

**BENTONİT, ZEOLİT NANOPARTİKÜLLERİNİN VE
BENTONİT- ZEOLİT NANOKOMPOZİTİNİN
RETİNA PİGMENT EPİTEL HÜCRELERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Reşat DUMAN

Danışman

Doç. Dr. Atilla EVCİN

NANOBİLİM ve NANOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Ocak 2020

Bu tez çalışması 18.FEN.BİL.08 numaralı proje ile Afyon Kocatepe Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BENTONİT, ZEOLİT NANOPARTİKÜLLERİNİN VE
BENTONİT- ZEOLİT NANOKOMPOZİTİNİN
RETİNA PİGMENT EPİTEL HÜCRELERİNE ETKİLERİ

Reşat DUMAN

Danışman
Doç. Dr. ATILLA EVCİN

NANOBİLİM ve NANOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Ocak 2020

TEZ ONAY SAYFASI

Reşat DUMAN tarafından hazırlanan “**Bentonit, Zeolit Nanopartiküllerinin ve Bentonit-Zeolit Nanokompozitinin Retina Pigment Epitel Hücrelerine Etkileri**” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 13 / 01 / 2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Nanobilim ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. ATILLA EVCİN

İmza

Başkan : Prof. Dr. Sefa ÇELİK
AFSÜ, Tıp Fakültesi



Üye : Doç. Dr. Atilla EVCİN
AKÜ, Mühendislik Fakültesi



Üye : Doç. Dr. İbrahim GÜNEŞ
AKÜ, Teknoloji Fakültesi



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

.....

Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

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

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

beyan ederim.

13 / Ocak/ 2020

Reşat DUMAN



ÖZET
Yüksek Lisans Tezi

**BENTONİT, ZEOLİT NANOPARTİKÜLLERİNİN VE BENTONİT-ZEOLİT
NANOKOMPOZİTİNİN RETİNA PİGMENT EPİTEL HÜCRELERİNE ETKİLERİ**

Reşat DUMAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Nanobilim ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Atilla EVCİN

Bu çalışmada; Bentonit nanopartikülleri (BN) ve Zeolit minerallerinden Zeolit 4A (Z4A) nanopartiküllerinin ve bunların nanokompozitlerinin ARPE-19 (İnsan Retina Pigment Epiteli) hücre hatları üzerine etkileri incelendi. Bu etkiye göre retinal hastalıklarda potansiyel bir hedefe yönelik göz içi tedavi ajanı için taşıyıcı sistemler oluşturulması için bu ajanların varsa potansiyel yararını ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Uygun sayıda pasajlamalar ile çoğaltılan ARPE-19 hücrelerine belirlenen farklı konsantrasyon aralıklarında BN ve Z4A'nın hem ayrı ayrı hem de nanokompozit olarak uygulamaları yapılarak 24 saat inkübasyondan sonra MTT testi ile canlılık ölçümleri yapıldı. Nanobentonit, nanozeolit ve kompozitleri için sitotoksik dozlar ve etkin dozlar (IC50) belirlendi. Hücre viabilitesi açısından en yüksek sonuçlar 30 µg/ml BN ile elde edilirken, Z4A ile hücre viabilitesi açısından en yüksek sonuçlar 1 µg/ml ile, Bentonit-zeolitin nanokompozitinin (BZNK'nın) ise B10 µg/ml + ZEO10 µg/ml dozunda hücre viabilitesi açısından en yüksek sonuçlar elde edildi. Ayrıca, bu etkin dozlar ile hücre lizatlarında ELİSA tekniği ile apoptosis analizi yapılarak kaspaz-3 düzeyleri değerlendirildiğinde ise kontrol grubu ile hem BN hemde Z4A grubunda kaspaz-3 aracılı apoptozis açısından farklılık bulunmamıştır. Bu da bu ajanların ARPE-19 hücre kültürleri için belirlenen dozlarda güvenli olduğunu göstermektedir.

2020, vii + 34 sayfa

Anahtar Kelimeler: ARPE-19, bentonit nanopartikül, zeolit nanopartikül, bentonit-zeoli nanokompozit, MTT, Caspaze 3.

ABSTRACT
M.Sc. Thesis

**EFFECTS OF BENTONITE, ZEOLITE NANOPARTICLES AND BENTONITE-
ZEOLITE NANOCOMPOSITE ON RETINAL PIGMENT EPITHELIAL CELLS**

Reşat DUMAN

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Nanoscience and Nanotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Atilla EVCİN

In this study, the effects of bentonite nanoparticles and zeolite 4a nanoparticles and their nanocomposites on ARPE-19 (Human Retinal Pigment Epithelium) cell lines were investigated. The aim is to reveal the potential utility of these agents, if any, to establish drug delivery systems for targeted intraocular therapeutic agents. After 24 hours incubation, viability measurements with MTT were performed by applying BN and Z4A and nanocomposites at different concentration ranges determined to ARPE-19 cells grown by appropriate number of passages. Cytotoxic doses and effective doses (IC50) were determined for nanobentonite, nanozeolite and composites. The highest cell viability results were obtained with 30 µg/ml BN, 1 µg/ml with Z4A, and 10 µg / ml + ZEO 10 µg / ml with the nanocomposite of bentonite-zeolite. Furthermore, apoptosis analysis by ELISA technique was used to evaluate caspase-3 levels in cell lysates with these effective doses. There was no difference in caspase-3 mediated apoptosis in both BN and Z4A groups. This suggests that these agents are safe at established doses for ARPE-19 cell cultures.

2020, vii + 34 pages

Keywords: ARPE-19, bentonite nanoparticle, zeolite nanoparticle, bentonite-zeolite nanocomposite, MTT, Caspase 3.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmada, sağlık bilimleri ile nanoteknoloji alanında interdisipliner bir çalışma yapabilme konusunda olanak sağlayan, hem araştırma hem de yazım aşamasında desteklerini sunan tez danışmanım Doç Dr. Atilla EVCİN'e, hücre hatlarındaki deneysel araştırmaların yapımındaki desteklerinden ötürü Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Sefa ÇELİK'e ve Biyoistatistik ve Tıbbi Biliřim Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İsmet DOęAN' a teşekkür ediyorum.

Bu tez alışması 18.FEN.BİL.08 numaralı proje ile AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiş olup desteklerinden dolayı AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na teşekkür ederim.

Reşat DUMAN
Afyonkarahisar 2020

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	2
2.1 Retina.....	2
2.2 Retina Pigment Epiteli	3
2.3 Nanoteknoloji.....	4
2.4 Oftalmolojide Nanoteknoloji Uygulamaları.....	4
2.5 Ön Segment Hastalıklarında İlaç Uygulamaları.....	5
2.6 Arka Segment Hastalıklarında İlaç Uygulamaları	6
2.7 Bentonit.....	7
2.8 Zeolit.....	10
3. MATERYAL ve METOT	12
3.1 Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler	12
3.1.1 Bentonit.....	12
3.1.2 Zeolit 4A.....	12
3.2 Hücre Kültürü	15
3.3 Hücre Pasajı	16
3.4 MTT Hücre Viabilite Ölçüm Testi	16
3.5 Kaspaz 3 Testi.....	17
3.6 İstatiksel Analiz	17
4. BULGULAR	18
4.2 ARPE-19 Hücrelerinde MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçlarımız	18
4.2 Caspaz-3 Testi sonuçlarımız.....	20
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	23
6. KAYNAKLAR.....	28
ÖZGEÇMİŞ.....	35

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre

Kısaltmalar

ARPE-19	A Human RPE
CNV	Koroidal Neovaskülarizasyon
NK	Nanokompozit
NP	Nanopartikül
RPE	Retina Pigment Epiteli

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Bentonit yapısı	7
Şekil 2.2 Zeolit A yapısının gösterimi	11
Şekil 3.1 Zeolit 4A ‘nın SEM-EDX fotoğrafı 1800X	12
Şekil 3.2 Zeolit 4A ‘nın DTA-TG grafiği	13
Şekil 3.3 Zeolit 4A ‘nın XRD paterni	13
Şekil 3.4 Zeolit 4A ‘nın tane boyut analizi	14
Şekil 4.1 Bentonit nanopartiküllerinin (NP’lerinin), Zeolit 4A NP’lerinin, bentonit-zeolitin nanokompozitinin (NK) ve kontrol grubumuzun MTT test sonuçları dağılımı.....	20
Şekil 4.2 Bentonit nanopartiküllerinin (NP’lerinin), Zeolit 4A NP’lerinin, bentonit-zeolitin nanokompozitinin (NK) ve kontrol grubumuzun Caspaz -3 test sonuçları dağılımı	22

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1 Kullanılan Na-Bentinotin XRF Analizi	12
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan Zeolit 4A'nın özellikleri.....	13
Çizelge 4.1 Bentonit nanopartiküllerinin farklı dozlarda $\mu\text{g/ml}$ ARPE-19 Hücrelerinde MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçları.....	18
Çizelge 4.2 Zeolit 4A nanopartiküllerinin farklı dozlarda $\mu\text{g/ml}$ ARPE-19 Hücrelerinde MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçları.....	19
Çizelge 4.3 Bentonit-zeolitin nanokompozitinin farklı dozlarda $\mu\text{g/ml}$ ARPE-19 Hücrelerinde MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçları	19
Çizelge 4.4 Bentonit-NP'lerinin Zeolit 4A NP'lerinin, bentonit-zeolit NK ve kontrol grubumuzun caspaz 3 değerleri	20
Çizelge 4.5 Bentonit nanopartiküllerinin (NP'lerinin), Zeolit 4A NP'lerinin, bentonit-zeolitin nanokompozitinin (NK) ve kontrol grubumuzun MTT test sonuçları dağılımı	21
Çizelge 4.6 Bentonit nanopartiküllerinin (NP'lerinin), Zeolit 4A NP'lerinin, bentonit-zeolitin nanokompozitinin (NK) ve kontrol grubumuzun caspaz 3 test sonuçları Dunn Çoklu Karşılaştırma testi ile karşılaştırılması	23
Çizelge 4.7 Bentonit nanopartiküllerinin (NP'lerinin), Zeolit 4A NP'lerinin, bentonit-zeolitin nanokompozitinin (NK) ve kontrol grubumuzun Caspaz -3 test sonuçları dağılımı	24

1. GİRİŞ

Göz hastalıklarının tedavisinde ilaç uygulamalarında kullanılan yöntemleri 4 temel başlıkta toplayabiliriz: sistemik uygulamalar (ağızdan ve damar içine uygulama), Topikal (damla, merhem, jel formları) uygulama, peribulber (göz çevresine yapılan) uygulamalar (subtenon, subkonjuktival gibi), intravitreal (direk göz içine yapılan) uygulamalar.

Sistemik uygulamalarla ilaçların göz içi dokulara geçişi çok daha az olmaktadır. Topikal uygulamalar ön segment hastalıkları için daha çok tercih edilmektedir. Peribulber uygulamalarda da ilaçların göz içi dokulara geçişi sınırlı kalmaktadır. İntravitreal uygulamalar ise retinal toksite, endoftalmi, retina dekolmanı, üveit ve katarakt gibi önemli komplikasyonlar görülebilmektedir (Uğurlu 2013).

