

SAĞLIK

BİLİMLERİNDE ULUSLARARASI ARAŞTIRMALAR - I

Aralık 2022

EDİTÖRLER

PROF. DR. ENGİN ŞAHNA

PROF. DR. HASAN AKGÜL

PROF. DR. ZELİHA SELAMOĞLU

 SERÜVEN
YAYINEVİ

Genel Yayın Yönetmeni / Editor in Chief • C. Cansın Selin Temana

Kapak & İç Tasarım / Cover & Interior Design • Serüven Yayınevi

Birinci Basım / First Edition • © Aralık 2022

ISBN • 978-605-72852-8-7

© copyright

Bu kitabın yayın hakkı Serüven Yayınevi'ne aittir.

Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin almadan hiçbir yolla

çoğaltılamaz. The right to publish this book belongs to Serüven

Publishing. Citation can not be shown without the source, reproduced in any way without permission.

Serüven Yayınevi / Serüven Publishing

Türkiye Adres / Turkey Address: Yalı Mahallesi İstikbal Caddesi No:6
Güzelbahçe / İZMİR

Telefon / Phone: 05437675765

web: www.seruyenyayinevi.com

e-mail: seruyenyayinevi@gmail.com

Baskı & Cilt / Printing & Volume

Sertifika / Certificate No: 47083

Sağlık Bilimlerinde Uluslararası Araştırmalar - I

Aralık 2022

Editörler

Prof. Dr. Engin ŞAHNA

Prof. Dr. Hasan AKGÜL

Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU

İÇİNDEKİLER

Bölüm 1

ET İŞLETMELERİNDE HİJYEN HYGIENE IN THE MEAT BUSINESS

Pelin DEMİR, Ali ARSLAN 1

Bölüm 2

SAĞLIK KORUYUCUSU HIDROKSİTIROSOL: FARMAKOKİNETİĞİ, TOKSİSİTESİ VE KLİNİK KULLANIMI

Bilge ÖZCAN 25

Bölüm 3

DÜNDEN BUGÜNE LARVA TERAPİ

Veysi KIZMAZ 57

Bölüm 4

BRAKİTERAPİ UYGULAMALARINDA GÜNCEL GELİŞMELER

Hatice ERDEM, İlyas KÜÇÜK, Abdullah DADAK 71

Bölüm 5

AMYOTROFİK LATERAL SKLEROZ (ALS) HASTALIĞI VE CRISPR/CAS9 TEKNIĞI

Derya AKYILDIZ ÜSTÜNER, Nigar GASİMZADE 85

Bölüm 6

ŞEFFAH PLAKLARLA ORTODONTİK TEDAVİ

Zeynep ÇOBAN BÜYÜKBAYRAKTAR 101

Bölüm 7

PEDİATRİDEN GERİATRİYE SES DEĞİŞİMİ

Mümüne Merve PARLAK, Cansu YILDIRIM 115

Bölüm 8

KEMOTERAPÖTİK İLAÇLARIN METABOLİZMASINDA TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİN ETKİSİ

Ersin AKGÖLLÜ..... 131

Bölüm 9

RUMİNANTLARDA MYCOPLASMA ENFEKSİYONLARI

Burcu KARAGÜLLE 159

Bölüm 10

ÇOCUKLARDA İŞİTME, DİL VE KONUŞMA GELİŞİMİ

Ayşe Sanem ŞAHLI..... 179

Bölüm 11

NANOPARTİKÜL ARACILI İLAÇ DAĞITIM SİSTEMLERİ

Yeşim DAĞLIOĞLU 189

Bölüm 12

BOVINE HERPESVIRUS-1 ENFEKSİYONU VE BoHV-1'İN İMMUN SİSTEMDEN KAÇIŞ MEKANİZMALARI

Mehmet Özkan TİMURKAN, Muhammet Bahaeddin DÖRTBUDAK 213

Bölüm 13

ADLI RADYOLOJİ VE GELECEĞİ

Toygün Anıl ÖZESEN, Duygu ÖZGÜL ÖZESEN, Kenan KAYA 231

Bölüm 14

DIŞ ÇÜRÜĞÜNÜN ÖNLENMESİNDE ESANSİYEL YAĞLAR ESSENTIAL OILS IN CARIES PREVENTION

Zeynep Ceren ÇELİK 249

Bölüm 15

İN VITRO İNTESTİNAL PERMEABİLİTE BELİRLEME YÖNTEMLERİ

Burcu TİMUR 263

Bölüm 16

YETİŞKİNLERDE İNTRAVERNÖZ KATETERİZASYONA BAĞLI YAŞANAN AĞRININ AZALTILMASINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

Sevgi PAKİŞ ÇETİN 285

Bölüm 17

KÖK HÜCRE VE VETERİNER HEKİMLİKTE KULLANIMI

Yeşim ASLAN KANMAZ, Sadık YILMAZ 301

Bölüm 18

CERRAHİ YOĞUN BAKIMLARDA OLUŞAN BASINÇ YARALANMASI VE HEMŞİRELİK BAKIMI

Hatice ERDOĞAN, Sümeyye ESERER 319

Bölüm 19

BESLENME TEDAVİSİNDE YENİ BİR BAKIŞ: APİTERAPİ

*İbrahim Hakkı ÇAĞIRAN, Aslıhan DEMİRKAYA, Gülçin SAĞDIÇOĞLU
CELEP* 337

Bölüm 20

GERİATRİK KANSER HASTALARINDA KANSER TEDAVİSİ GENÇLERLE AYNI MIDIR ?

İlyas KÜÇÜK, Abdullah DADAK, Mehmet KARADENİZ 359

“

Bölüm 1

ET İŞLETMELERİNDE HİJYEN

Pelin DEMİR¹, Ali ARSLAN²

”

1 Dr. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Elazığ, Türkiye 0000-0002-0824-1672

2 Prof. Dr. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Elazığ, Türkiye 0000-0002-3011-5592 aarslan2@firat.edu.tr,

GİRİŞ

Hijyen, kişi ve toplum sağlığının korunmasını amaçlayan bir bilim dalıdır. Hijyen, sağlıklı yaşamak için enfeksiyon, toksikasyon riskini azaltmak veya yok etmek amacıyla yapılması gereken özel ve genel temizliktir (Eleman, 2019). Latince’de sağlık anlamına gelen “Hijyen” kelimesi, Avrupa Birliği’nin gıda hijyeni ile ilgili direktifinde, insan tüketimine uygun sağlıklı gıda üretiminde üretimin tüm aşamalarında oluşabilecek risklerin kaldırılması için koruyucu tüm önlemlerin alınması şeklinde tanımlanmıştır (FAO, 2003; Yusufu, 2019). Besin hijyeni, besinlerin üretiminin, muhafazasının, taşınmasının (transport), satışının (pazarlama) ve tüketiminin sağlığa uygun koşullarda yapılmasıdır. Üretim hijyenik koşullarda yapıldığında ürünün kalitesi ve tüketici sağlığı korunur aynı zamanda işletmenin elde ettiği kazanç ve ürünün raf ömrü de artmaktadır (Eleman, 2019).

Günümüzde tüketicilerin kaliteli ve sağlıklı gıda tüketimine duyarlılıkları giderek artmaktadır. Kalitenin iyileştirilmesi ve tüketiciye kalite güvencesinin verilmesi en önemli işletme politikası haline gelmiştir. Bu amaçla gıda sanayinde üretim ve hizmet endüstrisinde kalite güvencesi için oluşturulmuş geniş kapsamlı International Standarts Organisation (ISO) 9000, 9001, 9002, 9003 ve 9004 kalite standartları uygulanmaya çalışılmaktadır (Canata, 2005; Mocan, 2006; Trienekens & Zuurbier, 2008; Demirkol & Azabagaoglu, 2017, Ha vd., 2019; Ünsal, 2019; Tosun & Demirtaş, 2021).

Et endüstrisinde kaliteli ve verimli bir ürün üretimi, kaliteli ham maddenin ve katkı maddelerinin kullanılması, iyi bir teknoloji ve etkin bir hijyen programının uygulanmasıyla gerçekleşebilir. Sağlıklı et üretiminde, öncelikli temel koşul sağlıklı kasaplık hayvanların kesilmesi, kesimin bütün aşamalarında hijyenik koşullara dikkat edilmesi gerekir (Bakan, 2020) Et ve et ürünlerindeki mikrobiyel kontaminasyonlara bağlı olarak toksikasyonlar, toksienfeksiyonlar ve enfeksiyonlar şekillenebileceği gibi, ürünün kısmen veya tamamen kalitesi bozulabilir. Böylece tüketici sağlığı tehlikeye girebileceği gibi üretici firma da ekonomik zarara uğrar (Başkaya vd., 2004).

İşletmede temizlik ve dezenfeksiyonun yapılmaması, prosese uygun hijyen ve sanitasyonun uygulanmaması durumlarında temas yüzeyleri mikroorganizmaların kolonizasyonu ve biyofilm oluşumları için uygun ortam haline dönüşebilmektedir. Kan, deri, baş, ayaklar, iç organlar, karkas, personel, hava, alet ve ekipmanlar ile çalışma ortamı ve yüzeyler mikroorganizmalar ile kontamine olmaktadır (Arnold & Silvers, 2000; Fırıldak, 2012). Ortamda bulunan bakteriler yüzeyde bulunan, çıplak gözle görülen veya görülmeyen çizikler ve aşınmış bölgeler içine lokalize olmakta, birbirlerine ve yüzeylere bağlanarak biyofilm oluşturmaktadırlar (Carpentier & Cerf, 2000). Oluşan biyofilm tabakaları ortam yüzeyine çok sıkı bağlandıklarından normal te-

mizlik prosedürleriyle yüzeylerden uzaklaştıramamakta ve kullanılan dezenfektan maddeler yeterli etkiye bulunmamaktadır. Böylece biyofilme bulunan bakteriler olumsuz olan çevre koşullarına karşı zamanla daha direnç kazanmakta, canlılıklarını sürdürebilmekte, hammadde, ara ürün ve ürünler için sürekli bir kontaminasyon kaynağı haline dönüşmektedir (Kumar & Anand, 1998; Poulsen, 1999; Arnold & Silvers, 2000)

Hijyen kurallarına dikkat edilmemesi sonucu çok sayıda ve çeşitli mikroorganizma ile kontamine olabilen et, kısa sürede tüketilemez duruma gelmekte, ciddi sağlık problemlerine ve büyük ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Bu sebeple işletmelerde teknolojik ve hijyenik kalitenin yükseltilmesine yönelik çalışmaların hedefi; sağlık sorunu oluşturmayan, raf ömrü uzun ürün üretmektir. (Uğur vd., 1995). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre dünyada her yıl 600 milyon insan kontamine olan gıda tüketimi nedeniyle hastalanmakta ve bu hastalıkların 420,000'i ölümle sonuçlanmaktadır (Öncül & Yıldırım, 2019; WHO, 2019).

Et hijyeni, sağlıklı hayvan, işletme, personel, su, buz, buhar, alet, ekipman, ambalajlama/paketleme, etiketleme, nakliye ve depolama hijyenini kapsamaktadır (Anonim, 2005).

Sağlıklı hayvan yetiştirmek için aşağıdaki kriterlere dikkat edilmelidir.

- Hayvanlara kimyasal, toksikolojik ve mikrobiyolojik bakımdan temiz yem ve su verilmelidir.
- Patojenlerin çiftliğe girişi ve çiftlikte yayılması engellenmelidir. Çiftlikte et güvenliğinin sağlanmasının olmazsa olmazı hijyenik hayvan bakıcılığı uygulamaları ve hijyenik çiftlik koşullarıdır. Enfekte ve çiftliğe yeni giren hayvanlar patojenler için en önemli enfeksiyon kaynağıdır. İçerdeki bütün hayvanları enfekte edebilirler. Bu nedenle sağlıklı çiftliklerden hayvanlar alınmalıdır. Bu bağlamda en iyi bilinen yöntem “hepsi içeri, hepsi dışarı” yöntemidir. Patojenler, çiftlikteki vektörler, çalışan personel, ziyaretçiler, su, yem, hava, kontamine ekipman ile bulaşmaktadır.
- Yem katkı maddeleri ve ilaçlar mevzuatta belirtildiği şekilde kullanılmalıdır.
- Hayvanları hastalıklardan korumak için aşılar düzenli yapılmalı ve antiparaziter ilaçlar kullanılmalıdır.
- Entansif beside bayvan bakıcıları eğitilmiş olmalıdır. Ekstansif beside ise çobanlar eğitilmiş, meralar temiz ve sağlıklı olmalıdır.
- Tedavi edilen hayvanlarda kullanılan ilacın atılım süresi dolmadan hayvan kesilmemelidir. Gerekirse süt ve idrar ilaç kalıntısı yönünden incelenmelidir.

- Entansif beside barınaklar yeterli büyüklükte, yemlikler, suluklar ve kullanılacak malzemeler temiz olmalıdır. Barınağın kapasitesine uygun sayıda hayvan barındırılmalıdır.

- Çevredeki patojen döngüsünün önlenmesi: Hayvanlar merada otlarken, yemler, kontamine su, mezbahane ve çiftlik atıklarıyla etkenleri doğrudan veya dolaylı olarak almaktadırlar. Bu sebeple gerekli olan koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir.

- Atıklar ve zararlı maddeler, bulaşmayı önleyecek şekilde ortadan kaldırılmalıdır

- Patojenlerin hayvanlar tarafından alınmasını önlemek: Kontamine yem ve su patojenlerin hayvanlara bulaşmasında en önemli kaynaktır. Rodentler, kuşlar vb. hayvanlar rasyon ve suyun kontaminasyonunda önemli bulaşı kaynağıdırlar. Yemler düşük ısı derecelerinde muhafaza edilmelidir. Yem ve su hijyenine dikkat edilmesi gerekmektedir.

- Çeşitli nedenlere (enjeksiyon, yabancı cisim batması, boynuzlama, taşımada vb.) bağlı olarak oluşan yaralanmalar, berelenmeler ve apseleler hemen sağaltılmalıdır.

- Tohumlamalarda, sağlıklı boğalar kullanılmalıdır. Suni tohumlamada sağlıklı sperm kullanılmasına ve azami hijyene dikkat edilmelidir

İşletme Hijyeni

- İşletme, gelecekte teknolojik ve üretim kapasitesinde yapılabilecek yenilik, üretim artışı ve değişiklikler esas alınarak yeterli büyüklükte bir alan üzerinde kurulmalıdır. İşletmede üretimin verimli ve uygun verimli gerçekleştirilebilmesi için işletmenin yeterli büyüklükte ve gerekli kısımları içermesi gerekir.

- Öncelikle işletme, yerleşim ve endüstriyel (endüstriyel kirlilik, trafik yoğunluğu, toz, duman ve değişik kokulardan uzak olmalıdır) alanlardan uzak ve gelişmeye uygun bir alanda kurulmalıdır.

- İşletme, gıda güvenliği açısından risk teşkil edecek çevresel kirliliğin, gıda açısından risk içeren endüstriyel faaliyetlerin olduğu, sıvı ya da katı atıkların etkin bir biçimde uzaklaştırılamadığı alanlarda kurulmamalıdır.

İşletmede etkin bir hijyenin sağlanabilmesi ve uygulanabilmesi için:

- İşletmede kullanılan boyalar kurşun, kadmiyum, fenolik bileşikler gibi toksik maddeler içermemelidir. Epoxy boyalar tercih edilmelidir. Tuvaletler üretim yerlerinden uzak olmalıdır. Kapı ve pencereleri doğrudan gıda işleyen kısımlara açılmamalı.

- Kapılar ve musluklar otomatik olmalıdır.

- Yeterli sayıda tuvalet olmalıdır. Tuvaletlerin içinde yeterli sayıda tuvalet kâğıtları, sıvı sabunlar ve kâğıt havlular bulunmalıdır.

- Personelin tuvaletten çıktıktan hemen sonra ellerini yıkaması ve akabinde ellerini dezenfekte etmesi için uyarıcı yazılar bulundurulmalıdır. Atık sular ızgaralı ve koku kapanlı drenlerle tasfiye edilmelidir.

- Duvarlar suya dayanıklı, temizlenebilir, toksik olmayan maddelerden yapılmalıdır. Örneğin seramik, mermer ya da paslanmaz çelik kesim salonu en az 3 m, duvar dışındaki alanlar ise en az 2 m boyutlarında olacak biçimde kaplanmalıdır. Uygun yükseklikte ve düzgün olmalı, çatlak ve yarılmalar olmamalıdır. Zeminle duvar, duvar ile tavan arasındaki köşeler temizliğin kolay yapılabilmesi için yuvarlak yapılmalıdır. Duvarların üst kısımları en az altı (6) ayda bir tercihen üç (3) ayda bir, alt kısımları ise en az haftada bir (1) kez temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir.

- Atıklar kapalı sistemle kanalizasyona akıtılmalıdır. Arıtma üniteleri mutlaka olmalıdır.

- İşletme zemini, su birikimini önleyecek şekilde tasarlanmalıdır. Eğimin temiz alandan kirli alana doğru hafif eğimli ve suların kolay akmasını sağlayacak şekilde kanallar içermelidir. Zeminin suya dayanıklı, su absorbe etmeyen, kolay temizlenebilir, çatlak ve kaygan olmayan, dezenfektan maddelere dayanıklı bir yapıda olması gerekir.

- İşletmeye ait ana giriş kapısı üretim alanına direk açılmayacak şekilde olmalıdır.

- Haşere ve sinekler ile etkin mücadele yapılmalıdır. Bu amaçla mekanik önlemler, kontrollü atmosfer (sıcak buharla dezenfeksiyon, metil bromür, etilen dibromür, etilen diklorür, fosfin ve etilen oksit gazlarıyla), kimyasal yöntemler (insektisidlerin aerosol veya duman şeklinde uygulanması), elektriksel yöntemlerle (işletmede UV lambaları ve elektro kütörlerin kullanılması) kontrolü sağlanabilir.

- Haşere, kemirgen, sürüngen ve diğer zararlılara karşı önlem alınmalıdır. Haşere girişine imkan sağlayacak delikler ve çatlaklar kapatılmalıdır. Bu zararlılara karşı etkin bir program dahilinde düzenli periyodlar halinde mücadele yapılmalıdır. Bu amaçla fiziksel (tuzak, kapan ve ultrases dalgaları ile) ve kimyasal yöntemlerle (hayvanların severek yiyebilecekleri yemlere rodensitlerin katılması) önlem alınabilmektedir.

- Kuş ve diğer kanatlıların işletmeye girişleri engellenmelidir. Bu amaçla hayvanların girebilecekleri yerlere kapan veya tuzaklar konulmalı, tel elekler takılmalı veya dış alanlara korkuluklar konulmalı, sitrisin, avitrol, mezurool, bayteks gibi kuş zehirleyici maddeler kullanmak ya da ses dalgaları ve piroteknik yöntemler kullanmak.

- Kapı ve pencerelerin genişliğinin yeterli ölçüde olması gerekmektedir. Kapılar otomatik veya iki yönlü çalışır tipte olmalıdır. Kapı ve pencereler böcek ve diğer zararlıların içeri girmesini engelleyecek yapıda olmalıdır. Paslanmaz materyalden yapılmalıdır. Şayet ağaçtan yapılmışsa yüzeyleri düzgün, su absorbe etmeyen bir materyal ile kaplanmalıdır. Pencereler uygun sinekliklerle kaplanmalıdır.

- İşletmede ilk yardım malzemelerini eksiksiz içeren ilkyardım dolabı bulunmalıdır.

- İşletmede çalışırken aşırı gürültü veya ses çıkaran alet veya makineler mümkün olduğunca kullanılmamalı ya da kullanıldıkları bölmeler ayrılıp özel ses geçirmeyen maddelerle duvarları izole edilmelidir. Gürültü personel üzerinde psikolojik etki yaparak verimliliği, işe olan ilgiyi, dikkati ve temizliği olumsuz yönde etkiler. Bu durum giderilmezse personelin ses önleyici kulaklık takmaları önerilebilir.

- İşletmenin büyüklüğüne veya havadan kaynaklı bulaşma riski olup olmamasına göre doğal ya da mekanik olarak yeterli ölçüde havalandırma sağlanmalıdır.

- İşletme havasının mikrobiyolojik yönden temiz olup olmadığını saptamak amacıyla ortam petrisi her hafta belli yerlere konularak kontrol edilmelidir.

- Temiz ve kirli alanlar iş akışını engellemeyecek şekilde ayrı yapılmalıdır. Eğer bu alanların birbirine geçişi zorunlu ise alanların geçiş yerlerinde uygun bir dezenfeksiyon sistemi bulundurulması gerekmektedir.

- İşletmede yeterli doğal aydınlatma veya renkleri değiştirmeyen yapay ışıklandırma olmalıdır. Yapay aydınlatmada gün ışığına denk bir aydınlatma sağlanması gerekir.

- Depolar işletmenin ihtiyacını karşılayacak yeterli sayıda ve büyüklükte olmalıdır. Depolar, drenajı sağlayacak ve suyun yoğunlaşmasını engelleyecek yapıda olmalıdır.

- Üretim yeri girişinde, ham madde ve ürün üreten bölümlerin girişinde hijyen bariyerleri olmalıdır. Bu amaçla ultraviole ve ozon kullanılabilir. İçinde dezenfektan madde bulunan küvet, ayak paspası veya ayak havuzları bulunmalıdır.

- İşletmede hijyen kontrol programları oluşturulmalı ve uygulanmalıdır. İşletmede bulunan tüm alanların temizliğinin yapılmasının yanında gıda-işletme güvenliği açısından risk oluşturabilecek kritik alanların, alet ve ekipmanların temizlik, dezenfeksiyon şekli ve sıklığı hijyen kontrol programına göre önceden belirlenmelidir. Hijyen kontrol programlarında bulunan talimatlar iş yerinin ilgili bölümlerine asılarak yapılan temizlik ve dezenfeksiyon

siyon işlemlerinin yer, kişi, saat alanları işaretlenerek doldurulmalıdır.

- Atıklar kapalı sistemle kanalizasyona akıtılmalıdır. Arıtma üniteleri mutlaka olmalıdır.
- Çalışan personel için yeterli sayıda giyinme, dinlenme yeri ve duş kabinleri bulunmalıdır. Her 15 işçi için bir duş kabini olacak şekilde planlanmalıdır. Bunların pencere ve kapıları doğrudan tuvaletlere ve çalışma alanlarına açılmamalıdır.
- Mikrobiyolojik açıdan duyarlı olan üretim alanlarında gerektiği durumlarda pozitif hava basıncı sağlanmış olması gerekmektedir.
- Günlük çalışma rutininin bitiminden hemen sonra ya da çalışmanın olmadığı uygun zamanlarda gıda maddelerinin işlendiği ortamda bulunan aletler, malzemeler, zemin, kanallar ve duvarlar iyice temizlenmeli, dezenfekte edilmeli ve akabinde kurutulmalıdır.
- Tüketime uygun olmayan et, et ürünleri ve sakatatın, atıkların, çöplerin uzaklaştırılması için paslanmayan, su geçirmeyen, kolay temizlenip dezenfekte edilebilir özellikte ve özel işaretlere sahip kilitlenebilir yapıda taşıma araçları bulundurulmalıdır. Çalışma gününün bitiminde atık ve çöpler tesisten uzaklaştırılmıyor veya imha edilemiyor ise atık ve çöplerin konulması için kilitlenebilir bir soğuk oda bulunması gerekmektedir.
- İşyerinin içerisinde uygun yerlerde bölümlere uygun olacak şekilde uyarıcı yazılar bulunmalıdır.
- İşletmede et ve et ürünleri ile ilgili bütün alanlarda soğuk zincir kontrolünü sağlamak için termometre ya da termograf bulundurulmalıdır. Sıcaklık kontrolüne dair güncel bilgiler kayıt olarak tutulmalıdır.
- Depolar işletmenin ihtiyacını karşılayacak yeterli sayıda ve büyüklükte olmalıdır. Depolar, drenajı sağlayacak ve suyun yoğunlaşmasını engelleyecek yapıda olmalıdır.
- Atıklar kapalı sistemle kanalizasyona akıtılmalıdır. Arıtma üniteleri mutlaka olmalıdır (Tezcan, 2007; Yasan, 2007; Anonim, 2007).

Personel Hijyeni

Gıda işletmesinde çalışanlar ve ziyaretçiler potansiyel bulaşma kaynağıdır. Çalışanların hareket, davranış ve alışkanlıkları hijyen üzerinde doğrudan etkilidir. İnsanların oral ve nasal boşluğu, sindirim sistemi ve derisi bakteriyel enfeksiyonların en önemli kaynağını oluşturmaktadır.

Personel hijyeninde aşağıda belirtilen hususlara dikkat edilmelidir:

- İşletmede yapılan sanitasyon uygulamalarının etkinliğini denetlemek amacıyla gıda güvenliği konusunda yeterli eğitim almış ve yeterli deneyime sahip olan sorumlu yönetici olmalıdır.

- Gıda işletmecisi, gıda güvenilirliğinin sağlanmasında öncelikli sorumluluk sahibidir.

- Çalıştırılacak personel resmî bir sağlık kuruluşundan sağlık raporu almadan çalıştırılmamalıdır. Çalışanların periyodik sağlık kontrolleri 3 ayda bir yapılmalıdır. Yapılan sağlık kontrolleri, tetkikler vs. sağlık kartlarına işlenmelidir. Tetkikler sonucunda hasta olan personeller derhal sağıltıma alınmalı ve bu süreçte iyileşme süresini tamamlayana kadar sağlık raporu almalı, almayanlar kesinlikle çalıştırılmamalıdır.

- Çalışan personelin portör, elinde ve yüzünde yara, çıban, apse ve egzama gibi deri hastalıkları, grip, ikter, nezle, ateşli, ateşle seyreden boğaz ağrısı, sık sık hapsiran, öksürüklü, ishalleri, hepatitli, kusan, burun, göz veya kulakta akıntı olan veya sahip olmasından şüphelenilen kişiler çalıştırılmamalıdır. Kesik sonucu olan yaralar uygun şekilde kapatılmalıdır. Bu bölge ilgili gıda veya gıda maddelerinden ile direkt veya dolaylı olarak teması engellenmelidir.

- İşletmede çalışan her birey, öncelikle kişisel temizlik ve davranışında örnek olmalıdır.

- Personel iş kıyafetiyle dış alana çıkmamalı ve gündelik kıyafetiyle işyerinde çalışmamalıdır.

- Her işçi için bir adet 2 gözlü elbise dolabı olmalıdır.

- Tuvaletten, sigara içildikten, paraya el ile temas ettirildikten yada herhangi bir kontamine maddeyi palpe edildikten sonra mutlaka eller yıkanmalı ve akabinde dezenfekte edilmelidir. El kurutmada kağıt havlular veya el kurutma makineleri kullanılmalıdır. Bu nedenle üretim yerlerinin giriş kapılarına uyarıcı yazılar yazılmalıdır.

- Personele günde en az bir (1) defa duş alma zorunluluğu getirilmelidir. Bunun için gerekli şart ve koşulların işveren tarafından sağlanması gerekmektedir. Personel dolaplarının içlerinin temiz olması ve bu dolaplara yiyecek ve içecek konulmamalıdır.

- İşletmede personelin tüketimi için getirilen yiyecek ve içeceklerin, et ve et ürünleri ile ilgili bölümlere bırakılması yasaktır.

- Gıda işlenen bölümlerde sigara içilmemesi, sakız çiğnenmemesi, yiyecek yenilmemesi, tükürülmemesi, yüksek sesle konuşulmaması, şarkı ve türkü söylenilmemesi gerekmektedir.

- Et bölümünde çalışan personelin sakatat veya sakatat ürününe, sakatatın temizlenmesi ve işlenmesinde çalışan personelin ise et veya et ürününe dokunmaması gerekmektedir.

- Üretim alanındaki lavabo kişisel temizlik ve tuvalet sonrası temiz-

lik amacıyla kullanılmamalıdır.

- Eller 42°C sıcak su ile yıkanmalıdır. Çalışanlar ellerini 44°C'lik sıcak su ile yıkadığında ellerindeki mikroorganizmaların %90'ın giderilebildiği belirtilmektedir.

- Üretim yerlerine, çalışan personel dışında kimse girmemeli ve buna müsaade edilmemelidir. Çok zorunlu durumlarda uygun giysilerle (kep, çizme, önlük vb.) girmelerine izin verilmelidir. Aynı koşullar ziyaretçilere de uygulanmalıdır.

- Personel uygun iş giysileri (önlük, galoş, çizme, bone, eldiven, maske, kask ve iş gözlüğü vb.) giymelidir. Her işçi için bu giysilerin yedekleri de bulunmalıdır. Bu kıyafetlerin renkleri temiz ve kirli alanda çalışan personelin kıyafetinden farklı olmalıdır. Her çalışma gününde personel, temiz çalışma kıyafetleri giymeli ve gerektiği takdirde gün içerisinde bu kıyafetlerini değiştirmesi gerekmektedir. Çalışma sırasında personel her türlü takı, yüzük ve mücevheri çıkartmalıdır (Anonim, 2007).

Su, Buhar ve Buz Hijyeni

Su, buhar ve buz hijyeninde aşağıda belirtilen hususlara dikkat edilmelidir.

- İşletmede kullanılacak suyun fiziksel (renk, koku, tat vb.), kimyasal (pH, sertlik, nitrat, nitrit, organik madde, oksijen vb.) ve mikrobiyolojik (aerob genel canlı, koliform vb.) bakımdan içme suyu niteliklerine sahip olması gerekmektedir. Temizlik ve çalışma alanlarının tüm bölümlerinde devamlı, içilebilir nitelikte ve yeterli basınçta sıcak ve soğuk su olmalıdır.

- İşletmede kullanılan sular (buhar üretimi ve soğutma amaçlı kullanılanlar hariç) uygun bir yöntemle dezenfekte edildikten sonra kullanılmalıdır. En yaygın yöntem suyun klorlanmasıdır. Suyun otomatik klorlama cihazıyla sürekli klorlanması gerekir. Bu sulardaki serbest klor miktarının 0,2-0,5 ppm arasında olması ve 1,0 ppm'i geçmemesi gerekir. Klorlanan su, en az yirmi (20) dk bekletildikten sonra kullanıma verilmelidir. Bu bekletme sürecinde klor mikroorganizmaları yıkımlanmaktadır. Ya da suyun dezenfeksiyonunda başka kimyasal maddeler örneğin; ozon veya membran filtrasyon gibi her hangi bir yöntem de kullanılabilir.

- Karkas yıkama sularına 50 ppm klor ya da %1-2 oranında organik asitler (laktik, asetik vb.) ilave edilerek karkaslarda bulunabilecek mikroorganizmalar yıkımlanır.

- Su, kimyasal kontaminasyon için de bir kaynak olabilir; ağır metaller, tarım ilaçları, nitrat ve endüstriyel atıklar vb. gıdaya temizlik veya proses için kullanılan su ile de bulaşabilir.

- Ürünlerin pastörizasyonunda, sterilizasyonunda ve soğutulmasın-

da içme suyu niteliklerine sahip su kullanılmalıdır.

- Buhar gıda ile doğrudan temas ediyorsa sağlık için tehlikeli olacak herhangi bir madde içermemeli veya gıdayı bulaştırma ihtimali bulunmamalıdır.

- Gıda ile temas eden buz veya buharın Türk Gıda Mevzuatına (Anonim, 2018) uygun, içilebilir nitelikte sudan üretilmiş olmalı ve işletme içinde hijyen kurallarına göre depolanmalı ve taşınmalıdır.

- Fazla sert sular sistemde korozyona ve taş oluşumuna neden olduğundan sistemin çalışmasını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Suyun sebep olacağı koroziv etkiyi ve taş oluşumunu engellemek için polifosfat, hekzametafosfat, silisik asit veya bunların tuzları gibi su yumuşatıcılar kullanılmalıdır.

- Kullanılan suların resmî bir kurum tarafından usulüne uygun şekilde alınan numunelerde her ay bakteriyolojik ve üç (3) ayda bir kimyasal analizlerinin yapılması gerekmektedir.

- Su depolama tanklarının, taşıma boruları ve musluklarının kaliteli, standartların önerdiği özelliklerde olması gerekir.

- Etkili temizlik için kullanılacak suyun miktarı da önemlidir. Bir kaynakta bir büyük baş için 340 lt, koyun için 56 lt, domuz için 568 lt suyun kullanılması önerilmektedir. Avrupa Birliği (EEC, 1980)'nin kriterlerine göre günlük olarak, her bir domuz için 454 lt, her bir sığır için 272 lt, koyun için 45 lt ve bunlara %25 ilave edilmelidir. Uygun basıncın 15 psi olduğu belirtilmektedir.

- Suyun sıcaklığı da önemli olup, kullanım amacına göre suyun sıcaklığı ayarlanmalıdır. Örneğin karkas yıkama suyunun 32,2-37,7 °C'ler arasında olması gerekir. Temizlik için yeterli sıcak su olmalı, bıçak, masat vb. gibi aletlerin dezenfeksiyonunda kullanılan suyun sıcaklığı en az 82°C olmalıdır. İşletmede yüksek sıcaklıktan olumsuz etkilenecek alet, ekipman varsa suyun sıcaklığı 90°C'yi geçmemelidir (Kara, 2007; Yasan, 2007; Topal, 2007; Arslan, 2002)

Alet ve Ekipman Hijyeni

Alet ve ekipman hijyeninde aşağıda belirtilen hususlara dikkat edilmelidir.

- Gıda ile temas eden malzemeler, alet ve ekipmanlar bulaşma riskini en aza indirecek şekilde yapılmalıdır. Aynı zamanda bu amaca uygun malzemeden üretilmeli, çalışır durumda olmalı, periyodik olarak bakımının yapılması ve iyi şartlarda tutulması gerekmektedir.

- Öncelikle alet/ekipman et, et ürünü ve sakatat üzerinde olumsuz

etkisi olmamalıdır.

- Bir önceki işlem adımından bir sonraki işlem adımına temas, sıçrama, damlama vb. yollar ile bulaşmanın olmaması için makinelerin/ekipmanın bu husus dikkate alınarak yerleştirilmesi gerekir.
- Makine ve ekipman yerleştirilirken personelin bunlar arasındaki hareketlerinin kısıtlanmaması gerekir.
- Hareketli ekipmanların, diğer işlemleri ve hareketleri kısıtlamasızın hareket edebilme imkânlarının sağlanması gibi hususlar dikkate alınmalıdır.
- Alet/ekipmanın bakım, temizlik ve/veya dezenfeksiyonu kolay olmalıdır.
- Gıdanın işlendiği alanlarda bulunan yüzeylerin, ekipman ve ekipman yüzeyleri dahil gıda ile temas eden tüm yüzeylerin sağlam yapıda, kolay temizlenebilir ve dezenfekte edilebilir olması gerekmektedir.
- Ekipman düzeni çok iyi yapılmalıdır. Uygunsuz yapılan düzenlemelerde temizlik ve dezenfeksiyon zor ve oldukça uzun sürer.
 - Bütün kısımları kolaylıkla temizlenebilmeli ve dezenfekte edilebilmelidir.
 - Erişilemeyen çatlaklar, kırıklar, açılar ve cepler giderilmelidir.
 - Kaynak yerleri pürüzsüz ve sürekli olmalıdır.
 - Galvanizlemede bozukluk olmamalı pürüzsüz ve sürekli olmalıdır.
 - Korozyona dayanıklı olmalıdır.
 - Ekipman ve duvarlar arasında çalışma boşlukları olmalı ve bu alanlar çalışanların giysi veya kendilerinden, gıda veya gıda temas yüzeyinin kontamine olmasını engellemelidir. Ekipman zemininin temizliği için ekipman yeterli yükseklikten kurulmalıdır.
- Kullanılan bütün alet ve ekipmanlar, teknik donanımlar asit ve alkali temizlik ve dezenfeksiyon maddelerine, ısı ve buhar gibi uygulamalara, tuz ve benzerlerine karşı dayanıklı ve gıdaya bulaşmayı önleyecek şekilde olmalı. Yüzeyleri pürüzsüz, yıkanabilir, korozyona dayanıklı ve toksik olmayan maddelerden üretilmiş olması gerekir. Yüzeyi düz, dezenfektan maddelere dayanıklı, koku absorbe etmeyen, kolay temizlenebilen ve dezenfekte edilebilir özellikte olmalıdır.
- Temizlik ve dezenfeksiyonu güç olan ağaç sehpalar, kütükler kullanılmamalıdır. Et parçalamada ağaç sehpalar yerine poliamid ya da PVC (Polivinilidin Chlorid) sehpalar kullanılmalıdır. Bu sehpalar aşınmaya karşı daha dayanıklı olup, bıçak ya da satır darbeleriyle daha az iz oluşur,

temizlik ve dezenfeksiyonları daha etkin bir şekilde yapılır.

- Üretim alanında gıdayla temas halinde olan tüm makine-teçhizat, alet ve ekipman için temizlik prosedürlerinin olduğu talimatlar olmalı, bu talimatlarda kullanılan deterjanın türü, yoğunluğu (konsantrasyonu), uygulanacak sıcaklık, uygulanması gereken süre ve uygulanma sıklığı belirtilmelidir. Temizliğin etkinliği işletme tarafından belirlenen periyotlarda uzman kişi veya kişilerce tespit edilmeli ve kayıtları tutulmalıdır.

- Arıza veren ekipmanlar üzerine cihazın arıza durumu ile ilgili bilgilendirme tabelaları asılmalı, cihaz en yakın sürede tamir edilmeli veya üretim alanından uzaklaştırılmalıdır. Artık üretimde kullanılmayan eski alet ve ekipmanlar ilgili ortamdan kaldırılmalıdır.

- Aletler, masalar, taşıma kapları, askılıklar, caraskal vb. kullanım amaçlarına göre (302, 303, 304, 304 L, 305, 316 ve 316 L tipi) paslanmaz çelik malzeme kullanılmalı, temizlik-dezenfeksiyon ve paslanmaya dayanıklı olmalı. Alüminyum, ahşap, pirinç, bakır ve demirden yapılmış malzemeler mümkün oldukça kullanılmamalıdır. Çünkü bunlar arzulanmayan kokulara, yağlarda oksidasyona ve üründe lezzet bozukluklarına neden olabildikleri gibi korrozyona da daha duyarlıdırlar.

- Alet ve malzemenin bakım, temizlik ve dezenfeksiyonu iş bitiminden hemen sonra periyodik olarak yapılmalıdır.

- Atıl durumda olan bütün boru, bağlantı parçaları ve uzantıları yerden yüksek ve ağız kapalı durumda tutulmalıdır.

- Ölçüm ekipmanı ve teçhizatlarının kalibrasyonu yapılmalı ve kayıtları tutulmalıdır. (Yasan, 2007; Tezcan, 2007; Anonim, 2018; Foodelhi, 2022)

Taşıma ve Depolama Hijyeni

Taşıma ve depolamada aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir.

- Mezbahanın kesim kapasitesine uygun yeterli sayıda ve alana sahip soğutma ve/veya şoklama depoları olmalıdır.

- Kullanım amacına göre (şüpheli etlerin, şarta tabi etlerin, sağlıklı etlerin konulacağı) hem soğutma ve hem de şoklama yapabilen yeterli sayıda depo olmalıdır.

- Depolarda yoğunlaşma suyunun atılmasını sağlayacak sistem olmalıdır.

- Depoların zemini su geçirmez, kolay temizlenip dezenfekte edilebilir yapıda olmalıdır.

- Deponun kapıları hava ve her türlü zararlıının girişini önleyecek

şekilde uygun bir donanıma sahip olmalıdır.

- Depolarda defrost suyunun zemine akması engellenmelidir.
- Depoların zemini pürüzsüz, duvarları düzgün ve sıvası dökülmemiş, kolay temizlenebilir özellikte ve ürünlerde olumsuz etki oluşturmaya-
cak nitelikte olmalıdır.
- Deponun üst kısmı, tavanı ve çatısı akmayı, sızmayı önlemeli ve sıcaklık değişimlerinden etkilenmeyecek şekilde yalıtımlı olmalıdır.
- Depolarda bulunan taşıma araç ve gereçlerinde kullanılan alet, ekipman ve malzemeler temiz, sağlam, hijyenik ve amacına uygun olmalıdır.
- Ham madde, diğer üretim girdileri, işlenmiş gıdalar, yedek alet ve ekipmanlar, temizlik ve dezenfektan malzemeleri ayrı yerlerde depolanmalıdır. Gıda maddeleri birbirinin özelliğine etki etmeyecek şekilde depolanmalıdır.
- Gıda ve gıda ile temasta bulunan madde ve malzemeler, ham madde, gıda bileşenleri, bozulmalarını, zarar görmelerini ve kirlenmelerini önleyecek aynı zamanda duvarla ve zeminle temas etmeyecek şekilde, palet yüksekliğinde ve rutubet geçirmeyen uygun malzeme üzerinde muhafaza edilmelidir.
- Depolar, işletme kapasitesine uygun büyüklükte ve temiz olmalıdır.
- Gıdaların taşınması için kullanılan araçlar ve/veya kaplar, yeterli temizlik ve dezenfeksiyonun uygulanmasına uygun olacak şekilde dizayn edilmeli, temiz tutulmalı, gerektiğinde bakımı yapılmalı ve iyi muhafaza edilmelidir.
- Depolarda ve taşıma araçlarında sıcaklık, nem ve havalandırma, hammadde, yardımcı madde, aroma ve katkı maddesi ürün özelliklerine uygun olmalı, depolar ve taşıma araçlarında sıcaklık ve gerekli hallerde rutubet ölçer cihazlar bulundurulmalı, bilgiler sürekli kaydedilmelidir.
- Gıda ve gıda ile temasta bulunan madde ve malzemeler, temizlik ve dezenfeksiyonda kullanılan malzemeler, toksik maddeler ve iade ürünler, uygun etiketleme işlemi uygulanarak ayrı olacak şekilde muhafaza edilmelidir.
- Araç ve/veya konteyner içindeki kaplar, gıda dışında başka bir maddenin taşınmasında kullanılmamalıdır.
- Gıdalar, araç ve/veya konteyner/kaplar içerisine bulaşma riskini en aza indirecek, çapraz bulaşmayı engelleyecek biçimde yerleştirilmeli, ambalajlanmalı/paketlenmeli ve korunmalıdır.

- Gıda maddeleri ile birlikte başka bir maddenin veya farklı gıda maddelerinin aynı anda birlikte taşınması durumunda, ürünler birbirinden tamamen ayrılmış olmalıdır.

- Taşıma araçları etkili temizlik ve dezenfeksiyon yapılacak şekilde tasarlanmalı ve imal edilmelidir. Farklı gıda maddelerinin taşınmasında kullanılan konteyner/kaplar, yükleme ve taşınma esnasında gıdalar arasında çapraz bulaşmayı engelleyecek şekilde temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir.

- Temizliği bitmiş aracın ve konteynerlerin kapıları hemen kapatılmalı ki temizlik sonrası olabilecek kontaminasyon engellenmelidir.

- Gıda maddelerinin taşınmasında kullanılan araçlar, bu gıda maddelerinin uygun sıcaklıklarda muhafaza edilmesine ve söz konusu sıcaklıkların izlenmesine imkan verecek özellikte olmalı, konteyner/kapların üzerinde açıkça görülebilecek ve silinmeyecek bir şekilde “yalnız gıda maddesi için” ibaresinin bulunması sağlanmalıdır (Anonim, 2011; Arslan, 2020)

Ambalajlama/Paketleme ve Etiketleme Hijyeni

Ambalajlama ve etiketlemede aşağıda belirtilen hususlara dikkat edilmelidir.

- Ambalaj materyali, bulaşma riskine maruz kalmayacak şekilde depolanmalıdır.

- Ambalajlama ve paketleme için kullanılan materyal bulaşma kaynağı olmamalıdır.

- Personel elinin, etin yerleştirildiği ambalajın iç yüzeyine teması engellenmelidir.

- Gıda ambalajlanması ve paketlenmesinde kullanılacak madde ve malzemeler Türk Gıda Mevzuatına uygun olmalıdır.

- Et veya et ürününün ambalaj kaynaklı kontaminasyon riskini önlemek için kutular hijyenik koşullarda depolanmalı ve kullanılacakları zaman ambalajlama sistemine dahil edilip hemen ürün ambalajlanmalıdır.

- Personel ambalajlama sırasında et veya ürünü kontamine edecek her türlü davranıştan kaçınmalıdır.

- Ambalaj ve paketleme malzemelerinin ambalajlama ve paketleme alanına getirilmesinde hijyenik koşullar sağlanmalıdır.

- Ambalajlama materyalleri ve paketleme malzemeleri bulaşmaya yol açmayacak şekilde ambalajlı ve etiketli olarak depolanmalıdır.

- Ambalajlama ve paketleme prosesleri gıdaya bulaşmayı önleyecek biçimde yapılmalıdır.

Gıdaların ambalajlama ve paketlemesinde bir defadan fazla kullanılmak amacıyla üretilmiş olan malzemelerin temizlenebilir ve dezenfekte edilebilir olmalıdır.

Atıklar

Atık maddeler, zararlılar için potansiyel bir gıda kaynağıdır. Bu atıklar bulaşmaya neden olabilir. Atıklar, et veya ürünün biyolojik ve fiziksel bulaştırılmasında önemli bir kaynak olabilir. Atıkların gıda zincirine tekrar girmesini önlemek için gerekli önlemler alınmalıdır.

Atıklardan kaynaklanacak riskleri gidermek için aşağıdaki hususlara dikkat edilmelidir.

- Atıklar fazla biriktirilmeden kapalı olarak işletmeden hemen uzaklaştırılması gerekir.

- Atıkları uzaklaştırmadan önce bunların depolanması için üretim yerlerinden uzak, kolay temizlenebilir ve zararlıların erişemeyeceği uygun yerler tahsis edilmelidir.

- Kapatılabilir kaplarda veya uygun alternatif bir sistemle toplanması,

Atık yönetimi ve tasarımı oluşturularak aşağıdaki önlemler alınmalıdır:

- Atık yönetimi ekipmanlarının (şutlar, tüy, deri uzaklaştırma kanalları, konteynerler vb.) kullanımı ve prosedürlerin uygulanması için (örneğin; üretim alanlarından atıkların çıkarılması, depolanması, bertarafı) bu işlemlerin hijyenik olarak yürütülmesini sağlayacak ve insan tüketimine yönelik ürünlerin kirlenme riskini giderecek şekilde yeterli alan bırakılmalıdır.

- Hayvansal yan ürünler, tüketilemeyen yan ürünler ve diğer atıkların toplanması, depolanması ve bertarafına ilişkin etkili bir temizlik, bakım ve zararlı kontrolü sağlamak için yeterli prosedürler ve personel talimatları hazırlanmalıdır.

- Üretim alanlarından olabildiğince hızlı bir şekilde uzaklaştırılması,

- Atık maddelerin birikmesine izin verilmemelidir. Zira aksi bir durum zararlıları işletmeye çekecektir (Anonim, 2011)

Atık Su Drenaj Sistemi

- İşletmenin tamamında atık su drenajı amaca uygun olmalıdır. Drenajlar işletmedeki atık tipine ve miktarına uygun, bulaşma riskini önleyecek biçimde tasarlanmış ve inşa edilmiş olmalıdır.

- İşletmede atık su drenaj sistemi bulaşma riskini önleyecek şekilde tasarlanmalı ve inşa edilmelidir.

- Drenaj kanallarının tamamen veya kısmen açık olması halinde bu kanallar, atıkların kirli alandan temiz alana, özellikle son tüketici için yüksek risk oluşturan gıdaların muamele edildiği alanlara doğru veya bu alanların içerisine akmasını engelleyecek şekilde tasarlanmalıdır (Anonim, 2011; Sevim, 2019).

Drenajlarda aşağıdaki hususlara dikkat edilmesi gerekir

- Drenajın bina dışındaki kanalizasyon veya gidere bağlandığı noktaya, bina içine haşere girişini engellemek için filtre takılmalıdır,

- Yıkama istasyonları (sabit spreyleyler, çizme yıkama, önlük yıkama), lavabolar, sterilizatörler, karkas ve sakatat duşları, çalışma masaları ve makinelerden gelen atık su, kanalizasyon veya kanallara borular yoluyla pozitif olarak gönderilmelidir.

- Atık suyun taşmasını önleyecek, yeterli taşıma kapasitesinin olması, görünür buğuya yol açmaması,

- Katı atık tutma sisteminin bulunması,

- Açık kanallarda kanal ızgaralarının olması,

- Et işletmelerindeki drenaj sistemi yağ, kan ve su gibi değişik atık maddelere uygun tasarlanmış olmalıdır

- Koku kapanlarının bulunması,

- Soğutucu ekipmandan gelen yoğunlaşma suyu zemine pozitif olarak gönderilmelidir. Boru içerisinde ve depo ortamı ile hava bağlantısı olmadan verilmelidir.

- Drenaj sistemi, atıkların ve kanaldaki kirli havanın gıda işleme alanlarına girişini engellemek amacıyla kolay temizlenebilir su ve tortu tuzakları ile daha güvenli hale getirilmelidir.

TEMİZLİK

Temizlik, dezenfeksiyondan önce yapılan bir işlemdir. Ancak anthrax (şarbon) ve ruam gibi zoonoz hastalıklarda, hastalık etkenleri temizliği yapan kişilere bulaşacağından dolayı dezenfeksiyon yapıldıktan sonra temizlik işlemi yapılmalıdır.

Tanımı: Dezenfeksiyon öncesi yapılan dekontaminasyon işlemi olup, alet ve ekipmanların yüzeylerine bulaşmış gözle görülebilen veya görülemeyen, üretim yapılan yerin çevresinde, üzerinde bulunan kaba kirlerin, atıkların ve yabancı maddelerin mekanik olarak uzaklaştırılmasıdır. Temizlik işlemi, fiziksel ve kimyasal temizlik olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. Fiziksel temizlik mekanik olarak işletmede görünebilen kaba kirlerin, kimyasal temizlik ise görünebilen kirlerle birlikte mikroskobik

kirlerin de temizlik maddeleri kullanılarak ortamdan uzaklaştırılmasıdır.

Etkili temizliğin yapılması için öncelikle ön yıkama ile temizlenecek yüzey kaba kirlerden arındırılmalıdır. Temizlemede kullanılacak suyun fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikler açısından içme suyu niteliklerine sahip olması gerekir. Kullanılacak su sert olmamalıdır. Çünkü sert suların ihtiva ettiği Ca^{++} ve Mg^{++} iyonları sabunları yağ asitlerine parçalamaktadır. Açığa çıkan yağ asitleri tekrar Ca^{++} ve Mg^{++} iyonları ile birleşerek suda erimeyen yeni sabunları oluştururlar. Böylece sert sular kullanıldığında fazla miktarda sabun veya anyonik aktif deterjanlar harcanır. Sıcaklık artışı, kir ile yüzey arasındaki bağı zayıflatmakta, temizlik maddesinin temizleme gücünü de arttırmaktadır. Yağların giderilmesinde kullanılacak suyun sıcaklığı en az yağın erime noktasının 2-3°C üzerinde olması gerekir. Proteinli kirlerin giderilmesinde kullanılacak suyun sıcaklığı proteinlerin denature olacakları sıcaklık derecesinin altında olmalıdır. Çünkü proteinler denature olduğunda yüzeye daha sıkı tutunurlar ve temizlenmeleri oldukça güçleşir. Bu nedenle bu tür kirlerin yüzeyden tamamen elimine edilmesi için su, köpük veya jel ile yumuşatılmaları gerekir. Bu bakımdan protein kaynaklı kirler (et suyu, kan, plazma serum, sosis emülsiyonları, kıyma artıkları vb.) kurumadan kısa aralıklarla temizlenmelidir.

Suyun sıcaklık derecesi, kir çeşidine göre ayarlanmalı. Yağlı kirlerde sıcaklığı 60°C'nin üzerinde olan su kullanılması daha uygundur. Proteinli kirlerde ise proteinler 60°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda koagule olduğu için bulundukları yüzeylere daha iyi yapışırlar veya tutunurlar. Bu nedenle ortamdan uzaklaştırılmaları güçleşir. Ancak yıkama yöntemine (el ve makine) yani mekanik etkiye bağlı olarak protein kaynaklı kirler de 60°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda temizlenebilir. Yeterli mekanik etkinin sağlandığı yüksek basınçlı temizleme yönteminde yüksek sıcaklıkta su kullanılabilir. Örneğin yüksek basınç altında, 80°C'lik suyla yapılan temizleme işleminde sorun olmadığı belirtilmektedir.

Temizleme işleminde çeşitli temizlik maddeleri kullanılmaktadır. Bu maddeler kirleri çözerek, gevşeterek, dağıtarak, emülsüfiye ederek, ıslatarak, suyun yüzey gerilimini azaltarak vb. işlevlerde bulunarak etkili olmaktadır. Ancak bu işlevlerin tümünü yapabilecek bir temizlik maddesi mevcut değildir. Bu nedenle iki veya daha fazla temizlik maddesi karışımının birlikte kullanılmasıyla daha etkin bir temizlik sağlanmaktadır.

Temizlik maddesinde aranan özellikler

- Ekonomik olmalı,
- Temizleme gücü (etkisi) yüksek olmalı,
- Sistem veya temizlenecek yüzeye zarar vermemeli

- (aşındırma, çürütme, renk değişikliği vb.).
- Suda kolay çözünmeli,
- Derinlere nüfuz edebilmeli,
- Dağılma ve ayrışma özelliği olmalı, yüzeye yayılmalı,
- Temizlenecek yüzeye iyi şekilde temas etmeli,
- Kullanıldığı dozlarda kişi sağlığına zarar vermemeli,
- Doğada dekompoze olmalı,
- Suyun kalitesini arttırmalı (Ca^{++} ve Mg^{++} iyonlarını çökertmeli).

Basıncılı buhar daha etkili olmaktadır. Çünkü kirler daha etkili şekilde temizleneceği gibi mikroorganizmaların yıkımlanması da söz konusudur.

Et endüstrisinde el (manuel) veya makineyle temizlik işlemi yapılabilir:

El ile Temizliğin Yapılması

El ile yapılan temizlikte, su ve temizlik çözeltilerinin yanı sıra çeşitli özelliklerde ve boyutlardaki fırçalar, süngerler, süpürgeler, sıyrıcı ve kazıyıcılar ile hortum gibi basit temizlik gereçleri kullanılmaktadır. Bu amaçla hortumla ulaşılabilen her noktaya şebeke suyu basınçla uygulanmalı, kir uzaklaştırılmalıdır. El ile temizliğin en önemli avantajı, yüzeyde gözle görülebilen bütün kirlerin giderilebilmesidir. Ancak el ile yapılan temizlemede daha fazla zamana gereksinim duyulur. Temizlik işleminde kullanılan sentetik bez parçaları, süpürge, fırça gibi temizlik malzemelerine tutunan mikroorganizmalar, işletme hijyeni açısından önemli bir risk teşkil ettiğinden temizleme işleminden sonrasında temizlenmeli, dezenfekte edilmeli, mümkünse bir dezenfektan solüsyon içerisinde muhafaza edilmeli ya da tek kullanımlık bez parçaları kullanılmalıdır. Çünkü bez parçaları temizlemede hijyenik açıdan büyük risk taşır. Bez parçasının nemli şekilde 1 gün bekletilmesiyle mikroorganizma sayısının 100 kat artabileceği belirtilmektedir.

Makine ile Temizliğin Yapılması

Genellikle 3 şekilde yapılabilir:

1) Buhar ile temizleme: Bu yöntemde, kaynar su ve buhar karışımı ile çalışan cihazlar ile temizleme söz konusudur. Temizlenecek yüzeye memeden 100°C 'lik su-buhar karışımı püskürtülmektedir. Temizlemede, kimyasal temizlik maddesi kullanıldığında optimum şartlarda her 1 m^2 için sudan 2 litre ve zamandan 20 saniye tasarruf edilebildiği belirtilmektedir.

2) Yüksek basınç ile temizleme: Yüksek basınçlı temizleme cihazları kullanılarak gerçekleştirilen temizleme tekniğidir. Yüksek basınç uygula-

ması ile kirler yüzeyden daha kısa sürede ve daha etkin bir şekilde temizlenmektedir. Bu yöntemde kirli yüzeye 30-70 bar basınçla su püskürtülerek temizleme gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde, mikroorganizma sayısı daha aza indirildiği için el ile yapılan temizlemeden çok daha etkindir. Bu yöntem ile az kirli yüzeylerin temizlenmesinde, kullanılan suyun sıcaklığının yüksek olması durumunda, temizleme maddesinin kullanılmasına gerek duyulmaz. Temizlenecek yüzey ile püskürtme memesi arasındaki uzaklık ise 20 cm'den fazla olmamalıdır. Et işletmelerinde genellikle yalnızca balık yüzgeci şeklinde su püskürten memeler kullanılmaktadır.

3) Köpük ile temizleme: Et işletmelerinde, yüksek basınçla temizleme işlemi, köpük ile temizleme yöntemi ile kombine edilerek yürütülmektedir. Basınçlı hava yardımıyla elde edilen temizleme köpüğü kirlenmiş yüzeye yaydırılır ve 10-15 dakikalık etki süresinden sonra yüksek basınçla (20-60 bar) tekrar yıkanır. Bu yöntemin en önemli yararı köpüğün dik yüzeylere tutunabilmesi ve uzun bir süre burada kalarak kiri yumuşatabilmesidir. Köpüklü temizlik ile kurumuş ve yanmış protein artıkları yumuşamakta ve kolayca temizlenebilmektedir. Ayrıca köpük uygulanması belirgin olarak görüldüğü için temizleme sırasında görülmeyen, unutulmuş bir yer kalmamakta, temizlenmesi zor olan köşe, girinti ve kırıklara da köpük kolaylıkla nüfuz edebilmektedir. Yağların temizlenmesi için, köpük sıcaklığının yağları çözecek düzeyde olması gerekir (Foodelphi, 2022)

Kesimhane ve et ürünleri üreten işletmelerde, manuel veya makine ile gerçekleştirilen temizlik işlemlerinin hemen hepsinde temizlik işlemi kimyasal yolla gerçekleştirilmektedir. Temizlik maddesi ile suda zor çözünen yüksek molekül ağırlıklı bileşikler yerlerinde kolayca çözünürler.

Gıda sanayinde amaca uygun olarak alkali, asit, kombine temizleyiciler, deterjanlar, sabunlar ve solvent içeren temizleyiciler kullanılmaktadır. Kirin organik (karbonhidrat, yağ, protein) ve inorganik (mineral madde) oluşuna göre farklı temizlik maddeleri kullanılmalıdır.

Et sanayinde en çok alkali temizlik maddeleri kullanılmaktadır. Hayvan taşıma araçları, bekletilme yerleri, padoklar, kesim yerleri, etlerin parçalandığı yerler, soğuk hava depoları, ürün yapım yerleri ile kullanılan bütün alet ve ekipmanlar alkali maddeler ile temizlenir. Yalnız ara sıra asit temizleyiciler kullanılarak yüzeylerde ve sistemde oluşan inorganik tortu ve çökeltiler giderilmeli.

- Alkali maddeler emülsiyon oluşturarak, sabunlaşmaya yol açarak, suyun sertliğini gidererek (pH'yı yükselterek sertliğe yol açan maddelerin çökmesine neden olurlar) ve proteinleri çözerek etkili olmaktadır. Etki süreleri kir miktarına ve suyun sıcaklığına bağlı olarak değişmekle birlikte genellikle 4-10 dakikadır. Gıda işletmelerinde kullanım amaçlarına göre konsantrasyonları değişmekle birlikte genellikle %0,5-1'lik çözeltileri kullanılır.

- Proteince zengin kirlere ve yağlara karşı oldukça etkili olan alkali temizlik maddeleri, alkalilik derecesine paralel olarak temizleme ve koroziv etkileri de artmaktadır. Mineral madde (inorganik maddeler) üzerinde etkili değildirler.

- Daha etkili bir temizlik sağlamak ve olumsuz etkilerini gidermek için çeşitli karışımları kullanılabildiği gibi, alkali olmayan diğer maddelerle [su yumuşatıcı, silikatlar, yüzey aktif bileşikler (deterjanlar), nötral tuzlar, kompleks oluşturanlar (chelat ajanları) olan karışımları da kullanılabilir.

- Çok ucuz, etkili ve kuvvetli bir alkali olan NaOH'in bulunduğu yüzeyden tamamen temizlenmesi çok zordur. Bu nedenle silikatlarla birlikte kullanılmalıdır. Alüminyumda şiddetli korozyona neden olurlar. Zayıf alkalilerin emülsiyon oluşturma özellikleri daha iyidir (Şener & Temiz, 2004; Simpson & Sofos, 2009; Doğu & Sarıçoban, 2014).

DEZENFEKSİYON

Dezenfeksiyon, bir ortamda bulunan mikroorganizmaların (patojen, saprofit) fiziksel veya kimyasal yöntemler ile risk oluşturmayacak düzeye düşürülmesi, büyük bir kısmının veya tamamının yıkımlanmasıdır. Temizlik ve dezenfeksiyon, birbirine bağlı fakat ayrı ayrı yapılması gereken işlemlerdir. Temizlik yapılmadan doğrudan uygulanan dezenfeksiyon işleminin hiçbir yararı yoktur. Çünkü ortamda bulunan kaba kirlere dolayısıyla dezenfektan maddesi yeterince etkili olamaz. Yine temizlik yapıldıktan sonra dezenfeksiyon yapılmıyorsa, o temizlik faydadan çok zarar getirir. Çünkü temizleme işlemi ile yerinden çıkarılıp serbest hale getirilen mikroorganizmalar için daha geniş bir ortam oluşturacağından bu mikroorganizmalar daha kolay çoğalmaktadırlar. İşletmelerde dezenfeksiyon, fiziksel (sıcak su, su buharı ve sıcak hava) ve kimyasal (aktif klor bileşikleri, perasetik asit, alkali maddeler, quaternary amonyum bileşikleri, anyonik surfaktanlar, formaldehit ve asitler) olmak üzere 2 farklı şekilde yapılabilir. Fiziksel (sıcak su, su buharı ve sıcak hava) yapılan dezenfeksiyon daha etkili olup, kalıntı sorununa neden olmaz. Yine dezenfeksiyon sonrası kurutmaya gerek yoktur. Ancak ısı ile olumsuz etkilenecek yüzey ve malzemeler bu yöntem ile dezenfekte edilemez. Kimyasal maddeler ile yapılan dezenfeksiyonda kullanılan madde dezenfeksiyon sonrası kendiliğinde parçalanıp zararsız maddelere dönüşmez ise mutlaka dezenfeksiyon sonrası etkili durulama ve kurutma yapılmalıdır. İşletmede kesim veya ürün üretiminden hemen sonra etkili temizlik ve dezenfeksiyon yapıp, bir sonraki güne işletme hazır duruma getirilmelidir. Aksi takdirde zaman geçtikçe kirler kurur, yüzeye daha iyi yapışır, mikroorganizmalar çoğalır, biyofilm oluşumu artar dolayısıyla daha fazla işgücüne, zamana ihtiyaç duyulur, daha fazla su, temizlik ve dezenfektan madde kaybına neden olur (Gracey vd., 1999).

KAYNAKLAR

- Anonim, 2005. Gıda ve Gıda ile Temasta Bulunan Madde ve Malzemelerin Piyasa Gözetimi, Kontrolü ve Denetimi ile İşyeri Sorumluluklarına Dair Yönetmelik. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2005/03/20050330-9.htm>.
- Anonim, 2006. <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/3.5.8913838.pdf>.
- Anonim, 2007. Kanatlı Hayvan Eti ve Et Ürünleri Üretim Tesislerinin Çalışma ve Denetleme Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. Yayımlandığı Remi Gazete: 20.04.2007-26499.
- Anonim, 2011. Gıda Hijyeni Yönetmeliği, 2011. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111217-5.htm>.
- Anonim, 2018. Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemelere Dair Yönetmelik (Sayı: 30382). <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2018/04/20180405-2.htm>.
- Arnold, J. W., & Silvers, S. (2000). Comparison of poultry processing equipment surfaces for susceptibility to bacterial attachment and biofilm formation. *Poultry science*, 79(8), 1215-1221.
- Arslan, A. (2020). Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres Matbaacılık, 3. Baskı, Malatya, Türkiye.
- Şener, A., & Temiz, A. (2004), Tavuk kesimhane ve işletmelerinde kullanılan ticari dezenfektanlar ve etkinlikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2(10), 1-28 www.mikrobiyoloji.org/pdf/702041001.pdf.
- Bakan, K. (2020). Kullanılmış kozmetik ürünlerden izole edilen aerop bakteriler ve antibiyotik direncinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van.
- Başkaya, R., Karaca, T., Sevinç, İ., Çakmak, Ö., Yıldız, A., Yörük, M. (2004). İstanbul'da satışa sunulan hazır kıymaların histolojik, mikrobiyolojik ve serolojik kalitesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2), 41-46.
- Canata, F. (2005). Bilgi Belge Merkezleri Bibliyografik Standartlar Ve İstanbul'da Durum. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Bilgi ve Belge Yönetimi Anabilim Dalı. İstanbul.
- Carpentier, B., & Cerf, O. (2000). Biofilms. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Robinson, R. K., Batt, C. A., Radip, P. and Palet, D. (eds.), Volume I, Academic press. pp. 252-259
- Demirkol, C., & Azabagaoglu, M. O. (2017). Analysis of business structures on capacity usage in determining encountered problems of red meat industry in Turkey. *Social Sciences Research Journal*, 6(4), 359-369.
- Doğu, S. Ö., & Sarıçoban, C. (2014). Et ve et ürünlerine uygulanan bazı dekontaminasyon yöntemleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1(3), 92-99.

- Duran, T. (2011). Midye kabuğu tozunun paslanmaz çelik yüzeylerde oluşan biyofilm temizleme etkisinin araştırılması (Investigation of the effect of scallop shell powder on cleaning biofilm forming on stainless steel surfaces). Yüksek Lisans Tezi. Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Sakarya.
- Eleman, B. (2019). Aydın ilindeki bazı et satış yerlerinin hijyenik durumu (Hygienic condition of some butcher shops in Aydın province). Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Aydın.
- European Economic Community (EEC). (1980). <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/consleg/1980/L/01980L0778-19950101-en.pdf>. Council Directive of 15 July 1980 relating to the quality of water intended for human consumption (80/778/EEC). (Erişim Tarihi: 02/2008)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2003). <http://www.fao.org> 2003a.
- Fırıldak, G. (2012). Bir kümes hayvanı kesim tesisindeki farklı bölümlerin iç ortam mikrofungusları ile tavuk karkaslarındaki mikrofungal ve bakteriyel yoğunlukları (The indoor airborne microfungus in different sections of a poultry processing plant along with the microfungus and bacterial density found in the chicken carcasses). Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Edirne.
- Foodelphi, 2022. (2022). Et sanayinde temizlik ve dezenfeksiyon. <https://www.foodelphi.com/et-sanayinde-temizlik-ve-dezenfeksiyon/>.
- Gracey, J. F., Collins, D. S., & Huey, R. J. (1999). Meat hygiene. London. WB Saunders Company Ltd, 226-293.
- Ha, T.M., Shakur, S. & Do, K. H. P. (2019). Consumer concern about food safety in Hanoi, Vietnam. Food Control, 98, 238-244. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.031>.
- Kara, R. (2007). Doğal koşullarda ve ısıtıl işlemi uygulanarak üretilen Türk sucuklarında *Salmonella typhimurium*'un gelişimi (Behavior of *Salmonella typhimurium* on Turkish sausage produced by using traditional and cooked methods). Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Afyonkarahisar.
- Karaali, A. 2003. Gıda İşletmelerinde HACCP Uygulamaları ve Denetimi. <https://www.foodelphi.com/gida-isletmelerinde-haccp-uygulamaları-ve-denetimi-prof-dr-artemis-karaali/>. ET. 22.09.2022
- Kumar, C. G., & Anand, S. K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry : a review, International Journal of Food Microbiology, 42, 9-27.
- Mocan, S. (2006). Ankara Tarım İl Müdürlüğünün 2005 Yılı İçerisinde Yapmış Olduğu Gıda Denetim Hizmetlerinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sağlık Yönetimi Ana-bilim Dalı, Ankara.

- Öncül, N., & Yıldırım, Z. (2019). Microbiological quality of raw meat sold in tokat province. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7 (3), 62-67.
- Poulsen, L. V. (1999). Microbial biofilm in food processing: review, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 32, 321-326.
- Sevim, G. S. (2019). Ekmek fırınlarında gıda güvenliği riskleri ve güvenli ekmek üretimi için hijyen ve sanitasyon uygulamaları (Food safety risks in bakeries and hygiene and sanitation practices for safe bread production). Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Bursa.
- Simpson, C. A., & Sofos, J. N. (2009). Antimicrobial Ingredients. R. Tarte içinde, *Ingredients in Meat Products Properties, Functionally and Applications* (s. 301-377). Springer.
- Tezcan, I. (2007). Sektörel Lojistik Yönetimi Sistemlerinde Depo Tasarım Metodolojisi. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, FBE Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı Endüstri Mühendisliği Programı, İstanbul.
- Tirsi, S. (2016). İstanbul'da tüketime sunulan yaş pastaların bazı patojen bakteriler yönünden incelenmesi ve mevsimlere göre karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- İnal, T. (1992). Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset, 783, İstanbul.
- Topal, B. (2007). Catering Ve Banket Hizmeti Veren Ticari İşletmelerin Özellikleri, Personel Ve Eğitim Durumları İle Mesleki Eğitim İhtiyaçlarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü, Aile Ekonomisi Ve Beslenme Eğitimi Anabilim Dalı, Ankara.
- Tosun, D., & Demirbaş, N. (2021). Kırmızı et ve et ürünleri sanayiinde faaliyet gösteren işletmelerin gıda güvenliği kriterlerine uyum düzeyi: İzmir ve Afyonkarahisar illeri örneği. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 58 (4), 579-588.
- Trienekens, J., & Zuurbier, P. (2008). Quality and safety standards in the food industry, developments and challenges. *International journal of production economics*, 113 (1), 107-122.
- Uğur, M., Nazlı, B. & Bostan, K. (1995). Özel Besin Hijyeni Ders Notları. İ. Ü. Vet. Fak. Ders Notu, 57, 150.
- Ünsal, G. (2019). Lojistik sektöründe kalite fonksiyon göçerimi uygulaması. Yüksek Lisans Tezi. Yaşar Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Uluslararası Lojistik Yönetimi Anabilim Dalı, İzmir.
- World Health Organization (WHO). 2019. [https://www.who.int/health-topics/food-safety/\(E.T: 23.09.2022\)](https://www.who.int/health-topics/food-safety/(E.T: 23.09.2022)).
- Yasan, Z. (2007). Gıda sektöründe HACCP uygulaması ve çevreyle etkileşimi (An

HACCP application in food sector and interaction with environmental). Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalı, Ankara.

Yusufu, G. (2019). *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* ile inoküle edilen sığır etlerinde laktik asit ve buhar uygulamalarının mikroorganizma sayısı üzerinde etkisinin araştırılması (Effects of lactic acid and steam treatments on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* inoculated on beef). Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Ankara.

Bölüm 2

**SAĞLIK KORUYUCUSU
HİDROKSİTİROSOL:
FARMAKOKİNETİĞİ, TOKSİSİTESİ VE
KLİNİK KULLANIMI**

Bilge ÖZCAN¹

¹ Doktor Öğretim Üyesi, Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD, <https://orcid.org/0000-0001-9255-7057>

Akdeniz diyetinin (AD) insan sağlığına olumlu etkilerini sağlayan en önemli bileşenlerinden birinin zeytinyağı (ZY) tüketimi olduğu bilinmektedir. Zeytinyağında antioksidan etkili birçok (poli)fenoller bulunmaktadır. Bu (poli)fenol grubunun en önemli bileşenlerinden biri de hidroksitirozol (HT) dür (Granados et al. 2010).

1. HT'nin Özellikleri:

HT moleküler ağırlığı 154,16 g/mol olan bir fenoldür. (Şekil 1). Ayrıca Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) sistemi tarafından 3,4-dihidroksifeniletanol(DOPET) veya 3,4-dihidroksifeniletanol(3,4-DHPEA) veya 4-(2-Hidroksietil)-1,2-benzendiol olarak da adlandırılır.

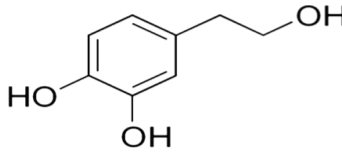
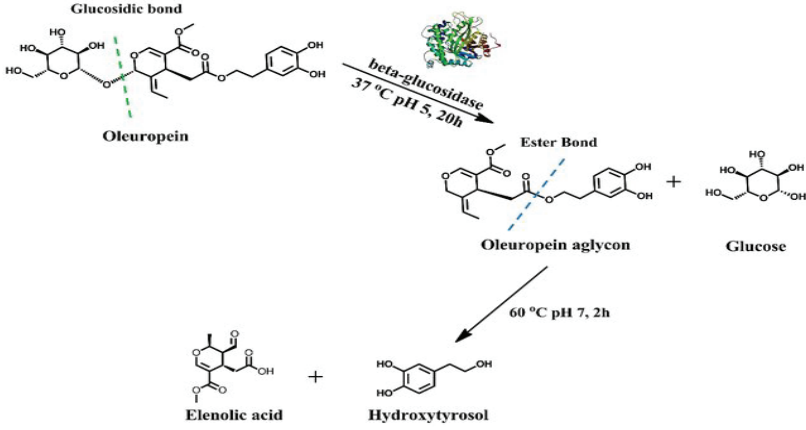


Fig. 1. Hydroxytyrosol structure.

Şekil 1. Hidroksitirozolün yapısı

Bu bileşik, sızma zeytinyağının minör bileşenlerinden biriyken zeytin ağacının yapraklarında (*Olea europaea* L.) çok yüksek bir konsantrasyonda bulunur (Pérez et al. 2013). Birçok biyolojik aktiviteye sahip HT'nin antioksidan, antiinflamatuvar, antiaterojenik, nöroprotektif ve antimikrobiyal etkilerini bulunmaktadır. HT'nin farklı hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için bir nutrasötik olarak kabul edilmiştir (D'Angelo vd., 2005a; Medina, De Castro, Romero, & Brenes, 2006; Rodríguez-Morató vd., 2015b; Zoric vd., 2013).

Hidroksitirozol molekülü, zeytinyağındaki oleuropeinin hidrolizi sonucunda oluşur (Şekil 2) (Charoenprasert & Mitchell, 2012)(Chatzikonstantinou vd., 2019). Zeytinyağı eldesi esansında, polifenolle zenginleştirilmiş üç farklı katman elde edilir: zeytin atıksuyu, prina ve zeytinyağı. HT'nin amfipatik karakteri nedeniyle bu üç fazda serbest formda, asetat formunda veya oleacein, verbascoside ve oleuropein gibi daha karmaşık bileşiklerin bir parçası olarak bulunabilir (Boskou, 2008). Öte yandan, zeytinyağındaki HT içeriği, zeytin ağacının ve zeytinin türüne, yağ kalitesine ve zeytinyağının işleme sürecine bağlıdır (Romero vd., 2004). HT de zeytin ağaçlarının yapraklarında hem serbest ve hem de kompleks yapı içinde yer alır. Zeytinyağı bekledikçe içerisindeki sekoiridoidlerin hidrolizinin sonucu HT seviyesi de artar (Montedoro et al. 2002).



Şekil 2. Oleuropeinin hidroksitirozole dönüşümü (Chatzikonstantinou vd., 2019)

Sadece zeytinyağında değil, kırmızı ve beyaz şarapta HT'nin olduğu bulunmuştur. Bunların içindeki konsantrasyonlar sızma zeytinyağında ve yapraklardan elde edilenden daha düşüktür. Şarap ve zeytin yaprağı ekstreleri için bulunan ortalama HT konsantrasyonu Tablo 1'de rapor edilmiştir (Di Tommaso, Calabrese, & Rotilio, 1998; Fernández-Mar, Mateos, García-Parrilla, Puertas, & Cantos-Villar, 2012; Robles-Almazan vd., 2018).

Tablo 1: Besinlerdeki HT ortalama konsantrasyonu

Besin:	HT konsantrasyonu:
Beyaz şarap	2 mg/l
Kırmızı şarap	3 mg/l
Yıllanmış Kırmızı şarap	20 mg/l
Zeytin yaprağı	12 mg/g

HT'nin bilinen formlarlarından bazıları;

HT Esterleri: Bu grubun en önemli bileşiği sızma zeytinyağında bulunan HT asetatıdır. HT asetatı, HT'den daha yüksek bir antioksidan kapasite göstermiştir. Ek olarak, nitro-ester türevleri, antioksidan özellikleriyle bağlantılı olarak Parkinson hastalığında faydalı etkileri bulunmaktadır (Trujillo vd., 2014).

HT Alkil Eterleri: türetilen yeni bir lipofilik HT sınıfı, A549 akciğer kanseri hücrelerinde ve MRC5 habis olmayan akciğer fibroblastlarında yüksek sitotoksik aktivitesi gösterilmiştir (Calderón-Montaña vd., 2013).

HT analogları: HT'ye benzer yapıya sahip ancak farklı ornatık ve aromatik halka ve/veya alkol zincirinin farklı bir uzunluğuna sahiptir

HT tiyo türevleri: tiyoasetat, tiyol ve disülfür grupları içerir.

HT'den türetilen izokromanlar: sızma zeytinyağı metanolik ekstraktlarında bulunur.

HT sadece bitkisel kaynaklardan elde edilmez aynı zamanda vücudumuzda sentezlenen dopaminin metabolitlerinden biridir (Şekil 3). Dopamin MAO enzimiyle DOPAL'e (34-dihidroksifenilasetaldehit), DOPAL de ALR-aldehit redüktaz enzimiyle de HT'ye dönüşür. Yani HT insan vücudunda da zaten var olan bir moleküldür. Aşağıdaki tablolarda zeytin yağı ve insan vücudundan HT'nin ortaya çıkış biyokimyasal reaksiyonları gösterilmiştir.



Şekil 3. Hidroksitirozolün dış (soldaki şekil) ve iç (sağdaki şekil) metabolizması arasındaki karşılaştırma. Kısaltma: ALR: aldehit redüktaz; ADH: alkol dehidrojenaz; MAO: monoamin oksidaz; ALDH: aldehit dehidrojenaz; DOPAL: 34-dihidroksifenilasetaldehit; DOPAC: 34-dihidroksifenilasetik asit.

Kırmızı şarap içildiğinde idrarda artan seviyede HT tespit edilmiş, bunun da etanol ve dopaminerjik yollar arasındaki etkileşime bağlı olduğu ve/veya dopamin metabolizmasındaki yüksek artışın bir sonucu olabileceği öngörülmüştür (De La Torre, Covas, Pujadas, Fitó, & Farré, 2006). Bunun üzerine HT, etanol ile birlikte uygulanmış ve dopamin metabolizmasının DOPAC (3,4-dihidroksifenilasetik asit) yerine HT ürettiği gösterilmiştir (Pérez-Mañá vd., 2015).

2. Emilim, Dağılım, Metabolizma ve Atılım (ADME) Süreçleri:

Fenolik bileşikler bağırsakta dozla doğru orantılı olarak emilir ve yüksek oranda presistemik eliminasyona uğrar. HT'nin ADME süreçlerinin nasıl oluştuğunu belirlemek için hayvanlarda ve insanlarda birçok çalışma yapılmıştır (González et al. 2010; Rubió et al., 2012; Visioli et al., 2003; Tuck et al. 2001).

2.1. Absorpsiyon:

HT'nin absorpsiyonu ince bağırsakta ve kolonda pasif taşımayla %75-100'e kadar ulaşan verimlilikle gerçekleşir. İleostomi uygulanan hastalar-

da bile HT'nin %70'inin emildiğini bildirilmiştir (Vissers, Zock, Roodenburg, Leenen, & Katan, 2002). Absorbsiyon esnasında enterositlerde metabolizmanın I. fazına (hidrolize) maruz kalır ve ardından metabolizmanın II. fazında glukuronid, metillenmiş ve sülfat yan ürünlerine dönüştürülür (Suárez vd., 2011). Plazma ve idrarda HT'nin %98'i glukuronid formunda, %2'si serbest formda saptanır (Miro-Casas vd., 2003). Sağlıklı gönüllülerde zeytinyağı sindirimi sonrası en iyi biyobelirteçlerin HT'nin sülfat metabolitlerinden HT-sülfat-3' olduğunu tespit edilmiştir (Khymenets vd., 2016). Hiperkolesteremik gönüllülerde de HT ile zenginleştirilmiş sızma zeytinyağı uygulamasından sonra hem plazma hem de idrar numunelerinde ölçülebilirliği yüksek en uygun biyobelirtecin HT'nin sülfat formu olduğunu gösterilmiştir (Rubió vd., 2014).

2.2. Dağılım:

Farmakokinetik olarak HT hızlı bir emilim sürecine sahiptir (Bai, Yan, Takenaka, Sekiya, & Nagata, 1998). HT asetat formunda oral uygulamasından sonra en yüksek plazma konsantrasyonuna 0,5 ila 2 saat arasında ulaşılmıştır (Domínguez-Perles, Auñón, Ferreres, & Gil-Izquierdo, 2017). HT'nin hızlı metabolizması nedeniyle 1-2 dakikalık plazma yarı ömrü vardır (D'Angelo vd., 2001; Granados-Principal vd., 2014).

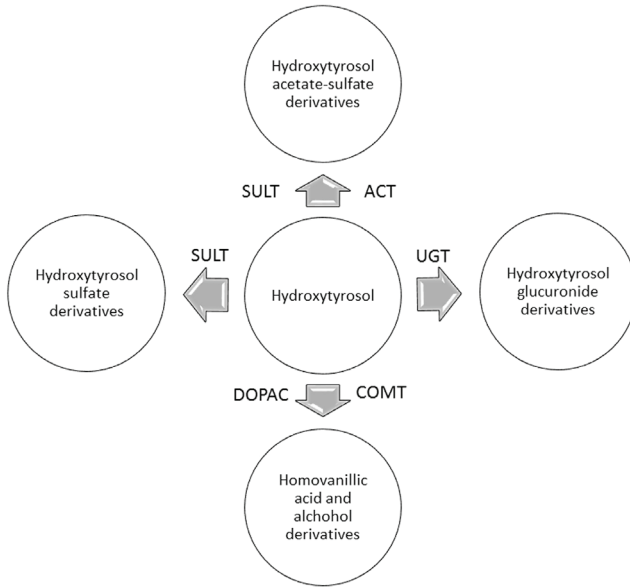
HT ve metabolitlerinin kas, testis, karaciğer ve beyin gibi dokularda çok iyi dağılıma yetenekleri vardır (HT kan beyin bariyerini geçebilir), ayrıca böbrek ve karaciğerde birikmektedir (D'Angelo vd., 2001). Bu yaygın dağılım ve ilgili dokularda birikimi HT'nin sağlığa yararlı etkilerine aracılık eder (Serra vd., 2012). Vücuttaki HT'nin geniş dağılımı, kısa plazma yarı ömrü ve dopamin yolu metaboliti olması sebebiyle hem eksojen hem de endojen HT kaynaklarını ayırt etmenin oldukça zor olmasına neden olmaktadır (De La Torre vd., 2006; Mosele vd., 2014).

2.3. Metabolizma:

HT hızlı bir metabolizmaya sahiptir. Metabolizmasının ilk adımını enterositlerde ve ardından karaciğerde geçirir. Ayrıca bağırsak mikrobiyotası, hem HT hem de metabolitlerinin absorpsiyonunun önemli bir düzenleyicisidir. Mikroflora, bileşik formlarından serbest HT'yi ortaya çıkartır. Mikrobiyotada önce oksidasyona uğrar sonra hidroksillenmiş fenilasetik asitlere dönüşümü gerçekleşir (Mosele vd., 2014). Plazmada, serbest HT çok düşük konsantrasyonda bulunur, sıklıkla HT'nin ortometil ürünleri içinde (homovanil alkol ve asit); glukuronid türevleri, glutatyonil konjugatları ve sülfat türevleri bulunur (Rodríguez-Morató vd., 2016). Ayrıca sıçan idrar örneklerinde, HT oksidasyon yollarından kaynaklanan HT merkapturattan türetilen N-asetil-5-S-sisteinil-hidroksitirosol adı verilen yeni bir metabolit bulunmuştur (Kotronoulas vd., 2013).

HT'nin tek bir intravenöz uygulanması sonrası enzimatik olarak oksitlenmiş ve metillenmiş türevlere dönüştüğü belirlenmiş olup, bunlar; 3,4-dihidroksi-fenilasetaldehit, 3,4-dihidroksifenilasetik asit, 4-hidroksi-3-metoksifenilasetik asit ve 4-hidroksi-3-metoksifeniletanol'dur (D'Angelo vd., 2001). Son olarak, tüm bu bileşikler, bir sülfotransferaz enzimi tarafından sülf konjugatlarına dönüştürülür. (Domínguez-Perles vd., 2017). HT'nin metabolizması Şekil 4'te gösterilmiştir.

Fenolik biyoyararlanımın yaş, hormonal durum veya cinsiyet gibi farklı faktörlerden etkilendiği iyi bilinmektedir (Roowi, Mullen, Edwards, & Crozier, 2009). HT metabolizması cinsiyete göre farklılık göstermekte olup, kadınlarda erkeklere oranla daha etkin mekanizmaya sahiptir (Serra vd., 2012). HT'nin dişi sıçanların vücudunda daha uzun süre korunması bu bulguları desteklemektedir (Domínguez-Perles vd., 2017).



Şekil 4. Hidroksitirozol biyotransformasyonu. COMT: katekol-O-metiltransferaz; UGT: UDP-glukuronosiltransferaz; SULT: sülfotransferaz; ACT: O-asetiltransferaz (Robles-Almazan vd., 2018)

2.4. Atılım

HT'nin konjuge katabolitleri esas olarak böbrekler tarafından atılır (Visioli vd., 2003). Hem HT hem de metabolitlerinin vücuttan tamamen atılması için gereken süre insanlarda yaklaşık 6 saat (Rodríguez-Morató vd., 2016; Suárez vd., 2011) ve sıçanlarda yaklaşık 4 saattir (Domínguez-Perles vd., 2017). Atılımı esnasında HT, böbrekte birikir (D'Angelo ve diğerleri, 2001), burada antioksidan özellikleri sayesinde nefroprotektif bir rol oynar (Chashmi, Emadi, & Khastar, 2017).

3. Toksisite ve doz belirleme

HT'nin hücre kültürlerinde ve hayvan modellerinde akut toksisite, teratojenite, mutajenite, mortalite ve morbidite etkileri ölçülmüş olup, herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı bulgusuna ulaşılmıştır. Sıçanlarda 2 g/kg'lık enjeksiyonun (intravenöz, subkutan veya intramüsküler) 48 sa sonra ortadan kalkan piloereksiyon ve aşılama alanında lokal kızarıklık haricinde olumsuz bir etki görülmemiştir (D'Angelo vd., 2001). Akut toksisiteyi belirlemek için 2 g/kg (yaklaşık 1400 mg/kg saf HT'ye eşdeğer) miktarda HIDROX™ (Hidrolize Zeytin Pulpa Özütü; OPE) oral gavaj yoluyla Sprague Dawley sıçanlarına uygulandığında yine mortalite ve morbidite gözlemlenmemiştir. Bu çalışmada saf HT için 1400 mg/kg'lık bir LD50 önerilmiştir (Christian vd., 2004). Bu sonuçların yanı sıra sıçanlarda daha yüksek bir doz (5 g/kg artırarak) kullanılmış ve yaklaşık 3.5 g/kg HT'lik bir LD50 belirlenmiştir.

Ayrıca subkronik toksisiteyi değerlendirmek için vücut ağırlığı, gıda alımı, fiziksel ve oftalmik özellikler, hematoloji ve seçilen dokulardan histopatoloji gibi diğer parametrelerin de analiz edildiği başka çalışmada HT veya HIDROX ile ilişkili hiçbir kayda değer değişiklik gözlenmemiştir. Saf hidroksitirozolün toksikolojik etkilerini değerlendirmek yapılan çalışmada 13 hafta boyunca günde bir kez 5, 50 ve 500 mg/kg/gün dozlarında oral yoldan verilmesinin herhangi bir mikro ve makroskopik değişikliğe veya ölüme yol açmadığını bildirilmiştir (Auñon-Calles, Giordano, Bohnenberger, & Visioli, 2013). Yine subkronik toksisite çalışmaları hayvan modellerinde H35 (%35 w/w HT) adlı bir öz kullanılmıştır. Aynı ekstrakt dişi ve erkek Wistar sıçanlarına ardışık 90 gün boyunca 125, 250 ve 500 mg HT/kg/gün dozlarında oral gavaj yoluyla uygulanmış ve toksikolojik olarak önemli bir etki bulunmamıştır (Heilman vd., 2015). İn vitro modellerde HT'nin genotoksik ve mutajenik etkisi olmadığı gösterilmiştir (Auñon-Calles vd., 2013).

4. HT'nin klinik uygulamaları

4.1. Antimikrobiyal etkinlik

Hem zeytin yaprağı ekstrelerinin hem de saf HT'nin *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Streptococcus mutans* veya *Salmonella enterica* gibi bazı mikroorganizmalara karşı güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu iyi bilinmektedir. Nitekim zeytinyağı ve zeytin yapraklarından elde edilen özler, enfeksiyonlarla mücadele için yüzyıllardır sabun, solüsyon veya balsam olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, bazı çalışmalar in vitro modellerde ampisilin gibi bazı antibiyotiklerden daha düşük dozlarda bile HT'nin *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Haemophilus influenza* veya *Staphylococcus aureus*'a karşı yararlı etkisi olduğu saptanmıştır (Medina et al. 2006).

HT'nin *staphylococcus aureus*'a karşı etkisi sayesinde, biyofilm bazlı malzemelerle enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisi, tıbbi cihaz kontaminasyonunun önlenmesi ve kronik yaraların iyileştirilmesinde olumlu bir rolü olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROT) baskılanmasının yanı sıra mikrop yapışmasını önleme yeteneği sayesinde hastanelerde ve diğer bakım kurumlarında hastane enfeksiyonları ile başetmede bu olumlu etkilerinden faydalanılabilir (Crisante vd., 2016).

HT'nin *Lesishmania* spp. gibi çeşitli parazitlere karşı antiparaziter aktivitesi de söz konusudur (Kyriazis et al 2013). Gerek antimikrobiyal gerek antiparaziter etkileri göz önünde bulundurulduğunda, HT ile ilgili yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (Medina vd., 2011).

4.2. Reaktif Oksijen Türlerini temizlemesi:

ROT, hem DNA zincirlerini kırabilir hem de genotoksisiteyi artırıcı etki yapar. HT'nin ilgili en önemli özelliklerinden biri, reaktif oksijen türlerini (ROT) otemizleme rolüdür. HT ve metabolitleri, ROT'un hem hücre içinde hem de hücre dışında üretimini ortadan kaldıran yüksek kapasiteye sahiptir. Bu etkisi sayesinde ciltte hücre dışında UV radyasyonu veya peroksinitrit radikali tarafından ROT'un üretilmesini önler (Zwane et al. 2012). Hücre içinde süperoksit, hidrojen peroksit ve hipokloröz asit gibi serbest radikal moleküller gibi ROT temizleyici kapasiteye sahip olup ayrıca bir metal şelatör görevi de üstlenmektedir (Granados-Principal vd., 2014; Manna vd., 1999).

Bu alanda yapılan çalışmalarda, HT'nin nükleer faktör-E2 (Nrf2) ve JNK-p62/SQSTM1'in modülasyonu yoluyla antioksidan yolları artıran etki mekanizmaları gösterilmiştir (Zou vd., 2012). HT ayrıca PPAR-GC1α'yı artırarak mitokondriyal biyogenez uyarıcısı olarak görev yapar (Zhu vd., 2010). HT'nin vasküler endotel hücrelerinde (VEC'ler) Akt ve ERK1 / 2'yi aktive ederek hücreleri hidrojen peroksitin sitotoksik etkisine karşı koruduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak, HT, Nrf2'nin ekspresyonunu ve nükleer translokasyonunu artırır ardından DNA-onarım proteinleri veya faz II detoksifiye edici antioksidan yanıt elementlerini (AYE-ARE) kodlayan çoklu genlerin aktivasyonunu teşvik eder (Zrelli vd., 2011).

İnsan fibroblastlarında HT'nin mitokondriye olan faydalı etkilerini, Mn-Süperoksit dismutaz (Mn-SOD) aktivitesinin artırmasına ve yaşa bağlı mitokondriyal ROS birikiminin azalmasını sağlayarak göstermiştir (Sarsour vd., 2011). Öte yandan HT, SOD, glutatyon peroksidaz (GPx) veya glutatyon redüktaz (GR) aktivitelerini artırarak ve ayrıca hücrelerde daha yüksek seviyelerde indirgenmiş glutatyon (GSH) sağlayarak antioksidan sistem üzerinde doğrudan bir etki üretebilir (Granados-Principal vd., 2014). Ayrıca, HT, peroksitlerin hücre ortamından uzaklaştırılmasını kolaylaştırarak katalaz (CAT) aktivitesini artırır (Hashimoto vd., 2004). Ek

olarak, HT'nin bu antioksidan kapasitesini önceden tanımlanmış nöroprotektif etkileriyle ilişkilendirmiştir (Manna et al., 1999; Rodríguez et al., 2015). Ek olarak, HT sperm hareketliliğini ve canlılığını etkiler, HT'nin spermatozoa kültürlerine uygulanması, sperm canlılığını artırır ve hem sperm DNA oksidasyonunu hem de ROS seviyelerini düşürür (Kedechi vd., 2017).

Yukarıda açıklanan çalışmaların birçoğu, HT'nin antioksidan yararlı etkisini gösterse de, diğer yazarlar, sağlıklı insanlarda HT'nin ZY formunda uygulanmasının, glukuronid metabolitleri ile ilişkili herhangi bir önemli antioksidan etki göstermediği sonucuna varmıştır (Khymenets vd., 2010), bu nedenle, ZY'da bulunan HT konsantrasyonunun bir antioksidan etkiyi teşvik etmek için yetersiz olabileceğini öne sürülmektedir. Bu gerçek, insanlarda HT'nin sağlığa yararlı etkilerini destekleyen fizyolojik bir konsantrasyona ulaşmak için optimal HT alımının ne olduğunu belirlemeyesaylayacak daha fazla in vivo çalışmalara zorunlu ihtiyacı göstermektedir.

Bahsedilen tüm çalışmalar HT'nin ROÜ temizleyici rolüne odaklanmış olsa da, bu bileşik ayrıca kolon kanseri hücrelerinde (DLD1 hücreleri) oksidatif stres seviyelerini artırabilir, buna karşın normal kolon epitel hücrelerinde (CRL1807 hücreleri) etkilemediği gösterilmiştir. Bu, HT'nin iki ana aktivitesinin anlaşılmasına yardımcı olabilir: antioksidan ve seçici antitümör kapasitesi. Dolayısıyla, HT'nin eylemini nasıl yürüttüğüne bağlı olarak, HT'nin hücreleri nasıl etkilediği konusunda belirli bir ikilem vardır (Atzeri vd., 2016; Kedechi vd., 2017). Yapılan çalışmada, HT tedavisinin Akt aktivitesini arttırdığını ve bunun da hücreleri oksidatif stres kaynaklı apoptozla seçici bir şekilde öldürülmesi için duyarlı hale getirdiğini bildirdiler (Sun, Luo, & Liu, 2014a). Benzer çalışmada, HT'nin aynı etki mekanizmasıyla insan prostat kanseri hücrelerine (PC-3, DU145) karşı ROÜ oluşumunu göstermiştir buna rağmen aynı etkiyi ölümsüzleştirilmiş non-malign prostat epitel hücre hattında (RWPE-1) göstermemiştir. Ayrıca, ekstra hücre dışı süperoksit ve hidrojen peroksit girişi, prostat kanseri hücrelerinde HT'nin antiproliferatif etkisini kolaylaştırdı (Luo vd., 2013).

Farklı kanser hücre dizilerinde benzer sonuçlar elde edildi: MDA ve MCF-7 (meme), LNCap ve PC3 (prostat), SW480 ve HCT116 (kolon), HT'nin kültür ortamında hidrojen peroksit biriktirerek, kanser hücrelerinde bir prooksidan-antitümör bileşiği olarak hareket ederek antitümör aktivitesini nasıl gerçekleştirdiği gözlemlendi (Rosignoli et al 2016). Bugüne kadar, antioksidan takviyelerinin doğrudan bir antioksidan etki yarattığı ve bu nedenle vücut için faydalı olduğu konusunda giderek daha fazla sorulanan belirli bir eğilim var (Bjelakovic et al 2014; Forman et al.2014). HT'nin antioksidan fonksiyonlarını gösterilmesine karşın kullanılan dozlar standardize edilmemiştir.

4.3. Kardiyovasküler Sistemdeki Rolü

HT, antioksidan etkisi sayesinde düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu önler. Sonuç olarak aterosklerotik plak oluşumunu azaltır (González-Santiago et al., 2006; Granados-Principal et al., 2014; Granados et al. 2010). Bazı HT ile zenginleştirilmiş ekstraktlar ayrıca plazmatik toplam kolesterol ve lipid seviyelerini ve kan basıncını azaltarak kardiyovasküler risk faktörlerini azaltmıştır (Jemaivet et al. 2008; Khayyal et al., 2002; Poudyal et al. 2010). EFSA'nın günlük en az 5 mg HT (genellikle zeytinyağı şeklinde) alımını önermesinin ana nedeni budur.

Tüm bunlara ek olarak, HT, cAMP (siklik adenosin monofosfat) ve cGMP (siklik guanozin monofosfat), fosfodiesteraz (PDE) inhibisyonu yoluyla antitrombotik ve antiinflamatuvar bir molekül olarak kabul edilebilir. Ayrıca siklooksijenaz (COX) inhibe eder, tromboksan B2 (TxB2) ve tromboksan A2 (TxA2) üretimini azaltır. HT ve metabolitleri ayrıca insan aort endotelindeki E-selektin, P-selektin, ICAM-1 ve VCAM-1 gibi farklı yapışma moleküllerinin salgılanmasını azaltma yeteneğine de sahiptir. HT ve metabolitleri endotel disfonksiyonuna karşı korumadan etkindir, böylece aterosklerozun erken evrelerindeki riski kısmen azaltılabilir (Richard et al., 2011; Zhang 2009; Medina et al. 2016; Léger et al., 2005)

Yakın tarihli bir çalışma, HT ve sekoiridoidlerin, hem aort hem de kalp dokularında, endotel hücrelerinin çoğalmasında ve göçünde, kan damarlarının tıkanmasında ve kardiyak fonksiyonlarda yer alan çeşitli proteinlerin ekspresyonunu düzenlediğini gösterdi. kardiyovasküler sistemde koruyucu rol oynar (Catalán vd., 2016). Çeşitli kardiyovasküler bozukluklar, kanser tedavisinde doksorubisin gibi ilaçların uygulanmasının sonucudur. Bu anlamda sıçan modelinde yapılan deneyde HT'nin doksorubisin bağlı tedavide ortaya çıkan kalp rahatsızlıklarında gelişen ROS dengesizliği ve mitokondri hasarını iyileştirebileceğini gösterdi. Bu nedenle, HT, kendi başına kardiyovasküler riskte bir artışa neden olan antitümör terapilerinde bir adjuvan molekül olarak kullanılabilir, ayrıca antitümör yanıtında bir iyileşmeyi ve tedaviyle ilişkili yan etkiyi azaltılabilir (Catalán vd., 2015).

Ateroskleroz veya insülin duyarlılığı mekanizmaları gibi kardiyovasküler bozukluklarda yer alan genlerin hangilerinin ZY ve HT uygulamasından sonra değişebileceğini belirlemek için bazı nutrigenomik çalışmalar yapılmıştır. Bu anlamda üç hafta boyunca 25 ml SZY uygulamasından sonra sağlıklı gönüllülerin periferik kan mononükleer hücrelerinde, ateroskleroz gelişme ve ilerleme ile ilgili süreçlerin 10 genin yukarı yönde regülasyonunu (ADAM17, ALDH1A1, BIRC1, ERCC5, LIAS, OGT, PPARBP, TNFSF10, USP48 ve XRCC5) gözlemledi (Khymenets vd., 2009). 50 ml SZY verilen sağlıklı gönüllülerin periferik kan mononükleer hücrelerinde de gerçekleştirilen bir başka çalışmada insülin duyarlılık mekanizmaları-

la ilgili yedi genin modülasyonu (ADAM17, ADRB2, ALOX5AP, CD36, LIAS, OGT ve PPARBP) artışı gözlemlendi (Konstantinidou vd., 2009). Bu çalışmalar, HT uygulamasını doğrudan elde edilen sonuçlarla ilişkilendirmese de, HT'nin, bu sağlık açısından yararlı etkilerin çoğuna neden olan zeytinyağının ana bileşenlerinden biri olduğu belirtilmelidir.

Bu gen modifikasyonlarının tekrarlanabilir ve HT ile ilişkilendirilebilir olup olmadığını belirlemek ve bu modülasyonun nasıl üretildiğine dair bilgiyi derinleştirmek için daha fazla sayıda çalışma yapılmalıdır.

4.4. Metabolik sendromda etkinliği

Metabolik sendrom, obezite, dislipidemi, bozulmuş glukoz toleransı, insülin direnci, diyabet ve hipertansiyonu içeren farklı anormalliklerin bir kombinasyonu olarak tanımlanmaktadır (Catalán vd., 2016). Orta yaşlı aşırı kilolu erkeklerde, 12 hafta boyunca oleuropein ve HT ile fenolik bakımından zenginleştirilmiş bir takviyenin, insülinin glikoz regülasyonunu ve β -hücre salgılama kapasitesini iyileştirdiği gösterilmiştir (de Bock vd., 2013). Ayrıca, diyabetin lipid peroksidasyonunda bir artışı, glutatyon redoks durumunun değişimini, plazmatik antioksidan seviyelerinde ve antioksidan enzim aktivitelerinde bir azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Tüm bu değişiklikler hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres sonucudur (Dandona, Aljada, Chaudhuri, Mohanty, & Garg, 2005). Bazı çalışmalar, diyabetik sıçanlara verilen bir HT takviyesinin, bağırsak maltaz, laktaz, sukroz ve lipaz aktivitelerinde önemli bir azalmaya ve SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde bir artışa ve ayrıca azalmış glutatyon seviyelerinde bir artışa neden olduğunu göstermiştir. Sonuçta oksidatif stres durumunu azaltmıştır. Ayrıca tiobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) seviyeleri ve laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesi de HT uygulamasından sonra azalmaktadır (Hamden vd., 2010).

HT, plazma triaçilgliserol ve kolesterol seviyelerini iyileştirir ve plazma düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL), kolesterol ve triaçilgliserollerini azaltabilir ve ayrıca HDL-kolesterol içeriğini artırır (Hu 2014)(Cao vd., 2014). HT'nin yüksek yağlı diyetle sıçanlarda plazma hidroperoksitlerini azaltabildiğini ve antioksidan durumunu artırabildiğini, ancak protein karbonil gibi diğer oksidatif belirteçleri azaltmadığını gözlemlediler. Ek olarak, bu antioksidan etkinin, zararlı uyarılara yanıt olarak Nrf-2'nin aracılık ettiği endojen antioksidanların yukarı regülasyonunun bir sonucu olduğu olasılığını tartışmışlardır (Hmimed 2016).

Daha ileri çalışmada, HT'nin, C57BL/6 farelerinde yüksek yağlı diyetin neden olduğu obezite, diyabet, dislipidemi, inflamasyon, yağlı karaciğer ve insülin direncini normalleştirebileceğini SREBP-1c/FAS yolunu aşağı doğru düzenleyerek, oksidatif stresi azaltarak, mitokondriyal anormallikleri azaltarak ve apoptozu baskılamasını sağlayarak göstermiştir. Ek

olarak HT, db/db farelerde bulunan glikoz seviyelerini ve lipid metabolizmasını azaltabilir. Bu anlamda HT, SH-HY-5Y nöroblastom hücrelerinde yüksek glikoz kaynaklı ROS oluşumunu ve glikoz toksisitesini de önler (Zheng et al.; Cao et al.).

Toplamda bu bulgular HT'nin diyabet ve metabolik sendromun önlenmesi ve tedavisinde etkili bir ajan olabileceğini düşündürmektedir, ancak HT'nin metabolik sendroma karşı hangi mekanizmalarla hareket edebileceğini belirlemek için daha fazla klinik çalışma yapılmalıdır

4.5. Antinflatuar Etkileri:

HT, güçlü anti-trombosit, anti-inflatuar ve anti-aterojenik özelliklere sahip güçlü bir fenolik antioksidan olarak iyi bilinmektedir (Granados-Principal vd., 2010b). Nutrigenomik bir çalışma, fenolle zenginleştirilmiş zeytinyağlarının yüksek miktarda alımının, periferik kan mononükleer hücrelerinde daha düşük bir inflammatuar profili teşvik ederek, birkaç proinflammatuar ve pro-aterosklerotik genin ekspresyonunu baskılayabildiği sonucuna varmıştır. İnflatuar yanıtı indüklemek için lipopolisakkarit verilen insan monositik THP-1 hücreleri ile in vitro olarak yürütülen çalışmalarda, HT'nin sitokin oluşumunu, nitrik oksit (NO) oluşumunu, tümör nekroz faktör-alfa (TNF-a) salgılanmasını ve mRNA ekspresyonunu engellediğini göstermiştir. iNOS ve COX-2 ekspresyonunu inhibe etmesi de hücre düzeyinde HT'nin açık bir anti-inflatuar karakterini gösterir (Xiaomei Zhang vd., 2009). Öte yandan, HT'nin anti-inflatuar potansiyelini, insan monositlerinde matris metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyonu değerlendirilerek ve COX-2/PGE2 yolu ile ilişkisi gösterilmiştir. HT, MMP-9 sinyal yolağı üzerinden doğrudan MMP-9 genini ve protein ekspresyonunu inhibe etmiştir. HT'nin MMP-9, COX-2 ve ayrıca diğer proinflammatuar genler üzerindeki inhibitör etkileri, protein kinaz C (PKC) aktivasyon sürecini inhibe etmesine bağlıdır (Scoditti vd., 2014). Birkaç çalışmada, HT'nin aktive B hücrelerinin (NF-κB) transkripsiyon faktörünü (TNF-α, interleukin 1 (IL-1), IL-6 ve IL-17 gibi sitokinler, kemokinler ve inflammatuar yanıtlarda yer alan hücre adezyon molekülleri dahil 150'den fazla gen ile ilgili) modüle edebildiğini göstermiştir. Böylece MD tarafından yapılan vasküler inflamasyon zayıflamasının kısmende olsa açıklamaya katkıda bulunur.

Bazı in vivo çalışmalar, HT'nin siklooksijenaz, COX-1 ve COX-2'yi inhibe etme kapasitesinin ibuprofen ve selekoksib gibi çoğu tüketilen ilaçla aynı seviyede olduğunu göstermiştir. (Procopio vd., 2009). Stabilize koroner hastalığı olan hastalarda IL6 ve protein reaktif C seviyelerini düşürmüştür (Fitó et al. 2008). HT'nin zeytinyağının en güçlü anti-inflatuar (polifenol olduğunu gösterdi. Bu çalışmada, NO ve prostaglandin E2 (PGE2) üretiminde dikkate değer inhibisyon, IL-1a, IL-1p, IL-6, IL-12, TNF-a ve kemokinler (CXCL10/IP-10, CCL2/MPC-1) gibi sitokinlerin

salgılanmasında azalma ile iNOS, IL-1 α , CXCL10/IP-10, MIP-1 β , MMP-9 ve PGE2 sentaz (PGES) gen ekspresyonları da HT etkisi ile azalmıştır (Richard vd., 2011)ç

Tüm bu bulgular, HT'nin büyük anti-inflamatuar kapasitesini ve günlük HT alımının inflammatuar süreci nasıl modüle edebileceğini ve bir sağlık kazancı sağladığını göstermektedir.

4.6. Solunum Yolu Hastalıkları

Solunum hastalıkları, tüm solunum sistemi boyunca meydana gelen karmaşık rahatsızlıklar grubudur. Patojenler, hava kirleticiler veya kendi bireysel genetiğimiz gibi birden fazla nedensel ajandan solunum bozuklukları gelişir. HT ve oleuropeinin, nötrofillerin solunum patlaması sonrası gelişen oksidatif stresi azaltabildiğini gösterdi (Visioli, Bellomo, & Galli, 1998). Ayrıca HT'nin in vitro ve in vivo modellerde süperoksit anyon seviyelerini azaltabildiğini gözlemledi ve HT'nin, insanda nötrofillerin uyarılmasıyla oluşan solunum hasarında doza bağlı hidrojen peroksiti temizlediğini belirledi (O'Dowd vd., 2004). Ek olarak, HT, solunum yolu enfeksiyonları ile ilgili birkaç Gram pozitif ve Gram negatif bakterinin büyümesini engelleyebilmesi sayesinde HT'nin solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisi için umut verici bir antimikrobiyal ajan olarak değerlendirilmesine katkıda bulunur (Bisignano 1999).

Yetişkin Sprague Dawley sıçanları, fibrozu indüklemek için 290 cGy/dk hızında 22 Gy dozda radyasyona maruz bırakılarak indüklenmiş bir fibroz modelinde HT'nin pulmoner fibroze karşı bir miktar etkisi olduğunu göstermiştir. HT ile ilişkili mortalite, kortikoid kullanana göre daha düşüktü ve konjesyon ödemi belirtileri gözlenmedi. Aynı zamanda HT, radyasyona bağlı bölgesel fibrotik odakları ve akciğerdeki kolajen birikimlerini de iyileştirmiş, yanı sıra serum malondialdehit konsantrasyonunu azalttığı, SOD aktivitesini arttırdığı, TGF β 1 (1TGF- β 1), IL-6, IL-10 ve TNF- α 'yı azalttığı ve NF-E2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf-2), haem oksijenaz-1 (HO-1) ve NAD(P)H: kinon oksidoredüktaz-1 (NQO-1) proteinini aktive ettiği gösterilmiştir (Liu 2015). Ayrıca, HT, Alfa-aktin-2 (miyofibroblast oluşumunun belirteci) ekspresyonunun bir inhibisyonunu ve sürfaktanla ilişkili protein B ekspresyonunun (akciğer fonksiyonu için) desteklenmesini sağladı.

Tüm bu sonuçlar, HT'nin solunum patolojilerine karşı faydalı özellikleri ile pulmoner fibroz ile ilişkili inflamasyonu, fibrozu ve oksidatif stresi azaltabileceğini göstermektedir.

4.7. Nöroprotektif Etkileri:

Yüksek düzeyde oksidatif ve nitrozatif stresin, özellikle yaşlanma sırasında beyin dokusunun bütünlüğüne ve işleyişine nasıl zarar verebileceği

iyi bilinmektedir. HT'nin radikal türleri temizlemek için güçlü bir kapasite sunması ve Parkinson hastalığı gibi bazı nörodejeneratif bozuklukları iyileştirebilecek antioksidan enzimleri indüklemesi dikkat çekicidir (Dexter 2013; Goya, Mateos, & Bravo, 2007; Martin et al., 2010).

Schaffer ve ark. 2007'de HT açısından zengin özlerin Fe^{2+} ve NO'nin murin beyin hücrelerinde sitotoksik etkilerini azaltabildiğini keşfetti. Ek olarak, farelerde 12 gün boyunca 100 mg HT'nin oral yoldan verilmesinin, ayrıştırılmış beyin hücrelerinin oksidatif strese karşı direncini geliştirdiğini, bunun bazal ve stres kaynaklı lipid peroksidasyonunu azaltarak kanıtladığını buldu. Ayrıca, bu yazarlar, bazal mitokondriyal membran potansiyelinin de orta derecede hiperpolarize olduğunu gözlemlediler ve ilk kez bir ex vivo modelde HT'nin beyin hücreleri düzeyinde bir sitoproteksiyon uygulayabileceğini gösterdiler (Schaffer vd., 2007).

Sıçanlardan alınan beyin kesitlerinde hipoksi-reoksijenasyon modelinde yapılan çalışmalar, HT ve HT-asetatın nöroprotektif bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. HT'nin sitoprotektif etkisi ile, tüm deneysel koşullar altında hipoksiye ve reoksijenasyona tabi tutulan sıçan beyin kesitlerinde laktat dehidrojenaz akışı önemli ölçüde azaldı (González-Correa vd., 2008; Muñoz-Marín vd., 2012).

Daha ileri çalışmalar SZY ve HT'nin oral uygulamasının Wistar sıçanlarında gerçekleştirilen Huntington hastalığına benzer bir modelde beyin oksidatif stresi üzerinde önemli etkiler sunduğunu göstermiştir. Lipid peroksidasyonu önemli ölçüde azaltmasını artan hücreSEL GSH'nin beyin antioksidanları olarak hareket ederek oksidatif hasara karşı bir koruma mekanizması ile açıklandı (Tasset, Pontes, Hinojosa, de la Torre, & Túnez, 2011). HT'nin nöroprotektif rolünün, oksidatif hasarı dengeleme kapasitesiyle ilişkili olduğunu belirlemişti. Nöro-davranışsal işlev bozukluğunu indüklemek için oligomerik A β 1-42 ibotenik asit enjekte edilmiş C57BL/6 farelerinde HT'nin potansiyel etkilerini inceledi. Bu enjeksiyon, görsel-uzaısal ve işleyen hafıza becerilerinde bir bozulmaya neden olmaktadır. Mekânsal-bilişsel performansları, 14 günlük HT uygulamasından sonra önemli ölçüde iyileşti. Bu yazarlar, HT'nin, her ikisi de nöronal ve hafıza fonksiyonlarının bozulmasıyla yakından bağlantılı olan p38 ve JNK ekspresyonunu aşağı regüle edebileceğini öne sürdüler (Scip vd., 2011).

Son olarak, sıçanlara maternal HT uygulamasının, doğum öncesi stresin neden olduğu bozulmuş nörojenez ve bilişsel işlevi düzeltebileceği açıklanmıştır. Çalışmada Zheng ve ark. (Adi Zheng, Li, Cao, vd., 2015) sıçan hipokampusünde oluşturulan stres sonrasında nöral proteinlerden BDNF, büyümeyle ilişkili protein 43 (GAP43) ve glukokortikoid reseptörünün düşüklüğünü gösteren sinaptofizinin aşağı regülasyonunu indüklediğini ve antioksidan savunma sisteminde bir azalma (Nrf2, SOD ve haem oksijenaz

1 (HO-1) dahil) gösterdi. İlgili değişiklikler mitokondri içeriğinde ve yavru-
ruların hipokampusünde antioksidan tepki oluşturma yeteneğinde hasara
yol açmaktadır. Anneye yapılan HT takviyesi, mitokondriyal içeriği artırır
ve faz II enzimlerinin aktivasyonunu modüle ederek bilişsel bozulmayı ve
biyokimyasal değişiklikleri önlemiştir (A Zheng, Li, Xu, Cao, & Li, 2015).

4.8. Cilt Koruması:

Şu anda, koruma faktörleri olmadan sürekli güneş ışığına maruz kal-
ma, kirlilik veya yaşlanma faktörleri olarak yaşamın kendisine özgü fak-
törle gelişen dermatolojik koşullar büyük önem kazanıyor. Birkaç on yıl
boyunca, birkaç çalışma MD'nin ve özellikle OO'nun diğer sağlık açısın-
dan yararlı yönlerin yanı sıra cilt tümörlerinin insidansını nasıl azaltabi-
leceğini belirledi. Bazı yazarlar, MD ile ilişkili cilt koruyucu etkilerin bir
kısımının MD'den ve özellikle OO'den (poli)-fenollere atfedilebileceğini
belirlemek için farklı zeytin (poli)fenol bazlı nutrasötikler kullanmışlardır.
Bu anlamda, insanlarda (poli)fenol bazlı bir kozmesitiğin (Alyvium®) an-
tiprosiyasik özelliklerini göstermiştir. Alyvium®'un pozitif cilt etkilerinin,
redoksu normalleştirilmesindeki rolünün bir sonucu kutanöz bulguları iyi-
leştirmektedir.(Herrera et al. 2016).

Ultraviyole (UV) radyasyonunun ROS üreterek endojen antiokopl/*-
8sidan sistemin tükenmesi ve çift zincirli DNA kırılmasıyla cilt hasarını
neden olduğu bilinmektedir Oksidatif streste artış cilt hücrelerinde hasar
oluşturarak dermatolojik rahatsızlıkları artırır (Park, Kim, Hong, Kim, &
Oh, 2014). Bazı çalışmalar, doza bağımlı bir şekilde HT ve metillenmiş
metabolitlerinin UV radyasyonu ile ilişkili oksidatif stresi azaltabileceğini
ve UVA radyasyonuna maruz kalan melanom hücrelerinde (M14) sitotok-
sik etkiyi de tetikleyebileceği göstermiştir (D'Angelo vd., 2005a).

Benzer şekilde insan immortal keratinosit hücre hattında (HaCaT)
UVB olumsuz etkilerine karşı HT'nin önemli cilt koruyucu sonuçlar elde
edildi (Guo et al. 2010) Ek olarak, yeni bir HT dimerik türevi HaCaT hü-
crelerinde UV kaynaklı oksidatif strese karşı da yüksek bir kapasite göster-
di. Radikal temizleme aktivitesi sayesinde bu sağladığı düşünülmektedir.
Bu dimerik-HT, apoptozis üzerinde Bcl-2 ve Bax proteinlerinin modüle
ederek etki gösterdi (Zwane et al.).

