



**BENTONİT, ZEOLİT NANOPARTİKÜLLERİNİN VE BENTONİT-ZEOLİT
NANOKOMPOZİTİNİN MELANOM HÜCRELERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nilay DUMAN

Danışman

Doç. Dr. Atilla EVCİN

NANOBİLİM ve NANOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Ocak 2020

Bu tez çalışması 18.FEN.BİL.09 numaralı proje ile Afyon Kocatepe Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BENTONİT, ZEOLİT NANOPARTİKÜLLERİNİN VE BENTONİT-
ZEOLİT NANOKOMPOZİTİNİN MELANOM HÜCRELERİNE
ETKİLERİ**

Nilay DUMAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Atilla EVCİN

NANOBİLİM ve NANOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Ocak 2020

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

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

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

beyan ederim.

13/01/2020

Nilay DUMAN



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BENTONİT, ZEOLİT NANOPARTİKÜLLERİNİN VE BENTONİT-ZEOLİT NANOKOMPOZİTİNİN MELANOM HÜCRELERİNE ETKİLERİ

Nilay DUMAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Nanobilim ve Nanoteknoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Atilla EVCİN

Bu çalışmada; bentonit nanopartiküllerinin, zeolit minerallerinden zeolit 4A nanopartiküllerinin ve bunların nanokompozitlerinin melanom hücreleri üzerine etkileri incelendi. Çalışmada insan G361 kutanöz melanom hücre hattı kullanıldı. Uygun sayıda pasajlamalar ile çoğaltılan melanom hücrelerine flasklar içerisinde belirlenen farklı konsantrasyon aralıklarında bentonit ve zeolit 4A nanopartikülleri hem ayrı ayrı hem de nanokompozit olarak uygulanarak 24 saat inkübasyondan sonra MTT viabilite testi ile hücre canlılık ölçümleri yapıldı. Bentonit, zeolite 4A nanopartikülleri ve nanokompozitleri için sitotoksik dozlar ve etkin dozlar (IC50) belirlendi. Ayrıca, hücre lizatlarında ELİSA tekniği ile apoptoz analizi yapılarak kaspaz-3 düzeyleri değerlendirildi. Yapılan analizlerde bentonit ve zeolit 4A nanopartikülleri hem ayrı ayrı hem de nanokompozit formda G361 melanom hücrelerinde doza bağımlı sitotoksik etkiler göstermiştir. Bu iki ajan kompozit halindeyken sinerjik etki göstererek birbirlerinin sitotoksik etkisini potansiyelize ederek her ikisi için gerekli etkin dozların azaltılabilmesine imkan sağlamıştır. Ayrıca, sitotoksositeye rağmen bu ajanların hücrelerde kaspaz-3 düzeylerini değiştirmedeği görülmüştür. Bu da bu ajanlarla görülen sitotoksitenin nekroz gibi apoptozdan farklı yollarla oluştuğunu veya apoptoza giderken kaspaz-3 kaskadını kullanmadığını düşündürmektedir. Bunun aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2020, xi + 43 sayfa

Anahtar Kelimeler: Melanom, bentonit, zeolit, nanokompozit, nanopartikül, kanser.



ABSTRACT

M.Sc Thesis

EFFECTS OF BENTONITE, ZEOLITE NANOPARTICLES AND BENTONITE- ZEOLITE NANOCOMPOSITES ON MELANOMA CELLS

Nilay DUMAN

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Nanoscience and Nanotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Atilla EVCİN

In this study; the effects of bentonite nanoparticles and zeolite 4A nanoparticles and their nanocomposites on melanoma cells were investigated. Human G361 melanoma cell line was used in the study. The viability measurements were made by MTT viability test after 24 hours incubation by applying bentonite and zeolite 4A nanoparticles both separately and as nanocomposite at different concentration ranges determined in flasks to melanoma cells grown by appropriate number of passages. Cytotoxic doses and effective doses (IC₅₀) were determined for bentonite, zeolite 4A nanoparticles and nanocomposites. In addition, the cell lysates were analyzed for apoptosis by ELISA technique and caspase-3 levels were evaluated. In the analyzes, bentonite and zeolite 4A nanoparticles showed dose-dependent cytotoxic effects in G361 melanoma cells both separately and in composite form. These two agents showed a synergistic effect in the nanocomposite state, thereby potentiating the cytotoxic effect of each other, allowing the effective doses needed for both to be reduced. In addition, these agents did not alter caspase-3 levels despite cytotoxicity. This suggests that the cytotoxicity seen with these agents is caused by different pathways than apoptosis such as necrosis or that it does not use the caspase-3 cascade when going to apoptosis. Further studies are needed to clarify this.

2020, xi + 43 pages

Keywords: Melanoma, bentonite, zeolite, nanocomposite, nanoparticle, cancer.



TEŞEKKÜR

Bu araştırmada, Sağlık bilimleri ile Nanoteknoloji alanında interdisipliner bir çalışma yapabilme konusunda olanak sağlayan, hem araştırma hem de yazım aşamasında desteklerini sunan tez danışmanım Doç. Dr. Atilla EVCİN'e, melanom hücre hatlarındaki deneysel araştırmaların yapımındaki desteklerinden ötürü Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sefa Çelik'e teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışması 18.FEN.BİL.09 numaralı proje ile AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiş olup desteklerinden dolayı AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederim.

Nilay DUMAN
Afyonkarahisar, 2020

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1 Kutanöz Melanom	3
2.1.1 Epidemiyoloji.....	3
2.1.2 Etyopatogenez	4
2.1.3 Risk Faktörleri.....	5
2.1.4 Klinik Özellikleri	6
2.1.5 Histopatolojik Özellikler.....	7
2.1.6 Tanı Ve Evrelendirme	8
2.1.7 Tedavi Yaklaşımı	8
2.2 Kanserlerde Nanoteknoloji	9
2.3 Bentonit.....	11
2.4 Zeolitler.....	14
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1 Kullanılan Malzemeler Ve Özellikleri.....	17
3.1.1 Bentonit	17
3.1.2 Zeolit 4a	17
3.2 Hücre Kültürü	22
3.2.1 Mtt Hücre Viyabilite Ölçüm Testi	22
3.2.2 Elısa İle Apoptoz Analizi	23
3.3 İstatistiksel Analizler	27
4. BULGULAR	28

4.1 Mtt Hücre Viyabilite Ölçüm Testi	28
4.2 Elısa İle Apoptoz Analizi.....	28
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	30
6. KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	44



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

mm	Milimetre
nm	Nanometre
(Na, Ca) _{0.33} (Al, Mg) ₂ (Si ₄ O ₁₀)(OH) ₂ *nH ₂ O	Montmorillonit
gr/cm ³	Gram/santimetre küp
µm	Mikrometre
M _{2/n} O. Al ₂ O ₃ . x SiO ₂ . y H ₂ O	Zeolit
cc	Santimetre küp
mM	Milimol
U/ml	Unit/mililitre
µg/ml	Mikrogram/mililitre
µL	Mikrolitre
ng/mg prot	Nanogram/miligram protein
mg/ml	Miligram/mililitre

Kısaltmalar

5-Fu	5-fluorourasil
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AJCC	Amerikan Birleşik Kanser Komitesi
CTLA-4	Sitotoksik T-lenfosit assosiye protein 4
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ELİSA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FBS	Fetal bovine serum
FCS	Fetal dana serumu
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
IC50	Etkin doz
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
Mmt	Montmorillonit
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür
NADH	Redükte nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	Redükte nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NK	Nanokompozit
NP	Nanopartikül
O	Oktohedral
PD1	Programlı ölüm-1 reseptörü
PDL1	Programlı ölüm ligandı 1
PUVA	Psoralen-UVA
T	Tetrahedral
TNM	Tümör, lenf nodu ve metastaz
UV	Ultraviyole

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Kanser tedavisinde kullanılan nanopartiküller	11
Şekil 2.2 Bentonitin kristal yapısı	12
Şekil 2.3 Zeolitlerin silika ve alüminanın tetrahedral yapıları	14
Şekil 3.1 Zeolit 4A'nın yapısı	18
Şekil 3.2 Zeolit 4A'nın SEM-EDX fotoğrafı 1800X	18
Şekil 3.3 Zeolit 4A'nın DTA-TG grafiği	19
Şekil 3.4 Zeolit 4A'nın XRD paterni	20
Şekil 3.5 Zeolit 4A'nın tane boyut analizi	21
Şekil 3.6 Apoptoz ve nekrozun karşılaştırılması.....	25
Şekil 3.7 Kaspaz-bağımlı ve bağımsız apoptotik yollar.....	27
Şekil 4.1 Gruplardaki kaspaz-3 dağılımı.....	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Melanom Risk faktörleri	5
Çizelge 3.1 Bentonitin fiziksel özellikleri.....	17
Çizelge 3.2 Bentonitin kimyasal özellikleri	17
Çizelge 3.3 Zeolit 4A'nın teknik özellikleri.....	17
Çizelge 3.4 Apoptoz ve Nekrozun karşılaştırılması.....	25
Çizelge 4.1 Ajanların G361 melanom hücrelerinde %50 ölüm oranına (IC50) neden olduğu konsantrasyon değerleri.....	28
Çizelge 4.2 Gruplardaki ortalama Kaspaz-3 değerleri	27

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 2.1 Melanomun 4 ana klinik alt tipi	6
--	---



1. GİRİŞ

Melanom melanositlerden köken alan, en ölümcül kanserler arasında yer alan bir kanserdir. Son yıllarda insidansı giderek artış göstermiştir, kadınlarda ve erkeklerde en sık görülen 5. kanserdir (Siegel vd. 2019).

Açık renk ten, deri fototipi I/II, kızıl, sarı saç, yeşil, mavi göz, çillerin varlığı gibi fenotipik özellikler, elli yaş üzerinde erkek olma, intermitant-kronik UV (ultraviyole) maruziyeti, ailesel melanom öyküsü varlığı, kişisel melanom ve melanom dışı deri kanseri öyküsü varlığı, displastik nevüs varlığı, artmış total melanositik nevüs sayısı (≥ 100), dev tip konjenital melanositik nevüs varlığı, kseroderma pigmentozum gibi melanoma yatkınlık oluşturan genotipik özelliklere sahip olma ve kronik immunosupresyon varlığı melanom risk faktörlerini oluşturmaktadır (Psaty vd. 2010).

Melanomlu hastalardaki 5-yıllık sağ kalım oranları tanı anındaki evreye göre değişmektedir. Lokalize melanomda tedavi, lezyonun Breslow kalınlığına göre uygun cerrahi kenar payı ile eksize edilmesidir. Metastatik olgularda ise sağ kalım düşüktür, çeşitli tedaviler kullanılmakla beraber bunlar paliyatif amaçlıdır ve tam kür sağlayan etkin bir tedavi henüz bulunmamaktadır.

Son yıllarda kanser tedavilerinde nanoteknolojinin yeri giderek daha da önem kazanmaktadır. Nanopartiküllerin (NP'lerin) kanserli dokuya spesifik hale getirilerek çevre dokuya zarar vermeden sadece hedef dokuyu etkilemesi, daha etkin tedavi ve daha az yan etki olanağı sağlaması, aynı zamanda tedavi ve görüntülemenin yapılabildiği akıllı nanosistemlerin oluşturulması gibi birçok alanda yoğun çalışmalar devam etmektedir (Huang vd. 2017, Kim vd. 2017).

Melanomun tedavisinde nanoteknolojinin yeri ve NP bazlı nanoilaçların ve nanosistemlerin kullanımının önemi her geçen gün artmaktadır (Berciano-Guerrero vd. 2014).

Bentonit ve zeolit NP'leri çeşitli anti-kanser ilaçlarının üretiminde ve kontrollü ilaç salınımında kullanılmaktadır (Pavelić vd. 2010, Bacakova vd. 2018).

Bununla birlikte bu ajanların selüler etkilerine dair literatür bilgisi kısıtlı ve çelişkilidir. Bazı hücrelerde sitoprotektif bazı hücrelerde de sitotoksik etkiler bildirilmiştir (Cervini-silva vd. 2016, Bacakova vd. 2018). Bununla beraber çeşitli çalışmalarda bunların tek başlarına da bazı kanser türlerinde antikanser etkileri olabileceği gösterilmiştir (Pavelic vd. 2001, Zarkovic vd. 2003, Cervini-silva vd. 2016, Bacakova vd. 2018). Ancak bu ajanların melanom hücrelerine karşı etkilerine dair literatür verisi eksiktir. Bu amaçla bu tezde bu ajanların hem tek tek hem de nanokompozit (NK) olarak melanom hücrelerine karşı etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Kutanöz Melanom

2.1.1 Epidemiyoloji

Kutanöz melanom, melanositlerden köken alan en ölümcül malign deri tümörüdür. Son yıllarda insidansı global olarak artış göstermektedir. Yaş-standardize edildiğinde erkek ve kadınlarda tahmini insidans oranları sırasıyla 1990'da 2.3 ve 2.2/100.000 iken 2008'de 3.1 ve 2.8/100.000'e, 2015'de ise 5/100.000'e yükselmiştir (Miller ve Mihm 2006, İnt. Kyn.1).

Tüm deri kanserlerinin % 4-5'i melanom olmasına rağmen, deri kanserlerine bağlı ölümlerin % 80-85'i melanoma bağlı gelişmektedir (Miller ve Mihm 2006). Dünyada yıllık yaklaşık 300.000 yeni vaka ve 60.000 ölüm görülmektedir (İnt. Kyn. 1).

Melanom insidansı cinsiyetler, yaş grupları, etnik gruplar ve anatomik bölgelere göre farklılık göstermektedir. Melanom insidansı koyu tenli ırklarda (Asyalı, Afrikalı, Yerli Amerikan ve İspanyol) beyaz ırka göre daha düşüktür (Bandarchi vd. 2010). Tüm dünyada en yüksek melanom insidansı 72/100.000 olarak Queensland, Avustralya'da görülmektedir (İnt. Kyn. 1).

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) melanom insidansı diğer tüm kanserlere göre daha hızlı bir artış göstermiştir. 1975-1985 yılları arasında yıllık %4,6, 1986-2007 yılları arasında ise yıllık %2,7 artış izlenmiştir. ABD'de erkeklerde ve kadınlarda en sık görülen 5. kanser melanomdur (İnt. Kyn. 1). Yıllık insidans hızı Hispanik olmayan beyazlar arasında 100.000'de 27, Hispanikler arasında 100.000'de 5 ve siyahılarda ve Asyalılar'da 100.000'de 1 oranındadır (İnt. Kyn. 1). ABD'de yılda yaklaşık 100.000 üzerinde yeni vaka ve 11.000 ölüm melanoma bağlı ortaya çıkmaktadır (İnt. Kyn. 1) .

