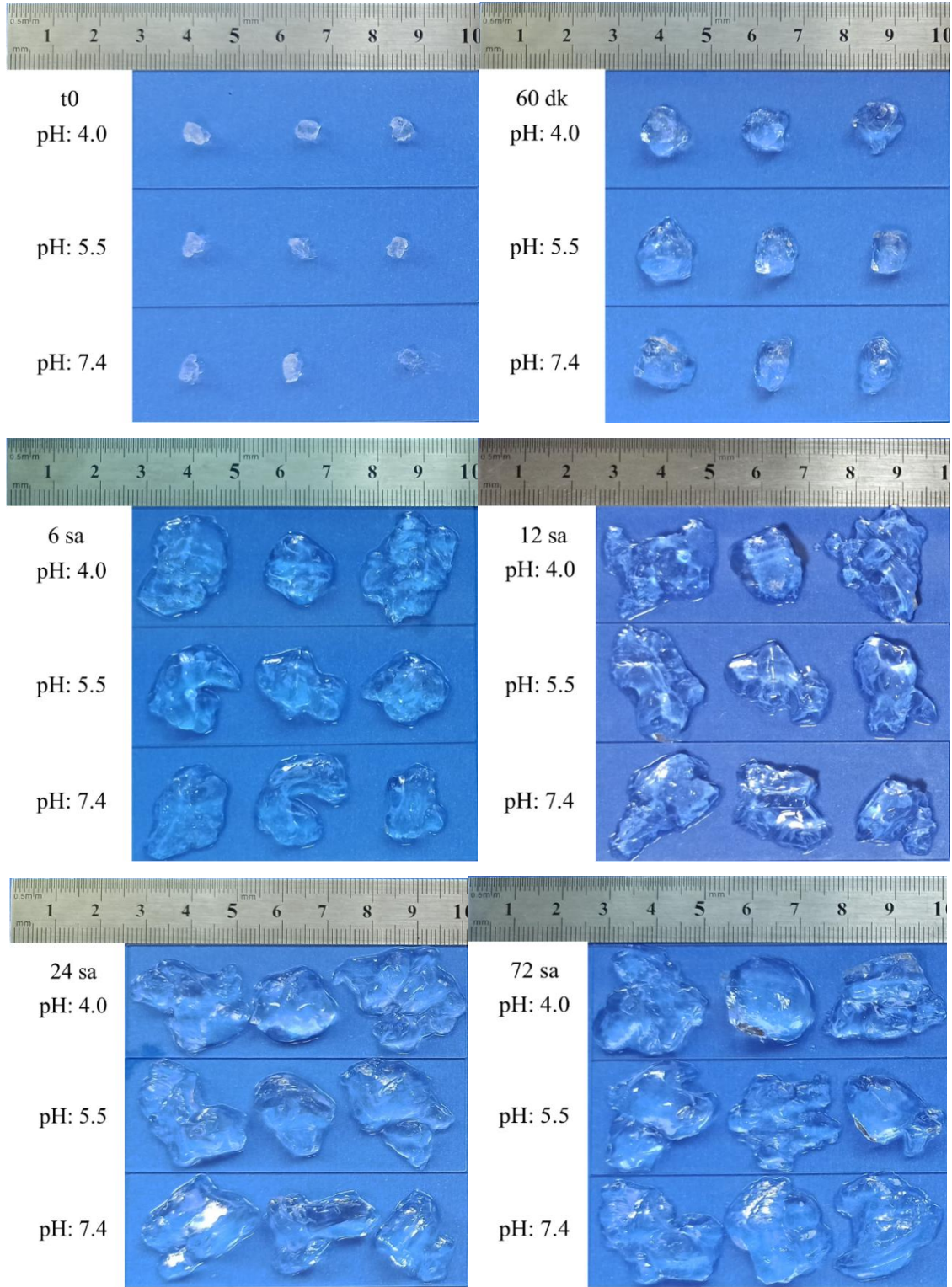


Şekil 4.10 Doku iskelelerine ait su tutma kapasitesi test sonuçları (pH: 7,4).

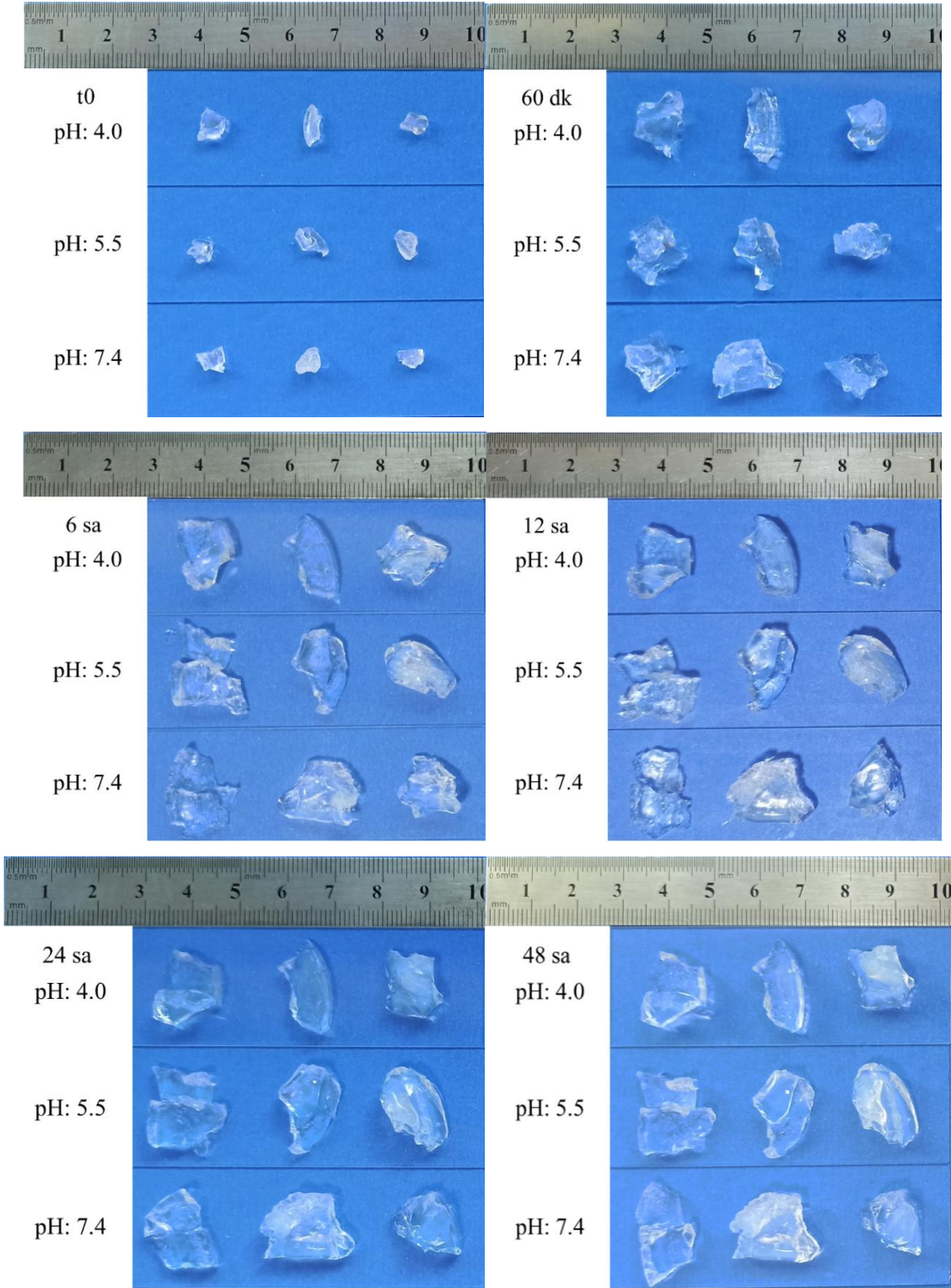
OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı su tutma kapasitesine ait görüntüleri sırasıyla Resim 4.3 ve Resim 4.4'te gösterilmiştir. Doku

iskelelerinin t_0 anından (başlangıç noktası (kuru halde)) başlayarak zamanla maksimum su tutma kapasitesi noktasına gelinceye kadarki doğrusal olarak hacimsel artışları açıkça görülmektedir. Aynı zamanda OEGMEMA doku iskelelerinin, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla tüm zaman noktalarında yaklaşık 2,5 kat daha fazla su tutma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir.





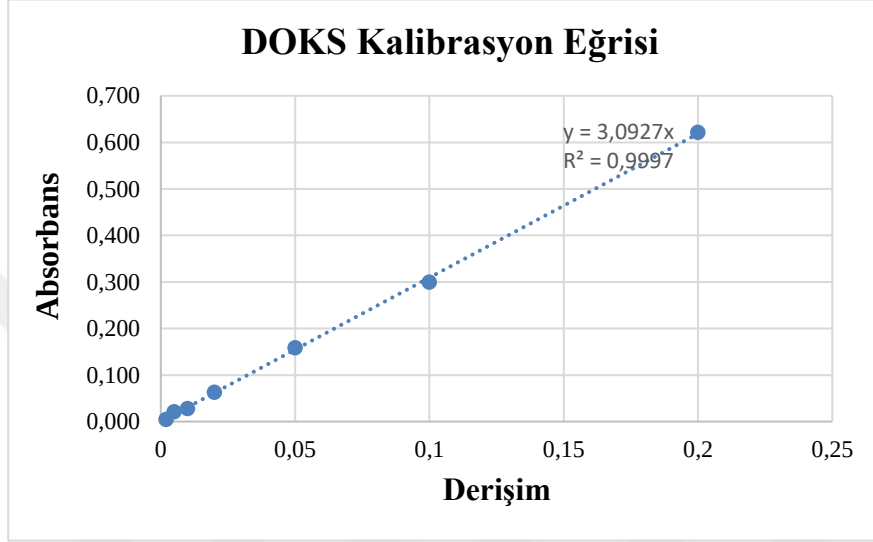
Resim 4.3 OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağı su tutma kapasitesi.



Resim 4.4 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağı su tutma kapasitesi.

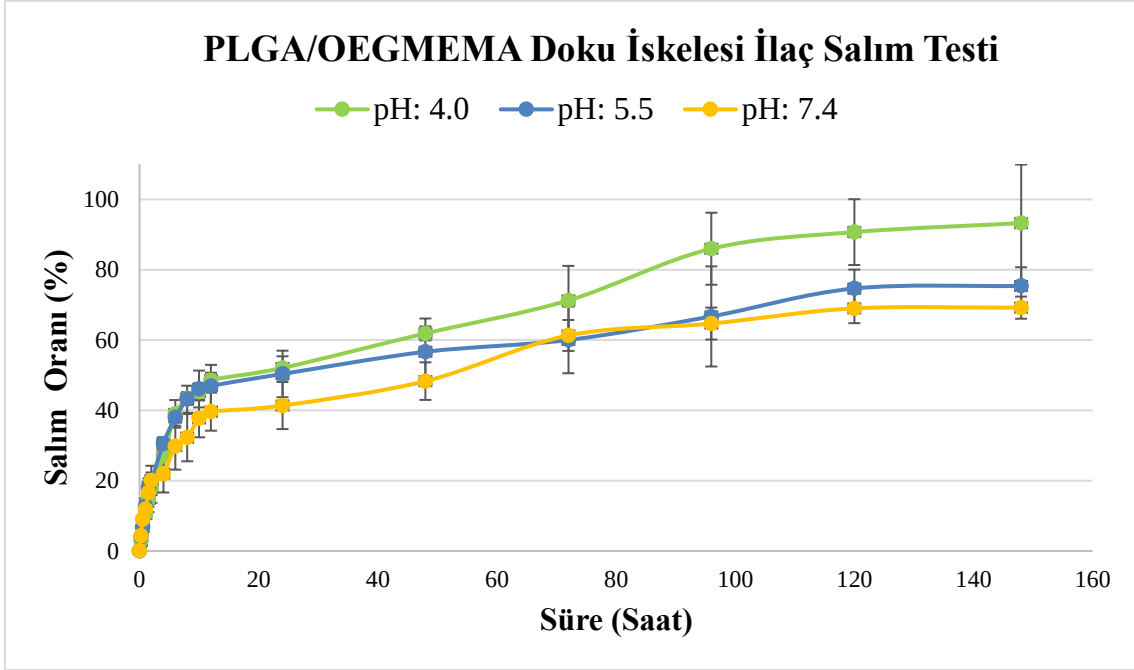
4.3 İlaç Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

Doku iskelelerinden zamana bağlı DOKS salım miktarı, DOKS'un kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklem ile hesaplanmıştır. DOKS'a ait kalibrasyon eğrisi Şekil 4.11'de gösterilmiştir.