4.9. Antitümör Etkinlik

İlk olarak, ROS'un, esas olarak kanser gelişiminin başlatılması, destek-
lenmesi ve ilerleme aşamalarındaki kilit rolleri nedeniyle doğrudan tümör
oluşumu ile bağlantılıdır. Bu nedenle, HT'nin antitümör özellikleri, çoğun-
lukla ROÜ temizleme aktivitesi veya antioksidan kapasitesi ile ilişkilendiril-
mektedir. Bununla birlikte, son on yılda, HT'nin yalnızca antitümör etkisini
göstermek için çok sayıda çalışma yapılmıştır. İnsan hepatoma hücre hat-

tında (HepG2) akrilamid kaynaklı genotoksisite modelinde akrilamid tarafından tetiklenen ROS üretimini azaltarak genotoksisiteye karşı bir kemo modülatör etkiye sahip olabilir (R. Fabiani, 2016; Hazas et al. 2017; Zhang et al. 2008). Ek olarak, çok sayıda çalışma, HT'nin bir antitümör bileşiği olarak antioksidan yeteneğinden bağımsız olarak, belirli tümörler üzerindeki antiproliferatif etkisini gösterilmiştir (Terzuoli et al. 2016). Ön çalışmalar sayesinde, antitümör etkileri göstermeye başlamak için yaklaşık 10-17 mg/g HT dozu belirlenmiştir (Quirantes-Piné vd., 2013).

HT apoptozu artırır ve hücre döngüsünün G0/G1 fazını durdurarak HL60 (promyelositik lösemi), HT29 ve HT29 klon 19A (kolon adenokarsinomu) gibi farklı tümör hücrelerinde proliferasyonu ve büyümeyi inhibe eder. Sonuçta S ve G2/M fazlarında hücre yüzdesinde azalma ile sonuçlanmıştır (R. Fabiani vd., 2002). Yürütülen bir çalışmada, HT'nin hücreler üzerinde, siklin D3, CDKi p21WAF1/Cip1 ve p27Kip1'in artması ve CDK6'nın azalmasını yönünde olası mekanizması gösterildi. Tüm bu değişiklikler G1-S geçişinin inhibisyonunu ve HL60 hücrelerinin farklılaşma ve apoptozun düzenlenmesinde yer almaktadır. Tiroid kanseri hücre dizilerinde [papiller (TPC-1, FB-2) ve foliküler (WRO)] mitokondri yolu yoluyla apoptozu aktive ederek hücre canlılığını azalttığı gösterilmiştir. Öte yandan, sağlıklı ve normal hücre kültürlerinde HT'nin toksik olmadığını ve kemo koruyucu etkilerini gösteren çalışmalar da mevcuttur (R. Fabiani, 2016; R. Fabiani et al., 2002; Fabiani et al. 2008; Rosignoli et al., 2016; Totoda et al., 2017; Warleta et al., 2011)

HT'nin apoptotik süreç üzerindeki mekanizmalarından biri, Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) proteininin inaktivasyonunu ile hücre ölümü tetikleyen c-jun'un, NH2-cjun-kinaz tarafından aktifleştirilmesidir (Granados-Principal vd., 2014). UV-A ışınlanmış insan melanom hücreleri (M14) ile ilgili olarak HT'nin bu hasarlı hücreleri doza bağlı bir şekilde koruyabildiğini ve ayrıca 400 uM'ye kadar olan dozlarda bir hücre döngüsü inhibitörü olarak hareket edebileceğini göstermiştir (D'Angelo vd., 2005b). Granados-Principal tarafından iki farklı etki mekanizması önerilmiştir. HT'nin antitümör etkisi için: Sikline bağımlı kinazların (CDK'ler) blokajı. Bu aktivite, hem doğrudan CDK blokajı uygulanarak hem de CDK inhibitörlerinin indüksiyonu ile gerçekleştirilebilir. İkincisi ROS gibi hücre proliferasyonunda yer alan habercileri bloke etme sayılabilir (Granados-Principal vd., 2010b).

Ayrıca, HT'nin insan kolon kanseri HT-29 hücrelerinde apoptoz ile indüklenen hücre ölümünü uzun süreli bir endoplazmik retikulum (ER) stresini artırarak ER homeostazını bozduğunu ve "katlanmamış protein yanıtı" sinyal yollarını aktive ettiğini göstermiştir. HT ayrıca hücrelerin S ve G2/M fazlarında durdurup mitozu girmesini önleyerek hücrelerin yaklaşık %65'in ölümüne ve pro-kaspaz 3'ün proteolitik bölünmesini tetiklemekte-

dir. Aynı çalışmada HT, hayatta kalma yolağı olan fosfoinositol 3 kinaz/v-akt murin timoma viral onkogen/PKB'yi inhibe ederek TNF- α -bağımlı NF-k β aktivasyonunu engellemiştir (Guichard vd., 2006).

Yukarıda bahsedilenlerin yanı sıra HT'nin oksidatif stresi teşvik ederek insan kolon kanseri hücreleri (DLD1 hücreleri) üzerinde seçici bir anti-proliferatif etki göstermiştir. Sun et al. (2014)'e göre, HT, fosfoinositid 3-kinaz/Akt yolunu aktive edebilir, FOXO3a'yı fosforile edebilir ve ardından normal kolon epitel hücrelerinde sitotoksik etkisi olmaksızın FOXO3a'nın hedef genlerini aşağı regüle edebilir (Sun, Luo, & Liu, 2014b). HT'nin bağırsakta mikrobiyotadan türetilen katabolitlerinin aynı zamanda ilişkili antitümör aktiviteye sahip olup olmadığını belirlemeye çalışmıştır (Bernini vd., 2017). Bu anlamda kolon kanseri hücrelerinde (HT-29 ve Caco2 hücre hatları) hem HT hem de türevlerinin antiproliferatif ve pro-apoptotik özelliklerini gözlemlemiştir (Hazas vd., 2017). Benzer şekilde, 2013'te Cárdeno, Sanchez-Hidalgo, Rosillo ve Alarcon de la Lastra, HT'nin HIF-1 α protein seviyelerini azaltarak ve p53 ekspresyonlarını yükselterek HT-29'da bir büyüme inhibisyonuna sağlamıştır. Ek olarak, HT, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK)1/2 fosforilasyonunu güçlü bir şekilde inhibe etmesi ve siklin D1 ekspresyonunun azaltılması nedeniyle insan kolon adenokarsinom hücrelerinde (Caco-2) bir antiproliferatif etki göstermiştir (Corona vd., 2009).

Bilindiği kadarıyla lipid biyosentezinde yer alan yağ asit sentaz (FASN)'ın, asetil-CoA, malonil-CoA ve NADPH'den yağ asitlerinin oluşumunu katalize eder. Birçok insan tümöründe kolorektal kanser, meme kanseri veya prostat ve yumurtalık kanserlerinde artmış FASN 1 tipi seviyeleri bulunmuştur. FASN inhibitörleri, hücre proliferasyonunun azaltılması konusundaki yüksek kabiliyeti sayesinde kullanılmış olmasına rağmen, FASN rolü hala belirsizdir (Mullen & Yet, 2015). HT ve insan kolorektal kanser hücreleri (SW620) ile bir çalışma gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada, HT'nin SW620 hücrelerinde FASN'ı inhibe ettiğini gözlemlediler, bu da daha düşük dereceli hücre farklılaşmasının bazı hücreleri HT tarafından indüklenen apoptoza daha duyarlı hale getirdiğini ortaya koydu. FASN inhibisyonunun bu mekanizması aynı zamanda insan hepatoma HepG2 ve Hep3B hücre hatlarıyla da ortaktır (Notarnicola vd., 2011, 2011).

Meme kanseri ile ilgili olarak, HT, aşırı eksprese edilmiş bir HER2 onkogeni (SkBr3) ile trastuzumab dirençli meme kanseri hücrelerinde insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'yi (HER2) inhibe edebilmektedir. Ayrıca HT, HER2'yi doğal olarak eksprese eden MCF7 hücrelerinde sitotoksikiteyi destekler (Menendez vd., 2007). 50 μ g/ml'de MCF-7'de HT'nin diğer etki mekanizması ise G(1)'den S faz geçişinin bloke edilmesi ile G(0)/G(1) aşamasında hücre sayısının artırması ile hücre proliferas-

yon hızının inhibisyonu ve hücre apoptozunun indüklenmesidir. Başka bir çalışmada HT'le zenginleştirilmiş özütünün etkisine tabi tutulan MCF-7 hücreleri, peptidil-prolil cis-trans izomeraz Pin1'in aşağı ekspresyonu nedeniyle G0/G1 fazında bir hücre döngüsü durdurmuştur. Bu durum Cyclin D1'i (meme kanseri hastalarının %50'sinde aşırı eksprese edilir) ve c-jun7'nin aşırı ekspresyonunu azaltıcı etki göstermiştir. (Bouallagui et al. 2011; Isoda et al 2009).

CaCo2 hücreleri ile yürütülen çalışmada HT'nin hücre dışı sinyalle ilişkili kinaz1 ve 2'nin (ERK1/2) fosforilasyon inhibisyonu sonrası Cyclin D1'de azalma sağlamıştır (Corona vd., 2009). Benzer şekilde, HT'nin MCF7 hücrelerinde ERK1 / 2-östrojene bağlı proliferasyon yolunun aktivasyonunu inhibe ettiğini, kemo-koruyucu ve antiproliferatif rollerini geleneksel olmayan östrojene bağımlı hızlı sinyaller yoluyla gerçekleştirdiğini belirledi. Daha ileri çalışmalar, DMBA tarafından indüklenen meme tümörleri olan Sprague-Dawley sıçanlarında HT'nin tümör hacmini ve büyümesini ve hücre proliferasyonunu azalttığını gösterdi. Daha sonra Wnt yolu yoluyla başka bir olası etki mekanizması önerildi. HT, sırayla Wnt yolunun çözünür bir modülatörü olarak işlev gören, apoptozu kolaylaştıran ve meme kanserinde hücre proliferasyonunu bloke eden Sfrp4'ün sentez indüksiyonu destekler (Granados-Principal et al.)

Çalışmalar göstermiştir ki, zeytinyağında bulunan HT ve türevlerinin pankreas, ağız boşluğu, yemek borusu, kolon-rektum, prostat veya akciğer gibi birçok kanser türüne karşı koruyucu etkileri bulunmaktadır (Jadid vd., 2021; Rafehi vd., 2012; Sani, Onsori, Akrami, & Rahmati, 2021)

Tüm verilere göre, zeytinyağı ve zeytin yaprağından elde edilen bu bileşik, sağlığın korunması için giderek artan ölçüde önem kazanmaktadır. HT'nin sağlıklı kalmada ve hastalıklara karşı korunmada etkin bir madde olması sayesinde insanlara sadece zeytinyağıyla değil özüt formlarında ulaşabilir hale getirilmesi faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR:

- Atzeri, A., Lucas, R., Incani, A., Peñalver, P., Zafra-Gómez, A., Melis, M. P., ... Deiana, M. (2016). Hydroxytyrosol and tyrosol sulfate metabolites protect against the oxidized cholesterol pro-oxidant effect in Caco-2 human enterocyte-like cells. *Food and Function*, 7(1), 337–346. <https://doi.org/10.1039/C5FO00074B>
- Auñon-Calles, D., Giordano, E., Bohnenberger, S., & Visioli, F. (2013). Hydroxytyrosol is not genotoxic in vitro. *Pharmacological Research*, 74, 87–93. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2013.06.002>
- Bai, C., Yan, X., Takenaka, M., Sekiya, K., & Nagata, T. (1998). Determination of Synthetic Hydroxytyrosol in Rat Plasma by GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 3998–4001. <https://doi.org/10.1021/JF980451R>
- Bernini, R., Carastro, I., Palmi, G., Tanini, A., Zonfrati, R., Pinelli, P., ... Romani, A. (2017). Lipophilization of Hydroxytyrosol-Enriched Fractions from *Olea europaea* L. Byproducts and Evaluation of the in Vitro Effects on a Model of Colorectal Cancer Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(31), 6506–6512. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.6B05457>
- Bisignano, G., Tomaino, A., ... R. C.-J. of pharmacy, & 1999, undefined. (y.y.). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *academic.oup.com*. Tarihinde adresinden erişildi <https://academic.oup.com/jpp/article-abstract/51/8/971/6157325>
- Bjelakovic, G., Nikolova, D., & Gluud, C. (2014). Antioxidant supplements and mortality. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 17(1), 40–44. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000099>
- Boskou, D. (2008). *Olive oil: minor constituents and health*. Tarihinde adresinden erişildi <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781420059946/olive-oil-dimitrios-boskou>
- Bouallagui, Z., Han, J., Isoda, H., & Sayadi, S. (2011). Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 49(1), 179–184. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2010.10.014>
- Calderón-Montaño, J. M., Madrona, A., Burgos-Morón, E., Orta, M. L., Mateos, S., Espartero, J. L., & López-Lázaro, M. (2013). Selective Cytotoxic Activity of New Lipophilic Hydroxytyrosol Alkyl Ether Derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(21), 5046–5053. <https://doi.org/10.1021/JF400796P>
- Cao, K., Xu, J., Zou, X., Li, Y., Chen, C., Zheng, A., ... Feng, Z. (2014). Hydroxytyrosol prevents diet-induced metabolic syndrome and attenuates mitochondrial abnormalities in obese mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 67, 396–407. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2013.11.029>
- Catalán, Ú., López de las Hazas, M. C., Rubió, L., Fernández-Castillejo, S., Pedret,

- A., de la Torre, R., ... Solà, R. (2015). Protective effect of hydroxytyrosol and its predominant plasmatic human metabolites against endothelial dysfunction in human aortic endothelial cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, 59(12), 2523–2536. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201500361>
- Catalán, Ú., Rubió, L., López de Las Hazas, M. C., Herrero, P., Nadal, P., Canela, N., ... Solà, R. (2016). Hydroxytyrosol and its complex forms (secoiridoids) modulate aorta and heart proteome in healthy rats: Potential cardio-protective effects. *Molecular nutrition & food research*, 60(10), 2114–2129. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201600052>
- Charoenprasert, S., & Mitchell, A. (2012). Factors Influencing Phenolic Compounds in Table Olives (*Olea europaea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(29), 7081–7095. <https://doi.org/10.1021/JF3017699>
- Chashmi, N. A., Emadi, S., & Khastar, H. (2017). Protective effects of hydroxytyrosol on gentamicin induced nephrotoxicity in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(4), 1427–1429. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2016.12.052>
- Chatzikonstantinou, A. V, Gkantzou, E., Thomou, E., Chalmpes, N., Lyra, K. M., Kontogianni, V. G., ... Stamatis, H. (2019). Enzymatic conversion of oleuropein to hydroxytyrosol using immobilized β -glucosidase on porous carbon cuboids. *Nanomaterials*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/nano9081166>
- Christian, M. S., Sharper, V. A., Hoberman, A. M., Seng, J. E., Fu, L., Covell, D., ... Crea, R. (2004). The toxicity profile of hydrolyzed aqueous olive pulp extract. *Drug and Chemical Toxicology*, 27(4), 309–330. <https://doi.org/10.1081/DCT-200039714>
- Corona, G., Deiana, M., Incani, A., Vauzour, D., Dessià, M. A., & Spencer, J. P. E. (2009). Hydroxytyrosol inhibits the proliferation of human colon adenocarcinoma cells through inhibition of ERK1/2 and cyclin D1. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(7), 897–903. <https://doi.org/10.1002/MNFR.200800269>
- Crisante, F., Taresco, V., Donelli, G., Vuotto, C., Martinelli, A., D’Ilario, L., ... Piozzi, A. (2016). Antioxidant hydroxytyrosol-based polyacrylate with antimicrobial and antiadhesive activity versus *Staphylococcus epidermidis*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 901, 25–36. https://doi.org/10.1007/5584_2015_5013
- D’Angelo, S., Ingrosso, D., Migliardi, V., Sorrentino, A., Donnarumma, G., Baroni, A., ... Galletti, P. (2005a). Hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, prevents protein damage induced by long-wave ultraviolet radiation in melanoma cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(7), 908–919. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2004.12.015>
- D’Angelo, S., Ingrosso, D., Migliardi, V., Sorrentino, A., Donnarumma, G., Baroni, A., ... Galletti, P. (2005b). Hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, prevents protein damage induced by long-wave ultraviolet radiation in melanoma cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(7),

908–919. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.12.015>

- D'Angelo, S., Manna, C., Migliardi, V., Mazzoni, O., Morrica, P., Capasso, G., ... Zappia, V. (2001). Pharmacokinetics and metabolism of hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil. *Drug Metabolism and Disposition*, 29(11), 1492–1498.
- Dandona, P., Aljada, A., Chaudhuri, A., Mohanty, P., & Garg, R. (2005). Metabolic syndrome: A comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation*, 111(11), 1448–1454. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000158483.13093.9D>
- de Bock, M., Derraik, J. G. B., Brennan, C. M., Biggs, J. B., Morgan, P. E., Hodgkinson, S. C., ... Cutfield, W. S. (2013). Olive (*Olea europaea* L.) Leaf Polyphenols Improve Insulin Sensitivity in Middle-Aged Overweight Men: A Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Trial. *PLoS ONE*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0057622>
- De La Torre, R., Covas, M. I., Pujadas, M. A., Fitó, M., & Farré, M. (2006). Is dopamine behind the health benefits of red wine? *European Journal of Nutrition* 45:5, 45(5), 307–310. <https://doi.org/10.1007/S00394-006-0596-9>
- Dexter, D., Medicine, P. J.-F. R. B. and, & 2013, U. (2013). Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Elsevier*. Tarihinde adresinden erişildi <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584913000282>
- Di Tommaso, D., Calabrese, R., & Rotilio, D. (1998). Identification and quantitation of hydroxytyrosol in Italian wines. *HRC Journal of High Resolution Chromatography*, 21(10), 549–553. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4168\(19981001\)21:10<549::AID-JHRC549>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4168(19981001)21:10<549::AID-JHRC549>3.0.CO;2-Z)
- Domínguez-Perles, R., Auñón, D., Ferreres, F., & Gil-Izquierdo, A. (2017). Gender differences in plasma and urine metabolites from Sprague–Dawley rats after oral administration of normal and high doses of hydroxytyrosol, hydroxytyrosol acetate, and DOPAC. *European Journal of Nutrition*, 56(1), 215–224. <https://doi.org/10.1007/S00394-015-1071-2>
- Fabiani, R. (2016). Anti-cancer properties of olive oil secoiridoid phenols: A systematic review of: In vivo studies. *Food and Function*, 7(10), 4145–4159. <https://doi.org/10.1039/C6FO00958A>
- Fabiani, R., De Bartolomeo, A., Rosignoli, P., Servili, M., Montedoro, G. F., & Morozzi, G. (2002). Cancer chemoprevention by hydroxytyrosol isolated from virgin olive oil through G1 cell cycle arrest and apoptosis. *European Journal of Cancer Prevention*, 11(4), 351–358. <https://doi.org/10.1097/00008469-200208000-00006>
- Fabiani, Roberto, Rosignoli, P., De Bartolomeo, A., Fuccelli, R., & Morozzi, G. (2008). Inhibition of cell cycle progression by hydroxytyrosol is associated with upregulation of cyclin-dependent protein kinase inhibitors p21 WAF1/

- Cip1 and p27Kip1 and with induction of differentiation in HL60 cells. *Journal of Nutrition*, 138(1), 42–48. <https://doi.org/10.1093/JN/138.1.42>
- Fernández-Mar, M. I., Mateos, R., García-Parrilla, M. C., Puertas, B., & Cantos-Villar, E. (2012). Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. *Food Chemistry*, 130(4), 797–813. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.08.023>
- Fitó, M., Cladellas, M., de la Torre, R., Martí, J., Muñoz, D., Schröder, H., ... Co-vas, M. I. (2008). Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease patients: A randomized, crossover, controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, 62(4), 570–574. <https://doi.org/10.1038/SJ.EJCN.1602724>
- Forman, H. J., Davies, K. J. A., & Ursini, F. (2014). How do nutritional antioxidants really work: Nucleophilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 66, 24–35. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2013.05.045>
- González-Correa, J. A., Navas, M. D., Lopez-Villodres, J. A., Trujillo, M., Espartero, J. L., & De La Cruz, J. P. (2008). Neuroprotective effect of hydroxytyrosol and hydroxytyrosol acetate in rat brain slices subjected to hypoxia-reoxygenation. *Neuroscience Letters*, 446(2–3), 143–146. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2008.09.022>
- González-Santiago, M., Martín-Bautista, E., Carrero, J. J., Fonollá, J., Baró, L., Bartolomé, M. V., ... López-Huertas, E. (2006). One-month administration of hydroxytyrosol, a phenolic antioxidant present in olive oil, to hyperlipemic rabbits improves blood lipid profile, antioxidant status and reduces atherosclerosis development. *Atherosclerosis*, 188(1), 35–42. <https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2005.10.022>
- González-Santiago, Maria, Fonollá, J., & Lopez-Huertas, E. (2010). Human absorption of a supplement containing purified hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, and evidence for its transient association with low-density lipoproteins. *Pharmacological Research*, 61(4), 364–370. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2009.12.016>
- Goya, L., Mateos, R., & Bravo, L. (2007). Effect of the olive oil phenol hydroxytyrosol on human hepatoma HepG2 cells. *European Journal of Nutrition* 2007 46:2, 46(2), 70–78. <https://doi.org/10.1007/S00394-006-0633-8>
- Granados-Principal, S., El-Azem, N., Pamplona, R., Ramirez-Tortosa, C., Pulido-Moran, M., Vera-Ramirez, L., ... Ramirez-Tortosa, M. (2014). Hydroxytyrosol ameliorates oxidative stress and mitochondrial dysfunction in doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with breast cancer. *Biochemical Pharmacology*, 90(1), 25–33. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2014.04.001>
- Granados-Principal, S., Quiles, J. L., Ramirez-Tortosa, C., Camacho-Corencia, P., Sanchez-Rovira, P., Vera-Ramirez, L., & Ramirez-Tortosa, M. (2011). Hydroxytyrosol inhibits growth and cell proliferation and promotes high expression of sfrp4 in rat mammary tumours. *Molecular Nutrition and*

- Food Research*, 55(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1002/MNFR.201000220>
- Granados-Principal, S., Quiles, J. L., Ramirez-Tortosa, C. L., Sanchez-Rovira, P., & Ramirez-Tortosa, M. C. (2010a). Hydroxytyrosol: From laboratory investigations to future clinical trials. *Nutrition Reviews*, 68(4), 191–206. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00278.x>
- Granados-Principal, S., Quiles, J. L., Ramirez-Tortosa, C. L., Sanchez-Rovira, P., & Ramirez-Tortosa, M. C. (2010b). Hydroxytyrosol: From laboratory investigations to future clinical trials. *Nutrition Reviews*, 68(4), 191–206. <https://doi.org/10.1111/J.1753-4887.2010.00278.X>
- Guichard, C., Pedruzzi, E., Fay, M., Marie, J. C., Braut-Boucher, F., Daniel, F., ... Ogier-Denis, E. (2006). Dihydroxyphenylethanol induces apoptosis by activating serine/threonine protein phosphatase PP2A and promotes the endoplasmic reticulum stress response in human colon carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 27(9), 1812–1827. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGL009>
- Guo, W., An, Y., Jiang, L., Geng, C., & Zhong, L. (2010). The protective effects of hydroxytyrosol against UVB-induced DNA damage in HaCaT cells. *Phytotherapy Research*, 24(3), 352–359. <https://doi.org/10.1002/PTR.2943>
- Hamden, K., Allouche, N., Jouadi, B., El-Fazaa, S., Gharbi, N., Carreau, S., ... Elfeki, A. (2010). Inhibitory action of purified hydroxytyrosol from stored olive mill waste on intestinal disaccharidases and lipase activities and pancreatic toxicity in diabetic rats. *Food Science and Biotechnology*, 19(2), 439–447. <https://doi.org/10.1007/S10068-010-0062-6>
- Han, J., Talorete, T. P. N., Yamada, P., & Isoda, H. (2009). Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. *Cytotechnology*, 59(1), 45–53. <https://doi.org/10.1007/S10616-009-9191-2>
- Hashimoto, T., Ibi, M., Matsuno, K., Nakashima, S., Tanigawa, T., Yoshikawa, T., & Yabe-Nishimura, C. (2004). An endogenous metabolite of dopamine, 3,4-dihydroxyphenylethanol, acts as a unique cytoprotective agent against oxidative stress-induced injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(5), 555–564. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2003.12.003>
- Hazas, M. L. de las, Pinol, C., ... A. M.-J. of agricultural, & 2017, undefined. (2017). Hydroxytyrosol and the colonic metabolites derived from virgin olive oil intake induce cell cycle arrest and apoptosis in colon cancer cells. *ACS Publications*, 65(31), 6467–6476. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04933>
- Heilman, J., Anyangwe, N., Tran, N., Edwards, J., Beilstein, P., & López, J. (2015). Toxicological evaluation of an olive extract, H35: Subchronic toxicity in the rat. *Food and Chemical Toxicology*, 84, 18–28. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2015.07.007>
- Herrera Acosta, E., Alonso Suárez Pérez, J., Aguilera Arjona, J., & Visioli, F. (2016). An olive polyphenol-based nutraceutical improves cutaneous ma-

- nifestations of psoriasis in humans. *PharmaNutrition*, 4(4), 151–153. <https://doi.org/10.1016/J.PHANU.2016.10.002>
- Hmimed, S., Belarbi, M., PharmaNutrition, F. V., & 2016, undefined. (y.y.). Hydroxytyrosol augments the redox status of high fat diet-fed rats. *Elsevier*. Tarihinde adresinden erişildi <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213434416300597>
- Hu, T., He, X. W., Jiang, J. G., & Xu, X. L. (2014). Hydroxytyrosol and its potential therapeutic effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(7), 1449–1455. <https://doi.org/10.1021/JF405820V>
- Jadid, M. F. S., Shademan, B., Chavoshi, R., Seyyedsani, N., Aghaei, E., Taheri, E., ... Baradaran, B. (2021). Enhanced anticancer potency of hydroxytyrosol and curcumin by PLGA-PAA nano-encapsulation on PANC-1 pancreatic cancer cell line. *Environmental Toxicology*, 36(6), 1043–1051. <https://doi.org/10.1002/TOX.23103>
- Jemai, H., Bouaziz, M., Fki, I., El Feki, A., & Sayadi, S. (2008). Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chemico-Biological Interactions*, 176(2–3), 88–98. <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2008.08.014>
- Kedechi, S., Zribi, N., Louati, N., Menif, H., Sellami, A., Lassoued, S., ... Chakroun, N. (2017). Antioxidant effect of hydroxytyrosol on human sperm quality during in vitro incubation. *Andrologia*, 49(1), e12595. <https://doi.org/10.1111/AND.12595>
- Khayyal, M. T., El-Ghazaly, M. A., Abdallah, D. M., Nassar, N. N., Okpanyi, S. N., & Kreuter, M. H. (2002). Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (*Olea europaea*) in L-NAME induced hypertension in rats. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research*, 52(11), 797–802. <https://doi.org/10.1055/S-0031-1299970>
- Khymenets, O., Fitó, M., Covas, M. I., Farré, M., Pujadas, M. A., Muñoz, D., ... De La Torre, R. (2009). Mononuclear cell transcriptome response after sustained virgin olive oil consumption in humans: An exploratory nutrigenomics study. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 13(1), 7–19. <https://doi.org/10.1089/OMI.2008.0079>
- Khymenets, O., Fitó, M., Touriño, S., Muñoz-Aguayo, D., Pujadas, M., Torres, J. L., ... De La Torre, R. (2010). Antioxidant Activities of Hydroxytyrosol Main Metabolites Do Not Contribute to Beneficial Health Effects after Olive Oil Ingestion. *Drug Metabolism and Disposition*, 38(9), 1417–1421. <https://doi.org/10.1124/DMD.110.032821>
- Konstantinidou, V., Khymenets, O., Covas, M. I., De La Torre, R., Muñoz-Aguayo, D., Anglada, R., ... Fito, M. (2009). Time course of changes in the expression of insulin sensitivity-related genes after an acute load of virgin olive oil. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 13(5), 431–438. <https://doi.org/10.1089/OMI.2008.0085>

- Kotronoulas, A., Pizarro, N., Serra, A., Robledo, P., Joglar, J., Rubió, L., ... De La Torre, R. (2013). Dose-dependent metabolic disposition of hydroxytyrosol and formation of mercapturates in rats. *Pharmacological Research*, 77, 47–56. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2013.09.001>
- Kyriazis, J. D., Aligiannis, N., Polychronopoulos, P., Skaltsounis, A. L., & Dotsika, E. (2013). Leishmanicidal activity assessment of olive tree extracts. *Phytomedicine*, 20(3–4), 275–281. <https://doi.org/10.1016/J.PHY-MED.2012.11.013>
- Léger, C. L., Carbonneau, M. A., Michel, F., Mas, E., Monnier, L., Cristol, J. P., & Descomps, B. (2005). A thromboxane effect of a hydroxytyrosol-rich olive oil wastewater extract in patients with uncomplicated type 1 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59(5), 727–730. <https://doi.org/10.1038/SJ.EJCN.1602133>
- Liu, Z., Fan, W., and, R. C.-I. journal of clinical, & 2015, undefined. (y.y.). 3, 4-dihydroxyphenylethanol suppresses irradiation-induced pulmonary fibrosis in adult rats. *ncbi.nlm.nih.gov*. Tarihinde adresinden erişildi <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4466915/>
- Luo, C., Li, Y., Wang, H., Cui, Y., Feng, Z., Li, H., ... Liu, J. (2013). Hydroxytyrosol Promotes Superoxide Production and Defects in Autophagy Leading to Anti-proliferation and Apoptosis on Human Prostate Cancer Cells. *Current Cancer Drug Targets*, 13(6), 625–639. <https://doi.org/10.2174/15680096113139990035>
- Manna, C., Della Ragione, F., Cucciolla, V., Borriello, A., D'Angelo, S., Galletti, P., & Zappia, V. (1999). Biological Effects of Hydroxytyrosol, a Polyphenol from Olive Oil Endowed with Antioxidant Activity. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 472, 115–130. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3230-6_11
- Martin, M. A., Ramos, S., Granado-Serrano, A. B., Rodriguez-Ramiro, I., Trujillo, M., Bravo, L., & Goya, L. (2010). Hydroxytyrosol induces antioxidant/detoxicant enzymes and Nrf2 translocation via extracellular regulated kinases and phosphatidylinositol-3-kinase/ protein kinase B pathways in HepG2 cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54(7), 956–966. <https://doi.org/10.1002/MNFR.200900159>
- Medina-Martínez, M. S., Truchado, P., Castro-Ibáñez, I., & Allende, A. (2016). Antimicrobial activity of hydroxytyrosol: A current controversy. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 80(4), 801–810. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1116924>
- Medina, E., De Castro, A., Romero, C., & Brenes, M. (2006). Comparison of the Concentrations of Phenolic Compounds in Olive Oils and Other Plant Oils: Correlation with Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14), 4954–4961. <https://doi.org/10.1021/JF0602267>
- Medina, E., Romero, C., De Los Santos, B., De Castro, A., García, A., Romero, F., & Brenes, M. (2011). Antimicrobial activity of olive solutions from sto-

- red alpeorujo against plant pathogenic microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 6927–6932. <https://doi.org/10.1021/jf2010386>
- Menendez, J. A., Vazquez-Martin, A., Colomer, R., Brunet, J., Carrasco-Pancorbo, A., Garcia-Villalba, R., ... Segura-Carretero, A. (2007). Olive oil's bitter principle reverses acquired autoresistance to trastuzumab (Herceptin™) in HER2-overexpressing breast cancer cells. *BMC Cancer*, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-7-80>
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M., & Miniati, E. (2002). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9), 1571–1576. <https://doi.org/10.1021/JF00021A019>
- Mosele, J. I., Martín-Peláez, S., Macià, A., Farràs, M., Valls, R. M., Catalán, Ú., & Motilva, M. J. (2014). Faecal microbial metabolism of olive oil phenolic compounds: In vitro and in vivo approaches. *Molecular Nutrition and Food Research*, 58(9), 1809–1819. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201400124>
- Mullen, G. E., & Yet, L. (2015). Progress in the development of fatty acid synthase inhibitors as anticancer targets. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 25(20), 4363–4369. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2015.08.087>
- Muñoz-Marín, J., De La Cruz, J. P., Guerrero, A., López-Leiva, I., López-Villodres, J. A., Reyes, J. J., ... González-Correa, J. A. (2012). Cytoprotective effect of hydroxytyrosyl alkyl ether derivatives after oral administration to rats in a model of glucose-oxygen deprivation in brain slices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(31), 7659–7664. <https://doi.org/10.1021/JF3007097>
- Notarnicola, M., Pisanti, S., Tutino, V., Bocale, D., Rotelli, M. T., Gentile, A., ... Caruso, M. G. (2011). Effects of olive oil polyphenols on fatty acid synthase gene expression and activity in human colorectal cancer cells. *Genes and Nutrition*, 6(1), 63–69. <https://doi.org/10.1007/S12263-010-0177-7>
- O'Dowd, Y., Driss, F., Dang, P. M. C., Elbim, C., Gougerot-Pocidalo, M. A., Pasquier, C., & El-Benna, J. (2004). Antioxidant effect of hydroxytyrosol, a polyphenol from olive oil: Scavenging of hydrogen peroxide but not superoxide anion produced by human neutrophils. *Biochemical Pharmacology*, 68(10), 2003–2008. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2004.06.023>
- Park, G., Kim, H. G., Hong, S. P., Kim, S. Y., & Oh, M. S. (2014). Walnuts (Seeds of *Juglandis sinensis* L.) protect human epidermal keratinocytes against UVB-induced mitochondria-mediated apoptosis through upregulation of ROS elimination pathways. *Skin Pharmacology and Physiology*, 27(3), 132–140. <https://doi.org/10.1159/000354917>
- Pérez-Bonilla, M., Salido, S., Van Beek, T. A., & Altarejos, J. (2013). Radical-Scavenging Compounds from Olive Tree (*Olea europaea* L.) Wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(1), 144–151. <https://doi.org/10.1021/>

JF403998T

- Pérez-Mañá, C., Farré, M., Pujadas, M., Mustata, C., Menoyo, E., Pastor, A., ... De La Torre, R. (2015). Ethanol induces hydroxytyrosol formation in humans. *Pharmacological Research*, 95–96, 27–33. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2015.02.008>
- Poudyal, H., Campbell, F., & Brown, L. (2010). Olive leaf extract attenuates cardiac, hepatic, and metabolic changes in high carbohydrate-, high fat-fed rats. *Journal of Nutrition*, 140(5), 946–953. <https://doi.org/10.3945/JN.109.117812>
- Procopio, A., Alcaro, S., Nardi, M., Oliverio, M., Ortuso, F., Sacchetta, P., ... Sindona, G. (2009). Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of oleuropein and its semisynthetic derivatives as cyclooxygenase inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(23), 11161–11167. <https://doi.org/10.1021/JF9033305>
- Quirantes-Piné, R., Zurek, G., Barrajon-Catalán, E., Bäßmann, C., Micol, V., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2013). A metabolite-profiling approach to assess the uptake and metabolism of phenolic compounds from olive leaves in SKBR3 cells by HPLC-ESI-QTOF-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 72, 121–126. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2012.09.029>
- Rafehi, H., Smith, A. J., Balcerzyk, A., Ziemann, M., Ooi, J., Loveridge, S. J., ... Karagiannis, T. C. (2012). Investigation into the biological properties of the olive polyphenol, hydroxytyrosol: Mechanistic insights by genome-wide mRNA-Seq analysis. *Genes and Nutrition*, 7(2), 343–355. <https://doi.org/10.1007/S12263-011-0249-3>
- Richard, N., Arnold, S., Hoeller, U., Kilpert, C., Wertz, K., & Schwager, J. (2011). Hydroxytyrosol is the major anti-inflammatory compound in aqueous olive extracts and impairs cytokine and chemokine production in macrophages. *Planta Medica*, 77(17), 1890–1897. <https://doi.org/10.1055/S-0031-1280022>
- Robles-Almazan, M., Pulido-Moran, M., Moreno-Fernandez, J., Ramirez-Tortosa, C., Rodriguez-Garcia, C., Quiles, J. L., & Ramirez-Tortosa, M. (2018). Hydroxytyrosol: Bioavailability, toxicity, and clinical applications. *Food Research International*, 105, 654–667. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.11.053>
- Rodríguez-Morató, J., Boronat, A., Kotronoulas, A., Pujadas, M., Pastor, A., Olesiti, E., ... de la Torre, R. (2016). Metabolic disposition and biological significance of simple phenols of dietary origin: hydroxytyrosol and tyrosol. <https://doi.org/10.1080/03602532.2016.1179754>, 48(2), 218–236. <https://doi.org/10.1080/03602532.2016.1179754>
- Rodríguez-Morató, J., Xicota, L., Fitó, M., Farré, M., Dierssen, M., & De La Torre, R. (2015a). Potential role of olive oil phenolic compounds in the prevention of neurodegenerative diseases. *Molecules*, 20(3), 4655–4680.

<https://doi.org/10.3390/MOLECULES20034655>

- Rodríguez-Morató, J., Xicota, L., Fitó, M., Farré, M., Dierssen, M., & De La Torre, R. (2015b). Potential Role of Olive Oil Phenolic Compounds in the Prevention of Neurodegenerative Diseases. *Molecules* 2015, Vol. 20, Pages 4655–4680, 20(3), 4655–4680. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES20034655>
- Romero, C., Brenes, M., Yousfi, K., García, P., García, A., & Garrido, A. (2004). Effect of Cultivar and Processing Method on the Contents of Polyphenols in Table Olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(3), 479–484. <https://doi.org/10.1021/JF030525L>
- Roowi, S., Mullen, W., Edwards, C. A., & Crozier, A. (2009). Yoghurt impacts on the excretion of phenolic acids derived from colonic breakdown of orange juice flavanones in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(S1), S68–S75. <https://doi.org/10.1002/MNFR.200800287>
- Rosignoli, P., Fuccelli, R., Sepporta, M. V., & Fabiani, R. (2016). In vitro chemo-preventive activities of hydroxytyrosol: the main phenolic compound present in extra-virgin olive oil. *Food and Function*, 7(1), 301–307. <https://doi.org/10.1039/C5FO00932D>
- Rubió, L., Valls, R. M., MacIà, A., Pedret, A., Giralt, M., Romero, M. P., ... Motilva, M. J. (2012). Impact of olive oil phenolic concentration on human plasma phenolic metabolites. *Food Chemistry*, 135(4), 2922–2929. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.07.085>
- Sani, N. S., Onson, H., Akrami, S., & Rahmati, M. (2021). A Comparison of the Anti-Cancer Effects of Free and PLGA-PAA Encapsulated Hydroxytyrosol on the HT-29 Colorectal Cancer Cell Line. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 22(2), 390–394. <https://doi.org/10.2174/1871520621666210308095712>
- Sarsour, E. H., Kumar, M. G., Kalen, A. L., Goswami, M., Buettner, G. R., & Goswami, P. C. (2011). MnSOD activity regulates hydroxytyrosol-induced extension of chronological lifespan. *AGE* 2011 34:1, 34(1), 95–109. <https://doi.org/10.1007/S11357-011-9223-7>
- Schaffer, S., Podstawa, M., Visioli, F., Bogani, P., Müller, W. E., & Eckert, G. P. (2007). Hydroxytyrosol-rich olive mill wastewater extract protects brain cells in vitro and ex vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5043–5049. <https://doi.org/10.1021/JF0703710>
- Sclip, A., Antoniou, X., Colombo, A., Camici, G. G., Pozzi, L., Cardinetti, D., ... Borsello, T. (2011). c-Jun N-terminal kinase regulates soluble A β oligomers and cognitive impairment in AD mouse model. *Journal of Biological Chemistry*, 286(51), 43871–43880. <https://doi.org/10.1074/JBC.M111.297515>
- Scoditti, E., Nestola, A., Massaro, M., Calabriso, N., Storelli, C., De Caterina, R., & Carluccio, M. A. (2014). Hydroxytyrosol suppresses MMP-9 and COX-2 activity and expression in activated human monocytes via PKC α and PKC β 1 inhibition. *Atherosclerosis*, 232(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.05.011>

g/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2013.10.017

- Serra, A., Rubió, L., Borràs, X., Macià, A., Romero, M. P., & Motilva, M. J. (2012). Distribution of olive oil phenolic compounds in rat tissues after administration of a phenolic extract from olive cake. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(3), 486–496. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201100436>
- Suárez, M., Valls, R. M., Romero, M. P., Macià, A., Fernández, S., Giral, M., ... Motilva, M. J. (2011). Bioavailability of phenols from a phenol-enriched olive oil. *British Journal of Nutrition*, 106(11), 1691–1701. <https://doi.org/10.1017/S0007114511002200>
- Sun, L., Luo, C., & Liu, J. (2014a). Hydroxytyrosol induces apoptosis in human colon cancer cells through ROS generation. *Food and Function*, 5(8), 1909–1914. <https://doi.org/10.1039/C4FO00187G>
- Sun, L., Luo, C., & Liu, J. (2014b). Hydroxytyrosol induces apoptosis in human colon cancer cells through ROS generation. *Food and Function*, 5(8), 1909–1914. <https://doi.org/10.1039/c4fo00187g>
- Tasset, I., Pontes, A. J., Hinojosa, A. J., de la Torre, R., & Túnez, I. (2011). Olive oil reduces oxidative damage in a 3-nitropropionic acid-induced huntington's disease-like rat model. *Nutritional Neuroscience*, 14(3), 106–111. <https://doi.org/10.1179/1476830511Y.0000000005>
- Terzuoli, E., Giachetti, A., Ziche, M., & Donnini, S. (2016). Hydroxytyrosol, a product from olive oil, reduces colon cancer growth by enhancing epidermal growth factor receptor degradation. *Molecular Nutrition and Food Research*, 60(3), 519–529. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201500498>
- Toteda, G., Lupinacci, S., Vizza, D., Bonofiglio, R., Perri, E., Bonofiglio, M., ... Perri, A. (2017). High doses of hydroxytyrosol induce apoptosis in papillary and follicular thyroid cancer cells. *Journal of Endocrinological Investigation*, 40(2), 153–162. <https://doi.org/10.1007/S40618-016-0537-2>
- Trujillo, M., Gallardo, E., Madrona, A., Bravo, L., Sarriá, B., González-Correa, J. A., ... Espartero, J. L. (2014). Synthesis and Antioxidant Activity of Nitrohydroxytyrosol and Its Acyl Derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(42), 10297–10303. <https://doi.org/10.1021/JF503543X>
- Tuck, K. L., Freeman, M. P., Hayball, P. J., Stretch, G. L., & Stupans, I. (2001). The In Vivo Fate of Hydroxytyrosol and Tyrosol, Antioxidant Phenolic Constituents of Olive Oil, after Intravenous and Oral Dosing of Labeled Compounds to Rats. *The Journal of Nutrition*, 131(7), 1993–1996. <https://doi.org/10.1093/JN/131.7.1993>
- Visioli, F., Bellomo, G., & Galli, C. (1998). Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 247(1), 60–64. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1998.8735>
- Visioli, F., Galli, C., Grande, S., Colonnelli, K., Patelli, C., Galli, G., & Caruso, D. (2003). Hydroxytyrosol excretion differs between rats and humans and depends on the vehicle of administration. *Journal of Nutrition*, 133(8),

2612–2615. <https://doi.org/10.1093/JN/133.8.2612>

Vissers, M. N., Zock, P. L., Roodenburg, A. J. C., Leenen, R., & Katan, M. B. (2002). Olive oil phenols are absorbed in humans. *Journal of Nutrition*, 132(3), 409–417. <https://doi.org/10.1093/JN/132.3.409>

Warleta, F., Quesada, C. S., Campos, M., Allouche, Y., Beltrán, G., & Gaforio, J. J. (2011). Hydroxytyrosol protects against oxidative DNA damage in human breast cells. *Nutrients*, 3(10), 839–857. <https://doi.org/10.3390/NU3100839>

Zhang, Xiaohui, Merkler, K. A., Mclean, M. P., & Mclean, M. P. (2008). Characterization of regulatory intronic and exonic sequences involved in alternative splicing of scavenger receptor class B gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 372, 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.05.007>

Zhang, Xiaomei, Cao, J., & Zhong, L. (2009). Hydroxytyrosol inhibits pro-inflammatory cytokines, iNOS, and COX-2 expression in human monocytic cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 379(6), 581–586. <https://doi.org/10.1007/S00210-009-0399-7>

Zheng, A, Li, H., Xu, J., Cao, K., & Li. (2015). Hydroxytyrosol improves mitochondrial function and reduces oxidative stress in the brain of db/db mice: Role of AMP-activated protein kinase activation. *cambridge.org*. Tarihinde adresinden erişildi

Zheng, Adi, Li, H., Cao, K., Xu, J., Zou, X., Li, Y., ... Feng, Z. (2015). Maternal hydroxytyrosol administration improves neurogenesis and cognitive function in prenatally stressed offspring. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 26(2), 190–199. <https://doi.org/10.1016/J.JNUTBIO.2014.10.006>

Zheng, Adi, Li, H., Xu, J., Cao, K., Li, H., Pu, W., ... Feng, Z. (2015a). Hydroxytyrosol improves mitochondrial function and reduces oxidative stress in the brain of db/db mice: Role of AMP-activated protein kinase activation. *British Journal of Nutrition*, 113(11), 1667–1676. <https://doi.org/10.1017/S0007114515000884>

Zheng, Adi, Li, H., Xu, J., Cao, K., Li, H., Pu, W., ... Feng, Z. (2015b). Hydroxytyrosol improves mitochondrial function and reduces oxidative stress in the brain of db/db mice: Role of AMP-activated protein kinase activation. *British Journal of Nutrition*, 113(11), 1667–1676. <https://doi.org/10.1017/S0007114515000884>

Zhu, L., Liu, Z., Feng, Z., Hao, J., Shen, W., Li, X., ... Liu, J. (2010). Hydroxytyrosol protects against oxidative damage by simultaneous activation of mitochondrial biogenesis and phase II detoxifying enzyme systems in retinal pigment epithelial cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(11), 1089–1098. <https://doi.org/10.1016/J.JNUTBIO.2009.09.006>

Zoric, N., Horvat, I., Kopjar, N., Vucemilovic, A., Kremer, D., Tomic, S., & Kosalec, I. (2013). Hydroxytyrosol Expresses Antifungal Activity In Vitro.

Current Drug Targets, C. 14, ss. 992–998. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/13894501113149990167>

- Zou, X., Feng, Z., Li, Y., Wang, Y., Wertz, K., Weber, P., ... Liu, J. (2012). Stimulation of GSH synthesis to prevent oxidative stress-induced apoptosis by hydroxytyrosol in human retinal pigment epithelial cells: Activation of Nrf2 and JNK-p62/SQSTM1 pathways. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(8), 994–1006. <https://doi.org/10.1016/J.JNUTBIO.2011.05.006>
- Zrelli, H., Matsuoka, M., Kitazaki, S., Araki, M., Kusunoki, M., Zarrouk, M., & Miyazaki, H. (2011). Hydroxytyrosol induces proliferation and cytoprotection against oxidative injury in vascular endothelial cells: Role of Nrf2 activation and HO-1 induction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4473–4482. <https://doi.org/10.1021/JF104151D>
- Zwane, R. E., Parker, A., Kudanga, T., Davids, L. M., & Burton, S. G. (2012a). Novel, biocatalytically produced hydroxytyrosol dimer protects against ultraviolet-induced cell death in human immortalized keratinocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(46), 11509–11517. <https://doi.org/10.1021/JF300883H>
- Zwane, R. E., Parker, A., Kudanga, T., Davids, L. M., & Burton, S. G. (2012b). Novel, Biocatalytically Produced Hydroxytyrosol Dimer Protects against Ultraviolet-Induced Cell Death in Human Immortalized Keratinocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(46), 11509–11517. <https://doi.org/10.1021/JF300883H>

“

Bölüm 3

DÜNDEN BUGÜNE LARVA TERAPİ

Veysi KIZMAZ¹

”

1 Dr. Öğretim Üyesi Mardin Artuklu Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu/Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü <https://orcid.org/0000-0002-7864-5912>

Kronik Yara Tedavilerinde Kullanılan Larva Terapi (*Lucilia sericata*)

Günümüzde her geçen gün artan kronik yaralar bulunmakta. Özellikle kaza, yatağa bağlı hastalardaki basi yaraları ve kronik hastalıklara bağlı birçok yara yer almaktadır. Bu tür yaraların tedavilerinde kullanılan birçok sentetik ilaç bulunmaktadır. Bu ilaçlardan bazı hastalarda yaralar üzerinde etki gösterirken bazılarında etki göstermeyip bulunduğu uzuvların kesilmesine kadar varmaktadır. Bundan dolayı geleneksel olarak eski tarihten bu yana kullanılan larvalar ve modern tıbbın birlikte kullanılması ile birçok yara tedavi edilip birçok hasta eski sağlığına dönmesi sağlanmaktadır.

Larva terapi özellikle Calliphoridae ait sinek türlerinden *Calliphora vicina*, *Chrysomya rufifacies* (Teich ve Myers 1986), *Lucilia caesar* (Baer (1931), McClellan (1932)), *Lucilia cuprina* (Fine ve Alexander (1934)), *Lucilia illustris* (Leclercq (1990)), *Lucilia Sericata* (Baer (1931)), *Phormia regina* (Baer (1931), Horn ve ark. (1976), Robinson (1933), Reames ve ark. (1988)), *Protophormia terraenovae* (Leclercq (1990)) ile Sarcophagidae Muscidae sinek türlerine ait *Wohlfahrtia nuba* ve *Musca domestica* (Grantham-Hill (1933)) kullanılmaktadır (Yaman & Zerek, 2017). Bu sineklerden özellikle *Lucilia Sericata* yaygın kullanılmaktadır. Bu sineğe ait genel özellikler mavimsi yeşil veya metalik yeşil renğinde olan erişkin *Lucilia Sericata* sinekleri ortalama büyüklükleri 2-15 mm, yumurtaları küçük (birkaç mm) soluk sarımsı beyaz renkte, silindirik oval yapıda ve larvalar başsız ve ayaksız olup 12 segmentten oluşur ve posteriyor stigmalarında peritrem dar ve kapalı formdadır. Sineklerin Teşhislerinde ön uçlarının ince, arka bölgelerini daha geniş çaplı olması, silindirik yapıları ve baş bölgesinde bir çift ağız çengeli veya dudak skleriti bulunmasıyla belirlenir. Olgunları uzunluğu 16 mm'ye kadar bulmaktadır (Şekil 1) (Bolaban, 2009; Kuk, 2022).



Yetişkin Birey



Yumurta



Pupa

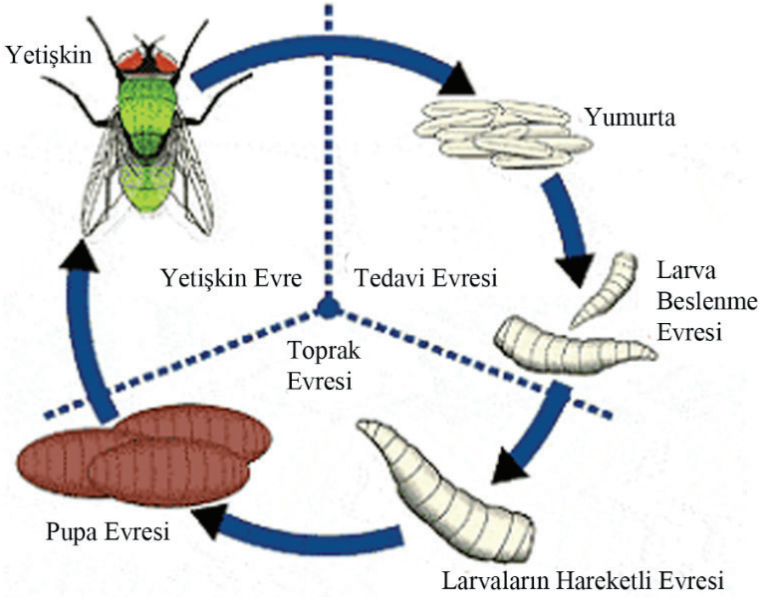


Larva

Şekil 1. *Lucilia sericata* erişkin, Yumurta, Pupa ve Larva Evreleri

Larvaların Yaşam Döngüsü

Otojenöz bir tür olan *L. Secicata* sinekleri dişi bireyleri yumurtalarını oluşturmada önce protein kaynağına ihtiyaç duymaktadırlar. Ortamda protein kaynağının olduğu zamanlarda dişi bireyler üçer gün aralıklarla ortalama 200-250 yumurta bıraktıkları gözlemlenmiştir. Yumurtalar ortalama 8-24 saat sonra larva evresine geçmektedir. Larvalar pupa evresine geçmeden önce birinci evrede 22 saat, 2. evrede 15 saat ve 3. evrede 15 saat olmak üzere 3 evreden geçmektedirler. Larva evresi ortalama olarak 4-7 gün sürebilmektedir. Üçüncü dönem larva evresinden sonra pupa evresi geçmesi yaklaşık 100 saat ve bu evre yaklaşık olarak 192 saat yada 10-20 gün sürmektedir. Özetle, *L. sericata*'nın yaşam döngüsü 25°C'de yaklaşık 16-28 gün olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.)(Bolaban, 2009; Kuk, 2022).



Şekil 2. *Lucilia sericata* yaşam Döğüsü (Bristol, 2022)

Larva Debridman Tedavisi (LDT)

Calliphoridae ailesinin nekrofaj larvaları, en yaygın olarak *Lucilia sericata*, modern tedavilere yanıt veremeyen açık nekrotik yaralarda (Horobin vd., 2003) biyoterapisi yara tedavisinde kullanılan bir debridman aracıdır (Britland vd., 2011). Kurtçuk tedavisi, enfekte ve nekrotik yaraları temizlemek için basit ve son derece başarılı bir yöntemdir (Bexfield vd., 2004; Chambers vd., 2003).

Yaygın ve ekonomik veriler, kronik yaraların yönetiminin sağlık hizmeti sağlayıcılarına önemli miktarda mali kazanç getirdiğini göstermektedir. Tıbbi literatürden gelen ortak fikir birliği, yara debridmanı ile yoğun zaman harcanmasına rağmen yaraların iyileşme oranlarını artırmaktadır (Britland vd., 2011).

Tipik olarak, *Lucilia sericata* larvaları, geleneksel tedavilerin başarısız olduğu kronik yaralara uygulanır. Klinik gözlemler kurtçukların nekrotik dokuyu çıkardığına, dezenfeksiyonu teşvik ettiğine ve granülasyon dokusu oluşumunu hızlandırdığına dair kanıt bulunmaktadır (Horobin vd., 2006).

Larvalar, nekrotik doku dışında canlı dokuya zarar vermeden hızlı ve etkili bir şekilde debride etmektedirler. Özellikle larvalar fotofobik olduklarından dolayı cerrahın neşter ile ulaşamayacağı bölgelere kolaylıkla ulaşmaktadır. LDT'nin, abseler, yanık, kangrenli yaralar, arteriyel ve venöz

ülserler, osteomyelitler ve (Bolaban, 2009) Diyabet kaynaklı kronik ve zor yaralara karşı özellikle etkilidirler (Chambers vd., 2003).

LDT'nin Tarihçesi

Fransız cerrah Ambroise Pare (1510-1590) ilk zamanlar *Lucilia sericata* larvalarının zararlı olduğunu ve hastaların yaralarını enfestasyondan korumaya çalışmıştır. İlerleyen süreçlerde kafatasındaki derin yarası olan bir hastanın larvanın ortaya çıktığını ve yaranın iyileştiğini gördükten sonra yara üzerinde larva gelişimine izin vermiştir. Diğer bir araştırmacı olan Fransız cerrah Baron Dominique-Jean Larrey (1766-1842), Napolyon'un ordusundaki askerlerin tedavisi sırasında, larvaların yara üzerindeki ölü dokuların yok ettiğini ve yeni doku oluşumuna yardımcı olduğunu gözlemiştir. Ayrıca, Amerika'daki iç savaş döneminde cerrahlık yapan John Forney Zacharias (1837-1901), resmi kayıtlara ilk kez larva uyguladığı belgelenmiştir (Bolaban, 2009).

Bilimsel çevrelerde, larvaların kirli oldukları ve yaralarda enfeksiyona sebep oldukları yönünde görüşler yaygın hale gelmiştir. 19. Yüzyılın Robert Koch ve Louis Pasteur, açık yaralarda ve enfeksiyona neden olan herhangi bir materyalin yara üzerine bırakılmasına engel olmaya çalışmışlardır. Bu görüşten dolayı larvaların yara tedavisinde kullanılması gerektiği görüşü çok az sayıda kişi benimsemiştir. Bundan dolayı I. Dünya Savaşı sırasında açık yaralarda mevcut antiseptik maddelerin yetersizliğine bağlı olarak ölüm oranları %70'lere çıkmıştır (Bolaban, 2009).

Amerikada 1920-1930'lardan beri kronik yaralar ve osteomyelit hastalıklarının tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Kuk, 2022). Aynı zamanda 1930 ve 1940'larda yapılan araştırmalarda, Yara üzerinde dolaşan kurtçukların doku büyümesinin teşvik ettiği ve larvaların artık ürünleri olan allantoin, amonyum ve bikarbonat ve ürenin yaranın daha hızlı iyileştiğini iddia etmişlerdir (Horobin vd., 2003).

Larva tedavisi 1930'larda Birinci Dünya Savaşı dönemindeki savaş cerrahı William Baer'in gözlemleri ve bilimsel çalışmalarına yanıt olarak yüksek başarı oranlarıyla rutin olarak kullanılmıştır. 1940'larda antibiyotiklerin ortaya çıkması, cerrahideki ilerlemelerle birleştiğinde larva tedavisinin kullanımının azalması ile sonuçlandı. Ancak, larva tedavisine olan ilginin yenilenmesi, kronik yara enfeksiyonunu kontrol etmek için uygun yöntemlerin aranmasına yanıt olarak, son yıllarda hem hastanelerde hem de daha geniş bir toplumda ortaya çıkmıştır. Yara enfeksiyonu İngiltere Ulusal Sağlık Servisi yıllık tahmini 1 milyar Euro maliyet ile evrensel bir sorun haline gelmiştir. Bu sorun metisiline direciolan *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisin direnci bulunan *Enterococcus* (VRE) gibi 'antibiyotiğe dirençli süper böceklerin' yaygın olarak ortaya çıkmasıyla daha da karmaşık hale getirilmiştir. Larva tedavisinin yaygın ve uzun süre-

li istihdamına rağmen, enfeksiyon kontrolünün arkasındaki mekanizmalar hakkında az şey bilinmektedir (Kerridge vd., 2005).

1990'lara bakterilerin var olan antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiş olmaları nedeniyle, larvaların yara tedavilerinde tekrar kullanılmaya başlanmıştır (Bolaban, 2009). ABD'de 1990'ların başında, Kanada 1995'den itibaren, İngiltere, Avustralya, Almanya, Finlandiya, İsviçre, İsveç, Fransa, Ukrayna, Avusturya, Danimarka, Hollanda, Mısır, Tayland ve İsrail' gibi 20'den fazla ülkede uygulanmaya başlanmıştır. İngiltere'de beş yıllık bir dönem içerisinde toplam 600 merkezde 8000 hastaya MDT uygulanmıştır (Kuk, 2022).

Türkiye'de ise 2002'de Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nde hem Larva Debridman Tedavisini hemde Hiperbarik Oksijen Tedavisi'ni (HBO) birlikte yaralara uygulamışlardır. 2006 yılında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri (Bolaban, 2009) ve 2016 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde larva üretim laboratuvarları kurulmuştur. Günümüzde birçok üniversite bünyesinde Geleneksel Tıp Uygulama birimleri kurulmuş ve kurulmaya devam etmektedir.

Kronik Yaraların Genel Özellikleri

Kronik yara, tedavi edildiği halde geç veya güç iyileşen ya da iyileşmeyen bütün yaralar için kullanılan bir tanımdır. Kronik yaralarda bakteri hücreler tarafından oluşturulan ekstraselüler polimerik yapıda olan ve yara yüzeyini örten biyofilm tabakası olarak adlandırılan ve bu nedenle kronik yaraların yüzeyinde bulunup yaraların iyileşmesine engel olan maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bakteriyel enfeksiyonların %80'inde biyofilm olduğu ve birçok tedaviye karşı direnç gösterdiği belirtilmektedir. Kronik yaralar; Venöz bacak yaraları, Diyabetik ayak yaraları ve Bası yaraları olmak üzere 3 grupta toplanmaktadır (Bolaban, 2009).

Yaraların İyileşme Sürecinde Gelişen Durumlar

Yara, birçok nedene bağlı olarak doku bütünlüğünün bozulmasına denir. Bozulan doku bütünlüğü sonucu bakterilerin ve diğer enfeksiyon etmenleri için uygun ortam oluşmaktadır. Bozulan doku bütünlüğü enfeksiyona neden olabilecek mikroorganizmaları için ılık, nemli ve besleyici bir ortam oluşmasına ve buna bağlı enfeksiyonların gelişmesine yol açmaktadır.

Bir yaranın iyileşmesi için dört süreçten geçmesi gerekir:

1. Hemostazın başladığı enflamatuvar evre ve birçok enflamatuvar kimyasal maddelerin sentezlendiği dönem. Bu dönemde Lökositler yaranın bulunduğu bölgeye yönelip yaranın bakteriyel yükü azaltıldığı dönem,
2. Nekrotik dokunun yabancı maddelerin fagositozunun yoluyla içeri

alan mikroorganizmaların olduğu ve birçok büyüme faktörünün salgılandığı dönem,

3. Doku granülasyonunun ve yeni kapiller halkalar ve damarların oluşumunu içeren ve aynı zamanda fibroplazi ve yeni matriks ve kollajenin sentezini de içeren dönem,

4. Son evre olan olgunlaşma fazında yara yeniden biçimlenir, daralır ve epitelizeasyon oluşur (Bolaban, 2009).

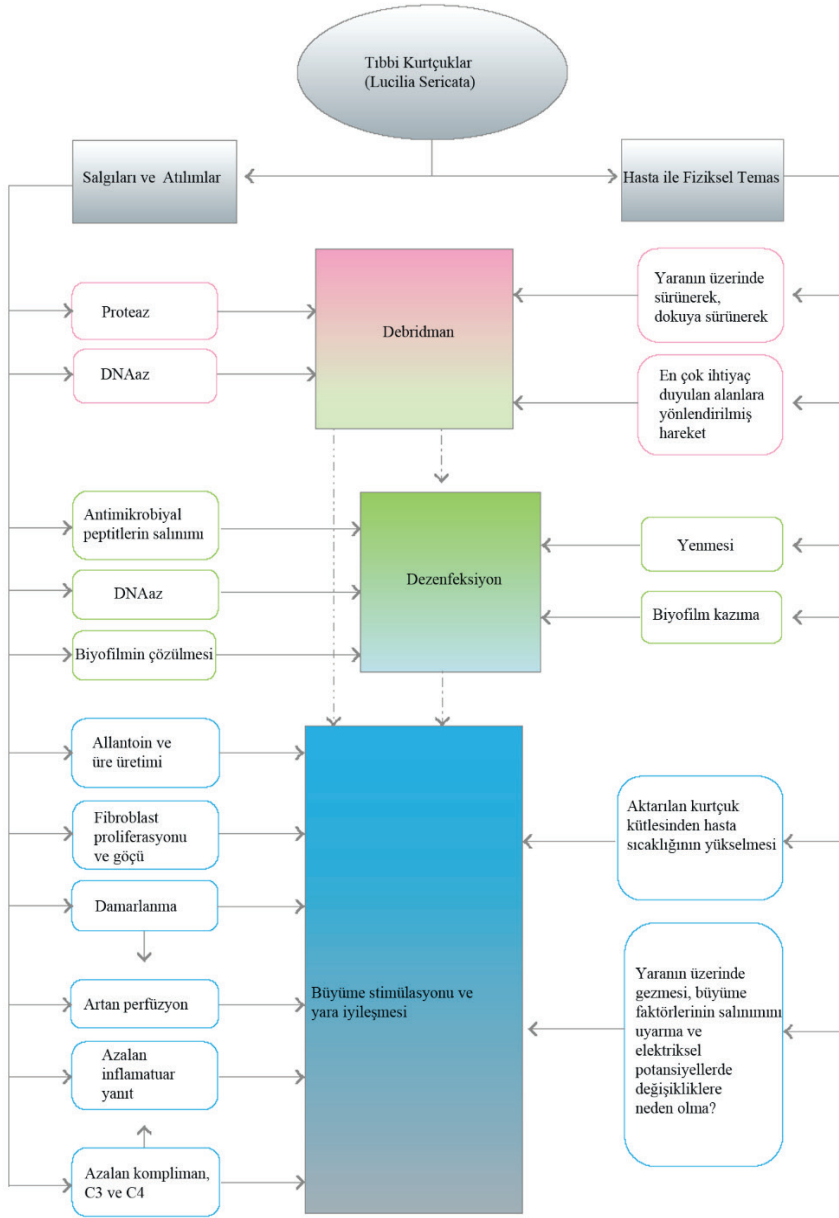
Yaralarda Kullanılan Debridman Yöntemleri

Debridman, sağlıklı dokunun iyileşme potansiyelini artırmak için ölmüş, enfekte veya hasar görmüş dokunun cerrahi, mekanik, kimyasal, otolitik (kendi kendine sindirim) ve kurtçuk tedavisi ile uzaklaştırılmasıdır (Wikipedia, 2022).

Bir mikrobiyal substrat olarak fonksiyonel özelliği olan nekrotik dokunun enfeksiyonun riskinin azaltmak için ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir. Yara iyileşmesi enflamatuvar evrede lökositler ve ekstraselüler matriks (ECM) bileşeni proteazlar yardımı ile azalmaktadır. Yaranın ilk evresinde fibrin ve fibronektinden oluşan matriks ile dolmaktadır. Doku onarımı sürerken zarar görmüş ECM bileşenleri proteazlar tarafından ortadan kaldırılır ve kollajen, elastin ve proteoglikanlar gibi yeni ECM bileşenleri sentezlenmektedir. ECM bileşenlerinin verimsiz şekilde debride edilmesi, kronik yaraların iyileşmemesine neden olmaktadır. Bu nedenle Yaralarda; Cerrahi, Mekanik, Otolitik, Enzimatik ve Biyolojik olmak üzere 5 farklı yöntem ile nekrotik doku yaradan uzaklaştırılmaktadır (Bolaban, 2009).

Biyolojik (Larval) Debridman

Tıbbi kurtçukların yaralarda kimyasal ve fiziksel olarak nekrotik dokuların uzaklaştırılmasında debridman, nekrotik dokuda bulunan mikroorganizmaların dezenfeksiyonu, ve dokulardaki büyüme faktörlerini uyararak granülasyon olmak üzerinde üç ana etki mekanizması olduğuna inanılmaktadır (Şekil 3) (Sherman, 2014).

Şekil 3. *Lucilia Sericata* Mekanizması

Nekrotik Dokunun Debridmanı:

Lucilia sericata larvaları ağız yapılarında kanca yapısında bulunan yapılar aracılığı ile yara üzerinde gezmektedirler. Larvalar kanca yapısında olan bu ağız yapısı ile dokuları parçalamaz sadece ileriye doğru hareket

etmesinde yardımcı olmaktadır. Larvanın salgıladığı proteolitik sindirim enzimleri nekrotik dokunun sıvılaşmasına neden olarak nekrotik dokunun ortadan kaldırılmasına ve yara yüzeyinde seröz eksüdatın bakterinin üstünü kaplaması sağlayarak mekaniksel olarak bakterinin yok etmesi işlemlerini içermektedir. Her kurtçuk 24 saat içinde yara'dan nekrotik dokuyu 25 mg uzaklaştırma yeteneğine sahiptir (Bolaban, 2009; Sherman, 2014). Larvalar özellikle vasküler hastalık, kronik enfeksiyon, baskı yaraları ve diyabet komplikasyonlarının neden olduğu ülserler yaygın bir şekilde uygulanmaktadır (Horobin vd., 2003).

Dezenfeksiyon:

Larvaların kullanımı, özellikle iyileşmeyen yaraların tedavisinde, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ile enfekte olan yaralarda ve birçok ilaca karşı dirençli patojenlerde giderek daha önemli bir hale gelmiştir. MRSA enfeksiyonlarının tedavisi ve MRSA'nın vankomisin dirençli suşlarının son bulgusu ile ilgili artan zorluk, yeni antibakteriyel bileşiklerin aranmasına ve özellikle larva tedavisinde güçlü antibakteriyel mekanizmalar araştırılmaktadır (Bexfield vd., 2004).

Steril olmayan *L. sericata* antibakteriyel madde olan nonlytic, 1935 yılında Simmons tarafından tanımlanmıştır ve bu madde aktivitesini organik dezenfektanlarla karşılaştırmıştır. Daha sonra, Pavillard ve Wright bakteriyel kaplama tekniği kullanarak steril olmayan *Phormia terranova* larvalarının salgılarından bir antibakteriyel madde tespit etmişlerdir. Thomas ve ark. MRSA'da dahil olmak üzere bir dizi bakteriye karşı, *L. sericata* salgılarının antibakteriyel aktivitesini olduğunu göstermişlerdir (Bexfield vd., 2004).

Lucilia sericata larvalarından aseptik olarak toplanan salgıların antibakteriyel özellikleri incelenmiş ve larva salgısı içinde bir dizi bakteriye karşı aktif olan küçük (<1 kDa) antibakteriyel faktörün varlığını ortaya koymuştur. Bu madde; Gram-pozitif *Staphylococcus aureus*, hem metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) hemde metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Streptococcus pyogenes* ve daha az ölçüde Gram-negatif *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Larvada elde edilen salgı göz önüne alındığında klinik enfeksiyonla ilişkili organizmalara karşı aktivitesi göz önüne alındığında, bu bileşikler enfeksiyon kontrolü ve MRSA ile mücadelede yeni bir antibiyotik kaynağı olabileceği belirtilmiştir (Kerridge vd., 2005).

Larva salgısı içinde serin proteinaz, metaloproteinaz ve aspartil proteinaz aktivitelerinin tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak, larvanın sekresyonlar/salgılar içinde bulunan serin proteinaz aktivitesinin, çeşitli hücre dışı matris bileşenlerini bozduğu gösterilmiştir (Horobin vd., 2006). Ayrıca, larvanın salgı içeriği göz önüne alındığında içerisindeki antibakteriyel

madde ile bakteri yıkımı, idrarlarındaki amonyak ve kalsiyum karbonat sayesinde asidik ortamdan alkali ortama dönüşmesi, allantoin ve üreaz gibi maddelerde dezenfeksiyonda rol aldığı belirlenmiştir.

Granülasyon Dokusunun Uyarılması:

Larvaların sindirim enzimi aktivitesi ile nekrotik doku uzaklaşmakta, Mikropları yemesi ve antimikrobiyal ürünlerin üretilmesi yoluyla dezenfekte etmede, ürettiği salgılar ile de yara iyileşmeyi uyarmaktadırlar. Granülasyon dokusunun sağlıklı olması, kronik yaralar üzerindeki artık ürün yada salgıların bir rolü olduğu düşünülmektedir (Bexfield vd., 2010).

Kronik yaraların en büyük sorunlarından biri de vasküler yetmezliktir. Bundan dolayı dokuda yenilenme ve uzun süre yetersiz oluşu bu tür yaraların iyileşme sürecinde ilerleme olmamasıdır. Larvanın artık ürünleri yada salgıları fibroblastlar üzerinde mitojenik etkisi olduğu tartışılrsa da, Larvanın artık ürünleri yada salgıları fibroblastlar ve keratinositler üzerinde mitojenik aktivitesi olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak allantoin ve amonyak yaraların daha hızlı iyileştirme özelliğinin olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, proteoliz aynı zamanda doku onarımı, hemostaz, tromboz, inflammatuar hücre aktivasyonu ve doku rekonstrüksiyonunun etkili yara iyileşmesinin anahtarıdır. Akut yara iyileşmesinde, proteinazların yeniden şekillenmeyi ve keratinosit göçünü kolaylaştırmak için kollajenin yapısına katıldığı düşünülmektedir. Bu enzimlerin kronik yaralardaki rolü, tartışmasız olarak yara kronikliğine katkıda bulunabileceği göstermektedir (Chambers vd., 2003). Bunlara ek olarak larvaların yara üzerinde hareket etmeleri nedeniyle fiziksel ve elektriksel uyarıcı olmaları, granülasyon dokusunun oluşmasını hızlandırmaları ve son olarak da büyüme faktörler uyarılarını içermektedir.

Fibrin Oluşumu

Fibrin birikimi, muhtemelen iyileşmeye engel teşkil eden bir dizi kronik yara etiolojisinde rol oynar. Örneğin, iyileşmeyen kronik bacak ülserlerinin bir özelliği, dermal fibrin manşetleri'nin varlığıdır. Bunlar, venöz hipertansiyon sırasında oluşabilen ve hassas damarların daha yüksek kan basıncına dayanmasını sağlayan fibrin, laminin, fibronektin, tenascin, kollajen ve sıkışmış lökositlerden oluşan oldukça organize yapılardır. Bununla birlikte, bu yapılar plazma ve dermis arasında gazların, büyüme faktörlerinin ve besin maddelerinin değişimini önleyerek doku anoksisi, ülserasyon ve anjiyogenez ve neovaskülarizasyonun inhibisyonuna yol açar. 'Fibrin manşetlerinin' proteolitik lizisi anjiyogenezi, lökosit istilasını, fibroblast göçünü ve yeniden epitelizeasyonunu ve sonuçta iyileşmeyi uyarabilir. Gerçekten, fibronektinin proteolizi, hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu indüklediği gösterilen fragmentleri serbest bırakır (Chambers vd., 2003). Bunlara ek olarak, insan endotel hücreleri, fibroblastlar, keratinositler ve

trombositler, serin proteinaz trombin ve tripsin tarafından aktive edilen proteinazla aktive edilmiş reseptörleri eksprese eder. Proteinazla aktive edilen reseptörler agonistleri, plazma proteinlerinin ve lökositlerin ekstrasvazasyonuna, hücre mitogenezine ve iltihaplı ve hasarlı dokunun iyileşmesine yol açan endotel bağımlı vazodilatasyonu teşvik eder. Proteinlerin bu nedenle yara iyileşme olaylarında merkezi bir rol oynama potansiyeli vardır. Bu nedenle, kronik yaraları tedavi etmek için kullanılan kurtçuklar tarafından salgılanan proteolitik enzimlerin iyileşmeyi başlatmak ve iyileşme sürecinin kritik aşamalarında bunu sürdürmek için yeterli proteolitik aktivite sağlayabileceği düşünülmektedir (Chambers vd., 2003).

Bununla birlikte, fibroblast proliferasyonu granülasyon doku oluşumunun sadece bir yönüdür. Granülasyon dokusunun önemli bir hücresel bileşeni olan fibroblastlar iyileşmede birçok rol oynar. Yaralanmaya yanıt olarak, fibroblastlar fibroplaziyi düzenler ve çeşitli fibroblast türevleri sitokinlerin ekspresyonunu düzenler. Ayrıca yaradaki boşluğa hareket ederek, fibrin pıhtısını istila ederler ve yeni dokunun önemli bir hücresel bileşenini oluşturmak için çoğalırlar. Fibroblastlar doku yeniden şekillenmesine katkıda bulunur, bazıları myofibroblastlara dönüşür, bu da yara kenarlarının birbirine büzülmesine yardımcı olur. Ayrıca, Yarada bulunan hücre dışı matrisin bileşimi, yara iyileşmesinde, onu üreten fibroblastlarla karmaşık ve dinamik bir feedback döngüsünde yer alan diğer önemli bir faktördür. Fibroblastlar, bulunan hücre dışı matrisin ekspresyonunu kontrol eder. Buna karşılık, yerleştirilen hücre dışı matris sadece büyüyen doku için fiziksel bir destek sağlamakla kalmaz, aynı zamanda sitokinler için bir rezervuar olarak görev görüp, hücre dışı matris yerleştirilmiş üretim de dahil olmak üzere fibroblast proliferasyonunu ve fonksiyonunu kontrol eder. Yara içinde bulunan birçok kaynaktan türetilen proteinler, fibroblast migrasyonu, proliferasyonu, anjiyogenez, yeniden epitelizasyon ve doku yeniden modellenmesi ile ilişkilidir. *L. sericata* larva sekresyonları proteinaz aktivitesi bakımından zengindir. Bu nedenle *L. sericata* salgılarında fibroblastlar ve hücre dışı matris arasındaki etkileşimleri değiştirerek yara iyileşmesinin teşvik edilmesine neden olduğu varsayılmıştır (Horobin vd., 2003).

LDT'nin Etki Mekanizmaları

Cerrahi, otolitik, hidrodinamik, biyoterapi ve enzimatik yöntemler mevcut debridman yöntemleridir. Biyoterapide; larva debridmanı tedavisi ile eksojen enzimatik debridman ürünleri ile gerçekleşmektedir. *Lucilia sericata* larvaları, bazıları insan analogları da dahil olmak üzere yaygın bir enzim spektrumu içeren sindirim sistemi salgılarını kullanarak devitalize olmuş dokuyu bozar. Enteresan bir şekilde, bu enzimlerden bazıları ideal alkalın pH'a sahipken, tescilli debridman ürünlerindeki kollajenaz ve streptokinaz, fizyolojik pH'a daha yakın en yüksek aktiviteye sahiptirler.

Diğer bir debridman maddesi olarak kabul edilen Papain, daha geniş bir pH aralığında aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Alkalinitenin, aşırı iltihap gösteren yara özelliği göz önüne alındığında, larva tedavisinin optimum alkalın enzimi etkinliği için bir açıklama olabilmektedir (Britland vd., 2011).

Lucilia sericata larvalarının salgılarında yer alan, allantoin, sistein, sülfidril radikalleri, glutation, amonyak, kalsiyum karbonat ve hücre büyüme faktör içermektedir. Ayrıca, yara üzerinden beslenirlerken de karboksipeptidaz A ve B, lökin aminopeptidaz, kollajenaz ve serin proteazlar olmak üzere birçok sindirici enzim salgırlar (Bolaban, 2009).

Elde edilen bütün veriler değerlendirildiği zaman Larva debridman tedavisinde kullanılan kurtçukların kronik yaralarda bir mikro cerrah gibi hareket ettikleri ve larvanın ilk evresinde fotofobik oluşları özellikle bir cerrahın ulaşamayacağı bölgelerdeki nekrotik dokuların uzaklaştırılmasında fonksiyonel görev aldıkları belirlenmiştir. Ayrıca yara iyileşme için gerekli olan debridman, dezenfeksiyon ve granalasyon aşamalarında fonksiyonel özellikleri olduğu belirlenmiştir. Buda özellikler kronik yaralarda bu larvaların kullanılmasının ne kadar etkili olduğu ve yara tedavilerinde modern tıp ile birlikte kullanılması gerektiği görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Bexfield, A., Bond, A. E., Morgan, C., Wagstaff, J., Newton, R. P., Ratcliffe, N. A., Dudley, E., & Nigam, Y. (2010). Amino acid derivatives from *Lucilia sericata* excretions/secretions may contribute to the beneficial effects of maggot therapy via increased angiogenesis. *British Journal of Dermatology*, 162(3), 554-562. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09530.x>
- Bexfield, A., Nigam, Y., Thomas, S., & Ratcliffe, N. A. (2004). Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbes and Infection*, 6(14), 1297-1304. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.08.011>
- Bolaban, D. (2009). *Lucilia Sericata Larvaları ve Salgılarının Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus (Mrsa) ve Metisiline Duyarlı Staphylococcus Aureus (Mssa) Üzerine Antibakteriyel Etkilerinin İn-Vivo ve İn-Vitro Koşullarda Araştırılması*. [Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul Üniversitesi.
- Bristol, U. of. (2022). *Blowfly Strike*. Strikewise, School of Biological Sciences, University of Bristol, Woodland Road, Bristol, BS8 1UG. <https://www.strikewise.com/blowfly.html>
- Britland, S., Smith, A., Finter, W., Eagland, D., Vowden, K., Vowden, P., Telford, G., Brown, A., & Pritchard, D. (2011). Recombinant *Lucilia Sericata* chymotrypsin in a topical hydrogel formulation degrades human wound eschar ex vivo. *Biotechnology Progress*, 27(3), 870-874. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/btpr.587>
- Chambers, L., Woodrow, S., Brown, A. P., Harris, P. D., Phillips, D., Hall, M., Church, J. C. T., & Pritchard, D. I. (2003). Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva *Lucilia sericata* used for the clinical debridement of non-healing wounds. *The British Journal of Dermatology*, 148(1), 14-23. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.04935.x>
- Horobin, A. J., Shakesheff, K. M., & Pritchard, D. I. (2006). Promotion of human dermal fibroblast migration, matrix remodelling and modification of fibroblast morphology within a novel 3D model by *Lucilia sericata* larval secretions. *The Journal of Investigative Dermatology*, 126(6), 1410-1418. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700256>
- Horobin, A. J., Shakesheff, K. M., Woodrow, S., Robinson, C., & Pritchard, D. I. (2003). Maggots and wound healing: an investigation of the effects of secretions from *Lucilia sericata* larvae upon interactions between human dermal fibroblasts and extracellular matrix components. *British Journal of Dermatology*, 148(5), 923-933. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.05314.x>
- Kerridge, A., Lappin-Scott, H., & Stevens, J. R. (2005). Antibacterial properties

of larval secretions of the blowfly, *Lucilia sericata*. *Medical and Veterinary Entomology*, 19(3), 333-337. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2005.00577.x>

Kuk, S. (2022). *Miyaz ve Uyuz*. <https://docplayer.biz.tr/25088057-Miyaz-ve-uyuz-prof-dr-salih-kuk.html>

Sherman, R. A. (2014). Mechanisms of Maggot-Induced Wound Healing: What Do We Know, and Where Do We Go from Here? *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 592419. <https://doi.org/10.1155/2014/592419>

Wikipedia. (2022). *Debridement*. <https://en.wikipedia.org/wiki/Debridement>

Yaman, M., & Zerek, A. (2017). Miyaz Sinekleri Larvalarının Yara Tedavisinde Kullanılması. *Journal*, 8(32), 20-28.

“

Bölüm 4

BRAKİTERAPİ UYGULAMALARINDA GÜNCEL GELİŞMELER

*Hatice ERDEM¹,
İlyas KÜÇÜK²,
Abdullah DADAK³*

”

1 Öğr. Gör., Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ORCID ID: 0000-0003-4409-7505

2 Öğr. Gör., Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ORCID ID: 0000-0002-9768-3770

3 Öğr. Gör., Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ORCID ID: 0000-0002-6490-9235

1. Giriş

Dünya Sağlık Örgütü, kanseri; vücudun doku ve/veya organlarında anormal hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması olarak tanımlamıştır. (1). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından, 2020’de yayımlanan Küresel Kanser Gözlem Verisi’nde (GLOBOCAN); Dünya’da yaklaşık 19,3 milyon yeni kanser vakası ve 10,0 milyon kanser ölümünün meydana geldiğini bildirmiştir. 2018’de bildirilen veriler (~18,1 milyon vaka ve 9,6 milyon ölüm), 2020 yılında yayımlanan vaka ve ölüm oranlarıyla kıyaslandığında Dünya’daki kanser vakalarının arttığı tahmin edilmektedir (2).

Tüm kanser vakalarının yaklaşık %50’si tedavi süreçlerinin bir parçası olarak sadece radyoterapi veya cerrahi, kemoterapi ve immünoterapi gibi kombine tedavi modaliteleriyle birlikte radyasyon dozu almaktadır (3).

Radyoterapi, Radyasyon Onkolojisinin aktif olarak kullandığı tedavi modalitesidir. Teknikler external (dış) ve internal (iç) olmak üzere kanserli yapıların tedavisinde uygulanmaktadır. Radyoterapinin temel amacı, tümör hacmi ve eklerine mümkün olan en yüksek dozu verirken, normal doku ve organların en üst düzeyde korunmasıdır (4,21).

2. Brakiterapi

Brakiterapi, tümör dokusunun kapsüllenmiş küçük radyonüklid kaynaklardan yayımlanan radyasyonla, kısa mesafeli tedavisini tanımlamak için kullanılan terimdir (7).

Brakiterapi tedavilerinde kullanılan radyonüklidler, tümörlü doku veya organın direk içine ya da bu yapıların çok yakınındaki bir bölgeye uygulanabilmektedir. Hedef doku bir tümör veya postoperatif bir tümör yatağı olabilir. Brakiterapinin dozimetrik faydası, normal doku tolerans limitleri içinde tutulurken tümöre yüksek dozda radyasyon verilebilmesidir (ters kare kanunu). Ters kare kanunu kapsamında, kaynağa temas halinde olan veya yakınına yerleşik olan tümör dokusu maksimum doz alırken, tümör çevresindeki normal doku ve organların dozu çok düşük olmaktadır. Brakiterapi tedavi yöntemi, çeşitli malign (kötü huylu) veya benign (iyi huylu) tümörlerin tedavisinde tek başına ya da eksternal radyoterapi tekniğiyle birlikte etkin olarak kullanılmaktadır (6,14).

Teknolojik gelişmeler sonucunda modern 3D (üç boyutlu) görüntüleme teknikleri tedavi planlama sistemlerine (TPS) entegre edilmiştir. 3D doz dağılımlarının bu planlama sistemiyle gerçekleştirilebilir olması brakiterapi uygulamalarının gelişmesine ve tercih edilebilir bir yöntem olmasına önemli katkılar sağlamıştır (5).

2.1. Brekiterapinin Sınıflandırılması

Brakiterapi tedavi tekniği; kaynak yerleşimine, kaynak yüklemesine,

tedavi süresine ve doz hızına bağlı olduğundan dolayı, bu faktörlerin her biri için ayrı ayrı sınıflandırılabilir (7).

2.1.1. Kaynak Yerleşimine Göre Brakiterapi Tedavilerinin Sınıflandırılması

Yüzey kalıpları: Yüzeyde bulunan tümörlü dokunun üzerine, radyoaktif kaynağın kalıp, plak veya özel yüzeysel aplikatörler yardımıyla uygulandığı tedavidir. Deri veya mukozal yüzeye (gözde intraoküler melanom) tekdüze doz dağılımı sağlamak amacıyla tasarlanmış, radyoaktif kaynakları içeren özel aplikatörler, kişiye özel kalıp ve plaklar kullanılmaktadır (7).

İnterstisyel (doku içi) brakiterapi: Radyoaktif kaynakların, tedavi amacıyla doğrudan hedef dokuya yerleştirilmesi ile uygulanan tedavidir. Anatomisi ve kanser çeşitliliği standart intrakaviter uygulamaya izin vermeyen hastalar için en uygun tekniktir. İnvaziv girişim gerektirmektedir (7,11).

Intrakaviter brakiterapi: Radyoaktif kaynakların, özel aplikatörler yardımıyla hedef dokuya yakın olacak şekilde, vücut içi boşluklara yerleştirilmesidir. Jinekolojik tümörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (7).

İntralüminal (Transluminal) brakiterapi: Özofagus, bronş, safra kesesi gibi lümeni ve kanalı olan organların tedavisinde, özel aplikatörlerin yardımıyla bu yüzeylere implantların yerleştirilmesi ile gerçekleştirilir (7).

İntraoperatif: Ameliyat sırasında rezeksiyon sınırlarına veya hedef dokuya implantların yerleştirilmesidir. Meme ve pankreas kanserlerinde uygulanmaktadır (7,11).

İntravasküler brakiterapi: Etkilenen koroner arter damar duvarına doz iletmek için kateter tabanlı radyasyon kaynakları veya radyoaktif stentler kullanılmaktadır. İntravasküler brakiterapide γ ya da β yayan tek kaynak arterlere yerleştirilir (7,11).

2.1.2. Tedavi Süresine Göre Brakiterapi Tedavilerinin Sınıflandırılması.

Temporary (Geçici) İmplant: Kaynakların hastaya önceden belirlenmiş bir süre boyunca implante edildiği ve daha sonra çıkarıldığı implantlardır. Doz kısa periyotlarla verilir. After loading tekniklerde yüksek doz hızlı implantlar birkaç dakikalık süreler ile kullanılırken, yaygın olarak kullanılan düşük doz hızlı implantların birkaç günlük tedavi süreleri vardır. Planlanan doz elde edilince kaynak dokudan çıkartılır. Hastaların tedavi süresi boyunca hastaneye yatırımları gerekebilir. Bu süre boyunca hastane çalışanlarının radyasyondan korunma prosedürlerini yerine getirmesi gerekmektedir (11).

Permanent (Kalıcı) İmplant: Kaynağın (Radyonüklid) tamamen bo-

zununcaya kadar hastada kaldığı implantlardır. Kalıcı implantlar için kullanılan kaynakların düşük enerjiye, kısa yarı ömürlere veya her ikisinin bir kombinasyonuna sahip olması gerekmektedir. Hastayla sık veya yakın teması olan kişilerin radyasyon maruziyeti sınırlandırılır. Permanent implantlar, prostat, akciğer, baş ve boyun kanserleri ve sarkomların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (7,11).

2.1.3. Kaynak Yüklemesine Göre Brakiterapi Tedavilerinin Sınıflandırılması.

Cerrahi prosedürlere uygun olarak aplikatör ve/veya iğnelerin yerleştirilmesinin ardından, kaynak yükleme zamanlamasına göre brakiterapi tedavileri sınıflandırılır.

Sıcak yükleme (hot loading): Radyoaktif madde içeren kaynaklar aplikatöre/kataterle önceden yüklenir. Hedef dokuya aplikatörde kaynaklar yüklü iken uygulama yapılmaktadır (11).

Art Yükleme (Afterloading): Aplikatörler ameliyathanede hedef konuma önceden yerleştirilir. Genel olarak, radyasyon kaynakları, hedef hacme yerleştirilmiş olan aplikatörlere veya kateterlere manuel olarak sonradan yüklenmektedir. Tedavinin sonunda kaynaklar yine manuel olarak uzaklaştırılmaktadır. Bu prosedürler, sağlık ve destek personelinin bir miktar radyasyona maruz kalmasına neden olmaktadır. Bu radyasyon maruziyetini en aza indirmek için bilgisayar kontrollü cihaz (kumanda) sonradan yükleme sistemi geliştirilmiştir. Otomatik sonradan yükleme cihazlarının kullanımı, manuel prosedürlere göre çeşitli pratik avantajlar sunmaktadır:

- Artan hasta tedavi kapasitesi,
- Tutarlı ve tekrarlanabilir tedavi uygulaması,
- Personelin daha az radyasyona maruz kalması. (5,7,11).

Afterloading yükleme sistemlerinin temel bileşenleri ise:

- Radyoaktif kaynağı muhafaza edecek bir kasa,
- Radyoaktif kaynaklar, tekli veya çoklu,
- Yerel veya uzak işletim konsolu,
- Bir kaynak kontrol ve sürüş mekanizması;
- Kaynak aktarım kılavuz tüpleri ve tedavi aplikatörleri;
- Bir tedavi planlama bilgisayarı (7).

Manuel veya uzaktan art yükleme tekniklerinin kullanılması, hasta- ne personelinin radyasyona maruz kalmasını en aza indirmektedir. Tedavi planlayıcısına, hedef dokuya göre aplikatörün konumunun geriye dönük

incelemesine olanak sağlarken, kaynak gücünü ve yükleme dağılımını optimize etme fırsatı sağlamaktadır (11).

2.1.4. Doz Hızına Göre Brakiterapi Tedavilerinin Sınıflandırılması.

Doz hızı, hastaların radyasyona maruz kalma hızının ölçüsü olarak karşımıza çıkmaktadır. Brakiterapi tedavisinin biyolojik etkinliği, tedavinin verildiği doz hızına önemli ölçüde bağlıdır.

ICRU-38 protokolü, brakiterapi uygulamalarını doz hızına göre 3 kategoriye ayırmıştır:

1. Düşük Doz Hızı (Low Dose Rate: LDR): 0.4–2 Gy/saat. Klinik brakiterapi uygulamalarında genellikle 0.4–1 Gy/saat doz hızları kullanılmaktadır. Art yükleme (manuel ya da otomatik afterloading) sistemleriyle uyumludur. Teknolojik gelişmelerle, manuel kaynak yüklemesi yerini, otomatik “afterloading” sistemlere bırakmıştır. Klinik uygulamalar kesintisiz olarak (birkaç gün/saat) devam etmektedir. Kaynakların hedef dokuya yüklenmesinin ardından, hastanın, zırhlı bir odada izolasyonu gerekmektedir. Tedavi süresi bittiğinde, radyasyon kaynağı ve aplikatörü çıkartılarak hasta taburcu edilmektedir (5,7,8,9,11).

2.Orta Doz Hızı (Medium Dose Rate: MDR): 2–12 Gy/saat. Art yükleme (manuel ya da otomatik afterloading) sistemleriyle uyumludur. Klinik uygulamalarda kullanımı sınırlıdır (9).

3.Yüksek Doz Hızı (High Dose Rate: HDR): ≥ 12 Gy/ saat. Kaynak aktivitesi çok yüksek olduğundan dolayı, yalnızca otomatik afterloading sistemleri ile kaynak yüklemesi yapılmaktadır. HDR brakiterapi geliştirilirken, LDR’den elde edilen klinik deneyim ve radyobiyolojik ilerlemelerden faydalanılmıştır. HDR brakiterapide tedavi süreci her yönü ile fraksiyone eksternal radyoterapideki gibidir. Doz hızının yüksek olmasından dolayı, tedavi süresi her bir fraksiyon için LDR brakiterapiden kısadır. Tedavi süresinin kısalığı, aplikatör pozisyonundaki değişim riskini azaltmaktadır (5,7,8,9).

Puls Doz Hızı (Pulsed dose rate-PDR) 1-3 Gy/saat: Düşük doz hızlı brakiterapinin teorik avantajı göz önüne alınarak biyolojik etkilerini taklit etmek için geliştirilmiştir. PDR cihazlarında, 1 Ci (37 GBq) Ir-192 kaynağı kullanır. LDR tedavilerini simüle etmek için genellikle saatlik aralıklarla kısa süreli HDR tedavileri sağlamak üzere programlanmıştır. Hem HDR hem de PDR tedavilerindeki doz dağılımları, kaynağın hedef konumları ile bekleme süreleri arasındaki mesafeyi değiştirerek, klinik hedeflere ulaşmak için optimize edilmiştir. Hem LDR hem de HDR sistemleri klinik uygulamalarda intrakaviter, interstisyel ve intralüminal olarak tedaviler için kullanılmaktadır (7).

HDR sistemlerini kullanmanın, LDR sistemlerine göre avantajları ise; doz dağılımının optimizasyonu, ayakta tedaviler ve personelin radyasyon maruziyetinin ortadan kaldırılması olarak açıklanabilir (7).

Bununla birlikte, HDR sistemlerinin kullanımında bazı dezavantajlar vardır. Biyolojik etkideki belirsizlik, yüksek radyasyon maruziyeti ve potansiyel personel hataları (7).

Çok küçük doz hızlı (Very low dose rate: VLDR): Kalıcı seedlerin kullanılmasıyla uygulanan brakiterapi tekniğidir. Yüksek bir toplam doz, <0.4 Gy/saat gibi çok düşük bir doz hızı ile verilmektedir. Klinik deneyimler başlangıçta manuel uygulama ve çıkarma gerektiren düşük doz oranlı (LDR) geçici implantları içermektedir. Prosedürler, hastanın korumalı bir odada uzun süre izole olmasını gerektiriyordu. Ayrıca hasta ve personelin önemli derecede radyasyona maruz kalma riski mevcuttur. Bu nedenle, doğrudan tümöre yerleştirilebilen ancak çıkarılmasını gerektirmeyen kaynaklar kullanmaya başlanmıştır (12).

2.1.5. Brakiterapide Kullanılan Kaynaklar

Brakiterapide kullanılan foton kaynakları çeşitli formlarda (iğneler, tüpler, tohumlar, teller, plaklar) bulunmaktadır. Genellikle kapalı kaynaklar olarak kullanılırlar. Brakiterapi kaynakları hem kontaminasyon ve sızıntıyı önlemek, hem de toz/mikropellet formundaki radyoaktif materyali bir kayba uğramadan (kalıcı olmayan uygulamalarda defalarca) kullanılacak şekilde bir arada tutmak için, radyoaktif olmayan platin, titanyum veya çelik gibi ince bir metal tabaka ile kaplıdır. Kaynaktan yayılan α ve β radyasyonuna karşı yeterli koruma sağlamak ve radyoaktif materyalin sızmasını önlemek için genellikle iki kat kapsüllenirler. Spesifik bir brakiterapi tedavisi için, uygun foton yayan radyonüklidin seçiminde fiziksel ve dozimetrik özelliklerine göre tercih yapılmaktadır (7).

- Foton enerjileri ve dokuya nüfuz etme/penetrasyon kabiliyeti,
- Yarı ömür ($T_{1/2}$),
- Kurşun gibi koruyucu malzemelerde yarı tabaka kalınlığı / half value layer (HVL),
- Spesifik aktivite,
- Kaynak gücü,
- Doz kaynaktan uzaklaştıkça, mesafenin karesiyle ters orantılı olarak azalması fiziksel ve dozimetrik özellikleri arasında sayılmaktadır (7).

Brakiterapi tedavilerinde kullanılan radyoaktif izotopların karakteristik özellikleri Tablo 1. verilmiştir.

- Sezyum-137:

- Cs-137'in yarı ömrü 30 yıldır.
- 0,662 MeV enerjili gama yayınlar.
- Yüksek foton enerjisi ve uzun yarı ömrü nedeniyle intrakaviter ve interstisyel brakiterapide LDR'de kullanılmaktadır.
- İğne, tüp ve seed formunda olabilir.
- Kaynak paslanmaz çelik ile kapsüllenmiştir.

- İridyum-192:
 - Ir-192'un yarı ömrü 73,8 gündür.
 - 0,397 MeV enerjili gama yayınlamaktadır.
 - İğne ve seed formu mevcuttur.
 - Yüksek doz hızlı uzaktan ve sonradan yüklemeli brakiterapide en yaygın kullanılan kaynaktır. Çünkü HDR tekniğinde yüksek spesifik aktiviteli kaynaklar gereklidir. HDR otomatik afterloading tedavilerinde, etkinlikleri 370 GBq (10 Ci) olan özel olarak tasarlanmış Ir-192 kaynakları kullanılır.

- İyot-125
 - I-125'in yarı ömrü yaklaşık 59,6 gündür.
 - 0,028 MeV enerjili gama ışını yayınlar.
 - Seed formunda kapsüllenmiştir.
 - İnterstisyel ve yüzey plak brakiterapi için kullanılır.
 - Radyasyon güvenliği riski azdır.

- Pd-103
 - Yarı ömrü 8,06 gündür.
 - 0,020 MeV enerjili gama yayınlarlar.
 - Pd-103 kalıcı implantlarda biyolojik bir avantaj sağlayabilir. Çünkü doz daha hızlı oranda iletilebilir.
 - Kapsüllenmiş seed formunda bulunur.
 - Daha çok İnterstisyel brakiterapide kullanılır.
 - Kısa yarı ömürleri nedeniyle kalıcı prostat implantlarında kaynak olarak kullanılabilir.

- Au-198:
 - Au-198'in yarı ömrü 2,7 gündür.
 - Beta bozunumu yapar ($E\beta=312.5$ keV) ve sonrasında x-ışını (70 keV) ve gama (411,8 keV) yayınlar.
 - Seed formunda bulunur.
 - Kısa yarı ömürlü olduğundan interstisyel brakiterapide kalıcı im-pilant olarak kullanılır
- Kobalt-60

Seed başına 18,5 GBq (0,5 Ci) aktiviteye sahip şekilde bulunmaktadır.

 - Yarı ömrü 5,26 yıldır.
 - İntrakaviter brakiterapide kullanılmaktadır (7).

Tablo 1. Brakiterapide Kullanılan Kaynakların Özellikleri Ve Klinik Uygulamaları

Element	İzotop	Enerji (MeV)	Yarı ömür	Kaynak Formu	Klinik Uygulama
Radyum	²²⁶ Ra	0,83 (γ)	1,626 yıl	Tüp-iğne	LDR intrakaviter, interstisyel
Sezyum	¹³⁷ Cs	0,662 (γ)	30 yıl	Tüp-iğne	LDR intrakaviter, interstisyel
Sezyum	¹³¹ Cs	0,030 (γ)	9,69 gün	Seed	VLDR kalıcı interstisyel
İridyum	¹⁹² Ir	0,397 (γ)	73,8 gün	Seed-iğne	LDR interstisyel, HDR intrakaviter, interstisyel
Kobalt	⁶⁰ Co	1,25 (γ)	5,26 yıl	Seed-tel	HDR intrakaviter
İyot	¹²⁵ I	0,028 (γ)	59,6 gün	Seed	VLDR kalıcı interstisyel
İyot	¹³¹ I	0,61 (β) 0,364 (γ)	8,06 gün	Oral kapsül veya solüsyon	LDR (tiroid Ca sistemik tedavi)
Altın	¹⁹⁸ Au	0,412 (γ)	2,7 gün	Seed	LDR kalıcı interstisyel
Stronsiyum	⁹⁰ Sr	2,24 (β)	28,9 yıl	Plak	HDR kontak tedavi/ konjonktiva

Stronsiyum	⁸⁹ Sr	1,4 (β)	51 gün	IV solüsyon	LDR sistemik tedavi/ kemik met
Paladyum	¹⁰³ Pd	0,020 (γ)	8,06 gün	Seed	VLDR kalıcı interstisyel
Fosfor	³² P	1,41 (β)	14,3 gün	Kolloid solüsyon	MDR intraperitoneal (over Ca)

3. Brakiterapideki Güncel Gelişmeler

Brakiterapinin klinikte kullanımına klavuzluk etmek için International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU) tarafından hazırlanan ICRU-38 raporu 1985 yılında yayımlanmıştır. Yayımlanan bu raporda rektum, mesane, lenfatikler için referans noktalar belirlenirken, A noktası (anatomik noktalar) tanımlanmıştır. Nokta temelli yapılan doz tanımlaması, tümör evresi, tümör boyutu ve risk altındaki organların topografik pozisyonundan bağımsızdır. Sadece tümör volümü tanımlanmıştır. Konvansiyonel 2-Boyutlu planlamada toplam doz fiziksel dozu ifade etmektedir. İmplantların kontrol ve değerlendirilmesi direkt grafiler alınarak gerçekleştirilmektedir. Radyolojik görüntüleme esnasında aplikatörlere yerleştirilen dummy (yalancı) kaynaklar ve klavuz teller grafiler üzerinde belirlenerek, radyonüklid yerleşimleri ile hedef hacim ve risk altındaki dokulara ait referans noktalar belirlenmekteydi. Klinik deneyimler, ICRU-38’de tanımlanan rektum ve mesane noktalarının, bu dokuların dozlarını tayin etmede yetersiz olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca maksimum dozların, ICRU-38’de tanımlanan referans dozlarının 2-4 katı olduğu da bildirilmektedir. 2-boyutlu brakiterapide direk grafiler ile değerlendirilen implantlarda yerleştirme uygun olmayabilir veya hastada rüptür gerçekleşebilir. Tüm bunlara ek olarak eksternal radyoterapi sonrasında hedef hacimdeki değişikliklerin brakiterapi tedavisinden önce değerlendirilmesi gerekmektedir. (10,18,19)

2- boyutlu brakiterapideki tüm bu kısıtlılıklar ve teknolojik gelişmeler sonucunda 3-boyutlu MR uyumlu brakiterapi tedavi planlamasına geçilmiştir. Modern radyoterapideki gelişmeler, hedef hacme biyolojik olarak etkili bir doz verirken, bitişik sağlıklı dokuyu korumadaki başarısıyla giderek artan konformal tedavidir. İzotopların tümör hücrelerinin yakınına yerleştirilmesi, bitişik sağlıklı dokulara hızlı doz düşüşü ile ablatif bir radyasyon dozunun verilmesine izin verir. Uygun tekniklerin avantajlarından yararlanarak, belirli hastalık bölgeleri için yerel kontrolü arttırdığı klinik çalışmalarla görülmektedir. Hipofraksiyonasyon kullanımında eş zamanlı bir artış olmuştur. Radyoaktif kaynakların tümörün içine veya doğrudan yakınına yerleştirilmesini ifade eden brakiterapi, radyoterapinin orijinal şeklidir. Eksternal radyoterapiye (EBRT) kıyasla daha fazla lokal doz yoğunluğuna izin vermektedir (13).

Tarihsel olarak, düşük doz hızlı (LDR) brakiterapi, hem tümör hücrelerinin (öncelikle hücre döngüsünde yeniden dağıtım) hem de sağlıklı dokunun (DNA hasar onarımı) radyobiyojik özelliklerinden yararlanmak için tercih edilen modaliteydi. LDR brakiterapisinin etkinliği ve güvenilirliği klinik araştırmalarla ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çok sayıda veri ile de desteklenmektedir. Yüksek doz hızlı (HDR) brakiterapide, otomatik afterloading tekniğiyle saatte 12 Gy'den daha yüksek bir doz hızında kaynak yüklemesi yapılmaktadır, genellikle iridyum 192 kaynağından yararlanır (13).

HDR brakiterapinin avantajları arasında daha fazla dozimetrik optimizasyon potansiyeli, ayakta tedavi uygulaması ve sağlık personelinin radyasyona maruz kalmasının azalması yer alır. HDR brakiterapi ile ilgili ilk endişeler, sağlıklı dokularda yetersiz DNA hasarı onarımı nedeniyle artan geç toksisiteye yol açacağıydı. Bununla birlikte, HDR brakiterapi ile ilgili onlarca yıllık deneyim, bu tekniğin hem etkinliğini hem de güvenliğini desteklemektedir ve çeşitli hastalık bölgeleri için HDR'yi destekleyen kanıtlar artarak devam etmektedir (13).

Brakiterapinin başarılı bir şekilde uygulanmasının kritik bileşenleri arasında uygun hasta seçimi ve eğitimi, gerekli teknik uzmanlık ayrıca güvenlik ve kalite güvencesi yer alır. Kalite güvencesi, bir implant veya aplikatörün hem içindeki hem de yanındaki karakteristik yüksek doz gradyanları nedeniyle brakiterapi için özellikle önemlidir. Amerikan Radyasyon Onkolojisi Derneği (ASTRO) tarafından HDR brakiterapinin güvenlik durumunu ve uygulama rehberliğini değerlendirmek üzere yayımlanan bir raporda, HDR brakiterapi için tıbbi olayların oranının yaklaşık %0,02 olduğu ve yılda 33.000 tedavi başına 8 olay gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Bu rapor, kateter ve aplikatör yerleştirme işlemlerinde görüntü kılavuzluğunun kullanılmasındaki artışın yanı sıra, hedef hacimlerin ve normal dokuların tanımlanmasına rehberlik edecek tanısal ve işlevsel görüntüleme artışı da altını çizmektedir. Son 40 yıldaki kullanımı yeni izotopları, bilgisayar gelişmelerini ve art yükleme tekniklerini yansıtmaktadır (13).

Bir radyoizotopun fiziksel özellikleri, brakiterapide yüksek doz hızı (HDR, >12 Gy/s), düşük doz hızı (LDR, 0,4–2 Gy/s) veya çok düşük doz hızı (vLDR, <0,4 Gy/s) sağlayıp sağlamadığını belirler. Çoğu durumda, HDR brakiterapi, venöz tromboembolizm gibi potansiyel olarak daha az komplikasyona yol açabilen daha kısa tedavi süreleri nedeniyle hasta için daha uygundur. Örneğin, sezyum-137 rutin olarak kullanıldığında servikal brakiterapinin iletilmesi yaklaşık 24 saat sürerken, iridyum-192 ile tedaviler genellikle 10 dakikadan az sürer. Bununla birlikte, doz oranını LDR'den HDR'ye değiştirirken, HDR'nin artan biyolojik etkisini hesaba katmak için toplam doz azaltılmalıdır. Puls doz hızı (PDR), aralıklı olarak küçük HDR darbeleri ileterek LDR iletimini taklit edebilmektedir (14).

Brakiterapi tekniği kökeni uzun bir geçmişe sahiptir ve belirli hastalık bölgelerinin tedavisinde önemli bir rol oynamaya devam etmektedir. Günümüzde brakiterapi ile sıklıkla tedavi edilen bölgeler arasında prostat kanseri, jinekolojik kanserler, meme kanserleri, baş ve boyun kanserleri ve cilt kanserleri yer alır. Brakiterapi, bu tümör tiplerinde bir monoterapi olarak kullanılabilirdiği gibi, eksternal radyoterapiden (EBRT) (örneğin, yüksek riskli prostat kanserinde) veya ameliyattan sonra (meme kanserinde) birincil tümöre yüksek dozda bir destek verme aracı olarak da kullanılabilir. Brakiterapi servikal, endometriyal ve prostat kanserlerinde tedavinin ayrılmaz bir parçasıdır ve diğer birçok malignitenin tedavisinde önemli faydalar gösterir. İster EBRT ister cerrahi olsun, monoterapi veya multimodal tedavinin bir parçası olarak tümör kontrolünde oldukça başarılı bir destek sağlamaktadır (13,15,17). Tablo 2.'de beyin, baş ve boyun, cilt, akciğer, anal ve rektum kanserinde brakiterapi kullanımı kısaca özetlenmiştir.

Tablo 2. *Beyin, baş ve boyun, cilt, akciğer, anal ve rektum kanserinde brakiterapi kullanımı*

Tümör Lokalizasyonu	Brakiterapi Kaynak Yükleme	Klinik Kullanım
Beyin	Tohumlar: kraniyotomi sırasında geçici HDR veya kalıcı LDR tohumları yerleştirilir. Balonlar: Katetere bağlı balon kraniyotomi boşluğunda şişirilir.	Normal doku aralığının dışındaki küçük, küresel beyin metastazları için kullanılabilir. Brakiterapinin gliomlardaki etkinliğine dair karışık kanıtlar vardır
Baş ve boyun	İğnelerle implante edilen plastik kateterler en etkili teslim yöntemidir. Radyasyon, doz dağılımını daha iyi kontrol etmek için kısa atımlar (nabız-doz hızı) üzerinden iletilebilir	Brakiterapi, monoterapi olarak veya cerrahi sonrası bir standarttır. Esas olarak dudakta, ağız boşluğunda, burunda ve orofarinkste kullanılır
Deri	Brakiterapi, plakların ve yüzey kalıplarının üzerine takıldığı kateterler kullanılarak iletir.	Brakiterapi, cerrahinin önerilmediği hastalar için bir alternatiftir.
Akciğer	Dozu iletmek için BT kılavuzluğunda akciğerlere bir veya iki plastik kateter yerleştirilir.	Brakiterapi çoğunlukla palyatif olarak kullanılmıştır, ancak küçük, erken evre kanserler için de kullanılabilir
Anal ve Rektal	Geçici brakiterapi 3 ila 5 iğne implante edilerek sağlanır	Geçici brakiterapi, yüksek terapötik oran ile iyi hayatta kalma sonuçları için ERT ile kombinasyon halinde kullanılabilir

Brakiterapinin, implantasyon prosedürünün invazivliği ve brakiterapiye uygun tümörlerin boyutu (≤ 4 cm) açısından sınırlamalarda dahil olmak üzere birçok sınırlılığı vardır (15). 2-boyutludan, 3-boyutluya (MRI kılavuzlu IGBT) gelişen brakiterapi teknikleri, daha iyi bir lokal tümör kontrolü, artan genel sağkalım ve azaltılmış toksisite yönünde bir eğilim

göstermiştir. İnterstisyel iğnelerin kullanılması, tümör dozunun artmasına ve OAR'ye daha düşük doz verilmesine yol açmaktadır. İnterstisyel iğne kullanımının daha iyi lokal kontrole yol açtığı gösterilemese de, toksisitenin azalmasına yönelik eğilim ile sonuçlanmıştır (19). Gelişen teknoloji ve artan klinik deneyimlerle birlikte brakiterapi tedavi modaliteside gelişmektedir. International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU) 89 numaralı raporu 2016 yılında yayınlanmıştır. ICRU ve GEC ESTRO'nun 89 numaralı raporu serviks brakiterapisindeki önemli konularda görüş ve kavramları ortaya koymayı hedeflemiştir. ICRU-89'da 3-boyutlu ve 4-boyutlu hacimler (başlangıç/rezidü GTV; başlangıç/rezidü CTV ve OAR), doz-volüm parametreleri (3B/4B), radyobiyojik değişimler, planlama hedeflerinden reçetelendirmeye kadar geçen işlemler ve 2-boyutlu için nokta doz parametreleri kullanıcıların rehberliğine sunulmuştur (20). Brakiterapi tedavi modelitesinin tarihi eskiye dayansa da, radyoterapinin en konformal şekli olmaya devam etmektedir (15).

KAYNAKÇA

1. World Health Organization (WHO). Cancer. <http://www.who.int/cancer/en/> (Erişim Tarihi: 02.11.2022)
2. New Global Cancer Data: GLOBOCAN 2020. <https://www.uicc.org/news/globocan-2020-new-global-cancer-data> (Erişim Tarihi: 02.11.2022)
3. Delaney G., Jacob S., Featherstone C., & Barton M., (2005). The role of radiotherapy in cancer treatment. *Journal of American Cancer Society*, 9, 104-110.
4. Erdem H. Özofagus Kanserlerinin Radyoterapisinde Üç Boyutlu Konformal Radyoterapi, Yoğunluk Ayarlı Radyoterapi Ve Hibrit Yoğunluk Ayarlı Radyoterapi Planlama Tekniklerinin Dozimetrik Olarak Karşılaştırılması. A.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2019, Antalya (Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Timur KOCA).
5. N. Öztürk, C. Köksal, O. Gürsoy Brakiterapide Kullanılan Kaynaklar/ Özellikleri ve Cihazlar. *Türkiye Klinikleri J Radiat Oncol-Special Topics* 2017;3(1): 5-14
6. Acr-Astro practice Guideline For The Performance Of Highdose-Rate Brachytherapy Preamble Revised 2010.
7. Podgorsak, E.B. (Ed.) *Radiation Oncology Physics: A Handbook for Teacher and Students*. Printed by the IAEA, Austuria, 2005, 696 s
8. M. Saynak, F. Çukurçayır, A. Arlı, D. Okumuş Yüksek Doz Hızlı Brakiterapi Radyobiyojisi. *Turk J Oncol* 2017;32(Supp 1):11-22
9. ICRU Report 38. Dose and Volume Specifications for Reporting Intracavitary Therapy in Gynecology. Maryland, USA: International Commission on Radiation Units and Measurements; 1985.
10. K. Yaray, Y. Sağlam, E. Çimşitoğlu Brakiterapide 2B'den 3B'ye Doz Volüm Kavramları. *Türkiye Klinikleri J Radiat Oncol-Special Topics* 2017;3(1)
11. Perez, C. A., Vijayakumar, S., Levitt, S., & Purdy, J. A. (2012). *Technical Basis of Radiation Therapy Practical Clinical Applications*. 12 Physics and Clinical Aspects of Brachytherapy 255-290 Berlin, Heidelberg: Springer Publishing Co.
12. Banerjee, S, Kataria, T, Goyal, S, et al. Low dose rate permanent seed brachytherapy: tracing its evolution and current status. *Prec Radiat Oncol*. 2020; 4: 89– 98.
13. Lukens, J. N., Gamez, M., Hu, K., & Harrison, L. B. (2014, December). Modern brachytherapy. In *Seminars in oncology* (Vol. 41, No. 6, pp. 831-847). WB Saunders.
14. Otter, S. J., Stewart, A. J., & Devlin, P. M. (2019). Modern brachytherapy. *Hematology/Oncology Clinics*, 33(6), 1011-1025.
15. Tuček L, Vošmik M, Petera J. Is There Still a Place for Brachytherapy in the

- Modern Treatment of Early-Stage Oral Cancer? *Cancers*. 2022; 14(1):222. <https://doi.org/10.3390/cancers14010222>
16. Madireddy, S., Verma, A., Dwarakanath, B. S., & Papineni, R. V. (2022). Technological advancements in brachytherapy of cancer. *Physics Open*, 11: 100109.
 17. Guneri, C. O., Dadak, A., & Kucuk, I. (2022). Üniversite öğrencilerinin human papilloma virüs ilişkili servikal kanserden korunmaya yönelik tutumları ve ölçümü. *Journal of Social and Analytical Health*, 2(3), 269-277.
 18. Garipağaoğlu, M. 3 Boyutlu Jinekolojik Brakiterapide Klinik Bakış. 'X. Ulusal Radyasyon Onkolojisi Kongresi'18-23 Nisan 2012. S:39
 19. Derks, K., Steenhuijsen, J., Berg, H., Houterman, S., Cnossen, J., & Haaren, P. et al. (2018). Impact of brachytherapy technique (2D versus 3D) on outcome following radiotherapy of cervical cancer. *Journal of Contemporary Brachytherapy*, 10(1), 17-25. <https://doi.org/10.5114/jcb.2018.73955>
 20. Alanyali, S. (2017). 2016 Dünya Brakiterapi Kongresinin Ardından. *Turkish Journal of Oncology*, 32.
 21. Acikgöz, G.; Hamacı, B.; Nur,S.;Karakuş A.(2020). Assistants' and interns' knowledge and attitudes about radiation in the emergency department: a survey-based study. *Al Am een J Med SCI*. 13(4): 261-265.