Oftalmolojik ilaçlar hangi yöntemle göz dokularına uygulanırsa uygulansın; göz dokularının anatomik bariyerleri yanısıra, fizyolojik olarak diğer dokulardan daha farklı olması nedeni ile uygulanan ciddi problemlerle karşılaşmaktadır (Urtti 2006, Nagarwal vd. 2009).

Yeni göz ilaç çalışmalarında göz içi dokulara uygulanmak istenen tedavilerdeki en önemli sorun, hedef dokuda istenen terapötik ilaç dozunun sağlanması sorunudur. İlaçların dağılımını iyileştirmek ve etki süresini artırmak amacı ile yani daha etkin biyoyararlanım elde edebilmek için oftalmolojide nanoteknoloji temelli çalışmalar giderek artmaktadır. Bu çalışmada; Bentonit nanopartikülleri (BN) ve Zeolit minerallerinden Zeolit 4A (Z4A) nanopartiküllerinin ve bunların nanokompozitlerinin ARPE-19 (İnsan Retina Pigment Epiteli) hücre hatları üzerine etkileri incelendi. Bu etkiye göre retinal hastalıklarda potansiyel bir hedefe yönelik göz içi tedavi ajanı için taşıyıcı sistemler oluşturulması için bu ajanların varsa potansiyel yararını ortaya çıkarmak amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Retina

Göz dokusu kafatası içerisinde orbita adı verilen koruyucu bir kemik yapı içerisinde yerleşmiştir. Gözün yapısı incelendiğinde kabaca 3 tabakadan oluştuğunu söylemek mümkündür. En dışta tunica fibrosa (sklera ve kornea) bulunmaktadır. Bu fibröz tabaka sayesinde göz küresinin şekli sağlanmaktadır. Kornea tabakası saydam bir tabaka olup görüntünün odaklanmasında önemli bir görevi bulunmaktadır. Orta tabakada (tunica vasculosa): koroid, corpus ciliare, iris bulunmaktadır. En iç tabaka (tunica nervosa) ise: retina'dır (Altıntaş 2013).

Görüntünün algılanmasında ve işlenerek oksipital kortekse gönderilmesinde en önemli tabaka Retina tabakasıdır. Retinanın iç yüzeyi vitreus ile dış yüzeyi ise potansiyel bir boşluk ile retina pigment epiteli ile temas halindedir. Retina esas olarak 2 ana başlıkta incelenir;

Nörosensöriyel tabaka
Retina pigment tabakası (RPE)

Retinanın dıştan içe doğru tabakaları:

- 1- Retina Pigment Epiteli
- 2- Fotoreseptör tabaka
- 3- Dış limitan tabaka
- 4- Dış nükleer tabaka
- 5- Dış pleksiform tabaka
- 6- İç nükleer tabaka
- 7- İç pleksiform tabaka
- 8- Ganglion hücreleri
- 9- Sinir lifleri
- 10- İç limitan tabaka

2.2 Retina Pigment Epiteli (RPE)

Bruch membranı üzerinde; nörosensöriyel tabaka ile koroid arasında yer almaktadır. Yapısında melanin pigmenti içermektedir. Embiyolojik dönemde melaninin ilk olarak sentezlenmeye başlandığı yer; RPE 'dir. Retina Pigment Epiteli histolojik kesitlerde tek katlı 4-8 köşeli heksagonal hücreler olarak tespit edilir.

Şekil ve büyüklükleri retinanın farklı bölgelerinde değişkenlik gösterir. Makula bölgesindeki hücreler daha fazla melanozom içerirken, perifere doğru gittikçe hücreler daha az pigment içerir ve çapları artar. RPE hücreleri sabit sayıda fotoreseptör hücresi ile iletişim halindedir. (Her bir RPE hücresi için yaklaşık 45 fotoreseptör hücresi). Fotoreseptörlerle iletişimini sağlayan; histolojik kesitlerde RPE hücresinin fotoreseptör hücrelere bakan tarafta fotoreseptör dış segmentlerine ulaşan mikrovilluslar görülebilmektedir (Altıntaş 2013). Retina ve RPE arasında sıkı bağlantılar mevcut değildir; bu alan subretinal boşluk olarak adlandırılmaktadır.

Retina Pigment Epiteli hücrelerinin 2 ana pigmenti melanozom ve lipofuksindir. Melanozom Retina Pigment Epiteli sitoplazmik granüllerinde bulunur. Yaşla birlikte lizozomlar tarafından yıkılabilir. Melanin pigmenti retinaya ışığın odaklanmasında ve absorpsiyonunda görevlidir. Ayrıca antioksidan etkisi de bulunmaktadır (Altıntaş 2013). Lipofuksin ise fotoreseptörlerin hasarlanmış dış segmentlerine ait membran lipidlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yaşla birlikte Retina Pigment Epiteli içinde giderek Lipofuksin pigmenti artmaktadır (Altıntaş 2013).

Yeni doğanda döneminde 4-6 milyon RPE hücresi vardır. Retina Pigment Epiteli hücrelerinin rejenerasyon yeteneği yoktur.

RPE hücreleri birbirlerine bağlanırken, lateral yüzeyleri Verhoeff membranı oluşturarak, eksternal limitan membranla beraber dış kan-retina bariyerini meydana getirir. Dış retina kan bariyerinde zonula okludens ve zonula adherens olarak adlandırılan bağlantı kompleksleri bulunmaktadır. Zonula okludensler su ve iyonların serbest geçişini önlemektedirler.

Retina Pigment Epitelinin en önemli görevleri;

- 1- A vitamini metabolizması
- 2- Dış kan retina bariyeri
- 3- Işık absorpsiyonu
- 4- Fotoreseptörlerin dış segment fagositozu,
- 5- Subretinal alandaki madde transportu,
- 6- Retina adezyonu,
- 7- Birçok büyüme faktörünün sentezlenmesinden sorumludur (Tripathi ve Wond 1999, Marmor 2000, İnan 2014).

2.3 Nanoteknoloji

“Nano” kelimesi bir fiziksel büyüklüğün milyarda biri anlamına gelir. Bir nanometre ise metrenin bir milyarda biri olarak tanımlanabilir. Nanoteknoloji 1-100 nm boyutlarındaki bilim ve teknoloji uygulamaları olarak bilim ve teknolojiye pek çok alanda kullanılmaktadır (Sahoo vd. 2003). Nanoteknoloji; daha fonksiyonel, daha az yer kaplayan, daha az enerji kullanan, daha dayanıklı, daha ucuz ve hala bilemediğimiz olağanüstü yeni özelliklere sahip ürünlerin üretilmesine olanak sağlamaktadır.

Günümüzde tıp alanındaki özellikle nanoteknolojinin uygulamaya konulması ile birlikte yeni bir dönem başlamıştır. Önümüzdeki 20 yıl içerisinde çok hızlı bir şekilde nanoteknolojik ürünlerin insanlığın kullanımına sunulması beklenmektedir (Diebold ve Calonge 2010).

2.4 Oftalmolojide Nanoteknoloji Uygulamaları

Nanotıp uygulamaları oftalmoloji alanında da yeni cihazların, yeni ilaçların sayılarının artmasına ve biyolojik sistemleri içeren moleküler yapılarla benzer ürünlerin üretilmesine olanak sağlamaktadır. Oftalmolojide kullanılan ilaçların göz içindeki hedef dokuya penetrasyonu engelleyen doğal bariyerlerin mevcudiyeti, hedef hücre seçiminin daha özellikli olması, ilaçların kontrollü salınımının göz dokuları için hassasiyeti gibi durumlar özellikle ilaç teknolojisinde nanoteknolojinin kullanılabilirliğini artırmaktadır.

İlaç endüstrisinde nanoteknolojinin kullanımında biyoyararlanım, biyoyumluluk, ilaç doz ayarlamaları, sürdürülebilir ilaç serbest salınımları, hedef doku seçimi, genotoksite, sitotoksite, doku hasarı gibi kavramlar da ön plana çıkmaktadır (Kamaleddin 2017).

Oftalmolojik uygulamalarla kullanılan terapötik nanoparçacıkların tasarımında ve üretiminde dikkat edilmesi gereken biyoyararlanım ve biyoyumluluğu artıran bazı özellikleri vardır. Kimyasal kompozisyon, partikül büyüklüğü, ilaç uygulama biçimi, nanopartiküllerin kaplama ve yüzey özellikleri, agregasyon dereceleri, zeta potansiyel değerleri ve suda çözünürlük değerleri gibi özellikleri biyoyumluluğu ve biyoyararlanımı etkileyen önemli özellikleridir (Kamaleddin 2017).

Özellikle daha yüksek molekül ağırlıkları olan ilaçlar, iç ve dış kan retina bariyerinden kaynaklanan kısıtlı geçirgenlik nedeniyle göz içi dokulara uygun konsantrasyonlarda ulaşamamaktadır. Araştırmalar 20 nm büyüklüğündeki nanopartiküllerin iyi retinal konsantrasyonlara ulaştığını ancak 100 nm büyüklüğündeki nanopartiküllerin ise retinal konsantrasyonlarının çok düşük olduğunu göstermektedir. Nanoteknoloji sayesinde pozitif ve negatif yüklü nanopartiküller sayesinde çeşitli dokulardaki yüzey kimyasının olumlu ve olumsuz etkileride giderilebilmektedir (Amrite ve Kompella 2005).

Farklı ilaçların göz içinde kontrollü olarak salınımına izin veren invaziv/invaziv olmayan nanosistemler ve çok çeşitli nanopartikül türleri bulunmaktadır. Literatürdeki yayınlar değerlendirildiğinde bugüne kadar çeşitli dendrimerler, nanokristaller, emülsiyonlar, lipozomlar, katı lipid nanopartiküller, miçeller ve polimerik nanopartiküller içeren çeşitli oftalmolojik nano ilaç sistemleri geliştirilmeye devam etmektedir (Akhter vd. 2005, Adjinto 2015, Peptu vd. 2015, Mitra vd. 2016).

2.5 Ön Segment Hastalıklarında İlaç Uygulamaları

NP tabanlı intrastromal enjeksiyonu ile gerçekleştirilebilen korneal gen tedavisi umut vaat etmektedir. Yine intrastromal NP'lerle uygulanan anti-VEGF tedavileride kornea neovaskülarizasyonunun tedavisinde kullanılmıştır (Qazi vd. 2012).

Betametazon içeren nanopartiküllerin artmış biyoyararlanım, kalış süresi ve uzun süren etkileri ile üveit tedavisinde olası bir çözüm olabileceği gösterilmiştir (Sakai vd. 2006). Kitosan hidrojelleri temelli nanopartiküllerin fungal keratitlerde tedavide korneal yüzeydeki ilacın kalış süresini çok artırarak etkiledikleri gösterilmiştir (Gratieri vd. 2011).

Ayrıca kontakt lensler ile birlikte kullanılan nanopartiküllerin antimikrobiyal aktiviteyi uzattığı, terapötik etkileri artırdığı ve keratit modellerinde sürekli salınım ile etki edebileceği gösterilmiştir. Enfeksiyonları, astigmatizmayı ve korneal skar dokusunu azaltmak için dendrimer temelli nanopartiküller aracılı hidrojeller korneal yara iyileşme sürecini kontrol etmek için deneysel anlamda kullanılmaktadır (Grinstaff 2007, Ciolino vd. 2011). Nanohidrofilik polimer kullanılarak üretilen hidrojellerde değişik ilaçlar için kontrollü ilaç salınımına izin veren yapılar olarak kullanılmaya başlanmıştır (Li vd. 2013).