2.1.2 Etiyopatogenez

Melanom melanositlerden köken alır. Melanositler, melanin pigmentini sentezleyen keratinize olmayan dendritik hücrelerdir. Embryolojik gelişim sırasında immatür melanositler (melanoblastlar) pluripotent nöral yarık kök hücrelerinden derive olarak mezenkim yoluyla epidermise göç ederler ve melanosit halini alırlar. Melanositler, temel olarak keratinositlerin UV'ye karşı korunmasında rol oynarlar, ayrıca saç ve deri rengini belirlerler. Deride melanositler temel olarak epidermin bazal tabakasında, kıl bulbusunda ve dış kök kılıfında bulunurlar. Melanositlerin temel görevi melanin pigmentini sentezlemek ve dendritik uzantıları ile bu melanini keratinositlere transfer etmektir. Deri dışında santral sinir sistemi (meninskler) ve gözde de (retina, koroid, korpus siliare ve iris) melanositler mevcuttur (Elder vd. 2009).

Melanositlerden melanom gelişme basamakları ve moleküler yolları kesin olarak bilinmemektedir. Melanositik transformasyonda, birçok genetik ve moleküler değişim rol oynamaktadır (Curtin vd. 2005). Melanom genetik duyarlılık ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan multifaktöriyel bir kanserdir.

Melanom etiyopatogenezinde çeşitli genlerin ve sinyal yollarının etkisi gösterilmiştir. Etiyopatogenezdeki en önemli yollardan bir tanesi MAPK (mitojen aktive protein kinaz) yolağıdır. Son yıllarda metastatik olgularda hızla özellikle bu yolaktaki molekülleri hedef alan tedaviler ortaya çıkmıştır (Curtin vd. 2005).

Melanom çıkışına neden olan çevresel faktörlerden en önemlisi UV maruziyetidir. Melanom karsinogenez basamaklarında, DNA hasarına ikincil oluşmuş mutasyonlar primer rolü oynar. Matür melanositler UV hasarı sonrasında apoptoza uğrarken, immatür melanositler (melanoblastlar) UV indüklü apoptoza dirençlidir. Bu da DNA hasarının hücrelerde fiks olmasına ve tümörogenezi indüklemesine neden olur (Tang 2010).

2.1.3 Risk Faktörleri

Genel olarak ileri yaş erkek cinsiyet, deri fototipi I/II'ye sahip olmak, kişisel ve ailesel melanom öyküsü varlığı, kişisel melanom dışı deri kanseri öyküsü varlığı melanom riskini arttırmaktadır. Artmış total melanositik nevüs sayısı (≥ 100), displastik nevüs ve displastik nevüs sendromu varlığı, dev tip konjenital melanositik nevüs varlığı, UV maruziyeti (intermitan-kronik), melanoma yatkınlık oluşturan genotipik özelliklere sahip olmak ve kronik immunosupresyon varlığı diğer melanom risk faktörlerini oluşturmaktadır (Psaty vd. 2010). Melanom risk faktörleri Çizelge 2.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.1 Melanom risk faktörleri.

Risk Faktörleri
İleri yaş, erkek cinsiyet
Açık ten rengi (deri fototipi I-II), kızıl-sarı saç rengi, yanmaya eğilim
Yeşil-mavi göz, çillerin, multipl solar lentigo varlığı
Yoğun, aralıklı güneş maruziyeti
Kronik güneş maruziyeti
Güneş yanığı
Psoralen-UVA (PUVA), solaryum kullanımı
DNA tamir defekti (örn: kseroderma pigmentozum)
Gen defektleri (CDKN2A, MC1R, vb.) ve mutasyonlar (BRAF, NRAS, c-KİT, vb.)
Kişisel/ailesel melanom öyküsü
Kişisel non-melanom deri kanseri öyküsü
Edinsel melanositik nevüslerin total sayısının fazlalığı (≥ 100)
Displastik nevüs/Displastik nevüs sendromu
Konjenital nevüs (>20 cm)
İyatrojenik ya da kazanılmış immunsupresyon

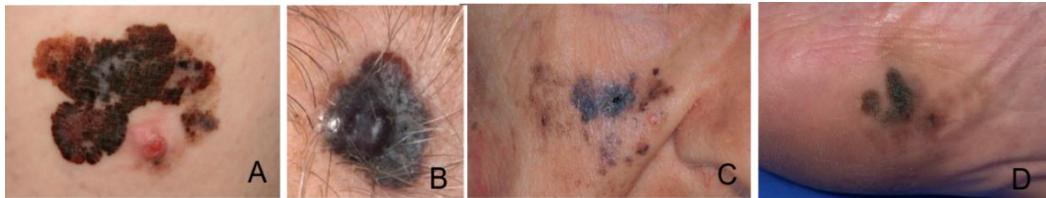
2.1.4 Klinik Özellikler

Melanomun 4 ana klinik alt tipi vardır. Bunlar yüzeysel yayılan melanom, nodüler melanom, akral lentiginöz malin melanom ve lentigo malin melanomdur (Resim 2.1). Bunun dışında, daha az sıklıkla görülen varyantlar da tanımlanmıştır. (Scolyer vd. 2011, Yuvalde vd. 2008).

Açık tenli bireylerde en sık görülen melanom alttipi yüzeysel yayılan melanomdur. Sıklıkla 30-50 yaş arasında görülür. En sık erkeklerde gövdede ve kadınlarda bacaklarda yerleşir (Yuvalde vd. 2008). Klinik olarak melanomların ABCDE kuralını sergiler. Yani şekil ve/veya renk açısından asimetri, sınır düzensizliği, renk çeşitliliği, çapın ≥ 6 mm olması ve zamanla değişim göstermesi gibi özelliklere sahiptir. Tipik klinik öykü zamanla yavaş değişiklik gösteren kahve-siyah, renk çeşitliliği ve sınır düzensizliği olan makül veya yamalar şeklindedir, zamanla lezyon üzerinde papül veya nodül gelişimi görülür (Yuvalde vd. 2008).

Nodüler melanom, açık tenli bireylerde 2.sıklıkta görülür. Genellikle 6.dekatta, gövde ve baş-boyun bölgelerinde mavi-siyah, bazen pembe-kırmızı ülser olabilen nodüller şeklinde hızlı bir şekilde ortaya çıkar. Nodüler melanom, genellikle daha kalın ve ileri evrede tanı aldığı için kötü prognoza sahiptir (Yuvalde vd. 2008).

Lentigo malin melanom, tüm kütanöz melanomların $< \% 15$ 'ini oluşturur. Genellikle daha ileri yaşlarda, 7.dekatta, yüzde özellikle de burun ve yanaklarda yavaş büyüyen, asimetrik, renk çeşitliliği gösteren irregüler sınırlı kahve-siyah renkli yama şeklinde ortaya çıkar.



Resim 2.1 Melanomun 4 ana klinik alt tipi (A: Yüzeysel yayılan melanom, B: Nodüler melanom, C: Lentigo malin melanom, D: Akral lentiginöz malin melanom) (Claus ve Jürgen 2014).

Akrall lentiginöz malin melanom ise kütanöz melanomların nadir görülen bir alt tipidir, siyah ırkta ve Asyalılarda en sık görülen tiptir. Genellikle akrall bölgelerde (avuç içinde, ayak tabanında ve tırnakta) asimetrik, renk çeşitliliği ve sınır düzensizliği gösteren, ülser olabilen kahve-siyah renkli makül veya yama şeklinde ortaya çıkar. Tırnak matriksindeki melanomlar longitudinal melanonişi ya da proksimal tırnak kıvrımına uzanan pigmentasyonlar şeklinde görülebilir (Yuvale vd. 2008).

Bu alt tiplerin dışında melanomların klinikopatolojik varyantları arasında nevoid, amelanotik, hayvan tipi, çocukluk çağı, dezmoplastik, persistan, rabdoid, myxoid, metaplastik, adenoid, anyiotropik, taşlı yüzük hücreli, balon hücreli, berrak hücreli, nöroendokrin diferansiyasyon gösteren melanom gibi alt tipler yer alır, bunların ayırımı daha çok histopatolojik özelliklere göre yapılabilir (Yuvale vd. 2008, Elder vd. 2009)

2.1.5 Histopatolojik Özellikler

Melanom tanısında, histopatolojik değerlendirme altın standarttır. Kesin tanı koydurucu spesifik bir özellik yoktur. Melanomun histopatolojik tanısı; yapısal ve sitolojik özelliklerin birlikte değerlendirilmesi ile konur.

Melanomların genel histopatolojik özellikleri; lezyonda asimetri, sınır düzensizliği, pigment dağılımının homojen olmaması, malin hücrelerin epidermiste yayılım göstermesi, malin hücrelerin yuvalar yerine nodüller oluşturma eğilimi, diffüz sitolojik atipi varlığı, hücrelerde mitotik aktivitenin artışı, dermal komponentte matürasyon kaybı, mitoz ve anormal mitoz varlığı olarak sayılabilir. Ayrıca melanomların histopatolojik incelemesinde tümörü infiltre eden lenfositik infiltrasyon, regresyon bulguları, mikroskopik satellit ve intransit metastazlar, perinöral infiltrasyon, ülserasyon ve lenfovasküler invazyon gibi ek bulgulara da sıklıkla rastlanmaktadır (Elder vd. 2009, McKee vd. 2009).

2.1.6 Tanı ve Evrelendirme

Melanomda erken tanı, tedavi seçimi ve prognoz açısından çok önemlidir. Melanom tanısı, klinik şüphe ve bunu takiben yapılan histopatolojik inceleme ile koyulur.

Tüm melanom şüphesi izlenen lezyonlarda öncelikle tanı için 2-5 mm cerrahi sınırla eksizyonel biyopsi yapılmalıdır. Melanom tanısı histopatolojik olarak konduktan sonra evreleme için Breslow kalınlığına ve cerrahi sınır durumuna göre gerekli hasta grubunda cerrahi reeksizyon uygulanmalıdır. Evreleme için öncelikle ayrıntılı fizik muayene ve klinik sorgulama ile lenf nodlarının durumu ve uzak metastaz varlığına ait semptom ve bulgular değerlendirilmelidir. Uygun hasta gruplarında lenf nodu tutulumu ve uzak metastaz varlığına yönelik ek tetkikler istenmelidir.

Günümüzde melanom evrelendirmesi için Amerikan Birleşik Kanseri Komitesi (AJCC)'nin 2017 yılında yayınladığı tümör (T), lenf nodu (N) ve metastaz (M) sınıflandırması kullanılmaktadır. T sınıflamasını; Breslow kalınlığı ve histopatolojik olarak belirlenen ülserasyon varlığı belirlerken. N sınıflaması; bölgesel lenf nodu, metastatik lenf nodlarının sayısı, mikroskopik / makroskopik nodal tümör yükü, satellit veya in-transit metastazın varlığına göre yapılmaktadır. M sınıflandırması metastatik hastalığın varlığına göre yapılır ve iki önemli özelliğe dayanır: (1) uzak metastazların anatomik bölgesi ve (2) serum laktat dehidrojenaz (LDH) seviyesi (İnt. Kyn. 1).

2.1.7 Tedavi Yaklaşımı

Lokalize kütanöz melanomlarının tedavisi geniş eksizyondur. Tanısal biyopsideki Breslow kalınlığına göre belirlenmiş sınırdaki reeksizyon yapılmaktadır. Cerrahiyi tolere edemeyecek hastalarda ya da yüzdeki büyük bir lentigo maligna gibi cerrahinin belirgin şekil bozukluğuna yol açacağı hastalarda radyoterapi, kriyoterapi, imiquimod gibi tedavi seçenekleri tercih edilir (Claus ve Jürgen 2014).

Nodal metastatik hastalıkta tedavi lenfadenektomi ve bazı vakalarda buna eklenen adjuvan tedavilerden oluşur. Adjuvan tedavi olarak radyoterapi, interferon- α veya

immünoterapi (ipilimumab) kullanılabilir. Metastatik melanomda yaşam süresi oldukça kısıtlıdır, henüz %100 etkin tedavisi bulunmamaktadır ve tedaviler paliyatif amaçlıdır. Paliyatif tedaviye en uygun adaylar genel sağlık durumu iyi olan ve tümör yükü düşük hastalardır.

Metastatik melanomda kullanılan tedavi yaklaşımları içinde;

1. Metastatik lezyonların cerrahi eksizyonu
2. Paliyatif radyoterapi
3. Ekstremiteler melanomlarında bölgesel sitotoksik ajan perfüzyonu
4. Kemoterapi (Dakarbazin, temozalamid, fotemustin, polikemoterapi)
5. İmmünoterapi (IL-2, interferon- α , aşılar, anti-PD1 antikorları, anti-PDL1 antikorları, CTLA-4 inhibitörü, vb)
6. Biyokemoterapi (Kemoterapi+ IL-2/ interferon- α)
7. Hedefe yönelik tedaviler (BRAF inhibitörleri, MEK inhibitörü, KIT inhibitörleri) gibi tedaviler yer alır (Claus ve Jürgen 2014).

2.2 Kanserlerde Nanoteknoloji

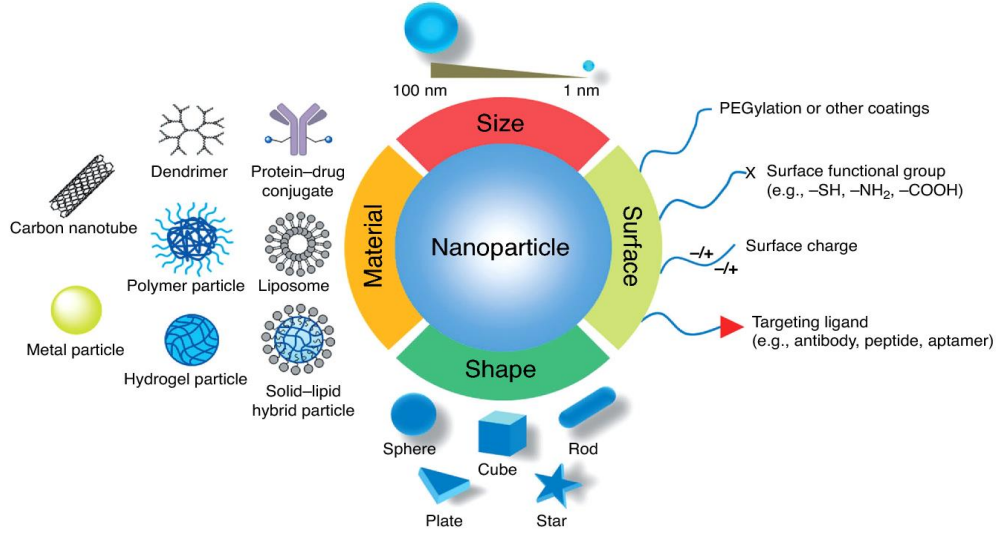
Nanoteknoloji, boyutu 100 nm'den küçük olan madde ve sistemlerin üretimini, karakterizasyonunu ve uygulanmasını inceleyen bilim ve teknoloji dalıdır. Nanocihazlar ve nanoyapılar kullanılarak insan biyolojik sistemlerini moleküler boyutta izleme, tedavi etme ve yeniden yapılandırma bilimi ise nanotıp olarak adlandırılır (Huang vd. 2017).