“

Bölüm 5

AMYOTROFİK LATERAL SKLEROZ (ALS) HASTALIĞI VE CRİSPR /CAS9 TEKNİĞİ

*Derya AKYILDIZ ÜSTÜNER¹,
Nigar GASİMZADE²*

”

1 Dr. Öğr. Üyesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Programı, Eskişehir/Türkiye, dustuner5@gmail.com 0000-0002-8511-946X

2 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Kök Hücre Anabilim Dalı Eskişehir/Türkiye, nigargasimzadee@gmail.com 0000-0001-6291-2337

1.Giriş

Proteinler vücudumuzun en önemli bileşenlerinden biridir. Farklı fonksiyonlarda rol oynarlar ve bazı proteinler de vücudumuzda doğal yolla üretilmediği için, böyle proteinler içeren zengin besinler ile beslenmek zaruridir. Vücudumuzda bağışıklık sistemimizi, metabolizmanın düzenlenmesini, zarar görmüş dokuyu ve hücreleri onarmak, kas-yağ kütlelerinin dengesini sağlamak gibi fonksiyonların yerine getirilmesinde proteinler görevlidir (Tamer, 2021). Ayrıca embriyonun gelişmesi, genlerin fonksiyonu, sinirlerin impuls iletimi de proteinler sayesinde gerçekleşir. Üç boyutlu protein yapılarını incelediğimizde, proteinlerin 20 amino asitin α -peptid bağlarıyla birbirine bağlanmasıyla oluşan zincire benzer bir yapıda olduğunu görürüz (Alberts, 2002). Proteinlerin kendi fonksiyonlarını hücre içinde yapabilmesi için onların doğru yapılandırılması en önemli etkidir (Crick, 1958). Ancak şartlar değiştiğinde (örneğin; sıcaklık, pH değişikliği vb.) protein yapısında önemli değişiklikler olmaktadır. Bu değişikliklerden en önemlisi, protein yanlış katlanmasıdır. Protein yanlış katlanması, nörodejeneratif hastalıklarda sinaptik kayıp ve nöron ölümü ile ilişkili olan kümelenmiş proteinlerin ve protein inklüzyonlarının oluşumuna yol açar (Nakamura, 2012). Proteinler doğru bir şekilde katlandığında, normal biyolojik işlevleri için çok önemli olan doğal üç boyutlu yapıyı oluşturur (Sippl, 1993). Tüm proteinler belirli koşullar altında anormal konformasyonlara, yanlış katlanma eğilimine sahiptir. Mutasyonlar ve çevresel koşullar da proteinlerin yanlış katlanmalarını artırabilir (Takalo, 2013). Hücrenin içinde, bazen de dışında yanlış katlanmış proteinlerin toplanması, biyolojik bir olay olan protein agregasyonuna neden olur (Stefani, 2003). Bu olayın sonucunda ise ALS (Amyotrofik lateral skleroz), Alzheimer, Parkinson ve prion hastalıkları gibi farklı hastalıklar oluşur. Amyotrofik lateral skleroz motor nöron hastalığının en yaygınlaşmış çeşididir. "Amiyotrofik" terimi, hayır anlamına gelen "a"dan, kas anlamı veren "myo"dan ve beslenmeyi anlatan "trofik" kelimelerinin birleşmesi ile oluşmuştur. "Lateral" lateral kortikospinal yolları, "skleroz" lateral bölgelerin skarlaşmasını ifade eder. (Karadag, 2021). ALS hastalığına genellikle yaşlılarda rastlanır. Fakat FUS geninde mutasyon olan hastalarda genç başlangıçlı ALS de gözlemlenmiştir. Tıpta Lou Gehrig hastalığı olarak da bilinmektedir (Mitumoto, 2009). Genellikle 55-60 yaş aralığında yaygındır ve dünya çapında prevalansı 100.000 kişide 1,68'dir. Bu hastalıktan

muzdarip insanların sağkalım süresi 2-5 yıldır (Pisani, 2002).

Protein agregasyonu, mutasyonlarla ilgili sorunlar, stresler, yaşlanmaya neden olmaktadır. (Hazır, 2021). Proteinler, yapıları bakımından birincil, ikincil ve üçüncül haldedir (Eisenhaber, 1995). Biyolojik aktiviteyi ve farklı fonksiyonlarda yer alan proteinleri düzenlemek için protein katlanması ve açılması çok önemli olaylardır (Dobson, 2003). Proteinlerin kendine has karakteristik yapılarından biri de, proteinlerin kendileriyle veya başka proteinlerle etkileşime girmediklerinde kendiliğinden katlanabilmeleridir (Vendruscolo, 2003). Bazen protein yapısı bozulmuş kanser hücreleri sağlıklı hücrelerle iletişime girerek, onların da protein yapısını bozmaya başlarlar (Cinatl Jr, 2004). Bu bozulmuş proteinler prionlar diye adlandırılır ve bu yanlış katlanmış proteinler kalp fonksiyonunu, nefes alıp-verme, hareket etme gibi normal vücut aktivasyonunun kötüleşmesini sağlayan farklı nörodejeneratif hastalıkların (Alzheimer, ALS, Creutzfeldt-Jakob vb.) oluşmasına neden olurlar. Daha da kötüsü bu proteinler merkezi sinir sistemine bağlı organlarda birikerek, vücudu felç edip, ölüme de yol açabilmektedir (Martin, 2001). ALS hastalığına neden olan mutasyonların belirlenmesi ve yeni bir teknik olan Crispr /Cas9 tekniği ile genleri düzenleme yolundaki adımlar önemlidir.

2.ALS Hastalığı

Amyotrofik lateral skleroz (ALS) hastalığı, beyin, beyin sapı ve omurilikteki motor nöronları hedef alan nörodejeneratif bir hastalıktır (Batra, 2019). Bu hastalık yaş arttıkça daha da ilerler ve belirtileri, zamanla sağlığı daha da kötü etkilemeye başlar. Son yıllarda kullanılan tedavi yöntem çeşitlerinin sayısı artsa da, ALS hastalığının ilerlemesini durdurmak veya tam olarak tedavisini sağlamak için basit ve etkili bir yöntem yoktur. ALS hastalığının belirtileri her hastada farklı şekilde kendini göstermektedir (Forsheew, 2003). ALS hastası insanların hayatta kalma süresi hastadan hastaya değişebilir. Bazı ALS hastaları 10 yıl yaşayabilirken, bazıları 2 veya 5 yıl yaşamaktadır. Bu hastalığın en çok rastlanan erken semptomları; halsizlik, zayıflık, kronik yorgunluk, kilo kaybı, nefes darlığı, konuşma ve yürüme zorluğu, kaslarda güçsüzlük, yutma problemleri, kaslarda kramp- lar ve sertlik gibidir (AKBAŞ, 2021). Yapılan araştırmalar ile bu hastalığa yakalanan insanların %5-10'unda hastalığın ebeveynler tarafından aktarıldığı ortaya konmuştur. Diğer hastaların ise neden bu hastalığa yakalandığına dair bir sebep bulunamamıştır. Bu grup hastalardaki düşünülen nedenler aşağıda belirtilmiştir:

Gen mutasyonu: Çeşitli gen mutasyonları kalıtsal ALS'e neden olabilir.

Kimyasal dengesizlik: Kimyasal sinyalleri iletmede kargo işlevi gören glutamat seviyelerinin ALS hastalarında yüksek olduğu belirlenmiş ve

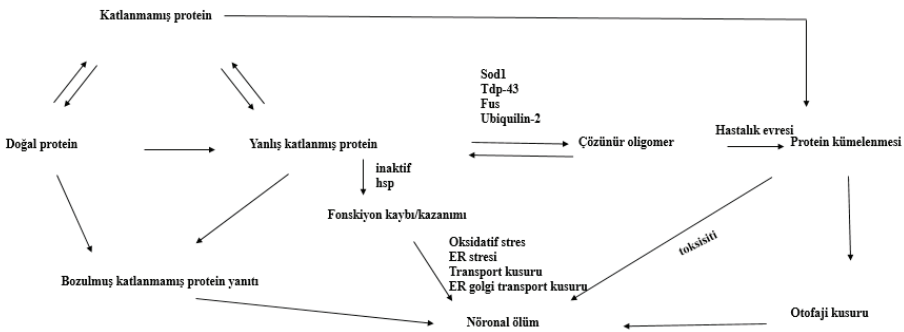
aşırı glutamatın sinir hücrelerinde hasara neden olduğu deneysel çalışmalarda bildirilmiştir.

Düzensiz bağışıklık yanıtı: Bazen vücudun normal hücrelerine, bağışıklık sistemi saldırarak sinir hücrelerinin degregasyonuna sebep olabilmektedir.

Proteinlerin anormal birikimi: Hücre içinde bazı proteinlerin anormal formları toplanarak hücrelere zarar verir.

ALS yer yüzünde insanlar arasında en sık görülen nöromusküler, yani hem sinir, hem de kas ile ilgili olan, her ırka mensup insanı etkileyebilen en tehlikeli hastalıklardan birisidir. Her yıl dünyada ortalama her yüz bin kişiden 1 veya 2 kişide ALS hastalığı ortaya çıkmaktadır (Kurtzke, 1980). Türkiye'deki sıklığı ise 2007 yılında yapılan bir araştırmaya göre, yüzbinde 7.3'tür. Genellikle hastalık 55-60 yaşları arasındaki insanlarda rastlansa da, daha genç veya yaşlı olan kişiler de bu hastalığa yakalanabilmektedir. Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda, bu hastalığın erkeklerde görülme sıklığının, kadınlara göre biraz daha fazla olduğu belirtilmiştir.

ALS hastalığı ailesel ve sporadik olarak ikiye ayrılır (Wijesekera, 2009). Ailesel ALS nedeninin çalışmaları sonucunda genetik faktörler olduğu belirlenmiştir (Andersen, 2000). Aslında genel olarak ALS vakalarının neredeyse %5-10'u bu sebeple ortaya çıkmaktadır ve Süper oksit dismutaz (SOD1) enziminin mutasyonunun vücutta bulunmasıyla gerçekleşmektedir (Hough, 2004). Geriye kalan %90-95'lik ALS vakaları ise sporadik ALS'dir. Burada kalıtsal bir sonuç olmamasına rağmen çalışmalar sonucu, sporadik ALS nedeninin de bir tür mutasyondan kaynaklandığı bildirilmiştir (DeJesus-Hernandez, 2010). ALS'de protein yanlış katlanmasının motor nöronlar ve komşu presinaptik nöronlar, astrositler ve mikroglia üzerindeki etkisini ve patolojide yer alan hücresel bozuklukları özetleyen şema aşağıdaki gibidir (Parakh S, 2016) (**Şekil 1**).



Şekil 1. ALS patogenezi ile ilişkili olaylara genel bakış. (Parakh S, 2016) kaynağından Türkçeye çevrilerek modifiye edilerek alınmıştır.

3. ALS hastalığındaki mutasyonlar

ALS'e neden olan ve en çok rastlanan gen mutasyonları SOD1, C9orf72 (Chromosome 9 Open Reading Frame 72 Gene), TDP43 (TAR-Binding Protein 43), FUS (Fused in Sarcoma) olarak bilinmektedir (Bülbül, 2018).

3.1. SOD1 geni

ALS'te ilk bilinen mutasyon SOD1 gen mutasyonudur. SOD1, 21 numaralı kromozomun uzun kolunda (21q22.1) bulunur ve beş ekzondan oluşur (Orrell, 1999) . SOD1 enzimi, homodimer formda, 153 adet aminoasitin oluşturduğu, sitoplazmada ve mitokondriyal membranda yerleşen enzimdir (Seetharaman, 2010). SOD1, süperoksit radikallerini parçalamak için bakır ve çinkoya bağlanan ve hücre hasarını önleyen bir antioksidan proteindir. Bu enzimin işlevi, oksijen ve hidrojen peroksit molekülüne süperoksit radikallerinin dönüşümünü sağlamaktadır (Noor, 2002). ALS'e neden olduğu bilinen 170 den fazla mutasyon SOD1 geninde bulunmuştur (Ingre, 2015). SOD1 mRNA'sına karşı geliştirilen SOD1 antikorları ve antisens oligonukletidler, gen ekspresyon oranını düşürerek hastalığa neden olan mutant proteini yok etmeye yönelik kullanılan etkili tedavi stratejilerinden biridir (Evers, 2015). Bu alanda klinik ve moleküler araştırmalar hala devam etmektedir.

Mutant SOD1'in nörodejenerasyona neden olan mekanizması henüz bilinmemektedir. Ancak aksonal ve hücrel taşımanın bozulması sonucunda, endoplazmatik retikulum stresine, mitokondriyal disfonksiyona, oksidatif strese, bozulmuş protein taşınmasına, yanlış katlanmış SOD1 proteinin birikmesine, kalsiyum homeostazının bozulmasına, RNA işlev bozukluğuna, mitokondriyal hasara ve otofaji gibi düzensizliklere neden olduğu bilinmektedir (Barber, 2006). Hastadan alınan Ipsc'lerde (uyarılmış pluripotent kök hücre), SOD1 A272C mutasyonunun hedeflenmiş bir gen düzeltmesi yapabilmek için bir çalışma yapılmıştır. Bu mutasyonlu fibroblastlar, ALS'li bir hastadan alınmış ve Ipsc'leri oluşturmak için yeniden programlandırılmıştır. Rehber RNA, A272C mutasyonunu hedef alan ve PAM (Proto-Spacer Adjacent Motif) dizisinden ibaret olacak şekilde tasarlanmıştır. Burada mutasyonun yerini alacak donör kalıp, elektroporasyon ile Cas9 nukleaz ve sgRNA (Small Guide RNA) ile birlikte transfekte edilmiştir. ALS hastalığı motor nöron hastalığı olduğu için, hastadan alınan Ipsc'ler ve gen düzeltme amaçlı kullanılan izojenik hücre dizisi, nöronal farklılaşma kapasitesini karşılaştırmak için motor nöronlara farklılaştırılmıştır. RNA dizilimi, gen düzeltmeli izojenik motor nöronlar ve hastadan türetilmiş motor nöronlar arasında önemli ölçüde değiştirilmiş gen ekspresyonunu ortaya çıkarmıştır. Diğer bir çalışmada Crispr /Cas9 tekniği SOD1 E100G mutasyonuna sahip hastadan elde edilen Ipsc'lerde gen düzenlenmesi için kullanılmıştır ve daha sonra motor nöronlara farklı-

laştırılmıştır. Çalışma sonucunda izojenik hücre hattındaki SOD1 E100G mutasyonunun modifiye edilmesi, motor nöron oranını, soma boyutunu arttırdığı ve hücre ölümünü azalttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda, araştırmacılar aktif ERK ve JNK sinyallenmesinin mutant SOD1 motor nöronlarında nörodejenerasyon için önemli olduğunu bildirmişlerdir (Wang, 2017).

İnsan SOD1 G93A mutasyonunu ifade eden transgenetik bir fare modeli ALS çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır. Bu fare modeli, kısa ömürlü ve motor davranış fonksiyonunun kaybı gibi belirtilerine göre insan ALS'e benzer bir patolojik fenotipi ifade etmektedir. Crispr/Cas9'un umut verici bir potansiyel terapötik tedavi yöntemi olabilmesini, bu fare modellerinde mutant SOD1'in ekspresyonunu bozması ile açıklanmıştır. Bu çalışmalarda hastalık fenotipinin iyi yönde gitmesi, mutant proteinin azaltılmış ekspresyonu ile belirlenmiştir (Wang, 2017).

3.2. TDP-43 geni

Tar-DNA bağlayıcı proteini (TDP-43) kodlayan TARDBP geninde rastlanan 44 mutasyon, hem ailesel hem de sporadik ALS vakalarında rastlanmıştır (Van Deerlin, 2003). TDP-43 diğer ribonükleer proteinlerle de etkileşime giren çok işlevli bir RNA ve DNA bağlayıcı proteindir (Warraich, 2010). İki RNA tanıma motifi, bir nükleer lokalizasyon dizisi, bir nükleer dış aktarma sinyali ve düşük dizi karmaşıklığını oluşturan prion benzeri alan olan glisin açısından zengin bir C-terminali içeren alan TDP-43 proteinini oluşturur. C-terminali içeren alan, prion benzeri özellikleri aracılığı ile hücre stresi altında görünen stres granülleri, yoğun RNA ve protein kümelerinin birikmesi için gereklidir (Portz, 2021). TDP-43'ün C terminal glisin bakımından zengin bölgesi agregasyona eğilimlidir ve hücrel toksisiteye neden olur ve ALS mutasyonları çoğunlukla C-terminal etrafında kümelenir (Zhang, 2009).

3.3. FUS

ALS hastalığına neden olan füzyon mutasyonları, tüm ailesel ALS hastalarının %4-5 ini içerir (Dormann, 2011). FUS, bir N-terminal serin tirozin –glutamin glisin (STQG) açısından zengin olan, RNA tanıma alanı, bir RANBP2 tipi çinko parmak motifi ve çok sayıda C-terminal arginin glisin-glisin motiflerinden oluşan bölgedir. N-terminal bölgesi, glisin açısından zengin bölge ile birlikte FUS'un agregasyon özelliklerini belirleyen bir prion benzeri alan içermektedir. FUS'un C-terminalinin ayrıca RNA bağlanmasında yer alan özel bir pirolin tirozin nükleer lokalizasyon sinyali içerdiği ve ALS mutasyonlarının çoğunun proteinin C terminali 515-524 amino asit etrafında kümelendiği düşünülmektedir. FUS mutasyonları ile oluşan ALS hastalarının omurilik dokuları, hiperfosforilasyon ve ubiquitinasyon gibi translasyon sonrası modifikasyonların yokluğunda, nöronal ve

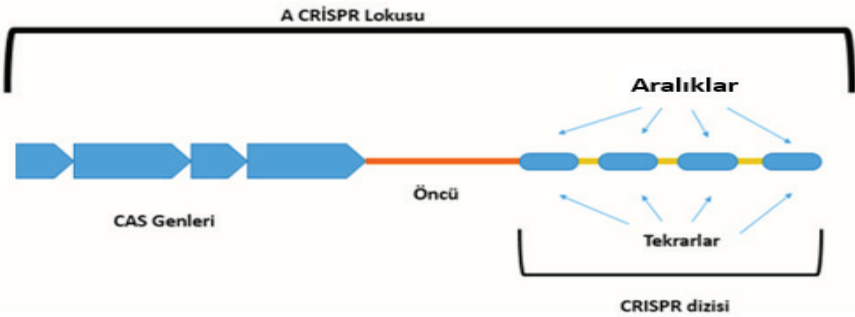
glial hücrelerde FUS içeren anormal sitoplazmatik kapanmaların bulunduğu da gösterilmiştir (Fiesel, 2011).

3.4. C9orf72

C9orf72'deki hekzanükleotid (G4C2) tekrar genişlemesi ALS'nin en sık rastlanan genetik nedenidir ve ayrıca frontotemporal demansda (FTD) da yaygındır. C9orf72 geni 9.kromozomda lokalizedir. Fakat hala kesin olarak işlevi bilinmemektedir (Mackenzie, 2014). Bu gen, proteinin kodlamayan bölümlerinden olan GGGGCC hekzanükleotidin tekrarı sonucu oluşan mutasyonu meydana getirmektedir (Belzil, 2013). Normalde GGGGCC tekrar dizisinin uzunluğu 25 üniteden kısa iken, ALS hastalarında bu oran 800-4400 ünitelerdir (Osafo, 2019). Mutant C9orf72'nin, azaltılmış protein ekspresyonu, eksitotoksisite, dipeptit tekrarlarının (DPR) üretimine ve başka patolojik nörodejeneratif fenotiplere neden olmaktadır. Dipeptit zincirlerinden olan poli GR (glisin arginin), C9orf72 ile ilişkili olan ALS ve FTD'li hastalarda birikimi bildirilmiştir (Bülbül, 2018).

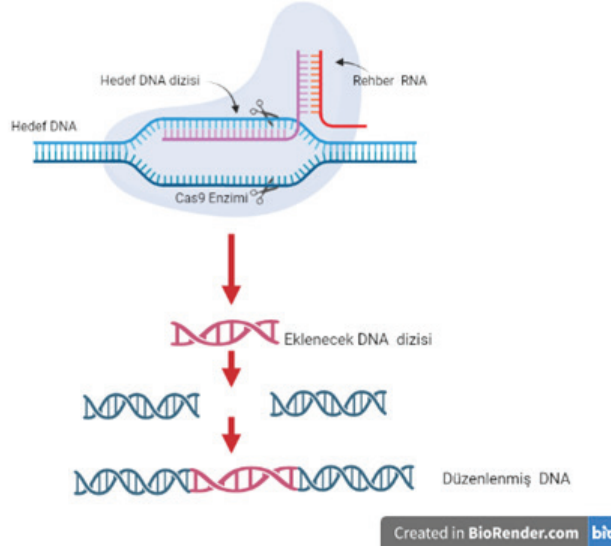
4. Crispr /Cas9 Tekniği

Crispr ("Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats") **düzenli aralıkları olan palindromik tekrar kümelerinden oluşmaktadır** (Munshi, 2016). Crispr dizileri, prokaryotlarda (bakteri vb.) bulunmaktadır. Crispr canlıının DNA dizileri üzerinde, Crispr lokusunu tanımlayan gen dizileri olarak tanımlanmaktadır. Crispr lokusu, Cas genleri, lider (öncü) dizi, tekrar (repeat) ve aralık (spacer) dizilerinden oluşmaktadır. Tekrar dizileri bir canlı için tamamen aynı olmakla beraber tekrarların arasındaki aralık dizileri birbirinden farklıdır (<https://biyologlar.com/prokaryotlarda-hucre-savunmasi-ve-evrimi-crispr-cas-sistem>, 2022) (Şekil 2).



Şekil 2. Crispr lokusunun şematik görseli. (<https://biyologlar.com/prokaryotlarda-hucre-savunmasi-ve-evrimi-crispr-cas-sistem>, 2022) kaynağından Türkçeye çevrilerek modifiye edilerek alınmıştır.

Cas proteini DNA parçalarını RNA'ya uygun gelecek şekilde parçalayan enzimdir (Özer, 2014). Cas9 geni, bazı bakterilerin DNA virüslerine ve plazmitlere karşı immünolojik savunmasında önemli rol oynayan, 160 kDa büyüklüğünde bir protein olarak tanımlanmaktadır. Genetik mühendisliği uygulamalarında kullanılmaya başlanmıştır (Barbour, 2021). Başlıca görevi, DNA'yı kesmek ve böylece bir hücrenin genomunu değiştirmektir (Schmidt, 2015). 2013 yılında keşfedilen Crispr /Cas9 tekniği, bakteri ve virüsler üzerindeki çalışılırken bulunmuştur (Chen, 2020). Virüsler, bakterilere saldırırken bakteri yüzeyine tutunur ve bakteriye kendi DNA'sını enjekte eder (Miller, 1998). Bu virüs DNA'sı, bakterinin genetik yapısına girerek virüslerin üretilmesini sağlar ve böylece bakteriler bu duruma karşı bir koruma mekanizması geliştirirler. Virüs DNA parçası bakterinin Cas9 enzimi ile taranır. Bakteri, virüs DNA'sını tanımladığında bu enzim yardımıyla keser (Thurtle-Schmidt, 2018). Crispr/Cas9 tekniği bakterinin bağışıklık sistemi gibi de düşünülebilmektedir. Bakteri bu DNA parçasını kendi genetik yapısına aktararak virüs DNA'sını hafızasında tutar. Böylece aynı virüs bakteriye saldırdığında virüse karşı hızlı savunma gerçekleştirir ve bakterinin virüs DNA'sını genomuna belli diziler şeklinde ekler. Böylece Crispr sekansı oluşur (Castillo, 2016). Kaliforniya Üniversitesinden Dr.Jennifer Doudna ve Berlin Max Planck Enstisüsünden Dr.Emmanuel Charpenter'in ortaklaşa gerçekleştirdikleri çalışmalarında, bakterilerin bağışıklık sisteminin bir gen düzenleme aracı olarak kullanabileceğini belirtmişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda 2020 yılında Kimya Nobel Ödülünü kazanmışlardır (Goyon, 2021). Crispr/Cas9 tekniği ile genleri düzenleme aşağıdaki şekilde gibidir (CRISPR: Nobel Ödüllü Gen Düzenleme Yöntemi, 2022) (**Şekil 3**).



Şekil 3. *CRISPR/Cas9 tekniği ile genleri düzenleme. (CRISPR: Nobel Ödüllü Gen Düzenleme Yöntemi, 2022) kaynağından Türkçeye çevrilerek ve BioRender kullanılarak modifiye edilerek alınmıştır.*

Genomun belirli yerlerinde DNA iplikliğini kesebilen “moleküler bir makas” görevi gören Cas9 enzimi bu özelliği ile DNA parçalarını ekleyip çıkarabilmektedir (Mirza, 2019). Rehber RNA (gRNA) bir RNA parçası olup, daha uzun bir RNA iskeletinin içindeki, önceden tasarlanmış 20 bazlık bir RNA diziliminden oluşmaktadır (Kasimanickam, 2021). Uzun RNA iskeleti, DNA’ya bağlanmakta ve önceden tasarlanmış dizilim, Cas9’un genomun doğru noktasına gitmesine rehberlik etmektedir. Böylece Cas9 enzimi doğru yerleri kesebilir. Rehber RNA, DNA’daki belirli bir dizilimi bulup bağlamak için tasarlanmıştır. Rehber RNA genomda sadece hedef dizilime bağlanır. Cas9, rehber RNA’yı izleyerek, DNA’da ilgili yere gider ve DNA’nın iki ipliğinde kesik oluşturur. Bu aşamada hücre DNA’nın hasarını belirleyip onarmaya çalışır. Bu teknik iki şekilde yapılabilmektedir:

1. İnsandan alınan hücreler Crispr/Cas9 ile manipüle edilerek tekrardan geri gönderilir (ex vivo yöntem)

2. Direk olarak Crispr/Cas9 enzim sistemi hastaya enjekte edilerek (in vivo yöntem) işlem gerçekleştirilir.

Gen düzenleme 1953’te DNA’nın çift sarmal bir yapıda olduğunun keşfedilmesi ile başlamıştır (Maddox, 2003). Bilim insanları, genetik koddaki spesifik DNA dizilerinin silinmesi, eklenmesi veya değiştirilmesine olanak sağlamak için farklı yöntemler üzerinde durulmaktadır. Bugüne kadar geliştirilen gen düzenleme yöntemlerinde düşük verim ve sınırlı

kullanım alanları mevcut idi. Crispr ise her organizmada genetik kodun düzenlenmesine imkan vermektedir (Shen, 2017). Yine geliştirilen gen düzenleme yöntemlerinden daha basit, daha ucuz ve daha etkilidir. Crispr/Cas9 kullanılarak genom düzenleme, çeşitli hücre tiplerinde genetik modifikasyonları incelemek için hastalık araştırmalarında kullanılmaktadır. Mutajenez veya mutant transfeksiyon, mutasyonların hastalık üzerindeki genetik etkilerini araştırmak için yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Yeniden programlama teknolojisinin gelişmesinden bu yana uyarılmış pluripotent kök hücre (Ipsc) üretimi için somatik hücreler kullanılmıştır (Singh, 2015). Bu Ipsc'ler nöronlar, karaciğer hücreleri, miyoblastlar ve kardiyomiyositler gibi çeşitli hücre tiplerine farklılaşma potansiyeline sahiptir. Hastadan türetilen Ipsc'ler hastalığı incelemek ve tedavi etmek için sınırsız hücre kaynağı sağlamaktadır. Hem fALS hem de sALS'e neden olan mutasyonların çoğu SOD1, C9orf72, FUS ve TARDBP genlerinde bulunmaktadır (Vildan, 2019). Hasta kaynaklı Ipsc'ler ALS'i incelemek için önemlidir. Bununla birlikte hasta kaynaklı Ipsc-lerin bir dezavantajı hangi genetik mutasyonların ALS ile ilgili olduğunu belirlemeyi zorlaştıran fenotipik varyasyonlarıdır (Yun, 2020). İnsan SOD1 G93A mutasyonunu aşırı ifade eden bir transgenetik fare modeli, ALS çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu fare modeli hayatta kalma ve davranış fonksiyonunun kaybı dahil olmak üzere insan ALS'e benzer bir patolojik fenotipi ifade etmektedir. Yapılan son çalışmalar, Crispr/Cas9'un umut verici bir potansiyel terapötik strateji olabilecek mutant SOD1 ekspresyonunu bozduğunu ve mutant proteinin azaltılmış ifadesinin hastalık fenotipini tersine çevirdiğini bildirmiştir (Gajowiak, 2016).

Hayvan modellerinde olduğu gibi in vivo genom düzenlenmesi için AAV (adeno-ilişkili virüs) en güvenli dağıtım aracıdır (Lau, 2017). Ancak AAV'nin plazmidi barındırma kapasitesi sınırlı olduğundan, spCAS9'dan daha küçük boyutu sayesinde *Staphylococcus aureus*'tan (SaCas9) elde edilen Cas9 nükleaz sıklıkla kullanılmaktadır (Kaya, 2016). CMV promotörü altında SaCas9 ve U6 promotörü altında sgRNA'dan oluşan plazmit, AAV'ye paketlenmektedir (Kwon, 2020). Hsod1 G93A fare modeli üzerinde yapılan bir çalışmada, bu AAV, doğumdan 1 gün sonra yüz damarı yoluyla enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan dört hafta sonra, Western blot ve histolojik analiz SOD1 proteinin ekspresyonunu azalttığını ve lomber omurilikte artan sayıda motor nöron olduğu da bildirilmiştir. Ayrıca bu bulgular bir kontrol modeline kıyasla genom düzenlemenin motor fonksiyonu iyileştirdiğini, kas atrofisini azalttığını, hastalık başlangıcını geciktirdiğini ve sağkalımı arttırdığını göstermiştir (Gaj, 2017).

5. Sonuç

Gen mutasyonunun önceden belirlenmiş olması, hastalığın tedavi edilebilmesine olanak sağlar ve sadece hastanın kendisinin değil, aynı zaman-

da risk altındaki yakınlarının da erken tanı ve tedavisinde de yardımcı olabilmektedir. İlk ALS geninin 20 yıl önce tanımlanmasından bu yana bilgilerimiz önemli ölçüde artmıştır ve daha da artmaya devam edecektir. Genetik bilginin uygulanması, Crispr /Cas9 ile genom mühendisliğinde ileri yöntemler ve ipsc'ler kullanılarak in vitro hastalık modellenmesi, hastalığa neden olan mutasyonların keşfini kolaylaştıracak ve çeşitli hastalıkların altında yatan patofizyolojik mekanizmalar da çözülebilecektir. Bu stratejinin nihayetinde, ALS tedavisini belirlemek için ALS'in altında yatan çeşitli mekanizmaların kapsamlı bir şekilde araştırılmasına yol açması umulmaktadır. SOD1'deki mutasyonların Crispr/Cas9 ile in vivo genom düzenlenmesiyle sadece altta yatan moleküler mekanizmalar tanımlanmayacak, aynı zamanda hastalık modellerinde de patolojik fenotipi tersine çevirmek için de kullanılabilir. Böylece Crispr/Cas9, ALS için gen terapisinde potansiyel bir rol oynayabilecektir. Özellikle genetik bozukluklarda, mutasyonları düzeltmek için Crispr/Cas9 kullanılarak, Ipse'lerde mutasyonların patolojik etkileri de araştırılabilecektir. ALS ile ilgili spesifik mutasyonların düzeltilmesi ile mutasyonların patolojik etkilerinin doğrulanması, hem de teröpotik müdahaleler için hedeflerin belirlenmesi konusunda önemli bilgiler sağlanabilecektir.

Kısaltmalar

ALS Amyotrophic Lateral Sclerosis

CRISPR Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats

SOD1 Superoxide Dismutase 1

TDPDBP TAR-Binding Protein Gene

FUS Fused in Sarcoma

FTD Frontotemporal Dementia

STQG Serin Tirozin –Glutamin Glisin

IPSC İnduced pluripotent stem cell

AAV Adeono-associated virus

gRNA guide RNA

C9orf72 Chromosome 9 Open Reading Frame 72 Gene

PAM Proto-Spacer Adjacent Motif

SaCas9 Staphylococcus aureus

SgRNA Small Guide RNA

Kaynakça

- AKBAŞ, D. &. (2021). Amyotrofik Lateral Sklerozda Semptom Yönetimine Genel Bakış. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 354-360.
- Alberts, B. J. (2002). New York:: Garland Science;
- Andersen, P. M. (2000). Genetic factors in the early diagnosis of ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders*, 1(sup1), S31-S42.
- Barber, S. C. (2006). Oxidative stress in ALS: a mechanism of neurodegeneration and a therapeutic target. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1762(11-12), 1051-1067.
- Barbour, A. G. (2021). The role of CRISPR-Cas in advancing precision periodontics. *Journal of Periodontal Research*, 56(3), 454-461.
- Batra, G. J. (2019). Novel therapeutic targets for amyotrophic lateral sclerosis. *Indian Journal of Pharmacology*, 51(6), 418.
- Belzil, V. V. (2013). RNA-mediated toxicity in neurodegenerative disease. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 56, 406-419.
- Bülbül, N. G. (2018). SOD1 (L144F) ve C9orf72 Gen Mutasyonları Saptanan İki Aile ve Amiyotrofik Lateral Skleroza Genel Bakış. . *Turkish Journal of Neurology/Türk Noroloji Dergisi*, 24.
- Castillo, A. (2016). Gene editing using CRISPR-Cas9 for the treatment of lung cancer. *Colombia Médica*, 47(4), 178-180.
- Chen, L. Z. (2020). Cas9 protein triggers differential expression of inherent genes especially NGFR expression in 293T cells. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 13(1), 61-72.
- Cinatlı Jr, J. V. (2004). Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus a novel role for viral infection in tumor progression. *FEMS microbiology reviews*, 28(1), 59-77.
- Crick, F. H. (1958). *On protein*.
- CRISPR: Nobel Ödüllü Gen Düzenleme Yöntemi. (2022). <https://bilimgenc.tubitak.gov.tr/nobel-odullu-gen-duzenleme-yontemi-crispr>. adresinden alındı
- DeJesus-Hernandez, M. K. (2010). De novo truncating FUS gene mutation as a cause of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Human mutation*, 31(5), E1377-E1389.
- Dobson, C. M. (2003). Protein folding and misfolding. *Nature*, 426(6968), 884-890.
- Dormann, D. &. (2011). TDP-43 and FUS: a nuclear affair. *Trends in neurosciences*, 34(7), 339-348.

- Eisenhaber, F. P. (1995). Protein structure prediction: recognition of primary, secondary, and tertiary structural features from amino acid sequence. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 30(1), 1-94.
- Evers, M. M.-M. (2015). Antisense oligonucleotides in therapy for neurodegenerative disorders. *Advanced drug delivery reviews*, 87, 90-103.
- Fiesel, F. C. (2011). TDP-43 and FUS/TLS: cellular functions and implications for neurodegeneration. *The FEBS journal*, 278(19), 3550-3568.
- Forshaw, A. &. (2003). A survey of clinicians' practice in the symptomatic treatment of ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and other motor neuron disorders*, 4(4), 258-263.
- Gaj, T. O. (2017). In vivo genome editing improves motor function and extends survival in a mouse model of ALS. *Science advances*, 3(12), eaar3952.
- Gajowiak, A. S. (2016). Mice overexpressing both non-mutated human SOD1 and mutated SOD1G93A genes: a competent experimental model for studying iron metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Frontiers in molecular neuroscience*, 8, 82.
- Goyon, A. S. (2021). Full Sequencing of CRISPR/Cas9 Single Guide RNA (sgRNA) via Parallel Ribonuclease Digestions and Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography–High-Resolution Mass Spectrometry Analysis. *Analytical Chemistry*, 93(44), 14792-14801.
- Hazır, C. G. (2021). Nörodejeneratif hastalık araştırmalarında drosophila melanogaster modeli. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 237-245.
- Hough, M. A. (2004). Dimer destabilization in superoxide dismutase may result in disease-causing properties: structures of motor neuron disease mutants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(16), 5976-5981.
- <https://biyologlar.com/prokaryotlarda-hucre-savunmasi-ve-evrimi-crispr-cas-sistem/>. (2022).
- Ingre, C. R. (2015). Risk factors for amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical epidemiology*, 7, 181.
- Karadag, A. M. (2021). Importance of Different Characteristic of the Corticospinal Tract Based on DTI and Cadaveric Microdissection. *Journal of Basic and Clinical H*.
- Kasimanickam, V. (2021). Application of CRISPR-Cas9 Technology in Bovine Reproduction. *Bovine Reproduction*, 1157-1166.
- Kaya, H. M. (2016). Highly specific targeted mutagenesis in plants using Staphylococcus aureus Cas9. *Scientific reports*, 6(1), 1-9.
- Kurtzke, J. F. (1980). Epidemiologic contributions to multiple sclerosis: an overview. *Neurology*, 30(7 Part 2), 61-79.
- Kwon, J. B. (2020). In vivo gene editing of muscle stem cells with adeno-associated viral vectors in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy.

Therapy-Methods & Clinical Development, , 19, 320-329.

- Lau, C. H. (2017). In vivo genome editing in animals using AAV-CRISPR system: applications to translational research of human disease. *F1000Research*, 6.
- Mackenzie, I. R. (2014). The neuropathology associated with repeat expansions in the C9ORF72 gene. *Acta neuropathologica*, 127(3), 347-357.
- Maddox, B. (2003). The double helix and the 'wronged heroine'. *Nature*, 421(6921), 407-408.
- Majoor-Krakauer, D. W. (2003). Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical genetics*, 63(2), 83-101.
- Martin, L. J. (2001). Neuronal cell death in nervous system development, disease, and injury. *International journal of molecular medicine*, 7(5), 455-478.
- Miller, R. V. (1998). Bacterial gene swapping in nature. *Scientific American*, 278(1), 66-71.
- Mirza, Z. &. (2019). Advancements in CRISPR/Cas9 technology—focusing on cancer therapeutics and beyond. *In Seminars in Cell & Developmental Biology*, (Vol. 96, pp. 13-21).
- Mitsumoto, H. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis: a guide for patients and families. . *Demos Medical Publishing*.
- Munshi, N. V. (2016). CRISPR (clustered regularly interspaced palindromic repeat)/cas9 system: a revolutionary disease-modifying technology. *Circulation*, 134(11), 777-779.
- Nakamura, T. C. (2012). Redox regulation of protein misfolding, mitochondrial dysfunction, synaptic damage, and cell death in neurodegenerative diseases. *Experimental neurology*, 238(1) 12-21.
- Noor, R. M. (2002). Superoxide dismutase--applications and relevance to human diseases. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 8(9), RA210-5.
- Orrell, R. W. (1999). Clinical characteristics of SOD1 gene mutations in UK families with ALS. *Journal of the neurological sciences*, , 169(1-2), 56-60.
- Osafo, N. O. (2019). Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Predominant Form of Degenerative Disease of the Motor Neuron System. *In Handbook of Research on Critical Examinations of Neurodegenerative Disorders*, (pp. 322-346).
- Özer, O. (2014). CRISPR Gen Düzenleme Yöntemi Nedir? CRISPR-Cas9 Sistemi Kullanarak Genleri Nasıl Düzenleriz?.
- Parakh S, A. J. (2016). Protein folding alterations in amyotrophic lateral sclerosis. . *Brain research*, 633-649.
- Pisani, P. B. (2002). Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *International journal of cancer*, 97(1), 72-81.
- Portz, B. L. (2021). FUS and TDP-43 phases in health and disease. *Trends in bio-*

chemical sciences, 46(7), 550-563.

- Schmidt, F. &. (2015). CRISPR genome engineering and viral gene delivery: a case of mutual attraction. *Biotechnology journal*, , 10(2), 258-272.
- Seetharaman, S. V. (2010). Structures of mouse SOD1 and human/mouse SOD1 chimeras. *Archives of biochemistry and biophysics*, 503(2), 183-190.
- Shen, S. L. (2017). CRISPR as a strong gene editing tool. *BMB reports*, , 50(1), 20.
- Singh, V. K. (2015). Induced pluripotent stem cells: applications in regenerative medicine, disease modeling, and drug discovery. *Frontiers in cell and developmental biology*,, 3, 2.
- Sippl, M. J. (1993). Recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 17(4), 355-362.
- Stefani, M. &. (2003). Protein aggregation and aggregate toxicity: new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution. *Journal of molecular medicine*,, 81(11), 678-699.
- Takalo, M. S. (2013). Protein aggregation and degradation mechanisms in neurodegenerative diseases. . *American journal of neurodegenerative disease*,, 2(1), 1.
- Tamer, A. A. (2021). Nutrition and Immun System. *Sakarya Tıp Dergisi*, 11(2):458-466.
- Thurtle-Schmidt, D. M. (2018). Molecular biology at the cutting edge: a review on CRISPR/CAS9 gene editing for undergraduates. *Biochemistry and Molecular Biology Education*,, 46(2), 195-205.
- Tycko, J. M. (2016). Methods for optimizing CRISPR-Cas9 genome editing specificity. *Molecular cell*,, 63(3), 355-370.
- Van Deerlin, V. M. (2003). TARDBP mutations in amyotrophic lateral sclerosis with TDP-43 neuropathology: a genetic and histopathological analysis. . *he Lancet Neurology*, 7(5), 409-416.
- Vendruscolo, M. Z. (2003). Protein folding and misfolding: a paradigm of self-assembly and regulation in complex biological systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*,, 361(1807), 1205-1222.
- Vildan, C. S. (2019). Genetic alterations of C9orf72, SOD1, TARDBP, FUS, and UBQLN2 genes in patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cogent Medicine*, , 6(1), 1582400.
- Wang, L. Y. (2017). CRISPR/Cas9-mediated targeted gene correction in amyotrophic lateral sclerosis patient iPSCs. *Protein & Cell*, , 8(5), 365-378.
- Warraich, S. T. (2010). TDP-43: a DNA and RNA binding protein with roles in neurodegenerative diseases. *The international journal of biochemistry & cell biology*,, 42(10), 1606-1609.

- Wijesekera, L. C. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet journal of rare diseases*, 4(1), 1-22.
- Yun, Y. &. (2020). CRISPR/Cas9-mediated gene correction to understand ALS. *International journal of molecular sciences*, , 21(11), 3801.
- Zhang, Y. J. (2009). Aberrant cleavage of TDP-43 enhances aggregation and cellular toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(18), 7607-7612.

“

Bölüm 6

ŞEFFAH PLAKLARLA ORTODONTİK TEDAVİ

Zeynep ÇOBAN BÜYÜKBAYRAKTAR¹

”

¹ Dr., Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti
Anabilim Dalı 0000 0002 4511 5480

Sabit aparey sistemlerinde olduğu gibi, şeffah plaklar, farklı etki modları, yapım yöntemleri ve çeşitli maloklüzyon tedavilerine uygulanabilirliği olan geniş bir aparey yelpazesini kapsamaktadır. Bu amaçla tasarlanan apareylerin hepsi dişlerin çoğunu veya tamamını kaplayan şeffaf, ısıyla şekillendirilmiş plastik plaklardan oluşur, ancak sistemler arasında farklı ortodontik problemleri tedavi etme yeteneğini etkileyen büyük ve önemli farklılıklar vardır (Weir, 2017) (Şekil 1).

Maloklüzyonu tedavi etmede şeffaf plakların kullanımı son yıllarda kayda değer bir artış göstermiş ve üreticilerin pazarlama kampanyalarıyla körüklenerek, özellikle yetişkin hastalar arasında artan bir ilgi ortaya çıkmıştır (Boyd et al., 2000; Hennessy & Al-Awadhi, 2016). 2013 yılında yapılmış bir çalışmada, Avustralyalı ortodontistler arasında yapılan bir ankete katılım sağlayanların %73'ünün 2012 yılında en az bir vakayı tedavi etmek için plak kullandıkları ve ortalama sekiz plak vakası olduğu tespit edilmiştir (Miles, 2013). 2014 yılında İrlandalı ortodontistler arasında yapılan benzer bir araştırma, ortodontistlerin %19'unun yetişkin hastaları tedavi etmek için sıklıkla plak kullandıklarını bildirmektedir (McMorrow & Millett, 2017). Ek olarak, Avrupa Aligner Derneği üyeleri arasında yapılan başka bir araştırma, ortodontistlerin %45'inin plakların ortodontik tedavi sonuçlarını sınırladığına inandığını göstermiştir (genel diş hekimleri arasında ilgili yüzde sadece %5 olmasına rağmen) (d'Apuzzo et al., 2019).



Şekil 1: Şeffaf plak hastasının ağız içi görüntüsü

Şeffah plaklar başlangıçta yalnızca diş pozisyonundaki küçük düzensizlikleri tedavi etmek için tanıtılmıştır. Bazı hizalayıcı sistemler küçük konumsal düzensizliklerin düzeltilmesi gibi sınırlı işlemler yaparken, bazıları karmaşık maloklüzyonları hedef aldığını iddia etmektedir. Bu tür iddiaları destekleyen yayınlanmış klinik kanıtlarda ya eksiklikler vardır ya da üst düzey bilimsel kanıtlar sınırlıdır. Aynı zamanda, birçok şeffah plak sistemi doğrudan halka pazarlanmaktadır ve bazıları ise (Cristal Braces, Smile Care Club) sürecin herhangi bir aşamasında herhangi bir diş hekimi-

nin kontrolüne bile sunulmamaktadır (Weir, 2017).

Şeffah plak üretiminde kullanılan malzemeler hızlı teknolojik değişikliklere özellikle yatkındır. Bu yüzden şeffah plak sistemlerinin değerlendirilmesiyle ilgili bilimsel çalışmalar yapılırken malzemelerin bir yandan sürekli değişim ve gelişim geçirmesi bilimsel değerlendirmelerde zorluklar yaşanmasına neden olmaktadır (Rossini et al., 2015). Bu nedenle, çok yaygın olarak test edilen, analiz edilen ve hakkında rapor edilen bir şeffah plak ürünü, artık mevcut kullanımda olan şeffah plak ürünü ile aynı olmamaktadır. Ek olarak, sabit apareyleri şeffah plak ile karşılaştıran yayınlanmış çalışmaların, metodolojilerinin zayıf olduğu, kontrol gruplarının olmadığı, örnek boyutlarının küçük olduğu, körleme prosedürlerinin uygun olmadığı veya randomizasyon tekniklerinde eksiklikler olduğu belirtilmiştir (Buschhang et al., 2014).

Şeffah Plak Sistemlerinin Çeşitleri

-Sınırlı klinik uygulanabilirliği olan küçük diş hareketi yaptıran sistemler

Kapsamlı ortodontik tedaviye daha ucuz ve daha hızlı bir alternatif olan bu kategoride Originator, Simpli 5, MTM Clear Aligner ve Clearguide System gibi ürünler bulunmaktadır (Weir, 2017).

-Doğrudan tüketici alternatifinde olan sistemler

Uzaktan kontrol edilen ve hasta için “evde” tedavi imkanı sunan bir sistemdir. “Rahat ve %50 daha ucuz” bir çözüm olarak tanımlanan bu kategoride Crystal Braces ve Smile Care Club yer almaktadır (Weir, 2017).

-Manuel kurulumla üretilen hizalayıcılar

Manuel yaklaşım, dişlerin manuel olarak yeniden konumlandırılmasını, mum ayarı ve vakumla şekillendirilmiş tutucuların üretimini gerektiren yoğun emek gerektiren bir süreçtir. Bu yaklaşım, plakların laboratuvar koşullarında uygun maliyetli bir şekilde kolayca üretilmesini sağlar. Ayrıca tedavinin takip sürecini kolaylaştırır ve ortodontistin gerekli tedavi değişikliklerini daha erken bir aşamada yapmasına olanak tanır (Tamer et al., 2019).

-CAD-CAM teknolojisinin kullanıldığı karmaşık, kapsamlı sistemler

3D CAD-CAM diş hareketlerini, bilgisayarlı 3D etkileşimli tedavi planlama ve cihaz tasarımını, bonded resin ataşmanları ve daha karmaşık, kapsamlı diş hareketlerini, uzayın tüm düzlemlerinde gelişmiş diş pozisyonu kontrolünü içeren bu ürünlere örnek olarak Invisalign, ClearCorrect, ClearPath, eClinger, K Line, Ortho ve Orthocaps verilebilir.

En iyi bilinen hizalayıcı sistem olan Invisalign, CAD-CAM teknolojisini kullanan diğer yüksek kaliteli sistemlerin genel adı haline gelmiştir. Bu sistemin şu anda mevcut olan en gelişmiş ve en yaygın kullanılan şeffaf hizalayıcı teknolojisi olduğu bilinmektedir (Weir, 2017). 1999'da Invisalign sistemi, yalnızca hafif maloklüzyonları tedavi etmek için ortodonti pazarına sunulmuştur; ancak, farklı ataşmanların ve yardımcıların geliştirilmesi sayesinde Invisalign sistemi ile büyük diş hareketleri gerçekleştirilmekte ve küçük azı çekimi vb. işlemler gerektiren karmaşık vakalar tedavi edilmektedir (Gu et al., 2017; Simon et al., 2014b; Wong, 2002). Invisalign sistemindeki hizalayıcılar, CAD-CAM teknolojisi (Barone et al., 2017) kullanılarak tasarlanmakta ve üretilmektedir. Bilgisayarlı sanal tedavi planlaması ve üretim için stereolitografik prototipleme teknolojisinin birleşimi, Invisalign'ı plak tedavisinde lider bir konuma getirmektedir (Kravitz et al., 2009; Lagravere & Flores-Mir, 2005; Malik et al., 2013; Tamer et al., 2019).

Şeffah Plak Tedavisinin Avantajları

Şeffah plak tedavisinin geleneksel sabit apareyli ortodontik tedavilere göre belirli avantajları vardır. Bunlar arasında klinik acil durumların azlığı, estetik tedavi imkanı sunması, konforlu olması ve hijyen kontrolünün kolaylığı, periodontal sağlığın korunması ve yumuşak doku tahrişinin olmaması yer almaktadır (Buschang et al., 2014; Weir, 2017).

Acil durumlar: Şeffah plak tedavisinde birkaç acil durum bulunmaktadır. Kaybolan veya hasar gören plak varlığında, hasta eski plağı takmaya devam ederken genellikle 2 hafta içinde yenisi gelmektedir.

Estetik: Şeffah plak isteyen hastaların birincil olarak estetik kaygıları olduğu gösterilmiştir (Rosvall et al., 2009).

Rahatlık: Tedavinin ilk haftasında şeffah plak tedavisindeki ağrı ve rahatsızlık seviyesi ile sabit apareylerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, Invisalign plaklarının estetiği, çıkarılabilirliği ve küçük boyutu ile sabit apareylerden üstün fonksiyonel ve psikososyal özelliklere sahip olduğu ve ağrıyı önemli ölçüde azalttı bulunmuştur (Miller et al., 2007).

Periodontal sağlık: Periodontitis riski taşıyan yetişkin ortodontik hastaların tedavi planlamasında şeffah plakların dikkate alınması tavsiye edilmiştir. 12 aylık bir çalışma süresi boyunca, sabit bukkal ortodontik apareylerle yapılan tedaviye kıyasla, şeffah plakların düzelmiş periodontal durum ve azalmış periodontopatik bakteri seviyeleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Karkhanechi et al., 2013).

Tedavi süresi ve çekimli tedavi ihtiyacı: Tedavi süresi braketli tedaviye göre biraz daha kısa sürmektedir. İnterproksimal redüksiyon yoluyla interdental boşluk yaratılmakta ve küçük azı dişlerinin çekilmesinden ka-

çınılabilmektedir (Balachandran et al., 2019).

Bilgisayar Destekli Tedavi Planları: Şeffah plak tedavi planlaması bilgisayar destekli yapılmakta, hastalar tedavi sonuçlarını aşama aşama değerlendirebilmekte ve gülümseme estetiğinde gelecekteki gelişmeler için uygulanabilir beklentiler geliştirebilmektedir. Bu yöntem, tedavi sürecindeki tüm varsayımları ortadan kaldırmakta ve insanları tedavilerinin ne kadar iyi çalıştığı ve ileride ne olacağı konusunda bilgilendirmektedir (Beers et al., 2003).

Şeffah Plak Tedavisinin Dezavantajları

Sabit sistemler dahil tüm ortodontik apareylerin mekanik bazı avantajları ve dezavantajları vardır. Şeffah plak sistemlerinin dezavantajları:

- Kısa etki alanı
- Diş hareketinin üç boyutlu kontrolünün zayıf olması
- Dişlerin gövdesel hareketi, rotasyon düzeltimi, ekstrüzyonlar ve dişlerin şiddetli intrüzyonu gibi hareket türlerinde sınırlılıklar
- Bilgisayar destekli tedavi planlaması ve üretiminde kullanılan mevcut sanal diş modellerindeki eksiklikler
- Kooperasyon dikkate alınması gereken en önemli faktördür. Hastalar günde 20-22 saat olacak şekilde plak takarsa sorun olmamaktadır.
- Hizalayıcılar şeffaf ve hafif olduğundan, plak kaybı olabilmektedir; ancak hastalara yemek yerken, temizlik yaparken plakları nasıl kullanacakları ve saklayacakları konusunda dikkatli bir şekilde talimat verildiğinde bu sorunla daha az karşılaşmaktadır.
- Şeffah plak tedavisinin ilk 1-2 gününde dişler hareket ettirildiğinden ağrı olabilmektedir; ancak rahatsızlık hafif bir analjezik ile kontrol altına alınabilmektedir (Balachandran et al., 2019).

Şeffah Plak Tedavisinin Biyomekaniği

Plak tedavisinde diş hareketinin mekaniğini anlamak, daha uygun hasta seçimine ve daha doğru tedavi sıralamasına yol açmakta ve daha iyi sonuçlar elde edilebilmektedir (Drake et al., 2012).

Şeffaf plaklarda hareket mekanizması, yer değiştirme odaklı sistem ve kuvvet odaklı sistem olmak üzere iki farklı açıdan değerlendirilebilir (Boissere et al., 2015; Drake et al., 2012). Yer değiştirme odaklı sistem, temel olarak, tipping veya küçük rotasyonlar gibi basit hareketleri kontrol eder. Dişin bir sonraki aşamadaki konumuna göre plaklar oluşturulur ve diş plak ile aynı hizaya gelene kadar hareketine devam eder. Bu sistemin diş hareketini kontrol etmede daha az etkili olduğu ve kök hareketlerini

gerçekleştirmede yetersiz olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, kuvvet odaklı sistem, diş hareketini kolaylaştırmak için biyomekanik prensipler gerektirir. Plaklar, dişe istenen kuvvetleri uygulamak için tasarlanmıştır. Bu tür kuvvetleri oluşturmak için tasarlanan plakların şeklinin dişin şekli ile aynı olması gerekli değildir. Her bir diş için gereken hareket, bu hareketi gerçekleştirmek için gereken mekanik prensipler ve plak şekli Clincheck® (Align Technology, Santa Clara, CA, ABD) yazılımı ile belirlenir. Hizalayıcının şekli, istenen kuvvetleri (Boissere et al., 2015; Drake et al., 2012; Malik et al., 2013) uygulayabilmek için basınç noktaları veya power ridges aracılığıyla değiştirilir.

Diş Hareketleri

Şeffah plaklar ile iyi şekilde gerçekleştirilen diş hareketleri:

- Tipping
- Kesici dişlerin rotasyonu
- Intruzyon (1–2 diş)
- Ekspansiyon
- Konstruksiyon

İyi yapılamayan diş hareketleri:

• Ekstrüzyon: Bu, gerçekleştirilmesi en zor hareketlerden biri olarak kabul edilir. Undercut alanı oluşturarak hareketi kolaylaştırmak için ataşmanlar gerekmektedir.

• Çekim boşluğunun kapanması sırasında gövdesel hareket: Bunun başlıca nedeni, sistemin boşluk kapanması sırasında dişleri dik tutma konusunda sınırlı bir yeteneğe sahip olmasıdır.

- Tork (labiolingual tip)

• Şiddetli rotasyonlar (20°'den fazla), özellikle küçük azı dişleri ve kanin dişlerinde görülenler: Sheridan (Sheridan & Armbruster, 2005) tarafından yapılan bir araştırma, “düzeltilmemiş rotasyonların” Invisalign kullanan ortodontistlerin karşılaştığı en yaygın sorunlardan biri olduğunu ve genellikle refinement veya sabit aparey ihtiyacıyla sonuçlandığını ortaya koymuştur

• Mesiodistal tip-(Tipping): Ataşmanlar kullanılarak 45°'den fazla hareketler gerçekleştirilebilmektedir.

- Molarların translasyonu
- Kesici dişlerin ekstrüzyonu.

Şeffah plak tedavisi ile diş hareketlerinin etkinliği, planlanan sanal te-

davi ile gerçek tedavi sonucu karşılaştırılarak değerlendirilebilir. Bu bilgiler hizalayıcının iyileştirilmesine yardımcı olabilmekte, gelecekteki tedavi kararlarına rehberlik edebilmekte ve tedavi endikasyonlarını netleştirebilmektedir (Sheridan & Armbruster, 2005).

2005 yılında Djeu ve ark. (Djeu, Shelton, & Maganzini, 2005) Amerikan Ortodonti Kurulu derecelendirme sistemini kullanarak Invisalign hastalarının tedavi sonuçlarını geleneksel sabit diş tellerinin sonuçlarıyla karşılaştıran şeffaf plakların etkinliği üzerine ilk retrospektif kohort çalışmasını gerçekleştirmişlerdir. Her iki sistemin de boşluk kapatma, marjinal ridge seviyelenmesi ve kök paralelleştirmede eşit derecede etkili olduğunu; ancak Invisalign sisteminin, ön-arka uyumsuzlukların düzeltilmesinde, oklüzal temasların ve posterior torkun sağlanmasında yetersiz kaldığını tespit etmişlerdir (Djeu, Shelton, & Maganzini, 2005).

Önceki çalışmaya paralel olarak, Kassas ve ark. (Kassas et al., 2013) şeffaf plak sisteminin hafif ve orta dereceli olgularda arkların hizalanması ve bukkolingual eğimlerin düzeltilmesinde etkin olduğunu ancak ideal oklüzal temasların sağlanmasında yetersiz olduğunu bildirmişlerdir. Oklüzal temaslardaki bozulma, oklüzal düzlemin oturmasına izin vermeyen hizalayıcıların kalınlığından kaynaklanır. Kravitz ve ark. (Kravitz et al., 2009), Invisalign sistemi ile elde edilen diş hareketinin doğruluğunu değerlendirmiş ve öngörülen diş hareketinin sadece %41'inin elde edildiğini bildirmişlerdir. En etkili hareketin lingual konstriksiyon (%47,1), en az gerçekleşen hareketin ekstrüzyon (%29,6) olduğu ve öngörülen rotasyonların yalnızca %33'ünün düzeldiği tespit edilmiştir.

Alt kanin dişi kontrol edilmesi en zor diştir. Weihong ve ark. (Li et al., 2015), Invisalign sisteminin premolar çekimiyle tedavi edilen hafif ila orta dereceli vakalardaki etkinliğini değerlendirmiş ve sabit apareylerle elde edilen tedavi sonuçlarını karşılaştırmıştır. Elde edilen sonuçlar, her iki sistemin de çekim vakalarının tedavisinde kullanılabileceğini ve uygun ataşmanlar kullanılacağı zaman şeffaf plaklarla elde edilen kök angülasyonunun yeterli olduğunu ortaya koymuştur. Ancak unutulmamalıdır ki, ekstraksiyon vakalarının tedavisi deneyim ve kapsamlı sistem bilgisi gerektirir (Hönn & Göz, 2006).

Şeffah Plak Sistemlerindeki Farklılıklar

-Materyal farklılıkları

Plakların biyomekanik özelliklerini etkileyen parametreler, malzemenin özelliklerine, malzemenin kalınlığına ve plakların dişlere tam oturmasına ve çeşitli ataşmanlara bağlıdır (Simon et al., 2014a).

Şeffaf hizalayıcılar, bir hizalayıcı malzeme kullanılarak hizalayıcı şeklinin kademeli olarak değiştirilmesine dayanan bir seri halinde üretilen-

bilmektedir. Bununla birlikte, alternatif sistemlerde, sıralı bir dizide veya farklı malzemelerin tekrarlanan bir döngüsünde farklı hizalayıcı malzemeler kullanılabilir.

-Şeffah plak şekillendirme yöntemleri

Bazı şeffah hizalayıcılar vakumla bazıları basınçla şekillendirilir. Nahoum (Nahoum, 2014), vakumla ve basınçla şekillendirilmiş cihazlar arasında bir ayrım yapmıştır. Her iki yöntem de hizalayıcıları oluşturmak için hava basıncını kullanırken, vakumlu şekillendirme 3-14 psi’lik basınçları, diğer yöntem ise 100 psi’ye kadar olan basınçları içermektedir. Daha yüksek basınçlarda, kuvvet üretimi geliştirilebilmekte ve daha yüksek hassasiyetle üretim sağlanabilmektedir (Nahoum, 2014).

-İlk veri alımı

Şeffah plaklar klinisyen tarafından laboratuvara gönderilen alçı modeller veya ölçüler üzerinden, 3D tarama teknolojisi kullanılarak üretilmektedir. Çeşitli kaynaklardan üretilen modeller, sırasıyla, manuel ayar veya CAD-CAM teknolojisi ile çeşitli tedavi aşamalarına göre üretilmektedir. Bazı ürünler, klinisyenin 3D baskı yoluyla kendi bünyesinde üretilmekte, bazıları ise merkezi bir laboratuvarda yapılmakta ve buradan sevk edilmektedir (Weir, 2017).

-Diş retansiyonu stratejileri

Bazı plak sistemleri diş ve diş eti kaplaması içermekte (Clear Correct, K-line, Originator, Prestige) ve bunun çok iyi bir retansiyon sağladığı iddia edilmektedir (Cowley, 2012). Diğerleri tamamen diş retansiyonu içermektedir. Bu sistemlerin her ikisinde de, plak tutuculuğunu artırmak ve daha karmaşık hareketlerin gerçekleştirilmesine izin vermek için ataşmanlar kullanılabilir. Hizalayıcı materyallerin dişeti kaplamasının periodontal etkileri olabilmekte, tamamen diş retansiyonlu apareyler ise, apareyin tutunmasına yardımcı olmak için bonded ataşmanlar içermektedir.

-Şeffah plak tedavilerinde kullanılan ataşmanlar ve hizalayıcı geometrilerindeki değişiklikler

Bonded reçine ataşmanları, bazı hizalayıcı sistemlerinde bulunmaktadır. Ataşmanlar, apareyleri dişler üzerinde tutmak ve plakların öngörülelemeyen diş hareketlerini gerçekleştirme yeteneğini artırmak için eklenmiştir (Djeu, Shelton, Maganzini, et al., 2005). Öngörülelemeyen hareketler arasında dişlerin ekstrüzyonu, küçük lateral dişlerin veya kanin ve premolarların rotasyonu, bir dişin gömülmesi için komşu dişin veya daha uzakta-ki dişlerin ankraj alındığı ancak bu dişlerin kuren boylarının küçük olduğu durumlar, mezio-distal kök tipingi gibi hareketler bulunmaktadır. Ataşmanların kullanılmadığı durumlarda diş hareketleri sınırlı kalmaktadır.

2014 yılında Simon ve ark. retrospektif bir çalışmada, küçük azı rotasyonlarını analiz etmiş ve ataşman kullanımının plak başına hareket miktarını ve tedavinin öngörülebilirliğini önemli ölçüde etkilediği sonucuna varmıştır (Simon et al., 2014a).

Farklı hizalayıcı geometrileri incelendiğinde, ataşmanlar yerine kuvvetleri iletmek için hizalayıcı içindeki basınç noktalarının kullanımı, lingual kök torku için power ridges kullanımı ve ısıрма rampaları ile karşılaşılmaktadır. 2010'dan bu yana Align Teknolojisi, Invisalign cihazları tarafından kuvvet iletiminin etkinliğini artıran bir dizi geliştirilmiş ataşman tasarımı, basınç noktası, power ridges, ısıрма rampası ve diğer değiştirilmiş hizalayıcı geometrilerini üretmiştir.

Şeffaf Plak Tedavisi Sonrası Stabilité

Her türlü ortodontik tedavide olduğu gibi şeffaf plaklar konusunda da tartışılması gereken en önemli konulardan biri stablitedir. Bir çalışmada, şeffaf plaklar ve sabit ortodontik apareylerle tedavi edilen vakaların pekiştirme sonrası stabilite sonuçları, Amerikan Ortodonti Kurulu objektif derecelendirme sistemi kullanılarak araştırılmıştır (Kuncio et al., 2007). Çalışmada pekiştirme protokolü, yalnızca çıkarılabilir termoplastik Essix tutucuların kullanımını içermektedir ve hiçbir sabit tutucu uygulanmamıştır. Pekiştirme fazından 3 yıl sonra total dizilim açısından her iki grupta da nüks görülmüş, ancak maksiller anterior seviyeleme sabit apareyler grubunda stabil görünürken Invisalign grubunda nüks göstermiştir (Kuncio et al., 2007).

Zheng ve ark.'nın (Zheng et al., 2017) meta analiz çalışmasına göre şeffaf plakların etkinliği hakkındaki kanıtlar eksiktir. Hafif ila orta dereceli vakalarda tedavi süresinin kısa sürmesi ve klinikte geçirilen zamanın az olması şeffah plakların konvansiyonel yöntemlere göre avantajları arasındadır. Tedavi sonrası stabilite açısından iki sistem arasında anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Zheng et al., 2017). Başka bir çalışmada Invisalign sisteminin mükemmel iyileşme sağlamada konvansiyonel yöntemlere göre daha az etkili olabileceği belirtilmiştir (Gu et al., 2017).

Şeffaf Plak Tedavisinde Kök Rezorpsiyonu

Kök rezorpsiyonu, ortodontik tedavinin başlıca sorunlarından biridir ve sabit ortodontik apareylerin apikal seviyede aşırı basınç oluşturarak eksternal apikal kök rezorpsiyonuna neden olabileceği bilinmektedir (Iglesias-Linares et al., 2017; Linge & Linge, 1991; Roscoe et al., 2015; Tieu et al., 2014). Bununla birlikte, birkaç çalışma termoplastik plakların neden olduğu kök rezorpsiyonunu değerlendirmiştir. 2017 yılında yapılan ve yalnızca üç çalışmayı içerebilen sistematik bir inceleme, plakların ortodontik tedavi sonunda kök rezorpsiyonuna neden olabileceği sonucuna varmıştır;

ancak rezorpsiyonun insidansı ve şiddeti sabit apareylere göre daha düşük bulunmuştur (Gay et al., 2017). Başka bir çalışmada plakların neden olduğu kök rezorpsiyonu insidansının, hafif ortodontik kuvvetlerin neden olduğu rezorpsiyona benzer olduğu belirtilmiştir (Zheng et al., 2017). Gay ve ark. (Gay et al., 2017), şeffaf plak tedavisinden sonra dişlerin %41,81’inde apikal kök rezorpsiyonu belirtileri görüldüğünü, en çok etkilenen dişlerin ise üst ve alt kesici dişler olduğunu belirtmişlerdir. Fang ve ark.’nın (Fang et al., 2019) yaptıkları sistematik derlemeye göre şeffah plaklarla yapılan tedavilerde sabit apareylerle yapılan tedavilere kıyasla eksternal kök rezorpsiyonun anlamlı seviyede daha az olduğu tespit edilmiştir.

Klinisyenlerin Şeffah Plak Sistemlerini Değerlendirirken Dikkat Etmesi Gereken Faktörler

Plakların diş etini kaplaması gerektirip gerektirmediği önemli bir sorudur. Dişeti kaplaması, ataşmanların yokluğunda tutuculuğunu artırmak için önemlidir, ancak potansiyel olarak daha az hijyeniktir ve daha fazla ölçü/tarama ayrıntısı gerektirmektedir.

Plakların alçı modelle mi, ölçüyle mi yoksa ağız içi taramayla mı elde edilmesi gerekir sorusu değerlendirilmelidir. Ağız içi taramalar, plak üretimi ve uyumu için en doğru taramalardır (Goonewardene et al., 2008; Leifert et al., 2009; Mullen et al., 2007; Torassian et al., 2010).

Basınçla üretilen sistemlerde hizalayıcı uyumu genellikle daha iyi olmaktadır. Tedavi edilecek maloklüzyon şiddetine göre hizalayıcı sayısında sınırlama olup olmadığı önemli bir konudur. Ataşmanların yapısı, hizalayıcıların geometrik şekil değişiklikleri (basınç noktaları, power ridges, ısırma rampaları, elastik kesikler vb.) değerlendirilmelidir.

Sonuç

Şeffah plaklar hızla gelişmektedir. Ancak karmaşık vakaların tedavisinde, şeffah plakların kullanımının sabit apareyler kadar etkili olduğu gösterilmemiştir. Plakların çıkarılabilir olması hasta uyumuna bağlıdır. Hastaları şeffaf plak tedavisinin veya şeffaf diş braketlerinin avantaj ve dezavantajları konusunda eğitmek, önemli ölçüde hastanın beklentilerine ve uyumuna bağlıdır. Tedavi sorumluluğu olmayan, ayda bir muayeneyi ziyaret etme konusunda uyumlu olan ve tüm tedavinin ortodontist tarafından yapılmasını isteyen hastalarda tavsiye edilebilecek tek tedavi geleneksel sabit apareylerdir. Hastalar şeffaf plak tedavisi istiyorsa, artıları ve eksileri onlara sunulmalıdır. İlk olarak uyumun önemi ve sorumluluklar anlatılmalıdır. Plakları sürekli olarak günde 22–23 saat takmaları ve sadece yemek yemek için çıkarmaları gerektiği belirtilmelidir. Plak sistemlerinin faydalarından biri, düz dişlerin nihai sonucunu ve diş hareketinin birçok aşamadaki ilerlemesini görme fırsatıdır.

Kaynaklar

- Balachandran, S., Ganapathy, D., & Ramanathan, V. (2019). Clear aligners-A review. *Drug Invention Today*, 12(10).
- Barone, S., Paoli, A., Razionale, A. V., & Savignano, R. (2017). Computational design and engineering of polymeric orthodontic aligners. *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, 33(8), e2839.
- Beers, A., Choi, W., & Pavlovskaia, E. (2003). Computer-assisted treatment planning and analysis. *Orthodontics Craniofacial Research*, 6, 117-125.
- Boissere, W., Morton, J., & Ojima, K. (2015). Aligner Orthodontics: Diagnostics, Biomechanics Planning and Treatment. In: Hanover: Quintessence Publishing.
- Boyd, R. L., Miller, R., & Vlaskalic, V. (2000). The Invisalign system in adult orthodontics: mild crowding and space closure cases. *Journal of Clinical Orthodontics*, 34(4), 203-212.
- Buschang, P. H., Shaw, S. G., Ross, M., Crosby, D., & Campbell, P. M. (2014). Comparative time efficiency of aligner therapy and conventional edgewise braces. *The Angle Orthodontist*, 84(3), 391-396.
- Cowley, D. P. (2012). Effect of Gingival Margin Design on Retention of Thermoformed Orthodontic Aligners.
- d'Apuzzo, F., Perillo, L., Carrico, C. K., Castroflorio, T., Grassia, V., Lindauer, S. J., & Shroff, B. (2019). Clear aligner treatment: different perspectives between orthodontists and general dentists. *Progress in Orthodontics*, 20(1), 1-9.
- Djeu, G., Shelton, C., & Maganzini, A. (2005). Outcome assessment of Invisalign and traditional orthodontic treatment compared with the American Board of Orthodontics objective grading system. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 128(3), 292-298.
- Djeu, G., Shelton, C., Maganzini, A. J. A. j. o. o., & orthopedics, d. (2005). Outcome assessment of Invisalign and traditional orthodontic treatment compared with the American Board of Orthodontics objective grading system. 128(3), 292-298.
- Drake, C., McGorray, S., Dolce, C., Nair, M., & Wheeler, T. (2012). Orthodontic tooth movement with clear aligners. In. ISRN Dent: PUBMED.
- Fang, X., Qi, R., & Liu, C. (2019). Root resorption in orthodontic treatment with clear aligners: A systematic review and meta-analysis. *Orthodontics Craniofacial Research*, 22(4), 259-269.
- Gay, G., Ravera, S., Castroflorio, T., Garino, F., Rossini, G., Parrini, S., Deregibus, A. (2017). Root resorption during orthodontic treatment with Invisalign®: a radiometric study. *Progress in Orthodontics*, 18(1), 1-6.
- Goonewardene, R. W., Goonewardene, M. S., Razza, J. M., & Murray, K. (2008).

- Accuracy and validity of space analysis and irregularity index measurements using digital models. *Australian Orthodontic Journal*, 24(2), 83-90.
- Gu, J., Tang, J. S., Skulski, B., Fields Jr, H. W., Beck, F. M., Firestone, A. R., Deguchi, T. (2017). Evaluation of Invisalign treatment effectiveness and efficiency compared with conventional fixed appliances using the Peer Assessment Rating index. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 151(2), 259-266.
- Hennessy, J., & Al-Awadhi, E. A. (2016). Clear aligners generations and orthodontic tooth movement. *Journal of Orthodontics*, 43(1), 68-76.
- Hönn, M., & Göz, G. (2006). A premolar extraction case using the Invisalign® system. *Journal of Orofacial Orthopedics/Fortschritte der Kieferorthopädie*, 67(5), 385-394.
- Iglesias-Linares, A., Sonnenberg, B., Solano, B., Yañez-Vico, R.-M., Solano, E., Lindauer, S. J., & Flores-Mir, C. (2017). Orthodontically induced external apical root resorption in patients treated with fixed appliances vs removable aligners. *The Angle Orthodontist*, 87(1), 3-10.
- Karkhanechi, M., Chow, D., Sipkin, J., Sherman, D., Boylan, R. J., Norman, R. G., Cisneros, G. J. (2013). Periodontal status of adult patients treated with fixed buccal appliances and removable aligners over one year of active orthodontic therapy. *The Angle Orthodontist*, 83(1), 146-151.
- Kassas, W., Al-Jewair, T., Preston, C. B., & Tabbaa, S. (2013). Assessment of Invisalign treatment outcomes using the ABO Model Grading System. *Journal of the World Federation of Orthodontists*, 2(2), e61-e64.
- Kravitz, N. D., Kusnoto, B., BeGole, E., Obrez, A., & Agran, B. (2009). How well does Invisalign work? A prospective clinical study evaluating the efficacy of tooth movement with Invisalign. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 135(1), 27-35.
- Kuncio, D., Maganzini, A., Shelton, C., & Freeman, K. (2007). Invisalign and traditional orthodontic treatment postretention outcomes compared using the American Board of Orthodontics objective grading system. *The Angle Orthodontist*, 77(5), 864-869.
- Lagravere, M. O., & Flores-Mir, C. (2005). The treatment effects of Invisalign orthodontic aligners: a systematic review. *The Journal of the American Dental Association*, 136(12), 1724-1729.
- Leifert, M. F., Leifert, M. M., Efstratiadis, S. S., & Cangialosi, T. J. (2009). Comparison of space analysis evaluations with digital models and plaster dental casts. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 136(1), 16. e11-16. e14.
- Li, W., Wang, S., & Zhang, Y. (2015). The effectiveness of the Invisalign appliance in extraction cases using the the ABO model grading system: a multicenter randomized controlled trial. *International Journal of Clinical Experimental Medicine*, 8(5), 8276.

- Linge, L., & Linge, B. O. (1991). Patient characteristics and treatment variables associated with apical root resorption during orthodontic treatment. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 99(1), 35-43.
- Malik, O. H., McMullin, A., & Waring, D. T. (2013). Invisible orthodontics part 1: invisalign. *Dental Update*, 40(3), 203-215.
- McMorrow, S. M., & Millett, D. T. (2017). Adult orthodontics in the Republic of Ireland: specialist orthodontists' opinions. *Journal of Orthodontics*, 44(4), 277-286.
- Miles, P. (2013). 2013 survey of Australian orthodontists' procedures. *Australian Orthodontic Journal*, 29(2), 170-175.
- Miller, K. B., McGorray, S. P., Womack, R., Quintero, J. C., Perelmuter, M., Gibson, J., Wheeler, T. T. (2007). A comparison of treatment impacts between Invisalign aligner and fixed appliance therapy during the first week of treatment. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 131(3), 302. e301-302. e309.
- Mullen, S. R., Martin, C. A., Ngan, P., & Gladwin, M. (2007). Accuracy of space analysis with emodels and plaster models. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 132(3), 346-352.
- Nahoum, H. I. (2014). Forces and moments generated by removable thermoplastic aligners. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 146(5), 545-546.
- Roscoe, M. G., Meira, J. B., & Cattaneo, P. M. (2015). Association of orthodontic force system and root resorption: a systematic review. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 147(5), 610-626.
- Rossini, G., Parrini, S., Castroflorio, T., Deregibus, A., & Debernardi, C. L. (2015). Efficacy of clear aligners in controlling orthodontic tooth movement: a systematic review. *The Angle Orthodontist*, 85(5), 881-889.
- Rosvall, M. D., Fields, H. W., Ziuchkovski, J., Rosenstiel, S. F., & Johnston, W. M. (2009). Attractiveness, acceptability, and value of orthodontic appliances. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 135(3), 276. e271-276. e212.
- Sheridan, J., & Armbruster, P. (2005). Clear plastic appliances for retention and tooth movement In: Graber TM, Vanarsdall RLJ, Vig KW, editors. In (pp. 1153-1176). *Orthodontics: Current principles techniques*. St. Louis: Elsevier Mosby.
- Simon, M., Keilig, L., Schwarze, J., Jung, B. A., & Bourauel, C. (2014a). Forces and moments generated by removable thermoplastic aligners: incisor torque, premolar derotation, and molar distalization. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 145(6), 728-736.
- Simon, M., Keilig, L., Schwarze, J., Jung, B. A., & Bourauel, C. (2014b). Treatment outcome and efficacy of an aligner technique—regarding incisor

torque, premolar derotation and molar distalization. *BMC Oral Health*, 14(1), 1-7.

- Tamer, İ., Öztaş, E., & Marşan, G. (2019). Orthodontic treatment with clear aligners and the scientific reality behind their marketing: a literature review. *Turkish Journal of Orthodontics*, 32(4), 241.
- Tieu, L. D., Saltaji, H., Normando, D., & Flores-Mir, C. (2014). Radiologically determined orthodontically induced external apical root resorption in incisors after non-surgical orthodontic treatment of class II division 1 malocclusion: a systematic review. *Progress in Orthodontics*, 15(1), 1-13.
- Torassian, G., Kau, C. H., English, J. D., Powers, J., Bussa, H. I., Marie Salas-Lopez, A., & Corbett, J. A. (2010). Digital models vs plaster models using alginate and alginate substitute materials. *The Angle Orthodontist*, 80(4), 662-669.
- Weir, T. (2017). Clear aligners in orthodontic treatment. *Australian Dental Journal*, 62, 58-62.
- Wong, B. H. (2002). Invisalign a to z. *American Journal of Orthodontics Dentofacial Orthopedics*, 121(5), 540-541.
- Zheng, M., Liu, R., Ni, Z., & Yu, Z. (2017). Efficiency, effectiveness and treatment stability of clear aligners: A systematic review and meta-analysis. *Orthodontics Craniofacial Research*, 20(3), 127-133.

“

Bölüm 7

PEDİATRİDEN GERİATRİYE SES DEĞİŞİMİ

*Mümüne Merve PARLAK¹,
Cansu YILDIRIM²*

”

1 Dr.Dkt., Hacettepe Üniversitesi, Dil ve Konuşma Terapisi Bölümü, Ankara,
ORCID: 0000-0002-1603-2360

2 Uzm. Dkt., Bakırçay Üniversitesi, Dil ve Konuşma Terapisi Bölümü, İzmir,
ORCID: 0000-0002-9957-3006

GİRİŞ

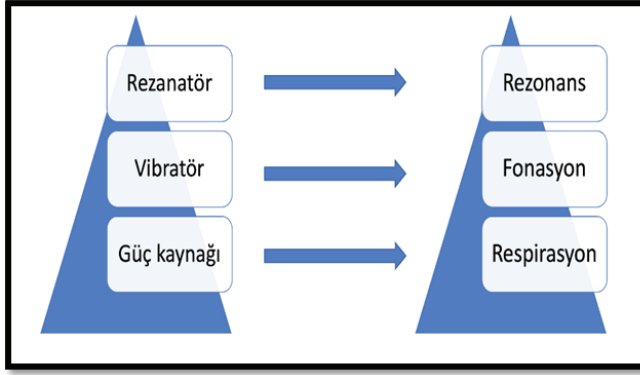
İletişim insanlar arasında duygu, düşünce, bilgi veya iletinin aktarılması olup şemsiye bir terim olarak tanımlanmaktadır. Ses, sözel iletişimde insanın iletilerini konuşma yoluyla ifade etmesinde temel yetilerden biridir (Baş B, 2022; Bengisu, Topbaş, & Koçak, 2008). Ses bir enerji olup, enerji kaynağı tarafından yayılan vibrasyonun maddesel ortamda sıkışıp gevşemesi ile oluşmaktadır. Aynı zamanda ses kişiye özgü olup; kişinin kimliği, emosyonel durumu, fiziksel sağlığı gibi özellikler açısından da bilgi vermektedir (Boone, McFarlane, Von Berg, & Zraick, 2010; Gölaç et al., 2022).

Sesin oluşumu maddesel bir ortamda titreşim yapabilen ses kaynağına ve ses dalgalarının yayılabileceği iletken bir ortama bağlıdır. Sesin oluşumunda insan vücudunun farklı anatomik yapıları ve fizyolojik sistemleri görev almakta ve oluşum için güç kaynakları, vibratör ve rezonatör bölge-leri gerektirmektedir. İnsan sesi abdomen ve göğüs ile birlikte baş ve bo- yunda konumlanan birçok kas ve organın koordinasyonu ile oluşmaktadır (İncebay, Köse, Aydınli, & Özcebe, 2020; Kılıç, 2002; Robert T Sataloff, Heman-Ackah, & Hawkshaw, 2007).

İnsan sesi respirasyon (solunum), fonasyon (sesleme), rezonans olmak üzere 3 temel evrede incelenmektedir ve oluşum için sırasıyla jeneratör (güç kaynağı), vibratör, rezonatör olarak sınıflandırılabilen ana sistemlerin koordineli çalışmasını gerektirmektedir (Özkan & Kayıkcı, 2016; Robert Thayer Sataloff, 2017) (Şekil 1).

Jeneratör sistem; vokal foldların titreşimi için gereken hava basıncını oluşturup regüle edilmesini sağlamak ve akciğerler, diyafram kası, abdominal ve torakal kaslardan meydana gelmektedir. Vibratör sistemde primer ses oluşumu gerçekleştirilmekte; sistem larenks ve vokal foldlardan oluş- maktadır. Rezonatör sistem ise vokal foldlarda oluşan ham sesin amplifiye ve modifiye edilmesini sağlamak ve supraglottik larenks, farenks, oral ve nazal kavite, paranazal sinüslerden oluşmaktadır (Milutinović, Mijić, & Djurica, 1997; R. Sataloff, 1991).

Sinir sistemi de ses oluşumunda görev alan kas hareketlerinin koordi- nasyonunu sağlamakta, otonom sinir sistemi ile de sekresyonların düzen- lenmesi gibi rolleri üstlenerek ses oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Bu sebeple sesin oluşumunda birçok anatomik ve nörolojik sistemin bir arada, sağlıklı ve koordineli hareketi gerekmektedir (Kandogan & Seifert, 2005; Ögüt, 2002). Bu kitap bölümünde bu bağlamda sesin sağlıklı yaşlanmada anatomik, fizyolojik, akustik ve algısal değişimi incelenecektir.

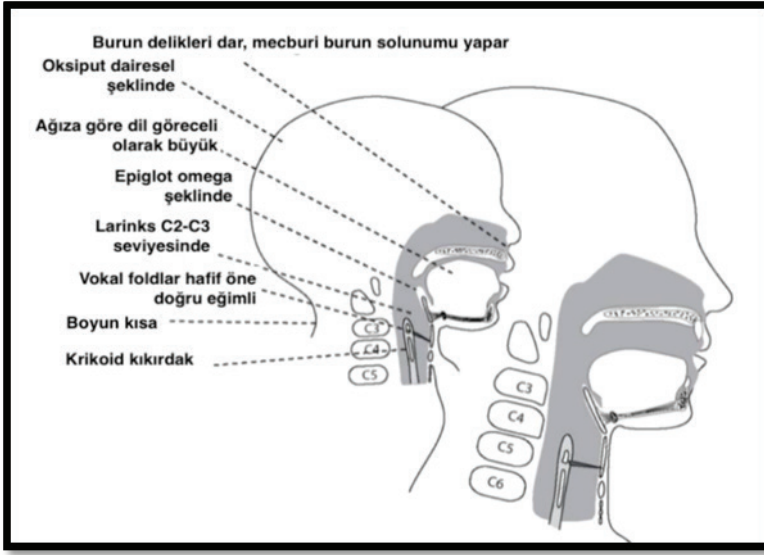


Şekil 1: Sesi oluşturan sistemler(Özkan & Kayıkcı, 2016; Robert Thayer Sataloff, 2017)

PEDİATRİK LARENKSİN ANATOMİ VE FİZYOLOJİSİ

Fertilizasyon ile embriyonik gelişim sürecinde oral kavite, farenks, larenks gelişmektedir. Gebeliğin üçüncü haftasına kadar embriyonun gelişmekte olan bu doku ve organlarının köken alabileceği üç temel tabaka bulunmaktadır. Ektoderm tabakasından santral sinir sistemi, epidermis köken almakta iken; mezoderm tabakasından düz kas, damarlar, konnektif doku, iskelet yapısı köken almaktadır. Endoderm tabakadan ise larenks, solunum ve sindirim sistemi köken almaktadır (Arvedson, Brodsky, & Lefton-Greif, 2019). Gebeliğin 10 ila 11. haftalarına gelindiğinde larenksin temel yapılarının anatomik gelişimlerinin çoğunu tamamladığı görülmektedir(Andrews & Summers, 2002). Üçüncü aya yaklaştığında başlayan fetal solunum bağımsız fonksiyon gösterebilecek durumda bulunmamaktadır. Gebeliğin beşinci ve altıncı ayları içerisinde larenks kıkırdakların gelişimi ile yutma ve solunum fonksiyonların geliştiği görülmektedir (Arvedson et al., 2019; Bluestone, Healy, & Simons, 2014; Prakash & Johnny, 2015).

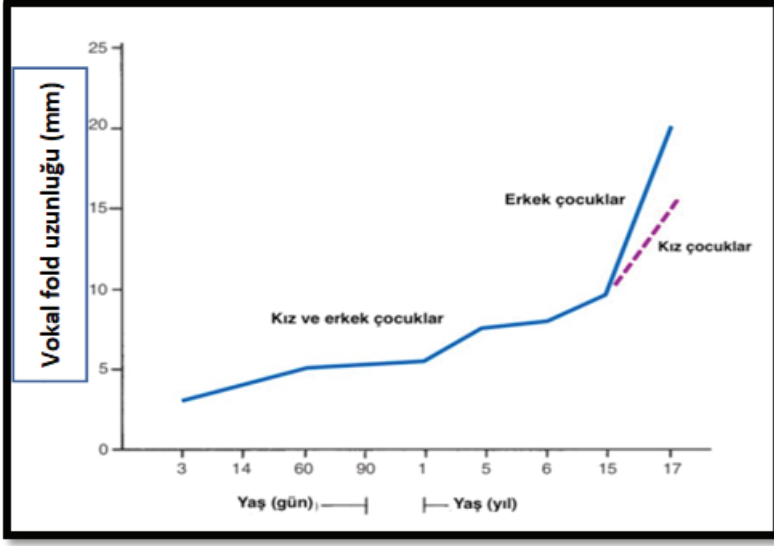
Doğumdan önce ses ve konuşma üretiminde görevli olan yapıların embriyolojik gelişimi tamamlansa da, doğumdan sonra da yapıların gelişimi devam etmektedir. Mevcut gelişimin anatomik ve fizyolojik farklılıklar şeklinde olduğu bildirilmektedir (Arvedson et al., 2019). Yeni doğan bebeğin büyük bir kafası, küçük bir ağız ve mandibulası bulunmaktadır. Yanaklarında dengeleyici yağ pedleri bulunmakta ve dil neredeyse tüm oral kaviteyi doldurmaktadır (McAllister & Sjölander, 2013). Larengeal yapılardan epiglottik kıkırdak omega şeklinde olup adölesan döneme kadar normal yetişkin konfigürasyonuna ulaşmamaktadır. Hyoid kemik daha önde ve yukarıda, tiroid kıkırdak ile birbirine bağlı bulunmaktadır (Şekil 2) (Whitten, 2016).



Şekil 2: *Pediyatrik anatomik farklılıklar (Whitten, 2016)*

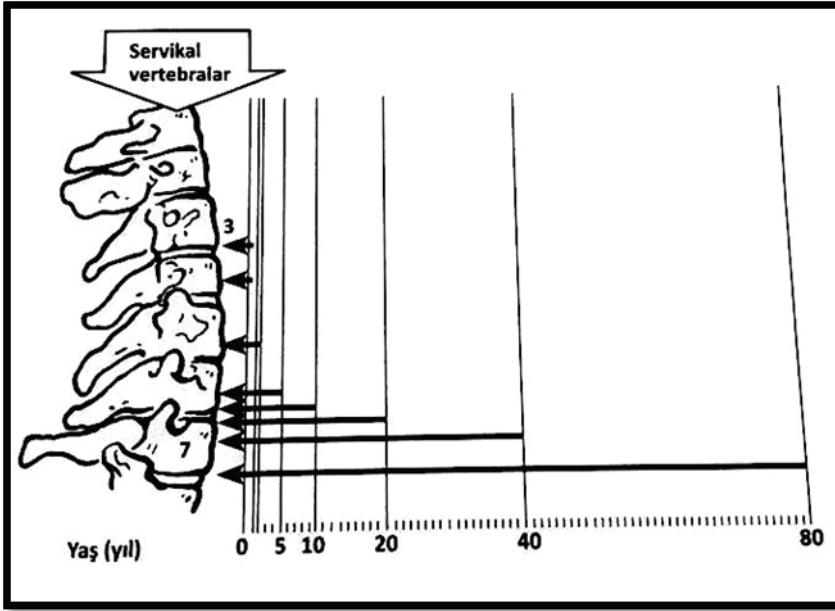
Konumu sayesinde dil hareketleri larenkse iletelebilmektedir. Gelişimin sürmesi ile larenks aşağı inmeye başlamakta ve dil ile larenks arasındaki kaslarda da farklılaşma görülmektedir. Dil larenksten bağımsız hareket ettikçe oral hareketler gelişmekte ve konuşma sesi üretimi için zemin hazırlanmaktadır (Seikel, Drumright, & King, 2015). Ayrıca fonasyonun kaynağı olan respiratuar fonksiyonda yaşla birlikte gelişmekte ve respirasyon süresi uzamaktadır. Aynı şekilde yaş ile vital ve toplam akciğer kapasitesi artmaktadır (Kent, 1994).

Pediyatrik larenks, yetişkin larenks boyuna göre daha kısadır. Larenks-teki kıkırdaklar ve vokal foldlar çocuk olgunlaştıkça değişmektedir ve bu değişiklikler boyut, şekil ve anatomik yapıları içermektedir (McAllister & Sjölander, 2013). Yeni doğmuş bir bebekte vokal foldların toplam uzunluğu 2,5 ile 8 mm arasında ölçülmüştür. Şekil 3’de yaş ile birlikte vokal foldların uzunluğunun değişimi gösterilmektedir (Seikel et al., 2015).



Şekil 3: Vokal foldların uzunluğunun değişimi (Seikel et al., 2015).

Doğumda larenks boyun bölgesinde yüksek ve yaklaşık üçüncü servikal vertebra (C3) seviyesinde bulunmaktadır. Yenidoğanlarda larenksin daha yukarıda konumlanmasından dolayı velum (yumuşak damak) ve epiglotik kıkırdak birbirine daha yakın ve yetişkinlere göre daha kısa vokal yola (ses yolu) sahiptir. Yapıların birbirine yakın olması beslenme ve solunum fonksiyonunun eş zamanlı yürütmesine olanak sağlamaktadır (I., 2020; McAllister & Sjölander, 2013). Larenks beş yaşına kadar yaklaşık C5-C6 seviyesine inmekte ve bu iniş kademeli olarak devam etmektedir. 15-20 yaşları arasında ise larenks yaklaşık C6-C7 seviyelerine gelmektedir ve bu iniş her iki cinsiyette de yaşam boyunca devam etmektedir (Robert Thayer Sataloff, 2017; Robert T Sataloff et al., 2007). Şekil 4’de yaş ile birlikte larenksin konumunun değişimi gösterilmektedir (Aranson A. E., 2012).



Şekil 4: Yaşla birlikte larenksin konumunun değişimi (Aranson A. E., 2012).

Doğumda tiroid kıkırdağın açısı erkeklerde yaklaşık 110° , kadınlarda ise 120° 'dir. Bu özellikler adölesan döneme kadar sabit kalmaktadır (Robert Thayer Sataloff, 2017; Robert T Sataloff et al., 2007). Adölesan döneminde erkeklerde laminalar arasındaki açı 90° 'ye düşerken kadınların laminaları arasındaki açıda değişiklik olmamaktadır. Ek olarak hyoid kemik yeni doğan bebeklerde kıkırdak yapısında iken, iki yaş ve sonrasındaki yetişkinlik dönemi boyunca kemikleşmeye devam etmektedir (Morrison, Nichol, & Rammage, 2013).

Çocukluk döneminde vokal foldların anatomik boyut değişikliklerinin yanı sıra histolojik yapısında da önemli farklılıklar görülmektedir. Yeni doğan dönemde vokal foldların yarısı membranöz yapıdan diğer yarısı kıkırdak dokudan oluşmakta ancak bu oran yaş ile değişmektedir (Aydinli, Özcebe, & İncebay, 2019; Boone et al., 2010; Rubin, Sataloff, & Korovin, 2014). Ayrıca gelişimini tamamlamış vokal fold beş katmanlı (epitel tabaka, lamina propriyanın yüzeyel, orta ve derin tabakaları, tiroaritenoid kas tabakası) bir yapıya sahiptir. Vokal foldun en dışında alt katmanları korumak üzere epitel tabaka bulunmaktadır. Epitel dokunun altında lamina propriya bulunmakta ve lamina propriya da çeşitli katmanlara ayrılmaktadır (Chan, Fu, Young, & Tirunagari, 2007; Levendoski, Leydon, & Thibeault, 2014). Yenidoğan döneminde lamina propriya tek katmanlı bir hücre yapısında bulunmaktadır ve henüz gelişimini tamamlamamış az sayıda elastin lifler içermektedir (Moore & Thibeault, 2012; Rubin et al., 2014).

Vokal foldlarda iki farklı katmanı iki ila beşinci aylarda görülmeye başlar-ken, üç katmanlı yapısı gebeliğin on birinci ayında görülmeye başlamaktadır. Lamina propriyanın orta ve derin tabakasında bulunan vokal ligament dört yaşında gözlenirken, üç katmanlı yapısı yedi yaşta gözlenmektedir (Hartnick, Rehbar, & Prasad, 2005; Rubin et al., 2014). Lamina propriya-nın yetişkin formuna ulaşması ise on yaş ve üzeri dönemde görülmektedir (Hartnick et al., 2005).

Fizyolojik açıdan farklılıklar incelendiğinde çocuklarda vokal fold maksimum titreşim noktasının daha anteriorda olduğu görülmektedir. Bu fizyolojik farklılığın çocuklarda vokal fold nodülünün olduğu bölgede farklılığa sebep olduğu bildirilmektedir (Morrison et al., 2013). Ek olarak ilk vokalizasyonlar doğumdan önce gerçekleşebilse de doğum sonrası bebeğin çıkardığı ağlama sesi çıkarılan ilk vokal ifade olarak kabul edil-mektedir. Bebekler ağlama sesini yaşamın ilk yılı boyunca çevreye farklı emosyonel içerik sinyalleri verecek şekilde modüle etmektedir (McAllister & Sjölander, 2013; Robert Thayer Sataloff, 2017). Ağlama sesinin frekan-sı (F0) ortalama 500 Hz civarındadır. Bu dönemde larenksin hareketliliği öncelikle vertikal hareketlerle sınırlıdır ve larenksin görünümü primatla-rinkine (maymunlar) çok benzemektedir. Çocuk büyüdükçe, konuşmanın ortalama temel frekansı giderek düşmekte ve 8 yaşına gelindiğinde yak-laşık 275 Hz olmaktadır. Adölesan döneme kadar, erkek ve kadın temel frekansları yaklaşık olarak aynıdır. Ancak adölesan döneminde cinsiyete bağlı temel frekansta farklılaşmanın olduğu görülmektedir. Erkeklerde or-talama F0'daki düşüş yaklaşık 12 semiton (ST), kızlarda ise 3 ila 4 ST'dir (McAllister & Sjölander, 2013). Türk çocuklarda ortalama temel frekans değerleri Tablo 1'de gösterilmektedir (Akmese, Kayikci, & Atas, 2012).

Tablo 2: Farklı yaşlardaki Türk çocuklarında ortalama temel frekans değerleri

YAŞ	KIZ	ERKEK
4	307.028±39.78	302.54±29.91
5	313.47±41.73	284.29±25.26
6	278.11±30.99	289.74±37.69
7	306.48±42.84	272.34±39.93
8	291.38±41.63	286.46±32.30
9	266.17±18.18	260.64±13.91
10	275.00±19.09	259.47±17.55
11	271.02±14.12	256.30±23.51
12	252.40±19.97	236.07±17.45
13	248.16±9.28	216.41±11.58
14	232.51±9.00	156.87±15.67

Çocukluk döneminde fizyolojik frekans aralığı (çocuğun üretebileceği en yüksek ve en düşük sesler) oldukça sabit kalmaktadır. Ancak, müzikal frekans aralığı artmaktadır; diğer bir deyişle, çocuk frekans aralığının artan bir yüzdesi boyunca müzikal olarak kabul edilebilir sesler üretebilir hale gelmektedir (Robert Thayer Sataloff, 2017).

ADÖLESAN DÖNEMİ VE SES

Adölesan dönemindeki ses değişiklikleri, larengeal anatomide ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişimiyle eşzamanlı olarak meydana gelen değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Erkek vokal foldları 4 ila 11 mm veya %60'a varan oranda büyürken, kadın vokal foldları 1.5 ila 4 mm veya %34'e varan oranda büyümektedir. Vokal foldların bağ dokusu katmanları çocukluk boyunca aşamalı olarak gelişmektedir. Yüzeyel ve ara katmanlar, 16 yaşına gelindiğinde olgun bir vokal ligament olarak tanımlanmaktadır (Robert Thayer Sataloff, 2017).

Literatür incelendiğinde ses değişiminin başlama zamanı ve süresinin çalışmalara göre farklılık gösterdiği görülmektedir. Farklılığın muhtemel bir sebebi ses değişimini ölçmek ve tanımlamak için kullanılan tekniklerin çalışmalarda değişiklik göstermesidir. Adölesan dönem genellikle Amerikalı kadınlarda 8 ila 15 yaşları arasında, Amerikalı erkeklerde ise 9 ½ ila 14 yaşları arasında başlamaktadır. Genel olarak incelendiğinde ise kadınlarda 12 ila 16 ½ yaşlarında, erkeklerde ise 13 ½ ila 18 yaşlarında tanımlanmaktadır. Ses değişimi en çok 12 ½ ila 14 yaşları arasında görülmektedir ve genellikle her iki cinsiyette de 15 yaşına kadar tamamlanmaktadır. Sesin değişimi genellikle yaklaşık olarak 1 ½ yıl sürer ancak 3 yıla kadar da uzayabilmektedir. Sesin değişimi larengeal büyüme nedeniyle meydana gelmektedir (McAllister & Sjölander, 2013; Spazzapan, Marino, Cardoso, Berti, & Fabron, 2019). Erkek tiroid kıkırdığının açısı 90°'ye düşerken, kadın tiroid kıkırdığı açısı 120°'de kalmaktadır. Her iki cinsiyette de epiglotik kıkırdak büyüyüp düzleşmekte ve yükselmekte; larengeal mukoza daha güçlü ve kalın hale gelmektedir. Adölesan döneminde, kadın sesi genellikle yaklaşık 2,5 ST düşer ve ses değişimi tamamlandığında ortalama 220 ila 225 Hz olmaktadır. Erkek sesi yaklaşık bir oktav düşmekte ve 18 yaşına kadar ortalama 120 ila 130 Hz olmaktadır (Robert Thayer Sataloff, 2017).

Adölesan döneminde vokal yol birçok düzeyde değişime uğramaktadır. Tonsil (bademcik) ve adenoid (geniz eti) dokuları atrofiye uğramakta ve kısmen kaybolmaktadır. Bu durum nazal kaviteye giden yolun tıkanıklığını azaltabilmekte, orofarengeal ve nazofarengeal rezonansı değiştirebilmektedir. Farenksin temel hatları 9 yaş gibi erken bir dönemde gelişimi tamamlayabilmekte fakat vokal yol adölesan ve yetişkinlik boyunca uzunluk ve çevre olarak büyümeye devam etmektedir. Tam büyüme genellikle 20 veya 21 yaşına kadar tamamlanmamaktadır. Bu değişiklikler en düşük

üç formant frekans incelenerek gösterilebilmektedir. Yetişkin kadınların formant frekansları yetişkin erkeklerden sırasıyla ortalama %12, %17 ve %18 daha yüksek olurken; adölesan dönemi öncesinde çocuklar ise yetişkin kadınlardan formant frekansları ortalama %20 daha yüksek olmaktadır (Robert Thayer Sataloff, 2017; Robert T Sataloff et al., 2007).

Diş gelişimi genç yetişkinlik döneminde tamamlanmakta ve çene hizalaması değişebilmektedir. Dil pozisyonu ve ağız açıklığı, dental malignite veya yaralanma sonucu gelişen temporomandibular eklem kompleksindeki rahatsızlık ve kısıtlamalardan etkilenebilmektedir. Diş ve ortodontik sorunların ses kalitesini etkilediği göz önüne alındığında olası bozukluğa erken müdahale, ses bozukluğunun altında yatabilecek nedene yönelik kompensatuar mekanizma gelişmeden yapılması açısından avantajlı olacaktır. Sesin “güç kaynağı”, göğüs genişledikçe ve torasik, abdomen kasları güçlendikçe tam potansiyele ulaşmaktadır. Kas gücü ve dayanıklılığın genellikle genç yetişkinlik döneminde zirve yaptığı görülmektedir (Robert Thayer Sataloff, 2017).

SAĞLIKLI YAŞLANMA VE SES

Yaşlanma ile anatomik, fizyolojik değişiklikler yaşanmakta ve bu değişiklikler hayatın belirli noktalarından sonra daha belirgin hale gelmektedir. Yaşlanma ile görülen anatomik ve fizyolojik değişiklikler larengeal mekanizmadaki değişiklikleri de kapsamaktadır. Bu değişimler ses üretim mekanizmasının yanında ses mekanizması altındaki respirasyon (solunum), fonasyon (sesleme) ve artikülasyon (sesletim) bileşenlerini de etkilemekte; en az bir bileşende görülen yaşlanmaya bağlı değişiklik ses kalitesini etkilemektedir (Lortie, Deschamps, Guitton, & Tremblay, 2018; Sundarrajan, Huber, & Sivasankar, 2017). Ses frekansı ve aralığı, şiddeti, kalitesindeki değişiklikler yaşlıların yaşam kalitesini etkileyebilmekte ve sosyal etkileşimde sınırlamaya gidilmesine sebep olabilmektedir (Sauder, Roy, Tanner, Houtz, & Smith, 2010). Yaşlanmaya bağlı bahsedilen bu değişiklikler nedeni ile sesin yaşlanmasını tanımlamak için presbifoni terimi kullanılmaktadır. Presbifoni genellikle yaşlılarda görülmekle birlikte yaşam kalitesini etkileyen klinik bir bulgu olarak karşımıza çıkmaktadır (Ziegler, Verdolini Abbott, Johns, Klein, & Hapner, 2014). Presbifoninin genellikle 65 yaş ve üstü bireylerde görüldüğü bildirilmektedir (Tay, Phylland, & Oates, 2012).

Thomas ve arkadaşları tarafından özetlenen çok sayıda çalışma, yaşlanan larenksin kas yapısında presbifoniye önemli ölçüde sebep olan değişiklikler olduğunu ortaya koymaktadır (Thomas, Harrison, & Stemple, 2008). Yaşlanmayla birlikte çeşitli iskelet kası değişikliklerinin meydana geldiği bilinmektedir. Sarkopeni, yaşlanmayla birlikte sıklıkla gözlenen kas kütlesi, gücü ve fonksiyonundaki kaybı ifade etmektedir. Sarkopeni metabo-

lik, nörolojik, hormonal ve çevresel faktörlerin bir sonucu olabilmektedir. Sarkopeni nedeni ile kas kütleindeki kayıp kademeli gerçekleştiği için, kütle kaybı eşik değerin üstüne çıkana kadar ses fonksiyonu üzerindeki etkilenimi genellikle fark edilememektedir (Robert Thayer Sataloff, 2017).

Genç yetişkinlikten yaşlılığa kadar solunum sistemi, solunum kaslarının kuvvet ve kasılma hızının azalması, thoraksın sertleşmesi, akciğer dokularının elastikiyetinin kaybı dahil olmak üzere belirgin anatomik ve fizyolojik değişikliklere uğramaktadır. Bu değişiklikler hem erkeklerde hem de kadınlarda olgunlaşmadan sonra artan yaşla birlikte solunum fonksiyonunda ilerleyici bir düşüşle sonuçlanmaktadır. Belirgin fonksiyonel kayıplar arasında: akciğer dokularının elastik dinlenim durumuna dönmemesinin azalması, vital kapasitenin azalması, rezidüel hacmin artması ve ekspiratuvar/inspiratuvar rezerv hacminin azalması yer almaktadır. Ayrıca zorlu ekspiratuvar hacim ve hava akış hızı da yaşlanmayla birlikte azalmaktadır. Solunum fonksiyonundaki bu değişiklikler hem erkeklerde hem de kadınlarda orta yaştan itibaren konuşma solunumunu etkilemektedir, ancak bu değişikliklerin nedenleri cinsiyete göre değişmektedir. Erkeklerdeki değişim, yaşlanmayla birlikte görülen glottal boşluklardan kaynaklanan yetersiz larengeal kapakçık fonksiyonu ile bağlantılı olabilmektedir. Kadınlarda ise velofarenks, dil veya dudak seviyesindeki kapakçıklarda yaşa bağlı değişimin gözlenen değişiklikleri açıklayabileceği düşünülmektedir (Robert Thayer Sataloff, 2017).

Yaşlanma ile larengeal kıkırdaklar kemikleşme ve kalsifikasyona, intrinsik kaslar atrofiye uğramakta; eklemler aşınmaktadır. Vokal foldların epitelinde yaşa bağlı bildirilen değişikliklerin tutarsız olduğu görülmektedir. Bazı araştırmacılar yaşlanma ile vokal foldlarda kalınlaşma bildirirken, değişiklik olmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Ayrıca erkeklerde 70 yaşına kadar epitel dokunun kalınlığının arttığı ve daha ileri yaşlarda azaldığı da öne sürülmektedir. Kadınlarda epitel doku yaşlanmayla birlikte, özellikle de 70 yaşından sonra giderek artmaktadır. Lamina propriyanın yüzeyel tabakasında kalınlaşma/ödem, elastik liflerde dejenerasyon/atrofi ve miyofibril sayısında azalma gibi çeşitli değişiklikler ile bildirilmektedir (Awd Allah, Dkhil, & Farhoud, 2009; Robert Thayer Sataloff, 2017). Awd Allah, Dkhil ve Farhoud (2009), yenidoğan, yetişkin ve geriatri popülasyonunda macula flava ve Reinke'nin vokal fold boşluğundaki fibroblastlarını incelemişlerdir. Mukozadaki vokal foldda, özellikle vokal ligamentteki fibroblastlarda yaşa bağlı farklılık olduğunu bildirmişlerdir (Awd Allah et al., 2009). Filho ve arkadaşları (2003) on erkek ve on kadın kadavrada yaşlanma ile ilişkili vokal folddaki histolojik değişiklikleri incelemiş ve yaş ile lamina propriya kalınlığının ve epitel hücre yoğunluğunun azaldığını belirlemişlerdir. Yaşlı erkeklerde mukoza, kadınlara ve genç erkeklere kıyasla sertleşmekte ve viskozitesi artmakta;

bu da fonasyon kolaylığının azalmasına sebep olmaktadır. Genç yetişkinlikten yaşlılığa kadar larenkste meydana gelen değişiklikler; kas atrofisi haricinde, genellikle erkeklerde daha geniş kapsamlı olmaktadır (Filho, do Nascimento, Tsuji, & Sennes, 2003).

Vokal fold fonksiyonu perspektifinden bakıldığında, yaşlanma ve glottal boşluk ilişkisi hakkında çalışmaların olduğu görülmektedir. Literatürde tam glottal kapanma genç yetişkinlerde normal fonasyonun bir özelliği olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte yüksek ve/veya düşük ses yüksekliği seviyelerinde, her iki cinsiyetten genç yetişkinlerde çeşitli konfigürasyonlarda glottal boşluğun normal sınırlar içinde olduğu görülmektedir. Yaşlanmayla birlikte, vokal fold atrofisinin bir sonucu olarak, erkeklerde glottal boşlukların görülme sıklığı artmaktadır. Buna karşın, genç ve yaşlı kadınlar genel glottal boşluk insidansı açısından farklılık göstermemektedir. Ancak kadınlar yaş değişkenine bağlı olarak farklı glottal boşluk konfigürasyonları göstermektedirler. Genç kadınlar büyük oranda posterior bölgede boşluk gösterirken, yaşlı kadınlar glottisin daha anteriorunda boşluklar sergilemektedir (Robert Thayer Sataloff, 2017). Stroboskopik çalışmalar, yaşlı kadınlarda vokal fold hareket paternlerinin değiştiğini göstermektedir. Spesifik olarak, daha fazla düzensizlik, amplitüd ve mukozal dalgada azalma göstermektedirler. Pontes, Yamasaki ve Behlau (2006), genç ve yaşlı yetişkinlerden oluşan 100 kişilik örneklemin larengeal görüntüsünü retrospektif olarak incelemişlerdir. Yaşlı katılımcılarda glottik oran, faz ve amplitüd asimetrisi, tremor prevelansında artış gibi farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Stroboskopik açıdan incelenen bir diğer nokta lamina propriyanın yüzeyel tabakasındaki incelleme sebebiyle vokal foldların içeri çökerek “iğ şeklinde kapanma” paterni göstermesidir. Bu yetersiz kapanma sebebi ile nefesli ses algılanmaktadır (Benninger et al., 2006; Pontes, Brasolotto, & Behlau, 2005).

Yaşlanmaya bağlı supraglottik yapılardan oral kavitedeki değişiklikler; dişlerin kaybı, kas dokusu ve tükürük bezlerinde morfolojik değişiklikler, oral kavitenin histolojik değişimi olarak belirtilmektedir (Demirhan, Unsal, Yilmaz, & Ertan, 2016). Bu morfolojik ve histolojik değişiklikler sesin oluşumunu ve rezonansını etkilemekte, konuşmacı ve dinleyici açısından farklı algılanmasına sebep olabilmektedir. Algısal bu değişimin nedeni akustik değişim olarak belirtilmektedir. Yaşlı bireylerin sesleri incelendiğinde kadınların temel frekansının düştüğü, erkeklerin ise arttığı bildirilmektedir (Eichhorn, Kent, Austin, & Vorperian, 2018; Lortie, Rivard, Thibeault, & Tremblay, 2017). Bu da yaşlı kadınların sesinin kalınlaştığı, yaşlı erkeklerin sesinin ise tizleştiği anlamına gelmektedir. Ayrıca yaşlılarda ses gücünün, harmonik ve ses aralığının, ses şiddetinin, maksimum fonasyon süresinin, konuşma hızının azalması; titreme ve nefeslik değerinin artması beklenmektedir (Felippe, Grillo, & Grechi, 2006).

KAYNAKLAR

- Akmese, P. P., Kayikci, M. E. K., & Atas, A. (2012). Acoustic characteristics of Turkish speaking children ages between 4 and 14 years old.
- Andrews, M. L., & Summers, A. C. (2002). *Voice treatment for children and adolescents*: United Nations Publications.
- Aranson A. E., B., D. M. . (2012). *Klinik Ses Bozuklukları (Çeviri editörleri: Kılıç, M. A. & Oğuz, H.)*. Ankara: Nobel Kitabevi.
- Arvedson, J. C., Brodsky, L., & Lefton-Greif, M. A. (2019). *Pediatric swallowing and feeding: Assessment and management*: Plural Publishing.
- Awd Allah, R., Dkhil, M., & Farhoud, E. (2009). Fibroblasts in the human vocal fold mucosa: an ultrastructural study of different age groups. *Singapore medical journal*, 50(2), 201.
- Aydinli, F. E., Özcebe, E., & İncebay, Ö. (2019). Use of cepstral analysis for differentiating dysphonic from normal voices in children. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 116, 107-113.
- Baş B, P. M. (2022). *İşitme Kayıplı Çocuklarda İletişim ve Bilişsel Fonksiyonlar* (Ş. ÖA Ed.): Akademisyen Kitabevi.
- Bengisu, S., Topbaş, S., & Koçak, İ. (2008). Kas gerilimi disfonisi tip 1 hastalığı ile yumuşak fonasyon indeksi arasındaki ilişki ve ses terapisinin etkinliği. *The Turkish Journal of Ear Nose and Throat*, 18(3), 131-138.
- Benninger, M., Abitbol, J., Head, A. A. o. O., Foundation, N. S., Head, A. A. o. O., & Foundation, N. S. (2006). Voice: dysphonia and the aging voice. *American Academy of Otolaryngology Head and Neck Surgery Foundation. Geriatric Care Otolaryngology. Alexandria: AAO-HNSF*, 67-81.
- Bluestone, C. D., Healy, G. B., & Simons, J. P. (2014). *Pediatric otolaryngology*: PMPH-USA.
- Boone, D., McFarlane, S., Von Berg, S., & Zraick, R. (2010). The voice and voice therapy. 8 [sup] th ed. In: Boston: Allyn & Bacon.
- Chan, R. W., Fu, M., Young, L., & Tirunagari, N. (2007). Relative contributions of collagen and elastin to elasticity of the vocal fold under tension. *Annals of biomedical engineering*, 35(8), 1471-1483.
- Demirhan, E., Unsal, E. M., Yilmaz, C., & Ertan, E. (2016). Acoustic voice analysis of young Turkish speakers. *Journal of Voice*, 30(3), 378. e321-378. e325.
- Eichhorn, J. T., Kent, R. D., Austin, D., & Vorperian, H. K. (2018). Effects of aging on vocal fundamental frequency and vowel formants in men and

- women. *Journal of Voice*, 32(5), 644. e641-644. e649.
- Felippe, A. C. N. d., Grillo, M. H. M. M., & Grechi, T. H. (2006). Standardization of acoustic measures for normal voice patterns. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, 72, 659-664.
- Filho, J. A. X., do Nascimento, P. H. S., Tsuji, D. H., & Sennes, L. U. (2003). Histologic changes in human vocal folds correlated with aging: a histomorphometric study. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, 112(10), 894-898.
- Gölaç, H., Atalık, G., Özcebe, E., Gündüz, B., Karamert, R., & Kemaloğlu, Y. K. (2022). Vocal outcomes after COVID-19 infection: acoustic voice analyses, durational measurements, self-reported findings, and auditory-perceptual evaluations. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 1-9.
- Hartnick, C. J., Rehbar, R., & Prasad, V. (2005). Development and maturation of the pediatric human vocal fold lamina propria. *The Laryngoscope*, 115(1), 4-15.
- I., D. I. (2020). *Klinik vokoloji*. Ankara, Turkey: Karaca Tanıtım Hizmet Matbaa Kağıt Paz. ve Tic. Ltd. Şti.
- İncebay, Ö., Köse, A., Aydınli, F. E., & Özcebe, E. (2020). The effects of age and gender on laryngeal aerodynamics in the children population. *Journal of Voice*, 34(2), 300. e327-300. e346.
- Kandogan, T., & Seifert, E. (2005). Influence of aging and sex on voice parameters in patients with unilateral vocal cord paralysis. *The Laryngoscope*, 115(4), 655-660.
- Kent, R. D. (1994). *Reference manual for communicative sciences and disorders: Speech and language*: Pro-ed.
- Kiliç, M. A. (2002). Larenksin fonksiyonel anatomisi ve ses fizyolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of ENT*, 2(3), 1-8.
- Levendoski, E. E., Leydon, C., & Thibeault, S. L. (2014). Vocal fold epithelial barrier in health and injury: a research review. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*, 57(5), 1679-1691.
- Lortie, C. L., Deschamps, I., Guitton, M. J., & Tremblay, P. (2018). Age differences in voice evaluation: from auditory-perceptual evaluation to social interactions. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*, 61(2), 227-245.
- Lortie, C. L., Rivard, J., Thibeault, M., & Tremblay, P. (2017). The moderating effect of frequent singing on voice aging. *Journal of Voice*, 31(1), 112. e111-112. e112.
- McAllister, A., & Sjölander, P. (2013). *Children's voice and voice disorders*. Paper

presented at the Seminars in speech and language.

- Milutinović, Z., Mijić, M., & Djurica, S. (1997). Activity of the subglottic voice ("chest resonator"): an echo-tomographic and acoustic study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 254(6), 292-297.
- Moore, J., & Thibeault, S. (2012). Insights into the role of elastin in vocal fold health and disease. *Journal of Voice*, 26(3), 269-275.
- Morrison, M. D., Nichol, H., & Rammage, L. (2013). *The management of voice disorders*: Springer.
- Öğüt, F. (2002). Ses analiz yöntemleri. *Türkiye Klinikleri Journal of ENT*, 2(3), 18-21.
- Özkan, S., & Kayıkcı K. (2016). Dil, Konuşma ve Ses Bozuklukları.
- Pontes, P., Brasolotto, A., & Behlau, M. (2005). Glottic characteristics and voice complaint in the elderly. *Journal of Voice*, 19(1), 84-94.
- Prakash, M., & Johnny, J. C. (2015). Whats special in a child's larynx? *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 7(Suppl 1), S55.
- Rubin, J. S., Sataloff, R. T., & Korovin, G. S. (2014). *Diagnosis and treatment of voice disorders*: Plural publishing.
- Sataloff, R. (1991). Clinical anatomy and physiology of voice. In: SATALOFF, R. (1991). Professional voice: The science and art of clinical care. New York Rave Pres., p:7-18.
- Sataloff, R. T. (2017). *Treatment of voice disorders*: Plural Publishing.
- Sataloff, R. T., Heman-Ackah, Y. D., & Hawkshaw, M. J. (2007). Clinical anatomy and physiology of the voice. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 40(5), 909-929.
- Sauder, C., Roy, N., Tanner, K., Houtz, D. R., & Smith, M. E. (2010). Vocal function exercises for presbylaryngis: a multidimensional assessment of treatment outcomes. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, 119(7), 460-467.
- Seikel, J. A., Drumright, D. G., & King, D. W. (2015). *Anatomy & physiology for speech, language, and hearing*: Cengage Learning.
- Spazzapan, E. A., Marino, V. C. d. C., Cardoso, V. M., Berti, L. C., & Fabron, E. M. G. (2019). Acoustic characteristics of voice in different cycles of life: an integrative literature review. *Revista CEFAC*, 21.
- Sundarrajan, A., Huber, J. E., & Sivasankar, M. P. (2017). Respiratory and laryngeal changes with vocal loading in younger and older individuals. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*, 60(9), 2551-2556.

