KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KEMOTERAPÖTİK AJAN KARBOPLATİN'İN ZAR LİPİTLERİ İLE ETKİLEŞİMİ

AYGÜL KINA

KOCAELİ 2017

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KEMOTERAPÖTİK AJAN KARBOPLATİN'İN ZAR LİPİTLERİ İLE ETKİLEŞİMİ

AYGÜL KINA

Yrd. Doç. Dr. Sevgi TÜRKER KAYA
Danışman, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Özlem AKSOY
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. İpek ŞAHİN
Jüri Üyesi, Ege Üniversitesi



Tezin Savunulduğu Tarih: 18.12.2017

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans öğrenimim süresince değerli bilgi öneri görüş ve tecrübelerini her zaman benimle paylaşan, her konuda yakın ilgisini ve desteğini benden esirgemeyen, sayın hocam, danışmanım Yard. Doç. Dr. Sevgi TÜRKER KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisansım boyunca pozitif destekleriyle her zaman yanımda olan değerli dostlarım Halil İbrahim TOYGAR ve Ezgi Gizem PELİN'e, teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her anında yanı başımda olan, bugünlere gelmemi sağlayan, bıkmadan, usanmadan sabırla yanımda olan ve fedakârca desteklerini benden esirgemeyen canım annem Hazal KINA'ya, varlıklarıyla beni güçlendiren ve desteklerini esirgemeyen kardeşlerime gönülden teşekkür ediyorum.

Aralık - 2017 Aygül KINA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iii
TABLOLAR DİZİNİ iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
GİRİŞ 1
1. GENEL BİLGİLER 3
1.1. Kanser 3
1.2. Kanser Oluşum Nedenleri 3
1.3. Kanserin Sınıflandırması 4
1.3.1. Akciğer kanseri 5
1.3.2. Akciğer kanseri tedavi yöntemleri 7
1.4. Kemoterapötik İlaçların Etki Mekanizması 9
1.4.1. Karboplatin 9
1.5. İlaç- Lipit Etkileşimleri ve Lipozomlar 10
1.5.1. Fosfotidilkolin (PC) 12
1.5.2. Sfingomyelin (SM) 13
1.6. Çalışmada Kullanılan Teknikler 13
1.6.1. Fourier dönüşüm kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi 14
1.6.2. Diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC) 16
2. MALZEME VE YÖNTEM 19
2.1. Çok Tabakalı Model Zar (MLV) Hazırlama 19
2.2. Spektroskopik Yöntemler 20
2.2.1. FTIR spektroskopisi çalışmaları 20
2.2.2. DSC çalışmaları 22
3. BULGULAR 24
3.1. DSC Çalışmaları 24
3.2. FT-IR Spektroskopisi Çalışmaları 26
4. TARTIŞMA 31
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 41
KAYNAKLAR 43
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 52
ÖZGEÇMİŞ 53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Akciğer kanseri histolojik sınıflandırması 6
Şekil 1.2. KAR'ın kimyasal yapısı 10
Şekil 1.3. Çok tabakalı model zar yapısı 12
Şekil 1.4. PC' nin kimyasal yapısı 13
Şekil 1.5. SM'nin kimyasal yapısı 13
Şekil 1.6. Elektromanyetik Spektrum Bölgeleri 14
Şekil 1.7. (A) Lineer (B) Non-lineer üç atomlu bir molekülün titreşim tipleri. Atomik yer değiştirmeler, oklar ve + sayfa düzlemine, - sayfa dışına dik semboller ile gösterilmiştir 15
Şekil 1.8. FT-IR spektroskopisinin şematik gösteri 16
Şekil 1.9. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi'nin (DSC) şematik gösterimi 18
Şekil 2.1. KAR'ın kimyasal yapısı 19
Şekil 2.2. Havanın FT-IR spektrumu 21
Şekil 2.3. SM lipozom spektrumları, A-tampon çözelti spektrumu çıkartılmamış SM lipozom spektrumu, B-tampon çözelti spektrumu çıkartılmış SM lipozom spektrumu 21
Şekil 3.1. %1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren ve içermeyen SM lipozomunun DSC termogramları 24
Şekil 3.2. Saf PC ve %1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren PC lipozomunun DSC termogramları 25
Şekil 3.3. 3000-2800 cm^{-1} dalga boyu aralığında (spektrumlar, CH_2 asimetrik gerilme bandına göre normalize edilmiştir) her bir lipitin sıvı-kristal fazlarındaki %30 mol KAR konsantrasyonunu içeren ve içermeyen PC ve SM lipozomlarının FT-IR spektrumları 27
Şekil 3.4. %0-30 mol KARkonsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların (A) CH_3 asimetrik gerilme (~2960 cm^{-1}) ve (B) CH_2 asimetrik gerilme bandlarının (~2920 cm^{-1}) frekans değerleri 28
Şekil 3.5. %0-30 mol KAR konsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların CH_2 simetrik gerilme band (~2850 cm^{-1}) frekans değişiklikleri. 28
Şekil 3.6. %0-30 mol KAR konsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların CH_2 asimetrik gerdirme modundaki sıcaklık bağımlı band genişliği (cm^{-1}) değişimleri 29
Şekil 3.7. %0-30 mol KAR konsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların (A) C=O gerilme bandı (~1740 cm^{-1}) ve (B) PO_2^- asimetrik gerilme bandının (~1080 cm^{-1}) frekans değişiklikleri. 29

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Kızılötesi ışınların dalga boyu, dalga sayısı ve frekans değerleri. 15
Tablo 2.1. PC ve SM lipitlerinin karakteristik IR bandları ve karşılık gelen dalga sayıları..... 22
Tablo 3.1. %1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren ve içermeyen SM lipozomları için Tm (˚C), Δ_{HC} (mcal) ve CU değerleri 25
Tablo 3.2. PC ve %1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren ve içermeyen PC lipozomları için T_m (˚C), Δ_{HC} (mcal) ve CU değerleri 26

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

T_m	: Ana faz geçiş sıcaklığı, ˚C
ΔH_c	: Entalpi
CU	: Kooperatifi

Kısaltmalar

DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FT-IR	: Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi
KAR	: Karboplatin
KHAK	: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK	: Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri
PC	: Fosfotidilkolin
SM	: Sfingomiyelin
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

KEMOTERAPÖTİK AJAN KARBOPLATİN'İN ZAR LİPİTLERİ İLE ETKİLEŞİMİ

ÖZET

Küçük hücre dışı akciğer kanseri tipi tedavisinde kullanılan Karboplatin (KAR), deoksiribonükleik asit tamir mekanizmasının etkinleştirilmesini engeller ve hücrenin apoptoza girmesine neden olur. Aktivitesini hücre içinde gösterdiğinden KAR'ın hücre zarı lipitleri ile etkileşiminin incelenmesi onun etkinliğinin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmada amaç KAR'ın gerçek zar sistemlerinde meydana getirebileceği yapısal ve fonksiyonlar değişimleri, model zar kullanarak anlamaya çalışmaktır. Bu doğrultuda, hücre zarında yaygın olarak bulunan fosfatidilkolin (PC) ve sfingomiyelin (SM) lipit bileşenlerinden oluşturulmuş lipozomlar ile farklı konsantrasyonlardaki (%1-5-10-20-30) KAR'ın etkileşimi Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) ve Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi ile incelendi.

DSC çalışmalarında, KAR etkisi ile SM lipozomunda, T_m, CU ve Δ_{HC} değerlerinde azalma; PC lipozomunda ise, T_m, CU ve Δ_{HC} değerlerinde artma tespit edildi. FT-IR sonuçları %30 mol KAR konsantrasyonun PC lipozomunda CH_3 asimetrik (2960 cm^{-1}), CH_2 simetrik (2850 cm^{-1}), CH_2 asimetrik (2920 cm^{-1}), C=O ester (1740 cm^{-1}) ve PO^-_2 asimetrik (1080 cm^{-1}) gerilme band frekanslarında azalmaya neden olurken, SM lipozomunda CH_3 asimetrik, CH_2 simetrik ve CH_2 asimetrik band frekanslarında artışa, C=O ester band frekansında azalmaya ve PO^-_2 asimetrik gerilme band frekansında önemli bir değişikliğe neden olmadığı bilgisini verdi. SM ve PC lipozomları için CH_2 asimetrik band genişliğinde artma bulundu. Tüm bu verilere göre KAR'ın PC lipozomunun hidrofilik bölgesiyle ve SM lipozomunun hidrofobik bölgesi ile daha fazla etkileşime girdiği tespit edildi. Çalışmadan elde edilen veriler sayesinde KAR'ın SM lipitlerine daha yüksek afinitesinin olduğu ve düşük konsantrasyonlar da bile SM'nin yoğunlukta olduğu zar yapı ve fonksiyonunu etkileyeceği bulgusuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC), Fosfotidilkolin (PC), Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi, Karboplatin (KAR), Sfingomiyelin (SM).

INTERACTION OF THE CHEMOTHERAPEUTIC AGENT CARBOPLATIN WITH MEMBRANE LIPIDS

ABSTRACT

Carboplatin (CAR), containing platinum is a chemotherapy drug used for the treatment of non-small cell lung cancer types prevents deoxyribonucleic its repair mechanisms from being activated, and in turn causes the cell to enter apoptosis. The aim of the current study is to obtain information about possible structural and functional effects on real membrane systems of KAR by utilizing of model membrane systems. For this purpose, the interactions of CAR at varying concentrations (1-5-10-20-30 mol%) with liposomes formed by lipid components such as phosphatidylcholine (PC) and sphingomyelin (SM), which are common in the cell membrane, were investigated using Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Fourier transform infrared (FT-IR).

DSC data showed that with the addition of CAR there was a decrease in T_m, CU and Δ_{HC} values in SM liposomes but an increase in PC liposomes. FT-IR results revealed that, CAR at the concentration of 30 mol% causes a decrement in the frequencies of the CH_2 asymmetric (2920 cm^{-1}), CH_2 symmetric (2850 cm^{-1}), C=O (1740 cm^{-1}) and PO_2^- asymmetric (1080 cm^{-1}) modes in PC liposomes. On the other hand, in SM liposomes an increment in the CH_2 asymmetric, CH_2 symmetric and C=O bands frequency but no significant change in PO_2^- asymmetric band. According to all corresponding findings, CAR interacts more hydrophilic regions of PC but hydrophobic parts of SM. All obtained data indicates that CAR has a higher propensity to SM lipids in comparison to PC's, which may further affect membrane structure and function even at low concentrations.

Keywords: Differential Scanning Calorimetry (DSC), Phosphatidylcholine (PC), Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy, Carboplatin (KAR), Sphingomyelin (SM).

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporuna göre, en ölümcül kanser türü olan akciğer kanserlerinin %80'ini oluşturan küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) dünya çapında en yaygın ölüm nedenidir (Live diğ., 2012b; WHO Report 2014). Akciğer kanseri, tedavisi için anti-kanser ilaçların geliştirilmesine yönelik yapılan çalışmalar uzun yıllardır devam etmesine rağmen tam olarak tedavi edilememektedir. Bu nedenle kanser tedavisinde yeni ilaç ve tedavi yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. İlaç geliştirme çalışmalarında hücre zarı lipitleri çok önemli rolleri vardır çünkü kanser ilaçları hücre içi hedeflerine ulaşabilmeleri ve hücresel cevaplarını gerçekleştirebilmeleri için bu lipitlerle etkileşimleri kaçınılmazdır. Bu etkileşimler sırasında hücre zar lipitlerinin biyofiziksel parametrelerinde meydana gelen değişikliklerin incelenmesi ilacın etkinliğinin değerlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Fakat hücre zarı sistemi çok çeşitli lipit molekülleri içeren kompleks ve karmaşık bir yapıya sahip olduğundan ve hücre zarı bileşenleri arasındaki fiziksel kuvvetler ilaç ile zar etkileşimini doğrudan etkilediğinden moleküller arası etkileşimleri yorumlamak oldukça zordur, bu nedenle gerçek hücre zarı yapısına oldukça benzeyen model zarlar bu tür etkileşimlerin araştırıldığı çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Ribeiro ve diğ., 2010; Turker ve diğ., 2011) Model zar sistemleri sayesinde ilaçların hücre zarı lipitleri ile etkileşiminin ayrıntılı olarak belirlenmesi onların hücre içine alınım mekanizmaları (difüzyon ya da aktif transport gibi), hücre içine alınabilen konsantrasyonları, sağlıklı hücreye verebilecek olası toksik konsantrasyonları, hücre zar sistemi içindeki lokasyonu, farklı doku ve organlar ile patoloji taşıyan hücrelerin zar sistemlerindeki davranışı ve enkapsülasyon için en uygun lipitin belirlenmesi gibi önemli özellikler hakkında bilgi vermektedir (Baciu ve diğ., 2006; Kepczynski ve diğ., 2006; Mouritsen ve Jørgensen, 1998).

Bu çalışma kapsamında akciğer kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan karboplatin (KAR) kemoterapik ajanının hücre zarında yaygın olarak bulunan sfingomiyelin (SM) ve fosfotidilkolin (PC) lipitlerinden oluşmuş çok tabakalı model zarlar ile etkileşmesinin biyofiziksel yöntemler kullanılarak incelenmesi amaçlandı.

Çalışma kapsamında; Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) teknikleri kullanılarak farklı konsantrasyonlardaki KAR'ın; SM ve PC lipitlerindeki faz geçiş eğrisi ve faz geçiş sıcaklıkları, lipit düzeni (lipit açil zincir esnekliği), lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol iskeletinde hidrojen bağlanmasının şiddeti ve lipit dinamiği üzerine etkisi araştırıldı. Elde edilen bilgiler ışığında KAR'ın SM ve PC lipozomlarının içinde olabilecek konumu ve bu zar lipitleri ile ne tarz etkileşimlere girdiği ile ilgili bilgi edinildi.

1. GENEL BİLGİLER

1.1.Kanser

Kanser, vücudun diğer bölgelerine istila veya yayılma potansiyeline sahip anormal hücre büyümesini içeren, bu hücrelerin meydana getirdiği dokuların işlevlerini yitirdiği ve dünya genelinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan son derece ölümcül bir hastalıktır (Siegel ve diğ., 2016; WHO rapor, 2014).

İlk keşfi M.Ö. 400'lü yıllarda yaşayan dönemin ünlü hekimlerinden olan Hipokrat (M.Ö. 460-377) tarafından gerçekleştirildiği bu yapılar 'carcinoma' olarak adlandırıldı. M.S. II. yüzyılda ise Galen bu yapıların yengece benzemesinden dolayı 'kanser' adını verdi (Hadju, 2011; Lilienfeld ve diğ., 2011). Geçmişten günümüze kadar bilim ve teknolojinin ilerlemesi ilefarklı tedavi yaklaşımlarının (kemoterapötikler, radyasyon uygulaması, vs.) kombine kullanımıyla çok büyük ilerlemeler gösterilmesine rağmen hala tedavide başarı sağlanamamıştır (Zhu ve diğ., 2012).

1.2.Kanser Oluşum Nedenleri

Kanser oluşumunda, olguların yaklaşık %90-95'inde çevresel geriye kalan %5-10'luk kısım ise kalıtsal faktörlerden kaynaklanmaktadır (Feng ve Chienc, 2003). Kanser araştırmacıları tarafından tanımlanan olgulardan çevresel faktörler; genetik olarak kalıtsal olmayan, yaşam tarzı, ekonomik ve davranışsal faktörler gibi sadece kirlilik gibi her türlü nedeni ifade eder (Makushok ve diğ., 2016; Tolar ve diğ., 2003). Kanser ölümüne neden olan yaygın çevre faktörleri ise tütün (%25-30), diyet ve obezite (%30-35), enfeksiyonlar (%15-20), radyasyon (hem iyonize hem de iyonize olmayan, %10'a kadar), stres, fiziksel aktivite eksikliği ve çevre kirleticileridir (Schütze ve diğ., 2011; Tolar ve diğ., 2003). X-ışınları, gama ışınları, radyoaktif maddelerden yayılan partikül radyasyonları ve ultraviyole ışınları gibi iyonize edici radyasyonlar kansere zemin hazırlamaktadır. Bu radyasyonların etkisi altında doku hücrelerinde oluşan iyonlar yüksek derecede reaktif olduklarından deoksiribonükleik asit (DNA) zincirlerini

kopararak mutasyona sebep olmaktadır. Bunun yanı sıra kanserojen adı verilen bazı kimyasal maddelerin de mutasyon potansiyeli yüksektir. Günümüz toplumlarında kanserojenler en çok sigara dumanında bulunmaktadır. Fiziksel olarak tahriş edici maddeler de bu nedenlerden biridir. Çevresel faktörlerden ayrı olarak birçok insanda kansere yakalanmaya karşı güçlü bir kalıtsal eğilim vardır. Kansere özellikle yatkınlığı olan bu kişilerin genomlarında bir veya daha fazla mutasyona uğramış gen bulunmaktadır. Onkogenlerde ve tümör baskılayıcı genlerde oluşan genetik mutasyonlar, proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi hücrelerin temel fonksiyonlarında anormallikler oluşturmaktadır (Han ve diğ., 2015; Hanahan ve diğ., 2011). Bu yüzden bu kişilerde kanser büyümeye başlamadan önce çok daha az sayıda ilave mutasyon olması, kanseri başlatmak için yeterli olmaktadır. Kanser oluşumunda aynı zamanda viral faktörlerin etkisi de bulunmaktadır.

Adı geçen tüm faktörlerin tetiklemesi ile kanserin esas nedeni hücre bölünmesi esnasında DNA eşlenmesi (replikasyonu) sırasında hata olması sonucu hücrenin farklılaşmasıdır. Doku tamiri ve yenilenmesini hızlandıran tüm etmenler aslında kanser oluşumunu da hazırlayabilir. Dokuda oluşan harabiyet hızlı bir mitoz faaliyetiyle tahrip olan hücrelerin yerine yeni hücreler oluşturur. Mitoz ne kadar fazla ve hızlı olursa mutasyon riski o kadar artar (Hong, 2010).

1.3. Kanserin Sınıflandırması

Kanserler, tümör hücrelerinin benzer olduğu tümör türüne göre sınıflandırılır ve bu nedenle tümör kaynak olarak kabul edilir. Bu türler şunları içerir:

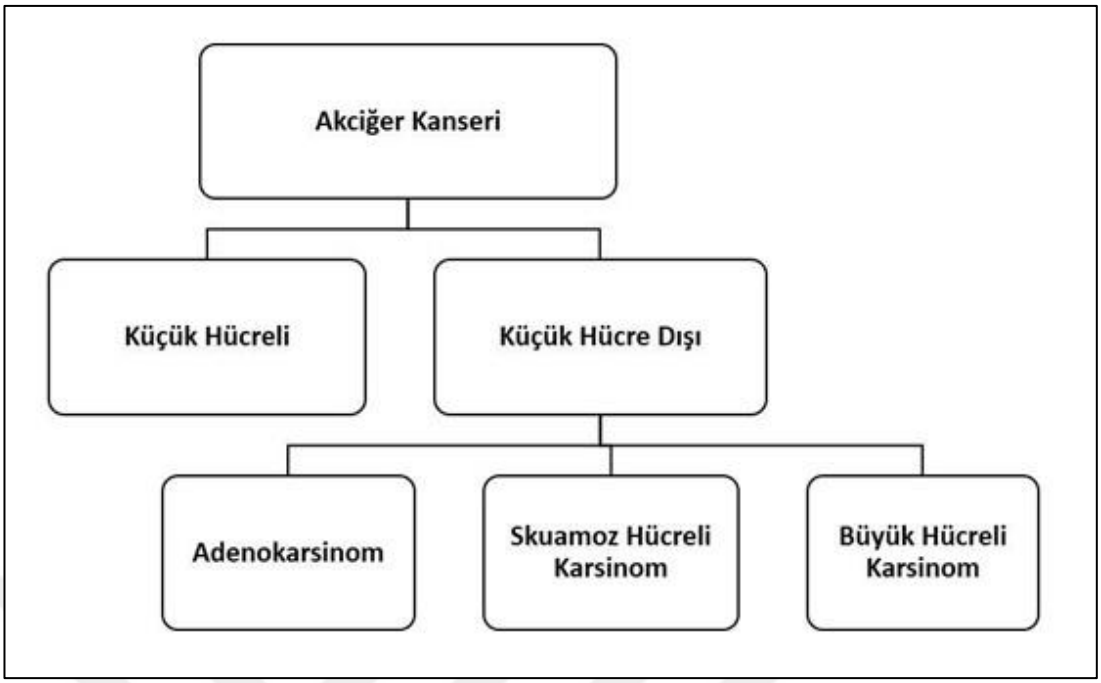
- Karsinom: Epitel hücrelerden türeyen kanser çeşitlidir. Bu grup en yaygın kanserlerden birçoğunu içerir ve neredeyse göğüs, prostat, akciğer, pankreas ve kolondaki tüm kanserler bu gruba dâhildir.
- Sarkoma: Bağ dokusundan (yani, kemik, kıkırdak, yağ, sinir) kaynaklanan kanserler, bunlarınher biri kemik iliğinin dışındaki mezenkimal hücrelerden türemiştir.
- Lenfoma ve lösemi: Bu iki sınıf, kemik iliğinden ayrılan ve sırasıyla lenf nodlarında ve kanda olgunlaşma eğilimi olan kan yapıcı (hematopoietik) hücrelerden ortaya çıkar.