2.6 Arka Segment Hastalıklarında İlaç Uygulamaları

Retina ve subretinal bölgelere uygulanabilen NP temelli bazı ilaçların (Deksametazon asetat, bir integrin-antagonistin) koroidal neovaskülarizasyon (CNV) üzerindeki inhibisyon etkilerine neden olabileceği gösterilmiştir. Minimal fototoksisite ile gözle görülür derecede etkili CNV oklüzyonu için dendritik fotosensitizer ile yüklenmiş bir supramoleküler nanotaşıyıcılar nanoteknoloji-bazlı fotodinamik tedavi sistemi için kullanılmaya başlanmıştır. Yine nanopartikül temelli ilaçlarda CNV inhibisyonu için gen terapilerinde denenmektedir (Ideta vd. 2005).

Subretinal enjeksiyon yoluyla nanopartikül aracılı kompakt DNA kullanılarak uygulanan oküler gen teradivileri uygulanmaya başlanmıştır (Cai vd. 2010).

Progresif retinal dejeneratif hastalıklarda nanoceria'nın retina hücrelerinde fotoreptör hücrelerin ışık kaynaklı dejenerasyonunu engellediği gösterilmiştir (Chen vd. 2006).

Karboplatin içerisindeki dendrimerlerin kapsüllenmesinin, serbest ilaçla

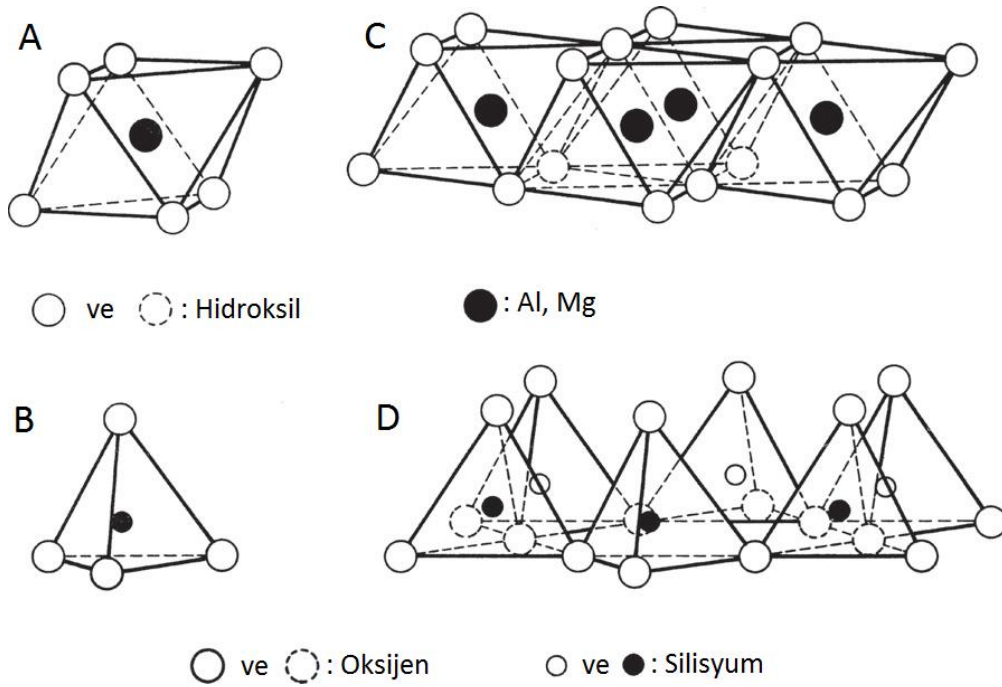
karşılaştırıldığında retinoblastoma tümörünün büyümesini azaltmada daha etkili olduğu gösterilmiştir (Kang vd. 2010).

Ayrıca timolol ve brimonidine gibi ilaçların nanoteknolojik üretimi sayesinde biyoyararlanımı artırılarak kullanılmaya başlanmıştır (Tam vd. 2011).

2.7 Bentonit

Kil mineralleri, tane boyutu genellikle 2 mikrondan daha küçük olan ve tabakalı yapıya sahip sulu alüminyum ve magnezyum silikatlarıdır. Kil minerallerinin kristal yapısında bulunan her bir tabaka, tetrahedral (Si-O) ve oktahedral (Al-O-OH) katmanlarının üst üste dizilmesi ve ortak oksijen iyonları aracılığıyla birbirine bağlanmasıyla oluşur (Şekil 2.1).

Ticari adı bentonit olan ve smektit grubunda yer alan montmorillonit (MMT) kili, genel kimyasal formülü $(\text{Na}, \text{Ca})_{0.33} (\text{Al}, \text{Mg})_2 (\text{Si}_4 \text{O}_{10}) (\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ olan tabakalı yapıya sahip sulu bir alüminyum silikattır.



Şekil 2.1 Bentonit tabakalı yapısı

A: oktahedron, B: tetrahedron, C: oktahedral katman, D: tetrahedral katman (Grim 1968).

Bentonit

- Yüksek spesifik yüzey alanı,
- İyi adsorbans yeteneği,
- Yüksek katyon değiştirme kapasitesi,
- Mide-bağırsak bariyeri aşmak için muko-yapışkanlık,
- Oral olarak biyouyumlu,
- Yüksek şişme kapasitesi,
- Plastisite,
- Yüksek kimyasal stabilite,
- Asidik ortamlarda stabil kalma ve
- İyi mekanik özelliklerine sahiptir (Jain ve Datta 2015, Iliescu vd. 2014, Aguzzi vd. 2007, Kevadiya vd. 2012) ve
- Güçlü bir detoksifikatördür (Jain ve Datta 2015, Nayak vd. 2011).

En büyük kaynaklarının bulunduğu Wyoming, Fort Benton'dan sonra adını almıştır (Moosavi 2017). Bentonit sahip olduğu üstün karakteristik özellikleri ile

- ✓ Farmasötik ve kozmetik endüstrisi,
- ✓ İlaç taşıyıcı sistemi,
- ✓ Adsorpsiyon proseslerinde adsorban,
- ✓ Kimyasal sentezleme proseslerinde katalizör,
- ✓ Dental enfeksiyon ve
- ✓ Gıda paketleme malzemelerinde anti bakteriyel aktivite,
- ✓ Hap üretiminde yağlayıcı,
- ✓ Emülsiyon yapıcı,
- ✓ Seramik, çimento ve benzeri endüstrilerde kullanılmaktadır. (Yang vd. 2016, Elmore vd. 2014, Summa ve Tateto 2014, Jayrajsinh vd. 2017).

Kil minerallerin insanlar tarafından tıbbi amaçla kullanılmaya başlaması ilk çağlara kadar dayanır. Antik çağlarda Mezopotamya ve eski Mısır'da çoğunluğu kil olan tıbbi toprakların kullanıldığı da ayrıca kanıtlanmıştır. Homo Erectus ve H. Neanderthalensis'in yaraları iyileştirmek, tahrişleri gidermek, cildi temizlemek için çeşitli killeri kullandıklarına dair işaretler vardır. Nubian toprakların bir anti-

inflamatuvar olarak kullanılması veya kadvraların mumlanması için çamur materyallerini kullanmıştır (Carretero 2002).

Bentonit kilinin detoksifiye edici ajan olarak davrandığı literatürde gösterilmiştir. Bu özellik, negatif yük toksinlerinin emilimine yol açan polikatyonik doğasına atıfta bulunmaktadır. T-2, Fusarium mantarının doğal olarak oluşan bir yan ürünü olan ve insanlar ve hayvanlar için toksik olan bir trikotesen mikotoksinidir. Sıçanlar, T-2 toksikozundan 2 hafta önce bentonit aldığıında, bu toksinin fekal atılımında belirgin bir artış, bentonitin T-2 toksikozuna karşı iyileştirici etkisini gösterdiği bildirilmiştir (Moosavi 2017).

Aflatoksinler, esas olarak karaciğeri etkileyen bazı küfler tarafından üretilen zehirli ve kansere neden olan kimyasallardır. İlk olarak 1989 yılında Dvorak ve arkadaşları bentonitin aflatoksini adsorbe etme kapasitesini gösterdiğini bildirmişlerdir (Moosavi 2017).Metal toksisitesi veya metal zehirlenmesi, belirli metallerin belirli formlardaki ve yaşamdaki dozları üzerindeki toksik etkisidir. Kurşun zehirlenmesi, insanlarda ve diğer omurgalılarda vücuttaki ağır metal kurşunun artan seviyelerinin neden olduğu tıbbi bir durumdur. Kurşun çeşitli vücut süreçlerine müdahale eder ve kalp, kemikler, bağırsaklar, böbrekler, üreme ve sinir sistemleri dahil olmak üzere birçok organ ve doku için toksiktir. Domuzlarda, 100 gün boyunca montmorillonite beslenme takviyesi, kan, beyin, karaciğer, kemik, böbrek ve saçlarda kurşun konsantrasyonunu azaltmıştır (Moosavi 2017).

Kuzey Amerika'da alerjik kontakt dermatitin en yaygın görülen cilt hastalıklarından birisidir. Quaternium-18 bentonit losyonunun deneysel olarak üretilen alerjik kontakt dermatiti önleme veya azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, belirli bir oranda bentonit mineralini içeren güneş losyonlarının, en yüksek UV ışığı seviyesini absorbe etmede piyasada bulunan güneş losyonundan daha güçlü oldukları bildirilmiştir (Moosavi 2017).

Bentonit, uzun bir süre tıpta için ishal tedavisi olarak kabul edilmiştir. Oral yolla

uygulanan bentonitin farklı nedenli diyare (virüs enfeksiyonu, besin alerjisi, spastik kolit, mukoza koliti ve gıda zehirlenmesi) faktörlerinin % 97'sini tedavi ettiği gösterilmiştir (Moosavi 2017). Günümüzde antibiyotiğe dirençli patojenik bakterilerin sayısı artmıştır. Bu endişe verici eğilim yeni antibakteriyel ajanları tanımlama ve değerlendirme ihtiyacını ortaya koymaktadır. Doğal jeolojik minerallerin, yeni tedavi edici bileşikler için umut sağlayabilecek antibakteriyel özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Montmorillonite'nin Escherichia coli'nin T1 ve T7 koliformlarını in vitro absorbe edebileceği gösterilmiştir (Moosavi 2017).

Sahip olduğu bu özellikleriyle de montmorillonit kili yeni nesil ilaç taşıyıcı sistemlerde tek başına veya kompozit malzemelerde bileşen olarak kullanılabilir ve medikal kil olarak kabul edilir (Aguzzi vd. 2007, Dong ve Feng 2005). Doğada bol miktarda bulunan bu tabakalı alüminyum silikat hammaddesinin yukarıda sayılan üstün fiziko-kimyasal özellikleri yanında tabaka kalınlıklarının ve tabakalar arası bazal boşluğun yaklaşık 0.9-1.2 nm olması ve tabaka aralarındaki katyonların daha büyük boyutlu organik moleküller veya inorganik başka maddeler ile yer değiştirebilmesi sebebi ile montmorillonit kili yeni nesil ilaç taşıyıcı sistemlerinde nano-kompozit malzeme bileşenlerine bir aday olarak gösterilebilir (Lee vd. 2005, Liu vd. 2011).