- Tay, E. Y. L., Phyland, D. J., & Oates, J. (2012). The effect of vocal function exercises on the voices of aging community choral singers. *Journal of Voice*, 26(5), 672. e619-672. e627.
- Thomas, L. B., Harrison, A. L., & Stemple, J. C. (2008). Aging thyroarytenoid and limb skeletal muscle: lessons in contrast. *Journal of Voice*, 22(4), 430-450.
- Whitten, C. (2016). Intubating An Infant or Toddler. Retrieved from <https://airwayjedi.com/2016/04/18/intubating-infant-toddler/>
- Ziegler, A., Verdolini Abbott, K., Johns, M., Klein, A., & Hapner, E. R. (2014). Preliminary data on two voice therapy interventions in the treatment of presbyphonia. *The Laryngoscope*, 124(8), 1869-1876.

“

Bölüm 8

KEMOTERAPÖTİK İLAÇLARIN METABOLİZMASINDA TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİN ETKİSİ

Ersin AKGÖLLÜ¹

”

¹ Doç. Dr., Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Patnos Meslek Yüksekokulu
Eczacılık Bölümü ORCID: 0000-0003-3636-401X

Günümüzde herhangi bir ilaca karşı değişken ilaç yanıtı (VDR) yaygın bir klinik problemidir. Bu değişkenlik, ilaca yanıt vermedeki başarısızlıktan olumsuz ilaç yanıtına (ADR) kadar değişir. Bu bireysel varyasyonların kalıtsal olduğu ve bireyden bireye genomik varyasyondan kaynaklandığı artık açıktır (Wang, SY Pang, S Chong, & GL Lee, 2012). Genom içeriği, kişinin belirli bir ilaca tepkisinin genel etkisinde önemli bir faktördür. Farmakogenomik, farmakoloji ve genomik alanlarının kesişimidir. Basitçe Farmakogenomik, genomik varyasyonların ilaca verilen bireysel yanıtı nasıl etkilediğinin incelenmesidir (Weng, Zhang, Peng, & Huang, 2013). İlaça verilen yanıtta bu çeşitlilik, ilaç hedeflerindeki farklılıklardan veya ilaçları taşıyan veya metabolize eden sitokrom P450 (CYP450) enzimleri gibi enzimlerdeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Klein & Zanger, 2013).

İlaç hedeflerindeki farklılıklar, ilaç etkinliğinde farklılıklara yol açabilir, ancak enzimlerdeki farklılıklar, etkinlik veya toksisitede farklılıklara yol açar. Farmakogenomik araştırmalar, moleküler genetik ve genomik dizilerdeki son gelişmelerle birlikte büyük önem kazanmıştır. Yeni teknoloji, spesifik polimorfizmler için hızlı taramanın yanı sıra enzimleri, iyon kanallarını ve ilaca yanıtta yer alan diğer reseptör tiplerini kodlayanlar gibi hedef genlerin genetik dizilerini tanımlamaya izin verir (Lennard, Cartwright, Wade, Richards, & Vora, 2013; Zanger & Schwab, 2013). İnsan Genomu projesi, genotip ve fenotip değişkenliği arasındaki ilişkiyi inceleyebilmemiz için enzimlerin moleküler bileşimini belirlememizi sağladı. Bu gelişmeler, ilaçlara karşı olumsuz reaksiyonları yaşayacak kişileri tespit etmemize yardımcı olacaktır. Bu, SNP'lerin tanımlanmasıyla mümkün olmuştur (Chang, Chuang, Tsai, & Yang, 2012).

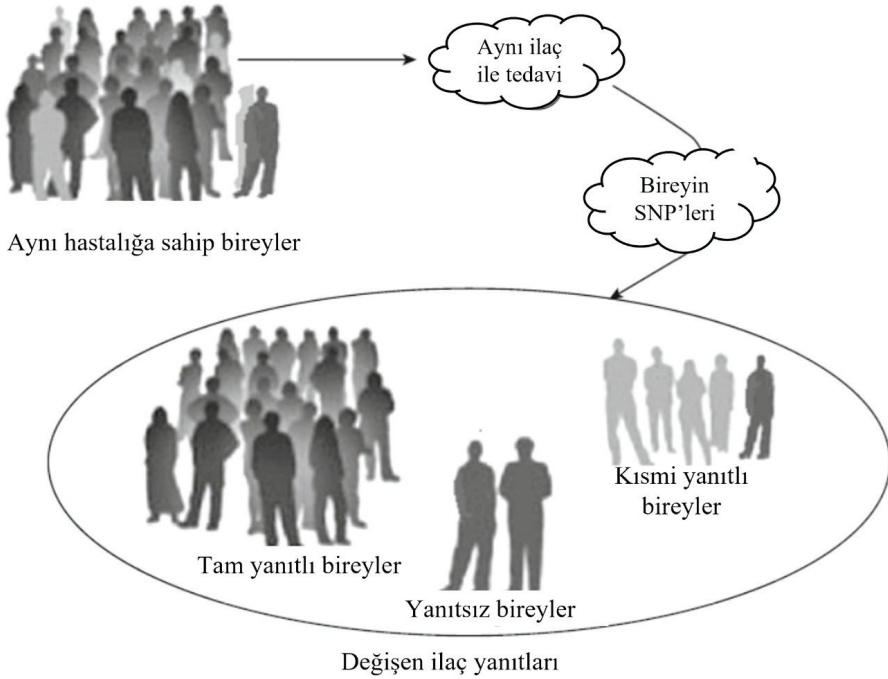
Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP'ler)

Genomik varyasyonlara bağlı VDR çalışmasında SNP'ler önemli bir rol oynamaktadır (McCarthy & Hilfiker, 2000). Bilim adamları, 3 milyar baz çiftinden oluşan tüm genomu dizileme yolunda, baz çiftinin bir üyesinin beklenenden farklı olduğu durumlarla karşılaştı. DNA'nın içerdiği dört bazdan (adenin, guanin, sitozin ve timin) adenin genellikle timin ile ve guanin sitozin ile bağlanır. Bilim adamları yaklaşık her 1000 baz çiftinde bir "yanlış eşleştirme", sitozin yerine timin ile eşleştirilmiş bir guanin gözlemlediler. Teorik olarak, eğer toplam popülasyonun en az %1'inde bu tür bir yanlış eşleştirme varsa, o zaman SNP'ler 'Tek Nükleotid Polimorfizmleri' olarak kabul edilmektedir (Kirk, Feinsod, Favis, Kliman, & Barany, 2002). SNP'ler, genomun hem kodlanan hem de kodlanmayan bölgelerinde dağılım gösterir. Kodlama bölgesinde SNP'ler, eş anlamlı (synonymous) ve eş anlamlı olmayan (non-synonymous) SNP'ler olmak üzere iki türe ayrılır. Protein dizisini etkilemeyen kodlama bölgeleri SNP'leri eş anlamlı SNP'ler olarak bilinir ve proteinin amino asit dizisini değiştiren SNP'ler eş anlamlı olmayan SNP'ler olarak bilinir. Eş anlamlı olmayan SNP'ler

ayrıca yanlış anlamlı (missense; farklı amino asit kodlanması) ve anlamsız (nonsense, stop kodon oluşması) SNP'ler olarak bölünebilir (Hunt, Sauna, Ambudkar, Gottesman, & Kimchi-Sarfaty, 2009). İlaç reseptörlerini, ilaç taşıyıcılarını ve hücre sinyal yollarını kodlayanlar dahil olmak üzere herhangi bir gendeki bu polimorfizmler, klinik yanıtın önemli bir belirleyicisi olabilir (Nebert, Wikvall, & Miller, 2013).

Kişiselleştirilmiş Tıpta SNP'lerin rolü

Daha önce, iki insan arasındaki genetik farkı anlamak için onların tüm genomunu sekanslamamız (DNA dizi analizi) gerektiğine dair bir inanç vardı, çünkü insanlar arasındaki gerçek fark SNP'lerin varlığından kaynaklanmaktadır. Bu SNP'ler, kişiselleştirilmiş tıp fikirlerinin geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Wang et al., 2012). İnsan genomu yaklaşık 3 milyar eşleştirilmiş nükleotitten oluşur ve her bir SNP 1 baz çiftinde bulunan değişikliği ifade eder ve toplumun en az %1'inde olmalıdır. Bu küçük bir fark olsa da işlevsel düzeyde sentezlenen biyomoleküllerde büyük bir fark yaratır ve bireyler arasında en yaygın görülen genetik farklılıktır. Şimdi bu yeni nesil dizileme çağında, SNP'leri genotiplemeyi nispeten makul bir maliyetle sunan çeşitli biyoteknoloji şirketleri, çeşitli hesaplama algoritmaları ve yazılımları da mevcuttur ve SNP'leri dizili verilerden tahmin etmek için halihazırda pratik olarak kullanılmaktadır (Useche, Gao, Hanafey, & Rafalski, 2001; van Oeveren & Janssen, 2009). Araştırmacılar, insan SNP'lerini çeşitli farmakolojik süreçlerle (ilaç yanıtı ve ilaç toksisitesi vb.) ilişkileri açısından incelediler. Sonuç olarak, artık oldukça fazla bilgiye sahibiz ve bir hastanın benzersiz SNP'lerinin ilaç tedavisine verdiği yanıtı nasıl etkileyebileceğine ilişkin öngörüyü PharmGKB (Whirl-Carrillo et al., 2012) ve Human HapMap web sitelerinden ulaşabilmekteyiz (Şekil 1).



Figüre 1. Farmakodinamik ve farmakokinetikle ilgili genlerde (CYP450, TPMT gibi) SNP'lerin varlığı, değişken ilaç yanıtına (VDR) neden olur.

İnsan Genomik Polimorfizmlerinden Yararlanma

Farmakogenomik tabanlı yaklaşımlar, ilaç tepkisi ile genetik yapı arasında bir bağlantı sağlayan DNA modellerine dayalı belirteçlere dayanmaktadır, dolayısıyla Farmakogenomik'in etkili bir şekilde uygulanmasından önce, bu tür bir bağlantı tanımlanmalıdır. İnsan genomunda, milyonlarca baz çiftini etkileyen ekleme, silme veya yeniden düzenleme gibi mutasyon olayları, tek nükleotitlerde varyasyonlar getirir ve DNA polimorfizmi ile sonuçlanır (Carlson, Eberle, Kruglyak, & Nickerson, 2004; Marsh, Kwok, & McLeod, 2002). Çeşitli polimorfizm türleri değişken ve bir süreliğine ters ilaç tepkisinden sorumlu olduğu gösterilmiştir, bunlardan SNP'ler, farmakogenomik analiz için en umut verici olanıdır. Bunun nedeni, SNP'lerin 1000 bp'de 1 frekansta bulunan insan genomundaki en yaygın varyant sınıfı olmasıdır. SNP Konsorsiyumu ve Japon SNP projesi ve insan HapMap projesi gibi büyük polimorfizm keşif girişimlerinden elde edilen bilgiler, yaklaşık 3,1 milyon SNP'nin detaylandırılmasına yol açmıştır (Uluslararası HapMap Konsorsiyumu, 2007). İnsan SNP veri tabanı db-SNP'deki varyantların çoğu doğrulanmamıştır ve varyantların %60 kadarı ya çok nadirdir ya da dizileme hataları, gen ailesi üyelerinin örtüşmesi veya diğer hatalı bilgi kaynakları söz konusu olduğundan yanlışlıkla SNP olarak ad-

landırılmıştır (Carlson et al., 2004).

19 milyon SNP'nin insan popülasyonlarında bulunacağı ve kamuya açık veritabanlarında belgelenebileceği tahmin edilmektedir ve her varyantın sıklığını doğrulamak için büyük çaba sarf edilmektedir (Wang et al., 2012). SNP'lerin yaklaşık %70'i intronların içinde bulunur ve sonuçları belirsizdir. Bazılarının gen ifadesi veya eklenmesi üzerinde bir etkisi olabilir, ancak çoğu etkisiz (null) kalacaktır. Bu polimorfizmler çok yaygın olduğundan ve hızlı genotiplemeleri için teknoloji mevcut olduğundan, SNP'ler, diğer DNA polimorfizmi tiplerinde mümkün olmayan genom çapında bir genomik varyasyonu ortaya çıkarma yeteneğine sahiptir. Hızlı, yüksek verimli SNP genotiplemesinin çalışmaların odak noktası olması muhtemel olsa da mevcut Farmakogenomik örnekleri, çoklu polimorfizm türlerinin değerlendirilmesini içerir (Kwok & Chen, 2003). Tüm bu tür çalışmalar, genotip fenotip birliği kavramlarına dayanmaktadır. Herhangi bir genetik faktör hastalıkla ilişkilendiriliyorsa, bu hastalıkla enfekte olmuş bir grup insanda, bir grup normal insandan daha fazla görülmesi gerekir. Araştırmacılar, iyi tanımlanmış SNP etiketlerini kullanarak, bir bireyin SNP genotiplemesini yapabilirler ve hastalıklarla ilişkisini ortaya koyabilirler. Bu tür bilgiler, 'kişiselleştirilmiş tıp' uygulamasının geliştirilmesine yardımcı olur. SNP'lerin veya diğer genetik polimorfizmlerin bozulmuş protein fonksiyonu, aşırı toksite riski veya değiştirilmiş terapötik fayda ile ilişkili olduğu örneklerin giderek artan bir listesi vardır. Bu tip polimorfizmin önemli örnekleri, sitokrom P450 enzimi ve tiopürin metil transferazdır (Shastri, 2009).

Sitokrom P450 Enzim Ailesi

Sitokrom P450 izoenzimleri (CYP'ler), endoplazmik retikulumun zarında bulunan hemoprotein enzimlerinin üst ailesidir. Çok sayıda endojen (iç) ve eksojen (dış kaynaklı) bileşiğin metabolizmasını katalize etmekten sorumludurlar. CYP450'ler, ilaç farmakokinetiği ve yanıtında başlıca değişkenliğin kaynağıdır (Danielson, 2002). Şimdiye kadar, insanda 57 fonksiyonel gen ve 58 psödogen, CYP süper ailesinin bir üyesi olarak bildirilmiştir. Bunların dışında, CYP 1, 2 ve 3 familyasına ait olan sadece birkaç enzim klinik kullanımdaki tüm ilaçların %70-80'i dahil olmak üzere çoğu dış maddenin biyotransformasyonundan sorumludur (Nelson, 2013). Her bir CYP, genetik polimorfizmler, hormonlar, hastalık durumu vb. çeşitli biyolojik faktörlerden ve mekanizmalardan etkilenecek şekilde ekspresyon seviyelerine sahiptir (Zanger & Schwab, 2013). Tek nükleotid polimorfizmi, CYP'lerin ekspresyonundan ve fonksiyonel özelliklerinden sorumlu olan ana faktörlerden biridir. CYP ailesinin sentezlendiği genlerde SNP'lerin varlığı, bunların ekspresyon seviyesinde ve son olarak fonksiyonda değişkenlik getirir, bu da ilaç tepkisi ve etkinliği üzerinde ciddi bir etkiye neden olur (Nebert et al., 2013). Güçlü bir şekilde etnik kökene

bağlı olan genetik polimorfizmler, birkaç CYP üyesinin (2D6, 2C19, 2C9, 2B6, 3A5 ve 2A6) işlevinde önemli bir rol oynar ve zayıf, orta, yoğun ve ultra hızlı metabolizörler olarak adlandırılan farklı metabolik fenotiplere yol açar. Bazı ilaçlar ön ilaç (ilacın aktif olmayan formu) olarak verilir ve bu ön ilacın biyolojik olarak aktif bir ilaca dönüştürülmesinde CYP450'ler önemli bir rol oynar (Huttunen, Mahonen, Raunio, & Rautio, 2008; Ortiz de Montellano, 2013). Bu tür CYP üye genlerinde SNP'lerin varlığı, ön ilacın biyo-dönüşümünü etkiler, bu nedenle CYP450'deki polimorfizmi, yalnızca ilaç metabolizmasını etkilemekle kalmaz, aynı zamanda ön ilacın biyo-dönüşümünü de etkileyebilir ve aynı ilaca karşı değişken ilaç tepkisinden sorumludur (Şekil 1). CYP450'nin bu potansiyel yeteneği, hedeflenen ilaç dağılımında kullanılır (Huttunen et al., 2008). CYP450 aileleri ve bunların ilaçlarla etkileşimleri hakkında ayrıntılar sağlayan biyolojik veritabanları da mevcuttur (Preissner et al., 2010). CYP450 enzim ailesinin anti-kanser ilaçlarını nasıl metabolize ettiği, sentezlendikleri genlerdeki SNP'lerden nasıl etkilendiği, ilaçlara gelişen direnci ve ilaç toksisitesini aşağıda açıklanmıştır.

Kemoterapötik İlaçların Metabolize Olmasında Görevli Enzimlere Polimorfizmlerin Etkisi

Genel olarak kemorezistans, farmakokinetik ve farmakodinamik direnç olmak üzere iki mekanizma içerir (Blossey, Wander, Koebberling, & Nagel, 1984). Farmakodinamik direnç, etki bölgesindeki ilaç yanıtını etkileyen hedef bölgedeki mutasyonları içerir. Bununla birlikte, farmakokinetik direnç, taşıyıcı proteinler ve ilaç metabolize edici enzimler (DME'ler) dahil olmak üzere önemli proteinlerin işlevini değiştirerek ilaç moleküllerinin biyoyararlanımını etkiler (Wilkinson, 2005). İlaç metabolize edici enzim aracılı bireyler arası ilaç dağılımındaki farklılıklar kemoterapide çok yaygındır. Bunlar, kanserli koşullar altında DME'lerin değişken ekspresyon seviyesinden ve katalitik aktivitelerindeki modülasyondan kaynaklanmaktadır (Obligacion, Murray, & Ramzan, 2006). Daha da önemlisi, klinik olarak kullanılan anti-kanser ilaçlarının çoğu, güçlü anti-kanser aktivitelerini sergilemek için DME'ler tarafından metabolize edilir. Bununla birlikte, bazı DME'ler ilaçları metabolize eder ve onları etkisiz hale getirir. Örneğin, sitokrom P450 (CYP) 1B1, tamoksifen ve dosetaksel dahil olmak üzere çeşitli anti-kanser ilaçlarının inaktivasyonundan birincil olarak sorumlu karaciğer dışı enzimdir (Zhang et al., 2019). Bu nedenle, anti-kanser ilaçlarının inaktivasyonunda yer alan DME'ler, tümöral ilaç inaktive edici enzimler (DIE'ler) olarak adlandırılır. DME'lerin/DIE'lerin yüksek tümör içi ekspresyonunun, antitümör ilaç yanıtlarını önemli ölçüde etkilediği ve kemoterapötiklere direncin başlamasına yol açtığı bildirilmiştir (Y. Li et al., 2017). Ek olarak, DME'lerin/DIE'lerin çoğu da genetik varyasyonlar nedeniyle karaciğerde oldukça fazla eksprese edilir.

Faz I ve faz II DME'lerin/DIE'lerin çoğunluğu, diferansiyel ekspresyona veya değişken enzimatik aktiviteye ve indüklenebilirliğe yol açan genetik polimorfizmlerden etkilenir. DME'leri kodlayan genlerdeki genetik polimorfizmler, ilgili bireyler arası değişkenlik gösterir. Esasen, DME'lerdeki bir genetik polimorfizm, küçük insersiyon (nükleotit eklenmesi), delesyon (nükleotit silinmesi) ve tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) dahil olmak üzere çeşitli varyasyonları içerir. Tek nükleotid polimorfizmleri, DME gen dizilerindeki polimorfizmlerin en yaygın şeklidir. Bu genetik değişiklikler, ilaç yanıtlarında popülasyon heterojenliğine katkıda bulunur (Abbott, Calinski, & Hollenberg, 2013). Kanser kemoterapisi genellikle etkinlik ve toksisite ile ilgili çok çeşitli ilaç yanıtlarıyla ilişkilidir. Ön ilaçların çoğunun, örneğin CYP2B6 varlığında siklofosfamidten 4-hidroksisiklofosfamid oluşumu ve CYP3A4/2D6 yoluyla tamoksifenden endoksifen oluşumu gibi DME'ler yoluyla metabolik aktivasyona uğradığı iyi bilinmektedir. Bununla birlikte, bu DME'lerdeki polimorfizmler ve bu enzim eksiklikleri, aktif ilaçların biyoyararlanımının azalmasına neden olur (Abbott et al., 2013). Benzer şekilde, düşük DME ekspresyonu da ilaç toksisitesine neden olur; örneğin, birinci basamak anti-kanser ilaçlarından biri olan 5-fluorourasil (5-FU), dihidropirimidin dehidrogenaz (DPD) tarafından etkisiz hale getirilir. DPD geni ile ilişkili bazı SNP'lerin neden olduğu DPD ekspresyon seviyelerindeki eksikliğin, 5-FU uygulamasıyla mielosupresyon, mukozit ve el-ayak sendromu dahil olmak üzere toksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (Fidai, Sharma, Johnson, Segal, & Lastra, 2018). Ayrıca, DME aşırı ekspresyonunun neden olduğu ilaç inaktivasyonu, anti-kanser ilaçlarına dirençten sorumlu ana mekanizmadır. DME'lerde ilaç aktivasyonunu engelleyen ve farmakokinetik direnç yolu açan genetik polimorfizmler geniş çapta incelenmiştir (Ieiri, Higuchi, & Sugiyama, 2009). Bununla birlikte, tümöral ilaç inaktivasyonundan ve farmakokinetik dirençten sorumlu DME'lerdeki genetik varyasyonlar, özellikle SNP'ler, henüz farmakogenomik düzeyde incelenmemiştir. Tek nükleotid polimorfizmleri, bir bireyin belirli bir hastalık durumuna duyarlılığını ve belirli bir terapötik müdahaleye tepkisini etkileyebilmektedir (Alwi, 2005).

Anti-Kanser İlaç Yanıtını Etkileyen DME'lerdeki SNP'ler

Aldehit dehidrojenaz 1A1 (ALDH1A1) Enzimi ve SNP'leri

Aldehit dehidrojenaz 1A1 (ALDH1A1), ALDH gen üst ailesinin bir üyesidir. Aldehitlerin NAD(P)⁺ bağımlı oksidasyon yoluyla karboksilik asitlere çevrilmesini katalize eder. Ek olarak, ALDH1A1'in tümöral ilaç inaktivasyonunda yer alan majör bir DME olduğu bildirilmiştir (Verma et al., 2022). Siklofosfamid (CP), aldofosfamid (CP'nin bir aldehit ara ürünü) oluşturmak için biyotransformasyona uğrayan, ardından baz katalizli β -eliminasyonu yoluyla fosforamid hardalı ve akrolein olan, köklü ve oldukça kullanılan bir anti-kanser ilacıdır. Bununla birlikte, CP'nin fos-

foramid hardalına dönüşümü, ALDH1A1 kullanılarak karboksifosfamide (inaktif bir metabolit) dönüştürülerek aldofosfamid seviyesinde katalize edilir. ALDH1A1'in çeşitli malignitelerde ve kanser kök hücrelerinde aşırı ekspresyonu, zayıf CP aktivitesi ile ilişkilidir ve ilaç direnci ile bağlantılıdır (Parajuli, Georgiadis, Fishel, & Hurley, 2014). Birkaç çalışma, ALDH1A1 aşırı ekspresyonunu ve bunun siklofosfamid direnci ile ilişkisini göstermektedir, ancak ALDH1A1 aşırı ekspresyonu ve CP direncinde yer alan SNP'ler hakkında hiçbir çalışma bildirilmemiştir (Kozovska et al., 2018). ALDH1A1'in promotör bölgesinde iki polimorfizm, ALDH1A1*2 (rs6151031) ve ALDH1A1*3 tanımlanmıştır. Bazı çalışmalar, bu iki alelin daha düşük ALDH1A1 ekspresyonundan sorumlu olduğunu bildirmiştir. Ekhart ve ark. ALDH1A1*2 için heterozigot olan çeşitli kanserli hastalarda ALDH1A1*2 polimorfizmini CP'nin farmakokinetiği ve toksisitesi ile ilişkilendirmiştir. Bu varyant alel, CP aracılı hemorajik sistit ile sonuçlanır. Aynı araştırma grubu tarafından yapılan başka bir çalışmada, ALDH1A1*2 alelinin CP klirensi ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (Ekhart, Rodenhuis, Smits, Beijnen, & Huitema, 2008). HeLa ve HepG2 hücre hatlarında yapılan bir in vitro lusiferaz çalışması, ALDH1A1*3'ün, ALDH1A1'in ekspresyonunu vahşi tipe göre önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Spence et al., 2003). Ancak, Yao ve ark. SNP rs3764435'in CP tedavisinden sonra yüksek dereceli hematolojik toksisite ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Yao et al., 2014). Bununla birlikte, genel olarak, ALDH1A1 alellerinin bu enzimin daha düşük ekspresyonuna neden olduğu bundan dolayı CP dozunu düşürdükleri için CP kaynaklı toksisitenin azaldığı böylece CP tedavisi için faydalı olabileceği görülmektedir.

Ayrıca, Verma ve Silakari (2020) kısa süre önce in silico araçları kullanarak ALDH1A1 aktif bölge missense SNP'lerin (farklı amino asitin kodlanmasına neden olan) CP'nin farmakokinetik direnci üzerindeki rolünü araştırdı. Sonuçları, rs1049981 (Asn121Ser) ve rs774967243 (Val295Leu) gibi SNP'lerin zararlı olduğunu ve bunun da CP direncine yol açtığını gösterdi (Verma & Silakari, 2020). Bu çalışma, CP inaktivasyonu ve direncinden sorumlu SNP'leri tanımlayan ilk çalışmadır. Bu zararlı SNP'ler ve bunların CP metabolizması üzerindeki olası katalitik etkileri hakkında daha fazla deneysel araştırma önerilmektedir.

CYP Genlerindeki SNP'ler

Sitokrom P450 enzimleri (CYP'ler), tüm faz I ksenobiyotik metabolizmasının %70-80'ini oluşturan önemli metabolize edici enzimlerdir. CYP1B1, CYP2C8, CYP2J2 ve CYP3A4 enzim aileleri, tümöral ilaç inaktivasyonuna katkıda bulunan başlıca CYP'lerdir (Karkhanis, Hong, & Chan, 2017). CYP1B1 enzimi, meme, böbrek, yumurtalık ve kolon dahil olmak üzere histolojik olarak çeşitli tümörlerde aşırı eksprese olan karaciğer dışı bir enzimdir. CYP3A4 ve CYP2C8, meme kanseri hücrelerinde de eksprese

edilen hepatik enzimlerdir (Klose, Blaisdell, & Goldstein, 1999). CYP'lerin aşırı ekspresyonu, promotör bölgede etiketlenen SNP'lerin yaygın dağılımlarından kaynaklanmaktadır. SNP'lerin DME'lerin aşırı ekspresyonu ile ilişkisi aktif olarak incelenmiştir. DME'lerde fonksiyonel değişikliklere neden olan ve bu enzimlerin moleküler etki mekanizmalarını etkileyen birkaç SNP tanımlanmış olmasına rağmen, bunlardan sadece CYP1B1*3, CYP2C8*1B ve CYP3A4*1B SNP'lerini taşıyanlarda DME'lerde fonksiyonel bozukluk ve neticesinde kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ilaçlara direnç gelişmektedir. CYP'ler yoluyla inaktivasyona uğrayan anti-kanser ilaçlarından bazıları tamoksifen, docetaxel ve paklitaksel'dir (Verma & Silakari, 2020).

CYP1B1 ve CYP2D6 Enzimlerini Etkileyen SNP'ler

CYP1B1, CYP1 gen ailesinden karaciğer dışı metabolize edici enzimin bir üyesidir. Öncelikle pro-karsinojenlerin karsinojenlere aktivasyonunda yer alır. Örneğin, 17 β -estradiol, CYP1B1 tarafından kanserojen metabolit 4-hidroksiestradiol'e metabolize edilerek DNA hasarına neden olur ve kanserin ilerlemesine katkıda bulunur (Baek et al., 2019). CYP1B1 ayrıca anti-kanser ilaç inaktivasyonu ve ilaç direnci ile de ilgilidir. Tamoksifen, CYP1B1 tarafından etkisiz hale getirilen bir anti-kanser ilacına bir örnektir. Literatürde, CYP1B1'in normal hücrelerle karşılaştırıldığında çeşitli kanser hücrelerinde aşırı eksprese edildiğini ve dosetaksel direnci ile bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır. CYP1B1 enzimi, dosetakseli doğrudan metabolize etmese de direnç muhtemelen CYP1B1'in majör metaboliti olan 4-OH-estradiol'e bağlıdır (Rizzo et al., 2010). 4-OH-estradiol, dosetaksel ile aynı bağlanma bölgesine sahiptir ve istenmeyen eklentiler yaparak antitümör aktivitesini bozar ve dosetakselin yapısını doğrudan değiştirir. Değiştirilen yapının herhangi bir anti-kanser aktivitesi yoktur. Benzer şekilde, CYP1B1 genindeki polimorfizmlerin CYP1B1 enzim ekspresyonu ve katalitik aktivitesi üzerindeki etkisi kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. CYP1B1 geninin Ekzon 2'de yer alan 142C>G ve 355G>T SNP'leri CYP1B1*2 olarak, 4326C>G, CYP1B1*3 olarak ve 4390A>G ise ekzon 3'te CYP1B1*4 olarak gösterilir. Sırasıyla bu SNP'ler R48G, A119S, L432V ve N453S amino asitlerinin yer değiştirmesiyle karakterizedir (Sasaki, Tanaka, Kaneuchi, Sakuragi, & Dahiya, 2003). Diğer çalışmada tüm bu SNP'lerin 4-hidroksilasyon aktivitelerinin vahşi tip enzimden iki ila dört kat daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (Hanna, Dawling, Rodi, Guengerich, & Parl, 2000). Benzer şekilde, iki farklı çalışmada vahşi tipe kıyasla bu CYP1B1 varyantlarında yüksek 4-hidroksilasyon tanımlanmıştır. Özellikle, CYP1B1*3 alelinin, CYP1B1'in yüksek ekspresyonu ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Landi et al., 2005). Diğer bir çalışmada, CYP1B1*3 aleli olan kanser hastalarının dosetaksel tedavisine daha az yanıt verdiğini ve yaşam beklentisinin kısaldığını saptamıştır.

Kemoterapiye yanıt veren ve vermeyenler arasında CYP1B1 ekspresyon düzeyi karşılaştırıldığında, kemoterapiye yanıt vermeyen hastalarda yüksek CYP1B1 düzeyi gözlemlendi. Spesifik olarak, CYP1B1*3 aleli, tedaviye direnç gelişimi için önemli ölçüde daha yüksek bir risk göstermiştir (Salleh et al., 2018). Başka bir klinik çalışmada, 4326C>G aleli olan büyük hücreli akciğer kanseri hastalarının genel sağkalımlarının daha kısa olduğunu bildirdiler ve bunun, dosetakselin etkinliğinin öngörücü belirtici olduğu sonucuna vardılar (Vasile, Tibaldi, Leon, D’Incecco, & Giovannetti, 2015). Diğer bir klinik çalışmada, V432L SNP’nin sisplatin, kamptotesin, irinotekan ve doksorubisin dahil olmak üzere çeşitli anti-kanser ajanlarına karşı direnç ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (Le Morvan et al., 2016). Taksan, adriamisin ve CP ile üçlü kombinasyon ile tedavi edilen negatif meme kanserli hastalarla, GG genotipine sahip hastalarda hastalıklı yaşam süreleri oranları CC genotipine sahip olanlardan daha kötüydü (Aziz, Salleh, Yahya, Zakaria, & Ankathil, 2021). Tüm bu çalışmaların sonuçları, CYP1B1*3 polimorfik alelinin, dosetaksel direncinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bu allel varyantı, CYP1B1’in etkinliğini artırarak yüksek miktarda 4-OH estradiol oluşmasını sağlar ve böylece 4-OH estradiol dosetakselin yapısına bağlanarak ilacın etkinliğinin azalmasına neden olur. Diğer bir allel olan CYP1B1*2 iki SNP içerir, bunlar arasında 355G>T’nin baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomasına daha fazla duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ek olarak, mesane kanseri, prostat kanseri ve endometriyum karsinomu dahil olmak üzere hormonla ilişkili çeşitli kanserlere karşı da hassastır (Salinas-Sánchez, Donate-Moreno, López-Garrido, Giménez-Bachs, & Escibano, 2012). 355G>T SNP’si ile yapılan bir çalışmada, TT genotipine sahip bireylerin, GG genotipine sahip bireylere göre laringeal kanser geliştirme riskinin önemli ölçüde yüksek olduğu belirlenmiştir (Jin, Lin, Liao, Bao, & Ni, 2014). Benzer şekilde, başka bir çalışmada ekson 1’de SNP 1586G>C nedeniyle Val395Leu aktif bölge amino asit değişimine uğraması 17β-estradiolün 4-hidroksilasyonu sekiz kat artmasıyla sonuçlanır (Nishida, Everett, & de Montellano, 2013). Tartışılan SNP’ler ve bunların dosetaksel direncindeki rolleri henüz bildirilmemiştir, aleller ayrıca CYP1B1 ekspresyonunda rol oynar ve CYP1B1 aracılı 4-hidroksilasyonunun miktarını vahşi tipe kıyasla artırmıştır. Bu nedenle, CYP1B1*2 (142C>G ve 355G>T), V395L mutasyonu ve CYP1B1*4 (4390A>G) alelleri haberci RNA ekspresyonunu ve katalitik aktiviteyi artırarak, dosetaksel tedavisine verilen yanıtları modüle ettiğini öne sürmek mantıklıdır. Bununla birlikte, V395 dışında, aktif bölge amino asitlerinin hiçbirisi ve bunların SNP’leri, bireyler arası varyasyonlar ve aracılık eden ilaç direnci veya ilaç toksisitesi açısından incelenmemiştir. Önemli aktif bölge amino asitleri ve bunların SNP aracılı mutasyonları Tablo 1’de rapor edilmiştir ve daha fazla araştırılması gerekmektedir. Aktif bölgede bulunan amino asitler Phe268, Phe231, Asn228, Gln332, Phe134, Ala133 ve Val395’tir

(Dutkiewicz & Mikstacka, 2018). Bunlar arasında iki SNP, yani 1087C>T ve 728A>G, vahşi tiplere (N228N ve Q332Q) aynı amino asitler ile yer değiştirmektedir. Bu tür yer değiştirme, kanser önleyici ilaçların metabolizmasını etkilemez. Farklı amino asit yer değişimlerine sahip SNP'lerin daha fazla araştırılması gerekir. Tamoksifenin meme kanseri tedavisinde oldukça fazla kullanılan bir ön ilaç olduğu iyi bilinmektedir.

Tablo 1. *CYP1B1 aktif-bölge tek nükleotid polimorfizmleri*

SNP pozisyonu	Amino asit yer değişimi	dbSNP rs kodu	Kodon
1207C>G	F268L	rs917698020	3
1095T>A	F231Y	rs748178111	2
1087C>T	N228N	rs773085958	3
728A>G	Q332Q	rs1437702159	3
805C>T	F134F	rs1366111120	3
801C>T	A133V	rs1429075811	2
800G>A, C, T	A133T, A133P	rs779897170	1
1522T>C	I395T	rs1289596203	2

Terapötik aktivite üretmek için metabolik aktivasyon gerektirir. Tamoksifen, çeşitli CYP'ler yoluyla kapsamlı bir şekilde çoklu metabolitlere metabolize edilebilir. CYP2D6 ve CYP3A4, tamoksifenin endoksifene (aktif metabolit) dönüştürülmesinden sorumlu başlıca enzimlerdir. Benzer şekilde, CYP1B1, trans (Z) tamoksifenden cis (E) tamoksifene (inaktif metabolit) dönüşmesinden sorumlu başka bir temel enzimdir. Tamoksifenin metabolik aktivasyon ve inaktivasyonunda rol alan çeşitli CYP'ler genetik olarak polimorfiktir. Bu CYP'lerin polimorfik etkisi, tepki olarak tamoksifenin metabolizmasını etkileyen enzim ekspresyonunun azalmasına veya artmasına yol açar; bu, tamoksifen tedavisine yanıtta bireyler arası farklılıklarla daha iyi açıklanabilir. CYP'lerde birkaç popülasyona dayalı genetik polimorfizm rapor edilmiştir. Örneğin, CYP2D6 geninin lokusu, CYP2D6 aktivitesi üzerindeki beklenen etkilerine göre üç kategoriye ayrılan birkaç alel ile karakterize edilir. Bunlar, normal fonksiyonel olan (CYP2D6*2), azalmış fonksiyona sahip olan (CYP2D6*9,*10,*17 ve *41) ve fonksiyonel olmayan (CYP2D6*3,*4,*5 ve *6) alelleri içerir. Bunlar Kafkas (Caucasian) popülasyonunda daha yaygındır (Singh, Francis, & Michael, 2011). Birkaç çalışma, tartışılan tüm CYP2D6 varyantlarının, bozulmuş tamoksifen aktif metabolizması ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Bir klinik çalışmada, CYP2D6*10 alel varyantının, homozigot vahşi tipe (CYP2D6*1/*1) kıyasla CYP2D6 enziminin önemli ölçüde daha kısa hayatta kalma süresine sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışma ayrıca, tamoksifen tedavisi alan meme kanserli hastalarda kusurlu aleli CYP2D6*10'un aktif metabolitin (endoksifen) düşük plazma konsantrasyonları ile ilişkili

olduğunu doğrulamıştır (Kiyotani et al., 2010). Daha sonra yapılan başka bir çalışmada tamoksifen alan meme kanserli hastaların, CYP2D6*10 aleli taşıyanlarda aktif metabolitin kararlı durum plazma konsantrasyonlarının önemli ölçüde daha düşük olduğunu doğrulamıştır (H.-S. Lim et al., 2007).

Diğer en önemli CYP2D6 aleli CYP2D6*4'tür. Tamoksifenin zayıf metabolize edilmesi meme kanserli hastalarda farmakokinetik dirence neden olur. Gerçekten de bir klinik çalışmada, CYP2D6*4/*4 genotipine sahip hastaların daha kısa nüks süresine ve hastalıksız sağkalıma sahip olduğu gösterilmiştir. Lim ve ark. başka bir önemli alelin, CYP2D6*5'in, tamoksifenin aktif metabolitinin azalmasıyla önemli ölçüde ilişkili olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, aynı çalışmada, CYP2D6*10 alelinin de tamoksifen üzerindeki etkisini bildirmişlerdir (J. S. Lim et al., 2011). Bununla birlikte, İran popülasyonu ile yapılan çalışmada, CYP2D6*3,*4,*5,*6,*10,*17 ve *41 dahil olmak üzere CYP2D6 genotiplerine sahip olanlarda enzim aktivitesinin azalması ile tamoksifenin aktif metaboliti endoksifen eksikliğini tamamlamak ve iyi bir klinik tedavi yanıtı için tamoksifen dozunu günlük 20 mg'dan 30 ve 40 mg'a yükselterek endoksifeni önemli ölçüde artırdığını göstermiştir (Khalaj et al., 2019). Bunlara ek olarak, CYP2D6 geninin birden fazla kopyasına sahip olan deneklerde CYP2D6 ultra hızlı bir metabolize edici özellik göstermesiyle diğer CYP'lerden ayrılır. Bu CYP2D6 gen varyantı polimorfizmleri, XN'nin genin kopya sayısı olduğu CYP2D6* (gen varyantı) XN olarak adlandırılır. Örneğin, CYP2D6*1X3, CYP2D6*1'in üç kopyasını gösterir. CYP2D6*2XN ve CYP2D6*35XN gibi iki fenotip daha, gen duplikasyonu yoluyla artmış metabolik aktivite sağlar (Gaedigk et al., 2007; Mohamed, Huei-xin, Poh, Toh, & Lee, 2013). Yapılan başka bir çalışmada, tamoksifenin hem zayıf hem de çok hızlı metabolize edenlerinin, normal metabolize edenlere kıyasla daha kötü hastalık sağkalımına sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Arvanitidis ve diğer. (2007) bir polimeraz zincir reaksiyonu analizi kullanarak Avrupa popülasyonlarında yüksek frekansta (%7,4) ultra-hızlı alelleri (CYP2D6*2) tanımlamıştır (Arvanitidis et al., 2007). Benzer şekilde, başka bir çalışma dünya çapında deneklerin %1-21'inin ultra-hızlı alellere sahip olduğunu bildirmiştir (Gaedigk, Sangkuhl, Whirl-Carrillo, Klein, & Leeder, 2017). Diğer bir çalışma ise tamoksifen ile tedavi edilen Mısırlı hastalarda *3 ve *4 alellerinin tamoksifene dirençle önemli ölçüde ilişkili olduğunu saptamıştır (Malash et al., 2020).

CYP1B1, tamoksifen biyotransformasyonundan sorumlu başka bir enzimdir. Bununla birlikte, bir tür inaktif biyotransformasyondur. (Z)-tamoksifen, (E)-tamoksifene (inaktif metabolit, cis izomeri) dönüştürmektedir. Klinik olarak tamoksifen tedavisine direnç, artan cis-tamoksifen oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan bir çalışma trans-tamoksifenin cis-tamoksifene izomerizasyonunun ağırlıklı olarak CYP1B1 tarafından

kataliz edildiğini bulmuştur (Crewe, Notley, Wunsch, Lennard, & Gillam, 2002). Benzer şekilde, prostat kanserli hastalarda, DNA metilasyonu aracılığıyla azaltılmış CYP1B1 ekspresyonu, cis-tamoksifen metabolitinin daha düşük bir seviyesini göstermiştir (Widschwendter et al., 2004). Diğer bir çalışmada, tamoksifene dirençli bir meme kanseri hücre hattında CYP1B1'in 2-6 kat aşırı ekspresyonunu tanımlamıştır (Brockdorff, Skouv, Reiter, & Lykkesfeldt, 2000). Bu nedenle, CYP1B1, tümörlerin tamoksifene direnç geliştirmesinden sorumlu enzim olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, tamoksifen izomerik dönüşümün ayrıntılı genel mekanizması henüz açıklanmamıştır. Benzer şekilde, SNP aracılı metabolik aktivite de henüz bildirilmemiştir. Dosetaksel dolaylı bir direnç mekanizmasına sahiptir ancak burada tamoksifen doğrudan CYP1B1 tarafından metabolize edilerek inaktive forma dönüştürülür. Bu nedenle, CYP1B1 yoluyla genel izomerik dönüşüm hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Benzer şekilde, tamoksifen inaktivasyonunda bildirilen CYP1B1 SNP'leri, bir CYP1B1 varyantına sahip olan hastalar için tedavinin değiştirilmesine yardımcı olacaktır. Benzer şekilde, CYP1B1 varyant aracılı inaktivasyonundan kaçınmak için tamoksifen analoglarının tasarlanması için yeni yollar açacaktır.

CYP2C8 Enzimini Etkileyen SNP'ler

CYP2C8 esas olarak karaciğerde ifade edilir ve klinik olarak kullanılan çeşitli ilaçların metabolizmasında önemli bir rol oynar. Paklitaksel meme, akciğer ve yumurtalık kanserlerinde yaygın olarak kullanılan bir anti-kanser ilacıdır. CYP2C8, 6-OH-paklitaksel oluşumuyla sonuçlanan paklitakselin 6 α -hidroksilasyonunun ana katalizörüdür. Yapılan bir çalışmada, 6-OH-paklitakselin sitotoksite aktivitesini kaybetmiş inaktif bir metabolit olduğunu göstermiştir (Sparreboom et al., 1995). CYP2C8, karaciğer mikrozomal hücrelerinde önemli ölçüde ifade edilir; bununla birlikte, ilk geçiş metabolik etkisi nedeniyle, paklitaksel karaciğerde metabolize olur ve buradan safra yoluyla atılır. Ek olarak, gen polimorfizmleri nedeniyle CYP2C8 ekspresyonunda ve spesifik substratlarının metabolizmasında büyük bir bireyler arası farklılık vardır. CYP2C8 polimorfizminin etkisi, CYP2C8*2, CYP2C8*3 ve CYP2C8*4'ün Kafkas (Caucasian) popülasyonları arasında bildirilen ana aleller olduğunu göstermektedir (Kudzi, Doodoo, & Mills, 2009). *In-vitro* deneylerinde, SNP'lerin sonuçları olarak vahşi tip alellere göre paklitaksel metabolizmasında ve klirensinde bir azalma ile ilişkilidir (Jernström, Bågeman, Rose, Jönsson, & Ingvar, 2009). Ayrıca, paklitakselin farmakokinetik profili hem paklitaksel toksisitesinin hem de direncinin önemli bir belirleyicisi olduğundan, diğer çalışmalar varyant alellerin paklitaksel metabolizması üzerinde daha büyük bir etkisinin olmadığını bildirmiştir. Diğer bir çalışmada, bir CYP2C8 aleli olan CYP2C8*1B'nin (271C>A) frekansının beyazlarda %23 ve Asyalılarda ise

%10 olduğunu bildirmiştir. Bu varyant aleli, promotör bölgenin aktivitesini artıran C/EBPa transkripsiyon faktörünün bağlanması için bir konsensüs sekansı oluşturur (Aquilante, Niemi, Gong, Altman, & Klein, 2013). Daha sonra yapılan bir çalışmada CYP2C8*1B'nin enzimin transkripsiyonunu vahşi tiplere göre daha yüksek oranlarda hızlandırdığını enzimin lusi-feraz aktivitesi ile göstererek doğruladı (1,8 kat artış ile, $p < 0,05$) (Rodriguez-Antona et al., 2008). Bununla birlikte, CYP2C8*1B'nin paklitaksel üzerindeki etkisine ilişkin yeterli klinik veri henüz mevcut değildir, ancak promotör bölgede SNP 271C>A mevcuttur, bu nedenle bu alel varyantı, ilacın yüksek bir miktarını inaktif metabolitlere dönüştüren vahşi tip enzim ekspresyonunu artırabilir. Benzer şekilde, diğer çeşitli SNP'ler ve bunların neden olduğu amino asit yer değişimleri, dbSNP veritabanında mevcuttur. Ancak, bu SNP'lerin etkileri ayrıntılı bir şekilde henüz çalışılmamıştır. Bu nedenle, mevcut literatüre ve dbSNP bilgilerine dayanarak, gelecekteki çalışmalar için bazı önemli SNP'leri burada belirtilmiştir. Örneğin, alanin R105 mutasyonu, paklitakselin biraz artmış 6 α -hidroksilasyonunu göstermektedir (Lai et al., 2009). Aynı pozisyonda (R105), dbSNP veritabanında yer alan 409G>T SNP nedeniyle izolösün amino asidine sahiptir. Japonya'da yapılan bir çalışmada japon nüfusu arasında beş farklı varyant tanımlandı (511G>A [G171S], 556C>T [R186X; X, durdurma kodonunu belirtir], 556C>G [R186G], 740A>G [K247R], 1149G>T [K383N]). Hepsi arasında, iki varyant R186X ve R186G, paklitakselin 6 α -hidroksilasyonu üzerinde vahşi tipe kıyasla hiç/daha az aktivite göstermekte ve geri kalan varyantlar, paklitaksel üzerinde vahşi tipte aynı aktiviteyi sergilemektedir (Hichiya et al., 2005). R186X ve R186G varyantları, orijinal dozlarında paklitaksel aracılı toksisiteye yol açabilir. Katalitik aktivite değişiklikleri büyük ölçüde aktif bölge amino asit mutasyonlarına bağlıdır. CYP2C8 aktif bölge amino asitleri arasında I102, F201, F205, P211, G298, K474, I476 ve V477 bulunur ve bunların paklitaksel metabolizmasındaki mutant rolleri henüz araştırılmamıştır (X.-Q. Li, Björkman, Andersson, Ridderström, & Masimirembwa, 2002). dbSNP'de biriken tüm SNP'ler ve ilgili amino asit yer değişimleri Tablo 2'te listelenmiştir. Listelenen tüm mutasyonlar arasında, aynı amino asiti veren varyasyonlar F205 ve P211, enzim aktivitesinde hiçbir değişikliğe neden olmaz, bu da bu SNP'lerin (710C >T ve 728A>G) paklitaksel direnci/toksisitesi üzerinde hiçbir önemi olmadığını gösterir. Ancak diğer mutasyonlar, paklitaksel metabolizması üzerindeki aktiviteleri açısından incelenmemiştir. CYP2C8 aktivitesini etkileyen bu SNP'lerin paklitaksel tedavisindeki bireyler arası farklılıklara neden olup olmadığının araştırılması gerekmektedir. Mutasyonların ve SNP'lerin araştırılması ile elde edilen sonuçlar, paklitakselin terapötik etkisini daha da geliştirmek için klinik dozun kişiselleştirilmesine yardımcı olacaktır.

Tablo 2. *CYP2C8 aktif bölge amino asitleri ve SNP'leri*

SNP	Amino asit yer değişimi	dbSNP rs kodu	Kodon pozisyonu
399A>G	I102V	rs780189252	1
696T>C, 697T>A,	F201L, F201Y	rs1285701403, rs201045618	1, 2
710C>T	F205F	rs138050874	3
728A>G	P211P	rs1437702159	3
988G>T	G298V	rs764809341	2
1516A>G	K474R	rs1016828529	2
1522T>C	I476T	rs1289596203	2
1524G>A, 1525T>C,	V477I, V477A	rs866725748, rs758345299	1, 2

CYP3A4 Enzimini Etkileyen SNP'ler

CYP3A4 karaciğerde bulunan önemli bir enzimdir ve pazarlanan ilaçların %50'sinin metabolizmasında yer alır. Benzer şekilde, CYP3A4'ün çeşitli malign dokularda belirgin şekilde eksprese edildiği ve dosetakselin inaktivasyonunda yer aldığı bilinmektedir (Tian & Hu, 2014). Birkaç çalışma meme ve prostat kanseri hücrelerinde aşırı CYP3A4 ekspresyonu olduğunu ve dosetakselin artık anti-kanser etkisi olmadığını göstermektedir (Miyoshi et al., 2002). Zayıf yanıtın ana nedeni, CYP3A4 geninin lokusunda ve regülasyonundaki genetik değişikliklerle ilişkilidir (Kadlubar et al., 2003). Bu bulgular, çeşitli farmakogenomik çalışmalarla tanımlanırken, fonksiyonel CYP3A4*1B alelinin daha yüksek dosetaksel klirensi ve direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Daha sonra yapılan meta analizde CYP3A4*1B'nin, tümörlerde sıklıkla bulunduğu ve CYP3A4'ün promotör bölgesindeki en kusurlu alel olduğu gösterilmiştir. Bu alel, Kafkas ve Afrika popülasyonlarında oldukça yaygındır (Zhou et al., 2013). CYP3A4*1B'nin tümör hücrelerinde var olduğunu ve kontrol hastalarında bulunmadığını gösteren bir çalışma ile doğrulanmıştır. Ayrıca, siklofosfamid (CPA) CYP3A4 aracılı metabolizması, kloroasetaldehit ve 2-de-kloroetil siklofosfamid dahil inaktif metabolitlerin oluşumuyla sonuçlanır (Pinto, Ludeman, & Dolan, 2009). Yapılan çok değişkenli bir analizde CYP3A4*1B alleleline sahip olanların, vahşi tip alele göre daha kötü hastalıklı sağkalıma sahip olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, CYP3A4 aracılı CPA inaktif metabolitleri oldukça nörotoksiktir, dolayısıyla CYP3A4*1B ile CPA tedavisi, CPA direncine ek olarak toksisite göstermektedir (Gor et al., 2010). Hem direnç hem de toksisite sorunlarından kaçınmak için bu polimorfizm ile CPA hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Anti-Kanser İlaç Direnci ve Toksisite Konusunda DME Farmakogenomiklerinin Rolü

Kanser kemoterapisindeki ana zorluklardan biri ilaç direnci sorununun üstesinden gelmektir çünkü kemoterapide kullanılan ilaçlar oldukça toksiktir. Kemorezistans, vücuttaki ilaç konsantrasyonunda, kan-

ser prognozunda veya ilaç toksisitesinde dalgalanmalara neden olur. Bu dalgalanmaların ana nedenlerinden biri, farmakogenomik çalışmalarla incelenebilen DME'lerdeki genetik değişikliklerdir (Medhasi et al., 2016). Farmakogenomik, çok sayıda ilaç ve gen varyantları ile ilişkilidir. Bu yönü dikkate almak, bireylerin neden aynı tip ilaca farklı yanıt verdiğini anlamamıza yardımcı olabilir, ayrıca bir hastanın genetik yapısına dayalı olarak kemoterapiyi bireyselleştirme çalışmalarını geliştirmeye yardımcı olacaktır. Birçok farmakogenomik çalışma, gen verilerine odaklanmıştır çünkü bir insandaki veya belirli bir popülasyondaki genetik varyasyonları anlamak, farmakokinetik ilaç dağılımını ve ilaç etkisini/yanıtını belirlemede değerli olacaktır (Quiñones Sepúlveda & Lee, 2015). DME'lerdeki bazı polimorfizmler, DME gen ekspresyonunun daha az düzenlenmesi nedeniyle kemoterapötiklerin biyoyararlanımını iyileştirmede çok önemli olabilir, çünkü bunlar optimal tedavi için bildirilen biyobelirteçlerdir. Farmakogenomik çalışmalar, farmakokinetik direncin üstesinden gelmek için kanser tedavisinde bu biyobelirteçleri kullanabilir. Ayrıca bu yaklaşım, bireyler için doza bağlı tedaviye ve hastanın yaşam kalitesinin iyileştirilmesine de yardımcı olacaktır. Farmakogenomik, ayrıca hastaların genetik profiline dayanan kişiselleştirilmiş immünoşüpresif tedavi ile geleneksel terapötik yanıt izler (Cattaneo, Perico, & Remuzzi, 2004). Bunun için ilk çalışmaların DME'leri, ilaç taşıyıcıları ve farmakolojik hedefleri kodlayan genlerin polimorfizmlerine odaklanması gerekmektedir. Bu, ilaç tasarımında çok önemlidir çünkü genomik olarak bireyler arası heterojenlik, klinik deneylerde önemli bir etkidir.

Tiyopurin Metiltransferaz (TPMT)

Tiyopurin S-metiltransferaz, 6-tiyoguanin, 6-merkaptopürin ve azatioprin ile diğer aromatik ve heterosiklik sülfidril bileşikler gibi 'Tiyopurin ilaçlarının / ajanlarının' metabolizmasından sorumlu olan bir enzimdir. Bu ajanlar doğada sitotoksiktir ve çeşitli Lösemi ve inflamatuvar barsak hastalıklarını tedavi etmek için yaygın olarak kullanılır. TPMT, tiopürin ilaçlarının S-metilasyonunu katalize eder. Son on yıldan beri, genetik polimorfizmin varlığı ve ilaç yanıtı üzerindeki etkileri nedeniyle TPMT, dünya çapında biyolog ve klinik araştırmacılar arasında bir araştırma konusu haline gelmektedir. Şu anda TPMT'nin 36 aleli/varyantı bilinmektedir (<http://www.imh.liu.se/>), bunlar TPMT aktivitesini az veya hiç etkilemez, bunların çoğu eş anlamlı olmayan yani TPMT'nin amino asit dizisini değiştiren SNP'leri içerir (Salavaggione, Wang, Wiepert, Yee, & Weinshilboum, 2005). TPMT enziminin fonksiyonunu olumsuz etkileyen ve aktivite göstermemesine neden olan iki varyant için homozigot olan bireyler, tedavileri sırasında Tiyopurin ilaçları ile tedavi edilirlerse, toksik yan etkiler açısından yüksek risk altındadırlar.

TPMT enziminin fonksiyonunu olumsuz etkileyen aleller nispeten nadirdir ve bunların varlığı ve sıklığı etnik popülasyonlar arasında değişir; TPMT*3A, beyaz ırkta (Caucasian) yaklaşık %5 sıklıkta en yaygın alleldir. TPMT*3C, Afro-Amerikan ve Doğu Asya popülasyonlarında en yaygın aleldir, TPMT*8, Afrika popülasyonlarında daha yaygındır (<http://www.pharmgkb.org>). Farmakogenomik kavramlarının başlangıcından bu yana TPMT, çeşitli genetik polimorfizm temelli klinik araştırmalar için bir model olarak kullanılmıştır ve artık Farmakogenomik'in rutin klinik uygulamalara başarılı bir şekilde çevrilmesi için iyi bir örnektir (Appell et al., 2013).

Klinik Araştırmalarda SNP'ler

Tek Nükleotid Polimorfizmleri, kişiselleştirilmiş tıbbın tasarımına yönelik bir yol sağlar. Genetik polimorfizm bilgisi, doğru ilaç dozlarına karar vermede bir gösterge olarak kullanılabilir önemli bilgiler sağlayabilir. Genetik olarak belirlenmiş çeşitliliğin, ilaçların bazı kişilerde etkisiz, bazılarında ise daha etkili olmasına neden olduğu artık bilinen bir gerçektir. Genetik polimorfizme bağlı değişen ilaç yanıtı, yeni ilaçların klinik denemelerinde kullanılabilir. SNP'nin fonksiyonel korelasyonunun klinik deneylerin en başlangıç aşamasında analizi, araştırılan klinik maddeye yanıt vermeye genetik ve fizyolojik olarak uygun hastaların seçilmesine izin verebilir (E Laing, Hess, Shen, Wang, & X Hu, 2011).

Daha sonra klinik deneyler için uygun gönüllüler, genetik varyantlar, metabolik durum, ilaç hedefi ve metabolik enzim polimorfizmi ve spesifik hastalıkların varlığı hakkında bilgi sağlayan genetik testler yardımıyla belirlenebilir. Bu şekilde seçilen küçük gönüllü grupları bile istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verebilir, böylece toplam maliyeti düşürür ve klinik araştırmaların güvenilirliğini artırır (Zhou et al., 2013). Tek Nükleotid Polimorfizmleri, çok çeşitli hastalıklar için kişiselleştirilmiş tedaviye yol açabilir. Bu nedenle farmakogenomik, ilaç güvenliğini ve bireysel hastanın genetik profiline uyacak etkili tedaviyi, yani kişiselleştirilmiş ilacı veya doğru kişi için doğru ilacı vererek hastaları iyileştirme amaçlarına ulaşmak için ağırlıklı olarak SNP'lere güvenir.

Farmakogenomik Analizlerde Bir Araç Olarak SNP'lerin Sınırlamaları

Farmakogenomik, bunları ilişkilendirmek için çok çeşitli genetik ve klinik veriler gerektiriyordu. Şimdiye kadar, farmakogenomik çalışmalar çoğunlukla, küçük boyutlu verilerden bağlantı-dengesizlik tahmini- ni genellikle imkânsız ve genellikle kesin olmayan hale getirmek için, boyutları sınırlı olan gönüllülerden- hastalardan elde edilen klinik deney verilerine dayanmaktadır. Ayrıca, ilaç dünya çapında satılmasına ve dünya çapında hemen hemen tüm etnik gruplar tarafından tüketilmesine

rağmen. Bu gerçeğe rağmen, yeni tedavilerin çoğu klinik denemesinin az sayıda etnik grupta (Beyaz Amerikalılar veya Avrupalılar gibi) gerçekleştirildiği iyi gözlemlenen bir gerçektir. Bu nedenle çoğu farmakogenomik çalışma, genellikle küresel çapta heterojenite temsilcisi olarak kabul edilemeyen bu genetik olarak heterojen klinik araştırma popülasyonlarıyla sınırlıdır (McGraw & Waller, 2012). Yeni Nesil Dizileme teknolojisi dizileme maliyetini azalttı, ancak yine de sıradan bir insanın kendi kişisel genomunun SNP genotiplemesini, SNP'lerin ve klinik bilgilerin korelasyonunu ve bunların yorumlanmasını elde etmesi pahalıdır ve aynı zamanda sınırlayıcı bir faktör olarak hareket etmektedir (Gattepaille, Jakobsson, & Blum, 2013).

Sonuç ve Yorumlar

DME'lerdeki/DIE'lerdeki polimorfizmler, kanser tedavisinde kullanılan ilaçların farmakokinetik özelliklerinde önemli bir rol oynar. Daha da önemlisi, çoklu genler üzerindeki polimorfik etki ve dolayısıyla bu genlerin ekspresyonundaki değişiklikler direnç sorununa yol açar. Literatüre bakıldığında, SNP'lerin anti-kanser ilaçların hem direnç hem de terapötik etkisi üzerindeki önemleri vurgulanmaktadır.

Son yıllarda, SNP varyasyonlarının klinik öneminin anlaşılması artmıştır ve örneğin dbSNP gibi bazı veri tabanlarında, DME'ler hakkında kolayca bulunabilen genomik bilgiler bulunmaktadır. Bu bilgiyi kullanarak, DIE'lerde tümöral ilaç inaktivasyonundan sorumlu olan zararlı SNP'lerin bulunması, direnç sorununa daha fazla ışık tutacaktır. Bu bölümde, esas olarak anti-kanser ilaçlarının inaktivasyonuna ve farmakokinetik direnç katkısında bulunan DME'lerdeki SNP'lere odaklanılmıştır. Böyle bir direnç sorununun azaltılmasında farmakogenomik yaklaşımın önemi de tartışılmıştır. Tek bir antikanser ajan birkaç DME tarafından inaktive edilir; örneğin, dosetaksel CYP1B1 ve CYP3A4 enzimleri tarafından inaktive edilirken siklofosfamid ALDH, CYP3A4 ve Glutasyon S-transferaz (GST) tarafından inaktive edilir. Bu DME'ler arasında, CYP1B1, öncelikle çeşitli tümörlerde eksprese edilir ve kemorezistan ve kanser ilerlemesinde rol oynar. CYP1B1 aracılı östrojen metabolizması, dosetaksel direncine ve kanserin ilerlemesine yol açar. CYP1B1*3 genotipli hastalar dolaylı bir kemorezistana sahiptir ve dosetaksel tedavisi ile uygun adjuvan tedavi gerektirir. Bu nedenle, dosetaksel direncinin üstesinden gelmek için bir adjuvan tedavi olarak CYP1B1 inhibitörlerinin geliştirilmesi önerilmiştir. Ayrıca CYP1B1, tamoksifen inaktivasyonunda da yer alır. Bununla birlikte, tamoksifen inaktivasyonundan sorumlu CYP1B1 SNP'leri henüz kapsamlı bir şekilde incelenmemiştir ve daha fazla farmakogenomik araştırma gerektirmektedir. Benzer şekilde, ilaç dağılımını ve kemorezistans ile ilişkili toksisite problemlerini yönetmek için kemoterapötik ilaçlar ve bunları metabolize eden enzimler üzerine daha fazla farmakogenomik araştırma ge-

reklidir. Kısaca, tüm tartışmamız, tümöral ilaç inaktivasyonundan sorumlu olan DME'lerin biyolojik fonksiyonlarının ve bunların direnç ve toksisitesinin SNP'lerden etkilendiğini göstermektedir. Bu nedenle, DIE'lerdeki olumsuz katkısı olan SNP'lerin farmakogenomik araştırması, anti-kanser ajanlarının terapötik yararını azaltan direnç ve toksisite problemlerinin üstesinden gelmeye yardımcı olacaktır.

REFERANSLAR

- Abbott, J. M., Calinski, D., & Hollenberg, P. (2013). Metabolism of cyclophosphamide by CYP 2B6 and associated polymorphisms. In: Wiley Online Library.
- Alwi, Z. B. (2005). The use of SNPs in pharmacogenomics studies. *The Malaysian journal of medical sciences: MJMS*, 12(2), 4.
- Appell, M. L., Berg, J., Duley, J., Evans, W. E., Kennedy, M. A., Lennard, L., . . . Schaeffeler, E. (2013). Nomenclature for alleles of the thiopurine methyltransferase gene. *Pharmacogenetics and genomics*, 23(4), 242-248.
- Aquilante, C. L., Niemi, M., Gong, L., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2013). PharmGKB summary: very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 8. *Pharmacogenetics and genomics*, 23(12), 721.
- Arvanitidis, K., Ragia, G., Iordanidou, M., Kyriaki, S., Xanthi, A., Tavridou, A., & Manolopoulos, V. G. (2007). Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population. *Fundamental & clinical pharmacology*, 21(4), 419-426.
- Aziz, A. A. A., Salleh, M. S. M., Yahya, M. M., Zakaria, A. D., & Ankathil, R. (2021). Genetic association of CYP1B1 4326 C> G polymorphism with disease-free survival in TNBC patients undergoing TAC chemotherapy regimen. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 22(4), 1319.
- Baek, H.-S., Kwon, Y.-J., Ye, D.-J., Cho, E., Kwon, T.-U., & Chun, Y.-J. (2019). CYP1B1 prevents proteasome-mediated XIAP degradation by inducing PKC ϵ activation and phosphorylation of XIAP. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1866(12), 118553.
- Blossey, H. C., Wander, H. E., Koebberling, J., & Nagel, G. A. (1984). Pharmacokinetic and pharmacodynamic basis for the treatment of metastatic breast cancer with high-dose medroxyprogesterone acetate. *Cancer*, 54(S1), 1208-1215.
- Brockdorff, B. L., Skouv, J., Reiter, B. E., & Lykkesfeldt, A. E. (2000). Increased expression of cytochrome p450 1A1 and 1B1 genes in anti-estrogen-resistant human breast cancer cell lines. *International Journal of Cancer*, 88(6), 902-906.
- Carlson, C. S., Eberle, M. A., Kruglyak, L., & Nickerson, D. A. (2004). Mapping complex disease loci in whole-genome association studies. *Nature*, 429(6990), 446-452.
- Cattaneo, D., Perico, N., & Remuzzi, G. (2004). From pharmacokinetics to pharmacogenomics: a new approach to tailor immunosuppressive therapy. *American Journal of Transplantation*, 4(3), 299-310.
- Chang, H.-W., Chuang, L.-Y., Tsai, M.-T., & Yang, C.-H. (2012). The importance

- of integrating SNP and cheminformatics resources to pharmacogenomics. *Current drug metabolism*, 13(7), 991-999.
- Crewe, H. K., Notley, L. M., Wunsch, R. M., Lennard, M. S., & Gillam, E. M. (2002). Metabolism of tamoxifen by recombinant human cytochrome P450 enzymes: formation of the 4-hydroxy, 4'-hydroxy and N-desmethyl metabolites and isomerization of trans-4-hydroxytamoxifen. *Drug metabolism and disposition*, 30(8), 869-874.
- Danielson, P. á. (2002). The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Current drug metabolism*, 3(6), 561-597.
- Dutkiewicz, Z., & Mikstaka, R. (2018). Structure-based drug design for cytochrome P450 family 1 inhibitors. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2018.
- E Laing, R., Hess, P., Shen, Y., Wang, J., & X Hu, S. (2011). The role and impact of SNPs in pharmacogenomics and personalized medicine. *Current drug metabolism*, 12(5), 460-486.
- Ekhart, C., Rodenhuis, S., Smits, P. H., Beijnen, J. H., & Huitema, A. D. (2008). Relations between polymorphisms in drug-metabolising enzymes and toxicity of chemotherapy with cyclophosphamide, thiotepa and carboplatin. *Pharmacogenetics and genomics*, 18(11), 1009-1015.
- Fidai, S. S., Sharma, A. E., Johnson, D. N., Segal, J. P., & Lastra, R. R. (2018). Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency as a cause of fatal 5-Fluorouracil toxicity. *Autopsy & Case Reports*, 8(4).
- Gaedigk, A., Ndjountche, L., Divakaran, K., Dianne Bradford, L., Zineh, I., Oberlander, T., . . . Alander, S. (2007). Cytochrome P4502D6 (CYP2D6) gene locus heterogeneity: characterization of gene duplication events. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 81(2), 242-251.
- Gaedigk, A., Sangkuhl, K., Whirl-Carrillo, M., Klein, T., & Leeder, J. S. (2017). Prediction of CYP2D6 phenotype from genotype across world populations. *Genetics in Medicine*, 19(1), 69-76.
- Gattepaille, L. M., Jakobsson, M., & Blum, M. G. (2013). Inferring population size changes with sequence and SNP data: lessons from human bottlenecks. *Heredity*, 110(5), 409-419.
- Gor, P. P., Su, H. I., Gray, R. J., Gimotty, P. A., Horn, M., Aplenc, R., . . . DeMichele, A. (2010). Cyclophosphamide-metabolizing enzyme polymorphisms and survival outcomes after adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: a retrospective cohort study. *Breast cancer research*, 12(3), 1-10.
- Hanna, I. H., Dawling, S., Roodi, N., Guengerich, F. P., & Parl, F. F. (2000). Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) pharmacogenetics: association of polymorphisms with functional differences in estrogen hydroxylation activity. *Cancer Research*, 60(13), 3440-3444.

- Hichiya, H., Tanaka-Kagawa, T., Soyama, A., Jinno, H., Koyano, S., Katori, N., . . . Kimura, H. (2005). Functional characterization of five novel CYP2C8 variants, G171S, R186X, R186G, K247R, and K383N, found in a Japanese population. *Drug metabolism and disposition*, 33(5), 630-636.
- Hunt, R., Sauna, Z. E., Ambudkar, S. V., Gottesman, M. M., & Kimchi-Sarfaty, C. (2009). Silent (synonymous) SNPs: should we care about them? *Single nucleotide polymorphisms*, 23-39.
- Huttunen, K. M., Mahonen, N., Raunio, H., & Rautio, J. (2008). Cytochrome P450-activated prodrugs: targeted drug delivery. *Current medicinal chemistry*, 15(23), 2346-2365.
- Ieiri, I., Higuchi, S., & Sugiyama, Y. (2009). Genetic polymorphisms of uptake (OATP1B1, 1B3) and efflux (MRP2, BCRP) transporters: implications for inter-individual differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of statins and other clinically relevant drugs. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 5(7), 703-729.
- Jernström, H., Bågeman, E., Rose, C., Jönsson, P.-E., & Ingvar, C. (2009). CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in relation to tumour characteristics and early breast cancer related events among 652 breast cancer patients. *British Journal of Cancer*, 101(11), 1817-1823.
- Jin, J., Lin, F., Liao, S., Bao, Q., & Ni, L. (2014). Effects of SNPs (CYP1B1* 2 G355T, CYP1B1* 3 C4326G, and CYP2E1* 5 G-1293C), smoking, and drinking on susceptibility to laryngeal cancer among Han Chinese. *PloS one*, 9(10), e106580.
- Kadlubar, F. F., Berkowitz, G. S., Delongchamp, R. R., Wang, C., Green, B. L., Tang, G., . . . Wolff, M. S. (2003). The CYP3A4* 1B variant is related to the onset of puberty, a known risk factor for the development of breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 12(4), 327-331.
- Karkhanis, A., Hong, Y., & Chan, E. C. Y. (2017). Inhibition and inactivation of human CYP2J2: implications in cardiac pathophysiology and opportunities in cancer therapy. *Biochemical Pharmacology*, 135, 12-21.
- Khalaj, Z., Baratieh, Z., Nikpour, P., Schwab, M., Schaeffeler, E., Mokarian, F., . . . Salehi, M. (2019). Clinical trial: CYP2D6 related dose escalation of tamoxifen in breast cancer patients with Iranian ethnic background resulted in increased concentrations of tamoxifen and its metabolites. *Frontiers in pharmacology*, 10, 530.
- Kirk, B. W., Feinsod, M., Favis, R., Kliman, R. M., & Barany, F. (2002). Single nucleotide polymorphism seeking long term association with complex disease. *Nucleic acids research*, 30(15), 3295-3311.
- Kiyotani, K., Mushiroda, T., Imamura, C. K., Hosono, N., Tsunoda, T., Kubo, M., . . . Skaar, T. C. (2010). Significant effect of polymorphisms in CYP2D6 and ABCC2 on clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients. *Journal of Clinical Oncology*, 28(8), 1287.

- Klein, K., & Zanger, U. M. (2013). Pharmacogenomics of cytochrome P450 3A4: recent progress toward the “missing heritability” problem. *Frontiers in genetics*, 4, 12.
- Klose, T. S., Blaisdell, J. A., & Goldstein, J. A. (1999). Gene structure of CYP2C8 and extrahepatic distribution of the human CYP2Cs. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 13(6), 289-295.
- Kozovska, Z., Patsalias, A., Bajzik, V., Durinikova, E., Demkova, L., Jargasova, S., . . . Matuskova, M. (2018). ALDH1A inhibition sensitizes colon cancer cells to chemotherapy. *BMC cancer*, 18(1), 1-11.
- Kudzi, W., Dodoo, A. N., & Mills, J. J. (2009). Characterisation of CYP2C8, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms in a Ghanaian population. *BMC medical genetics*, 10(1), 1-6.
- Kwok, P.-Y., & Chen, X. (2003). Detection of single nucleotide polymorphisms. *Current issues in molecular biology*, 5(2), 43-60.
- Lai, X.-S., Yang, L.-P., Li, X.-T., Liu, J.-P., Zhou, Z.-W., & Zhou, S.-F. (2009). Human CYP2C8: structure, substrate specificity, inhibitor selectivity, inducers and polymorphisms. *Current drug metabolism*, 10(9), 1009-1047.
- Landi, M. T., Bergen, A. W., Baccarelli, A., Patterson Jr, D. G., Grassman, J., Ter-Minassian, M., . . . Pesatori, A. C. (2005). CYP1A1 and CYP1B1 genotypes, haplotypes, and TCDD-induced gene expression in subjects from Seveso, Italy. *Toxicology*, 207(2), 191-202.
- Le Morvan, V., Richard, E., Cadars, M., Pasquies, A., Lansiaux, A., & Robert, J. (2016). Atypical relationship between cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) polymorphism and cell proliferation and invasiveness in head-and-neck carcinoma. *Cancer Research*, 76(14_Supplement), 2091-2091.
- Lennard, L., Cartwright, C. S., Wade, R., Richards, S. M., & Vora, A. (2013). Thiopurine methyltransferase genotype–phenotype discordance and thiopurine active metabolite formation in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *British journal of clinical pharmacology*, 76(1), 125-136.
- Li, X.-Q., Björkman, A., Andersson, T. B., Ridderström, M., & Masimirembwa, C. M. (2002). Amodiaquine clearance and its metabolism: ton-desethylamodiaquine is mediated by CYP2C8: a new high affinity and turnover enzyme-specific probe substrate. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 300(2), 399-407.
- Li, Y., Steppi, A., Zhou, Y., Mao, F., Miller, P. C., He, M. M., . . . Zhang, J. (2017). Tumoral expression of drug and xenobiotic metabolizing enzymes in breast cancer patients of different ethnicities with implications to personalized medicine. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.
- Lim, H.-S., Ju Lee, H., Seok Lee, K., Sook Lee, E., Jang, I.-J., & Ro, J. (2007). Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 25(25), 3837-3845.

- Lim, J. S., Chen, X. A., Singh, O., Yap, Y. S., Ng, R. C., Wong, N. S., . . . Chowbay, B. (2011). Impact of CYP2D6, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tamoxifen pharmacokinetics in Asian breast cancer patients. *British journal of clinical pharmacology*, 71(5), 737-750.
- Malash, I., Mansour, O., Shaarawy, S., Abdellateif, M. S., Omar, A., Gaafar, R., . . . Bahnassy, A. (2020). The role of CYP2D6 polymorphisms in determining response to tamoxifen in metastatic breast cancer patients: review and Egyptian experience. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 21(12), 3619.
- Marsh, S., Kwok, P., & McLeod, H. L. (2002). SNP databases and pharmacogenetics: great start, but a long way to go. *Human Mutation*, 20(3), 174-179.
- McCarthy, J. J., & Hilfiker, R. (2000). The use of single-nucleotide polymorphism maps in pharmacogenomics. *Nature biotechnology*, 18(5), 505-508.
- McGraw, J., & Waller, D. (2012). Cytochrome P450 variations in different ethnic populations. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 8(3), 371-382.
- Medhasi, S., Pinthong, D., Pasomsub, E., Vanwong, N., Ngamsamut, N., Puangpetch, A., . . . Limsila, P. (2016). Pharmacogenomic study reveals new variants of drug metabolizing enzyme and transporter genes associated with steady-state plasma concentrations of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in Thai autism spectrum disorder patients. *Frontiers in pharmacology*, 7, 475.
- Miyoshi, Y., Ando, A., Takamura, Y., Taguchi, T., Tamaki, Y., & Noguchi, S. (2002). Prediction of response to docetaxel by CYP3A4 mRNA expression in breast cancer tissues. *International Journal of Cancer*, 97(1), 129-132.
- Mohamed, E. H. M., Huei-xin, L., Poh, J., Toh, D., & Lee, E. J. D. (2013). The Importance of Ethnicity Definitions and Pharmacogenomics in Ethnobridging. In *Pharmacogenomics* (pp. 367-404): Elsevier.
- Nebert, D. W., Wikvall, K., & Miller, W. L. (2013). Human cytochromes P450 in health and disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1612), 20120431.
- Nelson, D. R. (2013). A world of cytochrome P450s. In (Vol. 368, pp. 20120430): The Royal Society.
- Nishida, C. R., Everett, S., & de Montellano, P. R. O. (2013). Specificity determinants of CYP1B1 estradiol hydroxylation. *Molecular pharmacology*, 84(3), 451-458.
- Obligacion, R., Murray, M., & Ramzan, I. (2006). Drug-metabolizing enzymes and transporters: Expression in the human prostate and roles in prostate drug disposition. *Journal of andrology*, 27(2), 138-150.
- Ortiz de Montellano, P. R. (2013). Cytochrome P450-activated prodrugs. *Future medicinal chemistry*, 5(2), 213-228.

- Parajuli, B., Georgiadis, T. M., Fishel, M. L., & Hurley, T. D. (2014). Development of selective inhibitors for human aldehyde dehydrogenase 3A1 (ALDH3A1) for the enhancement of cyclophosphamide cytotoxicity. *Chembi-ochem*, 15(5), 701-712.
- Pinto, N., Ludeman, S. M., & Dolan, M. E. (2009). Drug focus: pharmacogenetic studies related to cyclophosphamide-based therapy. *Pharmacogenomics*, 10(12), 1897-1903.
- Preissner, S., Kroll, K., Dunkel, M., Senger, C., Goldsobel, G., Kuzman, D., . . . Preissner, R. (2010). SuperCYP: a comprehensive database on Cytochrome P450 enzymes including a tool for analysis of CYP-drug interactions. *Nucleic acids research*, 38(suppl_1), D237-D243.
- Quiñones Sepúlveda, L., & Lee, K. S. (2015). Improving cancer chemotherapy through pharmacogenomics: A research topic.
- Rizzo, R., Spaggiari, F., Indelli, M., Lelli, G., Baricordi, O. R., Rimessi, P., & Ferlini, A. (2010). Association of CYP1B1 with hypersensitivity induced by taxane therapy in breast cancer patients. *Breast cancer research and treatment*, 124(2), 593-598.
- Rodriguez-Antona, C., Niemi, M., Backman, J. T., Kajosaari, L., Neuvonen, P. J., Robledo, M., & Ingelman-Sundberg, M. (2008). Characterization of novel CYP2C8 haplotypes and their contribution to paclitaxel and repaglinide metabolism. *The pharmacogenomics journal*, 8(4), 268-277.
- Salavaggione, O. E., Wang, L., Wiepert, M., Yee, V. C., & Weinshilboum, R. M. (2005). Thiopurine S-methyltransferase pharmacogenetics: variant allele functional and comparative genomics. *Pharmacogenetics and genomics*, 15(11), 801-815.
- Salinas-Sánchez, A. S., Donate-Moreno, M. J., López-Garrido, M.-P., Giménez-Bachs, J. M., & Escribano, J. (2012). Role of CYP1B1 gene polymorphisms in bladder cancer susceptibility. *The Journal of urology*, 187(2), 700-706.
- Salleh, M., Salzihan, M., Mohamad, I., Bhavaraju, V. M. K., Yahya, M. M., Zakaria, A. D., . . . Ankathil, R. (2018). Single-nucleotide polymorphisms and mRNA expression of CYP1B1 influence treatment response in triple negative breast cancer patients undergoing chemotherapy. *Journal of genetics*, 97(5), 1185-1194.
- Sasaki, M., Tanaka, Y., Kaneuchi, M., Sakuragi, N., & Dahiya, R. (2003). CYP1B1 gene polymorphisms have higher risk for endometrial cancer, and positive correlations with estrogen receptor α and estrogen receptor β expressions. *Cancer Research*, 63(14), 3913-3918.
- Shastri, B. S. (2009). SNPs: impact on gene function and phenotype. *Single nucleotide polymorphisms*, 3-22.
- Singh, M. S., Francis, P. A., & Michael, M. (2011). Tamoxifen, cytochrome P450 genes and breast cancer clinical outcomes. *The Breast*, 20(2), 111-118.

- Sparreboom, A., Huizing, M. T., Boesen, J. J., Nooijen, W. J., van Tellingen, O., & Beijnen, J. H. (1995). Isolation, purification, and biological activity of mono- and dihydroxylated paclitaxel metabolites from human feces. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 36(4), 299-304.
- Spence, J. P., Liang, T., Eriksson, C. P., Taylor, R. E., Wall, T. L., Ehlers, C. L., & Carr, L. G. (2003). Evaluation of aldehyde dehydrogenase 1 promoter polymorphisms identified in human populations. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27(9), 1389-1394.
- Tian, D., & Hu, Z. (2014). CYP3A4-mediated pharmacokinetic interactions in cancer therapy. *Current drug metabolism*, 15(8), 808-817.
- Useche, F. J., Gao, G., Hanafey, M., & Rafalski, A. (2001). High-throughput identification, database storage and analysis of SNPs in EST sequences. *Genome Informatics*, 12, 194-203.
- van Oeveren, J., & Janssen, A. (2009). Mining SNPs from DNA sequence data; computational approaches to SNP discovery and analysis. In *Single nucleotide polymorphisms* (pp. 73-91): Springer.
- Vasile, E., Tibaldi, C., Leon, G. L., D'Incecco, A., & Giovannetti, E. (2015). Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) polymorphisms are associated with clinical outcome of docetaxel in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 141(7), 1189-1194.
- Verma, H., Narendra, G., Raju, B., Kumar, M., Jain, S. K., Tung, G. K., . . . Silakari, O. (2022). 3D-QSAR and scaffold hopping based designing of benzo [d] ox-azol-2 (3H)-one and 2-oxazolo [4, 5-b] pyridin-2 (3H)-one derivatives as selective aldehyde dehydrogenase 1A1 inhibitors: Synthesis and biological evaluation. *Archiv der Pharmazie*, e2200108.
- Verma, H., & Silakari, O. (2020). Investigating the Role of Missense SNPs on ALDH 1A1 mediated pharmacokinetic resistance to cyclophosphamide. *Computers in Biology and Medicine*, 125, 103979.
- Wang, J., SY Pang, G., S Chong, S., & GL Lee, C. (2012). SNP web resources and their potential applications in personalized medicine. *Current drug metabolism*, 13(7), 978-990.
- Weng, L., Zhang, L., Peng, Y., & Huang, R. S. (2013). Pharmacogenetics and pharmacogenomics: a bridge to individualized cancer therapy. *Pharmacogenomics*, 14(3), 315-324.
- Whirl-Carrillo, M., McDonagh, E. M., Hebert, J., Gong, L., Sangkuhl, K., Thorn, C., . . . Klein, T. E. (2012). Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 92(4), 414-417.
- Widschwendter, M., Siegmund, K. D., Müller, H. M., Fiegl, H., Marth, C., Müller-Holzner, E., . . . Laird, P. W. (2004). Association of breast cancer DNA methylation profiles with hormone receptor status and response to tamoxifen. *Cancer Research*, 64(11), 3807-3813.

- Wilkinson, G. R. (2005). Drug metabolism and variability among patients in drug response. *New England Journal of Medicine*, 352(21), 2211-2221.
- Yao, S., Sucheston, L. E., Zhao, H., Barlow, W. E., Zirpoli, G., Liu, S., . . . Davis, W. (2014). Germline genetic variants in ABCB1, ABCC1 and ALDH1A1, and risk of hematological and gastrointestinal toxicities in a SWOG Phase III trial S0221 for breast cancer. *The pharmacogenomics journal*, 14(3), 241-247.
- Zanger, U. M., & Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & therapeutics*, 138(1), 103-141.
- Zhang, J., Song, J., Liang, X., Yin, Y., Zuo, T., Chen, D., & Shen, Q. (2019). Hyaluronic acid-modified cationic nanoparticles overcome enzyme CYP1B1-mediated breast cancer multidrug resistance. *Nanomedicine*, 14(4), 447-464.
- Zhou, L.-P., Yao, F., Luan, H., Wang, Y.-L., Dong, X.-H., Zhou, W.-W., & Wang, Q.-H. (2013). CYP3A4* 1B polymorphism and cancer risk: a HuGE review and meta-analysis. *Tumor Biology*, 34(2), 649-660.

“

Bölüm 9

RUMİNANTLARDA MYCOPLASMA ENFEKSİYONLARI

Burcu KARAGÜLLE¹

”

¹ Dr., Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.D Elazığ /
TÜRKİYE, bkaragulle@firat.edu.tr <https://orcid.org/0000-0002-6628-4515>

1. GİRİŞ

Mycoplasmalar, insan ve hayvanlarda solunum ve ürogenital sistem mukozalarına kolonize olarak çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. İnsekt ve bitkilerde de var olan bu etkenler, ilk kez, modern bakteriyoloji açısından çok önemli bir buluş olan Sığırların Pleuro Pneumonia olgularından izole edilerek 1898 yılında Nocard ve Roux adlı araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır. Bu mikroorganizmalar önce PPLO (Pleura Pneumonia Like Organism) olarak bildirilmiş ve 1929 yılında bu etkenlerin Mycoplasma adı altında isimlendirilmesi uygun bulunmuştur (1, 2).

Bergey's Manual 'in 2004 taksonomisine göre Mollicutes sınıfında, Mycoplasmataceae familyasında Mycoplasma, Eperytozon, Ureaplasma ve Haemobartonella cinsleri bulunmaktadır. Dolayısıyla mycoplasmalar latince "mollis"= yumuşak ve "cutis"= deri kelimelerinden oluşan Mollicute (Yumuşakça) sınıfındadır. Ayrıca Mollicutes sınıfının Mycoplasmales dizisinden farklı değişik familyalara ait Spiroplasma, Acheloplasma ve Erysipelothrix cinslerindeki türler de insan ve hayvanlarda önemli enfeksiyonlara neden olmaktadır (3, 4). Mollicute sınıflandırılmasında başlıca sterol gereksinimi ve digitonin duyarlılığı göz önünde bulundurularak, sterol gereksinimi olan mollicute (Mycoplasma, Üreaplasma, Entomoplasma, Spiroplasma ve Aneroplasma cinsleri) ile sterol gereksinimi olmayan (Mesoplasma, Acheloplasma ve Asteroleplasma) cinslerine ayrılmıştır (5).

2. MYCOPLASMALARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Mycoplasmataceae familyasının üyeleri olan Mycoplasmalar ve Ureaplasmalar hücre duvarı olmayan, dolayısıyla peptidoglikan polimerinden yoksun, basit yapılı, en küçük prokaryotlardır. Mycoplasmalar kendi kendine replike olabilen en küçük mikroorganizmalardır. Bu özelliklerinden dolayı Streptococcus, Clostridium ve Lactobacillus genusunun üyeleri ile filogenetik olarak ilişkili olduğu bulunmuştur (5). Bu genusun üyeleri replikasyon için sınırlı metabolik özelliklere sahip olması ve küçük genom yapısına sahip olmasından dolayı diğer bakterilerden ayrılır (3). Mycoplasma cinsine dahil türler sporsuz, kapsülsüz ve hareketsizdirler. Bu mikroorganizmalar hücre duvarlarının olmaması nedeniyle pleomorfik özelliğe sahip 0,3-0,8 µm çaplı kokoid mikroorganizmalardır. Tüm mycoplasmalar küçük boyutta olduğundan dolayı bakteri geçirmeyen 0,45µm'lik filtrelerden geçebilirler. Giemsa, Macchiavello ve Castaneda gibi boyama yöntemleri ile boyanabilmelerine rağmen Anilin içeren boyalar ile güç boyandığı bilinmektedir (3, 4, 5).

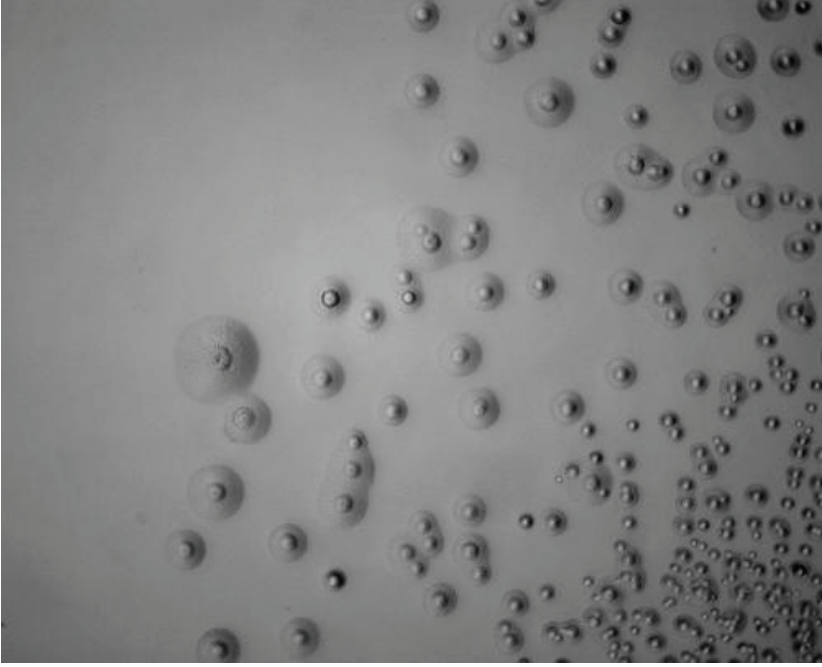
Mycoplasmalara yapısal açıdan bakılacak olunursa; DNA, Ribozomlar,, fosfolipidler ve proteinlerden oluşan stoplazmik membran ile çevrilmiş olup "Unit membran" diye adlandırılan bu yapı, elektron mikroskopunda 3 tabakalı şekilde görülmektedir. Unit membranın bileşiminde bulunan

karbonhidratlar, özellikle kompleменти fikse etmede ve nötralizan antikorların saptanmasında rol alır (3,4).

Kokoid formda olan mycoplasmalar genellikle proteolitik aktiviteye sahiptirler. Arginini hidroliz ederlerken glikoz ve mannozu katabolize ederler. Mycoplasmalar başta glikoz olmak üzere şekerleri metabolize etme özelliklerine göre "fermentatif" ve "nonfermentatif" olmak üzere iki gruba ayrılır. Bu etkenler nazlı üreme özelliğine sahip olduklarından dolayı izolasyonları oldukça güç olmaktadır (4, 6). Kokoid formda olan mycoplasmaların replikasyonu diğer prokaryotlar gibi ikiye bölünerek gerçekleşirken; filamentöz olanlar içlerinde elementer cisimcikler oluşturarak ürerler. Mycoplasmalar da önce genom replikasyonu ardından hemen sitoplazmik bölünme gerçekleşmekte ve dallı filamentler meydana gelmektedir. Nükleik asit öncülleri olan pürin ve pirimidin sentezleyen gen ve enzimlerden yoksunlardır (4,7). Mycoplasmalar besinsel gereksinimleri için aminoasitler, nükleotidler, yağ asitleri ve steroller gibi biyosentetik öncü maddelere ihtiyaç duyarlar. Ancak mycoplasmalar, biyosentezde rol oynayan birçok genden mahrum oldukları için bu durum onları parazitik bir yaşama mahkum etmiştir. Bu sebeple metabolizmalarına gerekli prekürsörleri temin edebilmek için membran taşıyıcılarına gereksinim duyarlar. Bu taşıyıcılar plazma membranında bulunur (8). Üremeleri için ekzojenik yağ asitlerine ihtiyaç duyarlar (9). Ekzojenik olarak sağladıkları bu yağ asitlerinden kendi sitoplazmik fosfolipid ve glikolipidlerini sentezlerler. Fakat bazı mycoplasmalar konakçı fosfoliplerini kendi membranlarına dahil edebilirler (6, 9). Hücre membranlarının akışkan olmasında, yapılarına dahil ettikleri %65 konsantrasyonundaki ekzojenik kolesterolün etkisi olduğu bilinmektedir (6). Mycoplasma etkenlerini üretmek, diğer bakterilere nazaran oldukça güçtür. Nazlı ürettiği bilinen bu mikroorganizmalar için bazı spesifik üretme faktörlerine ve izotonik ortamlara ihtiyaç vardır. Özellikle kolesterol gereksinimleri çok fazla olduğu için besi yerlerine %20 at serumu veya domuz serumu ilave edilir. Ayrıca üremeyi artırması amacıyla maya ekstraktları, DNA ya da nükleotidlerin katılması ve yüksek kaliteli distile suyun kullanılması gerekmektedir. Gram pozitif bakterilerin üremesini engellemek için Penisilin ve türevleri, Gram negatif bakteriler ile mantarların üremesini engellemek amacıyla da besiyerlerine, Thallium asetat ilave edilmelidir. Üremenin kontrolü için besiyerlerine fenol red gibi indikatör maddeler de ilave edilebileceği bildirilmiştir. (1,3,4,9,10). Mycoplasmaların izolasyonu için kullanılan katı besi yerleri Hayflick ve Eaton 'dır.

Mycoplasmaların üreyebilmesi için ortam da %5-15 oranında CO² olması gerekir. Kültürlerin 37 °C 'de %5 CO² 'li ortamda 5-7 gün inkube edilmesi mycoplasmaların ilk izolasyonunda oldukça etkilidir (1, 6). Bu etkenler katı ortamlarda agar içine gömülmüş tipik "sahanda yumurta" görünümünde koloniler oluştururlar. Koloni morfolojileri gözle görülme-

diğinden genellikle stereomikroskopla incelenirler. Bu koloni morfolojileri ile bakterilerin L- formlarına benzerler. Sıvı ortamlarda ise hafif ve orta derecede bulanıklık yaparlar (1).



Şekil 1: Steromikroskopta mycoplasmaların tipik ‘şahanda yumurta ‘görünümü

Mycoplasma etkenlerini L- formlarından ayırmak için şüpheli koloniler, antibakteriyel madde içermeyen besiyerlerine pasajlanarak uygun koşullarda inkubasyona bırakılır. Mycoplasmalar tipik görünümlerini muhafaza ederlerken , L- formları bu ortamda normal koloni morfolojilerine geri dönerler (1, 5). Mycoplasma etkenleri ekstraselüler olup, vücut içine, özellikle konakçı mukoz membranlarına sıkıca tutunma eğilimindedirler. Bazı türler adhezin genlerine sahiptir. Bu genlerin kodladığı özel bağlanma yapıları ile hücrelere tutunurlar. Konakçı hücrelerin ölümüne neden olan ya da kronik enfeksiyonlara yol açan hemolizinler, proteazlar ve diğer toksik maddeleri sentezlerler (1,3).

Mycoplasmalar, genellikle solunum yolu ve akciğerlere yerleşim eğilimi gösterirler. Bu sistemdeki siliar aktiviteyi, önemli virulens faktörlerinden biri olan sitadezinler ile bozarak hücrelerde hasar meydana getirirler. Sekonder bakterilerin de etkisi ile enfeksiyonlara karşı predispozisyonu artırırılar. Mycoplasmalar esansiyel besin maddelerinin birçoğunu sentezleyemediklerinden dolayı konakçı hücresi ile rekabete girerek, hücresel

bütünlüğü ve fonksiyonları değiştirirler (4, 6, 8, 9.). *Mycoplasma* türleri *Acholeplasma* ve *Ureaplasma* dan digitonin duyarlılık ve üreaz testleri ile ayırt edilir. Türlerin identifikasyonunda; glukoz fermentasyonu, arginin hidrolizi, fosfotaz aktivitesi ve tetrazolium redüksiyonu gibi biyokimyasal testlerden yararlanılır. Farklı *mycoplasma* türleri arasında kros reaksiyonlar görülebilir (6, 10, 11). Pek çok *mycoplasma* etkeni mastitis, pnömoni, artritis gibi sistemik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Ancak genital enfeksiyonlara neden olan *mycoplasma*ların sağlıklı hayvanlarda da bulunabileceği unutulmamalıdır (12). Genellikle konakçı ile uyum içerisinde yaşamalarından dolayı, bazı araştırmacılar tarafından *mycoplasma*lar ‘‘ideal parazitler’’ olarak tanımlanmışlardır. Bununla beraber hem veteriner hem de tıp hekimliğinde enfeksiyöz ajan niteliğinde olan *mycoplasma*ların, insan ve hayvanlardaki patojenik rolü henüz kesinleşmemiştir. *Mycoplasma*ların virulens faktörlerini belirlemek diğer prokaryotlara göre oldukça zordur. *Mycoplasma* etkenlerinin kronik enfeksiyonlara yol açması, onların konakçıdaki değişikliklere ne kadar uyumlu olduğunu göstermektedir (7).

Mikroorganizmaya ait yapıların konakçıda toksik etki yaparak insan ve hayvanlarda enfeksiyona yol açtığı düşünülmektedir (13, 14). *Mycoplasma*lar konakçı hücrelerine tutunurlar ve hücre harabiyetine neden olurlar. Genellikle hücre harabiyeti sonucu açığa çıkan toksik maddeler konakçı hücrelerini besin maddelerinden yoksun bırakarak hasar meydana getirir (15, 16). *Mycoplasma* etkenlerinin patojenitesinde hücrelere tutunma, virüsü belirleyici başlıca kriterlerdendir (7). *Mycoplasma*lar, hücrelere tutunduğu sırada hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri açığa çıkar. Açığa çıkan bu radikaller konakçı hücre membranında oksidatif stres yaratarak tahribe sebep olmaktadır. *Mycoplasma*lar, antijenik reseptörlere cevaben B ve T lenfositlerce tanınan antijenik epitoplardan farklı olarak lenfositleri nonspesifik olarak uyarır. Lenfositlerin cevabı ve MHC genlerinin kontrol mekanizması hayvan türleri ve *mycoplasma* suşlarına göre farklılık gösterir. Lenfosit aktivasyonu, kaynağına ve enfeksiyona neden olan *mycoplasma* suşuna göre değişmektedir. *Mycoplasma*lara karşı antikor salınımında, makrofaj, Th hücreleri ve sitokinler rol oynamaktadırlar. Ayrıca *mycoplasma*ların poliklonal antikor üretimine neden olduğu bilinmektedir (4, 17). *Mycoplasma*lar immunojenik lipoproteinlerden oluşan değişken yüzey antijenlerine sahiptirler (6). Kendi yüzey antijenlerini modifiye ederek konakçı humoral immun yanıtından kaçış mekanizmaları geliştirdikleri düşünülmektedir (18).

*Mycoplasma*ların antijenik yapılarını incelemeye birçok serolojik test kullanılmaktadır. Bunlar; aglütinasyon, komplement fiksasyonu, üreme ve koloni inhibisyonu, agar jel difüzyon, metabolik inhibisyon, indirekt hemagglutinasyon testleridir. Bunların dışında hasta hayvanları ortaya koymada Floresan Antikor testi (FAT) ve ELISA yöntemleri çok etkili olmaktadır.

Serumda antikor saptamada kullanılan başlıca testler; Metabolik inhibisyon, aglütinasyonla, lateks aglütinasyon veya indirekt hemaglutinasyon ve komplement fikzasyon testleridir. İmmun fluoresan tekniği yardımı ile agar üzerinde üreyen kolonilerin mycoplasma yönünden identifikasyonları yapılabilmektedir. Son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanan ELISA yöntemi de mycoplasma enfeksiyonlarının saptanmasında faydalı olmaktadır. Ayrıca moleküler teknikler de mycoplasma türlerinin identifikasyonunda oldukça etkilidir (1, 19).

3. SIĞIRLARDA BULAŞICI PLÖROPNÖMONİ

Siğirlerde subakut veya kronik tarzda seyreden, sero-fibrinöz plörizi ve lobar pnömoni ile karakterize olan bulaşıcı enfeksiyöz bir hastalıktır. Siğirlerde bulaşıcı plöropnömoni (CBPP), *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* Small Colony (SC) ‘nin neden olduğu, Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (World Organization For Animal Health - OIE -)’nin A Listesinde yer alan tek bakteriyel hastalıktır. Hastalığın siğirler arasında 200 yıldan beri var olduğu bilinmektedir. 19. yüzyılın başlarında Avrupa’da çok yaygın olan bu enfeksiyonun hayvan nakilleriyle 1841 yılında İngiltere’ye, 1843’de Amerika’ya, buradan İskandinav ülkelerine (1847), Güney Afrika’ya (1854) ve Avusturalya’ya (1858) yayıldığı bildirilmiştir (1, 19).

Hastalığa dair çeşitli bilgileri yansıtan ilk yayınlar Bourgelat (1769) ve Haller (1773) tarafından yapılmıştır. Chambert (1794) hastalığın bulaşıcı olduğuna dikkat çekmiştir. Willems (1850-1852), enfeksiyonun üzerinde çeşitli araştırmalar yapmış, bulaşıcı ve özel bir hastalık olduğu açıklamış ve siğirlerin pulmoner eksudatlarla aşılanabileceğini bildirmiştir (1, 19). Bu etken Afrika’da çok büyük sorunlar oluşturmaktadır. Hayvanlar üzerindeki etkileri çok şiddetli olmamasına rağmen, Afrika kıtasının birçok yerinde siğir vebasının eradikasyonunu takiben CBPP, şap hastalığı ile birlikte şimdi en önemli bir sınır ötesi hastalıktır (19).

Nocard ve Roux (1898), hasta siğirlardan etkeni ilk defa izole edip, saf olarak üretmeyi başarmışlardır. Bordet ve Borrel (1910), etkenin pleomorfik olduğunu ve Elfrod (1919), mikrororganizmanın filtreleri geçebildiğini açıklamışlardır (1).

Avrupa ülkelerinde ve Dünya’nın birçok bölgesinde ihbarı zorunlu bir hastalık olmasına rağmen, Türkiye’de ihbarı zorunlu değildir. Türkiye’de bu hastalığın varlığı şimdiye kadar bildirilmemiş olup, resmi olarak kayıt bulunmamaktadır. Ancak Çetinkaya ve arkadaşları 2002 yılında yaptığı bir çalışmada Elazığ ili ve civarındaki dört mezbahada kesilen siğirlerde, CBPP’nin mevcudiyetini bakteriyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırmışlardır (20). Bu çalışma ile OIE’nin kayıtlarına göre Türkiye’de mevcut olmayan CBPP’nin ülkemizdeki siğir populasyonlarında görüldüğü yönünde serolojik kanıt elde edilmiştir. Ancak PCR ve kültür

yöntemlerinde başarılı sonuç elde edilememiştir (20).

2008 yılında OIE tarafından bildirilen salgınlar arasında vakaların en fazla olduğu ülkeler Etiyopya, Angola, ve Kamerun olmuştur. CBPP'nin endemik olduğuna inanılmaktadır ki; içlerinde Tanzanya, Somali ve Kongo'nun da bulunduğu bir dizi ülkenin raporları doğru rakamları açıklamamaktadır. Bu ülkeler tarafından bildirilen vaka sayısı gerçek rakamların altında kalmıştır ve bu ülkelerin çoğunun sınırlı kaynaklara bağımlı olduğu da açık bir gerçektir (19).

CBPP'den etkilenmiş ülkelerde hastalığın ekonomi üzerine etkisini araştıran bir çalışmada; 1990 yılından bu yana çiftlik hayvanları ve bunların ürünlerinden 136 milyon dolar gibi ciddi bir kayıp meydana gelmiştir. Daha kapsamlı yapılan bir çalışmada ise Afrika'nın tamamında hasta ve ölenlerin toplamının 30 milyon Avro kayba neden olduğu tahmin edilmektedir. 1983-1999 yılları arasında Portekiz'de çıkan salgının maliyeti hakkında resmi bir bildiri olmamıştır, ancak 85.000'e yakın hayvan telef olmuştur (19).

3.1. Etiyolojisi

Hastalığın etkeni "*Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* Small Colony (SC)" "(MmmSC)" dir. Serum veya kolesterol katılmış sıvı veya katı besiyerlerinde aerobik veya genellikle mikroaerofilik koşullarda (%5-10 CO₂ 'li) üremektedir. Mikroorganizmanın diğer özellikleri genel karakterlere uymaktadır. MmmSC digitonine duyarlı, film ve spot oluşturmaz, glukozu fermente eder, arginin hidroliz edemez ve fosfataz aktivitesi yoktur (1, 21).

3.2. Epidemiyolojisi

Mycoplasma mycoides subsp. mycoides, başlıca sığırlarda hastalık meydana getirmektedir. Bunun dışında manda, antilop, bizon ve ren geyiklerinde de enfeksiyonun varlığı bildirilmiştir. Teorikte koyun ve keçiler ancak deneysel olarak hastalandırılabilir. Ancak Okah ve Ocholi 1986'da Nijerya'da çıkan salgında, hasta koyunlardan *M. mycoides* izole etmiştir. Brandão 1995'de Portekiz'de mastitisli koyun sütlerinden ve pnömoni keçilerden *M. mycoides* SC izole etmiştir (19). CBPP'nin büyük ruminantlardan küçük ruminantlara geçişini gösteren hiçbir kanıt yoktur. Laboratuvar hayvanları *M. mycoides subsp. mycoides*'e duyarlı değildir (19, 21). Ruminantlarda ekonomik açıdan önemli hastalıklar oluşturan *Mycoplasma* etkenleri "*Mycoplasma mycoides* cluster" olarak adlandırılan bir küme içerisinde yer alırlar. Bu küme içerisinde yer alanlar Tablo: 1 de gösterilmiştir. Bu etkenler fenotipik ve genotipik olarak birbirine çok benzemelerine rağmen virulens ve epidemiyolojik önem bakımından aralarında ciddi farklar söz konusudur (19, 20).

“ *Mycoplasma mycoides* ” cluster Kümesinde yer alan mycoplasmalar

M. mycoides subspecies *mycoides* small colony (Mmm SC)

Mycoplasma capricolum subsp. *capricolum*,

M. mycoides subspecies *capri*

M. capricolum subspecies *capripneumoniae*

Mycoplasma leachii sp. nov (bovine group 7-MBG7)

Tablo 1: “*Mycoplasma mycoides*” cluster kümesinde yer alan mycoplasmalar.

Mikroorganizma, enfekte hayvanların akciğer ve burunlarındaki mukoid salgılarında fazlaca bulunmaktadır. Öksürük ve tıksırıkla etrafa yayılmaktadır. Hayvanlar enfeksiyonu solunum yolu ile alırlar. Enfeksiyonun çıkış ve yayılışında; kalabalık, kirli ve pis ahırlar, portör veya hasta hayvanlar, soğuk ve rutubetli havalar önemli rol oynamaktadırlar (3,27). Akciğerlerinde lezyon bulunanlar veya henüz iyileşmiş olanlar etrafa bolca mikrop saçmaktadır. Böyle hayvanlar portör hale gelip, 2-3 yıl boyunca mikrobunu çıkararak etrafı bulaştırabilirler. Bulaşma da esas yol enfeksiyöz damlacıkların dışarı saçılması olarak bilinse de, rüzgarla taşınım ve dolaylı yollarla bulaşma tamamen göz ardı edilmemelidir (1, 19, 21).

3.3. Patogenezi

M. mycoides SC ‘nin patogenezi hakkında çok az şey bilinmektedir. Genellikle galaktan bir kapsülün oluştuğu ve bu kapsülün de konakçı doku yüzeylerine tutunarak, fagositoza karşı direnç oluşturma da katkı sağladığı düşünülmektedir. Bu kapsülün konakçı hücreleri üzerine direk toksik etki yapabileceğine dair bazı çalışmalar yapılmıştır. Bu pnömogalaktan yapının otoimmün reaksiyonlara neden olabileceği düşünülmektedir. Soluk havasında bulunan mikroplu damlacıklarla akciğerlere ulaşan *M. mycoides*, küçük bronşların duvarlarına yerleşerek üremeye başlar. Buradan loblar arası intersitisyel dokuya ve loblara yayılarak çoğalmasına devam eder. Enfeksiyon ilerledikçe etrafı intersitisyel doku ile çevrili, önceleri içi pembe kırmızı, sonraları gri renkte olan lobar hepatizasyon alanları oluşmaya başlar (19). Pulmoner yan arterlerin ve venlerin trombozu sonucu nekrotik odaklar meydana gelir. Bunların etrafı, hastalık ilerledikçe, fibröz bir doku ile çevrilir ve içinde mikroorganizma uzun yıllar canlı kalabilir. Kuvvetli bir öksürük veya yorgunluk, açlık, vs stres faktörleri meydana geldiğinde odaklar tekrar açılarak hayvan yeniden enfekte olur, hastalanır ve etrafa mikrop saçabilir (1, 19, 21).

3.4. Klinik Belirtiler

Deneyssel enfeksiyonlarda, hastalığın inkubasyon süresi 2-4 hafta arasında değişebilmektedir. Doğal enfeksiyonlarda ise bu süre mikroorganizmanın giriş yoluna, miktarına, virulensine ve hayvanın duyarlılığına göre değişebilmektedir. Ayrıca doğal enfeksiyonlarda inkubasyon süresi daha uzun olabilmektedir (1).

CBPP'den etkilenmiş sığırlarda gözlenen klinik belirtiler; hiperakut, akut, kronik ve subklinik formlarda gözlenmektedir. Klinik belirtilerin arasında yüksek ateş (40.5-41.0 °C), ruminasyonun durması, iştahsızlık, durgunluk, kabızlık, süt salgısının azalması, belin kamburlaşması ve öksürük yer almaktadır. Öksürük zamanla daha belirgin bir hale gelerek ağrılı bir durum alır. Burundan mukopurulent bir akıntı gelir ve bu öksürme sırasında çok daha fazladır (1, 19, 21). Nekropside, plöra kalınlaşmış ve yangılı, üzerinde fibrin birikintisi vardır. Göğüs boşluğunda çok miktarda (bazen 10-15 litre kadar) seröz ve fibrinli (sero fibrinöz) bir eksudat bulunur. Bronşial ve mediastinal lenf yumruları şişmiş ve kesit yüzeyleri hemorajiktir. Akciğerlerin içinde, hastalığın devrelerine göre, kırmızı, gri, veya esmer pnömonik hepatize odaklara rastlanır (1, 19). İnterlobar septa ödemli ve kalınlaşmış olup akciğerler damarlı bir mermer manzarasındadır. Kronik olgularda odakların etrafı fibröz bir doku ile çevrilmiş olup, ölümler daha az görülmekte ve kendiliğinden iyileşmeler olabilmektedir (19).



Şekil 2: Sığır Akciğerinin "damarlı mermer" görünümü

3.5. Teşhis

Hastalığın klinik bulgularına bakarak kesin teşhise varmak genellikle güç olmaktadır. Plöra sıvısı teşhiste tercih edilen esas materyal olarak kabul edilmektedir. CBPP'nin teşhisinde sayısız PCR (Polymerase Chain Reaction) tekniklerini de içine alan çok sayıda teknik mevcuttur (19, 21, 22). OIE tarafından onaylı referans serolojik testler; Komplement fiksasyon (CFT) ve monoklonal antikor kullanılarak yapılan kompetitif ELISA (cELISA) 'dır. Ancak bu testler akut enfeksiyon ları teşhis etmede oldukça başarılı olmalarına rağmen kronik olarak infekte hayvanların ancak %70'ini saptayabildiği ve bunun da testlerin sensitivitesini düşürdüğü bilinmektedir. (20, 21)

Son yıllarda serolojik testlerin yanısıra PCR tabanlı moleküler teşhis yöntemleri geliştirilmiş olup gerek *M.m.m* SC 'nin identifikasyonunda gerekse direkt olarak klinik materyallerden etken tespit edilmiştir. PCR çabuk , duyarlı ve spesifik bir yöntemdir. Son yıllarda geliştirilen Real-Time PCR tekniği ile identifikasyon daha hızlı ve spesifik olmuştur (2, 19, 21).

3.6. Sağaltım

Hastaların tedavisinde penisilin ve türevleri dışındaki geniş spektrumlu antibiyotiklerden faydalanılabilir (1).

Hayvan Türü	Etken	Hastalık
Sığır	<i>Mycoplasma mycoides subsp. mycoides Small Colony (SC)</i>	Bulaşıcı sığır plöronpömonisi
	<i>M. bovis</i>	Mastitis,arthritis,pnömoni,abort
	<i>M. bovis genitalium</i>	Vaginitis,mastitis, seminal vesikulitis
	<i>M. dispar</i>	Pnömoni(buzağı)
	<i>M. californicum</i>	Mastitis
	<i>M. canadense</i>	Mastitis
	<i>M. bovoculi</i>	Moraxella bovis predispozisyon etkeni
Koyun	<i>M. ovipneumoniae</i>	pnömoni
Keçi	<i>M. mycoides subsp. mycoides LC</i>	Septisemi ,poliarthritis, pnömoni,konjunktivitis
	<i>M. putreficiens</i>	Mastitis,arthritis
	<i>M. capricolum subspecies capripneumoniae (M.c.c.p)</i>	Salgın keçi ciğer ağrısı

Koyun/ Keçi	<i>M. agalactia</i>	Bulaşıcı agalaksi
	<i>M. conjunctivae</i>	Keratokonjunktivitis
	<i>M. capricolum</i>	Poliartritis
Domuz	<i>M. hyorhinis</i>	Kronik represif artrit
	<i>M. hysasynoviae</i>	Mycoplasmal poliartritis
	<i>M. hypopneumoniae</i>	Domuzların enzootik pnömonisi
Kanatlı Hayvan	<i>M. gallisepticum</i>	Tavuk: Kronik solunum yolu hastalığı (CRD)
		Hindi: İnfeksiyöz sinüsit
	<i>M. synoviae</i>	Tavuk ve Hindi : İnfeksiyöz synovitis
	<i>M. meleagridis</i>	Hindi : Gençlerde hava kesesi yangısı ve bursitis
	<i>M. iowae</i>	Hindi palazı: hava kesesi yangısı,cücelik,embriyolarda mortalite
At	<i>M. felis</i>	Plöritis
Köpek	<i>M. cynos</i>	Pnömoni
Kedi	<i>M. felis</i>	Konjunktivitis
Rat	<i>M. neurolyticum</i>	Rolling disease(dönme hastalığı)
Fare	<i>M. pulmonis</i>	Pnömoni

Tablo 2: Evcil hayvanlarda ve laboratuvar hayvanlarında önemli hastalıklara neden olan mycoplasmalar.

3.8. Koruma ve Korunma Stratejileri

Sürüye hastalık sokulmamalıdır. Klinik ve serolojik muayeneden geçmemiş hayvanlar ahıra ve diğer hayvanların yanına sokulmamalı, belli bir süre kontrol altında bulundurulmalı, komşu mera ve yetiştirmede bulunan hayvanlarla olan ilişkiler kesilmelidir. Hayvan hareketleri ve nakillerinde kontrolü elden bırakmamak gerekir. Sürü içinde hastalıklı görülenler ve serolojik yoklamalarla pozitif reaksiyon veren hayvanlar hemen sürüden çıkartılmalıdır, yani infekte hayvanlarla portör hayvanlar ayıklanmalıdır. Genel ve özel hijyenik, koruyucu önlemler alınmalıdır. Bu amaçla ahırlar ve buralarda bulunan her türlü malzeme çok iyi şekilde dezenfekte edilerek, hayvan barınaklarının daima temiz tutulmasına özen gösterilmelidir (1, 19, 21).

3.8.1. Aşılama

Kültürlerden hazırlanan ölü aşıların bağışıklık güçleri oldukça düşüktür. Canlı aşılar ise lokal reaksiyonlar oluşturup etkenin etrafa saçılmasına neden olur. Son yıllarda *M. mycoides*'in avianize suşlarından hazırlanan aşılar pratikte kullanılmaya başlanmıştır. Bu tür aşılar deri altına verilmekte ve uzun bir süre bağışıklığı sağlayabildiği (2-3yıl) bildirilmektedir. Avirulen suşlardan (KH3J) hazırlanan aşılar yine aynı amaçla kullanılmaktadır. Aşılandıktan sonra hayvanlar 6-12 ay serolojik olarak pozitif reaksiyon verirler. Genç danalarda (2 aylıktan küçük) aşı, myokarditis, valvulitis ve artritis oluşturabilmektedir. Bu nedenle, daha büyük yaştakiler aşılanmalıdır (1 ,3, 21, 22).

OIE tarafından önerilen, Afrika genelinde kullanılan T1/44 olup, İkinci Dünya savaşından sonra embriyolu yumurtalarda 44 kez pasajlanması sonucu Tanzanya'da attenüe edilerek aşı suşu olarak kullanılmıştır (21).

4. SALGIN KEÇİ CİĞER AĞRISI

Keçilerde akciğerlerin ve plöranın yangılanması ile karakterize olan bulaşıcı enfeksiyöz bir hastalıktır. Hastalık keçiler arasında ilk defa 1873'te Cezayir'de görülmüştür. Türkiye'de hastalığın varlığı ilk defa Nicolle ve Refik Bey (1896) ve Rıza İsmail (1928) tarafından açıklanmıştır. Sonraları Aygün, Beller (1926-1927), Aygün (1935,1938, 1941,1943), Raif Köyliüoğlu ve ark.(1935), Mavraoğlu (1909,1936) ,Arda (1966), Arda – Beşe (1974), hastalık etkeni, epizootiyolojisi, serolojisi ve identifikasyonu üzerinde birçok çalışmalar yapmışlardır (1).

