



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
RADYOLOJİK BİLİMLER ANA BİLİM DALI**

**MANYETİK NANOPARTİKÜL-KİTOSAN
KOMPLEKSİNİN MİKRODALGA HİPERTERMİ
KARAKTERİZASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Elif Elçin ETLİ

Danışman
Doç. Dr. Ayşegül KARADAYI

SAMSUN
2023

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
RADYOLOJİK BİLİMLER ANA BİLİM DALI**



**MANYETİK NANOPARTİKÜL-KİTOSAN
KOMPLEKSİNİN MİKRODALGA HİPERTERMİ
KARAKTERİZASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Elif Elçin ETLİ

Danışman

Doç. Dr. Ayşegül KARADAYI

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.22.004 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

26 / 05 / 2023

Öğrenci Elif Elçin ETLİ

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : MANYETİK NANOPARTİKÜL-KİTOSAN KOMPLEKSİNİN
MİKRODALGA HİPERTERMİ KARAKTERİZASYONUNUN ARAŞTIRIŞMASI

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 26.05.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 11

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

26 / 05 / 2023

Doç. Dr. Ayşegül KARADAYI

ÖZET

MANYETİK NANOPARTİKÜL-KİTOSAN KOMPLEKSİNİN MİKRODALGA HİPERTERMİ KARAKTERİZASYONUNUN ARAŞTIRIŞMASI

Elif Elçin ETLİ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Radyolojik Bilimler Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Haziran/2023

Danışman: Doç. Dr. Ayşegül KARADAYI

Manyetik Nanopartiküller (MNP)'lerin indüklenme yoluyla hipertermi uygulaması, klinikte tanı ve tedavi için alternatif yaklaşımlar sunmaktadır. Manyetik nanopartikül hipertermi (MNPH) uygulaması, sağlıklı dokuyu korurken hedeflenen kötü huylu hücrelerin seçici olarak ısınmasını sağlayabilmektedir. Bununla birlikte, MNP'lerin karakterizasyonlarını tespit edebilmek, maddeyi tanımlayabilmek için önemlidir. Bu tez çalışmasının amacı, sentezlenen C-MNP'nin madde karakterizasyonu ve sağlıklı meme ve tümör doku eşdeğeri doku üzerinde C-MNP'nin MW hipertermi termal etkinliğini araştırmaktır. Bu çalışma iki temel aşamada gerçekleştirildi. Çalışmanın ilk aşamasında, iyonik jelasyon ile nanopresipitasyon tekniği kullanılarak kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartikülleri (C-MNP) sentezlendi ve DLS, ZetaSizer, DSC, FTIR, XRD ve SEM cihazları ile madde karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirildi. İkinci aşamada, termal karakterizasyon için, MW uygulaması termal kamera ile görüntülenerek sayısal veriler elde edildi ve Pico TC-08 Thermocouple cihazı ile de sıcaklık kaydı yapıldı. Elde edilen sayısal veriler istatistiksel analiz ile değerlendirildi. Gruplar, sağlıklı meme doku eşdeğeri, tümörlü doku eşdeğeri, Tümörlü Doku+MNP, tümörlü doku eşdeğeri+C-MNP olarak oluşturuldu ve aynı zaman süreci içerisinde MW'ya maruz bırakıldı. DLS sonuçlarına göre, Fe_3O_4 ve C-MNP nanopartiküllerinin boyutları sırasıyla, 571,5 ve 665,9 nm, Zeta potansiyelleri ise, 30,4 ve -15,6 mV olarak bulundu. C-MNP'lerin XRD analiz sonuçlarına göre, Fe_3O_4 nanopartiküllerine ait keskin pikler gözlenmedi. Ancak FTIR analizi sonuçlarına göre, yaklaşık $500-790\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlemlenen pik Fe-O bağının titreşimine karşılık geldiği görüldü ve bu durum C-MNP'de Fe_3O_4 varlığını ispatladı. DSC analizi sonucunda, C-MNP'lerin, $97,14\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de erime noktasına karşılık gelen bir endotermik pik görüldü. C-MNP'lerin boyut analizleri sonuçları SEM ile incelendiğinde, C-MNP'lerin boyutu $24,87\pm 11,5\text{ nm}$ olarak tespit edildi. Termal karakterizasyon sonuçlarına göre, Thermocouple cihazı ile yapılan sıcaklık ölçümlerindeki Sağlıklı Doku ve Tümörlü Doku ile diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel anlamlılık bulundu ($p=0.0015$; $p<0.0001$). Termal kamera sonuçlarında ise gruplar arasındaki karşılaştırmada istatistiksel anlamlılık olduğu görüldü ($p<0.0001$). Sonuç olarak, C-MNP kompleksinin başarılı bir şekilde oluşturulduğu ve MW uygulamasıyla klinikte hipertermi tedavisi için uygun olduğu öngörüldü. Bu öngörünün desteklenmesi için hayvan çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Manyetik Nanopartiküller, Manyetik Nanopartikül Hipertermi, Mikrodalga, Kitosan, Karakterizasyon

ABSTRACT

RESEARCH OF THE MICROWAVE HYPERTHERMIA CHARACTERIZATION OF THE MAGNETIC NANOPARTICLE-CHITOSAN COMPLEX

Elif Elçin ETLİ

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Radiological Sciences Programme

Master, June/2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşegül KARADAYI

The application of hyperthermia by induction of Magnetic Nanoparticles (MNPs) presents alternative approaches for diagnosis and treatment in the clinic. Magnetic nanoparticle hyperthermia (MNPH) can selectively heat the targeted malignant cells while preserving healthy tissue. However, being able to detect the characterizations of MNPs is important to be able to identify the matter. The aim of this thesis the matter characterization of synthesized C-MNP and the MW hyperthermia thermal efficiency of C-MNP on healthy breast and tumor equivalent tissue were investigated. This study was carried out in two main stages. In the first stage of the study, Fe₃O₄ nanoparticles (C-MNP) coated with chitosan were synthesized using the Ionic Gelation Nanoprecipitation Technique and matter characterization studies were carried out with DLS, ZetaSizer, DSC, FTIR, XRD and SEM devices. In the second stage, for thermal characterization, the MW application was imaged with a thermal camera, and the temperature was recorded with the Pico TC-08 Thermocouple device. The obtained numerical data were evaluated by statistical analysis. Groups were formed as Healthy Tissue, Tumor Tissue, Tumor Tissue+MNP, Tumor Tissue+C-MNP and were exposed to MW during the same time period. According to DLS results, the sizes of Fe₃O₄ and C-MNP nanoparticles were found to be 571.5 and 665.9 nm, respectively and their Zeta Potentials were 30.4 and -15.6 mV, respectively. According to the XRD analysis results of C-MNPs, no sharp peaks of Fe₃O₄ nanoparticles were observed. However, according to the results of the FTIR analysis, it was observed that the peak observed around 500-790 cm⁻¹ corresponds to the vibration of the Fe-O bond and this proved the presence of Fe₃O₄ in C-MNP. As a result of DSC analysis, an endothermic peak corresponding to the melting point of C-MNPs at 97,14 °C was observed. When the size analysis results of C-MNPs were investigated by SEM, the size of C-MNPs was found to be 24.87±11.5 nm. According to the thermal characterization results, statistical significance was found in the comparison between Healthy Tissue and Tumor Tissue and other groups in temperature measurements made with the Thermocouple device (p=0.0015; p<0.0001). In the thermal camera results, it was observed that there was statistical significance in the comparison between the groups (p<0.0001). As a result, it was predicted that the C-MNP complex was successfully formed and appropriate for clinical hyperthermia treatment with MW application. Animal studies are needed to support this prediction.

Keywords: Magnetic Nanoparticles, Magnetic Nanoparticle Hyperthermia, Microwave, Chitosan, Characterization



Dayım'a...

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile destek olan, bu konuyu yüksek lisans tezi olarak öneren değerli danışmanım, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Ayşegül KARADAYI'ya,

Manyetik Nanopartikül-Kitosan Kompleksinin hazırlanması ve karakterizasyon çalışmalarında, laboratuvar ekipmanlarını ve olanaklarını kullanmama izin veren, bilgi ve birikimlerini esirgemeyen, Lisans eğitimimde kendisi ile tanıştığım için her zaman kendimi çok şanslı hissettiğim, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Rahime Seda Tıǧlı AYDIN'a,

Termal analiz değerlendirmesi için bilgi ve birikimlerini aktaran, yeni bir bakış açısı kazanmamı sağlayan, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği Öğretim Üyesi, Doç. Dr. Çetin KURNAZ'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince desteğini esirgemeyen, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Radyolojik Bilimler Anabilim Dalı Başkanı, Prof. Dr. Mustafa Çağatay TUFAN'a,

Bu çalışmanın ilerlemesi ve tamamlanması süresince tecrübesini ve her konuda desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Nilüfer Akgün ÜNAL'a,

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, tez çalışmasında karşılaştığım tüm zorluklar ile mücadelede en büyük destekçim olan, annem Işıl ETLİ, babam Orbay ETLİ, kardeşim Alper ETLİ'ye ve diğer aile üyelerime,

Hayatımın son 6 yılında ve tez çalışmam boyunca tüm zorlukları benimle birlikte yaşayan, mesafelerin önemi olmadan sevgisini ve sabrını hiçbir zaman esirgemeyen, değerli arkadaşım Ahmet OMUR'a,

Tez çalışmam ve hayatımın her döneminde her zaman yanımda olan, değerli arkadaşım Hale BERBER'e

Tez çalışmam için desteklerinden yararlandığım, araştırmacı olarak yer aldığım PYO.TIP.1904.22.004 numaralı BAP projesi için Ondokuz Mayıs Üniversitesi'ne,

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

Elif Elçin ETLİ

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kanser	4
2.1.1. Meme Kanseri	5
2.2. Kanser Tedavi Yöntemleri	6
2.2.1. Cerrahi Yöntemi	6
2.2.2. Kemoterapi Yöntemi	7
2.2.3. Radyoterapi	7
2.2.4. İmmünoterapi	8
2.2.5. Hipertermi	9
2.3. Manyetik Nanopartikül Hipertermi	10
2.4. Nanoteknoloji	12
2.4.1. Nanopartiküller	13
2.4.1.1. Manyetik Nanopartiküller	13
2.4.1.1.1. Süperparamanyetik Demir Okstit Nanopartiküller (SPIONs)	15
2.5. Manyetik Nanopartiküllerin Yüzey Kaplamaları	17
2.5.1. Kitosan	18
2.5.2. Kitosan Nanopartikülleri	20
2.6. Fe ₃ O ₄ -Kitosan Nanopartikülleri	21
2.7. Mikrodalga Hipertermi	24
2.7.1. Mikrodalga Kullanılarak Gerçekleştirilen Manyetik Nanopartikül Hipertermi Uygulamaları	25
3. MATERYAL VE MOTOD	26
3.1. Materyaller	26
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	26
3.1.2. Çözücü ve Kimyasallar	27
3.2. Fe ₃ O ₄ 'ün Kitosan ile Kaplanması	27
3.2.1. C-MNP'lerin Karakterizasyon Çalışmaları	28
3.2.1.1. Partikül Büyüklüğü Tayini (DLS) Analizi	28
3.2.1.2. Zeta Potansiyel Analizi	28
3.2.1.3. X-Işını Kırınımı Analizi (XRD) Analizi	28
3.2.1.4. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) Analizi	29
3.2.1.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi	29
3.2.1.6. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) Analizi	30
3.3. Meme Dokusu ve Tümör Dokusu Eşdeğeri Fantomların Hazırlanması	30
3.4. Mikrodalga Maruziyeti	31
3.4.1. Termal Karakterizasyon Çalışmaları	34
3.5. İstatistiksel Analizler	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
4.1. Madde Karakterizasyonu Bulguları	36

4.1.1. DLS Analizi.....	36
4.1.2. Zeta Potansiyel Analizi.....	38
4.1.3. XRD Analizi.....	40
4.1.4. FTIR Analizi.....	41
4.1.5. DSC Analizi.....	43
4.1.6. SEM Analizi.....	45
4.1.6.1.Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX) Analizi.....	47
4.2.Termal Karakterizasyon Bulguları.....	48
4.2.1. Thermocouple Cihazı Bulguları.....	48
4.2.2. Termal Kamera Bulguları.....	50
5. SONUÇ	53
KAYNAKÇA.....	57
ÖZ GEÇMİŞ.....	64



SİMGELER VE KISALTMALAR

μl	: Mikrolitre
AMF	: Alternatif Manyetik Alan
C	: Karbon
Ca	: Kalsiyum
Cl	: Klor
CoFe_2O_4	: Kobalt Ferrit
DLS	: Dinamik Işık Saçılım Spektrometresi
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
Fe	: Demir
Fe_3O_4	: Manyetit
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GHz	: Gigahertz
Hz	: Hertz
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
K	: Potasyum
Mg	: Magnezyum
MHz	: Megahertz
MNP	: Manyetik Nanopartikül
MNPH	: Manyetik Nanopartikül Hipertermi
mV	: Milivolt
MW	: Mikrodalga (Microwave)
Na	: Sodyum
NiFe_2O_4	: Nikel Ferrit
nm	: Nanometre
O	: Oksijen
P	: Fosfor
PCL	: Polikaprolakton
PEG	: Polietilen Glikol
PLA	: Polilaktik Asit
PLGA	: Polilaktik-ko-glikolik asit

RES	: Retiküloendotelyal Sistem (Reticuloendothelial System)
RF	: Radyo Frekans
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopisi
Si	: Silisyum
SPIONs	: Süperparamanyetik Demir Oksit Nanopartiküller
TPP($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$)	: Sodyum Tripolifosfat
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
XRD	: X-Işını Difraktometresi



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Nanopartiküllerin Boyut Karşılaştırılması	12
Şekil 2.2 Süperparamenyetik MNP'lere Harici Manyetik Alan Uygulanması.....	16
Şekil 2.3 MNP'lerin "Çekirdek-Kabuk" Yapısı.....	17
Şekil 2.4 Kitin ve Kitosanın Yapısı.....	19
Şekil 2.5 İyonik Jelasyon ile Nanopresipitasyon Tekniği İşlem Basamakları	21
Şekil 2.6 İyonik Jelasyon ile Nanopresipitasyon Tekniği ile C-MNP'lerin Hazırlanması, Şematik Gösterim.....	23
Şekil 3.1 C-MNP'lerin Hazırlanma Aşamalarının Şematik Gösterimi.....	28
Şekil 3.2 Sağlıklı Meme Eşdeğeri Doku ve Tümör Eşdeğeri Doku Fantomların Hazırlanma Aşamalarının Şematik Gösterimi	31
Şekil 3.3 Mikrodalga Maruziyet Ortamı (a) Çalışma Grupları ve Thermocouple Kaydı (b) Elektrik Alan Ölçümü	33
Şekil 3.4 Termal Değerlendirme Bölgeleri	34
Şekil 4.1 Fe ₃ O ₄ için DLS Ölçümü.....	36
Şekil 4.2 C-MNP için DLS Ölçümü.....	37
Şekil 4.3 Fe ₃ O ₄ için Zeta Potansiyel Ölçüm Grafiği (mV).....	38
Şekil 4.4 C-MNP için çin Zeta Potansiyel Ölçüm Grafiği (mV).....	39
Şekil 4.5 (a) Kitosan (b)C-MNP için XRD Grafiği.....	41
Şekil 4.6 (a) Kitosan (b)C-MNP için FTIR Spektrumu.....	42
Şekil 4.7 Kitosan'nın DSC Termogramı.....	43
Şekil 4.8 C-MNP'lerin DSC Termogramı	44
Şekil 4.9 Agar Tozunun DSC Termogramı.....	45
Şekil 4.10 C-MNP'lerin SEM Görüntüleri	46
Şekil 4.11 C-MNP'lere ait (a) Kontrast Oluşturulmuş SEM Görüntüsü (b) Partikül Boyut Dağılım Analizi	47
Şekil 4.12 C-MNP'lere ait Yüzey Atomlarının Oranları	48
Şekil 4.13 Çalışmadaki Grupların Thermocouple Sıcaklık Kayıt Grafiği.....	49
Şekil 4.14 Çalışmadaki Grupların Thermocouple Cihazı ile Sıcaklık Değişimi	50
Şekil 4.15 Çalışmadaki Grupların (Termal Kamera ile) Sıcaklık Değişimi	51

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 4.1. Fe ₃ O ₄ ve C-MNP nanopartiküllerinin boyut ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçları	40
Tablo 4.2. Çalışmadaki Grupların Thermocouple Sıcaklık Düzeyleri	49
Tablo 4.3. Çalışmadaki Grupların Termal Kamera Sıcaklık Düzeyleri	51



1. GİRİŞ

Kanser hastalığı, tıbbi tanı ve tedavi tekniklerindeki gelişmelere rağmen halen dünya genelindeki en önemli sağlık sorunlarından birisidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC)'na göre, 2020 yılında, dünya çapında tahmini 19,3 milyon yeni kanser vakası ve yaklaşık 10 milyon kanser ölümü meydana gelmiştir. Ayrıca, aynı bildiride meme kanserinin, en sık teşhis edilen kanser tiplerinden olan akciğer kanserini geride bıraktığı bildirilmiştir (World Health Organization, 2020a). Bununla birlikte, 2040 yılında, 30,2 milyon yeni kanser vakası tespit edileceği ve önümüzdeki yirmi yılda küresel kanser insidansında %60'lık bir artış olacağını tahmin edilmektedir (Cerqueira, vd., 2022, World Health Organization, 2020b). Kanser hastalığının tanısı ve tedavisi için yeni yöntemlerin keşfedilmesi, hastalıkla mücadele edilebilmesi için oldukça önemlidir. Kanser tedavisi için cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi gibi birçok geleneksel yöntem bulunmaktadır. Ancak bu yöntemler istenmeyen yan etkilere neden olabilmektedir. Örneğin; kemoterapi tedavisinde kullanılan terapötik/anti-kanser ilaçlar, sağlıklı doku ve hücreler ile birlikte sağlıklı doku ve hücreleri de olumsuz etkileyebilmektedir. Ayrıca, düşük tümör seçiciliği, hasta üzerinde halsizlik, saç dökülmesi gibi istenmeyen yan etkilere neden olabilmektedir. Bu tedavi sınırlamalarının üstesinden gelebilmek ancak yeni yaklaşımların geliştirilmesi ile mümkündür.

Nanoteknoloji alanı, kanser tedavisi için yeni yollar açmıştır. Son yıllarda, nano ölçekli sistemler, kanserin hedefe yönelik tedavisi için araştırılmaktadır (Aboneima, vd., 2021; Avazzadeh, vd., 2017). Manyetik Nanopartiküller (MNP) saf metallerden veya metal-polimer karışımından oluşan nano boyuttaki malzemelerdir. Son yıllarda, MNP'lerin bir polimer ile kaplanmasıyla hipertermi uygulamaları, kanser tedavilerinde bir umut olarak görülmektedir. Hipertermi tedavisi, radyoterapi ve kemoterapi yöntemine ek olarak kullanılan alternatif bir yaklaşımdır. Hipertermi, özellikle biyomedikal mühendisliği alanında nanoteknolojik uygulamaları nedeniyle dikkati çekmekte, kimya, mühendislik, tıp ve fizik alanları ile multidisipliner araştırmalar yapılmaktadır (Ansari ve Malaekheh-Nikouei, 2017).

MNP'ler kullanılarak gerçekleştirilen, manyetik nanopartikül hipertermisi (MNPH), bilinen hipertermi prosedürlerinin aksine, sağlıklı dokuyu korurken hedeflenen kötü huylu hücrelerin seçici olarak ısınmasını sağlayabilmektedir. Bu sayede kanserli dokudaki hedeflenen kötü huylu hücreler diğer sağlıklı dokulara zarar vermeden apoptoza uğratılmaktadır. Yapılan hayvan çalışmaları, MNPH ile hayatta kalma oranlarının arttığını in-vivo olarak göstermiştir (Basel, vd., 2012; Lee, vd., 2013; Johannsen, vd., 2005). Nano boyutta malzemelerin işlevselliği ve karakteristik özellikleri göz önünde bulundurulduğunda, MNP'ler ile gerçekleştirilen hipertermi çalışmalarının nanoteknoloji alanındaki gelişmeler için önemli bir adım olduğu söylenebilir. MNPH tedavisinin performansı, MNP'lerin malzeme tipine büyük ölçüde bağlıdır. Örneğin literatürde Manyetit (Fe_3O_4), Kobalt Ferrit (CoFe_2O_4), Nikel Ferrit (NiFe_2O_4) vb. odaklı ayrı yazarlar tarafından yayınlanan yayınlar bulunmaktadır (Didarian ve Vargel, 2021; Kim, vd., 2008; Umut, vd., 2019).

Kitosan, kitin'in kapsamlı deasetilasyonundan elde edilen FDA tarafından onaylanmış doğal bir polimerdir. Kitosan, fiziksel özellikleri nedeniyle yüzey kaplaması olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (El-Kharrag, vd., 2019; Tsai, vd., 2010; Unsoy, vd., 2012). Yüzey kaplamaları, MNP'lerin manyetik özelliklerini iyileştirmekte ve kan dolaşım süresini arttırmaktadır (Dobrovolskaia ve McNeil , 2007; Sun, vd., 2010). Biyolojik olarak parçalanabilirliği, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri, hücre uyumluluğu ve sınırlı immünojenisite gibi olumlu özellikleri bu polimerin ilaç salım sistemleri, hipertermi gibi farklı biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (Hammouda, vd., 2022).

Fe_3O_4 çekirdek malzemelerin diğerlerinden daha üstün olduğu ve biyoyumlu bir polimer olan kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartiküllerinin Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) kontrast maddesi, ilaç salım sistemleri, hipertermi ve diğer biyomedikal uygulamalar için kullanılmaları literatürde tavsiye edilmektedir (El-Kharrag, vd., 2019). Ayrıca, kitosan, polietilen glikol (PEG) gibi polimerler ile kaplanmış MNP tabanlı sistemlerin çeşitli kanser türleri için, Alternatif Manyetik Alan (AMF), Radyofrekans (RF), yüksek elektrik alan değerlerindeki Mikrodalga (MW) frekansı uygulaması ile tümörlü bölgenin sıcaklığı arttırabildiği, hipertermi

uygulamalarındaki başarısı yapılan fantom, in-vitro araştırmalar ile gösterilmiştir (Aboneima, vd., 2021; Chauhan, vd., 2020; Lee, vd., 2013; McWilliams, vd., 2017). Hipertermi uygulamaları için kitosan kaplı Fe_3O_4 retimi konusunda çalışmalar yapılmıştır (Soares, vd., 2016; Chauhan., vd., 2020). Genel olarak manyetik Fe_3O_4 -kitosan nanokompozitleri biyouyumluluk, ısı üretme kabiliyeti gibi özellikleri nedeniyle hipertermi uygulamaları için umut verici sistemlerdir. MNP'ler ile yapılan hipertermi çalışmalarında AMF, RF, MW frekansı uygulamalarının hipertermi indklemede başarılı olduğu görülmüştür (Aboneima, vd., 2021; Chauhan, vd., 2020; Lee, vd., 2013; McWilliams, vd., 2017). Fakat hipertermi uygulamalarında uygulanan yüksek radyasyon dozu, evre hücre ve dokularda tahribat yaratabilmektedir. Bu klinik uygulamalar için endişesi vericidir. Bu nedenle, düşük yoğunluk ve elektrik alan değerlerindeki MW hipertermi karakterizasyonunun belirlenmesi önemlidir. Faz alışmaları öncesinde, araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu tez çalışmasında, düşük yoğunluk ve elektrik alan değerlerindeki Mikrodalga (MW) hipertermi karakterizasyonunun araştırılması için diğer MNP'lere göre daha avantajlı özelliklerinden dolayı Fe_3O_4 ve yüzey kaplaması olarak kitosan tercih edilmiştir. Fe_3O_4 -Kitosan nanopartiküllerinin düşük seviye MW hipertermi karakterizasyon mekanizması ve düşük yoğunluk, elektrik alan değerlerindeki MW uygulamasının termal etkisi fantom çalışması ile açıklanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser, genetik ve çevresel faktörler, yaşam tarzı gibi farklı temel nedenlere sahip fiziksel belirtilere yol açan ve genetik değişikliklerden kaynaklanan karmaşık bir hastalıktır (World Health Organization, 2021b). Günümüzde tıbbi araştırmalarda karşılaşılan en büyük sorunlardan biridir. Kanseri vakaların yaklaşık üçte birinin, erken teşhis ve tedavisine izin veren müdahaleler mevcuttur. Erken tanı ve tedavi yaklaşımlarındaki ilerlemelere rağmen kanser nedeniyle ölüm oranları artmaya devam etmektedir. WHO, 2020 yılında dünyada kanser nedeniyle yaklaşık 10 milyon ölüm gerçekleştiğini bildirmiştir (World Health Organization, 2021b).