- Germ hücreli tümör: Genellikle testis veya yumurtalıkta ortaya çıkan pluripotent hücrelerden türemiş kanserlerdir (sırasıyla seminom ve disgerminom).
- Blastoma: Olgunlaşmamış "prekürsör" hücrelerden veya embriyonik dokudan kaynaklanan kanserlerdir.

Kanserler genellikle kök olarak orijin organı veya dokusu için Latince veya Yunanca kelime ile karsinom, sarkoma veya blastoma olarak adlandırılır. İyi huylu tümörler (kanser değildirler), organ adını kökü olarak bir son ek olan -oma kullanarak adlandırılır. Kadınlarda en çok meme, akciğer, rahim ve kalın bağırsak kanseri; erkeklerde ise en çok akciğer, prostat, mide ve kalın bağırsak kanser çeşitleri görülmektedir. Tüm kanserlerin %16'sı, tüm kanser ölümlerinin %28'i, erkeklerde %35, kadınlarda %19'u oluşumunda akciğer kanseri nedendir (Kandoth ve diğ., 2013; Larson ve diğ., 2011).

1.3.1. Akciğer kanseri

Akciğer kanserleri tüm dünyada, kadın ve erkek bireylerde kanser ilişkili ölümlerin en önemli nedenidir (Kris ve diğ., 2014). Akciğer kanseri, akciğer dokusunda kontrolsüz hücre büyümesi ile karakterize malign bir akciğer tümörüdür (URL-1). Tedavi edilmediği takdirde, bu büyüme, yakında bulunan dokulara veya vücudun diğer bölümlerine metastaz yapılmasıyla akciğerin ötesine geçebilir (Falk ve Williams, 2010). Akciğer kanseri histolojik tıpa göre sınıflandırılır (Lu ve diğ., 2010). Bu sınıflandırma, hastalığın yönetimini ve sonuçlarını önceden belirlemek için önemlidir. Akciğer kanseri, epitel hücrelerinden kaynaklanan karsinoma-malign ve mikroskop altında görülen habis hücrelerin boyut ve görünümüne göre sınıflandırılır. Terapötik amaçlar için iki küçük sınıf ayırt edilir: küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) ve küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) (Abbas ve diğ., 2013; Lu ve diğ., 2010). KHDAK bazen ameliyatla tedavi edilirken KHAK genellikle kemoterapiye ve radyoterapiye daha iyi yanıt verir (Chapman ve diğ., 2014). Tüm akciğer kanserinde KHDAK hastalarının oranı %85, tüm akciğer kanseri hastalarının geri kalanının %15'i KHAK hastasıdır (Califano ve diğ., 2016; Semenova ve diğ., 2015). WHO 2004 yılında yaptığı sınıflandırmada primer akciğer kanserinin dört ana histolojik hücre tipi vardır (Şekil 1.1); adenokarsinom (%38,3), skuamoz hücreli karsinom (%19,7), küçük hücreli karsinom (%13) ve büyük hücreli karsinomdur (%5).



Şekil 1.1. Akciğer kanseri histolojik sınıflandırması

KHAK tüm akciğer kanserlerinin %20'sini oluşturur ve vücutta birçok bölgeye metastaz yapabilir. Temel olarak sigara kullanımı ile ilişkilidir ve yalnızca %1 oranında sigara içmeyenlerde görülür. Diğer taraftan KHDAK akciğer kanserinin daha yaygın görülen tipidir ve tüm akciğer kanserlerinin %80'ini kapsar. KHDAK tümörde bulunan hücre tiplerine bağlı olarak üç ana tipte görülür (Grose ve diğ., 2015; Lortet-Tieulent ve diğ., 2014).

- Adenokarsinoma
- Skuamoz hücreli karsinom
- Büyük hücreli karsinom

Akciğer kanseri, 2013 yılında dünya genelinde 8 milyondan fazla insanın ölümüne neden olan kanser tipi oldu ve yaklaşık 15 milyon insana aynı yıl kanser teşhisi kondu. Kanser 1990'da dünyada üçüncü ölüm sebebiyken, 2013'te ikinci neden olduğu rapor edilmektedir (Beyene ve diğ., 2015; Lozano ve diğ., 2012). Son yıllarda kanser tedavisi ve tanı ile ilgili birçok yeni bulguya rağmen, kansere bağlı ölüm oranları artmaya devam etmektedir (Fitzmaurice ve diğ., 2013). Araştırmacılar ve klinisyenler, 2030 yılına kadar 22 milyon yeni kanser vakasının ortaya çıkacağını ve bu dönemde 13 milyon kişinin ölümüne neden olacağını öngörüyorlar. 2012'de akciğer kanseri nedeniyle yaklaşık 1,1 milyon erkek ve yarım milyon kadın öldü (Ferlay ve diğ., 2015). Sigara, akciğer kanseri vakalarının yaklaşık %85'ini oluşturur. Akciğer

kanserinin başlıca nedeni olan sigara kullanımı gelişmiş dünyada, 2000 yılında erkeklerde akciğer kanseri ölümlerinin %80'ninin ve kadınlarda akciğer kanseri ölümlerinin %50'sinin nedenidir. Sigaranın süresi ve miktarı akciğer kanseri olma riskini arttırır (Eriksen ve diğ., 2013). Radon maruziyeti, hava kirliliği, asbest, krom, arsenik ve radyasyon gibi bazı metaller akciğer kanserinin diğer nedenleridir (Danaei ve diğ., 2005; El Ghissassi ve diğ., 2009).

Akciğer kanseri tanısında akciğer grafisi, pozitron emisyon tomografisi, bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme kullanılmaktadır (Aberle ve diğ., 2011; Biederer ve diğ., 2012; Lowe ve diğ., 1998). Akciğer kanseri tedavi yöntemleri, tümör tiplerine ve evrelere bağlıdır ve cerrahi, kemoterapi ve radyasyon terapisi içerir (Fairchild ve diğ., 2008).

1.3.2. Akciğer kanseri tedavi yöntemleri

Akciğer kanseri tedavisi, kanserin spesifik hücre türüne, ne kadar yayılmış olduğu ve kişinin performans durumuna bağlıdır. Sık kullanılan tedaviler, birincil (primer) olanlar ameliyat, kemoterapi, radyasyon terapisi, hormonal terapi, hedefli terapi ve palyatif bakım içerir. Akciğer kanserinin hedefli tedavisi ileri akciğer kanseri için önem derecede rol oynamaktadır. Tedavinin amacı iyileştirici olabilir veya olmayabilir (URL-2). Akciğer kanser tedavisinde temel olarak üç teknik kullanılmaktadır; kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi. Cerrahi yöntem ile tümör dokusu kesilerek çıkarılırken, kemoterapi ve radyoterapi ise kanser hücrelerini öldürmeye yönelik kullanılmaktadır (Hill ve diğ., 2014; URL-2). Radyoterapi genellikle kemoterapi ile birlikte verilir ve cerrahi için uygun olmayan KHDAK için iyileştirici amaçla kullanılmaktadır (Hann ve diğ., 2008). Kemoterapötikler sitotoksik etkileri ile kanser hücrelerinin çoğalmasını önlerler. KHAK, içinde karboplatin, sisplatin, etoposid, gemsitabin, paklitaksel, vinorelbin, topotekan ve irinotekan kullanılmaktadır (Dimitroulis ve diğ., 2005; MacCallum ve Gillenwater, 2006; Murray ve diğ., 2006). İleri evre KHDAK kemoterapi hayatta kalmayı artırır ve birinci basamak tedavi olarak kullanılır. KHDAK de tipik olarak, biri genellikle platin bazlı olan (sisplatin veya karboplatin) iki ilaç kullanılır. Diğer yaygın olarak kullanılan ilaçlar gemsitabin, paklitaksel, dosetaksel, pemetreksed, etoposid, vinorelbin, dosetaksel, pemetreksedietoposid veya vinorelbindir (Azim ve diğ., 2007; Fuld ve diğ., 2010).

Ancak bu ilaçlara karşı tümör hücrelerinin geliştirdiği direnç, kanser tedavisinde karşılaşılan en büyük problemlerden biri olmaktadır. Akciğer kanseri, akciğer hücrelerinin mekanizmalarında gelişen moleküler bozukluklardan meydana gelmektedir. Bu yüzden kanser çalışmalarında hücreler yıllardır moleküler düzeyde çalışılmaktadır. Bu normal hücrelerin mekanizmalarının işleyişini aydınlatmada büyük katkılar sağlamıştır.

Alkilleyici ajanlar akciğer kanser tedavisinde bugün kullanılan en eski kemoterapötik grubudur. Alkile edici maddeler, hücre döngüsüne nonspesifiktir ve hücrelerde bulunan koşullar altında birçok elektronegatif gruba alkil grupları ekleme yetenekleri nedeniyle bu isim verilir. Alkilleyici ajanlar üç farklı mekanizma ile çalışır; bunların hepsi aynı sonuca, yani DNA işlevinin bozulmasına ve hücre ölümüne neden olur (Singh ve diğ., 2017). Başlangıçta I. Dünya Savaşı'nda kullanılan hardal gazından türetilmiştir, şimdi birçok alkilleyici ajan bulunmaktadır (URL-2). Proteinler, RNA ve DNA da dahil olmak üzere pek çok moleküle alkillenme kabiliyetleri nedeniyle adlandırılırlar. Bunların alkil grubu yoluyla kovalent olarak DNA'ya bağlanma kabiliyeti, kanser öncesi etkileri için başlıca nedenidir (Krause ve diğ., 2008). DNA iki iplikten yapılır ve moleküller iki kez bir DNA zincirine (iç çapraz bağlanma) bağlanabilirler veya bir kere iki kordona bağlanabilirler (ara zincirler arasında çapraz bağlar). Hücre, hücre bölünmesi sırasında çapraz bağlanmış DNA'yı çoğaltmaya çalışırsa veya onarmaya çalışırsa, DNA iplikçikleri kırılabilir. Bu, apoptoz adı verilen programlanmış bir hücre ölümüne yol açar (Madan ve diğ., 2010; Sohn ve diğ., 2001). Alkile edici maddeler, hücre döngüsünün herhangi bir noktasında çalışacak ve dolayısıyla hücre döngüsünden bağımsız ilaçlar olarak bilinirler. Bu nedenle hücredeki etki doza bağımlıdır; Ölen hücrelerin fraksiyonu ilacın dozu ile orantılıdır. Biyolojik açıdan önemli moleküllerde amino, karboksil, sülfhidril ve fosfot gruplarıyla kovalent bağlar oluşturarak hücre işlevini bozarlar (Alpsoy ve diğ., 2009).

1.4. Kemoterapötik İlaçların Etki Mekanizması

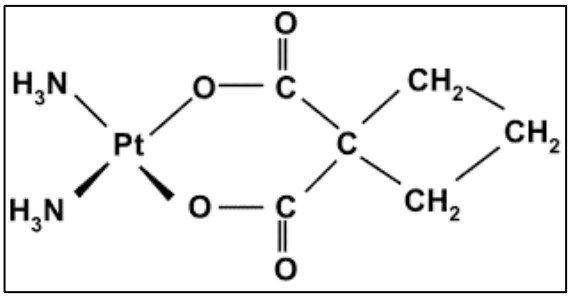
Kemoterapi, daha çok kanser hücrelerini etkileyen kanser ilaçları kullanılarak yapılan tedavi için kullanılan terimdir. Bunun için kullanılan ilaçlara "anti kanser" ilaçlar da denmektedir. Kanserin türüne göre kemoterapinin amaçları farklılaşabilmektedir. Başlıca amaçlar: kanseri tedavi etmek, kanseri kontrol etmek (kanserin yayılımını önlemek ve büyümesini yavaşlatmak) ve kanserin yol açtığı belirtileri gidermek (hastanın yaşam niteliğini yükseltebilmek için ağrı ve benzeri belirtileri ortadan kaldırmak) şeklinde belirtilebilir. Geniş anlamda, çoğu kemoterapötik ilaçlar hızlı bölünen hücreleri etkili bir şekilde hedefleyen mitozu (hücre bölünmesini) bozarak çalışırlar (Moschovi ve diğ., 2015; Tanha ve diğ., 2016). Bu ilaçlar hücrelere zarar verdiklerinden sitotoksik olarak adlandırılırlar. Zararlı DNA'ya neden olmak ve hücre bölünmesine karışan hücresel mekanizmaları inhibe etmek gibi çeşitli mekanizmalarla mitozu önlerler (Clegg ve diğ., 2002). Bu ilaçların kanser hücrelerini nasıl öldürdükleri üzerine bir teori ise, apoptoz olarak bilinen programlanmış bir hücre ölüm şekline neden olduğu yönündedir (NKHAK Collaborative Group, 2010).

Kemoterapi ilaçlarının her zaman istenilen faydayı sağlaması mümkün olmayabilir. Kemoterapi ilaçları hastanın bağışıklık sistemini de etkilediğinden, kemoterapi sırasında hastanın bulaşıcı hastalıklara karşı direnci düşmektedir. Ayrıca bazı kemoterapi ilaçları bazı hastalarda yorgunluk, bulantı, kusma ve saç dökülmesine de yol açabilir (Jemal ve diğ., 2006).

1.4.1. Karboplatin

Karboplatin (KAR) ($C_6H_{12}N_2O_4Pt$) cis-Diammine (1,1-yclobutanedicarboxylato) platinum(II), Paraplatin, Paraplatin-AQ) sisplatin gibi platinum içeren ve başta akciğer olmak üzere, over, testis, mesane, baş-boyun kanserleri gibi solid tümörlerde ve refrakterlenfoma gibi hematolojik malignensilerde kullanılan geniş spektrumlu bir antineoplastik ilaçtır.

KAR ilk 1972 yılında patentini ve 1986 yılında da tıbbi kullanım için onay almıştır (Fischer ve Ganellin, 2010; Makushok ve diğ., 2016). Molekül ağırlığı 371,2 g/mol‘dür. WHO ‘nun gerekli ilaçlar listesinde yer alan (URL-3) KAR Food and Drug Administration (FDA) tarafından 2011 yılında onaylandı.



Şekil 1.2. KAR'ın kimyasal yapısı

KAR DNA çift sarmal tellerinde guanin bazlarını çapraz bağlayarak doğrudan DNA'ya saldırıp tümör büyümesini durdurur. Bu durum DNA iplikçiklerini ayıramayacak hale getirdiğinden etki mekanizması biyofonksiyonel alkilleyici ilaçlara benzer (Alves ve diğ., 2016; Peng ve diğ., 2014). Bu durum DNA'nın replikasyon ve transkripsiyonunu bozulmasına neden olduğu için, hücreler artık bölünemez. Buna ek olarak, alkilleyici ajanlar moleküller üzerine metil veya başka alkil grupları ekler bu da baz eşleştirmesiyle doğru kullanımını engeller ve DNA'nın yanlış kodlanmasına neden olur. KAR'ın protein bağlanma kapasitesi çok düşük seviyede seyreder. Bununla birlikte, KAR'dan elde edilen platin, geri dönüşsüz olarak plazma proteinlerine bağlanır ve minimum yarı ömrü beş gün ile yavaş yavaş ortadan kalkar. Yutulduğunda zehirlidir ve teneffüs etme veya cilt ile temas yoluyla toksik etki yaratabilir, ayrıca üreme kusurlarına neden olabilir. Duyarlılaştırıcı olarak davranabilir (URL-4). Eliminasyonu renal yolla gerçekleşir. Vücuda enjeksiyona takiben yarılanma ömrü 1-2 saattir. Hidrojen bağı alıcı sayısı 6, verici sayısı 4 tanedir. Amfipatik karakterdedir ve polar yüzey alanı 76,6 A^2'dir (Canetta ve diğ., 1985; Natarajan ve diğ., 2001; Wheate ve diğ., 2010).

1.5. İlaç- Lipit Etkileşimleri ve Lipozomlar

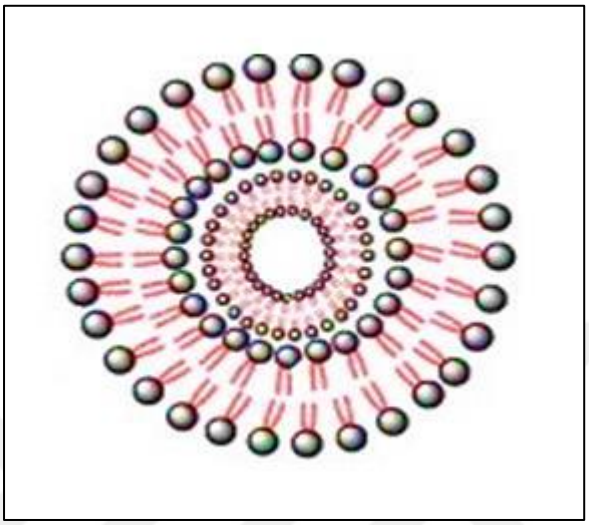
İlaçların hücre içi hedeflerine ulaşabilmeleri ve hücresel cevaplarını gerçekleştirebilmeleri için ilaç-zar lipitleri etkileşmeleri kaçınılmazdır. İlaç-lipit etkileşimi sırasında lipitlerin biyofiziksel parametreleri değişirler. Lipitlerin biyofiziksel parametreleri faz geçiş eğrisi, faz geçiş sıcaklıkları (ön geçiş ve ana geçiş), açil zincir esnekliği (düzen), lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol iskelet üzerindeki hidrojen bağlanmasının şiddeti, lipit dinamiği ve lipit düzenidir (Bashe ve diğ., 2016; Xu ve diğ., 2016). Bu bağlamda, kanser ilaçlarının zar lipitleri ile etkileşmeleri sonucu onların biyofiziksel özelliklerini etkilemeleri ile lipit

paketlenmesi yoğunluğu, zar akışkanlığı, zar düzeni, zar sisteminin integrasyonu gibi bunlara bağlı olarak birçok hücresel aktiviteyi etkilemektedirler (Duncan ve diğ., 2017; Peetla ve diğ., 2013). Bu nedenle ilaç-lipit etkileşmelerinde ilacın bu parametreler üzerindeki etkisi incelenerek hücre zarında meydana gelebilecek yapı, kompozisyon, ve dinamik gibi fonksiyona bağlı değişimler saptanabilmektedir (Korkmaz ve diğ., 2005; Türker ve diğ., 2011; Türker-Kaya ve diğ., 2017). Bundan dolayı birçok hücre kültürü ve in vivo çalışmaları göstermiştir ki; ilaçların hücre zarı ile etkileşmesinin anlaşılması, onların farmakokinetik (hücre içine taşınma, dağılım, birikim) ve farmakolojik özelliklerini değerlendirmek açısından oldukça önemlidir (Peetla ve diğ., 2013; Van Meer ve diğ., 2008).