Son yıllarda kanserlerde hem tanı hem de tedavi aşamasında nanotıp uygulamaları son derece hızlı bir ilerleme kaydetmiştir. Kanserlerdeki nanoteknolojik uygulamalar arasında; hedefe spesifik, sağlıklı dokulara toksik olmayan biyouyumlu yeni nanoilaçların geliştirilmesi (Huang vd. 2017, Kim ve Jeong 2017, Zhang vd. 2017), kanser tedavisinde onkolitik virüslerin kullanılması (Badrinath vd. 2016), kişiye spesifik kanser aşılarının geliştirilmesi, kanser aşılarında NP'lerin kullanımı (Aldous ve Dong 2017, Grippin vd. 2017), kanser çalışmalarında kullanılmak üzere kanser modeli biyoçiplerin, 3D biyobenzer doku modellerinin geliştirilmesi (Portillo-Lara ve Annabi 2016, Peela vd. 2017), kanserlerin erken tanısını, metastazların erken tespitini

sağlayabilecek veya kanserlerin genetik profillerini tespit edebilecek nanobiyosensörlerin geliştirilmesi (Sugumaran vd. 2018, Garvett ve Fear 2015), kanser ve metastazlarının görüntülemesinde ileri nanoteknolojik görüntüleme yöntemlerinin kullanılması (Thakor ve Gambhir 2013), kanser tedavisinde kullanılan fototermal tedavi ve radyofrekans ablasyon gibi destrüktif tekniklerin nanoteknolojik olarak sadece kanserli dokuya uygulanması (Beik vd. 2016), kanserde kullanılan fotodinamik tedavide kullanılmak üzere yeni nanofotosensitif ajanların geliştirilmesi (Tang vd. 2017), cerrahi sırasında kanserli dokunun sınırlarının net görüntülenebilmesi için hedefe spesifik ileri nanoteknolojik işaretleme sistemlerinin geliştirilmesi (Patlak 2011) gibi uygulamalar yer alır.

Kanser tedavisinde nanoteknolojilerin kullanılması-hedefe spesifik, sağlıklı dokulara toksik olmayan biyouyumlu yeni nanoilaçların geliştirilmesini hedefler (Huang vd. 2017, Kim ve Jeong 2017, Zhang vd. 2017), Gün geçtikçe kanserlerde nanoteknolojik olarak geliştirilmiş ilaçların kullanımı giderek önem kazanmaktadır. Bunun temel amacı kemoterapi veya radyoterapi gibi normal sağlıklı dokulara da zarar veren kanser tedavilerinin toksik etkilerinden korunmaya çalışmaktır.

Kanser tedavilerinde kullanılan nanomateriyaller; demir oksit nanopartikülleri, altın NP'leri, cerium oksit NP'leri, quantum dotlar vb. metalik nanomateriyaller ve karbon nanotübüller, graphene, chitosan, hidrojel, lipozom, polimer nanopartiküller gibi nonmetalik nanomateriyallerdir (Şekil 2.1, Zhang vd. 2017).



Şekil 2.1 Kanser tedavisinde kullanılan nanopartiküller (Zhang vd. 2017).

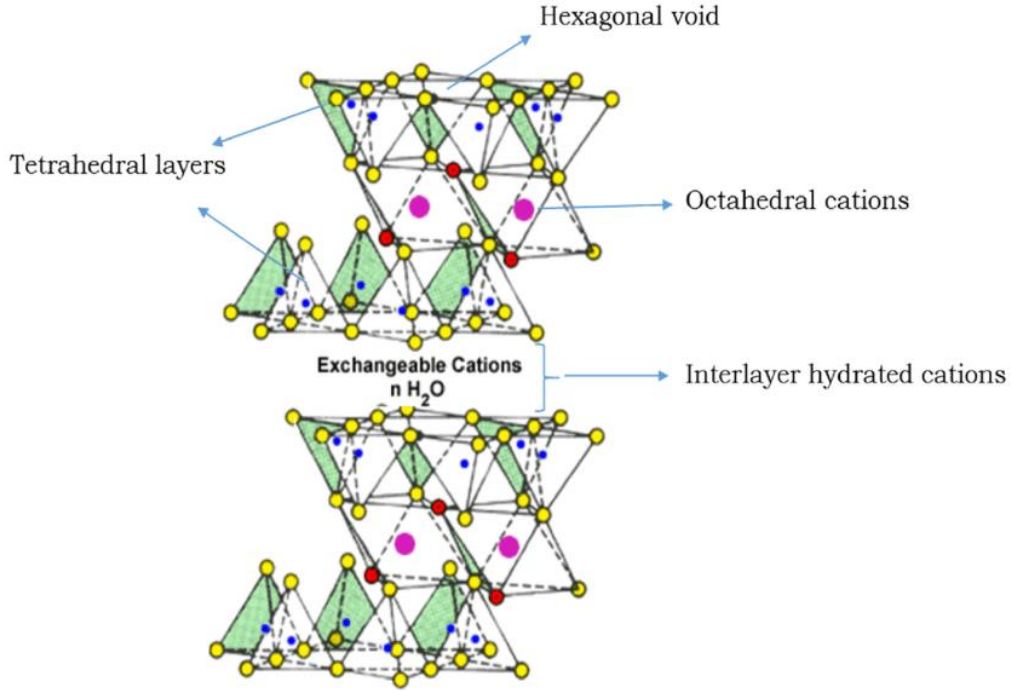
Günümüzde bu tedaviler ile halen tartışmalı konular mevcuttur. Bunlar arasında; akut ve kronik yan etkiler, reaktif oksijen türevlerinin üretilmesi ile hücrelerin zarar görmesi, solunum sistemi üzerine yan etkiler, kardiyovasküler sistem üzerine yan etkiler, sinir sistemi üzerine toksik etkiler, kan hücreleri ile uyumsuzluk ve immün sistem üzerine olumsuz etkiler gibi yan etkiler yer alır (Zhang vd. 2017).

Bu nedenlerle çok az sayıda nanoilaç henüz FDA onayı alabilmiştir ve de çok az ilaç faz 3 klinik çalışmalara girmeye hak kazanmıştır. Bu ilaçların kanserde kullanımını yaygınlaştırmadan önce en önemli nokta toksik etkilerin sıfıra indirilmesidir. Yakın gelecekteki en önemli basamaklardan birisi de bu olacaktır (Huang vd. 2017, Kim and Jeong 2017, Zhang vd. 2017, Jain 2015).

2.3 Bentonit

Kil mineralleri, tane boyutu genellikle 2 mikrondan daha küçük olan ve tabakalı yapıya sahip sulu alüminyum ve magnezyum silikatlarıdır. Yapılarında kristal suyu bulunduran ve tane boyutu genellikle 2 mikrondan küçük olan kil mineralleri ısıtıldığında plastik ve pişirildiğinde sürekli sert kalma özelliği sergilerler. Ticari adı bentonit olan ve smektit grubunda yer alan montmorillonit (Mmt) kili, genel kimyasal formülü $(\text{Na}, \text{Ca})_{0.33} (\text{Al}, \text{Mg})_2 (\text{Si}_4 \text{O}_{10}) (\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ olan tabakalı yapıya sahip sulu bir alüminyum silikattır. Kristal yapısı monoklinik-prizmatik, ortalama

yoğunluğu 2,35 gr/cm³ ve sertliği Mohs skalasına göre 1,5-2 olan smektit grubu kil mineralidir. Kristal yapısı bir alüminyum oktahedral levhasının (O) iki adet silisyum tetrahedral levhası (T) arasına yerleşmesi ve bir sandviç gibi sarılması ile oluşur (TOT) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Bentonitin kristal yapısı (Venkatesha 2015).

Tabaka kalınlığı 1 nm ve uzunluğu ise 0.2-2 μm kadardır. Mmt kil minerallerinin tane boyutu 0.1 μm ile 2 μm arasında olmakla birlikte ortalama 0.5 μm tane boyutuna sahiptirler (Lagaly vd. 2013). İzomorfik yer değişimlerin sonucu Mmt kili yüzeyi net negatif elektrik yüküne sahiptir. Bu negatif yük yoğunluğunu dengelenmesi amacıyla kil tabakaları arasına Na⁺, Mg²⁺, Al³⁺ gibi sulu katyonlar yerleşir. Değişebilir katyonlar adı verilen bu iyonlar interkalasyon prosesi ile başka katyonlar veya polimerik moleküller ile yer değiştirilebilir (Bergaya vd. 2006). Mmt kili çok iyi şişme kapasitesi gösterdiği için tabakaları arasında su molekülleri de bulunur ve bu moleküller değişebilir katyonlar tarafından koordine edilir (Calabrese vd. 2013). Yüksek yüzey alanı, iyi adsorban yeteneği, yüksek katyon değiştirme kapasitesi, muko-adeziv, non-toksik, biyoyumlu, yüksek şişme kapasitesi, plastisite, yüksek kimyasal stabilite, asidik ortamlarda stabil kalma gibi iyi mekanik özelliklere sahiptir (Yang vd. 2016, Jain ve Datta 2015, Kevadiya vd. 2012).

Bentonit kili, sahip olduğu üstün karakteristik özellikleri ile birçok alanda kullanılmaktadır. Mmt kilinin kullanım alanlarından bazıları; farmasötik ve kozmetik endüstrisi, ilaç taşıyıcı sistemi, adsorpsiyon proseslerinde adsorban, kimyasal sentezleme proseslerinde katalizör, dental enfeksiyon ve gıda paketleme malzemelerinde anti bakteriyel aktivite, hap üretiminde yağlayıcı, emülsiyon yapıcı, seramik, çimento ve benzeri endüstrilerde kullanılan hammadde olarak sıralanabilir (Yang vd. 2016, Elmore vd. 2014, Summa ve Tateto 2014, Jayrajsinh vd. 2017).

Sahip olduğu bu özellikleriyle de Mmt kili yeni nesil ilaç taşıyıcı sistemlerde tek başına veya kompozit malzemelerde bileşen olarak kullanılabilir ve medikal kil olarak kabul edilir (Aguzzi vd. 2007, Dong ve Feng 2005).

Doğada bol miktarda bulunan bu tabakalı alüminyum silikat hammaddesinin yukarıda sayılan üstün fiziko-kimyasal özellikleri yanında tabaka kalınlıklarının ve tabakalar arası bazal boşluğun yaklaşık 0.9-1.2 nm olması ve tabaka aralarındaki katyonların daha büyük boyutlu organik moleküller veya inorganik başka maddeler ile yer değiştirebilmesi sebebi ile Mmt kili yeni nesil ilaç taşıyıcı sistemlerinde nano-kompozit malzeme bileşenlerine bir aday olarak gösterilebilir (Lee vd. 2005, Liu vd. 2011) ve farmasötik endüstride kontrollü ve hedefli ilaç taşıyıcı sistemleri için tek başına veya modifiye edilerek kullanılması için büyük bir potansiyele sahiptir (Jain ve Datta 2015, Iliescu vd. 2014, Aguzzi vd. 2007, Kevadiya vd. 2012, Nayak vd. 2011, Joshi vd. 2009).

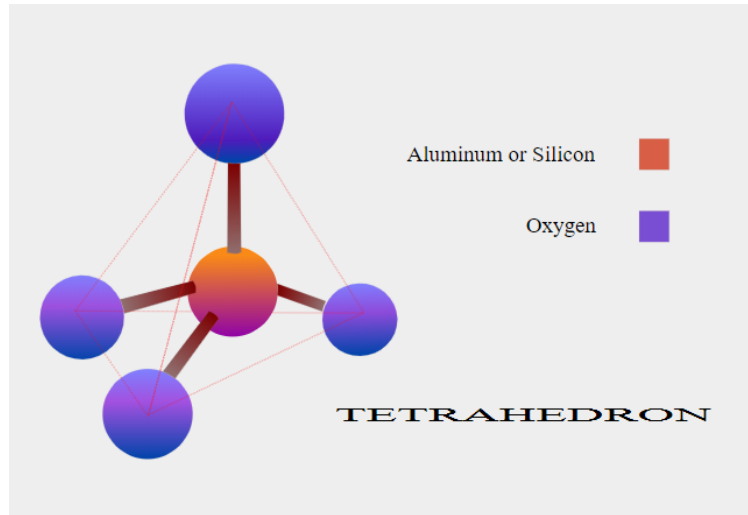
Mmt kilinin, kontrollü ilaç salımı yapabileceği ayrıca birçok araştırmacı tarafından da doğrulanmıştır (Calebrese vd. 2013, Iliescu vd. 2014, Anirudhan vd. 2014, Rajkumar vd. 2015, Lal ve Datta 2015, Wang vd. 2016). Caco-2 ve HT-29 hücreleri (insan barsağından türetilen hücre dizileri) üzerinde yapılan bir çalışmada Mmt kilinin nano-parçacıkların hücre içine geçişini önemli ölçüde arttırdığı ve bu nedenle anti-kanser ilaçlarının oral olarak verilmesi için büyük potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Dong ve Feng 2005).

Mmt, paklitaksel, 5-fluorourasil (5-Fu), 6-merkaptopurin gibi kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar için ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılmıştır (Moosavi 2017).

Kanser tedavilerinin başarılı bir şekilde yapılabilmesi amacıyla 5-Fu gibi antikanser etkin maddelerinin olası yan etkilerini önlemek ve tedavi edici etkisini arttırmak için *kontrollü ve hedefli ilaç taşıyıcı sistemlerin* geliştirilmesine yönelik yoğun çalışmalar yürütülmektedir, ancak uygulama safhasına henüz tam olarak geçilememiştir (Luo vd. 2016, Yang vd. 2014). Bu konuda şimdiye kadar süperparamanyetik NP'ler, karbon nano-tüpler, kil mineralleri, hidroksiapatit, biyobozunur polimerler ve benzeri birçok malzeme yalın veya kompozit olarak araştırılmıştır (Luo vd. 2016). Bu malzemeler arasında olan Mmt kilinin, üstün özellikleri sebebi ile kontrollü ilaç salımı yapabilecek performansı gösterdiği birçok araştırmacı tarafından tespit edilmiştir (Kevadiya vd. 2012, Joshi vd. 2009).

2.4 Zeolitler

Zeolitler, sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum, stronsiyum ve baryum gibi 1A ve 2A grup elementlerinin hidrate mikrogözenekli alümina silikat mineralleridir. Zeolitler $M_{2/n}O \cdot Al_2O_3 \cdot x SiO_2 \cdot y H_2O$ ampirik formülü ile gösterilebilirler (İnt. Kyn. 2). Yapısal olarak zeolitler AlO_4 ve SiO_4 tetrahedrasının üç boyutlu ağına sınırsız derecede yayılmasına dayanan alümina silikatlardır.



Şekil 2.3 Zeolitlerin silika ve alüminanın tetrahedral yapıları (İnt. Kyn. 2).

Zeolit kristal kafes formu tetrahedraldır (İnt. Kyn. 2). Merkezde bir silisyum atomu veya alüminyum atomu, 4 oksijen atomu ise köşelere yerleşmiştir (Şekil 2.3). Kafes

yapı, katyonlar ve su molekülleriyle dolan boşluklar ve kanallar içerir. Boşluk miktarı toplam hacmin % 20-50'si arasındadır. Zeolit minerallerinin en önemli özelliği; bu boşluklar ve bu boşluklara kolaylıkla girebilen ve yer değiştirebilen sıvı ve gaz molekülleri ile toprak alkali iyonlardan ileri gelen “moleküler elek” olmasıdır. Doğal Zeolitler, kuru ağırlıklarının %30'una kadar çeşitli gazları (örneğin amonyak ve azot) emebilirken, ağırlık olarak %70'inden daha fazla su ve %90'ına kadar bazı hidrokarbonları emebilirler (İnt. Kyn. 2).

