



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**PANKREAS KANSERİNDE GEMSİTABİN İLE
BİRLİKTE YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE VE
GRAFEN OKSİT İLE KOMPOZİT YAPIDA
SENTEZLENEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN SİNERJİSTİK
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hacer ÇALKAP

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Kasım-2025
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Hacer ÇALKAP tarafından hazırlanan “Pankreas Kanserinde Gemsitabin ile Birlikte Yeşil Sentez Yöntemiyle ve Grafen Oksit ile Kompozit Yapıda Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Sinerjistik Etkisinin Araştırılması” adlı tez çalışması 23/10/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Esra ŞUMLU

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Emine Nedime KORUCU

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Havvanur UÇBEYİAY
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Necmettin Erbakan Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından 23YL15006 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Hacer ÇALKAP

12.11.2025

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PANKREAS KANSERİNDE GEMSİTABİN İLE BİRLİKTE YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİYLE VE GRAFEN OKSİT İLE KOMPOZİT YAPIDA SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN SİNERJİSTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hacer ÇALKAP

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Emine Nedime KORUCU

2025, 125 Sayfa

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Emine Nedime KORUCU

Dr. Öğr. Üyesi Esra ŞUMLU

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

Pankreatik duktal adenokarsinom (PDAC), katı tümörler arasında progresyon seviyesi en yüksek olan agresif tümörlerdendir. Kanserle ilgili ölüm sıralamasında, 5 yıllık sağ kalım verileri incelendiğinde yaşam beklentisi en düşük maligniteler arasında yer alır. Pankreasın konum itibarıyla, vücut derinliğinde yer alması, erken dönemde karakterize belirtilerinin bulunmaması gibi nedenler dolayısıyla; her iki cinsiyet için de ileri evrelerde teşhisi söz konusudur. Dolayısıyla teşhis sonrası tedavilerde progresyonsuz sağ kalım oranları da oldukça düşük seviyelerdedir. Günümüzde kansere yönelik cihaz ve tarama sistemleri her ne kadar gelişmiş düzeyde olsa da, pankreas kanserinde klinik seyir iç açıcı değildir ve küresel bağlamda mortalite indeksleri oldukça yüksektir. PDAC hücrelerinin karakteristik desmoplastik stroması, tedavi esnasında ilaca karşı bariyer oluşturmaktadır. Buna bağlı olarak hücrelerde kemorezistans gelişmektedir. PDAC tanılı hastalarda mevcut kemoterapötik ve immünoterapötik ajanların ilaca verdikleri yanıt ilk aşamada iyi düzeyde olmasına rağmen, zamanla gelişen direnç yapısı tedavi etkinliğini önemli ölçüde sınırlandırmaktadır. Bu durum hastalığın nüksüne sebep olmaktadır. Tüm bu nedenlerden ötürü, PDAC tedavisinde yeni terapötik ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Yeşil sentez ile toksisitesi düşürülmüş ve biyouyumluluğu artırılmış gümüş nanopartiküllerin (AgNP), literatürde yer alan birçok çalışmada antikanser etkileri rapor edilmiştir. AgNP'lerin grafen oksit (GO) ile kompozit yapıda sentezlenerek pankreas kanseri tedavisinde ilaç etken maddesi veya ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilmesi öngörülmektedir. GO ile kompozit yapısı, AgNP'lerin kararlılığını ve hücre içerisinde stabilizasyonunu artırıcı etki gösterir. Aynı zamanda, yeşil sentezle elde edilen nanopartiküllerde; bitki özütünün içeriği sayesinde geniş yüzey alanına sahip ve stabilizasyonu artırılmış nanopartiküller elde edilecektir. Sentezlenen nanopartiküllerin antikanser etkilerine ek olarak antiviral, antibakteriyel, antioksidan etkileri

de bulunmaktadır. Bu yapılar; benzersiz özellikleri sayesinde özellikle tıp alanında yeni terapötik yaklaşımlar çağrıştırmaktadır. Ayrıca bitki materyallerinin ucuz ve kolay bulunur özellik göstermesi, diğer yöntemlere kıyasla daha az toksisite barındırması yeşil sentez metodunu güvenilir ve çevre dostu bir yaklaşım haline getirmektedir. ROS seviyesi üzerinde etki ederek antikanser etki gösteren AgNP'ler özellikle son dönemlerde pankreas da dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde terapötik ajan olarak kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında GO ile kompozit yapıda *Laurus nobilis* (defne) ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin; pankreas kanserinde standart kemoterapi rejimi olan gemsitabin ilacıyla birlikte sinerjistik etkisinin araştırılması, tedavi boyutunda yeni bir bakış açısı oluşturacaktır. Biyolojik olarak sentezlenen AgNP, GO, GO ile kompozit yapıda sentezlenen AgNP'ler(GO-AgNP); UV-Vis, TEM, FESEM-EDX, XRD yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Artan konsantrasyonlarda AgNP, GO, GO-AgNP'lerin Panc-1 insan pankreas kanseri ve Hek-293 insan embriyonik böbrek hücreleri üzerinde 24 saat inkübasyona maruz bırakılmıştır. Aynı zamanda gemsitabin ilacı da 72 saat boyunca artan konsantrasyonlarda bu hücre hatlarına uygulanmıştır. Sitotoksik etkileri -4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi kullanılarak belirlenmiş ve IC₅₀ dozu hesaplanmıştır. İlaç ve nanopartikül uygulamasının etkileri anjiyogenez, apoptoz, EMT fizyolojik süreçleri üzerinden analiz edilmiştir. Bu süreçlerde görev alan Bax, Bcl-2, FLT-1, MMP2, TIMP2, VEGFA, VEGFR-2 genlerine etkisi RT-PCR aracılığıyla değerlendirilmiştir. Western blot yöntemi kullanılarak MMP2 genine ait protein düzeyleri değerlendirilmiş ve EMT sürecindeki etkileri yorumlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gemsitabin, Grafen oksit, Gümüş nanopartikül, Kompozit yapı, *Laurus nobilis* (Defne), Pankreatik duktal adenokarsinom, Sinerjistik etki

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF THE SYNERGISTIC EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED IN A COMPOSITE STRUCTURE WITH GRAPHENE OXIDE AND GREEN SYNTHESIS METHOD TOGETHER WITH GEMCITABINE IN PANCREATIC CANCER

Hacer ÇALKAP

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY THE DEGREE OF MASTER OF
SCIENCE DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

Advisor: Asst. Prof. Dr. Emine Nedime KORUCU

2025, 125 Pages

Jury

Advisor Asst. Prof. Dr. Emine Nedime KORUCU

Asst. Prof. Dr. Esra ŞUMLU

Asst. Prof. Dr. Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the most aggressive tumors among solid malignancies, characterized by the highest level of progression. In terms of cancer-related mortality, PDAC ranks among the malignancies with the lowest life expectancy when five-year survival data are evaluated. Due to the anatomical location of the pancreas deep within the body and the absence of specific symptoms in the early stages, diagnosis for both genders usually occurs at advanced stages. Consequently, progression-free survival rates following diagnosis remain remarkably low. Despite the advances in cancer diagnostic devices and screening systems today, the clinical course of pancreatic cancer remains unfavorable, with high global mortality indices. The characteristic desmoplastic stroma of PDAC cells forms a barrier against drug delivery during treatment, leading to the development of chemoresistance. Although chemotherapeutic and immunotherapeutic agents used in PDAC initially demonstrate effective responses, the progressive emergence of resistance significantly limits treatment efficacy and results in disease recurrence. Therefore, novel therapeutic agents are urgently needed for PDAC treatment. Numerous studies in the literature have reported the anticancer properties of silver nanoparticles (AgNPs), which exhibit reduced toxicity and enhanced biocompatibility when synthesized via green synthesis methods. It is hypothesized that AgNPs synthesized in composite form with graphene oxide (GO) could be utilized as either active pharmaceutical ingredients or drug delivery systems in pancreatic cancer therapy. The composite structure with GO enhances the stability and intracellular retention of AgNPs. Additionally, due to the phytochemical constituents of the plant extract used in green synthesis, the resulting nanoparticles possess large surface areas and improved stability. In addition to their anticancer effects, the synthesized nanoparticles also exhibit antiviral, antibacterial, and antioxidant properties. Owing to their unique physicochemical characteristics, these nanostructures suggest promising new therapeutic approaches in medicine. Furthermore, the low cost and easy availability of plant materials, combined with their reduced toxicity compared to other methods, make green synthesis a safe and environmentally friendly approach. By modulating reactive oxygen species (ROS) levels, AgNPs exert anticancer effects and have recently been employed as therapeutic agents in various cancer types, including pancreatic cancer. In this thesis, the synergistic effect of AgNPs synthesized in composite form with GO using *Laurus nobilis* (bay leaf) extract in combination with gemcitabine, the standard chemotherapeutic regimen for pancreatic cancer, was investigated — offering a novel therapeutic perspective. Biologically synthesized AgNPs, GO, and GO-AgNP composites were characterized using UV-Vis spectroscopy, TEM, FESEM-EDX, and XRD

analyses. Increasing concentrations of AgNPs, GO, and GO-AgNPs were incubated for 24 hours with Panc-1 human pancreatic cancer cells and HEK-293 human embryonic kidney cells. Similarly, gemcitabine was applied to these cell lines at increasing concentrations for 72 hours. Cytotoxic effects were evaluated using the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay, and IC_{50} values were calculated. The effects of drug and nanoparticle treatments were analyzed in relation to angiogenesis, apoptosis, and epithelial–mesenchymal transition (EMT) pathways. The expression levels of Bax, Bcl-2, FLT-1, MMP2, TIMP2, VEGFA, and VEGFR-2 genes were evaluated using RT-PCR, while the protein expression of MMP2 was analyzed via Western blot to interpret its involvement in the EMT process.

Keywords: Gemcitabine, Graphene oxide, Silver nanoparticles, Composite structure, *Laurus nobilis* (Bay leaf), Pancreatic ductal adenocarcinoma, Synergistic effect



ÖNSÖZ

Eğitim sürecimde bilgi ve tecrübelerini doğrudan, sınırsız ve dolu dolu bir şekilde bana aktaran, akademik açıdan attığım her adımda yanımda olan, fikirlerimi rahatça belirtebildiğim, aktardığı deneyimleri sayesinde yolumu doğru bir şekilde bulabildiğim, karşılaştığım tüm zorluklarda beni motive edip önümdeki taşları kaldıran, yalnızca akademik anlamda değil hayata dair deneyimlerinden de istifade etme şansı bulduğum çok sevgili ve bir o kadar da kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Emine Nedime KORUCU'ya,

Nanopartikül sentez çalışmalarında bana deneyimlerini aktaran değerli hocam Doç Dr. Fatih ERCİ'ye,

Sonsuz güvenleri ve her koşulda hissettirdikleri destek ve sevgileriyle her daim içimin ısındığı, en büyük moral ve motivasyon kaynağım, hayatımdaki en büyük şansım olan annem Mümine ÇALKAP, babam Ahmet ÇALKAP ve kardeşlerim Halil İbrahim ÇALKAP ve Büşra ÇALKAP'a

Tüm eğitim sürecim boyunca yükümü paylaştığım, derdime ortak olan gönül bağı kurduğum dostlarıma,

İş hayatımı akademik hayatımla birlikte sürdürme mücadelemde bana destek olan, sorumluluklarımı yerine getirirken desteğini benden esirgemeyen sevgili arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım. Her şeyin karmaşıklaştığı anlarda bile, sakinliğiyle bana yön gösteren, varlığını zamansızca yanımda hissettiren, kelimelere dökülemeyen bir desteğin kıymetini daha iyi anladım. Şükranlarımı sunuyorum.

Hacer ÇALKAP
KONYA-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
ÇİZELGELER/TABLolar LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
2.1. Pankreas Anatomisi ve Pankreas Kanseri	4
2.1.1. Pankreas kanseri öncü lezyon türleri ve moleküler biyolojisi	5
2.1.2. Pankreas kanseri epidemiyolojisi	6
2.1.3. Pankreas kanseri risk faktörleri	8
2.1.4. Pankreas kanserinde evreleme	10
2.1.5. Pankreas kanseri belirti ve bulguları	12
2.1.6. Pankreas kanserinde tanı ve tedavi yöntemleri	12
2.2. Kemorezistans ve Mekanizmaları	14
2.2.1. Pankreas kanserinde kemorezistans	16
2.2.2. Pankreas kanserinde kemorezistans	16
2.3. Pankreas Kanserinde EMT	20
2.4. Apoptozis	21
2.5. Anjiyogenez	22
2.6. <i>Laurus nobilis</i> (Defne)	24
2.7. Nanoteknoloji ve Kanser Tedavisi	25
2.7.1. Nanopartiküllerin sınıflandırılması ve sentez yaklaşımları	27
2.7.1.1. AgNP	28
2.7.2.1. AgNP'lerin antikanser etkileri	29
2.7.2. Kompozit yapı ve potansiyel etkileri	30
2.7.2.1. Grafen tabanlı nanomalzemeler ve kanser	31
2.7.3. Nanopartikül sentez yöntemleri	32
2.7.3.1. AgNP'lerin biyolojik sentezi	33
2.7.4. Nanopartikül karakterizasyon metodları	34
3. MATERYAL VE YÖNTEM	36
3.1. Nanopartikül Sentez Aşamaları	36
3.1.1. <i>Laurus nobilis</i> bitkisinin stigma ekstraktının hazırlanması	36
3.1.2. GO çözeltilisinin hazırlanması	36
3.1.3. AgNO ₃ (gümüş nitrat) çözeltilisinin hazırlanması	36
3.2. GO ile Kompozit AgNP Sentezi ve Saflaştırılması	37
3.3. AgNP ve GO Kompozit AgNP Karakterizasyonu	37

3.4. Hücre Kültürü	38
3.4.1. Hücrelerin çözülmesi, pasajlanması ve sayımı	38
3.4.2. Nanopartikül ve gemsitabin dozlarının uygulanması	39
3.4.3. Hücre canlılık analizi	40
3.5. RNA İzolasyonu, DNAl Protokolü, RNA Miktar ve Saflık Ölçümü	40
3.5.1. cDNA sentezi	42
3.5.2. Primer dizaynı ve primer sulandırma	43
3.5.3. qRT-PCR	44
3.6. Western Blot Analizi İçin Hücre Lizatlarının Hazırlanması	45
3.6.1. Protein miktar analizi	46
3.6.2. SDS-PAGE jelinin hazırlanması ve elektroforez	47
3.6.3. Proteinlerin membrana transferi	47
3.6.4. Bloklama	48
3.6.5. Primer ve sekonder antikor inkübasyonu	48
3.6.6. ECL ile görüntüleme	49
3.7. İstatistiksel Analiz	49
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	50
4.1. AgNP'lerin Sentezi	50
4.2. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	51
4.2.1. UV-Vis spektrum analizi ile karakterizasyon	51
4.2.2. XRD analizi ile karakterizasyon	52
4.2.3. TEM ile karakterizasyon	53
4.2.4. FE-SEM/ EDX ile karakterizasyon	54
4.3. GO, AgNP, GO ile Kompozit Yapıda AgNP ve Gemsitabin Doz Uygulamasının Panc-1 ve Hek-293 Hücrelerindeki Morfolojileri	59
4.3.1. GO ile kompozit yapıda sentezlenen AgNP'lerin Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulanmasının hücre canlılığı üzerindeki etkisi	63
4.3.2. GO'lerin Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulanmasının hücre canlılığına etkisi	64
4.3.3. AgNP'lerin Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulanmasının hücre canlılığına etkisi	65
4.3.4. Gemsitabinin Panc-1 hücre hattı ve Hek-293 hücre hattında uygulanmasının hücre canlılığı üzerinde etkisinin belirlenmesi	66
4.4. Panc-1 Hücre Hattında Gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların Gemsitabin ile Kombine Halde Uygulamasının Gen Ekspresyonuna Etkileri	67
4.4.1. Panc-1 hücre hattında gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemsitabin ile kombine halde uygulamasının Bax gen ekspresyonuna etkileri	68
4.4.2. Panc-1 hücre hattında gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemsitabin ile kombine halde uygulamasının Bcl-2 gen ekspresyonuna etkileri	69
4.4.3. Panc-1 hücre hattında gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemsitabin ile kombine halde uygulamasının FLT-1 gen ekspresyonuna etkileri	70
4.4.4. Panc-1 hücre hattında gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemsitabin ile kombine halde uygulamasının VEGF-A gen ekspresyonuna etkileri	70
4.4.5. Panc-1 hücre hattında gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemsitabin ile kombine halde uygulamasının VEGFR-2 gen ekspresyonuna etkileri	71

4.4.6. Panc-1 hücre hattında gempitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gempitabin ile kombine halde uygulamasının MMP2 gen ekspresyonuna etkileri	72
4.4.7. Panc-1 hücre hattında gempitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gempitabin ile kombine halde uygulamasının TIMP2 gen ekspresyonuna etkileri	73
4.5. Panc-1 hücre hattında gempitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gempitabin ile kombine halde uygulamasının protein düzeyine etkileri	74
4.6.Tartışma	76
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	89
5.1 Sonuçlar	89
5.2 Öneriler	90
6. KAYNAKLAR	91



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Pankreasın anatomisi	4
Şekil 2.2. PDAC'nin öncü lezyonları	6
Şekil 2.3. Doğrudan veya dolaylı yoldan ilaç direncini destekleyen mekanizmalar	13
Şekil 2.4. Gemsitabin ilacının hücre içindeki mekanizması	18
Şekil 2.5. VEGF reseptör ve ligandları	22
Şekil 2.6. Nanopartiküllerin temsili şeması	26
Şekil 2.7. Nanopartikül sentez protokolleri (aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya Yaklaşımlar	27
Şekil 2.8. Nanokompozitler ve kullanım alanları	30
Şekil 2.9. Gümüş nanopartikül (AgNP) sentezinin şematik gösterimi ve karakterizasyonu	33
Şekil 4.1. Gümüş sulu çözeltisi, GO çözeltisi ve ekstrakt karışımının zamana bağlı renk değişimi	49
Şekil 4.2. Gümüş sulu çözeltisi ve ekstrakt karışımının zamana bağlı renk değişimi	49
Şekil 4.3. 30. Dk'da AgNP ve GO+AgNP'nin UV-Vis spektrumu değişimi	50
Şekil 4.4. 60. Dk'da AgNP ve GO+AgNP'nin UV-Vis spektrumu değişimi	51
Şekil 4.5. AgNP XRD analizi sonucu	52
Şekil 4.6. AgNP'lerin TEM görüntüleri	53
Şekil 4.7. AgNP FE-SEM analizi	54
Şekil 4.8. AgNP EDX analizi	54
Şekil 4.9. Grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen AgNP'lerin FE-SEM analizi	55
Şekil 4.10. Grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen gümüş nanopartiküllerin EDX analizi	56
Şekil 4.11. Grafen Oksit maddesinin FE-SEM görüntüsü	57
Şekil 4.12. Grafen oksitin EDX analizi	57
Şekil 4.13. Hek-293 hücre hattında AgNP doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c. 100 µg/mL).	58
Şekil 4.14. Panc-1 hücre hattında AgNP doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c. 100 µg/mL).	58
Şekil 4.15. Hek-293 hücre hattında GO-AgNP doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c.100 µg/mL).	59
Şekil 4.16. Panc-1 hücre hattında GO-AgNP doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c.100 µg/mL).	59
Şekil 4.17. Hek-293 hücre hattında GO doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c. 100 µg/mL).	60
Şekil 4.18. Panc-1 hücre hattında GO doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c. 100 µg/mL).	60
Şekil 4.19. Panc-1 hücre hattında gemsitabin doz uygulamasının 72 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 0.01 µM, c. 1 µM).	61
Şekil 4.20. Hek-293 hücre hattında gemsitabin doz uygulamasının 72 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 0.01 µM, c. 1 µM).	61
Şekil 4.21. Hücre canlılık analizi	62
Şekil 4.22. Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına 24 saat GO-AgNP doz inkübasyonunun artan konsantrasyonlara bağlı % hücre canlılık grafiği	63
Şekil 4.23. Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına 24 saat grafen oksit doz inkübasyonunun artan konsantrasyonlara bağlı % hücre canlılık grafiği	64
Şekil 4.24. Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına 24 saat AgNP doz inkübasyonunun artan konsantrasyonlara bağlı % hücre canlılık grafiği	65
Şekil 4.25. Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına 72 saat Gemsitabin doz inkübasyonunun	

artan konsantrasyonlara bağlı % hücre canlılık grafiği	66
Şekil 4.26. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubu ve gruplar arasında Bax gen ekspresyon değişimi	67
Şekil 4.27. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubu ve gruplar arasında Bcl-2 gen ekspresyon değişimi	68
Şekil 4.28. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubu ve gruplar arasında FLT-1 gen ekspresyon değişimi	69
Şekil 4.29. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubu ve gruplar arasında VEGF-A gen ekspresyon değişimi	70
Şekil 4.30. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubu ve gruplar arasında VEGF-R gen ekspresyon değişimi	71
Şekil 4.31. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubu ve gruplar arasında MMP-2 gen ekspresyon değişimi	72
Şekil 4.32. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubu ve gruplar arasında TIMP2 gen ekspresyon değişimi	73
Şekil 4.33. Panc-1 hücre hattında Western Blot analizi sonucu protein bant yoğunluklarının görünümü	74
Şekil 4.34. Panc-1 hücre hattında doz uygulanması sonucu kontrole göre MMP2 protein düzeylerinin değişimi	74

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. AJCC evreleme sistemi	11
Tablo 3.1. DNAi kit prosedürü	41
Tablo 3.2. cDNA sentezinde kullanılan RNA, primer ve su hacimleri	42
Tablo 3.3. cDNA sentezinde kullanılan karışım bileşenlerinin hacimleri	42
Tablo 3.4. Ekspresyon analizi yapılan genlere ait primer dizileri	43
Tablo 3.5. qrt-PCR’da kullanılacak reaktif bileşenleri ve hacimleri	44
Tablo 3.6. qrt-PCR basamakları	44
Tablo 3.7. SDS Page jel bileşenleri	46



SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

α	Alfa
β	Beta
θ	Teta
μ	Mikro
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
ml	Mililitre
rpm	Dakikada Devir Sayısı

KISALTMALAR

AgNO_3	Gümüş Nitrat
AgNP	Gümüş Nanopartikül
AJCC	Amerikan Kanser Ortak Komitesi
Bax	Bcl-2 ile İlişkili X Apoptoz Düzenleyici
Bcl-2	B-Hücreli Lenfoma 2
BRCA	Meme Kanser Geni
CDKN2A	Siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A
CuO	Bakır (II) Oksit
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSL	Dinamik Işık Saçılımı
EDX	Enerji Dağılımlı X- ışını Spektroskopisi
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
EMT	Epitelyal-Mezenkimal Geçiş
EPR	Geliştirilmiş Geçirgenlik ve Tutma
FBS	Fetal Dana Serumu
FLT-1	Fms İlişkili Reseptör Tirozin Kinaz 1
GO	Grafen Oksit
GO-AgNP	Grafen Oksit ile Kompozit Gümüş Nanopartikül

IC₅₀	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyon
IPMN	İntraduktal Papiller Müsinöz Neoplazmı
KRAS	Kristen Virüsü Ras
MCN	Müsinöz Kistik Neoplazm
MMP	Matris Metalloproteinazlar
MMP2	Matris Metalloproteinaz 2
nm	Nanometre
NP	Nanopartikül
PanIN	Pankreatik İntraepitelyal Neoplazi
Panc-1	Pankreas Kanseri Hücre Hattı
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDAC	Pankreas Duktal Adenokarsinomu
PRSS1	Serin Proteaz 1
RNA	Ribonükleik Asit
RNAi	Transkripsiyon Sonrası Gen Susturma
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SMAD4	SMAD Aile Üyesi 4
SPR	Yüzey Plazmon Rezonans
STK11	Serin Treonin Kinaz 11
TEM	Transmisyon Elektron Mikroskobu
TIMP	Matriks metalloproteinazların doku inhibitörleri
UICC	Uluslararası Kanser Kontrol Birliği
UV-Vis	Ultraviyole görünür bölge spektroskopisi
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEGFR	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XRD	X Işını Kırınımı

1. GİRİŞ

Kanser; sağlıklı hücrelerin genetik mutasyonlar sonucunda normalden farklı genetik bir alt yapıyı barındırarak kontrolsüz ve agresif bir hızda proliferasyon ve invazyon gösteren kompleks bir hastalık türüdür (Galluzzi vd., 2010). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2022 verileri incelendiğinde, ölüm nedenleri sıralamasında kalp-damar rahatsızlıklarının hemen ardından kanser gelmektedir. 9.7 milyon insanın hayatını kansere bağlı olarak kaybetmesi de bu bilgiyi destekler nitelikte bir analizdir. (*Cancer*, t.y.) Pankreas kanseri ise kansere bağlı ölümler sıralamasında altınca sırada yer almaktadır. 2022 yılı verilerine göre; pankreas kanseri açısından 510.922 yeni vaka ve 467.409 ölüm bildirilmiştir (Leiphrakpam vd., 2025). Nüfus çapında tarama programları birçok kanserin tespitinde kullanılabilirken pankreas kanserinde ne yazık ki kullanılamamaktadır. Dolayısıyla pankreas kanseri geç teşhis edilmektedir ve buna bağlı olarak sınırlı tedavi seçeneği göstermektedir (Murray vd., 2025).

İlaça karşı gelişen direnç anlamına gelen kemorezistans, tümör heterojenliği ve tümör mikroçevresi gibi çeşitli faktörlerde gelişen mekanizmalar aracılığıyla oluşmaktadır. Kemorezistans birçok kanser vakasında tedavi başarısını engelleyerek nükse ve ölüme sebebiyet verebilmektedir (Ramos vd., 2021). Pankreas kanserinde metabolizmanın kemoterapi direnciyle ilişkili olduğunu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar bu hücrelerde glikoliz, glutamin ve lipid metabolizmasının kemorezistansla ilişkili olduğunu, dolayısıyla ilaç direncinin oluşmasında rol oynayarak kemoterapi etkisini azalttığını göstermiştir (J. Zhang vd., 2024). Pankreas kanserinde ilaca karşı direncin gelişmesinde tümör mikroçevresi de önemli ölçüde rol oynamaktadır. İmmünoşüpresif ve hipoksik tümör mikroçevresiyle karakterize edilen pankreas kanseri hücrelerinin yoğun desmoplastik stroma bölmesi, ilacın hücre içerisine erişilebilirliği ve perfüzyonunu kısıtlayarak hücrelerde ilaca karşı direncin oluşumunda rol oynamaktadır (Pereira-Silva vd., 2025). Pankreas duktal adenokarsinomunda (PDAC) birinci basamak tedavide Gemcitabine (2',2'-diflorodeoksisitidin) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Y. Dong vd., 2025). Ancak PDAC hücrelerinin patofizyolojisi, tümör mikroçevresi ve gemsitabin ilacının farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri, kemorezistansa yol açarak ilacın etkinliğini sınırlandırmaktadır (Bakridin vd., 2025).

Kanserde mortalitenin ana sebepleri arasında hastalığın nüksü ve ilaca karşı hücrelerin direnç göstermesi yer almaktadır. Matris metalloproteinazlar (MMP'ler), kanser

hücrelerinde EMT'y i indükleyerek tümör hücrelerinin metastazına neden olmaktadır. Ayrıca MMP proteinleri; ilaca karşı direncin gelişmesi ile de ilişkili olan moleküllerdir (Mondal vd., 2024).

Geleneksel kanser kemoterapi ilaçlarındaki sitotoksikite eksikliği, farklı mekanizmalar aracılığıyla hücrelerde oluşan ilaç direnci gibi negatif özellikler kemoterapinin etkinliğini sınırlandırmaktadır. Güncel çalışmalarda kanserin tespiti, hedeflenmesi ve tedavisinde kullanılmak üzere nanopartiküller üzerinde yoğunlaşarak nano-onkoloji alanında bu engellerin aşılması hedeflenmektedir. Bilhassa gümüş nanopartiküller, kanserli hücrelerde ROS oluşumunu tetikleyerek DNA hasarının oluşmasına sebebiyet vermektedir. Dolayısıyla apoptoz ve nekrozun indüklenmesini sağlayabilmektedir (Michalková vd., 2023). Gümüş nanopartiküllerin sentezinde biyolojik ve kimyasal sentez yöntemleri kullanılmaktadır. Bu nanopartiküllerin antikanser etkileri birçok çalışmayla gösterilmiş olsa da kimyasal sentez yöntemi kullanılarak elde edilen nanopartiküller, sağlıklı hücreler için sitotoksik özelliğindedir. Biyosentez yöntemi kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin daha az toksik olmaları, güncel çalışmalarda araştırmacıların bu metoda odaklanmasını sağlamıştır (X. Hu vd., 2019).

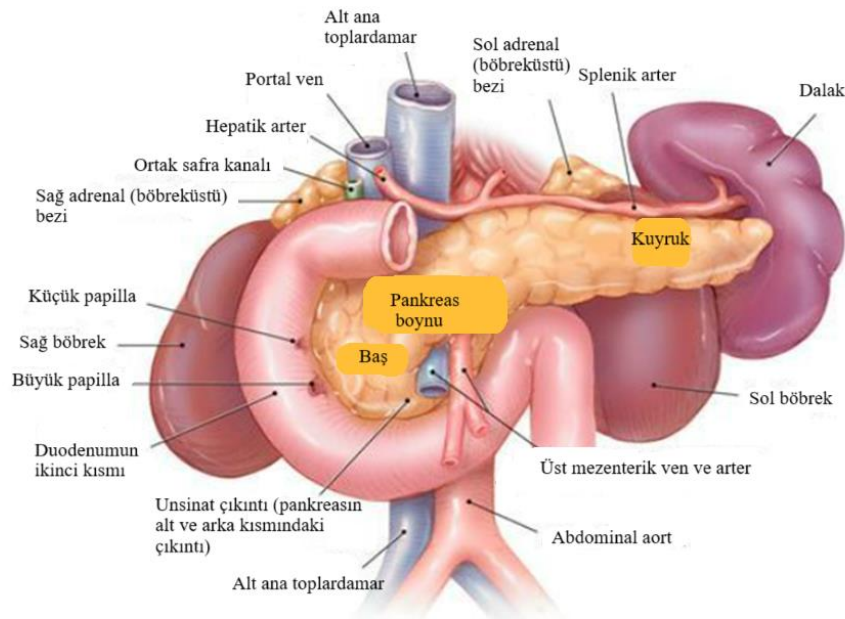
Son dönemlerde çeşitli nanopartiküllerin grafen bazlı nanokompozitleri üzerinde çalışılmaktadır. Nanokompozit malzeme olarak grafen oksit kullanılmasıdaki etken; grafen oksitin (GO) yapısında bol oksijen içeren fonksiyonel grupların mevcut olmasıyla, bu durumun metal iyonlarını sabitlemeye olanak sağlaması yer almaktadır. Ayrıca ucuz ve kolay erişilebilir bir madde olması da avantajları arasında yer almaktadır (Gurunathan vd., 2019). GO'nun karakteristik özellikleri arasında yer alan geniş yüzey alanı ve yapısında işlevsel grupları barındırması, kanser tedavisinde ilaç iletimini sağlayarak tedavi etkililiğini pozitif ivmede etkilemektedir. (Ito vd., 2025). GO'nun kanser hücreleri üzerinde uygulanması, hücrelerin çoğalmasını baskılayarak sitotoksik etki göstermesiyle neticelenir.(Naeimi vd., 2025) Meme kanseri hücre hattı üzerinde yapılan bir çalışmada GO'ya bitki özütleri dahil edilerek yeşil sentez yoluyla CuO nanopartikülleri sentezlenmiştir. Bu çalışmada, GO kullanımının amacı; sentezlenen maddenin kararlılığını ve işlevselliğini artırarak sinerjik etkisini gözlemlemektir (Barani vd., 2024).

Literatürde yer edinmiş çalışmalarda nanopartiküllerin kanser hücre hatları üzerindeki çeşitli etkileri araştırılmıştır. Fakat grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin, pankreas kanserindeki etkileri henüz araştırılmamıştır. Bu tez çalışmasında pankreas kanseri tedavisinin önde gelen kemoterapi ilaçlarından olan gemsitabinin; grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen gümüş nanopartikülleri ile pankreas kanseri hücre hattı üzerindeki doz uygulamasının sinerjistik etkisi incelenmiştir. Kemoterapiyle birlikte verilecek nanomalzemelerin; bu hücre hattı üzerinde EMT sürecindeki rolü ve etkisi araştırılmıştır. Nanopartikül sentezinde yeşil sentez yöntemi kullanılarak toksisite minimize edilmiştir. GO ile kompozit yapıda sentezlenmesi ise, nanopartiküllerin stabilizasyonunu ve etkinliğini arttırmıştır. İlaç ve nanopartikül doz uygulaması sonrasında MMP2 molekülü üzerinden EMT sürecindeki etkileri hakkında yorum yapılmıştır. Anjiyogenez, apoptoz, EMT süreçlerinde yer alan Bax, Bcl-2, FLT-1, MMP2, TIMP2, VEGFA, VEGFR-2 genlerine etkisi de gerçek zamanlı PCR aracılığıyla değerlendirilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Pankreas Anatomisi ve Pankreas Kanseri

Pankreas, lokasyon olarak karın boşluğunun suprakolik bölgesinin tabanında konumlanan, retroperitoneal organlar arasında yer alan ve önemli işlevlere sahip bir organdır. Anatomik olarak baş, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere dört ana bölgeye ayrılmıştır. Orta çizgi merkez alındığında; baş ve boyun kısmı orta çizginin sağ tarafında yer alırken, kuyruk kısmı orta çizginin sol tarafında yer almaktadır. Gövde kısmı sol tarafta lokalize haldeyken kuyruk kısmıyla birleşimi için yukarı doğru eğilidir. Pankreasın vücut içindeki konumu fiziksel muayenelerdeki erişimini engellemektedir. İşlev olarak, dışarıya hormon salımı sayesinde ekzokrin bir organ olsa da endokrin süreçlerin düzenlenmesinde de hayati öneme sahiptir. Endokrin işlevini yapısında bulundurduğu langerhans adacıkları sayesinde gerçekleştirmektedir (Mahadevan, 2019).



Şekil 2.1. Pankreasın anatomisi (Bockman, 1997)

Pankreasta bulunan asinüs birimlerinden oluşan asiner hücreler, karbonhidrat, protein ve yağların sindiriminde yer alan enzimlerin sentezi ve salgılanmasında görev yapmaktadır. Pankreas bu noktada nöroendokrin sistemin kontrolünde ekzokrin fonksiyon göstermektedir. Yapısında bulunan Langerhans adacıkları olarak tanımlanan

hücre grupları sayesinde insülin salgısını düzenleyerek endokrin fonksiyon göstermektedir (Russell vd., 2022).

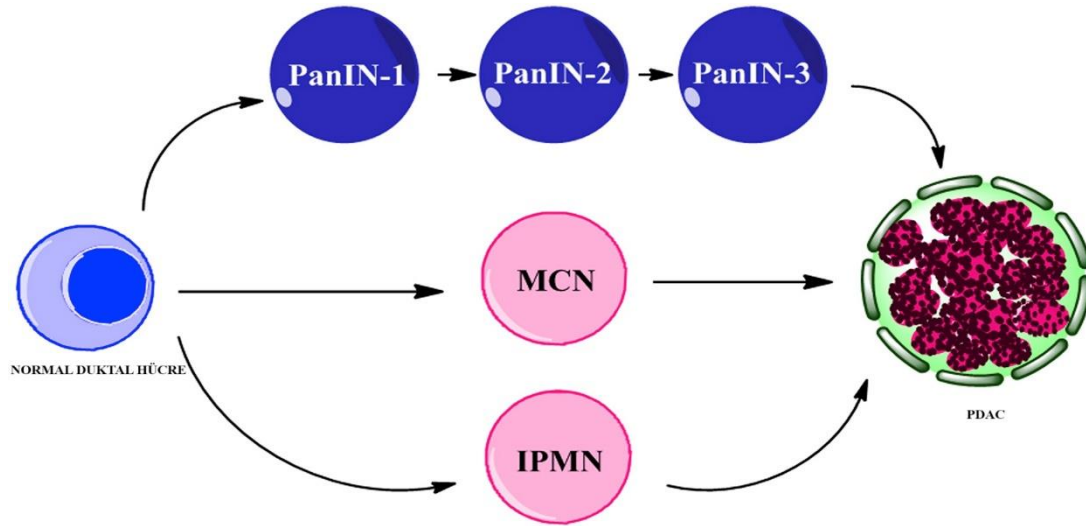
Pankreas hücrelerinde meydana gelen mutasyonların sonucunda anormal hücre oluşumu gerçekleşmektedir. Bu hücrelerin kontrolsüzce büyümesi ve invazyonu sonucunda pankreas kanseri meydana gelir (J. X. Hu vd., 2021). Pankreas kanseri; tümörlü pankreas hücrelerinin lokasyonuna bağlı olarak, asiner hücre karsinomu, duktal adenokarsinom, pankreatik nöroendokrin tümör gibi alt tümör dallarına ayrılmaktadır (Koçatakan vd., 2021). Pankreas kanseri vakalarının çoğunluğunu pankreas duktal adenokarsinomlar (PDAC) oluşturmaktadır (Kearney vd., 2021).

2.1.1. Pankreas kanseri öncü lezyon türleri ve moleküler biyolojisi

PDAC'ın tanımlanmış olan öncü lezyonları 3 adettir: pankreas intraepitelyal neoplazmi (PanIN), intraduktal papiller müsinöz neoplazmi (IPMN), musinöz kistik neoplazmidir (MCN). Lezyonlar farklı histolojik ve moleküler profilleriyle birbirinden ayrılır. Bu öncü lezyonların her biri, adım adım birikerek ve yayılarak pankreas duktal adenokarsinomunu geliştirebilir (Riva vd., 2018).

PanIN (pankreas intraepitelyal neoplazmi), invaziv olmayan epitel neoplazmlardan olup farklı atipi dereceleriyle karakterizedir. Atipi derecelerine göre PanIN1, PanIN2 ve PanIN3 (karsinoma *in situ*) olarak ayrılmaktadır. PanIN, pankreas öncü lezyonları arasında en sık rastlanılan lezyondur. PanIN lezyonları diğer öncü lezyonlara kıyasla daha kötü bir prognoz ortaya koymaktadır. Yapılan incelemelerde vakalar arasında %4 oranında PanIN-3 tespit edilirken %77 oranında PanIN-1, %28 oranında ise PanIN-2 lezyonları tespit edilmiştir (Tsuda vd., 2019). PanIN'ler genellikle <5 mm boyutundadırlar ve küçük yapıda olmalarından kaynaklı olarak, radyolojik olarak tespit edilemezler. IPMN'ler, musinöz maddesinin üretilmesini sağlayan musinöz epitel hücrelerinin intraduktal proliferasyonudurlar ve pankreas kanalında kistik dilatasyona neden olurlar. PanIN'lere kıyasla radyolojik görüntülemelerde tespit edilmeleri kolaydır. IPMN'ler pankreas kanal sisteminden kaynaklanırlar ve konumlandıkları bölgelere göre farklı sınıflara ayrılırlar. Bu sınıflama 3'e ayrılır. İlk sınıf; ana pankreas kanalından kaynaklanan ana kanal IPMN'lerini (MD-IPMN) içerirken ikinci sınıf ana kanalın kanal dallarından kaynaklanan dal kanalı IPMN'leri (BD-IPMN) içermektedir. Son sınıf ise kanal sisteminin hem ana hem de yan dallarından kaynaklanan karışık IPMN'lerden

oluşmaktadır (Assarzagdegan vd., 2022). Daha nadir görünen öncü lezyon MCN, genellikle pankreasın gövdesinden kuyruğuna doğru bir yerleşim gösterirken kanal sisteminde lokasyon göstermez. Musin üreten kübik hücrelerden oluşan bu öncü grup kadınlarda gelişmektedir (Yonezawa vd., 2008).



Şekil 2.2. PDAC'nin öncü lezyonları(Naqvi vd., 2018)

Pankreas kanserinde mutasyona uğrayan genler arasında önde gelen K-ras genlerinde meydana gelen mutasyonudur (Moore vd., 2001). K-Ras ailesinde yer alan KRAS2 gen mutasyonları, diğer birçok kanserde gözlemlense de özellikle pankreas kanserinde en sık görülen mutasyonlar arasında yer almaktadır. Karsinomlu dokuların %95'inde mutant KRAS2 bulunabilmektedir (Yachida vd., 2009). PDAC için de KRAS2 onkogeninde gerçekleşen nokta mutasyonları, en sık rastlanan genetik mutasyon tiplerindedir (Hansel vd., 2003). Tümör proteini p53, siklin bağımlı kinaz inhibitörü 2A, SMAD aile üyesi 4 gibi moleküller de pankreas kanseri gelişimi ve yayılımında rolü olan protein yapılarıdır (S. Wang vd., 2021). Pankreas dokularında bu genlerin mutasyona uğraması PDAC gelişimine neden olduğu için, yaygın olarak PDAC teşhisinde biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Y. Qian vd., 2020).

2.1.2. Pankreas kanseri epidemiyolojisi

Kanser ile ilgili yapılan son veriler incelendiğinde tüm kanser türlerine kıyasla Amerika Birleşik Devletleri'nde kansere bağlı ölümler arasında, akciğer kanseri ve

kolorektal kanserden sonra pankreas kanserinin en yaygın ve ölümcül türü olan pankreas duktal adenokarsinomu (PDAC) gelmektedir. Sıralamadaki yerini, 2030 yılına kadar bir basamak üste taşıyarak ikinci sıraya yükseleceği tahmin edilmektedir (J. Wang vd., 2024). Oranı %3,2 iken kansere bağlı ölümler içerisinde tahmini ölüm oranının %8,2'sini oluşturan en ölümcül gastrointestinal kanser türlerinden biridir (Grigorescu vd., 2024). 2018 yılında dünya genelinde 458.918 yeni pankreas kanseri vakası raporlanmıştır. 2040 yılına kadar 355.317 yeni vaka teşhislerinin olabileceği öngörülmektedir. ABD'de artan insidansın nedeni, obezite, diyabet, sigara ve alkol alımı gibi çevresel risk faktörlerinin yanı sıra, nüfusun giderek yaşlanmasının da artan insidansla korelasyon içerisinde olduğu vurgulanmaktadır. (Hayat vd., 2025). Sağ kalım verilerine göre; Pankreas duktal adenokarsinomu (PDAC), yaklaşık olarak 10-12 aylık yaşam beklentisi süresi sebebiyle kötü bir prognoz göstermektedir. Bunun nedeni, PDAC'ın geç tanı almasına bağlı olarak rezekte edilebilirlik ihtimalinin azalması ve hastalara uygulanan rutin tedavilerde çoklu ilaç direnci gelişmesinden kaynaklanmaktadır. (Principe vd., 2021). Gelişmiş tanı ve teşhis yöntemleri, pankreas kanserinin teşhis ve tedavi süreç yönetiminde önemli katkılar oluşturmuştur. Fakat bu malignitenin hastalar üzerinde sağ kalım oranı hala düşük seviyelerdedir (Rawla vd., 2019). Pankreas kanserinin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde, erkeklerde kadınlara oranla daha yaygın bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Dünya genelinde 2020 yılı verilerine göre PDAC'nin görülme sıklığı erkeklerde 100.000'de 5,7 ve kadınlarda 100.000'de 4,1 olması; bu bilgiyi doğrular niteliktedir (Liew vd., 2023). Kadınlarda steroid seviyelerinin daha yüksek olmasının pankreas kanserine karşı koruyucu etki göstermesiyle ilişkilendirilebilir (Zhao vd., 2020). Teşhis edilen pankreas kanseri vaka sayılarına bakıldığında, son yirmi yılda iki katına çıkan rakamlar, dünya genelindeki insidansın belirgin şekilde arttığını göstermektedir (Klein, 2021). Bu bağlamda pankreas kanseri, yükselme eğilimi gösteren insidans oranları nedeniyle; bazı bölgelerde kansere bağlı ölümler sınıflandırmasında ikinci ölüm nedeni olacağı öngörülmektedir (McGuigan vd., 2018). ABD'de 5 yıllık sağ kalım oranına vakaların %10'luk kesiminin erişebildiği saptanmıştır. Giderek yaygınlaşan bu malignitenin risk faktörleri arasında genetik yatkınlığın yanı sıra, obezite, tip 2 diyabet ve tütün kullanımı yer almaktadır. Lokalize evresindeyken semptomlarının belirsiz olmasından kaynaklı, hastalar çoğunlukla ileri evrede hastaneye başvurmaktadır ve geç teşhis konmaktadır (Mizrahi vd., 2020). Bu malignitenin semptomları arasında sırta yayılan orta epigastrik ağrı, hastalarda kilo kaybı, tümörün lokasyonu pankreasın baş kısmındaysa sarılık yer almaktadır (Grigorescu vd., 2024).