Kemoterapötiklerin hücre zarı lipitleri ile etkileşmesinin aydınlatılması sayesinde ilacın hücre içine alınım mekanizması (difüzyon ya da aktif transport gibi), hücre içine alınabilen konsantrasyonu, hücreye zarar verebilecek olası toksik konsantrasyonu, hücre zarı sistemi içindeki lokasyonu, farklı doku ve organlar ile patoloji taşıyan hücrelerin zar sistemlerindeki davranışı ve enkapsülasyon için en uygun lipitin belirlenmesi gibi önemli parametreler optimize edilir (Kepczynski ve diğ., 2006; Peetla ve diğ., 2009). Fakat hücre zarı, 1000'den fazla çeşit lipit moleküllerinin oluşturduğu fosfolipit çift tabakası ve bu tabakanın bir platform oluşturduğu zar proteinlerden oluşan bir yapıdır. Hücre tipine bağlı olarak değişiklik gösterse de zar lipitleri kompoziyonu; genel olarak fosfotidilkolin (PC), fosfotidiletanolamin (PE), fosfotidilserin (PS), sfingomyelin (SM), fosfotidik asit (PA), kolesterol ve geriye kalan gangliositleri ile seramitleri içermektedir (Brown ve London, 1998; Peetla ve diğ., 2013). Hücre zarı çok farklı ve çeşitli lipit molekülleri içerdiğinden oldukça heterojen ve karmaşık bir yapı olduğundan, ilaç-hücre zarı etkileşimleri incelenirken sonuçların değerlendirilmesini güçleştirmektedir. Bu tarz çalışmalara kontrollü olarak bileşenleri değiştirilebilen model zarlarla başlamak genel bir yaklaşımdır (Geraldes ve diğ., 2010; Korkmaz ve diğ., 2005; Severcan ve diğ., 2005; Turker ve diğ., 2011).

Çok tabakalı model zarlar, lipozomlar, fosfolipit moleküllerinin uygun tampon çözeltiler içerisinde bir araya gelip çok tabakalı küresel bir şekil oluşturarak meydana getirdikleri yapay zarlardır. Model zar oluşturmada kullanılan lipitler nötr ya da +, - yüklü olabilirler. Bu lipitlerin tür ve özelliklerine ve amaca bağlı olarak iki veya çok katmanlı lipit tabakası formunda olup hücre zarı ile ortak özellikler göstermeleri

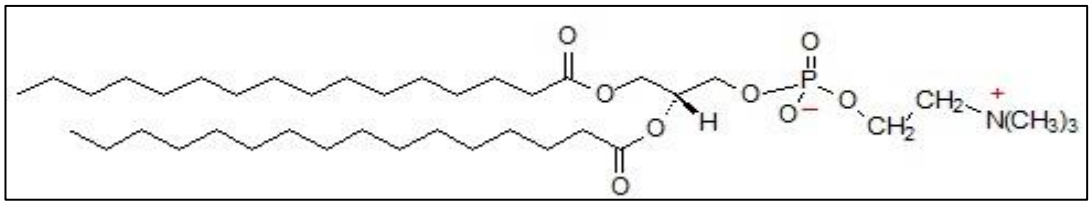
nedeni ile uzun yıllar boyunca model zar olarak kullanılmışlardır. Ayrıca, hazırlama aşamasında dışarıdan eklenen diğer maddeleri de enkapsüle edebilme özelliğine sahip oldukları için ilaç taşıma araçları olarak da kullanılmaktadırlar (Allen ve Cullis, 2013; Peetla ve diğ., 2013).



Şekil 1.3. Çok tabakalı model zar yapısı

1.5.1. Fosfotidilkolin (PC)

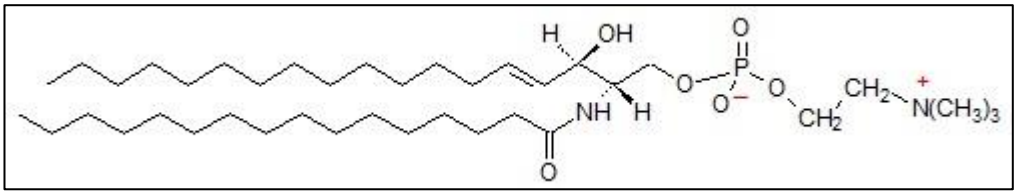
Fosfotidilkolin, kolin bir baş grup içeren bir fosfolipit sınıfıdır. Kolin grubu artı yüklü, fosfat grubu eksi yüklü olduğundan baş grubunun net yükü yoktur. Molekülün hidrofobik kısmını oluşturan yağ asitleri doymuş veya doymamış olabilir. Biyolojik zarların önemli bir bileşenidir ve genellikle zarın dış tabakasında daha çok bulunur. PC'nin hücre zarında %45-55 oranında bulunur. Hekzan kullanılarak mekanik veya kimyasal olarak çıkarılan yumurta sarısı veya soya fasulyesi gibi kolaylıkla temin edilebilen çeşitli kaynaklardan kolayca elde edilebilir (Huang ve diğ., 1969). Aynı zamanda hayvan ve bitki dokularında oluşan sarı-kahverengimsi yağlı maddelerin lesitin grubunun bir üyesidirler. Çalışmada kullanılan PC bir adet doymuş yağ asiti ve bir adette doymamış yağ asidinden oluşan nötr bir fosfolipit olup, lipozom ve model zar çalışmalarında kullanılmaktadır (Gennis, 2013; Preetha ve diğ., 2010; Mashaghi ve diğ., 2012). Şekil 1.4'de gösterilen PC çalışmamızda kullanılan moleküler formülü $C_{42}H_{82}NO_8P$'dir.



Şekil 1.4. PC' nin kimyasal yapısı

1.5.2. Sfingomyelin (SM)

Hücre zarlarının temel bir unsuru olan sfingomyelin (SM), sinir hücrelerinin zarlarında (miyelin kılıflarında) ve kırmızı kan hücrelerinde %5-10 arası konsantrasyonlarda bulunur. SM büyük kafa grubuna sahip olması nedeniyle ters çevrilmiş koni şeklindedir ve sulu ortamda çift tabakalı katman oluşturma eğilimindedir. SM'nin sahip olduğu büyük kafa grubu sebebiyle kolesterol için yüksek bir afiniteye sahiptir (Milhas ve diğ., 2010; Peetla ve diğ., 2013). SM, aynı zamanda seramidlerin ve sfingomiyelin döngüsünün veya sfingolipit ağı oluşturan diğer sfingolipit metabolitlerinin öncüsüdür (Makushok ve diğ., 2016; Milhas ve diğ., 2010; Van Meer ve diğ., 2008). Şekil 1.5'de kimyasal yapısı verilen SM'nin moleküler formülü $C_{39}H_{79}N_2O_6P$'dir.



Şekil 1.5. SM'nin kimyasal yapısı

1.6. Çalışmada Kullanılan Teknikler

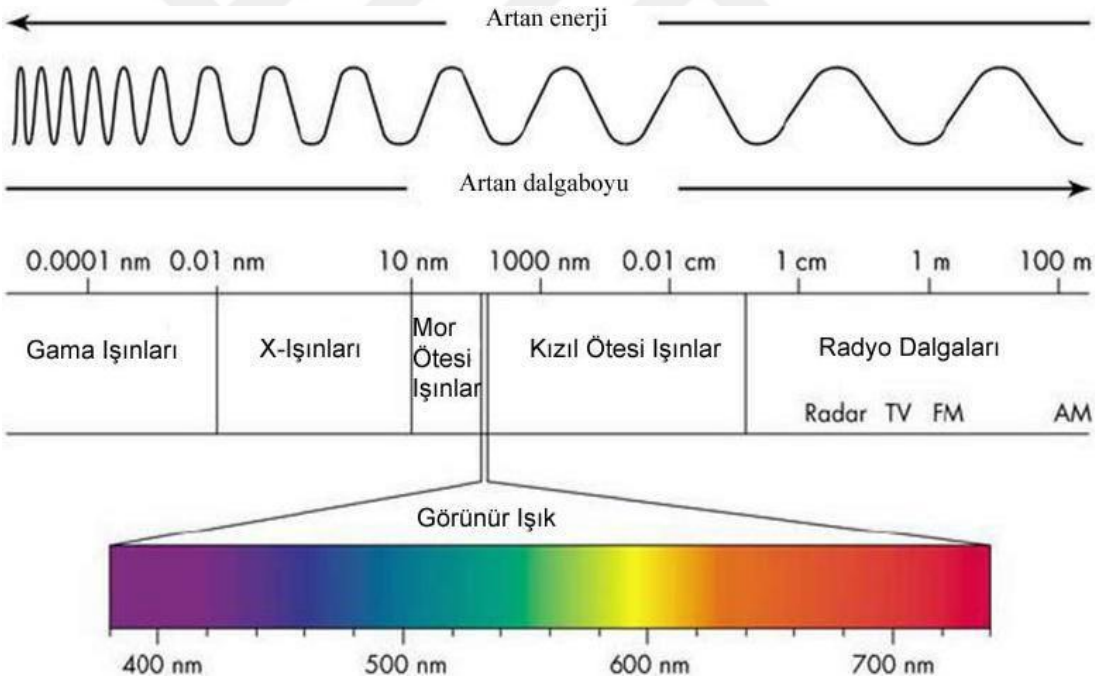
İlaç-lipit etkileşimi sırasında lipitlerde yapısal ve fonksiyonel değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler; faz geçiş eğrisi, faz geçiş sıcaklıkları (ön geçiş ve ana geçiş), açil zincir esnekliği (düzen), lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol iskelet üzerindeki hidrojen bağlanmasının şiddeti ve lipit dinamiği gibi parametrelerdeki farklılıklardır. Bu değişimler spektroskopik tekniklerden biri olan Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi ile ve Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) ile incelenebilmektedir (Bilge ve diğ., 2014; Khadka ve diğ., 2015; Türker ve diğ., 2011).

1.6.1. Fourier dönüşüm kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi

Spektroskopik analiz yöntemleri, örneğin elektromanyetik radyasyonun çeşitli formlarından oluşan ışına maruz bırakılarak örneğin yaydığı saçtığı veya soğurduğu ışın miktarlarının ölçülmesi temeline dayanmaktadır (Türker ve diğ., 2014a). Şekil 1.3'de elektromanyetik spektrumun önemli bölgeleri gösterilmektedir. Elektromanyetik spektrum, çok geniş bir enerji ve dolayısıyla dalga boyu aralığını kapsamaktadır (Mantsch ve McElhaney, 1991). Bir molekülün toplam enerjisi (E), altı bileşenden oluşur (Campbell ve Dwek, 1984; Mantsch ve McElhaney, 1991).

Toplam enerji denklemi, Denklem (1.1)'deki gibidir.

$$E_{Toplam} = E_{Öteleme} + E_{Dönme} + E_{Titreşim} + E_{Elektronik} + E_{Elektron\ spin\ yönelmesi} + E_{Nükleer\ spin\ yönelmesi} \quad (1.1)$$



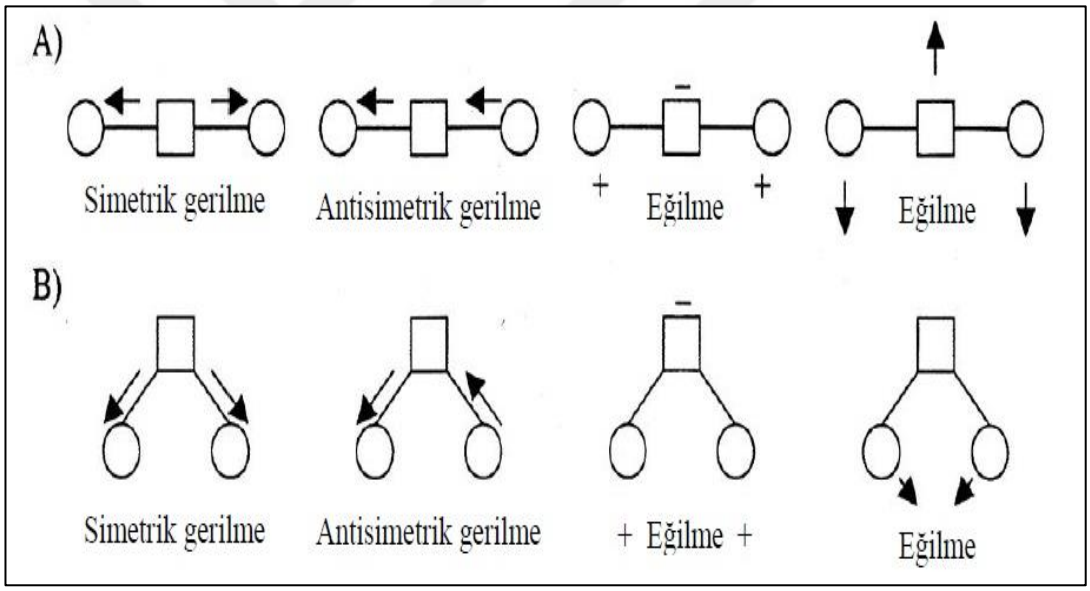
Şekil 1.6. Elektromanyetik Spektrum Bölgeleri

Kızılötesi (IR) bölgesi üç ana bölgeye bölünmüştür (Smith, 1998). Dalga boyları, dalga sayısı ve frekanslarına göre kızılötesi ışınların gruplandırılması Tablo 1.1'de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Kızılötesi ışınların dalga boyu, dalga sayısı ve frekans değerleri

Bölge	Dalga Boyu (λ)	Dalga sayısı (v)	Frekans
Yakın Kızılötesi	0,75-2,5 μm	12800-4000 cm^{-1}	$3,8x10^{14}$-$1,2x10^{14}$ Hz
Orta Kızılötesi	2,5-50 μm	4000-200 cm^{-1}	$1,2x10^{14}$-$6x10^{12}$ Hz
Uzak Kızılötesi	50-1000 μm	200-10 cm^{-1}	$6x10^{12}$-$3x10^{11}$ Hz

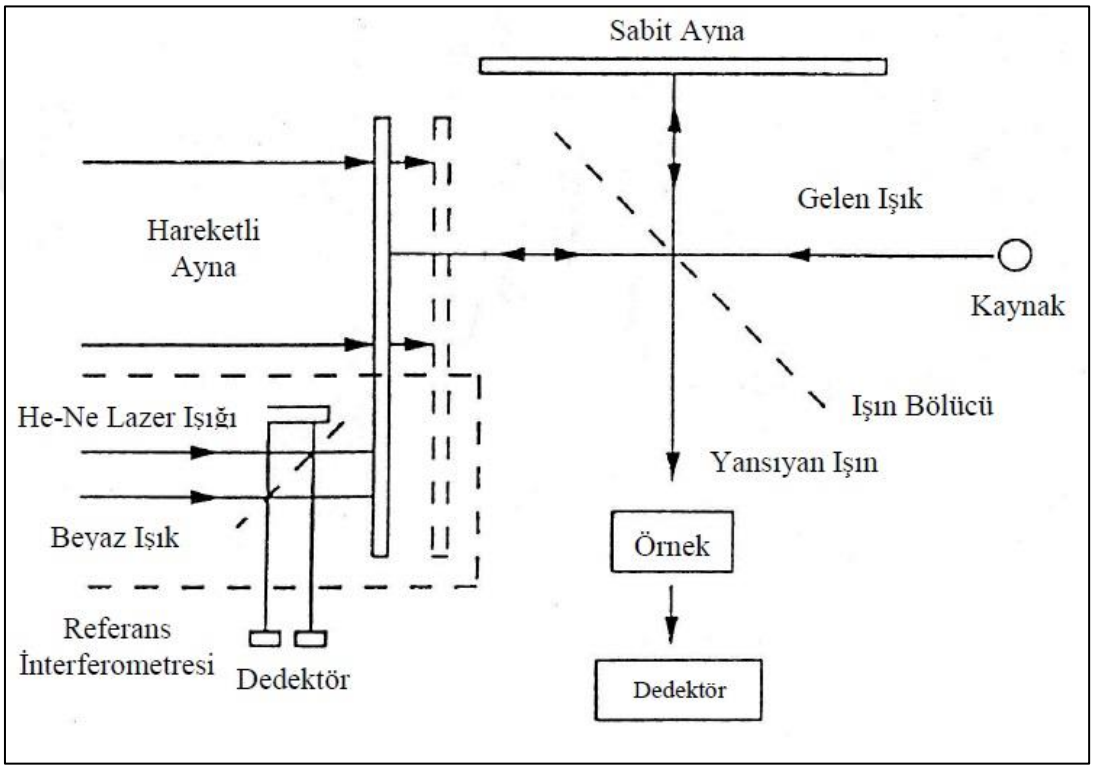
Kızılötesi ışınların enerjisi genellikle elektronik geçişleri sağlayamayacak kadar küçüktür, fakat molekülün temel elektronik haline ilişkin titreşim ve dönme halleri arasındaki geçişler, kızılötesi ışığının molekül tarafından soğrulması ile meydana gelir (Skoog ve diğ., 2013). Moleküler titreşim türleri Şekil 1.7'de verilmiştir.



Şekil 1.7. (A) Lineer (B) Non-lineer üç atomlu bir molekülün titreşim tipleri. Atomik yer değiştirmeler, oklar ve + sayfa düzlemine, - sayfa dışına dik semboller ile gösterilmiştir

Fourier dönüşüm kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi (Şekil 1.8) moleküllerin değişik dalga boylarındaki titreşimlerini ölçen ve bu nedenle değişik titreşim gruplarını görüntüleyip onların karakterize edilmesini sağlayan bir teknoloji ürünüdür. Bu teknik sayesinde moleküllerin yapısındaki değişik titreşim gruplarının aynı anda görüntülenmesi ile bu titreşim gruplarının ait oldukları moleküller hakkında bilgi edinilmektedir. Böylelikle ilgili biyolojik sistem hakkında hassas olarak bilgi edinilmesi mümkün olmaktadır (Çakmak ve diğ., 2011; Garip ve diğ., 2010; Türker-

Kaya ve diğ., 2016; Türker-Kaya ve diğ., 2017; Turker ve diğ., 2014; Türker ve diğ., 2011). Hücre zarı fosfolipitlerinin FT-IR spektrumu, fosfolipitlerin açil zincirlerinden, lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol kısımlarından kaynaklanan bandları gösterir. Bu bandların frekans değişimleri, band genişlikleri ilaçların lipit faz geçişi, lipit düzeni ve akışkanlığı üzerinde yaptığı etkileri ve ilaçların lipit sistemi içindeki konumu hakkında bilgi verir (Bilge ve diğ., 2014; Mignolet ve diğ., 2016; Sade ve diğ., 2010; Severcan ve diğ., 2005; Toyran ve diğ., 2007; Türker ve diğ., 2014).