4.2. Etiyolojisi

Keçilerin salgın keçi ciğer ağrısı etkeni *M. capricolum subspecies capripneumoniae* (M.c.c.p) 'dir. Aslında F38 biyotipi olarak bilinmektedir. 1993 yılına kadar F38 suşu 'nun taksonomik statüsü tam aydınlatılamamıştı. Sonra *M. capricolum*'un alt türü olmuştur ve *M. capricolum subspecies capripneumoniae* olarak sınıflandırılmıştır. Mycoplasmaların genel özelliklerini taşımaktadır (23,30).

4.3. Epidemiyolojisi

Hastalığa, özellikle sıcak ve rutubetli yerlerdeki keçilerde daha fazla rastlanır. Bulaşma solunum yoluyla direkt olarak meydana gelmektedir. Hastaların ve portörlerin akciğer ve burunlarından gelen eksudatlar da çok fazla miktarda mikrop bulunur. Bunların öksürük ve tıksırıkla dışarı saçılması, damlacık veya mukoid salgı içinde bulunan mikropların diğer hayvanların burun mukozasına değmesi veya damlacıkların akciğerlere kadar ulaşması sonucunda enfeksiyon alınmaktadır. Hastalığın çıkış ve yayılışında hasta ve portörlerin yanısıra bakım ve beslenme koşullarının

kötü oluşu ve diğer stres faktörlerinin de önemi oldukça fazladır (1, 4, 23).

4.4. Klinik Belirtiler

Enfeksiyon akut veya kronik bir seyir izlemektedir. Hastalık kendini, ateş, öksürük, burundan mukopurulent ve kanlı akıntının gelmesi, konjunktivit, soluma güçlüğü, durgunluk, iştahsızlık, v.s gibi semptomlarla belli etmektedir. Akciğerlerin auskültasyonunda soluk alıp verme sırasında sürtünme sesleri ve raller duyulur. Kostalar üzerine basınç yapılarak hayvana ağrı verilir. Hayvanların genel durumu zamanla bozulur ve klinik belirtiler başladıktan sonra 3-6 gün içinde ölümler görülür. Hastalık döneminde iken süt veren hayvanlarda süt salgısı çok azalır. Bazı hayvanlarda eklemlerde şişme ve topallıklar görülür (1). Nekropside, akciğer loblarında hepatize bölgeler, interstisyel dokularda kalınlaşma, göğüs boşluğunda fazla miktarda serofibrinöz karakterde sıvı birikimi, akciğer ve kostalar üzerindeki plörada kalınlaşma ve fibrin toplanmaktadır (19).

Akciğerin görünümü damarlı mermer gibidir. Peribronşial lenf yumrularında ve dalakta akut büyümler seröz ve mukoz membranlarda da hemorajiler bulunur. Enfeksiyonun akut seyrettiği vakalarda mortalite %80'e kadar ulaşır. Kronik olgularda kendiliğinden iyileşmeler görülebilmektedir (1, 19)

4.5. Teşhis

Enfeksiyonun sadece keçiler arasında görülmesi ve klinik belirtilerin genellikle solunum sistemine lokalize olması, bu hastalık olduğunu düşündürür. Enfeksiyon birden fazla keçide de görülüyorsa keçi ciğer ağrısı olabilmektedir. Nekropsi bulgularından akciğerde lobar pnömoni bulunması, göğüs boşluğunda sero fibrinöz sıvı toplanması, plörada kalınlaşma ve fibrin toplanması teşhise yardımcı olmaktadır (19). Büyük ölçüde geliştirilmiş besiyeri formülasyonlarına rağmen M.c.c.p'nin izolasyonu oldukça güçtür. Teşhiste öncelikli olarak tercih edilen materyaller plöra sıvısı ve hepatize olmuş akciğer dokusudur. Kullanılacak besiyerine 1 litresine 2 gr, denk gelecek şekilde sodyum piruvat ilave edilmesi etkenin üremesini kuvvetlendirmektedir (23). M.c.c.p'nin spesifik identifikasyonu için iki tür PCR tekniği kullanılmaktadır. Birincisi 16sRNA'nın amplifikasyonuna dayalı metot, diğeri ise direkt olarak klinik materyalin PCR ile teşhis edilmesidir (20, 23, 24).

Mccp'nin PCR ile identifikasyonu şu anda, daha hızlı sonuç vermesi ve daha güvenilir olmasından dolayı bütün tekniklerin önüne geçmiştir. Serolojik testler Mmm LC identifikasyonundaki kadar çok kullanılmamaktadır. CFT testi Mccp için, IHA'dan daha spesifik fakat daha az duyarlı olduğu kabul edilmiştir (24).

4.6. Sağaltım

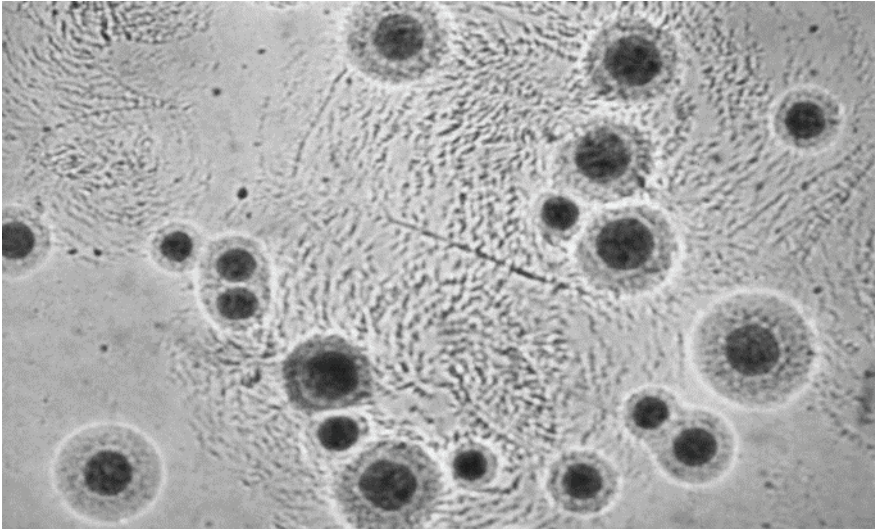
Kıymetli damızlıklar için sağaltım uygulanabilir. Hayvanlar ayrılarak temiz bir yere konulmalıdır. Penisilin hariç olmak üzere geniş spektrumlu antibiyotiklerle sağaltıma alınır.

5. KOYUN VE KEÇİLERDE BULAŞICI AGALAKSİYA

Bulaşıcı agalaksiya koyun ve keçilerde yaklaşık 200 yıldır bilinen, öncelikli olarak mastitis, artritis ve keratokonjunktivitis ile karakterize bir hastalıktır (19). Bu hastalığa dair ilk bilgiler, İtalya 'da Metaxa (1816) tarafından verilmiştir. Ancak hastalığın etiyojisi, Bridge ve Donatien (1923) tarafından tarif edilmiştir. Etkenin sığırların bulaşıcı plöropnömonisine benzediğini bildirmişlerdir. Türkiye'de bu konudaki ilk yayın Sezginer (1924) tarafından yapılmıştır. Sonraları birçok araştırmacı hastalığın çeşitli yönleri üzerinde araştırmalar yapmışlardır (1).

5.1. Etiyojisi

Hastalığın etkeni *M. agalactia* 'dır. Ancak son yıllarda birçok ülkede keçilerin mastitis ve artritis ile seyreden hastalıklarından *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC ve *M. putrefaciens* izole edilmiştir. Bulaşıcı agalaksiya OIE'nin B listesinde yer almaktadır. *M. agalactia* diğer mycoplasmalar ile benzer özellikleri taşımaktadır (1, 19, 25). Glikozu fermente etmezler, arginin ve üreyi de hidrolize edemezler (25).



Şekil 4 : *Mycoplasma agalactia* 'nın kolonisi ve film spot oluşumu

5.2. Epidemiyolojisi

Bulaşıcı agalaksiya süt veren koyun ve keçilerin bir hastalığıdır. Sağım, bakım, besleme ve hijyen koşullarının iyi olmadığı yetiştirmelerde sıkça rastlanmaktadır. Hasta hayvanlar etkeni süt ve gözyaşı ile dışarı saçarlar ve etrafı kontamine ederler. Hastalık, sindirim sistemi yolu ile (indirek olarak) veya süt sağanların elleriyle bulaşma gerçekleşmektedir. Portörler hastalığın yayılmasında oldukça etkilidir (1, 19).

5.3. Klinik Belirtiler

Hastalığın seyri keçilerde *M. agalactia* tarafından kronik, *M. mycoides* LC, *M. capricolum* subsp. *capricolum* ve *M. putrefaciens* tarafından oluşturulan enfeksiyonlarda ise genellikle akut veya hiperakut olmaktadır (19). Hastalığın akut döneminde genel bir halsizlik görülmekle birlikte sepsisemiyile karakterize bir durum açığa çıkmaktadır. Bir haftadan daha az bir zamanda hayvanlarda 41 °C 'nin üzerinde yüksek ateş, yerde uzanma ve iştahsızlık görülür. Bir çok hayvanda şiddetli mastitis, artrit ve keratitis görülürken, bazı hayvanlar herhangi bir klinik semptom göstermeden ölürler (1, 25).

Laktasyon dönemindeki hayvanlarda kataral ve parankimatöz karakterde mastitis görülmektedir. Kontagiyöz agalaksiya'nın esas hedef organı meme bezidir. Hastalığın sonraki dönemlerinde salgı bezlerindeki aşırı fibrozisten dolayı meme bezi atrofiye olur. Süt salgısı azalır önceleri purulent sonraları su gibi bir akıntı gelir ve süt mavimtrak bir renge döner. Hastalığın yaygın olduğu durumlar da hayvanların gözlerinde keratokonjunktivitis görülmektedir. Gözler kızarmış ve purulent akıntılıdır (19, 25).

Korneada ülserleşme sonra da gözde körlük meydana gelir. Artrit ve poliartritin şiddeti, eklem sertliğinden ayak, bilek ve dizde synovial sıvı birikimi ile şiddetli topallığa kadar değişebilmektedir (19).

5.3.1 Virulens Faktörleri

Virulens faktörleri şöyledir:

- Değişken fazlı yüzey proteini (Vpma)
- Konağa adhezyonu sağlayan P40 proteini
- Muhtemelen bir makrofaj uyarıcı olan P48 proteini
- Biyofilm oluşumu, antimikrobiyal üretim ve özel çevre şartlarına uyum için önemli olduğu bilinen Opp genleri 'dir (19).

5.4. Teşhis

Klinik tanı, bir sürüde aynı anda mastitis, artrit ve keratokonjunktivitis gibi 3 önemli büyük belirtiler mevcut olduğunda kolay olmaktadır. Teşhis için ölen hayvanlardan süt, meme bezi, lenf yumruları, eklem sıvısı

laboratuvara gönderilebilir. Bu marazi maddelerden etken kolayca izole edilebilmektedir (19).

Mycoplasma agalactia glukozu fermente etmede ya da arginini kullanmada ki yetersizliği ile diğer mycoplasmalardan ayrılabilir. Aynı zamanda katı ya da sıvı besiyeri yüzeyinde bir film ya da yağlı lekeler gibi görünen fosfolipidler üretmektedir (19, 25, 26).

Kesin tanı da süt de dahil olmak üzere klinik örneklerde; büyüme inhibisyon testi, hiperimmunize tavşan antiserumu kullanılarak immunofloresan testi ve PCR testleri ile direk doğrudan yapılabilir. PCR testleri çok duyarlı olduklarından dolayı birçok laboratuvar da rutin bir şekilde kullanılmaktadır. 'nın C8-esterazı kullanma aktivitesi, hızlı ve son derece kullanışlı bir biyokimyasal test olarak rapor edilmiştir. Kromojenik substrat eklenen katı besiyeri üzerinde mycoplasmalar kırmızı koloniler oluştururlar (25, 26). Bu C8- esteraz aktivitesi *M. bovis*'de de vardır ancak bu mycoplasma küçük ruminantlarda çok nadir bulunmaktadır. ELISA ve CFT serumda antikor aranmasında hızlı teşhis için faydalı olmaktadır (19, 25).

5.6. Sağaltım

Tedavide önceleri arsenik bileşikleri ile acetarsol'un çinko tuzları kullanılmaktaydı. Hastalık sıklığı kalıcı olan ülkelerde geçerli tedavide sadece antibiyotikler esas alınmaktadır. Tetrasiklin, makrolid, tiamulin ve florokinolonlar kullanılmaktadır. Mastitis olgularında meme içine geniş spektrumlu antibiyotikler veya özellikle tylosin şırınga edilir.

6. *M. bovis* ENFEKSİYONU

M. bovis ilk olarak 1961 yılında Amerika birleşik devletlerinde, sığırların şiddetli mastitis olgusundan izole edilmiştir. Buradan taşınan hayvanlarla da diğer ülkelere yayılmıştır. *Mycoplasma bovis* buzağılarda pnömoni, artrit ve mastitise neden olan çoğu zaman göz ardı edilmiş bir etkindir (27, 28).

M. bovis'in yüksek adaptasyon sağladığı konak sığırlardır, fakat bufalalarda, beyaz kuyruklu geyiklerde, koyun ve keçilerde hatta insanlarda bile nadir olarak izole edildiği bildirilmiştir (3). *M. bovis* konakçı spesifik olmayıp diğer türlerde de bulunabilmektedir. Buna örnek olarak Öngör ve arkadaşları, broiler tavukların tracheal örneklerinden *M. bovis* izole ettiklerini bildirmişlerdir (28). İnsanlarda görülen bir vakada inek gübresine aşırı derecede maruz kaldıktan sonra bronkopnömoni olan bir kadının boğazından *M. bovis* izole edilmiştir (27).

Dünya genelinde en virulent sığır Mycoplasmalarından birinin *M. bovis* olduğu bilinmektedir. Enfeksiyon; çoğunlukla bronkopnömoni şeklinde görülmeyle birlikte, sığır solunum yolu hastalıkları kompleksi (BRD)

ya da Shipping Fever'in predispoze faktörlerinden biri olarak tanımlanır. Ayrıca *M. bovis* tek başına da hastalık oluşturabilecek bir patojendir. Özellikle genç hayvanlarda, solunum sistemi dışında artrit olmak üzere, sığırlarda farklı sistemlerde de çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir.(1) *M. bovis* birçok yönden *M. agalactiae* ile çok benzerlik göstermektedir. Bu türler aralarında 16S RNA sekansları yönünden % 99 homoloji gösterirler ve sadece 8 nükleotidlik çok küçük bir farklılık vardır. *Mycoplasma bovis* oluşturduğu biyofilm sayesinde olumsuz çevresel şartlara oldukça dayanıklıdır. Olumsuz koşullarda biyofilm içerisinde 30 saatin üzerinde canlı kalabildiği belirlenmiştir (27, 29). *M. bovis* kontamine dondurulmuş spermada yıllarca infeksiyöz kalabilir ve genelde gözden kaçabilen bir enfeksiyon kaynağıdır. Etken başlıca solunum kanalında bronkoalveolar bölgeye yerleşir ve öksürük ile damlacık enfeksiyonu tarzında çevreye yayılarak etkisini gösterir. Hastalığın sürü içerisinde hızla yayılması, stres, transport ya da hayvanların sıkışık tutulmaları *M. bovis*'in nazal sekresyon ile saçılımını artırarak bulaşma için önemli risk faktörlerini oluşturmaktadır (27,29). Solunum sisteminde bir kez enfeksiyon geliştiğinde sıklıkla persiste kalmaktadır, bu da temas halinde olan buzağılarda enfeksiyon kaynağı olabilmektedir.

Sığırlarda pnömoni oluşturan mycoplasmaların dışında, normalde köpeklerin reproduktif sisteminden izole edilen, *Mycoplasma canis*'in ilk olarak 1995'te buzağı pnömonilerinden izole edildiği ve 1999'da İngiltere'de sığırlardan izole edilen mycoplasmalar arasındaki oranının % 18 olduğu bildirilmiştir (27).

Artritisin klinik belirtileri topallık, eklemlerde ağrı, bütün vakalarda olmamakla beraber etkilenen eklemlerde eksternal olarak görülen şişliktir. Hastalık sırasında en çok etkilenen eklemler diz, omuz ve dirsek eklemleridir (27, 29). *M. bovis*'i diğer mycoplasmalar ve ureaplasmalardan ayırmada glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, fosfataz aktivitesi, üreaz aktivitesi, film oluşumu ve tetrazolium redüksiyonu gibi biyokimyasal testler kullanılmaktadır (3, 27, 29).

Serolojik testlerden ELISA ve moleküler tekniklerden PCR, teşhiste büyük önem taşımaktadır (27, 29). Birçok vakada tedavinin etkisiz olduğu bildirilmiş olup etkili spesifik antibiyotik kullanılması önem arz etmektedir. Kronik *M. bovis* pnömonilerinde tedaviye iyi yanıt alınamaması, *M. bovis*'ten korunmada aşılamanın da önemini iyice ortaya koymaktadır. Sığırlarda pnömoni oluşumunu önlemek amacıyla Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı'ndan lisanslı 2 ticari *M. bovis* bakterin aşısı mevcuttur. Bir diğer lisanslı aşı olan Mycomune ise mastitisin kontrolü amacıyla kullanılmaktadır (27).

KAYNAKLAR

1. Aydın N, İzgür M, Diker S, Yardımcı H, Esendal Ö, Paracıkoğlu J, Akan M, Veteriner mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). İlke emek yayıncılık, Ankara 2006
2. Lambert M. Contagious agalactia of sheep and goats. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 1987;6 (3) : 699- 711
3. Önat K. Sığır Pnömonilerinde *M.bovis* varlığının Kültür ve ELISA yöntemiyle araştırılması. Doktora Tezi, Bursa: Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2011
4. Tolga B. Sığırların Genital Mikoplazma ve Üreplazma Enfeksiyonlarının PCR ile Moleküler Teşhisi. Doktora Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2006
5. Bergey's manual of systematic bacteriology.
6. Razin S. The mycoplasmas . Microbiol. Rev. 1978; 42: 414-470
7. Razin S, Yögev D, Naot Y, Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1998; 62:1094-1156
8. McGarrity G. J. Kotani I.H, Butler G. H.. Mycoplasmas and tissue culture cells. in Mycoplasmas: Molecular Biology and Pathogenesis. Edited by: Maniloff J., McElhaney R.N., Finch, L.R., Baseman, J.B.; 1992 Washington, DC: Am.Soc. Microbiol.: 445-454.
9. Rottem S, Kahane I. Mycoplasma cell membranes. Subcell. Biochem. 1993; 20:1- 314
10. Jonathan D. Kornspan ,S.Rottem. The phospholipid profile of mycoplasmas. Journal of Lipids 2012 doi :10.1155/2012/640762
11. Nicolet J. Animal Mycoplasmoses: a general introduction. Rev. Sci. tech. Off .int. Epiz., 1996; 15:1233-1240
12. Langford E.V. Mycoplasma recovered from bovine male and female genitalia and aborted foeti. Proceedings of 18th Annual Meeting of American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians 1975; p:221-232
13. Sachse K, Pfutzner H, Heller M, Hanel I. Inhibition of Mycoplasma bovis cytoadherence by a monoclonal antibody and various carbohydrate substances .Vet.Microbiol 1993;36: 307 -31
14. Thomas C.B, Outbreaks of mycoplasma mastitis do occur in Wisconsin. Univ. Of Wisconsin-Madison Vet. Med. Teaching Hosp, Focus 1993; 10:4
15. Geary S.J, Tourtellotte M.E, Cameron J.A. Inflammatory toxin from Mycoplasma bovis: isolation and characterization. Sci. 1981; 212: 1032-1033
16. Simecka J.W, Ross S, Cassell G. Interactions of mycoplasmas with B cells: antibody production and nonspecific effects. Clin. Infect. Dis. 1993; 17:176-182

17. Razin S. Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas. Edited by Razin. Kluwer Academic Publishers, New York. 2002 Chapter: 24, p.538.
18. Citti C, Wise K.S. Mycoplasma hyrhinis vlp gene transcription: critical role in phase variation and expression of surface lipoproteins. Mol. Microbiol. 1997; 18:648-660
19. Robin Nicholas, Roger Ayling, Laura McAuliffe. Mycoplasma Diseases of Ruminants. Chapter 7, Cambridge; CABI Head Office, 2008
20. Çetinkaya B, Ongor H, Karahan M, Kalender H. Sığırlarda bulaşıcı plöropnömoni'nin bakteriyolojik serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Tübitak projesi 2002; Proje No: VHAG-1607
21. Office International des Epizooties (OIE). Contagious bovine pleuropneumonia, OIE Terrestrial Manual 2008 ;Paris, France. Chapter 2.4.9
22. Tulasne J, Litamol J.K., Morein B, Dedieu L, Palya J, Yami M, Sylla D, Bensaïd A. Contagious bovine pleuropneumonia vaccines :The current situation and the need for improvement. . Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 1996;15 (4) :1373-1396
23. Office International des Epizooties (OIE). Contagious caprine pleuropneumonia .OIE Terrestrial Manual 2008 ;Paris, France. Chapter 2.7.6
24. Nicholas R. ,Miles R. Methods in molecular biology.vol 104 Mycoplasma protocols.
25. Office International des Epizooties (OIE). Contagious agalactia .OIE Terrestrial Manual 2008 ;Paris, France. Chapter 2.7.5
26. Nicholas R, Ayling R.D, Woodger N, Wessels M.E., Houlihan M.G. Mycoplasmas in adult cattle :Bugs worth bothering about. Irish Veterinary Journal 2006; 59: 568-572
27. Nicholas R, Ayling R.D. Mycoplasma bovis :disease ,diagnosis , and control .Research in Veterinary Science 2003; 74 :105-112
28. Öngör H, Kalın R, Karahan M, et.al.Isolation of Mycoplasma bovis from broiler chickens in Turkey 2008 ; 37 :587-588
29. Pfützner H, Sachse K. Mycoplasma bovis as an agent of mastitis,pneumonia,arthritis,and genital disorders in cattle. . Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 1996 ;15 (4) :1477-1494

“

Bölüm 10

ÇOCUKLARDA İŞİTME, DİL VE
KONUŞMA GELİŞİMİ

Ayşe Sanem ŞAHLI¹

”

¹ Prof. Dr, Hacettepe Üniversitesi, ssahli@hacettepe.edu.tr, ORCID
iD:0000-0001-5050-8994

Giriş

Çocuklarda iletişim becerilerinin temelini işitme, dil ve konuşma fonksiyonu oluşturur. Bu üç temel beceri doğumdan itibaren birbiri ile etkileşim halindedir. Herhangi birindeki bozukluk diğerlerini de olumsuz yönde etkiler. Örneğin, işitme kaybı ile dünyaya gelen bir bebekte dil ve konuşma becerileri önemli düzeyde etkilenir. Dil gelişim sürecinin başlaması için bebeğin sağlıklı işitme duyusuna sahip olması gereklidir. Dil gelişimi, bebeğin tüm çevresel ve konuşma seslerine tepki vermesi (alıcı dil) ile konuşma gelişimi ise ağlama/ses çıkarma (ifade edici dil) ile başlar (1).

İşitme

İşitme duyusu, tüm canlılarda özellikle insanlarda dış dünya ile iletişimin sağlanmasında son derece önemlidir. İşitme sisteminin maturasyonu doğumdan önce başlar, doğumdan sonraki ilk birkaç ay içerisinde devam eder ve büyük ölçüde birinci yılın sonunda tamamlanır. İnsan beyni gebeliğin 7. haftasında fonksiyon kazanırken, orta ve iç kulak 12.haftada şekillenir.

Santral sinir sisteminde primer işitsel merkezinin yer aldığı temporal lob, gebeliğin 20.haftasından itibaren gelişmeye başlar. İşitme siniri (8.kranial sinir) ve santral işitsel yolun ilk durağı olan koklear nukleuslar doğumdan sonra 6.haftada gelişimini tamamlar.

Superior olivary ve lateral lemniscus nukleusları ikinci yılın sonuna kadar şekillenirken, işitsel korteksin maturasyonu yaşamın beşinci yılının sonuna kadar devam eder. Periferik işitme siniri ise yaşamın altıncı haftasında şekillenir ve santral işitsel işleme ancak on yaş düzeyinde erişkine benzer fonksiyon görmeye başlar. İşitsel işleme, santral işitme sisteminin gelişmesi süresince işitsel bir maturasyon süreci geçirir. İşitme sadece kulakların değil santral işitme sisteminin de bir fonksiyonudur (1,2). Burada bilinmesi gereken en önemli nokta, kulakların sesin iletiminde bir aracı olarak görev yaptığı, beynin ise işitme fonksiyonunda temel rol oynadığıdır. Fonsiyonel işitmenin gelişimi intrauterin algıdan (intrauterine perception) başlayıp, kavrama (comprehension) ve konuşma üretimine kadar olan aşamaları içerir. Burada en önemli konuların başında işitsel işleme gelmektedir. İşitsel İşleme, santral sinir sistemi tarafından kullanılan işitsel bilginin etkinliği ve yeterliliği ve işitsel bilginin algısal işleme olmasıdır ve santral işitme sisteminin gelişimi süresince fizyolojik ve fonksiyonel bir maturasyon bir sürecine tabidir. Akustik stimülasyon ve işitsel duyu ile ortaya çıkan işitsel uyarı ilk olarak fizyolojik algı düzeyinde duyulur. Bu aşamada duyulan akustik uyarının anlamı bilinmemektedir. Algı aşamasında duyulan sesin lokalizasyonu ve ayırd edilme işleminden sonra, analiz, sentez ve santral sinir sisteminin gelişmesi ile paternlerin muhakemesi ve sınıflandırma süreçleri meydana gelir. En üst düzeyde ek

zihinsel süreçlerle ilgili olan bu tanıma fonksiyonu kompleks ilişkileri sağlar. Son derece karmaşık bir süreç olan işleme, santral sinir sisteminin tüm kognitif sistemi boyunca devam eder. Kognitif işleme sadece işitsel algı ve frekans (frequency), şiddet (intensity), süre (duration), melodi (melody), ritim (rhythm) ve diğer suprasegmental yapıların kullanıldığı ayırt etme sistemlerinin analizi, sentezi ve kodlaması ile mümkündür. Bu süreçler işitsel dikkat ve işitsel hafıza yoluyla desteklenir ve geliştirilir. İşitme becerileri kendiliğinden gelişmez, öğrenilmeye ihtiyaç vardır. Fonksiyonel işitme ancak deneyimle kazanılır. İşitme kayıplı bireyler bu deneyimi yeterli düzeyde kazanamazlar (1-3).

Normal işiten bireylerde işitme yollarının maksimum verimliliği yaşamın ikinci yılının sonunda sağlanır. İşitme yollarının bu dönem içerisinde fizyolojik olarak olgunlaşması işitsel algı gelişiminin ön koşuludur. İşitsel uyarının sadece doğru zamanda olmasının yanında, uyaran paterninin doğası da önemlidir. Uygun uyarının verilmediği veya eksik olduğu durumlarda, önceden programlanmış olan nöronal yapılar yeterince fonksiyon göremezler veya geri dönüşsüz şekilde işlevlerini kaybederler (1-3).

Dil

İşitsel algı gelişimi dil kazanımı için oldukça önemlidir. Özellikle sözel iletişim sürecinde gönderilen mesajın doğru ve net olarak alınmasında ve konuşma seslerinin algılanmasında önemli rol oynar.

Dil, insanın çevresi ile iletişim kurma yeteneğidir. Dili anlama ve konuşma arasında önemli farklılıklar vardır. Dil, sözlü ve/veya yazılı semboller, işaretler, jest, mimik ve yüz ifadelerini içerir.

Çocuklarda büyüme ile birlikte dil gelişimi de artar. Dil gelişimi sürecinde özellikle ilk 2-3 yıl oldukça önemli olduğundan bu yaş döneminde anne-babalar çocuklarının dil gelişimi yönünden dikkatli olmalıdır. Erken tanı, dil ve konuşma bozukluklarına müdahale açısından oldukça kritiktir (4,5)

Dil beş temel bileşenden meydana gelmektedir;

1. Sentaks (Söz dizimi): Dilde cümle biçimlerini oluşturan kelimelerin anlamlı bir şekilde sıralanması ile ilgilidir.

2. Morfoloji (Biçim bilgisi): Dilin en küçük anlamlı parçası olan morfemlerin nasıl kullanılacağı ile ilgili kuralların oluşturulması ile ilgilidir.

3. Fonoloji (Ses bilgisi): Dilde konuşma seslerini oluşturan fonemlerin kullanımını ve kombinasyonu ile ilgilidir.

4. Semantik (Anlam bilgisi): Dildeki kelimelerin kombinasyonları ve anlamları ile ilgilidir.

5. Pragmatik(Kullanım/Edim bilgisi): Sosyal durum ve ortamlarda dilin kullanımındaki kurallar ile ilgilidir (6).

Cümle içinde kelimelerin sıralanışı, cümle düzeni ve kelimelerin birbirleri ile ilişkilerini düzenleyen sentaks, genel gelişime paralel olarak gelişir. Dil gelişiminin ilk dönemlerinde tek kelimeler kullanan çocuklar zaman içinde kelimeleri birleştirerek cümle kurmaya, zaman ve soru eklerini ve daha kompleks sentaktik yapıları kullanmaya başlarlar (7).

Dilin biçim bilgisini içeren morfoloji, dilde anlamlı en küçük birimlerden sorumludur. Örnek olarak, ‘baba’ kelimesi tek biçimbirimken, ‘baba/m’ kelimesi iki biçimbirimdir (7-9).

Sesler ve seslerin kombinasyonuna ilişkin kurallardan sorumlu olan fonoloji, her dilin kendine özgü sesleri veya sesbirimlerine göre değişiklik göstermektedir. Sesbirimler, belirli kurallara göre bir araya gelerek kelimeleri meydana getirirler. Konuşmada yer alan ve anlamda farklılık meydana getiren en küçük dilbilimsel birime fonem denir. Örnek olarak ‘mum’ ve ‘muz’ kelimelerinde son fonemlerdeki farklılık anlamda da bir farklılığa yol açmaktadır.

Semantik, diğer dil bileşenlerinde olduğu gibi alıcı ve ifade edici özelliklere sahiptir. Zihinsel işleme ile yakından ilişkili olan semantik zihinssek gelişime paralel olarak zamanla daha kompleks hale gelir. Genel olarak çocuklar kullandıklarından daha fazla kelimeyi anlama yetisine sahiptir ve bu yeti yaşla birlikte gelişmeye devam eder.

Sosyal olarak dilin kullanımına ilişkin kuralları ve kullanımını içeren pragmatik, konuşmayı başlatma, konuşmada sıra alma gibi konulardaki dilbilimsel kurallar bütünü olarak ifade edilmektedir (7).

Çocuklarda dil gelişimi en basit hali ile üç dönemde incelenebilir;

1. Prelingual Dönem (0-1 yaş)
2. Erken Dil Dönemi (1-3 yaş)
3. Farklılaşma Dönemi (3-6 yaş)

1.Prelingual Dönem (0-1 yaş)

Bu dönemde çocuklar ‘konuşma dilini’ (yetişkinler için geçerli dilin kurallarına uymama anlamında) konuşulduğu gibi telaffuz edemezler. Bu dönemde çocuğun çevresi ile sözlü iletişimi yerine, ‘babbling’ tarzında kendine özgü bir dili vardır. Örneğin; 9-10 ay civarında bir duruma veya bir zihinsel süreç olgunluğunun başlangıcı olarak belirli bir kişiye tepki olarak ‘mama’, ‘baba’, ‘tata’ gibi sesler çıkarabilirler (10).

2.Erken Dil Dönemi (1-3 yaş)

Bu dönemde çocuklar henüz tam olmasa da ilk kelimelerini söylemeye başlamalarına rağmen, hem bazı ses kombinasyonlarını söylemek veya /r/, /s/, /j/ ve /t/ gibi sesleri telaffuz etmek onlar için hala zordur. Bu dönem kendi içinde, tek kelimelik cümle dönemi, iki kelimelik cümle dönemi ve iki kelimedenden fazla cümle dönemi olarak 3'e ayrılmaktadır.

-Tek kelimelik cümle dönemi:

Dilbilgisi kurallarına göre tek kelime bir cümle olarak kabul edilmesine rağmen, yetişkinlerin çok sayıda kelimedenden oluşan cümleler ile söylemek istediklerini bazen çocuklar tek kelime ile anlatabilmektedir. Örnek olarak; 'anne' kelimesi şu anlamlara gelebilmektedir: 'Anne nerede?' 'Anne yardım et!' 'Anne karnım acıktı' vb.

- İki kelimelik cümle dönemi

Genellikle, iki kelimelik cümleler çocuklar bir temayı anlamaya başladığında ve onu ifade etmeye çalıştığında ortaya çıkar. Bu dönem yaklaşık 18 aylıkken, çocuğun bu iki kelimenin birleşiminin bir anlamı olduğunu belirlediği zaman (farklı anlamları olan belirli bir ilişki, aitlik (annenin el-bisesi) veya sıfat kullanımı (kırmızı boya) vb.) daha belirgindir.

-İki kelimedenden fazla cümle dönemi

İki kelimedenden fazla cümle dönemi çocukların morfoloji alanında yeteneğini gösterir. Çocuğun cümle oluşturma becerileri artmıştır. Üç, dört veya daha fazla kelimedenden oluşan cümleler görülebilir. Bu dönemde, çocuk ve yetişkin arasında gerçek bir iletişim mevcuttur ve cümle kullanımı tamamen nitelikli bir iletişim kurmaya yöneliktir (10).

3.Farklılaşma Dönemi (3-6 yaş)

Bu dönemde çocukların kelimelerin farklılaşmasını organize etme becerileri daha gelişmiştir ve cümleleri dilbilgisi kurallarına daha uygundur. Fonolojik gelişim sona ermiş olabilir veya bazı telaffuzu zor ve karmaşık ünsüzlerin gelişimi hala devam ediyor olabilir. Kelime dağarcığı yavaş yavaş gelişmeye başlamıştır. İsimler ve fiiller kullanımda daha çok farklılık gösterir, edatlar, zamirler ve yardımcı fiillerin kullanımı artar. İletişim için dilin kullanımı daha düzgündür. Çocuklar dış dünyaya ilişkin algılarını ve deneyimlerini yetişkinlerle paylaşmak isterler, soru sorup cevap beklerler. Çoğul kelimelerin kullanımı, son eki ve fiilleri değiştirme gibi morfolojik özellikler kullanılmaya başlanır (10).

Dil Gelişimini Etkileyen Faktörler

-Genel Sağlık Durumu

Sağlıklı çocuklar, diğer çocuklardan (iyi konuşmayan çocuklardan)

daha hızlı öğrenirler, çünkü sosyal becerileri daha gelişmiştir ve diğer insanlarla iletişim kurmak için motivasyonları daha güçlüdür. Özellikle yaşamın ilk iki yılında herhangi bir sağlık problemi olan çocukların iletişim istek ve becerileri daha yavaş ve zordur.

-Zekâ

Öğrenmek için yüksek zekâyâ sahip çocuklar, daha hızlı konuşur ve düşük zekâ seviyesinde olan çocuklara göre dile daha hâkimdir (10).

-Ailenin sosyoekonomik durumu

Dil gelişimi ve ailenin sosyoekonomik durumu arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışmada, sosyoekonomik durumu iyi olan ailelerin çocuklarının dil gelişimlerinin diğerlerine göre çok daha iyi olduğu belirtilmektedir. Bu durumun öğrenme fırsatları ve farklılıklarından kaynaklanabileceği gibi ailelerin ilgisine bağlı olabileceği de düşünülmektedir.

-Aile İlişkileri

Ebeveynler ve çocuklar arasındaki sağlıklı ilişkiler çocukların dil gelişimi için bir fırsat olurken, sağlıklı ilişkiler çocukların dil gelişiminde zorluklar veya gecikmeler yaşamasına neden olabilmektedir.

-Ailenin Genişliği

Yapılan bazı çalışmalarda, tek çocuklu çekirdek ailelerin çocukları, ebeveynlerin dili öğretmek için daha fazla zaman ayırmaları, ilgi düzey ve sürelerinin daha fazla olması nedeniyle genellikle daha erken ve daha iyi konuştukları belirtilirken, bazı çalışmalarda geniş ailelerin çocuklarının sosyalleşme olanaklarının daha fazla olması nedeniyle dil becerilerinin daha iyi olabileceği bildirilmektedir (10).

-Akranları ile İletişim

Çocukların yaşlıları ile olan ilişkileri ne kadar fazlaysa, o kadar çok akran grubunun üyesi olarak kabul edilirler ve motivasyonları ne kadar güçlüyse konuşmayı o kadar kolay öğrenirler.

-Kişilik Özellikleri

Bulundukları sosyal ortama iyi uyum sağlayabilen çocuklar, niceliksel ve niteliksel olarak daha iyi dil ve konuşma yeteneğine sahip olma eğilimindedir (7,8,10).

Bebeklerde ve Çocuklarda Dil Gelişiminin Aşamaları

Tablo 1'de bebeklerde ve çocuklarda dil gelişiminin aşamaları yaş aralıklarına göre verilmiştir (5,6).

	Alıcı dil	İfade edici dil
0-3ay arası	Yüksek seslere irkilir. Konuşulduğunda gülerek ya da susarak tepki verir.	Memnuniyet sesleri çıkarır. Farklı ihtiyaçları için farklı ağlama şekilleri görülebilir. Tanıdıklarını görünce güler.
4 ay-6 ay arası	Gözlerini seslerin geldiği yöne doğru hareket ettirir. Ses çıkaran oyuncaklara dikkat eder. Müzik dikkatini çeker.	/p/,/m/,/b/gibi fonemleri içeren konuşma seslerine benzer sesleri mırıldanır. Başkasıyla ya da tek başına oynadığında agulama sesi çıkarır ve güler.
7 ay-1 yaş arası	Sesin geldiği yöne döner ve bakar. Konuşulduğunda dinler. İhtiyaçları yanıtlamaya başlar.	İletişim için jestlerini kullanır. İlk doğum gününde sesler çok net olmasa da bir veya iki kelimesi (baba, anne gibi) vardır. Farklı konuşma seslerini taklit eder.
1-2 yaş arası	Sorulduğunda birkaç vücut parçasına dokunur. Basit soruları anlar ve basit komutları yerine getirir. İsmi söylendiğinde kitaptaki resimleri gösterir.	Bir-iki kelimelik sorular sorar. İki kelimeyi birlikte kullanabilir.
2-3 yaş arası	Al-ver, büyük-küçük, yukarı-aşağı gibi ifadeleri anlar. İkili komutları yerine getirir ('bunu al ve masanın üstüne koy' vb.).	Neredeyse her şey için bir kelimesi vardır. Soru soracağı ve konuşacağı şeyler hakkında iki veya üç kelimelik ifadeler kullanır. /k/,/g/,/f/,/t/,/d/ ve /n/ seslerini çıkarabilir.
3-4 yaş arası	Kim, ne, nerede, neden gibi basit soruları cevaplar.	Ev veya okuldaki aktiviteler hakkında konuşur. Dört veya daha fazla kelimeye sahip birçok cümle kullanabilir. Genellikle kelime ve cümle tekrarı olmaksızın rahatlıkla konuşur.
4-5 yaş arası	Kısa bir hikâyeye dikkatini verir ve hikâye hakkında basit soruları cevaplar. Okulda ve evde söylenen şeylerin çoğunu anlar.	Yetişkinler ve diğer çocuklarla rahat iletişim kurar. Ritmik kelimeler söyler. Bazı harf ve sayıların isimlerini söyler. Ailenin diğer üyelerine benzer gramer ve detaylı cümleler kullanır.

Konuşma

Çocuklarda iletişimin teme alanlarından bir diğeri de konuşmadır. İletişimde en çok kullanılan yollardan biri olan konuşma her zaman tek seçenek değildir. Duygu, düşünce ve isteklerin karşı tarafa aktarılmasında konuşma kullanılabileceği gibi, yüz hareketleri, jest ve mimikler de kullanılabilir. Örneğin, konuşma becerilerinin ilk aşaması olan ağlama konuşma olmadan kurulan bir iletişim yöntemi olmakla beraber, gülümseme ve sesli gülmede memnuniyetin sözsüz bir ifade biçimidir (7,8).

Konuşmada ise belirli motor hareketler aracılığı ile birçok farklı işlemin koordinasyonunu gerektiren bir aktarım süreci söz konusudur. Konuşma fonksiyonunun gerçekleştirilmesinde solunum, ses, artikülasyon ve akıcılık gibi bazı parametreler önem taşır. Soluk verme ile başlayan konuşmada konuşmacının yeterli miktarda ve uygun şekilde nefesini verabilmesi gerekir. Doğru nefes alıp-verme konuşmanın ön koşuludur. Ses havayla veya güç kaynağı ile başlar. Akciğerler larenkse yeterli miktarda hava akımı yollayarak ses üretimi için gerekli enerjiyi sağlar. Ancak, sesin oluşumu sadece larenksi değil, aynı zamanda bütün vücut sistemlerini içermektedir (7-9).

İnsan sesinin oluşumu temel olarak dört aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar sırasıyla, ekspirasyon, fonasyon, rezonasyon ve artikülasyondur. Ekspirasyon soluk vermedir. Fonasyon ise, soluk verme sırasında akciğerlerden trakea yoluyla gelen havanın ses tellerini titreştirmesiyle meydana gelen ses üretimidir.

Rezonasyon ile oral (ağız) ve nazal (burun) kavite vb. yapılar aracılığıyla sesin asıl kalitesi ve karakteristik özellikleri ortaya çıkar. Son olarak, damak, dil, dudaklar ve dişlerden oluşan artikülatör yapılar sayesinde glottiste meydana gelen ses sinyalleri düzenlenerek konuşma sesi biçimine dönüştürülür (artikülasyon). İnsanların diğer canlılardan en büyük farklarından biri de kendine özgü olan sesini konuşmaya dönüştürebilmesidir. Tablo 2’de çocuklarda konuşma gelişiminin aşamaları görülmektedir (1).

Tablo 2. Konuşma gelişiminin aşamaları

1. ay	Refleksif ağlama
2.ay	Birinci babling aşaması Ünlü (vowel) ve ünsüze (consonant) benzeyen ses üretimleri vardır. İşitme kayıplı bebeklerde de gözlenir.
5–7.ay	Konuşma taklitleri aşaması Duyduğu sesleri taklit etmeye başlar. Özellikle hece tekrarları vardır.
8–9.ay	Konuşmayı anlamaya başlama aşaması Artan düzeyde çevredeki nesneler ve ilgili linguistik öğeler arasında ilişki kurmaya başlar.
10–12.ay	Fizyolojik ekolali aşaması Çocuk konuşulan sesleri tekrar etme mecburiyeti hisseder.
13–18.ay	Tek kelime aşaması Kelimelerin kullanılmasıyla konuşmanın gerçek gelişimi başlar.
19–24.ay	İki kelimeli cümle kurma aşaması İkinci yılın sonunda çocuğun kelime hazinesi ortalama 300–900 kelime civarındadır. İletişim, somut kelimeler merkezlidir.
3 yaş	Üç ve çok kelimeli cümle kurma aşaması Gramer hataları sıklıkla görülür.
4 yaş	Konuşma fundamentallerinin kullanılma aşaması Cümleler çok sayıda sentaktik (söz dizimsel) yapılar kullanılarak oluşturulur. Dil, düşüncenin yapılandırılması için bir araç olarak kullanılabilir.

Sonuç

Normal gelişim gösteren ve normal işitme duyusuna sahip çocuklarda iletişim becerileri doğumdan itibaren gelişmeye başlar. Sözel iletişimde ön koşul işitsel algının normal olmasıdır. İşitme becerileri normal olan bir çocuk dış dünyadaki çevresel ve konuşma seslerini dinleyerek öğrenmeye başlar. Alıcı dilin ilk aşaması sesleri fark etme, ifade edici dilin ilk aşaması ise ağlamadır. Dil ve konuşma gelişimi için kritik dönem yaşamın ilk iki yılıdır. Bu dönem içerisinde tanımlanan işitme ve konuşma bozukluklarına müdahale daha kolay ve etkilidir. O nedenle dünyaya gelen her çocuğun işitme, dil ve konuşma gelişimi, özellikle erken müdahale dönemi (0-2 yaş) süresince gözlenmeli, anne ve babalar çocuklarının işitsel algı, dil ve konuşma becerileri konusunda bilgilendirilerek, erken tanı ve müdahale-nin önemi konusunda farkındalıkları arttırılmalıdır (11).

Anahtar Kelimeler: Çocuk, işitme, dil, konuşma, gelişim

KAYNAKÇA

- 1.Şahlı AS. İşitme Kaybına Eğitsel Yaklaşımlar (22.bölüm), Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. In: Gerçek M (ed). Ankara: Akademisyen Tıp Kitabevi; 2014.
- 2.Diller G. Neurophysiological aspects, Hearing Impairment - Educational Possibilities, Qualification of educational staff working with hearing-impaired children (QESWHIC). 2007. p.7–11.
- 3.Diller G. The development of functional hearing, Hearing Impairment - Educational Possibilities, Neurophysiological aspects, Qualification of educational staff working with hearing-impaired children (QESWHIC). 2007.p. 11–15.
4. Otto BW. Language Development in Early Childhood Education. (Fifth Edition). Pearson; 2018.
- 5.American Speech Language Hearing Association (ASHA). Language in Brief. (08.09.2022 tarihinde <https://www.asha.org/practice-portal/clinical-topics/spoken-language-disorders/language-in-brief/> adresinden ulaşılmıştır.)
6. American Speech Language Hearing Association (ASHA). How Does Your Child Hear and Talk? (08.09.2022 tarihinde <https://www.asha.org/public/speech/development/chart/> adresinden ulaşılmıştır.)
- 7.Haynes WO, Moran MJ, and Pinzola RH. Communication Disorders In Educational and Medical Settings: Jones and Bartlett; 2010.
8. Bernstein DK, Tiegernan,FE. Language and Communication Disorders (6th ed.) Allyn & Bacon:Pearson:NY; 2009.
9. Turan F, Akoğlu GG. İletişim, Dil ve Konuşma Bozuklukları Olan Çocuklar ve Eğitimleri. Özel Gereksinimli Çocuklar ve Özel Eğitim. In: Baykoç N (ed). Ankara:Eğiten Kitap;2011.
10. Indrayani N. Language Development at Early Childhood. International Conference on Education (IECO) Proceeding. 2016; (1):279-289.
11. Borg E. et al. Language development in hearing-impaired children. Establishment of a reference material for a 'Language test for hearing-impaired children', LATHIC. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. 2002; 65(1): 15–26.

“

Bölüm 11

NANOPARTİKÜL ARACILI İLAÇ DAĞITIM SİSTEMLERİ

Yeşim DAĞLIOĞLU¹

”

¹ Doç. Dr. Ordu Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Ordu, Türkiye ORCID: 0000-0001-8740-1162

Giriş

Nanoteknoloji, çeşitli sentetik stratejiler, parçacık yapısı ve boyut modifikasyonu kullanılarak 1 ila 100 nm arasında değişen nano boyutlu parçacıkların hazırlanmasıyla ilgilenen bir bilim dalıdır¹⁻². Malzemelerin nano ölçekte kontrol edilmesine yönelik teknolojik gelişme tıpta hastalıkların tedavilerinde ve terapilerinde büyük bir devrim sağlamıştır¹. Nanopartikül (NP) moleküler biyoloji, fizik, organik ve inorganik kimya, tıp ve malzeme bilimi gibi farklı alanlarda kullanımı günümüzde beklenmedik bir şekilde artmıştır³⁻⁴. Yığın malzemelerden nanoboyuta geçiş, çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılabilecek fizikokimyasal özellikleri değiştirmektedir. Nanopartiküller (NP'ler), temel olarak moleküler veya hücresel süreçlerle etkileşime girme kabiliyeti ve fonksiyonlarını etkileme olasılığı ile yüksek yüzey/hacim oranı nedeniyle çeşitli biyomedikal uygulamalar için son derece çekicidir⁵. İlaç dağıtım sistemleri (İDS), insan sağlığı hizmetlerinin en umut verici uygulamalarından birisidir. İDS alanındaki büyük gelişmelere rağmen, formülasyon bilimcileri için, maksimum fayda/risk oranıyla vücuda ilaç dağıtımı için etkili uygun bir taşıyıcı geliştirmek hala çok önemli bir zorluktur⁶. İlaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi, 20 yılı aşkın bir süredir aktif bir multidisipliner araştırma alanı olmuş ve farklı patolojiler için tedavilerin başarılı bir şekilde geliştirilmesine yol açmıştır⁷⁻⁸. Özellikle, nano ölçekli ilaç dağıtım sistemleri, kemoterapi ilaçlarının yan etkilerini azaltmak ve tedavi etkinliğini artırmak için önemlidir. Nanopartiküllerin kullanımı, ilacın salım özellikleri, çözünme, çözünürlük, biyoyararlanım, $t_{1/2}$ ve immünojeniklik gibi İDS'deki içsel özelliklerini özelleştirmek için eşsiz bir özgürlük sağlar^{1,9}.

İlaç taşıyıcı sistemleri

İlaç taşıyıcı sistemleri oldukça yeni olmakla birlikte hızla gelişen bir teknolojidir. Bu sistemlerde, terapötik olarak aktif ilacı veya görüntüleme molekülünü ulaştırmak için nano ölçekli malzemeler kullanılır¹⁰⁻¹¹. Nanoyapılar genellikle ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi için kullanılır. Nanopartiküller (NP'ler) ve nanoyapılı malzemeler, ilaç formülasyonunu/hedeflemeyi/kontrollü salımını iyileştirerek kişiselleştirilmiş tıpta kilit rol oynayan bu taşıyıcı sistemlerdeki çok önemli bileşenlerdir¹¹⁻¹². Bu tür sistemler, bir ilacı belirli bir bölgeye önceden belirlenmiş bir oranda ve önceden tasarlanmış bir şekilde iletebilir; sonuç olarak, ilacın biyoyararlanımı artar ve yan etkileri azalır. İlaçlar, çeşitli adsorpsiyon yöntemleri ile NP yüzeyine fiziksel veya kimyasal olarak adsorbe edilebilir veya üretimleri sırasında NP'lere yüklenebilir¹⁰⁻¹¹⁻¹³. İlaç-taşıyıcı çözünürlüğü, moleküler ağırlık, ilaç-taşıyıcı kimyasal etkileşimi ve taşıyıcı boyutu gibi ilaç ve taşıyıcı özellikleri, taşıyıcı üzerinde/içine ilaç yükleme etkinliğini belirler^{11,14}. Nanopartikülden ilaç salım hızı, adsorbe edilen ilacın NP'lerin yüzeyinden salınması, NP'lerden ilaç difüzyonu, NP erozyonu ve NP'lerden ilaç di-

füzyonu gibi parametrelerden etkilenir. Bu nedenle, NP'lerden ilaç salım hızı, polimer biyodegradasyonu ve ilaç difüzyonu tarafından ayarlanır. İlaç salım süresi ve yeri, NP'lerin bileşimi (örneğin, ısıya duyarlı ve pH'a duyarlı malzemeler) ve mühendislik (örneğin, tek katmanlı ve çok katmanlı NP'ler, nanokapsüller) ve ayrıca bu süreçte yer alan fizyolojik faktörlerin daha iyi anlaşılmasıyla ayarlanabilir^{10-11,15}. Dünya çapında birçok araştırmacı, NP'lerin (örneğin metaller, metal oksitler, karbon, kuantum noktaları, lipozomlar, dendrimerler) farklı terapötik ajanlar için taşıyıcı olarak kullanılıp kullanılamayacağını ve nasıl kullanılabileceğini araştırmaktadır^{10,16-17}.

Nanotaşıyıcı sistemler yoluyla ilaç dağıtımı,

Nanotaşıyıcı sistemler yoluyla ilaç dağıtımı, geleneksel ilaç uygulama yöntemleriyle karşılaştırıldığında, özellikle çok yüksek doğruluk, hedefleme yeteneği, kararlılık ve hedef lokasyonda sürdürülebilirlik gibi üstün özellikleri vardır^{11,18}. Büyük boyutlu malzemelerden yapılan dağıtım sistemleri, zayıf absorpsiyon, *in vivo* stabilite, biyoyararlanım ve çözünürlük gibi etkinliklerini ve hedef özgüllüklerini azaltabilen önemli dezavantajlara sahiptir. Nanopartikülleri ilaç taşıyıcıları olarak kullanmanın ana amacı, ilaç toksisitesini azaltmak ve terapötik etkilerinde herhangi bir kayıp olmaksızın biyoyararlanımını, hedef özgüllüğünü ve dağıtımını arttırmaktır^{10-11,19}. Uygun taşıyıcıları ararken karşılaşılan bazı zorluklar vardır. Örneğin, ilaç salım kinetiği ve entegrasyonu, formülasyonun raf ömrü ve stabilitesi, formülasyonun biyoyumluluğu, biyolojik dağılım ve hedefleme ve olası ilaç yüklü nanotaşıyıcılar kullanılarak uzun süreli tedavi durumunda vücutta nanotaşıyıcı birikimi bunlardan ilk akla gelenlerdir. Ayrıca, nanopartiküllerle ilaç dağıtım verileri ilaç yüklü nanotaşıyıcıların toksikolojik ve çevresel etkilerinin belirlenmesine izin vermemektedir^{11,20}. Ek olarak, ilaçlar nano ölçekte sentezlenebilir ve daha sonraki iletim için kendi "taşıyıcıları" olarak hareket edebilirler. Terapötik moleküllerin/ilaçların iletimi için kullanılan farklı nanotaşıyıcılar vardır. Bunlar; Altın, gümüş, Fe₃O₄NP, çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT), Tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT), 11-merkaptoundekanoik asit, L-sistein, lipoik asit ile modifiye edilmiş ve folik asit ile süslenmiş Ag-In-Zn-S kuantum noktaları, laponit nanoplakalar, polilaktik asit elektrospun nanolifler dir^{10,12}.

Kanserde nanotaşıyıcılar

Kalp hastalığından sonra kanser dünya çapında ikinci en yaygın ölüm nedenidir²¹⁻²². İşlevselleştirilmiş nano taşıyıcılar, hedeflenen antikanser tedavilerini geliştirmek için kullanılabilir. Sistemik kemoterapi ile karşılaştırıldığında, bu sistemlerde terapötikler ve hedefleme molekülleri ile yüklü NP'ler spesifik olarak tümör hücrelerine iletilir ve daha düşük dozlarda ve sonuç olarak daha az istenmeyen yan etki ile iyi etkinlik gösterir²³. Birkaç

çalışma, nanotaşıyıcıların kanser teşhisini (görüntüleme ajanları olarak) ve tedaviyi iyileştirmek için ilginç araçlar olduğunu göstermektedir²⁴⁻²⁵. Son yirmi yılda, nanopartikül ürünleri birkaç klinik çalışmada değerlendirilmiştir^{10,26}. Kemoterapötik ajanların hedef bölgedeki etkinliği, tümör hücrelerini aktif veya pasif olarak hedefleyen NP'ler içinde kapsüllenerek arttırılabilir. NP'ler, ilaç dağıtımı için kullanıldıklarında çeşitli avantajlar sunar. Bunlar

1. Kemoterapötik ilaçların kararlılık ve çözünürlük sorunlarının üstesinden gelir.

2. İlacın enzimler (örneğin, proteazlar ve diğer metabolik enzimler) tarafından yapılan modifikasyonlardan korunması ve böylece ilacın kandaki yarı ömrünün arttırılmasını sağlar.

3. İlaç hedefleme ve dağıtımını artırır.

4. İlaç salım kinetiğini modüle eder.

5. Çoklu ilaç iletimi ile tedaviye direnci azaltır¹².

Çoğu zaman, hedefe ulaştıktan sonra antikanser ilaç etkinliği birçok farklı nedenden dolayı (örn. çok düşük konsantrasyon) önemli ölçüde azalır¹². Bir ilacın terapötik etkisi ancak doğru konsantrasyonda ve doğru biçimde bulunduğu mümkün olduğundan, taşıyıcı olarak kullanılan nanopartiküller, tümör hücrelerinin içinde ve çevresinde lokal ilaç konsantrasyonunu artırabilir. Bu aynı zamanda sağlıklı hücreler için toksisite riskini azaltır. İlaç taşıyan nanopartiküller, geleneksel ilaç iletiminin spesifik toksik etkisinin üstesinden gelmek için ilacı doğrudan hedeflenen vücut bölgesine (organ, hücresel ve spesifik dokunun hücre altı seviyesi) iletir ve böylece terapötik etkinlik için gerekli ilaç miktarını azaltır. Sonuç olarak, ilaç dağıtımında NP'lerin kullanımı, ilaç dağıtımını iyileştirmek ve kanser yönetimini değiştirmek için yeni olanaklar sunar²⁷. NP'lerin ligandlarla (nükleik asit aptamerleri, peptidler, antikorlar, karbondioksit ve küçük moleküller) etkileşimi, kanser hücrelerinin ve organlarının aktif olarak hedeflenmesine katkıda bulunabilir. Polimerik NP'ler, kapsüllenmiş ilaçların zamana ve duruma bağlı olarak yüzey erozyonu, difüzyon ve şişmeyi takiben difüzyonla kontrollü salınımı için kullanılabilir¹⁰.

Nanopartiküllerde ilaç kapsülleme

Uygun bir taşıma aracı, biyouyumluluğa, azaltılmış parçacık boyutuna, yüksek ilaç yükleme hızına ve/veya ilaç kapsülleme ve yakalama etkinliğine sahip olmalıdır. Bu, matris materyalinde iyi ilaç çözünürlüğü, yüksek ilaç-polimer etkileşimi ve ilaç veya matriste nihai fonksiyonel grupların varlığını gerektirir²⁸⁻³². İlaç kapsülleme, ya ilacın nanopartikül formülasyonu sırasında dahil edilmesiyle ya da nanopartikül sentezinden sonra ilacın adsorpsiyonu/absorpsiyonu ile iki şekilde gerçekleştirilebilir. Her iki du-

rumda da literatür, izoelektrik noktanın yakınında kapsülleme yapıldığında mükemmel bir kapsülleme etkinliğinin yapıldığını gösterir. Formülasyonun ilacın işlevsellikleri üzerindeki etkisinden kaçınılır^{28,31}. Bir çalışmada, yüksek basınçlı homojenleştirme-buharlaştırma yöntemini kullanarak dermal hedefleme için kitosan nanopartiküllerinden (CS-NP'ler) betametazon valeratın (BMV) kapsüllemesini incelenmiştir^{28,33}. BMV'nin hedefleme verimliliğini artırmak için, üretilen BMV-CS-NP'leri hyaluronik asit (HA) ile kaplanmıştır. Sonuçlar, negatif yüklü HA'nın, zıt ve yüklü HA ve CS molekülleri arasındaki iyonik etkileşimler yoluyla pozitif yüklü CS-NP'lerin yüzeyinde adsorbe edildiğini göstermiştir. HA adsorpsiyonu, NP'lerin yüzey yüklerinde bir düşüşe neden olmuş ve HA konsantrasyonu 1,0'dan 6,0 mg/mL'ye yükseldiğinde, kapsülleme verimliliği yüzdesinin (%EE) $73,43 \pm 6,7$ 'den $\%87,43 \pm 9,1$ 'e sürekli olarak arttığı kaydedilmiştir³³. Başka bir çalışmada, emülsiyon-difüzyon-buharlaştırma tekniği ile kurkumin (CUR) yüklü PLGA NP'lerini, CUR'nin düşük sulu çözünürlüğüne rağmen sentezlemişler ve sentez yöntemi etkili olup kapsülleme verimliliği yüzdesinin (%EE) $\%80.4 \pm 10.6\%$ olduğunu rapor etmişlerdir³⁴. Özetle, sentez yönteminin uygun seçimi ve ilacın polimerik matris içindeki çözünürlüğü kapsülleme etkinliğini belirlediği söylenebilir²⁸.

İlaç dağıtımında metalik nanopartiküller

Nanoteknoloji alanında, metalik nanopartiküller (MNP'ler) sayısız özellik göstermiş ve özellikle hedeflenen ilaç dağıtım sistemlerinde nanoteknolojide birçok yeni yolun anahtarı olmuştur³⁵. MNP'ler, çeşitli terapötik maddeler (antikorlar, nükleik asitler, kemoterapötik ilaçlar, peptitler, vb.) için ilaç taşıyıcı taşıyıcılar olarak yaygın şekilde kullanılır. Gümüş, altın, paladyum, titanyum, çinko ve bakır nanopartiküller, gibi MNP'lerin çoğu, gelişmiş ayarlanabilir optik özelliklere sahiptir. Ayrıca yüzeyleri, H-bağı, kovalent bağ ve elektrostatik etkileşimler yoluyla hedefleme ajanlarını ve aktif biyomolekülleri eşlenik hale getirmek için kolayca işlevselleştirilebilir. Buna ek olarak, daha yüksek terapötik etkinlik elde etmek için birden fazla ilaç kolayca yüklenebilir^{1,36}. MNP'ler, hidrofobik ilaç bileşiminin sulu çözünürlüğünü artırma, ilaçların kandaki dolaşım sürelerini artırma ve hızlı renal ilaç atılımını baskılama veya ortadan kaldırma kapasiteleri gibi avantajları vardır. Çok işlevli NP'ler, çoklu biyoaktiflerin görüntüleme ajanlarıyla birlikte iletimi, yüzey ligand dekorasyonu yoluyla hedefe özel dağıtım ve eş zamanlı olarak kanser terapötiklerinin yanı sıra teşhis elde edilmesi gibi çeşitli hedefleri sinerjistik olarak gerçekleştirme konusunda geleneksel NP'lerden daha fazla özelliğe sahiptir³⁷⁻³⁹. İlaç iletiminde üç ana hedef vardır.

1. terapötik ajanı etki bölgesine hedeflemek,
2. ilacın sağlıklı doku veya organlara olumsuz etkilerini en aza indirmek

3. klasik aşırı doz/yetersiz doz döngüsünden kaçınmak için ilacın salımını kontrol etmektir⁴⁰.

MNP'ler bu hedeflere ulaşmak için bir model sağlamaktadır. Bu nedenle, MNP yüzeyinin kaplanması, hedef alandaki ilaç yüklemesini, ilaç dağıtımını ve ilaç salımını kontrol etmek için optimize edilmiştir^{1,41}. Yüzey kaplamanın amacı, biyoyumluluğu iyileştirmek ve yan etkileri azaltmak yanında MNP'lere ilaç kombinasyonuna daha uygun fonksiyonel gruplar kazandırmaktır. MNP'ler aracılığıyla etkili ilaç iletimi iki önemli faktöre bağlıdır. MNP'lerin bu tasarımı, ilacın yavaş ve sürekli salınmasına ve MNP'lerin diğer normal hücreleri rahatsız etmeden terapötik ilaçları hedef bölgelere dağıtma yeteneğine yöneliktir⁴²⁻⁴³. Aktif ve pasif hedefleme kullanılarak, bu faktörler kolayca elde edilebilir. Kanser vaskülatüründeki özel değişiklikler nedeniyle pasif hedefleme mümkündür. Tümörlerin hızlı büyümesi nedeniyle kan damarları ve bağlantı noktaları uygun şekilde şekillenmez ve sızdırabilir ve kaybedebilir. MNP'lerin benzersiz boyutları nedeniyle, bu gevşek bağlantı noktalarından geçerek tümör bölgesinde daha iyi birikme sağlarlar ve zamanla birincil olarak kanser terapötikleri için kullanılırlar⁴⁴. Öte yandan, aktif hedefleme stratejisinde, MNP'ler, belirli hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanan ve sonuçta yükü istenen bölgeye götüren ve ilacı salan çeşitli aktif ligandlarla konjuge edilir^{1,45}.

MNP'ler genellikle parçacıkların termodinamiğinin anlaşılmasında en önemli niceliklerden biri olan büyük yüzey enerjilerine sahiptir. Yüzey alanının hacim oranındaki artış, atomların parçacığın iç kısmından ziyade yüzeydeki hakimiyet davranışında bir artışa yol açar ve bu da daha sonra toplam yüzey enerjisinde bir artışa neden olur⁴⁵. MNP'lerin yüksek yüzey alanı, ilaç dağıtım sistemlerinde ideal adaylar haline getiren yüksek yüzey enerjili daha fazla olası reaktif bölge sağlar^{1,46-47}. MNP'lerin yüzey modifikasyonu, NP'lerin tasarımı ve geliştirilmesi ile birlikte nanobilim ve teknoloji alanlarında hızla büyüyen odak noktasıdır⁴⁸. Bir NP'ü stabilize etmek ve agragasyonu önlemek için yüzey modifikasyonu gereklidir. MNP'lerin biyoyumluluk, ıslanabilirlik, adezyon ve toksisite açısından özelliklerinin, ilaç dağıtım sistemlerinde pratik uygulamalarından önce yeterli ölçüde iyileştirilmesi de önemlidir^{1,49}. Soy metallerin yüzey modifikasyonu tipik olarak, esas olarak bir tiol grubu, disülfid ligandları, aminler, nitriller, karboksilik asitler ve fosfinler ile yapışma yoluyla gerçekleştirilir⁵⁰⁻⁵². Organosülfürün yüzey modifikasyonunda geliştirilmesi ve kullanılması, esas olarak Ag, Au, Cu, Pt, Hg ve Fe gibi asil metallerle güçlü kovalent bağ oluşumundaki kimyasal uygulanabilirliğine bağlandı¹.

Altın nanopartiküller (GNP'ler), teşhis ve terapötik ajanların yanı sıra dağıtım vektörleri olarak kullanımları nedeniyle en yaygın şekilde araştırılan metalik nanomalzemelerden biridir⁵³⁻⁵⁴. GNP'leri genellikle iyi biyoyumluluğa ve düşük toksisiteye sahiptir ve geniş yüzey alanı, fizik-

sel absorpsiyon yoluyla biyomoleküllerle veya ligand veya antikor modifikasyonu için iyonik veya kovalent bağlanma yoluyla reaktif gruplarla (örneğin, amin, tiyol ve karboksil grupları) işlevselleştirme için oldukça uygundur⁵⁴⁻⁵⁶. Ligandları sabitlemek için bu fonksiyonel grupları kullanarak, ek proteinler, oligonükleotidler ve antikorlar gibi kısımlar, GNP'lerini daha fazla işlevsellik kazandırmak için kullanılabilir⁵⁷⁻⁵⁸. Ayrıca, biyolojik bariyerleri aşmak için faydalı olabilecek 1 ila 100 nm arasında değişen, özelleştirilebilir ve küçük boyutlarda çeşitli şekillerde üretilebilirler⁵⁹. Tam olarak anlaşılmamış olsa da NP'ler hücrelere kolayca girebilir. Nanopartikül akışı endositoz ile gerçekleşir; parçacıklar eklenir ve hücre zarının lipid çift tabakası boyunca yayılır. Ayrıca, bu NP'lerin, antikorlar gibi proteinlere bağlandıktan sonra bile hücrelere girebilmektedirler. Özel kanser hücresi yüzey reseptörlerine karşı antikorlarla konjuge edilmiş NP'ler, kanserli hücrelere spesifik olarak bağlanmak için kullanılır. İşlevselleştirilmiş NP'ler, hücrelere hedeflenen giriş için de kullanılır. Bir çalışmada, ftalosiyanınle stabilize edilmiş GNP'lerin, fotodinamik terapi için potansiyel bir dağıtım aracı olduğu gösterilmiştir⁶⁰⁻⁶¹. 20 nm büyüklüğündeki GNP'ler, biyolojik zara nüfuz eden ve çekirdeği hedefleyen fonksiyonel nanopartiküller sağlamak için çeşitli hücresel hedefleme peptitlerine konjuge edilmiştir. Çeşitli NP'ler, kanserin teşhisi ve tıbbi tedavisi için hedeflenen biyobelirteçler ve ilaç iletme ajanları olarak da uygulanmıştır⁶¹. Yüzey serbest elektronlarının rezonans frekansında kolektif salınımından türetilen lokalize yüzey plazmon rezonansları (LSPR) nedeniyle, GNP'ler ışıkla etkileşime girer ve onları diğer nanomalzemelerden iyi bir şekilde ayıran önemli optik özellikler sergiler. Bu plazmonik özellik, onları görüntüleme, algılama ve fototermal geçiş için kullanışlı yapar⁶²⁻⁶⁴. A2. GNP'lerin k penetrasyon mekanizmaları karmaşıktır ve parçacık boyutu, yüzey kimyası, şekil vb. gibi birkaç farklı faktör tarafından belirlenebilir^{54,56,65-66}. Parçacık boyutu ve penetrasyon arasındaki ilişki, dermal ve transdermal ilaç iletme alanında popüler araştırma konusudur. Araştırmalarda, GNP'lerin cilt penetrasyon etkinliğinin parçacık boyutunun küçülmesiyle artmaktadır^{54,67}.

Zinc oxide nanopartikülleri (ZnONP'leri), aracılığıyla ilaç dağıtımını, kanser gibi çeşitli bozuklukların tedavisi için oldukça etkili bir yöntemdir⁶⁸⁻⁷⁰. NP'ler, ilaçların taşınmasında temel mekanizmalardan biridir. ZnO-NP'leri, birçok hastalık için ilaç dağıtımını için kullanılmıştır⁶⁸⁻⁷⁰. HeLa hücrelerine doksorubisin uygulamak için yapılan bir çalışmada ZnO kuantum noktaları kullanılmıştır⁷¹. ZnO-NP'leri, kitosan içinde kaplanarak stabilize edilmiştir. Çalışmada ZnO-NP'leri ilaç dağıtım yöntemi doksorubisin ile kanser hücrelerini hedeflemek için kullanılabileceği rapor edilmiştir⁷¹. NP'lerin birincil kullanımlarından birinin, genetik materyalin farklı hücrelere, özellikle tümör hücrelerine taşınması olduğuna dikkat edilmelidir⁷⁰.

Gen iletimi için bu teknolojinin çeşitli faydaları vardır. Örneğin, NP'lerin yüzeylerinde plazmidle kodlanmış bir genin görünümü, alıcı dokulara güvenilir ve etkili gen iletimi sağlayabilir⁶⁸⁻⁷⁰. Sonuç olarak, NP'ler, genleri tümör hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücelere yönlendirmek için etkili bir araç olabilir. Bir çalışmada, yenilikçi gen dağıtım vektörleri olarak kullanılabilecek ZnO tetrapod benzeri nanoyapılar oluşturulmuştur⁷². Silika kaplı amino ile modifiye edilmiş bir tetra pod gibi ZnO-NS'lerin elektrostatik etkileşimler yoluyla DNA'ya etkili bir şekilde bağlanmış ve potansiyel olarak melanom hücre transfeksiyonunun etkinliğini artırmıştır⁷². Başka bir araştırmada, polikasyon başlıklı ZnO kuantum dottalarının DNA'yı COS-7 hücrelerine iletmıştır⁷³. Ayrıca, bu yöntemin kullanılması, gen iletiminin anlık görselleştirilmesini sağlar^{68,73}.

Titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NP), ilaç taşıyıcı sistemlerin en başta gelen amacı terapötik aktiviteyi en üst düzeye çıkarmak, yan etkileri azaltmak ve ilacın uygun bir şekilde kapsüllenmesini sağlamaktır. Dolayısıyla, ilaç TiO₂ NP'lerin yüzeyinde bulunabilir ve bu da kontrollü ve sürekli bir salım modeliyle sonuçlanabilir⁷⁴. TiO₂ NP'leri, hedeflenen hücelere yönelik kontrole sahip olan ve etkinliği artırmak için dokuya özgü hücrelerde lokalize olan herhangi bir spesifik molekül ile modifiye edilmektedir⁷⁴⁻⁷⁵. Titanyum NP'leri, sodyum fenitoin, valproik asit, temozolomid ve daunorubisin gibi farklı ilaç türlerinin yüklenmesi için nano-taşıyıcı olarak kullanılmıştır. İlk başta bir ani salım oranı ve daha sonra saatlerce kontrollü salım göstermiştir. Bu nedenle, titanyum NP'leri, geliştirilmiş etkinlik, doz optimizasyonu, kontrollü ve sürekli ilaç salım modeli ve ayrıca toksisite seviyelerinde bir azalma ile ilaç dağıtımı sağlayabilir^{74,76}.

Diğer nanopartiküller

Uyaran duyarlı nanopartiküller, ilaç uygulamasına yönelik yeni yaklaşımlardan biri, uyarana duyarlı nanomalzemelerin uygulanmasıdır. Bu sistemler, daha uzun sirkülasyon süreleri, hedeflenen dağıtım, daha yüksek hücre içi ilaç dağıtımı ve mekansal, geçici ve doz kontrollü ilaç yükünün salınmasını sağlar. ⁷⁷⁻⁷⁹. Bu sistemin çalışma mekanizması, kimyasal, biyokimyasal veya fiziksel kökenli belirli bir hücresel/hücre dışı uyarının, aktif türlerin belirli bir biyolojik ortama salınmasını teşvik ederek nanotaşıyıcıların bileşimini/yapısal yapısını değiştirebilmesi gerçeğinden oluşur^{77,80}. Uyaran duyarlı nanotaşıyıcılar hastalık patolojisinin önemli bir bileşeni olduğunda, bu sistemlerin başarısı için son derece faydalıdır çünkü bu, nanotaşıyıcıların özellikle patolojik tetikleyicilere yanıt vermesine ve yan etkileri önemli ölçüde azaltmasına olanak tanır^{77,81-82}. Uyaran kaynakları, gösterildiği gibi harici (diğerlerinin yanı sıra ışık, manyetik veya elektrik alan, ultrason), dahili (pH, sıcaklık, enzim aktivitesi, konak tanıma, antijen-antikor etkileşimleri ve diğerleri) veya her ikisinin bir kombinasyonu olabilir^{77,83-84}. Bu nanosistemlerin aynı zamanda, aynı böl-

gede veya farklı modda meydana gelebilecek ikili ve çoklu uyaranlara da yanıt verebileceğini ve ilacın salım profili ve terapötik etkinliği üzerinde kontrol sağlayabilir⁷⁷.

Polimer-lipid hibrit nanopartiküller (PLN), her iki malzemenin de avantajlarını kullanan polimerler ve lipidlerden yapılmış, gelişmekte olan bir NP ilaç dağıtım sistemidir. PLN vücut sıcaklığında katıdır ve katı lipid nanopartiküllerine (SLN) benzer, ancak geleneksel olarak atıfta bulunulan lipid bazlı NP'lerden farklıdır. Lipozomlar, bir lipid çift tabakası içine alınmış sulu bir çekirdekten oluşur⁸⁵⁻⁸⁷. Hidrofobiklik ve suda çözünürlük gibi farklı malzeme özelliklerine sahip olan polimer ve lipidin bir arada bulunması, PLN'ye, esas olarak hidrofobik bileşikleri yüklemek için olan SLN ve nanoyapılı lipid taşıyıcılardan farklı olarak, çeşitli yük türlerini yükleme konusunda çok yönlü bir özellik kazandırır. Diğer nanopartikül ilaç taşıyıcı tipleriyle karşılaştırıldığında, PLN, geniş biyoyumlu polimer ve lipid seçimleri ve çok sayıda polimer-lipit kombinasyonu, tek adımlı bir yöntemle kolay üretimi ve farklı özelliklere sahip terapötik ve görüntüleme ajanlarını birlikte kapsülleme konusunda üstün yetenekleri dahil olmak üzere bir dizi benzersiz avantaj sergiler⁸⁵. PLN formülasyonlarının ilaç yükleme etkinliğini artırdığı, kontrollü ilaç salımını mümkün kıldığı, ilaç alımını ve hücre içi ilaç taşınmasını iyileştirdiği ve kanser hücrelerinde zar akışı taşıyıcı aracılı çoklu ilaç direncini (MDR) atlattığı gösterilmiştir⁸⁵. Diğer nanotaşıyıcı türleri gibi, PLN de tümör vaskülatürüne ve tümör hücrelerine hedeflenen ilaç iletimi için hedefleme parçalarıyla konjüge edilebilir. Bu avantajlar nedeniyle, PLN sistemi çok çeşitli terapötik ajanların iletilmesi için muazzam bir potansiyele sahiptir. Bununla birlikte, kanser kemoterapisi gibi spesifik uygulamalar için istenen tüm özelliklere sahip optimal formülasyonları tasarlamak zordur⁸⁵.

HexA-Enzim Kaplı Polimer Nanopartiküller (HexA-NP), polilaktik asit (PLA) nanopartikülleri (NP'ler) üzerinde immobilize edilmiş rekombinant HexA enziminden oluşan bir sistemdir. Serbest enzimin tüm biyokimyasal özelliklerini muhafaza edebilen rekombinant HexA enzim immo kararlı enzimden oluşur⁸⁸. Ayrıca, bu strateji, kapsüllenmiş enzimlerle uğraşırken olduğu gibi, serbest bırakılmasına gerek kalmadan işlevini yerine getirmek için hali hazırda mevcut olan, NP'lerin yüzeyine sabitlenmiş bir enzim sağlar. HexA-NP sisteminin Sandhoff hücreleri içinde etkili bir şekilde içselleştirilmesi, *in vitro* deneylerle kanıtlanmıştır⁸⁸.

Polimerik Nanopartiküller, Polimer bazlı parçacıklar sıklıkla incelenmekte ve çok çeşitli terapötik uygulamalarda ilaç taşıyıcıları olarak kullanılmaktadır. Çünkü sentezlerinin kontrol edilmesi fizikokimyasal özelliklerinin ve ilaç salım özelliklerinin özelleştirilmesini sağlar⁸⁹⁻⁹⁰. Bu nedenle, polimerin boyut dağılımı veya yan zincir bileşimi, NP performansını iyileştirmek için değiştirilebilir. Çeşitli polimerler arasında en yaygın

olarak kullanılanlar, bu özel polyesterin olumlu biyolojik ayrışma özellikleri ve biyoyumluluğu ve FDA onaylı sürekli salımlı enjekte edilebilir pazarlanan farmasötik ürünlerdeki başarısı nedeniyle poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi alifatik polyesterlerdir^{89,91}. Bu parçacıkların tasarımındaki gelişmeler, PEGilasyon biyospesifik hedefleme ve iyileştirilmiş ilaç yükleme yoluyla stabiliteyi ve dolaşımı iyileştirmiştir⁹²⁻⁹⁶. Uzun etkili bir $\beta 2$ agonisti (LABA) olan formoterol fumarat dihidrat, inhalasyon yoluyla astım ve obstrüktif akciğer hastalığının tedavisi için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onaylı bir ajandır. Daha yakın zamanlarda, formoterol fumarat dihidrat, çeşitli akut ve kronik yaralanmalarda ortaya çıkan mitokondriyal disfonksiyonun tedavisinde umut vaat etmiştir⁹⁷⁻¹⁰⁰. $\beta 2$ adrenerejik reseptörün her yerde ifade edildiği göz önüne alındığında, formoterolün sistemik iletimi, özellikle taşikardi ve hipotansiyon gibi akut kardiyovasküler etkilerin yanı sıra uzun vadeli kardiyak yeniden şekillenme nedeniyle potansiyel olarak toksik yan etkiler riski taşır¹⁰¹⁻¹⁰⁴. Renal proksimal tübülleri hedef alan polimerik nanopartiküller, FDA onaylı polietilen glikol (PEG) ile konjuge FDA onaylı diblock kopolimer poli(laktik-ko-glikolik) asit (PLGA) kullanarak potansiyel sistemik toksisiteden kaçınma konusunda umut vaat etmektedir¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. Bu nedenle, polimerik NP'lerin potansiyel renal hedeflemesini formoterolün mitokondriyal biyojenik ve renoprotektif etkileriyle birleştirilmesi, toksisiteyi en aza indirirken böbrek hasarını takiben gelişmiş biyojenik etkilere ve potansiyel olarak artırılmış iyileşmeyi sağlar^{89,108}. Bununla birlikte Biyobozunur polimer nanopartiküller, esneklikleri ve kontrollü salım, kanda stabilite, immünojenik ve toksik olmayan doğa gibi birçok ilginç özelliği nedeniyle yeni ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadır^{10,13}.

Mezögözenekli silika malzemeleri (MSM'ler) ilk kez 1990'larda Japonya'da Kuroda ve arkadaşları ve ABD'de Mobil Oil bilim adamları tarafından rapor edildi¹⁰⁹⁻¹¹¹. Yığın gözenekli malzemeler, çevrelerindeki silika öncülerini yoğunlaştırmak için şablonlar olarak kendi kendine birleşen yüzey aktif madde molekülleri kullanılarak üretiler. Bu yeni malzeme, 2 ila 20 nm arasında homojen boyutlu, yüksek gözenek hacmi (yaklaşık 1 cm³ g⁻¹), büyük yüzey alanı (yaklaşık 1000 m² g⁻¹), ve yüzeylerinde yüksek yoğunluklu silanol grupları vardır. Bu özellikler MSM'leri, ilk kez 2001'de Vallet-Regé grubu tarafından önerildiği gibi, ilaç dağıtım sistemleri gibi moleküllerin adsorpsiyonunu gerektirebilecek uygulamalar için ideal adaylar yaptı¹¹². Ek olarak MSM'ler, yüzeylerinde silanol gruplarının varlığı ve biyoaktif camlara benzer bir kimyasal bileşim sayesinde biyoaktif davranış gösteren bir tür mezoyapılı biyoseramiktir¹¹³⁻¹¹⁴. Sonuç olarak, MSM'ler üç boyutlu kemik dokusu mühendisliği için 3D yapı iskelelerinin üretimi için başlangıç malzemeleri olarak kullanılmıştır^{109,115}. Yığın MSM'lerin harika dokusal özellikleri ve potansiyel biyomedikal uygulama-

maları, nano ölçekli boyuta dönüştürülmesini sağlamıştır¹¹⁶. Böylece, birkaç yıl sonra, mezogözenekli silika nanopartiküller (MSN'ler) geliştirildi ve dünya çapında birçok araştırma grubu tarafından ilaç dağıtım sistemleri olarak araştırıldı^{109,117-119}. İlaç dağıtım sistemleri olarak MSN'lerin büyük başarısının nedenleri, fiziksel-kimyasal özelliklerine bağlıdır. Aslında, MSN'ler, ilaç özgüllüğünün olmaması, bazı ilaçların dar etkinlik penceresi, olası düşük ilaç çözünürlüğü ve/veya stabilitesidir. Genel olarak, bir ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılan herhangi bir nanopartikül, maksimum miktarda kargo molekülü yüklemek, ilacı serbest bırakmak, erken salınımı önlemek, hastalıklı dokuya ulaşmak ve salmak için bazı temel gereksinimleri karşılamalıdır¹⁰⁹.

Manyetik demir oksit nanopartikülleri (IONP'leri), elektronik veya çevre gibi çeşitli bilimsel alanlarda kullanılmalarını sağlayan içsel manyetik özellikleri (yani süperparamanyetizma) nedeniyle geniş çapta incelenmiştir¹²⁰⁻¹²³. Olağanüstü manyetik özelliklere ek olarak, IONP'lerin biyoyumluluğu, kararlılığı ve çevre dostu olması onları biyomedikal uygulamalar için ideal bir platform haline getirmiştir¹²⁰.

Grafen oksit (GO), Grafen oksit, iki boyutlu (2D) ve sp^2 -bağlı karbon atomlarının bir düzenlemesine sahip nanomalzeme olan grafenin bir türevidir. Optik, elektronik ve termal kararlılık gibi muazzam özelliklere sahiptir. GO, kimyasal sentez sırasında hidrojen atomları oksijen atomları ile değiştirildiğinde oluşur¹²⁴. Grafen kuantum dotları, tek/çok duvarlı karbon nanotüpler ve grafen oksit nanotabakalar, farklı ilaç yükleme kapasiteleri, hedefleme özgüllüğü ve ilaç salım kinetiği olan karbon bazlı nanomalzemelerdir. Bu durum, ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanıldıklarında bu farklı nanomalzemelerin terapötik etkinliğindeki farklılıkları kısmen açıklar¹⁰. Önceki çalışmalarda katmanlı çift hidroksitler, grafen ve grafen oksit gibi 2 boyutlu (2D) inorganik nano tabakalar ve metal nanopartiküller bazlı nano taşıyıcılar, çeşitli ilaç salım uygulamalarında kullanılmıştır. İnsan hücreleri için oldukça toksik olduğu bilinen kemoterapötik ilaçların toksisitesini azaltmak ve etkinliğini arttırmak gibi avantajları vardır¹²⁴⁻¹²⁶.

Elektrospun nanolifler, hem doğal hem de sentetik çeşitli polimerler, nanolifler üretmek için uygun koşullar altında elektrospun işlemine tabi tutulmuştur¹²⁶⁻¹²⁷. Doku mühendisliği için hava filtreleri, moleküler kompozitler, vasküler greftler, yara sargıları ve yapı iskeleleri gibi bu elektrospun nanolifler için farklı uygulamalar önerilmiştir. Az çözünür ilaçların dağıtımını için elektrospun işlemi ile elektrospun lifleri üretimi sağlanmıştır. Bu elektrospun liflerdeki ilaç yüklemesi %84'e kadar çıkmıştır. Nanoliflerden ilaç salım hızı, ilaç/polimer oranına bağlıdır¹²⁸. Ayrıca lokalize antikaner ilaç dağıtımını için de değerlendirilmiştir²⁵⁻²⁶. Konvansiyonel difüzyon bazlı ilaç dağıtım araçlarına kıyasla istenen ilacı hedef kanser hücrelerine etkili bir şekilde iletebilirler^{10,129-130}. Zhang ve diğerleri, "bir ön ilaç görevi

gören” dikloroasetat (DCA) ve polivinil alkol ile kendinden birleştirilmiş PEG2000-Pt(IV) miselleri içeren bir çözeltiyi elektrospinleyerek nanofiber bazlı lokalize bir antikanser ilaç dağıtım sistemi üretti. Bu dağıtım sistemi, iki apoptotik mekanizma aracılığıyla kanser hücreleri üzerinde sinerjistik bir apoptotik etki gösteren PEG2000-Pt(IV) bazlı misellerin ve DCA’nın hızlı salınmasını sağlamıştır¹³¹.

Protein nanopartikülleri, Protein bazlı taşıyıcılar, ön ilaçlar, ilaç konjugatları, nanopartiküller, mikrokapsüller, hidrojel ve 3-D yapı iskeleleri şeklinde rapor edilmiştir¹³²⁻¹³⁴. Protein bazlı nanotaşıyıcılar toksik değildir, biyolojik olarak parçalanabilir, kolayca metabolize edilebilir ve iyi bir biyoyumluluğa sahiptir¹³⁵⁻¹³⁷. Protein bazlı nanotaşıyıcılar, insan vücudunda bulunan enzimlerin etkisiyle bozulabilir. Ayrıca, protein NP’lerinin zayıf veya önemsiz bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkardığı bulunmuştur¹³⁸⁻¹³⁹. Ayrıca, proteinlerin amfifilik doğası, onların hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçlar ve çözücülerle etkileşime girmesine yardımcı olur. İçlerinde bulunan hidroksil, amino ve karboksil gruplarının bolluğu, onları kimyasal modifikasyona uygun hale getirir. Bu nedenle, proteinNP’leri, bir veya farklı tipte ligandlar ve ilaç molekülleri ile kovalent olarak veya kovalent olmayan bir şekilde bağlanabilir. Bu, mükemmel bir yüzey modifikasyonu gösterir¹⁴⁰⁻¹⁴¹. Bilim adamları jelatin, ipek-fibroin, albümin, gliadin ve hayvanlar, bitkiler, böcekler ve rekombinant ekspresyon sistemleri gibi çok çeşitli kaynaklardan türetilen proteinlerin potansiyelinden yararlanmaktadır¹⁴².

KAYNAKÇA

1. Chandrakala, V., Aruna, V., & Angajala, G. (2022). Review on metal nanoparticles as nanocarriers: Current challenges and perspectives in drug delivery systems. *Emergent Materials*, 1-23.
2. Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
3. Salata, O. V. (2004). Applications of nanoparticles in biology and medicine. *Journal of nanobiotechnology*, 2(1), 1-6.
4. Wang, E. C., & Wang, A. Z. (2014). Nanoparticles and their applications in cell and molecular biology. *Integr Biol (Camb)* 6 (1): 9–26.
5. Nath, D., & Banerjee, P. (2013). Green nanotechnology—a new hope for medical biology. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3), 997-1014.
6. Felice, B., Prabhakaran, M. P., Rodriguez, A. P., & Ramakrishna, S. (2014). Drug delivery vehicles on a nano-engineering perspective. *Materials Science and Engineering: C*, 41, 178-195.
7. Choudhury, S. R., Ordaz, J., Lo, C. L., Damayanti, N. P., Zhou, F., & Irudayaraj, J. (2017). From the cover: zinc oxide nanoparticles-induced reactive oxygen species promotes multimodal cyto-and epigenetic toxicity. *Toxicological Sciences*, 156(1), 261-274.
8. Qadri, S., Haik, Y., Mensah-Brown, E., Bashir, G., Fernandez-Cabezudo, M. J., & Al-Ramadi, B. K. (2017). Metallic nanoparticles to eradicate bacterial bone infection. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(7), 2241-2250.
9. Ramadi, K. B., Mohamed, Y. A., Al-Sbiei, A., Almarzooqi, S., Bashir, G., Al Dhanhani, A., ... & Al-Ramadi, B. K. (2016). Acute systemic exposure to silver-based nanoparticles induces hepatotoxicity and NLRP3-dependent inflammation. *Nanotoxicology*, 10(8), 1061-1074.
10. Harish, V., Tewari, D., Gaur, M., Yadav, A. B., Swaroop, S., Bechelany, M., & Barhoum, A. (2022). Review on nanoparticles and nanostructured materials: Bioimaging, biosensing, drug delivery, tissue engineering, antimicrobial, and agro-food applications. *Nanomaterials*, 12(3), 457.
11. Tan, P., Li, H., Wang, J., & Gopinath, S. C. (2021). Silver nanoparticle in biosensor and bioimaging: Clinical perspectives. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 68(6), 1236-1242.
12. Bao, C., Beziere, N., del Pino, P., Pelaz, B., Estrada, G., Tian, F., ... & Cui, D. (2013). Gold nanoprisms as optoacoustic signal nanoamplifiers for in vivo bioimaging of gastrointestinal cancers. *small*, 9(1), 68-74.
13. Chen, N. T., Tang, K. C., Chung, M. F., Cheng, S. H., Huang, C. M., Chu,

- C. H., ... & Lo, L. W. (2014). Enhanced plasmonic resonance energy transfer in mesoporous silica-encased gold nanorod for two-photon-activated photodynamic therapy. *Theranostics*, 4(8), 798.
14. Yadav, A., Rao, C., Verma, N. C., Mishra, P. M., & Nandi, C. K. (2020). Magnetofluorescent Nanoprobe for Multimodal and Multicolor Bioimaging. *Molecular imaging*, 19, 1536012120969477.
15. Klymchenko, A. S., Liu, F., Collot, M., & Anton, N. (2021). Dye-loaded nanoemulsions: biomimetic fluorescent nanocarriers for bioimaging and nanomedicine. *Advanced Healthcare Materials*, 10(1), 2001289.
16. Xu, Y. M., Tan, H. W., Zheng, W., Liang, Z. L., Yu, F. Y., Wu, D. D., ... & Lau, A. T. (2019). Cadmium telluride quantum dot-exposed human bronchial epithelial cells: a further study of the cellular response by proteomics. *Toxicology research*, 8(6), 994-1001.
17. Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., Campos, E. V. R., Rodriguez-Torres, M. D. P., Acosta-Torres, L. S., ... & Shin, H. S. (2018). Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 1-33.
18. Yao, Y., Zhou, Y., Liu, L., Xu, Y., Chen, Q., Wang, Y., ... & Shao, A. (2020). Nanoparticle-based drug delivery in cancer therapy and its role in overcoming drug resistance. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 193.
19. Kim, B., Shin, J., Wu, J., Omstead, D. T., Kiziltepe, T., Littlepage, L. E., & Bilgicer, B. (2020). Engineering peptide-targeted liposomal nanoparticles optimized for improved selectivity for HER2-positive breast cancer cells to achieve enhanced in vivo efficacy. *Journal of Controlled Release*, 322, 530-541.
20. Deng, Y., Zhang, X., Shen, H., He, Q., Wu, Z., Liao, W., & Yuan, M. (2020). Application of the nano-drug delivery system in treatment of cardiovascular diseases. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 489.
21. Cirstoiu-Hapca, A., Buchegger, F., Lange, N., Bossy, L., Gurny, R., & Delie, F. (2010). Benefit of anti-HER2-coated paclitaxel-loaded immuno-nanoparticles in the treatment of disseminated ovarian cancer: Therapeutic efficacy and biodistribution in mice. *Journal of Controlled Release*, 144(3), 324-331.
22. Wilson, B., Samanta, M. K., Santhi, K., Kumar, K. S., Ramasamy, M., & Suresh, B. (2010). Chitosan nanoparticles as a new delivery system for the anti-Alzheimer drug tacrine. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(1), 144-152.
23. Anderson, R., Franch, A., Castell, M., Perez-Cano, F. J., Bräuer, R., Pohlers, D., ... & Kinne, R. W. (2010). Liposomal encapsulation enhances and prolongs the anti-inflammatory effects of water-soluble dexamethasone phosphate in experimental adjuvant arthritis. *Arthritis research & therapy*, 12(4), 1-15.

24. Zalba, S., Contreras, A. M., Haeri, A., Ten Hagen, T. L., Navarro, I., Koning, G., & Garrido, M. J. (2015). Cetuximab-oxaliplatin-liposomes for epidermal growth factor receptor targeted chemotherapy of colorectal cancer. *Journal of Controlled Release*, 210, 26-38.
25. Zhang, Z., Wu, Y., Kuang, G., Liu, S., Zhou, D., Chen, X., ... & Huang, Y. (2017). Pt (iv) prodrug-backboned micelle and DCA loaded nanofibers for enhanced local cancer treatment. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(11), 2115-2125.
26. Liu, S., Zhou, G., Liu, D., Xie, Z., Huang, Y., Wang, X., ... & Jing, X. (2013). Inhibition of orthotopic secondary hepatic carcinoma in mice by doxorubicin-loaded electrospun polylactide nanofibers. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(1), 101-109.
27. Adeel, M., Duzagac, F., Canzonieri, V., & Rizzolio, F. (2020). Self-therapeutic nanomaterials for cancer therapy: A review. *ACS Applied Nano Materials*, 3(6), 4962-4971.
28. Castro, K. C. D., Costa, J. M., & Campos, M. G. N. (2022). Drug-loaded polymeric nanoparticles: a review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 71(1), 1-13.
29. Panyam, J., Williams, D., Dash, A., Leslie-Pelecky, D., & Labhasetwar, V. (2004). Solid-state solubility influences encapsulation and release of hydrophobic drugs from PLGA/PLA nanoparticles. *Journal of pharmaceutical sciences*, 93(7), 1804-1814.
30. Govender, T., Riley, T., Ehtezazi, T., Garnett, M. C., Stolnik, S., Illum, L., & Davis, S. S. (2000). Defining the drug incorporation properties of PLA-PEG nanoparticles. *International journal of pharmaceuticals*, 199(1), 95-110.
31. Singh, R., & Lillard Jr, J. W. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and molecular pathology*, 86(3), 215-223.
32. Li, B., Li, Q., Mo, J., & Dai, H. (2017). Drug-loaded polymeric nanoparticles for cancer stem cell targeting. *Frontiers in Pharmacology*, 51.
33. Pandey, M., Choudhury, H., Gunasegaran, T. A., Nathan, S. S., Md, S., Gorain, B., ... & Hussain, Z. (2019). Hyaluronic acid-modified betamethasone encapsulated polymeric nanoparticles: fabrication, characterisation, in vitro release kinetics, and dermal targeting. *Drug delivery and translational research*, 9(2), 520-533.
34. Duse, L., Agel, M. R., Pinnapireddy, S. R., Schäfer, J., Selo, M. A., Ehrhardt, C., & Bakowsky, U. (2019). Photodynamic therapy of ovarian carcinoma cells with curcumin-loaded biodegradable polymeric nanoparticles. *Pharmaceutics*, 11(6), 282.
35. Cooper, E. R. (2010). Nanoparticles: a personal experience for formulating poorly water soluble drugs. *Journal of Controlled Release*, 141(3), 300-302.

36. Thanki, K., Gangwal, R. P., Sangamwar, A. T., & Jain, S. (2013). Oral delivery of anticancer drugs: challenges and opportunities. *Journal of controlled release*, 170(1), 15-40.
37. Gao, L., Liu, G., Ma, J., Wang, X., Zhou, L., & Li, X. (2012). Drug nanocrystals: in vivo performances. *Journal of controlled release*, 160(3), 418-430.
38. Allen, T. M., & Cullis, P. R. (2004). Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science*, 303(5665), 1818-1822.
39. Gref, R., Minamitake, Y., Peracchia, M. T., Trubetskoy, V., Torchilin, V., & Langer, R. (1994). Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science*, 263(5153), 1600-1603.
40. Mandal, D., Maran, A., Yaszemski, M. J., Bolander, M. E., & Sarkar, G. (2009). Cellular uptake of gold nanoparticles directly cross-linked with carrier peptides by osteosarcoma cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(1), 347-350.
41. Tan, G., Onur, M. A., & SAĞLAM, N. (2012). Utilization of gold nanostructures in biomedical applications. *Turkish Journal of Biology*, 36(6), 607-621.
42. Langer, R. (1998). Drug delivery and targeting. *Nature*, 392(6679 Suppl), 5-10.
43. Delcassian, D., Patel, A. K., Cortinas, A. B., & Langer, R. (2019). Drug delivery across length scales. *Journal of Drug Targeting*, 27(3), 229-243.
44. Yih, T. C., & Al-Fandi, M. (2006). Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. *Journal of cellular biochemistry*, 97(6), 1184-1190.
45. Sau, T. K., Rogach, A. L., Jäckel, F., Klar, T. A., & Feldmann, J. (2010). Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles. *Advanced Materials*, 22(16), 1805-1825.
46. Jain, P. K., Huang, X., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2008). Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine. *Accounts of chemical research*, 41(12), 1578-1586.
47. Lee, K. S., & El-Sayed, M. A. (2006). Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: sensitivity of plasmon response to size, shape, and metal composition. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(39), 19220-19225.
48. Pauly, C. S., Genix, A. C., Alauzun, J. G., Sztucki, M., Oberdisse, J., & Mutin, P. H. (2015). Surface modification of alumina-coated silica nanoparticles in aqueous sols with phosphonic acids and impact on nanoparticle interactions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(29), 19173-19182.
49. Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K. H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., ... & Schué, F. (2018). Terminology For Biorelated Polymers And Applications (Iupac Recommendations 2012). In *Handbook of Biochemistry and Mole-*

cular Biology (pp. 885-900). CRC Press.

50. Arzt, E. J. A. M. (1998). Size effects in materials due to microstructural and dimensional constraints: a comparative review. *Acta materialia*, 46(16), 5611-5626.
51. Patzke, G. R., Zhou, Y., Kontic, R., & Conrad, F. (2011). Oxide nanomaterials: synthetic developments, mechanistic studies, and technological innovations. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(4), 826-859.
52. Rodríguez, J. A., & Garcia, M. F. (2007). *The World of oxide nanomaterials* (p. 15). John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ.
53. Nicol, J. R., Dixon, D., & Coulter, J. A. (2015). Gold nanoparticle surface functionalization: A necessary requirement in the development of novel nanotherapeutics. *Nanomedicine*, 10(8), 1315-1326.
54. Chen, Y., & Feng, X. (2022). Gold nanoparticles for skin drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 122122.
55. Feng, X., & Chen, Y. (2018). Drug delivery targets and systems for targeted treatment of rheumatoid arthritis. *Journal of Drug Targeting*, 26(10), 845-857.
56. Kim, H. S., & Lee, D. Y. (2021). Smart engineering of gold nanoparticles to improve intestinal barrier penetration. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 102, 122-134.
57. Wang, G., Stender, A. S., Sun, W., & Fang, N. (2010). Optical imaging of non-fluorescent nanoparticle probes in live cells. *Analyst*, 135(2), 215-221.
58. Pavlov, V., Xiao, Y., Shlyahovsky, B., & Willner, I. (2004). Aptamer-functionalized Au nanoparticles for the amplified optical detection of thrombin. *Journal of the American Chemical Society*, 126(38), 11768-11769.
59. Jeong, E. H., Jung, G., Hong, C. A., & Lee, H. (2014). Gold nanoparticle (AuNP)-based drug delivery and molecular imaging for biomedical applications. *Archives of pharmacal research*, 37(1), 53-59.
60. Doubrovsky, V. A., Yanina, I. Y., & Tuchin, V. V. (2011, April). Inhomogeneity of photo-induced fat cell lipolysis. In *Saratov Fall Meeting 2010: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XII* (Vol. 7999, pp. 145-153). SPIE.
61. Daraee, H., Eatemadi, A., Abbasi, E., Fekri Aval, S., Kouhi, M., & Akbarzadeh, A. (2016). Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 410-422.
62. Jeong, H. H., Choi, E., Ellis, E., & Lee, T. C. (2019). Recent advances in gold nanoparticles for biomedical applications: from hybrid structures to multi-functionality. *Journal of Materials Chemistry B*, 7(22), 3480-3496.
63. Sharifi, M., Attar, F., Saboury, A. A., Akhtari, K., Hooshmand, N., Hasan, A., ... & Falahati, M. (2019). Plasmonic gold nanoparticles: Optical mani-

- pulation, imaging, drug delivery and therapy. *Journal of Controlled Release*, 311, 170-189.
64. Wang, W., Wang, J., & Ding, Y. (2020). Gold nanoparticle-conjugated nanomedicine: design, construction, and structure–efficacy relationship studies. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(22), 4813-4830.
 65. Fai, T. K., & Kumar, P. V. (2021). Revolution in the Synthesis, Physico-chemical and Biological Characterization of Gold Nanoplatfrom. *Current pharmaceutical design*, 27(21), 2482-2504.
 66. Adnan, N. N., Cheng, Y. Y., Ong, N. M., Kamaruddin, T. T., Rozlan, E., Schmidt, T. W., ... & Boyer, C. (2016). Effect of gold nanoparticle shapes for phototherapy and drug delivery. *Polymer Chemistry*, 7(16), 2888-2903.
 67. Sonavane, G., Tomoda, K., Sano, A., Ohshima, H., Terada, H., & Makino, K. (2008). In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: effect of particle size. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65(1), 1-10.
 68. Islam, F., Shohag, S., Uddin, M. J., Islam, M. R., Nafady, M. H., Akter, A., ... & Cavalu, S. (2022). Exploring the Journey of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) toward Biomedical Applications. *Materials*, 15(6), 2160.
 69. Asharani, P. V., Wu, Y. L., Gong, Z., & Valiyaveetil, S. (2008). Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. *Nanotechnology*, 19(25), 255102.
 70. Taylor, E., & Webster, T. J. (2011). Reducing infections through nanotechnology and nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 6, 1463.
 71. Yuan, Q., Hein, S., & Misra, R. D. K. (2010). New generation of chitosan-encapsulated ZnO quantum dots loaded with drug: synthesis, characterization and in vitro drug delivery response. *Acta biomaterialia*, 6(7), 2732-2739.
 72. Nie, L., Gao, L., Feng, P., Zhang, J., Fu, X., Liu, Y., ... & Wang, T. (2006). Three-dimensional functionalized tetrapod-like ZnO nanostructures for plasmid DNA delivery. *Small*, 2(5), 621-625.
 73. Zhang, P., & Liu, W. (2010). ZnO QD@ PMAA-co-PDMAEMA nonviral vector for plasmid DNA delivery and bioimaging. *Biomaterials*, 31(11), 3087-3094.
 74. Sagadevan, S., Imteyaz, S., Murugan, B., Lett, J. A., Sridewi, N., Weldegebriela, G. K., ... & Oh, W. C. (2022). A comprehensive review on green synthesis of titanium dioxide nanoparticles and their diverse biomedical applications. *Green Processing and Synthesis*, 11(1), 44-63.
 75. Yin, Z. F., Wu, L., Yang, H. G., & Su, Y. H. (2013). Recent progress in biomedical applications of titanium dioxide. *Physical chemistry chemical physics*, 15(14), 4844-4858.
 76. Singh, L., Kruger, H. G., Maguire, G. E., Govender, T., & Parboosing, R. (2017). The role of nanotechnology in the treatment of viral infecti-

- ons. *Therapeutic advances in infectious disease*, 4(4), 105-131.
77. Castro, K. C. D., Costa, J. M., & Campos, M. G. N. (2022). Drug-loaded polymeric nanoparticles: a review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 71(1), 1-13.
 78. Hrkach, J., Von Hoff, D., Ali, M. M., Andrianova, E., Auer, J., Campbell, T., ... & Zale, S. (2012). Preclinical development and clinical translation of a PSMA-targeted docetaxel nanoparticle with a differentiated pharmacological profile. *Science translational medicine*, 4(128), 128ra39-128ra39.
 79. Torchilin, V. P. (2014). Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. *Nature reviews Drug discovery*, 13(11), 813-827.
 80. Kamaly, N., Yameen, B., Wu, J., & Farokhzad, O. C. (2016). Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: mechanisms of controlling drug release. *Chemical reviews*, 116(4), 2602-2663.
 81. Calderón, M., Quadir, M. A., Strumia, M., & Haag, R. (2010). Functional dendritic polymer architectures as stimuli-responsive nanocarriers. *Biochimie*, 92(9), 1242-1251.
 82. Shenoy, D., Little, S., Langer, R., & Amiji, M. (2005). Poly (ethylene oxide)-modified poly (β -amino ester) nanoparticles as a pH-sensitive system for tumor-targeted delivery of hydrophobic drugs: part 2. In vivo distribution and tumor localization studies. *Pharmaceutical research*, 22(12), 2107-2114.
 83. Fattal, E., & Tsapis, N. (2014). Nanomedicine technology: current achievements and new trends. *Clinical and Translational Imaging*, 2(1), 77-87.
 84. Banik, B. L., Fattahi, P., & Brown, J. L. (2016). Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 8(2), 271-299.
 85. Wu, X. Y. (2016). Strategies for optimizing polymer-lipid hybrid nanoparticle-mediated drug delivery. *Expert opinion on drug delivery*, 13(5), 609-612.
 86. Wong, H. L., Bendayan, R., Rauth, A. M., Li, Y., & Wu, X. Y. (2007). Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles. *Advanced drug delivery reviews*, 59(6), 491-504.
 87. Müller, R. H., Mäder, K., & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—a review of the state of the art. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 50(1), 161-177.
 88. Calzoni, E., Cesaretti, A., Montegiove, N., Di Michele, A., Pellegrino, R. M., & Emiliani, C. (2022). HexA-Enzyme Coated Polymer Nanoparticles for the Development of a Drug-Delivery System in the Treatment of Sandhoff Lysosomal Storage Disease. *Journal of Functional Biomaterials*, 13(2), 37.

89. Vallorz, E. L., Encinas-Basurto, D., Schnellmann, R. G., & Mansour, H. M. (2022). Design, Development, Physicochemical Characterization, and In Vitro Drug Release of Formoterol PEGylated PLGA Polymeric Nanoparticles. *Pharmaceutics*, 14(3), 638.
90. Mansour, H. M., Sohn, M., Al-Ghananeem, A., & DeLuca, P. P. (2010). Materials for pharmaceutical dosage forms: molecular pharmaceutics and controlled release drug delivery aspects. *International journal of molecular sciences*, 11(9), 3298-3322.
91. Rhee, Y. S., Park, C. W., DeLuca, P. P., & Mansour, H. M. (2010). Sustained-release injectable drug delivery.
92. Moghimi, S. M., Hunter, A. C., & Murray, J. C. (2001). Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacological reviews*, 53(2), 283-318.
93. Williams, R. M., Shah, J., Tian, H. S., Chen, X., Geissmann, F., Jaimes, E. A., & Heller, D. A. (2018). Selective nanoparticle targeting of the renal tubules. *Hypertension*, 71(1), 87-94.
94. Muralidharan, P., Mallory, E., Malapit, M., Hayes Jr, D., & Mansour, H. M. (2014). Inhalable PEGylated phospholipid nanocarriers and PEGylated therapeutics for respiratory delivery as aerosolized colloidal dispersions and dry powder inhalers. *Pharmaceutics*, 6(2), 333-353.
95. Williams, R. M., Shah, J., Ng, B. D., Minton, D. R., Gudas, L. J., Park, C. Y., & Heller, D. A. (2015). Mesoscale nanoparticles selectively target the renal proximal tubule epithelium. *Nano letters*, 15(4), 2358-2364.
96. Beck-Broichsitter, M., Gauss, J., Gessler, T., Seeger, W., Kissel, T., & Schmehl, T. (2010). Pulmonary targeting with biodegradable salbutamol-loaded nanoparticles. *Journal of aerosol medicine and pulmonary drug delivery*, 23(1), 47-57.
97. Jesinkey, S. R., Funk, J. A., Stallons, L. J., Wills, L. P., Megyesi, J. K., Beeson, C. C., & Schnellmann, R. G. (2014). Formoterol restores mitochondrial and renal function after ischemia-reperfusion injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 25(6), 1157-1162.
98. Scholpa, N. E., Simmons, E. C., Crossman, J. D., & Schnellmann, R. G. (2021). Time-to-treatment window and cross-sex potential of β_2 -adrenergic receptor-induced mitochondrial biogenesis-mediated recovery after spinal cord injury. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 411, 115366.
99. Vallorz, E. L., Encinas-Basurto, D., Schnellmann, R. G., & Mansour, H. M. (2022). Design, Development, Physicochemical Characterization, and In Vitro Drug Release of Formoterol PEGylated PLGA Polymeric Nanoparticles. *Pharmaceutics*, 14(3), 638.
100. Cameron, R. B., Gibbs, W. S., Miller, S. R., Dupre, T. V., Megyesi, J., Beeson, C. C., & Schnellmann, R. G. (2019). Proximal tubule β_2 -adrenergic receptor mediates formoterol-induced recovery of mitochondrial and renal

- function after ischemia-reperfusion injury. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 369(1), 173-180.
101. Molenaar, P., Chen, L., & Parsonage, W. A. (2006). Cardiac implications for the use of β_2 -adrenoceptor agonists for the management of muscle wasting. *British Journal of Pharmacology*, 147(6), 583-586.
 102. Brouri, F., Findji, L., Mediani, O., Mougenot, N., Hanoun, N., Le Naour, G., ... & Lechat, P. (2002). Toxic cardiac effects of catecholamines: role of β -adrenoceptor downregulation. *European journal of pharmacology*, 456(1-3), 69-75.
 103. Levine, M. A., & Leenen, F. H. (1989). Role of beta 1-receptors and vagal tone in cardiac inotropic and chronotropic responses to a beta 2-agonist in humans. *Circulation*, 79(1), 107-115.
 104. Koziczak-Holbro, M., Rigel, D. F., Dumotier, B., Sykes, D. A., Tsao, J., Nguyen, N. H., ... & Hatakeyama, S. (2019). Pharmacological Characterization of a Novel 5-Hydroxybenzothiazolone-Derived β_2 -Adrenoceptor Agonist with Functional Selectivity for Anabolic Effects on Skeletal Muscle Resulting in a Wider Cardiovascular Safety Window in Preclinical Studies. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 369(2), 188-199.
 105. Williams, R. M., Jaimes, E. A., & Heller, D. A. (2016). Nanomedicines for kidney diseases. *Kidney international*, 90(4), 740-745.
 106. He, J., Chen, H., Zhou, W., Chen, M., Yao, Y., Zhang, Z., & Tan, N. (2020). Kidney targeted delivery of asiatic acid using a FITC labeled renal tubular-targeting peptide modified PLGA-PEG system. *International Journal of Pharmaceutics*, 584, 119455.
 107. Nair, A. V., Keliher, E. J., Core, A. B., Brown, D., & Weissleder, R. (2015). Characterizing the interactions of organic nanoparticles with renal epithelial cells in vivo. *ACS nano*, 9(4), 3641-3653.
 108. Vallorz, E. L., Blohm-Mangone, K., Schnellmann, R. G., & Mansour, H. M. (2021). Formoterol PLGA-PEG Nanoparticles Induce Mitochondrial Biogenesis in Renal Proximal Tubules. *The AAPS Journal*, 23(4), 1-12.
 109. Manzano, M., & Vallet-Regí, M. (2020). Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery. *Advanced functional materials*, 30(2), 1902634.
 110. Yanagisawa, T., Shimizu, T., Kuroda, K., & Kato, C. (1990). The preparation of alkyltrimethylammonium-kanemite complexes and their conversion to microporous materials. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 63(4), 988-992.
 111. Kresge, A. C., Leonowicz, M. E., Roth, W. J., Vartuli, J. C., & Beck, J. S. (1992). Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *nature*, 359(6397), 710-712.
 112. Vallet-Regí, M., Rámila, A., Del Real, R. P., & Pérez-Pariente, J. (2001).

- A new property of MCM-41: drug delivery system. *Chemistry of Materials*, 13(2), 308-311.
113. Vallet-Regí, M., Ruiz-González, L., Izquierdo-Barba, I., & González-Calbet, J. M. (2006). Revisiting silica based ordered mesoporous materials: medical applications. *Journal of Materials Chemistry*, 16(1), 26-31.
 114. Hench, L. L. (2006). The story of Bioglass®. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 17(11), 967-978.
 115. Vallet-Regí, M., Ruiz-González, L., Izquierdo-Barba, I., & González-Calbet, J. M. (2006). Revisiting silica based ordered mesoporous materials: medical applications. *Journal of Materials Chemistry*, 16(1), 26-31.
 116. Vallet-Regí, M., & Ruiz-Hernández, E. (2011). Bioceramics: from bone regeneration to cancer nanomedicine. *Advanced Materials*, 23(44), 5177-5218.
 117. Ruiz-Hernandez, E., Baeza, A., & Vallet-Regí, M. (2011). Smart drug delivery through DNA/magnetic nanoparticle gates. *ACS nano*, 5(2), 1259-1266.
 118. Lai, C. Y., Trewyn, B. G., Jeftinija, D. M., Jeftinija, K., Xu, S., Jeftinija, S., & Lin, V. S. Y. (2003). A mesoporous silica nanosphere-based carrier system with chemically removable CdS nanoparticle caps for stimuli-responsive controlled release of neurotransmitters and drug molecules. *Journal of the American Chemical Society*, 125(15), 4451-4459.
 119. Argyo, C., Weiss, V., Bräuchle, C., & Bein, T. (2014). Multifunctional mesoporous silica nanoparticles as a universal platform for drug delivery. *Chemistry of materials*, 26(1), 435-451.
 120. Vangijzegem, T., Stanicki, D., & Laurent, S. (2019). Magnetic iron oxide nanoparticles for drug delivery: Applications and characteristics. *Expert opinion on drug delivery*, 16(1), 69-78.
 121. Frey, N. A., Peng, S., Cheng, K., & Sun, S. (2009). Magnetic nanoparticles: synthesis, functionalization, and applications in bioimaging and magnetic energy storage. *Chemical Society Reviews*, 38(9), 2532-2542.
 122. Ambashta, R. D., & Sillanpää, M. (2010). Water purification using magnetic assistance: a review. *Journal of hazardous materials*, 180(1-3), 38-49.
 123. Cheng, Z., Tan, A. L. K., Tao, Y., Shan, D., Ting, K. E., & Yin, X. J. (2012). Synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles and applications in the removal of heavy metals from industrial wastewater. *International Journal of Photoenergy*, 2012.
 124. Usman, M. S., Hussein, M. Z., Fakurazi, S., & Ahmad Saad, F. F. (2017). Gadolinium-based layered double hydroxide and graphene oxide nano-carriers for magnetic resonance imaging and drug delivery. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 1-10.
 125. Mieszawska, A. J., Mulder, W. J., Fayad, Z. A., & Cormode, D. P. (2013).

- Multifunctional gold nanoparticles for diagnosis and therapy of disease. *Molecular pharmaceutics*, 10(3), 831-847.
126. Ignatious, F., Sun, L., Lee, C. P., & Baldoni, J. (2010). Electrospun nanofibers in oral drug delivery. *Pharmaceutical research*, 27(4), 576-588.
 127. Santra, S., Kaittanis, C., Santiesteban, O. J., & Perez, J. M. (2011). Cell-specific, activatable, and theranostic prodrug for dual-targeted cancer imaging and therapy. *Journal of the American Chemical Society*, 133(41), 16680-16688.
 128. Kenawy, E. R., Abdel-Hay, F. I., El-Newehy, M. H., & Wnek, G. E. (2009). Processing of polymer nanofibers through electrospinning as drug delivery systems. In *Nanomaterials: Risks and Benefits* (pp. 247-263). Springer, Dordrecht.
 129. Wen, R., Umeano, A. C., Kou, Y., Xu, J., & Farooqi, A. A. (2019). Nanoparticle systems for cancer vaccine. *Nanomedicine*, 14(5), 627-648.
 130. James, H. P., John, R., Alex, A., & Anoop, K. (2014). Smart polymers for the controlled delivery of drugs—a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(2), 120-127.
 131. Roozbahani, M., Kharaziha, M., & Emadi, R. (2017). pH sensitive dexamethasone encapsulated laponite nanoplatelets: Release mechanism and cytotoxicity. *International journal of pharmaceutics*, 518(1-2), 312-319.
 132. Yoo, J. W., Irvine, D. J., Discher, D. E., & Mitragotri, S. (2011). Bio-inspired, bioengineered and biomimetic drug delivery carriers. *Nature reviews Drug discovery*, 10(7), 521-535.
 133. Malafaya, P. B., Silva, G. A., & Reis, R. L. (2007). Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Adv Drug Del Rev* 59 (4–5): 207–233.
 134. Nitta, S. K., & Numata, K. (2013). Biopolymer-based nanoparticles for drug/gene delivery and tissue engineering. *International journal of molecular sciences*, 14(1), 1629-1654.
 135. Crivelli, B., Perteghella, S., Bari, E., Sorrenti, M., Tripodo, G., Chlapanidas, T., & Torre, M. L. (2018). Silk nanoparticles: From inert supports to bioactive natural carriers for drug delivery. *Soft Matter*, 14(4), 546-557.
 136. Zhang, Y., Sun, T., & Jiang, C. (2018). Biomacromolecules as carriers in drug delivery and tissue engineering. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(1), 34-50.
 137. Salatin, S., Jelvehgari, M., Maleki-Dizaj, S., & Adibkia, K. (2015). A sight on protein-based nanoparticles as drug/gene delivery systems. *Therapeutic delivery*, 6(8), 1017-1029.
 138. Lohcharoenkal, W., Wang, L., Chen, Y. C., & Rojanasakul, Y. (2014). Protein nanoparticles as drug delivery carriers for cancer therapy, *BioMed Research International*, vol. 2014. *Article ID*, 180549.