Zeolitlerin çoğu doğal olarak bulunur ve dünyanın büyük bir kısmında büyük ölçüde yeraltından çıkartılır. Diğerleri sentetiktir ve özel kullanımlar için modifiye edilebilirler (İnt. Kyn. 2). Kafes yapıları, gözenek yapıları, silika/alümina oranları ve silika düzeylerine göre farklı klasifikasyon sistemleri mevcuttur. 130 farklı kafes yapısı hem doğal hem de sentetik zeolitler için önerilmiştir. Gözenek yapısı bir zeolitten diğerine büyük oranda değişir (İnt. Kyn. 2). Zeolitlerin başlıca fiziksel ve kimyasal özellikleri olan; iyon değişikliği yapabilme, adsorpsiyon ve buna bağlı moleküler elek yapısı, silis içeriği, ayrıca tortul zeolitlerde açık renkli olma, hafiflik, küçük kristallerin gözenek yapısı, termal, mekanik ve radyasyon stabil olması zeolitlerin çok çeşitli endüstriyel alanlarda kullanılmalarına neden olmuştur (İnt. Kyn. 2). Bu alanlar; kirlilik kontrolü, enerji, tarım – hayvancılık, maden – metalurji ve diğer alanlar olmak üzere 5 ana bölümde toplanabilir. Batı dünyasında en büyük kullanımı, petrokimyasal reaksiyonlarda, iyon değiştirici olarak su yumuşatma ve saflaştırmada, gaz ve çözücülerin giderilmesi ve ayrılmasındadır (Bacakova vd. 2018).

Son yıllarda, zeolitinin sağlık alanında da kullanımları dikkat çekmektedir (Bacakova vd. 2018, Mastinu vd. 2018). Özellikle doğal zeolit olan clinoptilolite gibi zeolitlerin detoksifiye edici, antioksidan, anti-inflamatuvar ve nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (Mastinu vd. 2018, Bacakova vd. 2018).

Zeolitlerin absorban ve su tutucu etkileri nedeniyle iyi bir hemostatik ajan olabileceğine dair yayınlar giderek artmaktadır (Yu vd. 2019, Li vd. 2013). Çeşitli çalışmalarda zeolitinin başarılı bir ilaç ve gen-taşıyıcısı olabileceğinden bahsedilmiştir. Antiinflamatuvar, antimikrobiyal, kemoterapötik ilaçların, DNA

oligonükleotidlerinin ve biyoaktif ajanların zeolitler ile taşınabildiğini gösteren yayınlar mevcuttur.

Zeolitler, anti-kanser tedavide yeni bir adjuvan olarak düşünülmektedir. 5-Fu, doxorubicin ve mitoxantrone gibi ilaçların zeolitler ile taşınabildiği gösterilmiştir. (Vilaça vd. 2013, Khatamian vd. 2016, Adhikari vd. 2015, Grund vd. 2012).

Yakın zamanda 3 tip mikronize zeolitin kolon kanserinde 5-Fu'yu kontrollü salabilen bir ilaç-taşıyıcı sistemi olabilecekleri gösterilmiştir (Abd-Elsatar vd. 2019) Caco-2 hücre hattında (insan kolorektal adenokarsinom), 3 farklı zeolit tipi hücrelere sitotoksosite göstermeden indometazini başarılı bir şekilde kanser hücresi içine taşıyabilmiştir (Karavasili vd. 2017). Zeolitleirn indometazin ve ibuprofen gibi bazı antiinflamatuvar ilaçlar için de kontrollü salınım imkanı verebilecek bir taşıyıcı olabileceği gösterilmiştir (Khodaverdi vd. 2014).

3. MATERYAL METOD

3.1 Kullanılan Malzemeler Ve Özellikleri

3.1.1 Bentonit

Ticari adı bentonit olan Mmt kili, genel kimyasal formülü $(Na, Ca)_{0.33} (Al, Mg)_2 (Si_4 O_{10})(OH)_2 \cdot nH_2O$ olan tabakalı yapıya sahip sulu bir alüminyum silikattır. Çalışmada kullanılan bentonit Karben (Ankara, Türkiye) firmasından elde edilmiştir. *Nontreated bentonite* standartlarına uygundur. Sodyum içeriklidir ve en az %90 Mmt içerir. Tamamen doğaldır, hiçbir katkı maddesi içermez. Yüksek şişme kapasitesine sahiptir. Kimyasal ve fiziksel özellikleri Çizelge 3.1 ve 3.2’de sunulmuştur.

Çizelge 3.1 Bentonitin fiziksel özellikleri (İnt. Kyn. 3).

600 d/d okuması Fan 35 viskometrede	30 min.
Filtrasyon miktarı	12,5 cc max.
Verim	80 bbl. min.
Rutubet	%12,0 max.
Yaş elek analizi 200 Mesh (75 mik.) elek üstü	%2,5 max. (ağırlıkça)
Yield point plastik viskozite oranı (Yp/Pv)	1,5 max.

Çizelge 3.2 Bentonitin kimyasal özellikleri (İnt. Kyn. 3).

SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	Na ₂ O	MgO	K ₂ O
%61.28	%17.79	%3,01	%4,54	%2.70	%2.10	%1.24

3.1.2 Zeolit 4A

Zeolitler, alüminosilikatlar sınıfına ait kristalimsi, yüksek gözenekli malzemelerdir. Bu kristaller, tam olarak tanımlanmış çapa sahip üç boyutlu bir gözenek sistemi ile karakterize edilir. Çalışmada kullanılan Zeolite 4A (Union Carbide Linde Division,

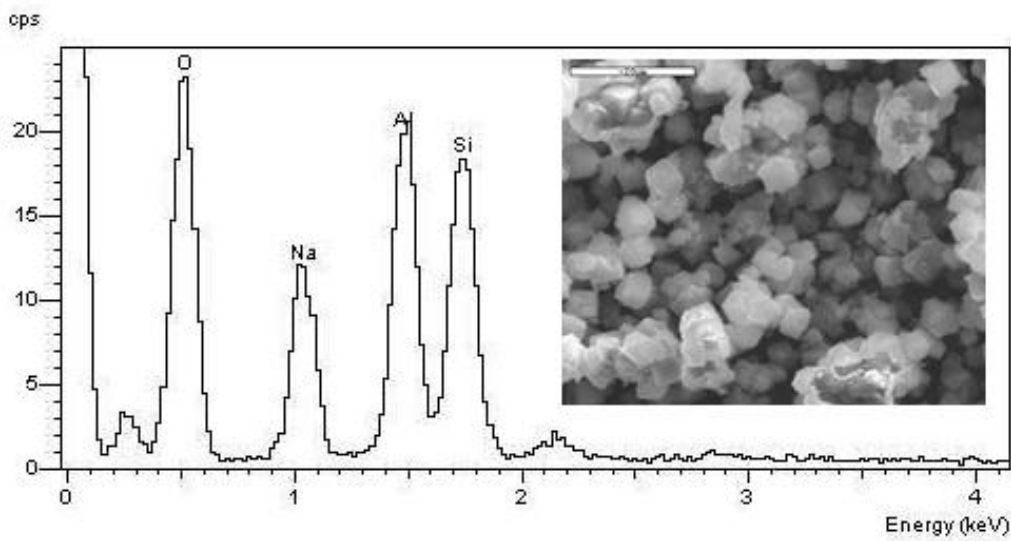
UOP), teknik ve yapısal özellikleri Çizelge 3.3 ve Şekil 3.1-3.5'te sunulmuştur. Zeolit 4A'nın SEM-EDX fotoğrafı Şekil 3.2'de verilmiştir. Şekil 3.3, Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te sırası ile Zeolit 4A'nın DTA-TG grafiği, XRD paterni ve tane boyut analizi gösterilmiştir.

Çizelge 3.3 Zeolit 4A'nın teknik özellikleri.

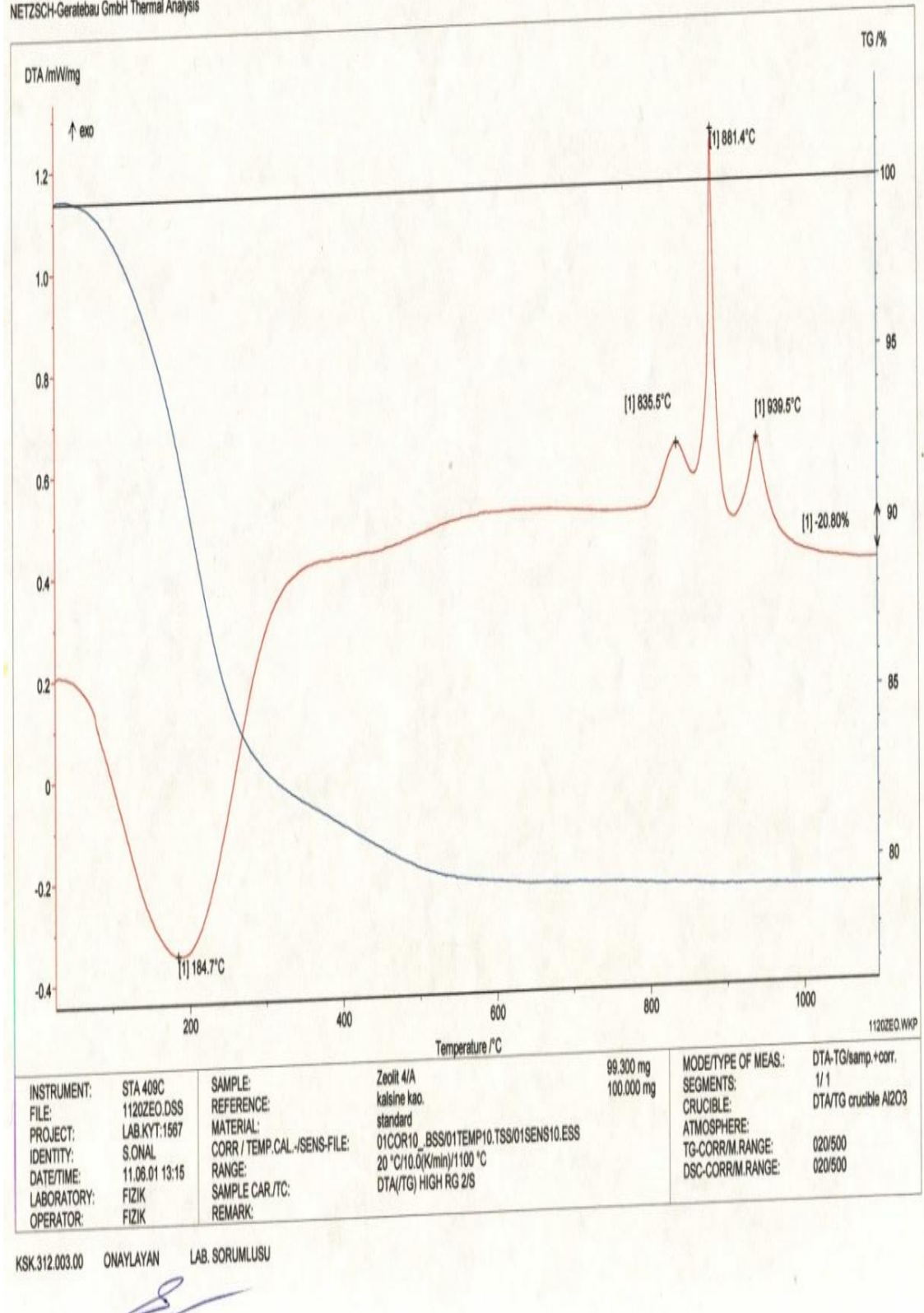
Zeolit	Sorpsiyon Karakteri	Gözenek Çapı (Å)	Gözenek Hacmi (cc/g)	Zıt iyon
4A	Hidrofilik	4	0,29	Na ⁺



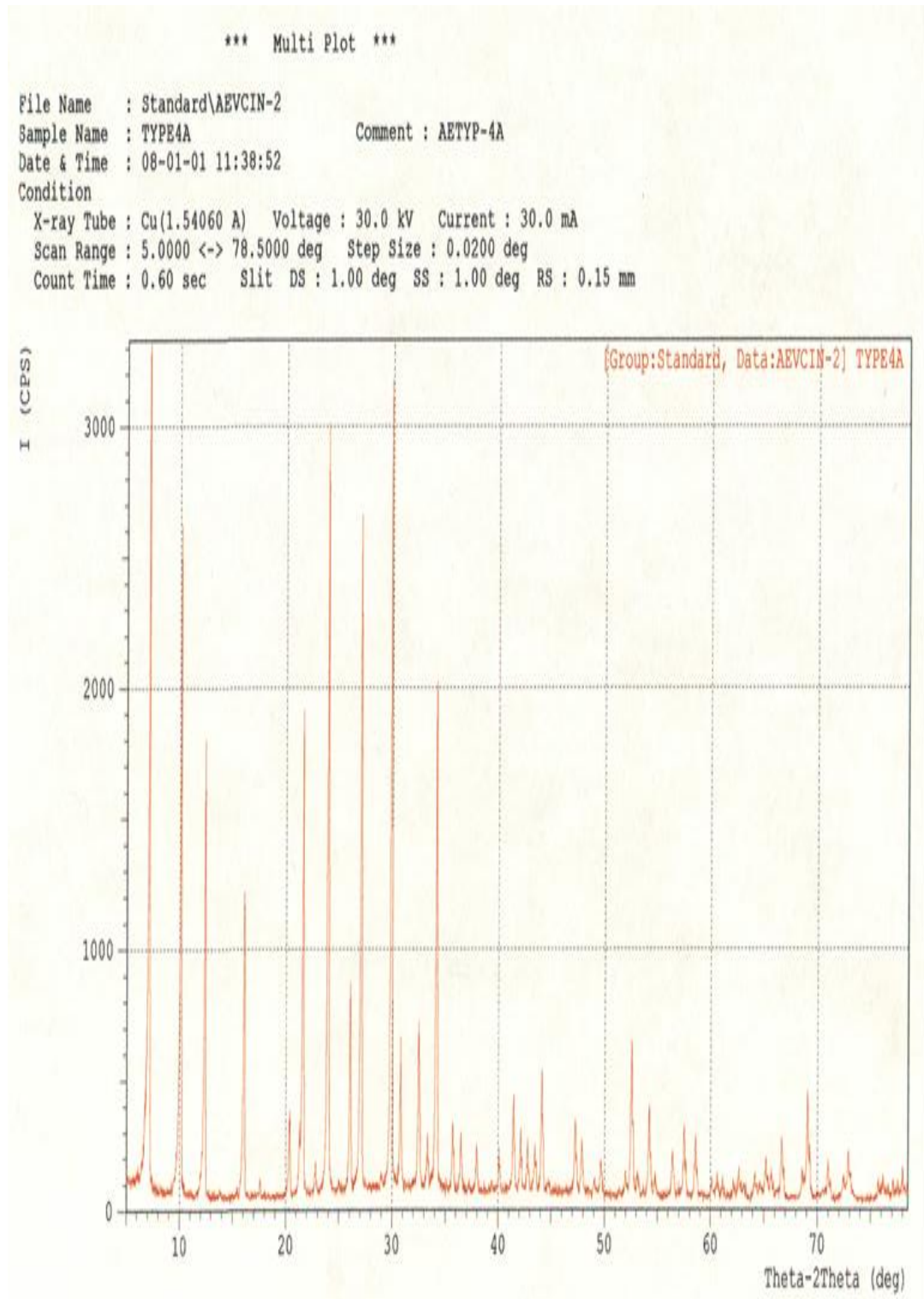
Şekil 3.1 Zeolit 4A'nın yapısı (Shin vd. 2010).