Şekil 1.8. FT-IR spektroskopisinin şematik gösteri

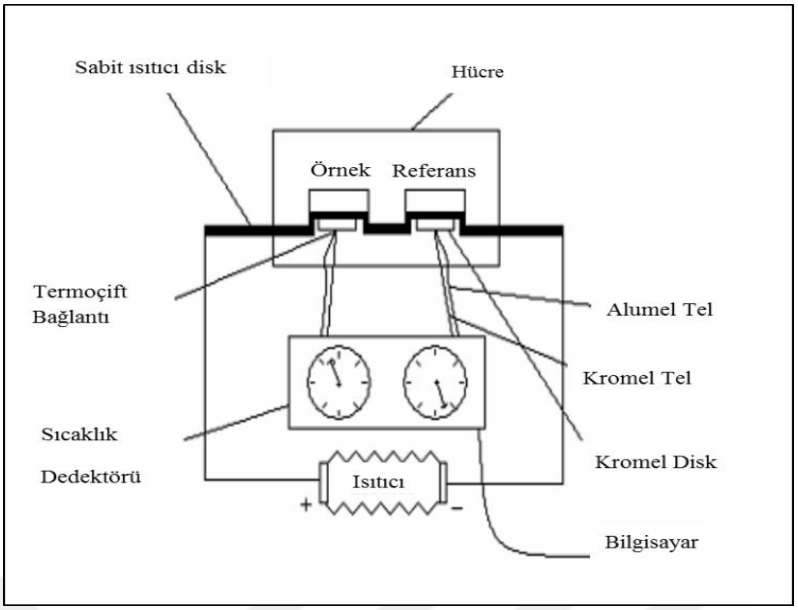
1.6.2. Diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC)

Hücre zarı çalışmalarında kullanılan bir diğer teknik Diferansiyel Tarama Kalorimetresidir (DSC) (Şekil 1.9). Bu teknik; biyolojik yapıların termal ve buna bağlı termodinamik özellikleri hakkında hassas bilgiler verir. Ayrıca ilaç-lipit etkileşmesinin araştırılmasında ilaçların hücre zarı faz geçiş özellikleri üzerine etkilerini araştırmak için kullanılan bir tekniktir (Castelli ve diğ., 2001; Kazancı ve diğ., 2001; Severcan ve diğ., 2005; Severcan ve diğ., 2015; Türker ve diğ., 2011). Ayrıca bu teknik, ilaç endüstrisinde fiziksel ve kimyasal özelliklerin araştırılmasında,

protein-protein, protein-ligand etkileşimi ve protein domain organizasyonunun araştırılmasında da yaygın olarak kullanılır (Türker-Kaya ve diğ., 2017).

Bu metotta referans ve örnek aynı anda değişen sıcaklıklara tabi tutulur. Değişen sıcaklıkla birlikte örnekte faz geçişi gerçekleştiğinde örnek tarafından absorbe edilen termal enerji referansa eklenir. Böylelikle, bu referansa eklenen enerji spesifik bir faz geçişinde örnek tarafından absorbe edilen enerjiye eşittir. Referansa verilen enerji dengeleme enerjisi olarak tanımlanabilir ki bu enerjinin kayıt altına alınması örneğin faz geçiş enerjisinin ölçümünü verir (Bradrick ve diğ., 1989; Castelli ve diğ., 2003).

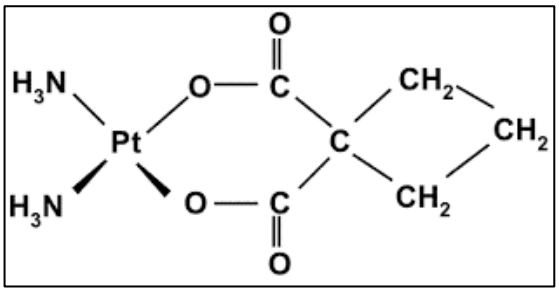
DSC tekniği, ajan-lipit etkileşimi araştırmalarında ilaçların hücre zarının faz geçiş özelliklerini yani faz geçiş sıcaklığı (T_m, ^oC), kooperativiti (CU), faz geçiş entalpisi (ΔH, kkal/mol) ve entropisi gibi özellikleri üzerindeki etkilerini direkt olarak gösterebilmektedir (Bensikaddour ve diğ., 2008; Mouristen ve Biltonen, 1993; Severcan ve diğ., 2005; Şahin ve diğ., 2007; Toyran ve diğ., 2007). Sıcaklık arttığında çift tabaka, hidrokarbon zincirlerin düzenli olduğu jel fazdan zincirlerin farklı konformasyonlarda olduğu daha akışkan sıvı kristal faza geçer. Jel fazdan akışkan faza esas geçiş, T_m olarak adlandırılan esas faz geçiş sıcaklığında meydana gelir (Hianik, 2006; Simons ve Vaz, 2004). Faz geçiş entalpisi, molekül içi ve moleküller arası Van der Waals bağları ile trans-gauche izomerlerinin bozulması ile oluşan faz geçişi sırasındaki enerji olarak tanımlanmaktadırlar (Bultmann ve diğ., 1991; Mouritsen ve Biltonen, 1993). Kooperativiti ise faz geçişine katılan lipit moleküllerinin yaklaşık miktarı ile ilgili olup lipit düzenliliği hakkında bilgi veren bir parametredir (Cevc ve Marsh, 1987). Yüksek kooperativiti değerleri faz geçişine daha fazla lipit molekülünün katıldığı anlamına gelmektedir (Cevc ve Marsh, 1987; Bultmann ve diğ., 1991; Mouristen ve Biltonen, 1993).



Şekil 1.9. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi'nin (DSC) şematik gösterimi

2. MALZEME VE YÖNTEM

cis-diammine (cyclobutane-1,1-diKARboxylate-O,O') platinum(II) (karboplatin) (Şekil 2.1), PC, SM, fosfot tampon tablet, triklorometan (kloroform), Sigma Kimyasal (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA) firmasından temin edildi. Çalışmalarda kullanılan kimyasallar saflaştırma işlemine tabi tutulmadı.



Şekil 2.1. KAR'ın kimyasal yapısı

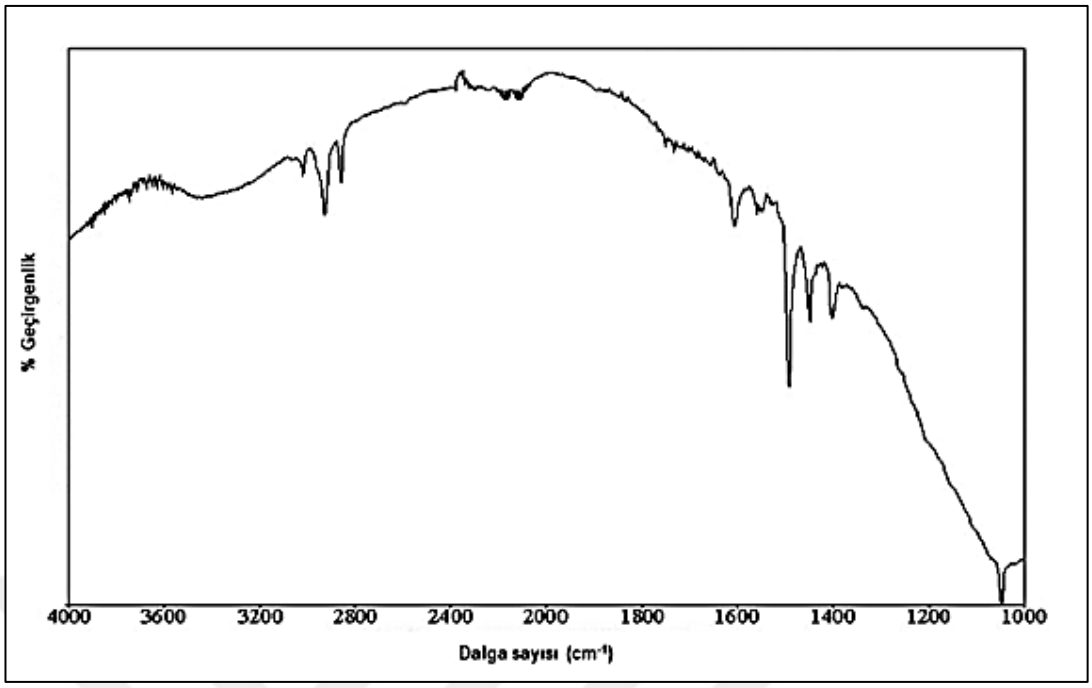
2.1. Çok Tabakalı Model Zar (MLV) Hazırlama

Fosfolipit çok tabakalı model zarlar literatüre uygun olarak hazırlandı (Türker ve diğ., 2011; Türker-Kaya ve diğ., 2017). %1, %5, %10, %20, %30 mol yüzdeleri için gerekli olan KAR miktarı kullanılacak lipit çeşidine göre hesaplandı. 0,5 mg KAR /100µl fosfat tampon çözeltisi (pH=7,4) olacak şekilde stok çözeltisi vialde, ilacın aktivitesini yitirmemesi için alüminyum ile kaplanarak karanlık ortam oluşturuldu. Stok ilacın 37 ˚C sıcaklığa ayarlanmış su banyosunda 1 saat boyunca, 15 dakika aralıklarla vorteks karıştırıcıda karıştırılarak çözünmesi sağlandı. Uygun miktarda PC ya da SM kloroformda çözdürülerek stok çözelti hazırlandı. Stok çözeltiden istenilen konsantrasyonları elde etmek üzere belirli miktarda alınarak ependorf kaplara aktarıldı. Organik çözücü önce azot gazı ile uçurularak sonra kurutma sisteminde (Freeze-drying System) 24 saat boyunca vakumlanarak ortamdan uzaklaştırıldı. İnce lipit tabakası içeren ependoflara %1, %5, %10, %20, %30 mol yüzdeleri için gerekli olan KAR miktarı stok çözelti içinden alınıp ilave edildi. Elde edilen karışım toplamda 5 döngü olmak üzere; 2 dakika kullanılan lipitlerin faz geçiş sıcaklığının yaklaşık 20˚C üzerinde bir sıcaklıkta ısıtıp, 2 dakika vorteks karıştırıcıda karıştırılarak süt renginde yoğun kıvamlı çok katlı lipozomlar elde edildi.

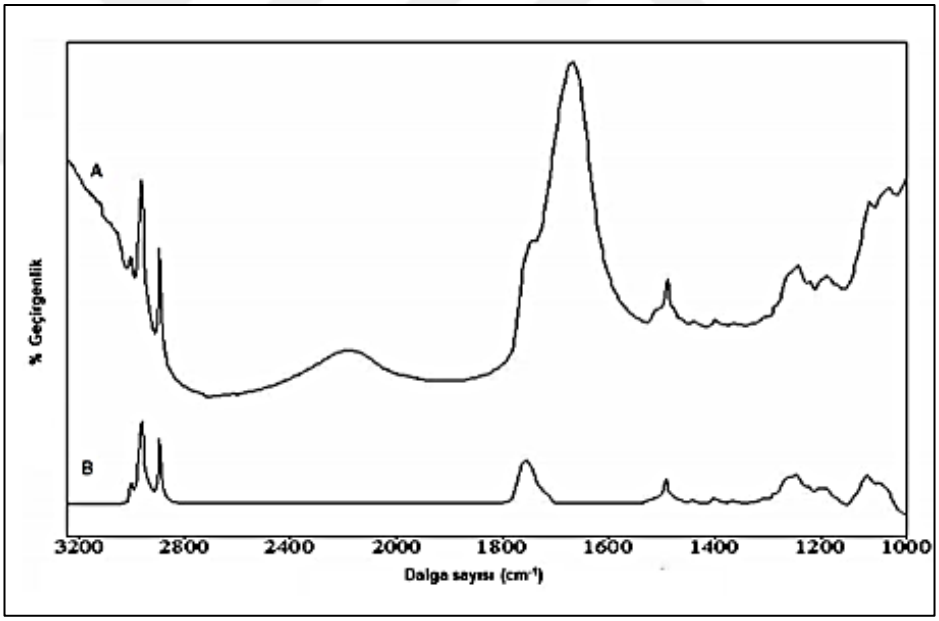
2.2. Spektroskopik Yöntemler

2.2.1. FTIR spektroskopisi çalışmaları

FT-IR spektroskopisi ölçümleri için dötoryumlu triglisinsülfat (DTGS) dedektörlü Perkin-Elmer Spektrum One FT-IR Spektroskopisi kullanıldı (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA). Isıya dayanıklı olan kalsiyum florür (CaF_2) camlar arasına 12µm kalınlıktaki ayıracı yerleştirildi. Hazırlanan lipozom örneklerinden 20 µl alınıp camların arasına aktarıldı. Çalışma kapsamında KAR'ın lipitlerin sıvı-kristal fazlarındaki etkileşmelerinin incelenmesi amaçlandığından FT-IR çekiminde sıcaklık aralığı kullanılan lipitlerin faz geçiş sıcaklığına göre belirlendi. SM lipiti ile hazırlanan lipozomlar için cihaz sıcaklığı 52 ˚C'ye ayarlandı. Sıvı-kristal faza denk gelen sıcaklıkta 5 dakika inkübe edilerek spektrumları alındı. PC lipiti ile hazırlanan lipozomlar için cihaz sıcaklığı 20 ˚C'ye ayarlandı, bu sıcaklıkta 5 dakika inkübe edilerek spektrumu alındı. Aletin içerisinden geçen havadaki su buharı ve karbondioksit, örnek spektrumlarını etkilediğinden her taramadan önce havanın spektrumu (Şekil 2.2) alınarak, örnek spektrumlardan otomatik olarak çıkartıldı. Her örneğin belirtilen sıcaklıklardaki 4000–1000 cm^{-1}frekansaralığındave 4 cm^{-1} çözünürlükteki spektrumları elde edildi. Tampon çözeltideki su özellikle 3400–3200 cm^{-1} ve 1800-1500 cm^{-1}' deki OH gerilme bandları analiz edilecek olan bandları kapattığı için Perkin-Elmer Spektrum One program kullanılarak tampon çözelti spektrumları örnek spektrumlardan çıkartıldı (Şekil 2.3).



Şekil 2.2. Havanın FT-IR spektrumu



Şekil 2.3. SM lipozom spektrumları, A-tampon çözelti spektrumu çıkartılmamış SM lipozom spektrumu, B-tampon çözelti spektrumu çıkartılmış SM lipozom spektrumu

FT-IR spektral analiz için 4000-1000 cm^{-1} frekans aralığındaki titreşimlerin frekans ve band genişliklerindeki değişimler göz önüne alınarak incelendi. İncelenen her bir titreşim spektral bölgede çeşitli frekans değerlerine karşılık gelmektedir. Tablo 2.1'de çalışma dahilinde incelenen titreşim türleri ve buna karşılık gelen frekans değerleri gösterildi. Band frekansları bandların ağırlık merkezleri üzerinden değerlendirilerek

pik yüksekliğinin %80'i alınarak hesaplandı. KAR-lipit etkileşimi; CH_3 simetrik, CH_2 asimetrik, CH_2 simetrik, C=O gerilme bandı ve PO_2^- asimetrik gerilme bandlarının frekans değerlerinin ölçülen tek sıcaklıktaki değişimi incelendi. Ayrıca, PC ve SM model zar sistemlerinin iç dinamiği hakkında bilgi edinmek için CH_2 asimetrik ve CH_2 simetrik bandları için, farklı sıcaklıklardaki band genişlikleri hesaplandı.

Tablo 2.1. PC ve SM lipitlerinin karakteristik IR bandları ve karşılık gelen dalga sayıları

Frekans (cm^{-1})	Fonksiyonel Grup
2960	CH_3 asimetrik gerilme
2920	CH_2asimetrik gerilme
2850	CH_2 simetrik gerilme
1730	C=O gerilme
1080	PO^-_2simetrik gerilme

2.2.2. DSC çalışmaları

DSC çalışmaları için örnekler Shimadzu DSC 60-Plus cihazı ile tarandı. DSC çalışmaları için değişik konsantrasyonlarda KAR (%1, %5, %10, %20 ve %30 mol) içeren ve içermeyen model zar sistemleri, FT-IR örneklerini hazırlamada kullanılan yöntemle hazırlandı. Kalorimetrik analizler için 2,5 mg lipit içeren ince filmler fosfot tampon çözeltide çözülerek DSC çekimleri için hazır hale getirildi. DSC çekimleri 35µl'lik miktarlarda örnek içeren 50µl'lik özel alüminyum panlar kullanılarak gerçekleştirildi. DSC çekiminde sıcaklık aralığı yine kullanılan lipitlerin faz geçiş sıcaklığına göre belirlendi. SM için DSC ısıtma hızı dakikada 0,5 ˚C ve çalışılan sıcaklık bölgesi 25˚C ile 45˚C arasında iken PC için çalışılan sıcaklık bölgesi -35˚C ile 25˚C arasındadır. Değişik konsantrasyonlarda KAR (%1, %5, %10, %20 ve %30 mol) içeren ve içermeyen iki farklı lipit lipozomlarının her biri için yapılan taramalar 3 tekrar olarak gerçekleştirildi. Tüm DSC sonuçlarının T_m değerleri ve entalpi değerleri DSC-COM-60 analiz programı ile ölçüldü. Kooperatiflik CU ve entalpi Δ_{HC} değerleri, aşağıdaki Denklem (2.1) ve (2.2) ile hesaplandı (Turker ve diğ., 2011; Türker-Kaya ve diğ., 2017):

Koperatifi birimi = $\Delta H^{\circ}_{vH} / \Delta H^{\circ}_{cal}$ (2.1)

ΔH°_{cal}: Faz geçiş sıcaklığı altındaki alan

ΔH°_{vH}: van Hoff entalpi

$\Delta H^{\circ}_{vH} = 6{,}9T_m^2 / [(T_2 - T_1) / 2]$ (2.2)

T_m: Faz geçiş sıcaklığın merkez noktası (^oC)

T_1; Faz geçişleri için başlangıç sıcaklığı (^oC)

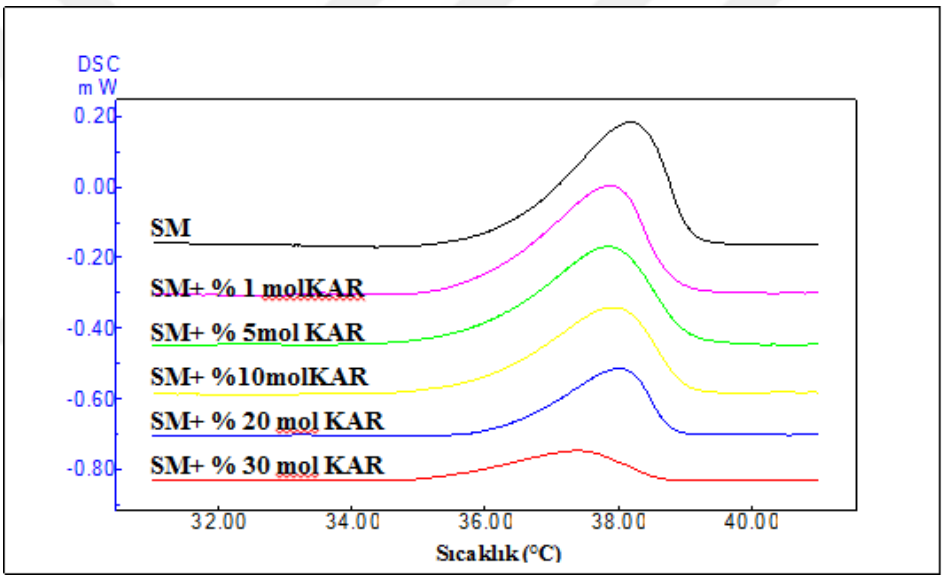
T_2: Faz geçiş için son sıcaklık (^oC)

3. BULGULAR

Bu deneysel çalışmada FT-IR ve DSC teknikleri kullanmıştır.

3.1. DSC Çalışmaları

%1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren ve içermeyen SM ile PC lipozom sistemlerinde DSC tekniği kullanılarak T_m, CU ve Δ_{HC} parametreleri üzerinde KAR'ın etkisi incelendi.