2.1.3. Pankreas kanseri risk faktörleri

Pankreas kanseri oluşumunda genetik ve çevresel risk faktörlerinin etkisi bulunmaktadır. Bu risk faktörleri, kendi içinde değiştirilebilir ve değiştirilemeyen risk faktörleri olarak sınıflandırılabilir. Değiştirilemeyen risk faktörleri sınıfında; cinsiyet, yaş, ABO kan grubu, diyabet hastalığı yer alır. Değiştirilebilir risk faktörleri ise, sigara kullanımı, alkol tüketimi, obezite, beslenme, pankreatit ve enfeksiyon gibi etkenlerden oluşmaktadır (J. X. Hu vd., 2021).

Genetik risk faktörlerinde hastaların tanı almış birinci dereceden akrabalarının bulunması, pankreas kanseri riskini arttırmaktadır. Vakaların %5-10 unu, aile öyküsünde pankreas kanser tanısı barındıran hastalar oluşturmaktadır. Bazı genlerin mutasyona uğramaları, pankreas tümörlerinin oluşumunda duyarlı hale getirmektedir (Sharma vd., 2025). Bu kanser türü özelinde en sık rastlanan mutasyonlar KRAS, CDKN2A (P16), TP53, SMAD4 genindeki nokta mutasyonları, BRCA2, BRCA1, STK11, PRSS1 ve MMR mutasyonlarıdır. Fakat genetik mutasyona bağlı olarak gelişen pankreas kanseri vakaları incelendiğinde, az sayıda vakanın spesifik genetik mutasyonlardan kaynaklandığı; buna karşılık vakaların yaklaşık %80 inden fazlasının ise sporadik mutasyonlardan kaynaklandığı bildirilmiştir (Zhao vd., 2020).

Pankreas kanseri vakalarının yaşa göre dağılımı ABD’de incelendiğinde, en sık görülen vaka yaş aralığının 65-74 yaş olduğu, ölümlerin %92 oranında 55 yaş üstü hastalardan oluştuğu belirlenmiştir. Dünya genelinde 30 yaş altı vakalar, bu kanser türü için oldukça nadir gözlemlenmektedir. Bu noktada, belli bir yaş üzerindeki nüfusun, pankreas kanseri açısından taranması ve geç teşhisin önlenmesi gerekmektedir (J. X. Hu vd., 2021).

Cinsiyete göre pankreas vakaları değerlendirildiğinde; erkeklerde kadınlara oranla vakaların %30 oranında daha yaygın olduğu sonucunda varılmıştır. İnsidans oranlarının genel bir yaş ortalaması üzerinden incelenmesi sonucunda bu oranın erkeklerde 100.000’de 13,9, kadınlarda ise 100.000’de 10,9 olduğu saptanmıştır. Oranlardaki bu farklılığın nedeni sigara kullanımı gibi çevresel faktörlerden kaynaklı olabilmektedir (Midha vd., 2016).

Amerika Birleşik Devletleri Hemşire Sağlık Çalışması ve Sağlık Profesyonelleri Takip Çalışması’nda kan grubunun kanser riski ile ilişkisi üzerinde çalışılmıştır. Bu

çalışma verilerinin birleştirilmesiyle elde edilen sonuca göre, kan grubu 0 olmayan kan hastalarının, kan grubu 0 olan hastalara karşı daha yüksek pankreas adenokarsinomu geliştirme riski taşıdığı belirlenmiştir (McGuigan vd., 2018).

Diyabet hastalığı ile pankreas kanseri arasında sıkı bir bağ vardır. Vakaların yaklaşık olarak %80'inde glikoz intoleransı veya diyabet mevcuttur (Capasso vd., 2018). Diyabet pankreas kanseri için risk faktörü olmasının yanı sıra; pankreas kanserinin bir sonucu olarak da ortaya çıkabilmektedir. Yeni tanı konmuş hastaların birçoğunda eş zamanlı diyabet başlangıcı da bulunmaktadır. Tıbbi geçmişinde diyabet bulunan hastaların ise, pankreas kanseri tanısıyla beraber diyabet hastalığının kötüleştiği belirlenmiştir (Klein, 2021).

Bir diğer risk faktörü olan obezite pankreas kanseri gelişiminde ve mortalitelerde önemli rol oynamaktadır. Kanser hücrelerinin sağ kalımını sürdürmesinde lipid oksidasyonu ve metabolizması elzemdir. Tümör olmayan dokuda gelişim gösteren kanser hücresine kıyasla, yağ ortamında gelişim gösteren kanser hücreleri, daha yaşanabilir bir ortamda çoğalmaktadır (Zhao vd., 2020). Ayrıca obez bireylerde, pankreas kanser gelişimi daha erken yaşlarda gerçekleşebilirken bu bireylerde daha düşük sağ kalım oranı mevcuttur (Sharma vd., 2025).

Pankreatit, bir fibro-inflamatuvar hastalık türü olup pankreasta iltihap salınımını teşvik eden enzimlerin indüklenmesiyle hücrelere inflamasyona yoluyla zarar veren bir hastalıktır. Kendi içinde kronik ve akut pankreatit olarak ayrılmaktadır. Özellikle kronik pankreatit; pankreas kanserinin önemli risk faktörlerinden biridir (Kandikattu vd., 2020). Uzun süreli doku hasarı, inflamasyon, fibröz durumları hücresel DNA'da hasara ve neoplastik ilerlemeye sebebiyet verir (Stoffel vd., 2023).

Sigara pankreas kanserinde riski ciddi ölçüde arttıran bir faktördür. Uluslararası düzeyde Uluslararası Pankreas Kanseri Vaka Kontrol Konsorsiyumu ve Pankreas Kanseri Kohort Konsorsiyumu (PCCC) grupları tarafından yürütülmüş olan analizler neticesinde, sigara kullanımının pankreas kanser riskini yaklaşık 2 kat arttırdığı belirlenmiştir (Olakowski vd., 2022). Yuan ve arkadaşlarının sigara kullanımının pankreas kanserli hastalarda sağ kalım süresi üzerinde yaptığı bir çalışmanın verilerine göre, sigara kullanımını sürdüren tanı almış hastaların sağ kalım oranı, sigara içmeyen hastalara oranla az olduğu belirlenmiştir (Yuan vd., 2017). 2017 yılı verilerine göre; pankreas

kanseri kaynaklı ölümlerin yaklaşık %21'i, cinsiyet ayırt etmeksizin sigara kullanımına bağlı olarak gerçekleşmiştir (Pourshams vd., 2019).

Alkol tüketimi bir diğer risk faktörünü oluşturmaktadır. Lucenteforte ve arkadaşlarının yaptığı bir analiz çalışmasının sonucuna göre; yoğun düzeyde alkol tüketiminin pankreas kanser riskini arttırdığı belirlenmiştir (Lucenteforte vd., 2012). Alkol tüketimi, siroz ve kronik pankreatit gelişimine neden olmasıyla, pankreas kanseri riskini de tetiklemektedir (Ilic vd., 2016).

Enfeksiyonlar, pankreas kanseri gelişiminde rol oynayan risk faktörlerindedir. Güncel birçok çalışmada, pankreasta yerleşim gösteren mikroorganizmaların ve onların sebebiyet verdiği enfeksiyonların pankreas kanseri oluşumu, yayılımı, sağ kalım süresi ve uygulanan tedavi yanıtı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (W. Zhang vd., 2021). Hepatit C enfeksiyonu, pankreas kanseri gelişimiyle pozitif korelasyon gösteren bir enfeksiyon çeşididir. Hepatit C enfeksiyonu olan katılımcılar üzerinde yapılan bir meta-analiz çalışmasında, bu enfeksiyonu taşıyan bireylerin pankreas kanseri geliştirme olasılığının, enfeksiyonu olmayan bireylere oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Arafa vd., 2020). ABD'de yapılan bir çalışma analizine göre kronik HCV enfeksiyonu olan hastalarda pankreasın yanı sıra karaciğer, rektum, böbrek, lenfoma, akciğer gibi diğer kanser türlerinin de insidansı ve mortalite oranında önemli bir artış olduğu belirlenmiştir. Vakaların tanı ve ölüm yaş skalası daha genç popülasyonu işaret etmektedir (Allison vd., 2015). Başka bir meta-analiz çalışmasında Çin popülasyonunda hepatit B ve C enfeksiyonlarının pankreas kanser riski üzerindeki ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışma sonucuna göre, bahsi geçen enfeksiyonların pankreas kanser risk oranını artırdığı bildirilmiştir (Xu vd., 2013).

2.1.4. Pankreas kanserinde evreleme

Kanser evreleme, hastalığın prognozunu ölçme ve hastada uygulanacak tedaviyi belirlemek için gereklidir. Evreleme sistemi, dünya genelinde standart tedaviyi alan hasta gruplarının karşılaştırılmasına imkan sağlamakta ve ortak bir dil oluşturmaktadır. Kullanımı en yaygın olan evreleme sistemi ise Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanser Kontrol Birliği (UICC) tarafından sürdürülen TNM evrelemesidir. Bu evreleme sistemi, birincil tümörün (T), bölgesel lenf düğümlerinin (N) ve uzak metastazların (M) boyutunu ve yayılımını kodlamaktadır (Edge vd., 2010). T; Birincil

tümörün boyutunu, N; bölgesel lenf nodunda tutulumu ve sayısını, M ise uzak metastazlarla vücuda yayılımını ifade etmektedir(Hartl vd., 2021). 2016 yılında yayınlanan ve 2018 yılında yürürlüğe giren AJCC Kanser Evreleme Kılavuzunun 8. Baskısı; pankreas kanserinin evrenmesinde kullanılan güncel evreleme sistemidir (**Tablo 2.1.**) (Van Roessel vd., 2018).

T ve N Evrelemesi

T1	Maksimum tümör çapı ≤ 2 cm
T2	Maksimum tümör çapı >2 ve ≤ 4 cm
T3	Maksimum tümör çapı >4 cm
T4	Tümör çölyak eksenini veya üst mezenterik arteri içerir (rezekte edilemeyen birincil tümör)
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	1-3 bölgesel lenf nodunda metastaz var
N2	≥ 4 bölgesel lenf nodunda metastaz var

8. Baskı, Evreleme Grupları

IA	T1 N0 M0
IB	T2 N0 M0
IIA	T3 N0 M0
IIB	T1, T2, T3, N1, M0
III	T1, T2, T3, N2, M0 T4, Herhangi N M0
IV	Herhangi T Herhangi N M1

Tablo 2.1. AJCC evreleme sistemi (8. baskı)

2.1.5. Pankreas kanseri belirti ve bulguları

Pankreas kanseri vakalarında ortak olarak gözlemlenen belirtiler arasında sırt ağrısı, sarılık, kilo kaybı yer almaktadır. Hastalığa ait spesifik olmayan erken semptomlar genellikle erken tanı aşamasındayken fark edilmez. Bu nedenle tanı ileri evrede konmaktadır. Buna bağlı olarak da kötü bir prognoz oluşturmaktadır. Eğer tümör, pankreasın gövdesi veya kuyruğunda ise; bu hastalar genellikle non-spesifik ağrı ve kilo kaybı şikayetleri ile kliniğe başvururlar. Bu ağrılar, sırt kısmında yoğunlaştığı için, hastalar sırt üstü yattığında şiddeti de artmaktadır (Freelove vd., 2006). Fiona ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir kohort çalışmasında, pankreas kanserli hastalar ve diğer kanser türlerinden katılımcıların semptomları incelenmiştir. Bu çalışma verilerine göre, kısa vadede ilk semptomlar pankreas kanserli katılımcılarda bulunmamaktadır. Sarılık, idrar veya dışkı renginde değişiklik, halsizlik, kilo kaybı, iştahsızlık, sırt ağrıları gibi şikayetler; pankreas kanserli katılımcıların daha uzun vadede bildirdiği semptomlardır. Bu bağlamda, erken evrede güçlü semptomların olmaması, bu kanser türü için tanısal biyobelirteçlerin geliştirilmesi açığını da ortaya koymaktadır. Erken tanı için yeni stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir (Walter vd., 2016).

2.1.6. Pankreas kanserinde tanı ve tedavi yöntemleri

Pankreas; lokasyon olarak karın içi erişilemeyen bir bölümde konumlanmaktadır ve bu durum tanı aşamasında zorluk oluşturmaktadır (Lowenfels vd., 2006). Pankreas kanseri tanı ve teşhis yöntemleri incelendiğinde; kontrast maddenin intravenöz yol aracılığıyla verildiği yüksek kaliteli bilgisayarlı tomografi yöntemi sayesinde, pankreas tümörünün etkin bir şekilde tespit edilebildiği saptanmıştır. Bir diğer tanı yöntemlerinden olan endoskopik ultrason yöntemi ise, ince iğne aspirasyon metodu ile kombine edildiğinde pankreas kanserinin teşhis ve evrenmesinde giderek geniş bir yelpazede tercih edilmektedir (Mizrahi vd., 2020).

Pankreas kanserinde güncel tedavi yöntemleri; tıbbi ilaç kaynaklı ve cerrahi olarak ayrılmaktadır. Tümörün çıkarılması, kemoterapi ilaçları ve immünoterapi ilaçlarının kullanımı, radyasyon tedavisi ve hedefli ilaç tedavisi bu yöntemlere örnek olarak verilebilir (Sarvepalli vd., 2019).

Cerrahi yöntemler incelendiğinde; 1992 yılında Whipple ameliyatıyla laparoskopik sürecin başladığı, sonraki yıllarda pankreas cerrahisinin gelişmesiyle

birlikte laparoskopik distal pankreatektomi adı verilen çok sayıda cerrahi ameliyatın gerçekleştirildiği bilinmektedir (Acher vd., 2018). Pankreasın baş bölgesinde gelişen tümörler için klinikte uygulanan standart cerrahi işlem; pankreatikoduodenektomi, diğer bir adıyla Whipple prosedürüdür. Pankreasın gövde veya kuyruk bölümünde lokalize olmuş tümörler için ise distal pankreatektomi metodu kullanılmaktadır (Bachmann vd., 2006).

Radyoterapi, birçok kanser türünde olduğu gibi pankreas kanseri için de genellikle tercih edilebilen bir tedavi metodudur. Geniş bir alanda kullanımı olan bu tedavi seçeneği; amacına göre hastalığın farklı dönemlerinde kullanılabilir. Örneğin, rezekte edilebilir pankreas kanseri için neoadjuvan tedavi aşamasındayken kullanılabilirken lokal olarak ilerlemiş pankreas kanserinde indüksiyon tedavisi olarak kullanılabilir. Ayrıca ameliyat sonrası adjuvan tedavi sürecinde de hem adjuvan tedavi hem de palyatif amaçlı olarak tercih edilebilmektedir (Shouman vd., 2024).

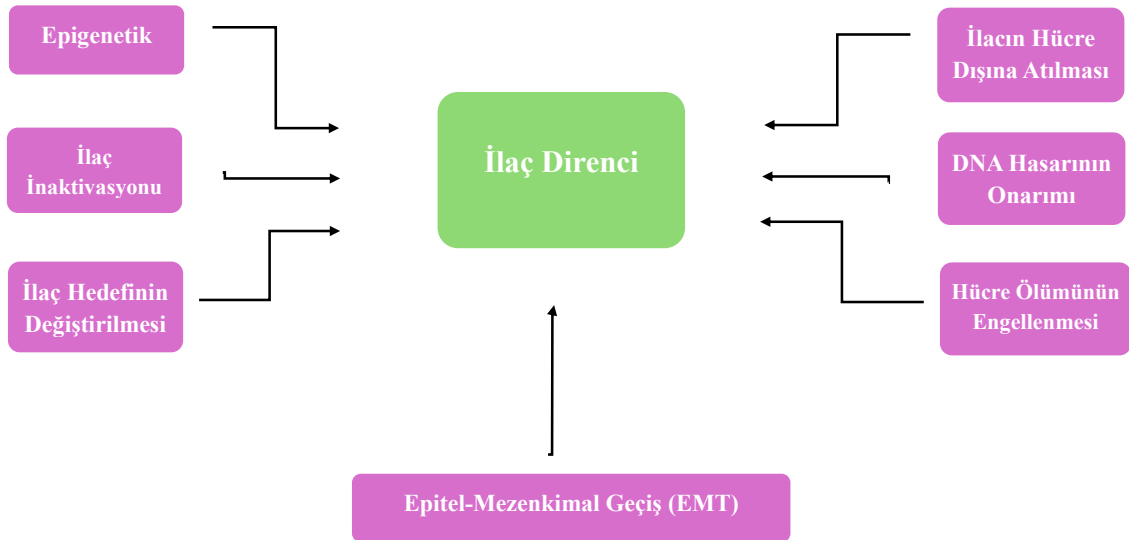
Palyatif tedavi, hastalığa bağlı olarak hissedilen ağrının veya diğer semptomların hafifletilmesi, psikolojik ve sosyal sorunların kontrol altına alınarak yaşam kalitesinin artırılmasına dayalı yaklaşımdır. Özellikle rezekte edilemeyen pankreas kanseri hastalarında mevcut olan bazı ağrı türleri şu şekildedir: duodenum veya gastrik çıkış obstrüksiyonu (GOO), obstrüktif sarılık ve çölyak pleksus invazyonu nedeniyle oluşan ağrı. Semptomların hafifletilmesi için palyatif cerrahi metodları kullanılabilir. Bunlara örnek olarak; endoskopik stentleme prosedürü verilebilir (Adham vd., 2019). Pankreas kanseri tedavisinde genellikle polifarmasi ilaçlar tercih edildiği için, hastalarda ilaçlara bağlı veya hastalığın semptomu olarak gelişen bulantı, kusma gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Bu şikayetlerin minimize edilebilmesi için antiemetik ilaçlardan metoklorpamid kullanımı palyatif amaçlı olarak önerilmektedir (Sakamoto vd., 2022).

Kemoterapi ile tedavi incelendiğinde; pankreas kanserinde kullanılan kemoteröpatik ajanlar arasında gemitabin, 5FU, FOLFIRINOX, nab-paklitaksel gibi ilaçlar yer almaktadır. Gemitabin, pankreas kanserinde tek başına uygulanabilirken etkinliğini arttırmak üzere platin bazlı ajanlarla kombine halde de verilmektedir. Birçok çalışmanın analizi sonucunda gemitabin ile kombine halde verilen tedavilerin, genel sağ kalım süresini uzattığı fakat kemoterapi ilişkili yan etkileri arttırdığı belirlenmiştir (Chin vd., 2018).

Pankreas kanseri tedavisi için cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi yöntemler sıklıkla kullanılsada; ileri evreler için ameliyat seçeneğinin mümkün olmaması, kemoterapi ve radyoterapi de sınırlı etkinliğe sahip olması, güncel çalışmalarda immünoteratiye olan ilgiyi artmıştır. Güncel pankreas kanseri temelli çalışmalarda immünoterapi yöntemlerinden olan immün kontrol noktası inhibitörleri (ICI'ler), adaptif hücre tedavisi ve aşı tedavisi gibi stratejiler kullanılmaktadır (R. Zheng vd., 2024). İmmünoterapi, diğer kanser türlerinde etkinliğini göstermiştir. Fakat pankreas duktal adenokarsinomunda (PDAC) etkinliği sınırlı seviyede kalmıştır. Bunun nedeni, PDAC'ın tümör mikroçevresinin yapısından kaynaklı olarak erişiminin sınırlı olmasındandır (Timmer vd., 2021).

2.2. Kemorezistans ve Mekanizmaları

Kemorezistans, ilaca karşı gelişen direnç anlamına gelmektedir. Farklı mekanizmaların tetiklenmesiyle oluşur. Bu mekanizmalar tek başına veya kombine halde etki göstererek direnci oluşturabilmektedir. Kemoterapi, birçok kanser türünde başlangıçta olumlu sonuçlar gösterir. Fakat kanserli hücrelerde sıklıkla gelişen DNA hasarı, epigenetik değişiklikler, ilaç inaktivasyonu gibi birçok metabolik olay kemorezistansa neden olur (Hasan vd., 2018).



Şekil 2.3. Doğrudan veya dolaylı yoldan ilaç direncini destekleyen mekanizmalar(Housman vd., 2014)

Hücre içinde aktifleşen birçok ilacın sürece bağlı olarak inaktive hale gelmesiyle **ilaç inaktivasyonu** gerçekleşir. İlacın inaktif formdan aktif forma geçmesi, çeşitli

proteinlerin diğerk moleküllerle reaksiyona girmesiyle oluşur. Bu esnada çeşitli kompleks oluşumlar aracılığıyla modifikasyonlar gerçekleşebilir ve buna bağlı olarak ilaç aktif formuna dönüşmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların çoğu, etkin formuna geçebilmek için bu metabolik süreçten geçmektedir. Fakat, azalan ilaç aktivasyonu ilaç direnci oluşturabilir. Örneğin, akut miyeloid lösemi tedavisinde kullanılan sitarabin ilacı, hücre içine girdiğinde fosforilasyon basamakları geçirerek aktif formu olan AraC trifosfata dönüşmektedir. Bu süreçte kemorezistansın geliştiğı yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir (Hasan vd., 2018).

İlaç hedeflerindeki değişiklikler, ilacın etkinliğini gösterebilmesi için hedeflediğı molekülde oluşturacağı değişikliklerdir. Bu süreçte kanser hücreleri ilaca karşı direnç geliştirmektedir. DNA'nın stabilizasyonunu sağlayan topoizomerez II bazı ilaçlarda hedef molekül olarak kullanılmıştır. Topoizomerez II inhibitörü olarak görev yapan bu ilaçlar, Topoizomerez II geninde oluşan mutasyonlar nedeniyle ilaç direncine neden olur (Stavrovskaya, 2000).

İlaç akışı, yani **ilacın hücre dışına atılımı** ilaç direnci geliştirmenin bir diğerk yoludur. Moleküllerin hücre içine alımını ve atılımını sağlayan taşıyıcı proteinlerin kanserli dokularda normalden daha fazla seviyede eksprese olmaları, ilacın dışarı atılımına neden olarak direnci oluşturmaktadır. Bu taşıyıcı proteinlere örnek olarak MDR1(ABCB1), MRP1 (ABCC1), ABCG2 verilebilir. ABC taşıyıcı proteinleri vasıtasıyla dışarı atılım fizyolojik bir süreç iken, kanserli dokularda bu proteinlerin aşırı ekspresyonları dirence neden olmaktadır. Bu nedenle ABC taşıyıcı protein indüksiyonunun engellenmesi, dirence karşı uygulanabilecek savunma yöntemi olabilir (Gottesman vd., 2002).

DNA hasarının onarımı kanserli hücrelerde nükleotid eksizyon onarımı ve homolog rekombinasyon yoluyla gerçekleşmektedir. Kanserde ilaca karşı direnç, DNA hasar onarım mekanizmasının başarısıyla etkilidir. Örneğin, platin bazlı kemoterapi ilaçlarından olan sisplatin, DNA replikasyonunu engelleyerek antikanser etki göstermektedir. İlaç molekülleri DNA'ya bağlanarak platin-DNA etkileşimi yoluyla DNA zincilerini kovalent çapraz bağlar. Bu sayede DNA replikasyonu önlenmektedir. Fakat hücrelerde var olan onarım mekanizmaları, bu süreçte devreye girmektedir. DNA hasarının önlenmesi, platin bazlı ilaçlara karşı direncin oluşması anlamına gelmektedir (Bonanno vd., 2014).

Apoptozis, programlı hücre ölümü, Bcl-2 protein ailesi vasıtasıyla içsel yol veya hücre membranında lokalize olan proapoptotik ölüm reseptörleri (DR'ler) vasıtasıyla dışsal yol ile gerçekleşmektedir. Hücre ölümüne neden olan kaspazların aktivasyonu, bu iki yolla gerçekleşmektedir. Apoptozis mekanizması kanserli hücrelerde düzenli çalışmadığı için ilaç geliştirmede yoğunlaşılan bir alandır. İlaçlar apoptozun indüklenmesini sağlamaktadır. Fakat hücre özgüllüğünün olmaması, sağlıklı hücrelerde de toksisiteye neden olur. **Hücre ölüm inhibisyonu** dolaylı olarak ilaç direncini geliştirmektedir (Soria vd., 2010).

Epitelden mezenkimale geçiş (EMT) süreci hücrelerde embriyonik gelişim sürecinden itibaren başlayan ve doku morfogenezini sağlayan önemli bir mekanizmadır. EMT sürecinin aktivasyonundaki anormallikler kanserli dokularda gözlemlenir. Mekanizmadaki bozulmanın sonuçları arasında kanser hücrelerinin invazyonunun ve metastazının gelişimi yer almaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise ilaç direncine de yol açtığı belirlenmiştir (Singh vd., 2010).

2.2.1. Pankreas kanserinde kemorezistans

Kemoterapi direnci, bir diğer adıyla kemorezistans, birçok mekanizmanın yönlendirilmesi sonucu ortaya çıkan karmaşık süreçlerden oluşmaktadır. Bunlardan bazıları, apoptozis kaçınması, gelişmiş DNA hasarı onarımı, ilaç atılımı, kanser kök hücresinin dinamiği, epigenetik modifikasyonlardan oluşmaktadır. Bu mekanizma topluluğu, birbirine bağlı olmakla kalmayıp aynı zamanda karşılıklı olarak etkileşim halindedir (Gu vd., 2025). Kemorezistans, pankreas kanseri hücreleri, kanser kök hücreleri ve tümör mikro ortamı arasındaki etkileşimin bir sonucu olarak ortaya çıkan çok faktörlü bir direnç metabolizmasıdır. Pankreas kanseri sağ kalımının önündeki en büyük engellerden biri kemorezistanstır (Zeng vd., 2019). PDAC'ın yoğun desmoplastik stroması bariyer görevi üstlenerek ilacın hücre içine penetrasyonunu kısıtlamaktadır (Kaya vd., 2024). Çoğalma, apoptoz, EMT, otofaji ve ekzosom gibi çeşitli süreçlerle ilişkili kemorezistans proteinleri; ekstraselüler ligandlar, membran reseptörleri, sitozolik sinyal iletilicileri ve nükleer transkripsiyon faktörleri arasında yer almaktadır. Kanser hastalığında hedefe yönelik tedavinin uygulanabilmesi için, bu moleküler mekanizmaların aydınlatılması, tedavi hedeflerinin belirlenmesi, kemosenitif popülasyonun tespiti ve kemoterapötik ajanların etkinliğinin hücre kültürü ve ortotopik modelde değerlendirilmesi gereklidir (H. C. Zheng, 2017).

Pankreas kanseri tedavisinde tek başına gemsitabin veya folinik asit, 5-florourasil, irinotekan ve oksaliptatin veya nab-paklitaksel artı gemsitabin tedavileri belli sürelerde sağ kalımı desteklediği bilinen ilaçlardır. Fakat tedavinin birinci basamağında kemaorezistansa bağlı olarak tüm hastalar aynı düzeyde fayda görememektedir. Gemsitabin, pankreas kanserinde onaylanmış bir tedavi seçeneği olsa da kanserli hücrelerin EMT sürecini tetiklemektedir. EMT ise ilaç direncine ve metastaza dolayısıyla kötü prognoza neden olmaktadır (X. Hu vd., 2021). Zheng ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, fare modelleri üzerinde EMT’de görev alan iki önemli molekülün susturulması yoluyla göç süreci baskılanmıştır. Baskılama, kemorezistansı azaltarak gemsitabine duyarlılığı arttırmış ve nihayetinde farelerde sağ kalım süresini pozitif yönde etkilemiştir (X. Zheng vd., 2015).

Kemorezistansta etkili olan en önemli mekanizmalardan biri pankreas kanser hücrelerinin tümör mikroçevresidir. Stanford Üniversitesi’nde yürütülmüş bir çalışmada; hücrelerin tümör mikroçevresi yeniden düzenlenerek kemorezistans azaltılmaya çalışılmıştır. PDAC’ın fibrotik ve sert ekstraselüler mikroçevresi; CD44 aracılı ilaç pompalama mekanizmasıyla matrissistemleriyle yumuşatılmıştır. Buna bağlı olarak ilaç direncinin azaldığı sonucuna varılmıştır (LeSavage vd., 2024).

Pankreas kanserinde intrinsik direnç mekanizmalarından olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) gemsitabin direnci üzerindeki etkileri yapılan bir çalışmada araştırılmıştır. Turpgillerde doğal bir bileşik olarak bulunan β -Feniletıl izotiyosiyanat (PEITC), gemsitabin ile kombine halde pankreas kanseri hücrelerine belli doz aralıklarında uygulanmıştır. Çalışmada hücre içi GSH seviyesi azaltarak ROS detoksifikasyon süreci engellenmiştir. Bu deneysel mekanizmanın gemsitabin direncini azalttığı sonucu çıkarılmıştır (Ju vd., 2015).

PDAC’de gemsitabine direnci geliştiren mekanizmalar arasında AKT sinyal yolunun aktivasyonu yer almaktadır. Bu sinyal yolunda görev alan RRP9 proteininin ekspresyonu pankreas kanserinde anlamlı derecede artmış seviyededir. RRP9 proteini IGF2BP1 ile etkileşime girerek AKT sinyal yolunu aktifleştirmektedir. AKT sinyal yolu ise DNA hasarında azalmayı sağlar ve apoptozisi inhibe ederek gemsitabine karşı direnci indüklemektedir. Literatürde yer alan bir çalışmada AKT inhibitörü MK-2206’nın gemsitabin ile kombine halde uygulanması gemsitabine direnci ve tümör proliferasyonunu anlamlı ölçüde azalttığı belirlenmiştir (Z. Zhang vd., 2022).

PDAC'de ilaç direncinin azaltılması için geliştirilen başka bir yaklaşım ise metabolizmanın programlanmasıdır. İlaç direncini geliştiren etmenlerden olan PDAC metabolizması modifiye edilebilmektedir. Programlanma yoluyla glikoz, lipid ve amino asit metabolizmasında görev alan enzimleri veya taşıyıcıları hedeflenmesi ilaç direncini azaltarak kötü prognozun iyileştirilmesinde umut vaat edebilir (Tuerhong vd., 2021).

Literatürde mevcut başka bir çalışmada EZH2 (zeste homologu 2) geninin normal pankreas dokusunda tespit edilemediği, pankreas adenokarsinomunda ise bu genin birikiminin gözlemlendiği bildirilmiştir. İlaç direncinin gelişmesinde rol oynayan bu gen apoptozisi inhibe etmektedir. RNA interferans yöntemiyle bu genin susturulması, apoptozisi tetikleyerek pankreas kanserinde doksorubisin ve gemsitabin ilaçlarına karşı duyarlılığı arttırdığı gözlemlenmiştir (Ougolkov vd., 2008).

Başka bir çalışmada ise nanopartiküllerden faydalanılarak gemsitabin yüklü hale getirilmiştir. Kitosan nanopartikülleriyle gemsitabin yüklü hale getirilmiş, bu sayede ise biyoyumluluğu arttırılmıştır. Tek başına gemsitabin kullanılan hücre hattındaki apoptoz ve ferrototik yanıtı karşı yüklü gemsitabinin kullanıldığı hücre hattında apoptoza ve ferrototik yanıt kıyaslanmıştır. Glikoliz ve hücre büyümesi ve gelişimiyle alakalı mekanizmalara ait gen ve enzim düzeylerinin aşağı regülasyonunun sağlandığı, bu sayede ise apoptotik ve ferroptotik yanıtın pozitif yönde arttığı sonucuna varılmıştır. Kitosan yüklü gemsitabin anti-apoptotik proteinleri baskılamıştır. Kitosan yüklü olması ise ilacın stabilizasyonunu sağlayarak hücre içinde metabolizma süresini arttırmıştır (Aydemir vd., 2024).

2.2.2. Gemsitabin: pankreas kanserinde standart tedavi

Pankreas kanserinde, halihazırda kullanımı mevcut olan birçok kemoterapi rejimi bulunsa da FDA tarafından 1996 yılında pankreas kanseri için onaylanan gemsitabin ilacı, bu kanser türü için en iyi çalışılmış farmasötik ajandır (Principe vd., 2021). Gemsitabin diğer kanser türlerinde de alternatif bir tedavi olarak kullanılsa da en sık pankreas kanseri tedavisinde kullanılır. Ancak kemorezistans, ilacın etkinliğini sınırlandırmaktadır (Yang vd., 2021). Gemsitabin (2', 2'-diflorodeoksisitidin, dFdC), kendini DNA sarmalına entegre ederek DNA sentezini inhibisyonunu sağlayan bir primidin analogudur. Sentezinin beklenen süreden erken sonlanmasına neden olur (Adamska vd., 2018).

olan tedaviye oranla daha uzun genel sağ kalımla sonuçlandığını göstermiştir (Conroy vd., 2018). Gempitabin tedavisinin kıyaslandığı başka bir klinik çalışmada gempitabin monoterapisine karşı farmasötik ajan olarak albümin bağlı paklitaksel (nab-paklitaksel) artı gempitabin kombine halde metastatik pankreas kanserli hastalarda kayda değer klinik aktiviteyle sonuçlanmıştır (Von Hoff vd., 2013).

2.3. Pankreas Kanserinde EMT

Metalloproteinaz (MMP) ailesi embriyonik gelişim, anjiyogenez gibi süreçlerde ekstraselüler matrisin parçalanmasını sağlamaktadır. MMP2 bu ailenin bir üyesi olup tümör metastazında önemli rol oynamaktadır. MMP2, bazal membran ana yapısal bileşeni olan tip IV kolojenin parçalanmasını sağlayan enzimi kodlayarak hücrelerin çoğalarak metastaz yapmasına neden olur. MMP ailesinin aşırı ekspresyonu birçok kanser türünde gözlemlenmiş olup EMT sürecinde ve metastazda yer aldıkları belirlenmiştir (W. Dong vd., 2011).

Pankreas kanserinde de yüksek seviyede ekspresyon gösteren MMP2 literatürde yer alan bir çalışmada araştırılmıştır. 127 hastanın immünohistokimya ile değerlendirilmesi sonucunda MMP2'nin pankreas kanserinde evreleme üzerinde korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Yüksek MMP2 seviyesinin ileri evre hastalarda mevcut olduğu saptanmıştır (Juuti vd., 2007). Ying ve arkadaşlarının pankreas kanseri hücre hatları üzerinde yaptığı bir çalışmada MMP2'yi RNAi tekniğini kullanarak protein ekspresyonunu inhibe edilmiştir. Böylece hücre yapışması ve invazyonunu baskılandığının sonucuna varılmıştır (Zhi vd., 2009).

Metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP'ler), MMP'lerin endojen inhibitörleri olarak tanımlanan korunmuş bir protein ailesidir. Hücrelerin invazyonunda MMP'lerin inhibitörü olarak görev yaparak ekstraselüler matriks dönüşümünde düzenleyici rol oynarlar. TIMP ailesi içerisinde en sık ifade gösteren üyelerden birisi TIMP2'dir. Fonksiyon olarak sadece proteaz inhibisyonu yoluyla tümör baskılayıcı olarak görev almakla kalmaz; aynı zamanda tümör mikroçevresinde lokasyon gösteren endotel ve fibroblast hücreleri üzerinde modülatör görev üstlenmektedir. Hücrelerin çoğalması ve yayılmasında yer alan sinyal yolları üzerindeki reseptörlerle doğrudan etkileşime girebilirler. Bu sayede EMT etkisini azaltmaktadır (Stetler-Stevenson, 2023). Kolon kanseri üzerinde yapılan bir çalışmada, TIMP2 ekspresyonunun ilaç dirençli hücre

hatlarında yükseldiğini ve buna bağlı olarak 5-Fu direnciyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. İlaç direncinin erken saptanmasında TIMP2 bir biyobelirteç olarak kullanılabilir (Li vd., 2023).

Pankreas kanseri üzerinde yapılan bir çalışmada; PDAC hücrelerinin mikroçevresini oluşturan önemli bileşenlerden olan monosit benzeri hücrelerin, TIMP2'yi eksprese ettiği saptanmıştır. Bu hücrelerin aktivasyonu, PDAC'de hücre invazyonunun baskılanmasını sağlamaktadır. Monosit benzeri hücrelerin aktivasyonu PDAC prognozu açısından hedef molekül olarak değerlendirilebilir (Benzing vd., 2019). Literatürde yer alan başka bir çalışmada transfeksiyon metoduyla in vivo düzeyde intraperitoneal insan pankreas kanserlerine sahip farelere TIMP1 ve TIMP2 adenoviral olarak verilmiştir. Pankreas kanserinde MMP ailesinden özellikle MMP2 ve MMP9'un aşırı ifadenmesi mevcuttur. Bu enzimler için ekstraselüler matrisin parçalanmasını sağlayarak tümör hücresi invazyonunu desteklemekte görev alırlar. TIMP1 ve TIMP2 ise bu enzimlerin inhibitörü olarak rol oynarlar. Farelerde tümör invazyonu üzerinde yapılan bu çalışmada, adenoviral verilen TIMP'ların tümör hücrelerini daha az invaziv hale getirdiği ve kontrol farelere kıyasla sağ kalım sürelerini arttırdığı sonucuna varılmıştır (Rigg vd., 2001).

2.4. Apoptozis

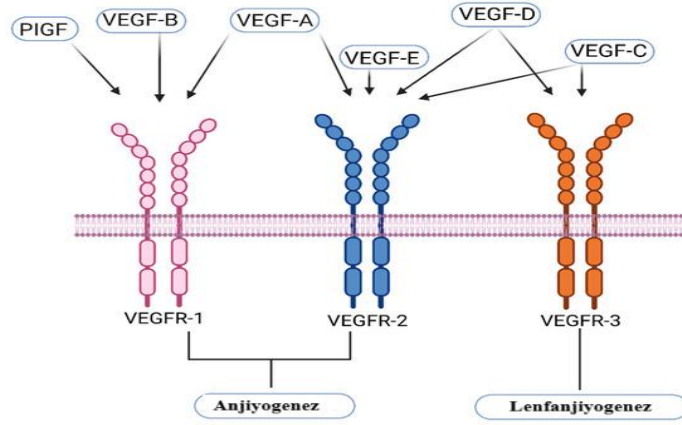
Ökaryotik hücrelerde doğal bir fizyolojik süreç olan programlanmış hücre ölümü, diğer bir adıyla apoptozis, homeostazın sağlanmasında önemli bir mekanizmadır. Hasarlı hücre oluşumunda veya yoğun stres altında ekstrem koşullarda hücrelerde apoptoza geçiş başlamaktadır. Kanser sürecinde ise apoptoz çeşitli şekillerde önlenerek kanserli hücrelerin agresif şekilde gelişmesi ve yayılması gözlemlenmektedir. B hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) protein ailesinde yer alan üyeler, pro- veya anti-apoptotik aktiviteleri sayesinde apoptozisi düzenlemektedir (S. Qian vd., 2022). Bcl-2 pro-sağkalımı düzenlerken Bax pro-apoptotik etkiyi düzenleyerek hücreyi apoptoza götürmektedir (Luna-Vargas vd., 2016). Sağ kalımı destekleyen Bcl-2 ailesine ait üyelerin normalden farklı olarak yüksek seviyede ekspresyon göstermesi, apoptotik etki gösteren Bax gibi aile üyelerinin ekspresyonlarının azalması ise kanserde rastlanan bir durumdur. Bu iki zıt fonksiyon gösteren proteinlerin kanserde belirtildiği şekilde ekspresyon göstermesi, apoptozisin inhibisyonuyla kanserli hücrelerin sağ kalımıyla sonuçlanmaktadır. Birçok malignitede bu süreç işleyiş göstermektedir (Kaloni vd., 2023). Ayrıca azalmış apoptoz durumu, ilaç

direncinin oluşmasına neden olan faktörler arasında da yer almaktadır. İlaç direnci gelişen kanser hücrelerinde Bcl-2 ailesine ait üyelerin ekspresyon seviyelerinin yukarı akışta düzenlendiği belirlenmiştir(Maji vd., 2018). Yapılan bir meta analiz çalışmasında; Bcl-2 negatif tümörlerde kemoterapiye yanıt seviyesinin daha iyi olduğu, Bcl-2 ekspresyonunun bulunduğu meme kanseri hastalarında ise kemoterapi direncinin bulunduğu belirlenmiştir (Yang vd., 2013).

Pankreas tümör hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada Bcl-2'nin gempitabin direncindeki rolünü araştırılmıştır. Sonuçlarına bakıldığında BCL-X L'yi gempitabin direncinin önemli bir aracısı olarak tanımlanmıştır. Gempitabine ek olarak DT2216 ile kombine tedavisinin BCL-X L bozulmasının gempitabinin antitümör aktivitesini arttırdığını ve bunların kombinasyonunun pankreas kanseri tedavisinde daha etkili olabileceği gösterilmiştir (Thummuri vd., 2022).

2.5. Anjiyogenez

VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü), Esas olarak anjiyogenez düzenlenmesinde rol oynayan trombosit-türevli büyüme faktörü (PDGF) süpergen ailesinden olan bir büyüme faktörüdür. VEGF ailesi, kendi içerisinde homodimer yapıda beş üyeden oluşmaktadır. Bunlar; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve PlGF' dir. Bunların yanı sıra dört izoform da içermektedir ki bunlar VEGF-A, VEGF121, VEGF165, VEGF189 ve VEGF206'dır (Haytaoğlu, 2014). VEGF-A, izoformları olan VEGFR-1 ve VEGFR-2'ye bağlanarak vasküler sistemin farklılaşması ve gelişimi üzerinde fonksiyon gösterir. Anjiyogenezde görevli VEGF-B ve PlGF ise sadece VEGFR-1'e bağlanabilme kapasitesi gösterir. VEGF-C ve -D hem anjiyogenez hem de lenfanjiyogenez sürecinde görevli olup VEGFR-2 ve -3 'e bağlanabilir. VEGFR-R1 ve 2, kan damarı anjiyogenezinde işlev gösterirken VEGFR-3'ün ise lenfanjiyogenezin düzenlenmesinde işlevleri bulunmaktadır (Bokhari vd., 2023).



Şekil 2.5. VEGF reseptör ve ligandları (Bokhari vd, 2023)

Anjiyogenez diğer kanser türlerinde olduğu gibi pankreas kanserinin de mihenk taşıdır. Pankreas kanserinde kötü prognozlu hastalarda yüksek PIGF/VEGF ekspresyonuyla birlikte çok sayıda PIGF/VEGF reseptörü eksprese eden CAF bulunur ve bu da artmış kollajen birikimiyle ilişkilendirilmektedir. FLT-1, VEGF reseptörüdür ve VEGF gibi bu molekülün de ekspresyon seviyesinde değişimler meydana gelmektedir (Kim vd., 2022). Vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF); vasküler geçirgenliği artırma yeteneğine de sahip olan güçlü bir anjiyojenik faktördür (Kenichi Kuwahara, 2004). Anjiyogenez, kanserin büyümesi ve metastazı için gereklidir. Akciğer kanserinde yapılan bir çalışmada vasküler endotelial büyüme faktörü tuzağının (VEGF-Trap) gempitabin ile kombinasyon tedavisinin faydaları değerlendirilmiştir. VEGF-Trap'in gempitabin ile kombinasyonu, VEGF-Trap veya gempitabinin tek denendiği tedaviye kıyasla tümör büyümesinin önemli ölçüde daha fazla inhibisyonunu sağlayarak farelerde hayatta kalım süresini uzattığını göstermiştir. Ek olarak bu tedavi anjiyogenezi etkilemekle kalmayı aynı zamanda tümör dokularında hücrel apoptozu da indüklediği bildirilmiştir (Zhou vd., 2013). Pankreas kanserinde yapılan bir çalışmada VEGF'nin rolünü ve gempitabinin insan pankreas duktal karsinomunun malign asitleri üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Sonuçları incelendiğinde, kültür ortamındaki hücrelerde; VEGF seviyelerinin gempitabine yanıt olarak gempitabin dozuna da bağlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (Kenichi Kuwahara, 2004).