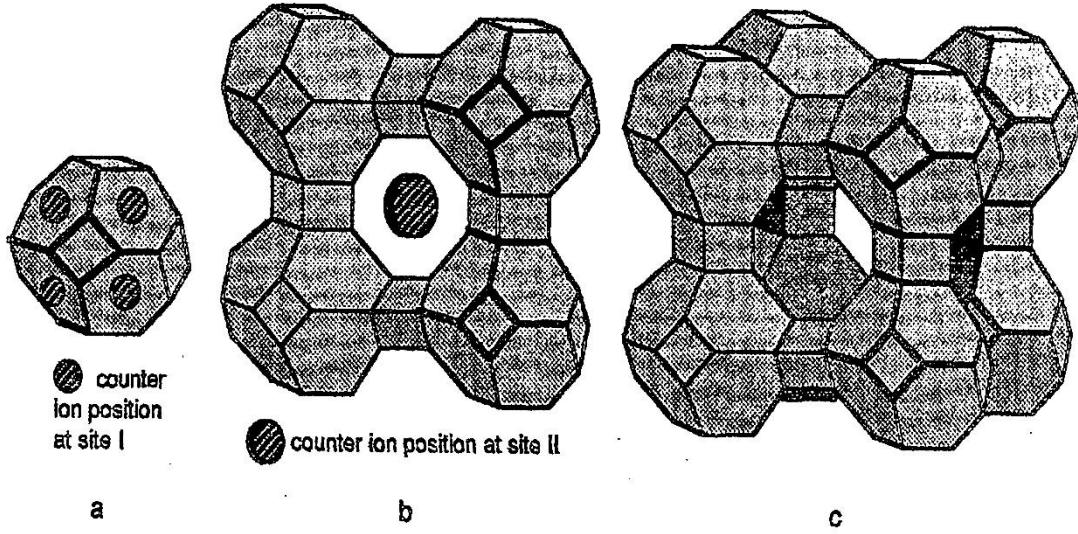
2.8 Zeolitler

Zeolitler farklı boyutlarda ve yapılarda gözenek ve kanallara sahip kristal yapıda; sodyum, potasyum, magnezyum, kalsiyum, stronsiyum ve baryum gibi 1A ve 2A grup elementlerinin hidrate alümina silikatlarıdır (Şekil 2.2). Minerallerin çoğu doğal olarak bulunur ve dünyanın büyük bir kısmında büyük ölçüde yeraltından çıkartılır.

Zeolit mineralleri zeolit yapı ve özelliklerinin (adsorpsiyon, iyon değişikliği yapabilme, adsorpsiyon ve buna bağlı moleküler elek yapısı, silis içeriği, ayrıca tortul zeolitlerde açık renkli olma, hafiflik, küçük kristallerin gözenek yapısı) birçok araştırmalarında kullanılmaktadır.

Farklı boyutlarda ve yapılarda gözenek ve kanallara sahip olması nedeni, ile doğal ve sentetik olarak mevcut olan zeolitler endüstride pek çok alanda (kirlilik kontrolü, enerji,

tarım – hayvancılık, maden – metalürji- sağlık) kullanılmaktadır.



Şekil 2.2. Zeolit A yapısının gösterimi (Te Hennepe vd. 1988)

- Hekzagonal pencerelerin merkezinde bulunan I yerindeki zıt iyon konumuna sahip β kafesine sahip kesikli oktahedron yapı birimi
- II yerindeki katyon konumuna sahip α -kafesine erişim sağlayan 8 üyeli halkalı pencereyi oluşturan 4 yapı birimi veya β -kafesleri
- α -kafesini oluşturan yapı birimlerinin kübik dizilişi.

Zeolitler; sağlık alanında deterjan yapımında iyon değiştirici olarak en çok deterjan endüstrisinde su yumuşatıcı ajan olarak veya fosfatların yerine, diş macunu ve ilaç üretiminde de kullanılmaktadır. Gümüş ve çinko yüklenmiş antibakteriyel etki gösteren malzemelerin üretilmesinde de zeolitler kullanılmaktadır (Beş Yıllık Kalkınma Planı 1996).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzemeler

3.1.1. Bentonit

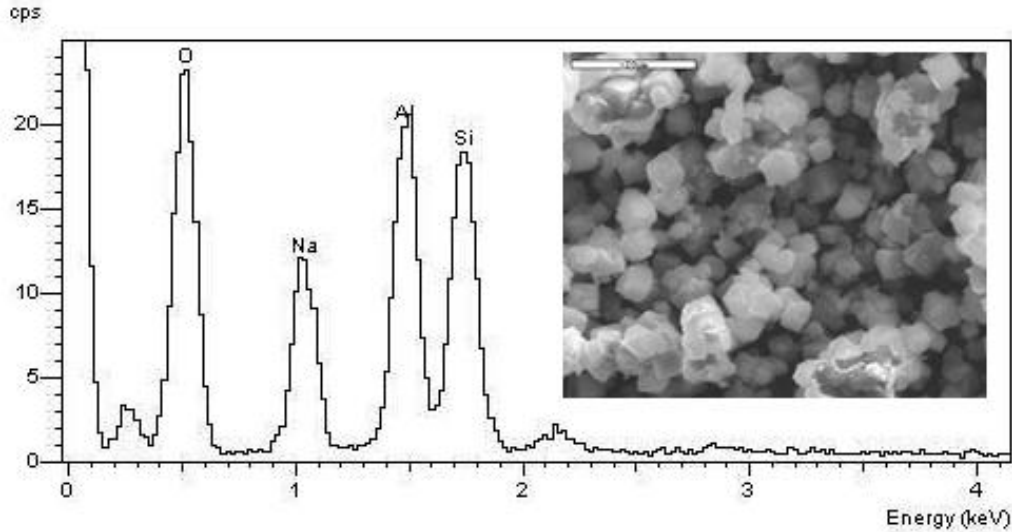
Na-Bentonitin (Karben Bentonit Turkey) XRF analizi Çizelge 3.1’de verilmiştir.

3.1.2 Zeolit 4A

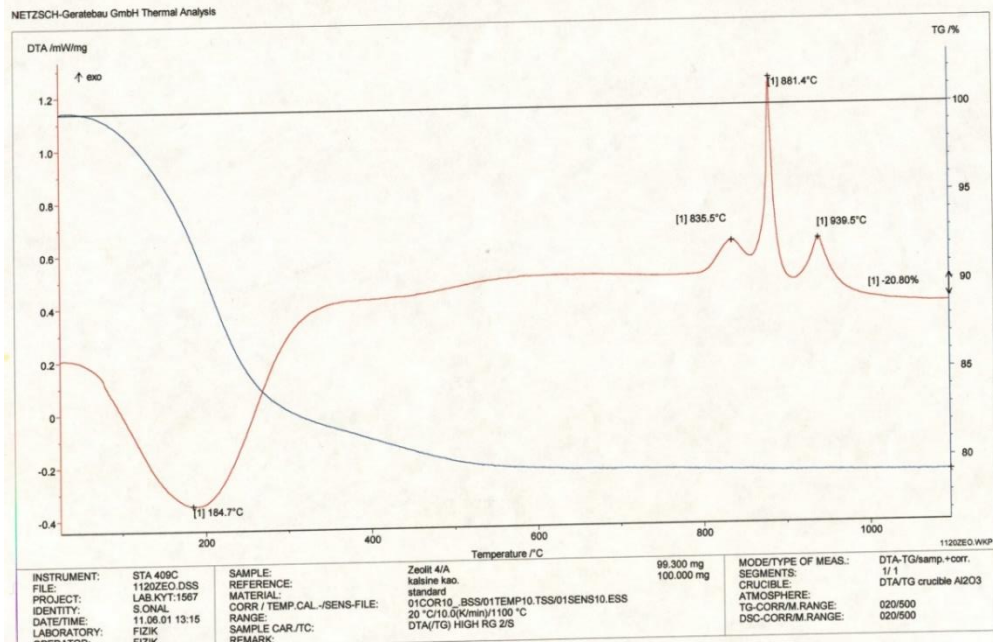
Bentonite katkı maddesi olmak üzere Zeolit 4A (Union Carbide Linde Division, UOP) kullanılmış olup özellikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Zeolit 4A’nın SEM-EDX fotoğrafı Şekil 3.1’de verilmiştir. Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4 ‘ de sırası ile Zeolit 4A ‘nın DTA-TG grafiği, Zeolit 4A ‘nın XRD paterni, Zeolit 4A ‘nın tane boyut analizi gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Kullanılan Na-Bentinitin XRF Analizi.

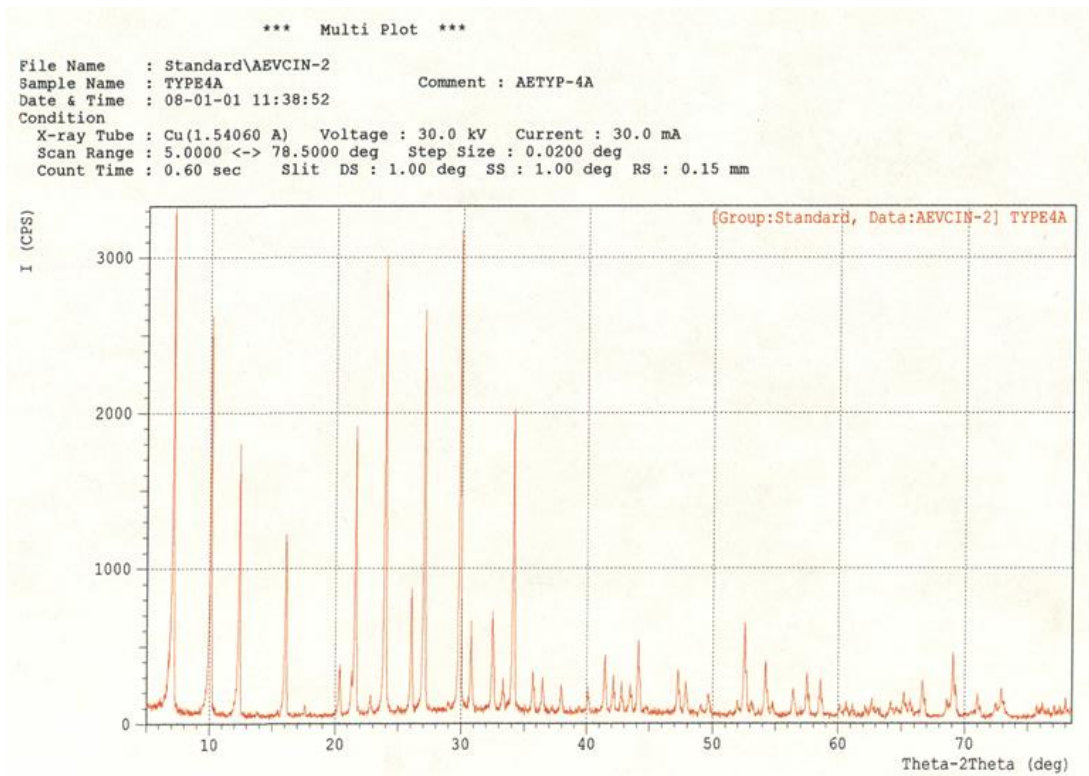
SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	Na ₂ O	MgO	K ₂ O	TiO ₂
59,4997	17,8454	4,0841	3,2388	2,432	2,1291	0,9396	0,3506
P ₂ O ₅	SrO	MnO	SO ₃	BaO	ZrO ₂	ZnO	Ig
0,1252	0,1112	0,1067	0,074	0,0479	0,0295	0,0115	8,9747



Şekil 3.1 Zeolit 4A ‘nın SEM-EDX fotoğrafı 1800X.