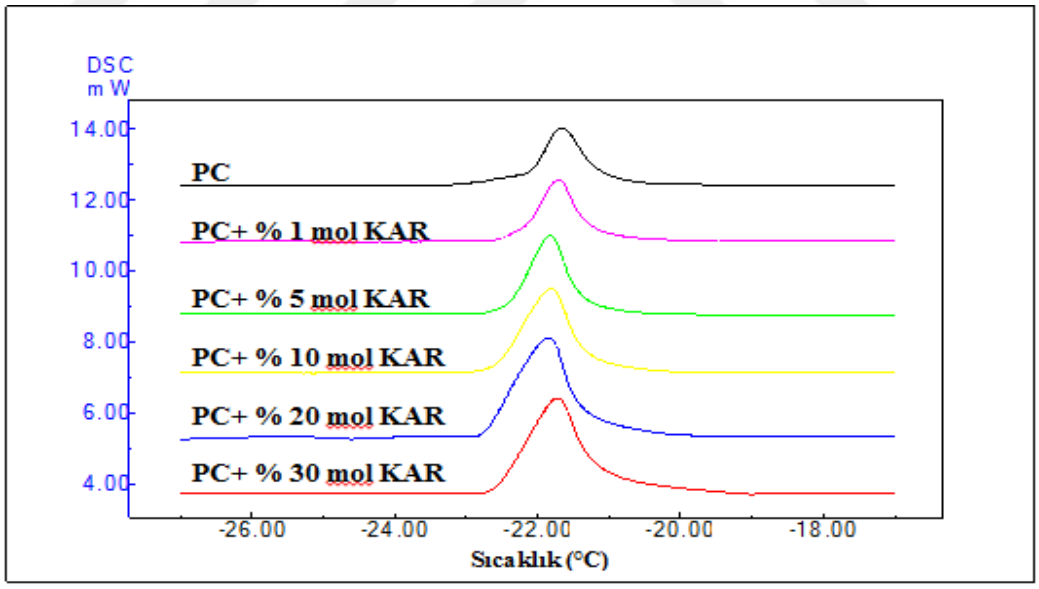
Şekil 3.1. %1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren ve içermeyen SM lipozomunun DSC termogramları

Şekil 3.1'de saf SM ve değişik KAR konsantrasyonları içeren SM lipozomlarının termogramları görülmektedir. Saf SM lipozom örneği için T_m değeri 38,18 °C olarak belirlendi. Saf SM için gözlenen bu T_m değeri literatüre (~37°C) uygundur (Alves ve diğ., 2016). Literatüre uygun olarak tespit edilen T_m değeri hazırlanan lipozom örneklerinin saflığının çalışmaya uygun olduğunu herhangi bir kimyasal farklılığa neden olmadığını göstermektedir. Şekil 3.1'de görüldüğü üzere, SM lipozomları için artan KAR konsantrasyonuna bağlı olarak faz geçiş eğrilerinde genişleme ve T_m değerinin daha düşük sıcaklıklara gerilediği tespit edildi.

Tablo 3.1. %1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren ve içermeyen SM lipozomları için Tm (˚C), Δ_{HC} (mcal) ve CU değerleri

Örnek (%mol)	T_m (˚C)	Δ_{HC} (mcal)	CU
SM	38,18	17,35	339,02
SM +%1 mol KAR	37,87	16,36	1163,14
SM + %5 molKAR	37,86	15,68	674,38
SM + %10 molKAR	37,92	13,09	409,71
SM + %20 molKAR	38	9,72	337,31
SM +%30 molKAR	37,36	4,14	331,73

Tablo 3.1, SM lipozomuna eklenen farklı konsantrasyonlarda (% 1-5-10-20-30 mol) KAR'ın, T_m, Δ_{HC} ve CU değerlerini göstermektedir. Görüldüğü gibi KAR'ın saf SM lipozomlarına eklenmesi ile T_m değeri tüm KAR konsantrasyonlarında düşük sıcaklıklara kayma olduğu görülmektedir. Δ_{HC} değeri, SM lipozomlarına eklenen KAR'ın artan konsantrasyonlarına bağlı olarak azaldığı görülmektedir. KAR'ın %1-5-10 mol konsantrasyonlarında CU değeri kademeli olarak artarken %20-30 mol konsantrasyonunda CU değerlerinde azalma olduğu görülmektedir.



Şekil 3.2. Saf PC ve %1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren PC lipozomunun DSC termogramları

Şekil 3.2'de saf PC ve değişik KAR konsantrasyonları içeren PC lipozomlarının termogramları görülmektedir. Saf PC lipozom örneğinin T_m değeri -21,66 °C olarak tespit edildi. Yine aynı şekilde SM örnekleri için olduğu gibi saf PC için gözlenen T_m değeri literatüre (-20°C) uygundur (Bruggemann ve diğ., 1938; Fajardo ve diğ., 2011).

Literatüre uygun olarak tespit edilen T_m değeri hazırlanan lipozom örneklerinin saflığının çalışmaya uygun olduğunu herhangi bir kimyasal farklılığa neden olmadığını göstermektedir. Şekil 3.2'de görüldüğü üzere, PC lipozomları için artan KAR konsantrasyonu bağlı olarak faz geçiş eğrilerinin genişlediği ve T_m değerinin küçük ölçüde daha düşük sıcaklıklara kaydığı gözlendi.

Tablo 3.2. PC ve %1, %5, %10, %20, %30 mol KAR içeren ve içermeyen PC lipozomları için T_m (˚C), Δ_{HC} (mcal) ve CU değerleri

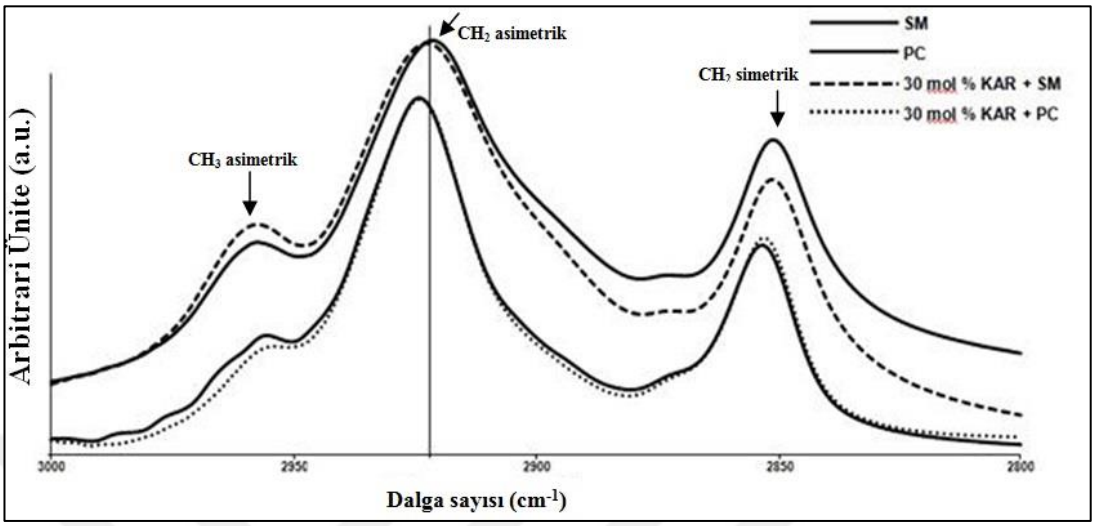
Örnek (%mol)	T_m (˚C)	ΔHc (mcal)	CU
PC	-21,66	58,86	91,66
PC + %1 mol KAR	-21,71	60,04	32,89
PC + %5 mol KAR	-21,82	79,34	29,69
PC + %10 mol KAR	-21,82	85,81	55,48
PC + %20 mol KAR	-21,85	135,29	72,64
PC + %30 mol KAR	-21,73	123,83	100,31

Tablo 3.2'de PC lipozomuna eklenen farklı konsantrasyonlarda (% 1-5-10-20-30 mol) KAR'ın, T_m, Δ_{HC} ve CU değerlerini göstermektedir. Görüldüğü gibi KAR'ın saf PC lipozomlarına eklenmesi ile T_m değeri saf PC'ye göre tüm KAR konsantrasyonlarında düşük sıcaklıklara kayma olduğu görülmektedir. KAR'ın bütün konsantrasyonlardaki sıcaklık geçişlerin saf SM lipozomunun T_m değeri olan -21,66°C civarında olduğu görülmektedir. Δ_{HC} değeri, PC lipozomlarına eklenen KAR'ın artan konsantrasyonlarına bağlı olarak arttığı görülmektedir. CU değeri KAR'ın en yüksek konsantrasyonunda (%30 mol) artış gösterirken KAR'ın azalan konsantrasyona (%1-5-10-20 mol) bağlı olarak azaldığı görülmektedir.

3.2. FT-IR Spektroskopisi Çalışmaları

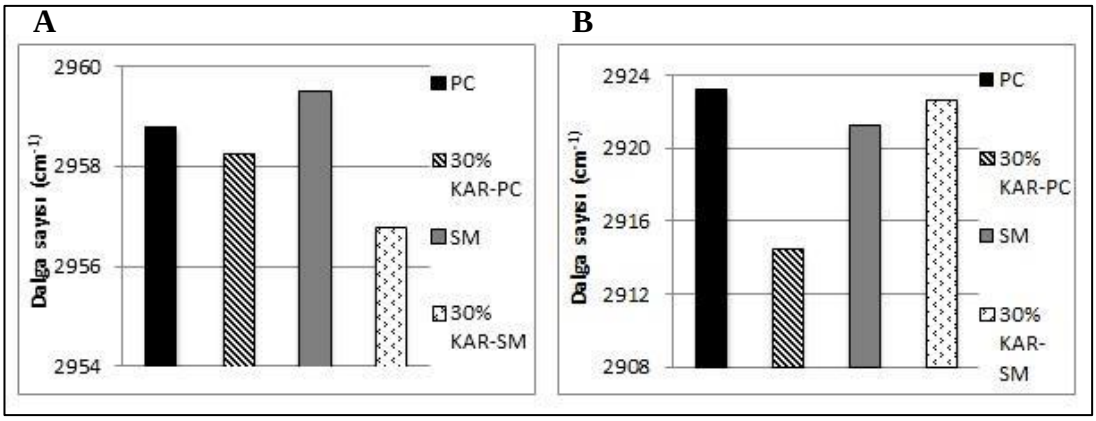
Şekil 3.3 SM ve PC lipitlerinin sıvı-kristal fazına karşılık gelen bir sıcaklıkta, 3000-2800 cm^{-1} dalga boyu aralığındaki C-H gerilme bölgesinde saf ve %30 mol KAR içeren ve içermeyen lipozomlarının CH_2 asimetrik gerilme bandına göre normalize edilmiş FTIR spektrumlarını göstermektedir. Şekil 3.3'de KAR'ın C-H gerilme spektrumlarının frekans ve band genişliği değerlerinde değişikliğe neden olduğunu

görsel olarak göstermektedir. Ancak normalize spektrumlardaki gerçek varyasyonları yansıtmadığından spektrumların detaylı analizleri yapıldı.



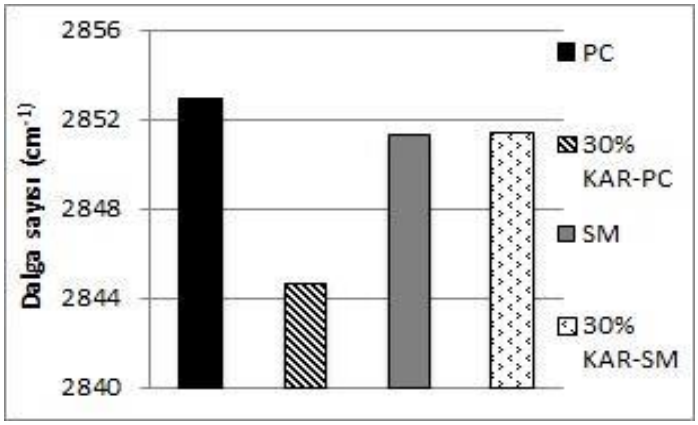
Şekil 3.3. 3000-2800 cm^{-1} dalga boyu aralığında (spektrumlar, CH_2 asimetrik gerilme bandına göre normalize edilmiştir) her bir lipitin sıvı-kristal fazlarındaki %30 mol KAR konsantrasyonunu içeren ve içermeyen PC ve SM lipozomlarının FT-IR spektrumları

DSC analizlerinden elde edilen sonuçlara bağlı olarak, tüm konsantrasyonlarda KAR'ın PC ve SM lipitleri ile etkileşime girdiğini gözlemlendi. DSC sonuçlarına göre her iki lipitte de en büyük etkiyi %30 mol KAR içeren lipozom sistemlerine olduğunu tespit edildi. Bu nedenle KAR'ın lipitlerin hangi bölümüyle etkileşebileceği ve KAR'ın lipit düzeni ve dinamiği üzerine etkileri hakkında daha ayrıntılı bilgi edinmek için FT-IR tekniğini uygulandı. FT-IR çalışmaları kapsamında, %30 mol KAR içeren lipozom sistemleriyle çalışıldı. FT-IR spektrumları, ilgili lipitin sıvı-kristal fazına karşılık gelen sıcaklıkta saf ve %30 mol KAR içeren SM ve PC lipozomları için elde edildi. Özellikle CH_3 asimetrik gerilme (2960 cm^{-1}), CH_2 asimetrik gerilme (~2920 cm^{-1}), CH_2 simetrik gerilme (~2850 cm^{-1}), C=O gerilme (~1740 cm^{-1}) ve PO_2^- simetrik gerilme (~1080 cm^{-1}) bandlarının frekanslarındaki değişiklikler spesifik olarak analiz edildi. Ayrıca, CH_2 asimetrik gerilme bandının band genişliği değeri hesaplandı.

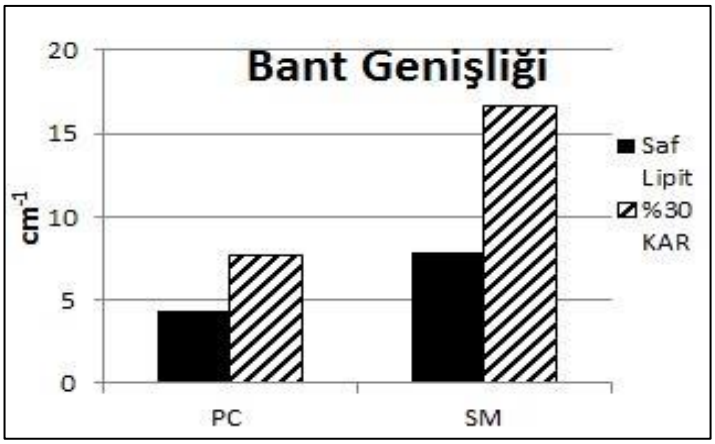


Şekil 3.4. %0-30 mol KARkonsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların (A) CH_3 asimetrik gerilme (~2960 cm^{-1}) ve (B) CH_2 asimetrik gerilme bandlarının (~2920 cm^{-1}) frekans değerleri

Şekil 3.4 (A)'da SM ve PC lipozom sistemlerine %30 mol KAR eklenmesi ile her iki lipitin sıvı kristal fazlarında CH_3 asimetrik bandın frekans değerini aşağı değere kaydırdığı ve en fazla da SM lipozomunu etkilediği görüldü. Şekil 3.4 (B), SM ve PC lipozom sistemlerine %30 mol KAR eklenmesi sonucu saf lipozoma göre CH_2 asimetrik band frekans değerindeki değişimleri göstermektedir. Şekilde görüldüğü üzere, KAR PC lipitinde söz konusu frekansta anlamlı azalmaya neden olurken SM frekansında artmaya neden olduğu bulundu. %30 mol KAR içeren ve içermeyen PC ve SM lipozom sistemleri için, sıvı-kristal faza denk gelen bir sıcaklıkta CH_2 asimetrik gerilme bandın band genişliği hesaplandı. KAR hem PC hem de SM lipitlerinin band genişliklerinde artışa neden olmuştur (Şekil 3.6).

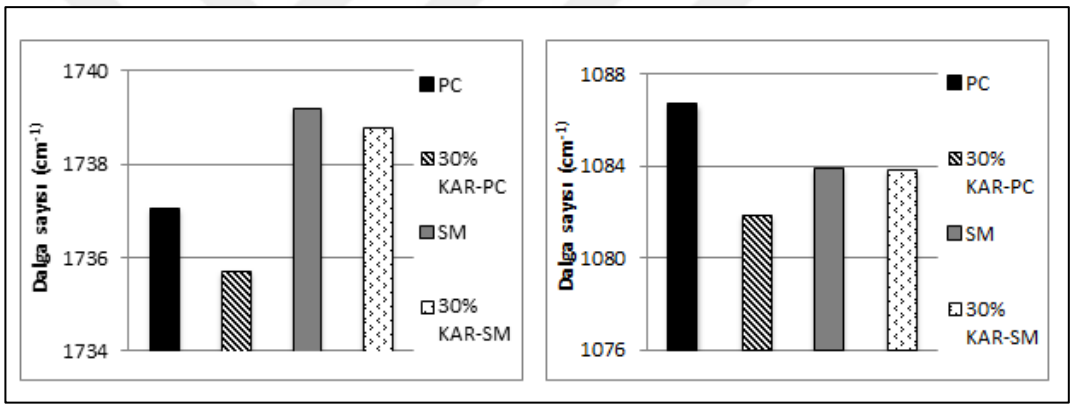


Şekil 3.5. %0-30 mol KAR konsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların CH_2 simetrik gerilme band (~2850 cm^{-1}) frekans değişiklikleri



Şekil 3.6. %0-30 mol KAR konsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların CH_2 asimetrik gerdirme modundaki sıcaklık bağımlı band genişliği (cm^{-1}) değişimleri

A B



Şekil 3.7. %0-30 mol KAR konsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların (A) C=O gerdirme bandı (~1740 cm^{-1}) ve (B) PO_2^- asimetrik gerilme bandlarının (~1080 cm^{-1}) frekans değişiklikleri

Şekil 3.5 sırasıyla %0-30 mol KAR konsantrasyonlarını içeren PC ve SM lipozomların CH_2 simetrik gerilme (~2850 cm^{-1}) bandlarının sıvı-kristal fazına karşılık gelen sıcaklıklarda yapılan analiz sonucu, PC lipozomlarına KAR eklenmesi ile CH_2 simetrik band frekansında aşağı doğru bir kaymaya neden olurken SM lipozomu için, KAR, CH_2 simetrik gerilme bandının frekans değerlerinde hafif bir artışa neden olur. C=O gerilme bandının (~1740 cm^{-1}) frekansındaki değişiklikler, fosfolipitlerin gliserol omurgasındaki hidrojen bağlanmalarını durumunu izler. Şekil 3.7 (A) da görüldüğü üzere, %30 mol KAR içeren ve içermeyen, PC ve SM lipozomların C=O gerilme bandının (~1740 cm^{-1}) sıvı-kristal fazına karşılık gelen sıcaklıklarda yapılan analiz sonucu, her iki lipit için de C=O gerilme band frekansını daha düşük değerlere

kaymaktadır. İki lipit arasında KAR C=O gerilme band frekansı üzerinde en büyük etkiyi PC lipozomunda göstermiştir.

Saf PC ve SM lipozomuna %30 mol KAR'ın eklenmesi ile PO^{-}_{2} asimetrik band (~1080 cm^{-1}) frekans değerinin saf PC ve SM frekans değerlerine kıyasla (Şekil 3.7 (B)) azalmaya neden olduğu tespit edildi. İki lipit arasında KAR PO^{-}_{2}gerilme band frekansı üzerinde en büyük etkiyi C=O bandında olduğu gibi PC lipozomunda göstermiştir.