2.6. *Laurus nobilis* (Defne)

Bitkiler alemi, sayısız faydalı ilacın geliştirilmesinde farmasötik kaynağı oluşturan temel unsurlardandır (Cragg vd., 2013). *Laurus nobilis* (defne); Lauraceae familyasında yer alan herdem yeşil bir ağaç veya çalı bitkisi olup Avrupa'nın güney kısımları ve Akdeniz bölgesine özgü, süs ve tıbbi bitki türüdür. Yaprak kesimleri ve yapraklarının kurutulmasıyla elde edilen uçucu yağ bileşiği gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Tatlandırıcı madde ve baharat olarak kullanımı mevcut olan bu bitki, aynı zamanda tıbbi amaçlar için de değerlendirilmiştir. İran bölgesinde epilepsi, nevroz ve parkinsonizmi gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilgisi mevcuttur. İtalya'da yapılmış olan bir çalışmada *Aspergillus niger*, *P. expansum* gibi mantar türlerine karşı defne yağının antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir (Caputo vd., 2017). Uçucu yağ bileşimindeki monoterpenler ve seskiterpenlerin antifungal aktiviteyi tetiklediği düşünülen defne bitkisinin; yapılan bir çalışmada *Candida* türlerinde biyofilm oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Peixoto vd., 2017).

Farklı hastalıkların tedavisinde ilaç maddesi olarak denenilen defne, in vivo bir çalışmada kolitli sıçanlar üzerinde bağırsak bariyeri ve mikrobiyota üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla denenmiştir. Günlük uygulanan defne yaprağı tozunun, bağırsak bariyerinde iyileştirici etki gösterdiği, inflamatuvar yanıtı azalttığı ve mikrobiyotayı da pozitif şekilde etkilediği sonucuna varılmıştır (Khalil vd., 2024).

Bir başka in vivo çalışma, diyabetli sıçanlar üzerinde defne yaprağı ekstresinin uygulanması yoluyla yapılmıştır. Kanda birçok parametrenin analiz edildiği bu çalışmanın sonucunda, açlık kan şekeri ve HbA1c seviyelerinde anlamlı şekilde düşüş gözlemlenmiştir. Ek olarak karaciğer enzimleri olan ALT, AST, Üre, Kreatinin seviyelerinde iyileşmenin olduğu tespit edilmiştir (Al-Turfı vd., 2022).

Defne yağı ekstresinin yara iyileşmesine olan etkisinin araştırıldığı bir in vivo çalışmada tavşanların sırt bölgelerinde yer alan deri yaralarına günlük olarak kilogramlarına göre belli doz aralıklarında metanollü defne yaprağı ekstresi uygulanmıştır. 20 günlük bir uygulamanın sonucunda dermiş bölgesinde kollajen artışı ve granülasyon dokusunda gelişme gözlemlenmiştir. Yara bölgesinde anlamlı bir küçülme mevcuttur (Hammoodi vd., 2024).

2 m ila 10 m yüksekliğine ulaşabilen bu aromatik ağaç türü yapısında yaklaşık olarak %1,3 uçucu yağ ve polar flavonoidler mono, seskiterpenler, alkaloidler, glikozlanmış aroma-noidler, megastigman ve fenolik bileşenleri barındırmaktadır. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı yapısındaki uçucu yağ içeriği sayesinde antibakteriyel etki göstermektedir (Sırıken vd., 2018). Yaprakları ise antioksidan etki sağlamaktadır (Santoyo vd., 2006).

Literatürde yapılmış olan birçok çalışmada, defne bitkisinin antikanser etkileri de rapor edilmiştir. Bu çalışmalara örnek olarak, kolon kanseri hücre hatları üzerinde defne yaprağı sulu özütünün apoptozu tetikleyerek hücre çoğalmasını engellediği belirlenmiştir. Aynı zamanda siklooksijenaz 2 ve 5 lipoksijenaz enzimlerinin aktivitelerini de inhibe edildiği gözlemlenmiştir (Bennett vd., 2013). Servikal kanser hücre hattı HeLa’da defne ekstraktlarının IC₅₀ dozlarında uygulanması sonucunda DNA fragmentasyonu, kromatin kondenzasyonu gibi apoptoz belirtileri saptanmıştır (Berrington vd., 2012). Hematolojik malignitelerden olan kronik miyeloid lösemi hücre hattı üzerinde yaprak ve tohum esansiyel yağ içeriklerinin antiproliferatif etkisi ölçülmüştür. Yağların kemoterapötik bir ajanla birlikte hücrelere uygulaması sonucu sinerjistik bir aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Saab vd., 2012).

2.7. Nanoteknoloji ve Kanser Tedavisi

Nanoteknoloji, 0,1- 100 nm boyutlarındaki nesnelere inceleyen ve ‘küçük bilim’ anlamına gelen yeni bir bilim dalıdır (S. Khan vd., 2022). Bu terim ilk olarak 1974’te Tokyo Bilim Üniversitesinde Taniguchi Norio tarafından maddelerin modifiye edilebilmesi; yani bir atom veya molekül tarafından ayrılması, birleştirilmesi veya deforme edilebilmesinden oluştuğunu söyleyerek tanımlanmıştır (Köseoğlu vd., 2018). Nanoteknoloji gıda sektöründen kozmetik sektörüne, tıpta teşhis alanından farmasötik alanına kadar geniş bir perspektife yayılan kullanım alanlarına sahiptir. Gıda ve kozmetik sektöründe üretim, paketleme ve raf ömrü gibi noktalarda katkıları bulunmaktayken tıp alanında ise biyosensörler, ilaç dağıtım sistemleri gibi birçok gelişmiş sistemde yer almaktadır (Hulla vd., 2015).

Nanomalzemeler, nanoparçacık aracılı ilaç dağıtım sistemleri olarak işlev görenek çoklu biyolojik engellerin üstesinden gelme ve optimal dozaj aralığında terapötik bir yük salma kabiliyetleri sayesinde kanser başta olmak üzere birçok hastalıkta ilaç taşıyıcı

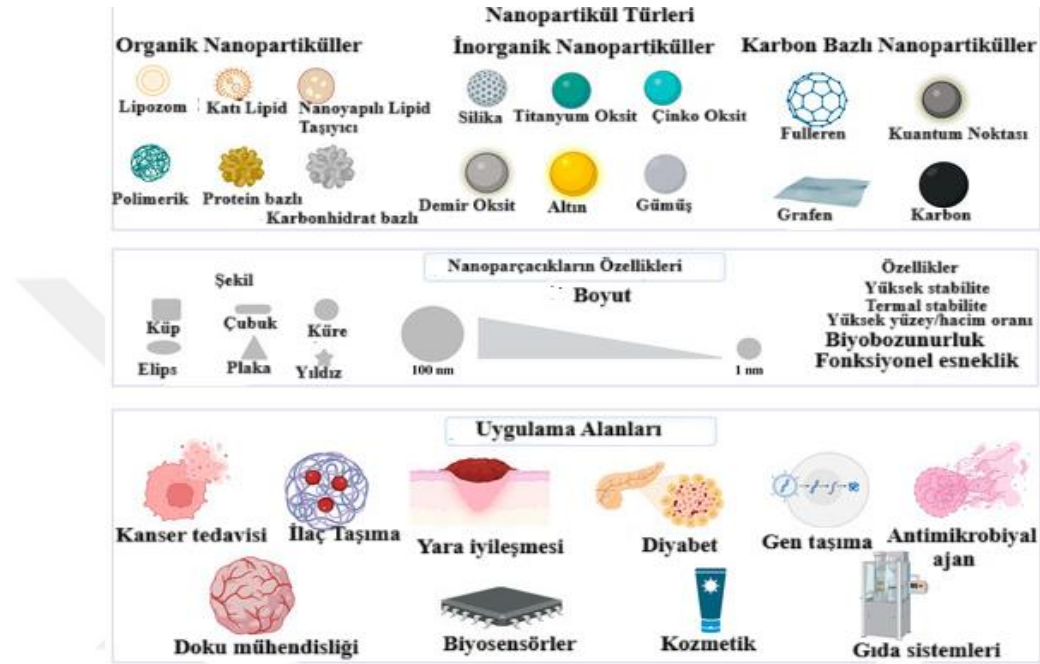
sistem olarak kullanılmaktadır (Alexis vd., 2008). Kanser tedavisinde kemoterapi ve/veya immünoterapiyle birlikte verilecek kombinasyon tedavisi için akıllı nanoplatformlar, yeni nesil kanser tedavi yöntemlerinde öne çıkan pozisyonda olma potansiyeli taşımaktadır (Shrestha vd., 2021). Antikanser ajanların etkili ve güvenli bir şekilde verilmesi, güncel kanser tedavi yaklaşımlarındaki en büyük zorluklardan biridir. Antikanser ajanların çoğu normal hücreler için toksiktir, zayıf biyoyararlanıma sahiptir ve in vivo stabiliteden yoksundur. Nanoteknolojideki son gelişmeler, antikanser ajanların nanoparçacıklar yoluyla başarılı bir şekilde verilmesi için güvenli ve verimli ilaç dağıtım sistemleri sağlar (Amreddy vd., 2018).

Nanopartiküllerin kanser tedavisinde avantajlı özellik göstermesinde en önemli etmenlerden biri EPR etkileridir. Kanser, vasküler enflamasyon ve bazı otoimmün hastalıkların başlamasında, bağışıklık sistemi ile yakından bağlantılıdır (Q. Xiao vd., 2021). Nanotaşıyıcılar, kanserde oluşan bu anormal değişiklikleri tersine çevirmek ve pulmoner ortamın homeostazını eski haline getirmek için hücrelerle etkileşime girebilir, arttırılmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi göstererek iyi terapötik aktivite ve azaltılmış toksisite sağlarlar (Qiao vd., 2021). Tümörlü dokularda vaskülatürün artmış olan geçirgenliği, ilaç ve ilaç taşıyıcı makromoleküllerin tümörlü dokuların interstisyel boşluğuna girmesine izin verirken, bastırılmış lenfatik filtrasyon özelliği göstermeleri de verilen teropötiklerin spesifik olarak verildiği noktada kalmasına izin verir. Bu özellik-EPR, ilaçları tümörlere ulaştırmak için nanoteknoloji platformlarının temeli olmuştur (Prabhakar vd., 2013).

Nanomalzemeler, yalnızca ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaz, aynı zamanda manyetik özellikleri sayesinde kanser tanısında da kullanılabilir. Nanoteknolojide manyetik nanoparçacıkların kullanımı, kanser hücrelerinin erken evrede saptanmasını ve seçici olarak yok edilmesini kolaylaştıran nano-teranostik parçacıklar kullanılmaktadır. Bu sayede kanserin eşzamanlı teşhis ve tedavisinde etkili bir yöntem olarak kendini göstermektedir. Tümöre özgü en uygun sentez yöntemlerinin seçimi boyutların ve spesifik yüzeyin kontrolü ve manyetik alan uygulayarak hedef organı hedefleme olasılığı gibi spesifik özellikler, bu nanopartikülleri kanserin teşhis ve tedavisi için göz dolduran alternatif olmalarını sağlamaktadır (Spoială vd., 2023).

2.7.1. Nanopartiküllerin sınıflandırılması ve sentez yaklaşımları

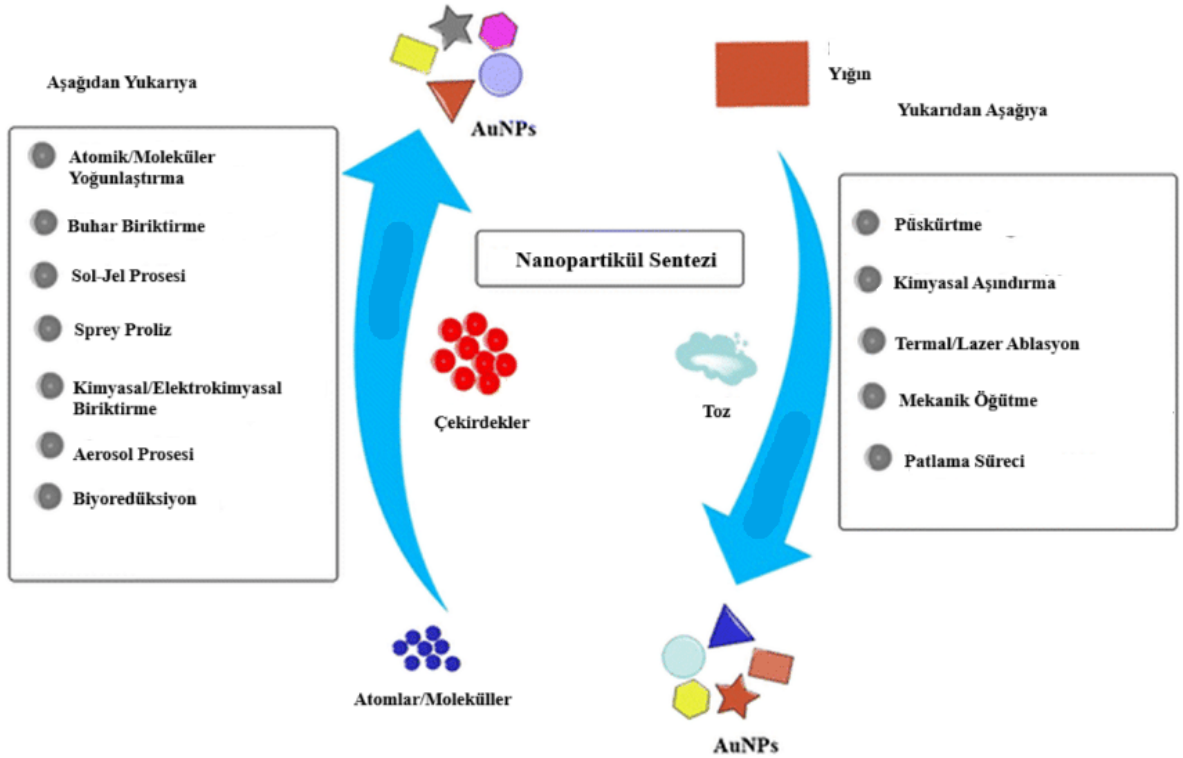
Nanopartiküller organik, inorganik ve karbon bazlı nanopartiküller olmak üzere üç temel sınıfa ayrılmaktadır (Shah vd., 2020). Boyut, şekil ve karakteristik özelliklerine göre nedeniyle metalik, seramik, polimerik ve lipit bazlı gibi alt türlere sınıflandırılabilmektedir (Eker vd., 2024).



Şekil 2.6. Nanopartiküllerin temsili şeması (Eker vd., 2024)

Nanopartikül sentezi için 2 temel yaklaşım mevcuttur: top-down (yukarıdan aşağıya) ve bottom-up (aşağıdan yukarıya). Yukarıdan aşağıya yaklaşımda kademeli bir parçalanma süreci mevcuttur. Büyük boyuttaki maddeler hedeflenen değerlere indirgenerek istenilen şekil ve özellikteki yapılara parçalanma işlemidir. Aşağıdan yukarıya yaklaşım ise moleküler veya atomik düzeydeki bileşenlerin daha büyük ve karmaşık hale kendi kendine oluşumunu içeren bir mekanizma halindedir (Biswas vd., 2012). İlaç nanopartiküllerinin sentezlenmesinde yukarıdan aşağıya yaklaşım kullanıldığında, ince partikül üretme potansiyeli ve sürecin tekrarlanabilirliği bu yaklaşımı avantajlı kılmaktadır. Ancak yüksek ekipman maliyeti, kontrol edilemeyen partikül büyümesi, enerji gereksiniminin çok olması ve kontaminasyon riski yukarıdan aşağıya yaklaşımı dezavantajlı hale getirmektedir. Buna karşılık; aşağıdan yukarıya yaklaşımlarda

kristalizasyon süreci takip edilerek partikül boyutu küçültülebilmektedir. Bu yaklaşım, amorf moleküllerin üretilerek ilaç çözünürlüğü ve biyoyararlanımın etkin olmasını sağlayabilmektedir. Kayda değer avantajları arasında karmaşık olmayan basit süreçleri içermesi, sürecin uzun süreleri içermemesi, enerji bakımından verimli ve uygun maliyetlere üretilmesi yer almaktadır. Dezavantajı ise üretilen amorf maddenin aglomere olma eğilimidir. Bu nedenle sentez ürününün kararlı yapısı ve kararlı kalma süresi sorunludur (Shrimal vd., 2020).



Şekil 2.7. Nanopartikül sentez protokolleri (aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya yaklaşımlar (Nabavifard vd., 2020)

2.7.1.1. AgNP

Metal nanopartiküller, yüksek bir özgül yüzey alanına ve yüksek bir yüzey atomu oranına sahip olan benzersiz fizikokimyasal özellikleriyle tanımlanmış ve son dönemde özellikle araştırma konusu olarak gösterilen parçacıklardır (T. Galatage vd., 2021). Gümüş nanopartiküller 1-100 nm boyutlarında, fiziksel, kimyasal ve biyolojik sentez yöntemleriyle elde edilebilen antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antioksidan nitelik gösteren metal nanoparçacıklardır (Prabhu vd., Poulouse, 2012). Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), yüksek yüzey-hacim oranı, ayarlanabilir yüzey kimyası ve dikkat çekici

antimikrobiyal ve antikanser özellikleri gibi benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle biyomedikal araştırmalarda büyük ilgi görmektedir (Zhang vd., 2016). Partiküller hücrelere uygulandığında hücre duvarına bağlanır, hücre içine nüfuz ederek DNA ve proteinlerle etkileşime girer ve onların mekanizma işleyişlerini bozarak hücre ölümüne neden olur (T. Galatage vd., 2021).

Gümüş nanopartiküller, optik, elektriksel ve biyolojik açıdan öne çıkan özellikleriyle, özellikle onkoloji alanında terapötik uygulamalar için umut verici adaylar olarak kabul edilmektedir (Jeyaraj vd., 2019). Elektronik endüstrisinde yüksek iletkenlik özelliği taşıması nedeniyle giderek artan bir kullanıma sahiptir. Örneğin mürekkep, macun ve dolgu maddesi olarak kullanımı mevcuttur. Optik özellikleri sayesinde ise moleküler tanılama ve fotonik cihazlarda kullanımı üzerinde çalışılmaktadır (Natsuki, 2015). Gümüş nanopartiküller birçok benzersiz özelliği taşıyan maddelerdir. Biyosidal özellikleri sayesinde ahşap koruyucu madde veya hastanelerde toksik olmayan, inorganik ve antibakteriyel maddeler olarak su arıtımında kullanılmıştır. Antibakteriyel özellikleriyle yara tedavisinde, gıda ve tekstil sektörlerinde antibakteriyel ajan olarak kullanılmışlardır. Bu özelliklerine ek olarak antifungisidal etkilerinin de olması sabun, macun gibi kozmetik ürünlerinin üretiminde kullanılmalarını sağlamaktadır (Rauwel vd., 2015). Cerrahi prosedür sonrası kontaminasyon riskinin elimine edilmesi maksadıyla yara pansumanı ve yapay implantlarda kullanılmaktadır. Kemik iyileşmesini destekleyen fonksiyonu bulunan bu partiküllerin diş implantlarında da kullanımı mevcuttur. Kardiyovasküler implantlara da uyumlu maddelerdir (Almatroudi, 2020).

2.7.1.2 AgNP'lerin antikanser etkileri

Kanser tedavisinde etkili yöntemler arasında cerrahi, kemoterapi, radyoterapi gibi yöntemler mevcut kullanımda olsa da bu yaklaşımların olumsuz yan etkileri belirgindir. Son zamanlarda gen terapisi gibi yeni nesil yaklaşımlar üzerinde yoğunlaşılsa da bu yöntemler de yüksek maliyet gerektirmektedir. Geliştirilmiş geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisine sahip nanopartiküller bu noktada dikkat çekmektedir. Yüzey modifikasyonuna olanak sağlayan nanopartiküller; taşıyıcı veya ilaç etken maddesi olarak kullanım potansiyeline sahiptir (Emran vd., 2022).

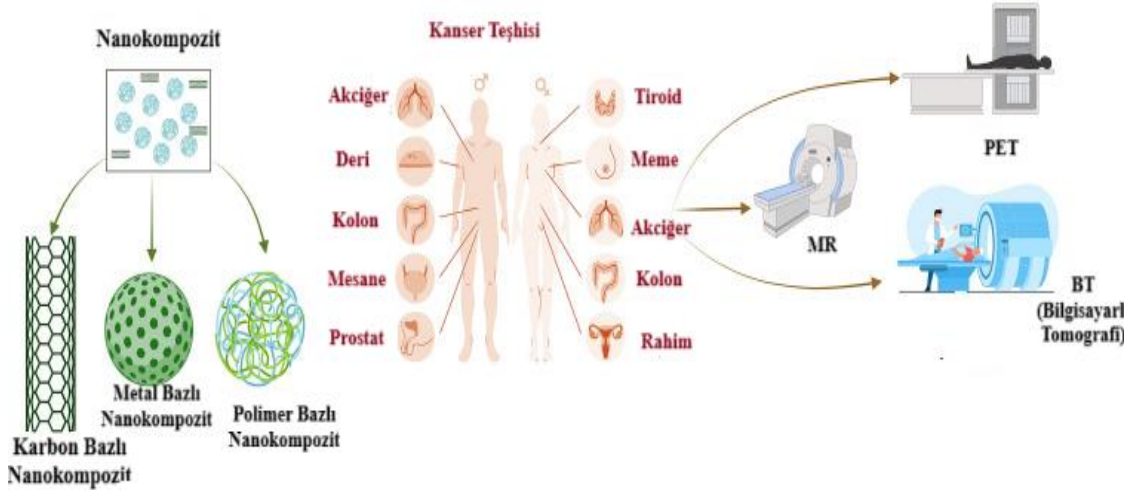
Gümüş nanopartiküllerin antikanser etkilerinin keşfedilmesiyle, literatürde bu alanda birçok çalışma yapılmıştır ve halen devam etmektedir. Çeşitli çalışmalar

neticesinde kanser tedavisi için umut vaat eden AgNP'lerin; kanser hücrelerine karşı göstermiş oldukları etki mekanizmaları henüz tam olarak açıklanmamış olsa da, ROS oluşumuna bağlı toksisite gösterdikleri bilinmektedir (Miranda vd., 2022). MCF-7 meme kanseri üzerinde yapılan bir çalışmada yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen gümüş nanopartiküllerin ROS üretimini ve kaspaz 3-9 enzimlerinin aktivitelerini arttırdığı belirlenmiştir. Bu enzimler apoptozu düzenleyen mekanizmada yer almaktadır. Kanserli hücrelerde apoptotik hücre ölümü tetiklendiği sonucuna varılmıştır (Ullah vd., 2020). Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartiküllerin akciğer kanseri hücre hattında etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, doz uygulaması sonrası mitokondriyal membran geçirgenliğinin değiştiği ve buna bağlı olarak ROS artışı ve ATP düşüşü gözlemlenmiştir. Kaspaz-3/7 aktivitesini arttırdığı aynı zamanda p53, bax ve PARP-1 ekspresyonunu da arttırarak DNA hasarı sağladığı belirlenmiştir (Govender vd., 2013). Gümüş nanopartiküller kanser hücrelerinde oksidatif hasara neden olarak bu hücrelerin çoğalmasını engelleyebilir. Tümörlü dokularda vasküler endotelial büyüme faktörü (HIF)-1 aktivitesini baskılayarak mukus salgısı azaltılabilir ve sonrasında enfeksiyonları önlemek maksadıyla gen aktivitesi düzenlenebilir (Akhter vd., 2024). Yapılan çalışmalar, gümüş nanopartiküllerin meme, akciğer, kolon ve prostat kanserleri de dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerine karşı etkinliğini göstermiştir. Bu etki, genellikle geleneksel kemoterapiye kıyasla daha yüksek seçicilikle ortaya çıkmaktadır (Sriram vd., 2010). Bununla birlikte, terapötik potansiyellerine rağmen, sitotoksisite, uzun vadeli birikim ve potansiyel direnç mekanizmaları gibi konular klinik uygulamalar önünde önemli engeller oluşturmaktadır (Johnston vd., 2010).

2.7.2 Kompozit yapı ve potansiyel etkileri

Nanopartiküller; benzersiz yüzey özellikleri sayesinde kompozit maddeler ile işlevsellikleri arttırılabilen maddelerdir. Nano-kompozit yapının oluşturulması malzemeye dayanıklılık, iletkenlik, optik özellikler kazandırması nedeniyle mühendislik, tıp, ulaşım sektörlerinde ilgi ve talep görmektedir. Özellikle tıp alanında, nanokompozitlerin daha az yan etkilerinin bildirilmesi, iyileştirilmiş karakteristik özellik ve biyoyumlulukları sayesinde malzeme sektöründe önemli yer tutmaktadır. Avantajları arasında, yüksek yüzey alanı/hacim oranının yüksek olması, ayarlanabilir yüzey kimyası, gelişmiş reaktivite gibi göz dolduran nitelikler bulunmaktadır (Musa vd., 2025). Özellikle onkolojik çalışmalarda görüntüleme yöntemlerine entegre edilerek kontrast maddelerin

duyarlılık ve özgülüğünü arttırmaktadır. Aynı zamanda tümör ligandlarını hedefleyecek düzlemde modifiye edilebilmesi ilgili tümöre spesifik birikimi sağlayarak daha duyarlı görüntüleme ve doğru teşhisi sağlamaktadır. İlaç dağıtım sistemlerine entegre edilmeleri ise kontrollü salınım ile toksik etkiyi azaltmaktadır. Bölgeye özgü ilaç salınımı ile tedavi etkinliği arttırılabilir (Andoh vd., 2024).



Şekil 2.8. Nanokompozitler ve kullanım alanları (Andoh vd., 2024)

2.7.2.1. Grafen tabanlı nanomalzemeler ve kanser

Grafen ve grafen temelli nanomalzemeler, öne çıkan spesifik fizikokimyasal özellikleri nedeniyle son zamanlarda kanser teşhis ve tedavisi için yapılan çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle Au, Ag NP içeren grafen nanokompozitleri, kanser alanında büyük ilgi uyandırmıştır. Bunun nedeni nanokompozit yapıdaki bu nanopartiküller, nano ölçekli montaj için ideal bir aday olmasıdır. Dolayısıyla antikanser ajanları da kanser hücrelerine iletebilmektedir. Yapılan araştırmalar GO/AgNP ve indirgenmiş grafen oksit (rGO)/AgNP nanokompozitinin iyi birer biyoyumlu malzemeler olduğunu ve antikanser aktivitesi sergilediğini göstermektedir (Kavinkumar vd., 2017). Yapılan bir çalışmada bitki ekstraktı kullanılarak biyolojik olarak sentezlenen grafen oksitle kompozit yapılmış gümüş nanopartiküllerin insan yumurtalık kanseri hücre hattı üzerindeki antikanser etkileri çalışılmıştır. Çalışma sonucunda rGO-Ag nanokompozitinin, A2780 yumurtalık kanseri hücrelerinde hücre canlılığını önemli ölçüde inhibe ettiği saptanmıştır (Gurunathan vd., 2015). Grafen oksitle kompozit yapılmış gümüş nanopartikül içeren bir başka çalışmada kurutulmuş hünnap meyvesinin

sulu ekstraktı yeşil sentezde kullanılmış ve sitotoksitesi HeLa hücreleri üzerinde test edilmiştir. Hesaplanan doz aralığında hücre hattına uygulanan GO + AgNP'ler belirgin şekilde sitotoksik etki göstermiştir (Sreekanth vd., 2016).

Grafen oksitle nanopartikülleri kompozit yapma; sadece sitotoksite çalışmalarında kullanılmamış, aynı zamanda kanser tanısı için biyobelirteç geliştirme çalışmalarında da kullanılmıştır. Bunlardan biri olan metal nanopartiküllerin GO ile kaplanmasıyla MNP'ler-rGO nanokompozitleri, düşük maliyetli, sağlam bir şekilde elde edilmiştir. Bu kompozitlerin ilaç dağıtım sistemi ve tanı çalışmalarında kullanımı, hassas ve hızlı olduklarını ortaya koymuştur. Modifiye edilebilen yapılan olan nanopartiküllerin ayarlanabilir boyut ve şekle sahip olmaları, MNP-GO/rGO kompozitlerinin kullanan ileri ilaç dağıtım sistemlerini kullanılabileceğini göz önüne sermiştir (Darabdhara vd., 2019).

2.7.3. Nanopartikül sentez yöntemleri

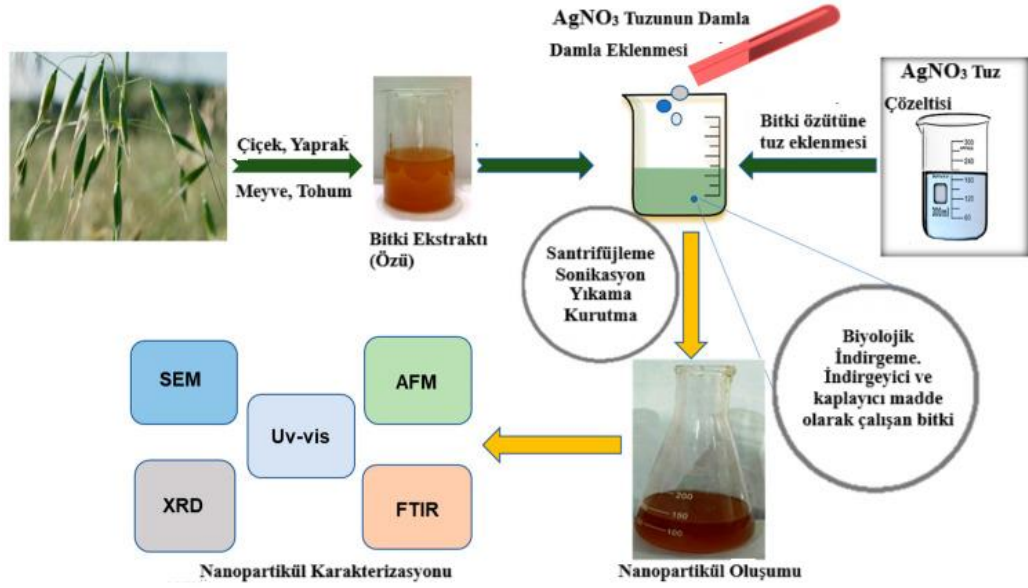
Nanopartikül sentezi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere 3 temel yöntem kullanılmaktadır. Fiziksel yöntemler lazer ablasyonu veya termal ayrışma gibi dış uyaranlar kullanılarak nanopartikül eldesini içeren metotlardır. Avantajlı olarak nanopartikülün boyut ve morfolojisini hassas bir şekilde kontrol etmeyi sağlamaktadır. Dezavantajı ise, bu oluşum esnasında özel ekipmana ihtiyaç duyması ve ölçeklenebilirlikte sınırlı olmasıdır. Kimyasal yöntemlerde, sentez esnasında birçok kimyasal reaksiyon sürecinden geçip bu süreçte kendi içinde montajlanarak yeni bir ürünü nanopartikül olarak ortaya çıkarmaktadır. Avantajları arasında nanoparçacık özelliklerinin uyarlanmasında esneklik sağlaması yer alırken reaksiyon esnasında optimizasyon süreçlerinin dikkatli şekilde yapılma ve kontrol edilme zorunluluğu bu yöntemi dezavantajlı hale getirmektedir. Biyolojik sistem ve materyallerden faydalanılarak sürdürülebilir ve çevre dostu nanopartiküllerin oluşturulmasına dayanan yöntem; biyolojik yöntemdir. Fakat bu yöntemin daha uzun işlem süreleri gerektirebilmesi, ürünün verim seviyesi kalitesi gibi konularda zorlukların yaşanması yöntemi dezavantajlı hale getirmektedir (Karnwal vd., 2024). Fiziksel yöntemler, biriktirme, püskürtme, mekanik öğütme, plazma tabanlı teknikler gibi yukarıdan aşağıya sentez yaklaşımlarını içermektedir. Fakat bu yöntemle sentezlenen metal nanopartiküllerin üretim oranı oldukça azdır. Aynı zamanda yüksek enerji ve dolayısıyla yüksek maliyet gerektirmesi, pratik ticari uygulamalar için kullanışsız hale getirmektedir. Kimyasal yöntemler piroliz, sol-jel yöntemi, kimyasal buhar biriktirme vb. aşağıdan

yukarıya sentez yaklaşımlarından oluşmaktadır. Kimyasal sentez esnasında veya yan ürün üretim sürecinde toksik kimyasalların kullanımı insan sağlığı ve çevre açısından tehlikelidir. Biyolojik uygulamalarda kimyasal sentez ürünlerinin kullanılabilirliği sınırlıdır. Mantar, alg, maya, bitki, bakteri vb. biyolojik materyalleri kullanan biyolojik yöntemler de aşağıdan yukarıya sentez yaklaşımları arasında yer almaktadır (Patil vd., 2020). Geleneksel nanopartikül sentez yöntemleri toksik içerikleri yüksek olan kimyasalları gerektirmesi veya yüksek basınç ve sıcaklık oluşturmada kullanılacak maliyetli ekipmanları kullanması gibi negatif özelliklere sahiptir. Bu yöntemlerin aksine yeşil sentez doğada var olan organizmaları kullanarak hem çevreci hem de ekonomik ürün eldesi sağlar. Sentez ürünü biyoyumlu nanopartiküller aynı zamanda antimikrobiyal aktivite de göstermektedir (Lithi vd., 2025).

2.7.3.1 AgNP'lerin biyolojik sentezi

Gümüş nanoparçacık sentezi için; yapılan deneylerde kullanılan iki temel yöntem, fiziksel ve kimyasal sentez yöntemleridir. Fakat toksik ve pahalı olan bu yöntemler yerini son dönemlerde ön plana çıkan biyolojik sentez yöntemine bırakmaktadır. Biyolojik bir diğer adıyla yeşil sentez yöntemiyle üretilen gümüş nanopartiküller tıp alanında teşhis ve tedavi uygulamaları için araştırma konusu olmaktadır (Mathur vd., 2018). Bu yöntemle elde edilen gümüş nanopartiküller rutinde kullanılan diğer kimyasal yollara ve ilaçlara göre daha üstün özelliklerinden dolayı antibiyotiğe dirençli bakteri, kanser vb. birçok hastalık tedavisi üzerinde çalışma alanı oluşturmuştur (Mousavi vd., 2018). Kanser tedavisinde nanoteknolojik yöntemler mevcut olan diğer yöntemlerle kıyaslandığında; hedeflendirilmiş tedavi yaklaşımlarında nanopartiküllerin immünojenik hücre ölümünü indükleyen maddelerin en etkin olduğu dozu hesaplanarak tümörlü dokulara transfer edilmesine olanak sağlamasıyla oldukça avantajlı olup aynı zamanda biyolojik sentez veya yeşil sentez olarak adlandırılan yöntemle sentezlenen nanopartiküllerin yan etkileri de azaltmaktadır (Zhang vd., 2020).

Biyolojik sentez yönteminde bitki özleri; metal iyonlarının indirgenmesinde görev alarak nanopartikül oluşumunda görev alırlar. Bitkinin yaprak, çiçek, tohum, meyve gibi çeşitli anatomik bölgelerinden elde edilen özütler gümüşün indirgenme reaksiyonunda yer alırken gümüşün indirgenmesinde stabilize edici madde olarak kullanılabilirler (Mustapha vd., 2022).



Şekil 2.9. Gümüş nanopartikül (AgNP) sentezinin şematik gösterimi ve karakterizasyonu (Qureshi vd., 2023)

2.7.4. Nanopartikül karakterizasyon metodları

Nanopartikül karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında boyut dağılımı, yüzey yükü, morfoloji ve kimyasal bileşim analizleri bulunmaktadır. Dinamik Işık Saçılması (DLS), partikül boyutunun belirlenmesinde en sık tercih edilen yöntemlerden biridir. Bu teknik, partiküllerin Brownian hareketine dayalı olarak hidrodinamik çaplarını hesaplamaktadır. Boyut ve dağılım analizlerinde önemli bir diğer yöntem olan Elektron Mikroskopisi (SEM/TEM), nanopartiküllerin morfolojik özelliklerini yüksek çözünürlükte görüntüleyerek partiküllerin yüzey yapılarını ve şekillerini tanımlamada kullanılmaktadır (Buzea vd., 2007).

Yüzey yükü ve yüzey potansiyelinin değerlendirilmesi için sıklıkla Zeta Potansiyel Analizi kullanılmaktadır. Zeta potansiyel ölçümleri, partiküllerin stabilitesini ve dağılımlarını etkileyen yüzey yüklerini belirlemek için önemli bir veri sunabilmektedir. Yüksek zeta potansiyeli değerleri, partiküllerin elektrostatik itme kuvvetleri ile daha stabil bir dispersiyon halinde kalmalarını sağlamaktadır (Honary vd., 2013). Analiz sonucunda genellikle +30 mV'den daha pozitif +30 mV'den daha pozitif parçacıklar, koloidal kararlılığa sahiptir. Bu kararlılık elektrostatik itme vasıtasıyla korunmaktadır. Zeta potansiyelinin ölçümü ortamda var olan iyonlara bağlı olarak gerçekleşmektedir. Bu nedenle ortamın pH'sı ölçüm sonucunu etkilemektedir. Düşük pH

değerlerinde partiküller pozitif yüklenmektedir. Tersi bir ortamda ise, parçacıklar negatif yük kazanmaktadır (Kamalakannan vd., 2025).

X ışını kırınımı (XRD); karakterizasyonda en yaygın kullanılan yöntemlerden olup nanopartikülün yapısı, kafes parametreleri ve partikül kristalinin tane boyutu hakkında bilgi ve yorumu sağlamaktadır (Mourdikoudis vd., 2018).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Nanopartikül Sentez Aşamaları

Laurus nobilis bitkisinden yeşil sentez yöntemiyle ve grafen oksit ile kompozit yapıda gümüş nanopartikül sentezi için ekstrakt ve çözeltiler uygun derişimlerde hazırlandı.

3.1.1. *Laurus nobilis* bitkisinin stigma ekstraktının hazırlanması

Bu çalışmada gümüş nanopartikül (AgNP) biyolojik sentezi için; *Laurus nobilis* (Defne) bitkisinin yaprak kısımları kullanıldı. Bitki yaprakları; ekstrakt hazırlığının ilk aşamasında, musluk suyunda yıkanmasının ardından rutubetsiz ortamda nem kalmayacak şekilde kurutuldu. Havan içerisinde toz halini alıncaya dek ezildi. Hassas terazide toz haline gelen bitki yapraklarından 20 gr tartıldı. Otoklav şişesine alınan yaprakların üzerine 200 ml distile su eklenerek 60 °C'de 2 saat su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Bu süre içerisinde 15 dakika aralıklarla karıştırılarak homojen dağılım sağlandı. İnkübasyon süresinin dolmasıyla birlikte ekstrakt, filtre kâğıdı (Whatman No:1) yardımıyla süzülerek, posasından ayrıldı. Ekstrakt, sentez esnasında kullanılmak üzere ışık görmeyecek şekilde alüminyum folyoya sarıldı ve +4°C' de muhafaza edildi.

3.1.2. GO çözeltilisinin hazırlanması

Hassas terazide 10 mg Grafen Oksit tartıldı. Otoklav şişesine 60 ml distile su alındı. Üzerine, tartılan grafen oksit eklendi. 60 dakika sonikatör cihazında inkübe edilerek iyice çözünmesi ve homojen dağılması sağlandı. Bu süreçte; grafen oksitin ısınarak reaksiyon vermemesi için, sonikatör cihazına buz aküsü eklendi.

3.1.3. AgNO₃ (gümüş nitrat) çözeltilisinin hazırlanması

Gümüş nanopartikül sentezinde kullanılmak amacıyla AgNO₃ (Cas No: 7761-88-8) kristalleri hassas terazide 1.020 gr AgNO₃ tartılarak balon jøjeye eklendi. Üzerine 600 ml distile su eklendi. 10 mM çözelti; çalkalanarak iyice çözdürüldü.

3.2. GO ile Kompozit AgNP Sentezi ve Saflaştırılması

1000 ml'lik otoklav şişesi içerisinde 480 ml AgNO₃ çözeltisi eklendi. Üzerine 120 ml *Laurus nobilis* (Defne) bitki ekstraktı eklendi. Homojen şekilde çözülmüş olan 60 ml grafen oksit çözeltisi de eklenerek 90°C de 60 dakika su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Karışımın rengi 0. Dakikada sarı-gri renkte iken 15. Dakikadan itibaren kahverengiye döndü. 15 dakika aralıklarla karışımdan örnek alınarak eliza cihazında absorban değerlerine bakıldı. 420 nm boyutunda pik elde edildi.

60 dakika inkübasyon işleminin ardından çözelti, hızlı bir şekilde buz üzerine alındı. 50 ml'lik falkon tüplerine eşit hacimde olacak şekilde dağıtıldı. 9.000 rpm +4°C de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı. Pelet kısmına yaklaşık 10 ml distile su eklendi ve sonikatör cihazında çözdürüldü. Falkon tüplerdeki karışımlar birleştirilerek eşit hacme getirildi. 9000 rpm +4°C de 15 dakika 2 defa distile su ile yıkandı. Santrifüj sonunda gümüş nanopartiküle etanol eklenerek yıkama işlemi yapıldı ve son kez santrifüj edildi. Bu santrifüjün ardından, süpernatant uzaklaştırıldı. Dipte kalan nanopartiküllere yaklaşık 3-4 ml etil alkol eklenerek iyice çözdürülmesi sağlandı. Karakterizasyon analizlerinde kullanılmak üzere amber şişelere alındı. Etüvde 70 °C 'de yaklaşık 2 gün kurutma işlemi yapıldı. +4°C de muhafaza edildi.

3.3. AgNP ve GO Kompozit AgNP Karakterizasyonu

AgNP'lerin karakterizasyon işleminde birçok cihazlar ve method kullanıldı. AgNP'lerin 300 ila 800 nm boyutları arasında spektrum değerleri, UV-Vis spektrofotometresi (Multiskan™ FC Microplate Photometer) ile ölçüldü. Nanopartiküllerin kristal yapısının saptanmasında X-ışını kırınım (XRD) sistemi (PANalytical Empyrean XRD) kullanıldı. Bu işlem; hizmet alımı vasıtasıyla Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİTAM) bünyesindeki cihazlarda analiz edildi. AgNP'lerin boyutları ve morfolojilerinin belirlenmesinde taramalı elektron mikroskopuyla ilişkili EDX (enerji dağılımlı X-ışını analizi) analizörü (FE-SEM/EDX, ZEISS GeminiSEM 500) cihazı kullanıldı. Biyolojik olarak sentezlenen Ag nanopartikülleri, Grafen Oksit ile kompozit yapıda sentezlenen Ag nanopartikülleri ve sentezlenmiş halde temin edilen Grafen Oksit maddesinin morfolojileri hakkında bilgi edinmek amacıyla FE-SEM/EDX analizi Necmettin Erbakan Üniversitesi'nde Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (BİTAM)'ne

hizmet alımı şeklinde yaptırıldı. AgNP'lerin detaylı olarak morfoloji açısından incelenmesi geçirimli elektron mikroskobu (TEM, JEOL JEM-1400 Plus) kullanıldı. TEM Analizi; Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (ÇOBİLTUM)'a hizmet alımı şeklinde yaptırıldı. Analiz aşamasında; toz örnekler ependorf içerisinde etanol çözücüsü ile süspansiyona alınarak homojen bir şekilde dağılına kadar -yaklaşık 5 dk- ultrasonik banyoda bekletilmiştir. 10 mikrolitre çözelti çekilerek karbon film destekli bakır grid üzerine damlatılmıştır. Oda sıcaklığında bekletilen gridler çözücü uçuktan sonra- yaklaşık 30 dk sonra- analiz edilmiştir.