Şekil 3.2 Zeolit 4A'nın SEM-EDX fotoğrafı 1800X.



Şekil 3.3 Zeolit 4A'nın DTA-TG grafiği.



Şekil 3.4 Zeolit 4A'nın XRD paterni.

MALVERN MASTERSIZER

KS AR-GE FİZİK LABORATUVARI

Result: Analysis Report

Sample ID: Zeolit 4/A
Sample File: 01DIGER
Sample Path: C:\SIZERMP\DATA\
Sample Notes: S.ONAL
5.6.2001
LAB.KYT:1567

Sample Details
Run Number: 298
Record Number: 77

Measured: 5 Jun 2001 Tue 14:38
Analysed: 5 Jun 2001 Tue 14:38
Result Source: Analysed

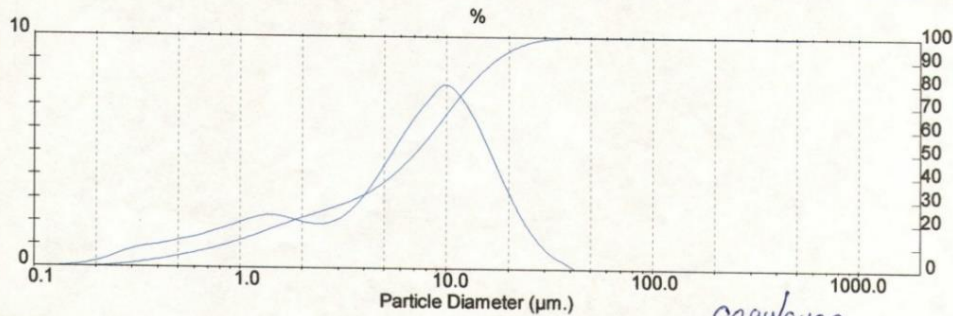
Sampler: MS1
Presentation: 50HD
Analysis Model: Polydisperse
Modifications: None

System Details
[Particle R.I. = (1.5295, 0.1000); Dispersant R.I. = 1.3300]

Measured Beam Obscuration: 16.9 %
Residual: 0.417 %

Result Statistics
Distribution Type: Volume
Mean Diameters:
D [4, 3] = 8.21 μ m
Concentration = 0.0082 %Vol
D (v, 0.1) = 0.85 μ m
D [3, 2] = 2.26 μ m
Density = 2.630 g / cub. cm
D (v, 0.5) = 7.07 μ m
Span = 2.305E+00
Specific S.A. = 1.0080 sq. m / g
D (v, 0.9) = 17.15 μ m
Uniformity = 7.310E-01

Size Low (μ m)	In %	Size High (μ m)	Under%	Size Low (μ m)	In %	Size High (μ m)	Under%
0.05	0.00	0.06	0.00	5.69	5.74	6.63	47.28
0.06	0.00	0.07	0.00	6.63	6.61	7.72	53.89
0.07	0.00	0.08	0.00	7.72	7.35	9.00	61.24
0.08	0.00	0.09	0.01	9.00	7.92	10.48	69.16
0.09	0.01	0.11	0.01	10.48	7.56	12.21	76.71
0.11	0.02	0.13	0.03	12.21	6.70	14.22	83.42
0.13	0.04	0.15	0.07	14.22	5.52	16.57	88.94
0.15	0.09	0.17	0.16	16.57	4.22	19.31	93.15
0.17	0.18	0.20	0.34	19.31	2.98	22.49	96.13
0.20	0.32	0.23	0.66	22.49	1.92	26.20	98.05
0.23	0.53	0.27	1.20	26.20	1.12	30.53	99.18
0.27	0.76	0.31	1.95	30.53	0.58	35.56	99.75
0.31	0.90	0.36	2.86	35.56	0.25	41.43	100.00
0.36	0.99	0.42	3.84	41.43	0.00	48.27	100.00
0.42	1.09	0.49	4.93	48.27	0.00	56.23	100.00
0.49	1.24	0.58	6.17	56.23	0.00	65.51	100.00
0.58	1.36	0.67	7.53	65.51	0.00	76.32	100.00
0.67	1.55	0.78	9.08	76.32	0.00	88.91	100.00
0.78	1.74	0.91	10.83	88.91	0.00	103.58	100.00
0.91	1.95	1.06	12.78	103.58	0.00	120.67	100.00
1.06	2.14	1.24	14.92	120.67	0.00	140.58	100.00
1.24	2.28	1.44	17.20	140.58	0.00	163.77	100.00
1.44	2.25	1.68	19.45	163.77	0.00	190.80	100.00
1.68	2.10	1.95	21.55	190.80	0.00	222.28	100.00
1.95	1.96	2.28	23.51	222.28	0.00	258.95	100.00
2.28	1.91	2.65	25.43	258.95	0.00	301.68	100.00
2.65	2.04	3.09	27.47	301.68	0.00	351.46	100.00
3.09	2.41	3.60	29.88	351.46	0.00	409.45	100.00
3.60	3.02	4.19	32.91	409.45	0.00	477.01	100.00
4.19	3.84	4.88	36.75	477.01	0.00	555.71	100.00
4.88	4.79	5.69	41.54				



Malvern Instruments Ltd.
Malvern, UK
Tel: +[44] (0)1684-892456 Fax: +[44] (0)1684-892789

Mastersizer μ + Ver. 2.15
Serial Number: 33243-18

anaylayan
Lab. Sorumlusu

p.
05 Jun 01 14:3
KSK.312.008.04

Şekil 3.5 Zeolit 4A'nın tane boyut analizi.

3.2 Hücre Kültürü

Çalışmada insan G361 kutanöz melanom hücre hattı kullanıldı. Çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Hücre Kültürü laboratuvarı'nda yapıldı. Hücreler %10 fetal dana serumu (FCS), 200 mM L- glutamin, 100U/ml penisilin, 200 µg/ml streptomisin içeren DMEM besi yerinde %5 CO₂ içeren nemlendirilmiş ortamda 37°C'de, 25 cm²'lik kültür kaplarında kültüre edildi. Üç günde bir kültür besiyeri tazelendi, kültür kabı tabanı tamamen hücre ile kaplandıktan sonra uygun sayıya veya yoğunluğa ulaşan hücreler 1:4 oranında 75 cm²'lik büyük kültür kaplarına alınarak pasajlandı. 10 ml hacminde besi yeri eklenerek çoğalma süreci için inkübatöre kaldırıldı. Düzenli olarak besi yeri eklenerek hücrelerin çoğalması sağlandı. İnvert mikroskop altında yapılan kontroller ile yeterli sayıya ve yoğunluğa ulaşan hücreler tripsin-EDTA ile kaldırılarak toplandı ve canlılık testinin yapılacağı 96 kuyucuklu pleytlere aktarıldı. Hücreler yeniden 37 C'deki inkübatöre kaldırıldı ve hücrelerin pleyt tabanına yapışması için en az 1 gün inkübatörde bekletildi. Her aşamada sterilizasyona çok özen gösterildi.

3.2.1 MTT Hücre Viyabilite Ölçüm Testi

İnkübasyon sonrası pleyt tabanına yapışan hücrelere uygun gruplandırmalar yapıldıktan sonra sitotoksik dozu ve IC₅₀ değerini belirlemek için bentonit NP, zeolit NP ve bentonit/zeolit NK, sırasıyla 1 µg/ml -240 µg/ml, 1 µg/ml -240 µg/ml ve 1-60 µg/ml /1-120 µg/ml konsantrasyon aralıklarında uygulandı. 24 saat inkübasyondan sonra MTT reaksiyonu ile canlılık ölçümü yapıldı.

MTT testinde, tetrazolyum tuzları kullanılarak hücrenin mitokondriyal aktivitesine bakılır ve canlı hücreler tespit edilir. Sarı tetrazolyum MTT (3- (4, 5-dimetiltiyazolil-2) -2,5-difeniltetrazolyum bromür), kısmen dehidrojenaz enzimlerinin etkisi ile, NADH ve NADPH üretilmesi için, metabolik olarak aktif hücreler tarafından indirgenir. Elde edilen hücre içi mor formazan kristalleri çözülür ve spektrofotometrik yollarla ölçülür.

MTT canlılık testi, hücre çoğalma hızını ölçen bir testtir. MTT reaktifi, hücrelerin yokluğunda düşük arka plan absorbans değerleri verir. Hücre sayısı ve üretilensinyal arasındaki doğrusal ilişki kurulur, böylece hücre çoğalması oranında değişikliklerin doğru bir şekilde ölçülmesi sağlanır.

Testin Yapılışı

1. Kontroller de dahil olmak üzere her kuyuya 10 µL MTT Reaktifi eklenir
2. 2 ila 4 saat süreyle hücre kültürü inkübatörüne konulur
3. Hücre içi pembemsi mor çökeltinin varlığı için hücreler invert mikroskop altında periyodik olarak incelenir
4. Mor çökelti mikroskop altında açıkça görüldüğünde (ortalama 2 saat), kontroller de dahil olmak üzere tüm kuyucuklara 100 µL Dimetilsülfoksit eklenir ve vortex üzerinde karıştırılır.
5. Bir mikrotiter plaka okuyucusunda 570 nm'de her kuyucuktaki absorbans ölçülür.

Elde edilen değerlerden hareketle hücrelerin canlılık düzeyleri % olarak belirlenir. Kontrol grup hücrelerinin canlılığı %100 kabul edilir ve diğer hücrelerin canlılığı buna göre hesaplanır. Hesaplama

$$\% \text{ Canlılık} = (\text{Test Abs} / \text{Kont Abs}) \times 100$$

(1) formülü kullanılır.

3.2.2 ELISA ile Apoptoz Analizi

Uygun sayıda pasajlamalar ile çoğaltılan melanom hücrelerine flasklar içerisinde belirlenen etkin dozlarda bentonit NP, zeolit NP ve bentonite/zeolit NK uygulamaları yapıldı ve 24 saatlik inkübasyondan sonra hücreler toplandı. Toplanan hücreler cell lysis buffer ile lize edildi ve hücre lizatlarında ELİSA tekniği ile kaspaz-3 ticari kiti kullanılarak apoptoz düzeyleri değerlendirildi.

Apoptoz, görevini tamamlamış ya da hasara uğramış hücrelerin diğer hücelere zarar vermeden ortadan kaldırıldığı, genetik olarak kontrol edilen programlanmış hücre

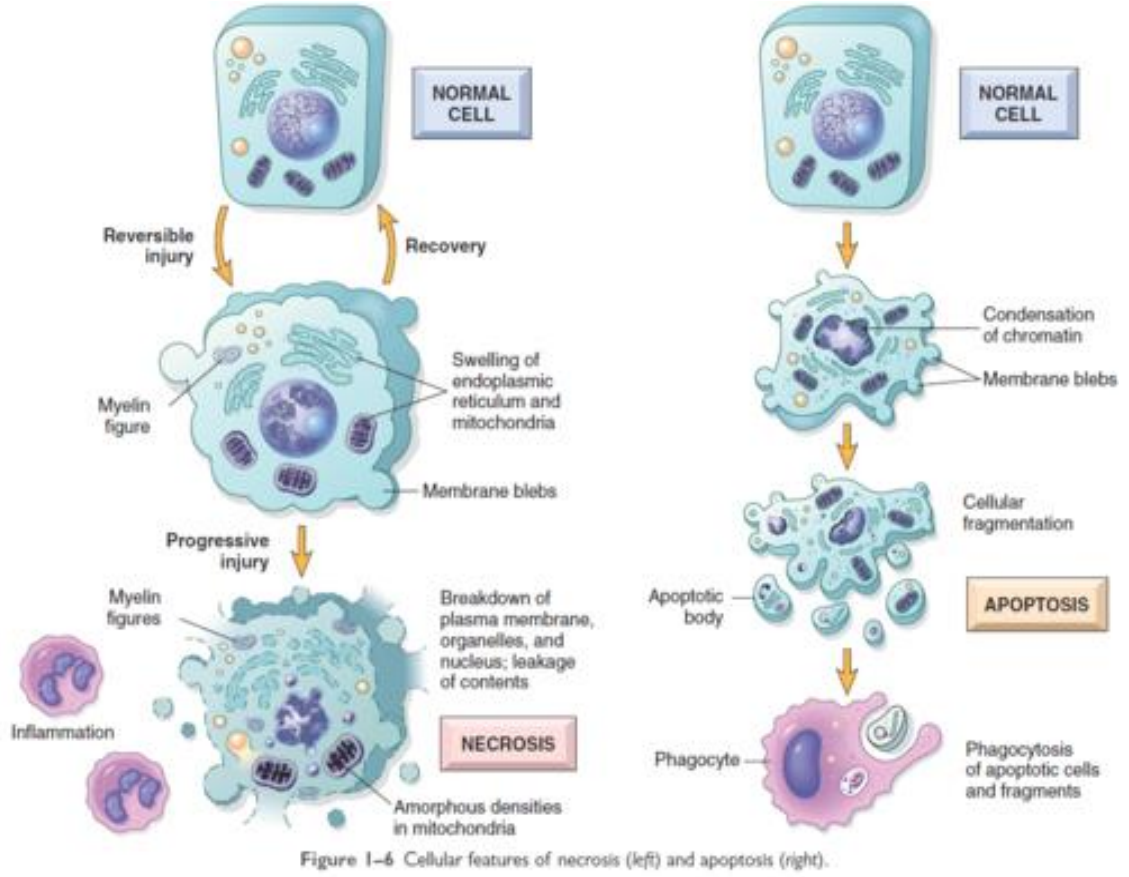
ölümünü ifade eder. Organizmada var olan homeostazı korur. Embryonik gelişim, yaşlanma ve dokulardaki hücrelerin devamını sağlamada rol oynayan apoptoz, aynı zamanda hastalık ya da zararlı ajanlar nedeniyle hücreler zarar gördüğünde bir savunma mekanizması olarak da oluşabilmektedir (Coşkun ve Özgür 2011).