4. TARTIŞMA

Tüm dünyada en ölümcül kanser türü olan akciğer kanseri tedavisi için anti-kanser ilaçların geliştirilmesine yönelik çalışmalar uzun yıllardır devam etmektedir. İlaç geliştirme çalışmalarında hücre zarı lipitleri çok önemli rol oynarlar çünkü kanser ilaçları hücre içi hedeflerine ulaşabilmeleri ve hücresel cevaplarını gerçekleştirebilmeleri için hücre zarı lipitleri ile etkileşime girmek zorundadırlar (Peetla ve diğ., 2013). Hücre kültürü ve in vivo çalışmaları göstermiştir ki; lipitlerinin biyofiziksel parametrelerindeki değişiklikler izlenerek kanser ilaçlarının hücre zarı lipitleri etkileşmelerinin ayrıntılandırılması onların farmakokinetik (hücre içine taşınma, dağılım ve birikim) ve farmakolojik özelliklerini değerlendirmek açısından çok önemlidir (Feng ve diğ., 2002; Pallares ve diğ., 2000; Peetla ve diğ., 2013). İlaç-zar etkileşimleri incelenirken sonuçların daha kolay değerlendirilmesi açısından bileşenleri kontrollü olarak değiştirilebilen hücre zarı yapısına benzer model zar sistemlerinin kullanılması genel bir yaklaşımdır (Korkmaz ve diğ., 2005; Severcan ve diğ., 2005a ve 2005b; Şahin ve diğ., 2005; Toyran ve diğ., Karp, 1999; Türker ve diğ., 2011). Kanser ilaçlarının hücre zar lipitleri ile etkileşimlerinin ayrıntılı olarak belirlenmesi onların hücre içine alınım mekanizmaları (difüzyon ya da aktif transport gibi), hücre içine alınabilen konsantrasyonları, sağlıklı hücreye verebilecek olası toksik konsantrasyonları, hücre zar sistemi içindeki lokasyonu gibi önemli özellikleri hakkında bilgiler verir (Baciu ve diğ., 2006; Kepczynski ve diğ., 2006). Bu doğrultuda bu tez çalışmasında kemoterapötik ajan olan KAR'ın SM ve PC lipozomlar üzerindeki etkileri, FT-IR ve DSC yöntemleri kullanılarak araştırıldı. Bu sayede, KAR'ın biyolojik zar sistemlerinde yaygın olarak bulunan PC ve SM lipitleri ile ne tarz etkileşmelere girdiği ve zar sistemleri üzerinde yaratacağı olası etkiler ile ilgili bilgiler elde edinildi.

KAR amfipatik bir yapıya sahiptir. Zar lipitleri ise hidrofilik bir kafa grubu ve hidrofobik bir kuyruk kısmından oluşurlar. Bu kimyasal yapılara bağlı olarak KAR'ın PC ve SM lipitleri ile etkileşime girmesi beklenmektedir. Fakat her iki lipitin polar

kafa büyüklüğü ve zincir uzunlukları farklı olduğundan, KAR'ın her iki lipitle farklı derecede etkileşime girmesi söz konusudur.

Hücre zarıyla etkileşen herhangi bir ajan hücre zar lipitlerinin yapı ve fonksiyonlarında değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (Yeagle ve diğ., 2005). Bu değişikliklerin tespit edildiği yöntemlerden biri olan ve biyolojik yapıların termal ve buna bağlı termodinamik özellikleri hakkında hassas bilgiler veren DSC tekniği, ilaç-lipit etkileşmesinin araştırılmasında ilaçların hücre zarı faz geçiş özellikleri üzerine etkilerini araştırmak için kullanılır (Castelli ve diğ., 2001; Kazancı ve diğ., 2001; Korkmaz ve diğ., 2005; Inoue ve diğ., 2001; Severcan ve diğ., 2015; Şahin ve diğ., 2007; Turker ve diğ., 2011). Bu çalışmada DSC, farklı konsantrasyonlardaki KAR'ın SM ve PC lipozomlarının faz davranışı üzerine etkilerini araştırmak için kullanıldı. Bir ampifilik molekül olarak, KAR hem polar hem de polar olmayan kısımlara sahiptir ve zarın iki yüzeyinde de birikebilir. DSC verilerine göre, artan KAR konsantrasyonlarında, SM ve PC lipozomlarının T_m'yi daha düşük sıcaklıklara kaymış olması (Şekil 3.1, Şekil 3.2, Tablo 3.1, Tablo 3.2) lipit sisteminin düzensizliğine karşılık gelmektedir (Severcan ve diğ., 2005). PC ve SM lipit sistemlerinin KAR'ın varlığı ile stabil durumdan stabil olmayan duruma geçtiği yorumu yapılabilir. Bu durum, KAR'ın etkisi ile PC ve SM lipitlerinin yağ asitleri kısımlarında bulunan bazı trans izomerlerin gauche izomerlerine değişiminin daha düşük sıcaklıklarda meydana geldiği anlamına gelmektedir (Ergun ve diğ., 2014; Flach ve diğ., 1993; Hianik, 2006; Severcan,1997; Severcan ve diğ., 2005; Sahin ve diğ., 2013; Toyran ve diğ., 2003; Türker-Kaya ve diğ., 2017). SM'nin PC'den farklı olarak kuyruk kısmında çift bağ bulundurması (Şekil 1.5) SM'nin KAR ile hidrojen bağı kurma potansiyelinin daha fazla olduğu anlamına gelebilir (Brown ve diğ., 1998; Peetla ve diğ., 2013; Yeagle ve diğ., 2005). Bu durum da KAR'ın SM'nin faz değişim parametrelerinde PC'ninkinden daha fazla değişikliğe neden olması yani PC'ye göre SM ile neden daha fazla etkileşime girdiğine bir açıklama olarak kabul edilebilir. Her iki lipit için genişleyen faz dönüşüm eğrileri ve T_m değerinin düşük değerlere kayması, KAR'ın SM ve PC lipozom sistemlerinde homojen dağılmadığı, lipit paketlenmelerinde değişikliklere yol açtığı ve bunun sonucunda düzensiz bir sistem oluşturduğu anlamına gelebilir (Şahin ve diğ., 2005; Türker-Kaya ve diğ., 2017; Yeagle ve diğ., 2005). Tablo 3.1'de SM lipozomları için KAR konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak Δ_{HC} değerlerinin

azalması, ilacın zar içerisinde kendine yer açabilmek için zara karşı uyguladığı bir kuvvet olduğu anlamına gelebilir (Bilge ve diğ., 2013; Türker-Kaya ve diğ., 2017). Zar yapısında bulunan lipit bileşenlerinin bir arada tutulmasını sağlayan kuvvet genellikle fiziksel kuvvetlerdir ve bunlar hidrojen bağlanmaları, Van der Waals etkileşimleri ve elektrostatik çekimlerdir (Yeagle, 2005). SM lipozomunda ana geçiş eğrisindeki genişleme ile birlikte, T_m sıcaklığının, CU ve Δ_{HC} değerlerinin azalması, ilacın hidrofobik açil zincirleri arasındaki Van der Waals etkileşimlerini bozduğunu anlamına gelebilir. Bu da lipitler arası iş birliğinin azaldığı, dolayısıyla sistemin daha düzensiz hale geçtiği ayrıca KAR'ın, lipitlerin iki katmanının hidrofobik çekirdeğine nüfuz ettiği ve gauche konformerlerinin sayısını arttırdığı anlamına gelebilir (Ergun ve diğ., 2014; Korkmaz ve diğ., 2005; Şahin ve diğ., 2007). Varılan bu yorum FT-IR analizlerinde CH_2 asimetrik ve simetrik band frekans değişiklikleri verileri ile de uyum içerisindedir (Şekil 3.3 (B)).

Literatürde KAR ile ilgili moleküler düzeyde şimdiye kadar herhangi bir araştırma yapılmamıştır. Kemoterapide KAR'a göre daha çok tercih edilen, benzer kimyasal yapıya ve aynı etki mekanizmasına sahip platin bazlı bir anti kanser ilacı olan sisplatin ile birçok araştırma bulunmaktadır. Örneğin sisplatin ile SM ve PC lipozomlarının farklı bufferlardaki ilaç-lipit etkileşimlerinin araştırıldığı bir çalışmada PC ve SM'nin sisplatin ile farklı derecelerde etkileşime girdiğini DSC analizleri sonucunda elde edilmiştir. PC ana faz geçiş eğrisinde önemli bir genişleme olmadığı ve zarı daha rijit yaptığı bilgisi elde edilmiştir (Speelmans ve diğ., 1996). Literatürdeki bu bilgi çalışmanın DSC sonuçlarıyla (Şekil 3.2) uyum içerisindedir.

PC lipozomunun artan KAR konsantrasyonuna bağlı olarak ana faz geçiş eğrisinde büyük bir oranda genişleme görülmemesi KAR'ın zarın hidrofilik kısmına nüfuz ettiğini ve bu nedenle fosfolipit zincirleri arasındaki Van der Waals etkileşimlerini büyük ölçüde yok etmediğini göstermektedir. Bunun sonucunda lipitlerin aynı sıcaklıkta eridiği ve faz geçişinin hep birlikte yaparak işbirlikçi bir geçiş meydana getirdikleri söylenebilir. Dolayısıyla faz geçişine daha fazla lipit katılmasına yol açtığı söylenebilir (Ceckler ve Cunningham, 1997; Goldstain, 1984). DSC veri analizleri sonucuna göre en büyük etkinin %30 mol konsantrasyonda olduğu bilgisi elde edilmiştir. Ana faz geçiş eğrisindeki ufak genişleme T_m değerindeki azalma ile birlikte Δ_{HC} ve CU değerlerindeki artış (Tablo 3.2), KAR'ın lipit çift tabakasının daha çok dış

yüzeyi ile etkileştiği anlamına gelebilir (Ergun, 2014; Korkmaz ve Severcan, 2005). KAR'ın PC lipitlerinin hidrofilik kısmına nüfuz etmesiyle birlikte hidrofobik açil zincirleri arasındaki Van der Waals etkileşimlerinin daha fazla kurulmasına, böylelikle, lipitler arası iş birliğin artmasına, dolayısıyla sistemin daha düzenli hale geçmesine, trans izomerlerinin sayısının artmasına neden olduğu yorumu yapılabilir (Ergun ve diğ., 2014; Korkmaz ve diğ., 2005; Şahin ve diğ., 2005). Varılan bu yorum FT-IR analizlerinde CH_2 asimetrik ve simetrik band frekans değişiklikleri verileri ile de uyum içerisindedir (Şekil 3.3 (B), Şekil 3.4 (A)).

DSC termogramlarından elde edilen termotropik özelliklerdeki değişimlerin bir diğer nedeni, lipitlerin kafa gruplarının hidrojen bağlanmalarının artması veya azalması olarak literatürde belirtilmiştir (Yeagle ve diğ., 2015). T_m değerindeki azalmalar hidrojen bağlanmalarının arttığı ve lipitlerin kafa grupları ile su moleküllerinin hidrojen atomları arasında daha fazla bağ oluştuğu söylenebilir. Artan hidrojen bağlanma durumu, lipit çift tabakası ve diğer komşu moleküller arasındaki fiziksel etkileşim gücünün azaldığını ve lipit kafa gruplarının yeni oluşturacağı bağlanmalar için bir güçlüğe neden olabileceğine işaret eder (Yeagle ve diğ., 2015). PC'nin silindirik şekli nedeni ile paketlenmesi daha sık olur, bu da KAR'ın lipit çift tabakasının içine girmesini zorlaştırabilir (Peetla ve diğ., 2013; Yeagle ve diğ., 2015). KAR'ın, PC lipozomundaki lipitlerin sıkı paketlenmelerinden kaynaklı olarak daha çok dış yüzeyde toplanmış olduğu, bu nedenle de DSC analiz sonuçlarında etkisinin daha az gözlemlendiği sonucuna varılabilir. Bu bağlamda, KAR'ın varlığı ile hem PC hem de SM lipozomlarının T_m değerlerinde gözlenen azalmanın bir diğer nedeni, söz konusu ilacın lipitlerin dış yüzeyinde birikmesinden kaynaklı olabilir (Kazancı ve diğ., 2007; Türker-Kaya ve diğ., 2017). Bu durum FT-IR analizleri ile ayrıntılı olarak detaylandırıldı ve KAR'ın lipitlerin hem hidrofilik hem de hidrofobik kısımları ile etkileşimleri desteklendi (Şekil 3.7).

DSC çalışmalarından elde edilen, KAR'ın SM ve PC lipitlerinin hidrofobik ve hidrofilik kısımları ile etkileştiği sonucunu detaylandırmak adına değişimin en yüksek görüldüğü KAR konsantrasyonu (%30 mol) ile FT-IR tekniği çalışıldı. Model zar sistemlerinde incelenen lipitlerin, C-H bandında meydana gelen frekans değişimleri, lipit düzeni (trans veya gauche izomerizasyon durumu), lipit dinamiği ve faz davranışı hakkında bilgiler vermektedir (Şahin ve diğ., 2005; Toyran ve diğ., 2003; Türker ve

dığ., 2011; Türker-Kaya ve dığ., 2017). Analiz edilen ilk band CH_3 asimetrik bandı, zar sisteminin derin kısımları, yani açil zincirlerinin en uç kısımları hakkında bilgi verir (Severcan ve dığ., 2000a). Frekansın değerinin artması zarın iç kısımlarındaki açil zincirin hareket serbestliğinin artması dolayısı ile zarın düzensizliğinin artması anlamına gelir (Kazancı ve dığ., 2001; Umemura ve dığ., 1980). %30 mol KAR ile birlikte PC ve SM lipitlerinde sıvı kristal fazda gözlemlenen, CH_3 asimetrik bandının frekansındaki azalmanın PC'ye göre SM'de daha fazla olması (Şekil 3.4 A), KAR'ın SM lipitlerinin CH_3 grupları ile etkileşiminin daha yüksek olabileceği yorumunu getirmektedir (Şahin ve dığ., 2005). Bu etkileşim sonucu KAR'ın lipit zincirlerinde derin bölümlere yerleştiği ve zarın iç kısmının düzenini arttırdığı anlamına gelir (Severcan ve dığ., 2000a). Bu durum lipitlerin sahip oldukları farklı kimyasal yapılardan kaynaklanabilir. PC lipiti silindirik bir şekle sahipken, SM daha büyük bir kafa grubuna ve daha kısa kuyruğa sahip olduğu için koni şeklinde bir yapısı vardır (Peetla ve dığ., 2013). Buna karşılık SM'nin PC'ye göre daha kısa kuyruk kısmına sahip olması KAR ile daha yüksek etkileşime girmesi beklenir. Bu bilgi değerlendirildiğinde CH_3 asimetrik band frekansının SM değeri PC değerine göre alt değere daha fazla kaymış olmasının nedenini açıklayabilir (Peetla ve dığ., 2013). Ayrıca SM kanser hücre zar yapısında yüksek oranda bulunur bu da zarın daha akışkan olmasına yol açar (Janmey ve Kinnunen, 2006). KAR'ın SM lipitinin iç kısımlarını düzenli hale getirmesi zar akışkanlığında bir azalma olabileceği yorumu yapılabilir.

CH_2 asimetrik ve CH_2 simetrik bantlarının frekans değişimleri ise, lipitlerin T_m davranışı ve lipit düzeni (trans veya gauche izomerizasyon durumu) hakkında bilgi verir. (Bilge ve dığ., 2013; Severcan ve dığ., 2000a; Şahin ve dığ.,2005; Türker ve dığ., 2011). Frekansta gözlemlenen yüksek değerlere doğru kayma, gauche konformasyonlarının sayısındaki artmayı, frekansta meydana gelen azalma ise gauche konformasyonları sayısındaki azalmayı ve trans konformasyon sayısındaki artmayı göstermektedir (Ergün ve dığ., 2014; Şahin ve dığ., 2007; Toyran ve dığ., 2013; Türker ve dığ., 2011). CH_2 asimetrik ve CH_2 simetrik bantlarının frekans analizinden elde edilen verilere göre, %30 mol KAR eklenmesi ile PC lipitinde gözlemlenen, iki band frekasındaki azalma, gauche konformasyonlarının sayısının azalmasına, trans konformasyonlarının sayısının artmasına ve sistemin açil zincir (hidrokarbon zincir) düzeninin artmasına neden olduğu söylenebilir (Turker-Kaya ve dığ., 2017; Yeagle

2016). Aynı zamanda, CH_2 gerilme band frekansındaki değişimler, lipit moleküllerinin CU parametresi ile de ilgilidir ve lipit zincirleri arasındaki bağlanmaların artması ise lipit molekülleri arasındaki Van der Waals bağlanmasını arttırıcı etkisi ile bağdaştırılabilir (Bilge ve diğ., 2014; Turker-Kaya ve diğ., 2017). Ayrıca yukarıda belirtildiği gibi PC lipitinin kimyasal yapısı ve sahip olduğu silindirik şekli lipitlerin sıkı paketlenmesine neden olduğu için KAR, lipozomun iç kısımlarına yani hidrofobik kuyruğa yerleşemeyebilir. Buna bağlı olarak KAR'ın PC lipozom sisteminde, yağ asitleri arasındaki Van der Waals bağları ve hidrofobik etkileşimlerini yeteri kadar bozmadığı yorumu yapılabilir. Bu durum lipitlerin aynı sıcaklıkta jel fazdan sıvı-kristal faza geçtikleri ve faz geçişinin hep birlikte meydana gelerek iş birlikçi bir geçiş meydana getirdikleri anlamına gelebilir (Türker-Kaya ve diğ., 2016). FT-IR verilerinden elde edilen bu sonuçlar, KAR ve PC lipozomlarından elde edilen DSC CU değerleri ile de uyum içerisindedir (Tablo 3.2). PC lipitinin aksine, SM lipidinde sıvı kristal fazda gözlemlenen, CH_2 asimetrik ve CH_2 simetrik band frekans değerlerinin yüksek dalga sayısına kayması gauche sayısındaki artıma yani lipit açil zincirinin esnekliğinin artmasına, diğer bir deyişle sistemin düzensizliğinin artmasına karşılık gelir (Şahin ve diğ., 2016; Yeagle 2008). KAR'ın SM lipozom sisteminde lipitleri daha düzensiz hale getirmesi, KAR'ın etkisini, yağ asitleri arasındaki Van der Waals bağları ve hidrofobik etkileşimleri azaltması ile gerçekleştirdiği yorumunu getirebilir (Peetla ve diğ., 2013; Türker-Kaya ve diğ., 2017).