Kanser, vücudun herhangi bir bölgesinde meydana gelerek, o bölgedeki dokuların ve organların normal çalışmasına engel olmaktadır. Kanserin ilerlemesinin temel nedeni, kanser hücrelerinin sürekli düzensiz olarak çoğalmasıdır. Kanseri hücreleri, sağlıklı hücre davranışını kontrol eden sinyallere uygun yanıt vermek yerine, kontrolsüz bir şekilde büyür ve bölünürler. Sağlıklı olan çevre doku/organları istila edebilir ve sonunda tüm vücuda yayılabilirler. Hücrelerin olması gerekenden fazla büyüyüp bölündüğü veya gerektiğinde ölmediği zaman oluşan anormal doku kütlesi “tümör” olarak adlandırılmaktadır. Tümör, iyi huylu veya kötü huylu olabilmektedir. İyi huylu tümörler büyüyebilir, konumu ile sınırlı kalmakta, diğer doku veya organlara yayılmamaktadır. Kötü huylu tümörler ise, hem çevredeki sağlıklı dokuyu işgal edebilir hem de dolaşım veya lenfatik sistemler yoluyla tüm vücuda yayılabilirler (National Cancer Institute). Bu metastaz olarak adlandırılır ve kanserden ölümün birincil nedenidir (World Health Organization, 2021a). Eğer hastalık metastatik evrede teşhis edilmişse tam bir tedavi yöntemi yoktur. Yalnızca kötü huylu tümörler kanserlidir ve tehlikeli ve yaşamı tehdit edici olabilirler.

Kanser tedavi yöntemleri, hastalığın iyileşmesinden ve hastaların yaşam süresinin uzamasından sorumludur. Cerrahi müdahale, kemoterapi ve radyoterapi tedavileri, kanser hastalıklarında en sık kullanılan yöntemlerdir. Daha az sıklıkla immünoterapi, kök hücre nakli, hormon tedavileri, hedefe yönelik tedaviler ve hipertermi tedavileri kanser tedavisi için kullanılmaktadır (National Cancer Institute,

2021b). Bu tedavi yöntemleri, kanser tedavisi için tek başına veya birlikte uygulanabilmektedir.

Kanserin tedavisi için geçmiş yüzyıllardan günümüze kadar birçok araştırma yapılmıştır. Günümüzde, bu konu ile ilgili araştırmalar yapılmaya devam etmektedir (Abo-Neima, vd., 2021; Basel, vd., 2012; Cerqueira, vd., 2022; Didarian ve Vargel, 2021; Lee, vd., 2013). Kanser tedavisi için önemli ölçüde teknik gelişmeler olmasına rağmen, tamamen etkili bir yöntem halen bulunamamıştır. Yalnızca, kanser hücrelerinin hedeflenmesine dayalı tedaviler için yeni yaklaşımlar geliştirilmekte ve ciddi çabalar, yüksek miktarda bütçeler harcanmaktadır (Basel, vd., 2012; Didarian ve Vargel, 2021; Lee, vd., 2013). Bu çalışmalar ile klinik uygulamaya geçebilecek, daha etkin ve daha az yan etkiye sahip olan tedavi yöntemleri araştırılmaktadır (Chauhan, vd., 2020; Didarian ve Vargel, 2021; Kim, vd., 2008; McWilliams, vd., 2017; Umut, vd., 2019). Son zamanlarda yapılan bu çalışmalar arasında, lokal bir tedavi olabilecek MNP'lerin kullanıldığı hipertermi yöntemi bulunmaktadır. Bu tedavi yöntemi ile hedeflenen kötü huylu hücrelerin ısıtılıp öldürülebileceği yüksek sıcaklıklara ulaşmaları sağlanırken sağlıklı dokular zarardan korunabilmektedir. Böylece geleneksel yöntemlerin tedavi sırasında meydana getirdiği yan etkiler ve sağlıklı dokulara meydana getirdiği hasarlar ortadan kaldırılabilir (Avazzadeh, vd., 2017; Basel, vd., 2012; Chauhan, vd., 2020; Didarian ve Vargel, 2021; Kim, vd., 2008; McWilliams, vd., 2017; Umut, vd., 2019).

2.1.1. Meme Kanseri

Tüm yeni kanser teşhislerinin yaklaşık onda birini oluşturan ve sıklıkla 50-70 yaş arasındaki kadınlarda görülen meme kanseri, dünya çapında kadınlar arasında en çok teşhis edilen kanser türüdür. Sağlıklı meme bezi hücrelerinden kaynaklanan kötü huylu bir tümördür ve metastatik özelliği nedeniyle tedavisi oldukça zordur (Avazzadeh, vd., 2017; Aydın, 2013). Tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen, genel sağ kalım oranlarında önemli artışlar gözlemlenmemiştir (Parsian, vd., 2016). WHO'nun 2020 yılı istatistiklerine göre meme kanseri, akciğer kanserini geride bırakmıştır ve günümüzde kanser hastalıklarının en yaygın türünü oluşturmaktadır (World Health Organization, 2021c). Dünya çapında 2020 yılında, 2,3 milyon kadına

meme kanseri teşhisi konulmuş ve meme kanseri nedeniyle 685.000 ölüm gerçekleşmiştir (World Health Organization, 2021a).

Meme kanserinin gelişim ve ilerleme süreci, hücresel farklılaşmanın düzensiz olması ve aşırı çoğalma gibi birçok olayı içermektedir. Cinsiyet, genetik faktörler, yaş, beslenme, çevresel faktörler gibi çeşitli risk faktörleri, tüm kanser türlerinde ki gibi, meme kanserinin gelişmesinde de etkilidir (Koçak, vd., 2011).

Meme kanseri tedavisi, özellikle hastalık erken teşhis edildiğinde oldukça etkili olmaktadır. Cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi, meme kanseri tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır (World Health Organization, 2021a). Bu tedaviler arasında kemoterapi en fazla kullanılan yöntemdir ve meme kanserinin çeşitli evrelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde mevcut olan kemoterapi rejimleri, kanserin yayılma veya tekrarlama olasılığını azaltmada etkilidir. Kanserın büyümesini ve yayılmasını önleyebilen bu tür tedaviler hayat kurtarmaktadır. Fakat kemoterapi tedavisinde kullanılan ilaçlar, sadece kanserli hücreleri öldürmekle kalmayıp sağlıklı hücreleri de öldürerek yaşamı tehdit eden yan etkilere neden olmaktadır (Aydın, 2013). Tedavi yöntemlerinin meme dokusunda kayıp, halsizlik, mide bulantısı, iştah kaybı gibi yan etkileri bulunmaktadır ve bunlar hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Toksik yan etkiler ve ilaca direnç gibi sınırlamaları olan geleneksel kanser tedavileri çoğu zaman tümörü tamamen ortadan kaldırmayı başaramamıştır (Avazzadeh, vd., 2017).

2.2. Kanser Tedavi Yöntemleri

2.2.1. Cerrahi Yöntemi

Kanser tedavisinde kullanılan en önemli yaklaşımlardan biri lokal, bölgesel veya genel anestezi altında tümörün tamamının veya bir kısmının vücuttan çıkarılmasına dayanan cerrahi yöntemidir. Cerrahi, biyopsi yoluyla kanseri teşhis ederek (kanserin nereye yerleştiğinin, nerelere yayıldığının, vücutta diğer organların etkilenip etkilenmediğinin tanımlaması) kanseri tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Cerrahi yöntemi, kanserin kolayca bulunmasına ve çıkarılmasına

yardımcı olur. Bir alanda bulunan katı tümörler için en iyi sonucu vermektedir. Fakat kanser vücudun başka bir yerine yayıldığında, cerrahi yöntemi genellikle etkili olmamaktadır. Bu nedenle yayılmış kanser türleri için tercih edilmemektedir (National Cancer Institute, 2015b).

2.2.2. Kemoterapi Yöntemi

Kemoterapi, kanser hücrelerini öldürmek için terapötik/anti-kanser ilaçları kullanan bir kanser tedavisi yöntemidir. Kemoterapi; kanseri tedavi etmek, tekrarlama olasılığını azaltmak, büyümesini durdurmak, yavaşlatmak, kanser semptomlarını hafifletmek ağrıyı ve diğer sorunlara neden olan tümörleri küçültmek için kullanılabilir. Şu anda klinikte kullanılan birçok farklı kemoterapi ilacı vardır (Fisusi ve Akala, 2019). Tedavi sırasında kullanılan ilaç; kanserin türüne, kanserin vücuttaki başlangıç noktasına, kanserin yayılıp yayılmadığına, hastanın genel sağlığına bağlı olarak değişmektedir. Birçok kemoterapi ilacının tedavi sonuçları birçok kanser türü için iyi sonuçlar vermektedir. Ancak kemoterapi ilaçlarından her zaman istenen faydayı sağlamak mümkün değildir ve bu ilaçların birçok yan etkisi vardır. Örneğin; hastayı yorgun hissettirebilir, hastanın iştahını etkiler, özellikle el ve ayaklardaki sinirlere zarar verir. Bazı kemoterapi ilaçları böbrek, karaciğer, kalp veya akciğerlerin çalışma şeklini etkileyebilir (National Cancer Institute, 2015a). Ayrıca kemoterapik ilaçlar çoğunlukla bölünen hücreleri hedef aldığından kanser kök hücrelerini yüksek dirençlerinden dolayı yok etmeyi başaramamaktadır. Bu da kanserin tekrarlamasına neden olmaktadır. Kemoterapi ilaçlarının yan etkilerini azaltmak, hedefe yönelik tedavi sağlayabilmek ve kanser kök hücrelerini yok edebilmek için nanoteknoloji alanında çalışmalar yapılmaya devam etmektedir (Aydın, 2013; Lee, vd., 2013; Hałupka-Bryl, vd., 2014).

2.2.3. Radyoterapi

Radyoterapi, kanser hücrelerini öldürmek ve tümörleri küçültmek için yüksek dozda iyonize radyasyon kullanan kanser tedavisi yöntemidir. Radyoterapi tedavisinin hedefi, tümörlü dokunun yok edilmesi sırasında normal dokuların korunmasıdır. İyonize radyasyon ile kanser hücrelerin DNA'sına zarar verilerek bu hücreler öldürülmektedir. Sağlıklı hücreler radyasyondan etkilense de onarım

mekanizmaları genellikle birkaç ay içinde bu sorunu düzeltir. Radyasyonun tipi, dozlama programı, uygulama tekniği ve ayrıca tümörün ve normal dokuların biyolojik özellikleri gibi faktörler radyoterapi sonrasındaki klinik sonucu etkilemektedir (Allen, vd., 2019).

Radyoterapi tedavisinin, harici radyoterapi ve dahili radyoterapi olmak üzere iki türü bulunmaktadır. Harici radyasyon tedavisi, vücudun belirli bir bölümünü tedavi edildiği lokal bir tedavidir. Örneğin, akciğerde kanser varsa, tüm vücuda değil, yalnızca göğüs bölgesine radyasyon uygulanır. Dahili radyasyon tedavisi ise vücudun içerisine bir radyasyon kaynağının yerleştirildiği bir tedavi yöntemidir. Radyasyon kaynağı katı veya sıvı olabilir. Uygulanacak radyoterapi; kanser türü, tümör boyutu, tümörün vücuttaki yeri, hastanın tıbbi geçmişi, yaşı gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (National Cancer Institute, 2019b).

Radyoterapi yöntemi dünya çapında en çok tercih edilen kanser tedavi yöntemlerinden birisidir. Fakat bulantı, kusma, saç dökülmesi, ishal, şişlik gibi çeşitli yan etkilere neden olabilmektedir. Bu yan etkiler hastadan hastaya farklılık göstermektedir (National Cancer Institute, 2022).

2.2.4. İmmünoterapi

İmmünoterapi, bağışıklık sisteminin kanserle savaşmasına yardımcı olan kanser tedavisi yöntemidir. Bağışıklık sistemi, vücudun hastalık yapan yabancı mikroplara karşı korunmasına, enfeksiyon ve diğer hastalıklarla savaşmasına yardımcı olmaktadır. İmmünoterapi tedavisi, tümör büyümesini teşvik etmede etkili olan normal sinyalleri taklit etmek için kansere karşı bir bağışıklık tepkisi oluşturan veya güçlendiren biyolojik ajanların kullanılmasına dayanmaktadır (National Cancer Institute, 2019a).

2.2.5. Hipertermi

Son yıllarda tekrarlayan ve ilerlemiş kanserlerin tedavisinde cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve immünoterapi gibi farklı tıbbi tekniklerin yanı sıra tedavi edici, zararsız ve tamamlayıcı bir yöntem olan hipertermiden yararlanılmaktadır (Eivazzadeh-Keihan, vd., 2020). Hipertermi, temel olarak, kanser hücrelerine zarar vermek, onları öldürmek veya diğer tedavi yöntemlerini daha duyarlı hale getirmek için vücut dokusunun fizyolojik sıcaklıkların üzerinde ($\sim 41-47\text{ }^{\circ}\text{C}$) ısıtılarak sağlıklı vücut bölgesine uygulanan bir tedavi türüdür (Singh ve Sahoo, 2014). Kemoterapi ve radyoterapi tedavisinin yanı sıra klinikte tamamlayıcı bir yöntem olarak, kullanılmaktadır. Bu tedavi yöntemi, kemoterapi, radyasyon tedavisi, cerrahi, gen tedavisi ve kanser için immünoterapi dahil olmak üzere şu anda mevcut tedavileri tamamlar (Kumar ve Mohammad, 2011). Örneğin tümörlü hücreler ısındıktan sonra radyoterapi tedavisine daha iyi yanıt vermektedir. Kanseri tedavi etmek için uygulanan hipertermi, termal terapi, termal ablasyon veya termoterapi olarak da adlandırılmaktadır (National Cancer Institute, 2021a).

Kanserli hücrelerin düzensiz damar ağları ve kanserli doku içerisindeki düşük kan akışı tümörün konvektif soğuma hızını düşürür ve tümörün aşırı ısınmasına neden olur. Sağlıklı hücreler bu sıcaklıklara kısa bir süre dayanabilirken kanserli hücreler apoptoza uğrarlar. Sonuç olarak, kanserli dokudaki hücrelerin canlılığı $41-47\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında önemli ölçüde azalırken, sağlıklı dokular ısıyı başarılı bir şekilde dağıtabilmekte ve oradaki hücreler hayatta kalabilmektedir.

Lokal, bölgesel ve tüm vücut hipertermisi, mevcut üç hipertermi stratejisi olarak kategorize edilmektedir (Eivazzadeh-Keihan, vd., 2020). Bu stratejilerin uygulanması mikrodalga, radyofrekans, lazer ve ultrason teknikleri gibi farklı ısıtma yöntemleriyle gerçekleştirilebilir (Ma ve Jiang, 2010). Mikrodalga radyasyonu kullanılarak gerçekleştirilen hipertermi tedavisi sunulan tez çalışmasında açıklanmıştır. Hipertermi uygulamaları, klinik uygulamalarda önemli ilerlemeler sağlasa da kabarcıklar, yanıklar, ağrı ve düzensiz doku büyümesi gibi çeşitli yan etkileri vardır (Pennacchioli, vd., 2009). Son yıllarda radyoterapi ile birlikte farklı yaklaşımlarda kullanılmaya başlanmıştır ancak sağlıklı dokularda bu tedavilerle ilişkilendirilebilecek ciddi zararlı

etkiler olduğu bulunmuştur (Bañobre-López, vd., 2013). Bu çerçevede nanoteknoloji, MNPlerin yerel bir ısıyı uzaktan indüklemek için kullanımına dayanan manyetik hipertermi uygulaması ile yeni bir çözüm sunmaktadır. Çeşitli kaplamalar sayesinde MNP'lerin kullanımı, yeni bir terapötik ısıtma tekniğı olarak kabul edilmiştir (Eivazzadeh-Keihan, vd., 2020). Araştırmacılar, yapılan araştırmalarda MNP'ler ile gerçekleştirilen lokalize hiperterminin daha az yan etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.

2.3. Manyetik Nanopartikül Hipertermi

Manyetik Nanopartiküller (MNP) kullanılarak gerçekleştirilen hipertermi uygulaması manyetik nanopartikül hipertermi (MNPH) olarak adlandırılmaktadır (Kumar ve Mohammad, 2011). MNP'ler sunulan tez çalışmasının ilerleyen bölümlerinde açıklanmıştır. MNPH ısı indüksiyonunun uzaktan tetiklenmesi, tümörlerin seçici olarak öldürülmesi ve minimal invaziv olma gibi arzu edilen değerlere sahip, gelişmekte olan bir kanser termoterapisidir (Huang, vd., 2021). MNPH, doğrudan nanopartiküllerden kaynaklanan benzersiz avantajlar sağlayan tek termal kanser nanotıbbıdır ve diğer tümör tedavi yöntemlerine kıyasla nispeten toksik değildir (Healy, vd., 2022; Hedayatnasab, vd., 2017). Ayrıca, MNPH ile, tümörü çevreleyen dokulara zarar vermeden tümör hücreleri lokalize olarak ısıtılabilir (Petryk, vd., 2013).

Süperparamanyetik nanopartiküller, sağlıklı doku korunurken yalnızca tümör bölgesinin sıcaklığının arttırmak amacıyla MNPH uygulamalarında büyük ilgi görmüştür. Bu parçacıklar, belirli alanda ısı artışı şeklinde enerji üretimine neden olan harici bir AMF uygulanarak doğrudan kanser hücrelerini hedef almaktadır. Sonuç olarak, tümörler kısmen veya tamamen yok edilebilmektedir. Ayrıca hipertermi tekniğı için süperparamanyetik nanopartiküllere, antikanser ilaçlar konjuge edildiğinde kanser hücrelerine terapötik ajanlar verilerek bu yöntemin etkinliğı artırılabilir (Salmanian, vd., 2021). Manyetit (Fe_3O_4), dekstran, katyonik lipozomlar, polivinil alkol ve hidrojel gibi farklı ligandlarla kararlı hale gelebilen iyi bilinen süperparamanyetik bir malzemedir. Düşük doyum manyetizasyonuna sahip olduğu için klinik araştırmalarda tercih edilmektedir.

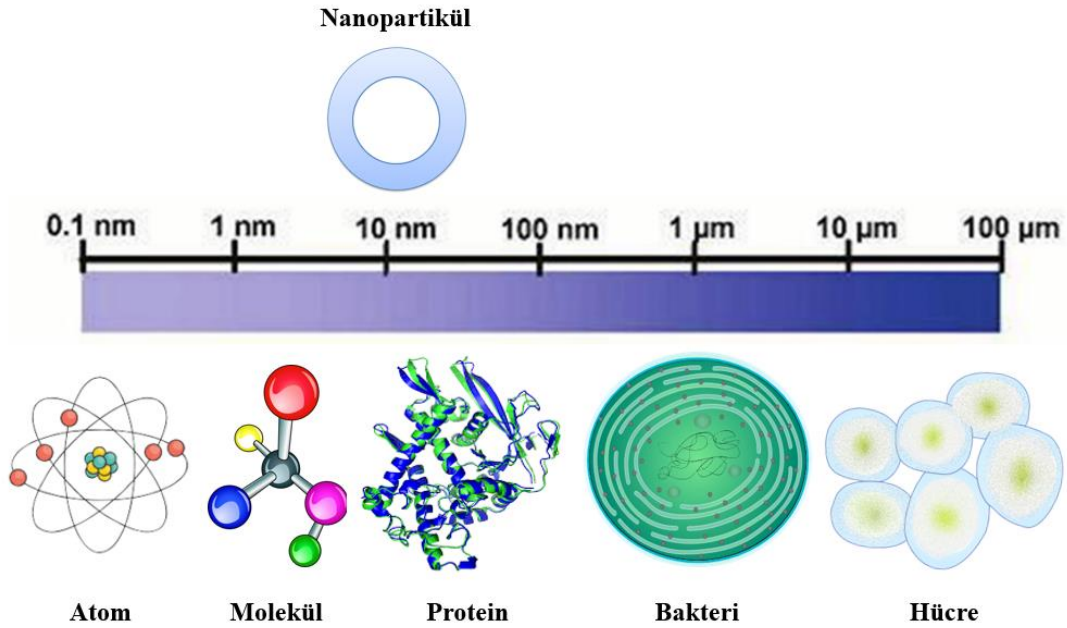
MNPH'nin, diğer geleneksel tedavi yöntemleriyle birlikte veya sadece hipertermi uygulaması sonrası kanserli bölge üzerine olumlu etkileri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Basel, vd., 2012; Lee, vd., 2013). Son yıllarda, özellikle MNPH'nin kanserli tümörlerin boyutu üzerindeki etkisini incelemek için yapılan in-vivo deneylerin, kanser tedavisi alanında büyük ilgi gördüğü bilinmektedir (Farzin, vd., 2020).

2012 yılında, Basel ve arkadaşları sentezledikleri demir/demir oksit nanopartiküllerini tümör yerleşim hücreleri olan RAW264.7 (fare monosit/makrofaj benzeri hücreler) hücrelerine yüklemişlerdir. Yayılmış peritonal pankreas kanserinin bir murin modeli oluşturulmuş ve tümör gelişimi gerçekleştikten sonra demir/demir oksit nanopartikülleri ile yüklenmiş RAW264.7 hücreleri intraperitonal olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan üç gün sonra fareler, hipertermi tedavisi için 20 dakika boyunca AMF'ye maruz bırakılmış ve bu işlem bir grup farede üç kez tekrarlanmıştır. MNP'ler AMF maruziyeti ile ısı üretmiştir. Çalışma bu sistemin bir murin pankreas kanseri modelinde hayatta kalma oranını %31 oranında arttırdığını göstermiştir. Sonuç olarak, pankreas ve diğer kanser türlerinin hedefe yönelik tedavi edilebilmesi için MNPH uygulamalarının geliştirilebilme potansiyelinin olduğu bildirilmiştir (Basel, vd., 2012).

2013 yılında Lee ve arkadaşları Adamantine çekirdeğini PEG ile kaplayarak oluşturdukları poliami doamin dendrimerleri, doksorubisin ile kapsüllemişler ve DOX-SMNP'leri oluşturmuşlardır. Oluşturdukları MNP'lerin hipertermi tedavi potansiyelini değerlendirerek tedavi için bir protokol ortaya koymuşlardır. Çalışma sonucunda tasarlanan DOX-SMNP ile ilaç salımı ve hipertermi tedavisinin başarılı bir şekilde gerçekleştiği gösterilmiş, 2 kez hipertermi tedavisi gerçekleştirilen hayvanlarda tümör büyümesinde azalma olduğu gösterilmiştir (Lee, vd., 2013).

2.4. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji; ~1–100 nm boyutlarında olan malzeme ve cihazların tasarımı, sentezi, karakterizasyonu ve uygulanmasıyla ilgilenen, fizik, kimya, biyoloji, tıp ve mühendislik alanlarını birbirine bağlayan disiplinler arası bir araştırma alanıdır (Nanoteknoloji, 2020). Materyal boyutlarının küçültülmesi sonucunda fiziksel özelliklerin değişmesi nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Materyal boyutu küçüldükçe kuantum etkisi artmaktadır. Buna bağlı olarak malzemenin optik, manyetik ve elektriksel özellikleri önemli ölçüde değişiklik gösterir. Nano ölçekli materyaller, nano boyutlarından kaynaklanan yüksek yüzey/hacim oranı gibi farklı ve benzersiz özelliklere sahiptir ve bu özellikler biyomedikal uygulamalarda önemli bir rol oynamaktadır (Ersöz, vd., 2018).