139. Jahanshahi, M., Zhang, Z., & Lyddiatt, A. (2005, June). Subtractive chromatography for purification and recovery of nano-bioproduts. In *IEE Proceedings-Nanobiotechnology* (Vol. 152, No. 3, pp. 121-126). IET Digital Library.
140. MaHam, A., Tang, Z., Wu, H., Wang, J., & Lin, Y. (2009). Protein-based nanomedicine platforms for drug delivery. *Small*, 5(15), 1706-1721.
141. Jin, S., Li, S., Wang, C., Liu, J., Yang, X., Wang, P. C., ... & Liang, X. J. (2014). Biosafe nanoscale pharmaceutical adjuvant materials. *Journal of biomedical nanotechnology*, 10(9), 2393-2419.
142. Jain, A., Singh, S. K., Arya, S. K., Kundu, S. C., & Kapoor, S. (2018). Protein nanoparticles: promising platforms for drug delivery applications. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 4(12), 3939-3961.

“

Bölüm 12

BOVİNE HERPESVİRUS-1 ENFEKSİYONU VE BoHV-1’İN İMMUN SİSTEMDEN KAÇIŞ MEKANİZMALARI

*Mehmet Özkan TİMURKAN¹,
Muhammet Bahaeddin DÖRTBUDAK²*

”

1 Prof. Dr. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji A.D. Yakutiye/Erzurum (E-posta: motimurkan@atauni.edu.tr; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0458-7887>)

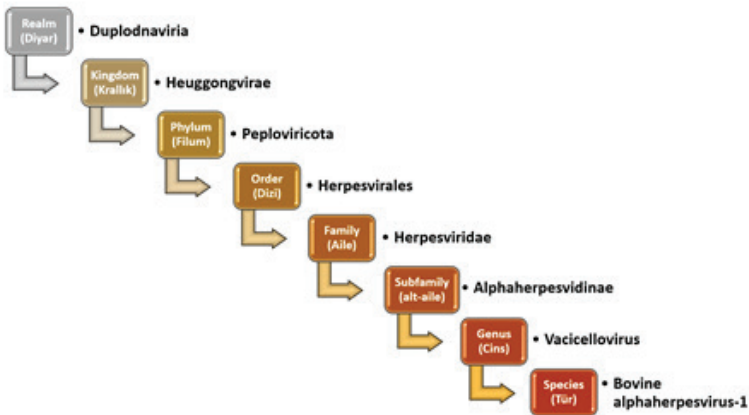
2 Dr. Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji A.D. Bingöl (E-posta: mbdortbudak@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5777-964X>)

1. Tanım

Bovine herpes viruslar sığırların solunum yolu ve genital sistemlerine yerleşerek bu sistemler özelinde klinik belirtilere sebep olan ayrıca konjunktivitis, ensefalitis, endometritis, infertilite, enteritis ve abortlarla karakterize latent karakterde persiste enfeksiyonlar oluşturan bir etkenidir. Gebelerde önemli bir abort sebebi olan bu viral ajan sinir dokusunda (gangliyonlar) latent (gizli) sürece girerek konağın sağlığını ve doğacak yavruların yaşamını tehdit etmektedir.^{1,2}

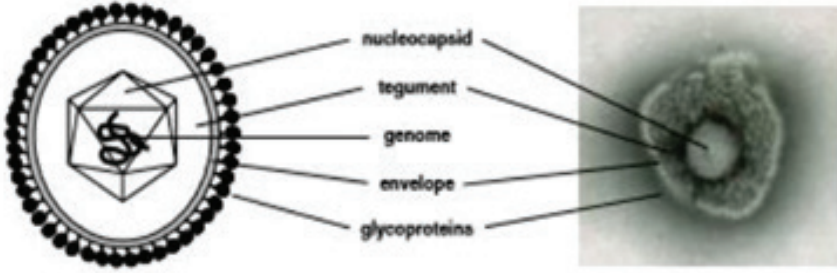
2. Etiyoloji

Bovine alphaherpesvirus-1 (BoHV-1), virusun aile düzeyinde taksonomisi; *Herpesviridea* ailesinden *Alphaherpesvirinae* alt ailesindeki Varicellovirus cinsinin bir üyesidir (Şekil 1). Bu virus ailesi yumuşakçalar, balıklar, amfibiler, sürüngenler, kuşlar ve memeliler gibi çeşitli konakçılardan izole edilen yaklaşık iki yüz virusu içerir. BoHV-1'in şimdiye kadar bilinen iki alt tipi tespit edilmiştir. Bunlar alt tip BoHV-1.1, BoHV-1.2'dir. Alt tip 1.2 ise kendi içerisinde alt tip BoHV-1.2a ve BoHV-1.2b'ye ayrılır. BoHV-1.1 ve BoHV-1.2a solunum yolu enfeksiyonu ve abortlardan sorumlu iken; BoHV-1.2b ise orta derecede patojenik olarak kabul edilen, dişilerde enfeksiyöz pustuler vulvovajinitis veya erkeklerde enfeksiyöz pustuler balanopostitis'e neden olabilir, ancak henüz bu tip abortlarla ilişkilendirilmemiştir. Subtipler düzeyine kesin bir açıklık getirilmemesine rağmen, hemen bütün tiplerin solunum veya genital sistemde tek başlarına veya mix halde enfeksiyon oluşturdıkları ortaya konulmuştur. Sığır herpesviruları içinde bulunan BoHV-5, (eski adı BoHV-1.3) sığır ensefalitisi karakterize nörolojik bozukluklarla ilişkili olduğundan, sığır ensefalitik herpes virusu olarak ta adlandırılmıştır. BoHV-5 de a, b ve non-a/b veya c olarak alt tiplere ayrılmıştır. BoHV-1.2a en patojenik subtip olarak kabul edilip aborta neden olmaktadır.^{3,4,5}



Şekil 1. Bovine alphaherpesvirus-1 için taksonomik sınıflandırma.⁶

BoHV-1, merkezinde viral genom (nükleik asit) ve bunu saran kapsid ile en dışta yer alan zardan (tegumen) oluşmaktadır (Şekil 2). Viral genom yaklaşık 140 kb uzunluğundaki lineer çift zincirli bir DNA sarmalından oluşur. Bu DNA'dan 33'ü yapısal olan yaklaşık 70 kadar protein kodlanmaktadır. Kapsid 162 kapsomerden oluşmaktadır. Virusun dışında bulunan zar frajil görünümde yani pleomorfik yapıda elektron mikroskopta görülmektedir. Virusun çapının bu pleomorfik yapıdan dolayı 120 ile 200 nm çapında olduğu bildirilmiştir. Kapsid yaklaşık 20 viral proteinden oluşan tegument adı verilen bir kompleks ile sarılıdır. Bu tegument proteinleri virusun konak hücreye penetrasyonunda (tutunma ve giriş) rol alır. BoHV-1 çevresel faktörlere karşı oldukça duyarlıdır. Ancak düşük sıcaklıklarda ve nemli ortamlarda daha uzun süre etkinliğini korumaktadır. Virus zarflı olduğu için kloroform, eter ve aseton gibi organik çözücülere duyarlıdır. Ancak virusun kurumuş burun akıntısında, ağız ve dudak kabuklarında, kurumuş vaginal akıntılarda ve yemlerde 30 günden fazla enfektif kalabilmesi hastalığın yayılmasında önem taşımaktadır.^{1,7,8,9}



Şekil 2. BoHV-1'in şematik ve elektron mikroskopik yapısı ¹⁰

3. Tarihçe

Herpes virus adını Yunanca "herpein" yani sürünmek kelimesinden almıştır. Bu isim herpes virusun insanlarda sebep olduğu iki yaygın enfeksiyondan (herpes simplex virus (HSV) ve varicella zoster virus (VZV)) ileri gelmektedir. 19. Yüzyılda Büchner ve Trommsdorf Almanya'da muhtemelen Bovine herpesvirus'un sebep olduğu Bläschenausschlag"ı (koital veziküler ekzantem) bir hastalık olarak tanımladılar. Reisinger ve Reimann 1928'de bu bulaşıcı hastalığın fitrelenebilir bir ajandan kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir. Schroeder ve Moys bovine herpesvirusu 1953'te Kaliforniya'da süt sığırlarında yeni bir üst solunum yolu hastalığı olarak ilk ortaya koyan araştırmacılarıdır. Hastalık önceleri kırmızı burun, nekrotik rinit veya toz pnömonisi olarak biliniyordu. Ancak 1955 yılında, ABD hayvan sağlığı derneğinin bir toplantısında, hastalık için kabul edilen isim "Enfeksiyöz Sığır Rhinotracheitis" oldu. Madin et al. (1956) ilk önce nedensel (etiyojik) ajanı izole etti. Armstrong et al. (1961), IBR virusu-

nun (BoHV-1) herpes virus grubuna ait olduğunu ileri sürdü. Boğalarda enfeksiyöz püstüler balanopostit” (IPB) ve ineklerde “enfeksiyöz püstüler vulvovajinit” (IPV) olarak bilinen bu hastalığın solunum sistemindeki daha şiddetli formu ise “enfeksiyöz bovine rinotracheitis” (IBR) olarak tanımlandı.^{2,11,12}

4. Epidemiyoloji

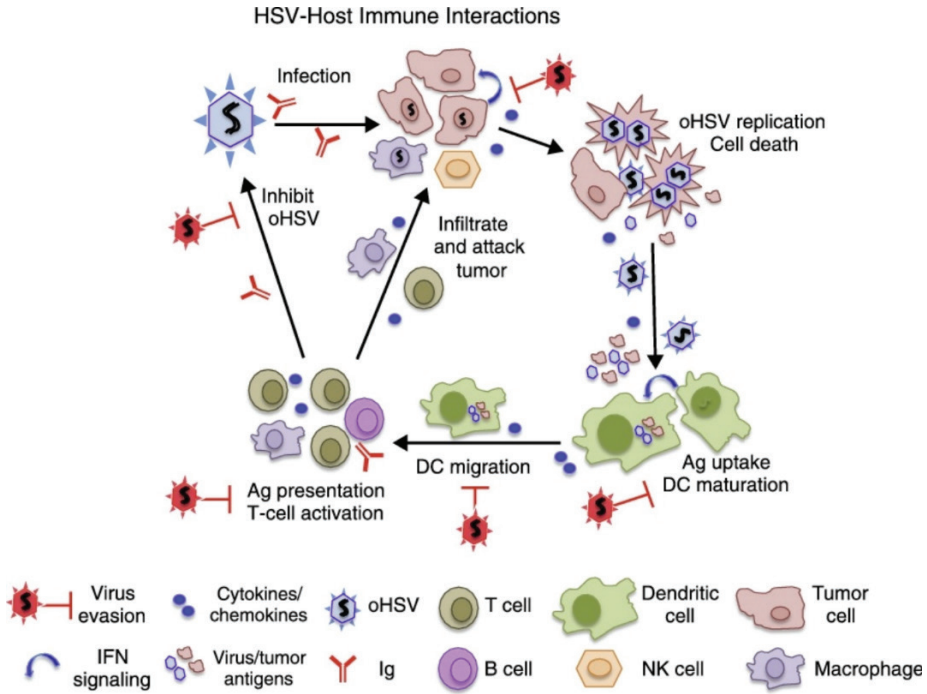
BoHV-1 seroprevalansı çevresel ve endojen faktörlere bağlı olarak %14-90 arasında değişkenlik gösterdiği rapor edilmiştir. Bu ajanla enfekte gebelerin %25-60’ında abort meydana geldiği bildirilmiştir. Enfeksiyonu atlatanların ise %40-60’ında hastalığın latent forma dönüştüğü kaydedilmiştir. Bu enfeksiyonda mortalitenin yaklaşık %3 ve morbiditenin ise yaklaşık %8 oranlarında olduğu ifade edilmiştir. İleri yaşlardaki hayvanlarda seropozitifliğin daha çok olduğu, ayrıca erkeklerde ise dişilere göre daha fazla seropozitifliğe rastlandığı belirtilmiştir. Enfeksiyonun bulaşmasında ağız, burun ve göz yaşı akıntıları, genital sekretler, sperma ve erkek eklenti sıvıları ile abort ve fetal materyaller etkili olmaktadır. Ayrıca koyun-keçiler ve fomitler de hastalığın yayılmasında rezervuar veya mekanik taşıyıcı olarak rol alırlar.^{7,11,13,14}

5. İmmun Yanıt

İlk enfeksiyonu takiben konak hücresinde 6-7 saat içerisinde virus ekspresyonu başlar. Virus üretiminden 3-4 saat sonra hücre yüzeyinde antijen sunumu meydana gelir. Bu olaylar bir dizi immunolojik olayları (sitokin fırtınası) başlatır. İmmun olmayan enfekte hücreler (mukoza epitel hücreleri) ve komşu hücreler tarafından virus replikasyonuna bağlı olarak bazı antimikrobiyal peptitler ve interferonların salınımı meydana gelir. Enfeksiyonu takiben yaklaşık 5 saat içinde interferon (IFN) üretimi başlar ve 36-72. saatlerde nazal sekrette ve kandaki interferon miktarı en yüksek seviyeye ulaşır. Virus replikasyonu bitene kadar interferon üretimi devam eder. Enfekte hücrelerdeki çeşitli patojen bileşenler ve bazı replikatif ara ürünler yangı hücrelerindeki PRR (Pattern Recognition Receptors- Kalıp tanıma reseptörleri) proteinlerince tanınır. Mikrobiyal patojenlerin tanınmasını sağlayan bu proteinler aynı zamanda interferon başta olmak üzere birçok antiviral bağışıklık tepkilerinin başlatılmasını ve sürdürülmesini sağlayan faktörlerin üretimine neden olurlar. Enfekte hücreler tarafından salgılanan interferon makrofajlar, polimorfnükleer lökositler, dentritik hücreler, doğal öldürücü hücreler (NK) ve lenfositlerin yangı bölgesine göçünü ve aktivasyonunu sağlarlar. Bu hücreler inflamatuvar yanıtı başlatmada, lökositlerin yangı bölgesine göçü ve aktivasyonları ile virüse spesifik yanıtı düzenlemeye araçsal olan bir “erken” sitokin dalgasını indüklerler.^{1,15,16}

Yangı bölgesindeki makrofajlar diğer antijen sunan bağışıklık hücreleri sitotoksik T lenfositlerin virusu tanınmasına yardımcı olurlar. Makro-

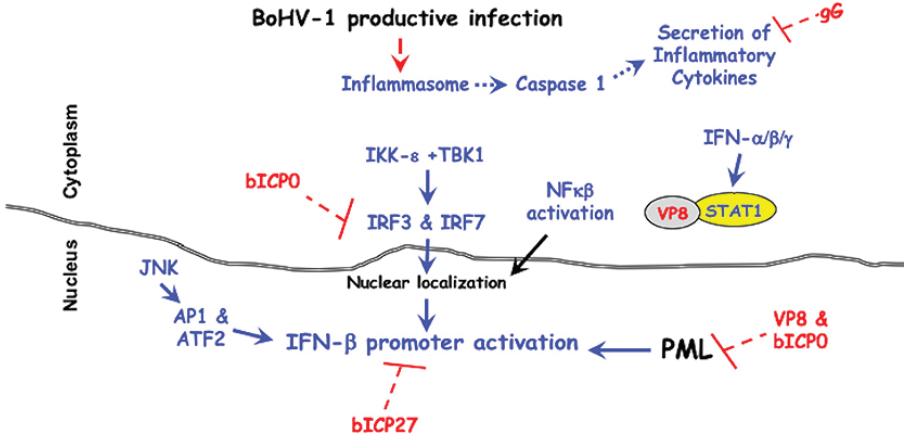
fajlar tarafından üretilen proinflamatuvar sitokinler (IL-1,TNF) polimorf-nükleer hücre göçünü sağlar. Bu hücreler tarafından üretilen ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1- hücre içi adhezyon molekülü-1, diğer adı CD54) damar geçirgenliğini arttırarak yangı hücre infiltrasyonuna yardımcı olur. Yangı bölgesindeki makrofajlar ve lenfositler IL-1 ve IL-6 salınımını uyarır. Bu sitokinler ise GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor) üretimini tetikler. Böylece makrofajların farklılaşması ve TNF gibi moleküllerin salgılanmaları uyarılır. İnterferon ile indüklenen T lenfositler IL-2 üretirler. IL-2 ise antijenle karşılaşan T lenfositlerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını sağlar. Enfekte hücreler ve yangı bölgesine ulaşan bağışıklık hücrelerince salınan sitokinler enfekte hücrelerin öldürülmesini hedefler. Enfekte hücrelerin öldürülmesi yaklaşık 7 saat sonra meydana gelir. Enfekte hücreler ile mücadelede antijenler için yüzey reseptörleri taşıyan B ve T lenfositler spesifik yanıt oluştururken; diğer yangı hücreleri non-spesifik immün yanıtı meydana getirir. Spesifik immün yanıtın oluşmasında viral glikoproteinlerin ekspresyonu gerekmektedir. Enfeksiyondaki çözülme ile antijene karşı nötralize edici antikorlar üretilir. B lenfositlerden farklılaşan plazmositlerden spesifik hümmoral bağışık enfeksiyonun 10. gününden itibaren şekillenmeye başlar. Antikorlar hücre dışı virusları temizleyerek enfeksiyonun hücre dışı yayılmasını önler ve antikora bağlı hücresel sitotoksositeye yardımcı olurlar. Antikorlar birincil enfeksiyonlara karşı etkili görünmese de ikincil enfeksiyonların ve enfeksiyonun yeniden aktivasyonunu önlemede kritik öneme sahiptirler (Şekil 3).^{7,15,17,18}



Şekil 3. *BoHV-1 ile aynı alt aileden olan herpes simplex virusun, virus konak ilişkisini gösteren şematik resim.*¹⁹

6. BoHV-1'in İmmün Yanıttan Kaçış Stratejileri

BoHV-1 diğer virüslerden farklı olarak organizmanın doğuştan gelen antiviral bağışıklık tepkilerine müdahale etme ve kaçınma yeteneğine sahiptir. Virus bağışıklık tepkilerinden zarar görmemek ve kaçınmak için birkaç immünolojik sisteme müdahale etmektedir. Bunlar; hücre aracılı bağışıklığı bozmak, çoklu mekanizmalarla interferon inhibisyonu, bazı kemokinlerin ve komplemenların inaktivasyonu, antijen sunumunu engelleme, mononükleer fagositler sistem (MSF) elemanları ve polimorfnükleer (PMN) lökositleri enfekte etme ve apoptoza uğratma; moleküler taklit yoluyla bağışıklıktan kaçınma; yapısal gen ekspresyonunun azalması ile latentlik kazanma (gizli enfeksiyon) şeklinde sıralanabilir. BoHV'ların immün sisteme bu şekilde müdahale etmelerinde bICP27, bICP0, UL49.5, gG ve VP8 gibi önemli birkaç proteini kodlamaları etkili olmaktadır (Şekil 4).^{20,21,22,23}



Şekil 4. BoHV-1, üretken enfeksiyonu teşvik eden immün sistemden kaçış mekanizmasının şematik gösterimi.¹⁶

BoHV-1'in sentezlediği bICP0 proteini viral promotörün transaktivasyonuna ve prodüktif enfeksiyonun sitümlasyonuna müdahale eder. Bunun ardından IRF3 (interferon düzenleyici faktör 3) protein seviyelerini azaltarak IFN-β promotör aktivitesini inhibe eder. Ayrıca BoHV-1 tarafından kodlanan bICP0 hücrede apoptoz, yaşlanma, stres, DNA hasarı ve hücresel siklus gibi önemli olaylarda rolü bulunan PML proteinlerini bozarak enfekte hücrelerin immün yanıtı uyarmasının önüne geçer. Sitokin salınımına manipülasyonda CD4+ T lenfositlerin apoptozu da etkili olur ve bu hücrelerin apoptozu ile antiviral bağışıklığı tetikleyen bazı önemli sitokinlerin salınımı engellenir.^{17,24}

BoHV-1 tarafından eksprese edilen bICP0 proteini viral promotörün transaktivasyonuna ve prodüktif virusun bICP0'dan başka kodladığı bICP27 proteinin de interferon ekspresyonuna müdahale eder. ICP27, tank bağlayıcı protein kinaz 1 (TBK1) tarafından interferon genlerinin uyarıcısının (STING) aktivasyonuna müdahale ederek IFN ekspresyonunu azaltır.¹⁶

BoHV-1 tarafından sentezlenen bir diğer protein olan ICP47'nin de MHC I proteinlerinin hücre yüzeyine taşınmasını bloke ederek, enfekte olmuş hücrelerde antijen sunumunu engellemekte böylece enfekte hücrelerin sitotoksik T lenfositlerce tanınmasının önüne geçmektedir. Bu olayın gerçekleşmesinde ICP47 proteininin antijenik peptitlerin endoplazmik retikulumla taşınmasını önleyerek, enfekte hücrelerin CD8+ T lenfositler tarafından tanınmasına müdahale etmektedir.^{15,22}

Virusa ait bazı glikoproteinlerde bağışıklık aktivitesine müdahale eder. Viral gG'ler kemokinlerin spesifik reseptörlerine ve glikozaminoglikanlara bağlanır. Böylece lökositlerin yangı bölgesine göçü engellenir. Bir

diğer glikoprotein gN (UL49.5) özelleşmiş bir taşıyıcı sistem olan taşıyıcı antijen işleme kompleksine müdahale eder. Sitozolik peptitlerin taşınmasında görev alan TAP kompleksindeki proteolitik bozunma ile MHC sınıf I antijen sunumu ve enfekte hücrelerin CD8+ T lenfositlerince tanınması önlenir.^{5,23}

Virionda en bol bulunan tegument proteini VP8, hücrenin patojene yanıtında birçok gen ifadesinde anahtar role sahip olan STAT1'in çekirdeğe girmesini engelleyerek interferonun sinyalleme aktivitesini bloke eder. Ayrıca VP8'in IF üretimini destekleyen ISRE promotörünü aşağı yönde regüle ederek antiviral tepkiyi baskılar. Güçlü bir interferon antagonisti olan VP8 antiviral tepkileri bozan ilk protein olarak kabul edilir.^{25,26}

BoHV-1'lerdeki gC, immunoglobulin süper ailesine aittir ve makrofajlar ve diğer lökositler tarafından eksprese edilen bir hücre yüzeyi glikoproteinini ile antijenik olarak ilişkilidir. Bu nedenle, moleküler taklit yoluyla belirli bağışıklık işlevlerinden kaçınabilir. gE ve gI'in herpesviruslarda bir Fc-reseptörü olarak işlev gören ve dolayısıyla antikorların normal hareketini önleyebilen bir kompleks oluşturduğu bilinmektedir.¹⁵

BoHV'ler polimorfnükleerden poliferon adındaki antiviral madde üretimini aşağı yönde regule ederek, bu hücrelerin kemotaktik ve fagositik kapasitelerini azaltma yeteneği de bulunmaktadır. Böylece polimorfnükleer lökositlerin BoHV enfeksiyonuna ilişkin yangılarda ekarte edilmesi sağlanır.²⁷

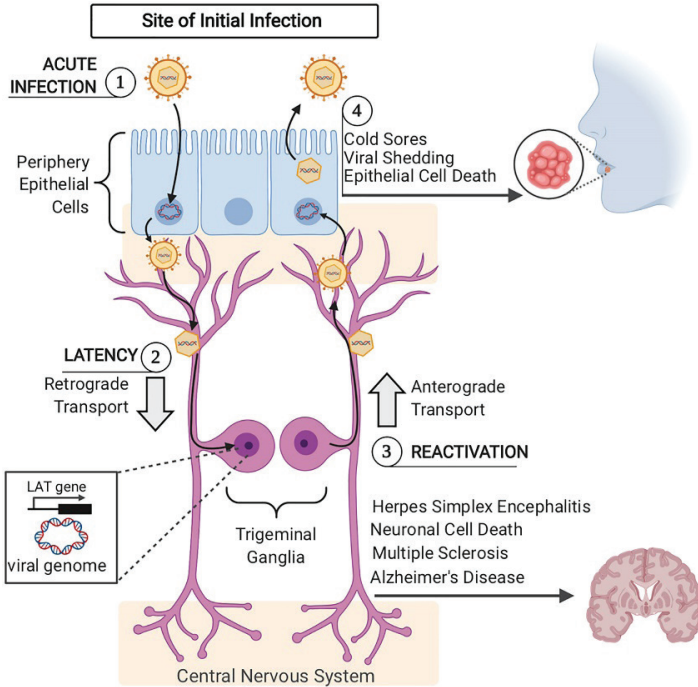
BoHV-1'lerin makrofaj, polimorfnükleer lökosit ve lenfositlerin işlevlerinde bozulmaya yol açarak ve hücrelerin yoğun viral enfeksiyon ile meşguliyetine bağlı olarak immün sistemi baskıladıkları bilinmektedir. Ayrıca IL-2 reseptörlerinde ve lökositlerin mitojenik sitümulasyonunda azalmaya neden olan bu viruslar immün sistemi baskırlarlar. BoHV-1'in enfekte olmuş hücrelerin yüzeyinde MHC sınıf I moleküllerinin ekspresyonunu düşürmesi immün yanıtıdan kaçınmanın en önemli stratejisidir.^{3,28}

7. BoHV-1'de Latentlik

Bu viruslar duyuşal nöronlar başta olmak üzere diğer sinir dokuları ve bazen tonsil gibi lenfoidler ile periferik kandaki lenfositlerde de latent kalabilirler. Virusların periferik sinire ulaşması hücre-hücre yayılımıyla olur. Enfeksiyon nazal, oral veya oküler dokulardan yayılım gösteriyorsa trigeminal ganglionlardaki duyuşal nöronlarda; IPV/IPB vakalarında ise sakral spinal ganglionlarda latentliğin olması muhtemeldir. Enfeksiyon başlangıcının 2-6. günlerinde trigeminal ganglionlarda viral partiküllere rastlanabilir.^{1,29}

Enfeksiyon solunum ve genital dokulardaki etkisi azaldığında litik gen ekspresyonu azalır ve nöronlara latentlikle (LR) ile ilgili gen bölge-

sinin (LAT gen) ifadesi yönünde artışı gerçekleşir (Şekil 5). Latent olarak enfekte olmuş nöronlarda, sadece gecikme ile ilgili transkripti (LRT) içeren BoHV-1 bölgesi eksprese edilir ve bu da litik virus döngüsünün inhibisyonuna ve bir anti apoptotik durumun indüklenmesine yol açar. BoHV-1'in LR gen ürünleri litik karakterli bICP0 ekspresyonunu ve konak hücre apoptozunu inhibe eder. LR geni, tüm viral promotörler için bir transaktivatör olan bICP0'a karşı antisensitir. Gecikme ile ilgili RNA (LR-RNA), gecikme sırasında bol miktarda eksprese edilir. LR-RNA, protein sentezleme özelliğinde bir DNA dizisi olan ORF2 ve bazı latent olarak enfekte olmuş nöronlarda eksprese edilen iki mikroRNA'yı kodlar. Anti apoptoz işlevlerine sahip olan ORF2 viral transkripsiyonu ve üretken enfeksiyonu uyaran belirli hücresel transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girer. ORF2'nin apoptozu inhibe ederek ve üretken enfeksiyonu uyaran hücresel transkripsiyon faktörlerini ayırarak enfekte olmuş nöronların hayatta kalmasını desteklediği tahmin edilmektedir. Ek olarak, LR kodlu mikroRNA'lar viral transkripsiyonu ve apoptozu inhibe eder. Bu esnada latent olarak enfekte olmuş nöronlarda virusun tespiti oldukça güçleşir. Latent enfeksiyonların tekrar reaktivasyonunda dekzamatazon tedavisi, stres, nakil, PI3 süperenfeksiyonu ve doğum gibi çeşitli stres faktörleri rol almaktadır. Strese bağlı kortikosteroid artışı hem viral gen ekspresyonunu ve replikasyonunu uyarmakta hem de antiviral bağışıklık tepkilerini bozarak virusun yayılmasına yol açmaktadır.^{30,31,32}



Şekil 5. Akut ve Latent herpes virus enfeksiyonunun şematik gösterimi.³³

8. Patogenez

Etken vücuda nazofarinks, orofarinks, konjunktiva ve genital mukozadan girmektedir. Virus, ilk olarak hücre yüzeyindeki heparin benzeri yapılara glikoprotein B ve C ile düşük bir affiniteyle bağlanır. Daha sonra virusun gD bölgesi ile hücresel reseptör nectin-1 ile yüksek ve kararlı olarak bağlanır. Bu aşamada virion zarfı hücre zarı ile birleşir ve kapsid ile tegumentin sitoplazmaya girmesi sağlanır. En sonunda viral zarfdaki gB, gD, gH ve gI bölgeleri hücre ile tam bir füzyon gerçekleştirir. Konakçı hücreye girdikten sonra virion çekirdeğe doğru hareket etmeye başlar. Virion çekirdeğe doğru taşınırken, kapsidi çevreleyen tegument proteinleri sitoplazmaya dökülür. Bu tegument proteinleri konak hücre sinyalizasyonunu bloke ederek, virusa karşı savunmayı devre dışı bırakır. BoHV-1 virus partikülleri, bir hücrenin sitozolüne girdikten sonra viral DNA salınımına izin vermek için mikrotübüllerle bağlantılı dynein motor kompleksini kullanılarak çekirdek gözeneklerine (por) doğru taşınır. Bu taşınmada tegument proteinlerinin rolü olduğu düşünülmektedir. Lineer viral genom nükleer membrana ulaştığı anda erken genlerin ekspresyonu uyarılır. Linear viral genomun konak çekirdeğindeki erken genlerin ekspresyonu viral DNA replikasyonunu tetikler.^{7,16,18}

Alfaherpesvirus'ların olgunlaşması üç aşamayla gerçekleşir. Öncelikle primer zarf sentezlenir, primer zarf iç nükleer membran boyunca nükleokapsidlerin tomurcuklanmasıyla oluşur. Daha sonra primer viral zarfın dış nükleer membranla füzyonu ve kapsidin sitoplazmaya translokasyonu gerçekleşir. Çekirdekten kapsitlerin çıkmasının, kapsidlerin sitoplazmaya doğrudan erişimiyle sonuçlanan nükleer gözeneklerin genişlemesi şeklinde olduğu düşünülmektedir. Çıplak kapsid sitoplazmayı geçtikten sonra olgun tegument proteinlerini kazanır ve trans golgi bölmelerine tomurcuklanarak sekonder zarf üretilir.^{9,34}

Enfeksiyon esnasında BoHV-1 replikasyonu üç farklı aşamada meydana gelir. Bunlar; hemen erken (Immediately early; IE), erken (Early; E) ve geç (Late; L) gen ekspresyonlarıdır. IE gen ekspresyonu bir tegument proteini olan VP16 tarafından uyarılır. IE gen ekspresyonunda iki transkripsiyon birimi mevcuttur. Bunlar IETu1 (IE transcription unit) ve IETu2'dir. IETu1 iki transkripsiyonel düzenleyici olan bICP0 ve bICP4'ü kodlar. bICP0 viral promotörleri ve enfeksiyonu uyarmaktadır. Ayrıca bICP0, E gen ekspresyonlarının etkinleşmesini sağlamaktadır. bICP4 ise IETu1 promotörünü düzenlemektedir. IETu2, BICP22'yi kodlar. IE'nin üç ana proteinleri (BICP0, BICP4 ve BICP22) E geni ekspresyonunu aktive eder ve bunu viral DNA replikasyonu izler. E gen ekspresyonu DNA sentezini destekleyen proteinleri kodlar. Erken gen proteinleri DNA polimeraz, dUTPaz, orjin bağlayıcı proteinler ve ribonükleotid redüktazın alt birimlerinden oluşmaktadır. E proteinleri genel olarak yapısal değildir. L gen ekspresyonları iki sınıfa ayrılır. Bunlar Gam-

ma-1 ve Gamma-2 genleridir. Genel olarak bu genler yapısal proteinlerin kodlanması, virion birleşmesi ve salıverilmesinde rol alırlar.^{7,17,35}

BoHV-1 enfeksiyonunda etken hedef epitel hücrelerine nüfuz ettikten sonra litik replikasyon döngüsü başlar. Böylece hem yeni nesil virusların üretimi gerçekleşir hem de konak hücre ölümü meydana gelir. Konak hücre yaşamının sonlanması nekroz veya apoptoz şeklinde oluşur. Enfekte hücrenin nekroza uğramasında hücresel protein sentezinin aksaması sorumlu tutulur. Virusun tegument proteinlerinden biri olan ve UL41 geni tarafından kodlanan “virion konakçı kapatma” proteini konak hücrede protein sentezinin durmasına yol açar ve hücre nekroze olur. Nekroz öncesi protein sentezindeki bozukluk nihai membranda fonksiyon kaybına ve hücrede balonumsu dejenerasyonların oluşmasına yol açar. Balonumsu dejenerasyonların şekillendiği hücrelerde intranükleer inluzyon cisimciklerinin oluşması muhtemeldir. Nekroz dışında BoHV-1 ile enfekte hücreler apoptoza uğrayabilir. Virus tarafından erken dönemde kodlanan BICP0 proteini kaspazların ve p53’ün aktivasyonunu artırarak apoptozu uyarır. Ayrıca BoHV-1’deki bazı glikoproteinlerin konak hücrede Bcl-2’yi aşağı ve Bax ekspresyonunu ise yukarı yönde regüle ettiği, böylece sitokrom c salınımının arttırdığı ve ardından kaspaz-9 aktivasyonu ile konak hücrenin apoptotoza sürüklendiği bilinmektedir.^{15,17,36}

Enfekte konak hücrelerinde replikasyon savunma sistemini harekete geçirir. Bölgeye göç eden yeni hücreleri de virus ile enfekte olur. Virusun yayılması hücre-hücre yoluyla olmaktadır. Ancak virusun sistemik yayılımı lenfosit ilişkili lenf düğümleri ve lenf damarlarının invazyonu sonrası viremi şeklinde olmaktadır. Viremi sonrası affinite duyduğu bölgelerde enfeksiyon sürecini sürdüren etken iyileşme evresinde çevre sinir dokular ve kısmen lenfoidlerde latent hale geçmektedir.^{1,32}

9. Klinik Bulgular

BoHV-1 genel olarak solunum ve genital sistem enfeksiyonları oluşur. Bunlar dışında keratokonjunktivit, meningoensefalit ve abort yaptığı da bildirilmektedir.^{2,11}

Hastalığın solunum formu yani IBR’de; subklinik, hafif veya şiddetli bir hastalık olarak ortaya çıkar. Hafif vakalarda klinik belirtiler nazal ve oküler seröz akıntı ile sınırlı olabilir. Klasik IBR, ateş (40.5-42 °C), iştahsızlık, solunum hızında artış, nefes darlığı, inatçı sert öksürük, depresyon ve sağılan ineklerde süt üretiminde ciddi düşüş ile karakterizedir. Başlangıçta seröz ve daha sonra mukopürülan olan bilateral burun akıntısı vardır. Nazal mukoza başta sadece hiperemiktir, ilerleyen süreçte lezyonlar püstüller nekrozdan krem renkli difteritik membranla (fibrino-nekrotik) kaplı geniş hemorajik ve ülseratif bir karaktere dönüşebilir. Kabuklanmalar kaldırıldığında alttaki dokunun hiperemik olması nedeniyle bu hastalığa

‘kırmızı burun’ adı da verilmiştir. Ağız kokusu, ağızdan soluma, tükürük salgısı ve derin bronşiyal öksürük yaygın gözlenen klinik semptomlardandır. Hayvanlar ayrıca bronşit ve pnömoni belirtileri gösterebilir. Akut komplike olmayan vakalar 5-10 gün süre zarfında iyileşir. Ancak önemli bir süre boyunca taşıyıcı olarak virüsü etrafa yayarlar. Etkilenen hayvanlarda yaklaşık %10 verim kaybı söz konusudur.^{5,10,37}

Hastalığın dişilerdeki genital formunda akut infeksiyöz pustuler vulvovajinitis (IPV) meydana gelir. IPV, genellikle çiftleşmeden 1-3 gün sonra gelişir ve sık işeme ile kuyruk hisirtisi başlangıçta fark edilen karakteristik belirtilerdir. Etkilenen hayvanlarda ateş, depresyon ve iştahsızlık gelişir, kuyruğun vulva ile temasından kaçınmaya çalışırlar. Vulva ödemli, hipere-mik ve küçük püstüllerle (1-2 mm çapında) kaplı bir durumdadır. Püstüller genellikle birleşerek sarımsı beyaz fibröz zarlar oluştururlar ve bu zarlar yavaş yavaş ayrılarak yerlerinde ülser meydana gelir. Erkeklerde ise penis ve prepiyum mukozasında IPV’ye benzer lezyonlar ile epididimitis gelişir. BoHV-1 ile kontamine olmuş semen, IPV’ye, şiddetli mukopürülan servisitis ve ineklerde endometritise neden olabilir.^{5,38}

BoHV-1, sığırlarda önemli bir abort etkenidir. Virus, fötusta ölümcül enfeksiyon oluşturmak için maternal-fötal bariyeri geçer, fetal karaciğerde lezyon oluşturur ve bu organ üzerinde sürekli olarak etken varlığının olması hematojen yayılımın büyük olasılıkla göbek veni yoluyla olduğunu düşündürmektedir. Abortlar genellikle doğal enfeksiyon veya aşılardan sonra 4-7 aylık gebelikler arasında meydana gelir. Kotiledonlarda boz-be-yaz renkte nekrotik odaklar bulunur.^{1,39}

BoHV-1 enfeksiyonuna ilişkin sığırlarda, tek taraflı veya iki taraflı ve bol gözyaşı karakterize keratokonjonktivit görülmesi olasıdır. Bu durumda olan hayvanlarda fotofobi vardır. Ayrıca bu hayvanlarda epifora en karakteristik semptomdur.⁵

Virusun trigeminal sinirler yoluyla burun mukozasından beyin dokularına girmesiyle meningo-ensefalitis yani sinirsel forum meydana gelir. Etkilenen sığırlarda başlangıçta ataksi kendini gösterir. Sonrasında depresyon ve ardından aşırı koşma, titreme, bisiklete binme, tökezleme gibi hipersentif davranışlar ortaya çıkar. Son olarak düşmüş pozisyonda bacak, boyun ve bel kaslarında klonik spazmlar gelişir ve opistotonus gözlenebilir. Koma ve ölüm genellikle nörolojik bozuklukların başlangıcından itibaren 4 gün içinde meydana gelir.^{2,7,40}

10. Makroskobik Bulgular

Hastalığın solunum formunda (IBR) üst solunum yollarında (burun ve konha) mukoza hiperemik ve ödemli olup, üzerinde seromüköz eksudat bulunur. Enfeksiyon çoğunlukla alt solunum traktüsü etkilemez. Ancak

bazı durumlarda akciğerlerde kırmızı hepatize alanlara ve yer yer atalektazilere rastlanabilir. Sekonder bakteriyel enfeksiyonların olaya karıştığı durumlarda kataral-irinli bronkopnömoniye ilişkin bulgular gözlenir. IPV'de submukozanın lenfositik folikülleri üzerinde fokal kanamalarla birlikte vulva ve vajina mukozasının hiperemik olduğu görülür. Vulva ve vaginada ödemle beraber mukopurulent eksudasyon izlenir. Mukozada küçük (2-3 mm) sarı renkli pock benzeri lezyonlar ve lenfoid foliküller üzerindeki fokal kanamalar vardır. BoHV-1'in neden olduğu ensefalit ile ilgili hiperemi ve hafif ödem dışında pek bir makroskobik bulguya rastlanmaz. Neonatal buzağılarda solunum yolları, dalak, karaciğer, böbrek, lenf düğümleri, özefagus ve ön midelerde fokal nekroz odaklarına rastlanır.^{1,41,42}

11. Mikroskobik Bulgular

Mukozada hiperemi, ödem ve az sayıda nötrofil lökosit infiltrasyonu vardır. Submukozada ise makrofaj ve lenfoplazmositer ağırlıklı mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenir. Enfekte mukoza epitel hücrelerinde Cowdry tip A olarak isimlendirilen intranükleer inklüzyon cisimcikleri saptanabilir. Bu inklüzyon cisimcikleri enfeksiyonun ilk birkaç gününde epitel hücrelerinde belirginleşir. IPV'de küçük (2-3 mm) sarı renkli pock benzeri lezyonlarda epitel kaybı (erozyon) ve ülserlerle karakterize alteratif bir yangı mevcuttur. Enfekte epitel hücrelerinde balonumsu dejenerasyonlar şekillenir ve yine bu hücrelerde de Cowdry tip A intranükleer inklüzyon cisimcikleri gözlenebilir. Lamina propriada az sayıda nötrofil lökosit ve çok sayıda lenfosit, plazma hücre infiltrasyonu vardır. Aborte fetüsün etkilenen organlarında hafif vasküler değişikliklere ve yaygın nekroz odaklarına rastlanır. Beyin, böbrek, adrenal korteks ve lenf düğümlerinde hemorajiler vardır. Astrositler ve nöronlar başta olmak üzere lezyonların şekillendiği birçok hücrede intranükleer inklüzyon cisimciklerine rastlanır. Ayrıca serebrumda perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu (cuffing cell) gözlenir. Nöronların çevresinde şiddetli vakuolasyon ve beraberinde serebral kortekste yaygın dejenerasyonlar gözlenir.^{41,43,44,45}

12. Tanı

Virus nazal, konjonktival ve vajinal sürüntülerden, prepisyal yıkama, aborte olmuş fötusun plasental kotiledonları, fetal karaciğer, akciğer, dalak, böbrek, lenf nodu, solunum yollarının mukoza zarı, lenf yumruları ve akciğerlerden izole edilebilir. Virus genomu PCR ile saptanabilir. Hibridizasyon ve sekanslama yoluyla genomik DNA nükleik asit bazlı testler temelinde teşhis edilir. Bu şekilde doğrudan antijenin belirlenmesinin yanı sıra vücutta antijene karşı oluşan antikor teşhisi esasına dayanan serolojik testlerle de enfeksiyon tanısı konulabilir.^{11,13,37}

PCR analizi, virus izolasyonundan daha hassastır ve virusun hızlı tespiti için pratik bir alternatif yöntemdir. Ancak latentlikte virusun genomu-

nu gangliyonlara göndermesinden kaynaklı PCR’da negatif sonuçlar elde edilebilmektedir.⁴¹

13. Türkiye’deki Durum

Türkiye’de serolojik ve virolojik araştırmalar, farklı klinik belirtilere sahip sığırlarda BoHV-1’in yaygınlığını göstermektedir.^{46,47,48} Ancak BoHV-1’in moleküler tespiti ile ilgili az sayıda çalışma vardır. Türkiye’de BoHV-1 suşlarını genetik veya antijenik olarak karakterize etmeye yönelik çalışmalar bulunmaktadır.^{49,50,51,52} Ayrıca patolojik olarak etkenin irdelendiği ve teşhis anlamında metot karşılaştırmalarının yapıldığı sınırlı çalışmalar bulunmaktadır.⁴¹ Bu çalışmalarda genel kanı pnömoni olgularında etkenin tespiti ve etiyolojik ajanın belirlenmesi şeklindedir. Ancak immun sistemden kaçış ve konak vücudunda bağışıklık ilişkisi çalışmalara ülkemizde rastlanmamıştır. Ülkemizde bu çalışmaların artırılmasının gerekliliği ortaya çıkmıştır.

14. Sonuç

BoHV-1 sığırlarda önemli sağlık sorunlarına neden olan enfeksiyöz bir ajandır. Bu viral antijenin kendine özgü bir takım immün yanıtta kaçınma mekanizmalarının bulunması ve özellikle latentlik göstermesi sebebiyle söz konusu bu hastalıkla mücadele sanıldığı kadar kolay olmamaktadır. Solunum ve genital sistem başta olmak üzere diğer organ ve dokularda da enfeksiyon oluşturan ve ayrıca sekonder enfeksiyonların oluşumuna predispozisyon sağlayan bu virus, konak hayvanlarda ciddi verim kayıplarına yol açmaktadır. Bu verim kayıplarının önüne geçmek ve hayvan refahının sağlanması amacıyla virusun antijenik karakterinin tam anlamıyla ortaya konulması esastır. Bu araştırma ile BoHV-1 hakkında genel bir bilgi verilmiş ve immün yanıtı karşı sahip olduğu bazı önemli stratejik özellikler derlenmiştir. Böylece bu enfeksiyöz hastalık etkeni üzerinde bir farkındalık uyandırmanın yanı sıra konu ile ilgili araştırmacılara literatür desteği sağlanmıştır.

Kaynaklar

1. Nandi, S., Kumar, M., Manohar, M., & Chauhan, R. S. (2009). Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 10(1), 85-98.
2. Muylkens, B., Thiry, J., Kirten, P., Schynts, F., & Thiry, E. (2007). Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Veterinary research*, 38(2), 181-209.
3. Aslim, H. P., & Bulut, O. (2020). Bovine Herpesvirus-1 (BOHV-1) ve Subtiple-ri. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 9(2), 133-147.
4. Kaur, G., & Chandra, M. (2016). Herpesvirus in bovines: Importance of bovine herpesvirus type 1. In *Herpesviridae*. IntechOpen. p.220-235.
5. Jones, C., & Chowdhury, S. (2010). Bovine herpesvirus type 1 (BOHV-1) is an important cofactor in the bovine respiratory disease complex. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26(2), 303-321.
6. <https://ictv.global/taxonomy>.
7. Zajac, M. P. D. M., Ladelfa, M. F., Kotsias, F., Muylkens, B., Thiry, J., Thiry, E., & Romera, S. A. (2010). Biology of bovine herpesvirus 5. *The Veterinary Journal*, 184(2), 138-145.
8. Thiry, J., Widén, F., Grégoire, F., Linden, A., Belák, S., & Thiry, E. (2007). Isolation and characterisation of a ruminant alphaherpesvirus closely related to bovine herpesvirus 1 in a free-ranging red deer. *BMC veterinary research*, 3(1), 1-11.
9. Dummer, L. A., & Leite, F. P. L. (2014). Bovine herpesvirus glycoprotein D: a review of its structural characteristics and applications in vaccinology. *Veterinary Research*, 45(1).
10. Thiry, J., Keuser, V., Muylkens, B., Meurens, F., Gogev, S., Vanderplasschen, A., & Thiry, E. (2006). Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Veterinary research*, 37(2), 169-190.
11. Biswas, S., Bandyopadhyay, S., Dimri, U., & H. Patra, P. (2013). Bovine herpesvirus-1 (BoHV-1)—a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis, and prophylaxis. *Veterinary Quarterly*, 33(2), 68-81.
12. Graham, D. A. (2013). Bovine herpes virus-1 (BoHV-1) in cattle—a review with emphasis on reproductive impacts and the emergence of infection in Ireland and the United Kingdom. *Irish veterinary journal*, 66(1), 1-12.
13. Raaperi, K., Orro, T., & Viltrop, A. (2014). Epidemiology and control of bovine herpesvirus 1 infection in Europe. *The Veterinary Journal*, 201(3), 249-256.
14. Taylor, J. D., Fulton, R. W., Lehenbauer, T. W., Step, D. L., & Confer, A. W. (2010). The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors?. *The Canadian Veterinary Journal*, 51(10), 1095.
15. Levings, R. L., & Roth, J. A. (2013). Immunity to bovine herpesvirus 1: II. Adaptive immunity and vaccinology. *Animal health research re-*

views, 14(1), 103-123.

16. Jones, C. (2019). Bovine herpesvirus 1 counteracts immune responses and immune-surveillance to enhance pathogenesis and virus transmission. *Frontiers in Immunology*, 10, 1008.
17. Jones, C., & Chowdhury, S. (2007). A review of the biology of bovine herpesvirus type 1 (BOHV-1), its role as a cofactor in the bovine respiratory disease complex and development of improved vaccines. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 187-205.
18. Panciera, R. J., & Confer, A. W. (2010). Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 26(2), 191-214.
19. Saha, D., Wakimoto, H., & Rabkin, S. D. (2016). Oncolytic herpes simplex virus interactions with the host immune system. *Current opinion in virology*, 21, 26-34.
20. Van der Meulen, K. M., Favoreel, H. W., Pensaert, M. B., & Nauwynck, H. J. (2006). Immune escape of equine herpesvirus 1 and other herpesviruses of veterinary importance. *Veterinary immunology and immunopathology*, 111(1-2), 31-40.
21. Stempel, M., Chan, B., & Brinkmann, M. M. (2019). Coevolution pays off: Herpesviruses have the license to escape the DNA sensing pathway. *Medical Microbiology and Immunology*, 208(3), 495-512.
22. Griffin, B. D., Verweij, M. C., & Wiertz, E. J. (2010). Herpesviruses and immunity: the art of evasion. *Veterinary microbiology*, 143(1), 89-100.
23. Srikumaran, S., Kelling, C. L., & Ambagala, A. (2007). Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. *Animal health research reviews*, 8(2), 215-229.
24. Jones, C. (2009). Regulation of innate immune responses by bovine herpesvirus 1 and infected cell protein 0 (bICP0). *Viruses*, 1(2), 255-275.
25. Afroz, S., Brownlie, R., Fodje, M., & van Drunen Littel-van den Hurk, S. (2016). VP8, the major tegument protein of Bovine Herpesvirus 1, interacts with cellular STAT1 and inhibits interferon beta signaling. *Journal of virology*, 90(10), 4889-4904.
26. Afroz, S., Garg, R., Fodje, M., & van Drunen Littel-van den Hurk, S. (2018). The major tegument protein of Bovine Herpesvirus 1, VP8, interacts with DNA damage response proteins and induces apoptosis. *Journal of Virology*, 92(15), e00773-18.
27. Bielefeldt-Ohmann, H. (2020). Role of cytokines in the pathogenesis and treatment of respiratory disease. In *Cytokines in animal health and disease* CRC Press. p.291-332
28. Meier-Trummer, C. S., Rehrauer, H., Franchini, M., Patrignani, A., Wagner, U., & Ackermann, M. (2009). Malignant catarrhal fever of cattle is associated with low abundance of IL-2 transcript and a predominantly latent profile of ovine herpesvirus 2 gene expression. *Plos one*, 4(7), e6265.
29. Jones, C., Geiser, V., Henderson, G., Jiang, Y., Meyer, F., Perez, S., & Zhang, Y. (2006). Functional analysis of bovine herpesvirus 1 (BOHV-1) genes

- expressed during latency. *Veterinary Microbiology*, 113(3-4), 199-210.
30. Silvestro, C., & Bratanich, A. (2016). The latency related gene of bovine herpesvirus types 1 and 5 and its modulation of cellular processes. *Archives of virology*, 161(12), 3299-3308.
 31. Sinani, D., Liu, Y., & Jones, C. (2014). Analysis of a bovine herpesvirus 1 protein encoded by an alternatively spliced latency related (LR) RNA that is abundantly expressed in latently infected neurons. *Virology*, 464, 244-252.
 32. Farooq, S., Kumar, A., Chaudhary, S., Batra, K., & Maan, S. (2019). Bovine herpesvirus 1 (BoHV-1): A review on latency and persistence of infection in cattle. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(6), 875-879.
 33. Verzosa, A. L., McGeever, L. A., Bhark, S. J., Delgado, T., Salazar, N., & Sanchez, E. L. (2021). Herpes simplex virus 1 infection of neuronal and non-neuronal cells elicits specific innate immune responses and immune evasion mechanisms. *Frontiers in Immunology*, 12, 644664.
 34. Ellis, J. A. (2009). Update on viral pathogenesis in BRD. *Animal Health Research Reviews*, 10(2), 149-153.
 35. Riaz, A., Murtaz-ul-Hasan, K., & Akhtar, N. (2017). Recent understanding of the classification and life cycle of herpesviruses: A review. *Sci. Lett*, 5, 195-207.
 36. Ackermann, M. (2006). Pathogenesis of gammaherpesvirus infections. *Veterinary microbiology*, 113(3-4), 211-222.
 37. Chatterjee, S., Bakshi, S., Sarkar, N., Mitra, J., & Chowdhury, S. (2016). Bovine herpes virus-1 and its infection in India-a review. *Indian J Anim*, 1(55), 21-40.
 38. Hostnik, P., Černe, D., Mrkun, J., Starič, J., & Toplak, I. (2021). Review of infections with bovine herpesvirus 1 in Slovenia. *Frontiers in veterinary science*, 8, 728.
 39. Chastant-Maillard, S. (2015). Impact of Bovine Herpesvirus 4 (BoHV-4) on Reproduction. *Transboundary and emerging diseases*, 62(3), 245-251.
 40. Marin, M. S., Leunda, M. R., Verna, A. E., Morán, P. E., Odeón, A. C., & Pérez, S. E. (2016). Distribution of bovine herpesvirus type 1 in the nervous system of experimentally infected calves. *The Veterinary Journal*, 209, 82-86.
 41. Comakli, S., SAĞLAM, Y. S., & TİMURKAN, M. Ö. (2019). Comparative detection of bovine herpesvirus-1 using antigen ELISA, immunohistochemistry and immunofluorescence methods in cattle with pneumonia. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 43(3), 306-313.
 42. Richman, L. K., Montali, R. J., Cambre, R. C., Schmitt, D., Hardy, D., Hildbrandt, T., ... & Hayward, G. S. (2000). Clinical and pathological findings of a newly recognized disease of elephants caused by endotheliotropic herpesviruses. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(1), 1-12.
 43. Ruby, R. E., Sokol, S., & Duhamel, G. E. (2019). Pathology in Practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 255(5), 543-545.
 44. Burnside, W. M., Sharpe, S. J., Gaudy, J. D., Miller, A. D., & Lamm, C. G.

- (2014). Pathology in Practice. Journal of the American Veterinary Medical Association, 244(6), 661-663.
45. Silva, M. S., Brum, M. C. S., Loreto, E. L. S., Weiblen, R., & Flores, E. F. (2007). Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovine herpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. *Virus research*, 129(2), 191-199.
 46. Alkan, F., Burgu, I., Bilge-Dagalp, S., Yildirim, Y., Gencay, A., Gungor, B., Ataseven, V.S. & Akça, Y. (2005). The seroprevalence of BOHV-1 infection on selected dairy cattle herds in Turkey. *Rev. Med. Vet*, 156(3), 166-169.
 47. Özgünlük, İ., & Yıldırım, Y. (2017). Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki Sığırlarda Bovine Herpes Virus 1 (BOHV 1) ve Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Enfeksiyonlarının Serolojik Olarak Araştırılması. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(2), 152-157.
 48. Yildirim, Y., Yilmaz, V., KALAYCIOĞLU, A. T., BİLGE DAĞALP, S. E. V. A. L., MAJARASHIN, A. R. F., ÇELEBİ, Ö., & AKÇA, D. (2011). An investigation of a possible involvement of BVDV, BOHV-1 and BOHV-4 infections in abortion of dairy cattle in Kars district of Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(6), 879-883.
 49. Aslan, M. E., Azkur, A. K., & Gazyagci, S. (2015). Epidemiology and genetic characterization of BVDV, BOHV-1, BOHV-4, BOHV-5 and Brucella spp. infections in cattle in Turkey. *Journal of Veterinary Medical Science*, 14-0657.
 50. Yavru, S., Avcı, O., & Kale, M. (2014). Serologic and virologic investigation of BOHV-1, BVDV and BOHV-4 in cattle with metritis. *Anim Vet Sci*, 2(5), 142-145.
 51. Dagalp, S. B., Farzani, T. A., Dogan, F., Alkan, F., & Ozkul, A. (2020). Molecular and antigenic characterization of bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) strains from cattle with diverse clinical cases in Turkey. *Tropical animal health and production*, 52(2), 555-564.
 52. Bulut, O., & Yavru, S. (2004). Boğalarda brovine herpesvirus TİP-1 (BHV-1) enfeksiyonunun enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), Polymerase chain reaction (PCR) ve virus izolasyonu (VI) metotları ile karşılaştırılması teşhisi ve seroepidemiolojisi. *Veteriner Bilimleri Dergisi. Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 20(4), 61-70.

“

Bölüm 13

ADLİ RADYOLOJİ VE GELECEĞİ

*Toygün Anıl ÖZESEN¹,
Duygu ÖZGÜL ÖZESEN²,
Kenan KAYA³*

”

1 Uzm.Dr. Adli Tıp Kurumu, Adana Grup Başkanlığı, Adana, Türkiye / 0000-0001-9116-5844

2 Arş.Gör.Dr. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye / 0000-0003-4207-3366

3 Doç.Dr. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Adana, Türkiye / 0000-0002-4157-2262

Giriş

Radyolojik görüntüleme tekniklerinin ilerleyen teknolojiyle birlikte gelişimi sonucunda medikolegal iş akışıyla da entegre hale gelmiş, bununla birlikte adli tıp ile ilgili kurumların BT (Bilgisayarlı Tomografi), MRG (Manyetik Rezonans Görüntüleme) gibi görüntüleme araçlarını satın alarak rutin bir şekilde kullanıma girdiği görülmektedir. Görüntüleme yöntemlerinin adli tıp alanında kullanımı her ne kadar çok eski zamanlara uzansa da gelişmiş tekniklerin rutin kullanıma girmesinin oldukça yeni olduğu görülmektedir.

Adli Radyoloji Tarihçesi

Tanısal olarak radyolojik tekniklerin kullanımı adli bilimlerden tarafından oldukça hızlı bir şekilde benimsenmiştir. 1895'te röntgen keşfi sonrası birkaç yıl içerisinde, bir cinayete teşebbüs olgusunun bacasında kalan bir mermi çekirdeğinin görselleştirilerek mahkemeye kanıt olarak sunulması amacıyla kullanıldığı görülmektedir (Brogdon & Lichtenstein, 2010a). Daha sonrasında hastalık ve yaralanmaların kanıtlanması, posta ve bagajlardaki bombaların, kaçak malların tespit edilmesi, kimliği bilinmeyen cesetlerin kimlik tespiti için radyografiler kullanılmıştır (Brogdon & Lichtenstein, 2010b). 1970'lerin sonlarında Wüllenweber ve arkadaşları tarafından ateşli silah yaralanmalarının tespitinde BT tetkikinin kullanılabileceğinin gösterilmesi sonrasında Radyolojinin adli yönden potansiyeli değerlendirilmeye başlanmıştır (Wüllenweber, Schneider, & Grumme, 1977). 2000'li yılların başlarında ise Prof. Dirnhofer ve Prof. Vock, 3 boyutlu fotogrametri ve yüzey taramaları ile modern adli görüntüleme teknikleri ile belgeme amacıyla İsviçre'de "virtopsi" projesini başlatmıştır (Baglivo et al., 2013; Thali, Braun, Brüscheweiler, & Dirnhofer, 2000; Thali et al., 2003). 2001 yılında İsviçre'de Alman Tıp Hukuku Kongresinde Virtopsi projesinin ilk sonuçları sunulmuş olup, 2002 yılında Bisset ve arkadaşları İngiltere'de postmortem MR görüntüleme sonuçlarını sundular ve Thali ve arkadaşları tarafından "Sanal Otopsi" ifadesi ortaya çıkmıştır (Bisset, Thomas, Turnbull, & Lee, 2002; Thali et al., 2002). Günümüzde adli radyoloji alanının gelişmesi nedeniyle, adli radyolojinin bir alt uzmanlık haline gelmesi gerektiği konusunda düşünceler mevcuttur (O'Donnell & Woodford, 2008).

Kullanım Alanları

Radyolojinin, Adli Tıp içerisinde kullanım alanlarına bakacak olursak, çeşitli kemiklerin çeşitli yöntemlerle incelenmesi ile yaş tespiti, canlı veya ölü muayenelerinde travmalara neden olan cisimlerin vücutta meydana getirdiği yaralanmanın, vücut içerisinde kanıt niteliği taşıyacak saçma, mermi çekirdeği vb. materyallerin tespiti, kişide travmaya bağlı meydana gelen yaralanmaların tespiti ve derecelendirilmesi, işkenceye maruz kalınma iddiaları sonucunda bunların tespiti vb. birçok konuda günlük rutinde

kullanılmakta ve gelişen teknoloji ile birlikte farklı durumlarda da kanıt elde edilmesi amacıyla faydalı olmaktadır.

Direkt Grafi (X-Ray)

Ülkemizde adli tıp uygulamalarında halen en çok kullanılan radyolojik görüntüleme yöntemi Direkt Grafi (X-Ray)'dir. Bu yöntemde X ışınlarının dokular tarafından farklı miktarlarda absorbsiyonundan yararlanılmaktadır. Dansitesi yoğun olan kemik gibi dokulardan geçerken zayıflarken, yağ ve hava gibi daha az yoğun dokulardan daha kolay geçmektedir. Ayrıca dokunun yoğunluğu gibi kalınlığı da geçen ışın miktarını etkilemektedir. Direkt grafilere elde edilen görüntü siyah, beyaz ve grinin tonları şeklinde olmakta; yoğun dansiteli cisimler (metal dansiteli cisimler, kemik vb.) beyaz renkte, daha düşük dansiteler (hava) siyah renkte ve yumuşak dokular (organlar, yağ doku vb.) ise dansitelerine göre değişkenlik göstermekle birlikte gri renk tonlarında görülmektedir (Gunderman, 2006).

Gelişen teknolojiye rağmen ilk görüntüleme yöntemi olan radyografi, klinik uygulamalarda ve adli tıpta en yaygın şekilde kullanılan yöntemdir. Avantajlı olduğu noktalar; aralarında dansite farkının fazla olduğu doku alanlarının değerlendirilmesinde mevcut kullanışlılığı (kemik ve akciğer dokuları), 2 ve 3 yönlü çekimlerle (AP/Lateral, PA/Lateral, Oblik) dokuların superpoze olmasının engellenebilmesi, görece diğer görüntüleme yöntemlerine göre ucuz olması, yaygın bir şekilde bulunması iken, yumuşak dokuların değerlendirilmesinde nispeten düşük başarı, düşük kontrast rezolusyonu, 2 boyutlu görüntüleme nedeniyle bölgedeki oluşumların süperpoze olması başlıca dezavantajlarını oluşturmaktadır (Sağtaş, 2019).

Direkt grafinin adli tıp rutininde kullanıldığı alanlar ise ölü muayene görüntülemeleri, yaş tayini uygulamaları, kimlik tespiti (kişide olduğu bilinen protez, cerrahi implant, metalik suture materyali vb.) vb. uygulamalardır (Sağtaş, 2019).

Bilgisayarlı Tomografi (Bt)

Bilgisayarlı tomografi tetkikinin çalışma esasına bakılacak olursa, vücuttan belirli aralıklarla alınan kesit görüntülerinin bilgisayar sistemi ile birleştirilmesine dayanmaktadır. İlk bilgisayarlı tomografi 1972 yılında Godfrey Hounsfield tarafından geliştirilmiş, 1979 yılında Godfrey ve Cormack isimli araştırmacılar bu çalışmalarından dolayı Nobel ödülü kazanmışlardır (Gunderman, 2006). 1990'lı yıllarda helikal, çember kayma teknolojisinin geliştirilmesi ve 1 mm'den daha ince kesitler alabilen cihazların geliştirilmesiyle tarama süreleri kısalmış ve günümüzde kullanılan Çok Kesitli Bilgisayarlı Tomografi (ÇKBT) meydana gelmiştir (Katada, 1999).

Günümüzde adli tıp alanında ÇKBT, direkt grafinin kullanıldığı durumların hemen hepsini kapsamakla birlikte farklı birçok durumda da

kullanılabilmektedir. Özellikle postmortem incelemelerde görselleştirme tekniklerinin çok gelişmiş olması nedeniyle birçok adli tıp merkezinde kullanılmaktadır (Weiss, McLeod-Henning, & Waltke, 2018).

ÇKBT özellikle otopsi öncesi yapılan incelemeler ile otopsi nedeniyle oluşacak artefaktlar olmaksızın bir değerlendirme sağlayabilmektedir. Bazı çalışmalar, tüm vücudun taranması ile iskelet sistemi yaralanmalarının dokümantasyonu ve görselleştirilmesi açısından BT'nin otopside genel olarak daha üstün olduğunu belirtmektedir (Thali et al., 2003). BT taramaları dünya çapında çeşitli adli tıp kurumlarına kurulmuş ve otopsi öncesi tüm vücut BT incelemesi rutin bir inceleme haline gelmiştir (G. N. J. J. T. Rutty, 2008).

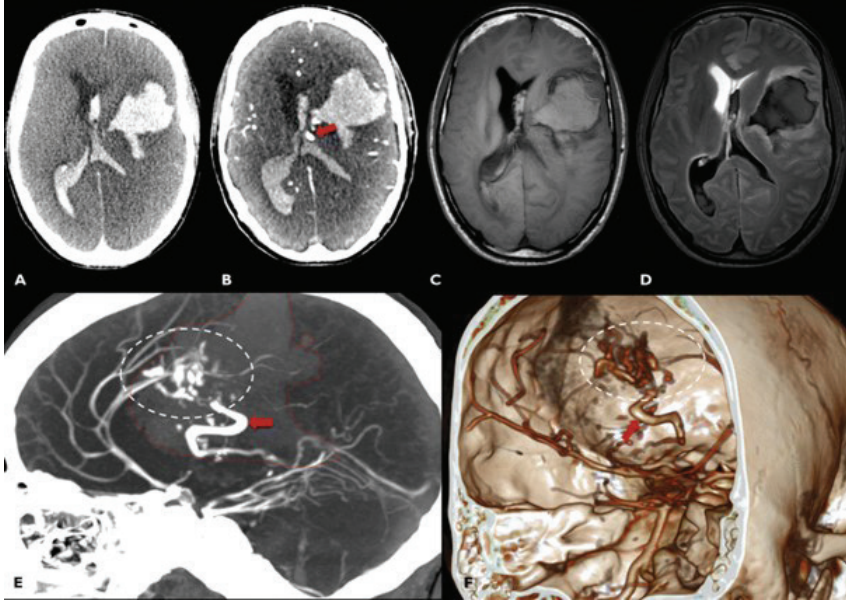
Yapılan bir literatür tarama çalışmasında, adli görüntüleme ve post-mortem görüntüleme çalışmalarında araştırma konularının, yaralanma veya hastalığın belgelenmesi, ceset kalıntılarının tanımlanması, doğal ölüm sonrası bulguların tanımlanması ve yabancı cisimlerin tespiti olduğu belirtilmiştir (Baglivo et al., 2013). Postmortem BT kullanımı genellikle travmatik bulguların tespiti, bunların arasında da özellikle ateşli silah yaralanmaları üzerine yoğunlaşmaktadır (Folio et al., 2011; G. Rutty, Boyce, Robinson, Jeffery, & Morgan, 2008; Stein, Bahner, Merkel, Ain, & Mat-tern, 2000). Mide içeriğinin postmortem BT ile incelenmesi ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır (Burke, O'Donnell, Bassed, & pathology, 2012; Leth & Worm-Leonhard, 2008). Leth ve arkadaşlarının yaptığı bir olgu sunumuda; mide içerisinde "Kodimagnyl" tabletleri (reçetesiz analjezik içeren asetilsalisilik asit, kodein ve magnezyum hidroksit) bulunduğu, olgunun radyolojik görüntülemesinde, ilaç içerisinde bulunan magnezyum hidroksit süspansiyonlarının radyoopaklığa neden olduğu belirtilmektedir. Şekil-1'de ilgili görüntülemeler mevcuttur. Otopsi öncesi radyolojik görüntülemelerine ulaşılabilen olgularda midedeki radyopak görüntü bulgusu, toksikolojik inceleme için kapsamlı araştırmaya yönlendirmelidir.



Şekil-1 Açıklama: Postmortem çekilen abdominal BT görüntüsünde, mide içerisinde (ok ile işaretli) radyoopak madde görülebilmektedir (Leth & Worm-Leonhard, 2008).

Son dönemlerde postmortem BT-Anjiyografi vasküler yaralanmaların belirlenmesi için kabul edilir bir yöntem haline gelmiştir (Grabherr, Djonov, Yen, Thali, & Dirnhofer, 2007; Ruder et al., 2012; Saunders, Morgan, Raj, Rutty, & pathology, 2011). Anjiyografinin ek maliyeti ve kontrast maddenin otopsiyi olumsuz olarak etkileme ihtimalleri nedeniyle çok sık tercih edilen bir yöntem değildir (Baglivo et al., 2013).

Flach ve arkadaşlarının bir olgu sunumunda, evinde ölü bulunan 41 yaşında erkek hastanın adli incelemesinin yapıldığı, yapılan kontrastsız beyin BT incelemesinde kafa içi kanama tespit edildiği, intrakranial anevrizma rüptürü veya arteriovenöz malformasyon(AVM) olarak düşünüldüğü ardından yapılan postmortem BT Anjiyografide ise ölümün doğal ölüm olduğu, rüptüre AVM'nin tanısının konulduğu, yapılan dış muayenede şüpheli bulgu olmaması nedeniyle bölge savcısı tarafından otopsi yapılmasına gerek olmadığı şeklinde karar verildiği bildirilmiştir (P. M. Flach, Thali, & Germerott, 2014).



Şekil-2 Açıklama: A. Kontrastsız postmortem BT incelemesinde kafa içi kanama olduğu görülmektedir. B. Postmortem BT Anjiyografi görüntüsünde, AVM ile ilişkili olabilecek geniş besleyici damar yapısı (ok) görülmektedir. C. Postmortem T1 Ağırlıklı MR görüntüsünde, intrakranial kanama daha iyi bir morfolojik tasvirle görülmektedir. D. Postmortem T2 Ağırlıklı MR görüntüsünde, BT'ye göre daha üstün bir morfoloji tanımlanması mümkün olduğu görülmektedir. E. Postmortem BT Anjiyografi ile elde edilen görüntüde, ok ile AVM'yi besleyen kontralateral posterior serebral arter görülmekte, daire içerisinde ise rüptüre olarak intrakranial kanamaya yol açan AVM nidusu görülmektedir. F. İntrakraniyal arterlerin 3 boyutlu görüntüsünde daire ile AVM nidusu görülmektedir (P. M. Flach et al., 2014).

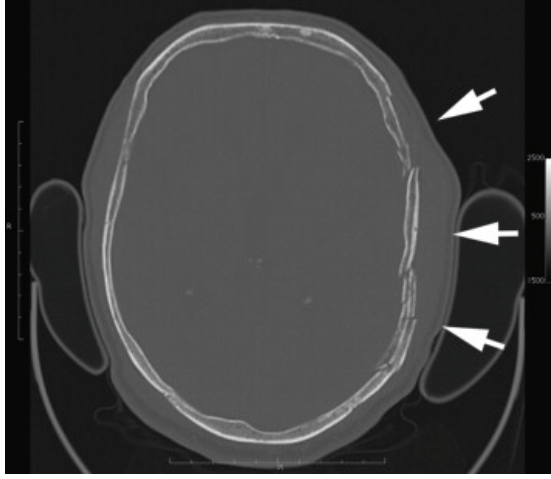
Postmortem BT Anjiyografi özellikle küçük damarlarda (interkostal arterler, lomber arterler vb.) mevcut yaralanmaların tespit edilme imkânını sunmakla birlikte, kraniyoservikal bileşke, spinal kanal ve pelvik bölge gibi alanlardaki vasküler patolojilerin, yüz ve daha küçük intestinal vasküler yapılar gibi disseke edilemeyen alanları görselleştirilerek otopsiye yardımcı olabilmektedir (Patricia M Flach et al., 2010). Postmortem BT Anjiyografi inceleme öncesi toksikolojik analizler için idrar ve kan örneklerinin alınması gerekmektedir.

Teknolojinin gelişmesiyle birlikte, bilgisayarlı tomografi ile elde edilen görüntülerden üç boyutlu modeller oluşturulmasıyla özellikle maksillofasial bölgedeki anatomik yapıların mevcut boyutları ile modellenmesi amaçlanmaktadır. Bu biyomodeller; konjenital deformitelerin veya travma kaynaklı deformitelerin rekonstrüksiyonla tedavilerinde, tümör rezeksi-

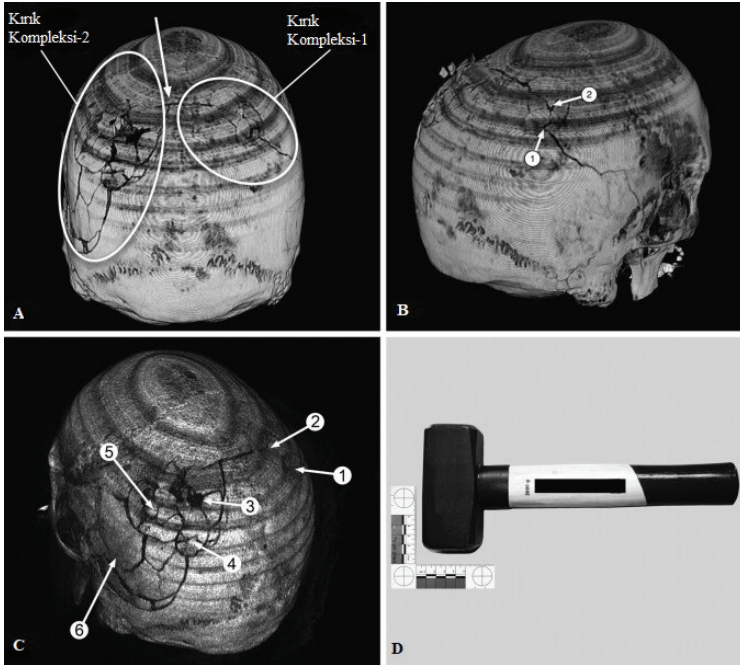
yonunda, dental implantların tasarlanmasında, kompleks maksillofasiyal cerrahi olguların operasyon öncesi yapılacak planlamalarında kullanılmak üzere geliştirildiği, belirtilmektedir (Saigal, Winokur, Finden, Taub, & Pribitkin, 2005; Swennen et al., 2009).

Adli tıp kliniğinin rutin uygulamalarında, künt travmaya uğrayanların muayenesi esas olarak mağdurun harici muayenesine bağlı olmakla birlikte, adli tıp uzmanının cevaplaması gereken temel sorular ise; etki sayısı, darbenin yönü ve açısı, kazara veya kazara olmayan etki mekanizması, kullanılan nesnenin türü veya şekli, kullanılan kuvvet miktarının belirlenmesi, hayatı tehdit eden yaralanmanın varlığı veya yokluğu gibi sorulardır. 3 boyutlu rekonstrüksiyonlar otopside görüldüğü gibi kırık modellerinin ortaya çıkmasını sağlamakta, kırılma çizgileri veya kenarlarının yaklaşık bir uzunluk ölçümünü hesaplanabilmesine yardımcı olmaktadır. Bu sayede olayların yeniden yapılandırılması ve olası saldırı araçlarının eşleştirilmesi kolaylaşmakta, bu sonuçların bilirkişi raporunda veya mahkemede görselleştirilmesi kolaylaşmaktadır.

Grassberger ve arkadaşlarının künt kafa travması sonrası 3 boyutlu rekonstrüksiyonla değerlendirdikleri 2 olguluk raporlarında, 3B rekonstrüksiyon ile künt travma oluşturan cisimlerin darbe yüzeylerinin daha iyi analiz edilebildiğini, ayrıca mevcut kırıklar içerisinde gizlenebilecek ek darbelerin de ayırt edilebildiğini, olgulardan birinde altı farklı ek havuz kırığı tespit ettiklerini ve bu sayede olgunun bir kaza ile olmadığı kanaatinin oluştuğu, sonrasında evde yapılan aramada tarif edilen şekil ile uyumu künt cismin tespiti ve cisimde yapılan kandan DNA analizi ile maktülün kanı olduğunun tespit edildiği belirtilmektedir (Grassberger, Gehl, Püschel, & Turk, 2011).



Şekil-3 Açıklama: Evinin arka bahçesinde yüzüstü pozisyonda, ciddi kafa travması ile bilinçsiz olarak yatan 54 yaşında hastanın, acil serviste çekilen Aksiyel BT görüntülerinde, sol pariyeto-oksipital ve temporal bölgede parçalı kırıkları ve yumuşak doku yaralanmaları (ok) görülmektedir (Grassberger et al., 2011).



Şekil-4 Açıklama: (A-C) Aynı olguya ait BT görüntülerinin 3 boyutlu rekonstrüksiyonu ile elde edilen görüntülerdir. 1 ve 2 ile tarama parametreleri nedeniyle meydana gelen merdiven basamağı artefaktları görülmektedir. A'da ok ile 2.kırık kompleksine ait kırık çizgilerinin 1.kompleks'e ait kırık çizgilerinde sonlanımı görülmektedir. D'de 4 cm kenar uzunluğuna sahip uygulama silahı (çekiç) görülmektedir (Grassberger et al., 2011).

Manyetik Rezonans (Mr)

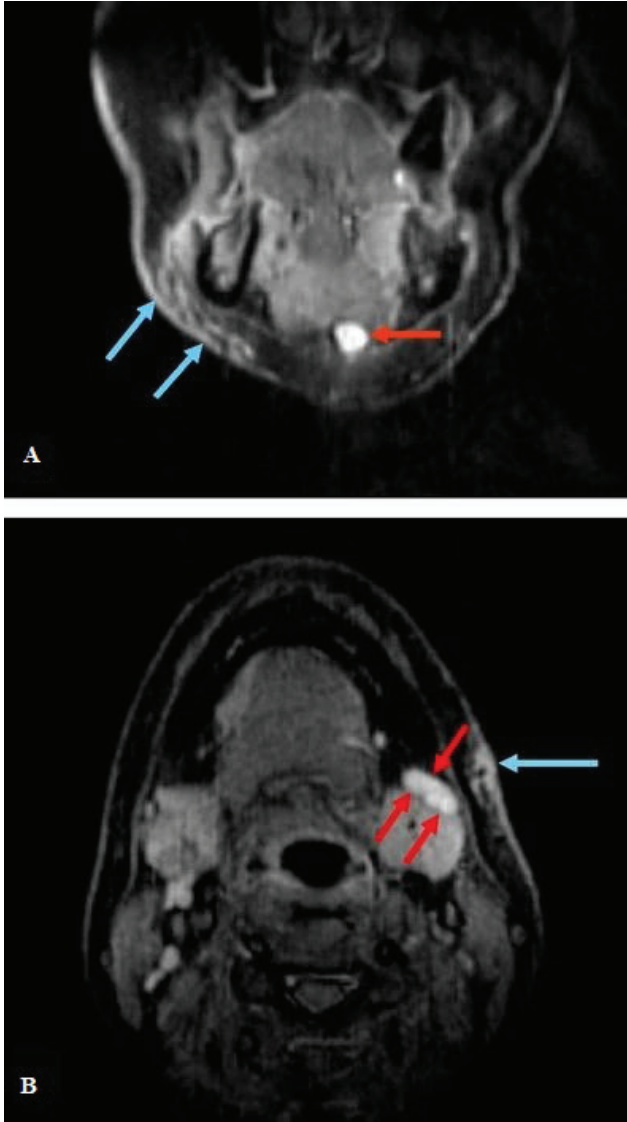
Manyetik rezonans görüntülemenin, tetkik süresinin uzun olması, her merkezde bulunmaması gibi dezavantajları mevcuttur. Ancak büyük eklem ya da omurilik yaralanmalarının değerlendirilmesinde subakut evrede yapılan MR görüntülemelerinin oldukça yararlı olduğu belirtilmektedir (Oyar & UK, 2002).

MRG'nin yumuşak doku görüntülemelerinde BT'den daha başarılı olduğu bilinmektedir. MR görüntülemesinde son yıllarda sadece morfolojik yapının değerlendirilmesi değil, fonksiyonel incelemeler de gerçekleştirilebilmektedir. Bu alandaki uygulamalar; difüzyon ağırlıklı MRG, perfüzyon görüntüleme, MR-spektrometri gibi uygulamalardır (Oyar, 2006).

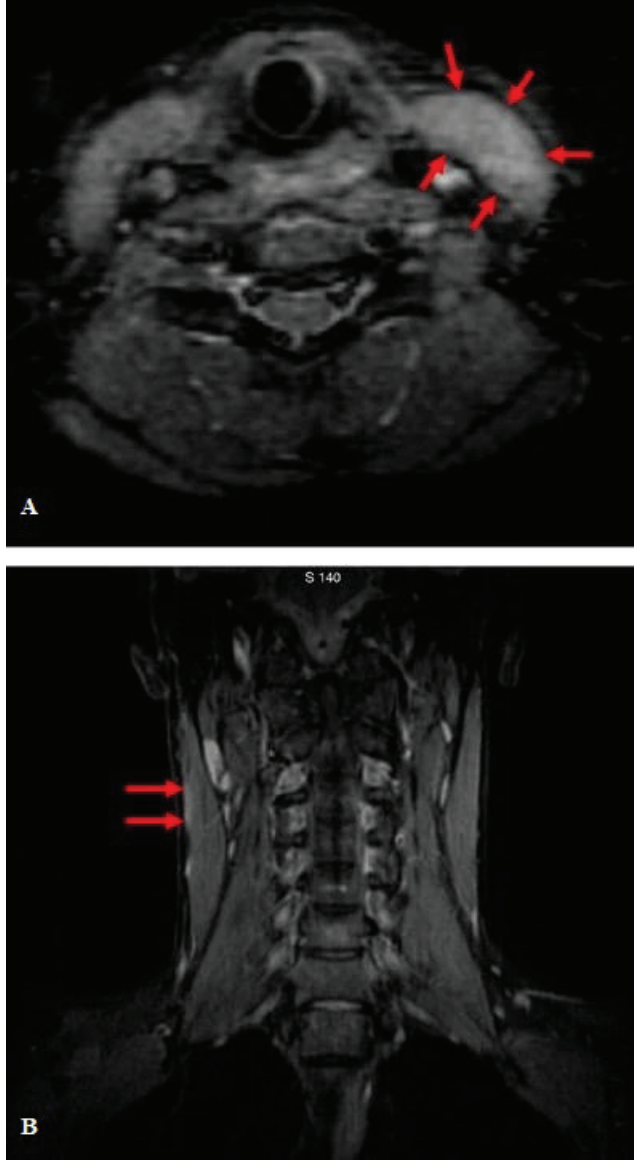
Nonhemorajik kontüzyonların, beyin sapı hasarlarının, diffüz aksonal hasarın belirlenmesinde kullanım avantajlarının olduğu (Teasdale, Teasdale, & Hadley, 1992), kafa travması mevcut olan negatif veya şüpheli BT incelemeleri ve merkezi sinir sistemi şikayetleri olan olgularda ileri inceleme olarak MRG yapılması gerektiği, tendon, bağ ve kas yaralanmalarının değerlendirilmesinde, akut dönem kas rüptürlerinin MRG ile belirlenebildiği belirtilmektedir (Kavaklı, 2012). Ayrıca MRG'nin dış muayenede çok nadir, gözle görülebilir bulgular oluşturan pozisyonel işkence yöntemleri sonucu meydana gelen tendon, bağ, kas, sinir ve vasküler yaralanmaların tespitinde tercih edilen bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Can & Ünüvar, 2012).

Yapılan çalışmalarda, servikal vertebra yaralanmalarında MRG'nin yaralanma tipinin belirlenmesinde BT ve Radyografiden daha sensitif olduğu (Provenzale, 2007), servikal vertebra fraktürleri değerlendirilirken spesifik kemik bozukluklarının tanımlanmasında BT kadar etkin olduğu, ancak vasküler yaralanmaların ve intervertebral disk dejenerasyonlarının değerlendirilmesinde altın standart olduğu belirtilmektedir (Klein et al., 1999).

Yen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hayatta kalan 14 boğulma (10 elle boğulma, 2 bağ ile boğma ve 2 boyun kilidi (choke holds)) olgusunun değerlendirildiği, çoğu olguda MRG'nin olaydan yaklaşık 1-2 gün sonra gerçekleştirildiği, 14 olgunun 10'unda inspeksiyonla tespit edilebilen cilt altı kanama bulgularının olduğu, MRG'nin dıştan görünür bir morluk veya abrazyon olmasa bile boyun iç yaralanmalarının objektif olarak belgelenmesinde uygun görüldüğü, en sık görülen bulguların kas içi ve lenf düğümlerinde kanama olduğu, daha seyrek olarak tükürük bezlerinde radyolojik kanama belirtilerinin görüldüğü, travmatik bulguların en az 3 gün olmak üzere 12 gün sonra bile sol strenokleidomastoid kas ve submandibuler lenf düğümlerinde belirgin kanamaların görüldüğü olgular olduğu belirtilmektedir (Yen et al., 2007).



Şekil-5 Açıklama: A'da, kocası tarafından yerde yatarken elle boğulma sonrası bilinç kaybı meydana gelen 45 yaş kadın hasta, adli muayene sırasında göz kapaklarında ve yüzde peteşiyel kanamalar olduğu tespit edilen olgunun olaydan 3 saat sonra yapılan MR görüntülemesinde; mandibula sağ tarafında subkutan yağ dokuda belirgin kanama alanı (sol tarafta bulunan 2 adet ok) ve submental lenf nodunda kanama (sağ tarafta bulunan tek ok) görülmektedir. B'de, yatakta yatarken üzerine oturularak kemer ile boğulma sonrası siyah boşluk şeklinde görme meydana gelen 21 yaş kadın hasta, adli muayene sırasında sağ üst ve alt göz kapağı ile yüzde peteşiyel kanamalar olduğu tespit edilen olgunun olaydan 13.5 saat sonra yapılan MR görüntülemesinde, hemorajik submandibular lenf düğümü (aynı yönlü 3 adet ok) ve sol tarafta cilt altı yağ dokuda kanama (en sağda bulunan ok) olduğu görülmektedir (Yen et al., 2007).

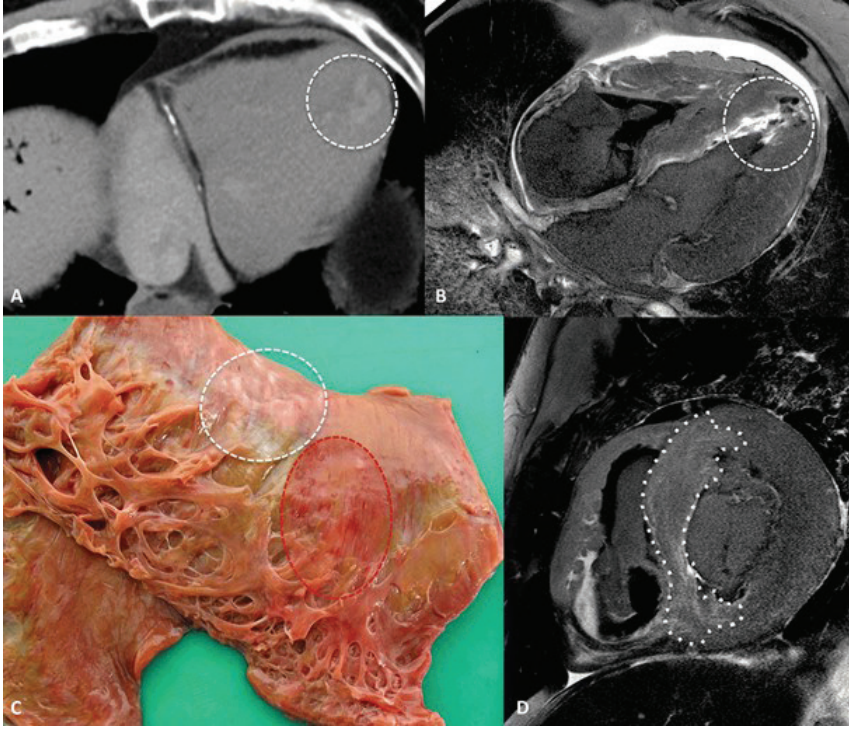


Şekil-6 Açıklama: A'da, cinsel saldırı nedeniyle adli tıp birimine getirilen 45 yaş kadın hasta, olaydan bağımsız olarak 10 gün önce kemerle boğulma meydana geldiğini, boynunun sol tarafında baskıya bağlı ağrı olduğunu beyan ettiği, yapılan dış muayenesinde, boynunda dışarıdan görülebilen bulgu veya peteşiyel kanama olmadığı, olaydan yaklaşık 300 saat sonra yapılan MR görüntülemesinde; sol sternokleidomastoid kasta kanama, şişlik (aynı yapıyı gösteren 5 adet ok) ve asimetri görülmektedir. Radyolojik görüntülemeye tespit edilen lezyonlar ile klinik muayenede mevcut palpasyonla ağrı bulunan alanın uyumlu olduğu ancak dışarıdan gözle görülebilen hiçbir bulgu olmadığı belirtilmektedir. B'de, başka bir erkek tarafından kol kilidi (choke hold) ile

boğulma sonrası siyah boşluk şeklinde görme meydana gelen 18 yaş erkek hasta, yapılan dış muayenesinde, yüzde çok sayıda peteşiyel kanama ve boyunda palpasyonla ağrı olduğunun tespit edildiği, boğulmadan 38 saat sonra yapılan MR görüntülemesinde, sağ stenokleidomastoid kasın dış kısımlarında hafif hiperintens, yüzeyel kas kanamasını temsil eden (sol tarafta bulunan 2 adet ok) bölgeler görülmektedir (Yen et al., 2007).,

Postmortem MRG, küçük subkutan hematomları posmortem BT'den daha net bir şekilde gösterebilmesi nedeniyle künt travma veya motorlu araç kazalarında yumuşak doku hasarının değerlendirilmesinde kullanılabilmektedir (Patriquin, Kassarian, O'Brien, Andry, & Eustace, 2001; Ross et al., 2012). Ayrıca postmortem kardiyak MRG, miyokard enfarktüsü gibi kardiyak patolojilerin belirlenerek ölüm sebebinin otopsi öncesi belirlenmesine yardımcı olabilmektedir (Patricia M Flach et al., 2010).

Flach ve arkadaşlarının çalışmasında, 49 yaş, erkek, kardiyak arrest sonrası ölen olgunun postmortem BT görüntüsünde apekte eski skar dokusunun ve koroner damarlarda sklerozun tespit edildiğini ancak postmortem MRG'de ise myokard septumda, ön ve arka duvar bölümlerinde hiperintens görüntü olduğunu, otopsi incelemesinde ise myokardda taze kanama alanının ve skar izlerinin görüldüğünü belirtmektedirler (P. M. Flach et al., 2014).



Şekil-7 Açıklama: A'da postmortem kardiyak BT görüntülemesinde, kronik hasarlı myokard dokusu (daire çerisinde) ve sağ koroner arterde skleroz görülmektedir. B'de postmortem T2 Ağırlıklı kardiyak MR görüntülemesinde, postmortem BT ile görülen apekte (daire ile gösterilen) eski myokardial skar dokusu daha iyi bir şekilde görülebilmektedir. C'de Otopsi incelemesi sırasında çekilen myokardial septum fotoğrafında, beyaz renkli eski skar izleri (sol üst tarafta bulunan daire içerisinde) ve myokardda taze kanama alanları (sağ alt tarafta bulunan daire içerisinde) görülmektedir. D'de postmortem proton ağırlıklı kardiyak MR görüntülemesinde, septumda, ön ve arka duvarlarda hiperintens sinyal değişikliği (noktalı alanlar) görülmektedir (P. M. Flach et al., 2014).

Ultrasonografi (Usg)

Ultrasonografi, çalışma prensibi ses dalgalarının kullanımıyla olan bir görüntüleme yöntemidir. Özellikle yumuşak dokuların morfolojik özellikleri hakkında bilgi verirken, sıvı-solid ayrımı iyi bir şekilde yapılabilmektedir (Sarkisian et al., 1991; Tuncel, 2011). Gaz ve kemik dokular USG incelemesini engelleyen yapılardır. En önemli avantajları; ses dalgalarının kullanılıyor olması nedeniyle hastaya bilinen bir zararının olmaması, ucuz olması, yatak başı kullanılabilmesi, real time bilgi vermesi sayılabilmektedir (Tuncel, 2011). Yapılan bir çalışmada torasik USG'nin travmatik pnömotoraksı saptamada BT kadar duyarlı olduğu belirtilmiştir (Rowan

et al., 2002). Birçok çalışmada USG'nin duyarlılık derecesinin batin içi kanamanın saptanmasında %80-95 oranında olduğu bildirilmekle birlikte, USG'de şişmanlık, cilt altı amfizemi, yoğun bağırsak gazı gibi nedenlerle görüntüleme kalitesi oldukça düşmektedir (Dolich et al., 2001).

Adli amaçlarla USG'nin kullanımı kişilerin rutin tıbbi klinik değerlendirmelerine bağlı olarak yaralanma derecelerini belirlenmesi dışında, literatürde yaş tayini amacıyla direkt grafi ile karşılaştırma çalışmalarıyla da karşılaşılmaktadır. Bodwal ve arkadaşlarının 53 olgu ile yaptığı bir çalışmada, olguların yaşına kör bir şekilde direkt grafi ve USG ile radius ve ulna distal uç, radius proksimal bölgelerinin incelendiği, USG'nin sensitivitesinin %74.3, spesifitesinin %70 olduğu, iyi bir korelasyon gösterdiği bildirilmektedir (Bodwal, Aggrawal, Singh, Khanna, & Imaging, 2013).

Postmortem USG incelemesi için ise uygulama sonuçlarının rigor mortis, pütrefaksiyon süreçleri ile ortaya çıkan gaz distansiyonu, iç organlara ulaşım zorlukları ve yumuşak doku lezyonları nedeniyle sınırlı bir rol üstlendiğini belirten çalışmalar mevcuttur (Charlier et al., 2013).

Sonuç

Radyolojik incelemeler, standart otopsiye göre hızlı, objektif, non-invaziv ve tahribatsız olması nedeniyle belirli avantajlar sunabilmektedir. Nasıl ki klinik bilimlerde hastalık yok hasta var mantığıyla yaklaşarak kişiyi değerlendirmek gerekiyorsa, adli bilimlerde de canlı veya cansız olgularda mevcut bulguların tespiti ve değerlendirilmesinin, hayal gücü ve gelişen teknolojiyle birlikte daha objektif ve kanıtlanabilir bir biçimde ortaya konabilmesi için bizlere de birçok görev düşmektedir.

Kaynakça

- Baglivo, M., Winklhofer, S., Hatch, G. M., Ampanozi, G., Thali, M. J., Ruder, T. D. J. J. o. F. R., & Imaging. (2013). The rise of forensic and post-mortem radiology—analysis of the literature between the year 2000 and 2011. *1*(1), 3-9.
- Bisset, R., Thomas, N., Turnbull, I., & Lee, S. J. B. (2002). Postmortem examinations using magnetic resonance imaging: four year review of a working service. *324*(7351), 1423-1424.
- Bodwal, J., Aggrawal, A., Singh, S., Khanna, S. K. J. J. o. F. R., & Imaging. (2013). Estimation of age by ultrasonography of radius and ulna. *1*(2), 81.
- Brogdon, B. G., & Lichtenstein, J. E. J. B. s. F. R. (2010a). Forensic radiology in historical perspective. 3-7.
- Brogdon, B. G., & Lichtenstein, J. E. J. B. s. F. R. (2010b). Scope of forensic radiology. 25-39.
- Burke, M. P., O'Donnell, C., Bassed, R. J. F. s., medicine,, & pathology. (2012). The use of postmortem computed tomography in the diagnosis of intentional medication overdose. *8*(3), 218-236.
- Can, İ., & Ünüvar, Ü. J. İ. B. D. (2012). İstanbul Protokolü İşkence ve Diğer Zalimane, İnsanlık Dışı, Aşağılayıcı Muamele veya Cezaların Etkili Biçimde Soruşturulması ve Belgelendirilmesi İçin Kılavuz. *77*(3), 90-101.
- Charlier, P., Chaillot, P.-F., Watier, L., Ménétrier, M., Carlier, R., Cavard, S., . . . Law, t. (2013). Is post-mortem ultrasonography a useful tool for forensic purposes? , *53*(4), 227-234.
- Dolich, M. O., McKenney, M. G., Varela, J. E., Compton, R. P., McKenney, K. L., Cohn, S. M. J. J. o. T., & Surgery, A. C. (2001). 2,576 ultrasounds for blunt abdominal trauma. *50*(1), 108-112.
- Flach, P. M., Ross, S. G., Bolliger, S. A., Preiss, U. S., Thali, M. J., Spendlove, D. J. A. o. p., & medicine, l. (2010). Postmortem whole-body computed tomography angiography visualizing vascular rupture in a case of fatal car crash. *134*(1), 115-119.
- Flach, P. M., Thali, M. J., & Germerott, T. (2014). Times have changed! Forensic radiology--a new challenge for radiology and forensic pathology. *AJR Am J Roentgenol*, *202*(4), W325-334. doi:10.2214/ajr.12.10283
- Folio, L. R., Fischer, T., Shogan, P., Frew, M., Dwyer, A., & Provenzale, J. M. J. A. J. o. R. (2011). Blast and ballistic trajectories in combat casualties: a preliminary analysis using a cartesian positioning system with MDCT. *197*(2), W233-W240.
- Grabherr, S., Djonov, V., Yen, K., Thali, M. J., & Dirnhofer, R. J. A. J. O. R.-N. S.-. (2007). Postmortem angiography: review of former and current methods. *188*(3), 832.

- Grassberger, M., Gehl, A., Püschel, K., & Turk, E. J. F. s. i. (2011). 3D reconstruction of emergency cranial computed tomography scans as a tool in clinical forensic radiology after survived blunt head trauma—report of two cases. *207*(1-3), e19-e23.
- Gunderman, R. B. (2006). Essential radiology. Clinical presentation, pathophysiology, imaging. 2.
- Katada, K. J. M. r. (1999). Half-second, half-millimeter real-time multislice helical CT: CT diagnosis using Aquilion TM. *68*, 31-38.
- Kavaklı, U. (2012). *Travmalı olgularda radyolojik tanının medikolegal değeri*. (Master Thesis), Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir.
- Klein, G. R., Vaccaro, A. R., Albert, T. J., Schweitzer, M., Deely, D., Karasick, D., & Cotler, J. M. J. S. (1999). Efficacy of magnetic resonance imaging in the evaluation of posterior cervical spine fractures. *24*(8), 771-774.
- Leth, P. M., & Worm-Leonhard, M. J. F. s. i. (2008). Tablet residues in stomach content found by routine post-mortem CT. *179*(1), e16-e17.
- O'Donnell, C., & Woodford, N. J. C. r. (2008). Post-mortem radiology—a new sub-speciality? , *63*(11), 1189-1194.
- Oyar, O. (2006). Adli radyoloji. *Adli Bilimler Dergisi*, *5*(2), 33-40.
- Oyar, O., & UK, G. J. S. (2002). Politravmalı hastalara radyolojik yaklaşım. *11*(2), 67-68.
- Patriquin, L., Kassarian, A., O'Brien, M., Andry, C., & Eustace, S. J. J. o. M. R. I. A. O. J. o. t. I. S. f. M. R. i. M. (2001). Postmortem whole-body magnetic resonance imaging as an adjunct to autopsy: preliminary clinical experience. *13*(2), 277-287.
- Provenzale, J. J. E. r. (2007). MR imaging of spinal trauma. *13*(6), 289-297.
- Ross, S., Ebner, L., Flach, P., Brodhage, R., Bolliger, S. A., Christe, A., & Thali, M. J. J. A. J. o. R. (2012). Postmortem whole-body MRI in traumatic causes of death. *199*(6), 1186-1192.
- Rowan, K. R., Kirkpatrick, A. W., Liu, D., Forkheim, K. E., Mayo, J. R., & Nicolaou, S. J. R. (2002). Traumatic pneumothorax detection with thoracic US: correlation with chest radiography and CT—initial experience. *225*(1), 210-214.
- Ruder, T. D., Hatch, G. M., Ebert, L. C., Flach, P. M., Ross, S., Ampanozi, G., & Thali, M. J. J. J. o. f. s. (2012). Whole body postmortem magnetic resonance angiography. *57*(3), 778-782.
- Rutty, G., Boyce, P., Robinson, C., Jeffery, A., & Morgan, B. J. I. J. o. L. M. (2008). The role of computed tomography in terminal ballistic analysis. *122*(1), 1-5.
- Rutty, G. N. J. J. T. (2008). Forensic institutes across the world place CT or MRI scanners or both into their mortuaries. *65*(2), 493-494.

- Sağtaşı, E. (2019). Adli Tıpta Radyolojinin Yeri. In N. E. SAKA (Ed.), *Adli Tıp ve Adli Bilimlerde Klinik Uygulamalara Bakış* (pp. 143-151). Ankara: Akademi-yen Kitabevi.
- Saigal, K., Winokur, R. S., Finden, S., Taub, D., & Pribitkin, E. J. F. p. s. (2005). Use of three-dimensional computerized tomography reconstruction in complex facial trauma. *21*(03), 214-220.
- Sarkisian, A., Khondkarian, R., Amirbekian, N., Bagdasarian, N., Khojayan, R., Oganessian, Y. J. J. o. T., & Surgery, A. C. (1991). Sonographic screening of mass casualties for abdominal and renal injuries following the 1988 Armenian earthquake. *31*(2), 247-250.
- Saunders, S. L., Morgan, B., Raj, V., Rutt, G. N. J. F. s., medicine, & pathology. (2011). Post-mortem computed tomography angiography: past, present and future. *7*(3), 271-277.
- Stein, K. M., Bahner, M., Merkel, J., Ain, S., & Mattern, R. J. I. j. o. l. m. (2000). Detection of gunshot residues in routine CTs. *114*(1), 15-18.
- Swennen, G., Mommaerts, M., Abeloos, J., De Clercq, C., Lamoral, P., Neyt, N., . . . surgery, m. (2009). A cone-beam CT based technique to augment the 3D virtual skull model with a detailed dental surface. *38*(1), 48-57.
- Teasdale, G., Teasdale, E., & Hadley, D. J. J. o. n. (1992). Computed tomographic and magnetic resonance imaging classification of head injury. *9*, S249-257.
- Thali, M. J., Braun, M., Bruschweiler, W., & Dirnhofer, R. J. F. s. i. (2000). Matching tire tracks on the head using forensic photogrammetry. *113*(1-3), 281-287.
- Thali, M. J., Kneubuehl, B. P., Vock, P., Allmen, G. v., Dirnhofer, R. J. T. A. j. o. f. m., & pathology. (2002). High-speed documented experimental gunshot to a skull-brain model and radiologic virtual autopsy. *23*(3), 223-228.
- Thali, M. J., Yen, K., Schweitzer, W., Vock, P., Boesch, C., Ozdoba, C., . . . Doer-nhoefer, T. J. J. o. f. s. (2003). Virtopsy, a new imaging horizon in forensic pathology: virtual autopsy by postmortem multislice computed tomograp-hy (MSCT) and magnetic resonance imaging (MRI)-a feasibility study. *48*(2), 386-403.
- Tuncel, E. (2011). *Klinik Radyoloji* Bursa: Nobel Kitabevi.
- Weiss, D., McLeod-Henning, D., & Waltke, H. J. N. J. (2018). Using advanced imaging technologies to enhance autopsy practices. *279*, 27-33.
- Wüllenweber, R., Schneider, V., & Grumme, T. J. Z. f. R. J. o. l. m. (1977). A computer-tomographical examination of cranial bullet wounds (author's transl). *80*(3), 227-246.
- Yen, K., Vock, P., Christe, A., Scheurer, E., Plattner, T., Schön, C., . . . Thali, M. J. J. I. J. o. l. m. (2007). Clinical forensic radiology in strangulation victims: forensic expertise based on magnetic resonance imaging (MRI) findings. *121*(2), 115-123.

“

Bölüm 14

DIŞ ÇÜRÜĞÜNÜN ÖNLENMESİNDE ESANSİYEL YAĞLAR

Zeynep Ceren ÇELİK¹

”

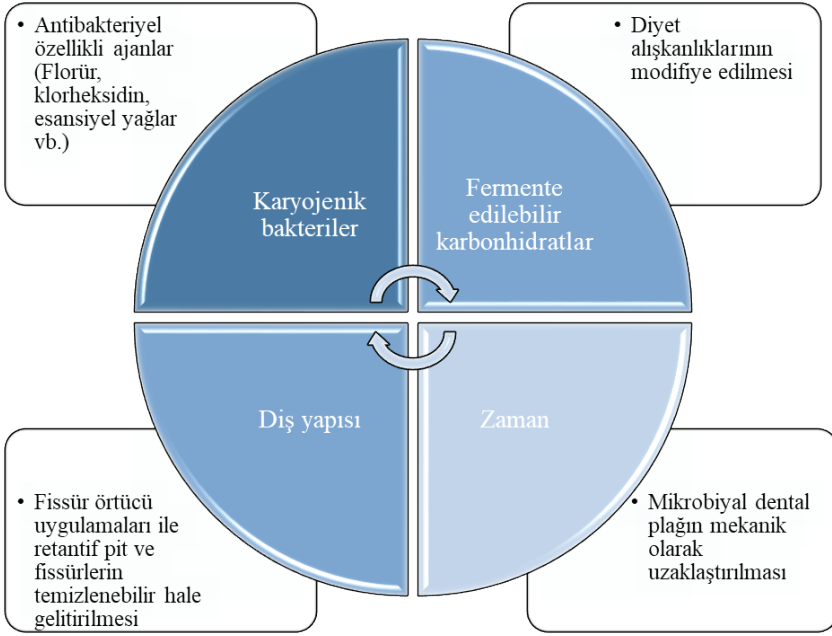
1 Restoratif Diş Tedavisi A.D., Diş Hekimliği Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye, zeynepceren@uludag.edu.tr , ORCID ID: 0000-0002-6900-2632

Diş çürüğü, dünyadaki en yaygın polimikrobiyal ağız hastalığı olarak kabul edilmektedir. Diş çürüğü bugün bilindiği anlamıyla, asidürik ve asidojenik bakterilerin fermente edilebilir karbonhidratları metabolize etmesiyle diş yapısında oluşturdukları yıkımı tariflemektedir (Pitts vd, 2017). Diş çürüğünün bireylerin ağız sağlığı ile ilgili yaşam kalitelerini (OHRQoL), estetik görünümün ve çiğneme fonksiyonunun bozulması (Resim1), psikolojik kaygı ve ağrıya neden olması nedeniyle olumsuz anlamda etkilediği gösterilmiştir (Bukhari vd., 2020).



Resim 1. *Diş çürükleri olan (A) ve olmayan (B) bireylerin frontal yönden ağız içi görüntüsü*

Diş çürüğünün oluşması için en temel faktörler: diş yapısı, karyojen bakteriler, fermente edilebilir karbonhidratlar ve zamandır (Şekil 1). Koruyucu diş hekimliği pratiğinde, bu temel etiyolojik faktörlere yönelik müdahalelerle diş çürüğünün önlenmesi amaçlanmaktadır. Örneğin, dişlerin yapısı ele alındığında molar ve premolar dişlerin okluzal yüzeyleri, anterior dişlerin lingualinde bulunan singulum alanlarındaki gelişimsel defektler, diş fırçalarının temizleyemeyeceği ölçüde dar ve tutucudur. Dişlerin morfolojik olarak retantif bir yapıya sahip pit ve fissür bölgelerine uygulanan fissür örtücüler, rezin esaslı materyaller olup diş yapısının modifikasyonuna uygun birer örnektir. Hastaların diyet alışkanlıklarının değiştirilmesi ve fermente edilebilir karbonhidrattan zengin beslenme özelliklerinin önüne geçilmesi bir diğer koruyucu diş hekimliği uygulamalarındandır.



Şekil 1. *Diş çürüğüne neden olan dört temel faktör ve bu faktörlere yönelik koruyucu diş hekimliği uygulamaları*

Dişlerin diş çürüğünü önleyici/remineralkan bir diş macunuyla fırçalanması ise “zaman” parametresi bakımından önemlidir. Bireyler uygun şekilde dişlerini fırçaladıklarında diş çürüğünün oluşumunda rol oynayan mikrobiyal dental plak ve plak bakterilerinin beslenme kaynağı öncülleri için kum saatini tersini çevirmiş olacak ve “zaman”ı sıfır ibresine getirmiş olacaklardır.

Streptococcus mutans (*S. mutans*), *Lactobacillus*, *Streptococcus sobrinus* gibi endojen oral bakteri türleri ve bunların metabolitleri, diş çürüğünün başlaması ve ilerlemesinde karmaşık bir role sahiptir. (Loesche, 1986) Diş çürüğünün etkili bir şekilde önlenmesi, uygun fırçalama ve diş ipi ile diş plağının mekanik olarak uzaklaştırılmasının yanısıra triklosan, sodyum florür, kalay florür gibi diş macunlarının kullanımı ile sağlanabilir. Florürlü bileşikler, karyojenik bakterilerin karbonhidratları kullanarak asit ürettiği glikolitik yolda yer alan enolaz enzimini engelleyerek çürüklerin azaltılmasında etkilidir (Mikesh, & Bruns, 2008) Bir diğer yandan, günümüzde florürlü ürünlerin sağladığı yararlar ile benzer özellikler gösterebilen doğal ürünlere araştırılmaktadır (Jeon vd., 2011; Apatzidou, 2012; Alexa vd., 2019).

Bu doğal ürünlerden biri bitkilerin meyve ve yapraklarından, baharatlardan elde edilen esansiyel yağlardır. Esansiyel yağlar aynı zamanda uçucu yağ, aromatik yağ olarak da adlandırılır ve çeşitli fitokimyasal özel-

likleri bulunur. Esansiyel yağların bileşim ve miktarları bitkinin cinsine, bitkinin hangi kısmından elde edildiğine, üretim şekline, yetiştirildiği bölgenin coğrafi yapısına ve iklime bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Bayaz, 2014)

Koruyucu diş hekimliğinde karyojenik bakterilerin eliminasyonuna yönelik tek başına ya da diş macunları, ağız çalkalama suları, gargaralar ve diş kremleri içerisinde kullanılabilecek potansiyel etkili doğal ürünler vardır. Bu kitap bölümünde literatürde karjyoenik bakterilere karşı etkinliği gösterilmiş ve/veya demineralizasyon-remineralizasyon dengesini olumlu yönde değiştiren esansiyel yağların özellikleri ve etki mekanizmaları tartışılacaktır.

Karanfil (*Eugenia caryophyllata*)

Eugenia, Myrtaceae familyasının en kalabalık cinslerinden biridir ve yaklaşık 350 türden oluşur. Bu türlerden biri olan *Eugenia caryophyllata* içeriğinde bulunan öjenol ve β -karyofillen gibi fenilpropanoidler sayesinde antiseptik, analjezik ve anestetik etkilere sahiptir (Kouidhi, 2010). Bunun yanı sıra *Eugenia caryophyllata* esansiyel yağının *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* türlerine karşı antimikrobiyal özelliklerini bildirilmiştir (Chaieb, vd., 2007).

Karanfil esansiyel yağının çok sayıda oral patojene karşı antikariyojenik ve sitotoksik aktivitesini değerlendirmeye yönelik bir çalışmada (Kouidhi, 2010) karanfil esansiyel yağının çok düşük bir konsantrasyonda (3 mg) çok sayıda oral bakteriye ve diş çürüğü ile ilişkili mayaya karşı çok etkili olduğunu, genellikle eritromisine (15 μ g) kıyasla üst, benzer veya daha büyük net bir inhibisyon bölgesi gösterdiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra Cai ve Wu tarafından yürütülen bir diğer çalışmada da karanfil'in içeriğinde bulunan flavonlar, kaempferol ve mirisetin bileşikleri sayesinde *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *P. gingivalis* ve *P. intermedia*'ya karşı etkin antibakteriyel aktivitesi olduğu gösterilmiştir. (Cai., ve Wu., 1996).

Adaçayı (*Salvia Officinalis*)

Labiatae familyasına ait bir bitkidir. Akdeniz bölgesine özgü ancak dünya çapında bilinen, kullanılan ve üretilen bir bitkidir. Adaçayının antibakteriyel, fungistatik, virüstatik, anti-tümör, antioksidan aktivite, salgı uyarıcı ve terlemeyi önleyici etkileri olduğu bildirilmektedir (Ghorbani, & Esmaeilzadeh, 2017).

Adaçayı (*Salvia Officinalis*) tanen, trepenoidler, alkaloidler, flavonoidler ve fenolik asitler gibi bileşenler açısından zengin, antimikrobiyal özelliklere sahip bir bitkidir. Adaçayının antimikrobiyal özellikleri, mikro-

biyal enzimleri etkisiz hale getirerek Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı aktivitesi, esansiyel yağ içeriğinde bulunan 8-sineol, tanen ve polifenoller ile ilişkilendirilir (Cowan., 1999) Bu bitkiden elde edilen alkol bazlı ve aköz ekstraktların bakteri hücrelerinin özellikle laktobasillerin sitoplazmik zarının bazı metabolik aktivitelerine müdahale ederek bakteri hücrelerinin büyümesinin inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Behesh-ti-Rouy, 2015; Alkhayoun., 2020)

Bunun yanı sıra, Alkhayoun'un yakın tarihli çalışmasında adaçayı yapraklarından elde edilmiş etanolik özütün, aköz özüte kıyasla laktobasil türlerine karşı daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği ortaya konmuştur (Alkhayoun., 2020)

Limon otu (*Cymbopogon citratus*)

Cymbopogon citratus genellikle bir koku, aroma maddesi olarak ve şişkinlik, hazımsızlık ve asitlik gibi sindirim bozukluklarını tedavi etmek için kullanılır. Sapları ve yaprakları ayrıca dünyada geleneksel tıpta spazm çözücü, hipotansif, antikonvülsan, analjezik, antiemetik, öksürük önleyici, antiromatizmal, antiseptik olarak ve sinir ve mide-bağırsak problemlerinde kullanılmaktadır. (Shah, vd., 2011).

Limon otunun esansiyel yağının, *S. mutans* ve *L. acidophilus* dahil olmak üzere *Actinomyces*

naeslundii, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. Sanguinis* ve *S. sobrinustüm* bakteri türleri üzerinde inhibe edici bir etki göstermiştir (Oliviera., 2017). Aynı çalışmada, polimikrobiyal biyofilmin dış minesine adezyonunu anlamlı ölçüde engellediği gösterilmiş ve koruyucu diş hekimliğinde kullanımının insan keratinositlerine karşı düşük sitotoksitesite göstermesi sayesinde güvenli olabileceği vurgulanmıştır. (Oliviera., 2017)

Sumak (*Rhus coriaria*)

Rhus coriaria, Anacardiaceae familyasına ait bir Akdeniz bitkisidir ve geleneksel olarak baharat ve tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Biyoaktif özellikleri sayesinde sumak bitkisinin, kardiyovasküler rahatsızlıklar, diyabet ve kanser dahil olmak üzere birçok yaygın hastalık için terapötik faydaları olan güçlü antioksidan kapasitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Alsamri, vd. 2021). Kacergius ve ark. *Rhus coriaria*'nın metanolik ekstraktının *Streptococcus mutans*'ın büyümesini içeriğinde bulunan metil gallat ile önemli ölçüde engellediğini göstermiştir (Kacergius vd., 2017). Ayrıca bir diğer çalışmada ortodontik tedavi gören bireylerde braketler üzerinde kolonize olan *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobri nus*, *Streptococcus salivarius* ve *Enterococcus faecalis*'ten oluşan bakteriyel biyofilm oluşumunu önemli ölçüde azaltabilmiştir (Vahid-Dastjerdi. vd., 2014)

Sumak bitkisine ait en önemli bulgulardan bir diğeri, konağa air yararlı mikrofloraya zarar vermeden etki gösteriyor olmasıdır (Vahid-Dastjerdi, 2014)

Fesleğen (*Ocimum americanum*)

Lamiaceae familyasına ait ve çoğunlukla ılıman iklim özelliklerine sahip bölgelerde yetişen bir bitki türüdür. Fesleğen yağının antiinflamatuvar, antinosiseptif, antibakteriyel ve böcek öldürücü özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (Freires vd., 2015) ve mutfak alanında baharat olarak kullanımı yaygındır. Bu bitkinin yapraklarından elde edilen esansiyel yağın *S. mutans* ve *L. casei*'ye karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (Freires vd., 2015). Bu bulguyu destekler nitelikte, bir diğer çalışmada, fesleğen yapraklarından elde edilmiş %3'lük esansiyel yağın, *S. mutans* ve *L. lactis*'in karyojenik biyofilm kültürlerinin bakteri sayımını azaltmada %0.2 klorheksidin kadar etkili olduğunu gösterilmiştir (Thaweboon & Thaweboon, 2009). Fesleğen yağının dış çürüğü etiyopatogenezi (örneğin, glukosiltransferaz aktivitesi, asit üretimi, mine demineralizasyonu) üzerindeki etkileri in vitro ve in vivo çalışmalarla desteklenmelidir.