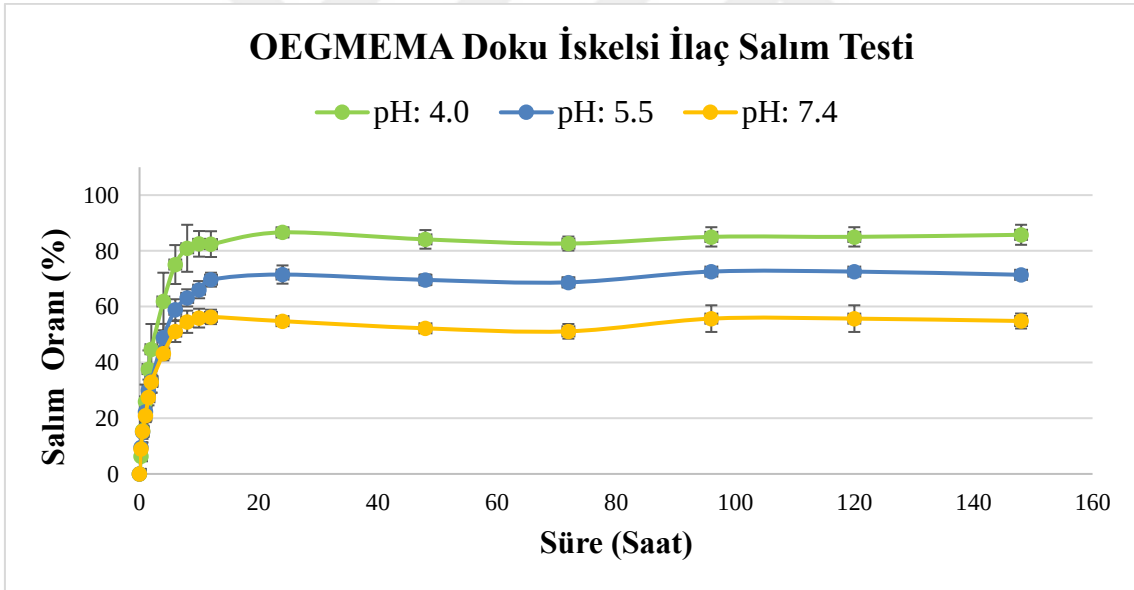


Şekil 4.11 DOKS ilacına ait kalibrasyon eğrisi.

DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinden zamana bağlı DOKS salımı pH: 4,0, pH: 5,5 ve pH: 7,4 olmak üzere 3 farklı pH'ta incelenmiştir. Doku iskelelerinin salım testi sonuçlarına ait bulgular Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir.



Şekil 4.12 PLGA/OEGMEMA doku iskelesi salım testi sonuçları.

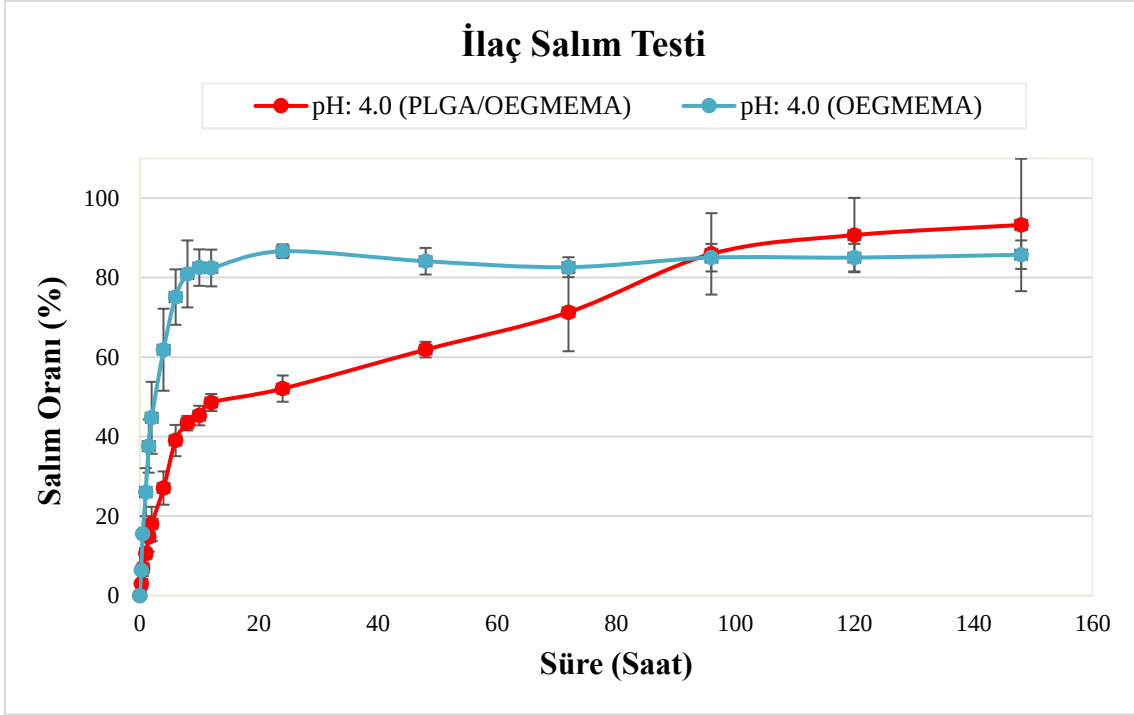


Şekil 4.13 OEGMEMA doku iskelesi salım testi sonuçları.

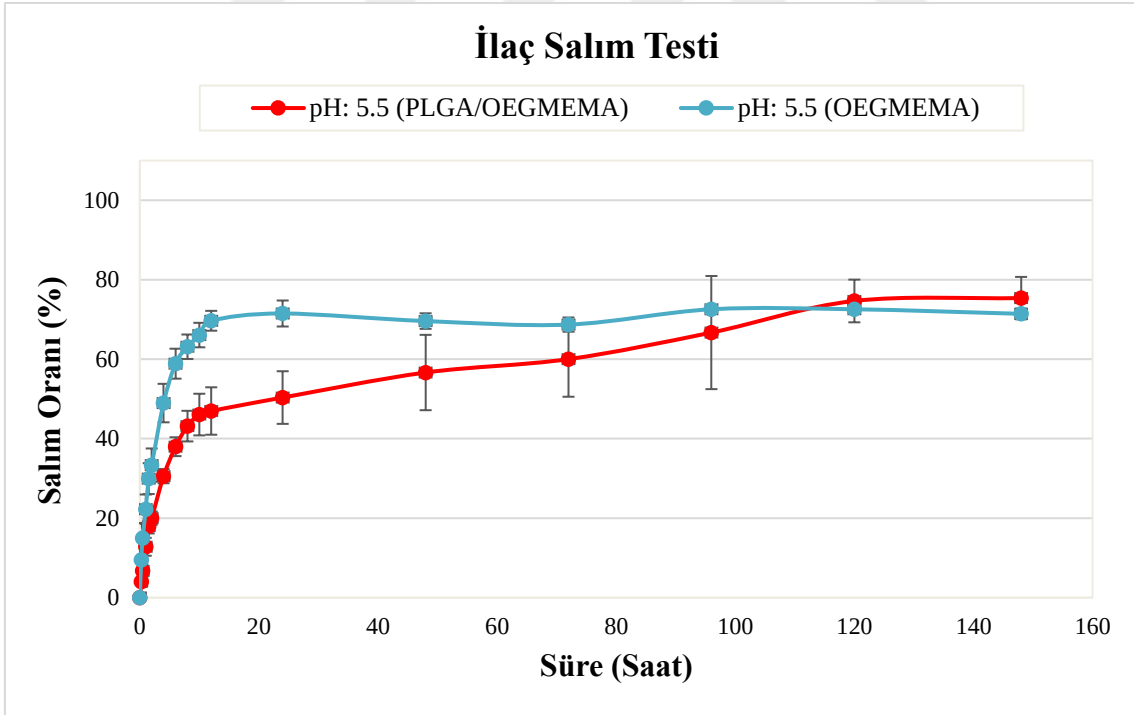
DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin salım çalışmaları test sonuçlarına göre, her iki doku iskelesi de ilk 12 saatte hızlı salım profili sergilemiştir (Şekil 4.12, Şekil 4.13). Ancak DOKS yüklü OEGMEMA doku iskeleleri, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla ilk 12 saatte daha hızlı salım profili sergilemiştir. DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri ilk 12 saatte içerdiği DOKS'un %46'sını (pH: 4,0) salarken, DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelelerinde bu

oran ilk 12 saatte %82 düzeyine (pH: 4,0) çıkmıştır. OEGMEMA doku iskelelerinde 24. saatten sonra ilaç salım oranında bir artış gözlemlenmezken PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri 148. saate kadar doğrusal artış gösteren salım profili sergilemiştir. OEGMEMA'nın hidrofilik yapısından kaynaklı hızlı ve yüksek su tutma kapasitesi oranları, ilk salımı hızlandırmakta ancak maksimum su tutma kapasitesi noktasına gelen OEGMEMA, salımın durmasına sebep olmaktadır. PLGA'nın biyobozunurluğu ise zamana bağlı sürekli salım profili sergilenmesine olanak tanır.

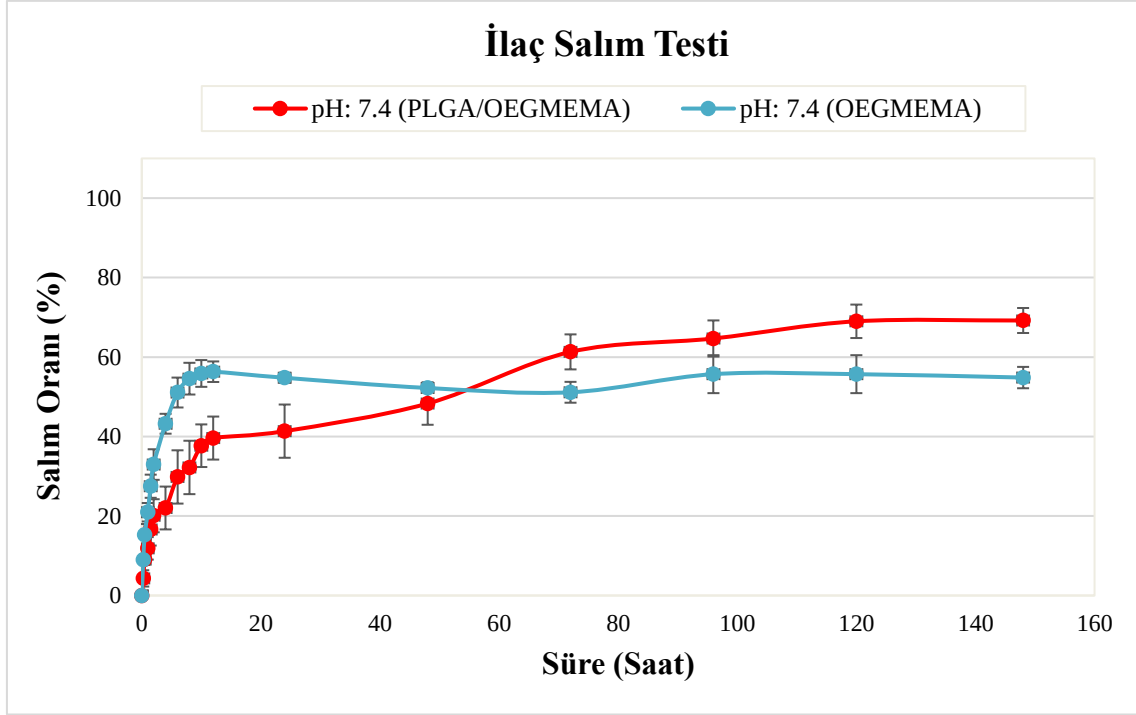
Doku iskelelerinin salım profilleri pH'a bağlı değişim göstermektedir. PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinden salınan DOKS miktarı ortam asitliği ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Örneğin PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri 48 saatte, pH: 7,4'de DOKS'un %48'ini salarken pH: 5,5'te %56'sını, pH: 4,0'da ise %61'ini salmaktadır. Benzer şekilde, OEGMEMA doku iskeleleri de 48 saatte, pH: 7,4'de DOKS'un %52'sini salarken, pH: 5,5'te %69'unu, pH: 4,0'da ise %84'ünü salmaktadır. Bu durum, PLGA ve OEGMEMA polimer zincirlerinin asidik ortamda kırılabilir bağları ile ilişkilendirilebilir. PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin pH'a bağlı ilaç salım oranları pH: 4,0, 5,5 ve 7,4 için sırasıyla Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da gösterilmiştir.



Şekil 4.14 Doku iskelelerinden zamana bağlı salınan DOKS oranı (pH: 4,0).

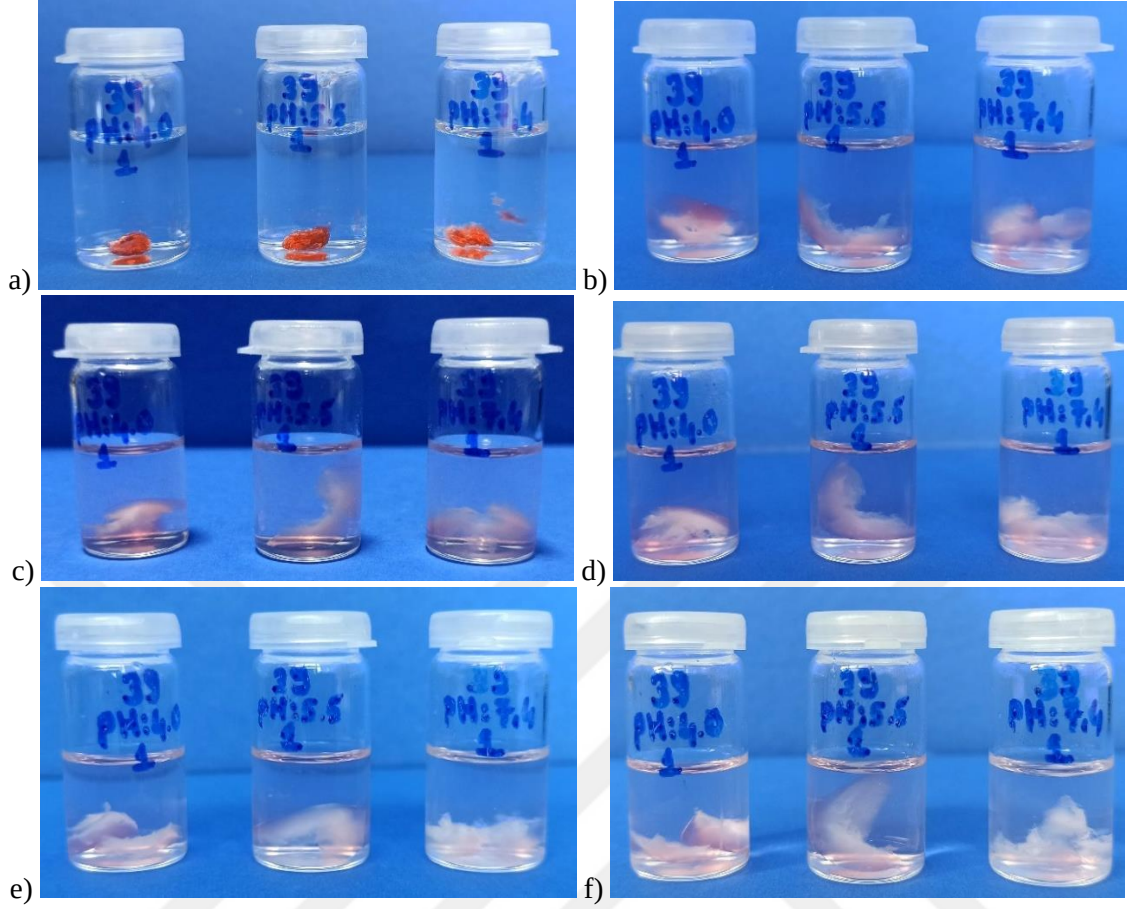


Şekil 4.15 Doku iskelelerinden zamana bağlı salınan DOKS oranı (pH: 5,5).