C=O ester ve PO_2^- asimetrik gerilme bantlarının frekanslarındaki değişimler bu grupların etrafındaki hidrojen bağlanmaları hakkında bilgiler vermektedir (Korkmaz ve diğ.,2005; Şahin ve diğ., 2016; Şahin ve diğ., 2007; Severcan ve diğ., 2005; Türker ve diğ., 2014; Türker ve diğ., 2011; Türker-Kaya ve diğ., 2017). C=O ester bandı zar sisteminin sulu kısma yakın, lipitlerin gliserol omurgasından kaynaklanmaktadır (Türker ve diğ., 2011; Türker-Kaya ve diğ., 2017). Fosfolipitlerin kafa gruplarına yakın bölgedeki gliserol iskeletinin hidrojen bağlanmalarını incelemek için C=O ester gerilme bandındaki sonuçlar değerlendirilmelidir (Şahin ve diğ., 2016; Türker-Kaya ve diğ., 2017). KAR varlığı ile C=O ester gerilme bandının frekansının düşmesi yeni hidrojen bağlanmalarının gerçekleştiğine, frekansın yüksek değerlere kayması karbonil grubun hidrojen bağlanmalarının azaldığını yani serbest C=O gruplarının arttığını işaret etmektedir (Şahin ve diğ., 2014; Türker ve diğ., 2011; Türker-Kaya ve

dığ., 2017). Şekil 4.3'de görüldüğü üzere, %30 mol KAR içeren SM ve PC lipozom sistemleri için C=O band frekansının azalması, lipitin gliserol omurgasında yeni hidrojen bağlanmalarının oluşturduğu anlamına gelebilir. KAR ve SM hidrojen bağı kabul edici gruplara veya hidrojen bağ donör gruplarına sahipken, PC yalnızca hidrojen bağı kabul edici gruplara sahiptir. Bu da KAR'ın, SM ve PC lipitlerin özellikle hidrofilik grupları ile farklı derecede etkileşime girebileceği anlamına gelebilir. PC'nin SM'ye göre C=O grupları üzerinden KAR ile daha fazla hidrojen bağı kurduğu yorumu yapılabilir. Ayrıca oluşan bu hidrojen bağları KAR ile lipitin C=O grupları arasında ya da çevredeki su molekülleri ile C=O grupları arasında gerçekleştiği de söylenebilir (Türker ve diğ., 2014; Türker ve diğ., 2011). KAR'ın C=O grupları üzerindeki etkisi ilacın konsantrasyona bağlı olarak lipit paketlenmesini değiştirdiği anlamına da gelebilir (Peetla ve diğ., 2013; Şahin ve diğ., 2016; Türker ve diğ., 2014; Türker-Kaya ve diğ., 2017).

Lipit sistemlerinin kafa grubu gerilme bölgesinin hidrojen bağlanma durumu hakkında bilgi edinebilmek için PO_2^- asimetrik gerilme titreşim frekanslarının değerlerindeki değişimler incelendi. PO_2^- gerilme bandları lipitlerin kafa gruplarının hidrojen bağlanma durumu ile kuvvetli bir ilişki içindedir (Sahin ve diğ., 2016; Türker ve diğ., 2014; Yeagle, 2016). Söz konusu bandların dalga sayıları fosfat grupları ile suyun veya biyolojik moleküllerin hidrojen atomları arasındaki hidrojen bağlanmalarının varlığını belirlemesini sağlamaktadır (Casal ve Mantsch, 1984; Ergün ve diğ., 2014; Toyran ve diğ., 2003; Türker ve diğ., 2011). PO_2^- asimetrik gerilme band frekansının değeri incelendiğinde (Şekil 3.7, Tablo 4.7), saf PC lipozomuna %30 mol konsantrasyonunda KAR eklenmesi ile PO_2^- asimetrik gerilme band frekans değerinde azalma fosfat grubunun hidrojen bağlanmalarının artması anlamına gelir. Sıvı kristal fazda KAR eklenmesi ile PO^-_2band frekans değerlerinin azalması yine KAR'ın fosfolipitlerin fonksiyonel grubu olan polar bölgedeki kafa grupları ile ya da ortamda bulunan su molekülleri ile hidrojen bağı yaptığını işaret eder (Rosa ve diğ., 2015; Turker ve diğ., 2011). Diğer taraftan saf SM lipozomuna %30 mol konsantrasyonuda KAR eklenmesi ile yapılan analizler sonucunda PO_2^- asimetrik gerilme band frekans değerinde anlamlı bir değişikliğin tespit edilmemesi KAR'ın SM kafa grupları ile yüksek bir etkileşime girmediği sonucunu getirir (Yeagle 2016). Elde edilen bu verilerden KAR'ın ortamda yüksek konsantrasyonda olması SM ve PC lipitlerinde gliserol iskeleti ve fosfat kafa grupları ile farklı etkileşimlere girdiği söylenebilir (Yeagle, 2016). KAR'ın suda

çözünürlüğü, karbonil grupları ve fosfotidilkolinlerin açil zincirlerinin ilk C atomları ile birlikte bulunarak iki karbonil esteri ile hidrojen bağları oluşturduğu (Severcan ve diğ., 2005). Şekillerden (Şekil 3.7 (B)) görüldüğü gibi sıvı kristal fazda KAR ilavesi PC ve SM lipozomlarının PO^{-}_{2}asimetrik bandının frekansında azalmaya sebep oluşturması. Bu bize KAR ilavesinin, lipitlerin fosfat kafa gruplarının hidrojen bağı yapma kapasitesini arttırdığını gösterir (Türker-Kaya ve diğ., 2017). Yine lipitlerin C=O gruplarında da olduğu gibi bu hidrojen bağlanması PC ve SM moleküllerinin PO^{-}_{2} grupları ile KAR molekülünün N-H grubu veya çevredeki su ile PC ve SM lipitleri arasında meydana gelmiş olabilir (Turker ve diğ., 2011; Severcan ve diğ., 2005). Sonuç olarak, PC ve SM lipitlerinin sulu kısma yakın C=O grupları ile ve hidrofilik yapıdaki fosfat kafa grupları ile KAR'ın en yüksek konsantrasyonda hidrojen bağı yapma isteği, KAR'ın kimyasal yapısındaki hidrofilik karakterinden kaynaklı olabilir.

PC lipozom sisteminde görülen C=O band frekansındaki azalmanın SM lipozom sisteminkinden daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 4.3). Bu durumu da PC'nin daha küçük kafa grubuna sahip olmasından kaynaklanabilir. Çünkü küçük kafa grubuna sahip olan lipitler daha büyük kafa grubuna sahip olan lipitlere göre daha fazla bağ yapmak isterler (Peetla ve diğ., 2013). SM'nin daha büyük kafa grubu lipozomun dışında bir kalkan gibi durur bu da KAR'ın C=O grubuna daha az bağlanmasına neden olabilir. KAR'ın sudaki çözünürlüğü, bir hidrojen bağı (veya hidrojen bağları) oluşturma potansiyeli olduğunu düşündürmektedir, buna istinaden FT-IR sonuçları KAR'ın PC lipitlerinin fosfolipitlerin baş grupları ile hidrojen bağı oluşturduğunu ortaya çıkarmış olmasına rağmen söz konusu etki SM lipitleri ile gerçekleşmemiştir.

Hidrojen bağlanmalarının fosfolipitlerin karbonil ve fosfat kafa gruplarının ve su molekülleri ve oksijen molekülleri arasında olabileceği ve bu etkinin muhtemelen lipitlerin kafa gruplarının boyutunu etkileyen enzimlerin aktivasyonu sonucu olabileceği belirtilmiştir (Peetla ve diğ., 2013; Türker-Kaya ve diğ., 2017). Bu durum lipit paketlenmelerini ve bunlara bağlı olarak özellikle lipitlerin hidrofilik kısımları ile zar protein etkileşimlerini değiştirebileceği belirtilmiştir (Türker ve diğ., 2014).

KAR'ın PC lipozomunun daha çok dış yüzeyine nüfuz ettiği hem DSC hem de FT-IR verileri ile desteklenmiştir. Fakat PC lipozomunun DSC sonuçları ile kafa grubunu temsil eden C=O ve PO_2^- bantlarındaki kaymalar aynı büyüklükte görülmemiştir. Bunun nedeni, KAR'ın sulu ortamda lipitleri değil de daha çok su moleküllerini tercih etmesi olabilir. Söz konusu durum her iki lipit çeşidinin zar sistemi içerisinde

paketlenme derecesinde farklılıklara yol açtığının göstergesidir. KAR eklenmiş lipozomlarda faz geçiş eğrilerinde artan konsantrasyona bağlı olarak gerçekleşen genişleme, KAR'ın iki katmanlı zarın hidrofobik bölgesinde, yani açil zincirinin C_2-C_8 karbon atomlarının bulunduğu bölgede yer alması nedeni ile olabilir (Severcan ve diğ., 2000; Takahashi ve diğ., 1991; Turker ve diğ., 2011). İlaç zarın hidrofobik kısmına girerse, hidrofobik açil zincirler arasındaki van der Waals etkileşimlerini ve dolayısıyla hidrokarbon zincirleri arasındaki sıkı dolguyu bozarak faz geçiş eğrisinde genişlemeye neden olacaktır. KAR ilacının PC ve SM lipit sistemlerinin düzenini değiştirmesi, ajanın etkisini yağ asitleri arasındaki Van der Waals bağları ve hidrofobik etkileşimleri değiştirmesi ile gerçekleştirdiği yorumunu getirebilir. FT-IR ve DSC sonuçlarından elde edilen veriler ile KAR'ın SM ve PC lipitlerine etki ettiği söylenebilir.

FT-IR araştırmalarında, band genişliği varyasyonları sistem dinamikleri hakkında bilgi verir (Ergün ve diğ., 2014; Sahin ve diğ., 2005; Turker ve diğ., 2011). Kanser hücresi için zarın akışkanlığı; zar geçirgenliğini ve hücre bölünmesini etkilediği için oldukça önemlidir (Demirel, 2008; Yeagle ve diğ., 2005). Bu bilgiye dayanarak CH_2 asimetrik bandının genişliği incelendiğinde (Şekil 2.5), PC ve SM değerlerine göre artması, lipit açil zincirlerinin hareket özgürlüğünün (dinamiğin) sıvı kristal fazda arttığı dolayısı ile KAR'ın PC ve SM lipozom sisteminin akışkanlığını arttırdığı anlamına gelmektedir (Kazancı, 2001; Severcan ve diğ., 2005; Şahin ve diğ.,2005; Türker ve diğ., 2011). Söz konusu etkinin SM lipitinde daha fazla olması KAR'ın SM lipozomlarının iç kısımlarına yerleşip yağ asidi kuyruklarını daha düzensiz hale getirdiği sonucuna varılabilir. KAR'ın zardan pasif taşıma, aktif taşıma ya da iyon kanalları aracılığıyla hücre içi hedefine taşındığı bilinmektedir (Carter ve diğ., 1985). Zarın akışkanlığının artmasıyla KAR'ın hücre içine taşınımında SM lipitlerinin işlevi olabileceği yorumu yapılabilir.

Lipitlerin moleküler yapıları ve hacimlerindeki farklılıklar nedeniyle, lipit kompozisyonundaki değişiklikler zarın eğrilik ve geçirgenliğini etkileyebilir (Peetla ve diğ., 2013; Şahin ve diğ., 2014). Elde edilen DSC analizleri sonucunda KAR'ın daha büyük kafa grubu ve daha kısa kuyruğa sahip olan SM ile PC'ye göre daha fazla etkileşime girdiği tespit edildi. Bu etkileşim farklı kimyasal yapıdaki lipitlerde termodinamik özelliklerine farklı şekilde yansımıştır. Örneğin KAR, SM lipitlerinin

Δ_{HC} değerinde azalmaya neden olurken PC lipitlerinde Δ_{HC}'de artmaya neden olmuştur (Tablo 3.1 ve Tablo 3.2). Diğer taraftan aynı örneklerin FT-IR analizi sonuçları ile de DSC sonuçlarından elde edilen termodinamik farklılıklara neden olan değişimler detaylandırılmıştır. FT-IR sonuçlarına göre KAR'ın her iki lipitle hidrojen bağı oluşturduğu söylenebilir. Fakat KAR'ın iki lipitle farklı derecede etkileşime girdiği FT-IR analiz sonucunda tespit edildi. KAR'ın en fazla PC lipozomunun gliserol omurgası ve fosfolipitlerin baş grupları ile hidrojen bağı oluştururken, hidrofobik kuyruk kısmıyla etkileşimi en çok SM'de gözlemlendi.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İlaç-hücre zarı etkileşimlerinin anlaşılması, ilaçların farmakolojik performanslarının geliştirilmesi için gerekli olduğu gibi bu etkileşimler ilaç araştırma ve geliştirmelerinde oldukça önemlidir. Bu nedenle, etki mekanizmalarını anlamak için ilaç-zar etkileşimlerini değerlendirmek ya da öngörmek önemlidir. İlaç molekülleri hücre zarı etkileşimlerine bağlı olarak dinamiklik, lipit düzeni, akışkanlık ve faz geçiş sıcaklığı gibi önemli özelliklerini değiştirebilirler. Bu etkileşimler hücre zarının sadece fizikokimyasal özelliklerini etkilemez aynı zamanda ilacın zar içindeki lokalizasyonunu ve konformasyonunu da etkiler. Bu çalışmada PC ve SM lipitleri ile oluşturulan model zarlar, FT-IR ve DSC teknikleri kullanılarak ilaç-hücre zarı etkileşimleri incelendi. Anti kanser ilaçların kanser hücreleri ile moleküler etkileşimi, bunların etkinliğini modüle etme eğilimindedir. Anti-kanser ajanlar sağlıklı hücreler üzerinde etkili olabilir bu nedenle ilacın etkili ve doğru kullanımı için ilaç-zar etkileşimlerini daha iyi anlamak gereklidir. DSC tekniği ile lipit çift tabakalarındaki termotropik değişiklikler incelenirken, FT-IR tekniği ile KAR'ın SM ve PC lipitlerinin hangi kısımları ile etkileştiği ayrıntılandı.

Çalışmadan elde edilen FT-IR spektroskopisi ve DSC verileri sayesinde KAR ilacının özellikle SM lipitine PC lipitine göre afinitesinin daha yüksek olduğu, düşük konsantrasyonlarda bile zar yapı ve fonksiyonunu etkileyeceği bulgusuna varılmıştır. KAR'ın hücre zarı yapısında en çok bulunan SM ve PC lipitleri ile etkileşmesini araştırmakla, KAR'ın gerçek zar sistemlerindeki olası etkileri ile ilgili faydalı bilgiler elde edildi. Özellikle kanser hücrelerinin normal hücre zarından farklı kompozisyonda olduğu düşünülürse özellikle SM lipitlerinin miktarının normal hücre zarındaki miktarından kanser hücrelerinde daha fazla olduğu düşünülürse, platinum içeren KAR'ın etkili olabileceği sonucuna varılabilir. Bununla birlikte KAR'ın zar içerisindeki olası konumu hakkında bilgi edinildi.

Fakat ilacın hücre içi konumu ile ilgili daha detaylı bilgi edinebilmek için NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) Spektroskopisi çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma doğrultusunda elde edilen bilgiler KAR'ın hastalıkların tedavisindeki rolünü anlamak için yapılacak olan diğer çalışmalara kaynak olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abbas A. K., AsterJ. C., Kumar V., *Robbins-Fondamenti di Patologia e di Fisiopatologia*, 9th ed., Edra MassonPress, Ajantin, 2013.

Aberle D. R., Adams A. M., Berg C. D., Black W. C., Clapp J. D., Fagerstrom R. M., Gareen I. F., Gatsonis C., Marcus P. M., Sicks J. D., National Lung Screening Trial Research Team, Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening, *N Engl J Med*, 2011, **2011**(365), 395-409.

Akkas S.B., Severcan M., Yılmaz O., Severcan F.,Effects of lipoic acid supplementation on rat brain tissue: An FTIR spectroscopic and neural network study, *Food Chemistry*, 2007, **105**(3), 1281-1288.

Allen T. M., Cullis P. R., Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications, *Advanced drug delivery reviews*, 2013, **65**(1), 36-48.

Alpsoy E., Akman, A., Behçet's disease: an algorithmic approach to its treatment, *Archives of dermatological research*, 2009, **301**(10), 693-702.

Azim Jr, Hatem A., Ganti A. K., Treatment options for relapsed small-cell lung cancer, *Anti-cancer drugs*, 2007, **18**(3), 255-261.

Baciu M., Sebai S. C., Ces O., Mulet X., Clarke J. A., Shearman G. C., Gee A. Degradative transport of cationic amphiphilic drugs across phospholipid bilayers, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 2006, **364**(1847), 2597-2614.

Bashe B. Y., Leung S. S., Delgado-Magnero K. H., Ramezanpour M., Cullis P. R., Tieleman D. P., Thewalt J., Development of Lipid-Based Drug Delivery Systems for Gene Therapy: Physicochemical Characterization of Charged Lipid Interactions, *Biophysical Journal*, 2016, **110**(3), 247a.

Bensikaddour H., Snoussi K., Lins L., Bambeke F. V., Tulkens P. M., Brasseur R., Goormaghtigh E., Leclercq M. P. M., Interactions of Ciprofloxacin with DPPC and DPPG: Fluorescence Anisotropy, ATR-FTIR and ^{31}P NMR Spectroscopies and Conformational Analysis, *BBA-Biomembranes*, 2008, **1778**(11), 2535- 2543.

Beyene T. J., Hoek H., Zhang Y., Vos T., Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013, *The Lancet*, 2015, **385**(9963), 117-171.

Biederer J., Beer M., Hirsch W., Wild J., Fabel M., Puderbach M., Van Beek E. J. R., MRI of the lung (2/3) Why… when… how?, *Insights into imaging*, 2012,**3**(4), 355-371.

Bilge D. Kazancı N. Severcan F., Acyl chain length and charge effect on Tamoxifen–lipid model membrane interactions, *Journal of Molecular Structure*, 2013, **1040**(1), 75–82.

Bilge D., Sahin I., Kazanci N., Severcan F., Interactions of tamoxifen with distearoyl phosphatidylcholine multilamellar vesicles: FTIR and DSC studies, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, **130**, 250-256.

Brown D. A., London E., Functions of lipid rafts in biological membranes, *Annual review of cell and developmental biology*, 1998, **14**(1), 111-136.

Bultmann T., Vaz W. L. C., Melo E. C. C., Sisk R. B., Thompson T. E., Fluid-Phase Connectivity and Translational Diffusion in an Eutectic, Two-Component, Two-Phase Phosphatidylcholine Bilayer, *Biochemistry*, 1991, **30**(22), 5573–5579.

Çakmak G., Togan I., Severcan F., 17β-Estradiol Induced Compositional, Structural and Functional Changes in Rainbow trout Liver, Revealed by FT-IR Spectroscopy: A Comparative Study with Nonylphenol, *Aquatic Toxicology*, 2006, **77**(1), 53-63.

Çakmak G., Zorlu F., Severcan M., Severcan F., Screening of Protective Effect of Amifostine on Radiation-induced Structural and Functional Variations in Rat Liver Microsomal Membranes by FT-IR Spectroscopy, *Anal. Chem.*, 2011, **83**(7), 2438–2444.

Califano R., Kerr K., Morgan R. D., Russo G. L., Garassino M., Morgillo F., Rossi, A., Immune Checkpoint Blockade: A New Era for Non-Small Cell Lung Cancer, *Current oncology reports*, 2016, **18**(9), 59.

Campbell I. D., Dwek R. A., Biological Spectroscopy, *Biochemical Education*, 1984, **13**(2), 93.

Stewart B. W., Wild C. P., Cancer, *World Health Organization*, 297, 25-66, 2014.

Carter S. K., Canetta R., Rozencweig M., Carboplatin: future directions, *Cancer treatment reviews*, 1985, **12**, 145-152.

Casal H. L., Mantsch H. H., Polymorphic phase behaviour of phospholipid membranes studied by infrared spectroscopy, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, 1984, **779**(4), 381-401.

Castelli F., Caruso S., Uccela N., Biomimesis of Linolenic Acid Transport Through Model Lipidic Membranes by Differential Scanning Calorimetry, *J. Agruc. FoodChem*, 2003, **51**(4), 851-855

Cevc G., Marsh D., *Phospholipid Bilayers*, ed., Wiley Press, New York, 1987.

Chapman S., Robinson G., Stradling J., West S., Wrightson J., *Oxford handbook of respiratory medicine*, 3rd ed., Oxford University Press, USA, 284, 2014.

Clegg A., Scott D. A., Hewitson P., Sidhu M., Waugh N., Clinical and cost effectiveness of paclitaxel, docetaxel, gemcitabine, and vinorelbine in non-small cell lung cancer: a systematic review, *Thorax*, 2002, **57**(1), 20-28.