3.4. Hücre Kültürü

Çalışmada kullanılacak olan insan pankreas kanseri hücre hattı Panc-1 ve sağlıklı hücrelerden oluşan Hek-293 hücre hattı; ATCC (American Type Culture Collection)' den temin edildi. İki hücre hattının da mediumu olan DMEM; üzerine %10 FBS (FBS; Hyclone, US), %1 antibiyotik (Penicillin-Streptomycin 1:1; Gibco®-Invitrogen, ABD) eklenerek hazırlandı. %10 fetal sığır serum (FBS) ve %1 antibiyotik (penisilin (100 U/ml), streptomisin (100 µg/µl)) eklenerek hazırlanan DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) besiyeri ile 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde kültüre edildi. %5 CO₂'lik etüvde 37 °C' de inkübasyona bırakıldı.

3.4.1. Hücrelerin çözülmesi, pasajlanması ve sayımı

Çalışmada kullanılacak hücreler -80°C'den çıkarıldı ve kriyovial tüpte bulunan hücreler 37°C'ye ayarlanan su banyosunda hızlıca çözdürüldü. 15 ml'lik steril santrifüj tüpüne 6 ml medium alındı. Çözdürülen hücre süspansiyonu besiyeri içine alınarak 800 rpm de (devir/dakika) 5 dk boyunca soğutmalı santrifüj cihazında (NF 800/800R) santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırıldı. Pelette bulunan hücreler; 1 ml medium içerisinde homojen şekilde çözdürüldü. Steril T25 flask içerisine yaklaşık 2 ml medium eklendi. Çözdürülen hücre karışımı flaskta bulunan mediumun içine eklendi. Pipetasyon yapılarak flask yüzeyine homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Flask; 37°C sıcaklık, %5 CO₂ içeren etüvde inkübasyona bırakıldı.

Hücreler inkübasyon sonrası, inverted mikroskop (EP50 OLYMPUS) altında gözlemlendi. %70-80 konfluentliğe ulaştığı gözlemlenen hücre flaskı içerisine uygun miktarda Trypsin-EDTA (Gibco, #25200 056) eklendi. Trypsinin sıcaklık etkisiyle maximum aktivasyon gösterebilmesi amacıyla, flask etüve kaldırıldı. Yaklaşık 6

dakikalık inkübasyonun ardından etüvden çıkarılan hücreler steril santrifüj tüpüne alındı. 800 rpm de (devir/dakika) 5 dk boyunca soğutmalı santrifüj cihazında (NF 800/800R) santrifüj edildi. Pelet üzerine 1 ml medium eklendi. Pipetasyon yapılarak iyice çözdürülmesi sağlandı. Yaklaşık 8 ml medium, steril T75 flaska eklendi. Çözdürülen hücrelerden belli miktarda flaska alındı. Serolojik pipet yardımıyla flask yüzeyine dağılması sağlandı. Kalan hücreler ise, tekrar santrifüj edilerek mediumdan ayrılması sağlandı. Pelet, 1 ml dondurma mediumu (%70 FBS, %30 DMSO; Sigma Aldrich, #D8418) içerisinde çözdürülerek kriyovial tüpler içerisinde -80 °C'ye kaldırıldı.

Hücre peleti, 1 mL medium içerisinde yavaşça pipetasyon yapılarak resüspanse edildi ve Thoma lamı (Thermo, #C964720) ile hücre yoğunluğu belirlendi. Süspansiyonun homojenizasyonu sonrasında, Trypan Blue (Gibco, #15250-061) solüsyonu ile eşit hacimde (1:1 oranında) karıştırılarak 0,2 mL'lik bir ependorf tüpüne transfer edildi. Pipetaj işlemiyle hücrelerin homojenizasyonu sağlandı. Hazırlanan karışımdan 10 µL alınarak Thoma lamına yüklendi. Mikroskopik analizde, Trypan Blue boyasını absorbe eden ölü hücreler (mavi renkli) değerlendirme dışı bırakılırken, boya almayan canlı hücreler inverted mikroskop (10X büyütme) altında sayıldı. Flaskta bulunan toplam canlı hücrelerin sayısı aşağıdaki formülasyon kullanılarak hesaplandı.

1 mL'de bulunan Canlı Hücre sayısı = Sayılan karelerdeki ortalama hücre sayısı x dilüsyon faktörü x 10^4

3.4.2. Nanopartikül ve gemitabin dozlarının uygulanması

AgNP, GOAgNP, GO, Gemitabin dozlarının sitotoksik etkisini ve IC50 dozunu belirlemek amacıyla, Panc-1 ve Hek-293 sağlıklı hücre hatlarından 96 well plate'e ekim yapıldı. Bu ekim esnasında, hücre sayımı yapılarak her kuyucukta 5×10^3 hücre olacak şekilde hesaplama yapıldı. Plate'e ekim işleminin tamamlanmasının ardından hücreler 37°C, %5 CO2 etüve kaldırılarak 24 saat inkübasyonu sağlandı. 24 saatin tamamlanmasının ardından etüvden çıkarılan hücrelerde bulunan eski besiyerleri yavaşça pipet yardımıyla çekilerek uzaklaştırıldı.

Gemitabin (Gemco) dozları; 0.01-50 µM doz aralığında hazırlandı. 2 tekrarlı kontrol, 6 tekrarlı doz grubu olmak üzere, Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulandı. 37°C, %5 CO2 etüvde 72 saatlik inkübasyona bırakıldı.

Grafen Oksit için, 0.5- 300 µg/mL doz aralığında hazırlanan dozlar, Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulandı. Platelere, 24 saatlik inkübasyon için 37°C, %5 CO₂ etüve kaldırıldı.

AgNP için, 0.5- 300 µg/mL doz aralığı hesaplanarak uygulandı. 24 saatlik inkübasyona bırakıldı.

Grafen Oksit ile Kompozit yapıda sentezlenen AgNP'ler için, 1-300 µg/mL doz aralığında hazırlanan dozlar Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulandı. Etüvde 24 saatlik inkübasyona bırakıldı.

3.4.3. Hücre canlılık analizi

Maddelerin sitotoksik etkisini belirleyebilmek için, hücre canlılık testlerinden MTT (3-(4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi kullanıldı. MTT; 5 mg/ml oranında PBS ile steril kabin içerisinde ışısız ortamda hazırlanarak filtreden geçirildi. Etüvde inkübasyonunu tamamlayan hücreler, etüvden çıkarılarak MTT (AppliChem, Almanya, #5P011404) uygulaması başlatıldı. Kuyucuklarda bulunan besiyeri pipet yardımıyla yavaşça çekilerek uzaklaştırıldı. Hazırlanmış olan MTT çözeltisinden her kuyucuğa 20 µl eklendi. Plate 3 saat %5 CO₂'lik etüvde 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında MTT pipet yardımıyla uzaklaştırıldı. Her kuyucuğa 100 µl DMSO eklenerek 30 dakika karanlık bir ortamda oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 96 kuyucuklu plate; spektrofotometre cihazında (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO, ABD) 570 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.

3.5. RNA İzolasyonu, DNai Protokolü, RNA Miktar ve Saflık Ölçümü

qRT-PCR için Panc-1 pankreas kanseri hücre hattında Trizol metodu kullanılarak RNA izolasyonu yapıldı. RT-PCR için, 8,5x10⁵ hücre olacak şekilde hesaplanarak T25 flasklara; 1 kontrol 7 doz uygulama grubu olmak üzere toplam 8 flaska hücre ekimi yapıldı. Ekim sonrası, hücrelerin tutunması ve çoğalması amacıyla, 37°C, %5 CO₂ ortamlı etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. 24 saatin tamamlanmasının ardından, flasklardaki eski mediumlar uzaklaştırıldı. Kontrol grubuna medium eklenerek etüve kaldırıldı. Doz gruplarına ise; MTT testi vasıtasıyla hesaplanan IC₅₀ değerleri sırasıyla, 0.1 µM gemsitabin, 100 µg/mL Grafen Oksit, 65 µg/mL AgNP, 90 µg/mL Grafen Oksitle

Kompozit Yapıda sentezlenen AgNP, Gemsitabin ile kombine halde GO, Gemsitabin ile kombine halde AgNP, Gemsitabin ile kombine halde GOAgNP dozları uygulandı. Kombine olmayan dozlar 37°C, %5 CO₂ ortamlı etüvde 24 saat inkübe edilirken Gemsitabin ile kombine halde hazırlanan gruplar ve Gemsitabin grubu, Gemsitabinin 72 saatte etkinliğini göstermesi nedeniyle 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kombine halde hazırlanan grupların doz uygulamasında, gemsitabin IC₅₀ değerinde verildikten sonra flasklar etüve kaldırılmıştır. 48. Saatini doldurduğu zaman diliminde, IC₅₀ değerleri belirlenmiş olan GO, AgNP, GOAgNP dozları da uygulanmıştır. 24 saat daha inkübasyona bırakılmasının ardından 72 saatlik inkübasyonunu tamamlayan hücreler, etüvden alınmıştır.

İnkübasyon sonunda hücrelerde bulunan besiyeri falkona alındı. Flasklar PBS ile iki kez yıkandı. Her bir flaska 1 mL Trizol eklendi. Yavaşça pipetasyon yapıldı ve ependorf tüplerine alındı. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. 200 µl Kloroform (Honeywell, # 32211) eklendi ve alt üst edilerek 2 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, +4°C 12.000 G'de 30 dk santrifüjlendi. Santrifüj sonrası, RNA'yı da içeren şeffaf haldeki süpernatant kısım pelete değmeden dikkatlice çekilerek yeni bir ependorfa transfer edildi. Üzerine 500 µl izopropanol alkol (Honeywell, # 24137) eklenerek 15 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Bu süre boyunca, belli aralıklarla ependorflar alt üst edildi. İnkübasyon sonrası ependorflar +4°C 12.000 G'de 30 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısım uzaklaştırıldı. %75'lik Etil alkol (Honeywell, # 32221), pelet üzerine 1000 µl eklendi. +4°C 750 G'de 10 dk santrifüjlendi. Santrifüj sonrası, süpernatant uzaklaştırıldı. Ependorfların tamamen kuruması beklendi. 30 µl Nükleaz Free Water (NFW; Invitrogen, # 10977035) kullanılarak pelet çözdürüldü. Elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu (ng/µL) ve saflık derecesi (OD₂₆₀/OD₂₈₀ oranı), Thermo Scientific™ Multiskan™ GO (ABD) spektrofotometre cihazı ve Scanlt Software 6.1.1 programı kullanılarak ölçüldü. Bu ölçüm esnasında; Nanodrop plate'ine (Thermo Scientific™ µDrop™ Plate, #N12391, ABD) 2µl blank olarak NFW eklenirken RNA örnekleri de diğer kuyucuklara sırasıyla 2 µl eklendi. Cihazda, RNA'ların konsantrasyon ve saflığı ölçüldü.

Genomik DNA'nın RNA örneklerinden uzaklaştırılabilmesi için DNAi protokolü uygulandı. Bu prosedür için, ölçülen RNA konsantrasyonları 2µg'a NFW kullanılarak eşitlendi. Ependorf tüpü içerisinde DNAi karışımı hazırlanır.

Tablo 3.1.DNAi kit prosedürü

Reaktif	Miktar
10X Reaksiyon Tamponu	2µl
DNase I	2µl
50 mM EDTA	2µl

Numune sayısına göre, bu miktarlarda eklenen karışımın, pipetasyon yoluyla iyice karışması sağlanır. Steril PCR tüpleri içerisine 2µg'a eşitlenen RNA örnekleri eklenir. Her bir tüpe, hazırlanan karışımdan 4 µl eklenir. 37 °C 30 dk Thermal Cycler'da (ProFlex PCR, Thermo, ABD, #4484076) inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, her bir tüpe, kit içeriğinden çıkan 50 mM EDTA'dan 2 µl eklendi. 65 °C'de 10 dk Thermal Cycler'da inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, genomik DNA, RNA örneklerinden uzaklaştırıldığı için RNA örneklerinin miktar ve saflığı yeniden spektrofotometre cihazında ölçüldü. Bu ölçüm sonucunda, RNA örneklerinin konsantrasyonları, NFW kullanılarak 1000 ng' a eşitlendi. Örnekler, cDNA sentezinde kullanılmak üzere -80°C dondurucuya kaldırıldı

3.5.1. cDNA sentezi

Genomik DNA'dan ayrıştırılmış olan RNA'ları cDNA'ya çevirmek için RevertAid First Strand cDNA Sentez Kiti (Thermo,ABD, #K1622) kullanıldı. cDNA sentezinde kullanılmak üzere 1µg'a eşitlenmiş olan örnekler, -80°C dondurucudan çıkarıldı. Numuneler ve Kit içerisinden çıkan reaktif bileşenler, buz üzerine alındı. Tablo 3.2'de belirtilen miktarlarda bileşenlerden steril ependorf tüpüne alınarak reaksiyon karışımı hazırlandı.

Tablo 3.2. cDNA sentezinde kullanılan RNA, primer ve su hacimleri

Bileşen	Miktar
RNA	1 µg
Oligo dt Primer	1 µl
Random Hekzamer Primer	1 µl
Nükleaz Free Water	Toplam hacim 12 µl'ye tamamlanır.
Toplam Hacim	12 µl

Numune sayısına göre, birer μl Oligo dT primer ve random heksamer hesaplanarak uygun miktarda ependorf tüpüne eklendi ve spinlendi. Her bir RNA örneği için ayrı ayrı olacak şekilde tüplere hazırlanmış olan bu karışımdan sırasıyla $2\mu\text{l}$ konuldu. Thermal Cycler (ProFlex PCR, Thermo, ABD, #4484076) cihazında 65°C 'de 5 dk 1 döngü olacak şekilde inkübasyona bırakıldı. Sürenin tamamlanmasının ardından, cihazdan çıkarılan tüpler buz üzerine alındı. Ayrı bir steril ependorf içerisinde tablo 3.3'te belirtilen oranlarda yeni bir karışım hazırlandı ve iyice pipetaj yapıldı.

Tablo 3.3. cDNA sentezinde kullanılan karışım bileşenlerinin hacimleri

Reaktif	Miktar
5X Reaction Buffer	4 μl
RiboLock RNase Inhibitor	1 μl
10mM dNTP	2 μl
RevertAid M-MuLV RT (200 U/ μL)	1 μl
Toplam Hacim	8 μl

İlk hazırlanan 12 μl hacmindeki RNA primer karışımının bulunduğu tüplerin üzerine, Tablo 3.3'te hazırlanan karışımdan her bir RNA tüpüne 8 μl olacak şekilde eklendi. Tüpler buz üzerinde Thermal Cycler (ProFlex PCR, Thermo, ABD, #4484076) cihazına taşındı. cDNA sentez protokolü; sırasıyla 42°C 60dk, 25°C 5dk, 42°C 60dk ve 70°C 5 dakika inkübasyon olacak şekilde cihazda ayarlandı. Tüpler cihaza konuldu ve inkübasyon süresi başlatıldı. İnkübasyon sonrası cDNA'lar, 1:40 oranında NFW ile sulandırıldı. qRT-PCR işleminde kullanılmak üzere -20°C 'de saklandı.

3.5.2. Primer dizaynı ve primer sulandırma

β -Actin, Bcl-2, Bax, VEGFA, FLT-1, VEGFR-2, MMP2, TIMP2 genlerine spesifik olarak Primer-Blast programı aracılığıyla tasarlanan primerlerin sentezi Oligomer Biyoteknoloji tarafından yapılmıştır. Bu primerler, 100 μM stok şeklinde tarafımıza teslim edilmiştir. Stoklar, qRT-PCR işlemi için 10 μM derişimde olacak şekilde NFW ile hazırlandı. Genler ve primer dizileri Tablo 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3.4. Ekspresyon analizi yapılan genlere ait primer dizileri

Hedef Gen	Primer Dizisi
β-actin	F: 5' CACCATTGGCAATGAGCGGTTC'3 R: 5' AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT'3
Bcl-2	F: 5'-TTGTAATTCATCTGCCGCCG-3' R: 5'-CAATGAATCAGGAGTCGCGG-3'
Bax	F:5'-TTTGCTTCAGGGTTTCATCCAG-3' R: 5'-TGAAGTTGCCGTCAGAAAACAT-3'
VEGFA	F: 5'-GGCCAGCACATAGGAGAGAT-3' R: 5'-ACGCTCCAGGACTTATAACCG-3'
FLT-1	F: 5'-GCAGATTTCTCAGTCGCAGG-3' R: 5'-GTCGTGTAAGGAGTGGACCA-3'
VEGFR-2	F: 5' GGAACCTCACTATCCGCAGAGT'3 R: 5' CCAAGTTCGTCTTTTCCTGGGC'3
MMP2	F: 5' AGCGAGTGGATGCCGCCTTTAA'3 R: 5' CATTCCAGGCATCTGCGATGAG'3
TIMP2	F: 5' ACCCTCTGTGACTTCATCGTGC'3 R: 5' GGAGATGTAGCACGGGATCATG'3

3.5.3. qRT-PCR

RT-PCR çalışması için kit kullanıldı. Panc-1 insan pankreas kanseri hücre hattında Gempitabin, AgNP, GO, GO kompozit yapıda AgNP uygulamasının ardından hedef genlerin ekspresyon seviyelerinin ölçülmesi ve karşılaştırılarak analiz edilmesi amacıyla qRT-PCR işlemi yapıldı. Bu işlem esnasında Quant Studio 3 (Thermo, ABD) cihazı kullanıldı. Tüm genler 2 tekrarlı çalışıldı. Karışımı hazırlamak için, numune sayısına göre, Tablo 3.5' te gösterilen miktarlarda hesaplama yapıldı.

Tablo 3.5. qrt-PCR'da kullanılacak reaktif bileşenleri ve hacimleri

Reaktif	Miktar
Syber Green	2 μ l
Primer karışımı	1 μ l
Nükleaz Free Su	5 μ l
Toplam Hacim	8 μ l

Steril bir ependorf tüpü içerisinde hesaplanan miktarlarda komponentler eklenerek karışım hazırlandı. Spinlenerek homojen şekilde dağılması sağlandı. PCR stripinde, numune sayısına göre her bir kuyucuğa 8 µl karışımdan eklendi. Sulandırılmış olan cDNA'dan 2 µl üzerine eklendi. Yavaş bir şekilde pipetasyon yapıldı. Quant Studio 3 cihazında genlerin Tm sıcaklıklarına göre qRT-PCR protokolü ayarlandı. qRT-PCR protokolü Tablo 3.6.da gösterilmiştir.

Tablo 3.6. qRT-PCR basamakları

Denatürasyon	50 °C'de 2 dk 95°C'de 10 dk
Amplifikasyon (40X)	95°C'de 15 sn Tm sıcaklığında 30 sn 72 °C'de 1 dk
Uzama	95 °C'de 15 sn 60 °C'de 1 dk 95 °C'de 01 sn

3.6. Western Blot Analizi İçin Hücre Lizatlarının Hazırlanması

Panc-1 pankreas kanseri hücre hattından 8 adet T75 Flasklara her birinde 120×10^4 hücre olacak şekilde hücre ekildi. Etüve kaldırılan hücreler 37°C, %5 CO₂ ortamlı etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası flasklardaki eski medium uzaklaştırıldı. 1 numaralı flask, kontrol grubu olarak belirlendi. Kontrol grubuna medium eklenerek etüve kaldırıldı. Diğer flasklara, sırasıyla MTT hücre canlılık testinde belirlenmiş olan IC50 değerlerindeki dozlar hücrelere uygulanmıştır. Gemsitabin ve gemsitabin ile kombine olan GO, AgNP, GO AgNP doz gruplarına; 0.1 µM gemsitabin uygulanarak 72 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. 48. Saatini tamamlayan gemsitabin ile kombine olan gruplara sırasıyla 100 µM Grafen Oksit, 65 µM AgNP, 90 Mm Grafen Oksitle Kompozit Yapıda sentezlenen AgNP dozları ile birlikte 0.1 µM gemsitabin taze hazırlanmış gemsitabin dozu uygulanmıştır. Kombine olmayan GO, AgNP, GO AgNP gruplarına da sırasıyla 100 µM Grafen Oksit, 65 µM AgNP, 90 Mm Grafen Oksitle Kompozit Yapıda sentezlenen AgNP uygulanarak etüve kaldırılmıştır. Böylece, Kombine haldeki gruplar 72. Saatini tamamlarken, kombine olmayan gruplar ise 24 saatlik inkübasyonunu tamamlamıştır.

İnkübasyon süresinin tamamlanmasıyla etüvden çıkarılan flasklardaki hücrelerdeki mediumlar santrifüj tüpüne transfer edildi. Flasklara yaklaşık 3 ml PBS eklenerek hücre kazıyıcı ile hücreler kaldırıldı. Flakon tüplerdeki mediumların üzerine transfer edildi. 5 dk 800 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant kısım atılarak pelet üzerine yaklaşık 2 ml PBS eklendi ve pipetasyon yapılmadan tekrar santrifüje konuldu. Yıkama işlemi 2 kez tekrarlandı. Son santrifüjün ardından, süpernatant atıldı. Pelet üzerine 2×10^7 /ml oranında Ripa Lysis Buffer System (Santa Cruz, sc-24948) eklenerek ependorf tüplerine alındı. Tüplerin her birine uygun miktarda proteaz inhibitör kokteyli eklendi. Tüpler, buz üzerinde sonikatör cihazına taşındı. Her bir tüp, 3 kez yaklaşık 3'er saniye sonikatör cihazına konuldu. Sonikasyon işlemi sonrasında, 12.000 G'de 20 dk santrifüjlendi (+4°C). Santrifüjden çıkan örnekler, western blot aşamasında kullanılmak üzere -80°C dondurucuya kaldırıldı.

3.6.1. Protein miktar analizi

Proteinlerin miktar tayinini yapmak için BCA Protein Assay Kit (Thermo, 23225) kullanıldı. Albümin standartları kit prosedürüne 125, 250, 500, 750, 1000, 1500 µg/ml olacak şekilde hazırlandı. Reagent A ve Reagent B'karışımından oluşan protein reaktifi; 50:1 oranında ependorf tüp içerisinde hazırlandı. 96 well plate içerisine her kuyucuğa hazırlanmış olan protein reaktifinden 100 µl eklendi. Kuyucuklara sırasıyla her bir grubun protein lizatından 5 µl eklenirken, her bir grubun ripa buffer ile dilüe edilen örneklerinden de 5 µl eklendi. Pipetasyon yapılarak homojen şekilde karışmaları sağlandı. Plate 37°C'de %5 CO₂'li etüvde 30 dk inkübe edildi. Sürenin tamamlanmasının ardından ELISA okuyucu cihazında (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO, ABD) 562 nm dalga boyunda örneklerin absorbans ölçümü yapıldı. Excelde absorbans verilerine göre kalibrasyon grafiği çizildi. Jele yüklenecek protein miktarı grafik denklemine göre hesaplandı. Numunelerin protein miktarları 20 ng'a eşitlenerek jele yüklemeye hazır hale getirildi.

3.6.2. SDS-PAGE jelinin hazırlanması ve elektroforez

Moleküler boyutlarına göre proteinleri ayırmak maksadıyla %4'lük üst jel ve %10'luk alt jel Tablo 3.7'de verilen komponentlere ve miktarlara göre hazırlandı.

Tablo 3.7.SDS Page jel bileşenleri

Alt Jel (%10-12)	Akrilamid/Bisakrilamid 1,5 M Tris Base (pH:8.8) %10 Amonyum Persülfat TEMED dH2O
Üst Jel (%4)	Akrilamid/Bisakrilamid 0,5 M Tris Base (pH:6.8) %10 Amonyum Persülfat TEMED dH2O

İlk olarak %10 konsantrasyonunda alt jel hazırlandı. Kalıp olarak kullanılan camların arasına eklendi. Üst tabakasının pürüzsüz bir jel görünümünü alması amacıyla bir miktar etil alkol eklendi. Polimerize olması için yaklaşık 20 dk beklenildi. 20 dk sonunda, jel ters çevrilerek etil alkol uzaklaştırıldı. Üst jel %4'lük konsantrasyonda hazırlandı. Polimerize olan alt jelin üzerine eklendi. Tarak dikkatli bir şekilde takıldı. Polimerizasyonu için yaklaşık 20-30 dk beklenildi. Bu sürede, jele yüklenecek olan protein örnekleri laemli buffer ile hazırlanarak Thermal Cycler (ProFlex PCR, Thermo, ABD, #4484076) cihazında yaklaşık 5 dk 90 °C'de inkübe edildi.

Polimerizasyon sonrası tarak yavaş bir şekilde çıkarıldı. Jel kalıpları, akım yönüne göre elektroforez tankı içerisine yerleştirildi. Running Buffer (Tris-Base/Glisin, %10 SDS, dH2O) kuyucuklardaki köpükler uzaklaştırılacak şekilde tüm tank içine döküldü. İlk kuyucuğa protein marker (ABCAM, #AB116028) yüklendi. Diğer kuyucuklara sırasıyla konsantrasyonu 20 ng'a ayarlanan protein örnekleri sırayla yüklendi. Örnekler 10 dk 70 V, 90 dk 120 V'da yürütüldü.

3.6.3. Proteinlerin membrana transferi

Transfer aşamasında kullanılacak Poliviniliden Diflorür Membran (PVDF; Bio-Rad #1620177) yaklaşık 10 saniye Metanol (Merck, # 106007) ile inkübe edildi ve

içerisinde Transfer Buffer (Tris-Base/Glisin, %20 v/v Metanol) bulunan kaba alındı. Yaklaşık 5 dakika çalkalayıcıda bekletildi. Transfer kaseti çıkarıldı. İçerisine blot paper (Bio-Rad #1703968) yerleştirildi. Transfer buffer ile ıslatıldı. Çalkalayıcıdan alınan PVDF membran, blot paper üzerine yerleştirildi. Membran üzerine, jel dikkatli bir şekilde yerleştirildi. Son olarak blot paper kapatıldı ve bir miktar transfer buffer ile ıslatıldı. Ruler yardımıyla üzerinden geçildi ve kabarcıklar uzaklaştırıldı. Kaset kapatılarak cihaza yerleştirildi. Transfer işlemi 15 dakika 100 V, 200 mA'de tamamlandı.

3.6.4. Bloklama

Membran ile antikorlar arasındaki spesifik olmayan bağlanmaları minimum seviyeye indirmek amacıyla bloklama işlemi gerçekleştirildi. Transfer işleminin tamamlanmasıyla birlikte PVDF membran, içerisinde %1 Bovine Serum Albumin (BSA; AppliChem #A1391) ve 1X TBST (Tween20, 10X Tris-Base/NaCl, dH₂O) bulunan bloklama solüsyonunda yaklaşık 1 saat boyunca çalkalayıcıda bekletildi. Sürenin sonunda bloklama solüsyonu uzaklaştırıldı. Membran 5'er dakika arayla 3 kez 1X TBST solüsyonuyla yıkandı.

3.6.5. Primer ve sekonder antikor inkübasyonu

Primer antikorlar (MMP2 Antibody sc-13594, Santa Cruz, β -Actin Antibody sc-47778) 1:8000 oranında 1X TBST ve %1 BSA ile dilüe edilerek hazırlandı. Membran üzerine eklendi. Membranlar, antikor solüsyonu ile çalkalayıcı üzerinde +4°C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından, ortamda bağlanmamış halde bulunan antikorları uzaklaştırmak için 1X TBST ile 5'er dakika olacak şekilde 3 kez yıkama yapıldı.

Horse-radish peroksidaz (HRP) konjuge sekonder antikor %1 BSA ve 1X TBST ile uygun derişimde dilüe edilerek hazırlandı. Yıkama işlemi tamamlanan PVDF membranların üzerine sekonder antikorlar eklendi. PVDF membranlar çalkalayıcı üzerinde 1 saat inkübasyona bırakıldı. Sürenin tamamlanmasının ardından ortamdaki bağlanmamış antikorlar 1X TBST ile 3 kez 5'er dakika çalkalayıcı üzerinde yıkama işlemi yapılarak uzaklaştırıldı.

3.6.6. ECL ile görüntüleme

Proteinlerin bantlaşmış yapılarını görebilmek için ECL Substrat solüsyonu; western peroksit reaktifi ve western luminol/arttırıcı reaktifin 1:1 oranında karıştırılmasıyla hazırlandı. Substrat içerisinde bulunan luminol maddesi oksitleme sağlayarak ışımaya yoluyla görüntü elde edilmesinde görev almaktadır. Karanlık ortamda hazırlanan ECL substrat solüsyonu, membran üzerine eklendi. Yaklaşık 1 dk inkübe edilmesinin ardından, membranın dikkatli bir şekilde görüntüleme cihazına transferi sağlandı. Görüntüleme cihazı olarak BIORAD ChemiDoc Görüntüleme Sistemi (Bio-Rad Laboratories, ABD) kullanıldı. Kolorimetrik görüntülemeyle, markerin yeri tespit edilirken kemilüminesans görüntülemeyle tüm bantların görüntülerine ulaşıldı.

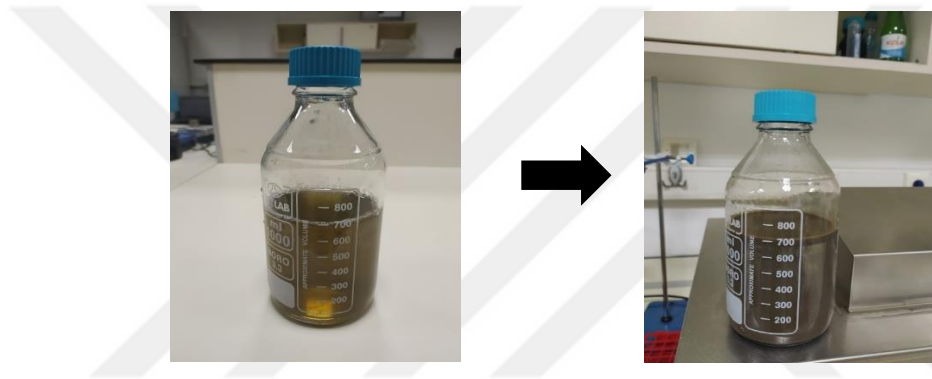
3.7. İstatistiksel Analiz

MTT, qRT-PCR ve western blot analizleri sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinde GraphPad Prism® V.9.5.1 (GraphPad Software) programı kullanıldı. Analizde gruplar içi farklılık student's t testi (two-tailed distribution) ve gruplar arası farklılık varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. P değeri hesaplanarak anlamlılık tespit edildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

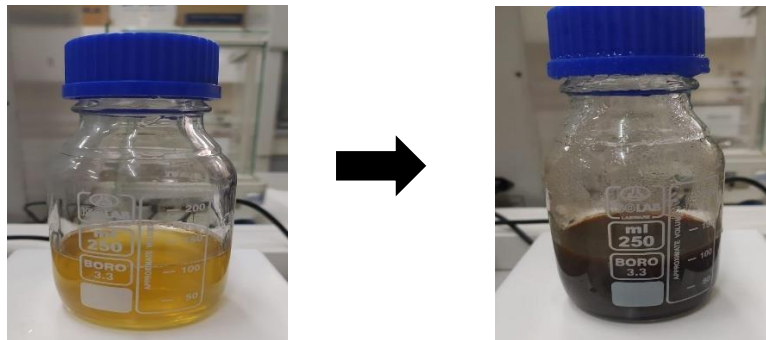
4.1. AgNP'lerin Sentezi

GO ile kompozit yapıda gümüş nanopartiküller *Laurus nobilis* (Defne) bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktı kullanılarak su banyosunda sentezlendi. GO sulu çözeltisi, sonikatörde homojen dağılmasıyla siyah renkli hale geldi. Uygun derişimde hazırlanan gümüş nitrat (AgNO_3) sulu çözeltisi renksiz, defne bitki ekstraktı ise sarı renkliydi. Sentez başlangıç aşamasında hazırlanan AgNO_3 sulu çözeltisine GO çözeltisi ve defne ekstraktının eklenmesi sonucu renk sarı-siyah hale geldi. Hazırlanan karışım, su banyosunda inkübe edilmeye başlanmasını takiben renk koyu kahverengiye döndü.



Şekil 4.1. Gümüş sulu çözeltisi, GO çözeltisi ve ekstrakt karışımının zamana bağlı renk değişimi

Başka bir deney düzeneği *Laurus nobilis* (Defne) ekstraktı ve AgNO_3 sulu çözeltisi ile hazırlanarak gümüş nanopartikül sentezi su banyosunda eşit şartlarda başlatıldı. Burada amaç, GO ile kompozit yapıda gümüş nanopartiküllerinin UV-Vis spektrum analizinde vereceği pik ile, GO'suz, gümüş nanopartiküllerin vereceği pikleri karşılaştırmaktır.



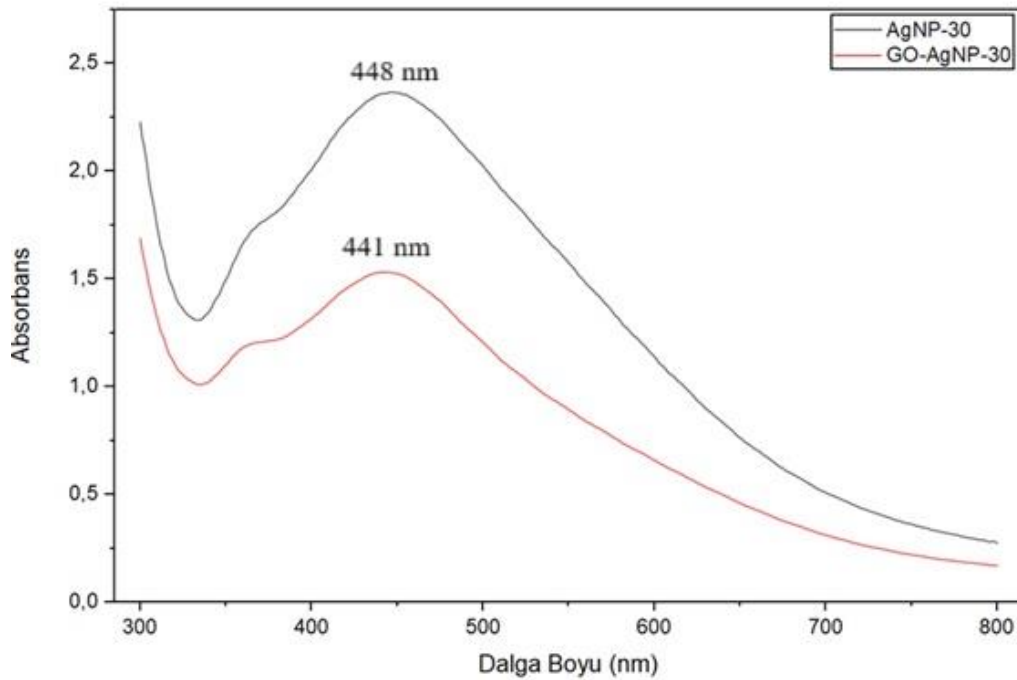
Şekil 4.2. Gümüş sulu çözeltisi ve ekstrakt karışımının zamana bağlı renk değişimi

4.2. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

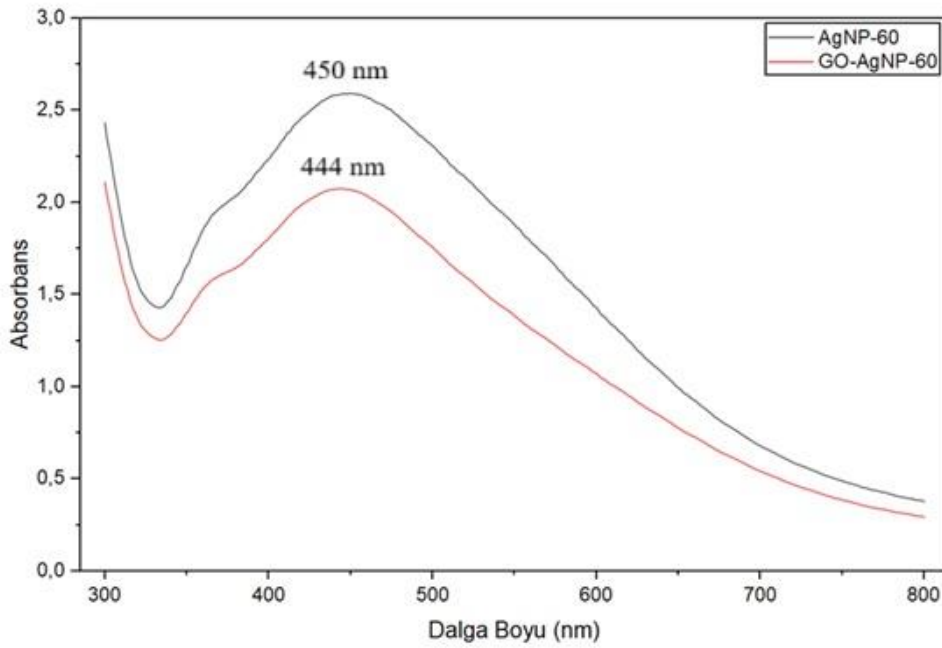
4.2.1. UV-Vis spektrum analizi ile karakterizasyon

Sentezlenen GO ile kompozit yapıda gümüş nanopartiküllerin ve kompozit yapıda olmayan gümüş nanopartiküllerin yüzey plazmon rezonans (SPR) özelliklerini belirlemek amacıyla UV-Vis spektrometre cihazı kullanıldı. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümü laboratuvarında bulunan Thermo Scientific™, Multiskan™ GO cihazı aracılığıyla UV-Vis spektrum analizi gerçekleştirildi. AgNP çözeltisi ve GO-AgNP çözeltilerinin absorbansı 300-800 nm dalga boyları aralığında tarandı. Yüzey plazmon rezonans (SPR) emilim bandı; saçılan ışığın dalgasıyla rezonansa olan metal nanopartiküllerin serbest iletim elektronlarının birleşik salınımı sonucu gözlemlenir ve metalik nanopartiküllerin ayırt edici özellikleri arasında yer alır. Literatürde yer alan çalışmada karakterize edilmiş yeşil sentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartikülünün 440- 445 nm’de pik verdiği bilgisi, çalışmamızda belirlenen pik aralığıyla uyumludur (Bindhu vd., 2015).

30. Dk da AgNP nin maksimum pik seviyesi: 448 nm’dir. 30. Dk’da GO-AgNP’nin maksimum pik seviyesi ise 441 nm’dir. 60. Dk’da AgNP’nin maksimum pik seviyesi 450 nm’dir. 60. Dk’da GO-AgNP’nin maksimum pik seviyesi ise 444 nm’dir.



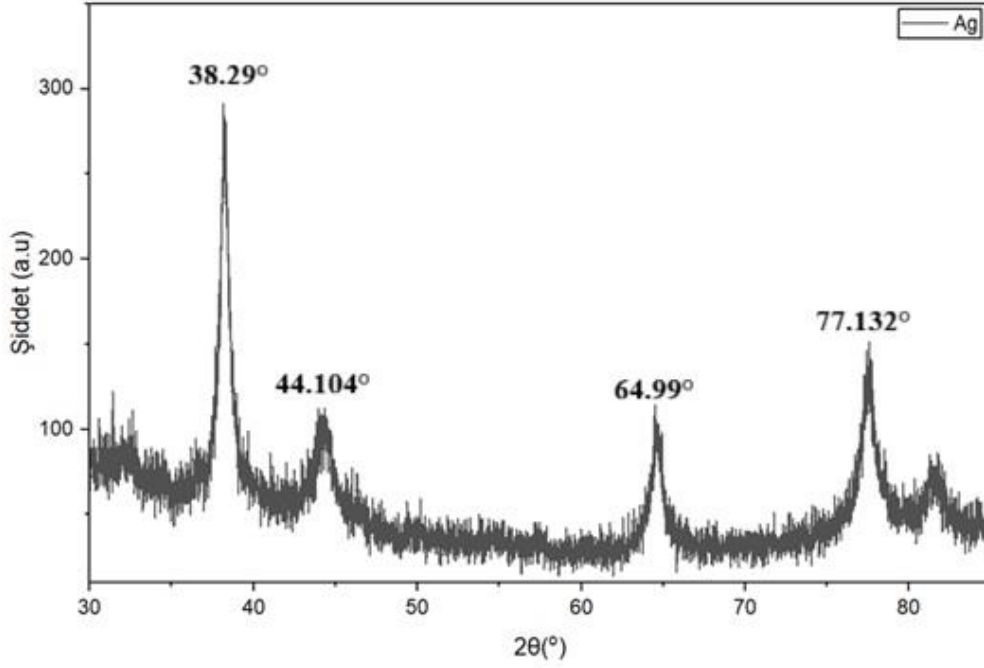
Şekil 4.3. 30 Dk’da AgNP ve GO-AgNP’nin UV-Vis spektrumu değişimi



Şekil 4.4. 60. Dk'da AgNP ve GO-AgNP'nin UV-Vis spektrumu değişimi

4.2.2. XRD analizi ile karakterizasyon

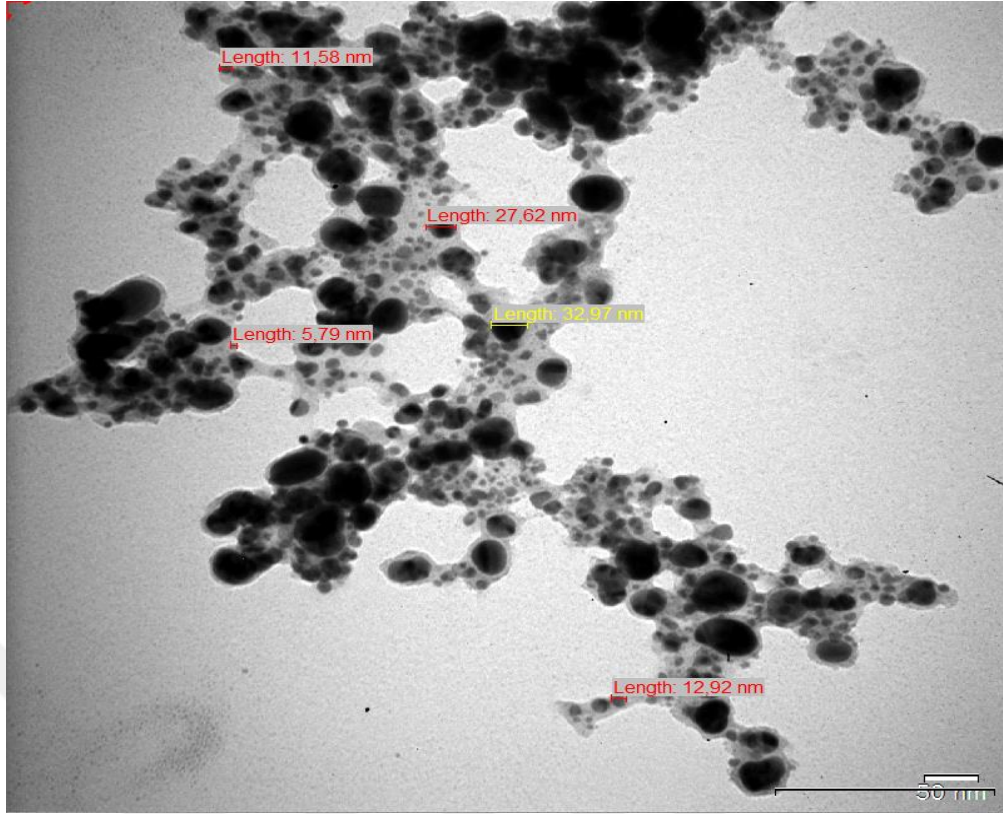
Gümüş nanopartiküllerin XRD analizi, Necmettin Erbakan Üniversitesi'nde Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezine (BİTAM) hizmet alımı ile gerçekleştirildi. XRD paterni 10° - 80° arasında 2θ aralığında $0,02$ adım büyüklüğü ile çalışıldı. Gümüş nanopartiküllerinin XRD sonuçlarında saptanan pikler 38.29° , 44.104° , 64.99° ve 77.132° ilişkili olan 2θ derece aralıklarında dört kırınım şeklindedir. Bu pikler sırasıyla (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerine karşılık gelmektedir ve bu sonuçlar kübik yapıdaki saf gümüş kristal fazı ile uyumludur. Bu bilgiler, literatürde bulunan AgNP'lerin XRD analiz sonuçlarına benzerdir(Raza vd., 2018).