Şekil 2.1 Nanopartiküllerin Boyut Karşılaştırılması (Mevcut şekil bioicons.com web sayfasından yararlanılarak Microsoft PowerPoint programı üzerinde geliştirilmiştir)

Nanomalzemeler, boyutlarına göre biyolojik varlıklarla karşılaştırıldığında, hücrelerden daha küçük oldukları Şekil 2.1.'de görülmektedir. Bu nedenle hücrelere veya kan damarlarına girip çıkmaları kolaydır, hatta bazıları kan-beyin bariyerini geçebilmektedir (Liu, vd., 2010). Nanotıp, nanoteknolojik sistemlerin tıp alanına

uygulanmasıdır. Nanoteknolojinin önemli alanlarından birisi olan, nanotıp alanında, çeşitli hastalıkların teşhisi ve tedavisi için nanomalzemelerin kullanımını ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır. Örneğin, kanser tedavisi için yapılan araştırmalar, tedaviye yönelik (terapötik) nanopartiküllerin, kemoterapi ilaçları ile karşılaştırdığında, ilaçların etkinliğinin arttırarak, yan etkilerinin azaldığını öne sürmektedir (Didarian ve Vargel, 2021). Nanopartiküllerin kullanımı (görüntüleme, ilaç salım sistemleri, hipertermi uygulamalarında kullanılan vb.) mevcut kanser tanı ve tedavi yöntemleri için önemli bir katkı olacaktır.

2.4.1. Nanopartiküller

Nanopartiküller inorganik veya organik (manyetik, polimer, seramik vb.) maddelerden oluşan mikron altı boyutlardaki parçacıklardır. Çeşitli nanopartikül tipleri biyokimyasal ve biyomedikal uygulamalar için yaygın olarak kullanılmıştır. Klasik nanopartikül tanımında, partiküllerin boyutu 1-100 nm aralığındadır. Fakat literatürde, bu aralık dışındaki boyutlarda nanopartiküller de bulunmaktadır. Nanopartiküller, küçük boyutlarına bağlı olarak oluşan yüzey etkileri, elektronik ve manyetik davranışları nedeniyle aynı bileşimdeki kütle materyallerinden farklı özelliklere sahiptir. (Huang ve Juan, 2011). Ayrıca, nanopartiküller farklı morfolojilerde üretilebilmektedir. Nanopartiküllerin üretimi için çözücü buharlaştırma tekniği, sol-jel reaksiyonu, elektrokimyasal, birlikte çökeltme gibi birçok farklı yöntem geliştirilmiştir. Tüm yöntemlerin avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (Singh ve Sahoo, 2014).

Nano ölçekte malzemelerin, özellikle manyetik nanopartiküllerin (MNP) kullanımı, şu anda sağlık ve yaşam bilimlerinde öne çıkan bir konudur. Boyutlarına göre ayarlanabilen fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı MNP'ler tıbbi teşhisten tedaviye kadar geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir (Bañobre-López, vd., 2013).

2.4.1.1. Manyetik Nanopartiküller

MNP'ler, harici bir manyetik alanın etkisi altında manipüle edilebilen, mevcut klinik teşhis ve tedavi tekniklerinde olumlu değişiklikler yaratma potansiyeline sahip

nano ölçekli malzemelerdir (Sun, vd., 2008). Günümüzde birçok biyolojik ve biyomedikal uygulama için kullanılmakta ve araştırılmaya devam etmektedir. Örneğin; hücre, protein, nükleik asitler, enzim, bakteriler, virüsler gibi biyolojik varlıkların manyetik biyo-ayırımı ve tespiti, klinik tanı ve tedavi (MRI ve MNPH, ilaç salım sistemleri, gen terapi, vb.). MNP'ler biyomedikal uygulamalar için birçok avantajı sunmaktadır. Bunlardan bazıları şu şekilde özetlenebilir:

- Kontrol edilebilir boyutlar sunarlar (Hyeon, 2003).
- Harici bir manyetik gradyan tarafından manipüle edilebilirler.
- Organik veya inorganik malzemeler ile kaplanarak biyouyumlu hale getirilmeye ve çeşitli biyoaktif moleküllerin eklenmesiyle daha fazla işlevselleştirilmeye uygundur (Berry ve Curtis, 2003).
- Benzersiz manyetik özelliklere, hücresel ve moleküler düzeyde biyolojik etkileşim yeteneğine sahiptirler. Bu özellikleri onları manyetik rezonans görüntüleme (MRI) için kontrast ajanları ve ilaç salımı için taşıyıcı sistemler olarak önemli rol oynamalarını sağlar (Shi, vd., 2008; Sun, vd., 2008; Taboada, vd., 2009).

Biyomedikal alanındaki uygulamalarda, genellikle yüksek doygunlukta magnetizasyon içeren metaller (Demir, kobalt, nikel vb.) veya metal oksitlerini içeren materyaller tercih edilmektedir. Saf metaller yüksek doygunlukta magnetizasyona sahiptir fakat oldukça toksiktirlerdir. Ayrıca oksidasyona (metal-oksijenin reaksiyonu) duyarlıdır. Bu nedenle metal nanopartiküller biyomedikal uygulamalar için uygun değildir. Süperparamanyetik demir oksit nanopartiküller (SPIONs), metal nanopartiküllerin aksine oksidasyona daha az duyarlıdır. Ayrıca, daha kararlı manyetik cevap verirler. SPIONs'lar çok kristalli yapıya sahiptir. Çeşitli biyomedikal uygulamalarda, SPIONs çekirdek yapısı olarak, γ -Fe₂O₃ (maghemit) ve Fe₃O₄ (magnetit) sıklıkla tercih edilmektedir (Huang ve Juan, 2011). Farklı materyaller ve SPIONs'ların kombine edilmesiyle hazırlanan nanomateriyaller, içerdikleri farklı materyallerden dolayı spesifik yüzey kimyası, optik ve manyetik özellikler taşırlar. Bu özellikler onların yaygın olarak kullanımını sağlar. Bu kullanım alanları; ilaç salım sistemleri, hipertermi ve görüntüleme uygulamaları vb. olarak ifade edilebilir.

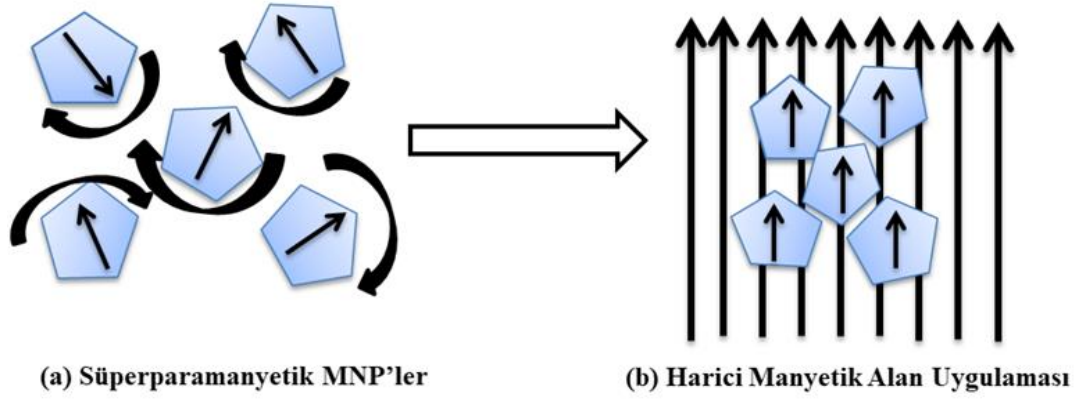
2.4.1.1.1. Süperparamanyetik Demir Oksit Nanopartiküller (SPIONs)

Demir oksit çekirdekleri, biyouyumlulukları ve klinik görüntülemelerde kullanımları nedeniyle biyomedikal uygulamalarda daha başarılı bulunmaktadır. Geçen son 20 yıllık süreçte, geniş yüzey alanı/hacim oranı, bir mıknatısla kolay manipülasyon, yüksek manyetizasyon ve yüksek doygunluk, biyouyumluluk ve biyolojik uygulamalarda umut vermesinden dolayı farklı çeşitteki demir oksitlerle yapılan çalışmalarda önemli oranda bir artış gözlemlenmektedir (Kwizera, vd., 2022). Araştırmacılar özellikle $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ve Fe_3O_4 içeren süperparamanyetik demir oksit nanopartiküllerinin araştırılmasına ve geliştirilmesine odaklanmaktadır (Corot, vd., 2006; Khedri, vd., 2018; Zhu, vd., 2009). Biyomedikal uygulamalardaki, kimyasal kararlılığı, toksik olmaması ve üretim kolaylığı gibi benzersiz özellikler gösterdikleri için Fe_3O_4 çalışmalarda daha çok tercih edilmektedir (Bucak ve Altan, 2017; Kavaz, vd., 2010). Tez çalışması kapsamında manyetik çekirdek olarak Fe_3O_4 kullanılmıştır.

Malzemeler manyetik özelliklerine göre 3 sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar:

- Diamanyetik malzemeler
- Paramanyetik malzemeler
- Ferromanyetiki malzemelerdir (Ersöz, vd., 2018).

SPIONs'lar, ferromanyetik malzemeler sınıfına dâhil edilen süperparamanyetik malzemeler sınıfında yer almaktadır. Süperparamanyetik malzemeler, ferromanyetik malzemelerden farklı olarak boyutları nedeniyle harici bir manyetik alan dışında manyetik özelliklere sahip değildir (Bonnemain, 1998). Süperparamanyetizma, parçacıklar, termal etkiler nedeniyle manyetik momentlerinin rastgele değişmesine neden olacak kadar küçük olduğunda meydana gelir. Süperparamanyetizma elde edebilmek için gereken boyut sınırları, çekirdek malzeme bileşimlerine göre farklılık gösterir ve bu boyut sınırı SPIONs'lar için boyut<30 nm'dir (Cole, vd., 2011).



Şekil 2.2 Süperparamanyetik MNP'lere Harici Manyetik Alan Uygulanması (Cole, vd., 2011'den uyarlanmıştır)

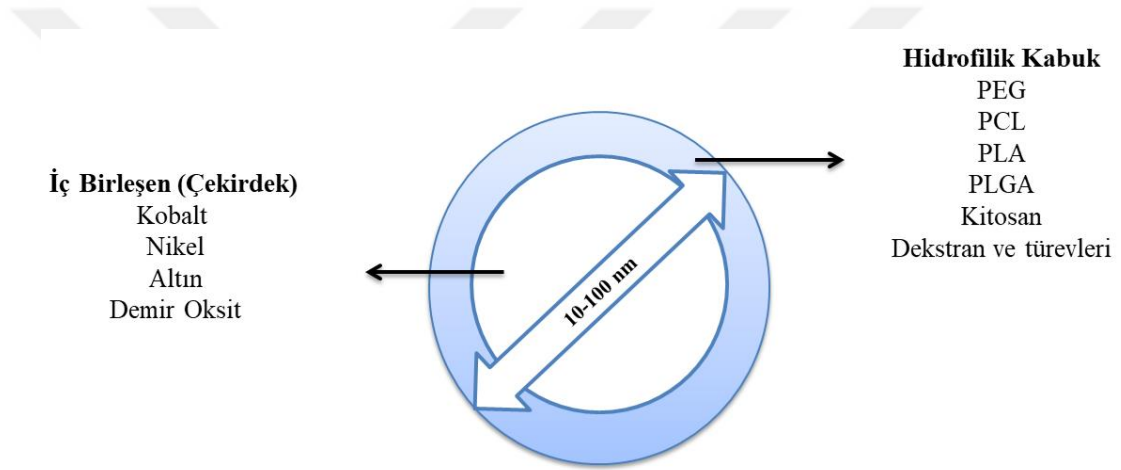
Süperparamanyetik MNP'ler, uygulanan manyetik alanla aynı yönde manyetik momentler içerirler. Harici manyetik alan olmadığında, MNP'lerin momentleri termal etkilerden dolayı rastgele ters döner ve yaklaşık olarak sıfır manyetizma gözlenir (Şekil 2.2. (a)). Harici bir manyetik alan uygulandıktan sonra, MNP'lerin momentleri manyetik alan yönünde hizalanır. (Şekil 2.2. (b)). Dış manyetik alan uygulandığında manyetik alan yönüne dönen momentler, alan kaldırıldığında tekrar rastgele yönelerek toplam mıknatısları yaklaşık olarak tekrar sıfırlanır (Parsian, vd., 2016). Bir moment-dönüşünden diğerine karakteristik zaman Neel gevşeme zamanı olarak adlandırılır ve yaklaşık olarak Neel-Arrhenius denklemi ile belirlenir: $\tau_0 \cdot \exp(KV/(k_B \cdot T))$. τ_0 , çevirme girişimleri arasındaki süredir ve malzemeye bağlı olarak 10^{-9} - 10^{-12} aralığında değişir. V partikül hacmi, K manyetik anizotropi enerji yoğunluğu, T sıcaklık ve k_B Boltzmann sabitidir (Cole, vd., 2011).

Biyomedikal uygulamalar için kullanılan SPIONs'lar genellikle manyetik bir çekirdek ve işlevselleştirmeyi kolaylaştıran bir dış organik katmandan oluşmaktadır (Frey, vd., 2009; Parsian, vd., 2016). Bunun nedeni: SPIONs'un kararlılığının, manyetik, dipolar ve van der Waals etkileşimleri gibi farklı çekici etkileşimlerin dengesinden etkilenmesidir (Appel, vd. 2021). Bu nedenle, herhangi bir organik/inorganik kaplama ile kaplanmayan SPIONs'lar, manyetik özelliklerini etkileyen, bir araya toplanma (kümelenme) eğilimindedir (El-Kharrag, vd., 2019; Kwizera, vd., 2022). Bu kümelenmeyi önlemek için, genellikle ya elektrostatik ya da

sterik itme ile stabilize etmek için koruyucu kabuk(lar) ile yüzeyleri modifiye edilir (Gutiérrez, vd.,2019 ; Kalambur, vd., 2007).

2.5. Manyetik Nanopartiküllerin Yüzey Kaplamaları

MNP'lerin, birleşimi, boyutu, yüzey kimyası ve morfolojisi manyetik özelliklerini geliştirmek ve in-vivo ortamda istenilen davranışı göstermeleri için çeşitli prosesler ile ayarlanabilmektedir (Erdoğan, 2018). İyi biyouyumluluk gösteren bir malzeme ile kaplanan MNP'lerin yüzey alanları genişletilebilmektedir. Manyetik bir çekirdek ve yüzey kaplaması ile oluşturulan yapı “çekirdek-kabuk” yapısı olarak adlandırılır ve ek modifikasyonlar ile işlevsellik kazandırılabilir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3 MNP'lerin “Çekirdek-Kabuk” Yapısı (Erdoğan, 2018’den uyarlanmıştır)

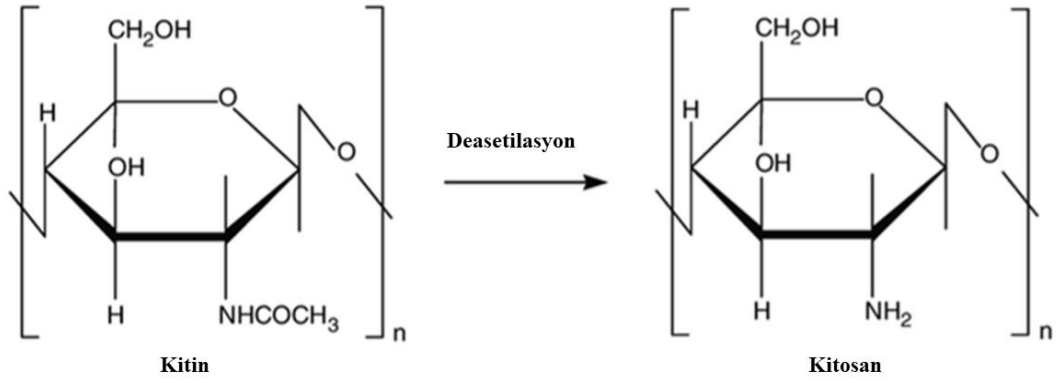
10-100 nm MNP'lerin intravenöz uygulama için uygun olduğuna inanılmaktadır, çünkü >100 nm nanopartiküller dalakta fagositoz ile süzülür ve <10 nm nanopartiküller renal filtrasyon ile hızla temizlenir (Gupta ve Gupta, 2005; Unsoy, vd., 2012). Bu olaylar, özellikle karaciğer ve dalak organlarında MNP'lerin birikimine neden olur. Nanopartiküllerin retiküloendotelial sistem (RES) tarafından opsonizasyonu ve temizlenmesi, katyonik polimerlerin veya PEG gibi hidrofilik polimerler ile kaplanması sağlanarak önlenebilir (Singh ve Sahoo, 2014). Kaplamalar MNP'leri fizyolojik sıvılarda stabilize eder ve vücutta kalma sürelerini uzatır. Ayrıca, yüzey kaplamaları MNP'lere terapötik (antikanser ilaç vb.) ve hedefleyici parçaların

tutunmasını sağlar (Avazzadeh, vd., 2017; Lee, vd., 2013; Parsian, vd., 2016; Piehler, vd., 2020).

Hem doğal hem de sentetik polimerler, MNP'leri kaplamak için araştırılmıştır. Bu polimerlerden bazıları ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Polikaprolakton (PCL), PEG, polilaktik asit (PLA), polikaprolakton (PCL), polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA), kitosan ve dekstran bu polimerlere örnek olarak verilebilir (Erdoğan, 2018). PCL, PLGA, kitosan gibi biyoyumlu polimerler, özellikle ilaç salım sistemleri gibi uygulamalarda kullanıldığında MNP'lerin biyoyumluluğunu ve biyobozunurluğunu daha da geliştirmektedir. Bu polimerler arasında kitosan; ilaç/gen dağıtımını, kanser ve mikrop tedavilerini kontrol etme, protein-ağır metallerin adsorpsiyonunu ve yara iyileşmesini destekleme yeteneği ile bilinmektedir (El-Kharag, vd., 2019).

2.5.1. Kitosan

Kitosan, dünyada selülozdan sonra en bol bulunan ikinci polisakkarit olan kitin'in kapsamlı deasetilasyonundan elde edilen FDA tarafından onaylanmış doğal bir polimerdir. N-asetil d-glukozamin ve d-glukozamin birimlerinden oluşmaktadır (Hammouda, vd., 2022; Zhu, vd., 2009). İki alt birim, bir sonraki birimi (1-4)- β -glikosidik bağ ile bağlar. Kitinin deasetilasyonu kitin içindeki N-asetil glukozaminden asetil gruplarının ayrılması ile gerçekleşir (Şekil 2.4). Deasetilasyon derecesi, ortalama glukozamin ve Nacetyl glukozamin sayısına göre bir parametredir. Bu parametre ve moleküler ağırlık bazında kitosanın kimyasal, fiziksel özellikleri belirlemektedir (Sultankulov, vd., 2019).



Şekil 2.4 Kitin ve Kitosanın Yapısı (Sultankulov, vd., 2019)

Pozitif yüzey yükü, katyonik yapısı ve SPIONs'lar gibi negatif yüklü maddelerle bağlanma yeteneği, kitosanın birçok uygulamada kullanımı için biyolojik ve fizyolojik fayda sağlamıştır (Siavashy, vd., 2021). Antibakteriyel özelliklere sahip olan kitosan, hidrofilik, toksik olmayan, uyarıcıya karşı duyarlı bir polimerdir. Ayrıca yüksek biyoyararlanım, modifikasyon kolaylığı, uygun su geçirgenliği, kimyasal direnci, nanopartiküller, içi boş küre, jeller, filmler, mikropartiküller vb. gibi farklı şekiller ve kombinasyonlar oluşturma kabiliyetine sahip olduğu kanıtlanmıştır (Salmanian, vd., 2021). Biyouyumluluk, biyobozunurluk ve biyoaktivite gibi ideal özelliklerinden dolayı nanopartiküllerin agregasyonunu önlemek ve kolloidal stabiliteyi ve in-vivo kan dolaşımını iyileştirmek için moleküler bir yüzey aktif madde olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Kavaz, vd., 2010; Salmanian, vd., 2021). Özellikle son 20 yıl içerisinde kitosan üzerine yapılan çalışmalar artmıştır (Soares, vd., 2016; Wang, vd., 2017). Biyolojik olarak parçalanabilirliği, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri, hücre uyumluluğu ve sınırlı immünojenisite gibi olumlu özellikleri bu polimerin ilaç salım sistemleri, hipertermi gibi farklı biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (Hammouda, vd., 2022). Kitosan kaplı MNP'ler, eşzamanlı ilaç salım sistemleri ve hipertermi uygulamaları için potansiyel adaylar olarak kabul edilmektedir. Geçtiğimiz yıllarda, hipertermi uygulamalarında kitosan kullanımı konusunda çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Eivazzadeh-Keihan, vd., 2020; Pon-On, vd., 2019; Soares, vd., 2016). Araştırma sonuçları, kitosanın hipertermi uygulamasının etkinliğini arttırdığı yönündedir (Wang, vd., 2017).

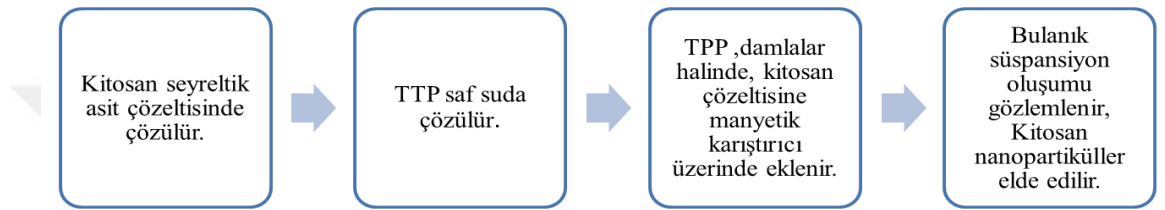
2.5.2. Kitosan Nanopartikülleri

Mikro ve nano boyutta sentezlenebilen kitosan ve türevleri, bu biyomoleküllerin etkin ve ekonomik bir şekilde kullanılabilmesini sağlamıştır. Kitosan uygulamalarının birçok farklı alana genişletildiği bilinmektedir (Salmanian, vd., 2021). Kitosan veya türevleri kullanılarak hazırlanan nanopartiküller, kitosan nanopartikülleri olarak tanımlanmaktadır. Kitosan nanopartikülleri, biyoaktivitelerinden sorumlu olan kendi fiziksel, kimyasal ve morfolojik özelliklerine sahiptir ve bu özellikler, kitosan nanopartiküllerinin çalışma alanlarını belirlemektedir. Kitosan nanopartiküllerinin hazırlanma yöntemleri, farklı sistemlerde ve uygulamalardaki biyolojik aktivitelerini ve davranışsal özelliklerini belirlemektedir (Perera ve Rajapakse, 2014). Kitosan nanopartiküllerinin hazırlanması için kullanılan yöntemlerden bazılarına:

- Emülsiyon çapraz bağlama,
- Emülsiyon/damlacık birleşmesi,
- Çoklu emülsiyon,
- Koaservasyon/ çökelme,
- İyonik jelyasyon ile nanopitasyon,
- Çözücü buharlaştırma tekniği verilebilir.

Polimer kaplı MNP'lerin tasarımına yönelik yapılan araştırmalar incelendiğinde, nanopartikül hazırlama yöntemlerinin çalışmada kullanılan etkin maddenin sudaki çözünürlüğüne göre çeşitlendirildiği belirlenmiştir. Bu noktada, araştırma alanı daraltılarak sadece suda ve zayıf asitlerde pratik olarak çözünürlüğü bulunan etkin maddeler ile nanopartikül hazırlama yöntemleri üzerinde yoğunlaşmış ve kolay uygulanabilir olması, tekrarlanabilir ürün kalitesinin temin edilebilmesi, yüksek etkin madde yükleme kapasitesi, üretim verimi elde edilebilmesi, dar bir partikül büyüklüğü aralığında nanopartikül üretiminin gerçekleştirilebilmesi için kendiliğinden oluşan simültane bir proses olan iyonik jelyasyon ile nanopresipitasyon tekniğinin, tez çalışması kapsamında kitosan kaplı Fe_3O_4 hazırlanması için kullanılmasına karar verilmiştir (Miladi, vd., 2015).