Cui K., Wang L., Zhu H., Gou S., Liu Y., Novel cisplatin-type platinum complexes and their cytotoxic activity, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2006, **16**(11), 2937-2942.

Danaei G., Vander Hoorn S., Lopez A. D., Murray C. J., Ezzati M., Comparative Risk Assessment collaborating group, Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors, *The Lancet*, 2005, **366**(9499), 1784-1793.

Demirel S., *Biyokimya*, ed., Tusem Tıbbi Yayıncılık, Ankara, 2008.

Dimitroulis J., Stathopoulos G. P., Evolution of non-small cell lung cancer chemotherapy, *Oncology reports*, 2005, **13**(5), 923-930.

Duncan A. L., Koldsø H., Reddy T. J., Hélie J., Sansom M. S., Membrane Crowding and Complexity: Interplay between Protein-Lipid Interactions, Clustering and Diffusion, *Biophysical Journal*, 2017, **112**(3), 320a.

El Ghissassi F., Baan R., Straif K., Grosse Y., Secretan B., Bouvard V., Cogliano, V., A review of human carcinogens-part D: radiation, *The lancet oncology*, 2009, **10**(8), 751-752.

Ergun S., Demir P., Uzbay T., Severcan F., Agomelatine strongly interacts with zwitterionic DPPC and charged DPPG membranes, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, **1838**, 2798-2806.

Eriksen M., Mackay J., Ross, H., *The tobacco atlas*, 4th ed., American Cancer Society, USA, 2013.

Fairchild A., Harris K., Barnes E., Wong R., Lutz S., Bezjak A., Chow E., Palliative thoracic radiotherapy for lung cancer: a systematic review, *Journal of Clinical Oncology*, 2008, **26**(24), 4001-4011.

Falk S., Williams C., *Lung cancer the facts*, 3rd ed., Oxford University Press, US, 2010.

Feng S. S., Chien S. Chemotherapeutic engineering: application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases, *Chemical Engineering Science*, 2003, **58**(18), 4087-4114.

Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Bray F., Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012, *International journal of cancer*, 2015, **136**(5).

Fischer J., Ganellin C. R., *Analogue-based drug discovery II*, eds., John Wiley & Sons, US, 2010.

Fitzmaurice C., Dicker D., Pain A., Hamavid H., Moradi-Lakeh M., MacIntyre M. F., Hamadeh R. R., The global burden of cancer 2013, *JAMA oncology*, 2015, **1**(4), 505-527.

Fuld A. D., Dragnev K. H., Rigas, J. R., Pemetrexed in advanced non-small-cell lung cancer, *Expert opinion on pharmacotherapy*, 2010, **11**(8), 1387-1402.

Garip S., Yapıcı E., Özek N. S., Severcan M., Severcan F., Evaluation and Discrimination of Simvasin-induced Structural Alterations in Proteins of Different Rat Tissues by FTIR Spectroscopy and Neural Network Analysis, *Analyst.*, 2010, **135**(12), 3233-3241.

Gennis R. B., *Biomembranes: molecular structure and function*, ed., Springer Science & Business Media, US, 2013.

Geraldes A. N., Zen H. A., Ribeiro G., Ferreira H. P., Souza C. P., Parra D. F., Lugão A. B., Post-irradiation time effects on the graft of poly (ethylene-alt-tetrafluoroethylene) (ETFE) films for ion exchange membrane application, *Radiation Physics and Chemistry*, 2010, **79**(3), 246-249.

Grose D., Morrison D. S., Devereu, G., Jones R., Sharma D., Selby C., Milroy R., The impact of comorbidity upon determinants of outcome in patients with lung cancer, *Lung Cancer*, 2015, **87**(2), 186-192.

Hajdu S. I., A note from history: landmarks in history of cancer, part 1, *Cancer*, 2011, **117**(5), 1097-1102.

Han Y., Chen W., Li P., Ye J., Association between coeliac disease and risk of any malignancy and gastrointestinal malignancy: a meta-analysis, *Medicine*, 2015, **94**(38), 97-109.

Hanahan D., Weinberg R. A., Hallmarks of cancer: the next generation, *cell*, 2011, **144**(5), 646-674.

Hann C. L., Rudin C. M., Management of small-cell lung cancer: incremental changes but hope for the future, *Oncology (Williston Park, NY)*, 2008, **22**(13), 1486.

Hianik T., Structure and Physical Properties of Biomembranes and Model Membranes, *Acta Physica Slovaca*, 2006, **56**(6), 687-805.

Hill R., Healy B., Holloway L., Kuncic Z., Thwaites D., Baldock C., Advances in kilovoltage x-ray beam dosimetry, *Physics in medicine and biology*, 2014, **59**(6), R183.

Hong W. K., *Holland-Frei Cancer Medicine 8*, ed., PMPH Press, USA, 2010.

Huang C. H., Phosphatidylcholine vesicles. Formation and physical characteristics, *Biochemistry*, 1969, **8**(1), 344-352.

Janmey P.A., Kinnunen P. K. J., Biophysical properties of lipids and dynamic membranes, *Trends in cell biology*, 2006, **16**(10), 538-546.

Jemal A., Siegel R., Ward E., Murray T., Xu J., Smigal C., Thun M. J., Cancer statistics, *CA: a cancer journal for clinicians*, 2006, **56**(2), 106-130.

Kandoth C., McLellan M. D., Vandin F., Ye K., Niu B., Lu C., Leiserson M. D.,. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types, *Nature*, 2013, **502**(7471), 333-339.

Kazancı N., Toyran N., Haris P. L., Severcan F., Vitamin D2 at High and Low Concentrations Exert Opposing Effects on Molecular Order and Dynamics of Dipalmitoyl Phosphatidylcholine Membranes, *Spectroscopy*, 2001, **15**(2), 47-55.

Kępczyński M., Nawalany K., Jachimska B., Romek M., & Nowakowska M., Pegylated tetraarylporphyrin entrapped in liposomal membranes: a possible novel drug-carrier system for photodynamic therapy, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2006, **49**(1), 22-30.

Korkmaz F. Severcan F., Effect of progesterone on DPPC membrane: evidence for lateral phase separation and inverse action in lipid dynamics, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2005, **440**(2), 141-147.

Krause I., Weinberger A., Behçet's disease, *Current opinion in rheumatology*, 2008, **20**(1), 82-87.

Kris M. G., Johnson B. E., Berry L. D., Kwiatkowski D. J., Iafrate A. J., Wistuba I. I., Shyr Y., Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs, *Jama*, 2014, **311**(19), 1998-2006.

Larson D. E., Harris C. C., Chen K., Koboldt D. C., Abbott T. E., Dooling D. J., Ding L., Somatic Sniper: identification of somatic point mutations in whole genome sequencing data, *Bioinformatics*, 2011, **28**(3), 311-317.

Lilienfeld A. M., Shimkin M. B., Wynder E. L., Smoking and Lung Cancer: Recent Evidence and a Discussion of Some Questions1, *Public Health: Twentieth century challenges*, 2011, **2**, 74.

Lortet-Tieulent J., Soerjomataram I., Ferlay J., Rutherford M., Weiderpass E., Bray, F., International trends in lung cancer incidence by histological subtype: adenocarcinoma stabilizing in men but still increasing in women, *Lung cancer*, 2014, **84**(1), 13-22.

Lowe V. J., Fletcher J. W., Gobar L., Lawson M., Kirchner P., Valk P., Patz E. F., Prospective investigation of positron emission tomography in lung nodules., *Journal of Clinical Oncology*, 1998, **16**(3), 1075-1084.

Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K., Aboyans V., Al Mazroa, M. A., Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010, *The Lancet*, 2013, **380**(9859), 2095-2128.

Lu J. X., Sharpe S., Ghirlando R., Yau W. M., Tycko R., Oligomerization state and supramolecular structure of the HIV-1 Vpu protein transmembrane segment in phospholipid bilayers, *Protein Science*, 2010, **19**(10), 1877-1896.

MacCallum C., Gillenwater, H. H., Second-line treatment of small-cell lung cancer, *Current oncology reports*, 2006, **8**(4), 258-264.

Madan V., Lear J. T., Szeimies R. M., Non-melanoma skin cancer, *The Lancet*, 2010, **375**(9715), 673-685.

Makushok T., Alves P., Huisman S. M., Kijowski A. R., Brunner D., Sterol-rich membrane domains define fission yeast cell polarity, *Cell*, 2016, **165**(5), 1182-1196.

Mantsch H. H., McElhaney, R. N., Phospholipid phase transitions in model and biological membranes as studied by infrared spectroscopy, *Chemistry and physics of lipids*, 1991, **57**(2-3), 213-226.

Mashaghi A., Partovi-Azar P., Jadidi T., Anvari M., Jand S. P., Nafari N., Bonn, M., Enhanced autoionization of water at phospholipid interfaces, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2012, **117**(1), 510-514.

McGuire S., Geneva, Switzerland: World Health Organization, international agency for research on cancer, *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 2016, **7**(2), 418-419.

Milhas, D., Clarke, C. J., Hannun, Y. A., Sphingomyelin metabolism at the plasma membrane: implications for bioactive sphingolipids, *FEBS letters*, 2010, **584**(9), 1887-1894.

Moschovi M., Critselis E., Cen O., Adamaki M., Lambrou G. I., ChrousosG. P., Vlahopoulos S., Drugs acting on homeostasis: challenging cancer cell adaptation, *Expert review of anticancer therapy*, 2015, **15**(12), 1405-1417.

Mouritsen O. G., Biltonen R. L., Protein-Lipid Interactions and Membrane Heterogenity, *New Comprehensive Biochemistry*, 1993, **25**(1), 1-39

Mouritsen O. G., Jørgensen K., A new look at lipid-membrane structure in relation to drug research, *Pharmaceutical research*, 1998, **15**(10), 1507-1519.

Murray N., Turrisi A. T., A review of first-line treatment for small-cell lung cancer, *Journal of Thoracic Oncology*, 2006, **1**(3), 270-278.

Natarajan D., Van N. T., A two-dimensional, two-phase, multicomponent, transient model for the cathode of a proton exchange membrane fuel cell using conventional gas distributors, *Journal of the Electrochemical Society*, 2001, **148**(12), A1324-A1335.

Non-Small Cell Lung Cancer Collaborative Group, Chemotherapy and supportive care versus supportive care alone for advanced non-small cell lung cancer, *Cochrane Database Syst Rev*, 2010, **5**, 236-271.

Peetla C., Stine A., Labhasetwar V., Biophysical interactions with model lipid membranes: applications in drug discovery and drug delivery, *Molecular Pharmaceutics*, 2009, **6**(5), 1264–1276.

Peetla C., Vijayaraghavalu S., Labhasetwar V., Biophysics of cell membrane lipids in cancer drug resistance: Implications for drug transport and drug delivery with nanoparticles, *Advanced drug delivery reviews*, 2013, **65**(13), 1686-1698.

Peng Y., Li Z., Zhang S., Xiong Y., Cun Y., Qian C., Wang D., Association of DNA base excision repair genes (OGG1, APE1 and XRCC1) polymorphisms with outcome to platinum-based chemotherapy in advanced nonsmall-cell lung cancer patients, *International journal of cancer*, 2014, **135**(11), 2687-2696.

Preetha A., Huilgol N., Banerjee R., Comparison of paclitaxel penetration in normal and cancerous cervical model monolayer membranes, *Colloids Surfaces B*, 2006, **53**(2), 179-186.

Şahin İ., Severcan F., Kazancı N., Melatonin Induces Opposite Effects on Order and Dynamics of Anionic DPPG model membranes, *Journal of Molecular Structure*, 2007, **834-836**,195-201.

Sahin I., Bilge D., Kazanci N., Severcan F., Concentration-dependent effect of melatonin on DSPC membrane, *Journal of Molecular Structure*, 2013, **1052**, 183-188.

Sahin I., Ezer N., Kazanci N., Alliin interacts with DMPC model membranes to modify the membrane dynamics: FTIR and DSC Studies, *Vibrational Spectroscopy*, 2017, **89**, 1-8.

Sahin I., Altunayar C., Kazanci N., A comparative study of the effects of cholesterol and desmosterol on zwitterionic DPPC model membranes, *Chemistry and physics of lipids*, 2015, **188**, 37-45.

Schütze M., Boeing H., Pischon T., Rehm J., Kehoe T., Gmel G., Clavel-Chapelon F., Alcohol attributable burden of incidence of cancer in eight European countries based on results from prospective cohort study, *Bmj*, 2011, **342**, 1584.

Semenova E. A., Nagel R., Berns, A., Origins, genetic landscape, and emerging therapies of small cell lung cancer, *Genes & development*, 2015, **29**(14), 1447-1462.

Severcan F. Sahin I. Kazancı N., Melatonin strongly interacts with zwitterionic model membranes--evidence from Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning Calorimetry, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005, **1668**(2), 215-222.

Siegel R. L., Miller K. D., Fedewa S. A., Ahnen,D. J., Meester,R. G., Barzi A., Jemal A., Colorectal cancer statistics, 2017, *CA: a cancer journal for clinicians*, 2017, **67**(3), 177-193.

Simons K., Vaz W. L., Model systems, lipid rafts, and cell membranes, *Annu. Rev. Biophys. Biomol.Struct*., 2004, **33**, 269-295.

Singh A., Singh N., Behera D., Sharma, S., Polymorphism in XRCC1 gene modulates survival and clinical outcomes of advanced North Indian lung cancer patients treated with platinum-based doublet chemotherapy, *Medical Oncology*, 2017, **34**(4), 64.

Skoog D. A., West D. M., Holler F. J., Crouch S., *Fundamentals of analytical chemistry*, 9th ed., Nelson Education, ABD, 2013.

Smith B. C., *Infrared spectral interpretation: a systematic approach*, CRC press, Florida, USA, 1998.

Sohn S., Lee E. S., Kwon H. J., Lee S. I., Bang D., Lee S., Expression of Th2 Cytokines Decreases the Development of and Improves Behçet's Disease–Like Symptoms Induced by Herpes Simplex Virus in Mice, *The Journal of infectious diseases*, 2001, **183**(8), 1180-1186.

Tanha H. M., Naeini M. M., Rahgozar S., Moafi A., Honardoost M. A., Integrative computational in-depth analysis of dysregulated miRNA-mRNA interactions in drug-resistant pediatric acute lymphoblastic leukemia cells: an attempt to obtain new potential gene-miRNA pathways involved in response to treatment, *Tumor Biology*, 2016, **37**(6), 7861-7872.

Tolar J., Neglia J. P., Transplacental and other routes of cancer transmission between individuals, *Journal of pediatric hematology/oncology*, 2003, **25**(6), 430-434.

Turker S., Ilbay G., Severcan M., Severcan, F., Investigation of compositional, structural, and dynamical changes of pentylenetetrazol-induced seizures on a rat brain by FT-IR spectroscopy, *Analytical chemistry*, 2014, **86**(3), 1395-1403.

Turker S., Wassall S., Stillwell W., Severcan F., Convulsant agent pentylenetetrazol does not alter the structural and dynamical properties of dipalmitoylphosphatidylcholine model membranes, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2011, **54**(2), 379-386.

Türker-Kaya S., Mutlu O., Komsuoğlu-Çelikyurt İ., Akar F., Ulak G., Tianeptine, Olanzapine and Fluoxetine Show Similar Restoring Effects on Stress Induced Molecular Changes in Mice Brain: An FT-IR Study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, **161**(1), 17-185.

Türker-Kaya S., Mutlu O., Komsuoğlu-Çelikyurt İ., Akar F., Ulak G., Tianeptine, Olanzapine and Fluoxetine Show Similar Restoring Effects on Stress Induced Molecular Changes in Mice Brain: An FT-IR Study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, **161**(1), 17-185.

Türker-Kaya S., Kına A., Alın S. Divergent interaction profiles of gabapentin and levetiracetam with dipalmitoylphosphatidylcholine lipids, *International Journal of Epilepsy*, 2017, **4**(2), 150-158.

Umemura J., Cameron D. G., Mantsch H. H., A Fourier transform infrared spectroscopic study of the molecular interaction of cholesterol with 1, 2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1980, **602**(1), 32-44.

URL-1:https://www.cancer.gov/types/lung/patient/non-small-cell-lung-treatment-pdq, (Ziyaret tarihi: 15 Nisan 2017)

URL2:https://www.cancer.gov/aboutcancer/treatment/types/targetedtherapies/targeted-therapies-fact-sheet, (Ziyret tarihi: 09 Mart 2017).

URL-3:http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/, (Ziyaret tarihi: 03 Mart 2017)

URL-4:http://www.drugbank.ca/drugs/DB00958, (Ziyaret tarihi: 05 Mart 2017).

Van Meer G., Voelker D. R., Feigenson G. W., Membrane lipids: where they are and how they behave, *Nature reviews Molecular cell biology*, 2008, **9**(2), 112-124

Wheate N. J., Walker S., Craig G. E., Oun R., The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials, *Dalton transactions*, 2010, **39**(35), 8113-8127.

Xu Q., Zhao T., Sun Z., Monitoring drug–lipid membrane interactions via a molecular rotor probe, *Analyst*, 2016, **141**(15), 4676-4684.

Yeagle P. L., *The Structure of Biological Membranes*, 2nd ed., CRC Press, Florida,USA, 2005.

Yeagle, P. L., *The membranes of cells*, 2nd ed., Academic Press, 2016.

Zhu L., Pickle L. W., Ghosh K., Naishadham D., Portier K., Chen H. S., Edwards B. K., Predicting US-and state-level cancer counts for the current calendar year, *Cancer*, 2012, **118**(4), 1100-1109.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Türker-Kaya S., **Kına A**., Alın S. Divergent interaction profiles of gabapentin and levetiracetam with dipalmitoylphosphatidylcholine lipids, *International Journal of Epilepsy*, 2017, **4**(2), 150-158.

Kına A., Türker-Kaya S., A Chemotherapeutic Agent Carboplatin InteractsDifferently with Various Membrane Lipids: DSC Study, *Calorimetry School andWorkshop*, Lyon, France, 19-25 June 2016.

Türker-Kaya S., **Kına A**., The Investigation of Levetricetam with DPPC lipids, ICBMB, *International Conference on Biochemistry and Molecular Biology*.Venice, Italy, 10-17 May 2016.

Kına A., Türker-Kaya S., İlbay G., Dağcı K., Kemoterapötik AjanKarboplatin'in Sfingomiyelin ve Fosfotidilkolin Lipitleri ile Etkileşiminin İncelenmesi, *4. Ulusal İlaç Kimyası Kongresi*, Kuşadası, Türkiye, 17-20 Mart 2016.

Duman Y.,**Kına A.**, Acemi A., Toygar H. İ., Yüzügüllü Y., Özen F., Tuz Stresinin Amsonia orientalis'in Biyolojik Özellikleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi, *18. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi*, Konya, Türkiye, 18-19 Aralık 2015.

Duman Y.,**Kına A.**, Acemi A., Toygar H. İ., Balcı S., Yüzügüllü Y., Özen F., Responses of Biochemical Parameters to Drought Stress of Medicinal Important Plant: Amsonia orientalis, *International Conference on Biochemistry and Molecular Biology*, Paris, Fransa, 22-23 April 2015.

Duman Y.,**Kına A.**, Acemi A., Toygar H. İ, Balcı S., Yüzügüllü Y., Özen F.: Zn2+ Effect on Biological Properties of Amsonia orientalis, *International Confererence on New Trends in Chemistry*, Dubai, BAE, 24-28 March 2015.

ÖZGEÇMİŞ

12 Nisan 1991 yılında Kocaeli'nde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kocaeli'nde tamamladı. 2011 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans eğitimine başladı ve 2015 yılında Biyolog olarak mezun oldu. Aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde yüksek lisans eğitimine başladı.