Apoptotik süreçte, gelen uyarının ardından hücre yapıştığı zeminden ve komşu hücrelerden ayrılarak küçülür. DNA fragmentasyonu, kromatin kondensasyonu oluşmaya ve membranla çevrili veziküller görülmeye başlar. Süreç ilerledikçe bu veziküller komşu hücreler ya da fagositler tarafından fagosite edilir. Apoptotik süreçte inflamasyon oluşmaz. Bir diğer hücre ölüm türü olan nekrozda ise hücre zarı ya da hücredeki metabolik süreçler hasar görür ve hızla bozulan zar geçirgenliği sonucunda hücre şişer (Coşkun ve Özgür 2011). Sonuçta membran patlayarak hücre içindeki maddeler dışarı dağılır ve inflamasyon uyarılmış olur. Bir hücrenin apoptoza mı yoksa nekroza mı gideceği uyarıcı tipi ve/veya uyarıcı derecesi ile belirlenir. Sıcaklık, radyasyon, hipoksi ve sitotoksik ilaçlar gibi çeşitli zararlı uyaranlar düşük dozda apoptoza, yüksek dozlarda ise nekroza neden olabilmektedir. Özellikle kanser ile bağlantılı olan apoptoz, kaspazlar olarak adlandırılan bir grup proteazın aktivasyonunu kapsayan çoğunlukla enerji bağımlı bir süreçtir (Coşkun ve Özgür 2011). Apoptoz ve nekroz farkları Çizelge 3.4 ve Şekil 3.6'da sunulmuştur.

Kaspazlar, hücreyi apoptozdan koruyan proteinleri ortadan kaldıran veya inaktive eden bir protein grubudur. Ayrıca apoptozu inhibe eden negatif regülatörleri de yıkararak hücre ölümünü tetiklemektedirler. Kaspaz-3 enzimi, enflamasyonu ve apoptoz sinyal ağlarını düzenleyen endoproteaz ailesinin bir üyesidir. Kaspaz-3, DNA fragmentasyonu veya sitoskeletal proteinlerin bozunması gibi hücresel yapıların tahrip edilmesini koordine etme rolünden dolayı apoptozda uygulayıcı kaspaz olarak bilinir (McIlwain vd. 2013).

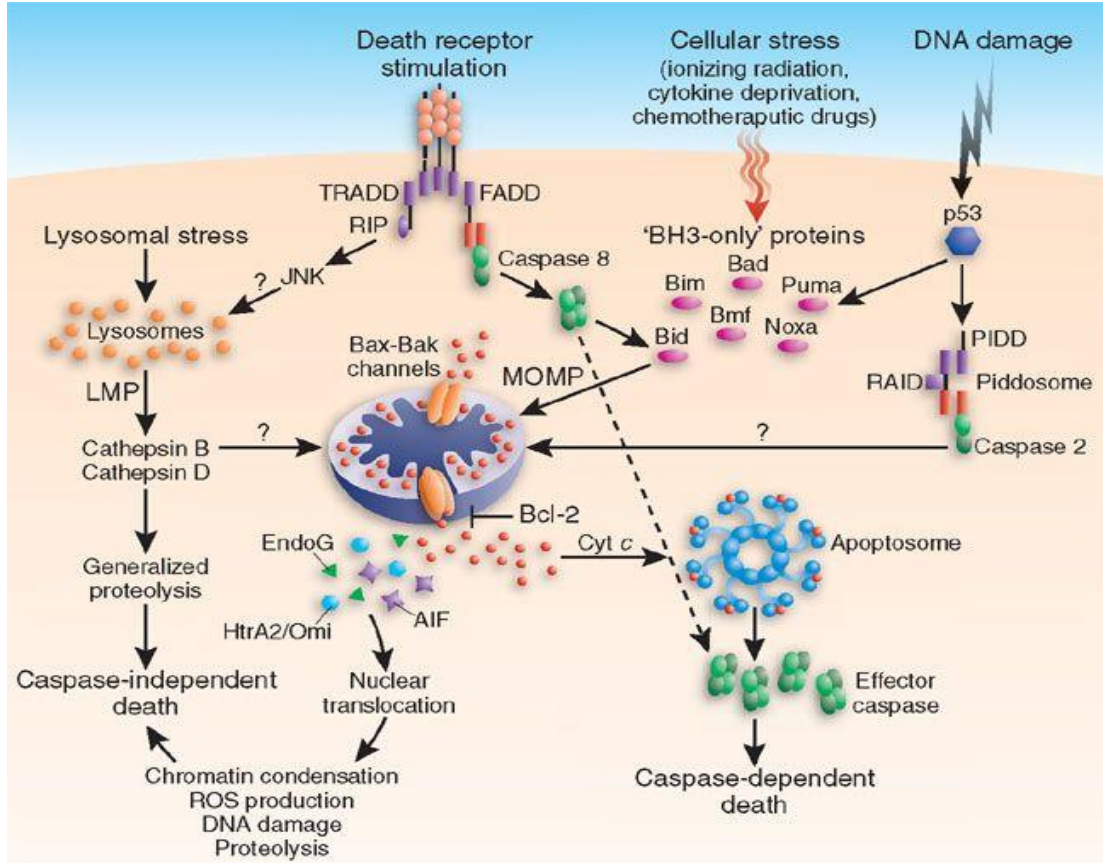
Çizelge 3.4 Apoptoz ve nekrozun karşılaştırılması (Coşkun ve Özgür 2014).

Özellik	Apoptoz	Nekroz
Yol açan nedenler	Büyüme faktörü eksikliği Hücre yaşlanması, HIV, Kanser ilaçları, Radyasyon, Ölüm reseptörlerin aktivasyonu, Sitotoksik T lenfositler	İskemi, Hipertemi, Hipoksi, Litik viral enfeksiyon, Toksik maddeler, Ağırmetaller, Şiddetli oksidatif stres
Morfolojik özellikleri	Hücre membranı sağlamdır. Hücre küçülür. Blebler oluşur. Kromatin kondensasyonu gerçekleşir. Organeller sağlamdır. Apoptotik cisimcikler oluşur. Erken evrede fosfatidil serin translokasyonu gözlenir.	Hücre membranı bütünlüğü kaybolur. Hücre şişer. Büyük vakuoller oluşur. Organellerin parçalanır. Hücre lizisi gerçekleşir. Fosfatidilserin Tanslokasyonu yoktur.
Biyokimyasal özellikleri	Programlıdır. ATP gerektirir. DNA kırıkları merdiven şeklini alır (jel elektroforezinde ladder).	İyon dengesi bozulur. ATP gerekmez. DNA rastgele parçalanır (Jel elektroforezinde smear).
Diğer özellikleri	Hücreler tek tek veya birkaçı birarada ölür. Fizyolojik şartlarda da gerçekleşebilir. Makrofajlar tarafından fagosit edilirler. Enflamasyon görülmez.	Hücreler gruplar halinde ölür. Patolojik etkiler sonucu gerçekleşir. Lizozomal enzimler salınır. Enflamasyona neden olur.



Şekil 3.6 Apoptoz ve nekrozun karşılaştırılması (İnt. Kyn. 4).

Kaspaz-3'ün aktivitesi sıkı bir şekilde düzenlenir ve inaktif bir pro-formda zimojen olarak üretilir. Kaspaz-3 antikorları, pro-kaspaz-3 ve aktif form seviyelerini tespit ederek apoptoz indüksiyonunu izlemek için mükemmel biyobelirteçler olarak işlev görür (McIlwain vd. 2013). Son yıllarda kaspaz-bağımsız apoptotik yollarının da apoptoz mekanizmasında rol oynayabileceği gösterilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Kaspaz-bağımlı ve bağımsız apoptotik yollar (Kroemer ve Martin 2005).

3.4 İSTATİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel analizlerde SPSS 15.0 programı kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma veya ortanca [min-maks] ile nitelik değişkenler ise sayı ve yüzde ile gösterildi. Gruplar arasında sayısal değişkenler bakımından farklılık olup olmadığı ise Kruskal Wallis testi ile incelendi. Anlamlılık düzeyi $p=0,05$ olarak belirlendi.

4. BULGULAR

4.1 MTT ile Hücre Viyabilite Ölçüm Testi

Bentonit ve zeolit 4A NP'lerinin tek başlarına ve NK olarak G361 melanom hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi ve etkin dozların hesaplanması amacıyla MTT hücre viabilite ölçüm testi yapıldı. Kontrol grubunun viabilitesi %100 olarak değerlendirildi. Her üç grupta da kontrole göre anlamlı sitotoksiste izlendi. Gruplar için %50 inhibisyon yapan (IC50) etkin dozlar Çizelge 4.1'de belirtildiği gibi hesaplandı.

Çizelge 4.1 Ajanların G361 melanom hücrelerinde %50 ölüm oranına (IC50) neden olduğu konsantrasyon. değerleri.

G361 Melanom hücresi	%50 inhibisyon yapan (IC50) dozu (µg/ml)
Bentonit NP	18,8
Zeolit 4A NP	9,78
Bentonit/Zeolit NK	1/5

NP: nanopartikül, NK: nanokompozit

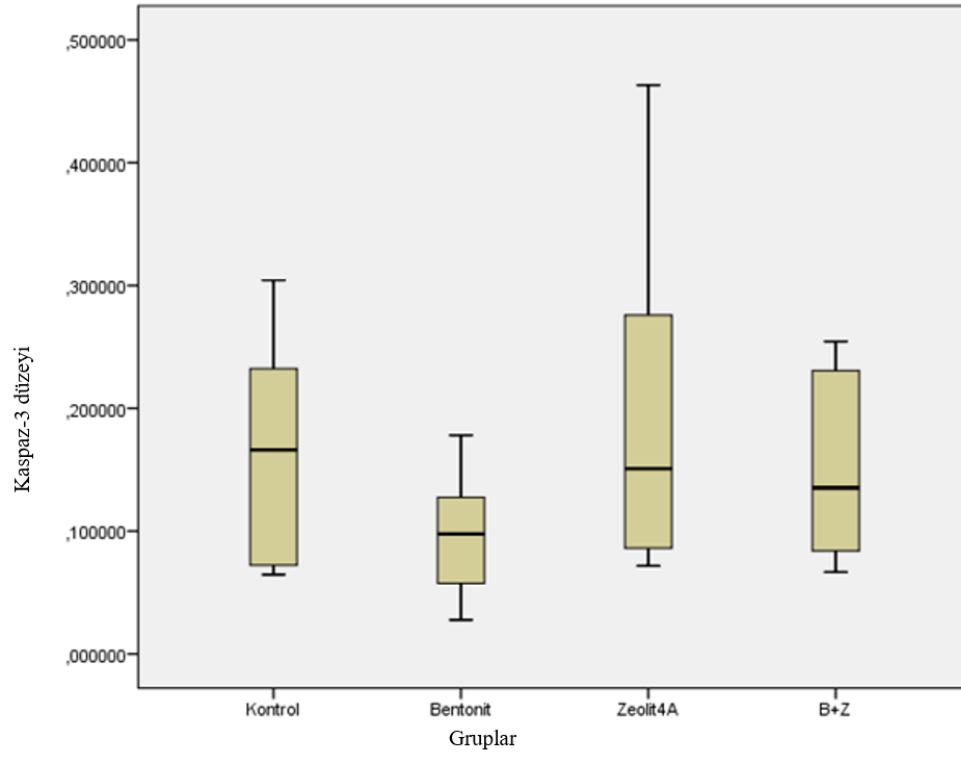
4.2 Elisa ile Apoptoz Analizi

Bentonit grubunda diğer gruplara göre daha düşük kaspaz-3 ekspresyonu izlense de gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi ($p=0,429$). Gruplardaki kaspaz-3 dağılımı Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de sunuldu.

Çizelge 4.2 Gruplardaki ortalama Kaspaz-3 değerleri.

Grup	Mean Kaspaz-3 seviyesi (ng/mg prot)	SD
Kontrol	0,167	0,094
Bentonit NP	0,098	0,053
Zeolit NP	0,199	0,149
Bentoniz/zeolit NK	0,151	0,078

NP: nanopartikül, NK: nanokompozit



Şekil 4.1 Gruplardaki kaspaz-3 dağılımı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışmamızda bentonit NP ve zeolit 4A NP hem ayrı ayrı hem de NK olarak doza bağımlı olarak G361 melanom hücrelerinde sitotoksik etkiler gösterdi. Bentonit NP, zeolite NP ve bentonit/zeolite NK ajanları için sırasıyla hücrelerin yarısını öldürmek için gerekli olan doza karşılık gelen etkin doz (IC50 dozu) 18,8 µg/ml, 9,78 µg/ml ve 1/5 (B/Z) µg/ml olarak belirlendi. Daha önce literatürde bentonit ve zeolit NP'lerini aynı hücre hattında inceleyen benzer bir çalışma olmadığı için bu etkin dozlarının belirlenmesi literatüre bu anlamda katkı sağlayacaktır.

Literatürde bentonit ve zeolit için kısıtlı sayıda da olsa hücre kültür çalışmaları mevcuttur. Var olan çalışma sonuçları çelişkilidir. Bentonitin hem selüler protektif hem de sitotoksik etkilerine dair yayınlar mevcuttur. Bentonit mineralleri, bazı hücreleri ölümden korurken, bazı hücre tiplerinde yüksek sitotoksosite (Who 2005, Bowman vd. 2011) ve genotoksosite gösterebilmekte, oksidatif stresi artırıp hücre membranlarında hasar yapabilmektedir (Geh vd. 2006, Lu vd. 2009, Zhang vd. 2010). Bentonit indüklü genotoksiteden quartz içerikleri (<%1->%20) ve aktive edici prosesler (alkali, asidik ve organik aktivasyonlar) sorumlu tutulmuştur (Huang vd. 2013). Ayrıca hücre lizis hızı ve derecesi doz bağımlıdır (Who 2005). Nöral yarık kök hücre viabilitesi bentonitin yüksek konsantrasyonlarında (>0.8mg/ml) azalma göstermiştir (Nones vd. 2015). Ayrıca 5 µm'den düşük çaplı bentonit 1.0 mg/mL altındaki konsantrasyonlarda çeşitli hücrelerde membran hasarı ve hücre lizisi oluşturmuştur (Who 2005). Bentonitin insan akciğer fibroblastları üzerinde oluşturduğu sitotoksik etki de membran lizisi ile ilişkilendirilmiştir (Geh vd. 2006). Bentonitin farklı konsantrasyonları, kültür ortamında mürin spinal kord nöronlarında güçlü nörotoksik etkilere ve hızlı dejenerasyona sebep olmuştur (Murphy vd. 1993). Ayrıca bentonitin de dahil olduğu çeşitli kil minerallerinin çeşitli makrofaj hücre hatlarındaa sitotoksik olduğu ve hemolitik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Elmore 2003). Diğer yandan bu mineraller nöroblastom veya oligodendroglial hücreler üzerinde etki göstermemiştir (Bowman vd. 2011). Ek olarak, in vitro olarak bentonit partiküllerinin insan B lenfoblast hücrelerinde belirgin DNA ve kromozom hasarı yaptığı gösterilmiştir (Zhang vd. 2011).

Terapötik uygulamalarda yüksek toksisiteye sebep olmayarak etkinlik sağlayacak uygun konsantrasyonların belirlenmesi çok önemlidir (Depan vd. 2009). Bentonit için yeterli dozajları belirlemek ve toksisiteyi in vivo belirlemek için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır (Maisanaba vd. 2014).

Bentonitin hücrelerdeki etkileri hücresel konsantrasyonları ile ilişkilidir. Kil mineralinin fizyokimyasal karakteristikleri ve maruziyet süresi hücresel toksisiteyi etkileyebilir.