Şekil 3.2 Zeolit 4A 'nın DTA-TG grafiği



Şekil 3.3 Zeolit 4A 'nın XRD paterni.

MALVERN INSTRUMENTS MASTERSIZER

KS AR-GE FÝZYK LABORATUARI

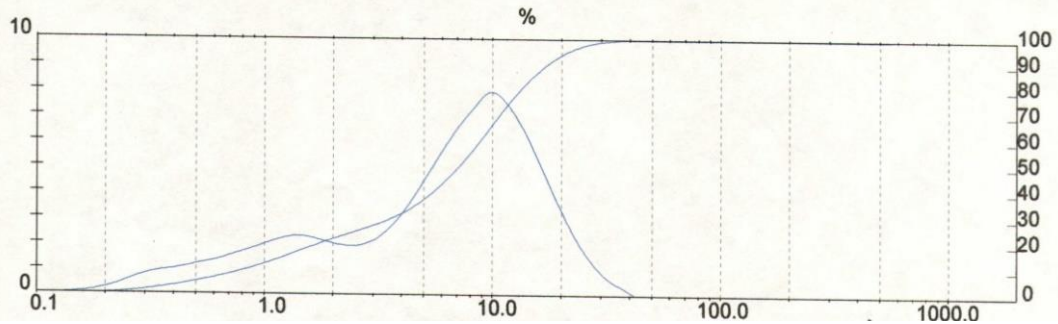
Result: Analysis Report

Sample Details		
Sample ID: Zeolit 4/A	Run Number: 298	Measured: 5 Jun 2001 Tue 14:38
Sample File: 01DIGER	Record Number: 77	Analysed: 5 Jun 2001 Tue 14:38
Sample Path: C:\SIZERMP\DATA\		Result Source: Analysed
Sample Notes: S.ONAL 5.6.2001 LAB.KYT:1567		

System Details		
Sampler: MS1		Measured Beam Obscuration: 16.9 %
Presentation: 5OHD	[Particle R.I. = (1.5295, 0.1000);	Dispersant R.I. = 1.3300]
Analysis Model: Polydisperse		Residual: 0.417 %
Modifications: None		

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

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



Şekil 3.4 Zeolit 4A 'nın tane boyut analizi.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan Zeolit 4A'nın özellikleri.

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

3.2 Hücre Kültürü

Bu çalışmada ARPE-19 (a human RPE cell line, ATCC, Manassas,VA) hücre hattı kullanıldı.

ARPE-19 (a human RPE cell line, ATCC, Manassas,VA) trafik kazasında ölen sağlıklı 19 yaşında erkek donörün globundan hazırlanmıştır (Lions Göz ve Doku Bankası, CA, ABD). Donörün ölümünden 2 saat sonra enükleasyon yapılan glob 12 saat soğuk ortamda saklanmış, sonrasında kalsiyum-magnezyum içeren Puck'ın salin solusyonu, 0.1 mg/ml streptomisin 100 U/ml penisilin'le yıkanmıştır. Retina optik diskten itibaren diseke edilmiş. Selektif tripsinizasyon işlemi yapılarak birinci pasaj kubooidal hücre hattı elde edilmiş, yüzeyel hücrelerden arındırılmıştır. Hücre hattı 16 ml DMEM medyumundan 25cm lik flasklarda %10 konsantrasyonda CO2 olan ortamda 37°C sıcaklıkta etüvde steril şartlarda bekletilmiş, medyumlar haftada bir değiştirilmiştir (Bayramova 2018).

ARPE-19 primer insan RPE hücrelerinin özelliklerini taşımakla beraber hızlı proliferasyon özelliği ile diğer RPE hücre kültürlerinden farklılık göstermektedir. Hücrelerin bölünmesi yaklaşık 24 saat olarak hesaplanmıştır. Hücrelerin elektron mikroskopsinde kuboidal, kolumnar yapılı, apikal mikrovillus içeren, hücreler arası sıkı adezyon bağlantılarına ve birçok organelle sahip olduğu görülmüş (Bayramova 2018).

Sıvı azot tankında dondurulmuş halde kriyovial tüpler içinde saklanan ARPE-19 hücreleri 37°C'lik su banyosunda kriyovial tüpün kapak hizasının suya batırılmamasına dikkat edilerek hızlı şekilde çözündü. Temel hücre kültürü prensiplerine dikkat edilerek bu hücreler flasklara ekildi.Hücre kültürü flasklarda süspansiyon ortamında hücrelerin büyütülmesi ve çoğaltılması basamakları aşağıda verilmiştir.

3.3 Hücre Pasajı

ARPE-19 hücreleri flaskın tabanına yapışan karakterdedir. Hücreler %10 (v/v) oranında ısı ile inaktif edilmiş fetal buzağı serumu (FCS) ve 5 mM glutamin, 100 U/ml penisilin, 100 µg/ml streptomisin, 1 mM sodyum piruvat, 50 mikroM 2-merkaptolanol ve 10 mM HEPES içeren RPMI 1640 besi yerinde 37°C, %5 CO₂ ve %95 hava içeren bir atmosferde inkübe edildi. Hücreleri çoğaltmak amacıyla yaklaşık cm karede 4x10⁴ hücre yoğunluğu olacak şekilde 75 cm²'lik flaslara 3x10⁶ hücre 20 ml besi yeri içeren kültür kabına (150-mm flask) konarak 4-5 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Süspansiyon steril kapaklı tüplere aktararak 400xg ve 25°C'de 5 dakika santrifüj edilerek hücre tortusu elde edildi. Pelet üzerine tüp hacminin yaklaşık 1/3'ü kadar taze besi yeri sıvısı konarak pipet ile karıştırıldı ve buradan alınan 20µl hücre süspansiyonu ile 90 µl tampon (1xPBS + %1 FCS) ve 100 µl tripan mavisi eppendorf içinde karıştırıldı. Mikroskopik incelemede karışımda beyaz renkte canlı hücreler ile mavi renkte ölü hücrelerin mililitredeki sayısı hemositometre üzerinde belirlendi. Sayımı yapılan hücrelerden yapılacak pasajlamalarda yeni kültür kaplarına 10⁵ hücre/ml olacak şekilde hücreler dağıtıldı ve yeterli miktarda medium eklenerek inkübasyona kaldırıldı. Pasajlama işlemi sonrası hücrelerin zemine tutunabilmeleri için 24 saat beklenildi. Flaslara üzerine tarih, hücrenin adı, pasaj numarası yazıldı (Bayramova 2018).

Daha sonra deneyler için hücre elde etmek amacıyla flaslara aşağıda listelenen gruplar oluşturuldu.

1. Kontrol grubu (ARPE-19 hücreleri ve medium)
2. BENTONİT grubu (ARPE-19 hücreleri+medium+Bentonit)
3. ZEOLİT 4A grubu (ARPE-19 hücreleri+medium+Zeolit 4A)
4. BENTONİT + ZEOLİT 4A grubu (ARPE-19 hücreleri+medium+ Bentonit + Zeolit 4A)

3.4 MTT Hücre Viabilite Ölçüm Testi

MTT, hücre canlılığı ve üremesini ölçen, hassas, tekrarlanabilir, uygulanması kolay ve radyoaktif izotop kullanımı gerektirmeyen avantajlı bir yöntemdir. Bentonit nanopartiküllerinin (NP'lerinin), Zeolit 4A NP'lerinin ve bentonit-zeolitin

nanokompozitinin (NK'nın) ARPE-19 hücreleri üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amacıyla MTT hücre viabilite ölçüm testi yapıldı. Kontrol grubunun viabilitesi %100 olarak değerlendirildi.

Bu yöntemle 2×10^4 hücre/ml de olacak şekilde hazırlanan hücre süspansiyonundan, 100µl 96 kuyulu hücre kültürü tabakalarının her kuyucuğuna aktarıldı. Aynı zamanda hücrelere 0,0002-0,001-0,002-0,01-0,02-0,1 mg/ml konsantrasyonlarında bileşenler eklenerek 37°C' de inkübe edildi. 24 ve 48 saat inkübasyon süresi sonunda her bir kuyucuğa 20 µl MTT boyası (5 mg/ml) ilave edilere, hücreler 37 °C' de 2 saat daha inkübe edildi. Bu süre sonunda hücrelerden MTT boyası uzaklaştırılmış ve her bir kuyuya 200 µl DMSO eklenerek 10 dakika inkübe edilmiştir. Renk değişimi, ELISA plaka okuyucusunda 540 nm dalga boyu ile belirlenmiştir. Bileşen ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı % 100 olarak kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları % olarak ifade edilmiştir (Denizot ve Lang 1986).

3.5 Kaspaz 3 Testi

Biyokimyasal ve morfolojik olaylar sonucu oluşan apoptozis ve nekroz; hücre ölümünün iki farklı biçimidir (Kiess ve Gallaher 1998). Nekrozda hücre şişer, organeller bozular, plasma membranı yırtılır. Sitoplazma materyali hücre dışına geçerek inflamasyona neden olur. Apoptozis sırasında ise plazma membranı yırtılmaz. Çalışmalarda apoptozis nedenli hücre ölümünün belirlenmesinde Kaspaz 3 düzeylerinin ölçülmesi apoptozisin göstereilmesi açısından önemlidir. Hücre hatlarında 3 grup için ayrı ayrı yapılan MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçlarına göre belirlenen etkin dozlar için kontrol grubu ile kıyaslanmak üzere Kaspaz 3 testi uygulandı.

3.6 İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS (versiyon 15.0) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası farklılıklar Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Grupların ikili karşılaştırması için ise Dunn Çoklu Karşılaştırma testi kullanıldı. 0,05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 ARPE-19 Hücrelerinde MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçları

Bentonit NP'lerinin, Zeolit 4A NP'lerinin ve bentonit-zeolitin NK'nın ARPE-19 hücreleri üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi amacıyla MTT hücre viabilite ölçüm testi yapıldı. Kontrol grubunun viabilitesi %100 olarak değerlendirildi.

Bentonit nanopartiküllerinin tek başına farklı dozlarda (1,5,10,30,60,120,240 µg/ml) ARPE-19 hücrelerinin canlılık düzeyleri üzerindeki etkisi değerlendirildi (Çizelge 4.1). En yüksek canlılık düzeyi 30 µg/ml Bentonit verilen hücrelerde elde edildi.