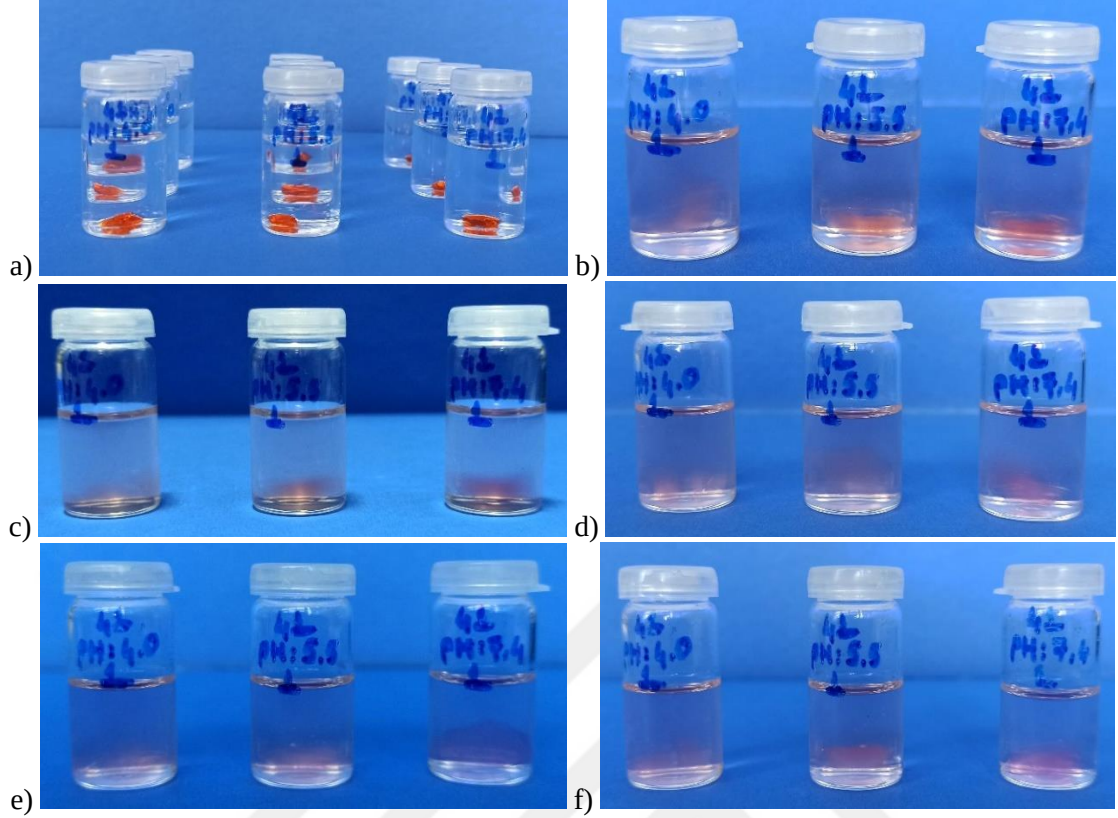
Şekil 4.16 Doku iskelelerinden zamana bağlı salınan DOKS oranı (pH: 7,4).

PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı (6., 12., 24., 96., 148. saatlerde) DOKS salım görüntüleri sırasıyla Resim 4.5 ve Resim 4.6’da gösterilmiştir. Doku iskelelerinin içerisinde bulunduğu çözeltilere renk vermesi, DOKS’un zamana bağlı salımını göstermektedir.



Resim 4.5 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağı DOKS salımı (a) t_0 , b) 6. saat c) 12. saat, d) 24. saat, e) 96. saat, f) 148. saat).

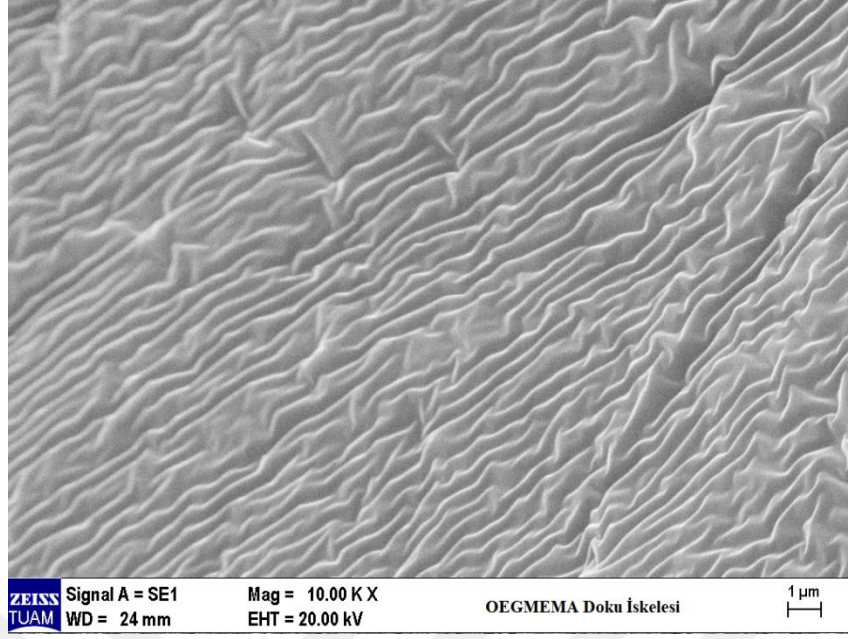
Resim 4.5'te PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağı DOKS'u salması ile giderek şeffaflaşan bir görüntüye sahip olduğu gözlemlenirken, Resim 4.6'da OEGMEMA doku iskelelerinin 24. saatten (c) sonra renk değişimi olmadığı gözlemlenmiştir. Görsellerden de anlaşılan bu durum, doku iskelelerinin ilaç salım profilleri ile de uyumludur.



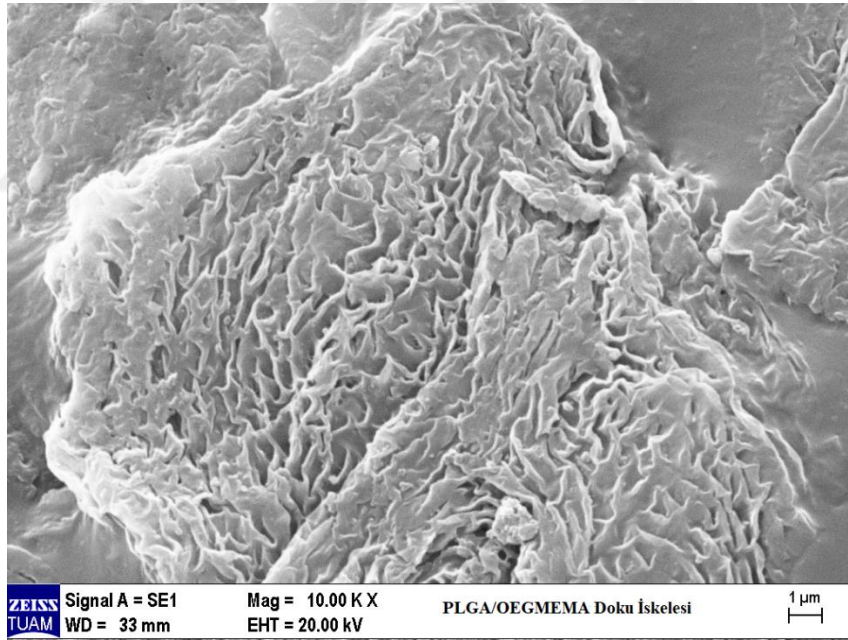
Resim 4.6 OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağı DOKS salımı (a) t_0 , b) 6. saat c) 12. saat, d) 24. saat, e) 96. saat, f) 148. saat.

4.4 Doku İskelelerine Ait SEM Görüntüsü

PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine ait SEM görüntülerine bakıldığı zaman birbirine bağı gözenek yapıları görülmektedir. Ancak OEGMEMA doku iskelelerinde bu gözenek yapıları gözlemlenmemiştir. Bu durum, OEGMEMA doku iskelelerinin düşük viskozite özelliğı göstermesi ile ilişkilendirilebilir. OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine ait SEM görüntüleri sırasıyla Resim 4.7 ve Resim 4.8’de gösterilmiştir.



Resim 4.7 OEGMEMA doku iskelelerine ait SEM görüntüsü.

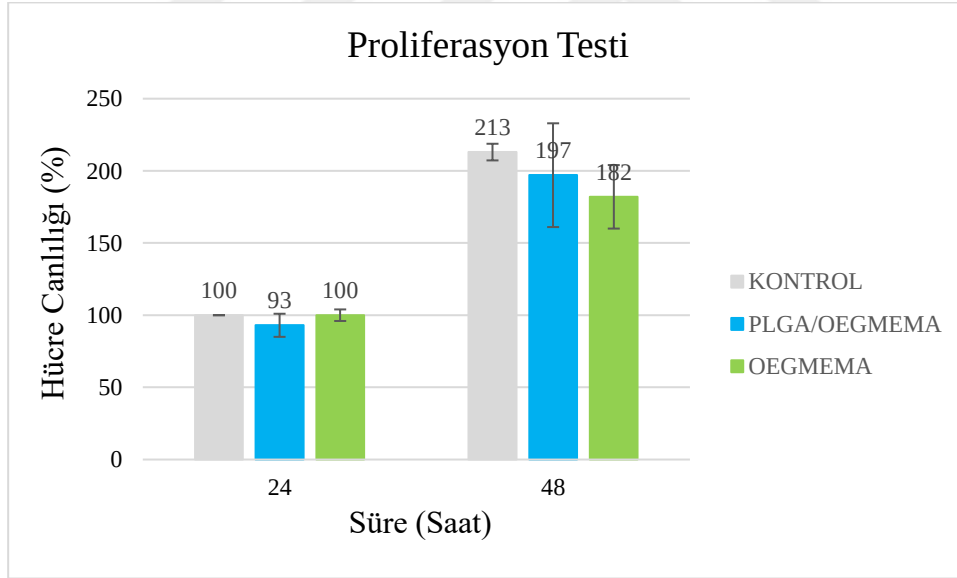


Resim 4.8 PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine ait SEM görüntüsü.

4.5 Proliferasyon Testine Ait Bulgular

İlaç yüklü doku iskeleleri ile sitotoksosite testi yapmadan önce ilaç yüklü olmayan PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin toksisitelerini değerlendirmek amacıyla HT-29 hücrelerinin canlılığı üzerine etkisi, 24. ve 48. saatlerde incelenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.18’de gösterilmiştir.

Sonuçlara bakıldığı zaman; 24. saate, her iki doku iskelesi de (PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri) kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığını önemli ölçüde değiştirmemiştir. İnkübasyonun 48. saatinde ise, HT-29 hücrelerinin doku iskelesi içeren besiyerlerinde çoğalmalarını devam ettirdiği gözlemlenmiştir. Bu sonuç, PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin, HT-29 hücrelerine karşı toksik etki göstermemesi, doku iskelelerinin hücre büyümesini desteklediğini ve biyoyumluluğunu göstermektedir.

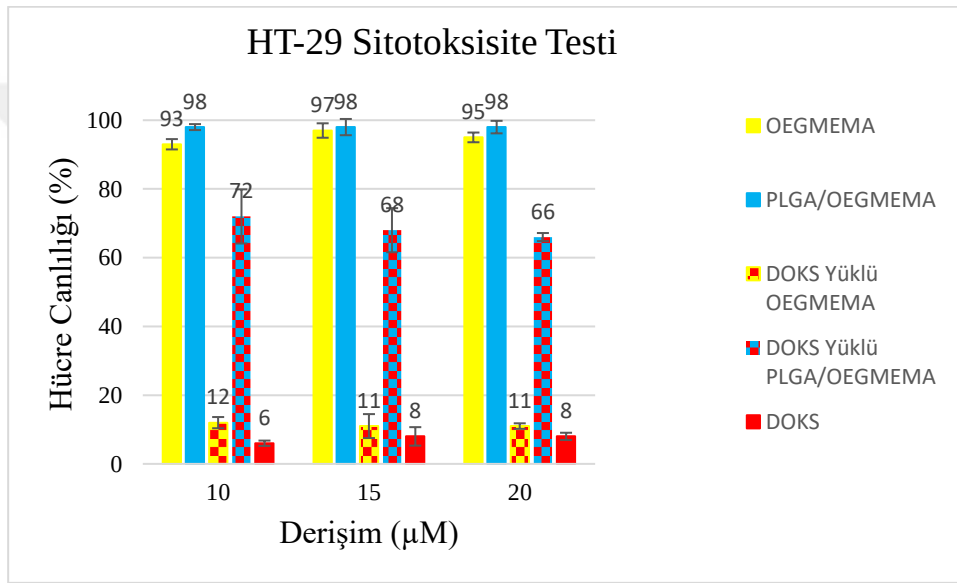


Şekil 4.17 PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri hücre proliferasyonu.