Şekil 4.5. AgNP XRD analizi sonucu

4.2.3. TEM ile karakterizasyon

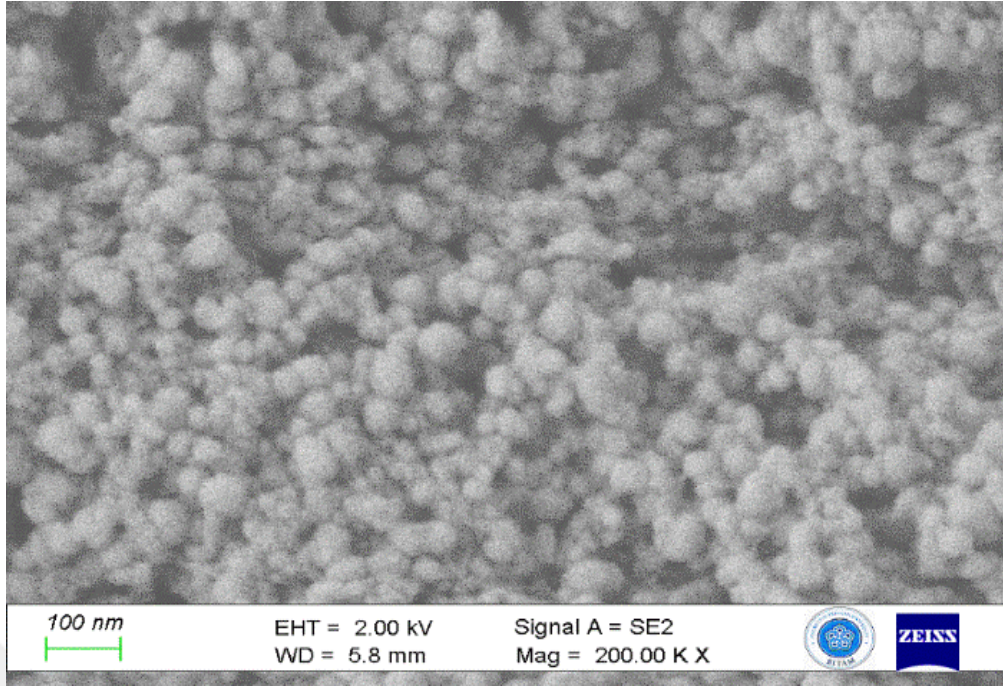
TEM Analizi; gümüş nanopartiküllerinin boyutunu analiz etmek amacıyla Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (ÇOBİLTUM)'a hizmet alımı şeklinde yaptırıldı. Gümüş nanopartikül boyutlarının 2-33 nm arasında dağılan oranda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.6.).



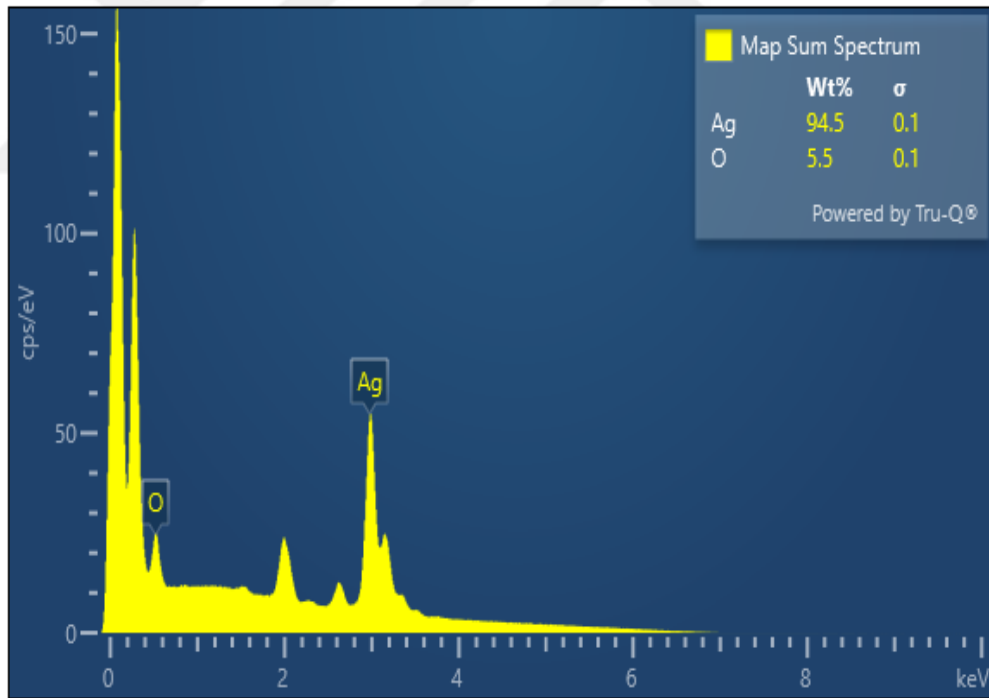
Şekil.4.6. AgNP'lerin TEM görüntüleri

4.2.4. FE-SEM/ EDX ile karakterizasyon

AgNP, grafen oksit ile kompozit yapıda olan sentezlenen AgNP, grafen oksit maddelerinin morfolojilerini analiz edebilmek için FE-SEM analizi, Necmettin Erbakan Üniversitesinde Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezine (BİTAM) hizmet alımı vasıtasıyla analiz edildi. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin küresel yapıya sahip olduğu gözlemlendi. AgNP morfolojileri Şekil 4.7. 'deki gibi gözlemlendi. Ek olarak, EDX analizi yapıldı.



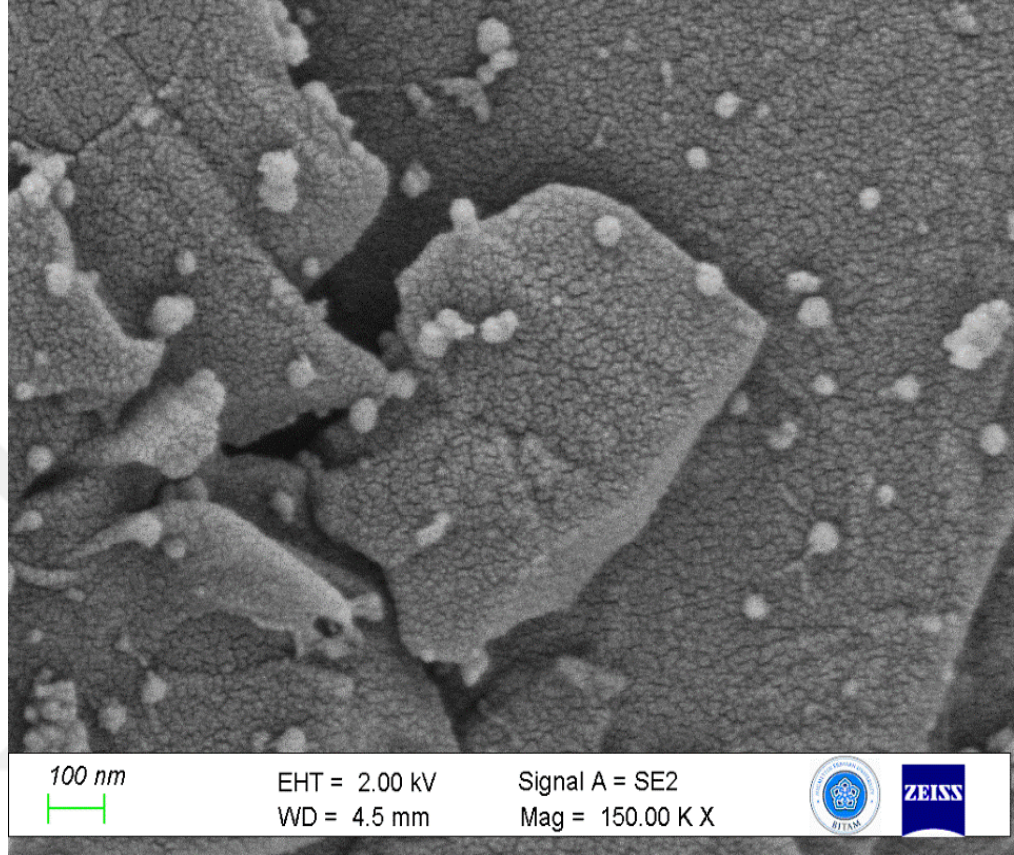
Şekil.4.7. AgNP FE-SEM analizi



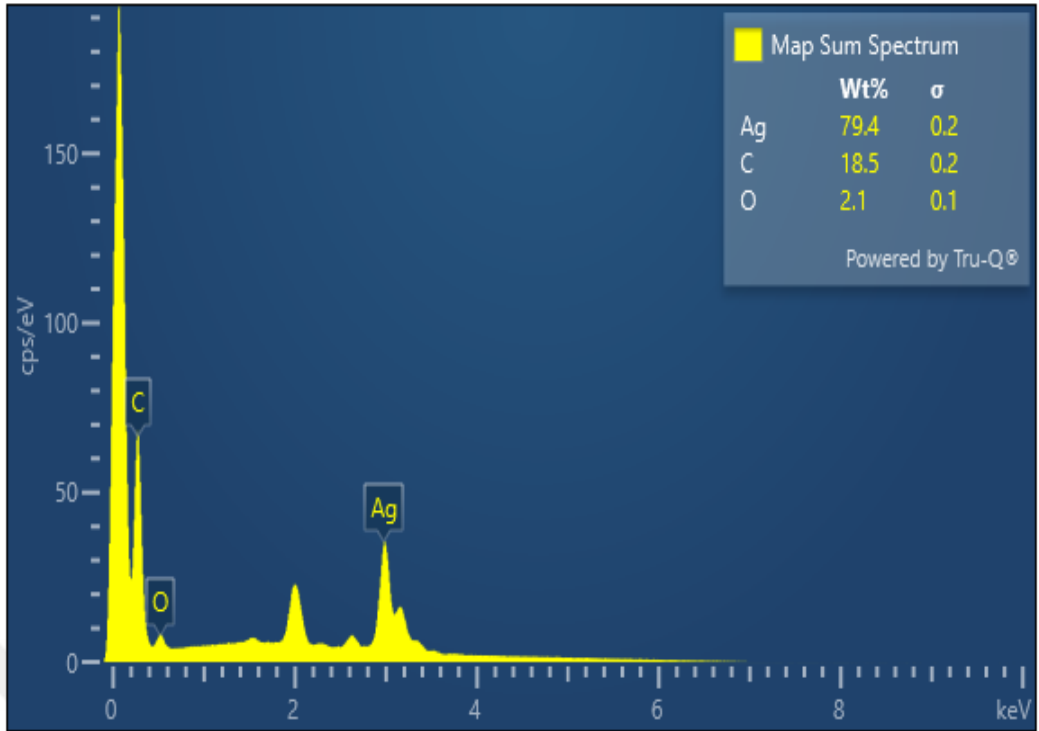
Şekil 4.8. AgNP EDX analizi

Şekil 4.8’de gösterilen EDX analiz sonucuna göre ortamda %94,5 Ag, %5,5 O elementlerinin varlığı gözlemlendi. Analizde açığa çıkan oksijen elementinin defne sulu ekstrakt içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen AgNP'lerin morfolojik yapıları şekil 4.9.'da gösterildi. Grafen oksitin yapraksı görünümüyle gümüş nanopartiküllerin küresel görünümleri belirgindir.



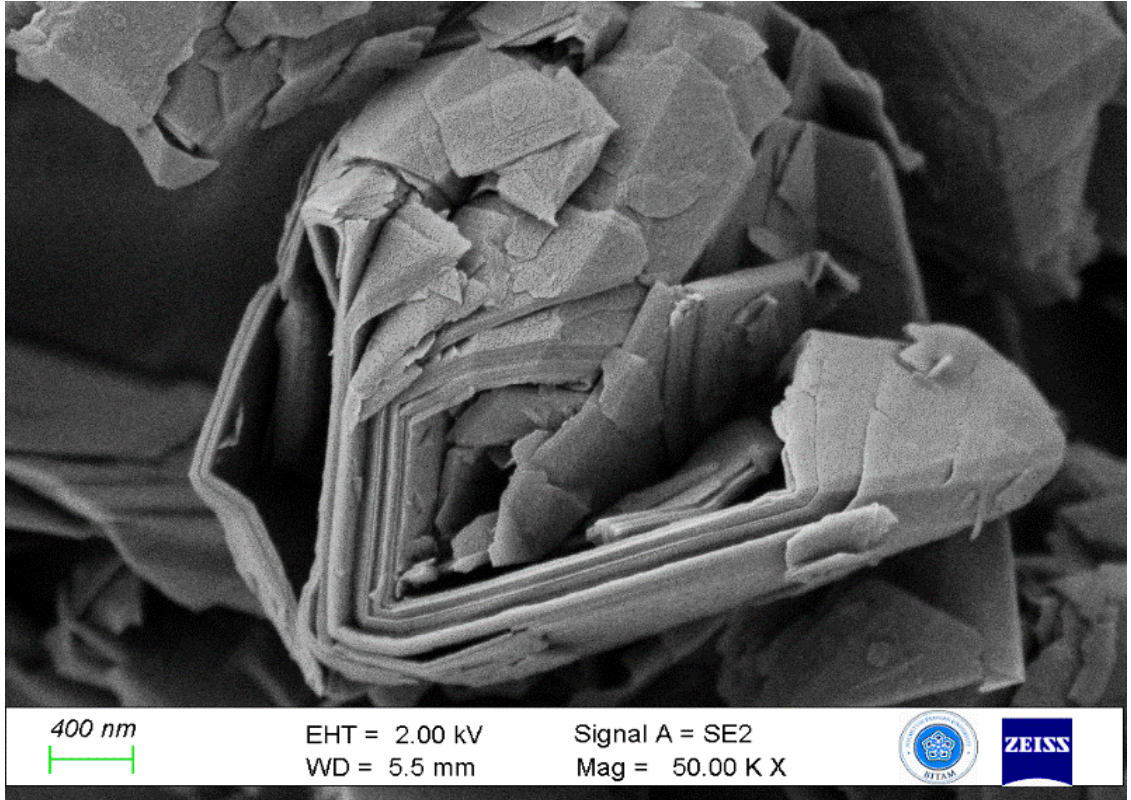
Şekil 4.9. Grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen AgNP'lerin FE-SEM analizi



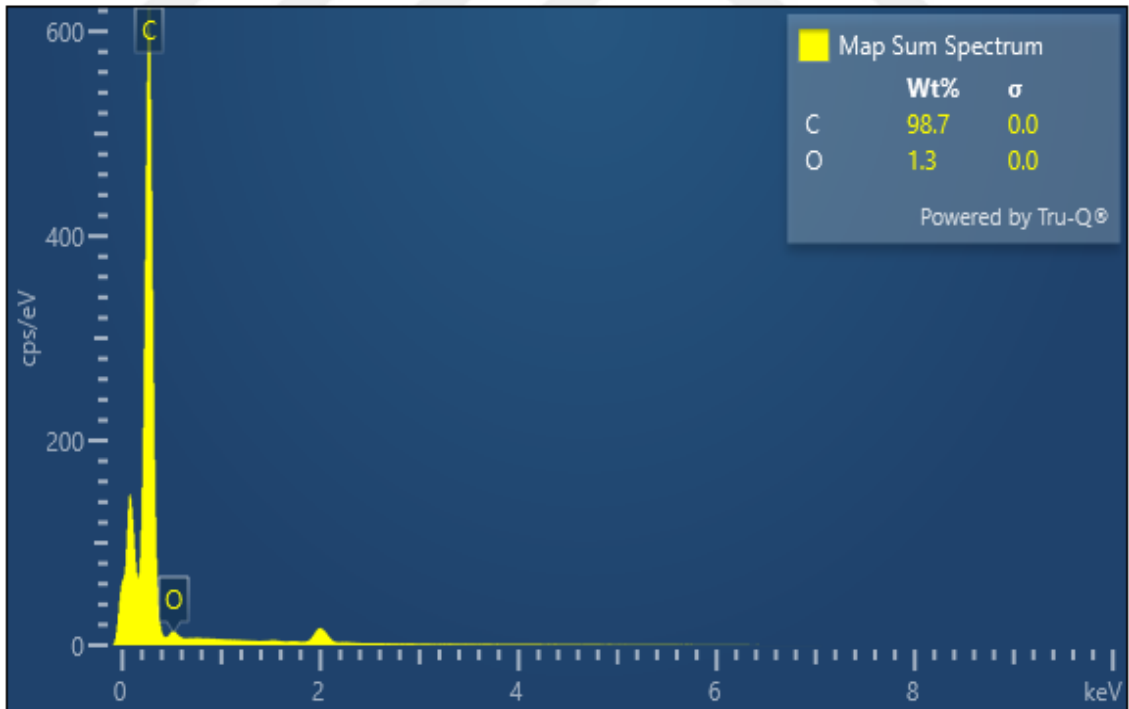
Şekil 4.10. Grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen gümüş nanopartiküllerin EDX analizi

Şekil 4.10.'da gösterilen grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen gümüş nanopartiküllerin EDX analizlerine göre; %79,4 Ag, %18,5 C, %2,1 O elementini içerdiği belirlenmiştir. C elementinin grafen oksit kaynaklı ve O elementinin ise defne sulu ekstrakt içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Grafen oksit maddesinin morfolojik yapısı şekil 4.11'de gösterildi. Bu görüntüde grafen oksitin yapraklı yapıları oldukça belirgindir. EDX analizinde ise; %98,7 C, %1,2 O elementini içerdiği saptanmıştır. (Şekil.4.12.)



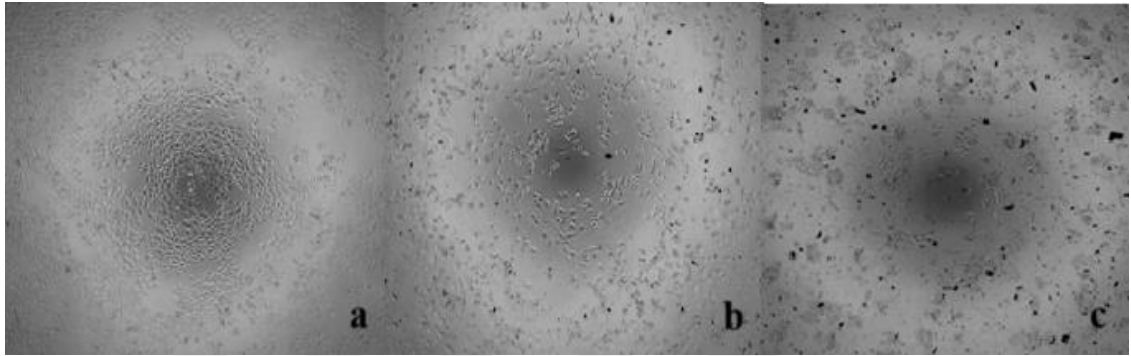
Şekil 4.11. Grafen oksit maddesinin FE-SEM görüntüsü.



Şekil 4.12. Grafen oksitin EDX analizi.

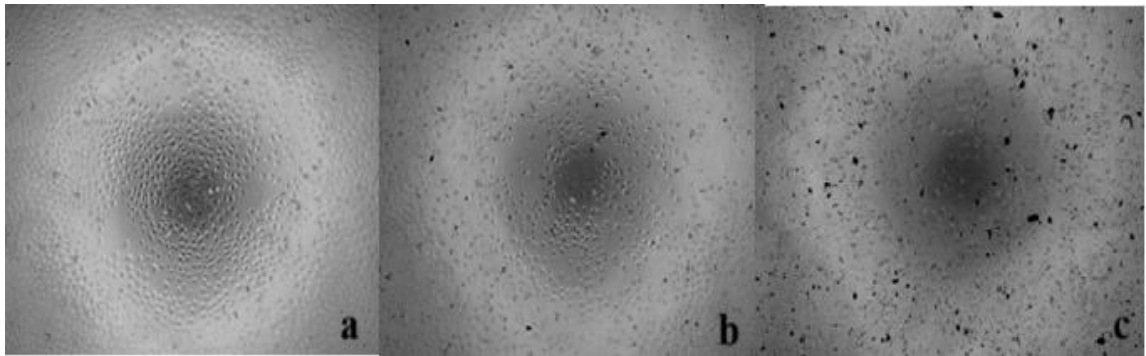
4.3. GO, AgNP, GO ile Kompozit Yapıda AgNP ve Gemsitabin Doz Uygulamasının Panc-1 ve Hek-293 Hücrelerindeki Morfolojileri

Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına farklı konsantrasyonlarda gümüş nanopartikül, grafen oksit, grafen oksit ile kompozit yapıda sentezlenen gümüş nanopartikül uygulaması yapıldıktan 24 saat sonra inverted mikroskopta 4x optik büyütmede görüntü elde edildi. Gemsitabin uygulaması 72 saat sonra gözlemlendi.



Şekil 4.13. Hek-293 hücre hattında AgNP doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c. 100 µg/mL).

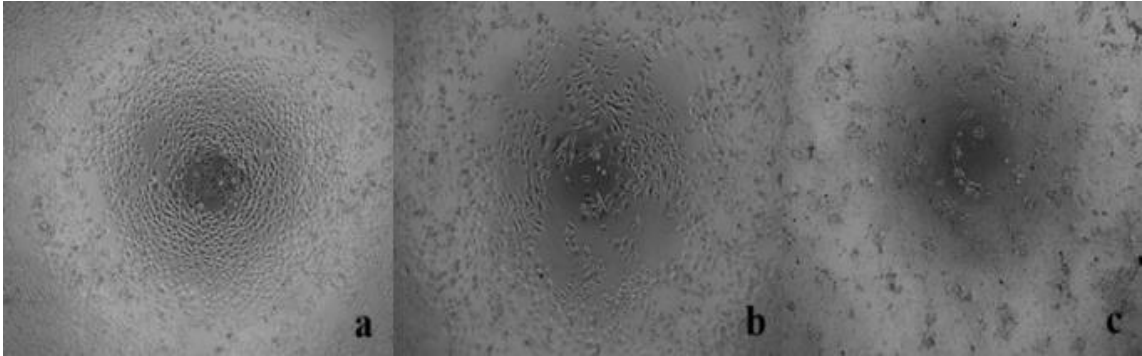
Şekil 4.13.'de gösterildiği gibi Hek-293 hücre hattına AgNP doz uygulaması yapılmıştır. Artan doz konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığında anlamlı bir azalma mevcuttur.



Şekil 4.14. Panc-1 hücre hattında AgNP doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c. 100 µg/mL).

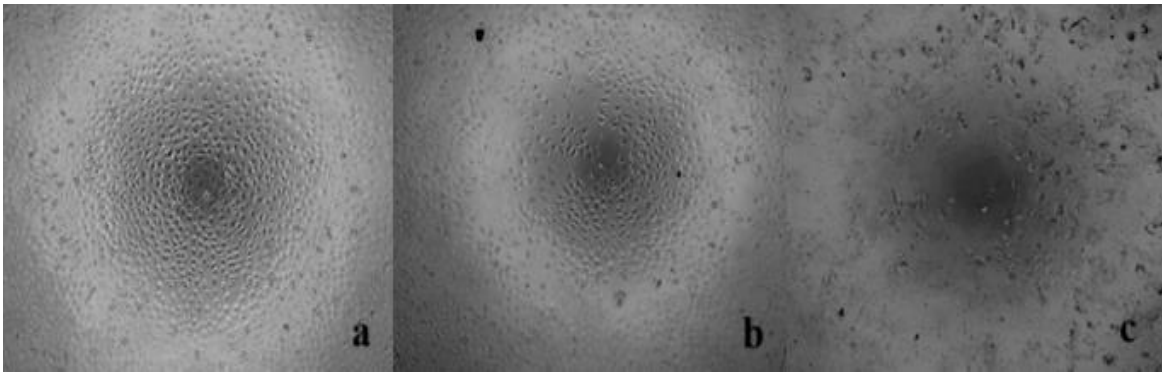
Şekil 4.14.'de gösterildiği gibi Panc-1 hücre hattına AgNP doz uygulaması yapılmıştır. Artan doz konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna kıyasla hücre

canlılığında anlamlı bir azalma mevcut olsa da, Hek-293 hücrelerindeki doz uygulamasına kıyasla; hücre proliferasyonunun daha az etkilendiği gözlemlenmiştir.



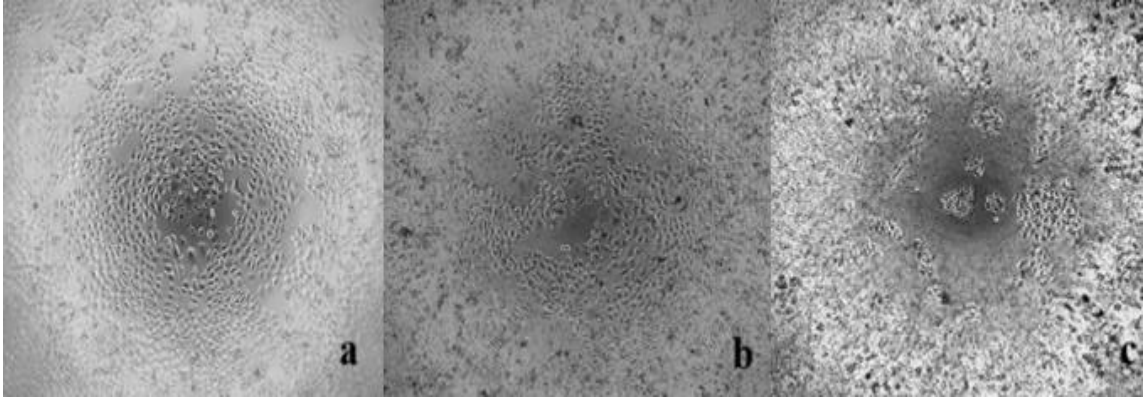
Şekil 4.15. Hek-293 hücre hattında GO-AgNP doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c.100 µg/mL).

Şekil 4.15.'de gösterildiği gibi Hek-293 hücre hattına GO-AgNP doz uygulaması yapılmıştır. Artan doz konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığında anlamlı bir azalma mevcuttur. Fakat bu hücre hattında proliferasyona etkisi AgNP doz uygulamasıyla kıyaslandığında; GO-AgNP'nin daha az toksik düzeyde görülmektedir.



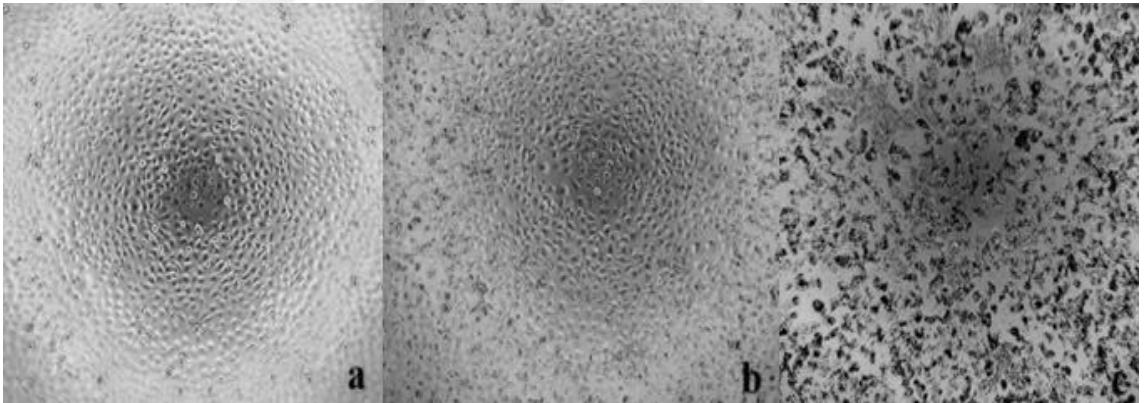
Şekil 4.16. Panc-1 hücre hattında GO-AgNP doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c.100 µg/mL).

Şekil 4.16.'da gösterildiği gibi Panc-1 hücre hattına GO-AgNP doz uygulaması yapılmıştır. Kontrol grubuna kıyasla artan doz konsantrasyonuna bağlı olarak hücre canlılığında anlamlı bir azalma mevcuttur. Hek-293 hücrelerindeki doz uygulamasıyla kıyaslandığında hücre proliferasyonu üzerinde daha az toksik olduğu belirlenmiştir. Hek-293 hücre hattının bu maddeye daha duyarlı olduğu düşünülmektedir.



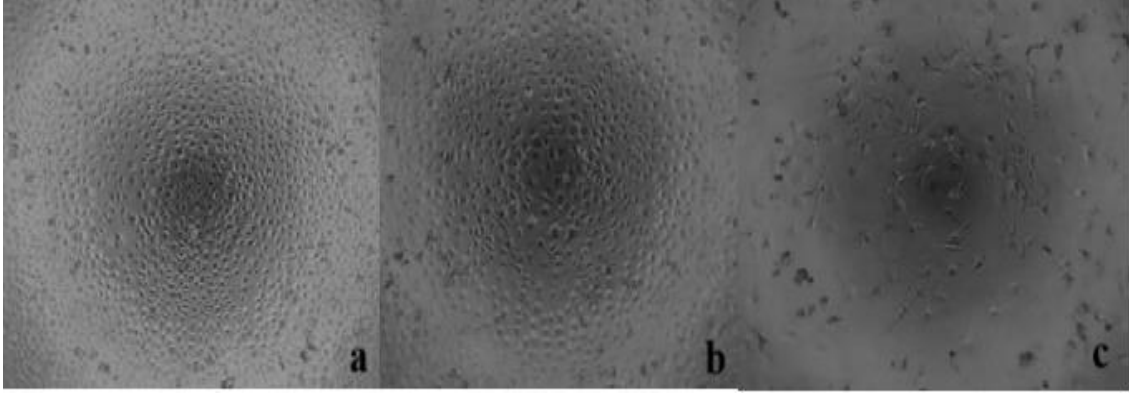
Şekil 4.17. Hek-293 hücre hattında GO doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c. 100 µg/mL).

Şekil 4.17.'de gösterildiği gibi Hek-293 hücre hattına GO doz uygulaması yapılmıştır. Kontrol grubuna kıyasla artan doz konsantrasyonunun hücre canlılığında belirgin bir azalma mevcuttur.



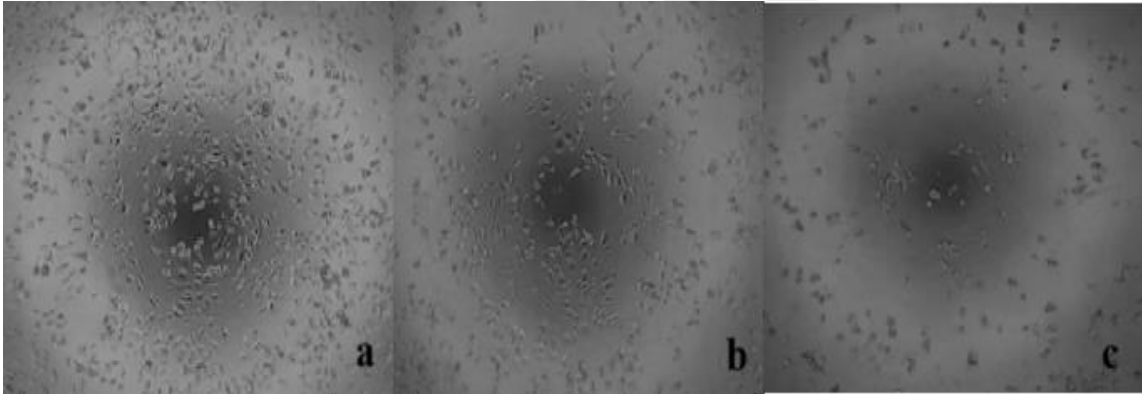
Şekil 4.18. Panc-1 hücre hattında GO doz uygulamasının 24 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 25 µg/mL, c. 100 µg/mL).

Şekil 4.18.'de gösterildiği gibi Panc-1 hücre hattına GO doz uygulaması yapılmıştır. Kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığında artan doz konsantrasyonuna bağlı olarak azalma görülmektedir. GO uygulamasının her iki hücre hattında proliferasyona etkisi kıyaslandığında Panc-1 hücre proliferasyonu üzerinde daha az toksik olduğu belirlenmiştir. Hek-293 hücre hattı grafen oksite daha duyarlıdır.



Şekil 4.19. Panc-1 hücre hattında gempitabin doz uygulamasının 72 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 0.01 µM, c. 1 µM).

Şekil 4.19.'da gösterildiği gibi; Panc-1 hücre hattında 72 saatlik gempitabin doz uygulamasının konsantrasyonla korelasyon gösterecek şekilde hücre proliferasyonunu azalttığı ve Panc-1 morfolojik görünümünü bozduğu görülmektedir.

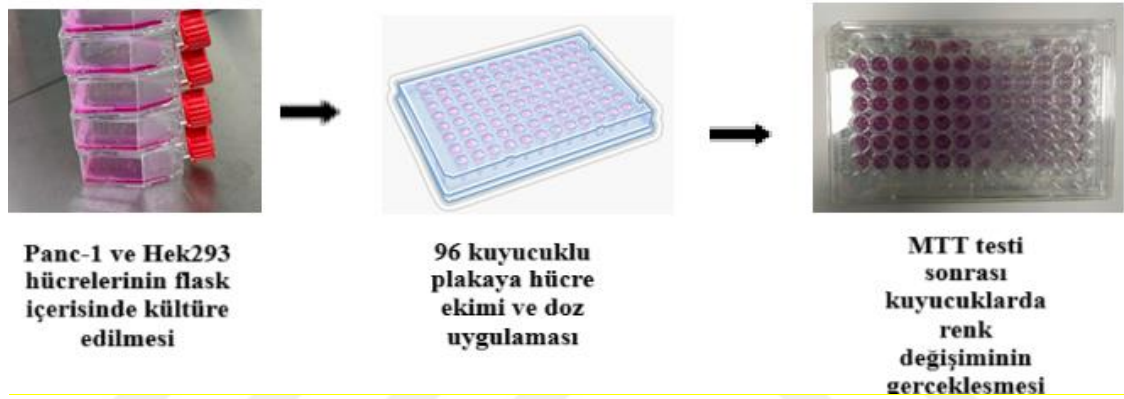


Şekil 4.20. Hek-293 hücre hattında gempitabin doz uygulamasının 72 saat sonrası mikroskop görüntüleri (4X) (a. Kontrol, b. 0.01 µM, c. 1 µM).

Şekil 4.20.'de gösterildiği gibi; Hek-293 hücre hattında 72 saatlik gempitabin doz uygulamasının kontrole kıyasla hücre proliferasyonunu azalttığı görülmektedir. Hek-293 morfolojik görünümünün konsantrasyona bağlı olarak bozulduğu görülmektedir.

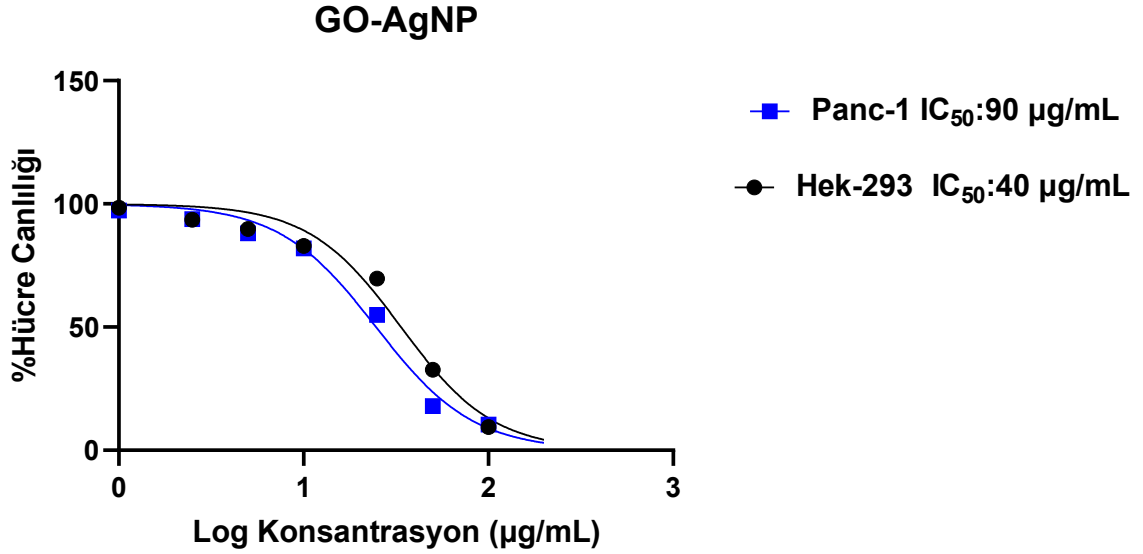
4.3.1. GO ile kompozit yapıda sentezlenen AgNP'lerin Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulanmasının hücre canlılığı üzerindeki etkisi

Panc-1 ve Hek-293 hücre hattında IC₅₀ dozunun belirlenebilmesi için yeşil sentez yöntemiyle elde edilen GO-AgNP'ler (1-500 µg/mL) artan doz konsantrasyonlarında her kuyucuktaki doz değeri 6 tekrarlı olacak şekilde uygulandı. MTT testi ile IC₅₀ değerini belirleyebilmek için 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası spektrofotometre cihazında 570 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçülerek % hücre canlılık oranları belirlendi.



Şekil 4.21. Hücre canlılık analizi

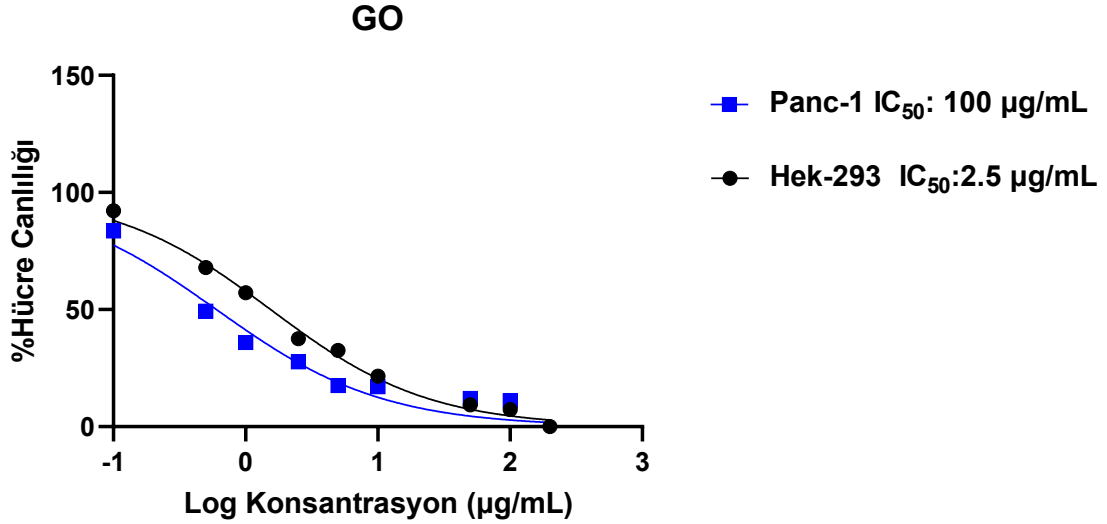
İnkübasyon sonrası kontrol grubuna göre artan konsantrasyon değerlerinde her iki hücre hattında da % canlılık oranlarının anlamlı ölçüde azaldığı belirlendi. IC₅₀ dozunu hesaplamak için GraphPad Prism 9.5.1 programı kullanıldı. Programda % hücre canlılık grafikleri logaritmik olarak hesaplandı. IC₅₀ dozu Panc-1 pankreas kanseri hücre hattında 90 µg/mL ve Hek-293 hücre hattında 40 µg/mL olarak bulundu (Şekil 4.22.) Panc-1 hücre hattında en yüksek doz olan 500 µg/mL uygulaması sonucu % hücre canlılık ~%8 olarak belirlendi. Hek-293 hücre hattında ise bu oran ~ %4'tür. Hek-293 hücrelerinin, uygulanan maddeye daha duyarlı olduğu tespit edildi.



Şekil 4.22. Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına 24 saat GO-AgNP doz inkübasyonunun artan konsantrasyonlara bağlı % hücre canlılık grafiği

4.3.2. GO'lerin Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulanmasının hücre canlılığına etkisi

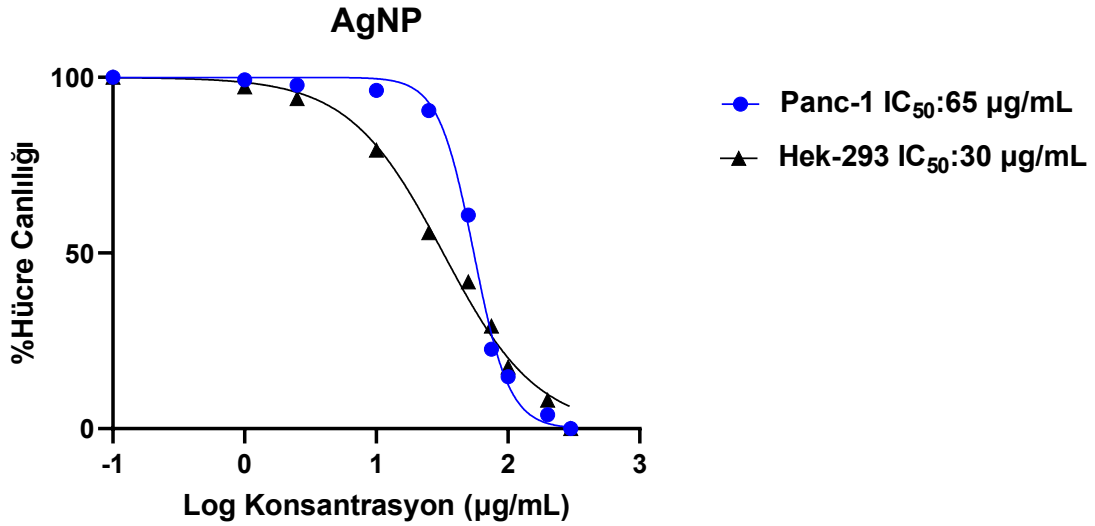
Panc-1 ve Hek-293 hücre hattında IC_{50} dozunun belirlenebilmesi için grafen oksit (0.1-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) artan doz konsantrasyonlarında her kuyucuktaki doz değeri 6 tekrarlı olacak şekilde uygulandı. MTT testi ile IC_{50} değerini belirleyebilmek için 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası spektrofotometre cihazında 570 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçülerek % hücre canlılık oranları belirlendi. Her iki hücre hattında da % canlılık oranlarının anlamlı ölçüde azaldığı belirlendi. IC_{50} dozunu hesaplamak için GraphPad Prism 9.5.1 programı kullanıldı. Programda % hücre canlılık grafikleri logaritmik olarak hesaplandı. IC_{50} dozu Panc-1 pankreas kanseri hücre hattında 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ve Hek-293 hücre hattında 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak bulundu (Şekil 4.23.). Grafen oksite karşı sağlıklı hücre hattı olan Hek-293'ün daha duyarlı olduğu belirlendi.