Zeolit 4A NP'lerinin tek başına farklı dozlarda (1,5,10,30,60,120,240 µg/ml) ARPE-19 hücrelerinin canlılık düzeyleri üzerindeki etkisi değerlendirildi (Çizelge 4.2). En yüksek canlılık düzeyi 1 µg/ml Zeolit 4A verilen hücrelerde elde edildi.

Bentonit-zeolitin NK'nın ARPE-19 Hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildi. En yüksek canlılık düzeyi B10+ZEO10 µg/ml Bentonit-zeolitin nanokompoziti verilen hücrelerde elde edildi (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.1 Bentonit nanopartiküllerinin farklı dozlarda µg/ml ARPE-19 Hücrelerinde MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçları.

Konsantrasyon	Canlılık
1	67,597
5	51,46358
10	59,22396
30	72,77059
60	64,1933
120	71,5525
h240	70,0933

Çizelge 4.2 Zeolit 4A nanopartiküllerinin farklı dozlarda µg/ml ARPE-19 Hücrelerinde MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçları.

Konsantrasyon	Canlılık
1	81,1164
5	66,23553
10	73,56478
30	57,0683
60	54,02768
120	48,95848
240	46,15385

Çizelge 4.3 Bentonit-zeolitin nanokompozitinin farklı dozlarda µg/ml ARPE-19 Hücrelerinde MTT Hücre Viabilite ölçüm testi sonuçları.

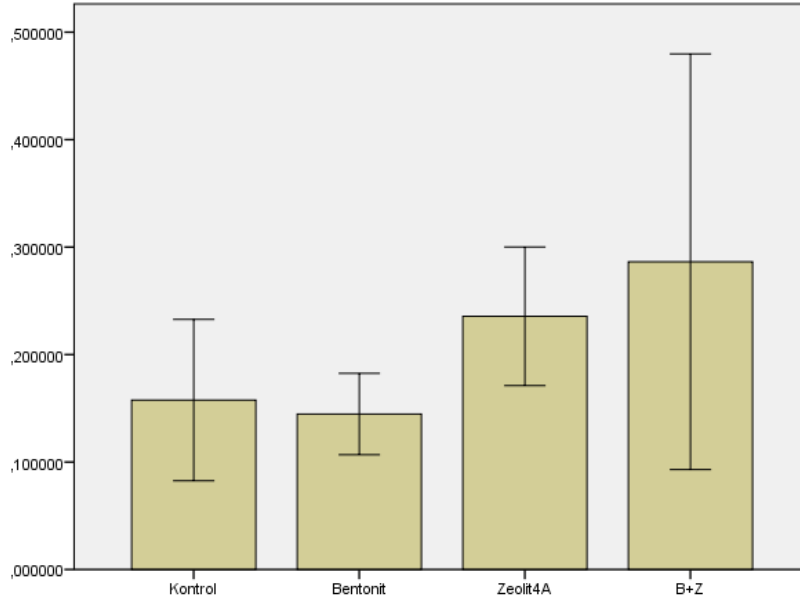
Konsantrasyon	Canlılık
B1+ZEO5	46,15385
B5+ZEO10	40,889
B5+ZEO30	57,81711
B5+ZEO120	52,03086
B10+ZEO5	58,8155
B10+ZEO10	70,13842
B10+ZEO30	55,38915
B10+ZEO60	50,53324
B10+ZEO120	57,6174
B30+ZEO5	43,11323
B30+ZEO10	48,8767
B30+ZEO30	44,02088
B30+ZEO120	52,8023
B60+ZEO5	51,1686
B60+ZEO10	39,8457
B60+ZEO30	44,86045
B60+ZEO60	46,81189

4.2 Kaspaz 3 Testi Sonuçları

Yapılan MTT analizleri ile ARPE-19 hücreleri viabilitesi açısından en yüksek sonuçlar veren dozu kullanılarak Bentonit NP'lerinin, Zeolit 4A NP'lerinin ve bentonit-zeolitin NK'nın ayrı ayrı apoptozis üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan kaspaz 3 ELİSA testi sonuçları Çizelge 4.4' de detaylı olarak sunulmuştur. MTT test sonuçları dağılımı ise Çizelge 4.5' de sunulmuştur.

Çizelge 4.4 Bentonit NP'lerinin, Zeolit 4A NP'lerinin, bentonit-zeolitin NK ve kontrol grubumuzun caspaz 3 değerleri.

Grup	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Median
Kontrol	,15765317	,071571567	,082038	,243139	,15709050
Bentonit	,14469583	,036039855	,085484	,193398	,14757100
Zeolit4A	,23567267	,061435258	,130999	,311974	,25067700
B+Z	,28635660	,155728859	,115411	,539265	,26452500



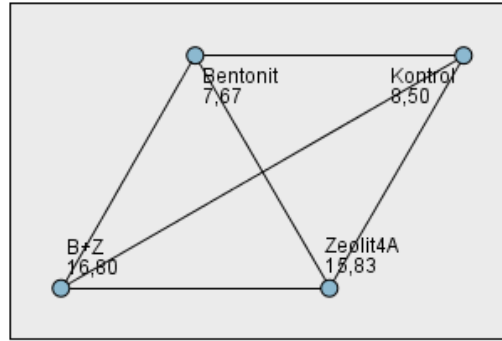
Şekil 4.1 Bentonit nanopartiküllerinin (NP'lerinin), Zeolit 4A NP'lerinin, bentonit-zeolitin nanokompozitinin (NK) ve kontrol grubumuzun MTT test sonuçları dağılımı.

Elde edilen veriler gruplar arası farklılıklar Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Grupların ikili karşılaştırması için ise Dunn Çoklu Karşılaştırma testi kullanıldı. 0,05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi. (Çizelge 4.6) Dağılımları ise çizelge 4.7' de sunulmuştur.

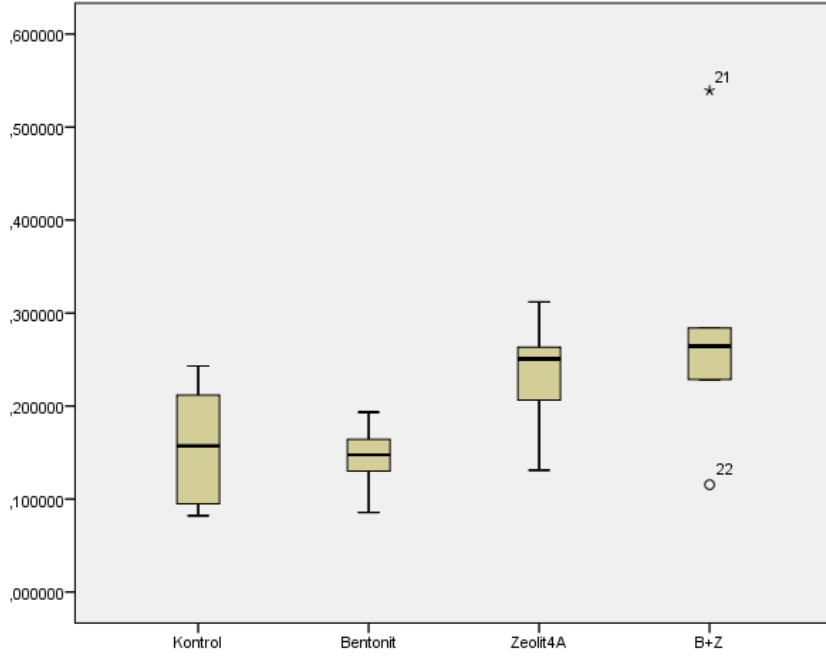
Caspaz-3 testi sonuçları değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile bentonit nanopartikül grubu arasında ve kontrol grubu ile zeolit 4A nanopartikül grubu arasında; istatistiksel açıdan anlamlı farklılık çıkmamıştır. Kontrol grubu ile bentonit ve zeolit 4A nanokompozitini kalışaltırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık çıkmıştır.

Çizelge 4.5 Bentonit nanopartiküllerinin (NP'lerinin), Zeolit 4A NP'lerinin, bentonit-zeolitin nanokompozitinin (NK) ve kontrol grubumuzun caspaz 3 test sonuçları Dunn Çoklu Karşılaştırma testi ile karşılaştırılması.

Pairwise Comparisons of GRUP



Örnek 1-Örnek 2	Test İstatistiği	Std. Hata	Std. Test İstatistiği	Sig.	Adj. Sig
Bentonit-Kontrol	,833	3,916	,213	,831	1,000
Bentonit-Zeolit4A	-8,167	3,916	-2,086	,037	,222
Bentonit-B+Z	-9,133	4,107	-2,224	,026	,157
Kontrol-Zeolit4A	-7,333	3,916	-1,873	,061	,367
Kontrol-B+Z	-8,300	4,107	-2,021	,043	,260
Zeolit4A-B+Z	-,967	4,107	-,235	,814	1,000



Şekil 4.2 Bentonit nanopartiküllerinin (NP'lerinin), Zeolit 4A NP'lerinin, bentonit-zeolitin nanokompozitinin (NK) ve kontrol grubumuzun Caspaz -3 test sonuçları dağılımı.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Nanoteknoloji kullanılarak üretilen kontrollü ilaç salınımı yapabilen ilaç taşıma sistemleri sayesinde; ilaçların kontrollü uygulanması, ilaç parçalanmasını en aza indirmek, yan etkilerin azaltılması, ilaç biyoyararlanımının artırılması, hedeflenen alanda ilaın etkinliğini artırmak, ilaç geçirgenliğinin artırılması amaçlanmaktadır (Sahoo vd. 2008, Zarbin vd. 2010).

Günümüzde üretilen nanoteknolojik kontrollü ilaç salınımı yapabilen ilaç taşıma sistemlerinde: polialkilsiyanoakrilat, polimetilmetakrilat, polikaprolaktone, jelatin, albümin, polilaktik asit, kil mineralleri, hidroksiapatit, kitosan gibi pek çok sentetik ve doğal biyoyumlu malzemeler kullanılmaktadır (Gurny vd. 1985, Diepold vd. 1989, Losa vd. 1991, Merodio vd. 2002, Luo vd. 2016).

Çalışmamızda kullandığımız MMT kilinde negatif yüzey yükü bulunmaktadır. Katmanlar arası bölgelerde değiştirilebilir katyonların (Na⁺, Ca²⁺, vb.) emilimi ile bu negatif yük dengelebilmektedir. Bu nedenle, katyonik bileşikler ara tabaka boşluğuna araya girme eğilimindedir veya bir kompleks oluşturmak için MMT'nin yüzeyine bağlanma eğilimindedir. Ayrıca MMT kili sahip olduğu yüksek spesifik yüzey alanı, iyi adsorban yeteneği, yüksek katyon değiştirme kapasitesi, muko-adeziv, biyoyumlu, düşük veya sıfır toksisite, güçlü detoksifikatör, yüksek şişme kapasitesi, plastisite, yüksek kimyasal stabilite ve asidik ortamlarda stabil kalabilme, esnek ara tabaka aralıkları yeteneği gibi üstün özellikleriyle farmasötik endüstride kontrollü ve hedefli ilaç taşıyıcı sistemleri için tek başına veya modifiye edilerek kullanılması için büyük bir potansiyele sahiptir (Aguzzi vd. 2007, Nayak vd. 2011, Kevadiya vd. 2012, Calebrese vd. 2013, Iliescu vd. 2014, Iliescu vd. 2014, Anirudhan vd. 2014, Rajkumar vd. 2015, Lal and Datta 2015).