4.6 Sitotoksosite Testine Ait Bulgular

Serbest DOKS, DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA ve DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelelerinin HT-29 ve MCF-7 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi 10, 15 ve 20 μ M olmak üzere üç farklı derişimde, 72 saat inkübasyondan sonra analiz edilmiştir.

HT-29 hücreleri için tedavi grupları; serbest DOKS ile DOKS yüklü, OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri karşılaştırıldığı zaman, DOKS ve DOKS yüklü OEGMEMA doku iskeleleri hücre canlılığını yaklaşık %90 düzeyinde etkileyerek 3 farklı DOKS derişiminde de benzer toksik etki göstermiştir. OEGMEMA doku iskelelerinin hidrofilik yapısından kaynaklı yüksek su tutma kapasitesi oranları (ilk 12 saatte %2000) ve buna bağlı hızlı salım profili de (ilk 12 saatte %80) elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Serbest DOKS ve DOKS yüklü doku iskelelerinin HT-29 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi Şekil 4.18’de gösterilmiştir.

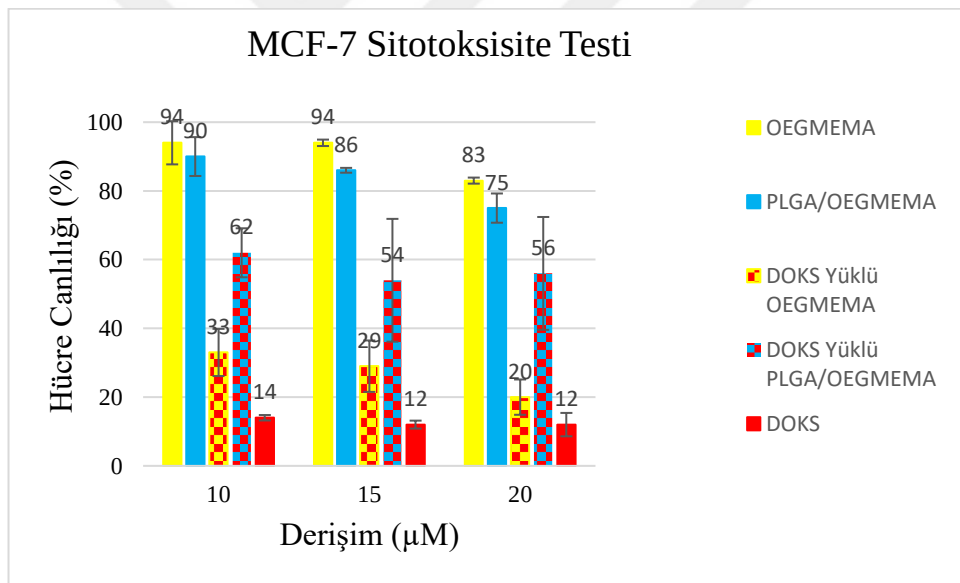


Şekil 4.18 Serbest DOKS ve DOKS yüklü doku iskelelerinin HT-29 hücrelerine karşı sitotoksosite sonuçları.

DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri 72 saatte hücre canlılığını derişime bağlı (sırasıyla 10, 15 ve 20 µM) %72, %68 ve %66’ya düşürebilmiştir. Bu terapötik etki, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerindeki serbest DOKS ve DOKS yüklü OEGMEMA doku iskeleleri ile tedavi edilen gruplarla kıyaslandığında, DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin daha yavaş ve kontrollü salım profili sergilemesi ile ilişkilendirilebilir. Doku iskelelerinin farklı derişimlerde aynı toksisite paterni göstermesi, elde edilen sonuçların tekrar elde edilebilirliğinin kuvvetli bir göstergesidir. Test edilen derişim değerleri birbirine yakın olduğu için derişim grupları arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir.

Aynı zamanda, HT-29 hücrelerinde DOKS içermeyen doku iskelelerinin (OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri) varlığında kontrol grubuna göre benzer hücre canlılığı verilerinin elde edilmesi, doku iskelelerinin biyouyumluluğunu ispatlayan önemli bir sonuçtur.

Serbest DOKS ile DOKS yüklü, OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri ile tedavi edilen MCF-7 hücre grupları karşılaştırıldığı zaman ise serbest DOKS, 72 saatte hücre canlılığını yaklaşık %90 azaltırken DOKS yüklü OEGMEMA doku iskeleleri hücre canlılığını %70-%80 azaltmıştır. DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde ise bu durum, yaklaşık %40-%50 düzeyinde gözlemlenmiştir. Serbest DOKS ve DOKS yüklü doku iskelelerinin MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi Şekil 4.19’da gösterilmiştir.



Şekil 4.19 Serbest DOKS ve DOKS yüklü doku iskelelerinin MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksosite sonuçları.

MCF-7 hücre hattı ile yapılan sitotoksosite sonuçları, HT-29 hücreleri ile yapılan sitotoksosite sonuçları ile benzer şekilde sonuçlanmıştır. DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelelerinin, DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla daha yüksek oranda sitotoksosite göstermesi, OEGMEMA doku iskelelerinin yine daha hızlı salım profiline sahip olması ile ilişkilidir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu tez çalışması kapsamında, cerrahi tedavi sonrası olası nüks problemlerini ortadan kaldıracak veya en aza indirebilecek, lokorejyonel kemoterapi amaçlı DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda, geliştirilen PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin etkinliği, karakterizasyon, biyobozunurluk, su tutma kapasitesi, ilaç salım ve hücre kültür (sitotoksikite ve proliferasyon) testleri ile belirlenmiştir.

Sentezlenen OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin biyoaktivitelerinin değerlendirilmesi için uygun pH ve sıcaklıkta fizyolojik ortamların sağlanması oldukça önemlidir (Li vd. 2020). Çünkü tümör mikro ortamı, fizyolojik ve metabolik olarak normal sağlıklı doku mikro ortam koşullarına göre farklılık göstermektedir. Kanser hücreleri normal hücrelere oranla daha fazla nükleik asit üretme eğilimi göstererek düzensiz pH ortamlarının oluşumuna sebep olmaktadır (Barar ve Omid 2013). Sağlıklı dokuların fizyolojik ortam pH koşulları 7,4 iken, tümör mikro ortamının endozomal (pH: 5,0 – 6,0) ve lizozomal (pH: 4,0 – 5,0) fizyolojik koşulları oldukça asidiktir (Ju vd. 2014). Bu sebeple, OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine yapılan tüm testler, 37° C'de (vücut sıcaklığı), sağlıklı doku fizyolojik koşulları (pH: 7,4) ve tümör mikro ortamlarını simüle eden pH koşulları (pH: 4,0-5,5) altında gerçekleştirilmiştir.

İmplant edilebilir doku iskelelerinin biyobozunur özellikte olmaları, ikinci bir cerrahi operasyon ihtiyacı gerektirmemeleri açısından oldukça önemlidir. Doku iskelelerinin degradasyon testleri, Wang ve arkadaşlarının (2012) yaptığı test metodundan uyarlanarak yapılmış ve OEGMEMA-PLGA/OEGMEMA gruplarında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre (tüm pH gruplarındaki en yüksek değer baz alınarak) 50 günün sonunda, PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri ve OEGMEMA doku iskeleleri karşılaştırıldığı zaman PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde yaklaşık %70 kütle kaybı gözlemlenirken, OEGMEMA doku iskelelerinde %55 kütle kaybı gözlemlenmiştir. 70 günün sonunda ise PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde yaklaşık %70-80, OEGMEMA doku iskelelerinde ise %50-75 kütle kaybı gözlemlenmiştir.

PLGA içeren doku iskelelerinin daha hızlı degradasyon oranlarına sahip olması, PLGA'nın biyolojik ortamlarda parçalanabilirlik (biyobozunurluk) özelliğinden kaynaklanmaktadır. Kumar ve arkadaşları (2019), PLGA oranının PLGA/PCL doku iskelesinin degradasyon hızına etkisini incelemiş ve PLGA oranı arttıkça degradasyon oranlarının arttığını gözlemlemişlerdir (Kumar vd. 2019).

Aynı zamanda PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri her pH grubu için birbirleriyle kıyaslandığı zaman, pH'a bağlı degradasyon oranları arasında önemli farklar gözlemlenmiştir. PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri tüm pH gruplarında OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla daha fazla degradasyon oranı göstermiştir. Bu oran 70. günün sonunda pH: 4,0'da PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde %70 (kütle kaybı oranı) iken OEGMEMA doku iskelelerinde %65'tir. Aynı şekilde, 70. günün sonunda pH: 5,5'te PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri %80 bozunma oranına sahipken, OEGMEMA doku iskelelerinin aynı sürenin sonunda %75 degradasyon oranına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Son olarak, pH: 7,4'e bakıldığı zaman, 70. günün sonunda PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde %70'lik bir kütle kaybı gözlemlenirken, OEGMEMA doku iskelelerinde %50 kütle kaybı gözlemlenmiştir. Sonuçlara bakıldığı zaman, PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri tüm pH değerlerinde OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla daha yüksek oranda biyobozunur özellik göstermiştir. Ancak 50. günden sonra asidik ortamdaki OEGMEMA doku iskeleleri de kütle kayıplarında önemli artışlar göstererek degradasyon hızını arttırmıştır. Bu durum OEGMEMA doku iskelelerinin asidik ortamdaki kırılabilir polimer zincirleri ile ilişkilendirilebilir.

Doku iskelelerinin su tutma kapasitesi testleri, Li ve arkadaşlarının (2021) yaptığı test metodundan uyarlanarak yapılmış ve OEGMEMA-PLGA/OEGMEMA gruplarında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri %100 su tutma kapasitesine ilk 5 dakikada ulaşırken, OEGMEMA doku iskeleleri %100 su tutma kapasitesine ilk 10 dakikada ulaşmıştır. Her iki doku iskelesi de zamana bağlı artış gösteren su tutma davranışı sergilemiştir. PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri, %1000 oranla maksimum su tutma kapasitesine 12 saatin sonunda ulaşırken OEGMEMA doku iskeleleri %2500 oranla maksimum su tutma kapasitesine 48 saatin

sonunda ulaşmıştır. Sonuçlarda, OEGMEMA doku iskelelerinin PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla 2,5 kat daha fazla su tutma kapasitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, OEGMEMA'nın hidrofilik özelliği ile açıklanabilmektedir (Kleine vd. 2014). Aynı zamanda PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri, içerdiği hidrofobik PLGA sebebiyle OEGMEMA doku iskeleleri ile kıyaslandığında daha kısa sürede maksimum su tutma kapasitesine ulaşmıştır. OEGMEMA doku iskeleleri ise %100 hidrofilik yapıda olduğundan, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine göre çok daha yüksek oranda su tutma kapasitesi göstermiştir. Her iki grupta da kendi arasında (PLGA/OEGMEMA – OEGMEMA) pH'a bağlı su tutma kapasitesi, kayda değer değişkenlik göstermemiştir. Ancak PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri her pH grubu için birbirleriyle kıyaslandığı zaman, pH'a bağlı su tutma kapasiteleri arasında önemli farklar gözlemlenmiştir. OEGMEMA doku iskeleleri, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine kıyasla her pH değerinde (pH: 4,0, 5,5, 7,4) yaklaşık 2,5 kat daha fazla su tutma davranışı sergilemiştir.

Literatüre bakıldığı zaman, Xiang ve arkadaşları (2020) da benzer şekilde hidrofilik yapıdaki jelatin metakrilat (GelMA) polimeri ile PLGA entegrasyonu sonucu doku iskeleleri elde etmişlerdir. Elde edilen doku iskelelerinin su tutma kapasitesi test sonuçlarına göre, jelatin metakrilat doku iskeleleri %500 maksimum su tutma oranına ulaşırken bu oran PLGA/GelMA doku iskelelerinde %350'dir (Xiang vd. 2020). Benzer şekilde, Li ve arkadaşlarının (2021) yaptığı çalışmada hidrofilik yapıya sahip PEG oranının artması ile doğru orantılı olarak su tutma kapasitesinde artış gözlemlenmiştir (Li vd. 2021). Akter ve arkadaşları da (2014), sentezledikleri kitosan ve aljinat içeren biyobozunur kompozit filmlerin su tutma kapasitesini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlar incelendiği zaman hidrofobik yapıdaki kitosan filmlere, hidrofilik yapıdaki nişastanın dahil edilmesi ile entegre filmlerin su tutma kapasitesinin yaklaşık 1,5 katına çıktığı gözlemlenmiştir (Akter vd. 2014). Bu doğrultuda tez çalışması kapsamında, hidrofilik yapıdaki doku iskelelerinin hidrofobik yapıdaki doku iskelelerine kıyasla yüksek su tutma kapasitesine sahip olması, literatürle benzerlik göstermektedir.