İyonik jelasyon ile nanopresipitasyon tekniğinde, kimyasal çapraz bağlayıcıların olası yan etkileri olabilmektedir. Bu nedenle sodyum tripolifosfat (TPP), $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ve sitrat gibi fiziksel çapraz bağlayıcılar kullanılmaktadır. Bunun için en çok kullanılan çapraz bağlayıcı TPP'dir. TPP kullanılarak kitosan ve nanopartikül arasında iyonik etkileşim gerçekleştirilmektedir (Calvo, vd., 1997). İyonik jelasyon ile nanopresipitasyon tekniğinin basamakları oldukça basittir ve bu nedenle sıklıkla tercih edilmektedir. İşlem basamakları 2.5'de gösterilmektedir.



Şekil 2.5 İyonik Jelasyon ile Nanopresipitasyon Tekniği İşlem Basamakları (Mevcut şekil Microsoft PowerPoint programı kullanılarak oluşturuldu)

2.6. Fe_3O_4 -Kitosan Nanopartikülleri

Fe_3O_4 nanopartikülleri, tüm nanopartiküller arasında biyomedikal alanda en yaygın olarak kullanılanlardır. Fe_3O_4 nanopartikülleri üzerindeki kitosan kaplama, agregat oluşumunu azaltır ve terapötik ilaçların yüklenmesi ve fonksiyonel grupların eklenmesi için boşluklar sağlamaktadır (Parsian, vd., 2016). Kitosan kaplı Fe_3O_4 nanopartiküllerinin, hücre takibi, kanser tespiti ve terapötik yanıt için kullanılabileceği literatürde birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (El-Kharrag, vd., 2019; Parsian, vd., 2016; Pazouki, vd., 2021; Tsai, vd., 2010; Unsoy, vd., 2012). Ayrıca, hipertermi uygulamaları için, Fe_3O_4 -kitosan sisteminin üretimi konusunda çalışmalar yapılmaktadır (Chauhan, vd., 2020; Hadjianfar, vd., 2019; Pazouki, vd., 2021; Soares, vd., 2016).

Chauhan ve arkadaşları 2020 yılında yayımladıkları çalışmada, elektrokimyasal yöntem ile sentezledikleri, 30-40 nm boyutlarındaki Fe_3O_4 nanopartiküllerini kitosan

ile kaplayarak, bu nanopartikülleri AMF hipertermi uygulaması için kullanmışlardır. Araştırmacılar çalışma sonucunda, kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartiküllerinin düşük sitotoksikite ve yüksek ısıtma verimliliği sergilediğini ve kitosan kaplamanın Fe_3O_4 nanopartiküllerinin kolloidal stabilitesini ve biyouyumluluğunu arttırdığını bildirmiştir (Chauhan, vd., 2020).

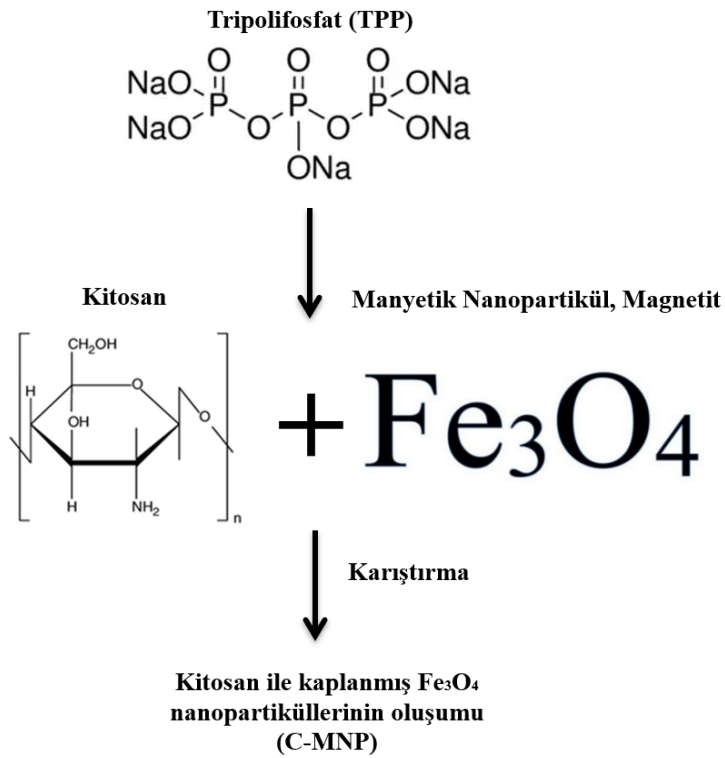
Pazouki ve arkadaşları, 2021 yılında yayımladıkları çalışmada kurkumin içeren karboksimetil kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartiküllerinin hipertermi ile insan meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Hazırlanan nanopartiküllerin hipertermi ile kombinasyonunun, MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını engelleyebileceği sonucuna ulaşmışlardır. Araştırmacılar, antikanser ilaçların, MNP'lerde kapsüllenmesinin ve hipertermi ile kombine edilmesinin tedavinin etkinliğini artırabileceğini, çalışmanın meme kanseri tedavisi için umut verici bir kombinasyon tedavi sunduğunu düşünmektedir (Pazouki, vd., 2021).

Bir diğer çalışmada, Soares ve arkadaşları, kimyasal çökeltme ve termal bozunma yöntemleri ile üretilen ve farklı moleküler ağırlıklara sahip kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartiküllerini incelemişlerdir. Fe_3O_4 ve kitosan- Fe_3O_4 nanopartiküllerinin karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Araştırmacılar, Fe_3O_4 nanopartiküllerinin kitosan ile kaplanmasının, nanopartiküllerin hidrodinamik çapını arttırdığını fakat kitosanın, nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini (kristallığı, kimyasal bileşimi, süperparamanyetik özellik) değiştirmediği bulgusuna ulaşmışlardır. Ayrıca, manyetik hipertermi ölçümleri gerçekleştiren araştırmacılar, bu nanopartiküllere AMF uyguladıklarında ısı üretebilmişlerdir (Soares, vd., 2016).

Hadjianfar ve arkadaşları, 2019 yılında yayımladıkları çalışmada, kitosan kaplı Fe_3O_4 'in AMF hipertermi uygulamasında başarılı olduğunu, AMF karakterizasyonu belirleyerek göstermiştir (Hadjianfar, vd., 2019). Fe_3O_4 nanopartiküllerinin kitosan ile kaplanmasının, nanopartiküllerin manyetik özelliklerini etkilemediği literatürde bulunan çalışma sonuçları incelendiğinde görülmektedir. Ayrıca, yaygın ve biyouyumlu polimer olan kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartiküllerinin MRI

kontrast maddesi, ilaç salım sistemleri, hipertermi ve diğer biyomedikal uygulamalar için kullanılmaları literatürde tavsiye edilmektedir (El-Kharag, vd., 2019).

Tez çalışması planlanırken, “MNP’ler ile hipertermi tedavisinin klinik de kullanılabilmesi için düşük yoğunluk ve elektrik alan değerlerindeki MW hipertermi karakterizasyonunun belirlenmesi önemlidir” hipotezi ile çalışılmaya başlanılmıştır. Literatür çalışmaları göz önüne alınarak, düşük yoğunluk ve elektrik alan değerlerindeki MW hipertermi karakterizasyonunun belirlenmesi için, tez çalışması kapsamında C-MNP’ler kullanılmıştır. Şekil 2.6’da nanopartiküllerin hazırlanması şematik olarak gösterilmektedir.



Şekil 2.6 İyonik Jelasyon ile Nanopresipitasyon Tekniği ile C-MNP’lerin Hazırlanması, Şematik Gösterim

2.7. Mikrodalga Hipertermi

MW, 300 MHz ila 300 GHz aralığındaki elektromanyetik radyasyonlardır (Aboneima, vd., 2021). Elektromanyetik spektrumun iyonize olmayan radyasyon bölgesinde olan MW, biyolojik sistem üzerinde termal etkiye neden olabilmektedir. Mikrodalga hipertermi, MW radyasyonu uygulaması ile vücut dokusunun yüksek sıcaklıklara maruz bırakıldığı, kanser tedavisi için kullanılan termal bir tedavi yöntemidir. Kanser hücrelerinin öldürülmesi, hücre içi yapıların ve proteinlerin zarar görmesi yoluyla tümör dokuları küçülebilmektedir (Görgün, vd., 2019).

Mikrodalga teknolojisi, farklı tümör türleri için diğer ablasyon yöntemleri (RF, ultrason, vb.) ile karşılaştırıldığında önemli avantajlar sağlamaktadır:

- Tümör içi sıcaklık artışı daha fazladır.
- Daha geniş hacimdeki tümörler yok edilebilmektedir.
- Damarlara yakın tümör dokuları için en ideal ısınmayı sağlar.
- Ağrı miktarı daha azdır (Carrafiello, vd., 2008; Görgün, vd., 2019).

Tüm bu avantajlar ile birlikte, MW hipertermi tedavisi onarım süreçlerini iyileştirebilmekte, ilaç aktivitesini artırabilmekte ve ağrıdan daha etkili bir şekilde kurtulmaya izin verebilmektedir. Fakat MW hipertermi tedavisinin, çevredeki hayati organlara ve dokulara zarar veren yanlış hedefleme ve düşük seçicilik gibi zorlukları bulunmaktadır (Kwizera, vd., 2022). Cilt MW enerjisinin çoğunu dağıtmaktadır. Bu nedenle MW hipertermi tedavisinin klinik uygulamaları sınırlanmaktadır (Chen, vd., 2017). Araştırmacılar MW hipertermi tedavisinin sınırlamalarının üstesinden gelmek, kanserli hücreleri ısıtarak yok etmek ve çevredeki sağlıklı dokuya verilen zararı en aza indirmek için hedefe yönelik yöntemlerin kullanımına odaklanmıştır. MNP kullanılarak gerçekleştirilen MW hipertermi tedavisi kanser tedavisi alanında, bu sınırlamaların üstesinden gelebileceği düşünülen yeni bir araştırma alanıdır.

2.7.1. Mikrodalga Kullanılarak Gerçekleştirilen Manyetik Nanopartikül Hipertermi Uygulamaları

MNP'ler ile MW hipertermi tedavisi, kanser tedavisi alanında yeni bir araştırma alanıdır ve bu konu ile ilgili in-vivo ve in-vitro araştırmalar sınırlıdır. Ulaşılan literatür sonuçlarına aşağıda değinilmiştir.

McWilliams ve arkadaşları 2017 yılındaki çalışmalarında, Fe/Fe₃O₄ ve Fe₃O₄ nanopartiküllerinin MW ısıtma etkinliğini değerlendirmişlerdir. Fe/Fe₃O₄ (10 ve 20 nm çapında küresel çekirdek/kabuk yapısında) ve Fe₃O₄ (20 nm kenar uzunluğunda kübik yapıda ve 45 nm kenar uzunluğunda/10 nm yüksekliğinde altıgen yapıda) nanopartiküllerini kullanan araştırmacılar, yüzey kaplaması olarak dopamin kullanmışlardır. MNP'ler, agar fantom içerisinde çözülerek 2.0, 2.45 ve 2.6 GHz MW frekanslarının ısıtma etkileri deneysel olarak değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, 10 mg/mL MNP konsantrasyonu için, 2.0 GHz MW frekansında daha fazla ısıtma artışının olduğu gösterilmiştir. 10 nm çapındaki Fe/Fe₃O₄ MNP'lere sahip fantomlarda, 20 nm çapında küresel MNP'lere sahip fantomlara kıyasla daha büyük sıcaklık eğimi görülmüştür. Araştırmacılar, MW ısıtma mekanizmasını aydınlatmak, MNP'lerin tasarımını kolaylaştırmak, MNP'lerin termal ve elektromanyetik özelliklerini karakterize etmek için çalışmaların yapılmaya devam etmesi gerektiğini bildirmişlerdir (McWilliams, vd., 2017). Bu tez çalışması planlanırken bu çalışma, referans olarak kullanılmıştır.

Abo-Neima ve arkadaşları 2021 yılında yayımladıkları çalışmalarında, farelerde ehrlich tümör modeli oluşturularak in-vivo bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar, bir grup fareye MTX ilacı, Fe₃O₄ ve Fe₂O₃ nanopartikülleri enjekte etmiş ve sonrasında MW'ya maruz bırakmıştır. MW maruziyetinin MTX ilacı, Fe₃O₄ ve Fe₂O₃ nanopartiküllerinin etkinliğini arttırdığı sonucuna ulaşmışlardır. Araştırmacılar, MW ışıması ile birlikte hedeflenen nanopartiküllerin bölgesel sıcaklık artışı sağlayabileceğini ve kanser tedavisi için uygun olduğunu bildirmişlerdir (Abo-Neima, vd., 2021). Bu sonuçlar, hipertermi tedavisi için MNP'ler ile MW uygulamasının potansiyelini göstermektedir.

3. MATERYAL VE METHOD

Tez çalışmasının bu bölümünde, tez kapsamında kullanılan materyaller ve gerçekleştirilen deneysel çalışmalar açıklanmıştır. Deneysel çalışmalar 2 temel aşamada aşağıda belirtilen sıralama doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında, kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartikülleri sentezlenmiş ve elde edilen C-MNP'lerin madde karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

İkinci aşamasında, sağlıklı meme ve tümör eşdeğeri dokuları agar tozu kullanılarak oluşturulmuş ve oluşturulan dokular üzerinde C-MNP'nin MW hipertermi termal karakterizasyonu araştırılmıştır.

3.1. Materyaller

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada, C-MNP sentezinde, madde karakterizasyonunda, deney ortam ve maruziyeti ile termal karakterizasyonda aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır.

- Dinamik Işık Saçılım Spektrometresi (DLS): Malvern Zetasizer Nano S (Malvern, UK)
- Zeta-Potansiyel ve Mobilite Ölçüm Cihazı: Malvern Zetasizer Nano S (Malvern, UK)
- X-Işını Kırınım Yöntemi (XRD): Rigaku MiniFlex Masaüstü X-Işını Kırınım Cihazı, Rigaku Ultima-IV X-Işını Kırınım Cihazı
- Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR): Bruker Tensor 27 FTIR (Fourier Transform Infrared Spektrofotometre) Spectrometer , Perkin Elmer Spectrum 100 FTIR Spectrometer
- Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Cihazı (DSC): TA Instruments DSC Q2000, Perkin Elmer DSC 8000
- Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM): JEOL JSM-7001F Electron Microscope
- Manyetik Karıştırıcı (Daihan MSH-20A, Güney Kore)
- Mikrodalga Verici Cihaz ve Anten (2004X RF Set Elektronik Ltd. Ştd., Adapazarı, Türkiye)

- Termal Kamera (Testo 865, Almanya)
- Thermocouple Cihazı (Pico TC-08, Birleşik Krallık (UK))
- Elektrik Alan Ölçüm Cihazı (3-Axis RF Field Strength Meter (Tenmars-196, Çin Cumhuriyeti (Tayvan))
- Hassas terazi (Ohaus Z622737, Amerika)

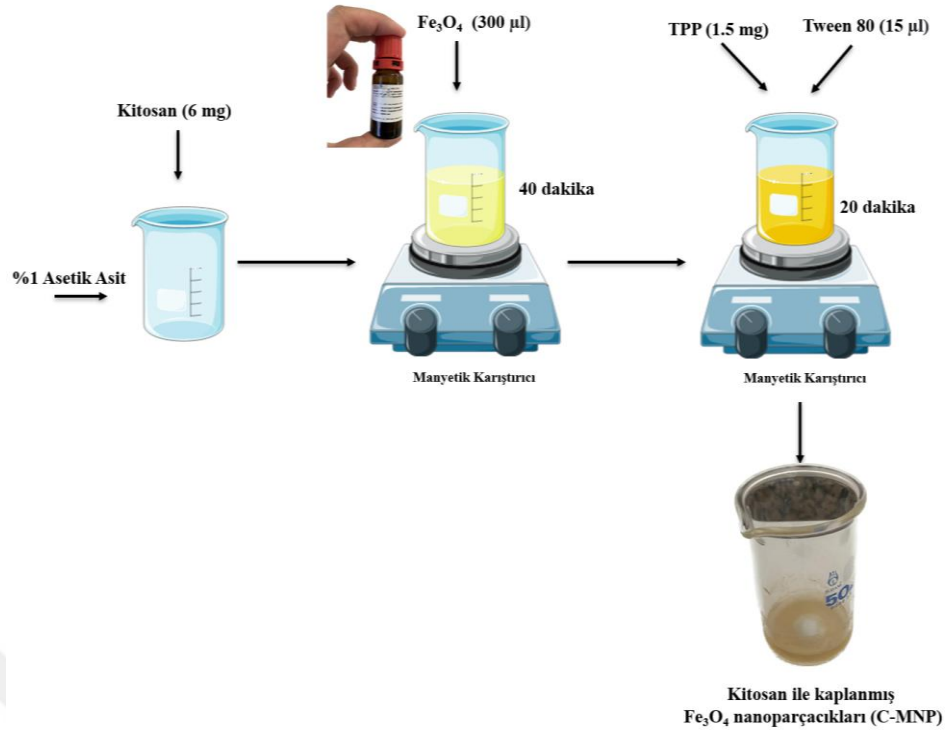
3.1.2. Çözücü ve Kimyasallar

Bu çalışmada, C-MNP'lerin hazırlanmasında aşağıdaki kimyasallar kullanılmıştır.

- Manyetik demir oksit nanopartikülleri (Fe_3O_4 , 5 nm) (Sigma-Aldrich, PCode:7000320)
- Agar tozu (Sigma-Aldrich, PCode:05040).
- Kitosan (Sigma-Aldrich, PCode:101726308)
- Tween®80 (Sigma-Aldrich, PCode:101560188)
- Asetik asit
- Sodyum tripolifosfat (TPP, $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$)

3.2. Fe_3O_4 'ün Kitosan ile Kaplanması

Bu çalışmada kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartikülleri (C-MNP) sentezlendi. C-MNP'lerin sentezinde iyonik jelasyon ile nanopresipitasyon metodu kullanıldı. C-MNP'lerin sentezi literatür çalışmalarına benzer şekilde gerçekleştirildi (Dinçer, vd., 2019; Parsian, vd., 2016). Fe_3O_4 üzerine kitosan kaplama işlemi için öncelikle, kitosan (6 mg) %1 asetik asit içinde çözündürüldü. 5 nm boyutundaki Fe_3O_4 (300 μl) hazırlanan kitosan çözeltisi içerisine eklenerek manyetik karıştırıcıda 40 dakika (dk) boyunca karıştırıldı. Bu çözelti içerisine, 1,5 mg TPP ve 15 μl Tween 80, 500 rpm altında manyetik karıştırıcıda, karıştırılarak eklendi. Çözelti, 20 dk boyunca karıştırılarak C-MNP elde edildi (Şekil 3.1). C-MNP'leri içeren çözeltinin bir kısmı, petri kabına koyularak 1 gece boyunca bekletildi. Elde edilen C-MNP'ler etiketlendi. Karakterizasyon analizleri ve hipertermi çalışması için kuru toz formunda saklandı.



Şekil 3.1 C-MNP'lerin Hazırlanma Aşamalarının Şematik Gösterimi (Mevcut şekil bioicons.com web sayfasından yararlanılarak Microsoft PowerPoint programı üzerinde geliştirilmiştir)

3.2.1. C-MNP'lerin Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.1.1. Partikül Büyüklüğü Tayini (DLS) Analizi

DLS analizi, nanopartiküllerin boyutunu karakterize etmek için kullanılmaktadır. Sentezlenen, C-MNP'lerin partikül büyüklükleri, Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Merkezi Laboratuvarında tayin edildi.

3.2.1.2. Zeta Potansiyel Analizi

Zeta potansiyeli, taneler arasındaki itme veya çekme değerinin ölçümüdür. Zeta potansiyeli, parçacık ile parçacığın içinde bulunduğu sıvı arasında oluşur. Bir sıvı içerisindeki aynı yükteki parçacıklar birbirlerini iterken, farklı yükteki parçacıklar birbirlerini çekerler. Meydana gelen bu itme ve çekme kuvveti parçacığın zeta potansiyel değerine bağlıdır. Belli bir yükteki parçacık, süspansiyon içerisindeki karşı yükteki iyonları çeker. Bunun sonucunda yüklü parçacık yüzeyinde güçlü bir bağ yüzeyi oluşur ve daha sonra da yüklü parçacığın yüzeyinden dışa doğru yayılmış bir

yüzey oluşur. Yayılmış bu yüzey içerisinde “kayma yüzeyi” olarak adlandırılan bir sınır bulunmaktadır. Yüklü parçacık ve onun etrafında bulunan iyonların kayma yüzey sınırına kadar olan kısım tek bir parça olarak hareket eder. Bu kayma yüzeyindeki potansiyel zeta potansiyeli olarak isimlendirilmektedir. Zeta potansiyeli, parçacığın yüzey yapısından ve içinde bulunduğu sıvının içeriğinden etkilenmektedir. Parçacıkların polar sıvılar içerisindeki davranışlarını, yüzeylerindeki elektrik yükü değil, zeta potansiyel değerleri belirlemektedir (Ateş, 2018). Fe₃O₄ ve sentezlenen C-MNP’nin Zeta Potansiyel ölçümleri ODTÜ Merkezi Laboratuvarında yapıldı.

3.2.1.3. X-Işını Kırınımı Analizi (XRD) Analizi

XRD analizi, malzemelerin kristallografik özelliklerinin ve içerdikleri fazların belirlenmesini sağlar. Kitosan’ın kristal yapısı Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi (ZBEÜ) Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (ARTMER)’de, sentezlenen C-MNP’nin kristal yapısı, ODTÜ Merkezi Laboratuvarında, 20-80° (2θ) arasında, 0.026°’lik adımlarla (adım başına 99.45 s süre) tarama yapılarak XRD analizi ile karakterize edildi.

3.2.1.4. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) Analizi

Kitosan ve sentezlenen C-MNP’lerin kimyasal bileşimini doğrulamak için FTIR spektrumları elde edildi. Kitosan’ın kimyasal içeriği ZBEÜ-ARTMER’de bulunan FTIR cihazı kullanılarak, C-MNP’nin kimyasal içeriği, Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ) Karadeniz İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (KİTAM)’da bulunan FTIR cihazı kullanılarak karakterize edildi. Kuru haldeki örnekler potasyum bromür ile pellet haline getirildikten sonra 400-4000 cm⁻¹ aralığında spektrumlar alındı ve sonuçlar elde edildi.

3.2.1.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

Kitosan ve C-MNP’lerin termal davranışlarının incelenmesi için, sırasıyla, ZBEÜ ARTMER’de ve OMÜ KİTAM’da DSC ile azot ortamında yürütülen analizler yapıldı. Dondurularak kurutulmuş numuneler 10-300°C arasında 10°C/dk ısıtma hızı ile muamele edildi.

3.2.1.6. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) Analizi

Hazırlanan, C-MNP'lerin şekil ve yüzey morfolojilerinin incelenmesi amacıyla OMÜ KİTAM'da bulunan SEM cihazı kullanıldı. Bu amaçla nanopartiküller altın ile kaplandı. Kaplanan numuneler SEM cihazına yerleştirilerek görüntülendi. EDX analizi de aynı SEM cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. SEM ile görüntülenen, C-MNP'ler ve arka plan arasında bir kontrast oluşturmak, görüntü ölçeğini ayarlamak için ImageJ (National Institutes of Health) yazılımı kullanıldı. Bu işlemde, SEM görüntüsünden bir kesit alındı ve hazırlanan C-MNP'ler küresel morfolojide oldukları varsayılarak manuel hesaplama yapıldı. Partiküllerin ortalama boyut ve standart sapma değerleri OriginPro 2023 programı kullanılarak belirlendi.