Glokom alanında yapılan; Montmorillonite/chitosan nanopartiküllerini kullanılan çalışmada MMT ile hazırlanan yeni nanopartiküllerinin betaxolol hydrochloride için başarılı bir ilaç dağıtım sistemi olabileceği gösterilmiştir. Belirgin bir toksite izlenmez iken farmokinetik dağılımlarının iyi olduğu, etki süresinin uzun olduğu ve göz içi basıncında yüklenen bu ilaç ile iyi bir başarı elde edildiğini bildirmişlerdir (Li vd.

2018).

Literatürde Retina Pigment epitel ve MMT kili ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Literatürde sadece bir çalışmada çalışmada montmorillonite bazlı polyurethane nanokomposite kullanılmıştır. ((Isophorone diisocyanate (IPDI) 8.58 Polycaprolactone-diol 1000 (PCL1000) 4.85 Polycaprolactone-diol 2000 (PCL2000) 9.09 2,2-bis(hydroxymethyl) propionic acid (DMPA) 0.97 Triethylamine (TEA) 0.73 Water 74.70 Hydrazine (HZ) 1.08)) (Da Silva vd. 2013).

Retina Pigment epitel transplantasyonu için ARPE-19 hücrelerinin bağlanabileceği bir tabaka tasarlamayı amaçlayan bu çalışmada RPE hücrelerinin, in vitro bağlanması, hayatta kalması, organizasyonu ve farklılaşması araştırılmıştır. Bu tasarlanan tabakanın transskleral metod ile subretinal boşluğa RPE hücrelerini iletmek için Bruch membranına benzer şekilde gözeneklerden oluşması, esnek ve ince olması, biouyumlu, biyobozunur olması gerektiği vurgulanmıştır. Bu yapının immun yanıtı uyarmaması, A vitamini, glikoz, yağ asitleri gibi hücre ihtiyaçlarının geçişine izin vermesi gerektiği vurgulanmıştır.

Montmorillonit kili nanopartiküllerinin RPE hücre kültürlerinin mekanik özelliklerini ve biyobozunurluğunu kontrollü hale getirildiği öne sürülmüş. 15 günlük bekleme süresinden sonra ARPE-19 hücrelerinin, MTT testi ile viabilitesi 98.56 ± 4.59 olarak bulunmuş. Kontrol grubu %100 kabul edilmiş. İstatiksel olarak kontrol grubu ile anlamlı bir farklılık olmadığı gösterilmiş. Değerlendirilen nanokompozit ve bozunma ürünlerinin ARPE-19 hücreleri için toksik olmadığı öne sürülmüş. ARPE-19 hücrelerinin 89.43 ± 5.89 % unun başarılı bir şekilde yeni yapılan nanokompozite bağlandığını ve yapışıp çoğalabildiğini göstermiştir (Da Silva vd. 2013).

Ayrıca elektron mikroskopisi ile 15. gün sonunda bu nanokompozitin üzerindeki RPE hücrelerinin organellerinin, sitoplazmik yapılarının ve membranlarının morfolojik olarak normal olduğu, tek katlı RPE özelliklerinin ve zonula okludenslerin korunduğu gösterilmiştir.

Son olarak bu nanokompozit Kahverengi Norveç sıçanlarında subretinal transskleral olarak yerleştirilmiştir. 15 gün sonunda histolojik olarak arka segmentte bu nanokompozitin biyouyumluluğu gösterilmiştir (Da Silva vd. 2013).

Bu çalışmada polimerik matrise dahil edilmiş montmorillonit nanokompozitinin muhtemelen poliüretanın yüzey kimyasını uyarladığını ve bu yüzeyin hidrofilitatesini arttırdığını ve böylelikle fonksiyonel ARPE-19 hücre hattı gelişimini desteklediğini öne sürmüşlerdir (Da Silva vd. 2013).

Bir başka çalışmada ise rod hücrelerinden esinlenerek görsel bir fotokromik fonksiyona sahip katmanlı iyon kanalları, alümina nano gözenekli zar yüzeyinde spiropiran-modifiye edilmiş montmorillonit ile oluşturulmuştur. Ve böylece montmorillonit ile kontrol edilebilir iyon aktarımı için değiştirilebilir durumlu rod hücrelerine benzer şekilde fotokromik katmanlı iyon kanalları oluşturma potansiyeli gösterilmiştir (Xiao vd. 2019).

Bizim çalışmamızda ise Bentonit nanopartiküllerinin tek başına farklı dozlarda (1, 5, 10, 30, 60, 120, 240 µg/ml) ARPE-19 Hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildi. ARPE-19 Hücreleri viabilitesi açısından en yüksek sonuçlar 30 µg/ml Bentonit ile elde edildi. Ayrıca biyouyumluluk açısından apoptozisin değerlendirildiği, Kaspaz-3 testi sonuçlarımıza göre kontrol grubu ile bentonit nanopartikül grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık çıkmamıştır.

Zeolitler genellikle adsorban materyaller olarak kullanılmaktadır. Zeolitler negatif yüke sahiptir ve bu yük katyonlarla (özellikle Na + veya K +) dengelenir. Bu katyonlar, bir çözelti içinde ağır metaller veya amonyum iyonları gibi arzu edilen pozitif iyonlarla değiştirilebilir (Rožić vd. 2000, Savi vd. 2018). Zeolitler iyi tanımlanmış yapıları, küçük moleküllere geri dönüşümlü bağlanma, şekil ve büyüklük seçiciliği ve metaloenzimler gibi davranma ve bağışıklık sistemi özelliklerini düzenleme yetenekleri nedeniyle yaygın olarak ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılacağı düşünülmektedir (Inoue vd. 2002, Kralj ve Pavelic 2003).

Çeşitli zeolitlerin detoksifiye edici, antioksidan, anti- inflamatuvar ve nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (Mastinu vd. 2018, Bacakova vd. 2018).

Gümüş gömülü zeolit tip A'nın *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel olduğu bildirilmiştir (Zhang vd. 2009). Ayrıca, zeolit X türü de, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı bakterisidal etkiye sahip olacak şekilde gümüş ile emprenye edilmiştir (Kwaky-Awuah vd. 2008).

İstenilen özelliğe göre, zeolit formülasyonları, tıbbi cihazların, yüzeylerin, tekstillerin veya antimikrobiyal özelliklerin gerekli olduğu ev eşyalarının üretiminde kullanılan polipropilen veya polietilen gibi farklı malzemelerle birleştirilebilir (Demirci vd. 2014). Zeolitler, anti-kanser tedavide yeni bir adjuvan olarak düşünülmektedir. 5-Fu, doxorubicin ve mitoxantrone gibi ilaçların zeolitler ile taşınabildiği gösterilmiştir. (Grund vd. 2012, Vilaça vd. 2013, Khatamian vd. 2016, Adhikari, vd. 2015). Ayrıca zeolitlerin indometazin ve ibuprofen gibi bazı antiinflamatuvar ilaçlar için de kontrollü salınım imkanı verebilecek bir taşıyıcı olabileceği gösterilmiştir (Khodaverdi vd. 2014).

Bu çalışmada ise Zeolit 4A NP'lerinin tek başına farklı dozlarda (1, 5, 10, 30, 60, 120, 240) µg/ml ARPE-19 Hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildi. ARPE-19 Hücreleri viabilitesi açısından en yüksek sonuçlar 1 µg/ml ile elde edildiği gösterildi. Ayrıca Bentonit-zeolit nanokompozitinin (NK'nın) RPE-19 Hücreleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde ; ARPE-19 Hücreleri viabilitesi açısından en yüksek sonuçlar B10 µg/ml +ZEO10 µg/ml Bentonit-zeolit nanokompoziti ile elde edildi. Ayrıca bu güvenli dozlarda Kaspaz-3 testi sonuçları değerlendirildiğinde kontrol grubu ile zeolit 4A nanopartikül grubu arasında apoptozis açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık çıkmamıştır. Ama kontrol grubu ile bentonit ve zeolit 4A nanokompozitini karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık çıkmıştır.

Literatürde Zeolit 4A ve Retina Pigment epiteli ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Biz bu çalışmada literatürde ilk defa Zeolit 4A'nın 1 µg/ml dozunda RPE hücre kültürü için biyoyumlu olduğunu öne sürülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan bentonit ve Zeolit 4A; iyi biyouyumluluk, yüksek adsorpsiyon kabiliyeti, yüksek katyon değişim kapasitesi ile retinal hastalıklarda potansiyel bir hedefe yönelik göz içi tedavi ajanı için taşıyıcı sistemler oluşturulması için kullanılabilceği düşünölmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Aguzzi C, Cerezo P, Viseras C, Caramella C, 2007, Use of clays as drug delivery systems: possibilities and limitations. *Applied Clay Science*, 36, 22–36.
- Akhter S, Ahmad I, Ahmad M Z, Ramazani F, Singh A, Rahman Z, vd., 2013, Nanomedicines as cancer therapeutics: current status, *Current Cancer Drug Targets*, 13, 362–378.
- Altıntaş N, 2013, Kalıtsal Retinopatilerde Retina Pigment Epiteli'nin Önemi ve Tünelin Sonundaki Işık: Retinitis Pigmentosa / Leber Congenital Amaurosis'in Genetiği. *Van Tıp Dergisi*, 20, 116-124.
- Amrite A C, Kompella U B, 2005, Size-dependent disposition of nanoparticles and microparticles following subconjunctival administration. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57, 555-63.
- Bayramova S, 2018, İnsan Retina Pigment Epiteli Hücre Kültüründe (ARPE 19) Anti VEGF İlaçların sitotoksosite derecelerinin belirlenmesi ve oluşturdukları oksidatif stresin toatal antioksiadan kapasite çalışılarak değerlendirilmesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıpta uzmanlık tezi, 84, Ankara.
- Beş Yıllık Kalkınma Planı Özel İhtisas Komisyonu Raporu, 1996, Ankara, cilt 1, 179-199.
- Cai X, Conley S M, Nash Z, Fliesler S J, Cooper M J, Naash MI, 2010, Gene delivery to mitotic and postmitotic photoreceptors via compacted DNA nanoparticles results in improved phenotype in a mouse model of retinitis pigmentosa, *FASEB J*, 24, 1178-91.
- Carretero M I, 2002, Clay minerals and their beneficial effects upon human health: a review, *Applied Clay Science*, 2, 155–163.
- Chen J, Patil S, Seal S, McGinnis J F, 2006, Rare earth nanoparticles prevent retinal degeneration induced by intracellular peroxides, *Nature Nanotechnology*, 1, 142-50.