Doku iskelelerinin ilaç salım testleri, Wu ve arkadaşlarının (2019) yaptığı test metodundan uyarlanarak yapılmış ve DOKS yüklü, OEGMEMA-PLGA/OEGMEMA gruplarında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, DOKS yüklü, PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinden ilk 12 saatte ani salım gerçekleşmiştir. DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri 12 saatin sonunda (tüm pH gruplarındaki en yüksek değer baz alınarak) pH: 4,0'da içerdiği DOKS miktarının %46'sını salmıştır. DOKS yüklü OEGMEMA doku iskeleleri ise ilk 12 saatte içerdikleri DOKS miktarının %82'sini (pH: 4,0) salarak ilacın büyük bir kısmını ani salım esnasında salmıştır. 24. saatte bu oran PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinde %50'ye çıkmış ve 148 saat boyunca zamana bağlı doğrusal artış gösteren sürekli salım profili sergilemiştir. Ancak OEGMEMA doku iskeleleri 24. saatin sonunda DOKS'un %86'sını salmış ve diğer zaman noktalarında herhangi bir artış göstermemiştir. Bu durum, OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin suda gösterdikleri şişme davranışları ile ilişkilendirilmektedir. OEGMEMA doku iskeleleri, daha hızlı ve daha yüksek oranda şişme davranışı gösterdiğinden, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerine göre daha hızlı ve yüksek oranda ilaç salımı gerçekleştirmiştir. Aynı zamanda PLGA'nın biyobozunur yapısı, ilaç salım profilini uzun vadede sürekli kılmaktadır. Bu sonuç, nüksün uzun vadede tekrarlanmasının engellenmesi açısından arzu edilen bir davranıştır.

Ani salım, ilaçların ortama verildiği anda kontrol edilemeyen salım profillerini kapsamaktadır. Kemoterapötik ajanların hızlı ve erken salımı, yüksek ilaç derişimlerinin ani verilmesine sebep olarak yüksek toksisitelere yol açmaktadır. Bu da mevcut tedavi yöntemlerinin etkinliğini azaltmaktadır. Buna bağlı olarak, ilaç salım profillerinin kontrol altına alınması, uzun vadede sürekli salım profillerinin elde edilmesi tedavi etkinliğini arttıracaktır (Yoo ve Won 2020). Pakulska ve arkadaşları (2016), proteinleri PLGA nanoparçacıkların içerisine kapsülleyerek hidrojel aracılı taşıma sistemi geliştirmişlerdir. Elde ettikleri hidrojellerin ilaç salım profillerini, kapsüllenmemiş proteinleri direkt hidrojel içerisine entegre ettikleri grup ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara bakıldığı zaman proteinlerin PLGA ile kapsüllenmesi, ani salımını önemli ölçüde azaltarak sürekli ve kontrollü salım profili sağlamıştır (Pakulska vd. 2016). Zhao ve arkadaşları (2014) ise PLGA-PEG-PLGA

hidrojelleri ile aljinat mikrokürelerinin birleşiminden elde edilen doku iskelelerine 5-FU ve teofilinin yükleyerek salım profilini PLGA-PEG-PLGA, aljinat mikroküreleri ve PLGA-PEG-PLGA/Aljinat mikroküreleri olmak üzere 3 farklı grupta incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, kompozit doku iskeleleri ile salım süreleri 4 ila 6 kata kadar uzatılırken, ani salım oranını %80'den %29'a düşürebilmiştir (Zhao vd. 2014).

PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin salım profilleri, pH grupları arasında önemli farklar ortaya koymuştur. Örnek olarak PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri 48 saatte, pH: 7,4'de DOKS'un %48'ini salarken, pH: 5,5'te %56'sını, pH: 4,0'da ise %61'ini salmaktadır. Benzer şekilde, OEGMEMA doku iskeleleri de 48 saatte, pH: 7,4'de DOKS'un %52'sini salarken, pH: 5,5'te %69'unu, pH: 4,0'da ise %84'ünü salmaktadır. Sonuçlar, PLGA ve OEGMEMA'nın asidik bileşenler yolu ile kırılan polimer zincirleri ile açıklanabilmektedir (Versypt vd. 2013, Moszner vd. 2005). Asidik ortamda artan salım, kanser hücrelerini hedeflemeye oldukça önemli bir sonuçtur. Sasikala ve arkadaşları (2016), demir oksit nanoparçacık ve bortezomib içeren PLGA bazlı implante edilebilir manyetik nanofiber doku iskelesi geliştirmişler ve ilaç salım testleri sonucunda, geliştirilen PLGA bazlı doku iskelelerinin asidik ortama (pH: 5,5) duyarlı salım profili gösterdiğini bildirmişlerdir (Sasikala vd. 2016). Khanal ve arkadaşları (2016) ise, kitosan kaplı PLGA nanoparçacıklarının içerisine diklofenak sodyumu yükleyerek, pH: 5,5 ve 7,4'te ilaç salımlarını incelemiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre, diklofenak sodyumun salımı asidik ortamda %45 daha fazla gözlemlenmiştir (Khanal vd. 2016). Bu doğrultuda tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlara göre, PLGA içeren doku iskelelerinin asidik ortama duyarlı salım profili sergilemesi literatürle benzerlik göstermektedir.

Doku iskelelerinin proliferasyon testleri, Cacicedo vd. (2016) ve Ahearne vd. (2010) nin yaptığı test metodundan uyarlanarak yapılmış ve kontrol (yalnız RPMI), ilaç yüklü olmayan OEGMEMA-PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri gruplarında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. İlaç yüklü olmayan PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerinin sitotoksitelerini değerlendirmek amacıyla HT-29 hücrelerinin proliferasyonu üzerinde etkisi, 24. ve 48. saatlerde incelenmiştir. Testte, 24. saatin kontrol grubunda okunan absorbans değerine göre hücre canlılığı %100 kabul edilmiş

ve buna göre diğer grupların hücre canlılığı hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ilaç yüklü olmayan PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskeleleri, HT-29 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonunun sonunda HT-29 hücrelerinin canlılığını, kontrol grubuna kıyasla neredeyse hiç değiştirmemiştir. İnkübasyonun 48. saatinin sonunda ise HT-29 hücrelerinin, PLGA/OEGMEMA ve OEGMEMA doku iskelelerini içeren besiyerlerinde proliferasyonunu devam ettirdiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar elde edilen doku iskelelerinin biyouyumluluğu açısından önemlidir. Ferjaoui ve arkadaşları (2019), manyetik nanoparçacık içeren 2-(2-methoxy)ethyl methacrylate (MEO2MA) - oligo(ethyleneglycol)methacrylate (OEGMA) nanotaşıyıcıları için MTT analizi uygulamış, 24. ve 72. saatlerde HT-29 hücrelerine karşı sitotoksik etkilerini incelemiştir. Belirlenen inkübasyon süreleri sonunda manyetik nanoparçacık içeren 2-(2-methoxy)ethyl methacrylate (MEO2MA)-oligo(ethyleneglycol)methacrylate (OEGMA) nanotaşıyıcıları HT-29 hücrelerine karşı önemli ölçüde sitotoksik etki göstermemiştir (Ferjaoui vd. 2019).

Doku iskelelerinin sitotoksikite testleri, HT-29 ve MCF-7 hücrelerine karşı, Abedi vd. (2021) nin yaptığı test metodundan uyarlanarak yapılmış ve serbest DOKS, DOKS yüklü OEGMEMA ile PLGA/OEGMEMA ve ilaç içermeyen OEGMEMA ile PLGA/OEGMEMA tedavi gruplarında karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Literatüre göre MCF-7 hücre hattının EC50 değerlerinin yaklaşık 3-4 μM olduğu, HT-29 hücreleri için EC50 değerlerinin ise yaklaşık 0,7-0,8 μM olduğu bilinmektedir (Triantafillu vd. 2019, Lü 2016, Atashpour vd. 2015). Bu doğrultuda, yavaş salım profili gerçekleştirmesi beklenen DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin toksik etkilerini gözlemleyebilmek amacıyla MCF-7 ve HT-29 hücrelerinin EC50 değerlerinden daha yüksek derişimlerde (10, 15 ve 20 μM) ilaç dozları uygulanmıştır. İn-vitro sitotoksikite sonuçlarına göre, 72 saatlik tedaviden sonra her iki hücre hattında da (HT-29 ve MCF-7) serbest DOKS ve DOKS yüklü OEGMEMA doku iskeleleri ile tedavi edilen gruplar hücre canlılığını hızlı bir şekilde azaltırken (ortalama %80) DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri daha yavaş bir toksik etki göstermiştir. Bu durum DOKS yüklü OEGMEMA doku iskelelerinin ani salımına bağlı hızlı terapötik etkisi ve DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin zamana bağlı yavaş ve uzun süreli salım profilleri ile ilişkilendirilebilir.

Literatüre bakıldığı zaman, Yu ve arkadaşları 2015 yılında, nanofiber tabanlı doksorubisin yüklü PLGA/Karbon Nanotüp doku iskeleleri geliştirmişlerdir. Elde ettikleri doku iskelelerinin HeLa hücrelerine karşı toksik etkisini 10, 25 ve 50 µg/mL derişimlerinde değerlendirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, serbest doksorubisin ile tedavi edilen grupta hücre canlılığı yaklaşık %70 azalırken PLGA ilaç formülasyonu 10, 25 ve 50 µg/mL derişimlerinde hücre canlılığını sırasıyla %30, %50 ve %70 oranında azaltarak uzun süreli salım profilini desteklemiştir (Yu vd.2015). Benzer şekilde, Wang ve arkadaşları da 2020 yılında, 3D baskılı sisplatin yüklü PLGA stentleri geliştirmişlerdir. Geliştirilen stentlerin sitotoksitesi SKOV3 ve A2780 hücrelerinde değerlendirilmiştir. Toksikite testi ilk olarak salin, serbest sisplatin, PLGA ve sisplatin yüklü PLGA gruplarında 48 saatin sonunda analiz edilmiştir. Sonuçlar, salin ve PLGA'nın hücre canlılığını değıştirmediğini, sisplatin yüklü PLGA stentlerinin ise serbest sisplatin tedavi grubuna göre hücre canlılığını daha fazla azalttığını göstermektedir. Sisplatin yüklü PLGA stentlerinin hücre canlılığı üzerindeki toksik etkisinin uzun süre devam edip etmediğini görmek amacıyla uygulama süreleri 4 ve 7. günlere uzatılmıştır. 7. günün sonunda sonuçlara bakıldığı zaman, sisplatin yüklü PLGA stentleri tüm gruplara göre maksimum hücre ölümü göstermiştir. Bu sonuç, sisplatin yüklü PLGA stentlerinin sisplatin salımını uzun süre kontrollü yönetebildiğini göstermiştir (Wang vd. 2020). Bu doğrultuda tez çalışması kapsamında elde edilen sitotoksite testi sonuçlarına göre, PLGA'nın salım profilini uzun süre kontrol ederek sitotoksik etkiyi uzun süreler devam ettirebilmesi, literatürle benzerlik göstermektedir.

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin katı tümörlerin tedavisinde lokorejyonel kemoterapi amaçlı kullanımı için uygun bir akıllı ilaç taşıma sistemi olduğu, PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin degradasyon, su tutma kapasitesi, ilaç salımı ve in-vitro hücre kültür testleri ile gösterilmiştir. PLGA/OEGMEMA doku iskelelerinin biyobozunur özellikleri, implante edilebilir ilaç taşıyıcı sistemin çıkarılması için ikinci bir operasyona ihtiyaç duyulmayacağını kanıtlamıştır. Aynı zamanda uzun bozunma profilleri, ilacın lokal olarak hedef bölgede uzun süreler nüks oluşumunu kontrol edebilmesi açısından da önemlidir. Hidrofilik ve hidrofobik yapıların entegresi PLGA/OEGMEMA doku

iskelelerinin su tutma kapasitelerini değiştirerek ilaç salım profilini dengelemiş ve ilacın pH'a bağlı kontrollü salımını mümkün kılmıştır. İn vitro test sonuçları ise kontrollü salım profili, antitümör etkinliği ve biyouyumluluğu kanıtlanmıştır. Geliştirilen DOKS yüklü PLGA/OEGMEMA doku iskeleleri, cerrahi sonrası implante edilebilir, kemoterapötik ajanın lokal uygulaması ile sistemik toksisiteyi önemli ölçüde engelleyebilir ve cerrahi sonrası uzun vadede nüks oluşumuna sebep olabilecek mikro lezyonları inhibe ederek sağ kalım oranlarını iyileştirebilir.

OEGMEMA doku iskeleleri ise hızlı salım profilleri ve kanser hücrelerine karşı yüksek sitotoksik özellik gösterme yetenekleri sayesinde bölgesel olarak ani salım ile hızlı sitotoksik etki gerektiren kanser türlerinde avantaj sağlayabilir. Aynı zamanda, PLGA oranı degradasyon hızını, OEGMEMA oranı ise su tutma kapasitelerini kontrol edebilir ve bu sayede salım hızları yönetilebilir. Böylece kanser türüne bağlı istenen spesifik etki, doku iskelelerinin kolay sentezi sayesinde hızla elde edilebilir.

Cerrahide tümörlerin çıkarılması ile tümör damarları da ortamdan uzaklaşır. Dolayısıyla cerrahi tedavi sonrası sistemik adjuvan tedaviler, EPR etkiden yararlanamaz. Bu sebeple sistemik tedavi etkinliği, cerrahi tedaviden sonra daha da azalmaktadır. Geliştirilen her iki doku iskelesi de (OEGMEMA ve PLGA/OEGMEMA) cerrahi tedavi sonrası katı tümörlerin çıkarıldığı bölgeye implante edilerek sistemik yolla verilen kemoterapötik ajanın getirdiği yan etkileri minimum düzeye indirir ve böylece dezavantajları ortadan kaldırabilir.