3.3. Meme Dokusu ve Tümör Dokusu Eşdeğeri Fantomların Hazırlanması

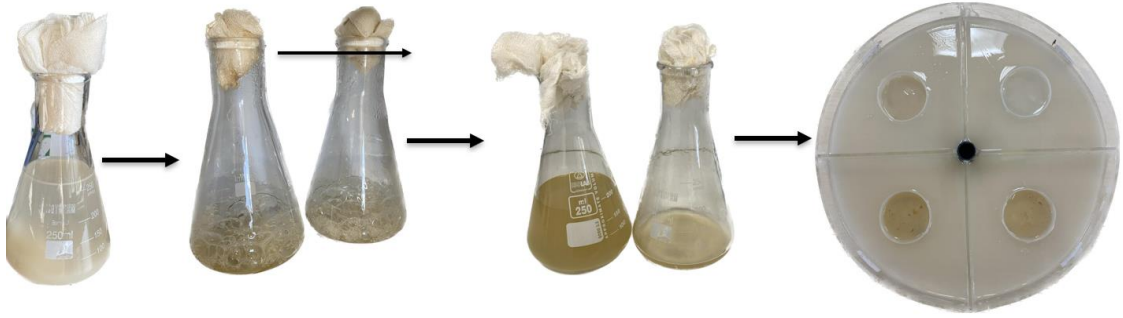
Spesifik şekil ve özelliklere sahip özel yapım fantomlar, insan vücuduna benzer koşullarda deneyler yapma imkânı sunmaktadır. Bu tez çalışmasında, ısıtma deneyleri için gerçek dokularinkine benzer akustik özelliklere sahip agar tozu kullanıldı. Çalışma için 4 tip agar numunesi hazırlandı:

- Nanopartikül eklenmemiş %3'lük saf agar-jeli, (Sağlıklı meme eşdeğeri doku)
- Nanopartikül eklenmemiş %5'lik saf agar-jeli, (Tümör eşdeğeri doku)
- Fe₃O₄ nanopartikülü eklenmiş %5'lik agar-jel (Fe₃O₄+Tümör eşdeğeri doku)
- C-MNP eklenmiş %5'lik agar-jel (C-MNP+Tümör eşdeğeri doku)

Sağlıklı dokular ve tümörlü dokular farklı mekanik özelliklere sahiptir. Tümörler normal dokulardan daha yüksek sertlik ve daha düşük elastik modüller sergilerler. Bu nedenle çalışmada tümör modeli oluşturulması için daha yüksek agar tozu konsantrasyonu kullanıldı. Tümör modeli ile fantomu taklit eden doku, saf bir agaroz jel (sağlıklı dokuyu taklit eden) ile çevrili MNP (MNP içeren, tümörlü dokuyu taklit eden) içeren bir fantom kullanılarak oluşturuldu. %4'ten düşük agar konsantrasyonlu jel, beyin gibi yumuşak dokudakine benzer bir gözenekliğe sahipken, daha yüksek agar konsantrasyonlu jellerin, sert dokuya benzer bir mikro yapıya sahip olduğu

bilinmektedir (Józefczak, vd., 2017). Literatür doğrultusunda, tümör dokuyu taklit eden agaroz jel konsantrastonu %5 (w/w), tümör dokuyu çevreleyen ve sağlıklı dokuyu taklit eden agaroz jel konsantrasyonu meme dokusuna benzer bir mikro yapı elde edebilmek hedeflendiği için <%4 (w/w) olarak belirlenmiştir (Kaczmarek, vd., 2020). Manyetik nanomalzemenin konsantrasyonu, yaklaşık olarak %0.033 (w/w) olarak kullanıldı. Agar fantom numunelerinin hazırlanması için kullanılan işlem basamakları şu şekilde özetlenebilir:

1. Agar tozu ve deiyonize suya eklendi.
2. Karışım mikrodalga fırında kontrollü şekilde ısıtıldı.
3. Agar jel oluşumu tamamlandıktan sonra Fe_3O_4 ve C-MNP'ler eklendi.
4. Karışım soğumaya bırakıldı ve sonrasında fantom'a döküldü.



Şekil 3.2 Sağlıklı Meme Eşdeğeri Doku ve Tümör Eşdeğeri Doku Fantomların Hazırlanma Aşamalarının Şematik Gösterimi

Agar malzemesinin sınırlı stabilitesi ve düşük konsantrasyonlu agar fantomlarının çok yumuşak ve mekanik hasara meyilli olması nedeniyle, ölçüm için sadece deneyden önce hazırlanmış taze agar numuneleri kullanıldı.

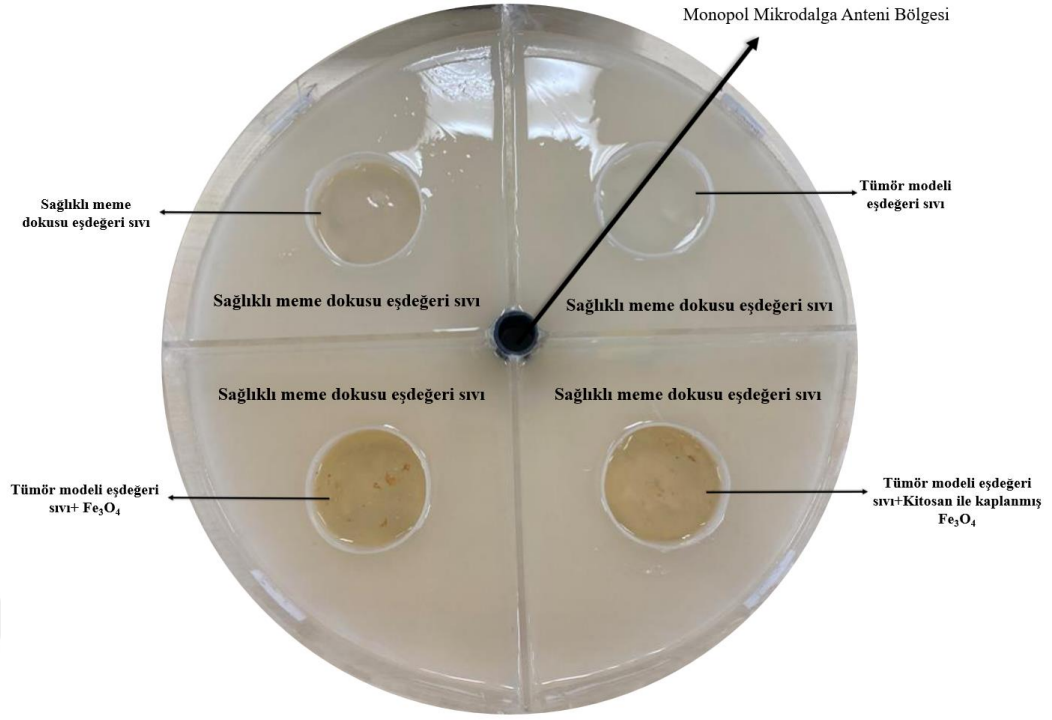
3.4. Mikrodalga Maruziyeti

Bu tez çalışmasında, WLAN sistemlerince üretilen 2,45 GHz frekansı üretmek için, monopol antenli Mikrodalga sistemi (2004X-RF, Everest Co., Adapazarı, Turkey) kullanıldı. Mikrodalga sistemi, 2,45 GHz frekans, 0-1 Watt çıkış gücünde, 217 Hz. modülasyonda, sürekli veya kesikli dalga yayabilmektedir. Çalışma başlangıcında, 2,45 GHz MW sistemi çalıştırılmadan önce, ortam elektrik alan ölçümü belirlendi. Maruziyet öncesi ortamdaki elektrik alan 1,02 V/m olarak bulundu.

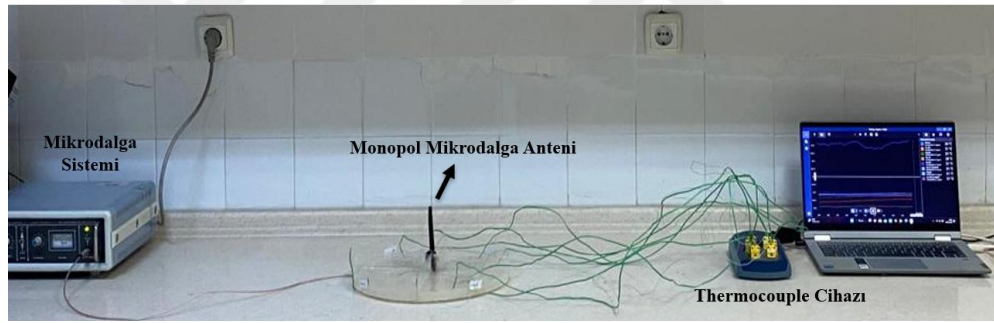
Oluşturulan meme dokusu eşdeğeri ile MNP'leri içeren bir tümörün ısınmasını canlandırabilmek için, Şekil 3.3'de gösterilen maruziyet ortamı yaratıldı. MW maruziyeti 4 dilimli fantom içerisinde uygulandı ve elektrik alanın eşit dağılımını sağlamak amacıyla anten, fantomun tam orta noktasına yerleştirildi. Tüm gruplar aynı zaman süreci içerisinde 2.45 GHz ve $15.18 \pm 0.22 \text{ V/m}$ MW'ya maruz bırakıldı. Maruziyet sırasında (3-Axis RF Field Strength Meter (TM-196) elektrik alan ölçüm cihazıyla 1 saat süresi içerisinde 10 dakikada bir ölçüm alınarak alınan elektrik alan ölçümlerinin ortalaması maruziyet elektrik alanı olarak kabul edildi. Düşük düzey elektrik alanı, $15.18 \pm 0.22 \text{ V/m}$ idi. Ölçüm Şekil 3.3 (b)'de, MW maruziyet ortamı Şekil 3.3 (a)'da gösterilmektedir.

Tez çalışması için gruplar şu şekilde oluşturuldu:

- Grup 1, Tümör Kontrol Grubu: (Sağlıklı meme eşdeğeri doku)+(MW hipertermi uygulaması)
- Grup 2, Tümörlü Doku Grubu: (Sağlıklı meme eşdeğeri doku)+(Tümör eşdeğeri doku)+(MW hipertermi uygulaması)
- Grup 3, MNP Grubu: (Sağlıklı meme eşdeğeri doku)+(Tümör eşdeğeri doku+ Fe_3O_4)+(MW hipertermi uygulaması)
- Grup 4, C-MNP Grubu: (Sağlıklı meme eşdeğeri doku)+(Tümör eşdeğeri doku+C-MNP)+(MW hipertermi uygulaması)



(a)



(b)

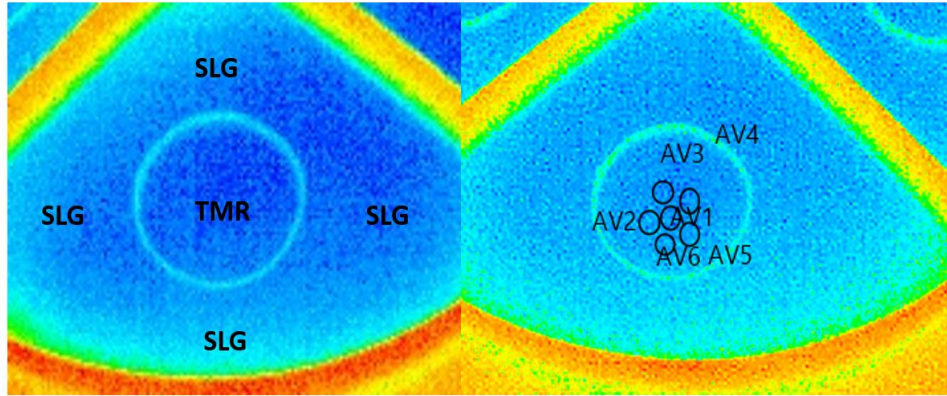


Şekil 3.3 Mikrodalga Maruziyet Ortamı (a) Çalışma Grupları ve Thermocouple Kaydı (b) Elektrik Alan Ölçümü

3.4.1. Termal Karakterizasyon Çalışmaları

Bu tez çalışmasında, düşük yoğunluk ve elektrik alan değerlerindeki MW hipertermi uygulamasının ısıtma etkinliğini değerlendirmek için, MW hipertermi uygulanması Testo marka 865 model bir termal kamera ile kaydedildi. Termal kamera, 160 x 120 piksel IR çözünürlüğe, 0,1°C termal duyarlılığa, $\pm 2^\circ\text{C}$ ölçüm doğruluğuna sahiptir. Yaklaşık olarak 15.18 ± 0.22 V/m maruziyet sonrası görüntüler Testo IRSof yazılımında “Bir bölgedeki ortalamaı hesapla” seçeneği ve “daire” ile değerlendirilmiştir. Ayrıca maruziyet süresince Pico TC-08 Thermocouple cihazı ve PicoLog yazılımı kullanılarak sıcaklık kaydı yapılmıştır.

Termal karakterizasyon çalışmalarında bölgesel sıcaklık değişimleri incelendi. Bunun için fantom sağlıklı doku (termal sağlıklı doku bölgesi, SLG) ve tümör doku (termal tümörlü doku bölgesi, TMR) bölgesi olmak üzere iki analiz bölgesi belirlendi. Şekil 3.4 bu bölgeleri göstermektedir.



Şekil 3.4 Termal Değerlendirme Bölgeleri

Thermocouple cihazı ile her grubun TMR bölgesinden sıcaklık kaydı alındı. Thermocouple cihazının bağlanmış olduğu noktalar termal kamera analizi için analiz bölgesi olarak belirlendi. Termal kamera ile değerlendirme için 6 farklı dairesel bölgenin ortalama sıcaklık değerleri alınmış ve istatistiksel analiz için kullanılmıştır. Termal karakterizasyon için elde edilen tüm sayısal veriler, istatistiksel analiz ile

değerlendirildi. Değerlendirme sonuçları Termal Karakterizasyon Bulguları bölümünde verilmiştir.

3.5. İstatistiksel Analizler

Sayısal verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Graphpad Prism-8 Demo bilgisayar paket programı ile yapıldı. Bütün parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Verilerin homojenliğinin belirlenmesi amacıyla “Shapiro- Wilk” testi yapıldı ve verilerin normal dağılım göstermediği belirlendi. Gruplar arası farklılıkların tespitinde “Tek yönlü varyans analizi (ANOVA)” testi, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının belirlenmesi için ise “Duncan” testi kullanıldı. $p < 0,05$ düzeyindeki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi. Grafik çizimleri Graphpad Prism-8 Demo programı ile yapıldı. Tüm parametreler açısından grupların kendi içindeki ilişkileri korelasyon analizi ile test edildi.

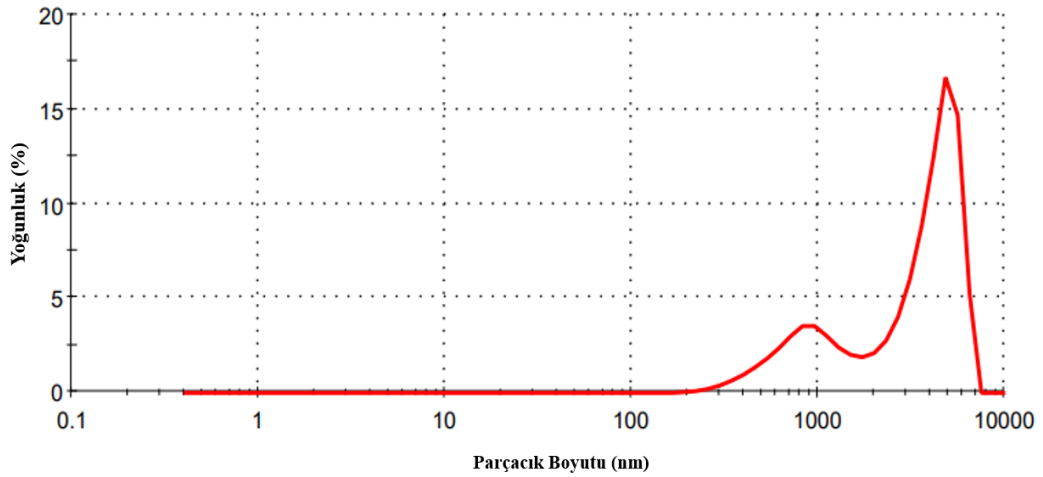
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tez çalışmasının bu bölümünde, yapılan deneysel çalışmaların sonuçları açıklanarak, sonuçlar üzerinde yapılan tartışmalara yer verilmiştir. Deneysel sonuçlarda öncelikle; madde karakterizasyonu çalışmaları sonuçları, daha sonra MW deneylerinin termal karakterizasyon bulguları sunulmuştur.

4.1. Madde Karakterizasyonu Bulguları

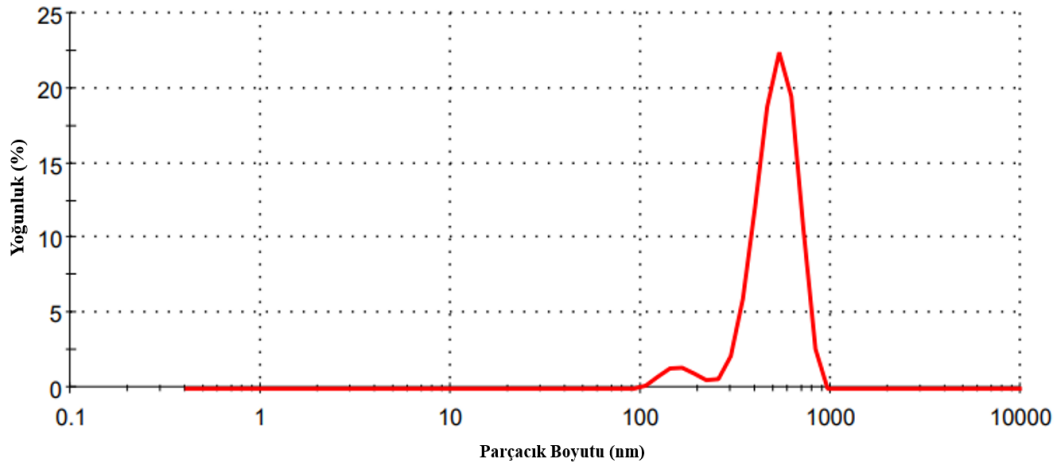
4.1.1. DLS Analizi

Çalışmamızda, Fe_3O_4 ve C-MNP nanopartiküllerinin parçacık boyutlarının (zeta-ortalama büyüklüğü) belirlemesi amacıyla DLS ölçümleri yapıldı. DLS, sıvı bir ortamda parçacıkların, özellikle kolloidal süspansiyonların hidrodinamik boyutunun ve polidispersite indeksinin (PDI) ölçümlerine ilişkin iyi istatistikler sunan hızlı, analitik bir yöntemdir. Fe_3O_4 (Şekil 4.1) ve C-MNP (Şekil 4.2)'ye ait boyut değerlerini içeren grafikler sırasıyla gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Fe_3O_4 için DLS Ölçümü

Şekil 4.1, Fe_3O_4 nanopartiküllerinin zeta-ortalama büyüklüğü değerini göstermektedir. DLS ölçüm sonucuna göre Fe_3O_4 nanopartiküllerinin ortalama büyüklüğü 571,5 nm, PDI değeri 0,467 olarak bulundu.



Şekil 4.2 C-MNP için DLS Ölçümü

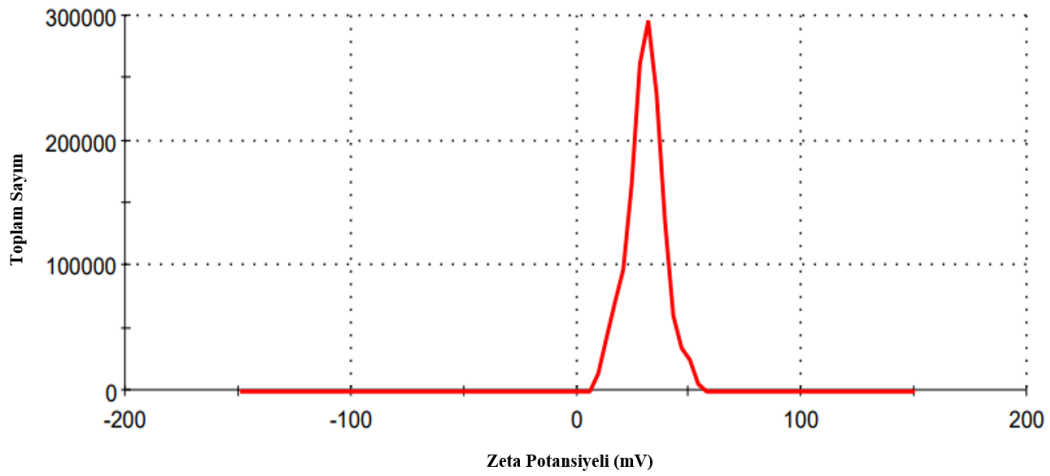
Şekil 4.2, C-MNP'ye ait zeta-ortalama büyüklüğü değerini göstermektedir. DLS ölçüm sonucuna göre, C-MNP'nin ortalama büyüklüğü 665,9 nm, PDI değeri 0,862 olarak bulundu.

PDI değeri, nano boyuttaki partiküllerin partikül büyüklüğü/boyutu dağılımını ifade etmektedir. Bu değer, 0.1-0.25 arasında olması, nanopartiküllerin monodisperse (tek dağılımlı popülasyon) yakın dar bir dağılıma sahip olduğunu göstermektedir. PDI >0.5 olması ise, geniş çaplı partiküllerin varlığına ve agregat oluşumuna bağlı olarak, nanopartiküllerin geniş bir partikül boyutu dağılımına sahip olduğunu göstermektedir. Özkahraman, vd., (2014) geniş bir partikül boyutu dağılımına sahip nanopartiküllerin DLS ile analiz edilmeye uygun olmadığını bildirmiştir (Özkahraman, vd.,2014). Rana, vd., (2020) DLS yönteminin, sulu çözeltide nanopartiküller ile birlikte bulunan ligandları, iyonları veya molekülleri içeren hidrodinamik çapını da ölçtüğünü ve bu ligandların, iyonların veya diğer moleküllerin, partikülün normalden daha büyük görünmesine sebep olduğunu vurgulamışlardır (Rana, vd., 2020). Daha büyük parçacıklar, küçük parçacıkların varlığını engellemektedir (Jans, vd., 2009). Çalışmamıza benzer bir çalışmada, Didarian (2017), DLS yönteminin kısıtlamalarından dolayı nanopartiküllerin gerçek boyutunun, DLS ölçüm sonuçlarından daha küçük olduğunu ve nanopartiküllerin gerçek boyutunun Geçirimli Elektron Mikroskobu analizi ile elde edildiğini

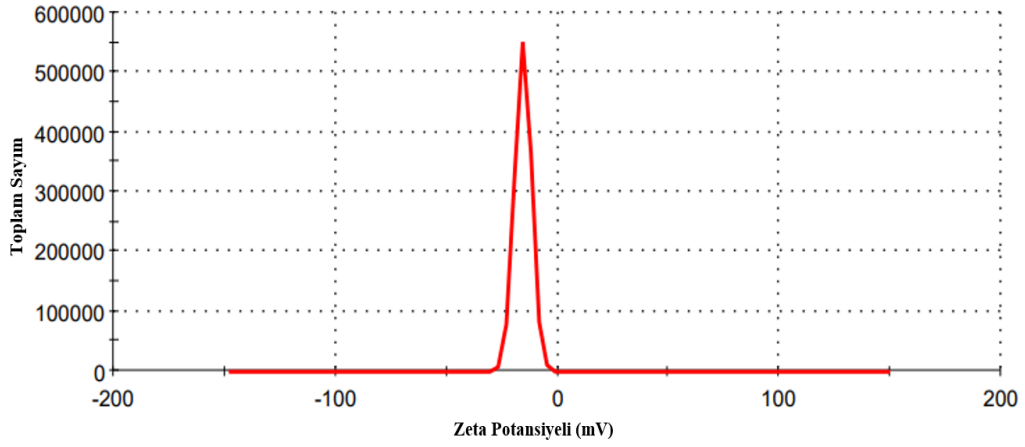
bildirmiştir (Didarian, 2017). Çalışmamızda elde edilen DLS sonuçlarına göre; kümelenme eğilimi gösterdikleri için parçacıkların homojen bir yapıda olmadıkları ve DLS ile analiz edilmeye uygun olmadıkları söylenebilir. Bu nedenle sentezlenen C-MNP'lerin gerçek boyutu SEM analizi ile elde edilmiştir.