Örneğin, 20 µg/mL organik modifiye bentonite 24 ve 48 saat maruz kalan kolon-kanseri hücre hattında morfolojik değişiklikler ve mitokondride matriks ve iç membran hasarı tespit edilmiştir (Maisanaba vd. 2014). Bütün bu veriler bentonitin yüksek yararları yanında hücresel toksisite açısından dikkatli olunması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Ayrıca kilin kompozisyonu bölgelere göre değişkenlik gösterebildiği için in vitro ve in vivo analizler önem kazanmaktadır. Bazı konsantrasyonlarda bentonitler apoptotik hücre ölümü, oksidatif hasar ve selüler membran hasarı yapabilirken, diğer taraftan bazı hücrelerde de viyabilite ve hayatta kalma düzeyinde artış sağlayabilmektedir. Yakın zamanlı başka bir çalışmada 4 farklı bentonitin (Bent-India, Bent-Hungary, Bent-Argentina, ve Bent-Indonesia) 2 insan kanser hücre hattında [U251 (santral sinir sistemi glioblastomu) ve SKLU-1 (akciğer adenokarsinomu)] in vitro etkileri incelenmiştir. Ve bentonitin U251 hücrelerinde inhibisyon yaparken, SKLU-1 hücrelerinde büyüme artışı yaptığı gösterilmiştir. Bu da bentonit ile hücre yüzeyleri arasındaki etkileşimlerin spesifik olduğunu, metabolik komponent düzeylerini etkileyerek U251 hücrelerini inhibe ettiğini, diğer yandan hücre yüzey etkileşimleri sonucu şişme, çözünenlerin birikimi ve hidrasyon gibi nedenlerle SKLU-1 hücrelerinde büyüme artışına neden olduğunu düşündürmüştür. Bentonit kil yüzeyleri metabolik büyüme komponentlerini etkiliyor ve farklı hücre tiplerini farklı etkiliyor gibi görünmektedir (Cervini vd. 2016).

Son yıllarda zeolitlerin de potansiyel yararlarına dair yayınlar giderek artmaktadır. Özellikle doğal zeolit klinoptilolit detoksifiye etkileri, aniinflatuvar etkileri,

antioksidan ve nöroprotektif etkilerine dair kanıtlar mevcuttur (Mastinu vd. 2019). Ek olarak, zeolitlerin kanser ilaçlarında ideal taşıyıcı olarak kullanılabilirliğine dair yayınlar giderek artmaktadır (Spanakis vd. 2014, Abd-Elsatar vd. 2019).

Zeolitlerin hücre kültür çalışmaları kısıtlıdır. Var olan sonuçlar çelişkilidir. Tribomekanik mikronize zeolitin çeşitli hücre hatlarında antikanser ve antioksidatif etkileri gösterilmiştir (Zarkovic vd. 2003). Zehirli olmayan ve çeşitli biyomedikal uygulamalar için büyük potansiyele sahip doğal bir zeolit olan klinoptilolit bazı kanser hücrelerinde azaltılmış hücre canlılığı ve DNA sentezine ve artmış apoptoza neden olurken insan fibroblast hücrelerinde benzer bir reaksiyona neden olmadığı için kanser tedavisinde adjuvan olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (Pavelić vd. 2001).

Ek olarak, *in vitro* olarak, 0.16-100 mg/ml dozda zeolite 4a'nın 24 saat uygulanmasının B16F10 melanom hücrelerinde sitotoksiteye neden olmadığı MTT analizi ile gösterilmiştir (Shin vd. 2010).

Ayrıca bir başka çalışmada zeolit X ve Y'nin 5 mg/ml and 50 mg/ml dozlarda ve farklı Fetal Bovine Serum (FBS) konsantrasyonlarında HeLa, AsPC-1 and 911 kanser hücre hatlarındaki etkisi incelenmiş ve 72 saatlik enkübasyon sonrası, hücre viyabiliteleri MTT ile değerlendirilmiş ve 50 mg/ml konsantrasyonda zeolit X ve %5 FBS'nin en fazla hücre inhibisyonuna sebep olduğu ve hücre viyabilitesini azalttığı gösterilmiştir (Ghazi vd. 2012).

Farklı zeolit tiplerinin değişken dozlarda ilaç-taşıyıcı sistemleri olarak incelendiklerindeki çeşitli çalışmalarda ZSM-5, zeolit A, faujasite-NaX, NAX-FAU, BEA zeolitleri ile kolon kanseri hücrelerinde sitotoksikite gösterilememiştir (Karavasali vd. 2017 ve Spanankis vd. 2014). Yakın zamanlı bir çalışmada, zeolit X nonkanseroz MCF-12A hücresinde sitotoksik etki göstermezken, MCF-7 meme kanseri hücresinde konsantrasyon-bağımlı proliferasyon inhibisyonu yapmış ve apoptotik ölümü indüklemiştir (Subhapriya ve Gomathipriya 2018).

Erionit, offretite ve scolecite gibi bazı fibröz zeolit tipleri insan monosit hücrelerinde sitotoksikite ve karsinojenite riski ile ilişkilendirilmiştir (Cangiotti vd. 2018).

Bu çalışmada ise bentonit için 18,8 µg/ml ve zeolit için 9,78 µg/ml dozlarda 24 saat inkübasyondan sonra G361 melanom hücre hattında MTT ile %50 viyabilite azalması izlenmiştir. Çalışmalar arasındaki bu farklılıklar, çalışılan hücre hatlarının özelliklerinden, çalışılan kanserlerin farklı tiplerinden, uygulama teknik farklılıklarından, kullanılan bentonitlerin kompozit farklılıklarından, kullanılan zeolit tiplerinin farklı olmasından, por çaplarındaki farklılıklardan, ajana maruziyet süre farklılıklarından, ajanın konsantrasyon farklılıklarından, ajanlar ile hücre yüzeyleri arasındaki spesifik etkileşim özelliklerinden ve farklı metabolik değişimlerden kaynaklanıyor olabilir.

Bu çalışmada ortaya çıkan başka bir sonuç ise bentonit, zeolit NP'leri ve bentonite/zeolit NK ile G361 melanom hücrelerinde sitotoksikite izlenmesine rağmen kontrole kıyasla anlamlı bir kaspaz-3 artışı izlenmemesidir. Hatta istatistiksel anlam düzeyine ulaşmasa bile bentonit grubunda diğer gruplara kıyasla kaspaz-3 düzeyleri daha düşük izlenmiştir. Sonuç olarak, bu ajanların G361 melanom hücrelerinde kaspaz-3 aracılı apoptozda artış yapmadan sitotoksikiteye neden olmuş olması, hücre ölümünde nekroz gibi apoptozdan farklı yolların etkin olduğunu veya kaspaz-3'ten farklı bir apoptotik yolağın rol oynadığını veya da bu ajanların kaspaz-3 düzeylerine farklı etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada tespit edilen sitotoksitenin sebebi nekroz olabilir. Bunun olası nedenlerinden biri bu ajanların su tutma vb. fiziksel özellikleri, hücre membranları ve yüzeyleri ile etkileşimleri olabilir. Var olan literatür çalışmalarının büyük bir kısmı bu tezi desteklemektedir.

Apoptozis ve nekroz her ikisi de hücre ölümüne neden olan süreçler olmasına rağmen oluşum mekanizmaları farklıdır (Coşkun ve Özgür 2011). Bir hücrenin apoptoza mı yoksa nekroza mı gideceği uyarıcı tipi ve/veya uyarıcı derecesi ile belirlenir. Apoptotik süreçte, gelen uyarının ardından hücre yapıştığı zeminden ve komşu hücrelerden ayrılarak küçülür. DNA fragmentasyonu, kromatin kondensasyonu

oluşmaya ve membranla çevrili veziküller görülmeye başlar. Süreç ilerledikçe bu veziküller komşu hücreler ya da fagositler tarafından fagosit edilir. Apoptotik süreçte inflamasyon oluşmaz. Bir diğer hücre ölüm türü olan nekrozda ise hücre zarı ya da hücredeki metabolik süreçler hasar görür ve hızla bozulan zar geçirgenliği sonucunda hücre şişer. Sonuçta membran patlayarak hücre içindeki maddeler dışarı dağılır ve inflamasyon uyarılmış olur (Coşkun ve Özgür 2011).

Benzer olarak Geh vd. (2006), akciğer fibroblastlarına sitotoksik etkiyi inceledikleri çalışmalarında bentonit partiküllerinin sitotoksik etkisinin temel olarak hücresel membran lizisi nedeni olduğunu ve bu etkinin bentonit dozunun aktivasyonu ile artabileceğini belirtmişlerdir.

Diğer bir olasılıkla bu çalışmada hücrelerde kaspaz-3 kaskadından bağımsız apoptoz indüklenmiş olabilir. Apoptozun, kaspaz-3 kaskadından farklı moleküler yolları olduğu bilinmektedir (Kroemer ve Martin 2005). Bunun netleşebilmesi için farklı apoptotik yolak molekülleri ile yapılan daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada izlenen bir diğer sonuç aynı derecede bir sitotoksosite için gerekli bentonit ve zeolit etkin (IC₅₀) dozlarının kombine edildiklerinde düşmesidir. Bu durum, iki ajanın kompozit halindeyken sinerjik etki yaparak birbirinin sitotoksik etkisini arttırabildiği ve her ikisi için de gerekli dozların azaltılabilmesine imkan sağladığı şeklinde yorumlanabilir. Bunun sebebi her iki ajanın da hücre yüzeyleri ile etkileşebilmesi ve selüler metabolik parametrelerde benzer değişikliklere sebep olabilmesi olabilir. Bu nedenle, bu ajanlar kombine edildiğinde artmış bir sitotoksosite riski nedeniyle dikkatli olunmalı ve doz ayarlamaları buna göre yapılmalıdır. Bunun kanıtlanması ve sebepleri daha ileri çalışmalarla aydınlatılmaya ihtiyaç duymaktadır.

Sonuç olarak;

- Bu çalışmada; bentonit ve zeolit 4A NP hem ayrı ayrı hem de NK olarak G361 melanom hücrelerinde doza bağımlı olarak sitotoksosite göstermiştir.

- Bentonit ve zeolit 4A nanokompozit halindeyken sinerjik etki yaparak birbirinin sitotoksik etkisini arttırmış ve her ikisi için de gerekli etkin dozların azaltılabilmesine imkan sağlamıştır.
- Bentonit NP, zeolit 4A NP ve bentonit/zeolite 4A NK, melanom hücrelerinde oluşturduğu sitotoksositeye rağmen kaspaz-3 yolağında değişikliğe yol açmamıştır. Bu, bu ajanların yaptığı sitotoksitenin ya hücre membranları üzerindeki etkisi ile nekroza bağlı olarak geliştiğini ya da kaspaz-3 bağımsız apoptotik yolları kullanabildiğini gösterebilir.
- Bu ajanların potansiyel yararları yanında bazı hücre gruplarında sitotoksosite gösterebildiği bilinmelidir. Bu büyük olasılıkla spesifik hücre yüzey etkileşimleri ve metabolik değişimler sonucu ortaya çıkıyor gibi durmaktadır. Terapötik yaklaşımlarda, ajanların seçimi ve konsantrasyon ayarlamaları bunu göz önünde tutarak yapılmalıdır.
- Literatür bilgileri ışığında bentonitin modifikasyonlarındaki ve içeriklerindeki farklılıklar, zeolitlerin farklı tipleri, bu ajanların boyut, yapı ve konsantrasyon farklılıkları ve bunların etkileştikleri hücre tiplerinin ve yüzey etkileşimlerinin farklılığı sitotoksik etkilerin değişken olmasını etkiliyor gibi görünmektedir.
- Bu ajanların antikanser etkinliklerini ve sitotoksitite mekanizmalarını aydınlatabilmek için sağlıklı hücreleri ve farklı kanser hücre hatlarını içeren daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- Abd-Elsatar A G, Farag M M, Youssef H F, Salih S A, Mounier M M, El-Meliegy E, 2019, Different zeolite systems for colon cancer therapy: monitoring of ion release, cytotoxicity and drug release behavior, *Progress in Biomaterials*, 8, 101-113.
- Adhikari C, Das A, Chakraborty A, Zeolitic imidazole framework (ZIF) nanospheres for easy encapsulation and controlled release of an anticancer drug doxorubicin under different external stimuli: A way toward smart drug delivery system, *Molecular pharmaceutics*, 12, 3158-3166.
- Aguzzi C, Cerezo P, Viseras C, Caramella C, 2007, Use of clays as drug delivery systems: possibilities and limitations, *Applied Clay Science*, 36, 22-36.
- Aldous AR, Dong JZ, 2017, Personalized neoantigen vaccines: A new approach to cancer immunotherapy, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26, 2842-2849.
- Anirudhan T S, Gopal S S, Sandeep S, 2014, Synthesis and characterization of montmorillonite/N-(carboxyacyl) chitosan coated magnetic particle nanocomposites for controlled delivery of paracetamol, *Applied Clay Science*, 88-89, 151-158.
- Bacakova L, Vandrovcova M, Kopova I, Jirka I, 2018, Applications of zeolites in biotechnology and medicine - a review, *Biomaterials Science*, 6, 974-989.
- Badrinath N, Heo J, Yoo S Y, 2016, Viruses as nanomedicine for cancer, *International Journal of Nanomedicine*, 11, 4835-4847.
- Bandarchi B, Ma L, Navab R, Seth A, Rasty G, 2010, From melanocyte to malignant melanoma, *Dermatology Research and Practice*, Article number 583748.
- Beik J, Abed Z, Ghoreishi F S, Hosseini-Nami S, Mehrzadi S, Shakeri-Zadeh A, vd., 2016, Nanotechnology in hyperthermia cancer therapy: From fundamental principles to advanced applications. *Journal of Controlled Release*, 235, 205-221.
- Berciano-Guerrero M, Montesa-Pino A, Castaneda-Penalvo G, Munoz-Fernandez L, Flores J, 2014, Nanoparticles in Melanoma, *Current medicinal chemistry*, 2014, 21, 3701-16.
- Bergaya, F, Theng B K G, Lagaly G, 2006, *Handbook of Clay Science*, Elsevier, 1752p, Amsterdam.