6. KAYNAKLAR

- A Baudino T, 2015, Targeted Cancer Therapy: The Next Generation of Cancer Treatment, *Current Drug Discovery Technologies*, 12, 3-20.
- Abedi F, Davaran S, Hekmati M, Akbarzadeh A, Baradaran B, Moghaddam S V, 2021, An Improved Method in Fabrication of Smart Dual-Responsive Nanogels for Controlled Release of Doxorubicin and Curcumin in HT-29 Colon Cancer Cells, *Journal of Nanobiotechnology*, 19, 1-22.
- Abulafi A M, Williams N S, 1994, Local Recurrence of Colorectal Cancer: The Problem, Mechanisms, Management and Adjuvant Therapy, *British Journal Of Surgery*, 81, 7-19.
- Ahearne M, Wilson S L, Liu K K, Rauz S, El Haj A J, Yang Y, 2010, Influence of Cell and Collagen Concentration on The Cell–Matrix Mechanical Relationship in a Corneal Stroma Wound Healing Model, *Experimental Eye Research*, 91, 584-591.
- Ahmad S S, Duke S, Jena R, Williams M V, Burnet N G, 2012, Advances in Radiotherapy, *Bmj*, 345.
- Ahmad Z, Salman S, Khan S A, Amin A, Rahman Z U, Al-Ghamdi Y O, vd., 2022, Versatility Of Hydrogels: From Synthetic Strategies, Classification, And Properties To Biomedical Applications, *Gels*, 8, 167.
- Ahmed E M, 2015, Hydrogel: Preparation, Characterization, and Applications: A Review, *Journal of Advanced Research*, 6, 105-121.
- Akateh C, Black S M, Conteh L, Miller E D, Noonan A, Elliott E, vd., 2019, Neoadjuvant and Adjuvant Treatment Strategies for Hepatocellular Carcinoma, *World Journal of Gastroenterology*, 25, 3704-3721.
- Akhtar M F, Hanif M, Ranjha N M, 2016, Methods of Synthesis of Hydrogels... A Review, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24, 554-559.
- Akter N, Khan R A, Tuhin M O, Haque M E, Nurnabi M, Parvin F, vd., 2014, Thermomechanical, Barrier, and Morphological Properties of Chitosan-

- Reinforced Starch-Based Biodegradable Composite Films, *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 27, 933-948.
- Alconcel S N, Baas A S, Maynard H D, 2011, FDA-Approved Poly (Ethylene Glycol)–Protein Conjugate Drugs, *Polymer Chemistry*, 2, 1442-1448.
- Alghoraibi I, Alomari S, 2018, Different Methods for Nanofiber Design and Fabrication, *Handbook of Nanofibers*, 1-46.
- Alley E, Green R, Schuchter L, 2002, Cutaneous Toxicities of Cancer Therapy, *Current Opinion in Oncology*, 14, 212-216.
- Amini S, Salehi H, Setayeshmehr M, Ghorbani M, 2021, Natural and Synthetic Polymeric Scaffolds Used in Peripheral Nerve Tissue Engineering: Advantages and Disadvantages, *Polymers for Advanced Technologies*, 32, 2267-2289.
- Andersen B L, Shapiro C L, Farrar W B, Crespín T, Wells-Digregorio S, 2005, Psychological Responses to Cancer Recurrence: A Controlled Prospective Study, *Cancer*, 104, 1540-1547.
- Aquib M, Juthi A Z, Farooq M A, Ali M G, Janabi A H W, Bavi S, vd., 2020, Advances in Local and Systemic Drug Delivery Systems for Post-Surgical Cancer Treatment, *Journal of Materials Chemistry B*, 8, 8507-8518.
- Armstrong D K, 2002, Relapsed Ovarian Cancer: Challenges and Management Strategies for A Chronic Disease, *The Oncologist*, 7, 20-28.
- Atashpour S, Fouladdel S, Movahhed T K, Barzegar E, Ghahremani M H, Ostad S N, Vd., 2015, Quercetin Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in CD133+ Cancer Stem Cells of Human Colorectal HT29 Cancer Cell Line and Enhances Anticancer Effects of Doxorubicin, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18, 635.
- Attia M F, Anton N, Wallyn J, Omran Z, Vandamme T F, 2019, An Overview of Active and Passive Targeting Strategies to Improve the Nanocarriers Efficiency to Tumour Sites, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71, 1185-1198.
- Avramović N, Mandić B, Savić-Radojević A, Simić T, 2020, Polymeric Nanocarriers of Drug Delivery Systems in Cancer Therapy, *Pharmaceutics*, 12, 298.

- Balaji A, Vellayappan M V, John A A, Subramanian A P, Jaganathan S K, Supriyanto E, vd., 2015, An Insight on Electrospun-Nanofibers-Inspired Modern Drug Delivery System in The Treatment of Deadly Cancers, RSC Advances, 5, 57984-58004.
- Barar J, Omid Y, 2013, Dysregulated Ph in Tumor Microenvironment Checkmates Cancer Therapy, Bioimpacts: BI, 3, 149.
- Bashir S, Hina M, Iqbal J, Rajpar A H, Mujtaba M A, Alghamdi N A, Wageh S, Ramesh K, Ramesh S, 2020, Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications, Polymers, 12, 2702.
- Baskar R, Lee K A, Yeo R, Yeoh K W, 2012, Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions, International Journal of Medical Sciences, 9, 193-199.
- Bazak R, Hourri M, El Achy S, Hussein W, Refaat T, 2014, Passive Targeting of Nanoparticles to Cancer: A Comprehensive Review of the Literature, Molecular and Clinical Oncology, 2, 904-908.
- Bazak R, Hourri M, El Achy S, Kamel S, Refaat T, 2015, Cancer Active Targeting By Nanoparticles: A Comprehensive Review of Literature, Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 141, 769-784.
- Bo G, Wesslén B, Wesslén K B, 1992, Amphiphilic Comb-Shaped Polymers from Poly (Ethylene Glycol) Macromonomers. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 30, 1799-1808.
- Boone M L, Lawrence J H, Connor W G, Morgado R, Hicks J A, Brown R C, 1977, Introduction to the Use of Protons and Heavy Ions in Radiation Therapy: Historical Perspective, International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics, 3, 65-69.
- Botteri E, Bagnardi V, Rotmensz N, Gentilini O, Disalvatore D, Bazolli B, vd., 2010, Analysis of Local and Regional Recurrences in Breast Cancer After Conservative Surgery, Annals of Oncology, 21, 723-728.
- Bu L L, Yan J, Wang Z, Ruan H, Chen Q, Gunadhi V, vd., 2019, Advances in Drug Delivery for Post-Surgical Cancer Treatment, Biomaterials, 219, 119182.

- Buell J F, Thomas M T, Rudich S, Marvin M, Nagubandi R, Ravindra K V, vd., 2008, Experience With More Than 500 Minimally Invasive Hepatic Procedures, *Annals of Surgery*, 248, 475-486.
- Burg M A, Lopez E D, Dailey A, Keller M E, Prendergast B, 2009, The Potential of Survivorship Care Plans in Primary Care Follow-Up Of Minority Breast Cancer Patients, *Journal of General Internal Medicine*, 24, 467-471.
- Cacicedo M L, León I E, Gonzalez J S, Porto L M, Alvarez V A, Castro G R, 2016, Modified Bacterial Cellulose Scaffolds for Localized Doxorubicin Release in Human Colorectal HT-29 Cells, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 140, 421-429.
- Calori I R, Braga G, De Jesus P D C C, Bi H, Tedesco A C, 2020, Polymer Scaffolds As Drug Delivery Systems, *European Polymer Journal*, 129, 109621.
- Cassileth B R, Volckmar D, Goodman R L, 1980, The Effect of Experience on Radiation Therapy Patients' Desire for Information, *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 6, 493-496.
- Chabner B A, Roberts T G, 2005, Chemotherapy and the War on Cancer, *Nature Reviews Cancer*, 5, 65-72.
- Chavan Y R, Tambe S M, Jain D D, Khairnar S V, Amin P D, 2022, Redefining the Importance of Polylactide-Co-Glycolide Acid (PLGA) in Drug Delivery, in *Annales Pharmaceutiques Françaises*, Elsevier Masson, 80, 603-616.
- Chew S A, Danti S, 2017, Biomaterial-Based Implantable Devices for Cancer Therapy, *Advanced Healthcare Materials*, 6, 1600766.
- Chirani N, Yahia L H, Gritsch L, Motta F L, Chirani S, Farè S, 2015, History and Applications of Hydrogels, *Journal of Biomedical Sciences*, 4, 1-23.
- Ciavarella S, Milano A, Dammacco F, Silvestris F, 2010, Targeted Therapies in Cancer, *Biodrugs*, 24, 77-88.
- Clemons T D, Singh R, Sorolla A, Chaudhari N, Hubbard A, Iyer K S, 2018, Distinction Between Active and Passive Targeting of Nanoparticles Dictate Their Overall Therapeutic Efficacy, *Langmuir*, 34, 15343-15349.

- Coffey J C, Wang J H, Smith M J F, Bouchier-Hayes D, Cotter T G, Redmond H P, 2003, Excisional Surgery for Cancer Cure: Therapy at A Cost, *The Lancet Oncology*, 4, 760-768.
- Cohen P R, Schulze K E, Nelson B R, 2006, Basal Cell Carcinoma with Mixed Histology: A Possible Pathogenesis for Recurrent Skin Cancer, *Dermatologic Surgery*, 32, 542-551.
- Colleoni M, Sun Z, Price K N, Karlsson P, Forbes J F, Thürlimann B, vd., 2016, Annual Hazard Rates of Recurrence for Breast Cancer During 24 Years of Follow-Up: Results from the International Breast Cancer Study Group Trials I to V, *Journal of Clinical Oncology*, 34, 927.
- Collins K, Jacks T, Pavletich N P, 1997, The Cell Cycle and Cancer, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 2776-2778.
- Copeland R A, Pompliano D L, Meek T D, 2006, Drug–Target Residence Time and Its Implications for Lead Optimization, *Nature Reviews Drug Discovery*, 5, 730-739.
- Corrie P G, 2008, Cytotoxic Chemotherapy: Clinical Aspects, *Medicine*, 36, 24-28.
- Coutard H, 1934, Principles of X Ray Therapy of Malignant Diseases, *The Lancet*, 224, 1-8.
- Dai Z, Yang X, Wu F, Wang L, Xiang K, Li P, vd., 2021, Living Fabrication of Functional Semi-Interpenetrating Polymeric Materials, *Nature Communications*, 12, 3422.
- David A R, Zimmerman M R, 2010, Cancer: An Old Disease, A New Disease or Something in Between?, *Nature Reviews Cancer*, 10, 728-733.
- De Graaf N, Van Hilst J, Hilal M A, Besselink M G, 2021, Minimally Invasive Pancreatic Resections, *Ann Surg Oncol*, 28, 4181-4182.
- Delaney G, Barton M, Jacob S, Jalaludin B, 2003, A Model for Decision Making for the Use of Radiotherapy in Lung Cancer, *The Lancet Oncology*, 4, 120-128.
- Devita Jr V T, Chu E, 2008, A History of Cancer Chemotherapy, *Cancer Research*, 68, 8643-8653.

- Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar D S, 2011, Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review, *International Journal of Polymer Science*, 2011.
- Donnaloja F, Jacchetti E, Soncini M, Raimondi M T, 2020, Natural and Synthetic Polymers for Bone Scaffolds Optimization, *Polymers*, 12, 905.
- El-Hammadi M M, Arias J L, 2022, Recent Advances in the Surface Functionalization of PLGA-Based Nanomedicines, *Nanomaterials*, 12, 354.
- Enríquez-Navascués J M, Borda N, Lizerazu A, Placer C, Elosegui J L, Ciria J P, vd., 2011, Patterns of Local Recurrence in Rectal Cancer After A Multidisciplinary Approach, *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 17, 1674-1684.
- Fang L, Zhang W, Wang Z, Fan X, Cheng Z, Hou X, vd., 2019, Novel Mitochondrial Targeting Charge-Reversal Polysaccharide Hybrid Shell/Core Nanoparticles for Prolonged Systemic Circulation and Antitumor Drug Delivery, *Drug Delivery*, 26, 1125-1139.
- Farber S, Diamond L K, Mercer R D, Sylvester Jr R F, Wolff J A, 1948, Temporary Remissions in Acute Leukemia in Children Produced by Folic Acid Antagonist, 4-Aminopteroyl-Glutamic Acid (Aminopterin), *New England Journal of Medicine*, 238, 787-793.
- Fereshteh Z, Fathi M, Bagri A, Boccaccini A R, 2016, Preparation and Characterization of Aligned Porous PCL/Zein Scaffolds As Drug Delivery Systems via Improved Unidirectional Freeze-Drying Method, *Materials Science and Engineering: C*, 68, 613-622.
- Ferjaoui Z, Jamal Al Dine E, Kulmukhamedova A, Bezdetnaya L, Soon Chang C, Schneider R, vd., 2019, Doxorubicin-Loaded Thermoresponsive Superparamagnetic Nanocarriers for Controlled Drug Delivery and Magnetic Hyperthermia Applications, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11, 30610-30620.
- Ferrari S, Palmerini E, 2007, Adjuvant and Neoadjuvant Combination Chemotherapy for Osteogenic Sarcoma, *Current Opinion in Oncology*, 19, 341-346.