4.1.2. Zeta Potansiyel Analizi

Çalışmamızda, Fe_3O_4 ve C-MNP nanopartiküllerin yüzey yüklerinin ve kararlılığının yorumlanmasını zeta potansiyel analizleri gerçekleştirildi. Yüzey zeta potansiyeli sulu bir ortamda nanopartiküllerin stabilitesini karakterize etmek için gerekli parametrelerden biridir. Nanopartiküllerin yüzey yükleri zeta analizleri ile belirlenmekte ve nanopartiküllerin kararlılığının yorumlanmasını sağlamaktadır. Fe_3O_4 (Şekil 4.3) ve C-MNP (Şekil 4.4)'ye ait zeta potansiyel ölçüm grafikleri sırasıyla gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Fe_3O_4 için Zeta Potansiyel Ölçüm Grafiği (mV)



Şekil 4.4 C-MNP için Zeta Potansiyel Ölçüm Grafiği (mV)

Fe_3O_4 ve C-MNP için sırasıyla 30,4 mV, -15,6 mV yüzey potansiyeline sahip oldukları bulundu. Fe_3O_4 kitosan ile kaplandıktan sonra zeta potansiyeli ve boyut dağılımı değişmiştir. Ayrıca C-MNP'nin zeta potansiyeli negatif değer taşımaktadır. Elde edilen sonuçlara benzer bir çalışmada Rana ve grubu sentezledikleri altın nanopartiküllerin zeta potansiyelinin negatif değerler taşıdığını bulmuş ve bunu biyolojik bileşiklerin kaplanmasına atfetmişlerdir (Rana, vd., 2020). Bu tez çalışmasında, Fe_3O_4 'in pozitif zeta potansiyel değerinin, kitosan ile kaplandıktan sonra negatif değere dönmesi, kitosan kaplamanın başarılı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, nanopartiküllerin zeta potansiyel değerlerine bakılarak, kararlılıkları ve agregasyon (topaklaşma) eğilimleri hakkında bilgi elde edilebilmektedir. Zeta potansiyel değerleri, $< -30 \text{ mV}$ ve $> +30 \text{ mV}$ olan çözeltiler kararlı kabul edilmektedir. Özkahraman, vd., (2014) bu değerler arasında partiküllerin kararsız yapıda ve bir araya gelerek kümelenme eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir (Özkahraman, vd., 2014). Mevcut tez çalışmasında kullanılan, Fe_3O_4 ve C-MNP nanopartiküllerinin sahip olduğu zeta potansiyel değerlerine dayanarak, Fe_3O_4 nanopartiküllerinin kararlı yapıda, C-MNP'lerin kararsız yapıda oldukları söylenebilir. Tablo 4.1, Fe_3O_4 ve C-MNP nanopartiküllerinin boyut ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçlarını göstermektedir.

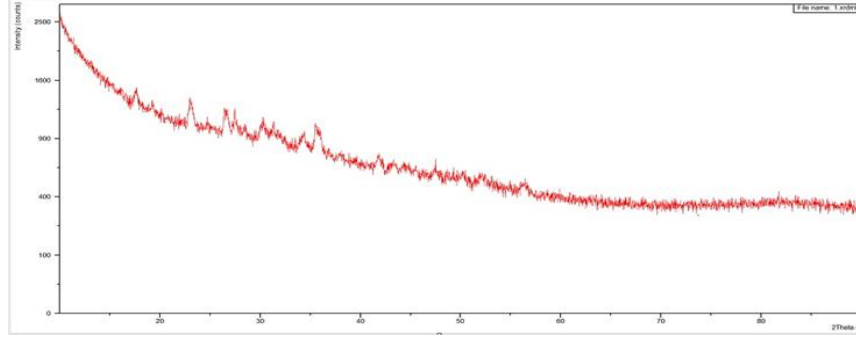
Tablo 4.1. Fe₃O₄ ve C-MNP nanopartiküllerinin boyut ve zeta potansiyeli ölçüm sonuçları

	Boyut (nm)	Polidispersite İndeks Değeri	Zeta Potansiyel (mV)
Fe₃O₄	571,5 nm	0,467	30,4 mV
C-MNP	665,9 nm	0,862	-15,6 mV

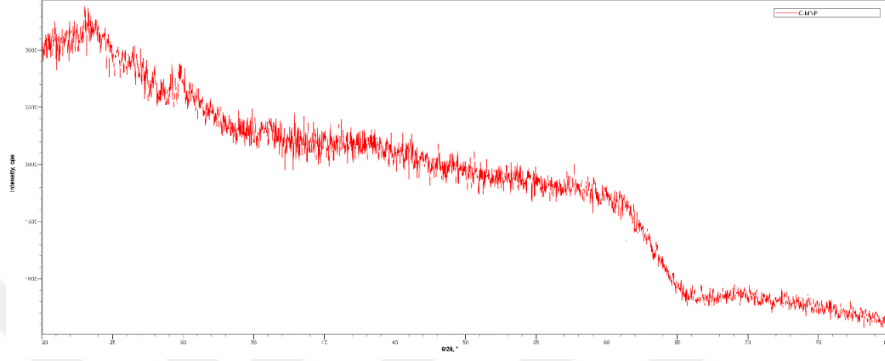
Mevcut tez çalışmasında kullanılan, Fe₃O₄ ve C-MNP nanopartiküllerinin sahip olduğu zeta potansiyel değerlerine dayanarak, Fe₃O₄ nanopartiküllerinin kararlı yapıda, C-MNP'lerin kararsız yapıda oldukları sonucuna ulaşılmıştır. Fakat her iki nanopartikülün DLS analizi sonucunda elde edilen PDI değerleri nanopartiküllerin kararsız yapıda ve kümelenmeye eğilimli olduklarını göstermektedir.

4.1.3. XRD Analizi

Çalışmamızda, yüzey kaplaması olan kitosan ve C-MNP'lerin kristallliği, boyutu ve kimyasal bileşiminin belirlenmesi amacıyla XRD analizi gerçekleştirildi. Şekil 4.5 (a)'da kitosanın, Şekil 4.5(b)'de hazırlanan C-MNP'lerin XRD difraktogramları verilmiştir.



(a)



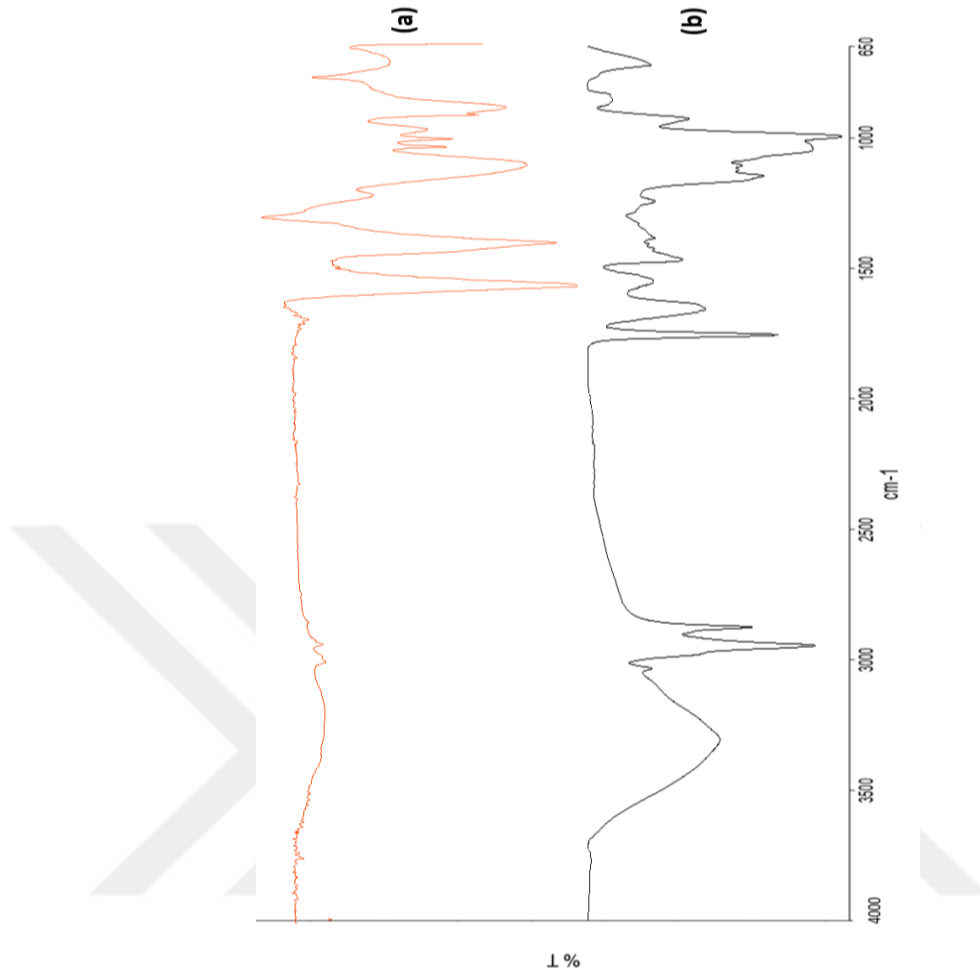
(b)

4.5 (a) Kitosan (b) C-MNP için XRD Grafiği

Tez çalışmasında, sentezlenen C-MNP'lerin XRD analizi sonuçlarına göre Fe_3O_4 nanopartiküllerine ait keskin pikler gözlenmemiştir. Literatürdeki benzer çalışmalar incelendiğinde, Fe_3O_4 nanopartiküllerinin ve C-MNP'lerin XRD analizi sonucunda keskin piklerin olduğu görüldü (Dinçer, vd., 2019; Mohammadi-Samani, vd., 2013; Pham, vd., 2016; Sun, vd., 2019). Çalışmamızda, Fe_3O_4 nanopartiküllerine ait keskin pikler gözlenmememesi, nanopartiküllerin amorf veya moleküler durumda kitosan yapısı içerisinde dağılması ile ilişkilendirildi.

4.1.4. FTIR Analizi

Çalışmamızda, yüzey kaplaması olan kitosan ve C-MNP'lerin kimyasal yapısını karakterize etmek amacıyla FTIR analizi gerçekleştirildi. FTIR, numunelerin kimyasal yapısını karakterize etmek için kullanılan hızlı ve kullanışlı olan bir tekniktir. Her molekülün sahip olduğu benzersiz bir parmak izi vardır, bu da FTIR spektrometresini kimyasal tanımlama için önemli bir araç haline getirmektedir. Şekil 4.6 (a)'da kitosanın, Şekil 4.6(b)'de hazırlanan C-MNP'lerin FTIR spektrumları verilmiştir.



4.6 (a) Kitosan (b) C-MNP için FTIR spektrumu

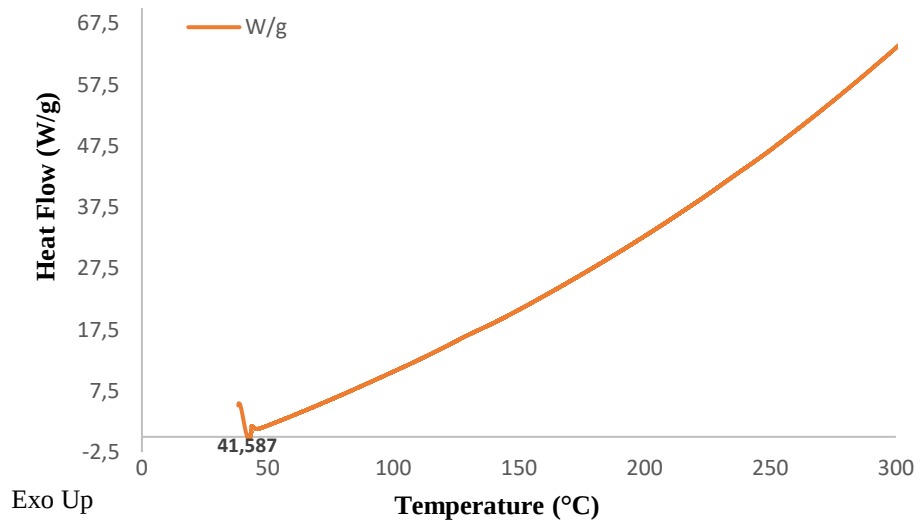
Şekil 4.6 (a)'da yaklaşık 3002 cm^{-1} 'de gözlenen bant, kitosanın O-H gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 1226 cm^{-1} 'deki bant, kitosan yapısının bir parçası olan, glukozamindeki C–O–C gerilme titreşim bandına karşılık gelmektedir (Sun, vd., 2019).

Şekil 4.6 (b)'de gösterilen, C-MNP'lerin FTIR spektrumu birçok karakteristik bant içermektedir. IR spektrumunun $500\text{--}790\text{ cm}^{-1}$ aralığında genişletilmiş bantlar Fe_3O_4 'in titreşim modlarını ifade etmektedir. Mata-Pérez, vd., (2015), parmak izi bölgesi olarak adlandırılan bölgede, Fe-O gerilmesi olduğu ve Fe_3O_4 nanopartiküllerin varlığını gösterdiğini vurgulamışlardır (Mata-Pérez, vd., 2015). Yaklaşık $500\text{--}790\text{ cm}^{-1}$ civarlarında gözlemlenen ve kitosan spektrumunda görülmeyen pik Fe-O bağının titreşimine karşılık gelmektedir. Pham, vd., (2016) tarafından kitosan kaplamasının,

kitosandaki C-H 'nin gerilme titreşimlerinin ortaya çıkmasıyla kurulduğu vurgulanmaktadır (Pham, vd., 2016). 2924 cm^{-1} 'deki C-H gerilme titreşim bandı Fe_3O_4 yüzeyindeki kitosan polimerinin varlığını göstermektedir. 3237 cm^{-1} 'deki pik O-H, 2853 cm^{-1} 'deki pik C-H ve 1140 cm^{-1} 'deki pik C-O-C bağı gerilme titreşimi ile ilgilidir. Tüm bunlara ek olarak, 3002 cm^{-1} 'de gözlenen O-H bandı 3237 cm^{-1} 'e, 1226 cm^{-1} 'de gözlenen C-O-C bandı 1140 cm^{-1} 'e kaymıştır. Bu kaymalar, Fe_3O_4 nanoparçacıklarının kitosan ile kaplandığını bulgusunu vermektedir (Nguyen, vd., 2014). Bu bulgular bize C-MNP'nin sentezlendiğini göstermektedir. Elde edilen FTIR sonuçları, literatürdeki çalışmalar ile uyum içerisindedir.

4.1.5. DSC Analizi

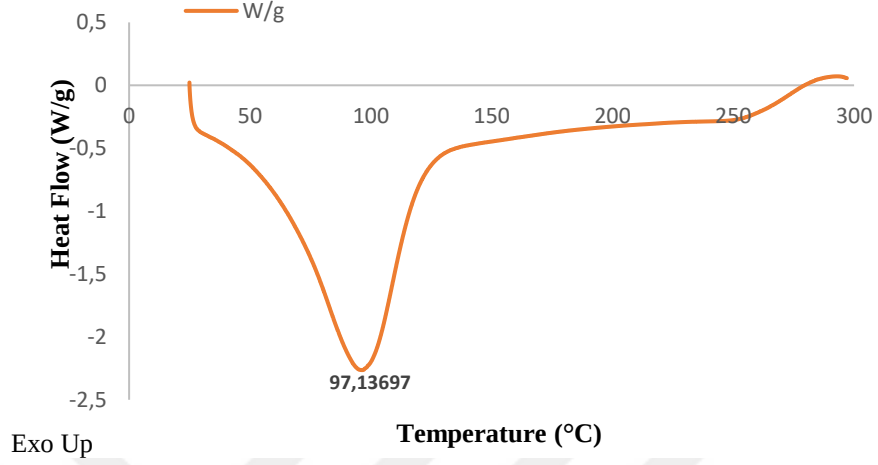
Çalışmamızda, Kitosan, C-MNP ve agar tozunun termal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla DSC ölçümleri yapıldı. Kitosan ve C-MNP ve agar tozunun DSC termogramları sırasıyla Şekil 4.9, 4.10 ve 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7 Kitosan'nın DSC Termogramı

Şekil 4.7'de görüldüğü gibi, yüzey kaplaması olarak kullanılan kitosanın termogramında 41.59 °C'de erime noktasına karşılık gelen bir endotermik pik görülmektedir.

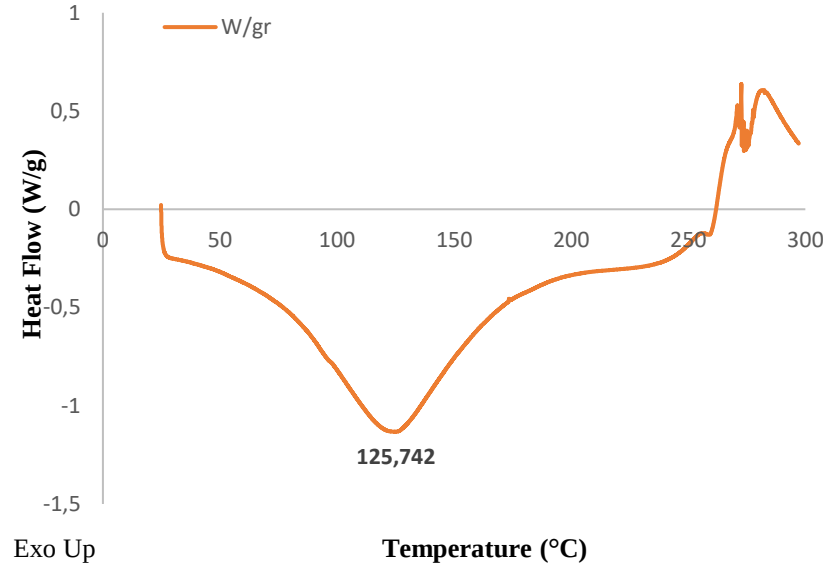
C-MNP'lerin termal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla DSC ölçümleri yapılmıştır. C-MNP'lerin DSC termogramı Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8 C-MNP'lerin DSC Termogramı

Şekil 4.8'de görüldüğü gibi, C-MNP'lerin termogramında 97.14 °C'de erime noktasına karşılık gelen bir endotermik pik görülmektedir.

Fantom oluşturmak için kullanılan, agar tozunun termal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla DSC ölçümleri yapılmıştır. Agar tozunun DSC termogramı Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

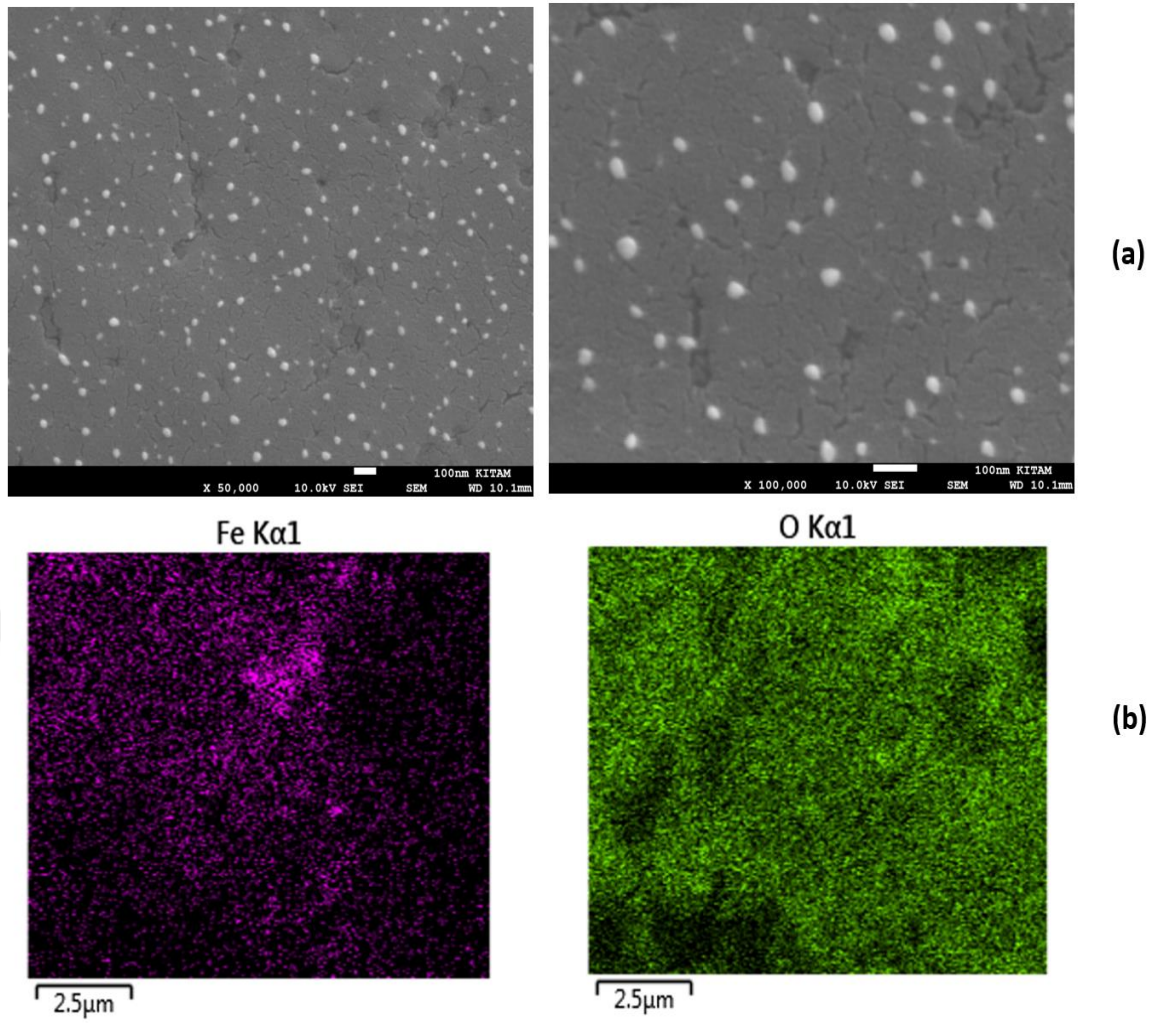


Şekil 4.9 Agar Tozunun DSC Termogramı

Şekil 4.9’da görüldüğü gibi, agar tozunun DSC termogramında 125.74 °C’de erime noktasına karşılık gelen bir endotermik pik görülmektedir.

4.1.6. SEM Analizi

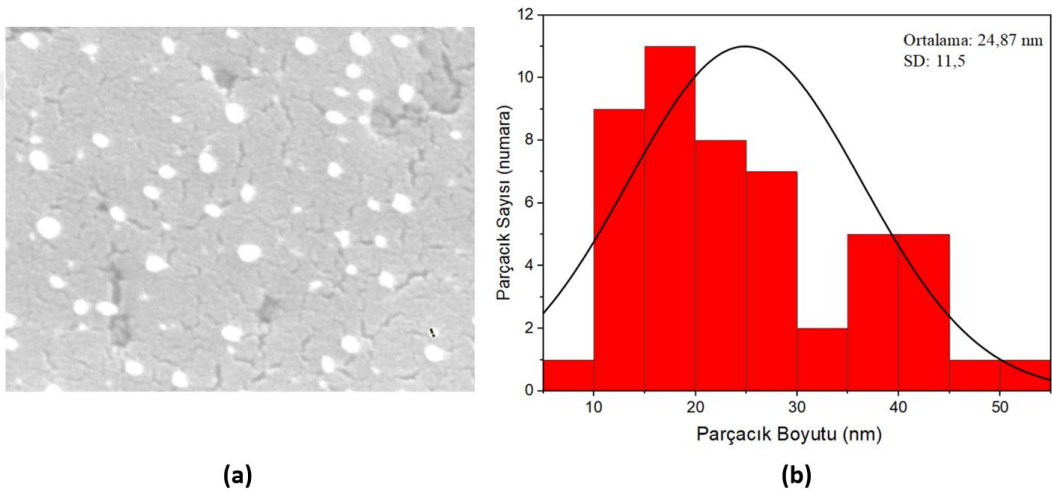
Çalışmamızda, sentezlenen C-MNP’lerin morfolojik özellikleri SEM-Taramalı Elektron Mikroskobu altında görüntüleri alınarak karakterize edildi. Şekil 4.10, C-MNP’lere ait mikrografları göstermektedir. C-MNP’lerin çoğunlukla küresel olan şekile sahip olduğu görüldü. C-MNP’lerin çoğunlukla küresel olan şekli Şekil 4.10 (a)’da, sentezlenen C-MNP’lerde bulunan ve Fe₃O₄ nanopartiküllerinden kaynaklanan Fe (Demir) ve O (Oksijen)’nin eşleşmesi Şekil 4.10 (b)’de görülmektedir.