Nane (*Menta piperita*)

M. Aquatica L. ve *M. spicata*, L. türlerinin bir melezi olan nane (*Mentha piperita* L.), diş bakımında kullanılan yüksek miktarda uçucu yağ içeren önemli aromatik bitkilerden biri olarak kabul edilmektedir. Nane yaprakları karakteristik, aromatik, güçlü bir kokuya ve aromatik, sıcak, keskin bir tada ve ardından bir soğutma hissine sahiptir. Nane yağı ve yaprakları, oral preparatlarda antiseptik, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antioksidan ve antispazmodik etkiler gibi diğer birçok biyolojik etkiye sahiptir (Fayed, 2019). Ayrıca gıda ve ilaç endüstrisinde ve oral müstahzarlarda aroma maddesi olarak kullanılır. *M. piperita* L. yapraklarının uçucu yağı, tomenton (%20-31) ile birlikte yüksek oranda mentol (%29-48) içermektedir (Fayed, 2019). Antikaryojenik özellikleri incelendiğinde *Streptococcus mutans* gibi karyojenik bakterilere karşı antibakteriyel etkinliği gösterilmiş bitki türlerinden biridir (Chaiya vd., 2013; Freires vd., 2015)

Turunç çiçeği (*Citrus aurantium*)

Narenciye türünde bir bitki olan turunç çiçeği Rutaceae familyasına ait olmakla birlikte Akdeniz ekolojik bölgesinde oldukça yaygındır. Turunç çiçeği esansiyel yağının karyojenik bakteri *Streptococcus mutans* ve insan diş eti epitel hücreleri ile etkileşimini değerlendiren bir çalışmada (Benzaid vd., 2021) bu uçucu yağın ana bileşenlerinin limonen, linalool ve β -ocimene olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, turunç çiçeği esansiyel yağının *S. mutans*'ın çoğalmasını azalttığı ortaya konmuştur (Benzaid vd., 2021)

C. aurantifolia esansiyel yağının hidro-damıtma tekniği ile elde edildiği bir diğer çalışmada, içeriğindeki β -pinenin oral *Streptococcus mutans*'a karşı antibakteriyel etkisi değerlendirilmiş ve *Streptococcus mutans*'ın çoğalmasını ve büyümesini anlamlı ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir (Julaeha vd, 2021)

Manuka (*Leptospermum scoparium*)

Manuka, Myrtaceae familyasına ait bir tür olmakla birlikte, çalı tarzında yetişen bu bitkinin yapraklarından, kabuklarından ve tohumlarından elde edilen uçucu bir yağdır (Mathew vd., 2020).

Piyasada satılan manuka yağlarının ana bileşenlerinden leptospermon, δ -cadinene, cadina-1,4-diene, flaveson, cadina-3,5-diene, α -kopen tespit edilmiştir (Mathew vd., 2020; Douglas vd., 2004). Manuka yağının hem, Gram pozitif bakterilere karşı hem de Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi tespit edilmiştir (Alnaimat vd., 2015). Gram pozitif bakteriler üzerindeki etkinliğinde %1,5 (h/h) mánuka yağı ile 4 saat tedavi, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'ta (MRSA) morfolojik değişikliklere ve hücre lizisine neden olurken, yüksek doz (%3 h/h) ile tedavide hücreleri tamamen lizise uğradığı görülmüştür (Alnaimat vd., 2015).

Antikaryojenik özelliklerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada, manuka yağının %0,2'lik konsantrasyonda hazırlanmış esansiyel yağının *S. Mutans*'ın adezyonunu inhibe edici etkileri gösterilmiştir (Takarada vd., 2004)

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*)

Biberiye, Lamiaceae familyasına ait bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için tıbbi amaçlarla da kullanılan, Akdeniz bölgesine özgü, yeşil, aromalı bir bitkidir (Bozin vd., 2007). *Rosmarinus officinalis*'in fitokimyasal özellikleri incelendiğinde, hazırlanan esansiyel yağın konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte, içeriğinde kafeik asit, karnosik asit, klorojenik asit, monomerik asit, oleanolik asit, rosmarinik asit, ursolik asit, alfa-pinen, kafur, karnosol, okaliptol, rosmanol, öjenol türevleri ve luteolin bulunduğu bildirilmektedir. (de Oliveira vd., 2019)

Ferrari tarafından yapılan yakın tarihli sistematik bir derlemede, biberiye ile hazırlanan esnsiyel yağın ana bileşiklerinin kafur, verbenon, α -pinen, β -mirsen, 1,8-sineol ve β -karyofillen olduğunun ve bu bileşenlerin karyojenik bakterilere karşı iyi etkinlik gösterdiğini belirtmiştir (Freires vd., 2015)

Tarçın kabuğu (*Cinnamomum zeylanicum*)

Cinnamomum cinsi, Lauraceae familyasına ait, yaklaşık 250 türden oluşan bir tür bitkidir. Halk arasında bilinen ismiyle Tarçın kabuğundan

damıtma sırasında uçucu bir yağ elde edilir (Mancini-Filho vd., 1998)

Tarçın kabuğu esansiyel yağının *Streptococcus mutans* KPSK2 ve *Lactobacillus casei* üzerindeki antimikrobiyal etkinliği oldukça güçlü bulunmuştur (Wiwattanarattanabut vd., 2017) Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmanın sonuçlarına göre, tarçın kabuğu esansiyel yağının *C. Albicans* üzerine antifungal; *S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. Sanguinis* üzerine antibakteriyel etkinliği olduğu bulunmuş, ve bu ajanın koruyucu diş hekimliğinde diş çürüğünün önlenmesine yönelik kullanımının uygun olabileceği sonucuna varılmıştır (Yeşil vd., 2018)

Lavanta (*Lavandula angustifolia*)

Lavanta yağının geleneksel olarak, bilinen antimikrobiyal etkilerine ek olarak yatıştırıcı, gaz giderici, anti-depresif ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir (Kajjari vd., 2022)

%30'luk lavanta yağının *S. Mutans*'ın büyümesi üzerindeki inhibitör etkisi 12 ve 24 saatlik zaman aralıklarında %64,9 ve %80,1 olmuştur. (Park. & Yoon., 2018) Kısa sürede bakterisidal aktivite gösteren lavanta yağının koruyucu diş hekimliğinde kullanımında potansiyel bir ajan olabileceği düşünülmektedir.

Zencefil (*Zingiber officinale*)

Yüzyıllardır baharat olarak kullanılan zencefil Hint geleneksel tıp sisteminde en yaygın kullanılan şifalı bitkilerden biridir. Literatürde bu bitkinin, antioksidan, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antinosiseptif, antimutajenik, ve hepatoprotektif gibi çok sayıda farmakolojik aktivitesi ortaya konulmuştur (Hasan vd., 2015).

Zencefilin içeriğinde antioksidan etkili beta karoten, askorbik asit, gingerol, terpenoid, alkaloid ve flavonoid, flavonglikozid gibi polifenoller de bulunmaktadır (Ghasemzadeh ve ark., 2010)

Gingeroller içeriğinde bulunan çok uzun alkil grubu, hidroksil ve metoksifenol grupları sayesinde deterjan benzeri etki göstererek bakterilerin hücre zarlarına zarar vererek hücrel lizise yol açarlar. Metoksifenol aynı zamanda elektronların yerleşimlerini bozan ve antimikrobiyal etkinliği arttıran benzen halkasını içerir. Yapısında bulunan hidroksil grupları ise bakterilerin adenosin trifosfat (ATP) bağımlı metabolik mekanizmaların bozmak suretiyle antibakteriyel etkiyi artırmaktadır (Wang ve ark., 2010).

Buna ek olarak, Zencefil özütünün *S. Mutans*'ın glikoziltransferaz aktivitesini azalttığı ve dolayısıyla bakteriyel adezyonu engelleyebileceği gösterilmiştir (Hasan vd., 2015). Bu sonuçtan yola çıkarak zencefil bileşenlerinin mikrobiyal dental plağın gelişimini ve birikimini modüle etme potansiyeli mevcuttur.

Zencefilin diş çürüğündeki etkinliği yalnızca karyojenik bakterilere karşı antibakteriyel etkinlik göstermesinin yanısıra, in vivo ve in vitro ortamlarda mine yüzeyinde sodyum florür içerikli diş macunları ile benzer remineralizasyon potansiyeline sahip olmasıyla da ortaya konmuştur (Bilgin vd., 2016; Celik vd., 2021)

SONUÇ

Esansiyel yağlar, klorheksidin, triklosan gibi geleneksel mikrobiyositlere faydalı alternatifler olarak florür ile kombinasyon halinde potansiyel olarak kullanılabilir, etkili ve toksik olmayan antibiyofilm moleküllerinin büyük ölçüde keşfedilmemiş bir kaynağı olmaya devam etmektedir. Karyojenik bakterilere antibakteriyel özellikleri gösterilmiş esansiyel yağlara yönelik gerçekleştirilecek ileri çalışmalar, yapıda bulunan fitokimyasalların keşfi ve etki mekanizmalarını ortaya çıkarmayı amaçlamalıdır. Özetle, çeşitli biyolojik aktivitelere sahip zengin yapısal özelliklere sahip birçok doğal ajan günümüzde çürük önleyici olarak kullanılabilir.

KAYNAKÇA

1. Alexa, V. T., Galuscan, A., Popescu, I., Tirziu, E., Obistioiu, D., Floare, A. D., Perdiou, A., & Jumanca, D. (2019). Synergistic/Antagonistic Potential of Natural Preparations Based on Essential Oils Against *Streptococcus mutans* from the Oral Cavity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(22), 4043. <https://doi.org/10.3390/molecules24224043>
2. Alkhayoun, J.D. (2020) The Antimicrobial Effect of Salvia Officinalis Extracts on The Salivary Lactobacilli in Comparison to Chlorhexidin (in vitro study). *Int Med J*, 25(2), 877-884
3. Alnaimat S., Wainwright M., Jaber S., Amasha R. Mechanism of the Antibacterial Action of (Leptospermum scoparium) Oil on Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and E. coli; Proceedings of the 2nd Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants (MESMAP-2); Antalya, Turkey. 22–25 April 2015
4. Alsamri, H., Athamneh, K., Pintus, G., Eid, A. H., & Iratni, R. (2021). Pharmacological and Antioxidant Activities of Rhus coriaria L. (Sumac). *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(1), 73. <https://doi.org/10.3390/antiox10010073>
5. Apatzidou, D.A. (2012) Modern approaches to non-surgical biofilm management. *Front Oral Biol* 15: 99- 116.
6. Bayaz., M. (2014) Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri. *Akademik Gıda* 12(3), 45-53
7. Beheshti-Rouy, M., Azarsina, M., Rezaie-Soufi, L., Alikhani, M. Y., Roshanaie, G., & Komaki, S. (2015). The antibacterial effect of sage extract (Salvia officinalis) mouthwash against Streptococcus mutans in dental plaque: a randomized clinical trial. *Iranian journal of microbiology*, 7(3), 173–177.
8. Benzaid, C., Belmadani, A., Tichati, L., Djeribi, R., & Rouabhia, M. (2021). Effect of *Citrus aurantium* L. Essential Oil on *Streptococcus mutans* Growth, Biofilm Formation and Virulent Genes Expression. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(1), 54. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010054>
9. Bilgin, G., Yanikoglu, F., Tagtekin, D. (2016) Effectiveness of some herbs on initial enamel caries lesion. *Asian Pac J Trop Biomed* 6(10), 846-850.
10. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (Rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(19), 7879–7885. <https://doi.org/10.1021/jf0715323>
11. Bukhari O. M. (2020). Dental Caries Experience and Oral Health Rela-

- ted Quality of Life in Working Adults. *The Saudi dental journal*, 32(8), 382–389. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2019.11.003>
12. Cai, L., & Wu, C. D. (1996). Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of natural products*, 59(10), 987–990. <https://doi.org/10.1021/np960451q>
 13. Celik, Z. C., Yavlal, G. O., Yanıkoglu, F., Kargul, B., Tagtekin, D., Stokey, G. K., Peker, S., & Hayran, O. (2021). Do Ginger Extract, Natural Honey and Bitter Chocolate Remineralize Enamel Surface as Fluoride Toothpastes? An *In-Vitro* Study. *Nigerian journal of clinical practice*, 24(9), 1283–1288. https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_683_20
 14. Chaieb, K., Hajlaoui, H., Zmantar, T., Kahla-Nakbi, A. B., Rouabhia, M., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy research : PTR*, 21(6), 501–506. <https://doi.org/10.1002/ptr.2124>
 15. Chaiya A, Chuakul W, Temsiririrkkul R. Screening for Dental Caries: Preventive Activities of Medicinal Plants against *Streptococcus mutans*. *J Pharm Sci* 2013; 40(1): 9- 17.
 16. Cowan M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
 17. Cowan M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
 18. de Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & de Oliveira, L. D. (2019). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of biomedical science*, 26(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0499-8>
 19. Douglas, M. H., van Klink, J. W., Smallfield, B. M., Perry, N. B., Anderson, R. E., Johnstone, P., & Weavers, R. T. (2004). Essential oils from New Zealand manuka: triketone and other chemotypes of *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry*, 65(9), 1255–1264. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.03.019>
 20. Fayed, M.A.A. (2019) *Mentha Piperita* L. - A Promising Dental Care Herb Mainly Against Cariogenic Bacteria *Universal Journal of Pharmaceutical Research*, 4(3), 33-38
 21. Freires, I. A., Denny, C., Benso, B., de Alencar, S. M., & Rosalen, P. L. (2015). Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 20(4), 7329–7358. <https://doi.org/10.3390/molecules20047329>
 22. Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., & Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules (Basel, Switzer-*

- land*), 15(6), 4324–4333. <https://doi.org/10.3390/molecules15064324>
23. Ghorbani, A., & Esmaeilizadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(4), 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.014>
24. Hasan, S., Danishuddin, M., & Khan, A. U. (2015). Inhibitory effect of zingiber officinale towards Streptococcus mutans virulence and caries development: in vitro and in vivo studies. *BMC microbiology*, 15(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0320-5>
25. Jeon, J. G., Rosalen, P. L., Falsetta, M. L., & Koo, H. (2011). Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. *Caries research*, 45(3), 243–263. <https://doi.org/10.1159/000327250>
26. Julaeha, E., Herlina, T., Nurzaman, M., Mayanti, T., Kurnia, D., Sari, E.F. (2021) The antibacterial effect of β -pinene derived from Citrus aurantifolia peel against oral streptococcus mutans ATCC 25175. *Padjadjaran J Dent*. 33(1), 88-93. <https://doi.org/10.24198/pjd.vol33no1.29200>
27. Kacergius, T.; Abu-Lafi, S.; Kirkliauskiene, A.; Gabe, V.; Adawi, A.; Rayan, M.; Qutob, M.; Stukas, R.; Utkus, A.; Zeidan, M.; et al. Inhibitory Capacity of Rhus coriaria L. Extract and Its Major Component Methyl Gallate on Streptococcus Mutans Biofilm Formation by Optical Profilometry: Potential Applications for Oral Health. *Mol. Med. Rep.* 2017, 16, 949–956, <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6674>
28. Kajjari, S., Joshi, R. S., Hugar, S. M., Gokhale, N., Meharwade, P., & Uppin, C. (2022). The Effects of Lavender Essential Oil and its Clinical Implications in Dentistry: A Review. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 15(3), 385–388. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2378>
29. Kouidhi, B., Zmantar, T. & Bakhrouf, A. Anticariogenic and cytotoxic activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*) against a large number of oral pathogens. *Ann Microbiol* **60**, 599–604 (2010). <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0092-6>
30. Loesche W. J. (1986). Role of Streptococcus mutans in human dental decay. *Microbiological reviews*, 50(4), 353–380. <https://doi.org/10.1128/mr.50.4.353-380.1986>
31. Mancini-Filho, J., Van-Koij, A., Mancini, D.A., Cozzolino, F.F., Torres, R.P., (1998). Antioxidant activity of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Breyne) extracts. *Bollettino Chimico Farmaceutico* 137, 443–447.
32. Mathew, C.; Tesfaye, W.; Rasmussen, P.; Peterson, G.M.; Bartholomaeus, A.; Sharma, M.; Thomas, J. Mānuka Oil—A Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Pharmaceuticals* **2020**, 13, 343. <https://doi.org/10.3390/ph13110343>
33. Mikes, L. M., & Bruns, D. E. (2008). Stabilization of glucose in blood

- specimens: mechanism of delay in fluoride inhibition of glycolysis. *Clinical chemistry*, 54(5), 930–932. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.102160>
34. Oliviera, M.A.C., et al. (2017) Cymbopogon citratus essential oil: effect on polymicrobial caries-related biofilm with low cytotoxicity. *Brazilian Oral Research*. v. 31 <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0089>.
 35. Park, C.M., & Yoon, H. (2018). Anti-bacterial effects of lavender and peppermint oils on *Streptococcus mutans*. *Journal of Korean Academy of Oral Health*, 42, 210-215.
 36. Pitts, N. B., Zero, D. T., Marsh, P. D., Ekstrand, K., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., Tagami, J., Twetman, S., Tsakos, G., & Ismail, A. (2017). Dental caries. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17030. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>
 37. Shah, G., Shri R., Panchal, V., Sharma, N., Singh, B. & Mann, A.S. (2011) Scientific basis for the therapeutic use of Cymbopogon citratus, stapf (Lemon grass), J. Adv. Pharm. Technol. Res., 2(1), 3–8.
 38. Takarada, K., Kimizuka, R., Takahashi, N., Honma, K., Okuda, K., & Kato, T. (2004). A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral microbiology and immunology*, 19(1), 61–64. <https://doi.org/10.1046/j.0902-0055.2003.00111.x>
 39. Thaweboon, S.; Thaweboon, B. In vitro antimicrobial activity of Ocimum americanum L.essential oil against oral microorganisms. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 2009, 40,1025–1233
 40. Vahid-Dastjerdi, E.; Sarmast, Z.; Abdolazimi, Z.; Mahboubi, A.; Amdjadi, P.; Kamalinejad, M. Effect of Rhus coriaria L. Water Extract on Five Common Oral Bacteria and Bacterial Biofilm Formation on Orthodontic Wire. *Iran J. Microbiol.* 2014, 6, 269–275.
 41. Wang, H. M., Chen, C. Y., Chen, H. A., Huang, W. C., Lin, W. R., Chen, T. C., Lin, C. Y., Chien, H. J., Lu, P. L., Lin, C. M., & Chen, Y. H. (2010). Zingiber officinale (ginger) compounds have tetracycline-resistance modifying effects against clinical extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Phytotherapy research : PTR*, 24(12), 1825–1830. <https://doi.org/10.1002/ptr.3201>
 42. Wiwattanarattanabut, K., Choonharuangdej, S., & Srithavaj, T. (2017). In Vitro Anti-Cariogenic Plaque Effects of Essential Oils Extracted from Culinary Herbs. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, 11(9), DC30–DC35. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/28327.10668>
 43. Yeşil, M., Yeşil-Duymuş & Z., Özcan, M. (2018) Determination of antifungal and antibacterial activity of Cinnamomum zeylanicum and Acmella oleracea essential oils. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.*, 28(3), 348-352

“

Bölüm 15

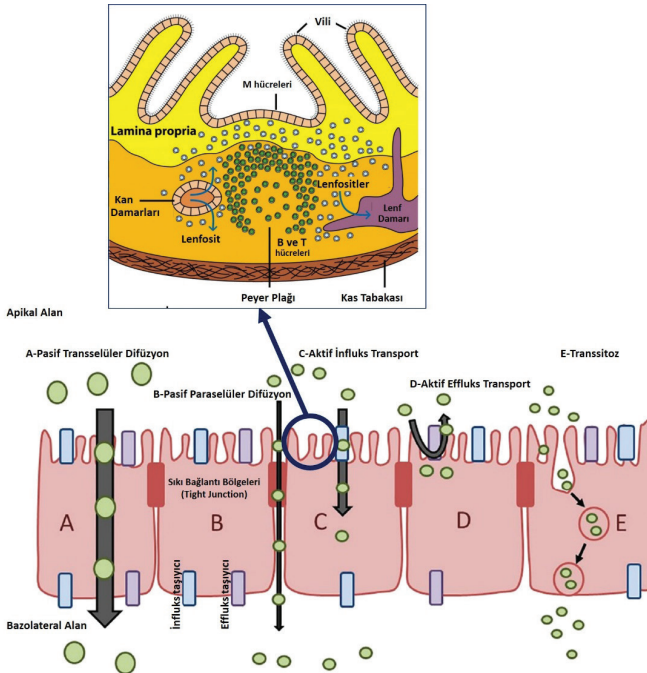
***In vitro* İNTESTİNAL PERMEABİLİTE BELİRLEME YÖNTEMLERİ**

Burcu TİMUR¹

”

¹ Arş. Gör. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 67600, Zonguldak Türkiye, burcutimur@beun.edu.tr, <https://orcid.org/0000-0002-3622-0414>

İntravenöz, intramusküler ve subkütan uygulamaya yönelik onaylı dozaj formlarının artışına rağmen, oral yol farmakoeкономи, hasta uyuncu ve güvenlik etkenleri ile en çok tercih edilen ilaç uygulama yolu olmaya devam etmektedir. Oral olarak uygulanan ilacın emilerek sistemik dolaşıma geçmesinde büyük bir engel bağırsak mukozasıdır. Emilimin büyük bir çoğunluğu bağırsakta meydana geldiği için midenin ilaç emilimi üzerindeki etkisi azdır. İnce bağırsak duodenum (%5), jejunum (%50) ve ileum (%45) olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Emilim için bir engel teşkil eden ince bağırsak bariyeri, destek işlevi gören lamina propria üzerine yerleşmiş tek tabakalı epitel hücrelerden oluşmaktadır. (Nunes, Silva, & Chaves, 2016). Bu epiteldeki villus ve mikrovillusların varlığı bağırsak mukozasının yüzey alanını önemli ölçüde artırarak ince bağırsağı emilim için önemli bir bölge haline getirir (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018). Villusları örten epitel, absorptif özellikteki enterositler, mukus salgılayan goblet hücreleri, hormon ve bazı peptitlerin üretimini sağlayan endokrin hücreler, insan vücudunun en büyük lenfoid dokusunu oluşturan M hücreleriyle kaplı Peyer plakları gibi heterojen hücreler ve yapılardan oluşmaktadır (Şekil 1) (Dağdeviren & Ünver-Saraydın, 2020; Nunes et al., 2016).



Şekil 1. İnce bağırsağın şematik gösterimi ve ilaç taşıma yolları (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018; Kindt, Goldsby, Osborne, & Kuby, 2007)

İntestinal epitelden ilaç emilimi paraselüler ve transselüler olmak üzere temel olarak iki şekilde gerçekleşmektedir (Şekil 1) (Zakeri-Milani et al., 2007). İlacın bağırsakta taşınma yolu Lipinski'nin beş kuralında belirttiği gibi ilacın fizikokimyasal özellikleriyle birebir ilişkilidir (Lipinski, 2000). Örneğin, lipofilik ilaçlar pasif transselüler difüzyon ile emilirken, daha küçük ve hidrofilik yapıya sahip ilaçlar için pasif paraselüler difüzyon yoluyla emilim gerçekleşir (Şekil 1). Paraselüler taşıma çoğunlukla sıkı bağlantı bölgeleri tarafından kısıtlanır. Bu taşıma ile su, çözünmüş moleküller ve iyonlar taşınmaktadır. Pasif paraselüler difüzyonun ilaç emilimine katkısının, bu alanın toplam bağırsak mukozasının %0.1'inden azını oluşturduğu için, düşük olduğu bilinmektedir (Zhu et al., 2017). Bazı ilaçlar, makromoleküller ve proteinler ise transselüler yoldan enerji bağımlı olarak aktif taşıma (taşıyıcı aracılı veya transsitoz) ile emilir. Effluks taşıyıcılar (P-glikoprotein, P-gp) ise ilacı epitel hücrelerinin luminal tarafına aktif taşıma ile geri göndererek intestinal ilaç absorpsiyonunu sınırlandırmaktadır. Transsitozda ise ilaç molekülleri hücre membranından oluşan vezikül ile luminal taraftan serozal tarafa iletilir (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018).

Biyoyararlanım oral olarak uygulanan bir ilaç için kan dolaşımına geçiş hızı ve miktarı olarak tanımlanmaktadır. Bir ilacın biyoyararlanımı ise ilacın molekül ağırlığı ve büyüklüğü, mide-bağırsak sıvılarındaki çözünürlüğü ve çözünme hızı, lipofilitesi, pKa, iyonizasyon derecesi gibi fizikokimyasal faktörlere, mide-bağırsak kanalında taşınma süresi, mide boşalım hızı, mide-bağırsak sıvılarının pH'ı, bağırsak segmentlerindeki kan akış hızı gibi fizyolojik faktörlere, mide-bağırsak kanalındaki mukozal yapının permeabilitesi (ilaç molekülünün membranın bir tarafından diğer tarafına geçebilmesi), taşıyıcı ve reseptörler gibi anatomik faktörlere, ilacın effluks taşıyıcılar için substrat olması ve ilk geçiş etkisine uğrayarak metabolize olması gibi biyokimyasal faktörlere, dozaj formundan ilaç salımı, emilim artırıcı gibi yardımcı maddelerin kullanılması gibi formülasyon faktörlerine bağlıdır ve bu faktörler tarafından kontrol edilmektedir (Nunes et al., 2016; Zakeri-Milani et al., 2007).

İlaç geliştirme çalışmalarında ilacın oral biyoyararlanımı ve emilen ilaç miktarının tahmin edilmesi önem taşımaktadır. Klinik çalışmalara geçilmeden önce dozaj şekilleri ve ilaç taşıyıcı sistemlerin ilacın bağırsak permeabilitesi üzerine etkisi *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* yöntemler kullanılarak değerlendirilmektedir (Xu, Shrestha, Préat, & Beloqui, 2021). Permeabilite çalışması, ilaç, dozaj şekli veya taşıyıcı sistem geliştirmede vazgeçilmez bir araç olmuştur. Bu bölümde *in vitro* intestinal permeabilite yöntemleri açıklanacaktır.

1. *In vitro* İntestinal Permeabilite Yöntemleri

In vitro modeller, ilaç etkin maddelerinin seçimi veya yenilikçi formülasyon geliştirme aşamalarında *in vivo* potansiyel davranışı tahmin etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. *In vitro* yöntemler hücre temelli olmayan (noncell-based) ve hücre temelli (cell-based) yöntemler olmak üzere ikiye ayrılır. Bu modellerin ana avantajları hızlı sonuç elde edilmesi, maliyetin düşük olması, kolay sistem kurulumu ve insan mide-bağırsak ortamına bir miktar benzerlik sağlamalarıdır. *In vitro* yöntemler ilaç geliştirme aşamalarında hayvan kullanımını azalttığı için etik açıdan da faydalıdır. Ancak mevcut *in vitro* yöntemlerin hiçbiri insan bağırsak ortamını tamamen taklit edemez. Bu yöntemler mukus tabakasının yokluğu ve peristaltizm yetersizliği gibi bağırsak anatomik ve fizyolojik özelliklerinden kısmi olarak yoksundur.

In vitro yöntemler ile ilaçların bağırsak bariyerini geçme yeteneğini tahmin etmek için görünür permeabilite katsayısı (the apparent permeability coefficient, P_{app}) kullanılmaktadır. P_{app} , cm/s olarak ifade edilir ve aşağıda verilen eşitlik (1) ile hesaplanmaktadır.

$$P_{app} = \frac{dQ}{dt \times A \times C_0} \quad (1)$$

Bu eşitlikte dQ/dt ilaç taşınım hızını ($\mu\text{g/s}$), A membran alanını (cm^2), C_0 verici hücredeki başlangıç ilaç konsantrasyonunu ($\mu\text{g/mL}$ veya $\mu\text{g/cm}^3$) ifade etmektedir.

1.1. Hücre temelli olmayan (noncell-based) yöntemler

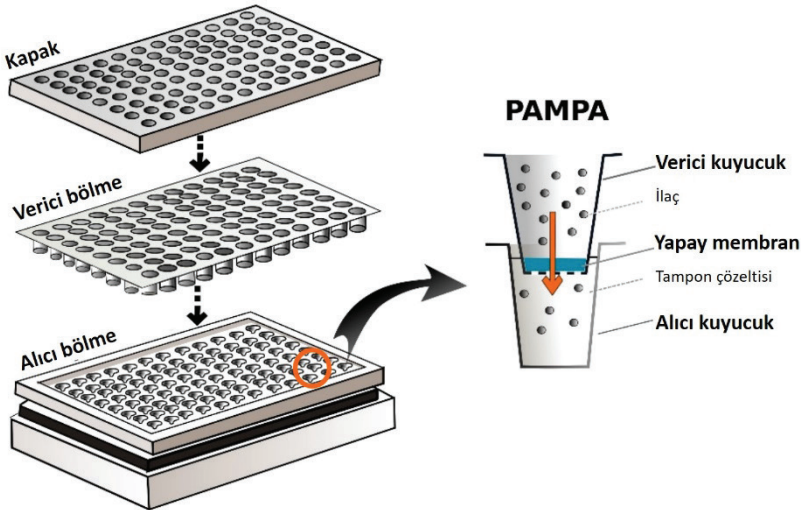
Yeni geliştirilen ticari ilaç etkin maddelerin çoğu lipofilik özellikte ve büyük yapıya sahip olup pasif transselüler difüzyona uğrayarak emilmektedirler. Bu durum zaman ve maliyet açısından avantajlı hücre temelli olmayan yöntemlerin geliştirilmesi ve bağırsakta ilaç taşınmasının hızlı bir şekilde değerlendirilmesini sağlamıştır. Ek olarak, hücre temelli yöntemlerde karşılaşılan zaman alıcı ve pahalı sistem kurulumu, hücre kültürü ile elde edilmiş hücre dizilerinin hassasiyeti nedeniyle belirli farmasötik yardımcı maddelerle geçimsiz olması, farklı kültür koşulları ve hücre pasajlarından kaynaklı laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası değişkenlik gibi kısıtlamaların üstesinden gelmektedir. Ancak hücre temelli olmayan yöntemler paraselüler ve aktif taşınmasının tahmini için uygun değildir (Xu et al., 2021).

Membran bileşimine bağlı olarak hücre içermeyen sistemler fosfolipitlerden oluşan biyomimetik yöntemler ve diyaliz membranı içeren biyomimetik olmayan yöntemler olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır (Beben, Bauer-Brandl, et al., 2018). Biyomimetik yöntemler ise paralel yapay membran permeabilite yöntemi (PAMPA), vezikül temelli permeasyon

yöntemi (PVPA) ve PermeaPad® yöntemlerini içermektedir (Bermejo et al., 2004; Bibi, Di Cagno, Holm, & Bauer-Brandl, 2015; Naderkhani, Vas-skog, & Flaten, 2015).

1.1.1. Paralel yapay membran permeabilite yöntemi (PAMPA)

PAMPA, n-dodekan, hekzadekan veya 1,9-dekadien gibi organik bir çözücü içinde çözünmüş fosfolipit ile kaplı hidrofobik filtre (polivinili-den florürden (PVDF) yapılmış 0.22 µm veya 0.45 µm gözenek boyutuna sahip Durapore® veya Millipore®) içeren membran ve 96 kuyucuklu pla-ka düzeneğinden oluşmaktadır (Kansy, Senner, & Gubernator, 1998). Bu membran, alıcı ve verici bölmelerini ayırarak pasif transselüler taşımayı taklit etmektedir (Bermejo et al., 2004). Şekil 2’de PAMPA yöntemi şema-tik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. PAMPA yöntemi ve 96 kuyucuklu plaka düzeneği (Ponmozhi et al., 2021)

PAMPA yöntemini ilk kez tanıtan Kansy ve arkadaşları farklı pH de-ğerlerinde (pH 6.5 ve pH 7.4) test edilen ilaç etkin maddelerinin PAMPA akı değerlerini ölçerek insanlarda emilen ilaç fraksiyonu ile ilişkilendir-miştir (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018). Test edilen ilaç etkin madde-lerinin yaklaşık %80’inin *in vivo* ortamdaki emilim özelliği doğru olarak tahmin edilmiştir. Ancak PAMPA yönteminde lipofilik bileşiklerin zarda tutulması, aktif taşıyıcılar ile taşınan bileşiklerin yanı sıra hidrofilik ve mo-lekül ağırlığı 250 g/mol’den küçük ilaç etkin maddelerin paraselüler yol-dan taşınmasının tahmin edilememesi gibi sorunlar mevcuttur (Xu et al., 2021). Bu yöntem ile *in vivoda* pasif transselüler yol ile emilen ilaç etkin maddelerinin permeabilite çalışmalarının hızlı bir şekilde yürütülebilmesi için uygundur. (Kansy et al., 1998).

Hücre zarının fosfolipit bileşiminin büyük bir çoğunluğunu fosfatidilkolin oluşturmaktadır. Bu nedenle memeli hücre zarını simüle etmek için Kansy ve arkadaşları ağırlıklı olarak fosfatidilkolin içeren konsantrasyonu %1-20 arasında değişen yumurta lesitini kullanmıştır (Kansy et al., 1998). Son yıllarda ise fosfolipit bileşimi ve konsantrasyonu, organik çözücü tipi, alıcı/verici hücre pH'ı, hidrofobik membran materyali ve sink koşulunun varlığı gibi parametreler değiştirilerek birkaç alternatif PAMPA modeli geliştirilmiştir. Bunlara örnek olarak hegzadekan membran-PAMPA (HDM-PAMPA), biyomimetik-PAMPA (BM-PAMPA), dioleoilfosfatidilkolin-PAMPA (DOPC-PAMPA), kan-beyin bariyeri PAMPA (BBB-PAMPA), deri-PAMPA (PAMPA-skin) ve Double-Sink™ PAMPA (PAMPA-DS) verilebilir (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018; Yedikaya & Badıllı, 2021).

İlaç etkin maddeleri veya formülasyonlar transselüler yol ile taşındığında apikal ve bazolateral taraf olmak üzere iki lipit çift tabakalı membranı geçmesi gerekmektedir. Çoğu PAMPA modeli ise tek bir lipit çift tabakası içerir ve bu tabakadan permeabiliteyi incelemektedir. Kataoka ve arkadaşları ise iki membran arası hücre içi boşluğu taklit eden çift yapay membran permeabilite sistemi (DAMPA) kurmuştur. Geleneksel PAMPA'ların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, DAMPA sonuçları belirli düzeyde gelişmiş doğruluk göstermiştir (Kataoka et al., 2014).

1.1.2. Vezikül temelli permeasyon yöntemi (PVPA)

Bağırsak epitelini daha iyi taklit etmek için Flaten ve arkadaşları lipozom ile doyurulmuş filtre membranı geliştirmiştir. Bu yöntemde bağırsak hücre zarının fosfolipit çift tabakası lipozom ile taklit edilmiştir (Flaten, Dhanikula, Luthman, & Brandl, 2006). Membran gözenekleri içinde ve membran yüzeyinde fosfolipitten oluşan lipozomlar mevcuttur. Şekil 3'te gösterildiği gibi membran üzerinde memeli hücre zarı yapısındaki biyolojik bariyeri taklit etmek için büyük ve çok tabakalı sıkı bir lipozom tabakası ve membranın gözeneklerine santrifüjleme ile yerleştirilen daha küçük boyutlu tek tabakalı lipozomlar vardır (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018; Flaten, Bunjes, Luthman, & Brandl, 2006).



Şekil 3. PVPA yöntemi (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018; Flaten, Bunjes, et al., 2006)

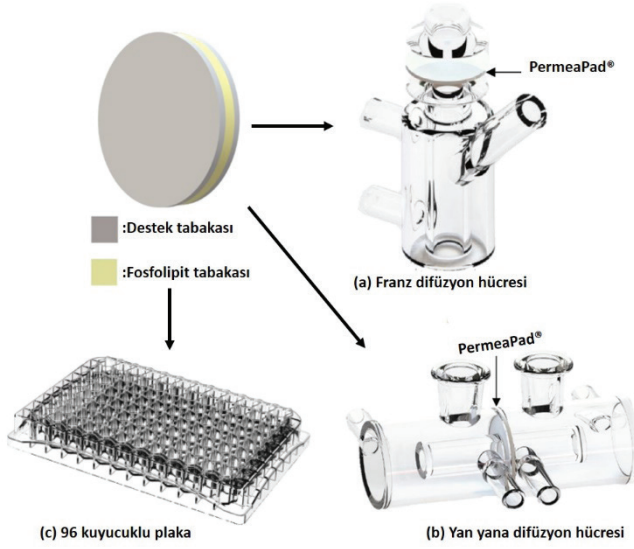
Çalışmalarda farklı ilaç ve formülasyonların bağırsak epiteli boyunca pasif taşınmasının araştırılması için PVPA modeli kullanılmıştır. PVPA yönteminden elde edilen görünür permeabilite katsayıları ile insanlarda emilen ilaç fraksiyonu arasında iyi bir korelasyon elde edildiği bildirilmiştir. Veriler, PVPA yönteminin PAMPA modelinden daha iyi taklit sağladığı ve hücre temelli yöntemlerden biri olan Caco-2 modeli kadar iyi bir performansa sahip olduğunu göstermiştir (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018; Xu et al., 2021).

PVPA modelini geliştiren Flaten ve arkadaşları daha sonraki çalışmalarında bağırsak yapısını elektriksel yük açısından daha iyi taklit etmek için negatif yüklü lipozomlar kullanmıştır (Naderkhani, Isaksson, Ryzhakov, & Flaten, 2014). Ayrıca *in vivo* ortamda bağırsak epiteli de dahil olmak üzere mukozal yüzeyleri kaplayan ve emilim için ilk bariyer olan mukus tabakasını taklit etmek için lipozomdan oluşan membran üzerine mukus tabakası ekleyerek yeni bir mukus-PVPA modeli geliştirmişlerdir. Bu modelin farklı kimyasal yapı ve özelliklere sahip ilaç etkin maddelerinin ve kitozan kaplı lipozom (mukoadezif) ile PEG'ile lipozom (mukopenetran) yapılarının potansiyel penetrasyon farklılıklarını ortaya çıkarmada etkili olduğu görülmüştür (Falavigna et al., 2018).

1.1.3. PermeaPad®

Di Cagno ve arkadaşları pasif transselüler ilaç taşınmasını belirlemenin hızlı, ekonomik ve güvenilir bir yolu olan başka bir biyometetik membran PermeaPad®'i geliştirmiştir. PermeaPad®, PAMPA ve PVPA biyometetik yöntemlerin aksine selüloz hidrat yapılı iki membran tabakası arasında kuru fosfolipitlerden oluşmuş sandviç benzeri bir yapı olarak tasarlanmıştır (Şekil 4). Kuru lipit kristalleri su ile temas ettiğinde dakikalar içinde şişerek hücre zarını taklit eden ara su ve fosfolipit çift tabakayı oluşturur. Sandviç benzeri yapı fosfolipit tabakasının aşınmasını ve lipitlerin sulu ortama sızmasını önlediğinden PAMPA ve PVPA modelleriyle karşılaştırıldığında pH değişikliklerine karşı daha dirençlidir (Xu et al., 2021). pH değişikliğinin yanı sıra PermeaPad® yönteminin düşük çözünürlük ve permeabiliteye sahip ilaçların *in vitro* testlerinde sıklıkla kullanılan *in vivo* açlık ve tokluk durumunu taklit eden biyoyumlu ortam içeriklerine, yardımcı çözücü ve yüzey etkin maddelere karşı stabilitesi de incelenmiştir. Yüzey etkin madde ve yüksek konsantrasyonlarda dimetilsülfoksit çözeltilisi dahil olmak üzere yardımcı çözücülerin varlığında ilaç etkin maddelerinin permeabilitelerini değerlendirmek için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Bibi et al., 2015).

Bu sistem franz difüzyon hücrelerinde (Şekil 4a) veya yan yana difüzyon hücrelerinde PermeaPad® Barrier (Şekil 4b) ve yüksek hızda tarama sağlayan 96 kuyucuklu plaka düzeneği halinde PermeaPad® Plate (Şekil 4c) şeklinde kullanılmaktadır.



Şekil 4. PermeaPad® yönteminin şematik gösterimi (Berben, Bauer-Brandl, et al., 2018; PermeaPad®)

Di Cagno ve arkadaşları PermeaPad®'i ilaç permeabilitesini tahmin etme açısından değerlendirmiştir. Bir dizi bileşik için Caco-2 ve PAMPA literatür P_{app} değerleri ile PermeaPad® yöntemi ile elde edilen P_{app} verileri arasında yüksek korelasyon gözlemlemişlerdir (Di Cagno, Bibi, & Bauer-Brandl, 2015).

1.1.4. Yapay membran temelli sistemler

Selüloz membranlar dozaj şeklinden veya ilaç taşıyıcı sistemden ilaç etkin maddelerinin salımını incelemek için sıklıkla kullanılmaktadır. 12-14 kilodalton (kDa) moleküler sınıra sahip selüloz membranlar misel ve koloidal yapılar için geçirgen değildir. Ancak Berben ve arkadaşları tarafından 2 kDa ve 25 kDa moleküler sınıra sahip ve fosfolipit içermeyen selüloz membranlar permeabilite çalışmaları için kullanılmıştır (Berben, Brouwers, & Augustijns, 2018a, 2018b). İki plastik halka arasına selüloz membran yerleştirilerek insan bağırsak sıvısını taklit eden tampon çözeltisi kullanarak farklı fizikokimyasal özelliğe sahip bileşikler için permeabilite çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem ile elde edilen sonuçlar Caco-2 hücre modeli ile iyi bir korelasyon göstermiştir (Berben, Brouwers, et al., 2018b).

Yukarıda açıklanan hücre temelli olmayan yöntemler ilaç geliştirme çalışmalarında umut verici olarak görülse de karmaşık yapıya sahip, sıkı bağlantı bölgeleri, organel, reseptör ve taşıyıcıları içeren bağırsak epitelinin ve aktif taşıma veya paraselüler taşıma gibi karmaşık taşıma mekanizmalarını yeterince simüle edememekte olup tamamen pasif difüzyona dayanmaktadır.

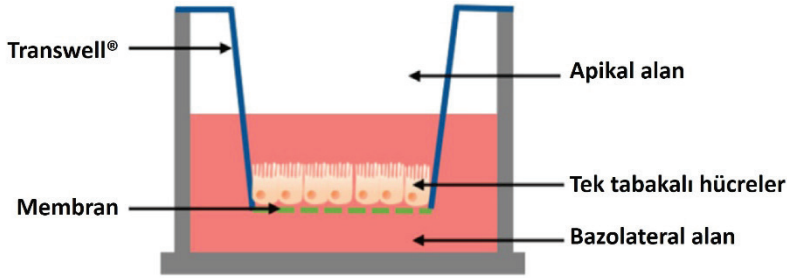
1.2. Hücre temelli (cell-based) yöntemler

Enterositler, goblet hücreleri ve M hücreleri dahil olmak üzere çok çeşitli hücreler insan bağırsak epitelinin lümen yüzeyini kaplamaktadır. Bağırsak epitel yapısının hücre çeşitliliğini *in vitro* olarak taklit etmek için hayvan veya insanların tümöral veya sağlıklı dokularından türetilen immortalize hücre hatları kullanılmaktadır (Xu et al., 2021). Hücre temelli olmayan *in vitro* modellerin aksine hücre temelli yöntemlerde transselüler taşımaya ek olarak paraselüler taşıma ve taşıyıcı aracılı aktif taşıma gibi mekanizmalar mevcuttur ve ilaçların taşıma mekanizmaları belirlenebilmektedir (Sarmiento et al., 2012). *In vivo* bağırsak epitelin heterojen yapısı çeşitli hücre hatları kullanılarak taklit edilebilmektedir. Örneğin Caco-2 hücreleri (insan kolorektal karsinoma hücre hattı) tek tabaka halinde büyüterek enterosit benzeri bir morfoloji sağlarken HT29-MTX hücreleri (insan kolorektal karsinoma hücre hattı) goblet hücrelerine benzer şekilde mukus tabakası üretmektedir (Sarmiento et al., 2012).

In vitro hücre temelli yöntemler basit monokültür modellerden üç boyutlu (3B) çok kültürlü modellere kadar geniş ölçektedir. Basit modellerde tek bir hücre hattı kullanılarak bağırsağın tek bir hücre tipi taklit edilirken gelişmiş yöntemlerde insan bağırsak epiteline çok daha benzer *in vitro* modeller oluşturmak için ko-kültür/üçlü kültür, 3B kültür modelleri ve mikroakışkan tabanlı yöntemler kullanılmaktadır. *In vitro* hücre temelli yöntemleri Transwell® temelli yöntemler, membran vezikülleri ve mikroakışkan temelli sistemler olarak üçe ayırmak mümkündür.

1.2.1. Transwell® temelli yöntemler

Transwell® ilaçların permeabilitesini incelemek için kullanılan bir araçtır. Bu sistem farklı por büyüklüklerinde (0.4 – 3 µm) üretilen ve 10 µm kalınlığa sahip poliester veya polikarbonattan yapılmış membrandan oluşmaktadır (Pereira, Costa, Sarmiento, & Araújo, 2016; Xu et al., 2021). Bu sistemde hücreler membran üzerine ekilerek çoğaltılır. Tekli veya çoklu hücre ekiminin yapıldığı membran, *in vivo* bağırsak ortamında sırasıyla bağırsak lümenine ve submukozaya karşılık gelen apikal alanı bazolateral alandan ayırmaktadır (Şekil 5). Böylece *in vivo* bağırsak ortamını daha gerçekçi şekilde temsil etmektedir (Sarmiento et al., 2012).



Şekil 5. Transwell® sistemi içeren hücre temelli yöntemlerin şematik gösterimi (Xu et al., 2021)

Transwell® temelli hücre modelleri monokültür modelleri (enterosit benzeri Caco-2 modeli), ko-kültür modelleri (mukus salgılayan modeller ve folikülle ilişkili epitel modelleri), üçlü kültür modelleri (Caco-2, HT29-MTX ve Raji B üçlü kültürü), 3B modeller (kollajen temelli 3B ko-kültür modelleri) ve inflamasyonlu bağırsak modellerini (Caco-2 ve proinflamatuar faktörler) içermektedir (Xu et al., 2021).

Caco-2 monokültür modeli

Caco-2, bağırsak epitel bariyeri taklit etmek için en yaygın kullanılan hücre hattıdır. Başlangıçta insan kolorektal adenokarsinom hücrelerinden türetilmiş olmasına rağmen kültürde ince bağırsak enterositlerine benzer özelliklerle farklılaşabilir ve polarize olabilirler. *In vitro* enterosit benzeri hücre yapısı modelinin oluşturulması için Caco-2 hücreleri 10^5 hücre/cm² olacak şekilde Transwell® membranı üzerine ekilir ve 21 gün boyunca kültürlenir. Kültür sonunda apikal mikrovillus, membran taşıyıcıları ve iki bitişik hücre arasında sıkı bağlantı bölgeleri (TJ) ve P-gp effluks taşıyıcısına sahip, yapısal ve fonksiyonel olarak *in vivo* bağırsak enterositlerine benzer olacak şekilde farklılaşırlar (Sarmiento et al., 2012; Xu et al., 2021).

Caco-2 hücreleri bağırsak hücrelerinde ekspres edilen disakkaridaz ve peptidaz gibi çeşitli enzimleri de taşımaktadır. Ancak insan gastrointestinal sistemde önemli metabolik enzim olan CYP3A4'ü içermezler (Ungell, 2004). Caco-2 hücreleri pasif transselüler taşımada dahil olmak üzere farklı yollarla ilaç taşınmasının tahmini için kullanılabilir. Ancak hücre hatlarında sıkı bağlantı bölgelerinin açıklığı daha dar (3.7 ± 0.1 Å) olduğu için *in vivo* insan bağırsağına göre daha az geçirgendir (Pereira et al., 2016; Sarmiento et al., 2012; Sun, Chow, Liu, Du, & Pang, 2008).

Caco-2 hücre hattının kültür süresini kısaltmak için kültür ortamının bileşimine büyüme faktörleri ve hormon eklemek gibi çok sayıda değiştirilmiş protokol geliştirilmiştir. Bu protokoller ile kültür süresi 21 günden 3-7 güne düşürülebilir. Ancak bu hızlandırılmış kültür modelleri sıkı bağlantı bölgelerinin oluşmasına zaman tanımayabilmektedir (Pereira et al., 2016).

Caco-2 hücreleri ilaç ve nanopartikül, misel, lipit temelli sistemler gibi çeşitli ilaç taşıyıcı formülasyonların emilimini tahmin etmek için kullanılmış ve pek çok çalışma Caco-2 hücre hattının permeabilite değerlendirmek için iyi bir *in vitro* yöntem olduğunu göstermiştir (Xu et al., 2021). Caco-2 hücre hattının dezavantajı ise hücre performansının kültür koşullarından etkilenmesi ve laboratuvar içi/arası değişkenlik göstermesidir.

Caco-2 monokültür modeli alternatifleri

Caco-2 hücre heterojenliğinin üstesinden gelmek ve daha iyi *in vivo* bağırsak fenotiplerini artırmak için alternatif insan ve insan olmayan hücre hatları kullanılmıştır. Geliştirilen alternatifler arasında Caco-2 hücre hattının bir alt klonu olan TC-7 hücreleri (insan kolorektal karsinoma hücre hattı) en çok kullanılan ikinci hücre hattı olmuştur. TC-7 hücreleri, Caco-2 hücrelerine benzer olarak fırçamsı kenar olarak da isimlendirilen mikrovilluslara ve sıkı bağlantı bölgelerine sahiptir (Sarmiento et al., 2012). Ancak daha gelişmiş sıkı bağlantı bölgelerine sahip ve daha homojen bir hücre hattıdır. Ayrıca bu hücreler, Caco-2 hücre hattı aksine CYP enzimlerini, özellikle bağırsak epitelinde yüksek oranda eksprese edilen ve birçok ilacın metabolizasyonunda görev alan CYP3A4 enzimini eksprese eder (Carrière et al., 1994). P-gp ekspresyonu ise Caco-2 hücrelerine göre daha düşüktür (Turco et al., 2011). Gres ve arkadaşları TC-7 hücrelerini, Caco-2 hücre hattının yerini alabilecek güvenilir adaylar olarak tanımasına rağmen son yapılan çalışmalar TC-7 hücrelerinin emilimi zayıf, lipofilik, taşıyıcı aracılı aktif taşımaya sahip ve ilk geçiş metabolizasyonuna uğrayan ilaçlar için uygun olmadığını göstermiştir (Grès et al., 1998; Turco et al., 2011).

Sıçan duodenum hücrelerinden köken alan 2/4/A1 hücreleri ise Caco-2 alternatiflerinden biridir. İnsan bağırsak hücrelerine benzer boyutta sıkı bağlantı bölgeleri ile birbirine bağlanır. Bu hücre hattında aktif taşıma mevcut değildir. İnsan bağırsağı ile karşılaştırılabilir olarak sadece paraselüler taşımının mevcut olması kullanımını sınırlandırmaktadır (Ungell, 2004).

Sıçan ince bağırsak kriptlerinden köken alarak türetilen IEC-18 hücreleri ilaçların veya formülasyonların davranışını tahmin etmek için *in vitro* hücre modeli olarak kullanılmıştır. Polarizasyon, farklılaşma yetenekleri ve permeabilite özellikleri ile insan ince bağırsağına benzerlik göstermektedir. Bu hücre hattı paraselüler taşımayı incelemek için değerli bir model olarak görülmektedir (Sarmiento et al., 2012).

MadineDarby köpek böbreği (MDCK) hücre hattı Caco-2 hücrelerine alternatif olarak pek çok araştırmada kullanılan hücrelerdir. Kültürlenme süresi Caco-2 hücrelerine göre daha kısa olup 3-4 gündür (Ungell, 2004). Bu hücreler ile pasif ve aktif taşıma modelleri incelenebilir (Sarmiento et al., 2012). Ancak MDCK hücre hattı ile Caco-2 hücre hattı arasındaki

korelasyon özellikle pasif olarak emilen ilaçlar için yüksek bulunmuştur (Pereira et al., 2016). Caco-2 hücreleri insan kolorektal karsinoma hücrelerinden köken alırken MDCK hücreleri köpek böbrek hücrelerinden köken almaktadır. İnsan ve bağırsak dışı kökenli olması, bazı taşıyıcı ekspresyon seviyelerinin farklı olması gibi dezavantajlara sahiptir (Sarmento et al., 2012).

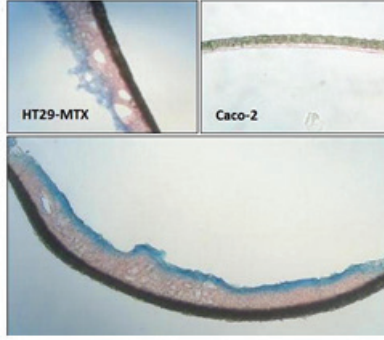
IPEC-J2 domuz bağırsak enterositlerinden köken alan hücre hattıdır. IPEC-J2 hücreleri, insan fizyolojisini mevcut diğer insan dışı hücre hatlarından daha iyi taklit etmektedir. Kültür ortamına eklenen serum tipi ayarlanarak düşük veya yüksek elektriksel direnç ile uygun polarize IPEC-J2 hücreleri oluşturulabilmektedir (Xu et al., 2021).

Ko-kültür modelleri

Bağırsak epitel hücreleri temel olarak enterositlerden oluşmasına rağmen diğer hücrelerde ilaç emiliminde ve taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Bu amaçla kullanılan ko-kültür modelleri aşağıda açıklanmıştır.

Caco-2/HT29-MTX model

Goblet hücreleri tarafından salgılanan mukus tabakası ilaç veya formülasyonların emilimde karşılaştıkları engellerden biridir. Caco-2 ile benzer olarak insan kolorektal adenokarsinomasından köken alan HT29 hücrelerinin metotreksat (MTX) içeren bir ortamda kültürlendiğinde P-gp eksprese etmeyen ve mukus üreten goblet hücrelerine farklılaşabildiği Lesseffur ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir (Lesuffleur, Barbat, Dussaulx, & Zweibaum, 1990). Bu sayede Caco-2 ve mukus üreten HT29 hücre hatları ile oluşturulan model (Şekil 6) mukusun ilaç taşınması üzerindeki etkisini dahil ederek daha öngörülebilir deneysel sonuçlar sağlayabilir (Mahler, Shuler, & Glahn, 2009). Caco-2/HT29-MTX ko-kültür modeli, Caco-2 hücreleri kadar dar sıkı bağlantı bölgeleri oluşturmadığı için paraselüler taşımayı artırarak *in vivo* insan bağırsağına daha yakından taklit etmektedir. Bu model goblet hücrelerini hedefleyen ilaç taşıyıcı sistemleri, mukusa nüfuz eden nanopartikülleri ve mukoadhezif sistemleri değerlendirmek için kullanılmıştır (Xu et al., 2021).



Şekil 6. *Caco-2 ve HT29-MTX hücre hatlarının ortak kültürü ile elde edilen mukus tabakası (Béduneau et al., 2014)*

hattının karıştırılmasının tekdüze olmaması ve ortak kültürde mukus içermeyen alanların oluşumudur. Bunu önlemek için HT29-MTX'in alt klonu olan HT29-MTX-E12 kullanılmış ve insan bağırsağına benzer sıkı bağlantı bölgeleri ve mukozal tabaka kalınlığı ile homojen hücre tabakaları oluşturulabildiği gözlenmiştir (Behrens, Stenberg, Artursson, & Kissel, 2001). Ancak HT29-MTX-E12 hücre hattının mukus bileşimi bağırsaktan çok mideye benzemektedir.

Caco-2/Raji B model

M hücreleri ince bağırsaktaki Peyer plaklarının folikülle ilişkili epitelinde bulunan özelleşmiş hücrelerdir. Bu hücreler yüksek endositoz yapabilme özelliğine sahiptir. Luminal içerikten örnekleme, antijen/patojenleri transsitoz ile luminal alandan subepitel bölgeye taşıma, immün cevap oluşmasını sağlayarak patojenlere karşı koruma sağlar (Sauls & Taylor, 2021). Bu nedenle M hücreleri hedeflendirme amacıyla kullanılmaktadır. Çeşitli ilaç taşıyıcı sistemler bu hücreler aracılığıyla tutulup lenf sistemine geçebilir. Bu durum Caco-2 hücrelerinin M hücre fenotipini sağlayan hücre hattı ile ortak kültürün gerekliliğini ortaya koymuştur.

İlk M hücre benzeri model Kernéis ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bazolateral tarafı Caco-2 hücre hattı içeren Transwell® sisteminin üst bölümüne fare Peyer plaklarından izole edilen lenfositler eklenerek oluşturulmuştur. Kültür sonrası M hücrelerinin varlığı gözlenmiştir (Kernéis, Bogdanova, Kraehenbuhl, & Pringault, 1997). Ancak bu kültürün tekdüze olmaması ve insan dışı lenfosit kullanımını gibi sınırlamaları vardır. Bu nedenle başka bir çalışmada insan Burkitt lenfoma Raji B hücreleri Transwell® sistemin bazolateral alanına, Caco-2 hücreleri apikal alan ekilerek yeni bir M hücre benzeri ortak kültür sistemi geliştirilmiştir. Lenfositlerin Caco-2 hücreleri ile direkt teması olmamasına rağmen M hücre benzeri morfoloji ve fizyoloji sağlanmıştır (Gamboa & Leong, 2013; Gullberg et al., 2000).

Des Rieux ve arkadaşları Caco-2 mono kültür ve Caco-2/Raji B ko-kültür modelini kullanarak nanopartiküllerin permeabilitesini incelemiştir. Ko-kültürde nanopartikül permeabilitesinin önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Bu modelin terapötik peptit veya aşı içeren ilaç taşıyıcı formülasyonların oral uygulanmasının değerlendirilmesi için umut verici olduğu sonucuna varılmıştır (des Rieux et al., 2005). Bu model mukus tabakası ve etkilerinden yoksundur ancak M hücreleri ile hedeflendirme sağlayan ilaç taşıyıcı formülasyonlarının *in vitro* değerlendirilmesini sağlamaktadır.

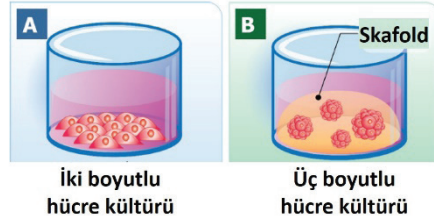
Üçlü kültür modelleri

Bağırsak fizyolojisinde üç ana hücrenin önemini göz önünde bulundurarak Sarmento ve arkadaşları Caco-2, HT29-MTX ve Raji B hücreleri ile üçlü kültür modeli geliştirmiştir. Yöntemin oluşturulmasında Caco-2 ve HT29-MTX için 90:10, 80:20 ve 70:30 oranları çalışılmıştır. Üçlü kültür modelinde hücre membran kalınlığının ve hücre çekirdeği büyüklüğünün mono ve ko-kültür modellerine göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Aynı çalışma grubu geliştirdikleri bu model ile insülin çözeltisi ve insülin yüklü nanopartiküllerle permeabilite çalışması gerçekleştirmiştir. Caco-2/HT29/Raji B ve Caco-2/Raji B modelleri ile sırasıyla 8.99×10^{-6} cm/s ve 1.32×10^{-6} cm/ P_{app} değerleri elde edilmiştir (Antunes, Andrade, Araújo, Ferreira, & Sarmento, 2013). Çalışmada üçlü kültür modeli ile mukus üreten ve Peyer plaklarının M hücrelerini mekanistik açıdan taklit eden bağırsak bariyeri insülin permeabilitesini değerlendirmek için başarıyla kullanılmıştır. Sarmento ve arkadaşları, modeli düşük/yüksek suda çözünürlük ve permeabiliteye sahip 12 model ilaç ile değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda spesifik taşıma mekanizmasına sahip ilaçlar için Caco-2 mono kültürü yerine Caco-2/HT29-MTX/Raji B üçlü kültürün kullanılmasının insan verilerine daha yakın sonuçlar sağlayacağı ve pasif difüzyona uğrayan ilaçlar için ko-kültür ve üçlü kültür modellerinin herhangi bir avantaja sahip olmadığı sonucuna varılmıştır (Lozoya-Agullo et al., 2017).

Üç boyutlu (3B) hücre modelleri

İnsan bağırsağını fizyolojik ve morfolojik olarak daha iyi taklit etmek için geleneksel iki boyutlu yöntemlere göre daha gerçekçi olan 3B hücre kültürü modelleri geliştirilmeye başlanmıştır (İpek, Üstündağ, & Can Eke, 2022). 3B bağırsak hücresi modelleri Transwell® membranın apikal tarafında hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını destekleyen skafold yani yapı iskelelerine kaynaşmamış ve kendi hücre dışı matriks bileşenlerini oluşturan çok hücreleri agregatlara dayanmaktadır (Şekil 7) (Polat, 2020). Bu hücreler 3B skafold üzerinde büyütülür veya jeller içine gömülürler. Farklı modeller farklı skafoldun kullanılması veya skafolda gömülü farklı hücrelerin kaynaştırılması ile oluşturulur.

Kollajen jel 3B model oluşturmak için en yaygın kullanılan skafold malzemesidir. Leonard ve arkadaşları insan makrofaj ve dendritik hücreleri kollajen yapıllı skafolda dahil ederek, kollajen yapıllı iskelenin üstüne Caco-2/HT29-MTX/T84 üçlü hücre hattını ekerek ve Transwell® sistemin apikal bölmesine proinflatuvar sitokinleri ekleyerek 3B inflamasyonlu bağırsak hücre modeli geliştirmiştir. Bu 3B inflamasyonlu model inflamatuar bağırsak hastalığının tedavisi için geliştirilen budesonid yüklü nanopartikül ve lipozomların etkinliğini değerlendirmek için kullanılmıştır. Model, *in vivo* ortamda gözlenen karmaşık patofizyolojik değişiklikleri temsil ederek formülasyonlar arasındaki terapötik etkinliği ayırt etme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir (Leonard et al., 2012).



Şekil 7. İki boyutlu ve üç boyutlu hücre kültürünün şematik gösterimi
(Chaicharoenaudomrung, Kunhorm, & Noisa, 2019)

Li ve arkadaşları Caco-2/HT29-MTX ko-kültürü ve kollajen skafolda dahil edilmiş fibroblast ve immünosit içeren 3B bağırsak mukozası modeli geliştirmiştir (Li et al., 2013). Skafold olarak kollajen jel kullanan modeller umut verici yöntemler olabilir ancak Caco-2 hücrelerinin kollajen skafold üstünde kültürlenmesi, villus uzunluğunun kısalması, uzun kültürlenme süresinde kollajen degradasyonu nedeniyle hücrelerin matrikse penetre olması ve çok tabakalı katmanlar oluşturması gibi sınırlamaları bulunmaktadır. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için skafold olarak PLGA ve nanolifler kullanılmıştır (Xu et al., 2021).

1.2.2. Membran vezikülleri

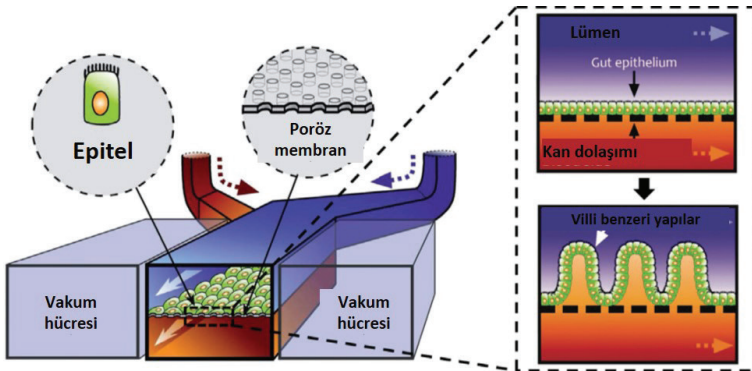
İki tip membran vezikülü mevcuttur. Bunlar fırça kenarlı membran vezikülleri (brush border membrane vesicles-BBMV) ve bazolateral membran vezikülleri (BLMV)'dir. BBMV insan ince bağırsağı epitel hücrelerinden izole edilen apikal membranlardır. İzolasyon ve saflaştırma işlemlerinde BBMV, endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi mikrozomal fragmanlarından kalsiyum iyonu kullanarak ve santrifüjleme sonucu ayrılmaktadır (Patel & Misra, 2011). BLMV'ler ise bağırsak epiteli bazolateral membranın saflaştırılmış fraksiyonlarını içerir. Veziküllerin durumu enzim seviyeleri ve spesifik taşıyıcılar ile değerlendirilmektedir. İlaç alımı ise hem veziküllerdeki hem de ortamdaki ilaç miktarının ölçülmesiyle değerlendirilmektedir (Xu et al., 2021).

Oulianova ve arkadaşları tavşan bağırsağı kullanarak BBMV hazırlamış ve 23 ilaç ile absorpsiyon potansiyelini test etmişlerdir. İnsan absorpsiyon verileri ile iyi bir korelasyon elde etmişlerdir (Oulianova, Cheng, Huebert, & Chen, 2007). Ancak bu model paraselüler taşıma gibi mekanizmaları çalışmak için uygun değildir. Vezikül oluşumundaki gün içi değişimler ve veziküllerden ilaç sızıntısı bu yöntemin dezavantajıdır. Ayrıca oldukça lipofilik bileşiklerin bu modellerle değerlendirilmesi, lipid membranlara spesifik olmayan yüksek bağlanma göstermeleri nedeniyle pozitif sonuçlara yol açabilmektedir (Xu et al., 2021). Bu yanıltıcı sonuçların olasılığı da değerlendirilmelidir.

1.2.3. Mikroakışkan temelli sistemler

Üç boyutlu bağırsak modelleri dahil olmak üzere geleneksel hücre temelli yöntemler statik bir ortam sağlamaktadır ve *in vivo* ortamdaki dinamik yapıdan yoksundur. Bu sınırlamayı iyileştiren çip üzerinde bağırsak ve insan-mikrobiyal ko-kültür (HuMix) cihazı mevcuttur. Bu sistemler mikroakışkan temellidir. Yöntemler insan bağırsağını topolojik, dinamik koşullar ve mikrobiyota açısından taklit etmektedir (Kim, Huh, Hamilton, & Ingber, 2012).

Çip üzerinde bağırsak cihazı Kim ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olup Şekil 8’de görüldüğü gibi tek tabakalı bağırsak hücrelerini destekleyen ve intestinal lümen ve kan akışını taklit eden iki kompartmanı ayıran poröz yapıya sahip membrandan oluşmaktadır. Aynı çalışma grubu hastalık patofizyolojisinin çip üzerinde modellenmesiyle hastaya özgü hastalık modellerinin oluşturulabileceğini de bulmuştur (Shin & Kim, 2018). Bu model ilaçların normal veya patolojik bağırsaktan kontrollü bir şekilde nasıl taşındığını analiz etmek için kullanılabilirken diğer *in vitro* veya *in vivo* bazı hayvan modelleri ile bu durum söz konusu değildir (Xu et al., 2021).



Şekil 8. İnsan çip üzerin bağırsak cihazının şematik gösterimi (Kim et al., 2012)

Bağırsak ekosistemi oluşturmak için ise çip üzerinde bağırsak yöntemi kullanmak zordur. Çünkü ko-kültürdeki kommensal veya mutualistik mikroorganizmalar aerobik ve anaerobik koşullar altında büyür, bu da modelin uygulanmasını sınırlamaktadır. Shah ve arkadaşları bu sınırlamayı ortadan kaldıran üç ko-laminar mikro kanaldan oluşan HuMix adlı cihazı geliştirmiştir. Bu sistemde insan epitel hücrelerini temsil eden Caco-2 hücreleri ve mikrobiyal hücreler, *Lactobacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*) ve zorunlu anaerob *Bacteroides caccae* birlikte kültürlenerek bağırsak-mikroorganizma arayüzünü taklit etmektedir (Shah et al., 2016). Bu yöntem konak-mikroorganizma etkileşimlerini incelemek için geliştirilmiş olsa da ilaç keşfi ve taşınmasının incelenmesi için potansiyel taşınmaktadır. Henüz ilaç taşıyıcı sistemler için bu yöntem ile yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Ancak bu gelişmiş mikroakışkan cihazlar, epitel fizyolojisi, dinamik ortam ve mikrobiyota ile insan bağırsağıyla çarpıcı benzerlik sergilemektedir (Xu et al., 2021). Böylelikle geleneksel hücre kültürü ile hayvan modelleri arasındaki boşluğu doldurarak ilaç permeabilitesinin incelenmesinde faydalı modeller olarak hizmet sağlamaları beklenmektedir.

Kaynaklar

- Antunes, F., Andrade, F., Araújo, F., Ferreira, D., & Sarmiento, B. (2013). Establishment of a triple co-culture in vitro cell models to study intestinal absorption of peptide drugs. *European Journal of Pharmaceutics Biopharmaceutics*, 83(3), 427-435. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.10.003>
- Béduneau, A., Tempesta, C., Fimbel, S., Pellequer, Y., Jannin, V., Demarne, F., & Lamprecht, A. (2014). A tunable Caco-2/HT29-MTX co-culture model mimicking variable permeabilities of the human intestine obtained by an original seeding procedure. *European Journal of Pharmaceutics Biopharmaceutics*, 87(2), 290-298. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.03.017>
- Behrens, I., Stenberg, P., Artursson, P., & Kissel, T. (2001). Transport of lipophilic drug molecules in a new mucus-secreting cell culture model based on HT29-MTX cells. *Pharmaceutical research*, 18(8), 1138-1145. doi:<https://doi.org/10.1023/a:1010974909998>
- Berben, P., Bauer-Brandl, A., Brandl, M., Faller, B., Flaten, G. E., Jacobsen, A.-C., . . . Augustijns, P. (2018). Drug permeability profiling using cell-free permeation tools: Overview and applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 119, 219-233. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.04.016>
- Berben, P., Brouwers, J., & Augustijns, P. (2018a). The artificial membrane insert system as predictive tool for formulation performance evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 537(1-2), 22-29. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.12.025>
- Berben, P., Brouwers, J., & Augustijns, P. (2018b). Assessment of passive intestinal permeability using an artificial membrane insert system. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(1), 250-256. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.xphs.2017.08.002>
- Bermejo, M., Avdeef, A., Ruiz, A., Nalda, R., Ruell, J. A., Tsinman, O., . . . Garrigues, T. M. (2004). PAMPA—a drug absorption in vitro model: 7. Comparing rat in situ, Caco-2, and PAMPA permeability of fluoroquinolones. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(4), 429-441. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2003.10.009>
- Bibi, H. A., Di Cagno, M., Holm, R., & Bauer-Brandl, A. (2015). Permeapad™ for investigation of passive drug permeability: the effect of surfactants, co-solvents and simulated intestinal fluids (FaSSIF and FeSSIF). *International Journal of Pharmaceutics*, 493(1-2), 192-197. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.07.028>
- Carrière, V., Lesuffleur, T., Barbat, A., Rousset, M., Dussaulx, E., Costet, P., . . . Zweibaum, A. (1994). Expression of cytochrome P-450 3A in HT29-MTX cells and Caco-2 clone TC7. *FEBS letters*, 355(3), 247-250. doi:[https://doi.org/10.1016/0014-5793\(94\)01199-0](https://doi.org/10.1016/0014-5793(94)01199-0)
- Chaicharoenaudomrung, N., Kunhorm, P., & Noisa, P. (2019). Three-dimensional

- cell culture systems as an in vitro platform for cancer and stem cell modeling. *World journal of stem cells*, 11(12), 1065. doi:<https://doi.org/10.4252/wjsc.v11.i12.1065>
- Dağdeviren, T., & Ünver-Saraydın, S. (2020). Mukozal Bağışıklığın Anahtarı ‘‘M’’ Hücreleri. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 46(2), 247-254. doi: <https://doi.org/10.32708/uutfd.756283>
- des Rieux, A., Ragnarsson, E. G., Gullberg, E., Pr  at, V., Schneider, Y.-J., & Artursson, P. (2005). Transport of nanoparticles across an in vitro model of the human intestinal follicle associated epithelium. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(4-5), 455-465. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2005.04.015>
- Di Cagno, M., Bibi, H. A., & Bauer-Brandl, A. (2015). New biomimetic barrier Permeapad™ for efficient investigation of passive permeability of drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73, 29-34. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2015.03.019>
- Falavigna, M., Klitgaard, M., Brase, C., Ternullo, S., Škalko-Basnet, N., & Flaten, G. E. J. (2018). Mucus-PVPA (mucus phospholipid vesicle-based permeation assay): an artificial permeability tool for drug screening and formulation development. *International Journal of Pharmaceutics*, 537(1-2), 213-222. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.12.038>
- Flaten, G. E., Bunjes, H., Luthman, K., & Brandl, M. (2006). Drug permeability across a phospholipid vesicle-based barrier: 2. Characterization of barrier structure, storage stability and stability towards pH changes. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(4), 336-343. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2006.03.008>
- Flaten, G. E., Dhanikula, A. B., Luthman, K., & Brandl, M. (2006). Drug permeability across a phospholipid vesicle based barrier: A novel approach for studying passive diffusion. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(1), 80-90. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2005.08.007>
- Gamboa, J. M., & Leong, K. W. J. (2013). In vitro and in vivo models for the study of oral delivery of nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(6), 800-810. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.01.003>
- Gr  s, M.-C., Julian, B., Bourri  , M., Meunier, V., Roques, C., Berger, M., . . . Fabre, G. (1998). Correlation between oral drug absorption in humans, and apparent drug permeability in TC-7 cells, a human epithelial intestinal cell line: comparison with the parental Caco-2 cell line. *Pharmaceutical research*, 15(5), 726-733. doi:<https://doi.org/10.1023/A:1011919003030>
- Gullberg, E., Leonard, M., Karlsson, J., Hopkins, A. M., Brayden, D., Baird, A. W., & Artursson, P. (2000). Expression of specific markers and particle transport in a new human intestinal M-cell model. *Biochemical biophysical research communications*, 279(3), 808-813. doi:<https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.4038>

- İpek, S., Üstündağ, A., & Can Eke, B. (2022). Three-dimensional (3D) cell culture studies: a review of the field of toxicology. *Drug Chemical Toxicology*, 1-11. doi:<https://doi.org/10.1080/01480545.2022.2066114>
- Kansy, M., Senner, F., & Gubernator, K. (1998). Physicochemical high throughput screening: parallel artificial membrane permeation assay in the description of passive absorption processes. *Journal of medicinal chemistry*, 41(7), 1007-1010. doi:<https://doi.org/10.1021/jm970530e>
- Kataoka, M., Tsuneishi, S., Maeda, Y., Masaoka, Y., Sakuma, S., & Yamashita, S. (2014). A new in vitro system for evaluation of passive intestinal drug absorption: Establishment of a double artificial membrane permeation assay. *European Journal of Pharmaceutics Biopharmaceutics*, 88(3), 840-846. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.09.009>
- Kernéis, S., Bogdanova, A., Kraehenbuhl, J.-P., & Pringault, E. (1997). Conversion by Peyer's patch lymphocytes of human enterocytes into M cells that transport bacteria. *Science*, 277(5328), 949-952. doi:<https://doi.org/10.1126/science.277.5328.949>
- Kim, H. J., Huh, D., Hamilton, G., & Ingber, D. E. (2012). Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow. *Lab on a Chip*, 12(12), 2165-2174. doi:<https://doi.org/10.1039/C2LC40074J>
- Kindt, T. J., Goldsby, R. A., Osborne, B. A., & Kuby, J. (2007). *Kuby immunology 6th Edition*: New York: WH Freeman and Company.
- Leonard, F., Ali, H., Collnot, E.-M., Crielgaard, B. J., Lammers, T., Storm, G., & Lehr, C.-M. (2012). Screening of budesonide nanoformulations for treatment of inflammatory bowel disease in an inflamed 3D cell-culture model. *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 29(3), 275-285. doi:<https://doi.org/10.14573/altex.2012.3.275>
- Lesuffleur, T., Barbat, A., Dussaulx, E., & Zweibaum, A. (1990). Growth adaptation to methotrexate of HT-29 human colon carcinoma cells is associated with their ability to differentiate into columnar absorptive and mucus-secreting cells. *Cancer research*, 50(19), 6334-6343.
- Li, N., Wang, D., Sui, Z., Qi, X., Ji, L., Wang, X., & Yang, L. (2013). Development of an improved three-dimensional in vitro intestinal mucosa model for drug absorption evaluation. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 19(9), 708-719. doi:<https://doi.org/10.1089/ten.tec.2012.0463>
- Lipinski, C. A. (2000). Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *Journal of pharmacological toxicological methods*, 44(1), 235-249. doi:[https://doi.org/10.1016/S1056-8719\(00\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S1056-8719(00)00107-6)
- Lozoya-Agullo, I., Araujo, F., Gonzalez-Alvarez, I., Merino-Sanjuan, M., Gonzalez-Alvarez, M., Bermejo, M., & Sarmiento, B. (2017). Usefulness of Caco-2/HT29-MTX and Caco-2/HT29-MTX/Raji B coculture models to predict intestinal and colonic permeability compared to Caco-2 monoculture. *Mo-*

- lecular pharmaceutics*, 14(4), 1264-1270. doi:<https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b01165>
- Mahler, G. J., Shuler, M. L., & Glahn, R. P. (2009). Characterization of Caco-2 and HT29-MTX cocultures in an in vitro digestion/cell culture model used to predict iron bioavailability. *The Journal of nutritional biochemistry*, 20(7), 494-502. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.05.006>
- Naderkhani, E., Isaksson, J., Ryzhakov, A., & Flaten, G. E. (2014). Development of a biomimetic phospholipid vesicle-based permeation assay for the estimation of intestinal drug permeability. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(6), 1882-1890. doi:<https://doi.org/10.1002/jps.23954>
- Naderkhani, E., Vasskog, T., & Flaten, G. E. (2015). Biomimetic PVPA in vitro model for estimation of the intestinal drug permeability using fasted and fed state simulated intestinal fluids. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73, 64-71. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.03.017>
- Nunes, R., Silva, C., & Chaves, L. (2016). Tissue-based in vitro and ex vivo models for intestinal permeability studies. *Concepts Models for Drug Permeability Studies*, 203-236. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100094-6.00013-4>
- Oulianova, N., Cheng, D., Huebert, N., & Chen, Y. (2007). Human oral drugs absorption is correlated to their in vitro uptake by brush border membrane vesicles. *International Journal of Pharmaceutics*, 336(1), 115-121. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.11.045>
- Patel, G., & Misra, A. (2011). Oral delivery of proteins and peptides: concepts and applications. *Challenges in delivery of therapeutic genomics proteomics*, 481-529. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384964-9.00010-4>
- Pereira, C., Costa, J., Sarmiento, B., & Araújo, F. (2016). Cell-based in vitro models for intestinal permeability studies. *Concepts Models for Drug Permeability Studies*, 57-81. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100094-6.00005-5>
- PermeaPad®. <https://permeapad.com/en/> Access Date: December 15th, 2022.
- Polat, E. (2020). Üç Boyutlu Hücre Kültürü Sistemlerine Güncel Yaklaşımlar. *Namık Kemal Tıp Dergisi*, 8(1), 84-92. doi:<https://doi.org/10.37696/nkmj.679069>
- Ponmozhi, J., Dhinakaran, S., Varga-Medveczky, Z., Fónagy, K., Bors, L. A., Iván, K., & Erdő, F. (2021). Development of skin-on-a-chip platforms for different utilizations: Factors to be considered. *Micromachines*, 12(3), 294. doi:<https://doi.org/10.3390/mi12030294>
- Sarmiento, B., Andrade, F., Silva, S. B. d., Rodrigues, F., das Neves, J., & Ferreira, D. (2012). Cell-based in vitro models for predicting drug permeability. *Expert opinion on drug metabolism toxicology*, 8(5), 607-621. doi:<https://doi.org/10.1517/17425255.2012.673586>
- Sauls, R. S., & Taylor, B. N. (2021). Histology, M Cell. In *StatPearls*: StatPearls

Publishing.

- Shah, P., Fritz, J. V., Glaab, E., Desai, M. S., Greenhalgh, K., Frachet, A., . . . Seguin-Devaux, C. (2016). A microfluidics-based in vitro model of the gastrointestinal human-microbe interface. *Nature communications*, 7(1), 1-15. doi:<https://doi.org/10.1038/ncomms11535>
- Shin, W., & Kim, H. J. (2018). Pathomimetic modeling of human intestinal diseases and underlying host-gut microbiome interactions in a gut-on-a-chip. In *Methods in Cell Biology* (Vol. 146, pp. 135-148): Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2018.05.006>
- Sun, H., Chow, E. C., Liu, S., Du, Y., & Pang, K. S. (2008). The Caco-2 cell monolayer: usefulness and limitations. *Expert opinion on drug metabolism toxicology*, 4(4), 395-411. doi:<https://doi.org/10.1517/17425255.4.4.395>
- Turco, L., Catone, T., Caloni, F., Di Consiglio, E., Testai, E., & Stamatii, A. (2011). Caco-2/TC7 cell line characterization for intestinal absorption: how reliable is this in vitro model for the prediction of the oral dose fraction absorbed in human? *Toxicology in vitro*, 25(1), 13-20. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.08.009>
- Ungell, A.-L. B. (2004). Caco-2 replace or refine? *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 423-430. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.003>
- Xu, Y., Shrestha, N., Pr  at, V., & Beloequi, A. (2021). An overview of in vitro, ex vivo and in vivo models for studying the transport of drugs across intestinal barriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 175, 113795. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.05.005>
- Yedikaya,   ., & Badıllı, F. U. (2021). In vitro deri modelleri. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 45(3), 699-721. doi:<https://doi.org/10.33483/jfpau.930099>
- Zakeri-Milani, P., Valizadeh, H., Tajerzadeh, H., Azarmi, Y., Islambolchilar, Z., Barzegar, S., & Barzegar-Jalali, M. (2007). Predicting human intestinal permeability using single-pass intestinal perfusion in rat. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(3), 368-379.
- Zhu, L., Lu, L., Wang, S., Wu, J., Shi, J., Yan, T., . . . Liu, Z. (2017). Oral absorption basics: pathways and physicochemical and biological factors affecting absorption. In *Developing solid oral dosage forms* (pp. 297-329): Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802447-8.00011-X>

“

Bölüm 16

**YETİŞKİNLERDE İNTRAVENÖZ
KATETERİZASYONA BAĞLI YAŞANAN
AĞRININ AZALTILMASINDA
KULLANILAN YÖNTEMLER**

Sevgi PAKİŞ ÇETİN¹

”

¹ Arş. Gör. Dr., Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Manisa, Türkiye. IORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8330-3493>

Teknolojinin gelişmesiyle her geçen gün daha karmaşık hale gelen ilaç uygulamaları, hasta güvenliğinin ön planda olduğu, bilgi ve beceri gerektiren temel hemşirelik uygulamalarından birisidir (Pamela, 2015; Çetin & Çevik, 2019). Yüzyıllardır akut ya da kronik hastalık deneyimleyen bireylerin sağlık durumunun devamlılığının sağlanmasında ilaç uygulamaları ve intravenöz (IV) girişimler sıklıkla kullanılmaktadır (Carr vd., 2019; Çetin & Çevik, 2019). IV girişimler arasında yer alan intravenöz kateterizasyon (damar içine kateter yerleştirme) işlemi ise tanı ve tedavi amacıyla hastanelerde en sık kullanılan, acil ve yatan hastaların bakımında hayati öneme sahip olan hemşirelik uygulamasıdır (Bahl vd, 2019; Düztepeliler, İlman, Babadağ, Tuncer & Erol, 2020). Her yıl yaklaşık 40 milyon bireyin deneyimlediği (Patil, 2021) IV kateterizasyon; sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması ve sürdürülmesi, sıvı ve beslenme gereksiniminin karşılanması, ilaç tedavilerinin sürekli ya da aralıklı olarak uygulanması, kan ve kan ürünleri transfüzyonunun sağlanması, damar yolu açıklığının sağlanması ve sürdürülmesi, acil durumlarda uygulanacak müdahalenin kolaylaştırılmasında anahtar role sahiptir (Sarani Ali Abadi, Etemadi & Abed Saeedi, 2013; Kuş & Büyükyılmaz, 2019; Çelik & Avşar, 2021).

İntravenöz tedavi, tüm sağlık kuruluşlarında profesyonel hemşirelik uygulamalarının ayrılmaz parçasını oluşturmaktadır. Bu nedenle hemşirenin çeşitli bilgi ve beceriye sahip olmasını gerektirmektedir (Milutinović, Simin & Zec, 2015). Bu bilgi ve beceriler;

- İntravenöz kateterizasyon uygulama alanının belirlenmesi,
- Kullanılacak kateter numarasının seçilmesi,
- İntravenöz girişim sırasında doğru tekniğin kullanılması,
- Uygulamanın kontrollü bir şekilde sürdürülmesi,
- İntravenöz kateter bakımının yapılması,
- Gelişebilecek komplikasyonların takip edilerek işlemin sağlıklı bir şekilde uygulanması olarak sıralanabilir (Aydın & Arslan, 2018).

İntravenöz kateterizasyon, rutin bir uygulama olmasına rağmen bireyin klinik durumu, ağrı ve anksiyete varlığı işlemin uygulanmasını güçleştirebilmektedir. Bunun yanı sıra, yaşlılık, bebeklik ya da çocukluk çağı, obezite/kaşeksi, IV tedavinin kötüye kullanımı, dehidratasyon, hipovolemi, kronik hastalıklar, orak hücreli anemi, uzun süreli hastane yatışları, travma, yanık, tekrarlayan IV ilaç kullanımı, periferik ödem, hipotermi veya vaskülopati IV kateterizasyon işlemini zor ve karmaşık hale getiren diğer unsurlar arasında yer almaktadır. Bu unsurlara sahip hastalarda, IV erişimin zorluğu başarısız kateterizasyon işlemini beraberinde getirebilmektedir (Carr vd., 2019; Düztepeliler vd., 2020). Başarısız IV kateterizasyon işlemi ise yaşamı tehdit eden, yaygın ve önlenebilir birçok lokal

ve sistemik komplikasyona neden olmaktadır. IV kateterizasyona ilişkin lokal komplikasyonlar arasında hematoma, flebit, ekstremitasyona infiltrasyon, lokal enfeksiyon, venöz spazm, sinir zedelenmesi, tromboflebit ve ağrı bulunurken; sistemik komplikasyonlar arasında akciğer enfeksiyonu, sıvı yüklenmesi, hava embolisi, anafilaksi ve sepsis bulunmaktadır (Potter, Perry, Stockert & Hall, 2017). IV kateterizasyona ilişkin önlenemeyen komplikasyonlar hastaların hastanede kalış süresinin uzamasına, konforunun azalmasına, gereksiz tanı işlemleri ve tedaviye maruz kalmasına, hasta ve yakınlarının stres yaşamasına, sağlık personelinin iş yükünün artmasına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Avşar, Özlü, Gümüş, Özer & Aytekin 2013). Bu nedenle; hemşirelerin sağlıklı IV kateterizasyon uygulama becerisi kazanması, kaliteli ve önleyici bakım girişimlerini kullanması ve herhangi bir komplikasyonun gelişmesi durumunda gerekli bakımın uygulanabilmesi amacıyla doğru ve acil karar verebilme yeteneğine sahip olması gerekmektedir (Avşar vd., 2013; Milutinović vd., 2015).

İntravenöz kateterizasyon uygulamasının başarısızlık oranının %35 ile %50 arasında değişiklik gösterdiği bildirilmektedir (Helm, Klausner, Klemperer, Flint & Huang, 2015). Doğru ven seçimi, uygulamadaki başarısızlık oranının azaltılabilmesi için önemli bir adımı oluşturmaktadır. Hemşirenin, bireyin tedavisine uygun kateterin çapı ve uzunluğuna göre ven seçimi yapması gerekmektedir. Hastanın tıbbi öyküsü, yaşı, beden yapısı, kilosu, fiziksel aktivite düzeyi, venlerin kullanılabilirlik durumu ve işlemi uygulayacak olan hemşirenin bilgi ve beceri düzeyi uygun ven seçimi için dikkate alınması gereken diğer faktörler arasında yer almaktadır. Ayrıca ven seçiminde hastanın günlük yaşam aktivitelerinin devamlılığının sağlanması açısından aktif olarak kullanmadığı ekstremitenin tercih edilmesi, ağrı ve olası sinir hasarı gelişmesini önlemek için IV kateterin eklemlerden uzak bir alana uygulanması, ekstremitenin distalinden başlanarak uygulamanın yapılması, daha önce flebit ve infiltrasyon gelişen venlerin aşağısında yer alan venler ile tromboz gelişen venlerin kullanılmaması gerekmektedir (Yılmaz, 2021).

İntravenöz kateterizasyon birçok hasta için ağrı, irritasyon ve anksiyeteye neden olan bir uygulamadır (Patil, 2021). Ağrının etkin yönetilememesi, bazı hastalarda gelecekte yaşayacağı tedavilerde anksiyeteyi artırabilir ve tıbbi yardım arayışını engelleyebilir. Ayrıca, IV kateterizasyon korkusu otomatik bir yanıtı uyarak vazokonstriksiyona yol açabilir. Vazokonstriksiyon, kateterizasyon sürecini güçleştirir ve venöz erişimin sağlanması için birkaç girişim yapılmasını gerektirebilir. Dolayısıyla enfeksiyon ve diğer komplikasyon riskini beraberinde getirebilir (Kartufan, 2022).

İntravenöz kateterizasyona bağlı yaşanan ağrı ve anksiyete birbirlerini karşılıklı olarak etkileyen ve şiddetlerinin artmasına sebep olan kavramlardır. Uygun kateterizasyon tekniğinin kullanılması, kateterizasyon sırasında

supine pozisyonu verilmesi, işlem hakkında bilgi verilmesi, dikkatinin başka yöne çekilmesi, sakinleştirilmesi ve güven oluşturulması hastanın ağrı ve anksiyetesini azaltan uygulamalar arasındadır (Çetin & Çevik, 2019).

Günümüze kadar erişkinlerde intravenöz kateterizasyon ilişkili ağrının azaltılması amacıyla çeşitli farmakolojik ve nonfarmakolojik yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler arasında buz uygulaması, lokal sıcak uygulama, Vapocoolant sprey uygulaması, lokal anestezi krem uygulaması, Valsalva manevrası, Buzzy® cihazı, Coolsense® cihazı ve ultrason cihazı bulunmaktadır.

Buz Uygulaması

Intravenöz kateterizasyon sırasında uygulanan buz uygulamasının etki mekanizması şu şekilde açıklanmaktadır: Derideki soğuk algılama reseptörleri yaklaşık olarak 25°C’de aktive olmaktadır ve ilgili dermatom diğer duyu ileti lifleri ile birlikte arka kökten medulla spinalise girmektedir. Ağrı ve ısı duyusu omurilikte sinaps yaparak beyin sapı ve talamusa ulaşmaktadır. Bu meydana gelen sinapsın, ağrı iletiminde inhibitör yolları uyarılmasıyla soğuk uyarısı alınan dermatomda ağrının daha az hissedilmesini sağlayabileceği bildirilmektedir (Öztürk vd., 2009). Ayrıca soğuk uygulamanın Kapı Kontrol mekanizmasını çalıştırması sonucunda, dokunma reseptörlerini uyararak ve endojen opioidlerin salınımını artırarak da ağrıyı azaltılabileceği belirtilmiştir (Özveren, 2011).

Öztürk ve arkadaşlarının (2009) çalışmasında hastaların bir ekstremitesine buz (Grup B) uygulaması yapılırken diğerine klasik (Grup K) şekilde intravenöz kateterizasyon işlemi yapılmıştır. Grup B’de intravenöz kateterizasyon öncesinde buz paketi hastanın antekübital bölgesine bir dakika süreyle konulmuş ve 18 G kanül ile kateterizasyon uygulanmıştır. Çalışma sonucunda buz grubunda yer alan hastaların ağrı düzeylerinin klasik gruba göre anlamlı düşük olduğu ve hastaların %77’sinin sonraki IV kateterizasyon işlemlerinde buzlu yöntemi tercih edecekleri bildirilmiştir (Öztürk vd., 2009).

Aygün ve arkadaşlarının (2013) çalışmasında hastalar buz, lidokain+prilokain krem ve kontrol olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Buz grubundaki hastalara 1 dakika süreyle buz uygulaması sonrasında, Lidokain-prilokain krem grubundaki hastalara krem uygulanmasından 60 dakika sonrasında IV kateterizasyon işlemi uygulanmıştır. Kontrol grubundaki hastalara ise herhangi bir müdahale yapılmaksızın IV kateterizasyon işlemi uygulanmıştır. Tüm girişimler antekübital bölgeden ve 18 G kanül kullanılarak yapılmıştır. Buz uygulamasının, lidokain+prilokain krem uygulamasına göre daha etkin analjezi sağladığı, kolay ulaşılabilir, zaman ve maliyet oluşturmayacak bir uygulama olarak IV kateterizasyona bağlı ağrının azaltılmasında tercih edilebileceği belirtilmiştir (Aygün vd., 2013).

Lokal Sıcak Uygulama

Lokal sıcak uygulama, alfa 2 adrenerjik vazokonstriktör etkiyi ortadan kaldırarak pasif vazodilatasyon sağlarken; beta reseptörlerini uyarak aktif vazodilatasyon sağlamaktadır. Sempatik sinir sistemi tarafından uyarılan venlerin orta tabakasındaki düz kaslar, kasılıp gevşeyerek damar çapının değişmesine sebep olmaktadır. IV kateter uygulanacak bölgeye 10-15 dakika lokal sıcak uygulama yapılması, bölgedeki damarlarda vazodilatasyonu sağlamaktadır. Dolayısıyla bölgeye kan akımı artmakta ve venöz dolgunluk gerçekleşmektedir (Bayram, Eren & Çalışkan, 2021). Yapılan çalışmalarda venöz vazodilatasyonun sağlanması için deri sıcaklığının 39-42°C olması; bunun sağlanması amacıyla lokal sıcak pedin sıcaklığının 52°C olması ve bölgeye 10 veya 15 dakika süre ile uygulanması gerektiği belirtilmiştir (Lenhardt, Seybold, Kimberger, Stoiser & Sessler, 2002; Bayram & Caliskan, 2016).

Bayram ve Caliskan'ın (2016) çalışmasında lokal sıcak uygulamanın kemoterapi tedavisi alan hastaların IV kateterizasyon ilişkili ağrı düzeyini azalttığı, ilk denemede kateter yerleştirme başarısını arttırdığı, kateterizasyon prosedürüne ayrılan süreyi azalttığı ve kateter yerleştirme sırasında hemşire tarafından algılanan zorluğu azalttığı bildirilmiştir. Bu nedenle kemoterapi alan hastalarda, özellikle ven görünürlüğünün olmadığı durumlarda, kateterizasyon uygulaması öncesi lokal sıcak uygulamanın faydalı olacağı belirtilmiştir (Bayram & Caliskan, 2016).

Vapocoolant Sprey Uygulaması

Topikal vapocoolant spreyler, uygulanmasının hemen ardından deride anestezi etkisi oluşturabilmektedir. Uçucu sıvı spreyin cilt yüzeyinden hızla buharlaşması, sıcaklıkta düşüşe neden olmaktadır. Bunun sonucunda ağrı reseptörlerinin duyarsızlaşması veya ağrı iletiminde yer alan iyon kanallarının aktivasyonu yoluyla ağrı hissinin geçici olarak durdurulması sağlanmaktadır (Page & Taylor, 2010). Vapocoolant spreylerin pek çok avantajı bulunmaktadır. Bunlar; iğne yaralanmasıyla ilgili risklerin ortadan kaldırılması, intradermal lokal anestetik ajanlar nedeniyle doku bozulmasının önlenmesi, iğne batmasına bağlı ağrının olmaması, hızlı etki göstermesi, düşük maliyete sahip olması ve kullanım kolaylığı sağlamasıdır (Mace, 2017; Selvi, Bedel & Akçimen, 2021). Ayrıca IV kateterizasyon işleminin yanı sıra aşılama ve kan alma işlemlerinde de kullanılabilir (Selvi vd., 2021).

Page ve Taylor'un (2010) çalışmasında, IV kateterizasyon ilişkili ağrı üzerine Vapocoolant sprey ile subkutan lidokain enkesiyonunun etkisi karşılaştırılmıştır. Vapocoolant sprey uygulanan hastaların ağrı düzeylerinin daha düşük, kateterizasyon başarısının daha yüksek, işlem süresinin daha kısa, hemşirelerin işlem sırasında daha rahat olduğu bildirilmiştir (Page & Taylor, 2010).

Mace'nin (2017) çalışmasında Vapocoolant sprey ile plasebo (steril su) spreyin etkisi karşılaştırılmıştır. Vapocoolant grubundaki hastaların IV kateterizasyon ilişkili ağrı düzeylerinin plasebo grubuna göre anlamlı düşük olduğu; bir dahaki deneyim sırasında Vapocoolant grubu hastalarının %82'sinin, plasebo grubundaki hastaların ise %40,7'sinin yöntemi kullanabileceği bildirilmiştir. Ayrıca ciltte spreye bağlı solma, pigmentasyon değişiklikleri, kaşıntı, ödem veya ekimoz gelişmediği, yalnızca vapocoolant grubundaki hastaların %2,7'sinde 5-10 dakika içerisinde düzelen eritem oluştuğu gözlenmiştir (Mace, 2017).

Hijazi ve arkadaşları (2009) ile Selvi ve arkadaşlarının (2021) çalışmalarında literatür ile benzer sonuçlar bildirilmiştir. IV kateterizasyon ilişkili ağrının azaltılmasında Vapocoolant sprey kullanımının etkili bir yöntem olduğu ve acil servise başvuran hastalarda alternatif bir yol olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Hijazi, Taylor & Richardson, 2009; Selvi, Bedel & Akçimen, 2021).

Lokal Anestezik Krem Uygulaması

Lokal anestezik etkiye sahip krem uygulaması IV kateterizasyona bağlı ağrı, rahatsızlık hissi ve anksiyetenin azaltılmasında kullanılan en eski ve kritik öneme sahip bir yöntemdir (Dalvandi, Ranjbar, Hatamizadeh, Rahgoi & Bernstein, 2017; Cozzi, Valerio & Kennedy, 2021). Bu amaçla sıklıkla kullanılan kremlerden birisi EMLA (% 2.5 lidokain ve %2.5 prilokainden oluşan)'dır. Sağlam cilde en az 60 dakika uygulandığında IV kateterizasyon ilişkili ağrıyı azaltır. Cildin 3 mm derinliğine kadar penetre olabilir. Ayrıca geçici vazokonstriksiyona ve ciltte lokal renk değişikliğine (beyazlaması) neden olabilir, ancak kateterizasyon başarısını etkilemez (Cozzi vd., 2021).

McNaughton ve arkadaşlarının (2009) yaptığı çalışmada, 70 tıp ya da hemşirelik öğrencisinin her birine üç IV kateterizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu işlemlerden birinde lokal anestezik kullanılmamış, birinde lokal anestezik (lidokain) krem kullanılmış, bir diğerinde ise lokal anestezik subkutan dokuya enjeksiyon olarak uygulanmıştır. Her bir IV uygulamanın ardından öğrencilerin ağrı, anksiyete ve uygulanan yöntemi tercih etme durumu değerlendirilmiştir. IV kateterizasyon uygulanan öğrencilerin ağrı puan ortancaları lokal anestezi olmadan 7, lokal anestezik krem kullanılarak 3, subkutan dokuya lokal anestezik kullanılarak 1 olarak saptanmıştır. IV kateterizasyon uygulanan öğrencilerin anksiyete puan ortancaları lokal anestezi olmadan 4, lokal anestezik krem ve subkutan dokuya lokal anestezik kullanılarak 2 olarak saptanmıştır. Lidokain krem ile lidokain enjeksiyon uygulanan öğrencilerin anksiyete puanları arasında fark bulunmamıştır. Uygulanan teknik fark etmeksizin IV kateterizasyon uygulamalarının çoğu başarılı olmuştur. Öğrencilerin %70'i IV kateterizasyon sırasında "her zaman" lidokain enjeksiyonunu isteyeceklerini belirtmiştir

(McNaughton, Zhou, Robert, Storrow & Kennedy, 2009).

İletişim

İletişim becerileri, bakımın temel bir unsuru olarak kabul edilmektedir. Ancak ağrı ve rahatsızlığa sebep olan IV kateterizasyon uygulamalarında hemşireler genellikle yetişkin hastalar ile hatalı iletişim kullanmaktadır. Bu iletişim modelinde hemşireler, hastaları olumsuz çağrışımlı kelimeler ile uyarma girişiminde bulunmaktadır (örneğin; “ağrılı” veya “batma hissi”ne sebep olur gibi) Bu tutumun hemşireler tarafından yardım edici ve empatik olduğu düşünülmektedir. Ancak uygulanan işlemin ağrılı olacağı konusunda hastayı uyarmak daha fazla ağrı ve anksiyeteye yol açmakta ve nosebo (negatif plasebo) etkisi yaratabilmektedir. İletişimde olumlu kelime ve cümlelerin kullanılması hasta konforuna fayda sağlayabilmektedir. Hipnotik iletişimde ise, ağrı deneyiminin sensitif ve affektif boyutlarını azaltmak için olumlu fikirler ve dikkat dağıtıcı unsurlar kullanılmaktadır (Fusco vd., 2020).

Hipnotik karışıklık tekniği, hastaların içinde bulundukları anda yaşadıkları kaygıdan bağımsız, beklenmedik bir öğeye dikkatini odaklayarak dikkatinin dağıtılması amaçlanmaktadır. Terapist, bilinçli zihnin dikkatini dağıtarak, bilinçdışı zihni hipnotik dile açabilir ve dolaylı bir konfor önerisinde bulunabilir (Fusco vd., 2020).

Fusco ve arkadaşlarının (2020) çalışmasında, IV kateterizasyon uygulanacak olan hastalar hipnoz tekniği (hipnoz grubu), olumsuz çağrışım (nosebo grubu) ve nötr çağrışım (nötr grup) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. IV kateterizasyon sonrası ağrı puan ortalaması hipnoz grubunda 1.5 ± 1.9 ; nötr grubunda 3.5 ± 2.3 ; nosebo grubunda 3.8 ± 2.5 olarak saptanmış, hipnoz grubundaki hastaların ağrı düzeylerinin diğer iki gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca hipnoz grubunda kateterizasyon öncesi anksiyete daha yüksek ve konfor daha düşük iken, hipnoz kullanıldığında kateterizasyon sonrası anksiyete azalmış ve konfor algısı artmıştır (Fusco vd., 2020).

Valsalva Manevrası

Valsalva manevrası, IV kateterizasyona bağlı ağrı sıklığı ve şiddetinin azaltılmasında noninvaziv ve nonfarmakolojik etkili yöntemlerden birisidir. Yöntem, soluk verme sırasında hava yolunun kapatılmasıyla uygulanmaktadır (Kadyan, 2017; Tapar vd., 2018; Mahmoud, Mosaad & Mohamed Elgha, 2021). Valsalva manevrası sırasında, göğüs kafesinin kasılmasıyla akciğer alanı daraltılarak intratorasik basıncın artmasına sebep olur. Bunun sonucunda vagus siniri uyarılarak vagal tepkiye neden olur. Vagus siniri stimülasyonunun antinositif etkisi sayesinde bireyin ağrı algısı azaltılır (Kadyan, 2017; Tapar vd., 2018).

Kadyan'ın (2017) çalışmasında, IV kateterizasyon uygulanacak olan 60 hasta girişim ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Uygulama sırasında Valsalva manevrası yaptırılmış olan girişim grubu hastalarının, ağrı puan ortalamalarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmada beden kitle indeksi ve yaş ile ağrı puan ortalamaları arasında ilişki saptanmazken; cinsiyet ile ağrı puan ortalamaları arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Buna göre; kadınların uygulama sonrası ağrı puan ortalamalarının erkeklerden daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Kadyan, 2017).

Yılmaz ve Güneş'in (2018) çalışmasında, kan bağışçısı olan 120 erkek hasta öksürme, spirometre kullanımı, stres topu sıkma ve kontrol olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Özellikle öksürme tekniğiyle sağlanan Valsalva manevrasının IV kateterizasyon girişimine bağlı ağrının azaltılmasında etkili bir yöntem olduğu; ayrıca öksürme, spirometre kullanımı ve stres topu sıkma yöntemlerinin dikkati dağıtması sayesinde ağrının azaltılmasına katkı sağladığı bildirilmiştir (Yılmaz & Güneş, 2018).

Tapar ve arkadaşlarının (2018) çalışmasında, elektif cerrahi planlanan 150 hasta Valsalva manevrası, müzik ve kontrol olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Hastalara işlem sırasında 20 G IV kateter kullanılmış olup, Valsalva manevrası (derin nefes alıp nefesini 20 saniyeyi geçmeyecek şekilde tutulmasıyla) turnike bağlandıktan sonra yaptırılmış, müzik işlem boyunca 5 dakika dinletilmiş, kontrol grubuna herhangi bir müdahale uygulanmamıştır. Çalışma sonucunda, Valsalva manevrası ve müziğin IV kateter ilişkili ağrı üzerine pozitif etkilerinin olduğu saptanmıştır. Valsalva manevrası uygulanan hastaların ağrı düzeyinin kontrol grubundan anlamlı derecede düşük olduğu belirtilmiştir. Müzik grubundaki hastaların uygulama sonrası ağrı ve anksiyete düzeyinin diğer iki gruba göre anlamlı derecede düşük, memnuniyet düzeyinin diğer iki gruba göre yüksek olduğu bildirilmiştir (Tapar vd., 2018).

Mahmoud ve arkadaşlarının (2021) çalışmasında, IV kateterizasyona bağlı ağrı ve anksiyete düzeyinin incelenmesi amacıyla 60 hasta girişim ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Çalışma sonucunda Valsalva manevrası uygulanan girişim grubu hastalarının %43.3'ünün hafif ağrı, kontrol grubu hastalarının ise %40'ının şiddetli ağrı hissettiği bildirilmiştir. Dolayısıyla Valsalva manevrasının IV kateterizasyon ilişkili ağrı ve anksiyete düzeyini anlamlı derecede azalttığı saptanmıştır (Mahmoud vd., 2021).

Alan ve Khorshid'in (2022) çalışmasında, IV kateterizasyon uygulanacak olan 110 hasta girişim ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Hastalara işlem sırasında 20 G IV kateter kullanılmış olup, ağrı düzeyleri, uygulama öncesi ve sonrası nabız hızları ve kan basınçları kaydedilmiştir. Girişim grubundaki hastalara semifowler pozisyonu verildikten sonra

turnike uygulanmıştır. Ardından derin bir nefes alarak kapalı hava yoluna karşı zorlu ekspirasyon gerçekleştirmeleri ve karın kaslarını en fazla 20 saniye boyunca kasılı tutması istenmiştir. Bu aşamada hastalar cilt renginde değişiklik, alerjik reaksiyonlar, senkop gibi komplikasyonlar açısından takip edilmiştir. Çalışma sonucunda, Valsalva manevrası uygulanan hastaların ağrı puan ortalamalarının kontrole göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır. Her iki gruptaki hastaların uygulama sonrası sistolik kan basıncının anlamlı derecede azaldığı; ancak nabız hızı ve diyastolik kan basıncı açısından fark olmadığı bildirilmiştir (Alan & Khorshid, 2022).

Buzzy® Cihazı

İntravenöz kateterizasyon sırasında ağrıya neden olan faktörlerden biri kateterizasyon yöntemidir. IV kateterizasyon sırasında yaşanan ağrıyı önlemek veya azaltmak amacıyla çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Buzzy® de bu yöntemler arasında yer almaktadır (Çetin & Çevik, 2019). Buzzy®; vibrasyon ve soğuk uygulamanın tekrarlı kullanılabildiği, maliyeti düşük, kullanımı kolay, hızlı, enjeksiyon ve iğne fobisi olan hastalar için üretilmiş bir cihazdır (Baxter, Leong & Mathew, 2009). Buzzy® aygıtının ağrı üzerindeki etkisini, Kapı Kontrol Teorisi ile açıklamak mümkündür (Melzack & Wall 1965; Baxter, Cohen, McElvery, Lawson & Von Baeyer, 2011). Bu teoriye göre ağrı, spinal kordun arka boynuzunda yerleşmiş bir kapı mekanizması aracılığıyla periferik sinir sisteminden merkezi sinir sistemine doğru iletilir. Ağrı uyarıları alıcı sinirler (akut ağrı mesajlarını taşıyan A delta lifleri ve kronik ağrı mesajlarını taşıyan miyelinsiz C lifleri), dokunma ve titreşim gibi duysal bilgileri taşıyan A beta sinir lifleri tarafından bloke edilir ve kapının kapatılmasıyla analjezi oluşturulur (Baxter vd., 2011; Çetin & Çevik, 2019). Uzatılmış soğuk ise; C liflerini uyarır ve A delta ağrı uyarılarını bloke edebilir. Bunun yanında soğuk; supraspinal ağrı mekanizmasının aktivasyonunun geliştirmeye ve vücudun ağrı eşiğini arttırmaya yardımcı olabilir (Nahra & Plaghki 2005; Baxter vd., 2011). Konuyla ilgili çocuklarda yürütülen pek çok çalışma olmasına rağmen yetişkinlerde yürütülen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Abidin vd, 2018; Redfern, Micham, Sievert & Chen, 2018; Çetin & Çevik, 2019).

Redfern ve arkadaşlarının (2018) çalışmasında, elektif ortopedi cerrahisi planlanan 120 hasta Buzzy® ve kontrol olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Hastalara işlem sırasında 18 G ve 20 G IV kateter kullanılmış olup, işlem sonunda ağrı ve memnuniyet puan ortalamaları karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, Buzzy® cihazının IV kateterizasyona bağlı ağrının azaltılması ve memnuniyetin artırılmasında evrensel bir araç olmadığı saptanmıştır. Ancak Buzzy® grubunda uygulama öncesi yüksek anksiyeteye sahip hastaların ağrı puan ortalamalarının kontrol grubundaki hastalardan düşük olduğu bildirilmiştir (Redfern, Micham, Sievert & Chen, 2018).

Abidin ve arkadaşlarının (2018) çalışmasında, elektif cerrahi planlanan 184 yetişkin hasta dört gruba ayrılmıştır. Grup B: Buzzy® cihazının tamamı (vibrasyon ve soğuk buz paketi), Grup V: Oda sıcaklığında buz paketiyle birlikte vibrasyon, Grup C: Yalnızca soğuk buz paketi, Grup P: Kapatılmış Buzzy® cihazıyla birlikte oda sıcaklığında buz paketi uygulanmıştır. İşlem sırasında 20 G IV kateter kullanılmış olup, ağrı değerlendirilmesi Visual Analog Skala (VAS) ile yapılmıştır. Çalışma sonucunda, Grup B ve Grup V’de bulunan hastaların ağrı puan ortalamalarının Grup P’ye göre anlamlı derecede düşük olduğu, Buzzy® cihazı ile vibrasyon uygulamasının hastaların IV kateterizasyona bağlı ağrının azaltılmasında etkili yöntemler olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Buzzy® uygulanan hastaların %81’i cihazla ilişkili memnuniyet belirtmiştir (Abidin vd., 2018).

Çetin ve Çevik’in (2019) çalışmasında, IV kateterizasyon işlemi uygulanan hastaların ağrı, memnuniyet, anksiyete ve nabız hızı puan ortalamaları değerlendirilmiş olup, Buzzy® kullanılan hastaların ağrı puan ortalamasının $1,04 \pm 0,96$, memnuniyet puan ortalamasının $95,30 \pm 3,89$; kontrol grubundaki hastaların ağrı puan ortalamasının $5,32 \pm 1,64$, memnuniyet puan ortalamasının $82,12 \pm 7,48$ olduğu ve gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu saptanmıştır. Gruplar arasında anksiyete puan ortalamaları açısından fark olmadığı; ancak Buzzy® uygulamasının nabız hızını azalttığı bildirilmiştir (Çetin & Çevik, 2019).

Coolsense® Cihazı

CoolSense® (Coolsense Medical Ltd., Tel Aviv, Israel) cihazı, her yaş grubu ve her enjeksiyon uygulamasında kullanılabilen, kimyasal madde içermeyen, sıcaklık kontrollü başlığa sahip olan, tekrarlı kullanılabilen yenilikçi yöntemlerden birisidir. CoolSense® cihazı, kullanım öncesinde en az bir saat boyunca dondurucuda saklanmalıdır. Cihazın etkin kullanılması ve istenen anestezik etkinin oluşturulmasında, üzerinde yer alan termometrede belirtilen sıcaklığın -4 °C ile 0 °C arasında olması ve beş saniye boyunca işlem bölgesinde kalması gerekmektedir (Çakırlı & Açıkgöz, 2020). CoolSense®, kısa sürede anestezik etki göstermesi sayesinde uygulaması kolay bir yöntem olmasına rağmen yetişkin hastalarda yapılmış sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır (Thind, Roberts & van der Griend, 2021).

Thind ve arkadaşlarının (2021) çalışmasında, IV kateterizasyon uygulanacak olan 64 gönüllü bireye 20 G IV kateter ile iki kez uygulama yapılmıştır. Uygulamalardan birinde CoolSense® cihazı kullanılırken, diğerinde kateterizasyondan 1 saat önce %2.5 lidokain ve %2.5 prilokainden oluşan EMLA bant kullanılmıştır. EMLA bant ile IV kateterizasyon uygulamasında bireylerin ağrı düzeyinin daha düşük ve memnuniyet düzeyinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Katılımcıların büyük çoğunluğu CoolSense® cihazına göre EMLA bantı tercih edeceklerini belirtmiştir. Ayrıca gruplar arasında

başarısız IV kateterizasyon açısından fark olmadığı saptanmıştır. Sağlıklı bireylere elektif IV kateterizasyon uygulamalarında CoolSense® cihazına göre EMLA kullanımının yararlı olacağı bildirilmiştir (Thind vd., 2021).

Ultrason Cihazı

Fizik muayenede belirgin olmayan damarların görülmesini kolaylaştıran ultrason cihazı, IV kateterizasyondaki tekrarlı girişimleri önleyen ve kateterizasyon için harcanan süreyi azaltan bir yöntemdir. Venöz erişimde sıkıntı yaşanan hastaların hissettiği rahatsızlık ve ağrı düzeyini azaltması, ultrason cihazının girişimsel işlemlerde kullanılmasını sağlamıştır. Ultrason cihazı, günümüzde IV kateterizasyon işleminin kolaylaştırılmasında sıklıkla tercih edilmektedir (İsmailoğlu & Zaybak, 2014). Literatürde venöz erişim güçlüğü olan hastalarda ultrason cihazının ağrı ve kateterizasyon başarısı üzerine etkisini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır (İsmailoğlu, Zaybak, Akarca & Kıyan, 2015; Sou vd., 2017).

Sou ve arkadaşlarının (2017) çalışmasında, IV kateterizasyon işleminde başarısızlık yaşanan 379 hasta ultrason rehberliğinde periferik intravenöz kateter yerleştirilmesi için mesai sonrası klinik destek ekibine yönlendirilmiş olup; hastaların ultrason eşliğinde yerleştirilen kateterizasyon sırasında ağrı puan ortancası 2/10 iken, ultrason öncesi uygulanan girişim sırasında ağrı puan ortancası 7/10 olarak saptanmıştır. Çalışma sonucunda, venöz erişim güçlüğü olan hastalarda ultrason eşliğinde ilk denemede kateter yerleştirme başarı oranının %93 olduğu ve ağrı puan ortancalarının anlamlı düşük olduğu bildirilmiştir (Sou vd, 2017).

İsmailoğlu ve arkadaşlarının (2015) çalışmasında acil servise başvuran, öyküsünde zor kateterizasyon olduğunu bildiren 60 hasta, ultrason (30) ve kontrol (30-geleneksel yöntem) gruplarına dahil edilmiştir. Hastalara 20 G IV kateter ve taşınabilir ultrason cihazı kullanılarak IV kateterizasyon işlemi uygulanmıştır. IV kateterizasyon başarı oranı ve ağrı şiddeti sırasıyla ultrason grubunda %70, 4.77 ± 1.74 iken, kontrol grubunda %30, 6.00 ± 1.98 olduğu; gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu belirtilmiştir (İsmailoğlu vd., 2015).