- Bowman P D, Wang X, Meledeo M A, Dubick M A, Kheirabadi B S, 2011, Toxicity of aluminum silicates used in hemostatic dressings toward human umbilical veins endothelial cells, hela cells, and raw 267.4 mouse macrophages, *The Journal of Trauma*, 71, 727-732.
- Calabrese I, Cavallaro G, Scialabba C, Licciardi M, Merli M, Sciascia L, vd., 2013, Montmorillonite nanodevices for the colon metronidazole delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, 457, 224-236.
- Cangiotti M, Salucci S, Battistelli M, Falcieri E, Mattioli M, Giordani M, vd., EPR, TEM and cell viability study of asbestiform zeolite fibers in cell media, 2018, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 161, 147-155.
- Cervini-Silva J, Ramírez-Apan M T, Kaufhold S, Ufer K, Palacios E, Montoya A, 2016, Role of bentonite clays on cell growth, *Chemosphere*, 149, 57-61.
- Coşkun G, Özgür H, 2011, Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20, 145-158.
- Curtin, JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel H N, Busam K J, Kutzner H, Cho K H, Aiba S, Bröcker E B, LeBoit P E, Pinkel D, Bastian B C, 2005, Distinct sets of genetic alterations in melanoma, *The New England Journal of Medicine*, 353, 2135-2147.
- Depan D, Kumar A P, Singh R P, 2009, Cell proliferation and controlled drug release studies of nanohybrids based on chitosan-g-lactic acid and montmorillonite, *Acta Biomaterialia*, 5, 93-100.
- Dong Y, Feng S, 2005, Poly(D,L-lactide-co-glycolide)/montmorillonite nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs, *Biomaterials*, 26, 6068-6076.
- Elder D E, Elenitsas R, Murphy G F, 2009, Benign pigmented lesions and malignant melanoma, Elder DE, Elenitsas R, Johnson BL, Murphy GF, Xu X (Ed.), *Histopathology of the skin* (699-789), Lippincott Williams & Wilkins, 1257p, Philadelphia.
- Elder, D E, Murphy G F, Elenitsas R ,2009, Introduction to dermatopathologic diagnosis, Elder DE, Elenitsas R, Johnson BL, Murphy GF, Xu X (Ed.), *Histopathology of the skin* (1-66), Lippincott Williams & Wilkins, 1257p, Philadelphia.
- Elmore A R, 2003, Final report on the safety assessment of aluminum silicate, calcium silicate, magnesium aluminum silicate, magnesium silicate,

magnesium trisilicate, sodium magnesium silicate, zirconium silicate, attapulgit, bentonite, fuller's earth, hectorite, kaolin, lithium magnesium silicate, lithium magnesium sodium silicate, montmorillonite, pyrophyllite, and zeolite, *International Journal of Toxicology*, 22, 37-102.

Elmore S E, Mitchell N, Mays T, Brown K, Marroquin-Cardona A, Romoser A, vd., 2014, Common African cooking processes do not affect the aflatoxin binding efficacy of refined calcium montmorillonite clay, *Food Control*, 37, 27-32.

Geh S, Yücel R, Duffin R, Albrecht C, Borm P J A, Armbruster L, vd., 2006, Cellular uptake and cytotoxic potential of respirable bentonite particles with different quartz contents and chemical modifications in human lung fibroblasts, *Archives of Toxicology*, 80, 98-106.

Ghazi A, Izzati K, Hussain Amir, Nik A N, Malek N, Malek N, vd., 2012, The Effects of Zeolite X and Y on Cancer Cell Lines, *Journal of Science and Technology*, 4, 3-39.

Grippin A J, Sayour, E J, Mitchell D A, 2017, Translational nanoparticle engineering for cancer vaccines. *Oncoimmunology*, 6, e1290036.

Grund S, Doussineau T, Fischer D, Mohr G J, 2012, Mitoxantrone-loaded zeolite beta nanoparticles: preparation, physico-chemical characterization and biological evaluation, *Journal of Colloid and Interface Science*, 365, 33-40.

Huang Y, Fan C Q, Dong H, Wang, S M, Yang X C, Yang S M, 2017, Current applications and future prospects of nanomaterials in tumor therapy, *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1815-1825.

Huang, Y, Zhang M, Zou H, Li X, Xing M, Fang, X, vd., 2013, Genetic damage and lipid peroxidation in workers occupationally exposed to organic bentonite particles, *Mutation Research*, 751, 40-44.

Iliescu R I, Andronescua E, Ghitulica C D, Voicua G, Ficai A, Hoteteu M, 2014, Montmorillonite–alginate nanocomposite as a drug delivery system – incorporation and in vitro release of irinotecan, *International Journal of Pharmaceutics*, 463, 184-192.

Jain K K, 2015, Future of nanomedicine: impact on healthcare & society. *Nanomedicine (London)*, 10, 3199-202.

- Jain S, Datta M, 2015, Oral extended release of dexamethasone: Montmorillonite–PLGA nanocomposites as a delivery vehicle, *Applied Clay Science*, 104: 182-188.
- Jayrajsinh S, Shankar G, Pharm M, Agrawal Y K, Bakre L, 2017, Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 39, 200-209.
- Joshi G V, Kevadiya B D, Patel H A, Bajaj H C, Jasra R V, 2009, Montmorillonite as a drug delivery system: Intercalation and in vitro release of timolol maleate, *International Journal of Pharmaceutics*, 374, 53-57.
- Karavasili C, Amanatiadou E P, Kontogiannidou E, Eleftheriadis G K, Bouropoulos N, Pavlidou E, vd., 2017, Comparison of different zeolite framework types as carriers for the oral delivery of the poorly soluble drug indomethacin. *International journal of pharmaceutics*, 528, 76-87.
- Kevadiya, B D, Patel T A, Jhala D D, Thumbar R P, Brahmbhatt H, Pandya M P, vd., 2012, Layered inorganic nanocomposites: a promising carrier for 5-Fluorourasil (5-FU), *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81, 91-101.
- Khatamian M, Divband B, Farahmand-Zahed F, 2016, Synthesis and characterization of zinc(II)-loaded zeolite/graphene oxide nanocomposite as a new drug carrier, *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 66, 251-258.
- Khodaverdi E, Honarmandi R, Alibolandi M, Baygi RR, Hadizadeh F, Zohuri G, 2014, Evaluation of synthetic zeolites as oral delivery vehicle for anti-inflammatory drugs. *Iranian journal of basic medical sciences*, 17, 337-343.
- Kim E M, Jeong H J, 2017, Current Status and Future Direction of Nanomedicine: Focus on Advanced Biological and Medical Applications, *Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 51, 106-117.
- Kroemer G, Martin S J, 2005, Caspase-independent cell death, *Nature Medicine*, 11, 725-730.
- Lal S, Datta M, 2015, In vitro prolonged gastric residence and sustained release of atenolol using novel clay polymer nanocomposite, *Applied Clay Science*, 114, 412-421.

- Lawle S E, Speranza M C, Cho C F, Chiocca E A, 2017, Oncolytic Viruses in Cancer Treatment: A Review, *JAMA Oncology*, 3, 841-849.
- Lee Y H, Kuo T F, Chen B Y, Feng Y K, Wen, Y R, Lin W C, vd., 2005, Toxicity assessment of montmorillonite as a drug carrier for pharmaceutical applications: yeast and rats model, *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*, 17, 12-18.
- Li J, Cao W, Lv X X, Jiang L, Li Y J, Li W Z, vd., 2013, Zeolite-based hemostat QuikClot releases calcium into blood and promotes blood coagulation in vitro. *Acta Pharmacologica Sinica*, 34, 367-372.
- Liu Q, Liu Y, Xiang S, Mo X, Su S, Zhang J, 2011, Apoptosis and cytotoxicity of oligo(styrene-co-acrylonitrile)-modified montmorillonite, *Applied Clay Science*, 51, 214-219.
- Liu Y, Dong C, Wei H, Yuan W, Li K, 2015, Adsorption of levofloxacin onto an iron pillared montmorillonite (clay mineral): Kinetics, equilibrium and mechanism, *Applied Clay Science*, 118, 301-307.
- Lu Y Z, Zhang M B, Li X X, Yan S X, Chen Q, Xing M L, vd., 2009, Comparative study of cytotoxicity induced by two kinds of bentonite particles in vitro, *Chinese journal of industrial hygiene and occupational diseases*, 27, 338-340.
- Luo H, Ji D, Li C, Zhu Y, Xiong G, Wan Y, 2016, Layered nanohydroxyapatite as a novel nanocarrier for controlled delivery of 5-Fluorourasil, *International Journal of Pharmaceutics*, 513, 17-25.
- Maisanaba S, Gutiérrez-Praena D, Pichardo S, Moreno F J, Jordá M, Cameán A M, vd., 2014, Toxic effects of a modified montmorillonite clay on the human intestinal cell line Caco-2, *Journal of applied toxicology*, 34, 714-725.
- Mastinu A, Kumar A, Maccarinelli, G, Bonini S A, Premoli M, Aria F, vd., 2018. Zeolite Clinoptilolite: Therapeutic Virtues of an Ancient Mineral, *Molecules*, 24, Article number E1517.
- McIlwain D R, Berger T, Mak TW, 2013, Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5, a008656.
- McKee PH, Calonje E (Ed.), 2009, *Diagnostic Atlas of Melanocytic Pathology*, Mosby Elsevier, 440p, China.
- Miller AJ, Mihm MC Jr, 2006, Melanoma, *The New England Journal of Medicine*, 355, 51-65.

- Murphy E J, Roberts E, Anderson D K, Horrocks L A, 1993, Cytotoxicity of aluminium silicates in primary neuronal cultures, *Neuroscience*, 57, 483-490.
- Nayak P L, Nanda R, Sasmal A, 2011, Preparation and characterization of chitosan–polylactide composites blended with cloisite 30B for control release of anticancer drug paclitaxel, *Carbohydrate Polymers*, 83, 988-994.
- Nones J, Nones J, Riella H G, Kuhnen N C, Trentin A, 2015, Bentonite protects neural crest stem cell from death caused by aflatoxin B1, *Applied clay science*, 104, 119-127.
- Patlak M, 2011, Nanoimaging devices illuminate tumor margins during surgery, *Journal of the National Cancer Institute*, 103, 173-174.
- Pavelić K, Hadzija M, Bedrica L, Pavelić J, Dikić I, Katić M, vd., 2001, Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy, *Journal of molecular medicine*, 78, 708-20.
- Peela N, Truong D, Saini H, Chu H, Mashaghi S, Ham S L, vd., 2017, Advanced biomaterials and microengineering technologies to recapitulate the stepwise process of cancer metastasis, *Biomaterials*, 133, 176-207.
- Portillo-Lara R, Annabi N, 2016, Microengineered cancer-on-a-chip platforms to study the metastatic microenvironment, *Lab on a Chip*, 16, 4063-4081.
- Psaty EL, Scope A, Halpern A C, Marghoob A A, 2010, Defining the patient at high risk for melanoma, *International Journal of Dermatology*, 49, 362-376.
- Rajkumar S, Kevadiya B D, Bajaj H C, 2015, Montmorillonite/Poly (L-Lactide) microcomposite spheres as reservoirs of antidepressant drugs and their controlled release property, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 452-458.
- Sağır T, Huysal M, Durmus Z, Kurt B Z, Senel M, Isik S, 2016, Preparation and in vitro evaluation of 5-fluorouracil loaded magnetite-zeolite nanocomposite (5-FU- MZNC) for cancer drug delivery applications, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 77: 182-190.
- Scolyer R A, Long G V, Thompson J F, 2011, Evolving concepts in melanoma classification and their relevance to multidisciplinary melanoma patient care. *Molecular Oncology*, 5, 124-136.
- Shin Y J, Han C S, Lee C S, Kim H S, Ko S H, Hwang S K, vd., 2010, Zeolite 4A, a synthetic silicate, suppresses melanogenesis through the degradation of

- microphthalmia-associated transcription factor by extracellular signal-regulated kinase activation in B16F10 melanoma cells, *Biological & pharmaceutical bulletin*, 33, 72-76.
- Siegel R L, Miller K D, Jemal A, 2019, Cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69, 7-34.
- Spanakis M, Bouropoulos N, Theodoropoulos D, Sygellou L, Ewart S, Moschovi A M, vd., 2014, Controlled release of 5-fluorouracil from microporous zeolites. *Nanomedicine*, 10, 197-205.
- Subhapriya S, Gomathipriya P, Zeolite X from coal fly ash inhibits proliferation of human breast cancer cell lines (MCF-7) via induction of S phase arrest and apoptosis, *Molecular biology reports*, 45, 2063-2074.
- Summa V, Tateto F, 2014, Clay minerals as adsorbents of aflatoxin M1 from contaminated milk and effects on milk quality, *Applied Clay Science*, 88, 92-99.
- Tang M, 2010, Ultraviolet A light: potential underlying causes of melanoma, *Future Oncology*, 6, 1523-1526.
- Tang R, Habimana-Griffin L M, Lane D D, Egbulefu C, Achilefu S, 2017 Nanophotosensitive drugs for light-based cancer therapy: what does the future hold? *Nanomedicine (London)*, 12, 1101-1105.
- Thakor AS, Gambhir SS, 2013, Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 63, 395-418.
- Venkatesha N J, 2015, Pore architecture modulated clays and zeolites as solid acid catalysts for selected organic reactions.
- Vilaça N, Amorim R, Machado A F, Parpot P, Pereira M F, Sardo M, vd., 2013, Potentiation of 5-fluorouracil encapsulated in zeolites as drug delivery systems for in vitro models of colorectal carcinoma, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 112, 237-244.
- Wang R, Peng Y, Zhou M, Shou D, 2016, Smart montmorillonite-polypyrrole scaffolds for electro-responsive drug release, *Applied Clay Science*, 134, 50-54.
- Yang C, Guo W, Cui L, Xiang D, Cai K, Lin H, vd., 2014, pH-responsive controlled-release system based on mesoporous bioglass materials capped with

mineralized hydroxyapatite, *Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications*, 36, 237-243.

Yang, J H, Lee J H, Ryu H J, Elzatahry A A, Alothman Z A, Choy J H, 2016, Drug-clay nanohybrids as sustained delivery systems, *Applied Clay Science*, 130, 20-32.

Yu L, Shang X, Chen H, Xiao L, Zhu Y, Fan J, A tightly-bonded and flexible mesoporous zeolite-cotton hybrid hemostat, *Nature communications*, 10, 1932.

Yuvale FO, Halpern AC, 2008, *Melanoma (1745-1769)*, Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP (Ed.), *Dermatology*, Mosby Elsevier, 2776 p, Spain.

Zarkovic N, Zarkovic K, Kralj M, Borovic S, Sabolovic S, Blazi M P, vd., 2003, Anticancer and antioxidative effects of micronized zeolite clinoptilolite, *Anticancer Research*, 23, 1589-1595.

Zhang M, Li X, Lu Y, Fang X, Chen Q, Xing M, 2011, Studying the genotoxic effects induced by two kinds of bentonite particles on human B lymphoblast cells in vitro, *Mutation Research*, 720, 62-66.

Zhang, Y S, Zhang Y N, Zhang W, 2017, Cancer-on-a-chip systems at the frontier of nanomedicine *Drug Discovery Today*, 22, 1392-1399.

İnternet Kaynakları

1. <http://www.uptodate.com> 11.12.2019
2. <http://www.kalliergeia.com> 10.12.2019
3. <http://www.karben.com.tr> 10.12.2019
4. <http://www.quizle.com> 10.12.2019

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nilay DUMAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Denizli - 23.02.1981
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : (+90 505 089 6610/ nilybayram@hotmail.com)

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : İzmir Fen Lisesi, (1996-1999)
Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Tıp fakültesi
Bölümü, (1999-2005)
Tıpta Uzmanlık : Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deri ve
Zührevi hastalıklar Anabilim Dalı (2006-2011)
Dr.öğretim Üyesi : Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim
Dalı (2014-2017)
Tıpta Doçentlik : Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp
Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim
Dalı (2017-2019)
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri
Enstitüsü, Nanobilim ve Nanoteknoloji Anabilim
Dalı (2017-2020)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

: Afyonkarahisar Devlet Hastanesi (2011-2014)
: Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
(2014-2019)
: Bursa Şehir hastanesi. (2019-devam ediyor)