Şekil 4.23. Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına 24 saat grafen oksit doz inkübasyonunun artan konsantrasyonlara bağlı % hücre canlılık grafiği

4.3.3. AgNP'lerin Panc-1 ve Hek-293 hücrelerine uygulanmasının hücre canlılığına etkisi

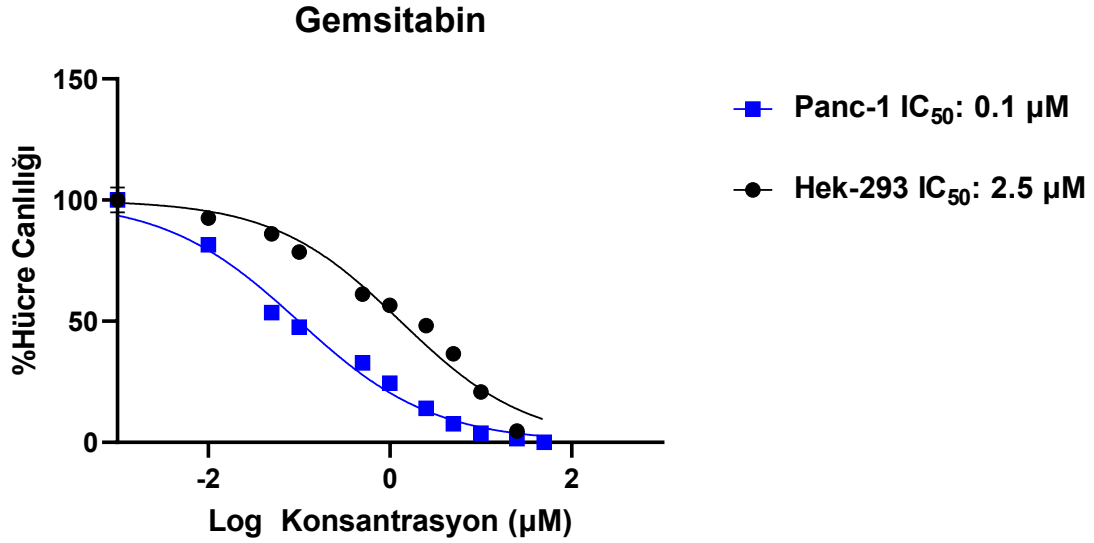
Panc-1 ve Hek-293 hücre hattında IC_{50} dozunun belirlenebilmesi için yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen AgNP'nin (1-500 $\mu\text{g/mL}$) artan doz konsantrasyonlarında her kuyucuktaki doz değeri 6 tekrarlı olacak şekilde uygulandı. MTT testi ile IC_{50} değerini belirleyebilmek için 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası spektrofotometre cihazında 570 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçülerek % hücre canlılık oranları belirlendi. Her iki hücre hattında da % canlılık oranlarının anlamlı ölçüde azaldığı belirlendi. IC_{50} dozunu hesaplamak için GraphPad Prism 9.5.1 programı kullanıldı. Programda % hücre canlılık grafikleri logaritmik olarak hesaplandı. IC_{50} dozu Panc-1 pankreas kanseri hücre hattında 65 $\mu\text{g/mL}$ ve Hek-293 hücre hattında 30 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulundu (Şekil 4.24.). Panc-1 hücre hattında en yüksek doz olan 500 $\mu\text{g/mL}$ uygulaması sonucu %hücre canlılık ~10 olarak belirlendi. Hek-293 hücre hattında ise bu oran ~%5'tir.



Şekil 4.24. Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına 24 saat AgNP doz inkübasyonunun artan konsantrasyonlara bağlı % hücre canlılık grafiği

4.3.4. Gemsitabinin Panc-1 hücre hattı ve Hek-293 hücre hattında uygulanmasının hücre canlılığı üzerinde etkisinin belirlenmesi

Panc-1 ve Hek-293 hücre hattında IC₅₀ dozunun belirlenebilmesi için gemsitabin ilacı (0.01-50 µM) artan doz konsantrasyonlarında her kuyucuktaki doz değeri 6 tekrarlı olacak şekilde uygulandı. MTT testi ile IC₅₀ değerini belirleyebilmek için 72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası spektrofotometre cihazında 570 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçülerek % hücre canlılık oranları belirlendi. Her iki hücre hattında da % canlılık oranlarının anlamlı ölçüde azaldığı belirlendi. IC₅₀ dozunu hesaplamak için GraphPad Prism 9.5.1 programı kullanıldı. Programda % hücre canlılık grafikleri logaritmik olarak hesaplandı. IC₅₀ dozu Panc-1 pankreas kanseri hücre hattında 0.1 µM ve Hek-293 hücre hattında 2.5 µM olarak bulundu (Şekil 4.25.).



Şekil 4.25. Panc-1 ve Hek-293 hücre hatlarına 72 saat gemsitabin doz inkübasyonunun artan konsantrasyonlara bağlı % hücre canlılık grafiği

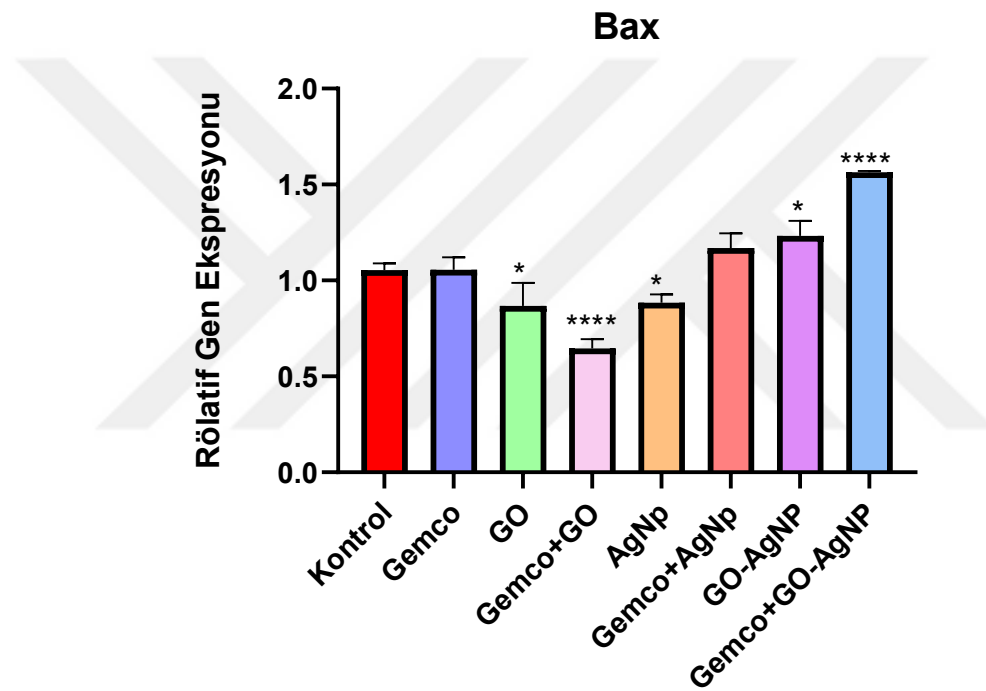
4.4 Panc-1 Hücre Hattında Gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların Gemsitabin ile Kombine Halde Uygulamasının Gen Ekspresyonuna Etkileri

Panc-1 hücre hattına IC₅₀ dozu sırasıyla 0.1 µM, 100 µg/mL, 65 µg/mL, 90 µg/mL olan gemsitabin, grafen oksit, AgNP, GO-AgNP dozları ve bu nanomalzemelerin gemsitabin ile kombine halde uygulaması yapıldı. Gemsitabin 72 saat, diğer maddeler 24 saat 37°C, %5 CO₂ ortamlı etüvde inkübe edildi. İnkübasyon sonunda RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen RNA örnekleri qRT-PCR işleminde kullanılmak üzere cDNA'ya çevirildi. cDNA'lardan qRT-PCR metoduyla Bax, Bcl-2, MMP2, TIMP2, FLT-1, VEGFA, VEGFR-2 hedef genlerinin ekspresyon seviyelerine bakıldı.

qRT-PCR analiz sonuçlarından elde edilen Ct değerlerine göre Panc-1 hücre hattında kontrol grubu ve doz uygulaması yapılan gruplar için hedef genlerin seviyelerinde housekeeping geni olarak β - Actin kullanıldı. Normalizasyon; $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri ile hesaplandı.

4.4.1. Panc-1 hücre hattında gempitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gempitabin ile kombine halde uygulamasının Bax gen ekspresyonuna etkileri

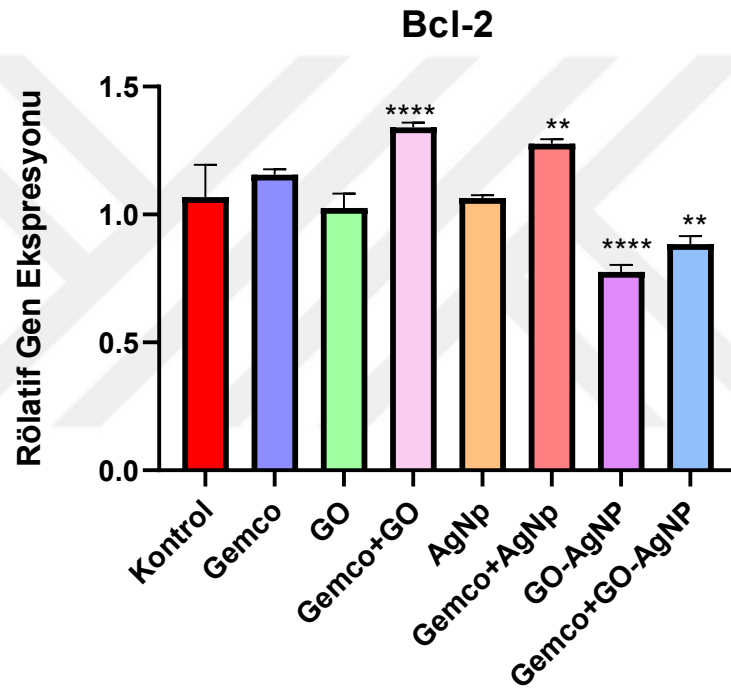
Panc-1 hücre hattında 24 saatlik GO, AgNP, GO-AgNP dozlarıyla ve 72 saatlik gempitabin dozuyla muamele sonucunda grupların Bax gen ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Kontrole kıyasla GO ($p=0,0189$), Gempitabin+GO ($p <0,0001$), AgNP ($p=0,0353$) gruplarının; Bax gen ekspresyonunda downregüle olduğu, GO-AgNP ($p= 0,0261$), Gempitabin+GO-AgNP ($p <0,0001$) gruplarının ise upregüle olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.26. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubuna kıyasla doz gruplarında Bax gen ekspresyon değişimi

4.4.2. Panc-1 hücre hattında gemitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemitabin ile kombine halde uygulamasının Bcl-2 gen ekspresyonuna etkileri

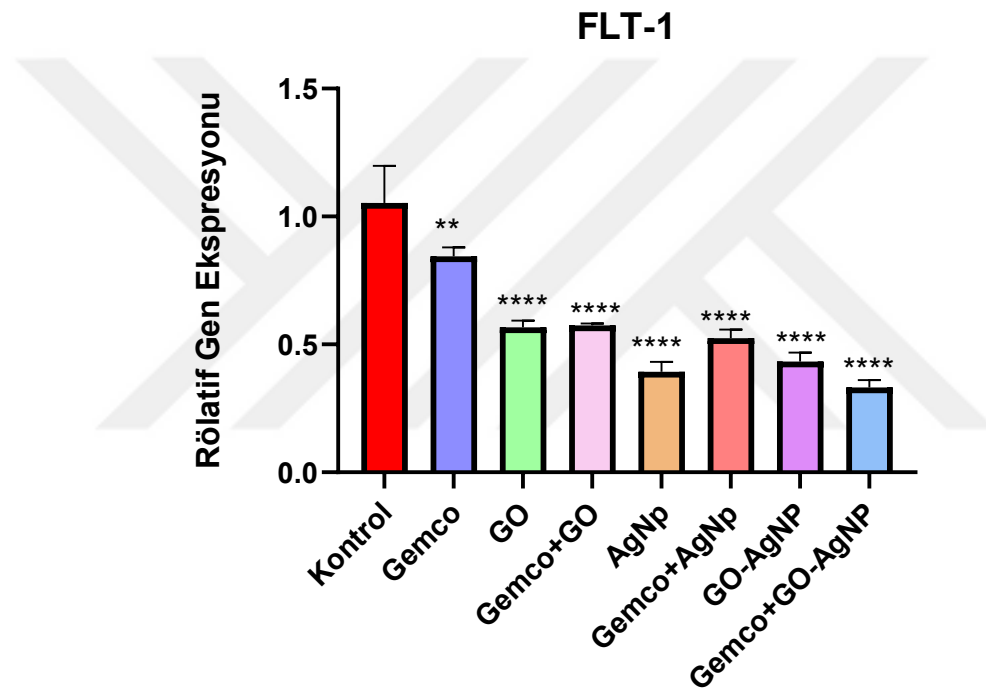
Panc-1 hücre hattında 24 saatlik GO, AgNP, GO-AgNP dozlarıyla ve 72 saatlik gemitabin dozuyla muamele sonucunda grupların Bcl-2 gen ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Kontrole kıyasla gemitabin ($p=0,2433$), gemitabin+GO ($p<0,0001$), gemitabin+AgNP gruplarının ($p=0,0010$); Bcl-2 gen ekspresyonunda upregüle olduğu, GO-AgNP ($p<0,0001$), gemitabin+GO-AgNP ($p=0,0031$) gruplarının ise downregüle olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.27. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubuna kıyasla doz gruplarında Bcl-2 gen ekspresyon değişimi

4.4.3. Panc-1 hücre hattında gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemsitabin ile kombine halde uygulamasının FLT-1 gen ekspresyonuna etkileri

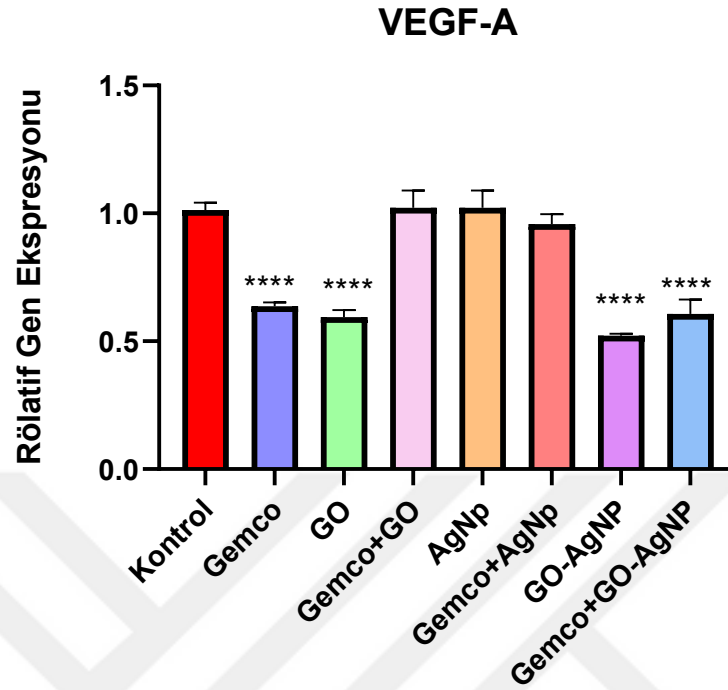
Panc-1 hücre hattında 24 saatlik GO, AgNP, GO-AgNP dozlarıyla ve 72 saatlik gemsitabin dozuyla muamele sonucunda grupların FLT-1 gen ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Kontrole kıyasla tüm doz gruplarının; FLT-1gen ekspresyonunda downregüle olduğu gözlemlenmiştir. (Gemco p= 0,0029 diğer tüm grupların p değeri: p<0,0001'dir).



Şekil 4.28. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubuna kıyasla doz gruplarında FLT-1 gen ekspresyon değişimi

4.4.4. Panc-1 hücre hattında gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemsitabin ile kombine halde uygulamasının VEGF-A gen ekspresyonuna etkileri

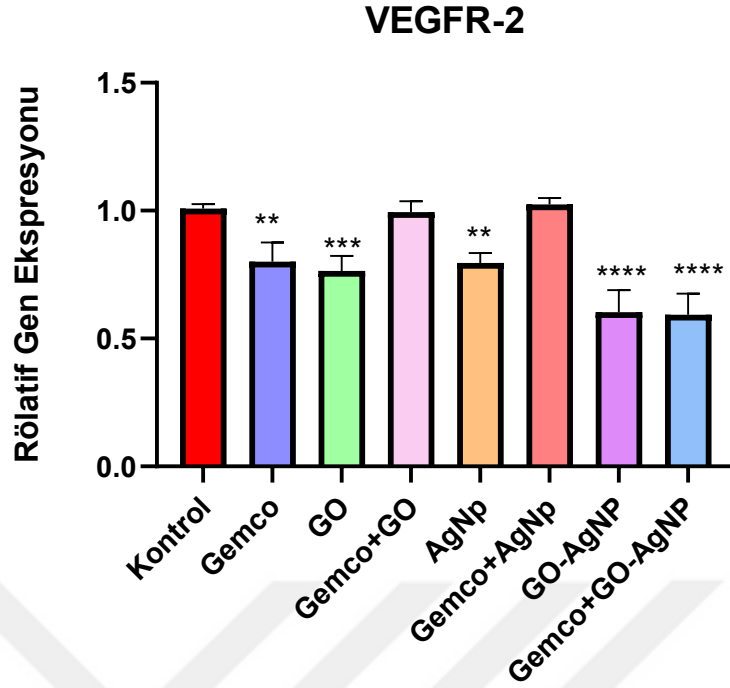
Panc-1 hücre hattında 24 saatlik GO, AgNP, GO-AgNP dozlarıyla ve 72 saatlik gemsitabin dozuyla muamele sonucunda grupların VEGFA gen ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Kontrole kıyasla gemsitabin (p<0,0001), GO (p<0,0001), GO-AgNP (p <0,0001) ve gemsitabin+ GO-AgNP (p <0,0001) gruplarının; VEGFA gen ekspresyonunda downregüle olduğu, diğer gruplarda ise anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.29. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubuna kıyasla doz gruplarında VEGF-A gen ekspresyon değişimi

4.4.5. Panc-1 hücre hattında gemitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemitabin ile kombine halde uygulamasının VEGFR-2 gen ekspresyonuna etkileri

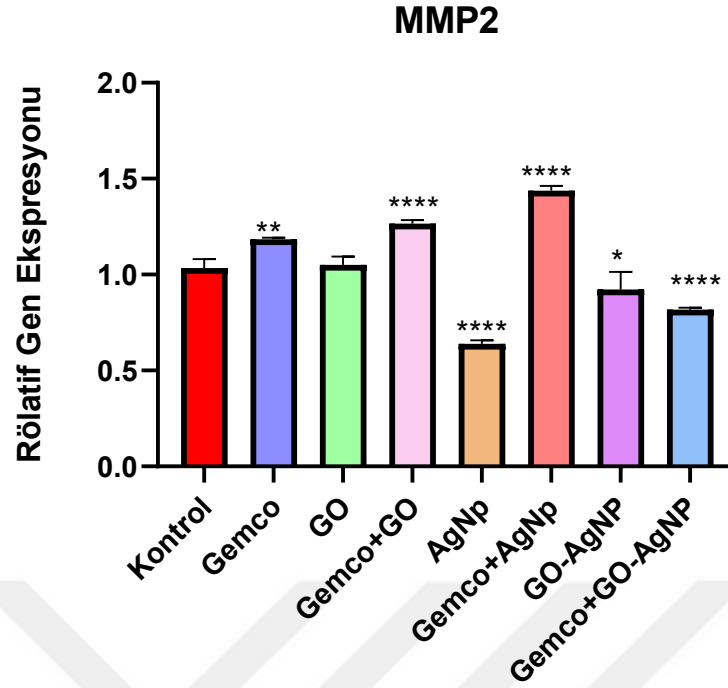
Panc-1 hücre hattında 24 saatlik GO, AgNP, GO-AgNP dozlarıyla ve 72 saatlik gemitabin dozuyla muamele sonucunda grupların VEGFR-2 gen ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Kontrole kıyasla gemitabin ($p=0,0030$), GO ($p=0,0007$), AgNP ($p=0,0024$), GO-AgNP ($p<0,0001$) ve gemitabin+ GO-AgNP ($p <0,0001$) gruplarının; VEGFR-2 gen ekspresyonunda downregüle olduğu, diğer gruplarda ise anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.30. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubuna kıyasla doz gruplarında VEGFR-2 gen ekspresyon değişimi

4.4.6. Panc-1 hücre hattında gempitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gempitabin ile kombine halde uygulamasının MMP2 gen ekspresyonuna etkileri

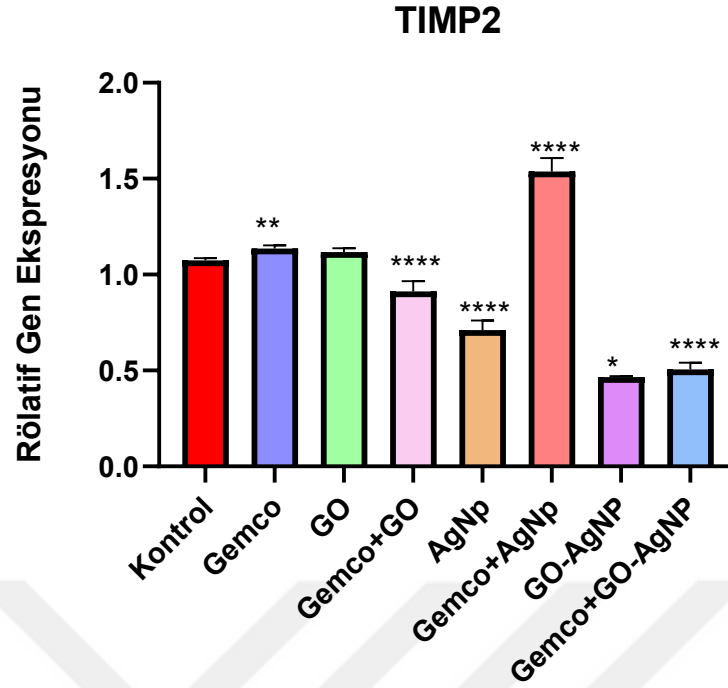
Panc-1 hücre hattında 24 saatlik GO, AgNP, GO-AgNP dozlarıyla ve 72 saatlik gempitabin dozuyla muamele sonucunda grupların MMP2 gen ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Kontrole kıyasla gempitabin ($p= 0,0025$), gempitabin+ GO ($p <0,0001$), gempitabin+GO-AgNP ($P<0,0001$) gruplarının; MMP2 gen ekspresyonunda upregüle olduğu, AgNP($P <0,0001$), GO-AgNP ($P= 0,0262$), gempitabin+GO-AgNP ($p <0,0001$) grupları ise down regüle olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.31. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubuna kıyasla doz gruplarında MMP2 gen ekspresyon değişimi

4.4.7. Panc-1 hücre hattında gemitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemitabin ile kombine halde uygulamasının TIMP2 gen ekspresyonuna etkileri

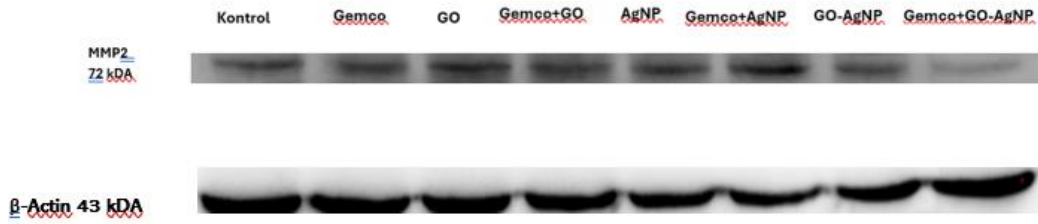
Panc-1 hücre hattında 24 saatlik GO, AgNP, GO-AgNP dozlarıyla ve 72 saatlik gemitabin dozuyla muamele sonucunda grupların TIMP2 gen ekspresyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Kontrole kıyasla gemitabin ($p=0,2942$), gemitabin+ AgNP ($p<0,0001$) gruplarının; TIMP2 gen ekspresyonunda upregüle olduğu, gemitabin+GO ($p=0,0007$), AgNP ($p<0,0001$), GO-AgNP ($p<0,0001$), gemitabin+GO-AgNP ($p<0,0001$) gruplarının ise downregüle olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.32. Panc-1 hücre hattında doz uygulaması sonucu kontrol grubuna kıyasla doz gruplarında TIMP2 gen ekspresyon değişimi

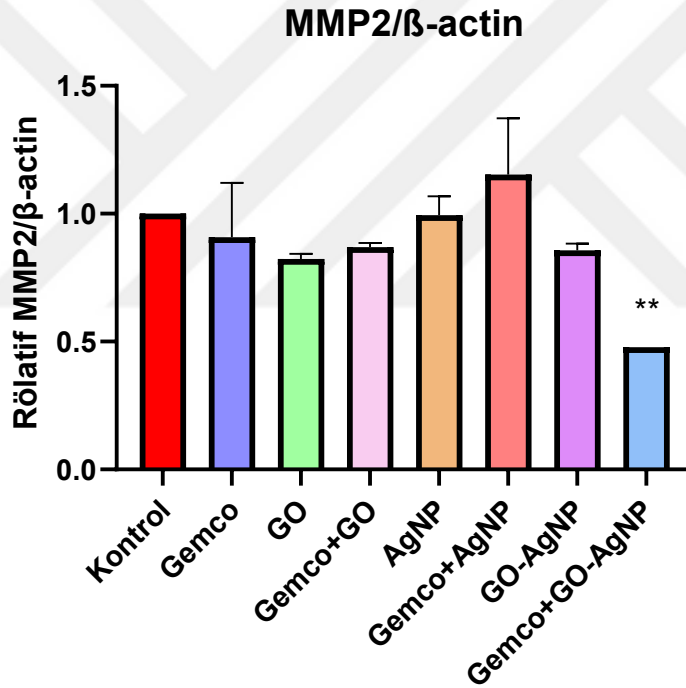
4.5. Panc-1 hücre hattında gemsitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bunların gemsitabin ile kombine halde uygulamasının protein düzeyine etkileri

Panc-1 hücre hattına IC₅₀ dozu sırasıyla 0.1 µM, 100 µg/mL, 65 µg/mL, 90 µg/mL olan gemsitabin, grafen oksit, AgNP, GO-AgNP dozları ve bu nanomalzemelerin gemsitabin ile kombine halde uygulaması yapıldı. Gemsitabin 72 saat, diğer maddeler 24 saat inkübe edildi. Sürenin sonunda Ripa Lysis Buffer ve proteaz inhibitör kokteyl vasıtasıyla hücre içeriği parçalandı ve protein tayini için lizatlar hazırlandı. Lizat içeriğindeki protein miktarı tayin edildi. Western blot analizi yapıldı. ECL Substrat kullanılarak MMP2 protein bant yoğunlukları görüntülendi. Hedef protein olan MMP2'ler ile birlikte normalizasyon yapabilmek için housekeeping β-Actin proteini referans alınmıştır. MMP2 bant yoğunluklarının β-actin bant yoğunlukları ile normalizasyonu Image Lab programıyla yapıldı. İstatiksel analizlerde GraphPad Prism 9.5.1 programı kullanıldı.



Şekil 4.33. Panc-1 hücre hattında western blot analizi sonucu protein bant yoğunluklarının görünümü

Analiz sonuçlarına göre, doz uygulaması yapılmamış olan kontrol grubuna kıyasla GO-AgNP ve gemsitabin+GO-AgNP grubunun MMP2 protein seviyesinde azalma mevcuttur. Bu sonuç, western blotta elde edilen bantlarla ve RT-PCR ile belirlenen MMP2 gen ekspresyon seviyesi ile uyumludur.



Şekil 4.34. Panc-1 hücre hattında doz uygulanması sonucu kontrole göre MMP2 protein düzeylerinin değişimi

4.6. TARTIŞMA

Pankreas kanseri, küresel bağlamda onkolojik hastalıklar grubunda en yaygın yedinci ölüm nedeni olan ve gittikçe artan insidans oranıyla dikkat çeken bir tümör çeşididir (Partyka vd., 2023). Pankreas kanserinin 5 yıllık sağ kalım oranı değerlendirildiğinde %10'luk bir orana sahip olması, bu malignitenin ne denli kötü bir prognozla karakterize olduğunu göstermektedir (Cai vd., 2021). Pankreas duktal adenokarsinom (PDAC), tüm solid pankreas tümör vakalarının %85-95'ini oluşturan pankreas kanserinin en yaygın görülen histolojik türüdür. Mortalite oranı oldukça yüksek olan bu alt türün, yılda yaklaşık 300.000'den daha fazla ölüme etkisi bulunmaktadır. Bu durum mevcut tedavilere direnç geliştirmesiyle yakından ilişkilidir (Schawkat vd., 2020). Pankreasın vücut içindeki konumunun derin bir lokasyon göstermesi ve erken evrede karakteristik semptomlar göstermemesi; erken tanıyı güçleştirmekte ve buna bağlı olarak mortalite oranını da arttırmaktadır (Bugazia vd., 2024).

PDAC çevresindeki yoğun desmoplastik stroma ilaca karşı bariyer oluşturarak kemorezistansa neden olur. İlaç direnci (kemorezistans) tedavi etkinliğini düşürerek kötü prognozu destekler (Joseph vd., 2024). PDAC için klinikte kullanılan kemoterapilerden gemsitabine karşı; PDAC'nin karakteristik stroma yapısı, düşük vaskülarizasyon, hipoksi vb. nedenlere bağlı olarak direnç gelişmektedir (Koltai vd., 2022). PDAC gibi agresif yapıda seyreden tümörlerde tedavi etkinliğini arttırmak ve kemorezistansı engellerebilmek için nanopartikül kullanımı gibi yeni terapötik bakış açıları olarak kabul görmektedir.

Yeşil nanoteknoloji olarak isimlendirilen nanopartikül sentezi, fiziksel ve kimyasal yöntemlere nazaran belirgin avantajlara sahiptir. Bitki materyallerinin kullanıldığı biyosentez ürünleri olan nanoparçacıklar biyoyoumlu, çevre dostu ve endüstriyel anlamda büyük ilgiye sahip ürünlerdir. Bu nanoparçacıkların bitki özütünden gelen kimyasallar ile kaplanabilmeleri, onların daha kararlı ve daha az toksik ürün oluşturmalarını sağlar (Ashique vd., 2022). Bitkiler, nanoparçacık oluşumunda etkili bir indirgeyici olarak işlev görüp yapıların stabilizasyonunu sağlarken adeta iskele görevi yapmaktadır. Bu süreçte elde edilen sentez ürünü biyoyoumlu özellik göstermektedir. Yeşil sentezle elde edilen nanoparçacıkların taşıdıkları benzersiz özellikleri; antibakteriyel, antikanser, antiviral vb. etkiler, tıp alanında yeni terapötik çağrışımları oluşturmaktadır (Adeyemi vd., 2022).

Literatürde rapor edilmiş birden fazla kullanım alanına sahip ve etkileri geniş bir perspektife yayılan metal nanopartiküller dikkat çekmektedir. Bu sınıfının bitki aracılı biyosentezi; yüksek güç tüketimi gerektirmeden yapılabilmesi ve diğer yöntemlere nazaran daha uygun maliyete üretilmesi, indirgeyici ve kaplayıcı olarak bitki özütünü kullanmasıyla metal nanopartiküller daha hızlı ve daha az toksik ürün oluşumunu sağlamaktadır (F. Khan vd., 2022). Seçici özellikleri sayesinde önde gelen metal nanopartiküller içerisinde yer alan gümüş nanopartiküller; kanser, inflamatuvar hastalıklar ve daha birçok alanda etkinlik gösterebilmektedir. Yapılan bir çalışmada *Catharanthus roseus* bitkisinin yaprak ekstresinden sentezlenen AgNP'lerin; meme kanseri hücre hattı olan MDA-MB-231 hücreleri üzerinde doz artışına bağlı olarak uygulanması, bu hücrelerde sitotoksik etki göstermekle beraber aynı zamanda inflamatuvar belirteç olarak kabul gören sPLA₂ enziminin de inhibisyonunu sağlayarak otoimmün dengede önemli bir rol oynamıştır. Bu sonuca göre, sentezlenen AgNP'nin meme kanseriyle ilişkili inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde işlev gösterdiği belirlenmiştir (Nagarajaiah vd., 2024).

Laurus nobilis (defne) *Lauraceae* familyasında yer alan Güney Akdeniz bölgesine özgü aromatik bir bitki türüdür. Gıda sektöründe baharat olarak kullanımı yaygın olsa da, ilaç sektöründe de geçmişten günümüze süregelen birçok hastalık üzerinde kullanımı mevcuttur. Geleneksel tıp uygulamalarında defne yaprağının kaynatılmasıyla elde edilen çay, gastrointestinal rahatsızlıklar için bağırsak ve mide spazm çözücü, ishale karşı kullanımının yanı sıra romatizmal ağrılar, öksürük, astım ve kalp hastalıkları gibi solunum yolu hastalıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde de kullanıldığı bilinmektedir (Mohammed vd., 2021). Defne yaprakları yara iyileştirici, antibakteriyel, analjezik, antiinflamatuvar etkiler içermektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda oksidatif stres, kanser, diyabet gibi birçok hastalıkta da etki gösterdiği belirlenmiştir (Jaradat vd., 2023).

Defne özütünde yer alan fitokimyasallar değerli bileşimleri içermektedir. Yapılan analizler sonucunda defne özütünün güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Ariffin vd., 2025). Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde; defne bitki özütünde yer alan fenolik bileşikler, flavonoidler ve uçucu yağların oksidatif stresi oluşturarak apoptozu tetiklediği ve proliferasyonu baskıladığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışmalardan biri olan Jaradat ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada defne yaprağında yer alan

uçucu yağların MCF-7 (meme), Caco-2 (kolon) ve B16-F1 (melanom) hücreleri üzerinde uygulanmasının sonucunda sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Jaradat vd., 2024).

Rapor edilen verilerin incelenmesi sonucunda, defne bitkisinin zengin içeriğinin AgNP sentezi açısından indirgeyici ve stabilize edici ajan olarak kullanılmasının doğru bir tercih olacağı öngörülmüştür. Çalışmamızda, nanopartikülün hücre içindeki stabilizasyonunu da arttırabilmek amacıyla grafen oksit ile kompozit yapı oluşturulmasına karar verilmiştir. Bu amaçla ilk aşamada su banyosu içerisinde 60° C’de yaklaşık 2 saatlik inkübasyon sonucunda sarı renkli defne ekstraktı elde edilmiştir. İkinci aşamada grafen oksitin toz hali sonikatör cihazında distile su içerisinde homojen bir şekilde dağılımı sağlanmıştır. Üçüncü aşamada ise AgNO₃ çözeltisi hazırlanmıştır. Tüm çözeltiler belli oranlarda birleştirilerek 90° C’de su banyosunda sentez işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu süreç esnasında karışımın renginin kahverengiye döndüğü gözlemlenmiştir. Bitki ekstraktının gümüş iyonlarını indirgemesi sonucu (Ag⁺’dan Ag⁰’a) oluşan nanopartiküller; yüzey plazmon rezonansı (SPR) ile ışığı absorbe eder ve yayımlamaktadır. Bu sayede renk değişimi gözle görünür hal almaktadır. Gözlemlenmiş olduğumuz renk değişimi literatürle uyumludur (Asif vd.,2022).

GO-AgNP’lerin etkinliğini kıyaslamak amacıyla defne bitki ekstraktından AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada bir önceki sentezden farklı olarak GO kullanılmamıştır. Diğer parametreler GO-AgNP sentez parametreleri ile aynıdır. Renk değişimi, kahverengiye kayma şeklinde gözlemlenmiştir. GO-AgNP’nin renk değişimi ile kıyaslandığında, GO’nun siyah renkli yapısından kaynaklı olarak GO-AgNP çözeltisinin daha koyu bir kahverengi renkte olduğu gözlemlenmiştir.

Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyon işlemi, literatürde kabul görmüş çeşitli analizlerle sağlanmıştır. AgNP’lerin UV-Visible ölçümünde en yüksek pik oluşumu 450 nm de gözlemlenmiştir. Literatürde yer alan bilgiye göre, AgNP’lerin SPR bantları 400- 450 nm aralığında gözlemlenmektedir. Khalir ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada *E. Spiralis* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP’lerin 420-430 nm’de maksimumum pik verdiği bildirilmiştir (Khalir vd., 2020). Başka bir çalışmada *Vitis vinifera* L bitki ekstraktından sentezlenen AgNP’lerin; maksimum pik seviyesinin 450 nm de olduğu gözlemlenmiştir (Göktürk vd., 2025.) GO-AgNP’lerin maksimum pik seviyesi 444 nm’de yer almaktadır. GO-Ag nanokompozit bir çalışmada, UV-Vis değerlerinin 450 nm de gözlemlendiği rapor edilmiştir (Kunal vd., 2020).

Mevcut bulgularımız, literatürde yer alan UV-Visible karakterizasyon metodu sonuçları ile kıyaslandığında, elde ettiğimiz absorbans değerlerinin var olan çalışmalarla uyumlu olduğu, dolayısıyla AgNP ve GO-AgNP oluşumunun başarılı bir şekilde sentezlendiği sonucuna varılmıştır.

AgNP'lerin kristal yapısı, boyutu ve faz tayinin için yapılan XRD analizinde 38,29°, 44.104°, 64,99° ve 77,132° ilişkili olan 2θ derece aralıklarında dört kırınım açısı tespit edilmiştir. Bu açılar (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerine karşılık gelmektedir ve AgNP'ler için karakteristik olarak yüzey merkezli kübik kristal yapının kırınım piklerini oluşturmaktadır. Kumar ve arkadaşlarının meyve ekstraktı kullanılarak sentezlediği AgNP'lerin 38,04°, 44,06°, 64,34°, 77,17° açılarında ve (111), (200), (220) ve (311) düzlemlerine karşılık gelen 4 adet tepe noktası olan pik içerdiği bildirilmiştir (Kumar vd.,2017). Buna göre, çalışmamızda elde ettiğimiz veriler literatür ile uyumludur.

Çalışmamızda nanopartiküllerin morfolojik görünüşleri ve boyutlarını yüksek çözünürlükte gözlemek ve karakterize etmek amacıyla gerçekleştirilen TEM analizinde, AgNP'lerin 2- 33 nm boyutunda olduğu belirlenmiştir. Biswas ve arkadaşlarının yeşil sentez metoduyla sentezlediği AgNP'lerin TEM analiz sonucuna göre; partikül boyutlarının ortalama 2-40 nm boyutları arasında olduğu gösterilmiştir (Biswas vd.,2018). Benzer şekilde, literatürde mevcut başka bir çalışmada, AgNP'lerin 2-40 nm boyutlarında TEM analiz sonuçları rapor edilmiştir. Literatürde yer alan nano boyutları, çalışmamızda elde edilen boyutlar ile benzer özellik sergilemektedir (Islam vd., 2021).

Nanomalzemelerin morfolojisi, şekli ve nano-ölçekli topografyası hakkında verileri elde etmek amacıyla kullanılan FE-SEM analizinde GO-AgNP, AgNP ve GO'nun yapıları yüksek çözünürlükte gözlemlenmiştir. AgNP'lerin küresele yakın şekilde gözlemlendiği bu analizde, GO karakteristik yapısı olan yaprak benzeri görünüşleriyle dikkat çekmiştir. Singh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, biyolojik olarak sentezlenen AgNP'lerin FE-SEM analiz sonucuna göre 20.6 nm boyutunda ve küresel veya küresel şekle yakın şekilde tanımlanan nanopartiküller olduğu bildirilmiştir (Singh vd., 2023). Literatürde yer alan bir çalışmada GO'nun benzersiz yapısı FE-SEM ile karakterize edilmiştir. Bu analiz sonucuna göre GO; hidroksil, epoksi ve karboksil grupları gibi bol miktarda oksijen içeren fonksiyonel grupların varlığı nedeniyle çalışmamızda literatürde

yer alan görünüme benzer şekilde görüntülenmiştir (Saputra vd., 2025). Bu bağlamda, elde edilen verilerimiz literatür ile örtüşmektedir.

GO-AgNP'lerin FE-SEM görüntüleri incelendiğinde, GO'nun katmanlı yapısı üzerinde kompozit oluşturan AgNP'lerin olduğu gözlemlenmektedir. Çalışmamızla benzer şekilde literatürde yer alan bir araştırma incelendiğinde; FESEM görüntülerinin, mevcut verilerimizle uyumlu olduğu belirlenmiştir (Truong vd., 2020). Yeşil sentezle elde edilen rGO–AgNP nanokompozitlerinin EDX analizlerinin yapıldığı bir çalışmada, Ag, C ve O piki görülmüştür. Element sinyallerinin kompozit esnasında fitokimyasallardan dolayı geldiği belirlenmiştir. Çalışmamızda da EDX analizi esnasında gelen C, O, Ag sinyallerinin de defne sulu ekstraktından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu noktada verilerimiz literatür ile uyumludur (Kambale vd., 2020).

Tez çalışmamızda pankreas kanseri hücre hattı olan Panc-1 ve sağlıklı hücre hattı olan Hek-293 hücrelerine GO, *Laurus nobilis* (Defne) bitki ekstraktından sentezlenen AgNP, GO-AgNP ve gempitabin ilacı; artan doz konsantrasyonlarında uygulanmıştır. Nanomalzemelerin 24 saatlik inkübasyonu, gempitabinin ise 72 saatlik inkübasyonu sonucunda istatistiksel olarak anlamlı IC₅₀ dozları belirlenmiştir. % canlılık değerlendirmeleri neticesinde gempitabin, GO, AgNP, GO-AgNP için Panc-1 hücre hattına IC₅₀ dozu sırasıyla 0.1 µM, 100 µg/mL, 65 µg/mL, 90 µg/mL olarak bulunmuş ve hücre canlılığında anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Hek-293 hücrelerinde bu grupların sıralamasına göre IC₅₀ dozu sırasıyla şu şekilde bulunmuştur: 2.5 µM, 2.5 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL. Hücre hatlarında IC₅₀ değerleri kıyaslandığında, gempitabinin Hek-293'e göre Panc-1 hücrelerinde daha düşük derişimdeyken etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Nanomalzemelerin etkinliği hücre hatlarına göre kıyaslandığında; 3 nanomalzemenin de Hek-293 hücre hattında daha toksik etki bıraktığı, daha düşük derişimlerdeyken hücre canlılığını anlamlı şekilde azalttığı belirlenmiştir. Sitotoksosite çalışmalarının analizine göre; AgNP, GO-AgNP ve GO'nun ilaç etken maddesinden ziyade ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılabilceği düşünülmektedir.

Quercetin ile yeşil sentez yöntemiyle elde edilen GO-AgNP'lerin GO'ya kıyasla neoplastoma hücrelerinde daha yüksek toksisite gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada LDH salınımı, ROS artışı ve MMP düzeyinde azalma ile bu toksisite bilgisi doğrulanmıştır (Yuan vd., 2017). 2021 yılında yapılan başka bir çalışmada fetal fibroblast hücreleri üzerinde GO-AgNP'lerin artan doza göre hücre büyümesini baskıladığı

belirlenmiştir. Doz uygulanmasının hücre canlılığında belirgin bir azalışa, ROS artışına, DNA hipometilasyonuna sebep olduğu belirlenmiştir (Yuan vd., 2021). Yeşil sentezle elde edilmiş GO–AgNP , saf GO ve saf AgNP'nin J774 tümör hücresi ve Balb/c peritoneal makrofaj hücreleri üstünde uygulanması sonucu sitotoksosite ve ROS üretimini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışma yapılmıştır. Sitotoksitenin değerlendirmesinde; tüm parametreler içerisinde GO-AgNP grubunun daha güçlü bir toksiste gösterdiği, hücre canlılığında belirgin bir azalma bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca ölçülen ROS miktarının da GO-AgNP grubunda diğerlerine kıyasla belirgin şekilde yüksek olduğu bildirilmiştir (Luna vd., 2016). Yapılan başka bir çalışmada rGO–AgNP, saf GO, saf rGO, saf AgNP ve GO–AgNP ile MCF-7 kanser hücreleri üzerinde sitotoksosite ve kök hücre benzeri özellikler açısından kıyaslanmıştır. IC₅₀ dozları şu şekilde bulunmuştur: AgNP: 30 µg/mL, GO: 60 µg/mL, GO–AgNP: ~20 µg/mL, rGO–AgNP: ~10 µg/mL. Kök hücre genleri olan SOX2, OCT4, NANOG genlerinde anlamlı düzeyde azalmaya neden olarak nanomalzemelerin kök hücreleri hedef aldığı izlenimini oluşturmuştur (Vimalanathan vd.,2025).

Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'ler özellikle son dönemde pek çok antikanser çalışmanın odağı haline gelmiştir. AgNP'ler kanser hücrelerine uygulandığında, bu hücrelerde ROS üretimini indükleyerek mitokondrinin disfonksiyonuna neden olmaktadır. Bu olay hücrenin apoptoza girişini tetiklemektedir. Jeyaraj ve arkadaşlarının MCF-7 hücrelerinde yeşil sentezle elde edilen AgNP'leri uygulaması sonucunda, bu hücrelerde apoptoz sürecinin hızlandığı ve buna bağlı olarak da antikanser etki gösterdiği bildirilmiştir (Jeyaraj vd.,2013). Benzer bir çalışma *Euphorbia retusa* bitkisi kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin MCF-7 hücre hattı üzerinde uygulanmasıdır. Bu çalışmada sentez kısmında farklı bir bitki kullanılsa da sitotoksik etkinin ROS üretimine bağlı olarak gerçekleştiği gösterilmektedir (Al-Asiri vd., 2024). Zhen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Ginkgo biloba* yaprak özütü kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin HeLa ve SiHa hücrelerinde ROS üretimini artırarak mitokondriyal disfonksiyona neden olduğu, sitokrom C salınımını tetiklediği, kanserde ekspresyon düzeyi artan Bcl-2 geninin seviyesini aşağı yönde etkilediği, bunun zıttı olarak Bax geni ekspresyon seviyesini yukarı yönde etkilediği analiz edilmiştir. Bcl-2 ve Bax geninin homeostazı apoptozla ilişkili olduğu için, bu doz uygulaması sonrası hücrelerin apoptoza göçü sağlanmıştır. Kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivasyonu sağlanarak antikanser etkileri açığa çıkarılmıştır (Xu vd., 2020). Benzer şekilde *Nepeta bracteata*

Benth çiçeği özütü kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin SK-BR-3 meme kanseri hücreleri üzerinde uygulanması sonucu proapoptotik bir gen olan Bak1 geninin ifade düzeyini artırdığı, antiapoptotik bir gen olan Bcl-x geninin ifade düzeyini düşürdüğü; kaspaz-3 aktivasyonunu tetikleyerek apoptoz yolunu aktive ettiği sonucuna varılmıştır (Xiong vd., 2024). Genel olarak yapılan çalışmalarda ROS üretimi, ilaç direncinin azaltılması, VEGF kaynaklı anjiyogenez sürecinin inhibisyonunu etkilemesi, apoptoz, otofaji vb birçok fizyolojik süreç üzerinden yeşil sentezli AgNP'lerin antikanser etkileri teyit edilmiştir (Arshad vd., 2024).

Grafen oksit (GO) geniş yüzey alanına sahip olması, yapısında fonksiyonel grupları barındırması ve bu sayede yüzeylerinin modifiye edilebilir özellik göstermesi nedeniyle son dönemde kanser alanında yapılan birçok araştırmada kullanılmıştır. Braham ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada GO–klorokin (GO–Chl) nanokonjugatlarının A549 insan akciğer kanseri hücrelerinde uygulanması sonucu DNA hasarına yol açtığı, p62/SQSTM1 birikimine bağlı olarak otofajik akışın bozulduğu ve bu durumun hücreleri nekroptotik ölüme götürdüğü bildirilmiştir (Arya vd., 2025). Başka bir çalışma MG-63 ve K7M2 osteosarkom hücre hatlarında GO uygulanmasıyla yapılmış olup bu uygulamanın otofaji markerları olan LC3-I/II ve beclin-1 'de anlamlı bir değişim oluşturduğu ek olarak apoptoza geçiş sürecini temsil eden BAX/Bcl-2 oranını artırdığı belirlenmiştir (Tang vd., 2018). Diğer bir çalışmada CeO₂–Ag/GO kompozit nanopartiküller kolorektal kanser hücre hattına uygulanmış ve anjiyogenez ve apoptoz süreçlerinde görevli genlerin ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Apoptozu aktive eden genlerin seviyesinde artışa, anjiyogenezde görev alan genlerin seviyelerinde ise anlamlı bir düşüşe neden olarak proliferasyonu baskıladığı bildirilmiştir (Tamtaji vd., 2024).

Genel anlamda GO tabanlı malzemeler, geniş yüzey alanları sayesinde yüksek ilaç yükleme kapasitesi göstermektedir. Bunun yanı sıra pH-duyarlı sistemler olmaları, hücre içi ilaç taşıma sistemlerinde kullanılabilirlikleri açısından önemli bir bulgudur. NIR emilimi vasıtasıyla fototermal terapi uygulamalarına elverişli olmaları ve biyogörüntüleme yetileri sayesinde hem antikanser etki sağlarken hem de kanser araştırmalarında ilaç taşıyıcı sistem olarak potansiyel materyal olarak değerlendirilebilmektedirler (Liu vd., 2021).

Çalışmamızda anjiyogenez, EMT, apoptoz ve ilaç direncinde etki gösterdiği bilinen kanser genlerinin ekspresyon düzeyleri RT-PCR analizi ile incelenmiştir. Panc-1

hücre hattında gempitabin, GO, AgNP, GO-AgNP ve bu nanomateryallerin gempitabin ile kombine hali MTT testi ile belirlenen IC₅₀ dozlarında uygulanmıştır. İnkübasyon süresi tamamlanan hücrelerden RNA materyalleri izole edilmiştir. RT-PCR deneyinde kullanılmak üzere RNA örneklerinden cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. RT-PCR metodu; her bir doz grubu için 4 tekrarlı olacak şekilde uygulanmış ve elde edilen CT verileri 2- $\Delta\Delta$ Ct normalizasyon yöntemiyle analiz edilmiştir. Kontrole göre hedef genlerin ekspresyon düzeyleri β -Actin housekeeping genine göre hesaplanmış ve Graphpad Prism programı kullanılarak istatistiksel analizler yapılmış ve grafiğe dökülmüştür. MMP2, TIMP2, Bcl-2, Bax, FLT-1 (VEGFR-1), VEGFA, VEGFR-2 genlerinin mRNA düzeyindeki değişiklikleri incelenmiştir.

Programlanmış hücre ölümü olarak da bilinen apoptoz sürecinin düzenleyici proteinlerinden olan Bax (Bcl-2 ilişkili X protein), normal şartlarda sitoplazma içerisinde inaktif olarak yer alırken, hücrede gerçekleşen stres koşullarında aktif formuna dönüşerek mitokondriyal dış zar üzerindeki geçirgenliğin düzeyini artırarak sitokrom c molekülünün salınımını sağlamaktadır. Bu salınım, apoptozun başlamasını tetiklediği için, Bax proapoptotik proteinler arasında sınıflandırılmaktadır. Sitokrom c molekülünün mitokondriden sitoplazmaya geçişi, kaspazlar üzerinde etkili olarak bir kaskadı oluşturur ve bu sayede programlı hücre ölümü başlamaktadır (Czabotar vd., 2014). Çalışmamızda, gempitabin uygulanan grupta Bax geni açısından kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Bu noktada Panc-1 hücreleri üzerindeki kemoterapi rejimi etkinliğini; apoptoz süreci üzerinden oluşturmadığı sonucu düşünülmektedir. Literatürde pankreas kanseri üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, BXPC-3 hücre hattında gempitabin uygulamasının Bax gen ekspresyonunu azaltırken Bcl-2 gen ekspresyonunu ise arttırdığı bildirilmiştir (Wang vd., 2015). Bu noktada, gempitabin rejimi pankreas kanseri için standart tedavi olarak uygulanmış olunsada, hücre türlerine göre farklı yanıtlar göstermektedir. Çalışmamızda gempitabin uygulaması gen ifadesinde anlamlı bir farklılık oluşturmazken, Wang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada gempitabin antiapoptotik bir etki bırakmıştır.

Bax gen ekspresyonunu incelediğimiz GO, Gempitabin+GO, ve AgNP gruplarında kontrole kıyasla ekspresyon seviyelerinin downregüle olduğu gözlemlenmiştir. Bahsi geçen doz grupları Panc-1 hücrelerinde apoptozu Bax geni üzerinden baskılayabilmektedir. Literatürde grafen oksit uygulanarak Bax gen

ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, HepG2 hepatosellüler kanser hücreleri üzerinde doza ve süreye bağlı GO uygulamasının Bax gen ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (Loutfy vd., 2017). GO'nun Bax gen ekspresyonu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada benzer sonuçlara ulaşılmıştır. HT-29, HeLa ve MCF-7 hücreleri üzerinde doz uygulaması sonucunda bax, kaspaz-3 ve kaspaz-9 seviyelerini upregüle ettiği; dolayısıyla apoptozun aktive edildiği sonucu çıkarılmıştır (Hatshan vd., 2023). Literatürde yer alan mesane kanseri hücreleri üzerinde AgNP uygulamasının Bax gen ekspresyonuna etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, bu genin seviyesinde anlamlı bir upregülasyon olduğu bildirilmiştir. Antiapoptotik Bcl-2 gen ekspresyon seviyesi ise downregüle olduğu gözlemlenerek bu hücre hattında AgNP doz uygulamasının zamana ve doza bağlı olarak apoptozu aktive ettiği düşünülmektedir (Sajedeh vd.,2022). Çalışmamızda diğer grupların aksine, GO-AgNP, ve özellikle Gemsitabin+GO-AgNP gruplarında Bax gen ekspresyonunun anlamlı şekilde arttığı gözlemlenmektedir. Bu sonuca göre, sentezlediğimiz GO-AgNP'lerin proapoptotik yolağı Bax geni üzerinden aktive edilebilmektedir. Diğer taraftan; gemsitabin ile kombine halde hücrelere uygulandığı anda, sinerjistik bir etki oluşturarak bu genin ekspresyon seviyesini daha belirgin bir şekilde arttırdığı ve hücrelerin apoptoza geçişinde etkili olduğu düşünülmektedir. Literatüre bakıldığında over kanseri üzerinde yapılan bir çalışmada rGO-Ag bileşiklerinin hücreye uygulanması sonucunda Bax geninin ekspresyon seviyesini arttırdığı sonucu, mevcut çalışmamızda elde ettiğimiz verilerle uyumludur (Hatshan vd., 2018).

GO-AgNP'nin çalışmamızda da olduğu gibi kemoterapi ile kombine halde verildiği bir çalışmada; kemoterapi rejimi olarak sisplatin rGO-AgNP ile birlikte HeLa hücreleri üzerinde uygulanmış ve içerisinde Bax geninin de yer aldığı birçok pro-apoptotik genin ekspresyon seviyesinde artışın olduğu bildirilmiştir (Thapa vd., 2017)

Tüm bu veriler incelendiğinde sentezlediğimiz nanomalzemelerin sistematik tedavi rejimleriyle kombine halde uygun doz ve sürelerde uygulanmasıyla Bax geni üzerinden apoptotik süreci ve yanıtı arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Bcl-2 apoptotik yolağın intrinsik kısmında rol alan ve antiapoptotik işlev gösteren proteinlerdendir. Bax proteininin aksine Bcl-2, mitokondri zar geçirgenliğini azaltarak zar bütünlüğünü aktive eder. Bu sayede sitokrom c salınımı durdurularak kaskad zincirinin oluşumu, dolayısıyla apoptotik hücre ölümü engellenmiş olmaktadır. Kanser hücrelerinde

Bax seviyesinin azalması Bcl-2 seviyesinin artması, apoptozun baskılanması ve buna bağlı olarak dolaylı yoldan kemorezistans oluşumu ile ilişkilidir (Youle vd., 2008). Çalışmamızda gempitabin ve GO uygulanan gruplarda; Bcl-2 gen ekspresyon seviyesi incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir. AgNP grubunda da kontrole göre anlamlı bir değişiklik yokken, Gempitabin+GO ve Gempitabin+AgNP gruplarında Bcl-2 ekspresyon seviyesi anlamlı düzeyde upregüle olmuştur. Literatürde yer alan bir çalışmada; meme kanseri üzerinde gempitabin-AgNP uygulamasının, çalışma bulgularımıza kıyasla Bcl-2 gen ekspresyonunu downregüle ettiği rapor edilmiştir (Karuppaiah vd., 2019). Literatürde yer alan diğer çalışmalar incelendiğinde Bcl-2 ekspresyonunun downregüle edildiği görülmektedir. Fakat bu çalışmalar A2780, HeLa, MCF-7 gibi hücre gruplarında yapılmıştır, ekspresyon seviyesindeki farklılık hücre türü farklılığından kaynaklanıyor olabilmektedir. Bunun yanı sıra ilaç izoformlarından kaynaklanan farklılık veya nanomateryallerin spesifik karakteristik özelliklerinin de etkiliyor olabileceği düşünülmektedir. Diğer doz gruplarımız olan GO+AgNP ve Gempitabin+GO-AgNP’de Bcl-2 gen ekspresyon seviyesi anlamlı biçimde downregüle olmuştur. Bu bulgular literatürle karşılaştırıldığında, grafen oksit nanokatmanlarının etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada yer alan verilerde Bcl-2 seviyesinde azalma, Bax seviyesinde ise artma gözlemlenmiştir. Bu bilgi, yapmış olduğumuz çalışmamızın GO-AgNP grubuna ait Bax ve Bcl-2 gen ekspresyon seviyelerine ait verilerle uyumludur (Hatshan vd., 2023). Tamtaji ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da benzer şekilde kombinasyon dozların sinerjistik etki göstererek kolorektal kanser hücrelerinde Bcl-2 seviyelerini downregüle ettiği bildirilmiştir (Tamtaji vd., 2024).

Anjiyogenez, tüm hücre türlerinde damar oluşumundan sorumlu önemli bir fizyolojik süreçtir. Bu süreçte yer alan genler arasında VEGFA ve reseptörleri yer almaktadır. Bu genler, hücre stres koşullarında seviyesi arttırarak anjiyogenez sürecini tetikleyen bir fonksiyon göstermektedirler. Kanserde bu genlerin ekspresyon düzeyleri normale kıyasla aşırı düzeydedir ve bu da kanser hücrelerinin metastazında, dolaylı olarak da kemorezistansında destekleyici niteliktedir (Ferrara vd., 2004). Çalışmamızda Panc-1 hücrelerinde gempitabin, GO, GO-AgNP, gempitabin+GO-AgNP gruplarında VEGFA gen seviyesi anlamlı şekilde downregüle olmuştur. Diğer gruplarda ise kontrole kıyasla anlamlı bir değişim bulunmamıştır. Kuwahara ve arkadaşlarının pankreas kanseri hücrelerinde gempitabin uygulamasının VEGF gen seviyesini downregüle ettiği

bildirilmiştir (Kuwahara vd., 2004) GO temelli bir çalışmada ise GO moleküllerinin VEGF'e bağlanarak işlevini inhibe ettiği ve buna bağlı olarak antianjiyonik etki gösterdiği bulgusuna ulaşılmıştır (Lai vd., 2016) Literatürde kompozit yapıların kullanıldığı bir çalışmada rGO/Ag nanokompozit malzemeleri epidermis hücrelerinde in vitro olarak çalışılmış ve VEGF reseptörünü inhibe ederek anjiyogenez sürecini baskıladığı gösterilmiştir (Zielińska-Górska vd., 2022).

Anjiyogenez sürecinde rol alan VEGFR-2 seviyesi; gemitabin, GO, AgNP, GO-AgNP, gemitabin+GO-AgNP doz gruplarında anlamlı düzeyde downregüle olmuştur. Bu bulgular literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında, uyumlu olduğu saptanmıştır. Tek başına gemitabin uygulamasının araştırıldığı bir çalışmada HUVEC hücreleri üzerinde gemitabin doz uygulamasının, VEGFR-2 mRNA ve protein seviyesinde anlamlı bir downregülasyona neden olmuştur (Gunji vd.,2023). Pankreas kanserinde yapılan bir çalışmada gemitabin kombine halde VEGFR inhibitörüyle birlikte hücrelere uygulanmış olup bunun sonucunda VEGFR-2 seviyelerinde anlamlı bir düşüş olduğu belirlenmiştir (Yokoi vd., 2006). GO-AgNP'lerin insan nöroblastoma kanser hücreleri üzerinde uygulanması, VEGF/VEGF-R yolağını dolaylı yoldan inhibe ederek anjiyogenez baskıladığı ve antikanser etki gösterdiği belirlenmiştir (Yuan vd., 2017). Çalışmamızdaki VEGFR-2 bulguları, kapsamlı olarak değerlendirildiğinde tek başına gemitabin uygulamasının, Panc-1 hücre hattı üzerinde VEGFR-2 ekspresyonunu baskıladığı, gemitabin ile kombine halde verilen nanomateryalleri içeren gruplarda ise bu baskılama düzeyinin arttığı gözlemlenmektedir.

FLT-1 geni, çalışmamızda yer alan tüm gruplarda kontrole kıyasla anlamlı düzeyde azalmıştır. Bu azalmanın anlamlılık düzeyi, gemitabin+ GO-AgNP grubunda daha belirgin düzeydedir. Gemitabin, tek başına kullanıldığında anjiyogenezde yer alan genler üzerinde downregülasyon gösterirken nanomalzemelerin uygulandığı grupta bu etki daha yüksektir. Kemoterapi ile nanomateryalin kombine halde verildiği gruplarda sinerjistik etki seviyesi daha güçlüdür. Bulgularımızın literatürde yer alan çalışmalarla karşılaştırıldığında uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda kontrole göre farklı doz gruplarının MMP2 gen ekspresyonu üzerindeki etkisi analiz edilerek kanser hücrelerinde invazyon kapasitesinin yorumlanması sağlanmıştır. Sonuç verilerine göre gemitabin grubunun kontrol grubuna kıyaslandığında ekspresyon seviyesinde anlamlı derecede artış gözlemlendiği

belirlenmiştir. Bu sonuç kemoterapinin ekstrasellüler matriks yıkımını indükleyerek kanser hücrelerinde invazyon yeteneğini arttırabildiği şeklinde yorumlanabilir. GO grubunda, kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Gemsitabin+GO ve Gemsitabin+AgNP grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış mevcuttur. Bu gruplardaki ifade artışı, mevcut kombinasyonların hücrelerde invaziv fenotip oluşumunda etkili olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde; pankreas kanserinde gemsitabin uygulamasının MMP-2,9 düzeylerinde yükselmeye neden olduğu görülmektedir (Bloomston vd., 2002). Bu artışın hücrelerde ilaca karşı oluşturulan dirençle ilişkili olabileceği düşünülebilir. AgNP grubunu kontrole kıyasla analiz edildiğinde, MMP2 ekspresyon seviyesini anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur. GO-AgNP grubunun MMP2 seviyesinde kontrole kıyasla azalma mevcutken Gemsitabin+GO-AgNP grubunun ekspresyon seviyesindeki sinerjistik etkinin daha anlamlı düzeyde downregüle olduğu görülmektedir. Literatürde yer alan bir çalışmada; redüklenmiş grafen oksit nanokompozitlerinin JNK/SMAD4/MMP2 sinyal yolu üzerinden MMP2 ekspresyonunu baskıladığı bildirilmiştir. Bu sonuç, çalışmamızda yer alan GO-AgNP grubuna ait MMP2 gen düzeyinin verileriyle uyumludur (Kim vd., 2023). GO temelli nanoyapıların, anti MMP yanıtlar oluşturarak EMT sürecini baskılayabileceği düşünülmektedir.

MMP2'nin doğal inhibitörü olan TIMP2; MMP2'nin aktivitesini düzenleyerek EMT homeostazının sağlamaktadır. Gemsitabin+AgNP grubunda gözlemlenen anlamlı düzeydeki artış, uygulanan dozun ECM yapısını stabilize edici etki gösterdiğini; buna bağlı olarak antiinvazyon gerçekleştiği düşünülmektedir. Literatürde yer alan çalışmalarla kıyaslandığında, bu doz grubuna ait elde edilen gen ekspresyon sonucu uyumludur. Öte yandan, diğer doz gruplarında TIMP2 gen ekspresyon düzeyinin downregüle olması, literatürde yer alan çalışmalarla uyumludur. Peeney ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada TIMP2'nin kanserdeki rolünün hem tümör baskılayıcı hem de daha az ölçüde tümör promotör işlevlerinde çelişkili verilerinin bulunduğu bildirilmiştir. Normal koşullarda kararlı bir yapıya sahip olmasına rağmen son yapılan çalışmalarda TIMP2'nin TIMP2'nin hücre stresine bağlı bir gen ürünü olduğunu ve biyolojik aktivitesinin hücre dışı transkripsiyon sonrası modifikasyonlar tarafından belirlenebileceğini saptanmıştır (Peeney vd., 2022).

Çalışmamızda yer alan grupların MMP2 protein düzeylerinin analiz edildiği western blot çalışmasına göre kontrol grubuna kıyasla GO-AgNP ve gemitabin+GO-AgNP gruplarında MMP2 protein seviyesinde azalma mevcuttur. MMP2 protein seviyesi azalmanın; bu maddelerin EMT'yi baskılayarak anti-metastatik etkiye sahip olabileceğine işaret etmektedir. Elde edilen sonuç, proteinlere ait bantlarla ve RT-PCR ile belirlenen MMP2 gen ekspresyon seviyesi ile uyumludur. GO-AgNP, tek başına uygulandığında kontrol grubuna kıyasla MMP2 protein seviyesinde azalma etkisi gösterirken; gemitabin ile kombine halde uygulandığında, sinerjistik bir etki oluşturarak MMP2 protein düzeyini belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Sonuç olarak of *Laurus nobilis* (defne) bitkisinin stigma bölümlerinden elde edilen ekstraktın içeriğinde yer alan çeşitli indirgeyici gruplar aracılığıyla Ag⁺ iyonları indirgenerek AgNP sentezinin gerçekleştirilmiştir. Bu esnada; nanopartikülün stabilizasyonunu artırma potansiyelindeki GO ile kompozit yapı sağlanmıştır. Hücre doz uygulaması için yüksek verimde elde edilen GO-AgNP, AgNP sentezinde bir diğer grup olarak tek başına GO eklenmiştir. Pankreas kanserinin rutinde kullanılan en yaygın kemoteröpotik ajanı olan gemitabin, bu gruplara entegre edilerek yeni alt gruplar oluşturulmuş ve bu sayede kemoterapi ile birlikte nanomateryallerin sinerjistik etkileri test edilmiştir. Pankreas kanseri hücre hattı Panc1 ve sağlıklı/normal hücre hattı Hek-293 hücrelerinde doz grupları uygulanarak in vitro sitotoksite testine tabi tutulmuştur. Bu test sonucunda elde edilen verilere göre GO, Hek-293 hücrelerinde Panc1 hücrelerine oranla daha toksik bir etki göstermektedir. Buna bağlı olarak GO-AgNP'nin de toksisitesi yüksektir. Sonraki basamakta ise Panc1 hücrelerinde belirlenen IC₅₀ doz değerlerinin uygulaması sonucunda hücrelerin RNA materyali elde edilmiş, RT-PCR sürecinde kullanılmak üzere cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Hedef genlerin seviyelerinin analiz edilebilmesi amacıyla RT-PCR metodu uygulanmış ve anjiyogenez, apoptoz, EMT, ilaç direnci gibi fizyolojik süreçler hakkında yorum yapılmıştır. Anti-apoptotik genlerden Bcl-2, anjiyogenez gen ve reseptörlerinden VEGFA, VEGFR-2, FLT-1 genlerinin seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde aşağı yönde etkilediği, pro-apoptotik genlerden olan Bax genin ifadesini yukarı yönde etkilediği sonucuna varılmıştır. Tüm veriler analiz edildiğinde, pankreas kanserinin standart tedavi rejimlerinden olan kemoterapinin GO-AgNP ile kombine halde uygulanması sonucunda, diğer gruplara oranla antikanser etki bakımından daha pozitif sonuçları verdiği görülmektedir. Pankreas kanserinin karakteristik desmoplazmik tümör mikroçevresi, ilaca karşı bariyer oluşturarak ilaç direncine neden olmaktadır. Bu da tedavi etkinliğini düşürerek metastaz oluşumunu sağlamaktadır. Dolayısıyla pankreas kanserli hastaların sağ kalım verileri önündeki en önemli handikap, ilaç direncinden kaynaklanmaktadır. Bu tez çalışmasında, mevcut sorunun üzerine yoğunlaşarak yeşil sentezle elde edilen ve GO ile stabilizasyonu artırılan GO-AgNP 'lerin kemoterapi ile birlikte pankreas kanserinde sinerjistik etkisi araştırılmıştır. Bu etki apoptoz, anjiyogenez, EMT gibi kanserin önemli parametrelerini

içeren genler üzerinde değerlendirme yapılarak analiz edilmiştir. Gemsitabin+ GO-AgNP grubunda, apoptozu indükleyen genlerin seviyelerindeki artışa karşı, anjiyogenez ve EMT sürecini etkileyen genlerin seviyesindeki azalışın pankreas kanseri özelinde pozitif yönde bulgular elde etmemizi sağlamıştır.

5.2 Öneriler

Literatürde verilen mevcut çalışmalar incelendiğinde, pankreas kanserinde GO-AgNP'nin araştırılmadığı aşikardır. Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre, GO-AgNP pankreas kanser hücrelerinde toksik etki göstermesine ek olarak sağlıklı hücre hattında daha düşük doz seviyesinde toksik etki göstermesi, bu malzemenin doğrudan ilaç etken maddesi olarak kullanımından ziyade; ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilmesi düşüncesini akla getirmektedir. Başka bir alternatif ise; sentezlenen GO-AgNP'nin PEG, hyalüronik asit benzeri biyoyumluluğu arttıran yapılarla kaplanarak hücre içerisine verilebileceği yönündedir. Bu sayede, GO ile hücre içerisindeki stabilitesi artan AgNP'nin biyoyumluluğunun da sağlanabileceği düşünülebilir.

6. KAYNAKLAR

- Acher, A. W., Bleicher, J., Cannon, A., ve Scaife, C., 2018, Advances in surgery for pancreatic cancer. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, 9, 1037-1043. <https://doi.org/10.21037/jgo.2018.05.05>
- Adamska, A., Elaskalani, O., Emmanouilidi, A., Kim, M., Abdol Razak, N. B., Metharom, P., ve Falasca, M., 2018, Molecular and cellular mechanisms of chemoresistance in pancreatic cancer. İçinde *Advances in Biological Regulation* (C. 68, ss. 77-87). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jbior.2017.11.007>
- Adeyemi, J. O., Oriola, A. O., Onwudiwe, D. C., ve Oyedeji, A. O., 2022, Plant Extracts Mediated Metal-Based Nanoparticles: Synthesis and Biological Applications. İçinde *Biomolecules* (C. 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biom12050627>
- Adham, M., ve Perinel, J., 2019, Palliative therapy in pancreatic cancer—palliative surgery. İçinde *Translational Gastroenterology and Hepatology* (C. 4). AME Publishing Company. <https://doi.org/10.21037/tgh.2019.04.03>
<https://doi.org/10.3390/cancers14010019>
- Akhter, M. S., Rahman, M. A., Ripon, R. K., Mubarak, M., Akter, M., Mahbub, S., Al Mamun, F., ve Sikder, M. T., 2024, A systematic review on green synthesis of silver nanoparticles using plants extract and their bio-medical applications. İçinde *Heliyon* (C. 10). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29766>
- Al-Asiri, W. Y., Alqahtani, A. S., Alayafi, A. A., Sabir, J. S. M., ve Al-Hossain, A., 2024, *Cytotoxic and apoptotic effects of green synthesized silver nanoparticles (EU-AgNPs) via Euphorbia retusa on MCF-7 human breast cancer cells*. *Cell Biochemistry and Function*, 42(5), 361-375. <https://doi.org/10.1002/cbf.4113>
- Allison, R. D., Tong, X., Moorman, A. C., Ly, K. N., Rupp, L., Xu, F., Gordon, S. C., ve Holmberg, S. D., 2015, Increased incidence of cancer and cancer-related mortality among persons with chronic hepatitis C infection, 2006-2010. *Journal of Hepatology*, 63, 822-828. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.021>
- Almatroudi, A. (2020). Silver nanoparticles: synthesis, characterisation and biomedical applications. *Open life sciences*, 15, 819-839. <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0094>
- Al-Turfı, S. M. Z., Al-Hadrawy, S. M. J., Mohammed, A. J., ve Jabal, C. B., 2022, Evaluation of the Effect of Alcoholic Extract of *Laurus Nobilis* Leaves on Blood Biochemical Parameters and Histological Changes in the Liver and Kidney among Female Wistar Rats Treated with Depakene (Sodium Valproate). *Archives of Razi Institute*, 77, 981-989. <https://doi.org/10.22092/ARI.2022.357272.2011>
- Andoh, V., Ocansey, D. K. W., Chen, L., Chen, K., Mao, F., Naveed, H., ve Wang, N., 2024, The Advancing Role of Nanocomposites in Cancer Diagnosis and Treatment. İçinde *International Journal of Nanomedicine* (C. 19, ss. 6099-6126). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/IJN.S471360>

- Arafa, A., Eshak, E. S., Abdel Rahman, T. A., ve Anwar, M. M., 2020, Hepatitis C virus infection and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis. İçinde *Cancer Epidemiology* (C. 65). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2020.101691>
- Ariffin, F., Subramaniam, H., Nazif Aziz, A., Asari, A., Maulidiani, M., Huda, N., ve Wahab, A., 2025, Evaluation of phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of *Laurus nobilis* leaf extract. İçinde *Malays. J. Anal. Sci* (C. 29).
- Arshad, F., Naikoo, G. A., Hassan, I. U., Chava, S. R., El-Tanani, M., Aljabali, A. A., ve Tambuwala, M. M., 2024, Bioinspired and green synthesis of silver nanoparticles for medical applications: a green perspective. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(6), 3636-3669. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04719-z>
- Arya, B. D., Mittal, S., Joshi, P., Pandey, A. K., Ramirez-Vick, J. E., Gupta, G., ve Singh, S. P., 2025, *Graphene oxide-chloroquine conjugate induces DNA damage in A549 lung cancer cells through autophagy modulation*. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 16, 316-332. <https://doi.org/10.3762/bjnano.16.24>
- Ashique, S., Upadhyay, A., Hussain, A., Bag, S., Chaterjee, D., Rihan, M., Mishra, N., Bhatt, S., Puri, V., Sharma, A., Prasher, P., Singh, S. K., Chellappan, D. K., Gupta, G., ve Dua, K., 2022, Green biogenic silver nanoparticles, therapeutic uses, recent advances, risk assessment, challenges, and future perspectives. İçinde *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (C. 77). Editions de Sante. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103876>
- Asif, M., Yasmin, R., Asif, R., Ambreen, A., Mustafa, M., ve Umbreen, S. (2022). *Green synthesis of silver nanoparticles (AgNPs), structural characterization, and their antibacterial potential*. *Dose-Response*, 20(1), Article 15593258221088709. <https://doi.org/10.1177/15593258221088709>
- Assarzaghan, N., Babanianmansour, S., ve Shi, J., 2022, Updates in the Diagnosis of Intraductal Neoplasms of the Pancreas. İçinde *Frontiers in Physiology* (C. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.856803>
- Aydemir, D., Öztürk, K., Arslan, F. B., Çalis, S., ve Ulusu, N. N., 2024, Gemcitabine-loaded chitosan nanoparticles enhanced apoptotic and ferroptotic response of gemcitabine treatment alone in the pancreatic cancer cells in vitro. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 397, 9051-9066. <https://doi.org/10.1007/s00210-024-03193-6>
- Bachmann, J., Michalski, C. W., Martignoni, M. E., Büchler, M. W., ve Friess, H. (2006). Pancreatic resection for pancreatic cancer. İçinde *HPB* (C. 8, ss. 346-351). <https://doi.org/10.1080/13651820600803981>
- Bakridin, Z., Ilnur, A., Azamat, N., Markhabo, R., Gulsara, A., Zavqiddin, R., Khudoysshukur, B., Azamat, N., Olimjon, J., Sardor, Z., Farkhod, T., Akhror, A., ve Sardorbek, A., 2025, Lipid Nanoparticles Carrying Gemcitabine and Hyaluronidase for Simultaneous Targeting Of Stroma and Pancreatic Cancer Cells: To Overcome Drug Resistance and Improve Permeability: A Review. *Journal of Nanostructures*, 15, 219-228. <https://doi.org/10.22052/JNS.2025.01.021>
- Barani, M., Mir, A., Roostae, M., Sargazi, G., ve Adeli-Sardou, M., 2024, Green synthesis of copper oxide nanoparticles via *Moringa peregrina* extract incorporated in graphene oxide:

- evaluation of antibacterial and anticancer efficacy. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. <https://doi.org/10.1007/s00449-024-03077-2>
- Bennett, L., Abeywardena, M., Burnard, S., Forsyth, S., Head, R., King, K., Patten, G., Watkins, P., Williams, R., Zabaras, D., ve Lockett, T., 2013, Molecular size fractions of bay leaf (*Laurus nobilis*) exhibit differentiated regulation of colorectal cancer cell growth in vitro. *Nutrition and Cancer*, 65, 746-764. <https://doi.org/10.1080/01635581.2013.796999>
- Benzing, C., Lam, H., Tsang, C. M., Rimmer, A., Arroyo-Berdugo, Y., Calle, Y., ve Wells, C. M., 2019, TIMP-2 secreted by monocyte-like cells is a potent suppressor of invadopodia formation in pancreatic cancer cells. *BMC Cancer*, 19. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6429-z>
- Berrington, D., ve Lall, N., 2012, Anticancer activity of certain herbs and spices on the cervical epithelial carcinoma (HeLa) cell line. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/564927>
- Bindhu, M. R., Sathe, V. G., ve Umadevi, M., 2015, SERS Activities of Green Synthesized Silver Nanoparticles. *Journal of Cluster Science*, 26, 1451-1461. <https://doi.org/10.1007/s10876-014-0825-y>
- Biswas, A., Vanlalveni, C., Adhikari, P. P., Lalfakzuala, R., ve Rokhum, L., 2018, *Green biosynthesis, characterisation and antimicrobial activities of silver nanoparticles using fruit extract of Solanum viarum*. *IET Nanobiotechnology*, 12(7), 933-938. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.0050>
- Biswas, A., Bayer, I. S., Biris, A. S., Wang, T., Dervishi, E., ve Faupel, F., 2012, Advances in top-down and bottom-up surface nanofabrication: Techniques, applications - future prospects. İçinde *Advances in Colloid and Interface Science* (C. 170, ss. 2-27). <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.11.001>
- Bloomston, M., Zervos, E. E., ve Rosemurgy, A. S., 2002, *Matrix metalloproteinases and their role in pancreatic cancer: A review of preclinical studies and clinical trials*. *Annals of Surgical Oncology*, 9(7), 668-674. <https://doi.org/10.1007/BF02574483>
- Bockman, D. E., 1997, Anatomy and Histology of the Pancreas. *Microscopy Research and Technique*, 37, 509-519. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19970601\)37:5/6<509::AID-JEMT13>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19970601)37:5/6<509::AID-JEMT13>3.0.CO;2-U)
- Bokhari, S. M. Z., ve Hamar, P., 2023, Vascular Endothelial Growth Factor-D (VEGF-D): An Angiogenesis Bypass in Malignant Tumors. İçinde *International Journal of Molecular Sciences* (C. 24). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms241713317>
- Bonanno, L., Favaretto, A., ve Rosell, R., 2014, Platinum drugs and DNA repair mechanisms in lung cancer. *Anticancer Research*, 34, 493-501.
- Bugazia, D., Al-Najjar, E., Esmail, A., Abdelrahim, S., Abboud, K., Abdelrahim, A., Umoru, G., Rayyan, H. A., Abudayyeh, A., Al Moustafa, A. E., ve Abdelrahim, M., 2024, Pancreatic ductal adenocarcinoma: the latest on diagnosis, molecular profiling, and

- systemic treatments. İçinde *Frontiers in Oncology* (C. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1386699>
- Cai, J., Chen, H., Lu, M., Zhang, Y., Lu, B., You, L., Zhang, T., Dai, M., ve Zhao, Y., 2021, Advances in the epidemiology of pancreatic cancer: Trends, risk factors, screening, and prognosis. İçinde *Cancer Letters* (C. 520, ss. 1-11). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.06.027>
- Capasso, M., Franceschi, M., Rodriguez-Castro, K. I., Crafa, P., Cambiè, G., Miraglia, C., Barchi, A., Nouvenne, A., Leandro, G., Meschi, T., De' Angelis, G. L., ve Di Mario, F., 2018, Epidemiology and risk factors of pancreatic cancer. İçinde *Acta Biomedica* (C. 89, ss. 141-146). Mattioli 1885. <https://doi.org/10.23750/abm.v89i9-S.7923>
- Caputo, L., Nazzaro, F., Souza, L. F., Aliberti, L., De Martino, L., Fratianni, F., Coppola, R., ve De Feo, V., 2017, Laurus nobilis: Composition of essential oil and its biological activities. *Molecules*, 22. <https://doi.org/10.3390/molecules22060930>
- Chin, V., Nagrial, A., Sjoquist, K., O'Connor, C. A., Chantrill, L., Biankin, A. V., Scholten, R. J. P. M., ve Yip, D., 2018, Chemotherapy and radiotherapy for advanced pancreatic cancer. İçinde *Cochrane Database of Systematic Reviews* ,C. 2018, John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011044.pub2>
- Conroy, T., Hammel, P., Hebbar, M., Ben Abdelghani, M., Wei, A. C., Raoul, J.-L., Choné, L., Francois, E., Artru, P., Biagi, J. J., Lecomte, T., Assenat, E., Faroux, R., Ychou, M., Volet, J., Sauvanet, A., Breysacher, G., Di Fiore, F., Cripps, C., Bachet, J.-B., 2018, FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *New England Journal of Medicine*, 379, 2395-2406. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1809775>
- Cragg, G. M., ve Newman, D. J., 2013, Natural products: A continuing source of novel drug leads. İçinde *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* (C. 1830, ss. 3670-3695). <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008>
- Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., ve Adams, J. M., 2014, *Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy*. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 49-63. <https://doi.org/10.1038/nrm3722>
- Dong, W., Li, H., Zhang, Y., Yang, H., Guo, M., Li, L., ve Liu, T., 2011, Matrix metalloproteinase 2 promotes cell growth and invasion in colorectal cancer. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 43, 840-848. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmr085>
- Dong, Y., Li, J., Dai, Y., Zhang, X., Jiang, X., Wang, T., Zhao, B., Liu, W., Sun, H., Du, P., Qin, L., ve Jiao, Z., 2025, A novel nanocarrier based on natural polyphenols enhancing gemcitabine sensitization ability for improved pancreatic cancer therapy efficiency. *Materials Today Bio*, 30. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2025.101463>
- Edge, S. B., ve Compton, C. C., 2010, The american joint committee on cancer: The 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. İçinde *Annals of Surgical Oncology* (C. 17, ss. 1471-1474). <https://doi.org/10.1245/s10434-010-0985-4>
- Eker, F., Duman, H., Akdaşçi, E., Bolat, E., Sarıtaş, S., Karav, S., ve Witkowska, A. M., 2024, A Comprehensive Review of Nanoparticles: From Classification to Application and

- Toxicity. İçinde *Molecules* (C. 29). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/molecules29153482>
- Emran, T. Bin, Shahriar, A., Mahmud, A. R., Rahman, T., Abir, M. H., Siddiquee, M. F. R., Ahmed, H., Rahman, N., Nainu, F., Wahyudin, E., Mitra, S., Dhama, K., Habiballah, M. M., Haque, S., Islam, A., ve Hassan, M. M., 2022, Multidrug Resistance in Cancer: Understanding Molecular Mechanisms, Immunoprevention and Therapeutic Approaches. İçinde *Frontiers in Oncology* (C. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.891652>
- Ferrara, N., Gerber, H.-P., ve LeCouter, J., 2003, *The biology of VEGF and its receptors*. *Nature Medicine*, 9(6), 669-676. <https://doi.org/10.1038/nm0603-669>
- Freelove, R., ve Walling, A. D., 2006, *Pancreatic Cancer: Diagnosis and Management*. <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2006/0201/p485.html>.
- Gottesman, M. M., Fojo, T., ve Bates, S. E., 2002, Multidrug resistance in cancer: Role of ATP-dependent transporters. İçinde *Nature Reviews Cancer* (C. 2, ss. 48-58). European Association for Cardio-Thoracic Surgery. <https://doi.org/10.1038/nrc706>
- Govender, R., Phulukdaree, A., Gengan, R. M., Anand, K., ve Chuturgoon, A. A., 2013, Silver nanoparticles of *Albizia adianthifolia*: The induction of apoptosis in human lung carcinoma cell line. *Journal of Nanobiotechnology*, 11. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-11-5>
- Göktürk Baydar, N., Babalık, Z., Demirci, T., ve Cessur, A., 2025, *Synthesis methods impact silver nanoparticle properties and phenolic compound production in grapevine cell cultures*. *Scientific Reports*, 15, Article 7667. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-85545-7>
- Grigorescu, R. R., Husar-Sburlan, I. A., ve Gheorghe, C., 2024, Pancreatic Cancer: A Review of Risk Factors. İçinde *Life* (C. 14). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/life14080980>
- Gu, Y., Yang, R., Zhang, Y., Guo, M., Takehiro, K., Zhan, M., Yang, L., ve Wang, H., 2025, Molecular mechanisms and therapeutic strategies in overcoming chemotherapy resistance in cancer. İçinde *Molecular Biomedicine* (C. 6). Springer Nature. <https://doi.org/10.1186/s43556-024-00239-2>
- Gunji, M., Sawa, C., Akiyama, M., Mukai, S., Takaki, T., Kang, D., Honda, K., 2023, *Gemcitabine alters sialic acid binding of the glycocalyx and induces inflammatory cytokine production in cultured endothelial cells*. *Medical Molecular Morphology*, 56, 128-137. <https://doi.org/10.1007/s00795-022-00347-4>
- Gurunathan, S., Jeyaraj, M., Kang, M. H., ve Kim, J. H., 2019, Graphene oxide-platinum nanoparticle nanocomposites: A suitable biocompatible therapeutic agent for prostate cancer. *Polymers*, 11. <https://doi.org/10.3390/polym11040733>
- Hammoodi, O. T., Alkhalani, M. A., Alhayani, W. A., Al-Nuaimy, W., ve Tala'a, A. A., 2024, Effects of *Laurus nobilis* Leaf Extract on Healing of Experimentally Induced Wounds in Rabbits. *Veterinary medicine international*, 2024, 2889480. <https://doi.org/10.1155/2024/2889480>