- Filippi M, Born G, Chaaban M, Scherberich A, 2020, Natural Polymeric Scaffolds in Bone Regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 474.
- Florczak A, Deptuch T, Kucharczyk K, Dams-Kozłowska H, 2021, Systemic and Local Silk-Based Drug Delivery Systems for Cancer Therapy, *Cancers*, 13, 5389.
- Fukunaga-Johnson N, Sandler H M, Mclaughlin P W, Strawderman M S, Grijalva K H, Kish K E, vd., 1997, Results Of 3D Conformal Radiotherapy in the Treatment of Localized Prostate Cancer, *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 38, 311-317.
- Galmarini D, Galmarini C M, Galmarini F C, 2012, Cancer Chemotherapy: A Critical Analysis of Its 60 Years of History, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 84, 181-199.
- Garber K, 2006, Energy Deregulation: Licensing Tumors to Grow, 312, 1158-1159.
- Garg T, Rath G, Goyal A K, 2015, Biomaterials-Based Nanofiber Scaffold: Targeted and Controlled Carrier for Cell and Drug Delivery, *Journal of Drug Targeting*, 23, 202-221.
- Geng C, Wang S, Wang H, 2021, Recent Advances in Thermoresponsive Oegylated Poly (Amino Acid) S, *Polymers*, 13, 1813.
- Ghossein R A, Bhattacharya S, Rosai J, 1999, Molecular Detection of Micrometastases and Circulating Tumor Cells in Solid Tumors, *Clinical Cancer Research*, 5, 1950-1960.
- Gianfaldoni S, Gianfaldoni R, Wollina U, Lotti J, Tchernev G, Lotti T, 2017, An Overview on Radiotherapy: from Its History to Its Current Applications in Dermatology, *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 5, 521-525.
- Goddard Z R, Marín M J, Russell D A, Searcey M, 2020, Active Targeting of Gold Nanoparticles As Cancer Therapeutics, *Chemical Society Reviews*, 49, 8774-8789.
- Goldfarb M, Brower S, Schwaartzberg S D, 2010, Minimally Invasive Surgery and Cancer: Controversies Part 1, *Surgical Endoscopy*, 24, 304-334.

- Guan H, Zou P, Lin R, Xiao L, Fang Z, Chen J, vd., 2023, Implantable Self-Powered Therapeutic Pellet for Wireless Photodynamic/Sonodynamic Hybrid Therapy of Cancer Recurrence Inhibition and Tumor Regression, *Nano Energy*, 105, 108002.
- Hajdu S I, 2004, Greco-Roman Thought About Cancer, *Cancer: Interdisciplinary International Journal of The American Cancer Society*, 100, 2048-2051.
- Hajdu S I, 2011, A Note from History: Landmarks in History of Cancer, Part 1. *Cancer*, 117, 1097-1102.
- Harouaka R A, Nisic M, Zheng S Y, 2013, Circulating Tumor Cell Enrichment Based on Physical Properties, *Journal of Laboratory Automation*, 18, 455-468.
- Hassanpour S H, Dehghani M, 2017, Review of Cancer from Perspective of Molecular, *Journal of Cancer Research and Practice*, 4, 127-129.
- Housman G, Byler S, Heerboth S, Lapinska K, Longacre M, Snyder N, vd., 2014, Drug Resistance in Cancer: An Overview, *Cancers*, 6, 1769-1792.
- Huang Z M, Zhang Y Z, Kotaki M, Ramakrishna S, 2003, A Review on Polymer Nanofibers By Electrospinning and Their Applications in Nanocomposites, *Composites Science and Technology*, 63, 2223-2253.
- Hussain H, Mya K Y, He C, 2008, Self-Assembly of Brush-Like Poly [Poly (Ethylene Glycol) Methyl Ether Methacrylate] Synthesized via Aqueous Atom Transfer Radical Polymerization, *Langmuir*, 24, 13279-13286.
- Jain R A, 2000, The Manufacturing Techniques of Various Drug Loaded Biodegradable Poly (Lactide-Co-Glycolide)(PLGA) Devices, *Biomaterials*, 21, 2475-2490.
- Janoušková O, 2018, Synthetic Polymer Scaffolds for Soft Tissue Engineering, *Physiological Research*, 67.
- Jelonek K, Kasperczyk J, 2013, Polyesters and Polyester Carbonates for Controlled Drug Delivery, Part II. Implantable Systems, *Polimery*, 58, 858-863.
- Ji T, Kohane D S, 2019, Nanoscale Systems for Local Drug Delivery, *Nano Today*, 28, 100765.
- Johnson-Arbor K, Dubey R, 2017, Doxorubicin.

- Jones R, 2016, Cytotoxic Chemotherapy: Clinical Aspects, *Medicine*, 44, 25-29.
- Ju C, Mo R, Xue J, Zhang L, Zhao Z, Xue L, vd., 2014, Sequential Intra-Intercellular Nanoparticle Delivery System for Deep Tumor Penetration, *Angewandte Chemie*, 126, 6367-6372.
- Kalaydina R V, Bajwa K, Qorri B, Decarlo A, Szewczuk M R, 2018, Recent Advances in “Smart” Delivery Systems for Extended Drug Release in Cancer Therapy, *International Journal of Nanomedicine*, 13, 4727.
- Khanal S, Adhikari U, Rijal N P, Bhattarai S R, Sankar J, Bhattarai N, 2016, Ph-Responsive PLGA Nanoparticle for Controlled Payload Delivery of Diclofenac Sodium, *Journal of Functional Biomaterials*, 7, 21.
- Kimizuka N, 2008, Self-Assembly of Supramolecular Nanofibers, *Self-Assembled Nanomaterials I*, 1-26.
- Kinch M S, 2014, An Analysis of FDA-Approved Drugs for Oncology, *Drug Discovery Today*, 19, 1831-1835.
- Kleine A, Altan C L, Yazar U E, Sommerdijk N A, Bucak S, Holder S J, 2014, The Polymerisation of Oligo (Ethylene Glycol Methyl Ether) Methacrylate from A Multifunctional Poly (Ethylene Imine) Derived Amide: A Stabiliser for the Synthesis and Dispersion of Magnetite Nanoparticles, *Polymer Chemistry*, 5, 524-534.
- Kuddushi M, Pandey D K, Singh D K, Mata J, Malek N, 2022, An Ionic Hydrogel with Stimuli-Responsive, Self-Healable and Injectable Characteristics for the Targeted and Sustained Delivery of Doxorubicin in the Treatment of Breast Cancer, *Materials Advances*, 3, 632-646.
- Kue C S, Kamkaew A, Burgess K, Kiew L V, Chung L Y, Lee H B, 2016, Small Molecules for Active Targeting in Cancer, *Medicinal Research Reviews*, 36, 494-575.
- Kumar A, Zhang Y, Terracciano A, Zhao X, Su TL, Kalyon D M, vd., 2019, Load-Bearing Biodegradable Polycaprolactone-Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid)-Beta Tri-Calcium Phosphate Scaffolds for Bone Tissue Regeneration, *Polymers for Advanced Technologies*, 30, 1189-1197.

- Kumar P, 2012, Effect of Collector on Electrospinning to Fabricate Aligned Nano Fiber National Institutes of Technology, Doctoral Thesis, 40p, India.
- Kuzajewska D, Wszolek A, Żwieręło W, Kirczuk L, Maruszewska A, 2020, Magnetotactic Bacteria and Magnetosomes As Smart Drug Delivery Systems: A New Weapon on the Battlefield with Cancer?., *Biology*, 9, 102.
- Langley R R, Fidler I J, 2007, Tumor Cell-Organ Microenvironment Interactions in the Pathogenesis of Cancer Metastasis, *Endocrine Reviews*, 28, 297-321.
- Lederman M, 1981, The Early History of Radiotherapy: 1895–1939, *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 7, 639-648.
- Li C, Guo C, Fitzpatrick V, Ibrahim A, Zwierstra M J, Hanna P, vd., 2020, Design of Biodegradable, Implantable Devices Towards Clinical Translation, *Nature Reviews Materials*, 5, 61-81.
- Li J, Luo Y, Li B, Xia Y, Wang H, Fu C, 2020, Implantable and Injectable Biomaterial Scaffolds for Cancer Immunotherapy, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 612950.
- Li M C, Hertz R, Bergenstal D M, 1958, Therapy of Choriocarcinoma and Related Trophoblastic Tumors with Folic Acid and Purine Antagonists, *New England Journal of Medicine*, 259, 66-74.
- Li Q, Gong S, Yao W, Yu Y, Liu C, Wang R, vd., 2021, PEG-Interpenetrated Genipin-Crosslinked Dual-Sensitive Hydrogel/Nanostructured Lipid Carrier Compound Formulation for Topical Drug Administration, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 49, 345-353.
- Li Q, Wang L, Chen F, Constantinou A P, Georgiou T K, 2022, Thermoresponsive Oligo (Ethylene Glycol) Methyl Ether Methacrylate Based Copolymers: Composition and Comonomer Effect. *Polymer Chemistry*, 13, 2506-2518.
- Li Y, Zhu J, Cheng H, Li G, Cho H, Jiang M, Vd., 2021, Developments of Advanced Electrospinning Techniques: A Critical Review, *Advanced Materials Technologies*, 6, 2100410.

- Lin B, Gao F, Yang Y, Wu D, Zhang Y, Feng G, vd., 2021, FLASH Radiotherapy: History and Future, *Frontiers in Oncology*, 1890.
- Liu D, Yang F, Xiong F, Gu N, 2016, The Smart Drug Delivery System and Its Clinical Potential. *Theranostics*, 6, 1306.
- Liu S V, Melstrom L, Yao K, Russell C A, Sener S F, 2010, Neoadjuvant Therapy for Breast Cancer, *Journal Of Surgical Oncology*, 101, 283-291.
- Luqmani Y A, 2005, Mechanisms of Drug Resistance in Cancer Chemotherapy, *Medical Principles and Practice*, 14, 35-48.
- Lü J M, Wang X, Marin-Muller C, Wang H, Lin P H, Yao Q, vd., 2009, Current Advances in Research and Clinical Applications of PLGA-Based Nanotechnology, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 9, 325-341.
- Lü W, 2016, Cytotoxicity of Doxorubicin (Adriamycin), Cyclophosphamide, Alpha and Gamma Tocopherol Towards Breast and Granulosa Tumor-Derived Cell Lines in Vitro, Flinders University, School of Medicine, Doctoral Dissertation, 113p, Adelaide.
- Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori K, 2000, Tumor Vascular Permeability and the EPR Effect in Macromolecular Therapeutics: A Review, *Journal of Controlled Release*, 65, 271-284.
- Mahvi D A, Liu R, Grinstaff M W, Colson Y L, Raut C P, 2018, Local Cancer Recurrence: the Realities, Challenges, and Opportunities for New Therapies, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68, 488-505.
- Makadia H K, Siegel S J, 2011, Poly Lactic-Co-Glycolic Acid (PLGA) As Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier, *Polymers*, 3, 1377-1397.
- Marescaux J, Diana M, 2015, Next Step In Minimally Invasive Surgery: Hybrid Image-Guided Surgery, *Journal of Pediatric Surgery*, 50, 30-36.
- Martins C, Sousa F, Araujo F, Sarmiento B, 2018, Functionalizing PLGA and PLGA Derivatives for Drug Delivery and Tissue Regeneration Applications, *Advanced Healthcare Materials*, 7, 1701035.

- Marx V, 2018, How to Pull the Blanket Off Dormant Cancer Cells, *Nature Methods*, 15, 249-252.
- Mattheolabakis G, Rigas B, Constantinides P P, 2012, Nanodelivery Strategies in Cancer Chemotherapy: Biological Rationale and Pharmaceutical Perspectives, *Nanomedicine*, 7, 1577–1590.
- Mcknight J A, 2003, Principles of Chemotherapy, *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18, 67-72.
- Mehvar R, 2003, Recent Trends in the Use of Polysaccharides for Improved Delivery of Therapeutic Agents: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Perspectives, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 4, 283-302.
- Meyer P, Noblet V, Mazzara C, Lallement A, 2018, Survey on Deep Learning for Radiotherapy, *Computers in Biology and Medicine*, 98, 126-146.
- Midgley R S, Kerr D J, 2000, Adjuvant Therapy, *Bmj*, 321, 1208-1211.
- Mohan R, 1995, Field Shaping for Three-Dimensional Conformal Radiation Therapy and Multileaf Collimation, In *Seminars in Radiation Oncology*, 5, 86-99.
- Moszner N, Salz U, Zimmermann J, 2005, Chemical Aspects Of Self-Etching Enamel–Dentin Adhesives: A Systematic Review, *Dental Materials*, 21, 895-910.
- Mozaffari S, Seyedabadi S, Alemzadeh E, 2022, Anticancer Efficiency Of Doxorubicin and Berberine-Loaded PCL Nanofibers in Preventing Local Breast Cancer Recurrence, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 67, 102984.
- Nair L S, Laurencin C T, 2007, Biodegradable Polymers As Biomaterials, *Progress in Polymer Science*, 32, 762-798.
- Nicholas A P, Allan S H, 2013, Chapter I.2.5 - Hydrogels, *Biomaterials Science* (Third Edition), Academic Press, 166-179p.
- Norouzi M, Nazari B, Miller D W, 2016, Injectable Hydrogel-Based Drug Delivery Systems for Local Cancer Therapy, *Drug Discovery Today*, 21, 1835-1849.
- Nounou M I, Elamrawy F, Ahmed N, Abdelraouf K, Goda S, Syed-Sha-Qhattal H, 2015, Breast Cancer: Conventional Diagnosis and Treatment Modalities and

- Recent Patents and Technologies, Breast Cancer: Basic and Clinical Research, 9, BCBCR-S29420.
- O'Connor L, Huang D C, O'Reilly L A, Strasser A, 2000, Apoptosis and Cell Division: Commentary, *Current Opinion in Cell Biology*, 12, 257-263.
- Ozcan F, Cagil E M, 2021, Design and Characterization of Ph Stimuli-Responsive Nanofiber Drug Delivery System: The Promising Targeted Carriers for Tumor Therapy, *Journal of Applied Polymer Science*, 138, 50041.
- Özkan A, 2019, Hidrofobik Monomer İçerikli Hidrojel Sentezi ve Karakterizasyonu, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 85s, Eskişehir.
- Pacher P, Liaudet L, Bai P, Virag L, Mabley J G, Hasko G, vd., 2002, Activation of Poly (ADP-Ribose) Polymerase Contributes to Development of Doxorubicin-Induced Heart Failure, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 300, 862-867.
- Pakulska M M, Elliott Donaghue I, Obermeyer J M, Tuladhar A, Mclaughlin C K, Shendruk T N, vd., 2016, Encapsulation-Free Controlled Release: Electrostatic Adsorption Eliminates the Need for Protein Encapsulation in PLGA Nanoparticles, *Science Advances*, 2, 1600519.
- Paliashvili K, Di Maggio F, Ho H M K, Sathasivam S, Ahmed H, Day R M, 2019, A Novel Adjuvant Drug-Device Combination Tissue Scaffold for Radical Prostatectomy, *Drug Delivery*, 26, 1115-1124.
- Papavramidou N, Papavramidis T, Demetriou T, 2010, Ancient Greek and Greco-Roman Methods in Modern Surgical Treatment of Cancer, *Annals of Surgical Oncology*, 17, 665-667.
- Park J H, Lee S, Kim J H, Park K, Kim K, Kwon I C, 2008, Polymeric Nanomedicine for Cancer Therapy, *Progress in Polymer Science*, 33, 113-137.
- Park K, Mrsny R J, 2000, Controlled Drug Delivery: Present and Future, 2-12.
- Philip J F, 1967, Results of Treatment of Breast Cancer at Aberdeen Royal Infirmary 1940-55, *British Medical Journal*, 1, 323.