Şekil 4.10 C-MNP'lerin SEM Görüntüleri

Şekil 4.11(a), sentezlenen C-MNP'lerin iyileştirilmiş SEM görüntüsünü, C-MNP'lerin boyut dağılım analizi Şekil 4.11 (b)'de gösterilmektedir. Boyut dağılım analizi için 50 tane C-MNP nanopartikülünün çapı ölçüldü ve partiküllerin ortalama boyutları $24,87 \pm 11,5$ nm olarak hesaplandı. C-MNP'lerin parçacık büyüklüğünün 9-52 nm civarında olduğu görüldü. C-MNP'lerin SEM mikrografından parçacıkların çok dağılımlı (PDI değeri yüksek) yapıda ve kümelenmeye eğilimli olduğu yorumu yapılabilir. El-Kharrag, vd., (2019) çalışmalarında, elde ettikleri kitosan ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartiküllerinin en düşük ortalama boyutunun 10 nm olduğunu ve nanopartiküllerin kümelenmeye eğilimli olduğunu bulmuşlardır (El-Kharrag, vd., 2019). Singh ve Sahoo, (2014), 10-100 nm aralığında hidrodinamik çapa sahip MNP'lerin intravenöz uygulamalar için uygun olduğunu vurgulamıştır (Singh ve

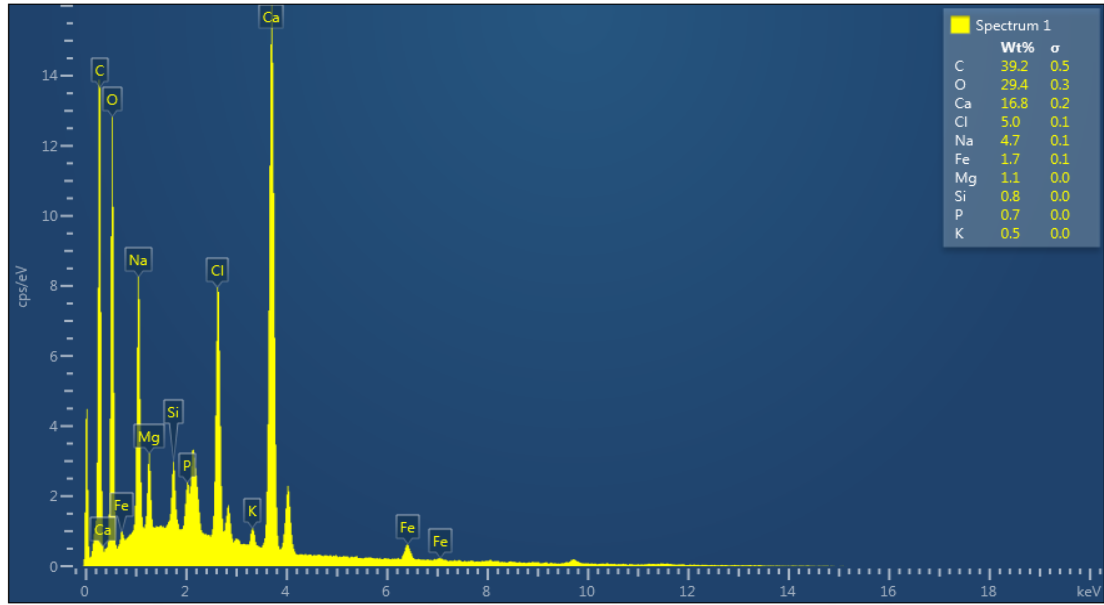
Sahoo, 2014). Farzin, vd., (2020), 10–100 nm aralığındaki nanopartiküllerin, fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle biyomedikal mühendisliği alanında büyük ilgi gördüğünü ve bu boyut aralığındaki nanopartiküllerin yüksek yüzey alanı-hacim oranları sunduğunu belirtmektedir (Farzin, vd., 2020). SEM analizinin sonrasında, C-MNP'lerin parçacık büyüklüğünün istenilen 10-100 nm aralığında olduğunu fakat kümelenmeye eğilimli olduklarını bulduk. C-MNP'lerin DLS ve zeta potansiyel ölçüm sonuçlarına paralel olarak SEM görüntüsünden elde edilen sonuçlar birbiriyle örtüşmektedir.



Şekil 4.11 C-MNP'lere ait (a) Kontrast Oluşturulmuş SEM Görüntüsü (b) Partikül Boyut Dağılım Analizi

4.1.6.1. Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi (EDX) Analizi

İyonik jelasyon ile nanopresipitasyon tekniği kullanılarak sentezlenen, C-MNP'lerin element bileşimi, EDX ile analiz edildi. C-MNP için kantitatif analiz, %39,2 ağırlık yüzdesine sahip karbon (C)'nu ortaya çıkarırken, O, Kalsiyum (Ca), Klor (Cl), Sodyum (Na), Fe, Magnezyum (Mg), Silisyum (Si), Fosfor (P) ve Potasyum (K) için ağırlık yüzde değerleri sırasıyla; %29,4, %16,8, %5,0, %4,7, %1,7, %1,1, %0,8, %0,7 ve % 0,5 olduğunu göstermektedir (Şekil 4.12).

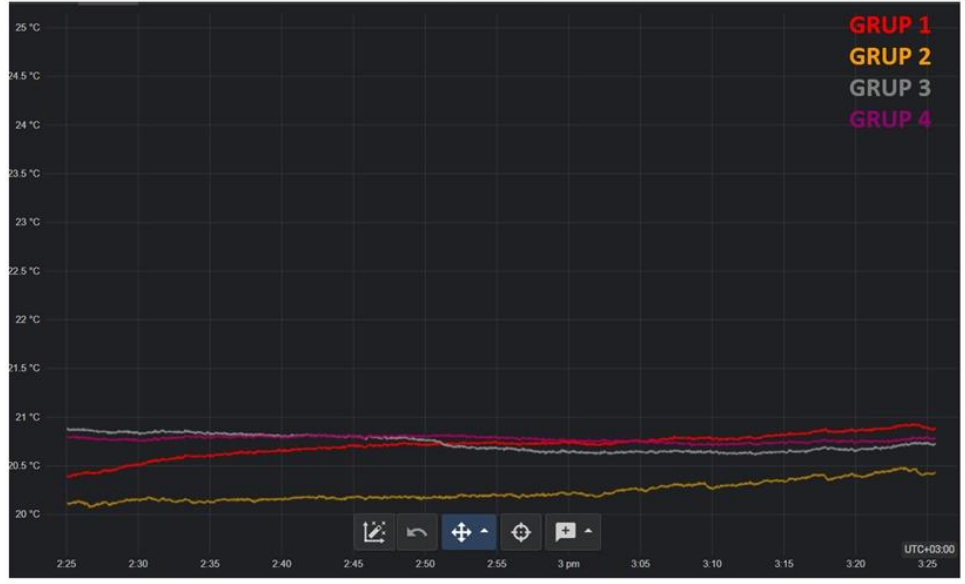


4.12 C-MNP'ye ait Yüzey Atomlarının Oranları

4.2. Termal Karakterizasyon Bulguları

4.2.1. Thermocouple Cihazı Bulguları

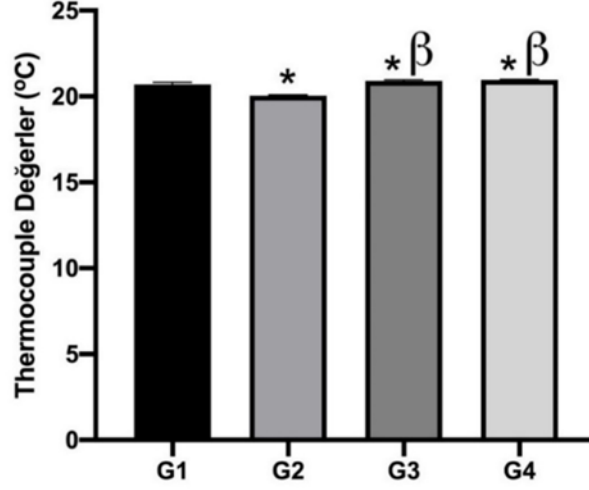
Çalışmamızda, Thermocouple cihazı ile yapılan sıcaklık ölçümlerinde, Sağlıklı meme eşdeğer doku (Grup 1) ve tümör eşdeğeri doku (Grup 2) ile diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel anlamlılık bulundu ($p=0.0015$; $p<0.0001$) (Şekil 4.14). En yüksek sıcaklık artışı, MW hipertermi uygulamasına maruz bırakılan, C-MNP eklenen tümör eşdeğeri doku Grup 4'de elde edildi. MW uygulama sonrası, Grup 1 ile diğer gruplar arasında sıcaklık değişimi karşılaştırıldığında, Grup 2 daha düşükken (Tablo 4.2) ($p<0.001$), Grup 3 ve Grup 4 daha yüksekti ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (Tablo 4.2) ($p=0.0015$; $p<0.0001$). Şekil 4.13, gruplara MW uygulaması sırasında Thermocouple cihazı ile elde edilen sıcaklık ölçümlerini göstermektedir. Gruplara MW uygulaması sonrası, Grup 2'de, Grup 1'e göre sıcaklık azalması olurken, en fazla ısı artışının Grup 4'de olması, C-MNP'nin ısınma etkinliğinin olduğunu gösterdi. Bu sonuç C-MNP'nin 15.18 ± 0.22 V/m gibi düşük elektrik alanında hipertermi etkisinin olduğunu gösterdi.



Şekil 4.13 Çalışmadaki Grupların Thermocouple Sıcaklık Kayıt Grafiği

Tablo 4.2. Çalışmadaki Grupların Thermocouple Sıcaklık Düzeyleri

Gruplar	Ortalama $\pm$ STD
Grup 1	20,70 $\pm$ 0,13
Grup 2	20,04 $\pm$ 0,05*
Grup 3	20,89 $\pm$ 0,07*, β
Grup 4	20,97 $\pm$ 0,02*, β



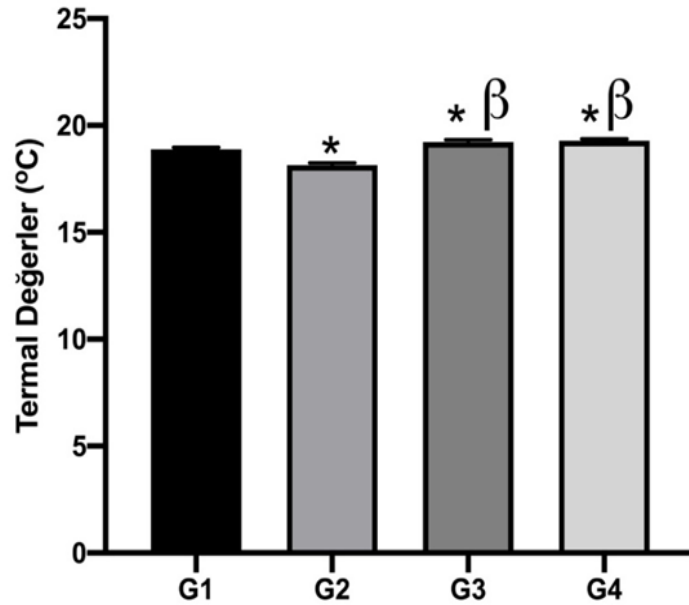
Şekil 4.14 Çalışmadaki Grupların Thermocouple Cihazı ile Sıcaklık Değişimi ($p<0,05$; *, Grup1 ile diğer gruplar arasındaki; β , Grup 2 ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı göstermektedir)

4.2.2. Termal Kamera Bulguları

MW uygulaması sonrası alınan termal kamera görüntüleri ile yapılan sıcaklık analizlerinde, sağlıklı meme eşdeğer doku (Grup1) ve tümör eşdeğeri doku (Grup 2) ile diğer gruplar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada, anlamlılık bulundu ($p<0.0001$) (Şekil 4.15). MW uygulaması sonrasında, çalışmadaki grupların termal kamera sıcaklık düzeyleri karşılaştırıldığında, en yüksek sıcaklık artışının Thermocouple ile elde edilen sonuçlara benzer olarak, tümör eşdeğeri doku+C-MNP grubu Grup 4’de elde edildi ($p<0.0001$). Tümör eşdeğeri doku olan Grup 2’nin sıcaklık düzeyi diğer gruplardan daha düşükken ($p<0.001$), Grup 3 ve Grup 4’ün sıcaklık düzeyi Grup 1’den daha yüksekti ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0.0001$) (Tablo 4.3). Mevcut çalışmada en düşük sıcaklık artışı yalnızca MW hipertermi uygulaması yapılan tümör eşdeğeri doku grubu Grup 2’de elde edildi. Thermocouple ile elde edilen sonuçlara benzer olarak en yüksek sıcaklık Grup 4, tümör eşdeğeri doku+C-MNP grubunda elde edildi.

Tablo 4.3. Çalışmadaki Grupların Termal Kamera Sıcaklık Düzeyleri

Gruplar	Ortalama $\pm$ STD
Grup 1	18,88 $\pm$ 0,10
Grup 2	18,15 $\pm$ 0,10*
Grup 3	19,23 $\pm$ 0,10*, β
Grup 4	19,28 $\pm$ 0,10*, β



Şekil 4.15 Çalışmadaki Grupların Termal Kamera ile Sıcaklık Değişimi ($p < 0,05$; *, Grup1 ile diğer gruplar arasındaki; β , Grup 2 ile diğer gruplar arasındaki anlamlılığı göstermektedir).

Thermocouple ve Termal kamera ile elde edilen sayısal veriler birbirini desteklediği görüldü. En düşük sıcaklık artışı tümör eşdeğeri doku oluşturulan ve sonrasında MW hipertermi uygulaması yapılan Grup 2’de elde edildi. Yalnızca sağlıklı meme eşdeğer doku oluşturulan ve sonrasında MW hipertermi uygulaması yapılan Grup 1’in sıcaklık artışının Grup 2’den fazla olmasının nedeninin sağlıklı dokunun, tümör dokusuna göre daha yumuşak olması ve MW’yı daha kolay soğurması ile ilişkilendirildi. En yüksek sıcaklık artışı tümör modeli eşdeğeri doku oluşturulduktan

sonra, C-MNP eklenen ve sonrasında MW hipertermi uygulaması yapılan Grup 4’de elde edildi. Bu bize 15.18 ± 0.22 V/m MW uygulamasının C-MNP kompleksinde ısı meydana getirdiğini göstermektedir. Aboneima, vd., (2021) MW ışıması ile birlikte hedeflenen nanopartiküllerin bölgesel sıcaklık artışı sağlayabileceğini ve kanser tedavisi için uygun olduğunu bildirmişlerdir (Aboneima, vd., 2021). Ayrıca, McWilliams, vd., (2017) Fe_3O_4 ve Fe/Fe_3O_4 nanoparçacıklarının, MW hipertermi ve ablasyon prosedürleri sırasında ısıtma hızını ve ısınma miktarını artırmak için güçlü bir potansiyel gösterdiğini vurgulamışlardır. MW ısıtma mekanizmasını aydınlatmak için çalışmaların yapılmaya devam etmesi gerektiğini düşünülmektedir (McWilliams, vd., 2017). Çalışmamızın sonuçları literatür taraması sonucunda elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Sentezlenen C-MNP kompleksinin MW hipertermi uygulaması için uygun olduğu yapılan fantom çalışması ile in-vitro olarak gösterilmiştir. Fe_3O_4 ve C-MNP’ler MW uygulamasının ısınma etkinliğini arttırmıştır.

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasının araştırılması sırasında, MNP üzerine yapılan araştırmaların büyük bir kısmının kanser tedavi yöntemlerinde ki düşük tümör seçiciliğinin üstesinden gelmek üzerine yoğunlaşmış olduğu görülmüştür. MNP'ler kullanılarak gerçekleştirilen MNPH, ısı indüksiyonunun uzaktan tetiklenmesi, tümörlerin seçici olarak öldürülmesi ve minimal zarar verme gibi arzu edilen özelliklere sahip olduğu için yaygın olarak araştırılmaktadır.

Bu yüksek lisans tezinde, Kitosan ile kaplı Manyetit (Fe_3O_4) nanopartikülü (C-MNP) oluşturulması, C-MNP'nin madde karakterizasyonu ve agar tozu ile sağlıklı meme ve tümör eşdeğeri doku oluşturularak C-MNP'nin, MW hipertermi karakterizasyonunun araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla deneysel çalışmalar iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında C-MNP'lerin üretimi ve elde edilen MNP'lerin madde karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada, sentezlenen C-MNP'ler de kullanılarak agar bazlı doku eşdeğerleri oluşturuldu. Oluşturulan eşdeğer dokular fantom içerisinde, düşük yoğunluk ve elektrik alan değerlerindeki MW uygulaması termal kamera ile görüntülenmiş, MW maruziyeti sırasında TC-08 Thermocouple cihazı kullanılarak sıcaklıkların veri kaydı yapılmıştır. Termal görüntüler ve Thermocouple cihazından kayıt edilen veriler ile düşük yoğunluk ve elektrik alan değerlerindeki MW uygulamasının termal etkisi değerlendirilmiştir.

MNP'lerin 10-100 nm hidrodinamik çapa sahip olmasının farmakokinetikleri için optimal olduğu ve polimer yüzey kaplamaları RES tarafından vücuttan temizlenmesini önleyebildiği ve biyoyumuluğu arttırdığı bilinmektedir (Cardoso, vd., 2018; Singh ve Sahoo, 2014). Literatür araştırması sonucu elde edilen bu bilgiler doğrultusunda, bu tez çalışmasında biyoyumlu ve biyobozunur olan kitosan yüzey kaplaması ve tüm nanopartiküller arasında biyomedikal alanda en yaygın olarak kullanılan Fe_3O_4 nanopartikülleri (5 nm hidrodinamik çapa sahip) kullanılmıştır. Fe_3O_4 nanopartiküllerinin kitosan ile kaplanması sonucu elde edilen, C-MNP'ler, iyonik jelasyon ile nanopresipitasyon tekniği kullanılarak literatüre paralel bir şekilde sentezlendi (Dinçer, vd., 2019; Parsian, vd., 2016). Sentezlenen C-MNP'ler DLS,

ZetaSizer, XRD, FTIR, DSC ve SEM yöntemleri kullanılarak karakterize edildi. Çalışmanın ilk aşamasında aşağıdaki bulgular elde edilmiştir:

- 1) DLS analizi sonuçları; Fe_3O_4 ve C-MNP nanopartiküllerin boyutlarının sırasıyla 571,5 ve 665,9 nm ve PDI değerlerinin 0,467 ve 0,862 olduğunu gösterdi. Sentezlenen parçacıklar boyut olarak değişmekte ve kümelenmeye eğilimlidir.
- 2) Zeta Potansiyel analizi sonuçları; Fe_3O_4 ve C-MNP nanopartikülleri için sırasıyla 30,4 ve -15,6 mV yüzey potansiyeline sahip olduklarını gösterdi. C-MNP'lerin zeta potansiyel değerinin negatif olması göz önüne alındığında Fe_3O_4 'in yüzey kaplaması kitosan ile kaplandığı doğrulandı.
- 3) Sentezlenen C-MNP'lerin XRD analizi sonuçlarına göre Fe_3O_4 nanopartiküllerine ait keskin pikler gözlenmemiş ve bu durumun nanopartiküllerin amorf veya moleküler durumda kitosan yapısı içerisinde dağılması ile ilişkilendirilmiştir.
- 4) FTIR analizi sonuçları; Fe_3O_4 nanopartiküllerinin yüzey kaplaması olarak kullanılan kitosan ile kaplandığını doğruladı. Yaklaşık $500\text{-}790\text{ cm}^{-1}$ civarında gözlenen pik Fe-O bağının titreşimine karşılık gelmektedir. Bu durum C-MNP'de Fe_3O_4 varlığını göstermektedir. FTIR analizi sonuçları, diğer karakterizasyon sonuçlarını desteklemektedir.
- 5) DSC analizi sonucunda, sırasıyla, kitosan, C-MNP ve agar tozunun, 41.59, 97.14 ve $125.75\text{ }^\circ\text{C}$ 'de erime noktasına karşılık gelen bir endotermik pik görüldü.
- 6) SEM analizi sonuçları; Sentezlenen C-MNP'lerin boyutunun $24,87\pm 11,5\text{ nm}$ olduğunu gösterdi. SEM çalışması sonucunda C-MNP'lerin istenilen 10-100 nm parçacık büyüklüğü aralığında olduğu bulundu.
- 7) SEM çalışması sonucunda elde edilen, SEM mikrografından parçacıkların çok dağınıklı yapıda ve kümelenmeye eğilimli olduğu görüldü. EDX analizinde ise nanopartiküllerin yüzeyinde Fe, O ve kitosandan gelen C atomları görüldü. Fe elementinin %1.7 oranında yapıda bulunduğu ispatlanmıştır.
- 8) İyonik jelasyon ile nanopresipitasyon tekniği kullanılarak sentezlenen C-MNP'lerin DLS analizi ile elde edilen parçacık büyüklükleri, PDI değerleri ve zeta potansiyelleri kümelenmeye eğilimli olduğunu gösterdi. C-MNP'lerin SEM mikrografından da parçacıkların kümelenmeye eğilimli olduğu görüldü.

FTIR ve zeta potansiyel analizlerinden elde edilen sonuçlar ile de kitosan kaplamanın başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği gösterildi. Bu çalışmada elde edilen veriler birbiri ile uyumludur.

C-MNP'lerin madde karakterizasyonu sonuçlarına göre, partiküllerin kümelenmeye eğilimli olduğu ancak başarılı bir kitosan kaplamanın gerçekleştirildiği tespit edilmiştir.

Tez çalışmasının ikinci aşamasında agar bazlı fantomlar hazırlanarak ısıtma deneyleri gerçekleştirildi. Manyetik hipertermi tedavisinde ısıtma tutumlarını gözlemlemek için dört farklı agar fantom oluşturuldu. Isıtma deneyleri monopul antenli Mikrodalga sistemi kullanılarak, 2,45 GHz frekansıda 60 dakika boyunca gerçekleştirildi. Çalışmanın ikinci aşamasında aşağıdaki bulgular elde edilmiştir:

- 1) Thermocouple ve Termal kamera cihazlarından elde edilen bulguların, termal karakterizasyon sonuçlarında, en düşük sıcaklık artışı tümör eşdeğeri doku oluşturulan ve sonrasında MW hipertermi uygulaması yapılan Grup 2'de elde edildi. Grup 2'nin sıcaklık artışının Grup 1'den düşük olmasının nedeni, sağlıklı dokunun, tümör dokusuna göre daha yumuşak olması ve MW'yı daha kolay soğurmasıdır.
- 2) Thermocouple ve Termal kamera cihazlarından elde edilen bulguların termal karakterizasyon sonuçlarında, en yüksek sıcaklık artışı tümör eşdeğeri doku oluşturulduktan sonra, C-MNP eklenen ve sonrasında MW hipertermi uygulaması yapılan Grup 4'de elde edildi. Termal karakterizasyon sonuçları, C-MNP kompleksinin yaklaşık 15 V/m'lik düşük elektrik alan değerinde ısı üretebildiğini ve hipertermi uygulaması için uygun olduğunu göstermiştir.
- 3) Thermocouple ve Termal kamera elde edilen sayısal veriler birbirini desteklemektedir.