- Hansel, D. E., Kern, S. E., ve Hruban, R. H., 2003, Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer. İçinde *Annual Review of Genomics and Human Genetics* (C. 4, ss. 237-256). <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.4.070802.110341>
- Hartl, D., Leboulleux, S., Hadoux, J., Berdelou, A., Breuskin, I., Guerlain, J., ve Schlumberger, M., 2021, TNM Classification. İçinde *Surgery of the Thyroid and Parathyroid Glands* (ss. 440-446). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-66127-0.00047-8>
- Hasan, S., Taha, R., ve Omri, H. El., 2018, Current Opinions on Chemoresistance: An Overview. *Bioinformation*, 14, 80-85. <https://doi.org/10.6026/97320630014080>
- Hayat, U., Croce, P. S., Saadeh, A., Desai, K., Appiah, J., Khan, S., Khan, Y. I., Kumar, K., ve Hanif, A., 2025, Current and Emerging Treatment Options for Pancreatic Cancer: A Comprehensive Review. İçinde *Journal of Clinical Medicine* (C. 14). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/jcm14041129>
- Hatshan, M. R., Saquib, Q., Siddiqui, M. A., Faisal, M., Ahmad, J., Al-Khedhairi, A. A., Shaik, M. R., Khan, M., Wahab, R., De Matteis, V., ve Adil, S. F., 2023, *Effectiveness of nonfunctionalized graphene oxide nanolayers as nanomedicine against colon, cervical, and breast cancer cells*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9141. <https://doi.org/10.3390/ijms24119141>
- Housman, G., Byler, S., Heerboth, S., Lapinska, K., Longacre, M., Snyder, N., ve Sarkar, S., 2014, Drug resistance in cancer: An overview. İçinde *Cancers* (C. 6, ss. 1769-1792). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cancers6031769>
- Hu, J. X., Lin, Y. Y., Zhao, C. F., Chen, W. B., Liu, Q. C., Li, Q. W., ve Gao, F., 2021, Pancreatic cancer: A review of epidemiology, trend, and risk factors. İçinde *World Journal of Gastroenterology* (C. 27, ss. 4298-4321). Baishideng Publishing Group Co. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i27.4298>
- Hu, X., ve Chen, W., 2021, Role of epithelial-mesenchymal transition in chemoresistance in pancreatic ductal adenocarcinoma. *World Journal of Clinical Cases*, 9, 4998-5006. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i19.4998>
- Hu, X., Saravanakumar, K., Jin, T., ve Wang, M. H., 2019, Mycosynthesis, characterization, anticancer and antibacterial activity of silver nanoparticles from endophytic fungus *talaromyces purpureogenus*. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 3427-3438. <https://doi.org/10.2147/IJN.S200817>
- Hulla, J. E., Sahu, S. C., ve Hayes, A. W., 2015, Nanotechnology: History and future. İçinde *Human and Experimental Toxicology* (C. 34, ss. 1318-1321). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/0960327115603588>
- Ilic, M., ve Ilic, I., 2016, Epidemiology of pancreatic cancer. İçinde *World Journal of Gastroenterology* (C. 22, ss. 9694-9705). Baishideng Publishing Group Co. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i44.9694>
- Islam, M. A., Jacob, M. V., ve Antunes, E., 2021, *A critical review on silver nanoparticles: From synthesis and applications to its mitigation through low-cost adsorption by biochar*. *Journal of Environmental Management*, 281, Article 111918. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111918>

- Ito, A. M., Ghosh, B., ve Biswas, S., 2025, Application of Graphene Oxide in Tumor Targeting and Tumor Therapy. İçinde *Methods in Pharmacology and Toxicology: C. Part F51* (ss. 1-26). Humana Press Inc. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4374-7_1
- Jaradat, N., Abualhasan, M., Hawash, M., Qadi, M., Al-Maharik, N., Abdallah, S., Mousa, A., Zarour, A., Arar, M., Sobuh, S., Hussein, F., Issa, L., Jaber, A., Hamduni, H., ve Alshahatit, S., 2023, Chromatography analysis, in light of vitro antioxidant, antidiabetic, antiobesity, anti-inflammatory, antimicrobial, anticancer, and three-dimensional cancer spheroids' formation blocking activities of *Laurus nobilis* aromatic oil from Palestine. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00396-6>
- Jaradat, N., Hawash, M., Qaoud, M. T., Al-Maharik, N., Qadi, M., Hussein, F., Issa, L., Saleh, A., Saleh, L., ve Jadallah, A., 2024, Biological, phytochemical and molecular docking characteristics of *Laurus nobilis* L. fresh leaves essential oil from Palestine. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04528-9>
- Jeyaraj, M., Sathishkumar, G., Sivanandhan, G., MubarakAli, D., Rajesh, M., Arun, R., Kapildev, G., Manickavasagam, M., Thajuddin, N., ve Premkumar, K., 2013, *Biogenic silver nanoparticles for cancer treatment: an experimental report. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106, 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.027>
- Joseph, A. M., Al Aiyan, A., Al-Ramadi, B., Singh, S. K., ve Kishore, U., 2024, Innate and adaptive immune-directed tumour microenvironment in pancreatic ductal adenocarcinoma. İçinde *Frontiers in Immunology* (C. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1323198>
- Ju, H. Q., Gocho, T., Aguilar, M., Wu, M., Zhuang, Z. N., Fu, J., Yanaga, K., Huang, P., ve Chiao, P. J., 2015, Mechanisms of overcoming intrinsic resistance to gemcitabine in pancreatic ductal adenocarcinoma through the redox modulation. *Molecular Cancer Therapeutics*, 14, 788-798. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-14-0420>
- Juuti, A., Lundin, J., Nordling, S., Louhimo, J., ve Haglund, C., 2007, Epithelial MMP-2 expression correlates with worse prognosis in pancreatic cancer. *Oncology*, 71, 61-68. <https://doi.org/10.1159/000100988>
- Kaloni, D., Diepstraten, S. T., Strasser, A., ve Kelly, G. L., 2023, BCL-2 protein family: attractive targets for cancer therapy. İçinde *Apoptosis* (C. 28, ss. 20-38). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10495-022-01780-7>
- Kambale, E. K., Mbadcam, J. C., Molua, L., Mvondo, Z. A., Bikomo, E. C., ve Tchamba, M. S., 2020, *Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using aqueous leaf extracts of three Congolese plant species*. *Scientific African*, 9, Article e00515. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00515>
- Kamalakaran, M., Malaichamy, K., Raga Palanisamy, S., Murugaiyan, S., Narayanan, M. B., Kasivelu, G., Murugesan, V., ve Selvaraj, D., 2025, Nanotechnology-Driven Solutions for Storage Insect Pest Management: A Solution for Food Security. İçinde *ACS Agricultural Science and Technology*. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.5c00128>

- Kandikattu, H. K., Venkateshaiah, S. U., ve Mishra, A., 2020, Chronic Pancreatitis and the Development of Pancreatic Cancer. *Endocrine, Metabolic - Immune Disorders - Drug Targets*, 20, 1182-1210. <https://doi.org/10.2174/1871530320666200423095700>
- Karnwal, A., Sharma, V., Kumar, G., Jassim, A. Y., Dohroo, A., ve Sivanesan, I., 2024, Transforming Medicine with Nanobiotechnology: Nanocarriers and Their Biomedical Applications. *Pharmaceutics*, 16, 1114. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16091114>
- Karuppaiah, A., Siram, K., Selvaraj, D., Ramasamy, M., Babu, D., ve Sankar, V., 2020, Synergistic and enhanced anticancer effect of a facile surface modified non-cytotoxic silver nanoparticle conjugated with gemcitabine in metastatic breast cancer cells. *Materials Today Communications*, 23, Article 100884. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2019.100884>
- Kaya, Y., Bildik, E., ve Koçdor, H., 2024, Pankreas Duktal Adenokarsinomunda İlaç Direncinin Moleküler Temelleri, In vitro, Ex Vivo ve In Vivo Preklinik Modellemeler. *Acta Medica Nicomedia*, 7, 136-147. <https://doi.org/10.53446/actamednicomedia.1344210>
- Kearney, J. F., Adsay, V., ve Yeh, J. J., 2021, Pathology and Molecular Characteristics of Pancreatic Cancer. İçinde *Surgical Oncology Clinics of North America* (C. 30, ss. 609-619). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2021.06.003>
- Khalil, N. A., ALFaris, N. A., ALTamimi, J. Z., ve Mohamed Ahmed, I. A., 2024, Anti-inflammatory effects of bay laurel (*Laurus nobilis* L.) towards the gut microbiome in dextran sodium sulfate induced colitis animal models. *Food Science and Nutrition*, 12, 2650-2660. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3946>
- Khalir, W. K. A. W. M., Shameli, K., Jazayeri, S. D., Othman, N. A., Che Jusoh, N. W., ve Mohd Hassan, N., 2020, *Biosynthesized silver nanoparticles by aqueous stem extract of Entada spiralis and screening of their biomedical activity*. *Frontiers in Chemistry*, 8, Article 620. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00620>
- Khan, F., Shariq, M., Asif, M., Siddiqui, M. A., Malan, P., ve Ahmad, F., 2022, Green Nanotechnology: Plant-Mediated Nanoparticle Synthesis and Application. İçinde *Nanomaterials* (C. 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nano12040673>
- Khan, S., Mansoor, S., Rafi, Z., Kumari, B., Shoaib, A., Saeed, M., Alshehri, S., Ghoneim, M. M., Rahamathulla, M., Hani, U., ve Shakeel, F., 2022, A review on nanotechnology: Properties, applications, and mechanistic insights of cellular uptake mechanisms. İçinde *Journal of Molecular Liquids* (C. 348). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.118008>
- Kim, D. H., Kim, M. J., Kwak, S. Y., Jeong, J., Choi, D., Choi, S. W., Ryu, J., ve Kang, K.-S., 2023, *Bioengineered liver crosslinked with nano-graphene oxide enables efficient liver regeneration via MMP suppression and immunomodulation*. *Nature Communications*, 14, Article 801. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-35941-2>
- Klein, A. P., 2021, Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors. *Nature reviews. Gastroenterology - hepatology*, 18(7), 493. <https://doi.org/10.1038/S41575-021-00457-X>

- Koçatakan, P., ve Ataseven, H., 2021, Pankreas Kanseri. *Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 54, 59-65. <https://doi.org/10.20492/aeahtd.806164>
- Koltai, T., Reshkin, S. J., Carvalho, T. M. A., Di Molfetta, D., Greco, M. R., Alfarouk, K. O., ve Cardone, R. A., 2022, Resistance to Gemcitabine in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Physiopathologic and Pharmacologic Review. İçinde *Cancers* (C. 14). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers14102486>
- Köseoğlu, P., ve Mercan, G., 2018, Biyoloji Öğretmen Adaylarının Nanoteknolojiye Yönelik Algıları. *Erzincan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 20, 687-706. <https://doi.org/10.17556/erziefd.406187>
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., ve Debut, A., 2017, *Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(1), 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.006>
- Kunal Garg, Petri Papponen, Andreas Johansson, Nitipon Puttaraksa, Leona Gilbert, 2020, *Preparation of graphene nanocomposites from aqueous silver nitrate using graphene oxide's peroxidase-like and carbocatalytic properties*. *Scientific Reports*, 10, Article 5126. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61929-9>
- Kuwahara, K., Sasaki, T., Kobayashi, K., Noma, B., Serikawa, M., Iiboshi, T., Miyata, H., Kuwada, Y., Murakami, M., Yamasaki, S., Kariya, K., Morinaka, K., ve Chayama, K., 2004, *Gemcitabine suppresses malignant ascites of human pancreatic cancer: correlation with VEGF expression in ascites*. *Oncology Reports*, 11(1), 73-80
- Leiphrakpam, P. D., Chowdhury, S., Zhang, M., Bajaj, V., Dhir, M., ve Are, C., 2025, Trends in the Global Incidence of Pancreatic Cancer and a Brief Review of its Histologic and Molecular Subtypes. *Journal of gastrointestinal cancer*, 56, 71. <https://doi.org/10.1007/s12029-025-01183-2>
- LeSavage, B. L., Zhang, D., Huerta-López, C., Gilchrist, A. E., Krajina, B. A., Karlsson, K., Smith, A. R., Karagyozova, K., Klett, K. C., Huang, M. S., Long, C., Kaber, G., Madl, C. M., Bollyky, P. L., Curtis, C., Kuo, C. J., ve Heilshorn, S. C., 2024, Engineered matrices reveal stiffness-mediated chemoresistance in patient-derived pancreatic cancer organoids. *Nature Materials*, 23, 1138-1149. <https://doi.org/10.1038/s41563-024-01908-x>
- Li, S., Tan, H.-Y., Wang, N., Zhang, Z.-J., Lao, L., Wong, C.-W., ve Feng, Y., 2016, *The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases*. *Free Radical Biology Medicine*, 88, 111–128. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.11.002>
- Li, Y., Xu, C., Zhu, R., Shen, L., Hu, G., Tao, K., Tao, F., Lu, Z., ve Zhang, G., 2023, TIMP-2 as a predictive biomarker in 5-Fu-resistant colorectal cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 149, 7235-7246. <https://doi.org/10.1007/s00432-023-04670-w>
- Liew, S. Z. H., Ng, K. W., Ishak, N. D. B., Lee, S. Y., Zhang, Z., Chiang, J., ve Ngeow, J. Y. Y., 2023, Geographical, ethnic, and genetic differences in pancreatic cancer predisposition. İçinde *Chinese Clinical Oncology* (C. 12). AME Publishing Company. <https://doi.org/10.21037/cco-23-8>

- Lithi, I. J., Ahmed Nakib, K. I., Chowdhury, A. M. S., ve Sahadat Hossain, M., 2025, A review on the green synthesis of metal (Ag, Cu, and Au) and metal oxide (ZnO, MgO, Co₃O₄, and TiO₂) nanoparticles using plant extracts for developing antimicrobial properties. İçinde *Nanoscale Advances*. Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d5na00037h>
- Liu, L., Ma, Q., Cao, J., Gao, Y., Han, S., Liang, Y., Zhang, T., Wang, X., ve Sun, Y., 2021, Recent progress of graphene oxide-based multifunctional nanomaterials for cancer treatment. *Cancer Nanotechnology*, 12, Article 18. <https://doi.org/10.1186/s12645-021-00087-7>
- Lowenfels, A. B., ve Maisonneuve, P., 2006, Epidemiology and risk factors for pancreatic cancer. *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*, 20, 197-209. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2005.10.001>
- Loutfy, S. A., Fouda, A. S., El-Batal, A. I., Abdel-Rahman, M. A., El-Sheakh, M. A., Abdel-Aziz, M. S., ve Ammar, A. M., 2017, *Synthesis, characterization and cytotoxic evaluation of graphene nanosheets decorated with silver nanoparticles against hepatocellular carcinoma cells*. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 3567–3582. <https://doi.org/10.2147/IJN.S129332>
- Lucenteforte, E., La Vecchia, C., Silverman, D., Petersen, G. M., Bracci, P. M., Ji, B. T., Bosetti, C., Li, D., Gallinger, S., Miller, A. B., Bueno-de-Mesquita, H. B., Talamini, R., Polesel, J., Gadirian, P., Baghurst, P. A., Zatonski, W., Fontham, E., Bamlet, W. R., Holly, E. A., ve Duell, E. J., 2012, Alcohol consumption and pancreatic cancer: A pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4). *Annals of Oncology*, 23, 374-382. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr120>
- Luna, L. A. V. de, Moraes, A. C. M. de, Consonni, S. R., Pereira, C. D., Cadore, S., Giorgio, S., ve Alves, O. L., 2016, *Comparative in vitro toxicity of a graphene oxide-silver nanocomposite and the pristine counterparts toward macrophages*. *Journal of Nanobiotechnology*, 14, Article 12. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0165-1>
- Luna-Vargas, M. P. A., ve Chipuk, J. E., 2016, The deadly landscape of pro-apoptotic BCL-2 proteins in the outer mitochondrial membrane. İçinde *FEBS Journal* (ss. 2676-2689). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/febs.13624>
- Mahadevan, V., 2019, Anatomy of the pancreas and spleen. İçinde *Surgery (United Kingdom)* (C. 37, ss. 297-301). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2019.04.008>
- Maji, S., Panda, S., Samal, S. K., Shriwas, O., Rath, R., Pellecchia, M., Emdad, L., Das, S. K., Fisher, P. B., ve Dash, R., 2018, Bcl-2 Antiapoptotic Family Proteins and Chemoresistance in Cancer. İçinde *Advances in Cancer Research* (C. 137, ss. 37-75). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2017.11.001>
- McGuigan, A., Kelly, P., Turkington, R. C., Jones, C., Coleman, H. G., ve McCain, R. S., 2018, Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. İçinde *World Journal of Gastroenterology* (C. 24, ss. 4846-4861). Baishideng Publishing Group Co. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i43.4846>

- Midha, S., Chawla, S., ve Garg, P. K., 2016, Modifiable and non-modifiable risk factors for pancreatic cancer: A review. İçinde *Cancer Letters* (C. 381, ss. 269-277). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.07.022>
- Mizrahi, J. D., Surana, R., Valle, J. W., ve Shroff, R. T., 2020, Pancreatic cancer. İçinde *The Lancet* (C. 395, ss. 2008-2020). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30974-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30974-0)
- Mohammed, R. R., Omer, A. K., Yener, Z., Uyar, A., ve Ahmed, A. K., 2021, Biomedical effects of *Laurus nobilis* L. leaf extract on vital organs in streptozotocin-induced diabetic rats: Experimental research. *Annals of medicine and surgery* (2012), 61, 188-197. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2020.11.051>
- Mondal, P., Das, D., ve Bhattacharyya, S., 2024, Role of cysteine cathepsin and matrix metalloproteinases in progression and chemoresistance in ovarian and breast cancer. İçinde *Pathophysiological Aspects of Proteases in Cancer* (ss. 453-469). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-30098-1.00027-6>
- Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., ve Thanh, N. T. K., 2018, Characterization techniques for nanoparticles: Comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. İçinde *Nanoscale* (C. 10, ss. 12871-12934). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c8nr02278j>
- Murray, K., Oldfield, L., Stefanova, I., Gentiluomo, M., Aretini, P., O'Sullivan, R., Greenhalf, W., Paiella, S., Aoki, M. N., Pastore, A., Birch-Ford, J., Rao, B. H., Uysal-Onganer, P., Walsh, C. M., Hanna, G. B., Narang, J., Sharma, P., Campa, D., Rizzato, C., ve Costello, E., 2025, Biomarkers, omics and artificial intelligence for early detection of pancreatic cancer. İçinde *Seminars in Cancer Biology* (C. 111, ss. 76-88). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2025.02.009>
- Musa, A. A., Bello, A., Adams, S. M., Onwualu, A. P., Anye, V. C., Bello, K. A., ve Obianyo, I. I., 2025, Nano-Enhanced Polymer Composite Materials: A Review of Current Advancements and Challenges. *Polymers*, 17, 893. <https://doi.org/10.3390/polym17070893>
- Mustapha, T., Misni, N., Ithnin, N. R., Daskum, A. M., ve Unyah, N. Z., 2022, A Review on Plants and Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications. İçinde *International Journal of Environmental Research and Public Health* (C. 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijerph19020674>
- Nabavifard, S., Jalili, S., Rahmati, F., Vasseghian, Y., Ali, G. A. M., Agarwal, S., ve Gupta, V. K., 2020, Application of Dendrimer/Gold Nanoparticles in Cancer Therapy: A Review. İçinde *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* (C. 30, ss. 4231-4244). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01705-4>
- Naeimi, S. K., Takallou, S. H., Zali, H., ve Niknam, Z., 2025, The impact of graphene oxide nanoparticles on the migratory behavior of metastatic human breast cancer cell, MDA-MB-231. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. <https://doi.org/10.1007/s00210-024-03778-1>
- Nagarajaiah, S., Shivanna Giresha, A., Gopala Krishna, P., Manikrao Gadewar, M., Praveen, M., Nanda, N., Urs, D., Krishnappa Dharmappa, K., Mutta Nagabhushana, B., Rao, S.,

- Mahadeva Swamy, M., ve Venkatesh Yatish, K., 2024, Anti-oncogenic Potential and Inflammation Modulatory Response of Green Synthesized Biocompatible Silver Nanoparticles. *Chemistry and Biodiversity*, 21. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301533>
- Naqvi, A. A. T., Hasan, G. M., ve Hassan, M. I., 2018, Investigating the role of transcription factors of pancreas development in pancreatic cancer. İçinde *Pancreatology* (C. 18, ss. 184-190). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2017.12.013>
- Natsuki, J., 2015, A Review of Silver Nanoparticles: Synthesis Methods, Properties and Applications. *International Journal of Materials Science and Applications*, 4, 325. <https://doi.org/10.11648/j.ijmsa.20150405.17>
- Olakowski, M., ve Bułdak, Ł., 2022, Modifiable and Non-Modifiable Risk Factors for the Development of Non-Hereditary Pancreatic Cancer. İçinde *Medicina (Lithuania)* (C. 58). MDPI. <https://doi.org/10.3390/medicina58080978>
- Ougolkov, A. V., Bilim, V. N., ve Billadeau, D. D., 2008, Regulation of pancreatic tumor cell proliferation and chemoresistance by the histone methyltransferase enhancer of zeste homologue 2. *Clinical Cancer Research*, 14, 6790-6796. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1013>
- Partyka, O., Pajewska, M., Kwaśniewska, D., Czerw, A., Deptała, A., Budzik, M., Cipora, E., Gaska, I., Gazdowicz, L., Mielnik, A., Sygit, K., Sygit, M., Krzych-Falta, E., Schneider-Matyka, D., Grochans, S., Cybulska, A. M., Drobnik, J., Bandurska, E., Ciećko, W., ve Kozłowski, R., 2023, Overview of Pancreatic Cancer Epidemiology in Europe and Recommendations for Screening in High-Risk Populations. *Cancers*, 15. <https://doi.org/10.3390/cancers15143634>
- Patil, S., ve Chandrasekaran, R., 2020, Biogenic nanoparticles: a comprehensive perspective in synthesis, characterization, application and its challenges. İçinde *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* (C. 18). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00081-3>
- Peixoto, L. R., Rosalen, P. L., Ferreira, G. L. S., Freires, I. A., de Carvalho, F. G., Castellano, L. R., ve de Castro, R. D., 2017, Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. *Archives of Oral Biology*, 73, 179-185. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.10.013>
- Pereira-Silva, M., Veiga, F., Paiva-Santos, A. C., Concheiro, A., ve Alvarez-Lorenzo, C., 2025, Biomimetic nanosystems for pancreatic cancer therapy: A review. *Journal of Controlled Release*, 383. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2025.113824>
- Peter Takáč Radka Michalková, , Martina Čižmáriková , Zdenka Bedlovičová , Ľudmila Balážová , Gabriela Takáčová, 2023, The Role of Silver Nanoparticles in the Diagnosis and Treatment of Cancer: Are There Any Perspectives for the Future? *Life*. <https://doi.org/10.3390/life13020466>
- Pourshams, A., Sepanlou, S. G., Ikuta, K. S., Bisignano, C., Safiri, S., Roshandel, G., Sharif, M., Khatibian, M., Fitzmaurice, C., Nixon, M. R., Abbasi, N., Afarideh, M., Ahmadian, E., Akinyemiju, T., Alahdab, F., Alam, T., Alipour, V., Allen, C. A., Anber, N. H., ve Naghavi, M., 2019, The global, regional, and national burden of pancreatic cancer and its attributable risk factors in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis

- for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 4, 934-947. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30347-4](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30347-4)
- Principe, D. R., Underwood, P. W., Korc, M., Trevino, J. G., Munshi, H. G., ve Rana, A., 2021, The Current Treatment Paradigm for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Barriers to Therapeutic Efficacy. İçinde *Frontiers in Oncology* (C. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.688377>
- Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y., ve Wang, J., 2022, The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. İçinde *Frontiers in Oncology* (C. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>
- Qian, Y., Gong, Y., Fan, Z., Luo, G., Huang, Q., Deng, S., Cheng, H., Jin, K., Ni, Q., Yu, X., ve Liu, C., 2020, Molecular alterations and targeted therapy in pancreatic ductal adenocarcinoma. İçinde *Journal of Hematology and Oncology* (C. 13). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00958-3>
- Qureshi, A. K., Farooq, U., Shakeel, Q., Ali, S., Ashiq, S., Shahzad, S., Tariq, M., Seleiman, M. F., Jamal, A., Saeed, M. F., ve Manachini, B., 2023, The Green Synthesis of Silver Nanoparticles from Avena fatua Extract: Antifungal Activity against Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12. <https://doi.org/10.3390/pathogens12101247>
- Ramos, A., Sadeghi, S., ve Tabatabaeian, H., 2021, Battling chemoresistance in cancer: Root causes and strategies to uproot them. İçinde *International Journal of Molecular Sciences* (C. 22). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22179451>
- Rauwel, P., Rauwel, E., Ferdov, S., ve Singh, M. P., 2015, Silver nanoparticles: Synthesis, properties, and applications. İçinde *Advances in Materials Science and Engineering* (C. 2015). Hindawi Publishing Corporation. <https://doi.org/10.1155/2015/624394>
- Rawla, P., Sunkara, T., ve Gaduputi, V., 2019, Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors. *World Journal of Oncology*, 10, 10-27. <https://doi.org/10.14740/wjon1166>
- Raza, M. A., Habib, A., Kanwal, Z., Hussain, S. S., Iqbal, M. J., Saleem, M., Riaz, S., ve Naseem, S., 2018, Optical CO₂ Gas Sensing Based on TiO₂ Thin Films of Diverse Thickness Decorated with Silver Nanoparticles. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2780203>
- Rigg, A. S., ve Lemoine, N. R., 2001, Adenoviral delivery of TIMP1 or TIMP2 can modify the invasive behavior of pancreatic cancer and can have a significant antitumor effect in vivo. *Cancer Gene Therapy*, 8, 869-878. <https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700387>
- Riva, G., Pea, A., Pilati, C., Fiadone, G., Lawlor, R. T., Scarpa, A., ve Luchini, C., 2018, Histomolecular oncogenesis of pancreatic cancer: From precancerous lesions to invasive ductal adenocarcinoma. İçinde *World Journal of Gastrointestinal Oncology* (C. 10, ss. 317-327). Baishideng Publishing Group Co. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v10.i10.317>
- Russell, T. B., ve Aroori, S., 2022, The pancreas from a surgical perspective: an illustrated overview. *Art of Surgery*, 6, 1-1. <https://doi.org/10.21037/aos-21-2>

- Saab, A. M., Tundis, R., Loizzo, M. R., Lampronti, I., Borgatti, M., Gambari, R., Menichini, F., Esseily, F., ve Menichini, F., 2012, Antioxidant and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) leaves and seeds essential oils against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells. *Natural Product Research*, 26, 1741-1745. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.608674>
- Sakamoto, S., Deguchi, Y., Uchida, S., Itoh, Y., ve Inoue, K., 2022, Prolonged extrapyramidal symptoms induced by long-term, intermittent administration of low-dose olanzapine along with metoclopramide for emesis: A case report. *Neuropsychopharmacology Reports*, 42, 380-383. <https://doi.org/10.1002/npr2.12277>
- Santoyo, S., Lloría, R., Jaime, L., Ibañez, E., Señoráns, F. J., ve Reglero, G., 2006, Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. *European Food Research and Technology*, 222, 565-571. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0027-9>
- Saputra, A. M. A., Marpongahtun, M., Andriyani, - Goutianos, S., ve Gea, S., 2025, *Facile synthesis of reduced graphene oxide using natural plant extracts as green reducing agents*. *Journal of King Saud University – Engineering Sciences*, 37, Article 5. <https://doi.org/10.1007/s44444-025-00007-9>
- Sarvepalli, D., Ur Rashid, M., Ur Rahman, A., Ullah, W., Hussain, I., Hasan, B., Jehanzeb, S., Khan, A. K., Jain, A. G., Khetpal, N., ve Ahmad, S., 2019, Gemcitabine: A review of chemoresistance in pancreatic cancer. *Critical Reviews in Oncogenesis*, 24, 199-212. <https://doi.org/10.1615/CritRevOncog.2019031641>
- Schawkat, K., Manning, M. A., Glickman, J. N., ve Mortelet, K. J., 2020, Pancreatic ductal adenocarcinoma and its variants: Pearls and perils. *Radiographics*, 40, 1219-1239. <https://doi.org/10.1148/rg.2020190184>
- Shah, K. W., ve Huseien, G. F., 2020, Inorganic nanomaterials for fighting surface and airborne pathogens and viruses. İçinde *Nano Express* (C. 1). Institute of Physics. <https://doi.org/10.1088/2632-959X/abc706>
- Sharma, R., Ghosh, R., Kumar, S., Komal, K., ve Kumar, M., 2025, Decoding pancreatic cancer: key risk factors across genetics and lifestyle. İçinde *Expert Review of Molecular Diagnostics*. Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14737159.2025.2464563>
- Shouman, M. A., Fuchs, F., Walter, F., Corradini, S., Westphalen, C. B., Vornhülz, M., Beyer, G., Andrade, D., Belka, C., Niyazi, M., ve Rogowski, P., 2024, Stereotactic body radiotherapy for pancreatic cancer – A systematic review of prospective data. *Clinical and Translational Radiation Oncology*, 45. <https://doi.org/10.1016/j.ctro.2024.100738>
- Shrimal, P., Jadeja, G., ve Patel, S., 2020, A review on novel methodologies for drug nanoparticle preparation: Microfluidic approach. İçinde *Chemical Engineering Research and Design* (C. 153, ss. 728-756). Institution of Chemical Engineers. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.11.031>
- Sırıken, B., Yavuz, C., ve Güler, A., 2018, Antibacterial Activity of *Laurus nobilis*: A review of literature. *Medical Science and Discovery*, 5, 374-379. <https://doi.org/10.36472/msd.v5i11.249>

- Singh, A., ve Settleman, J., 2010, EMT, cancer stem cells and drug resistance: An emerging axis of evil in the war on cancer. İçinde *Oncogene* (C. 29, ss. 4741-4751). <https://doi.org/10.1038/onc.2010.215>
- Singh, K., Gautam, S., ve Goel, A., 2023, *Field emission scanning electron microscopic, X-ray characterization and antimicrobial activity of Terminalia bellerica-based silver nanoparticles (TBAgNPs)*. *Applied Nanoscience*, 13(12), 1865. <https://doi.org/10.1007/s13204-023-01865-2>
- Soria, J. C., Smit, E., Khayat, D., Besse, B., Yang, X., Hsu, C. P., Reese, D., Wiezorek, J., ve Blackhall, F., 2010, Phase 1b study of dulanermin (recombinant human Apo2L/TRAIL) in combination with paclitaxel, carboplatin, and bevacizumab in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 28, 1527-1533. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.4847>
- Stavrovskaya, A. A., 2000, Cellular Mechanisms of Multidrug Resistance of Tumor Cells. İçinde *Biochemistry (Moscow)* (C. 65, ss. 95-106). East View Publications Inc.
- Stetler-Stevenson, W. G., 2023, The Continuing Saga of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 2: Emerging Roles in Tissue Homeostasis and Cancer Progression. İçinde *American Journal of Pathology* (C. 193, ss. 1336-1352). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2023.08.001>
- Stoffel, E. M., Brand, R. E., ve Goggins, M., 2023, Pancreatic Cancer: Changing Epidemiology and New Approaches to Risk Assessment, Early Detection, and Prevention. *Gastroenterology*, 164, 752-765. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2023.02.012>
- Tamtaji, O. R., Ostadian, A., Homayoonfal, M., Nejati, M., Mahjoubin-Tehran, M., Nabavizadeh, F., Ghelichi, E., Mohammadzadeh, B., Karimi, M., Rahimian, N., ve Mirzaei, H., 2024, *Cerium(IV) oxide:silver/graphene oxide (CeO₂:Ag/GO) nanoparticles modulate gene expression and inhibit colorectal cancer cell growth: a pathway-centric therapeutic approach*. *Cancer Nanotechnology*, 15, Article 62. <https://doi.org/10.1186/s12645-024-00300-3>
- Tang, Z., Zhao, L., Yang, Z., Liu, Z., Gu, J., Bai, B., Liu, J., Xu, J., ve Yang, H., 2018, *Mechanisms of oxidative stress, apoptosis, and autophagy involved in graphene oxide nanomaterial anti-osteosarcoma effect*. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 2907–2919. <https://doi.org/10.2147/IJN.S159388>
- Thapa, R. K., Gurunathan, S., Son, W.-T., Park, J.-H., Park, C. H., ve Kim, J.-H., 2017, *Combination of graphene oxide–silver nanoparticle nanocomposites and cisplatin enhances apoptosis and autophagy in human cervical cancer cells*. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 6537-6558. <https://doi.org/10.2147/IJN.S125281>
- T. Galatage, S., S. Hebalkar, A., V. Dhobale, S., R. Mali, O., S. Kumbhar, P., V. Nikade, S., ve G. Killedar, S., 2021, Silver Nanoparticles: Properties, Synthesis, Characterization, Applications and Future Trends. İçinde *Silver Micro-Nanoparticles- Properties, Synthesis, Characterization, and Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99173>

- Timmer, F. E. F., Geboers, B., Nieuwenhuizen, S., Dijkstra, M., Schouten, E. A. C., Puijk, R. S., de Vries, J. J. J., van den Tol, M. P., Bruynzeel, A. M. E., Streppel, M. M., Wilmink, J. W., van der Vliet, H. J., Meijerink, M. R., Scheffer, H. J., ve de Gruijl, T. D., 2021, Pancreatic Cancer and Immunotherapy: A Clinical Overview. *Cancers*, 13. <https://doi.org/10.3390/cancers13164138>
- Truong, T. T. V., Kumar, S. R., Huang, Y.-T., Chen, D. W., Liu, Y.-K., ve Lue, S. J., 2020, *Size-dependent antibacterial activity of silver nanoparticle-loaded graphene oxide nanosheets*. *Nanomaterials*, 10(6), 1207. <https://doi.org/10.3390/nano10061207>
- Tsuda, M., Fukuda, A., Takaori, K., ve Seno, H., 2019, Genetics and biology of pancreatic cancer and its precursor lesions: Lessons learned from human pathology and mouse models. İçinde *Annals of Pancreatic Cancer* (C. 2). AME Publishing Company. <https://doi.org/10.21037/apc.2019.07.02>
- Tuerhong, A., Xu, J., Shi, S., Tan, Z., Meng, Q., Hua, J., Liu, J., Zhang, B., Wang, W., Yu, X., ve Liang, C., 2021, Overcoming chemoresistance by targeting reprogrammed metabolism: the Achilles' heel of pancreatic ductal adenocarcinoma. İçinde *Cellular and Molecular Life Sciences* (C. 78, ss. 5505-5526). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03866-y>
- Ullah, I., Khalil, A. T., Ali, M., Iqbal, J., Ali, W., Alarifi, S., ve Shinwari, Z. K., 2020, Green-Synthesized Silver Nanoparticles Induced Apoptotic Cell Death in MCF-7 Breast Cancer Cells by Generating Reactive Oxygen Species and Activating Caspase 3 and 9 Enzyme Activities. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1215395>
- Van Roessel, S., Kasumova, G. G., Verheij, J., Najarian, R. M., Maggino, L., De Pastena, M., Malleo, G., Marchegiani, G., Salvia, R., Ng, S. C., De Geus, S. W., Lof, S., Giovinazzo, F., Van Dam, J. L., Kent, T. S., Busch, O. R., Van Eijck, C. H., Koerkamp, B. G., Abu Hilal, M., Besselink, M. G., 2018, International Validation of the Eighth Edition of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM Staging System in Patients with Resected Pancreatic Cancer. *JAMA Surgery*, 153. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2018.3617>
- Vimalanathan, B., Thiyagarajan, D., Mary, R. N., Sachidanandam, M., Ignacimuthu, S., Gnanasampanthapandian, D., Rajasingh, J., ve Palaniyandi, K., 2025, *Composites of reduced graphene oxide based on silver nanoparticles and their effect on breast cancer stem cells*. *Bioengineering*, 12(5), 508. <https://doi.org/10.3390/bioengineering12050508>
- Von Hoff, D. D., Ervin, T., Arena, F. P., Chiorean, E. G., Infante, J., Moore, M., Seay, T., Tjulandin, S. A., Ma, W. W., Saleh, M. N., Harris, M., Reni, M., Dowden, S., Laheru, D., Bahary, N., Ramanathan, R. K., Tabernero, J., Hidalgo, M., Goldstein, D., ve Renschler, M. F., 2013, Increased Survival in Pancreatic Cancer with nab-Paclitaxel plus Gemcitabine. *New England Journal of Medicine*, 369, 1691-1703. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1304369>
- Walter, F. M., Mills, K., Mendonça, S. C., Abel, G. A., Basu, B., Carroll, N., Ballard, S., Lancaster, J., Hamilton, W., Rubin, G. P., ve Emery, J. D., 2016, Symptoms and patient factors associated with diagnostic intervals for pancreatic cancer (Symptom pancreatic

- study): a prospective cohort study. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 1, 298-306. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(16\)30079-6](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30079-6)
- Wang, J., Yang, J., Narang, A., He, J., Wolfgang, C., Li, K., ve Zheng, L., 2024, Consensus, debate, and prospective on pancreatic cancer treatments. İçinde *Journal of hematology - oncology* (C. 17, s. 92). <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01613-x>
- Wang, S., Zheng, Y., Yang, F., Zhu, L., Zhu, X. Q., Wang, Z. F., Wu, X. L., Zhou, C. H., Yan, J. Y., Hu, B. Y., Kong, B., Fu, D. L., Bruns, C., Zhao, Y., Qin, L. X., ve Dong, Q. Z., 2021, The molecular biology of pancreatic adenocarcinoma: translational challenges and clinical perspectives. İçinde *Signal Transduction and Targeted Therapy* (C. 6). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00659-4>
- Xiong, H., Nie, X., Cao, W., Zhu, J., Chen, J., Liu, R., ve Li, Y., 2024, Investigation of mitochondria-dependent apoptosis pathway and lipid peroxidation level induced by biosynthesized silver nanoparticles: Caspase-3 activation, BAK1/BCLx regulation and malondialdehyde production. *Cancer Nanotechnology*, 15(1), Article 13. <https://doi.org/10.1186/s12645-024-00248-4>
- Xu, J. H., Fu, J. J., Wang, X. L., Zhu, J. Y., Ye, X. H., ve Chen, S. D., 2013, Hepatitis B or C viral infection and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of observational studies. *World Journal of Gastroenterology*, 19, 4234-4241. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i26.4234>
- Xu, Z., Feng, Q., Wang, M., Zhao, H., Lin, Y., ve Zhou, S., 2020, Green biosynthesized silver nanoparticles with aqueous extracts of *Ginkgo biloba* induce apoptosis via mitochondrial pathway in cervical cancer cells. *Frontiers in Oncology*, 10, Article 575415. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.575415>
- Yang, D., Chen, M. Bin, Wang, L. Q., Yang, L., Liu, C. Y., ve Lu, P. H., 2013, Bcl-2 expression predicts sensitivity to chemotherapy in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. İçinde *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* (C. 32). <https://doi.org/10.1186/1756-9966-32-105>
- Yonezawa, S., Higashi, M., Yamada, N., ve Goto, M., 2008, Precursor lesions of pancreatic cancer. *Gut and liver*, 2, 137-154. <https://doi.org/10.5009/gnl.2008.2.3.137>
- Yuan, C., Morales-Oyarvide, V., Babic, A., Clish, C. B., Kraft, P., Bao, Y., Qian, Z. R., Rubinson, D. A., Ng, K., Giovannucci, E. L., Ogino, S., Stampfer, M. J., Gaziano, J. M., Sesso, H. D., Cochrane, B. B., Manson, J. A. E., Fuchs, C. S., ve Wolpin, B. M., 2017, Cigarette smoking and pancreatic cancer survival. *Journal of Clinical Oncology*, 35, 1822-1828. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.2026>
- Yuan, Y.-G., Wang, Y.-H., Xing, H.-H., ve Gurunathan, S., 2017, *Quercetin-mediated synthesis of graphene oxide-silver nanoparticle nanocomposites: A suitable alternative nanotherapy for neuroblastoma*. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 5819-5839. <https://doi.org/10.2147/IJN.S140605>
- Yuan, Y.-G., Wang, Y.-H., Xing, H.-H., ve Gurunathan, S., 2021, *Graphene oxide-silver nanoparticle nanocomposites induce oxidative stress and aberrant methylation in caprine fetal fibroblast cells*. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 2789-2808. <https://doi.org/10.2147/IJN.S308702>

- Yokoi, K., Kitadai, Y., Kuwai, T., Abbruzzese, J. L., Fidler, I. J., 2005, *Simultaneous inhibition of EGFR, VEGFR and PDGFR signaling combined with gemcitabine produces therapy of human pancreatic carcinoma and prolongs survival in an orthotopic nude mouse model*. *Cancer Research*, 65(9), 3648-3655. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-3900>
- Youle, R. J., ve Strasser, A., 2008, *The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death*. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(1), 47–59. <https://doi.org/10.1038/nrm2308>
- Zhang, J., Wang, Y., Wang, L., You, L., ve Zhang, T., 2024, Pancreatic ductal adenocarcinoma chemoresistance: From metabolism reprogramming to novel treatment. İçinde *Chinese Medical Journal* (C. 137, ss. 408-420). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000002758>
- Zhang, W., Zhang, K., Zhang, P., Zheng, J., Min, C., ve Li, X., 2021, Research Progress of Pancreas-Related Microorganisms and Pancreatic Cancer. İçinde *Frontiers in Oncology* (C. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.604531>
- Zhang, Y., Qian, Y., Lu, W., ve Chen, X., 2009, The G protein-coupled receptor 87 is necessary for p53-dependent cell survival in response to genotoxic stress. *Cancer Research*, 69, 6049-6056. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-0621>
- Zhang, Y., Scoumanne, A., ve Chen, X., 2010, G Protein-coupled receptor 87: A promising opportunity for cancer drug discovery. *Molecular and Cellular Pharmacology*, 2, 111-116. <https://doi.org/10.4255/mcpharmacol.10.15>
- Zhang, Z., Yu, H., Yao, W., Zhu, N., Miao, R., Liu, Z., Song, X., Xue, C., Cai, C., Cheng, M., Lin, K., ve Qi, D., 2022, RRP9 promotes gemcitabine resistance in pancreatic cancer via activating AKT signaling pathway. *Cell Communication and Signaling*, 20. <https://doi.org/10.1186/s12964-022-00974-5>
- Zhao, Z. Y., ve Liu, W., 2020, Pancreatic Cancer: A Review of Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. İçinde *Technology in Cancer Research and Treatment* (C. 19). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/1533033820962117>
- Zhao, Z. Y., ve Liu, W., 2020, Pancreatic Cancer: A Review of Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. *Technology in Cancer Research- Treatment*, 19. <https://doi.org/10.1177/1533033820962117>
- Zheng, H. C., 2017, The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers. İçinde *Oncotarget* (C. 8, ss. 59950-59964). Impact Journals LLC. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19048>
- Zheng, R., Liu, X., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, Y., Guo, S., Jin, X., Zhang, J., Guan, Y., ve Liu, Y., 2024, Frontiers and future of immunotherapy for pancreatic cancer: from molecular mechanisms to clinical application. İçinde *Frontiers in Immunology* (C. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1383978>
- Zheng, X., Carstens, J. L., Kim, J., Scheible, M., Kaye, J., Sugimoto, H., Wu, C. C., Lebleu, V. S., ve Kalluri, R., 2015, Epithelial-to-mesenchymal transition is dispensable for

metastasis but induces chemoresistance in pancreatic cancer. *Nature*, 527, 525-530.
<https://doi.org/10.1038/nature16064>

Zhi, Y. H., Song, H. M., Wang, P. L., Zhang, T., ve Yin, Z. Y., 2009, Suppression of matrix metalloproteinase-2 via RNA interference inhibits pancreatic carcinoma cell invasiveness and adhesion. *World Journal of Gastroenterology*, 15, 1072-1078.
<https://doi.org/10.3748/wjg.15.1072>

Zielińska-Górska, M., Sawosz, E., Sosnowska, M., Hotowy, A., Grodzik, M., Górski, K., Strojny-Cieślak, B., Wierzbicki, M., ve Chwalibog, A., 2022, *Molecular biocompatibility of a silver nanoparticle complex with graphene oxide to human skin in a 3D epidermis in vitro model*. *Pharmaceutics*, 14(7), 1398.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071398>