- Place E S, George J H, Williams C K, Stevens M M, 2009, Synthetic Polymer Scaffolds for Tissue Engineering, *Chemical Society Reviews*, 38, 1139-1151.
- Qian Q, Wang D, Shi L, Zhang Z, Qian J, Shen J, vd., 2021, A Pure Molecular Drug Hydrogel for Post-Surgical Cancer Treatment, *Biomaterials*, 265, 120403.
- Raff M C, 1992, Social Controls on Cell Survival and Cell Death. *Nature*, 356, 397-400.
- Rahmani M, Bidgoli S A, Rezayat S M, 2017, Electrospun Polymeric Nanofibers for Transdermal Drug Delivery, *Nanomedicine Journal*, 4.
- Redler G, Jones K C, Templeton A, Bernard D, Turian J, Chu J C, 2018, Compton Scatter Imaging: A Promising Modality for Image Guidance in Lung Stereotactic Body Radiation Therapy, *Medical Physics*, 45, 1233-1240.
- Reed A B, 2011, The History of Radiation Use in Medicine. *Journal of Vascular Surgery*, 53, 3S-5S.
- Repetto L, 2003, Greater Risks of Chemotherapy Toxicity in Elderly Patients with Cancer, *The Journal of Supportive Oncology*, 1, 18-24.
- Reuben A, 2005, The Crab, the Turkey and A Malignant Tale from the Year of the Rooster, *Hepatology*, 41, 944-950.
- Rivankar S, 2014, An Overview of Doxorubicin Formulations in Cancer Therapy. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 10, 853-858.
- Rizwan M, Gilani S R, Durani A I, Naseem S, 2021, Materials Diversity of Hydrogel: Synthesis, Polymerization Process and Soil Conditioning Properties in Agricultural Field, *Journal of Advanced Research*, 33, 15-40.
- Sanadgol N, Wackerlig J, 2020, Developments of Smart Drug-Delivery Systems Based on Magnetic Molecularly Imprinted Polymers for Targeted Cancer Therapy: A Short Review, *Pharmaceutics*, 12, 831.
- Sasikala A R K, Unnithan A R, Yun Y H, Park C H, Kim C S, 2016, An Implantable Smart Magnetic Nanofiber Device for Endoscopic Hyperthermia Treatment and Tumor-Triggered Controlled Drug Release, *Acta Biomaterialia*, 31, 122-133.

- Schorge J O, Mccann C, Del Carmen M G, 2010, Surgical Debulking of Ovarian Cancer: What Difference Does It Make?, *Reviews in Obstetrics and Gynecology*, 3, 111-117.
- Senapati S, Mahanta A K, Kumar S, Maiti P, 2018, Controlled Drug Delivery Vehicles for Cancer Treatment and Their Performance, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 3, 7.
- Shang Q, Dong Y, Su Y, Leslie F, Sun M, Wang F, 2022, Local Scaffold-Assisted Delivery of Immunotherapeutic Agents for Improved Cancer Immunotherapy, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 114308.
- Shen W, Chen X, Luan J, Wang D, Yu L, Ding J, 2017, Sustained Codelivery of Cisplatin and Paclitaxel via An Injectable Prodrug Hydrogel for Ovarian Cancer Treatment, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9, 40031-40046.
- Shirzadfar H, Khanahmadi M, 2018, Current Approaches and Novel Treatment Methods for Cancer and Radiotherapy, *International Journal of Biosensors & Bioelectronics*, 4, 224-229.
- Siegel R L, Miller K D, Jemal A, 2018, *Cancer Statistics, 2018*, CA: A Cancer Journal for Clinicians, 68, 7-30.
- Simpson C D, Anyiwe K, Schimmer A D, 2008, Anoikis Resistance and Tumor Metastasis, *Cancer Letters*, 272, 177-185.
- Singh A P, Biswas A, Shukla A, Maiti P, 2019, Targeted Therapy in Chronic Diseases Using Nanomaterial-Based Drug Delivery Vehicles, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 4, 33.
- Singh G, Kaur T, Kaur R, Kaur A, 2014, Recent Biomedical Applications and Patents on Biodegradable Polymer-PLGA, *Int J Pharmacol Pharm Sci*, 1, 30-42.
- Soman A, Mathew F, Chacko A J, Alias M, Poosan G V, 2014, Interpenetrating Polymer Network (Ipn)-Hydrogels, *The Pharma Innovation*, 3, 59.
- Sullivan R, Alatis O I, Anderson B O, Audisio R, Autier P, Aggarwa, A, vd., 2015, Global Cancer Surgery: Delivering Safe, Affordable, and Timely Cancer Surgery, *The Lancet Oncology*, 16, 1193-1224.

- Sun J, Wei Q, Zhou Y, Wang J, Liu Q, Xu H, 2017, A Systematic Analysis Of FDA-Approved Anticancer Drugs, *BMC Systems Biology*, 11, 1-17.
- Sun Z, Song C, Wang C, Hu Y, Wu J, 2019, Hydrogel-Based Controlled Drug Delivery for Cancer Treatment: A Review, *Molecular Pharmaceutics*, 17, 373-391.
- Surova O, Zhivotovsky B, 2013, Various Modes of Cell Death Induced By DNA Damage, *Oncogene*, 32, 3789-3797.
- Suter T M, Ewer M S, 2013, Cancer Drugs and the Heart: Importance and Management, *European Heart Journal*, 34, 1102-1111.
- Torchilin V, 2011, Tumor Delivery of Macromolecular Drugs Based on the EPR Effect, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 131-135.
- Triantafyllu U L, Park S, Kim Y, 2019, Fluid Shear Stress Induces Drug Resistance to Doxorubicin and Paclitaxel in the Breast Cancer Cell Line MCF7, *Advanced Therapeutics*, 2, 1800112.
- Tucker N, Stanger J J, Staiger M P, Razzaq H, Hofman K, 2012, The History of the Science and Technology of Electrospinning from 1600 to 1995, *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 7, 155892501200702S10.
- Ullah F, Othman M B H, Javed F, Ahmad Z, Akil H M, 2015, Classification, Processing and Application of Hydrogels: A Review, *Materials Science and Engineering: C*, 57, 414-433.
- Ulusoy A, Dikmen N, 2020, Hidrojellerin Tıpta Uygulamaları, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 29, 129-137.
- Vail D M, Thamm D H, Liptak J, 2019, Withrow and Macewen's Small Animal Clinical Oncology-E-Book, Elsevier Health Sciences, 157p, China.
- Valizadeh A, Mussa Farkhani S, 2014, Electrospinning and Electrospun Nanofibres, *IET Nanobiotechnology*, 8, 83-92.
- Van Der Kooy D, Weiss A S, 2000, Why Stem Cells?, *Science*, 287, 1439-1441.
- Varaprasad K, Vimala K, Ravindra S, Narayana Reddy N, Siva Mohana Reddy G, Mohana Raju K, 2012, Biodegradable Chitosan Hydrogels for in Vitro Drug

- Release Studies of 5-Fluorouracil An Anticancer Drug, *Journal of Polymers and the Environment*, 20, 573-582.
- Verhage R J, Hazebroek E J, Boone J, Van Hillegersberg R, 2009, Minimally Invasive Surgery Compared to Open Procedures in Esophagectomy for Cancer: A Systematic Review of the Literature, *Minerva Chirurgica*, 64, 35-146.
- Versypt A N F, Pack D W, Braatz R D, 2013, Mathematical Modeling of Drug Delivery from Autocatalytically Degradable PLGA Microspheres—A Review, *Journal of Controlled Release*, 165, 29-37.
- Vieira B, Hans E W, Van Vliet-Vroegindeweij C, Van De Kamer J, Van Harten W, 2016, Operations Research for Resource Planning and-Use in Radiotherapy: A Literature Review, *BMC Medical Informatics and Decision Making*, 16, 1-11.
- Wang K, Fu Q, Chen X, Gao Y, Dong K, 2012, Preparation and Characterization of pH-Sensitive Hydrogel for Drug Delivery System, *RSC Advances*, 2, 7772-7780.
- Wang S, Lu L, Wang C, Gao C, Wang X, 2011, Polymeric Biomaterials for Tissue Engineering Applications 2011, *International Journal Of Polymer Science*, 2011.
- Wang Y, Qiao X, Yang X, Yuan M, Xian S, Zhang L, vd., 2020, The Role of A Drug-Loaded Poly (Lactic Co-Glycolic Acid) (PLGA) Copolymer Stent in the Treatment of Ovarian Cancer. *Cancer Biology & Medicine*, 17, 237.
- Weller M, Cloughesy T, Perry J R, Wick W, 2013, Standards of Care for Treatment of Recurrent Glioblastoma—Are We There Yet?, *Neuro-Oncology*, 15, 4-27.
- Williams G H, Stoeber K, 2012, The Cell Cycle and Cancer, *The Journal of Pathology*, 226, 352-364.
- Worthen D B, 2002, The Pharmaceutical Industry, 1952–2002, *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 42, 683-686.
- Wu J, 2021, The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application, *Journal of Personalized Medicine*, 11, 771.

- Wu R S, Lin J, Xing Y M, Dai Z L, Wang L W, Zhang X P, 2019, Ph-Sensitive Black Phosphorous-Incorporated Hydrogel As Novel Implant for Cancer Treatment, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 108, 2542-2551.
- Wyld L, Audisio R A, Poston G J, 2015, The Evolution of Cancer Surgery and Future Perspectives, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 12, 115-124.
- Xiang Y, Wang W, Gao Y, Zhang J, Zhang J, Bai Z, vd., 2020, Production and Characterization of An Integrated Multi-Layer 3D Printed PLGA/Gelma Scaffold Aimed for Bile Duct Restoration and Detection, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 971.
- Xing X, Wang Y, Li B, 2008, Nanofiber Drawing and Nanodevice Assembly in Poly (Trimethylene Terephthalate), *Optics Express*, 16, 10815-10822.
- Yadav P, Jain J, Sherje A P, 2021, Recent Advances in Nanocarriers-Based Drug Delivery for Cancer Therapeutics: A Review, *Reactive and Functional Polymers*, 165, 104970.
- Yoo J, Won Y Y, 2020, Phenomenology of the Initial Burst Release of Drugs from PLGA Microparticles, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 6, 6053-6062.
- Yu W, Liu R, Zhou Y, Gao H, 2020, Size-Tunable Strategies for A Tumor Targeted Drug Delivery System, *ACS Central Science*, 6, 100-116.
- Yu Y, Kong L, Li L, Li N, Yan P, 2015, Antitumor Activity of Doxorubicin-Loaded Carbon Nanotubes Incorporated Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) Electrospun Composite Nanofibers, *Nanoscale Research Letters*, 10, 1-9.
- Yun Y H, Lee B K, Park K, 2015, Controlled Drug Delivery: Historical Perspective for the Next Generation, *Journal of Controlled Release*, 219, 2-7.
- Zaghloul M S, 2010, Adjuvant and Neoadjuvant Radiotherapy for Bladder Cancer: Revisited, *Future Oncology*, 6, 1177-1191.
- Zembower T R, 2014, Epidemiology of Infections in Cancer Patients, *Infectious Complications in Cancer Patients*, 43-89.
- Zhang S, 2003, Fabrication of Novel Biomaterials Through Molecular Self-Assembly, *Nature Biotechnology*, 21, 1171-1178.

- Zhang X, Lu Y, 2014, Centrifugal Spinning: An Alternative Approach to Fabricate Nanofibers at High Speed and Low Cost, *Polymer Reviews*, 54, 677-701.
- Zhang Y S, Khademhosseini A, 2017, Advances in Engineering Hydrogels, *Science*, 356, 3627.
- Zhao J, Guo B, Ma P X, 2014, Injectable Alginate Microsphere/PLGA–PEG–PLGA Composite Hydrogels for Sustained Drug Release, *RSC Advances*, 4, 17736-17742.
- Zhao Q, Yang X, Ma C, Chen D, Bai H, Li T, vd., 2016, A Bioinspired Reversible Snapping Hydrogel Assembly, *Materials Horizons*, 3, 22-428.
- Zheng Q, Nan K J, Zheng H L, 2010, Hippocrates' Viewpoint on Cancer, *Zhonghua Yi Shi Za Zhi* (Beijing, China: 1980), 40, 234-236.
- Zwicke G L, Ali Mansoori G, Jeffery C J, 2012, Utilizing the Folate Receptor for Active Targeting of Cancer Nanotherapeutics, *Nano Reviews*, 3, 18496.

İnternet Kaynakları

- 1- www.biorender.com, (11.01.2023)