- Ciolino J B, Hudson S P, Mobbs A N, Hoare T R, Iwata N G, Fink G R, vd. 2011, A prototype antifungal contact lens, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52, 6286-91.
- Da Silva G R, Da Silva-Cunha A, Jr Vieira L C, Silva L M, Ayres E, Oréface R L, vd., 2013, Montmorillonite clay based polyurethane nanocomposite as substrate for retinal pigment epithelial cell growth, *Journal of materials science Materials in medicine*, 24, 1309–1317.
- Demirci S, Ustaoglu Z, Yilmazer G A, Sahin F, Baç N, 2014, Antimicrobial properties of zeolite-X and zeolite-A ion-exchanged with silver, copper, and zinc against a broad range of microorganisms, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172, 1652-62.
- Denizot F, Lang R, 1986, Rapid colorimetric assay for cell growth and survival, modification to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability, *Journal of Immunological Methods*, 89, 271–277.
- Diebold Y, Calonge M, 2010, Applications Of Nanoparticles in Ophthalmology, *Progress in Retinal and Eye Research*, 29, 596-609.
- Diepold R W, Kreuter J, Himber J, Gurny R, Lee V H L, Robinson J R, 1989, Comparison of Different Models for the testing of Pilocarpine Eyedrops Using Conventional Eyedrops as a Novel Depot Formulation (Nanoparticles), *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 227, 188–193.
- Dong Y, Feng S, 2005, Poly (D,L-lactide-co-glycolide) / montmorillonite nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs *Biomaterials*, 26, 6068–6076.
- Elmore S E, Mitchell N, Mays T, Brown K, Marroquin-Cardona A, Romoser A , vd., 2014, Common African cooking processes do not affect the aflatoxin binding efficacy of refined calcium montmorillonite clay, *Food control*, 37, 27-32.
- Gratieri T, Gelfuso G M, de Freitas O, Rocha E M, Lopez R F, 2011, Enhancing and sustaining the topical ocular delivery of fluconazole using chitosan solution and poloxamer/chitosan in situ forming gel, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79, 320-7.
- Grinstaff M W, 2007, Designing hydrogel adhesives for corneal wound repair,

- Biomaterials, 28, 5205-14.
- Gurny R, Boye T, Ibrahim H, 1985, Ocular Therapy With Nanoparticulate Systems For Controlled Drug Delivery, *Journal of Controlled Release*, 2, 353–361.
- Ideta R, Tasaka F, Jang W D, Nishiyama N, Zhang G D, Harada A, vd. 2005, Nanotechnology-based photodynamic therapy for neovascular disease using a supramolecular nanocarrier loaded with a dendritic photosensitizer, *Nano Letters*, 12, 2426-31.
- Iliescu R I, Andronescua E, Ghitulicaa C D, Voicua G, Ficai A, Hoteteu M, 2014, Montmorillonite–alginate nanocomposite as a drug delivery system–incorporation and in vitro release of irinotecan, *International Journal of Pharmaceutics*, 463, 184– 192.
- İnan S, 2014, *Retina Anatomisi Kocatepe Medical Journal*, 15, 355-9.
- Inoue Y, Hoshino M, Takahashi H, Noguchi T, Murata T, Kanzaki Y, vd., 2002, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 92, 37–42.
- Jain S, Datta M, 2015, Oral extended release of dexamethasone: Montmorillonite–PLGA nanocomposites as a delivery vehicle, *Applied Clay Science*, 104, 182–188.
- Jayrajsinh S, Shankar G, Pharm M, Agrawal Y K, Bakre L, 2017, Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 39, 200-209.
- Kamaleddin M A, 2017, Nano-ophthalmology: Applications and considerations, *Nanomedicine*, 13, 1459-1472.
- Kang S J, Durairaj C, Kompella U B, O'Brien J M, Grossniklaus H E, 2009, Subconjunctival nanoparticle carboplatin in the treatment of murine retinoblastoma, *Archives of Ophthalmology*, 127, 1043-7.
- Kevadiya B D, Patel T A, Jhala D D, Thumbar R P, Brahmhatt H, Pandya M P, vd. 2012, Layered inorganic nanocomposites: a promising carrier for 5-Fluorourasil (5-FU). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81, 91–101.
- Kiess W, Gallaher B, 1998, Hormonal control of programmed cell death apoptosis.

- European Journal of Endocrinology, 18, 482-491.
- Kralj M, Pavelic K, 2003, EMBO Reports, 4, 1008–1012.
- Kwakye-Awuah B, Williams C, Kenward M, Radecka I, 2008, Journal of Applied Microbiology, 104, 1516–1524.
- Lee Y H, Kuo T F, Chen B Y, Feng Y K, Wen Y R, Lin W C, vd. 2005, Toxicity assessment of montmorillonite as a drug carrier for pharmaceutical applications: yeast and rats model, Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications, 17, 12–18.
- Li J, Tian S, Tao Q, Zhao Y, Gui R, Yang F, vd, 2018, Montmorillonite/chitosan nanoparticles as a novel controlled-release topical ophthalmic delivery system for the treatment of glaucoma, International journal of nanomedicine, 13, 3975–3987.
- Li X, Zhang Z, Chen H, 2013, Development and evaluation of fast forming nanocomposite hydrogel for ocular delivery of diclofenac, The International Journal of Pharmaceutics, 448, 96-100.
- Liu Q, Liu Y, Xiang S, Mo X, Su S, Zhang J, 2011, Apoptosis and cytotoxicity of oligo (styrene-co-acrylonitrile)-modified montmorillonite. Applied Clay Science, 51, 214–219.
- Losa S, Calvo, P, Castro, E, Vilajato, JL, Alonso MJ, 1991, Improvement Of Ocular Penetration of Amikacin Sulfate by Associatioto Poly(Butylcyanoacrylate) Nanoparticles, Journal of Pharmacy and Pharmacology, 43,548–552.
- Luo H, Ji D, Li C, Zhu Y, Xiong G, Wan Y, 2016, Layered nanohydroxyapatite as a novel nanocarrier for controlled delivery of 5-Fluorourasil, International Journal of Pharmaceutics, 513, 17–25.
- Marmor M F, 2000, The retinal pigment epithelium. In: Yanoff M, Duker JS (Editors). Ophthalmology, Mosby, 515-7.
- Merodio M, Irache J M, Valamanesh F, Mirshahi M, 2002, Ocular Disposition And Tolerance Of Ganciclovir-Loaded Albumin Nanoparticles After Intravitreal Injection in Rats, Biomaterials, 23, 1587–1594.

- Mitra R N, Nichols C A, Guo J, Makkia R, Cooper M J, Naash M I, vd. 2016, Nanoparticle-mediated miR200-b delivery for the treatment of diabetic retinopathy, *The Journal of Controlled Release*, 236-31.
- Moosavi M, 2017, Bentonite Clay as a Natural Remedy: A Brief Review, *Iran J Public Health*, 46, 1176-1183
- Nagarwal R C, Kant S, Singh P N, Maiti P, Pandit J K, 2009, Polymeric Nanoparticulate System: A Potential Approach For Ocular Drug Delivery, *Journal of Controlled Release*, 21, 136, 2-13.
- Nayak P L, Nanda R, Sasmal A, 2011, Preparation and characterization of chitosan–polylactide composites blended with cloisite 30B for control release of anticancer drug paclitaxel, *Carbohydr. Polym*, 83, 988–994.
- Qazi Y, Stagg B, Singh N, Singh S, Zhang X, Luo L, vd., 2012, Nanoparticlemediated delivery of shRNA.VEGF-A plasmids regresses corneal neovascularization, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53, 2837-44.
- Peptu C A, Popa M, Savin C, Popa R F, Ochiuz L, 2015, Modern drug delivery systems for targeting the posterior segment of the eye, *Current Pharmaceutical Design*, 21, 6055-69.
- Rožić M, Cerjan-Stefanović Š, Kurajica S, Vančina V, Hodžić E, 2000, *Water Research*, 34, 3675–81.
- Sahoo S K, Dilnawaz F, Krishnakumar S, 2008, Nanotechnology in Ocular Drug Delivery, *Drug Discovery Today*, 144-51.
- Sahoo S K, Labhasetwar V, 2003, Nanotech Approaches To Drug Delivery and Imaging, *Drug Discovery Today* 8, 1112–20.
- Sakai T, Kohno H, Ishihara T, Higaki M, Saito S, Matsushima M, vd. 2006, Treatment of experimental autoimmune uveoretinitis with poly(lactic acid) nanoparticles encapsulating betamethasone phosphate, *Experimental Eye Research*, 82, 657-63.
- Savi G D, Cardoso W A, Furtado B G, Bortolotto T, Zanoni E T, Scussel R, vd., 2018, Antifungal activities against toxigenic *Fusarium* specie and deoxynivalenol

- adsorption capacity of ion-exchanged zeolites. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, 53, 184–190.
- Summa, V, Tateto F, 2014, Clay minerals as adsorbents of aflatoxin M1 from contaminated milk and effects on milk quality, *Applied Clay Science* 88, 92-99.
- Tam A L, Gupta N, Zhang Z, Yucel Y H, 2011, Quantum dots trace lymphatic drainage from the mouse eye, *Nanotechnology*, 22,425101.
- Te Hennepe H J C, Bargeman D, Mulder M H V, Smolders C A, 1988, Permeation Through Zeolite Filled Silicone Rubber Membranes, “Characterization of Porous Solids”, Eds, Unger, K.K., et.al, Elsevier, 411
- Triphati R C, Wond M, 1999, The eye. In: Basic and clinical science course. American Academy of Ophthalmology Section 2. San Francisco, CA: The foundation of the American academy of ophthalmology, 47-92.
- Uğurlu N, 2013, Nanoteknoloji bazlı ilaç taşıma sistemlerinin göz ilaç uygulamalarında, transkleral geçiş üzerine etkisinin değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, 103, Ankara.
- Urtti A, 2006, Challenges And Obstacles Of Ocular Pharmacokinetics And Drug Delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, 1131–1135.
- Xiao T, Ma J, Jiang J, Gan M, Lu B, Luo, R, vd., 2019, Rod-Cell-Mimetic Photochromic Layered Ion Channels with Multiple Switchable States for Controllable Ion Transport. *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, 25, 12795–800.
- Yang C, Guo W, Cui L, Xiang D, Cai K, Lin H, Qu F. 2014, pH-responsive controlled-release system based on mesoporous bioglass materials capped with mineralized hydroxyapatite. *Materials Science and Engineering*, 36, 237–243.
- Yang J H, Lee J H, Ryu H J, Elzatahry A A, Allothman Z A, Choy J H, 2016, Drug–clay nanohybrids as sustained delivery systems, *Applied Clay Science*, 130, 20–32.

Zarbin M A, Montemagno C, Leary J F, Ritch R, 2010, Nanotechnology in Ophthalmology, Canadian Journal of Ophthalmology, 45, 457-476.

Zhang Y, Zhong S, Zhang M, Lin Y, 2009, Journal of Materials Science, Antibacterial activity of silver-loaded zeolite A prepared by a fast microwave-loading method, 44, 457–462.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Reşat DUMAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya 1981
Yabancı Dili/ (varsa puan) : İngilizce / YDS 72,5
İletişim (Telefon/e-posta) : 05068351006 / resatduman@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Konya Meram Fen Lisesi, (1996-1999)
Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Tıp fakültesi, (1999-2005)
Tıpta Uzmanlık : Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları ABD, (2006-2011)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Dr. Öğretim Üyesi: Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp, Fakültesi, Göz Hastalıkları ABD (2014-2017)
Doçent öğretim Üyesi: Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi (2018-2019)
Bursa Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi (2019-....)