Tez çalışmasında sonuç olarak, C-MNP kompleksinin başarılı bir şekilde oluşturulduğu ve MW uygulamasıyla klinikte hipertermi tedavisi için uygun olabileceği öngörülmüştür. Bu öngörünün desteklenmesi için hayvan çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Aboneima, S. S. Ismail, A. ve A. Motaweh, H. (2021). Treatment of Cancer by Radiotherapy and Nanoparticles Coupled With Methotrexate. *Iranian Journal of Medical Physics*. 18(4). 232-246.
- Allen, C. Her, S. ve Jaffray, D. A. (2017). Radiotherapy for cancer: present and future. *Advanced drug delivery reviews*. 109. 1-2.
- Ansari, L. ve Malaekheh-Nikouei, B. (2017). Magnetic silica nanocomposites for magnetic hyperthermia applications. *International Journal of Hyperthermia*. 33. 354-363.
- Appel, C. Kuttich, B, Kraus, T. ve Stühn, B. (2021). In situ investigation of temperature induced agglomeration in non-polar magnetic nanoparticle dispersions by small angle X-ray scattering. *Nanoscale*. 13 (14). 6916-6920.
- Ateş, M. (2018). Nanoparçacıkların ölçme ve inceleme teknikleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 11(1), 63-69.
- Avazzadeh, R. Vasheghani-Farahani, E. Soleimani, M. Amanpour, S. ve Sadeghi, M. (2017). Synthesis and application of magnetite dextran-spermine nanoparticles in breast cancer hyperthermia. *Progress in Biomaterials*. 6(3). 75-84.
- Aydın, R. S. T. (2013). Herceptin-decorated salinomycin-loaded nanoparticles for breast tumor targeting. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 101 (5). 1405-1415.
- Basel, M. T. Balivada, S. Wang, H., Shrestha, T. B. Seo, G. M. Pyle, M. ve Troyer, D. L. (2012). Cell-delivered magnetic nanoparticles caused hyperthermia-mediated increased survival in a murine pancreatic cancer model. *International journal of nanomedicine*. 7. 297-306.
- Bañobre-López, M. Teijeiro, A. ve Rivas, J. (2013). Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy*. 18(6). 397-400.
- Berry, C. C., ve Curtis, A. S. (2003). Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*. 36 (13).
- Bonnemain, B. (1998). Superparamagnetic agents in magnetic resonance imaging: physicochemical characteristics and clinical applications a review. *Journal of drug targeting*. 6 (3). 167-174.
- Bucak, S. ve Altan, C. L. (2017). Magnetic nanoparticles and cancer. In *Nanotechnology in Cancer* (pp. 105-137). William Andrew Publishing.
- Cardoso, B. D. Rio, I. S. Rodrigues, A. R. O. Fernandes, F. C. Almeida, B. G. Pires, A. ve Coutinho, P. J. (2018). Magnetoliposomes containing magnesium ferrite nanoparticles as nanocarriers for the model drug curcumin. *Royal Society open science*. 5(10). 1-15.
- Carrafiello, G. Laganà, D. Mangini, M. Fontana, F. Dionigi, G. Boni, L. ve Fugazzola, C. (2008). Microwave tumors ablation: principles, clinical applications and review of preliminary experiences. *International journal of surgery*. 6. 65-69.
- Cerqueira, M. Belmonte-Reche, E. Gallo, J. Baltazar, F. ve Bañobre-López, M. (2022). Magnetic Solid Nanoparticles and Their Counterparts: Recent Advances towards Cancer Theranostics. *Pharmaceutics*, 14(3). 1-31.
- Chauhan, A. Kumar, R. Singh, P. Jha, S. K. ve Kuanr, B. K. (2020). RF hyperthermia by encapsulated Fe₃O₄ nanoparticles induces cancer cell death via time-dependent caspase-3 activation. *Nanomedicine*. 15 (04). 355-379.
- Chen, X. Tan, L. Liu, T. ve Meng, X. (2017). Micro-Nanomaterials for Tumor Microwave Hyperthermia: Design, Preparation, and Application. *Current Drug Delivery*. 14(3). 307-322.

- Choi, J. S. Jun, Y. W. Yeon, S. I. Kim, H. C. Shin, J. S. ve Cheon, J. (2006). Biocompatible heterostructured nanoparticles for multimodal biological detection. *Journal of the American Chemical Society*. 128 (50). 15982-15983.
- Corot, C. Robert, P. Idée, J. M. ve Port, M. (2006). Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Advanced drug delivery reviews*. 58 (14). 1471-1504.
- Cole, A. J., Yang, V. C., & David, A. E. (2011). Cancer theranostics: the rise of targeted magnetic nanoparticles. *Trends in biotechnology*. 29 (7). 323-332.
- Calvo, P. Remunan-Lopez, C. Vila-Jato, J. L. ve Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of applied*
- Didarian, R. (2017). *Antikor Taşıyan Nanopartiküller Kullanarak Hipertermi ile Tümör Dokusunun Tedavisi*. Basılmamış Yüksek Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Ankara
- Didarian, R. Vargel, I. (2021). Treatment of tumour tissue with radio-frequency hyperthermia (using antibody-carrying nanoparticles). *IET Nanobiotechnol*. 15 (8). 639-653.
- Dinçer, C. A. Erdek, A. M. Karakeçili, A. Ve Yıldız, N. (2019). Preparation of chitosan and glycol chitosan coated magnetic nanoparticles loaded with carboplatin as anticancer drug. *Politeknik Dergisi*. 22(4). 1017-1022.
- Dobrovolskaia, M. A. ve McNeil, S. E. (2007). Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature nanotechnology*. 2(8). 469-478.
- Eivazzadeh-Keihan, R. Radinekiyan, F. Asgharnasl, S. Maleki, A. ve Bahreinizad, H. (2020). A natural and eco-friendly magnetic nanobiocomposite based on activated chitosan for heavy metals adsorption and the in-vitro hyperthermia of cancer therapy. *Journal of Materials Research and Technology*. 9(6). 12244-12259.
- El-kharrag, R. Abdel Halim, S. S. Amin, A. ve Greish, Y. E. (2019). Synthesis and characterization of chitosan-coated magnetite nanoparticles using a modified wet method for drug delivery applications. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 68(1-3). 73-82.
- Erdoğan, A. (2018). Kanser Tanı ve Tedavisinde Manyetik Nanopartiküller. *Natural and Applied Sciences Journal*. 1 (1). 23-30.
- Ersöz, M., vd. (2018). Nanoteknoloji 1: nanoteknolojinin temelleri.
- Farzin, A. Etesami, S. A. Quint, J. Memic, A. ve Tamayol, A. (2020). Magnetic nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Advanced healthcare materials*. 9(9). 1901058.
- Fisusi, F. A. ve Akala, E. O. (2019). Drug combinations in breast cancer therapy. *Pharmaceutical nanotechnology*. 7(1), 3-23.
- Frey, N. A. Peng, S. Cheng, K. ve Sun, S. (2009). Magnetic nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in bioimaging and magnetic energy storage. *Chemical Society Reviews*. 38 (9). 2532-2542.
- Hałupka-Bryl, M. Asai, K. Thangavel, S., Bednarowicz, M., Krzyminiewski, R. ve Nagasaki, Y. (2014). Synthesis and in vitro and in vivo evaluations of poly (ethylene glycol)-block-poly (4-vinylbenzylphosphonate) magnetic nanoparticles containing doxorubicin as a potential targeted drug delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 118. 140-147.
- Hadjianfar, M. Semnani, D. ve Varshosaz, J. (2019). An investigation on polycaprolactone/chitosan/Fe₃O₄ nanofibrous composite used for hyperthermia. *Polymers for Advanced Technologies*. 30(11). 2729-2741.
- Hammouda, H. F. Farag, M. M. El Deftar, M. M. Abdel-Gabbar, M. ve Mohamed, B. M. (2022). Effect of Ce-doped bioactive glass/collagen/chitosan nanocomposite scaffolds

- on the cell morphology and proliferation of rabbit's bone marrow mesenchymal stem cells-derived osteogenic cells. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 20(1). 1-19.
- Healy, S, Bakuzis, A. F, Goodwill, P. W, Attaluri, A, Bulte, J. W. ve Ivkov, R. (2022). Clinical magnetic hyperthermia requires integrated magnetic particle imaging. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 1-20.
- Hedayatnasab, Z. Abnisa, F. ve Daud, W. M. A. W. (2017). Review on magnetic nanoparticles for magnetic nanofluid hyperthermia application. *Materials & Design*. 123. 174-196
- Huang, S. H., Juang, R. S. (2011). Biochemical and biomedical applications of multifunctional magnetic nanoparticles: a review. *Journal of Nanoparticle Research*. 13 (10). 4411.
- Huang, P. C. Chaney, E. J. Aksamitiene, E. Barkalifa, R. Spillman Jr, D. R. Bogan, B. J. ve Boppart, S. A. (2021). Biomechanical sensing of in vivo magnetic nanoparticle hyperthermia-treated melanoma using magnetomotive optical coherence elastography. *Theranostics*. 11(12). 5620–5633.
- Hyeon, T. (2003). Chemical synthesis of magnetic nanoparticles. *Chemical communications*. (8). 927-934.
- Görgün, A. R. Çölekçi, S. Ve Adnan K. A. Y. A (2019). Mikrodalga Tümör Ablasyonu İçin Hüzme Yönlülüğünü Yüksek Kompakt Anten Ve Kompakt Çok Bandlı Düzlemsel Anten Tasarımı Ve Anallizi. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*. 7(3). 662-670.
- Gupta, A. K. ve Gupta, M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*. 26 (18). 3995-4021.
- Gutiérrez, L. De la Cueva, L. Moros, M. Mazarío, E. De Bernardo, S. De la Fuente, J. M. ve Salas, G. (2019). Aggregation effects on the magnetic properties of iron oxide colloids. *Nanotechnology*. 30 (11). 112001.
- Jans, H. Liu, X. Austin, L. Maes, G. ve Huo, Q. (2009). Dynamic light scattering as a powerful tool for gold nanoparticle bioconjugation and biomolecular binding studies. *Analytical chemistry*. 81(22). 9425-9432.
- Johannsen, M. Thiesen, B. Jordan, A. Taymoorian, K. Gneveckow, U. Waldöfner, N. ve Loening, S. A. (2005). Magnetic fluid hyperthermia (MFH) reduces prostate cancer growth in the orthotopic Dunning R3327 rat model. *The prostate*. 64(3). 283-292.
- Józefczak, A. Kaczmarek, K. Kubovčíková, M. Rozynek, Z. Ve Hornowski, T. (2017). The effect of magnetic nanoparticles on the acoustic properties of tissue-mimicking agar-gel phantoms. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 431. 172-175.
- Kaczmarek, K. Hornowski, T. Antal, I. Rajnak, M. Timko, M. Ve Józefczak, A. (2020). Sonomagnetic heating in tumor phantom. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 500. 1-6.
- Kalambur, V. S. Longmire, E. ve Bischof, J. C. (2007, June). "Characterization of Cell Association and Heat Treatment Using Iron Oxide Magnetic Nanoparticles." In *Summer Bioengineering Conference*, American Society of Mechanical Engineers.
- Kavaz, D. Odabaş, S. Güven, E. Demirbilek, M. ve Denkbaş, E. B. (2010). Bleomycin loaded magnetic chitosan nanoparticles as multifunctional nanocarriers. *Journal of Bioactive and compatible polymers*. 25(3). 305-318.
- Khedri, B. Shahanipour, K. Fatahian, S. ve Jafary, F. (2018). Preparation of chitosan-coated Fe₃O₄ nanoparticles and assessment of their effects on enzymatic antioxidant system as well as high-density lipoprotein/low-density lipoprotein lipoproteins on wistar rat. *Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ)*. 2(1). 68-73.

- Kim, D. H. Nikles, D. E. Johnson, D. T. ve Brazel, C. S. (2008). Heat generation of aqueously dispersed CoFe₂O₄ nanoparticles as heating agents for magnetically activated drug delivery and hyperthermia. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 320. 2390-2396.
- Koçak, Ş. Çelik, L. Özbaş, S. Saka, D. S. Tükün, A. ve Yalçın, B. (2011). Meme kanserinde risk faktörleri, riskin değerlendirilmesi ve prevansiyon: İstanbul 2010 konsensus raporu. *Meme Sağlığı Dergisi*. 7 (2). 47-67.
- Kumar, C. S. ve Mohammad, F. (2011). Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*. 63(9). 789-808.
- Kwizera, E. A. Stewart, S. Mahmud, M. M. ve He, X. (2022). Magnetic Nanoparticle-Mediated Heating for Biomedical Applications. *Journal of Heat Transfer*. 44(3). 1-14.
- Lee, J. H. Chen, K. J. Noh, S. H. Garcia, M. A. Wang, H. Lin, W. Y. ve Tseng, H. R. (2013). On-demand drug release system for in vivo cancer treatment through self-assembled magnetic nanoparticles. *Angewandte Chemie*. 125 (16). 4480-4484.
- Liu, H. L. Hua, M. Y. Yang, H. W. Huang, C. Y. Chu, P. C. Wu, J. S. ve Wei, K. C. (2010). Magnetic resonance monitoring of focused ultrasound/magnetic nanoparticle targeting delivery of therapeutic agents to the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107 (34). 15205-15210.
- Ma, G. ve Jiang, G. (2010, October). "Review of tumor hyperthermia technique in biomedical engineering frontier" In *2010 3rd International Conference on Biomedical Engineering and Informatics*, IEEE.
- Mata-Pérez, F. Martínez, J. R. Guerrero, A. L. ve Ortega-Zarzosa, G. (2015). New way to produce magnetite nanoparticles at low temperature. *Adv. Chem. Eng. Res*, 4. 48-55.
- McWilliams, B. T. Wang, H. Binns, V. J. Curto, S. Bossmann, S. H. ve Prakash, P. (2017). Experimental investigation of magnetic nanoparticle-enhanced microwave hyperthermia. *Journal of functional biomaterials*. 8. 1-15.
- Miladi, K. Sfar, S. Fessi, H. ve Elaissari, A. (2015). Enhancement of alendronate encapsulation in chitosan nanoparticles. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 30. 391-396.
- Mohammadi-Samani, S. Miri, R. Salmanpour, M., Khalighian, N. Sotoudeh, S. ve Erfani, N. (2013). Preparation and assessment of chitosan-coated superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles for controlled delivery of methotrexate. *Research in pharmaceutical sciences*. 8(1). 25-33.
- Nanoteknoloji (2020). İçinde Wikipedia. Erişim: 19 Şubat 2020, <https://tr.wikipedia.org/wiki/Nanoteknoloji>
- National Cancer Institute, Dictionary of Cancer Terms Erişim: 30 Nisan 2022, <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/tumor>
- National Cancer Institute (2015a). Chemotherapy to Treat Cancer Erişim: 31 Ocak 2022, <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/chemotherapy>
- National Cancer Institute (2015b). Surgery to Treat Cancer Erişim: 31 Ocak 2022, <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/surgery>
- National Cancer Institute (2019a). Immunotherapy to Treat Cancer Erişim: 31 Ocak 2022, <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy>
- National Cancer Institute (2019b). Radiation Therapy to Treat Cancer Erişim: 31 Ocak 2022, <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/radiation-therapy>
- National Cancer Institute (2021a). Hyperthermia to Treat Cancer Treatment Erişim: 5 Şubat 2022, <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/hyperthermia>

- National Cancer Institute (2021b). Types of Cancer Treatment Erişim: 25 Ocak 2022, <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>
- National Cancer Institute (2022). Radiation Therapy Side Effects Erişim: 31 Ocak 2022, <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/radiation-therapy/side-effects>
- Nguyen, Q. H. Quyen, D. H. ve Hoang, T. K. N. (2014). A new route of emulsifier-free emulsion polymerization for the preparation of polymer coated magnetite nanoparticles. *Materials Science-Poland*. 32(2). 264-271.
- Özkahraman, B. Işıl, A. C. A. R. Gök, M. K. ve Güçlü, G. (2014). Poli (N-Vinilkaprolaktam) Mikrojellerinin Sentez Şartlarının Optimizasyonu. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 14(1). 13-21.
- Parsian, M. Unsoy, G. Mutlu, P. Yalcin, S. Tezcaner, A. ve Gunduz, U. (2016). Loading of Gemcitabine on chitosan magnetic nanoparticles increases the anti-cancer efficacy of the drug. *European journal of pharmacology*. 784. 121-128.
- Pazouki, N. Irani, S. Olov, N. Atyabi, S. M. ve Bagheri-Khoulenjani, S. (2022). Fe₃O₄ nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan containing curcumin in combination with hyperthermia induced apoptosis in breast cancer cells. *Progress in Biomaterials*. 1-12.
- Pennacchioli, E. Fiore, M. ve Gronchi, A. (2009). Hyperthermia as an adjunctive treatment for soft-tissue sarcoma. *Expert review of anticancer therapy*. 9 (2). 199-210.
- Perera, U. M. S. P. ve Rajapakse, N. (2014). Chitosan nanoparticles: preparation, characterization, and applications. New York.
- Petryk, A. A. Giustini, A. J. Gottesman, R. E. Trembly, B. S. ve Hoopes, P. J. (2013). Comparison of magnetic nanoparticle and microwave hyperthermia cancer treatment methodology and treatment effect in a rodent breast cancer model. *International Journal of Hyperthermia*. 29(8). 819-827.
- Pham, X. N. Nguyen, T. P. Pham, T. N. Tran, T. T. N. ve Tran, T. V. T. (2016). Synthesis and characterization of chitosan-coated magnetite nanoparticles and their application in curcumin drug delivery. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 7(4). 1-9.
- Piehler, S. Dähring, H. Grandke, J. Göring, J. Couleaud, P. Aires, A. ve Hilger, I. (2020). Iron oxide nanoparticles as carriers for DOX and magnetic hyperthermia after intratumoral application into breast cancer in mice: impact and future perspectives. *Nanomaterials*. 10 (6). 1016.
- Pon-On, W. Tithito, T. Maneeprakorn, W. Phenrat, T. ve Tang, I. M. (2019). Investigation of magnetic silica with thermoresponsive chitosan coating for drug controlled release and magnetic hyperthermia application. *Materials Science and Engineering: C*. 97. 23-30.
- Rana, A. Yadav, K. Ve Jagadevan, S. (2020). A comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity. *Journal of Cleaner Production*. 272. 122880.
- Salmanian, G. Hassanzadeh-Tabrizi, S. A. ve Koupaei, N. (2021). Magnetic chitosan nanocomposites for simultaneous hyperthermia and drug delivery applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 184. 618-635.
- Shi, X. Wang, S. H. Swanson, S. D. Ge, S. Cao, Z. Van Antwerp, M. E. Ve Baker Jr, J. R. (2008). Dendrimer-functionalized shell-crosslinked iron oxide nanoparticles for in-vivo magnetic resonance imaging of tumors. *Advanced materials*. 20 (9). 1671-1678.
- Siavashy, S. Soltani, M. Ghorbani-Bidkorbeh, F. Fallah, N. Farnam, G. Mortazavi, S. A. ve Hamed, M. H. (2021). Microfluidic platform for synthesis and optimization of

- chitosan-coated magnetic nanoparticles in cisplatin delivery. *Carbohydrate Polymers*. 265. 1-16.
- Singh, A. ve Sahoo, S. K. (2014). Magnetic nanoparticles: a novel platform for cancer theranostics. *Drug discovery today*. 19 (4). 474-481.
- Soares, P. I. Machado, D. Laia, C. Pereira, L. C. Coutinho, J. T. Ferreira, I. M. ve Borges, J. P. (2016). Thermal and magnetic properties of chitosan-iron oxide nanoparticles. *Carbohydrate polymers*. 149. 382-390.
- Sultankulov, B. Berillo, D. Sultankulova, K. Tokay, T. ve Saparov, A. (2019). Progress in the development of chitosan-based biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomolecules*. 9(9). 470.
- Sun, C. Du, K. Fang, C. Bhattarai, N. Veisheh, O. Kievit, F. ve Zhang, M. (2010). PEG-mediated synthesis of highly dispersive multifunctional superparamagnetic nanoparticles: their physicochemical properties and function in vivo. *ACS nano*. 4(4). 2402-2410.
- Sun, C. Lee, J. S. ve Zhang, M. (2008). Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*. 60 (11). 1252-1265.
- Sun, J. Z. Sun, Y. C. ve Sun, L. (2019). Synthesis of surface modified Fe₃O₄ super paramagnetic nanoparticles for ultra sound examination and magnetic resonance imaging for cancer treatment. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 197. 111547.
- Taboada, E. Solanas, R. Rodriguez, E. Weissleder, R. ve Roig, A. (2009). Supercritical-fluid-assisted one-pot synthesis of biocompatible core (γ -Fe₂O₃)/shell (SiO₂) nanoparticles as high relaxivity T₂-contrast agents for magnetic resonance imaging. *Advanced Functional Materials*. 19 (14). 2319-2324.
- Tsai, Z. T. Wang, J. F. Kuo, H. Y. Shen, C. R. Wang, J. J. ve Yen, T. C. (2010). In situ preparation of high relaxivity iron oxide nanoparticles by coating with chitosan: A potential MRI contrast agent useful for cell tracking. *Journal of magnetism and magnetic materials*. 322(2). 208-213.
- Unsoy, G. Yalcin, S. Khodadust, R. Gunduz, G. ve Gunduz, U. (2012). Synthesis optimization and characterization of chitosan-coated iron oxide nanoparticles produced for biomedical applications. *Journal of Nanoparticle Research*. 14(11). 1-13.
- Umut, E. Coşkun, M. Pineider, F. Berti, D. ve Güngüneş, H. (2019). Nickel ferrite nanoparticles for simultaneous use in magnetic resonance imaging and magnetic fluid hyperthermia. *Journal of colloid and interface science*. 550. 199-209.
- Wang, J. Wang, D. Yan, H. Tao, L. Wei, Y. Li, Y. ve Sun, X. (2017). An injectable ionic hydrogel inducing high temperature hyperthermia for microwave tumor ablation. *Journal of Materials Chemistry B*. 5(22). 4110-4120.
- World Health Organization (2020a). International Agency for Research on Cancer Erişim: 6 Mayıs, 2022, <https://www.losante.com.tr/Content/brosur/DS%C3%96%20Kanser%20Verileri%20Tablo%20%C3%87evirisi.pdf>
- World Health Organization (2020b). International Agency for Research on Cancer Erişim: 2 Kasım 2022, <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype>
- World Health Organization (2021a). Breast Cancer Erişim: 19 Şubat 2022, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
- World Health Organization (2021b). Cancer Erişim: 25 Ocak 2022, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

World Health Organization (2021c). Breast Cancer Erişim: 19 şubat 2022, <https://www.who.int/news/item/03-02-2021-breast-cancer-now-most-common-form-of-cancer-who-taking-action>

Zhu, L. Ma, J. Jia, N. Zhao, Y. ve Shen, H. (2009). Chitosan-coated magnetic nanoparticles as carriers of 5-fluorouracil: preparation, characterization and cytotoxicity studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 68(1). 1-6.



ÖZ GEÇMİŞ

Elif Elçin ETLİ, Samsun Özel Çizgiüstü Fen Bilimleri Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği bölümünden 20.08.2020 tarihinde mezun oldu. 2020 yılında OMÜ LEE Radyolojik Bilimler Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0001-5282-2872

Yayınlar:

1. Etli, E. E., Akar, A. (2022). Magnetic nanoparticles for diagnosis and treatment. *Medicine*, 11(2).
2. Etli, E. E., Karadayı A., Aydın, T. S. R. (2023). Manyetik Nanoparçacık-Kitosan Kompleksi Madde ve Termal Karakterizasyon Araştırması. 12. Uluslararası Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları Kongresi (UTSAK), Ankara, Türkiye, 18-19 Mart 2023.