SONUÇ

Intravenöz kateterizasyon, rutin bir uygulama olmasına rağmen pek çok hasta için ağrı, rahatsızlık hissi ve anksiyeteye neden olan bir uygulamadır. Ağrı ve anksiyete hastayı yardım arama davranışına itmektedir. Hemşire yardım arama davranışına cevap vermesi gereken sağlık profesyonellerinden birisidir. Bu nedenle hemşirelerin, IV kateterizasyona bağlı ağrı ve anksiyetenin azaltılmasında literatürdeki gelişmeleri takip ederek uygulamaya aktarması gerekmektedir. Ayrıca hemşirelerin tamamlayıcı ve alternatif tedavi kullanımı konusunda farkındalıklarının artırılması ve kullanılan yöntemlerin kanıta dayandırılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Abidin, N. H. Z., Yahya, N., İzaham, A., Mat, W. R. W., Zain, J. M., Zainuddin, M. Z., & Mahdi, S. N. M. (2018). Assessing the Effectiveness of a Thermomechanical Device (Buzzy®) in Reducing Venous Cannulation Pain in Adult Patients. *Middle East Journal of Anesthesiology*, 25(1), 61-67.
- Alan, N., & Khorshid, L. (2022). Evaluation of Efficacy of Valsalva Maneuver during Peripheral Intravenous Cannulation on Pain. *Pain Management Nursing*, 23(2), 220-224. doi: 10.1016/j.pmn.2021.01.013
- Avşar, G., Özlü, Z. K., Gümüş, K., Özer, N., & Aytekin, A. (2013). Determination of the Situation of Nurses Related to the Application of Peripheric Venous Catheter. *Gümüşhane University Journal of Health Sciences*, 2(4), 499-507.
- Aydın, S., & Arslan, G. G. (2018). Hemşirelerin Periferik İntravenöz Kateter Girişimlerine İlişkin Bilgi Düzeylerinin İncelenmesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi*, 11(4), 290-299.
- Aygün, H., Armağan, E., Özdemir, F., Köse, A., Selimoğlu, K., Köksal, Ö., & Aydın, S. A. (2013). Acil Servise Başvuran Hastalarda İntravenöz Kanülasyon Ağrısını Azaltmada Lidokain-Prilokain Krem ve Buz Uygulamasının Etkinliğinin Karşılaştırılması. *The Journal of Academic Emergency Medicine*, 12(1), 27-29. doi:10.5152/jaem.2013.010
- Bahl, A., Hang, B., Brackney, A., Joseph, S., Karabon, P., Mohammad, A., ... & Shotkin, P. (2019). Standard Long IV Catheters versus Extended Dwell Catheters: A Randomized Comparison of Ultrasound-Guided Catheter Survival. *The American Journal of Emergency Medicine*, 37(4), 715-721. doi: 10.1016/j.ajem.2018.07.031
- Baxter, A. L., Cohen, L. L., McElvery, H. L., Lawson, M. L., & Von Baeyer, C. L. (2011). An Integration of Vibration and Cold Relieves Venipuncture Pain a Pediatric Emergency Department. *Pediatric Emergency Care*, 27(12), 1151-1156. doi: 10.1097/PEC.0b013e318237ace4
- Baxter, A. L., Leong, T., & Mathew, B. (2009). External Thermomechanical Stimulation versus Vapocoolant for Adult Venipuncture Pain: Pilot Data on a Novel Device. *The Clinical Journal of Pain*, 25(8), 705-710. doi: 10.1097/AJP.0b013e3181af1236
- Bayram, S. B., & Caliskan, N. (2016). Effects of Local Heat Application Before Intravenous Catheter Insertion in Chemotherapy Patients. *Journal of Clinical Nursing*, 25(11-12), 1740-1747. doi: 10.1111/jocn.13193
- Bayram, Ş. B., Eren, H. & Çalışkan, N. (2021). Kemoterapi Alan Hastalarda Ven Görünürlüğü ve Venöz Dolgunluğu Sağlayıcı Teknikler. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(2), 273-278. doi: 10.33631/duzcesbed.732209

- Carr, P. J., Rippey, J. C., Cooke, M. L., Higgins, N. S., Trevenen, M. L., Foale, A., ... & Rickard, C. M. (2019). Derivation of a Clinical Decision-Making Aid to Improve the Insertion of Clinically Indicated Peripheral Intravenous Catheters and Promote vessel Health Preservation. An observational study. *PLoS One*, 14(3), e0213923. doi: 10.1371/journal.pone.0213923
- Cozzi, G., Valerio, P., & Kennedy, R. (2021). A Narrative Review with Practical Advice on How to Decrease Pain and Distress during Venepuncture and Peripheral Intravenous Cannulation. *Acta Paediatrica*, 110(2), 423-432. doi: 10.1111/apa.15526
- Çakırlı, M., & Açıkgöz, A. (2020). Coolsense Yönteminin Ağrı Üzerine Etkisi: Sistematik Derleme. *Balikesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9(2), 115-120.
- Çelik, Ş., & Avşar, G. Periferik İntravenöz Kateter Uygulamasında Hemşirelik Bakımı: Kanıta Dayalı Uygulamalar. *Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hemşirelik Dergisi*, 3(3), 177-182. doi: 10.48071/sbuhemsirelik.962136
- Çetin, S. P., & Çevik, K. (2019). Effects of Vibration and Cold Application on Pain and Anxiety during Intravenous Catheterization. *Journal of Perianesthesia Nursing*, 34(4), 701-709. doi: 10.1016/j.jopan.2018.12.005
- Dalvandi, A., Ranjbar, H., Hatamizadeh, M., Rahgoi, A., & Bernstein, C. (2017). Comparing the Effectiveness of Vapocoolant Spray and Lidocaine/Procaine Cream in Reducing Pain of Intravenous Cannulation: A Randomized Clinical Trial. *The American Journal of Emergency Medicine*, 35(8), 1064-1068. doi: 10.1016/j.ajem.2017.02.039
- Düztepeliler, S., İlman, A. Y., Babadag, K., Tuncer, M., & Erol, A. (2020). Ultrason Yardımıyla Periferik İntravenöz Kateter Uygulamasının Girişim Süresi, Kateter Ömrü ve Olası Komplikasyonları: Literatür Taraması. *Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi*, 23(1), 135-146. doi: 10.17049/ata-unihem.551193
- Fusco, N., Bernard, F., Roelants, F., Watremez, C., Musellec, H., Laviolle, B., ... & Yven, T. (2020). Hypnosis and Communication Reduce Pain and Anxiety in Peripheral Intravenous Cannulation: Effect of Language and Confusion on Pain during Peripheral Intravenous Catheterization (KTHYPE), A Multicentre Randomised Trial. *British Journal of Anaesthesia*, 124(3), 292-298. doi: 10.1016/j.bja.2019.11.020
- Helm, R. E., Klausner, J. D., Klemperer, J. D., Flint, L. M., & Huang, E. (2015). Accepted but Unacceptable: Peripheral IV Catheter Failure. *Journal of Infusion Nursing*, 38(3), 189-203. doi: 10.1097/NAN.0000000000000326
- Hijazi, R., Taylor, D., & Richardson, J. (2009). Effect of Topical Alkane Vapocoolant Spray on Pain with Intravenous Cannulation in Patients in Emergency Departments: Randomised Double Blind Placebo Controlled Trial. *British Medical Journal*, 338(7692), 457-459. doi: 10.1136/bmj.b215
- İsmailoğlu E. G. & Zaybak, A. Periferik İntravenöz Kateterizasyon Uygulamalarında Yeni Bir Yöntem: Ultrason Kullanımı. *Ege Üniversitesi Hemşirelik*

Fakültesi Dergisi, 30(3), 68-79.

- İsmailoğlu, E. G., Zaybak, A., Akarca, F. K., & Kıyan, S. (2015). The Effect of the Use of Ultrasound in the Success of Peripheral Venous Catheterisation. *International Emergency Nursing*, 23(2), 89-93. doi: 10.1016/j.ienj.2014.07.010
- Kadyan, R. (2017). Assessment and Evaluation of Effectiveness of Valsalva Maneuver on Pain Reduction during IV Cannulation Among Adults. *International Journal of Health Sciences & Research*, 7(8), 278-283.
- Kartufan, F. F. (2022). Padded Dressing with Lidocaine HCL for Reducing Pain during Intravenous Cannulation in Adult Patients: A Randomized Controlled Clinical Trial. *BioMed Research International*, 1-7. doi: 10.1155/2022/6128557
- Kuş, B., & Büyükyılmaz, F. (2019). Periferik İntravenöz Kateter Uygulamalarında Güncel Kılavuz Önerileri. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(3), 326-332.
- Lenhardt, R., Seybold, T., Kimberger, O., Stoiser, B., & Sessler, D. I. (2002). Local Warming and Insertion of Peripheral Venous Cannulas: Single Blinded Prospective Randomised Controlled Trial and Single Blinded Randomised Cross Over Trial. *British Medical Journal*, 325(7361), 409-503. doi: 10.1136/bmj.325.7361.409
- Mace, S. E. (2017). Prospective, Double Blind, Randomized, Controlled Trial Comparing Vapocoolant Spray versus Placebo Spray in Adults Undergoing Intravenous Cannulation. *Scandinavian Journal of Pain*, 17(1), 8-15. doi: 10.1016/j.sjpain.2017.06.002
- Mahmoud, M., Mosaad, S. E., & Elghareeb, S. M. (2021). Effectiveness of Valsalva Maneuver on Pain among Patients Undergoing Peripheral Intravenous Cannulation. *Egyptian Journal of Health Care*, 12(4), 530-538.
- McNaughton, C., Zhou, C., Robert, L., Storrow, A., & Kennedy, R. (2009). A Randomized, Crossover Comparison of Injected Buffered Lidocaine, Lidocaine Cream, and No Analgesia for Peripheral Intravenous Cannula Insertion. *Annals of Emergency Medicine*, 54(2), 214-220. doi:10.1016/j.annemergmed.2008.12.025
- Melzack, R., & Wall, P. D. (1965). Pain Mechanisms: A New Theory. *Science*, 150(3699), 971-979.
- Milutinović, D., Simin, D., & Zec, D. (2015). Risk Factor for Phlebitis: A Questionnaire Study of Nurses' Perception. *Revista Latino-Americana De Enfermagem*, 23, 677-684. doi: 10.1590/0104-1169.0192.2603
- Nahra, H., & Plaghki, L. (2005). Innocuous Skin Cooling Modulates Perception and Neurophysiological Correlates of Brief CO₂ Laser Stimuli in Humans. *European Journal of Pain*, 9(5), 521-530. doi: 10.1016/j.ejpain.2004.11.007

- Öztürk, E., Erdil, F. A., Begeç, Z., Yücel, A., Şanlı, M., & Ersoy, M. Ö. (2009). İntravenöz Kanülasyon Ağrısına Buzun Etkisi. *Fırat Tıp Dergisi*, 14(2), 108-110.
- Özveren, H. (2011). Ağrı Kontrolünde Farmakolojik Olmayan Yöntemler. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, 18(1), 83-92.
- Page, D. E., & Taylor, D. M. (2010). Vapocoolant Spray vs Subcutaneous Lidocaine Injection for Reducing the Pain of Intravenous Cannulation: A Randomized, Controlled, Clinical Trial. *British Journal of Anaesthesia*, 105(4), 519-525. doi:10.1093/bja/aeq198
- Pamela L. (2015). Taylor's Clinical Nursing Skills: A Nursing Process Approach. (3rd ed.). Korkmaz F, Ince S, Korhan E. A., Sagkal, T, (Çevirmen), (s. 151-276). Ankara: Nobel Akademik.
- Patil, S. S. (2021). Trans-Illumination Device for Vascular Access during Peripheral Intravenous Cannulation. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 6(4), 174-6.
- Potter, P. A., Perry, A. G., Stockert, P. A., & Hall, A. M. (2017). Fundamentals of Nursing. (9th ed.). (s. 2100-2109). Canada: Elsevier.
- Redfern, R. E., Micham, J., Sievert, D., & Chen, J. T. (2018). Effects of Thermo-mechanical Stimulation during Intravenous Catheter Insertion in Adults: A Prospective Randomized Study. *Journal of Infusion Nursing*, 41(5), 294-300. doi: 10.1097/NAN.0000000000000294
- Sarani Ali Abadi, P., Etemadi, S., & Abed Saeedi, Z. H. (2013). Investigating Role of Mechanical and Chemical Factors in the Creation of Peripheral Vein in Flammarion in Hospitalization Patients in Hospital in Zahedan, Iran. *Life Science Journal*, 10(1s), 379-383.
- Selvi, F., Bedel, C., & Akçimen, M. (2021). Vapocoolant Spray for Intravenous Cannulation Pain: A Prospective, Randomized Controlled Trial. *Genel Tıp Dergisi*, 31(3), 295-298.
- Sou, V., McManus, C., Mifflin, N., Frost, S. A., Ale, J., & Alexandrou, E. (2017). A Clinical Pathway for the Management of Difficult Venous Access. *BMC Nursing*, 16(1), 1-7. doi: 10.1186/s12912-017-0261-z
- Tapar, H., Karaman, T., Dogru, S., Karaman, S., Suren, M., & Altıparmak, F. (2018). Evaluating the Efficacy of Valsalva's Maneuver and Music Therapy on Peripheral Venous Cannulation: A Prospective Study. *Anaesthesia, Pain & Intensive Care*, 22(2), 219-223.
- Thind, D., Roberts, S. J., & Van der Griend, B. F. (2021). Coolsense® versus EMLA® for Peripheral Venous Cannulation in Adult Volunteers: A Randomised Crossover Trial. *Anaesthesia and Intensive Care*, 49(6), 468-476. doi: 10.1177/0310057X211039227
- Yılmaz, D. U. (2021). İntravenöz Sıvı Tedavisi. Mağfiret Kara Kaşıkçı & Esra Akın (Eds.), *Temel Hemşirelik Esaslar Kavramlar, İlkeler, Uygulamalar*

içinde (s. 556-581). İstanbul: İstanbul Tıp.

Yılmaz, D., & Güneş, Ü. Y. (2018). The Effect on Pain of Three Different Nonpharmacological Methods in Peripheral intravenous Catheterisation in Adults. *Journal of Clinical Nursing*, 27(5-6), 1073-1080. doi: 10.1111/jocn.14133

“

Bölüm 17

KÖK HÜCRE VE VETERİNER HEKİMLİKTE KULLANIMI

Yeşim ASLAN KANMAZ¹, Sadık YILMAZ²

”

1 Dr., Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi A.D., 23100, Elazığ/
TURKEY, ORCID: 0000-0002-2401-1500

2 Prof. Dr., Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi A.D., 23100,
Elazığ/TURKEY, ORCID: 0000-0001-9511-5625

1. GİRİŞ

Canlının yaşamıyla alakalı bütün yapıları hücrelerinde bulunan DNA içinde yer almaktadır. Zigot evresinden başlayarak sayısız hücreye erişen akabinde farklılaşarak yeni özellikler oluşturan hücrelerin bölünmelerindeki yapılanma önem arz etmektedir (1,2).

Vücudumuzda işlevini yitirmiş hücrelerin yerlerine tekrardan hücreler meydana gelmektedir. Bununla beraber, yabancı antijenlerle başa çıkmak için savunma hücreleri oluşturmaktadır. Canlıların ilk temel hücresi “kök hücre” olarak adlandırılır ki bu hücrelerde birçok farklı hücreler meydana getirebilir (3).

Fötüs’un gelişiminden doğuma kadar akabinde bebeklikten erişkinlik dönemine kadar bütün dokulardaki erişkin hücreler kök hücrelerden meydana gelmiştir. Başka bir deyişle, kök hücreler self-renewal (kendini tazeleme) ayrıca farklılaşabilme (pluropotensi) özelliklerine sahip olmalarına rağmen zamanla bu özelliklerini kaybetmeye başlarlar. Olgunlaşmış hücreler bu özellikleri barındırmazlar. Yıllarca dokularımızdaki somatik hücrelerin farklılaşmalarını tamamlamaları dolayısıyla erken embriyonik döneme dönemeyecekleri ve tekrar kök hücre yapısında olama ihtimallerinin olduğu düşünülmektedir.

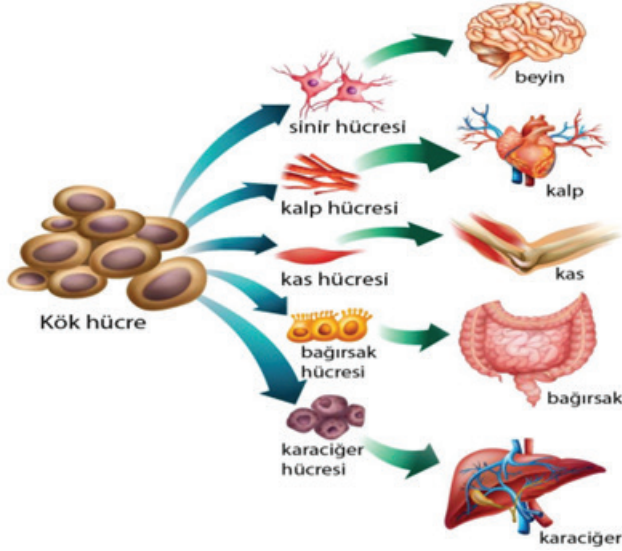
Daha sonra yavru kurbağaların yumurta hücre çekirdeklerini UV ışını kullanarak yok edip sonra başka kurbağanın bağırsak epitel hücresinin çekirdeğiyle UV ışını alarak çekirdeksiz kalan yumurtaya yerleştiren Sir John B. Gurdon, 1962 yılında bir çalışma gerçekleştirdi. Gurdon, kurbağa yavrusunun bağırsak epitelyumunun somatik erişkin hücre olması sebebiyle çekirdeğin bulunduğu yumurta hücresi içerisinde eş özellikleri ile kalması beklenirken, bu hücreler ile yeni kurbağa yavrularının (tadpoles) oluşabileceğini gösterdi. Yapılan çalışmayla somatik bağırsak epitelinin çekirdeği tekrardan programlanarak “re-programming”, embriyonik hücreye geri dönüşebileceği ilk defa ortaya konuldu. Gurdon ve arkadaşlarının 1/2 asır önce bilime sundukları bu önemli bilim dönemimizde “Somatik Hücre Çekirdek Transferi (SCNT)” olarak tanınan teknolojinin esasını oluşturmuştur. Bir başka çalışmada 1997 yılında Prof. Ian Wilmut ve arkadaşları tarafından koyunun meme dokusundan alınan hücrelerle “Dolly” olarak adlandırılan koyunu iyi bir şekilde klonlamayı gerçekleştirdiler. Bu çalışmadan sonra inek, domuz ve farenin de klonlanması ön görülmüştür. Böylelikle Sir John B. Gurdon somatik hücre çekirdeğinin yumurta hücresine transferi (SCNT) ile erişkin bir çekirdeğin “tekrardan-programlanarak = reprogramming” embriyonik kök hücre dönemine geri gelebileceğini ilk defa belirten bilimadamıdır (4).

Martin Evans tarafından farelerin iç hücre kitlesinden ilk defa embriyonik kök hücreler elde edilmiştir (5-8). 1998 yılında ise İnsan embriyonik

kök hücrelerin eldesi gerçekleştirilmiştir (9). 2007 Tıp ve Fizyoloji Nobel Ödülü, Mario Capecchi, Oliver Smithies ve Sir Martin Evans'a verilmiştir (10). Bu 3 değerli araştırmacının fare kök hücrelerinde geliştirdikleri yeni metotlar genetik değişiklikler neticesinde memelilerdeki fizyolojik evrelerin anlaşılmasına olduğu kadar birçok hastalığın fizyopatolojisinin de anlaşılmasına ışık tutmuştur (11).

1.1. KÖK HÜCRE NEDİR?

Kök hücreler, daha farklılaşmamış hücreler olmakla beraber kendilerini tekrarlama özellikleri mevcuttur. Köken aldıkları dokuların spesifik hücre yapılarına farklılaşabilirken, fenotipik olarak kaynağından farklı başka hücrelere de dönüşebilmektedirler (1-5). Kök hücreler hem kendi yedeğini oluştururken, hem de yenilenecek dokunun ihtiyacı olan ve farklılaşması istenen hücreleri (Şekil 1) meydana getirebilmektedir (3,4,6-8).



Şekil 1: Kök hücrelerin farklı hücre ve dokuları meydana getirmesi (12).

Kök hücre Dr. Rudolph tarafından yaşamın kaynağı sayılmış ve “Bütün hücreler bir hücreden meydana gelir (omnis cellula e cellula) bu dizinin başında da döllenmiş yumurta (zigot) mevcuttur” sözünü kullanmıştır. Diğer taraftan somatik hücrelerde yer alan kök hücreler yetişkinlerde doku yenilenmesi ve hasarların onarılması gibi işlemlerde kullanılmaktadır. Kök hücre hem kendi yedeğini oluşturur hemde yenilenecek hücre için gerekli farklılanmayı meydana getirir. Kök hücreler farklı doku ve organlarda yer alabilmektedir (13,14).

Bir hücreyi, kök hücre olarak adlandırmak için bazı şartlar bulunmaktadır (15).

Kök hücreler, bölünebilme (proliferasyon) ve kendi kendilerini tekrar etme (rejenerasyon) özelliği mevcuttur. (16).

Kök hücreler özelleşmemiş hücrelerdir. Kök hücre, kalpte ki gibi kanı vücuda aktarmak için komşu hücrelerle beraber hareket etmez, eritrositlerdeki gibi oksijeni dokulara aktarmaz. Fakat, özelleşmiş hücrelere farklılaşmak için köken oluşturabilirler. (17).

Kök hücreler, özelleşmemiş hücrelere kaynak oluştururlar. Bu özellik kök hücrelerin farklılaşma (differentiation) özelliği (Şekil 2) olarak isimlendirilir.

Kök hücreler birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler (12).

Bunlar; Farklılaşabilme özelliklerine göre kök hücreler totipotent, pluripotent, multipotent, oligopotent ve unipotent şeklinde sınıflandırılmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1. Kök hücre türleri ve farklılaşma potansiyelleri (14).

Kök Hücre Türü	Tanım	Örnek	Kaynak
Totipotent	Organizmanın tüm hücre türünü ayrıca embriyoyu oluşturur.	Blastomerler	Bir-üç gün dömlü yumurta hücreleri
Pluripotent	Üç germ tabaka oluşumuna esas teşkil ederler.	Embriyonik kök hücreler	Beş-ondört günlük embriyo
Multipotent	Embriyonik gelişimin dahada ilerlemiş dönemindeki hücreler olup, özelleşmiş hücre türlerine farklılaşırlar ayrıca olgun kök hücrelerinedönüşürler.	Hematopoetik kök hücreler	Kordon kanı, fetal dokusu, kemik iliği, olgun kök hücreler
Unipotent	Sadece tek yönde farklılaşabilen kök hücrelerdir.	Nöral kök hücreleri	Olgun kök hücreleri
Uyarılmış Pluripotent	tekrardan programlanan ayrıca pluripotent özelliği kazanan hücrelerdir.		Pluripotent olmayan hücrelerden izole olur.

- **Totipotent:** Totipotent kök hücreler, farklılaşabilme kapasitesi en fazla olan hücrelerdir. Bu hücrelerin gelişimi morula aşamasına kadardır. Embriyonik veya ekstraembriyonik kök hücrelere farklılaşabilme özelliğine sahiptirler (10,18,19).

- **Pluripotent:** Bu grup kök hücreler, sınıflandırmada totipotent hücrelerin alt bölümünde yer almaktadır. Pluripotent hücreler vücutta yer alan bütün doku ve organları meydana getiren üç germ tabakasına (ektoderm, endoderm ve mezoderm) farklılaşabilmektedir. Fakat totipotentler gibi ekstraembriyonik dokulara farklılaşabilme özelliği gösterememektedirler (18,20). İlk olarak pluripotent kök hücreler blastokistin iç hücre külesinden meydana gelmiştir (21). Elde edilen hücreler embriyonik kök hücreler olarak isimlendirilmiştir. Pluripotent hücreleri tanımlamak için Oct4, Sox2 ve Nanog genleri kullanılmaktadır (22). İnsan embriyonik kök hücrelerinin, farklılaşma faktörleri olmadan belirli bir süre besi yersiz ve serumsuz kültürde korunduğu tespit edilmiştir (23). Pluripotent hücre grubundaki kök hücreler “indüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler (iPKH)” şeklinde isimlendirilmektedir. (24-26).

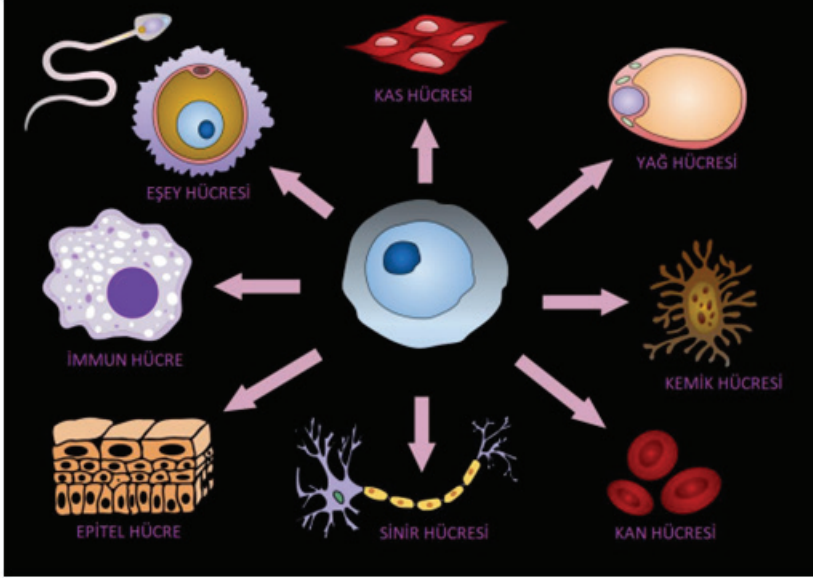
- **Multipotent kök hücreler:** Multipotent kök hücreler, her dokuda bulunmakla beraber üç germ tabakasının herhangi birinden meydana gelebilmektedir. Bu kök hücreler gelişim, doku yenilenmesi-hemostazı ve savunma gibi rolleri üstlenmektedir. Multipotent kök hücrelerin elde edildiği dokular periosteum, dermis, kemik iliği, Wharton jeli, sinoviyal sıvı, adipöz doku, göbek kordonu kanı ve periferik kandır (10,18,27).

- **Oligopotent kök hücreler:** Oligopotent kök hücreler, multipotent kök hücrelerden sonra gelmektedir. Bunların beraber belirli bir dokuda iki veya üç defa farklılaşabilme kapasitesine sahiptirler. Oligopotent kök hücreler, ilk olarak domuzların oküler yüzeyinde tanımlanmıştır. Ayrıca kornea ve konjonktival hücrelere farklılaşabilmektedir (28). Bununla beraber bronkoalveolar kanal bağlantı hücreleri, bronşiyol epiteli ve alveoler epiteline farklılaşabilmektedir. Bundan dolayı oligopotent kök hücrelere örnektir. (29).

- **Unipotent kök hücreler:** Bu hücrelerin yalnız bir hücre grubuna farklılaştığı bilinmektedir. Progenitör hücreler olarak da adlandırılmaktadır. Unipotent kök hücrelere örnek olarak hepatosit progenitör hücreler, osteoprogenitör hücreler, kondroprogenitör hücreler vb. hücreler yer almaktadır (10,18).

Kök hücreler, hasarı bulunan alıcıya transport sonrasında köken dokuya fonksiyonel olarak tekrar çoğaltılma imkanına sahiptirler. Söz konusu durum hematopoetik kök hücrelerde ve yakın geçmişte de karaciğer öncüllerinde ve sinir kök hücrelerinde belirtilmiştir.

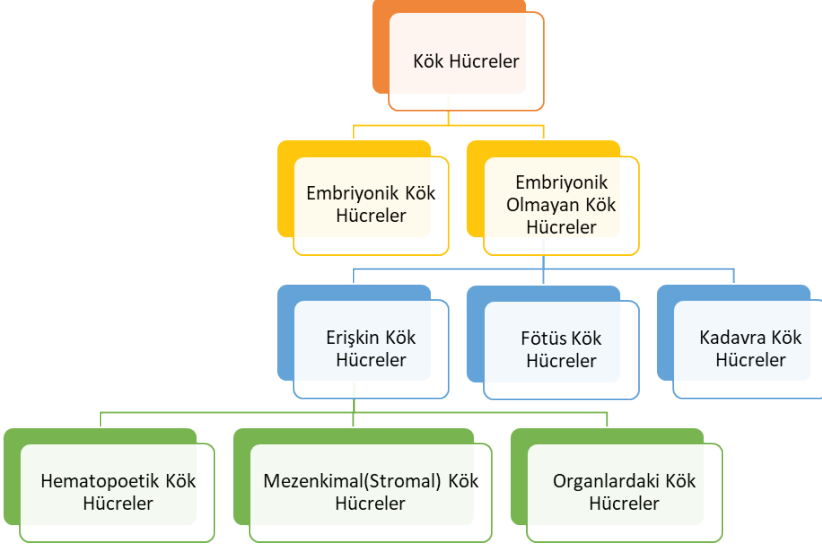
Kök hücre, in vivo şartlarda doku zedelenmesinin bulunmadığı koşullarda dahi farklılaşmamış kuşaklara katkı sağlama imkanı bulunmaktadır. Söz konusu duruma örnek, embriyonik veya yakın geçmişte gösterildiği gibi olgun kök hücrelerinin (nöral ve mezankimal gibi) blastokist enjekte oldukları farklı hücre türlerine köken teşkil oluşturmaları söylenebilir. (12).



Şekil 2: Kök hücrenin farklılaşabildiği bazı hücreler (18).

1.2. Kök Hücre Tipleri

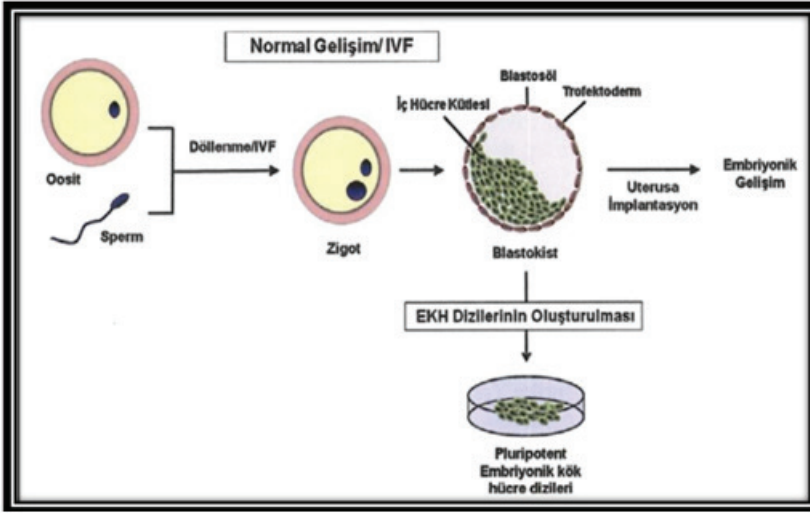
Kök hücreler elde edildikleri kaynağa göre tablo 2’ deki gibi çeşitlere ayrılırlar.

Tablo 2: Kök hücre tipleri (3).

1.2.1. Embriyonik Kök Hücreler

Canlıların gelişimi, zigot evresinden başlayarak hücresel yapıların aşamalı olarak ortaya konması ve işlevsel farklılaşma aşamalarını kapsayan çok hücreli bir organizmanın meydana geldiği bir süreçtir. Bu süreçte yer alan hücrelerin, gelişebilme özellikleri birbirinden farklıdır. Bu özellikler çoğu zaman azalan yöndedir (10,24,30,31).

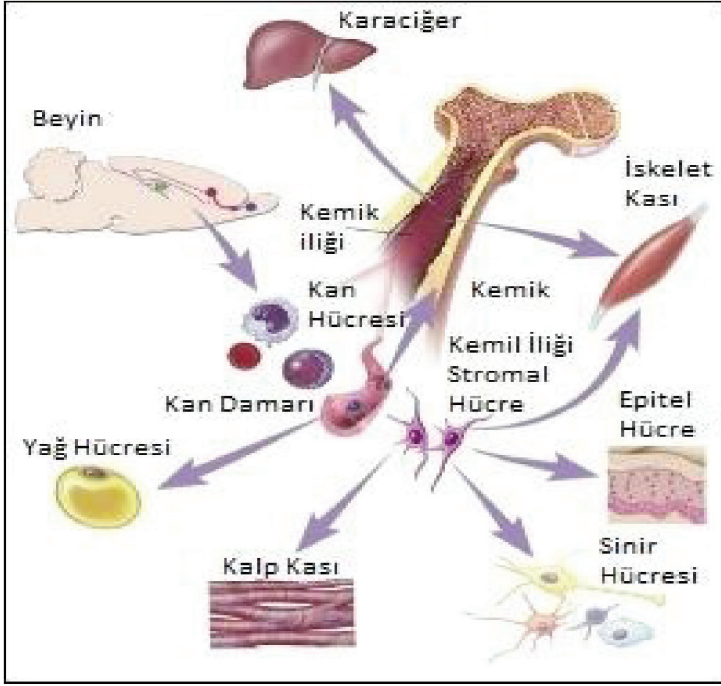
Şekil 3’de görüldüğü üzere, embriyonik kök hücreler döllenmeyi takiben birkaç gün içerisindeki blastokist aşamasından meydana gelmektedir. Blastokist aşamasındaki embriyo iki farklı hücre tipinden meydana gelir; Biri “Trofektoderm” olarak isimlendirilen blastokistin dış kısmı ki bu da plasentayı oluşturur, diğeri ise iç kısmında kitle halinde yer alan ve fetal yapıyı meydana getiren kısımdır (10,24,30,32).



Şekil 3: Embriyonik kök hücrelerin gelişim şeması (10).

1.2.2. Erişkin (Yetişkin) Kök Hücreler

Erişkin kök hücreler, gelişimini devam ettiren bir organizmada, başta kemik iliği ve yağ doku olmak üzere çeşitli dokularda gerektiğinde kendini çoğaltabilen, kararlanabilen ve farklılaşabilen hücreler olarak bulunmaktadır. Bu hücreler aynı zamanda ‘olgun kök hücre’ ya da ‘dokuya spesifik kök hücre’ olarak da adlandırılır. Fakat olgun kök hücreler embriyonik kök hücrelere göre oranla daha az hücre çeşidine farklılaşabilmektedirler (Şekil 4) (10). Son zamanlarda elde edilen gelişmelere paralel olarak bir doku kök hücresinin farklı organ ya da dokulardaki farklılaşmış hücrelere dönüşebilme özelliklerinin belirlenmesiyle birlikte erişkin kök hücreler ile ilgili çalışmalara yoğunluk verilmeye başlanmıştır (33,34). Erişkin kök hücre eldesinde göbek kordon kanı, plasenta, periferik kan ve kemik iliği aynı zamanda beyin, kalp, böbrek, deri, yağ doku, göz, gastro-intestinal sistem, karaciğer, pankreas, akciğer, meme, ovaryum, prostat ve testis olmak üzere farklı dokulara kaynak olarak kullanılabilir (3,6,7,35).



Şekil 4: Yetişkin kök hücrelerin farklı hücrelere diferansiye olması (35).

1.2.2.1. Hematopoetik Kök Hücre (HKH)

Hematopoetik kök hücreler, embriyonal gelişim sırasında önce yolk kesesinden fetal karaciğere daha sonra dalak ve kemik iliğine taşınırlar. Yetişkinlerde, bir miktar kök hücre periferik kanda yer alırken bu sayı bazı büyüme faktörleri ve kemoterapötik ajanlarla artırılabilir. Hematopoetik kök hücreler, kemoterapi ya da radyoterapi ve miyelo ablasyon oluşturulan hastalara nakledildiğinde adezyon molekülleri aracılığıyla kemik iliğine yerleşir ve yeni kan hücreleri meydana getirir. Bu aşamalar homing (yerleşme, yerini bulma) olarak adlandırılır (36-41).

Allojenik kit ile lösemi hastalığı, kemik iliği yetmezlikleri, prelösemik durumlar sağaltılırken, fazla dozajda kemoterapi uygulamasına olanak sağlayacak otolog kit ile birçok tümör yapılarının iyileşmesi mümkün olabilmektedir. Periferik kanda bulunan bütün kan elemanları HKH'den köken alırken, kemik iliğinde HKH'nin kendini yenilemesi ve farklılaşması destekleyici mikroçevrenin veya niş'in bulunmasına önemli derecede bağlıdır. Birçok yüzey belirteçlerinin ortaya konulmasıyla belirlenebildikleri halde, pratikte heterojen bir grup olarak karşımıza çıkarlar. HKH'ler doğumu takiben kemik iliği, kordon kanı ve periferik kan gibi hematopoetik dokularda mevcuttur. Lineage belirleyicilerinin yokluğuyla (Lin-) ile beraber bazı belirleyiciler ile tanımlanırlar (37-42).

1.2.2.2. Mezenkimal (Stromal) Kök Hücreler (MKH)

MKH, morfolojik olarak fibroblastik hücre yapısına benzer hücrelerdir (30). Bu hücreler plastik yüzeylere yapışırlar. MKH ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda bu hücrelerin adipoz doku, diş pulpası, kordon kanı, Wharton jeli, amniyotik sıvı, kemik iliği gibi çeşitli dokulardan eldesi sağlanmıştır (10,43,44). MKH için 2006 yılında Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği (International Society of Cellular Therapy, ISCT) tarafından yüzey belirteçleri bir standarta bağlanmıştır. Bu standartlara göre mezenkimal kök hücreler CD90, CD73, CD105 yüzey belirteçlerini eksprese (ifade) ederken, CD45, CD14, CD11b, CD34, CD79 α , CD19 ve HLA DR yüzey belirteçlerini ifade etmezler. Bu yüzey belirteçleri hücrenin kimliklendirilebilmesi için şu ana kadar kabul edilmiş en geçerli standartlardır (45). 12 Ayrıca buna ek olarak MKH rex-1, sox-2, oct-4 gibi embriyonik kök hücreye ait genetik belirteçleri ifade eder. MKH, uygun koşullar altında birtakım mediyatörler ve büyüme faktörleri aracılığı ile nöral, endotelial, osteolojik (46), kardiyolojik hücre yapılarına plastisite özelliği sayesinde diferansiye olabilir (47).

MKH'lerin varlığının ve kalite kontrolünün belirlenmesinde kullanılan başlıca kriterler vardır.

Hücre sayısının belirlenmesi: Bu işlem hücre sayıma uygun mikroskoplar ile gerçekleştirilir. (Thoma lamı, Neugot chamber vb).

Canlılığın ortaya konulması: Canlılık için Tripan mavisi kimyasalı kullanılmaktadır. Genelde %95'in üzerinde canlılık durumu istenmektedir.

Morfolojik olarak analiz yapma: Genellikle iğsi yapıdaki hücreler kök hücre olarak kabul edilirken, poligonal yapıdaki hücreler farklılaşmanın başladığı hücreler olarak belirlenir. Ancak insan kemik iliği kaynaklı kök hücreler yuvarlak olup hücre sitoplazma oranı bakımından yüksek değerde ve 15-20 μ m'lik boyutta hücreler olarak karşımıza çıkmaktadır.

İmmünofenotipleme (kimliklendirme) işlemi: Sıklıkla karşımıza çıkan kimliklendirme panelleri CD45, CD34, CD90, CD31, CD13, CD105, CD14, CD73, CD44, CD29, CD166, Stro-1, HLA-DR.

Flow (Akım) sitometrik DNA piloidi analiz işlemleri: Çoğunlukla hipodiploidi veya hiperdiploidi kültür esnasında major DNA içerik değişiminin varlığını test etmek için yapılmaktadır.

Farklılaşma kapasitesinin ortaya konulması: Adipojenik, kondrojenik, osteojenik, nörojenik, kartilaj, düz kas, endotelial farklılaşma çalışmaları elde edilen hücrenin her üç germ tabakasına ait farklılaşma kapasitesinin ortaya konulması amacıyla yapılmaktadır (10,17,48).

1.2.2.2.1.MKH'lerin Hücre Yüzey Moleküllerinin Belirlenmesi ve Kimliklendirilmesi

Mikroskop görüntüleri ile çoğu hücre benzer morfolojiler gösterirler. yalnız bir kısım hücreler (eritrositler, nöronlar vs.) ilk görüldüğü anda morfolojik olarak ayrılabilir ve tanımlanabilirler. Söz konusu hücreler dışında kalanlar ise morfolojik özelliklerden (çekirdek morfolojisi, granülosit yapısı, boya madesi duyarlılığı vs.) faydalanmak gereklidir (49). Özellikleri göz önünde bulundurularak da hücreler içerisinde bir grupta ayırmalar yapmak söz konusudur. Fakat bu çeşit ayırmalar bile çoğu zaman hücreleri birbirinden ayırmada yetersiz kalabilir. Böyle bir durumda hücrelerin daha detaylı olacak şekilde tanımlanabilmesi için hücreler şekil özelliklerinden çok moleküler düzeyde kimliklendirilmesi gerekir. Çünkü hücrelerin kimliklendirilmesi aynı zamanda hücrelerin maturasyon devreleri de son dönemde önem arz kazanmaya başlamıştır. Buradan da anlaşılacağı üzere artık hücrenin kimliklendirilmesi ayrıca evrelemesi de önem arz kazanmıştır. Bütün bu detaylı kimliklendirme işleminin yapılması için daha detaylı moleküler analizlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun için hücrelerin yüzeyindeki CD (farklılaşma-ayrım kümesi “cluster of differentiation”) molekülleri birçok hücrenin kimlik kazanmasında oldukça önemlidir.

Bu kimlik belirlemede genel olarak rakamlar (örneğin; CD45, CD44, CD105, CD90 vb.) kullanılır. Bu kimlik sistemi sayesinde hücrelerin çeşidi, evreleri, fizyolojik ya da patolojik durumları hakkında bilgi sahibi olunabilir (49,50). Genel olarak tercih edilen tanımlama panelleri aşağıdaki gibi tespit edilmiştir (51-53).

- HKH için kullanılan kimliklendiriciler: CD45, CD34, CD33, CD38, CD133, CD13, CD14, CD3,
- Genel MKH'leri belirlemek için kullanılan belirteçler: CD44 (+), CD45(-), CD105 (+), CD34 (-), CD73 (+), CD13 (+), CD14 (-), CD31(-), CD29 (+), CD90 (+), CD166 (+), Stro-1 (+), HLA-DR (-).

1.2.2.3. Fötüs Kök Hücreleri

1998 yılında Gearhart ve arkadaşlarının araştırmaları neticesinde, 5-9 hafta döneminde olan fetusun gonadal kıvrımı ve mezenter bölgede bulunan primordiyal germ hücre kültüründen eldesi sağlanmıştır. Fetustan izolesi sağlanan kök hücrelerin araştırmada ya da sağaltımda kullanılması uygun doku gruplarına ait fetus kaynaklarının elde edilmesi gibi etik açıdan yönden ciddi problemler oluşturabilir. Fakat fetus düşüğü şekillenene kişiler tarafından bu hücrelerin bağışları yapılarak bilimsel ve sağaltım amacıyla kullanılabilir. Gerekli olan fetus ihtiyacının azlığı sebebiyle fetus kökenli germ hücreleri araştırmaları ivmesini kaybetmiştir.

Fetustan izole edilmekte olan kök hücreler çok sınırlıdır (nöral kök hücreler, hematopoetik kök hücreleri ve pankreas öncü hücreleri) (49). Son dönemde farklı kalıtsal hastalıklar fetal karaciğer kaynaklı kök hücre nakilleri ile tedavisi gerçekleştirilmektedir(50).

1.2.2.4. Kadavra kök hücreleri

Kadavralar organ nakli bekleyen birçok hasta için uzun yıllardır umut kaynağı olmuştur. Son dönemlerde ise kadavralar kök hücre nakli beklemekte olan hastalar için umut kaynağı olmaktadır. Organizmanın ölümünden sonraki 5 gün içinde kemik iliğinden canlı kök hücreler izole edilmiştir. Böylece kök hücre tedavisine devam edilen hastalar için önemli kaynak oluşturacağı düşünülmektedir. Bilimciler kadavranın el kemik dokusundan izole ettikleri kök hücreleri laboratuvar şartlarında geliştirip kondrojenik ve lipojenik hücrelere dönüşümünü başardılar. Son dönemlerde ise bu kök hücreleri sinir ve bağırsak hücrelerine farklılaştırmaya çalışmaktadırlar.

Araştırma ekibinden D'Ippolito; canlı organizmadan elde edilen sınırlı sayıdaki hücreye nazaran kadavradan izole edilen çok sayıda hücre ile daha etkili sayıda kök hücre izole ettiklerini belirtmektedir. Stokholm'da rejeneratif tıp bilimcisi olan Pablo Macchiarini ise ölüm sebebi ile vücutta oluşan birtakım salgıların ve ani sıcaklık düşmesinin kök hücreleri de bu durumda etkilenme durumunun olduğunu bu hücrelerin sağlık bakımından bir anormallik olmadığını söyleyebilmek için çalışmalar yapılması gerektiğini savunarak bu duruma daha titiz olarak bakıyor.

Farklı yaralanma sonucunda bir takım göz sorunları oluşan kişiler için taze kadavralardan korneal kök hücreleri alınarak kullanılmaktadır. University of College London'dan Chris Mason ise canlı organizmalardan elde edilen korneal kök hücrelerin söz konusu sağaltım için daha akılcı ve sürekli olacağını zira kadavradan elde edilen kök hücrelerin eninde sonunda biteceğini belirtmekte (51).

Bilimciler bu tür hücrelerden izole edilen hücrelerin çoğalma hızlarının ölen kişilerin yaşıyla ters orantılı olduğunu belirtmektedir (49).

1.3. Kök Hücre Kullanım Alanları

Canlı organizmalarda önemli fonksiyonları oluşturan beyin, kalp, karaciğer gibi organlar ciddi hasarlar bir hal aldıkları zaman geri dönüşümler mümkün olmamaktadır. Kök hücreler bölünebilme ve farklılaşma özeliğine sahip olduğu için hastalık neticesinde hasar oluşan organ ve dokuların yenilenmesi aşamasında kullanım endikedir. Son dönemde bilimciler organ naklinin yerini alabilecek ve organ nakli imkanı bulunmayan kişilere için kullanılabilecek kök hücre sağaltımı ile ilgili araştırmalar yapmaya devam edilmektedir. Kalp kası yenilenmesi, şeker hastalığı, romatizma sınıfındaki hastalıklar, sinir sistemi hastalıkları (Parkinson, Alzheimer), sinir

sistemi ve omurilik hasarları, karaciğer hasarları gibi bozukluk durumunda kullanılmaktadır. Klinik olarak, ortopedik hasarlar, kısırlık gibi bazı hastalıklar ve deri hastalıklarında da kök hücre tedavisi daha sık kullanım alanı bulmaktadır. Kök hücrelerinin kullanıldığı diğer hastalıklar ise akut ve kronik lösemiler, myelodisplastik sendromlar, kök hücre bozuklukları, myeloproliferatif, lenfoproliferatif ile fagosit bozuklukları, lipozomal depo hastalıkları, konjenital (kalıtsal) bağışıklık sistemi hastalıkları gibi bozukluklar için de kök hücre sağaltımı kullanılmaktadır (3).

1.4. MKH'lerin Veteriner Hekimlikte Kullanımı

Kök hücrenin veteriner hekimlikteki Yeri ve kullanım alanları Kök hücreler veteriner hekimlikte özellikle klinik bilimlerinde sıklıkla atlarda, kedi ve köpeklerde kemikte meydana gelen hasarlarda ve kas yaralanmalarında kullanılmaktadır (54). Ayrıca karaciğer hasarında, diyabet gibi metabolik hastalıklarda, miyokardial enfarktüs olgularında, retinal bozukluklarda, kemik iliği hastalıkları gibi çoğu durumda kök hücre tedavisi uygulanmaktadır (55,56). 20 Atlarda, Violini ve ark. (57) tarafından amniyondan mezenkimal kök hücre elde edilirken, yine bu hayvanlarda kemik iliğinden, kordon kanından (58), yağ dokudan ve periferik kandan (59) da kök hücre eldesi sağlanmıştır. Atlarda doğum anında non-invaziv olarak kordon kanı alınması sonucu bu kandan kök hücre izole edilebilirken (58) bunun yanında anestezi altındaki attan sternum veya tuber coxae'dan kemik iliği alınarak da MKH eldesi sağlanmıştır (54). Koyunlarda ise kök hücre eldesinde, kordon kanı cerrahi işlemle intrauterin dönemde toplanmıştır. İneklerde ise kordon kanı kaynaklı kök hücreler çok sayıda kültür işleminden geçtikten sonra, kemik iliği kaynaklı MKH'lere benzer hücreler meydana getirilmiştir (60). Hasarlı köpek kalbinden, kök hücrelerin izole edilmesiyle, kardiyak enfarktüslerde kök hücre tedavisi uygulanarak iyileşme süresinin ivmeleneceği belirlenmiştir (56). Veteriner hekimlikte tedavi amacıyla kök hücre uygulamaları, ilk defa atlarda suspensor ligament hasarının tedavisinde kullanılmıştır. Bu uygulama, sternumdan alınan kemik iliği aspiratının yüksek dozda, doğrudan hasarlı ligamente verilmesi yoluyla gerçekleştirilmiştir. Atların periferik kanının kaynak olarak kullanıldığı başka bir çalışmada elde edilen kök hücreler corneal ülser ve retina yırtıklarında, direkt hasarlı bölgeye uygulama ya da intravenöz yolla uygulama şeklinde gerçekleştirilmiştir (59). Domuzlarda retinal transplantasyon işlemi için indüklenmiş pluripotent kök hücreler kullanılmış ve bu yapılar rot fotoreseptör tabakasına farklılaşabilmişlerdir (55). Köpeklerde yapılan başka bir çalışmada ise kemik ve kemik iliği hasarlarında tercih edilen embriyonik kök hücreler hematopoietik progenitör hücrelere farklılaştırılabilmişlerdir (61).

KAYNAKLAR

1. Kök hücreleri. <http://www.Ttb.org.tr/TD/TD125/> 27.10.2006.
2. řahin F, Saydam G, Omay SB. Kök hücre plastisitesi ve klinik pratikte kök hücre tedavisi. The Turkish Journal of Hematology and Oncology 2005; 15: 48-57.
3. Saęsöz H, Ketani MA. K k hücreler. Dicle  niv Vet Fak Derg 2008;1(2):29-33.
4. Kansu E. “2012 Nobel Tıp  d l  ve K k Hücrelerin Geleceği”. http://thd.org.tr/thdData/Books_/679/2012-nobel-tip-odulu-ve-kok-hucrelerin-gelecegi-emin-kansu.pdf.
5. Evans MJ. The isolation and properties of a clonal tissue culture strain of pluripotent mouse teratoma cells. J Embryol Exp Morphol 1972;28(1):163- 76.
6. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. Nature 1981;292(5819):154-6.
7. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. Proc Natl Acad Sci (USA) 1981;78(12):7634-8.
8. Martin GR, Evans MJ. The morphology and growth of a pluripotent teratocarcinoma cell line and its derivatives in tissue culture. Cell 1974;2(3):163-72.
9. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998;282(5391):1145-7.
10. www.nobelprize.org.
11. Kansu E. 2007 Nobel  d l   yk s : Embriyonik kök hücreleri ve knock-out fare modellerinin  nemi. ANKEM Derg 2008(ek 2);5-8.
12. Anonim. <https://epistemturkiye.org/kok-hucre-nedir-neden-bu-kadar-cok-umut-vadediyor/>.
13. Ural AU. Kök hücreler. TOTB D (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Derg 2006;5:3-4.
14. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. 1, Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi, 2009.
15. Verfaillie CM, Pera MF, Lansdorp PM. Stem cell shype and reality. In: Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2002; s:369-391.
16. Campbell KH, McWhir J, Rirchie WA, et al Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature 1996; 380:64-66.
17. Reya T, Duncan AW, Ailles L. A role for Wnt signaling in self renewal of hematopoietic stem cells. Nature 2003; 423:409-414.
18. Martin-Rendon E, Watt SM: Stemcell plasticity. Br J Haematol 2003, 122:877-891.

19. Patapoutian A, Wold BJ, Wagner RA. Evidence for developmentally programmed transdifferentiation in mouse esophageal muscle. *Science* 1995; 270:1818-1821.
20. Hardeman EC, Chiu CP, Minty A, et al. The pattern of actin expression in human fibroblast X Mouse muscle heterocaryons suggests that human muscle regulatory factor sare produced. *Cell* 1986; 47:123-130.
21. Terada N, Hamazaki T, Oka M. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002; 416:542-545.
22. Emin Kansu, a.g.m.
23. Anaraki, a.g.e
24. Monroe KR, Miller RB, Tobis JS, Fundamentals of Stem Cell Debate, London, University of California Press, 2008.
25. Yu J, Vodyanik MA, Otto K et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 2007; 318: 1917-1920.
26. Anonim. <http://kisi.deu.edu.tr/bulent.cavas/ders/bok2.ppt>
27. Anonim. <http://www.ilketkinlik.com/yazi/Gen-klonlama-isleminin-basamaklari-bitkilerde-ve-hayvanlarda-klonlama-islemi-fth192>.
28. Kim M, Habiba A, Doherty JM et al. Regulation of mouse embryonic stem cell neural differentiation by retinoic acid. *Developmental Biology* 2009; 328: 456-471.
29. Lakshmipathy U, Verfaillie C. Stem Cell Plasticity. *Blood Reviews* 2005; Sayı: 19.
30. Karakaya A. Kök Hücre Çalışmaları Ve Etik. Yüksek lisans tezi, İstanbul: Fa-tih Sultan Mehmet Vakıf Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, 2013.
31. Ural AU. Hematopoetik kök hücre Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara 7.
32. Peter J. Quesenberry et.al. Stem Cell Biology And The Plasticity Polemic. *Experimental Hematology* 2005 Sayı: 33.
33. Andrades JA, Claros S, Palomo PJ, et al. Skeletal Regeneration by Mesenchymal Stem Cells: What Else? *Regenerative Medicine and Tissue Engineering-Cells and Biomaterials*. 2011; 5:107-144.
34. Friedenstien AJ, Gorskaja U, Kalugina NM. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 1976; 4: 267-274.
35. Inukai T, Katagiri W, Yoshimi R, et al. Novel application of stem cell derived factors for periodontal regeneration. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013; 430:763-8.
36. Csaki C, Matis U, Mobasheri A, et al. Chondrogenesis, osteogenesis and adipogenesis of canine mesenchymal stem cell: a biochemical, morphological

and ultrastructural study. *Histochem Cell Biol*, 2007;128: 507-20.

37. Kim JW, Lee JH, Lyoo YS, et al. The effects of topical mesenchymal stem cell transplantation in canine experimental cutaneous wounds. *Vet Dermatol*, 2013; 24: 242-253.
38. Pasquinelli G, Tazzari P, Ricci F, et al. Ultrastructural Characteristics of Human Mesenchymal Stromal (Stem) Cells Derived from Bone Marrow and Term Placenta. *Ultrastructural Pathology*, 2007;31: 23-31.
39. Özen A, Sancak İG. Mezenkimal kök hücreler ve veteriner hekimlikte kullanımı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2014; 61, 79-84.
40. Lettry V, Hosoya K, Takagi S, et al. Coculture of equine mesenchymal stem cells and mature equine articular chondrocytes results in improved chondrogenic differentiation of the stem cells. *Jpn J Vet Res*, 2010; 58: 5-15.
41. Pittenger MF, Maçkay AM, Beck SC et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999; 284:143-147.
42. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for non-hematopoietic tissues. *Science*, 1997;276: 71-74.
43. Ozen A, Gul Sancak I, Koch S, Von Rechenberg B. Ultrastructural characteristics of sheep and horse mesenchymal stem cells (MSCs). *Microscopy Research*, 2013; 1,17-23.
44. Vieira NM, Valadares M, Zucconi E, et al. Human adipose-derived mesenchymal stromal cells injected systemically into GRMD dogs without immunosuppression are able to reach the host muscle and express human dystrophin. *Cell Transplant*, 2012; 21: 1407-17.
45. Tan B, Wei RQ, Tan MY, et al. Tissue engineered esophagus by mesenchymal stem cell seeding for esophageal repair in a canine model. *J Surg Res*, 2012.
46. Qiao SM, Chen GH, Wang Y, et al. Ultrastructure of human umbilical cord mesenchymal stemcells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2012; 20: 443-447.
47. Ryu HH, Kang BJ, Park SS, et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from fat, bone marrow, Wharton's jelly, and umbilical cord blood for treating spinal cord injuries in dogs. 2012; 74: 1617-30.
48. Wood JA, Chung DJ, Park SA, et al. Periocular and intra-articular injection of canine adipose-derived mesenchymal stem cells: an in vivo imaging and migration study. *J Ocul Pharmacol*, 2012; 28: 307-17.
49. Stem Cell. Erişim: <http://www.stemcellresearchnews.com>. Erişim Tarihi: 27.12.2008.
50. Kök Hücre Teknolojisi. Erişim: <http://www.kokhucre.com>. Erişim Tarihi: 27.10.2006
51. Anonim. <https://www.newscientist.com/article/dn23034-cadaver-stem-cells->

offer-new-hope-of-life-after-death/.

52. Özen A, Sancak İG, Bayraktaroğlu AG, et al. Genç ve yaşlı köpeklerin yağ dokusundan elde edilen mezenkimal hücrelerin karakterizasyonu. Ankara Üniv Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara 2015.
53. Vieira NM, Brandalise V, Zucconi E, et al. Isolation, Characterization and Differentiation potential of canine adipose-derived stem cells. *Cell transplantation*, 2010;19:279-289.
54. Fortier LA., Travis AJ., 2011. Stem cells in veterinary medicine. *Stem Cell Research & Therapy*, 1, 2-9.
55. Zhou L., Wang W., Liu Y., et al. Differentiation of induced pluripotent stem cells of swine into rod photoreceptors and their integration into the retina. *Stem Cells*. 2011; 29, 972- 980.
56. Gattegno-Ho D., Arygle SA., Arygle DJ. Tools to understand diseases and enable tissue regeneration and drug discovery. *The Veterinary Journal*. 2012;191, 19-27.
57. Violini S., Gorni C., Pisani LF., Ramelli P., Caniatti M., Mariani P., 2012. Isolation and differentiation potential of an equine amnion-derived stromal cell line. *Cytotechnology*, 64, 1-7.
58. Koch TG., Heerkens T., Thomsen PD., Bett DH., 2007. Isolation of mesenchymal stem cells from equine umbilical cord blood. *BMC Biotechnology*, 7, 1-9.
59. Marfe G., Massaro-Giordano M., Ranalli M., Cozzoli E., Stefano CD., Malafoglia V., Poletti M., Gambacurta A., 2012. Blood derived stem cells: An ameliorative therapy in veterinary.
60. Raoufi, M. F., Tajik, P., Dehghan, M. M., Eini, F., & Barin, A. (2011). Isolation and differentiation of mesenchymal stem cells from bovine umbilical cord blood. *Reproduction in domestic animals*, 46(1), 95-99.
61. Schneider MR., Adler H., Braun J., Kienzle B., Wolf E., Kolb H.J., 2007. Canine embryo-derived stem cells-toward clinically relevant animal models for evaluating efficacy and safety of cell therapies. *Stem Cells*, 25, 1850-1851.

“

Bölüm 18

**CERRAHİ YOĞUN BAKIMLARDA
OLUŞAN BASINÇ YARALANMASI VE
HEMŞİRELİK BAKIMI**

Hatice ERDOĞAN¹, Sümeyye ESERER²

”

1 Dr. Öğr. Üyesi Maltepe Üniversitesi ORCID:0000-0001-6376-0267

2 Hemşire Maltepe Üniversitesi ORCID: 0000-0002-4739-1905

Basınç yaralanmalarıyla ilgili pek çok tanım yapılmaktadır. Buna rağmen yaygın kabul edilen basınç yaralanması *“tek başına, basınç ya da yırtılma ile basıncın bir arada sebep olduğu, genellikle kemik çıkıntılar üzerinde ortaya çıkan lokalize deri ve/veya deri altı doku hasarı”* olarak tanımlamıştır.⁽¹⁾ Bu tanım basınç yaralanmaları çoğunlukla kemik çıkıntıları üzerinde veya tıbbi cihaz yada başka bir cihaza bağlı olarak oluşan lokalize deri yada deri altında oluşan dokunun hasarıdır.⁽¹⁾ NPUAP bu tanımla basıncın neden olduğu yaralanmayı vurgulamıştır. Basınç yaralanması bütün dünya ülkelerinde sağlık merkezleri ve bakım kurumlarının önemsedığı büyük bir sorun olarak ele alınmıştır. Çünkü hasta bireyin yaşam kalitesini büyük ölçüde etkilemekte ayrıca sağlıkta bakım maliyetini arttırmaktadır.

Literatür taraması yapılırken bası ülseri tanımının yerine basınç yarası, bası ülseri, yatak yaralanması, dekübit ülser, basınç yaralanması gibi çok sayıda terim kullanılmıştır.⁽²⁾

Basınçla oluşan basınç yaralanması özellikle koksiks, topuklar, omurga, dirsekler, kalça, ayak bileği, iliyak kemiği vb. kemik çıkıntısı bulunan vücut bölgelerinde sık görülmektedir.⁽³⁾ Aynı zamanda akut yetmezliği bulunan hastalar, yaşlı hastalar ve hareket etmekte zorlanan hastalarda basınç yaralanması sık görülmektedir. Ayrıca akut bakım yapılan alanlarda, uzun süre bakım alanlarında ve evde bakım hastalarında ortaya çıkabilmektedir. Literatüre baktığımızda yapılan çalışmalar genellikle basınç yaralanmasının genellikle cerrahi yoğun bakım üniteleri (CYBÜ)’nde meydana gelebileceğini saptanmıştır.⁽⁴⁾

Basınç yaralanması, sağlıkta iyileşme süresini artıran ve hasta güvenliğini tehdit altında bırakan güncel bir problemdir. Hasta bireylerde basınç yaralanması oluşması farklı sorunlara yol açarken aynı zamanda yaşam kalitesini, mortalite oranını ve morbidite oranını da etkileyen en önemli unsurdur. Hastalarda oluşan basınç yaralanmasının iyileşmesi hastanın klinik seyri ile ilişkili uzun zamanlı bir süreçtir.

CYBÜ’nde hastanın hareket durumuna bağlı basınç yaralanması meydana gelmesi önemli bir sorun olmaktadır. Ayrıca basınç yaralanmaları cerrahi yoğun bakımlarda hasta güvenliği yönünden çok önemlidir. Kalite göstergesi olarak da görülmektedir. Ülkemizde cerrahi yoğun bakımlarda Kalite Akreditasyon Daire Başkanlığı basınç yaralanmalarının olmamasına ve hastanın yaralanmadan korunmasına yönelik düzenlemeler yapılması, hastaların basınç yaralanması oluşma bakımından değerlendirilmesi gerektiğini belirtilmiştir. ⁽⁶⁾ Kalite Akreditasyon Daire Başkanlığı tarafından sunulan indikatörle CYBÜ’nde basınç yaralanması gelişen hasta sayısının belirtilmesi ve izlenmesi sağlanmaktadır. ^(5,7)

Basınç yaralanması sağlık bakımının maliyetini arttırarak hastanın hastane yatış sürecini uzatır ve yaşam kalitesini azaltır. Hemşirelik bakımıyla büyük bir oranda önüne geçilebilir, tedavisi yapılabilir.

Yara

Travma gelişim sonucu canlı olan dokunun anatomik olarak ya da fonksiyonel olarak bozulmasıdır. Zedelenme oluşunca beden bu yeni duruma karşı savunmaya geçer. Mikroorganizmalar buna rağmen bu engelleri aşar ve enfeksiyona neden olabilirler.

Hemşirelerin yara bakımında etkin olmaları gerekmektedir. Etkin bakım verebilmeleri için yara evreleri, iyileşme aşamaları ve iyileşme sürecini iyi bilmeleri gerekmektedir. Yaraya uygun bakım vermeleri gerekmektedir.⁽⁸⁾

Yara Nedenleri

- Basınç
- Venöz staz
- Arteriyel yetmezlik
- Diyabet
- Travma
- Yanıklar sebebiyle yara oluşabilir.

Basınç Yaralanması Risk Faktörleri

Basınç

Basınç yaralanmasının gelişmesinin en önemli nedeni sağlam dokunun uzun süre basınç altında kalmasıdır. Basınç uygulanma süresi, basıncın yaptığı yoğunluk, basıncın şiddeti ve dokunun basınca karşı toleransı yara gelişimini etkilemektedir. Basınca maruz kalan birey; paralizi, immobilizasyon, genel anestezi altında olma, pozisyon değiştirmeme, fiziksel kısıtlılıklarının olması gibi sebeplerle uzun süren hareketsizlik basınca bağlı vücut bölgesinin doku hipoksisine ve yetersiz dolaşımına sebep olur. En son ise doku nekrozu oluşur.⁽⁹⁾

Basınç yaralanmasına neden olan faktörler dış kaynaklardan ve hastadan kaynaklanan nedenler olarak sınıflandırılır. Dış kaynak olarak; hareketsizlik, yanlış pozisyon uygulama, travma, sedasyon, fiziksel kısıtlılık, mekanik ventilatöre bağlı olma gibi sebeplerden kaynaklanan sürtünme, yırtılma ve nemlilikler.

Hastanın kendisinden kaynaklanan nedenler ise şok, yaş, malnütrasyon, kullandığı ilaçlar, dehidratasyon, kronik hastalığın varlığı, albümin düşüklüğü ve vücudunun ısısının yüksek olmasıdır.

CYBÜ’nde basınç yaralanmasını yatağa bağımlı olma düzeyi, beslenme bozukluğu, yoğun bakımda yatış sürecinin uzun olması, aldığı sedasyon, klinik durumuna eşlik eden sesptik durumları olumsuz etkilemektedir.

Basınç Yaralanmasının en çok görüldüğü bölgeler	Basınç Yaralanmasının en az görüldüğü bölgeler
• Sakrum • İskial • Trokanter • Kalça • Topuk • Diz • Ayak bileği	• Dirsek • Skapula • Vertebra • Kostalar • Kulak • Oksiput • Burun

Tablo 1: Basınç Yaralanmalarının Sıklığına Göre Bölgeleri

Basınç Yaralanmalarının Önlenmesi

Deri bütünlüğünün bozulmasına neden olan basınç yaralanmalarının önlenmesi, hemşire bakımının kalitesini belirleyen önemli bir indikatördür. Literatürlerde basınç yaralanmalarının tamamen önlenmesinin zor olduğu ancak bakım verilen alanlarda kanıta dayalı uygulamaların özellikle, riskleri değerlendirme, erken zamanda uygun olan hemşirelik girişimleriyle ve basınç yaralanmasını önleyici girişimlerde bulunması basınç yarası insidansını önemli bir oranda azaltacağı görülmektedir. CYBÜ’nde basınç yaralanmalarının önlemede ayrıca yaralanmayı yönetmenin de hemşirelik rolleri arasında; derinin değerlendirmesi, yüzey kontrolünün sağlanması, hastanın beslenmesi ve pozisyon verilmesi yer almaktadır. ⁽¹⁰⁾

Basınç Yaralanmasının Oluşumunu Önlemede Uygulanan Protokoller

Deriyi gözlemlenir. Renk ve nem açısından değerlendirilir ve kaydedilir.

Bir ölçek belirlenir, basınç yaralanması riski değerlendirilir.

Derinin nemli tutulması önemlidir. Nemlendirici ile derinin nemliliği sağlanmalıdır.

Riskli basınç bölgeleri saptanır ve bariyer krem ya da spreyle koruma sağlanır.

Riskli basınç bölgesine basınç önlemeye yönelik uygun yara örtüsü konulabilir.

Hastaya pozisyon verirken çekme işlemi değil kaldırma yöntemi kullanılır.

Hastanın çarşafı temiz ve kuru olmalıdır. Ayrıca hastanın altında kırıışık olmamalıdır. Hastalara en az 2 saatte 1 kez pozisyon verilmelidir. Pozisyon hasta dosyasına kaydedilir. Eğer hasta oturur pozisyonda ise pozisyon her saat verilmelidir. 30 derecelik yan pozisyon verilebilir.

Risk puanına göre hastaya en uygun pozisyon, pozisyon yastıkları ile verilebilir.

Hastanın altında tıbbi cihaz kabloları, enjektör ya da kapak gibi materyallerin kalmaması önemlidir. Bunlarda basınç yaralanmasına yol açmaktadır.

Basınç Yaralanması Oluşma Riskinin Değerlendirilmesi

Deri baştan ayağa kadar gözlemlenerek güvenilir ve objektif olan bir risk değerlendirme ölçeğiyle değerlendirilmelidir. Basınç yaralarının önlenmesinde en önemli olan ve ilk yapılması gereken riskin değerlendirilmesidir. Bu değerlendirmede öncelikle basınç yaralanmalarının gelişim riskinin yüksek olabileceği alanlar dikkatle incelenmelidir. Bunun yanında değerlendirme sıklığı da önemlidir. Günde en az bir defa olmalıdır. Ayrıca hastadan hastaya farklılık gösterir. Ayrıca CYBÜ’nde kullanılan araçlara (oksijen maskesi, oksijen tüpü, servikal boyunluk, kateterler, intravenöz setler, hastayı kısıtlama malzemeleri vb.) dikkat edilip sağlam dok rutinde kontrol edilip gözlemlenmelidir. ⁽⁹⁾

Literatür tarandığında risk değerlendirme ölçekleri ile hastanın değerlendirilmesi ve basınç yaralanmasını önlemek amacıyla girişim uygulanması basınç yaralanmalarının oluşumunu önemli bir oranda azaltılabileceği görülmektedir. ⁽¹¹⁾ Basınç yaralanmalarının değerlendirilmesinde kullanılan ölçekler sıklıkla “Braden” “Norton” ve “Waterlow”, CYBÜ’de ise “Jackson Cubbin” risk değerlendirme ölçekleri kullanılmaktadır. Ayrıca CYBÜ’lerinde basınç yaralanmalarının oluşumuna neden olan risk faktörlerinin bulunduğu (CYBÜ’de yatış süresi, hastalıkları, mekanik ventilasyona bağlanma süresi, ilaçları) farklı ölçekler oluşturulmuş fakat bu ölçeklerin uygulanmasıyla ilgili ortak görüşe varılamamıştır. Şekil 1’de basınç yaralanmasının değerlendirilmesinde kullanılan ölçeklerin değişkenleri gösterilmiştir. ⁽¹⁰⁾

Basınç Yaralanmalarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Ölçekler ve Değişkenleri



Şekil 1: Basınç Yaralanmalarının Değerlendirilmesinde Kullanılan Ölçekler ve Değişkenleri

Braden Basınç Yarası Risk Tanılama Ölçeği

En yaygın kullanılan ölçektir. Genç yaş gruplarında kullanılabilir. En güvenli ve geçerliliği hala devam eden bir ölçektir. Ölçek 6 boyutta uyaran algılamasını ele almaktadır. Toplam puana göre bir risk belirlenir. CYBÜ’nde ölçek kullanılıp basınç yaralanma riski değerlendirilmelidir. Toplam puana göre 12 puan ve altı yüksek riskli, 13-14 puan riskli, 15-16 puan düşük riskli olarak değerlendirilmekte, 75 yaş üstü kişilerde ise 15-18 puan düşük riskli olarak kabul edilmektedir.⁽¹²⁾

(Tablo 2) Braden Basınç Yarası Risk Tanılama Ölçeği

	Toplam Puan				
Duyusal Algılama	1)Tamamen Sınırlı	2)Çok Sınırlı	3) Hafif Sınırlı	4)Bozulma Yok	
Nem	1)Sürekli Nemli	2) Çok Nemli	3)Ara Sıra Nemli	4)Nadiren Nemli	
Aktivite	1)Yatağa Bağımlı	2)Sandalyeye Bağımlı	3)Ara Sıra Yürüyor	4)Sık sık Yürüyor	
Hareketlilik	1)Tamamen Hareketsiz	2)Çok Sınırlı	3) Hafif Sınırlı	4)Sınırlama Yok	
Beslenme	1) Çok Kötü	2)Olasılıkla Yetersiz	3) Yeterli	4) Kusursuz	
Sürtünme ve Yırtılma	1) Sorun	2)Potansiyel Sorun	3) Sorun Yok		

Basınç Yaralanması Oluşumunu Etkileyen Risk Faktörleri

Yaş

İleri yaş basınç yaralanma riskini artırmaktadır. İleri yaştaki bireylerde deri turgoru ve derinin perfüzyonu bozulmuştur. Hücrelerde yenilenmeyi sağlayan kollejen sentezide azalmıştır. Bu sebeple yaralanma riski yüksektir.

Cinsiyet

Cinsiyet ile basınç yaralanmasına arasında tam olarak anlamlı veri yoktur. Fakat kadınların cilt yapısı daha hassas ve destek dokusu daha azdır. Bundan dolayı basınç yaralanmasının kadınlarda daha yüksek olabilir. Lindgren ve ark. 2005 yılında yaptıkları çalışmada 129 kadın hastadan 29'u ve 157 erkek hastadan 12'sinde basınç yaralanmasının görüldüğü belirtilmiştir.⁽¹³⁾

Beslenme

Beslenmenin basınç yaralanmasının önlenmesinde ve yaralanma sonrası iyileşmede çok önemli bir etkidir. Dengesiz beslenmede basınç yaralanması bir risk faktörüdür. Dengesiz ve yetersiz beslenmenin erken tanımlanması ve hemen müdahale edilmesi çok önemlidir. Dengesiz beslenme şeklinde protein, mineral, vitaminler ve kalori alımının yetersizdir. Bireyde kilo kaybı ve kas atrofisi görülebilir. Atrıca doku kütlelerinde azalma da görülebilir. Beslenme durumunu kilo kaybına, beden kitle indeksi (BKİ)'sine ayrıca serumdaki albümin düzeyine bakılarak değerlendirilebilir. BKİ; vücut ağırlığı/ boy olarak hesaplanmaktadır. Beden kitle indeksi $\leq 18,5$ ise zayıf, $18,5-24,9$ ise normal kilo, $25-29,9$ ise fazla kiloda, $30-34,9$ ise I. Derece obezite, $35-40$ ise II. Derece obezite, >40 ise III. Derece obezite/ Morbid obezite olarak sınıflandırılır. BKİ'si 18.50 kg/m^2 'nin altında

ise hastanın kemik çıkıntısı fazladır. Buna bağlı olarak dokuya uygulanan basınç artar ve basınç yaralanması riski de artmaktadır.⁽¹⁴⁾

Erken Mobilizasyon Ve Hareket

İnsan vücudu bireye cilt üzerinde oluşan baskıyı azaltmak için ne zaman hareket etmesi gerektiğini söyler. Fakat yapılan cerrahi sonrası yoğun bakımlarda yatan sedasyon veya anestezi alan hastalar hareketsizdir. Vücudun belirli kısımları basınca maruz kalır. CYBÜ yatan ve sedasyon alan hastalar bu basınç rahatsızlığı hissedemezler. Kemik çıkıntısı üzerindeki dokular hareketsizliğe bağlı kısa süreli yüksek basınca maruz kalır ya da uzun sürede düşük basınca maruz kalarak aynı düzeyde hasar meydana gelir. Bundan dolayı cerrahi işlem sonrası yoğun bakım ünitelerindeki hastalarda erken mobilizasyon önemlidir. Mobilizasyon ve hareketlilik dokuya giden kan akımı artırır. Doku kanlanır yara oluşum riski azalır.⁽¹⁴⁾

Kronik hastalıklar

Kardiyovasküler, periferik ve diyabet gibi kronik olan hastalıklar bireylerde beslenme ve doku perfüzyon bozulmasına yol açar. Buda basınç yaralanma riskini arttırmaktadır. Corniello ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada kalp hastası olanlarda basınç yaralanması riskinin arttığını belirtmiştir.⁽¹⁴⁾

Nem

Nemin olması dokuya uygulanan sürtünme, basınç ve yırtılmasını artırmaktadır. Doku toleransını da azaltmaktadır. Hastanın çok terlemesi, idrarı ve gaita çıkışının olması basınç yaralanması oluşumunda risk oluşturur. Beden ısısının artmasına bağlı artan metabolizma sonucu hasta terler ve cildi nemlenir. Neme maruz kalan epidermis tabakası zaman içerisinde yumuşar ve dokuları fazla nemle birlikte basınca maruz kalırsa basınç yaralanması oluşabilir. Ameliyat sonrası cildin ıslaklık olmasından dolayıyla epidermis tabakasının yumuşar ve basınç yaralanması riski taşır.⁽¹⁴⁾

Sürtünme ve Yırtılma

Sürtünme, epidermis ve dermisin üst tabakasının zarar görmesine neden olan bir faktördür. Cilt dokusunu basınç yaralanmasını artırır. Ancak sürtünme basınç yaralanmasında birincil faktör olarak kabul edilmez. Epidermisin yırtıldığında basınç kuvvetiyle sürtünme kuvveti birleşince basınç yaralanması meydana gelir. Sürtünme kaynaklı basınç yaralanmalarına en fazla topuk ve dirsek bölgelerinde oluşmaktadır.⁽¹⁴⁾

Basınç Yaralanma Evreleri

Evre I

Doku bütünlüğü bozulmadan deride basmakla solmayan kızarıklık

vardır. ⁽¹⁵⁾ Beyazlanmayan eritem oluşur. Eritem, kılcal damarlarda konjesyon (kan toplanması) sonucunda derinin kızarmasıdır. Koyu tenli kişilerde görülmesi zordur. Basmakla kızarıklığı geçmeyen, doku bütünlüğü bozulmamıştır. Görsellik bozulmadan önce his, ısı veya sertlik olarak belirti verebilir. Derin dokunun yaralanmasını gösteren kahverengi, mor renk değişimi olmayabilir.

Evre II

Dermisi tabakasının etkilendiği kısmi kalınlığı olan cilt kaybıdır. Dermis tabakasının kısmi kaybı vardır. Yara yatağı kırmızı veya pembe renktedir. Doku nemli, canlıdır. Fakat su dolu kabarcığı mevcuttur. Granülasyon dokusu oluşmamıştır. Kabuk veya skar yoktur. Bu yaralanma çeşidi genellikle pelvis üstü veya topukta sürtünmeden kaynaklanır. Havasızlıkta yol açabilmektedir. Bu evrede inkontinansla ilişkili dermatit içeren nem sebebiyle oluşan cilt hasarı, intertrigenöz (katlantı) dermatit, flasterler ile alakalı cilt hasarı, travmatik sebeplerle oluşan yaraları da (cilt tabakasının ayrılması, yanıklar ve sıyrıklar) kapsamamaktadır. ⁽¹⁵⁾

Evre III

Tam kalınlıktaki derinin kaybıdır. Cildin altındaki yağ dokusu görülebilir. Fakat kemik ve tendonların etkilenmediği yara tipidir. Ülser veya granülasyon dokunun varlığından söz edilir. Kabuk görülebilir. Skar doku görülebilir. Doku hasarı yaranın derinliği ve anatomik bölgeye göre değişir. Geniş hacim kaplayan yağ bölgeleri riskli bölgelerdir. Derin dokuda hasar görülebilir. Fasya, kas, ligament, tendon, kıkırdak veya kemik açık değildir. ⁽¹⁵⁾

Evre IV

Tam ve derin doku kaybı mevcuttur. Kas ve kemik görülebilir. Yarada kemik, tendon ve kas dokusuna kadar ulaşmış tam bir doku kaybı oluşmuştur. Kıkırdak veya kas dokusunda görülebilir. Elle palpe edilebilir. Yaranın derinliği bası yaralanmasının geliştiği bölgeye göre farklılık gösterir. Genellikle cepler ve tünellerden oluşmaktadır. Deri kenarları da kıvrılabilir. .Sarı nekrotik olan doku veya eskar dokunun kaybı gizlenirse, bu bası yaralanması evrelendirilemeyen basınç yaralanması olur.

Evrelendirilemeyen Evre

Derinliğinin bilinmediği derin doku kaybıdır. Yaranın gerçekteki derinliği bilinmediği evredir. Yara yatağındaki sarı nekrotik olan doku veya skar nedeniyle basınç yaralanmasının bilinemediği doku kaybıdır. Tüm tabakaları saran yara mevcuttur. Sarı nekrotik olan doku kaldırılırsa evre 3 veya evre 4 basınç yaralanması adını alır. Topuktaki veya iskemik organda bulunan yapışık ve kuru eritem yumuşatılmamalıdır ayrıca çıkarılmamalıdır.

Derin Doku Basınç Yaralanması

Bu evrede de yaranın derinliği bilinmemektedir. Kalıcı ve solmayan rengi mor, koyu kırmızı veya kahverengi şeklinde olan kan dolu kabarcık bulunan sağlam bir deridir. Dokunun olduğu koyu yara yatağı mevcuttur. Derin doku hasarı bulunan alan sağlam dokularla karşılaştırılırsa daha ağrılı ve daha serttir. Sağlam dokudan daha sıcak veya daha da soğuk olabilir. Renk değişikliğinden önce ağrı veya ısı görülmektedir. Bu basınç yaralanması kemik-kas arasında uzun ve yoğun bir basınçla meydana gelmektedir. Bu yaralanma hızlı ilerler veya doku kaybı meydana gelmeden iyileşebilir.

Mukozal Membrandaki Basınç Yaralanması

Mukoz membranlardaki basınç yaralanması, tıbbi cihazların kullanımı sonucu ortaya çıkmaktadır. Kullanılan tıbbi cihazlar sonucu oluşan basınç yaralanmasıdır. Mukoz membranın üzerinde oluşur. Bu yaralanma şekli evrelendirilemez. ^(14,15,16)

Yara İyileşmesinde Temel Gerekliklik ve İlkeler

1- Nekrotik olan doku çıkarılır.

Yaşamayan ölü doku ya da yabancı maddelere dokunup kontamine olan ölü doku olarak adlandırdığımız nekrotik doku çıkarılmasına debritleman denir. Debritleman tipleri; otolitik, mekanik, enzimatik ve cerrahidir.

2- Enfeksiyonun tanımlanması sonrasında tedavi edilmesi

Yaranın iyileşme sürecinde enfeksiyonlu bölgenin belirlenip tedavi edilmesi çok önemlidir. Bütün açık olan yaralar kontaminedir. Ancak hepsi enfekte olmayabilir.

Enfeksiyon belirtileri:

- Kötü kokunun varlığı
- Etrafındaki dokuda eritem
- Akıntı
- Dokudaki sertleşme
- Ateş
- Yara iyileşmesinde gerileme
- Lökositlerin yükselmesi

Eksuda da artış gibi belirtiler bulunduğu enfeksiyon varlığından bahsedilir. Kültür almak ve gerekli antibiyotiğe biran önce başlanması gerekir. ^(14,15,16)

3- Ölü boşlukların doldurulup iyileşmenin sağlanması

Altı zayıflayan sinüs veya fistül gelişmiş yaraların bakımında normal yaralardan farklı uygulamalar yapılır. Bu uygulamalar; yara açıklığının doldurulması, farklı pansuman malzemelerinin uygulanmasıdır. Her pansuman yapılırken önce salin solüsyonla yara temizlenerek ölü dokular uzaklaştırılır. Drenaj miktarına, yaranın yerine, enfeksiyon ve absenin olup olmadığına göre yara yeri doldurucu pastalar belirlenerek kullanılır. ^(14,15,16)

4- Eksudanın takip edilmesi

Eksuda; hücrelerden veya damar duvarından doku içine veya doku boşluklarında sıvının toplanması ve dışarıya sızmasıdır. Eksuda normal miktarda olursa yara iyileşmesini uyarır. İyileşme için uygun bir çevre ve nemli bir ortamı sağlar. Yara iyileşmesini eksudanın miktarı ve çeşidi, yaraya yol açan durumlar, enfeksiyon varlığı etkilemektedir. Eksuda pürülanlı ve kötü kokulu ise enfeksiyon yönüyle değerlendirilmelidir. Enfeksiyonlu yaralarda sık sık pansuman değiştirilmelidir. Yaraya göre ıslak ya da kuru pansuman yapılmalıdır. Bu yaralarda ayrıca antibiyotik tedavisi uygulanmalıdır. Enfeksiyon belirtisi gösteren yaralarda emici olmayan yara pansuman pedleri kullanılmalıdır. Eksudalı yarada akıntı uzun sürerse çevresindeki dokuyu irrite edebilir. Çevresindeki sağlam dokuyu korumak ve yara oluşumunu önlemek için bariyer spreylere ve bariyer kremler kullanılmalıdır. ⁽¹⁷⁾

5- Vücut ısısının korunması

Uygun olan vücut ısısının korunması ve sürdürülmesi yaranın kanlanmasını böylece yaranın epitelizeasyonun artırır. Hipotermi vazokonstriksiyon oluşur. Bunun sonucu olarak dokulara giden oksijen miktarının azalmasına neden olur. Bu durum ise, enfeksiyona yol açar.

6- Yara çevresindeki dokuların korunması

Yara bakımında başlıca amacımız doğal bir şekilde iyileşmeyi sağlamaktır. Doğal yara iyileşme süreci için; yara yüzeyinin nemli, rahat, canlı, oksijenli, kontaminasyondan uzak ve aşırı eksuda akışının olmaması gerekmektedir. Doğal iyileşme sürecini sağlamak doğru pansumanın yapılması ile gerçekleşmektedir. Bunun için doğru pansuman yöntemi seçilir.

En uygun pansuman özellikleri şöyle sıralanabilir:

- Yara yüzeyini ısısının korunması gerekmektedir.
- Yarada hematoma oluşumunu önlemelidir.
- Pansuman malzemesi kolay temin edilebilir olmalıdır. Pahalı olmamalıdır.
- Yara kenarındaki canlı dokuda travma ve dokunun hasarına neden olmamalıdır.

- Ağrıyla azaltmalıdır.
- Yaranın iyileşme süresini hızlandırmalıdır.
- Yüksek nemli olmalıdır.
- Yaraya canlı bir çevre oluşturulmalıdır.
- Yaranın kanlanması sağlanmalıdır.
- Oksijenlenmelidir.
- Zararlı mikroorganizmalardan korunmalıdır.
- Karbondioksiti ve buharı dışarı atmalıdır.
- Pansuman yapılırken; asetik asitler, iyotlar, hidrojen peroksitler yara iyileşme sürecini yavaşlatabilir. Bu ürünler sitotoksiktir. Toksik etkiler en aza indirilmeli ve dilüe edilmelidir. ⁽¹⁸⁾

Yara bakımı ve amaçları şunlardır:

- Canlı kalan dokuları korumaktır.
- Travma bölgesinde ve çevre dokularda enfeksiyon oluşumunu önlemektir.
- İyileşmenin süresini kısaltmaktır.
- Yaralı alanın fonksiyonlarını arttırmaktır.
- Cilt bütünlüğünü sürdürmektir.
- Diğer sistem ve organlarda oluşabilecek komplikasyonların önüne geçmektir. ⁽¹⁸⁾

Yara Bakımı ve Hemşirelik Bakımı

• CYBÜ’nde havalı yatak kullanılmalıdır. Hastanın her iki saatte bir yatak içi pozisyon değiştirilmesinin, cilt dokusunu korunmasında önemli bir faktördür.

• Hastanın basınca maruz kalan noktalarına bariyer krem uygulanmalıdır.

• Tıbbi cihaz kabloların ve diğer malzemelerin hasta altında kalmasına dikkat edilmelidir. Hasta ile temas etmemesi sağlanmalıdır.

• Beslenmesi değerlendirilmeli ve düzenli beslenmesi sağlanmalıdır.

• Basınç yarası geliştirse evresi belirlenmelidir. En uygun yara bakımı uygulanmalıdır.

• Erken mobilizasyon sağlanmalıdır.

- Doku bütünlüğü bozulmuş ise yaranın en, boy ve derinliği değerlendirilmelidir.
- Yara özelliklerine uygun pansumanı yapılmalıdır.
- Yaranın iyileşmesi için dokunun kanlanması önemlidir. Dolaşımı aktif hale getirmeliyiz. Yara etrafındaki sağlıklı deriye masaj yapılmalıdır. Fakat kemik çıkıntılarına ve kızamık bölgeye masaj yapılmamalıdır.
- Yara enfeksiyon yönüyle değerlendirilmelidir.
- Pozitif nitrojen dengesi kurmak için karbonhidrat ve protein alımı artırılmalıdır.
- İlerlemiş yara evrelerinde mutlaka yara bakım hemşireleri ya da dermatoloji uzmanlarından görüş alınmalıdır. (19,20,21,22)

Sağlam Derinin Bakımı

- Basınç yaralanması olmadan önlenmesi birinci kuraldır. Basınç yaralanması risk düzeyi ölçeklerle ölçüldükten sonra risk altında olan hastanın derisi günde en az bir defa gözlemlenmelidir. Özellikle basınç bölgeleri önemlidir.
- Hasta yıkama günlerinde hastanın cildi yıkandıktan sonra nemli ve ıslak bırakılmamalı, kemik çıkıntılarına özellikle dikkat edilip kurulanması gerekmektedir.
- Deri temiz ve kuru kalmalıdır.
- Hasta yıkamasında suyun ılık olması, kaynar olup cildini tahriş etmemesi önemlidir. Yara açılmasına yol açabilir.
- Kullanılan sabunların pH'ı 4.5-5 olmalı, cilde fazla bastırma işlemi yapmadan yumuşak bir materyalle yıkanmalıdır.
- Sürtünmede basınç yaralanmasına yol açabilecek en önemli etkenlerden biridir. Hastayı sürterek değil çekerek pozisyon verilmelidir.
- Derinin kuru olmaması sürtünmeyle oluşabilecek yaralanmayı önlemektedir. Bu sebeple deri nemlendirilmelidir.
- Nemlendiricinin alkol içermesi hastanın doku bütünlüğünü bozabilir. Nemlendirici seçimi önemlidir.
- Çevrenin ısısı ve nem miktarı da iyi ayarlanmalıdır.
- Hastanın yatak çarşafı gergin olmalıdır. Hasta yatarken altında katlanıp basınç yaralanması oluşturmamalıdır.
- Eğer kıyafet kullanacaksa bu kıyafetler sentetik olmalıdır.
- Yarası var ise drenajları kontrol edilmelidir.

- Hastanın kıyafetleri, çarşafı ve yastığı ıslak olmamalıdır. Islandığı takdir de değiştirilmesi gerekmektedir. Nemlilik durumunda nemini emen ve cildi kuru tutmayı sağlayan hasta koruyucuları kullanılmalıdır.

- Fekal inkontinas değerlendirilmelidir. İnkontinansını kontrol altına alamadığımız zamanlarda emiciliği yüksek bezler kullanılmalıdır.

- Derinin sürtünmeye maruz kalması ve zedelenmesinden kaçınılmalıdır. Deriye koruyucu hidrokolloidler kullanılabilir. ^(19,20,21,22)

Beslenme

- Hasta bireyin beslenmesi yara yerinin çabuk iyileşmesi ve kanlanması açısından öneme sahiptir.

- Beslenme ve aldığı sıvı düzenlenmelidir. Aldığı çıkardığı takibi (AÇT) gerekiyor ise takip edilmelidir.

- Eğer hastanın beslenme düzensizliği söz konusu ise, enteral veya parenteral yolla beslenmeye geçilmelidir.

- Hastalara yüksek kalori içeren ve proteinden zengin diyet verilmelidir.

- Dehidratasyonu önlemek amacıyla yeterli şekilde sıvı takviyesi yapılmalıdır.

- Hemoglobin, kan şekeri seviyesi ve hematokrit düzeyleri sık sık kontrol edilmelidir.

Eğitim

- Hasta birey sadece yoğun bakımda kaldığı süre içerisinde değil taburcu olunca da basınç yaralanmalarının önlenmesi ve bu yaralanmaların tedavi edilmesi önemlidir.

- Bakım alan bireye ve aile üyelerine basınç yaralanmasına neden oluşturacak durumları ve bunların önlenmesi konusunda neler yapılması gerektiği ile ilgili eğitim verilmelidir.

- Basınç yaralanmalarının erken belirtileri, risk değerlendirme ölçekleri, bu belirtiler oluştuğunda yapılması gereken durumlar ve nereye başvurabileceği hakkında bilgi verilmelidir.

- Basınç yaralanması gelişmemesi için havalı yatak kullanımı önerilebilir.

- Basınç yaralanması önleme konusunda da eğitim verilmelidir.

Doğru ve Sık Pozisyon Vermek / Erken Mobilizasyon

- Yatağa bağımlı hastanın CYBÜ'nde kaldığı süreçte basınç yaralanması olmaması için 24 saatlik sürede iki saatte bir pozisyon verilmez.

- Sandalyeye bağımlı hasta ise 15 dakika ara ile pozisyonun değiştirmelidir.
- Hastanın her pozisyonu değiştirildiği zaman deri basınç yaralanması açısından gözlemlenmelidir.
- Toleransı testleriyle hastanın derisinin basıncı ne ölçüde tolere ettiği saptanabilir.
- Yazılı ve görseli olan pozisyon verme kılavuzları kullanılmalıdır.
- Hastanın derisi ödem yönünden değerlendirilmelidir. Deriye el ile bastırılarak gode bırakıp bırakmadığına bakılır. Eğer gode bırakırsa kapiller damarlarında hasarın meydana gelebileceği düşünülür. Kapiller damarlarında hasar oluşan hastalarda daha sık pozisyon verilmesi gerekir.
- Hastanın kemik çıkıntılarına masaj yapılmaz.
- Yatağa bağımlı hastanın yatak başı 30 dereceden çok yükseltilmemelidir.
- Hareketsiz yatan hastalarda 30 derece yan yatar pozisyon verilmelidir. ⁽⁶⁾ (Basınç, hem trokanter hem de sacrum bölgelerine eşit olacak şekilde dağıtılır). Bu pozisyon sırasında hastanın sacrumu, scapulası ve dizlerinin arası yastıklarla desteklenir
- Hastanın 15-20 dakikadan fazla his kaybı yaşadığını ifade ediyorsa o bölgenin üstüne yatırılmamalıdır.
- Hasta yatağa bağımlıysa havalı, kol ve bacakları kuş tüyü yastık köpük ve jel gibi materyallerle desteklenmelidir.
- Hastanın cerrahi işlem sonrası erken mobilizasyonu da basınç yaralanması oluşumu açısından önemlidir. Kendi hareket edebilme kabiliyeti varsa yürüyüş yapmaya teşvik edilmelidir.
- Eklemlerdeki kasılmaların oluşumunu önlemek için 8 saatlik aralıklarla ROM (Range of Motion) egzersizleri önerilir. ^(19,20,21,22)

Yara Temizleme Önerisi

Tek kullanımlık yumuşak ve köpük mendil ile yara yüzeyi temizlenir. Su ve sabun tercih edilmemelidir. Bunların yerine kloreksidinli mendil kullanılması önerilir. Deri temizlendikten sonra nemli bırakılmamalı mutlaka kurulanmalıdır. Deriyi kurularken ovalama tekniği kullanılmamalıdır. Bas çek tekrar bas çek tekniği ile kurulama yapılmalıdır.

Evre 1 yaraya günde 2 defa ince bir tabaka olacak şekilde bariyer krem ya da control sprej sıkınız. Derisini günde 1 kez mutlaka değerlendiriniz. Evre 2 yaraya fungal enfeksiyon varlığında günde 2 kez antifungal krem uygulanmalıdır. Eksudalı lezyon var ise üzerine povidon iyot uygulanmalı-

dır. Ülserasyon var ise yara bakım protokolüne geçiniz. Eksudalı lezyonların nemlendirilme ihtiyacı daha azdır. Eksudasız lezyonlar bariyer kremlerle nemlendirilebilir. ^(19,20,21,22)

KAYNAKÇA

1. NPUAP (National Pressure Ulcer Advisory Panel). "Prevention and Treatment of Pressure Ulcers: Quick Reference Guide". (2016).
2. Sivrikaya, Sk, & Sarıkaya, S. Yoğun Bakım Hastalarında Bası Ülseri, Önleme Ve Hemşirelik Bakımı. Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi, 24 (2), 139-149. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ybhd/issue/56840/754422>.
3. Kıraner, E., Terzi, B., Ekinci, A. U., & Tunalı, B. (2016). Yoğun bakım ünitemizdeki basınç yarası insidansı ve risk faktörlerinin belirlenmesi. Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi, 20(2), 78-83.
4. Garcez Sardo PM, Simoes CS, Alvarelho JJ, de Oliveira e Costa CT, Simoes CJ, Figueira JM, et al. Analyses of pressure ulcer point prevalence at the first skin assessment in a portuguese hospital. Journal of Tissue Viability 2016;25(2):75- 82. 8.
5. T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlıkta Kalite standartları-Hastane(Versiyon-5).
6. Ünlü, A. A., & ANDSOY, I. I. (2021). Cerrahi hemşirelerin basınç yaralanması, risk faktörleri ve önlenmeye ilişkin bilgilerin incelenmesi. genel tıp dergisi, 31(2), 168-174.
7. Karadağ A, Karabağ AA. Basınç Ülserlerinde Etiyoloji ve Fizyopatoloji. Baktiroğlu S, Aktaş Ş editörler. Kronik Yarada Güncel Yaklaşımlar, 1. Baskı. İstanbul:2013. p.116-209
8. Bulut, D. H. (2021). Yara İyileşmesi ve Bakım. Ankara: vize yayıncılık. 85-97.
9. Anders J, Heinemann A, Leffmann C, Leutenegger M, Profener F, RentelnKrise W. Decubitus ulcers: pathophysiology and primary prevention. Deutsches Ärzteblatt International 2010;107(21):371–82.
10. Tanrıku, F., Dikmen, Y. (2017). Yoğun bakım hastalarında basınç yaraları: risk faktörleri ve önlemler. Journal of Human Rhythm, 3(4), 177-182.
11. Katran HB. Bir cerrahi yoğun bakım ünitesinde bası yarası görülme sıklığı ve bası yarası gelişimini etkileyen risk faktörlerinin irdelenmesi. G.O.P. Taksim E.A.H. JAREN 2015;1(1):8-14.
12. Kılıç, H. F., & Sucudağ, G. (2017). Basınç yarası değerlendirilmesinde sık kullanılan ölçekler. Jaren, 3(1), 49-54.
13. Lindgren, M., Unosson, M., Krantz, A., Ek, A. (2005). Pressure ulcer risk factors in patients undergoing surgery. Issues and Innovations in Nursing Practice. 50(6), 605-612
14. İpek, B. (2022). Ameliyat sırası basınç yaralanması ve risk faktörlerinin belirlenmesi.
15. Gökdemir, S. (2020). Erişkin yoğun bakım hastalarında kalite indikatörü olarak bası yaralarının değerlendirilmesi (Master's thesis, Trakya Üniver-

sitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

16. Corniello, A. L., Moyse, T., Bates, J., Karafa, M., Hollis, C., Albert, N. M. (2014). Predictors of pressure sores development in patients with vascular disease. *Journal of Vascular Nursing*. 32(2), 55-62.
17. Haesler, E. (2014). National pressure ulcer advisory panel (NPUAP), European pressure ulcer advisory panel (EPUAP) and pan pacific pressure injury alliance. Prevention and treatment of pressure ulcers: quick reference guide, 14-32. https://www.yoihd.org.tr/images/cust_files/161118082243.pdf
18. T. E. Yara İyileşmesi Ve Bakımında Temel İlkeler. Yara Bakımı Ve Tedavisi, Sürekli, İ. Ü. C. T. F., & Etkinlikleri, 11.
19. Enç, M. Z. (2021). Yoğun bakım hastalarında deri bakımı ve deri ile ilişkili sorunlar. *istanbul: Nobel Kitap Evi*. 415-455
20. Efteli, E. (2022). Yoğun Bakım Kliniklerinde Yatan Hastalarda Hemoglobin ve Albümin Değerlerinin Basınç Yarası Gelişimine Etkisi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10 (1), 71-78. DOI: 10.24998/maeusabed.
21. Yıldizer, F. (2021). Yoğun bakım hemşirelerinin basınç yaraları önlenmesine yönelik bilgi, tutum ve davranışları (Master's thesis, İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi).
22. Tosun, Z. K. & Bölüktaş, R. P. (2015). Yoğun bakım ünitelerindeki yaşlı hastalarda bası yarası prevalansı ve etkileyen faktörler. *Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi*, 19(2), 43-53.

“

Bölüm 19

BESLENME TEDAVİSİNDE YENİ BİR BAKIŞ: APİTERAPİ

*İbrahim Hakkı ÇAĞIRAN¹,
Aslıhan DEMİRKAYA²,
Gülçin SAĞDIÇOĞLU CELEP³*

”

1 Öğr. Gör. Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi/ Sağlık Bilimleri Fakültesi / Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ağrı / Türkiye E-mail: dyt.ihcagiran@gmail.com

2 Gazi Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü/ İleri Teknolojiler ABD, Ankara / Türkiye E-mail: aslihan.demirkaya@gazi.edu.tr

3 Prof. Dr. Gazi Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Fakültesi / Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara / Türkiye E-mail: gulgincelep@gazi.edu.tr

GİRİŞ

Sağlığı korumak ve hastalıkları önlemek amacıyla arı kovani ürünleri olan bal, polen, arı sütü, propolis, arı zehrinin destek ve tedavi amacıyla kullanılması apiterapi olarak adlandırılır (Fratellone, Tsimis, & Fratellone, 2016; Onbasli, 2019). Apiterapi, geleneksel Çin tıbbı, farmakolojisi ve sağlığın korunması konusundan geliştirilmiştir. Bu tarihten itibaren farmakoloji bilimi için önemli hale gelen apiterapi birçok sağlık hizmeti uygulamasında önemli bir yere sahip olmuştur (Zhu & Wongsiri, 2008). Bal, apiterapi ürünleri içinde en yaygın kullanılan ürünlerden olsa da son 10 yılda propolis, arı sütü ve arı ekmeği gibi ürünlerin de besin içeriği zengin olması ve bağışıklık sistemini güçlendirmesi nedeniyle kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Özdemir, Ersöz, & Dilek, 2021). Özellikle apiterapi ürünlerinden olan bal, polen, propolis ve arı sütü solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan patojenlere karşı güçlü antiviral aktivite göstererek günümüz hastalıklarından olan COVID-19'un tedavisi için ümit verici bir farmakolojik ve nutrasötik ajan kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır (Lima, Brito, & da Cruz Nizer, 2021). Ek olarak yapılan birçok çalışmada apiterapi ürünlerinin antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, immünomodülatör etkileri nedeniyle alternatif tıpta kullanım oranı da artış göstermektedir (Onbasli, 2019) (Terbach & Williams, 2009). Hayvan deneylerinde de arı poleni enerji ve dayanıklılığı artırmak, propolis sağlıklı olma durumunu sürdürmek, arı sütü bağışıklık sistemini desteklemek ve enerjiyi desteği amacıyla kullanılmakta ve otizm spektrum bozukluğu gibi nörogelişimsel problemlerin semptomlarını azaltabileceğini göstermiştir (Alfawaz vd., 2018; F. Liu, Horton-Sparks, Hull, Li, & Martinez-Cerdeno, 2018; Mu, Tavella, & Luo, 2018). Bu derleme makale apiterapi ürünlerinin sağlık üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

BAL

Bal nektar, yaprak biti atılımı veya bitki ve meyve sızıntılarından oluşan çok yönlü ve karmaşık bir doğal üründür. Bu bal arısı ürünü, arı türüne ve çevresel koşullara göre değişen çeşitli biyoaktif kimyasallardan oluşur (Ahn vd., 2020; Lima vd., 2021). Yaklaşık 4000 yıl önce bal, vücudun üç mizahını dengelemede etkili olduğu düşünülen geleneksel bir Ayurveda ilacı olarak kullanılmıştır. Vedik uygarlığında, bal doğanın insanlığa en önemli armağanlarından biri olarak görülmüştür. Antik Mısır öncesi dönemlerde bal, yaraları tedavi etmek için topikal olarak kullanılmıştır (Ware, 2018). Bal, Ayurveda kutsal kitaplarında Madhu veya Kshaudra olarak bilinir ve Ayurveda'da kullanılan en önemli ilaçlardan biridir (Arawwawala & Hewageegana, 2017). Ek olarak bal; antidepresan, iştah düzenleyici, spor aktivitelerinde dayanıklılık artırmaya yardımcı olması nedeniyle süper bir yiyecek olarak adlandırılmaktadır (Fratellone vd., 2016). Özellikle karbonhidrat açısından zengin besin içeriğine sahip olan bal; pro-

tein, serbest amino asitler ve 200'den fazla enzim de içermektedir (Tablo 1.) (Allsop & Miller, 1996; Alvarez-Suarez, Tulipani, Romandini, Bertoli, & Battino, 2010).

Tablo 1. *Bal Ortalama Bileşimi*

BİLEŞEN	DEĞER (%)
Su	42
Fruktoz	~17
Glikoz	32.56-38.2
Diğer şekerler*	28.54-31.3
Proteinler	~9.8
Diyet lifleri	~0.3
Serbest asitler (Glukonik)	~0.2
Laktoz (Glukonolakton)	~0.4
Toplam asit (Glukonik)	~0.2
Ash	0.6
Nitrojen	~0.2
Mineral	~0.04
pH	~0.2

* Diğer şekerler arasında maltoz, sukroz, izomaltoz turanoz, nigeroz, melibiyoz, panoz, maltotrioz, melezitoz gibi disakkaritler bulunur. Birkaç oligosakkarit de mevcuttur. Bal %4-5 fruktooligosakkarit içerir.

Bal beslenme tedavisine ek olarak böcek ısırıkları, yanıkları gibi cilt bozukluklarını tedavi etmek için de tercih edilmektedir (Özdemir vd., 2021). Bal osmotik aktivite, antibakteriyel özellik ve yara iyileşmelerinde olumlu etki göstermektedir (Alvarez-Suarez vd., 2010; Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Fernández-López, & Pérez-Alvarez, 2008). Ek olarak yüksek viskozite sayesinde bal yanık üzerine koruyucu bariyer oluşturarak bakteri çoğalmasını engellemekte, yüksek besin değeri ile epitelizasyonu ve anjiogenezisi hızlandırdığı için yanığı olan hastalarda, bir alternatif olarak kullanılabilir (Bangroo, Khatri, & Chauhan, 2005).

Antiinflamatuvar, immünmodüle edici, antioksidan ve probiyotik etkilerini barındıran bal bu özelliklere ek olarak antitümör aktivite de göstermektedir. Ayrıca bal mide suyunun asitliğini dengeleyici etkisiyle, *Helicobacter pylori*'nin neden olduğu peptik ülser ve gastrite neden olan ajanlara karşı inhibitör etki göstermektedir. Prostaglandin üretimi, balın antioksidan özellikleri ve ek olarak nitratın (NO_3) tükrükte nitrite (NO_2) indirgenmesi ve intragastrik mukozanın kılcal damarların korunmasında ve mukoza üretiminin artırılmasında rol oynamaktadır (Javed, 2021; Kumar Gupta, 2014). Son olarak bal kemoterapötik etkiyi desteklemek ve miyelosupresyon, nötropenide yan etkilerini azaltmak için kullanılmaktadır. Bal

kemoterapi uygulaması yapılan hastalarında radyasyona bağlı mukozit, radyoterapiye bağlı deri reaksiyonları, el ve ayak derisi reaksiyonlarında ve ek olarak diş cerrahi yaralarında da kullanılmaktadır (Jagua-Gualdrón, Peña-Latorre, & Fernadez-Bernal, 2020; Kumar Gupta, 2014).

Balın nöroinflamasyonu iyileştirme potansiyelinin araştırıldığı otuz erkek Wistar sıçanlarının kullanıldığı bir çalışmada sonuçlar iyileştirme potansiyelinin yüksek olduğu yönündedir. Bal lipopolisakkaritler nedeniyle gerçekleşen bilişsel performansın düşüklüğünü, anksiyeteyi, oksidatif stresi ve nöroinflamasyonu iyileştirmiştir. Lokomotor aktivitesini artırmıştır. Lipopolisakkaritlerin neden olduğu tümör nekroz faktör alfa ve interlekin-6 artışını azaltmıştır. Balın nöroinflamasyonu iyileştirme potansiyeli Alzheimer vb. birçok nörodejeneratif hastalığın önlenmesi ve tedavisi için umut verici olduğunu göstermektedir (Adeniyi vd., 2022).

ARI POLENİ

Polen, çiçekli bitkiler tarafından üretilen ve arılar tarafından toplanan ince bir tozdur. Nektar ve tükürük maddeleri ile karıştırıldığında, kovan için ana besin rezervi olarak kullanılır (Denisow & Denisow-Pietrzyk, 2016; Thakur & Nanda, 2020). Polen, enzimler, hormonlar, büyüme faktörleri, indirgen şeker (fruktoz), azotlu bileşikler (ksantin, hipoksantin, geranin, trimetilamin), lipitler, organik asitler (sitrik, tartarik, malik, malonik, süksinik, asetik, fumarik ve alfa seto-glutamik), proteinler, esansiyel amino asitler, yağda çözünen vitaminler (A, D, E ve K), B vitamin kompleksi, C vitamini, mineraller (kalsiyum demir, magnezyum ve çinko), riboz, dezoksiriboz, pektin, pigment, inositol ve enzim (amilaz, invertaz, proteaz lipaz, fosfataz, katalaz ve laktaz) içerir (Tablo 2.) (Adib-Tezer & Bayerl, 2018; Komosinska-Vassev, Olczyk, Kazmierczak, Mencner, & Olczyk, 2015; Zhako, 2018).

Tablo 2. *Polen Ortalama Bileşimi*

BİLEŞEN	DEĞER(%)
Su	9-23
Protein	22,7
Sindirilebilir karbonhidrat	30,8
Lipit	5,1
Fenolik bileşikler	1,6
Yağda çözünen vitaminler	0,1
Suda çözünen vitaminler	0,6
İndirgen şeker	25,7
Esansiyel amino asit	10,4
Mineral	1,6

Anadolu arı poleninin güçlü antioksidan özelliğine dayanarak Sprague Dawley ratlar üzerindeki depresyon ve anksiyete üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada nöroinflamasyonu baskıladığı, nörotrofik faktörü artırdığı bulunmuştur. Bu çalışmada 24 erkek Sprague Dawley ratlar kontrol, fiziksel stres ve strese ek olarak 10 gün boyunca 200 mg/kg/gün arı polenine maruz bırakılıp davranış değişiklikleri incelenmiştir. Ek olarak deney beyin dokusunda beyin kaynaklı nörotrofik faktör, interlökin-1beta, tümör nekroz faktör-alfa seviyeleri, malondialdehit ve glutatyon seviyeleri incelenmiştir. Sonuç olarak arı poleni beyin kaynaklı nörotrofik faktörü artırmıştır, oksidatif hasarı ve nöroinflamasyonu azaltmıştır. Araştırmacılar strese bağlı davranışsal eksikliklerin önlenmesinde arı poleninin terapötik potansiyelinin yüksek olduğunu ifade etmiştir (Saraç vd., 2022).

PROPOLİS

Tarihte ilk olarak M.Ö. 1550 yılında Mısır toplumunda kullanılan ‘kara mum’un propolis olabileceği düşünülmektedir. Propolis ticari olarak ilk kez 1950 yılında üretilmiştir. Yaklaşık 30 yıl sonra 1984 yılında, Çin 55 ton ve Arjantin, Kanada, Şili ve Uruguay 10 ton olarak diğer ülkelere propolisi ihraç etmeye başlamıştır (Allsop & Miller, 1996; Crane, 2009). Düşük sıcaklıkta sert halde bulunan propolis ısıtıldığında viskoz hale gelir. *Apis mellifera* arıları kovan girişinde ve içerisinde yuva yapımında yapı malzemesi olarak kullanmaktadır. Asya kovan arısı *Apis cerana* propolis toplamaz veya kullanmaz, ancak iğnesiz arılar propolisi yoğun olarak kullanır (Crane, 2009). Propolis aktif bileşenleri, terapötik potansiyel gösteren farmasötik polifenol ve flavonoid içerir (Tablo 3.) (Crane, 2009; Gupta & Stangaciu, 2014; Salomao vd., 2008). Arıdan salınan ve bitki kaynaklı bileşiklerden oluşan karmaşık bir karışım olan propolis %50 reçine, %30 mum, %10 uçucu yağlar, %5 polen ve %5 çeşitli organik bileşiklerden oluşur (Wagh, 2013). Propolisin içerisinde yaklaşık 300 farklı bileşen tanımlanmıştır ve her geçen gün kimyasal karakterizasyonuna yeni bir bileşen tanımlanmaktadır. Propolis içeriğinde bulunan bileşenlerin oranları toplama zamanı ve yerine göre farklılık göstermektedir (Bankova, Castro, & Marcucci, 2000; Seven, Aksu, & Tatlı Seven, 2007).

Tablo 3. *Propolis İçerik ve Etkinlikleri*

KİMYASAL MADDE	ETKİNLİK
Kuersetin	Antiviral Antihistamin Ülser İyileşmesi Kılcal Güçlendirme
Kafeik Asit	Antibakteriyel Mantar Önleyici Antiviral
Pinocembrin	Antienflamatuvar Antibakteriyel Mantar Önleyici Küf Önleyici Lokal Anestezi
Kafeik Asit Fenetil Ester	Tümör Sitotoksitesisi Antienflamatuvar Lokal Anestezi
Kafeik Asit Fenetil Ester	Tümör Sitotoksitesisi
Pinostrobin	Lokal Anestezi
Akasetin	Antienflamatuvar

Uğur ve Arslan tarafından, Muğla ilinden temin edilen 45 farklı propolis örneğinin aseton ve dimetil sülfoksit ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal aktivitesi araştırıldığında antibakteriyel aktivitesi numune türüne, dozaj ve ekstraksiyon çözücüsüne göre farklılık gösterdiği belirtilmiş ve ek olarak test edilen tüm numunelerde antimikrobiyal etkinliğin olduğu belirtilmiştir. *Brucella melitensis* hariç diğer incelenen türlerde dimetil sülfoksit ile ekstrakte edilen propolis aseton ile ekstrakte dilene göre daha aktif etki yaptığı belirtilmiştir (Uğur & Arslan, 2004). Ek olarak Albayrak'ın yapmış olduğu çalışmada propolis özellikle Gram(+) türü olan *Streptococcus*, ve *Staphylococcus* cinsi bakteriler üzerinde antibakteriyel etki gösterdiğini belirtmiştir. Ek olarak Gram(-) türlerden olan *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde de etkili olduğu belirtilmiştir (Albayrak & Albayrak, 2008). Türkiye'de altı farklı ilden (1-Yozgat, 2-İzmir, 3-Kayseri, 4-Adana, 5-Erzurum, 6-Artvin) temin edilen propolislerin antibakteriyel özelliklerinin ve aktif bileşenlerinin karşılaştırıldığı çalışmada, Adana, Erzurum ve Artvinden elde edilen numunelerde düşük fenolik ve çok düşük flavonoid konsantrasyonları ile karakterize edilmiştir. Tüm numunelerin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve onların klinik izolatları için antibakteriyel olduğu ifade edilmiştir (Altay, Irtem Kartal, Sagdicoglu Celep A. G., Guray, & Bozoglu, 2018). Yapılan diğer çalışmalarda *Fusarium oxysporium* f. sp. *Malonis*, *Alternaria altarnata*, *Candida albicans* üzerine antifungal; Influenza, HIV-1

üzerinde antiviral etki gösterdiği bildirilmiştir (Anjum vd., 2019; Chen, Ye, Ting, & Yu, 2018; Mojarab vd., 2020). Propolisin bozulmuş sitokin seviyeleri üzerinde de iyileştirici etki yaparak nörotoksosite etkiyi azaltıcı etkisi bulunmaktadır. Otizm hayvan modellemesinde propiyonik asit kaynaklı artmış IL-10, VEGF ve TNF α düzeylerinde önemli düşüş ve azalmış IL-1 α , IL-6 ve IFN- γ düzeylerinde artış sağlamıştır (Aabed vd., 2019).

Propolisin Antioksidan Özelliği

Propolisin antikanser aktiviteye sahip olduğu çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir (Sawicka, Car, Borawska, & Niklinski, 2012; C. Zhang, Shen, Chen, Jiang, & Hu, 2017). Türkiye’de altı farklı ilden (1-Yozgat, 2-İzmir, 3-Kayseri, 4-Adana, 5-Erzurum, 6-Artvin) temin edilen propolislerin HT29 insan kolorektal adenokarsinom hücre hattı üzerindeki antikanserijen aktivitenin çalışıldığı bir çalışmada propolisin içeriğinde bulunan kafeik asit, kuersetin ve p-kumarik asit fenolik bileşiklerinin CYP1A1, CYP1A2 ve CYP2E1’in mRNA ifadelerinin seviyesini 1,66 ile 4,55 kat arasında baskımlarken, p-kumarik asit bileşiğinin bu genlerin ifadesinde belirliğin bir farklılığa neden olmadığı bildirilmiştir. Ek olarak propolis özütü ve tüm fenolikler NQO1, GSTP1 ve GPx antioksidan enzimlerinin mRNA ekspresyon seviyelerini 1,51-9,85 kat arttırdığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar bildirmektedir ki, fenolikçe zengin Anadolu propolisi ksenobiyotik aktivasyon ve detoksikasyon yollarında yer alan enzimlerin gen ekspresyonunu modüle etmektedir (Altay vd., 2018).

Kanser tedavilerinin yan etkilerinden biri olan oral mukozitin tedavisi amacıyla propolis ağız gargarasının değerlendirildiği 352 çalışmanın meta analizinde, bulguların doğruluğunun daha çok çalışmayla desteklenmesinin gerekliliğiyle beraber sonuçlar etkili ve güvenli bulunmuştur. Ek olarak bir yan etki bildirilmemiştir (Kuo, Wang, Wang, & Li, 2018).

PERGA (ARI EKMEĞİ)

Arı ekmeği; polen, bal ve arıların tükürük bezlerinin salgılarının birleşimiyle oluşur (Kieliszek vd., 2018). Arı ekmeği, perga veya ambrosia gibi farklı isimlerle de adlandırılmaktadır (Karaman, 2019). Arı ekmeği diğer apiterapi ürünleri kadar yaygın değildir ve fiyatı teminin zor olmasından dolayı diğer arı ürünlerine göre daha pahalıdır (Barajas, Cortes-Rodriguez, & Rodriguez-Sandoval, 2011). Arılar polenleri peteklerde bal ve mum karışımı içerisinde biriktirir ve muhafaza edilen polenler orada fermente edilerek “arı ekmeği” oluşturulur (Kieliszek vd., 2018). Arı ekmeği, polenden daha yüksek besin değeri, daha iyi sindirilebilirlik ve daha zengin kimyasal bileşim değerlerine sahiptir. Ek olarak fermente bir ürün olduğu için polene göre vücutta daha kolay emilir. Yüksek miktarda peptit ve serbest amino asit içeren arı ekmeği vitamin ve mineral yönünden de zengin bir besin ürünüdür (Tablo 4.) (Barene, Daberte, & Siksna, 2014;

Campos, Frigerio, Lopes, & Bogdanov, 2010; Habryka, Kruczek, & Draygas, 2016; Kieliszek vd., 2018).

Tablo 4. Arı Ekmeği(*Perga*) Ortalama Bileşimi

BİLEŞEN	MİKTAR ^a	RDI(15g) ^b
Protein	%14-37	%5-22
Karbonhidrat	%24-34	%1-4,6
Laktik Asit	%3,20	X
Lipid	%6-13	1,40%
Seliloz	%2,70	X
Flavonoid	N/A	0,03%
Vitamin	N/A	%2-70

Arı ekmeği özü, antimikrobiyal özelliklerine atfedilebilecek fenolik bileşikler içerir. Bu sayede başta bakteriler olmak üzere maya ve parazitler üzerinde de antibakteriyel etki gösterir (Carroll vd., 2017). Carneiro ve arkadaşları, iğnesiz arılar *M. compresipes manaosensis* türü arıların üretmiş olduğu arı ekmeği ekstraktının *P. aeruginosa*, *M. smegmatis* ve *Candida albicans* ve sivrisinek larvası olan *C. quinquefasciatus*, parazit türü olan *Wuchereria bancrofti* üzerinde etkili olduğunu belirtmiştir (Carneiro vd., 2019).

Arı ekmeğinin hepatoprotektif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 28 erkek Sprague-Dawley rat kullanılarak oksidatif stres ve enflamasyon parametreleri incelenmiştir. Bu organizmalarda metabolik disfonksiyonla ilişkili yağlı karaciğer hastalığı modeli oluşturulmuş ve bir grubun diyetine 0,5 g/kg/gün arı ekmeği eklenmiştir. İncelemeler sonucunda araştırmacılar bildirmektedir ki arı ekmeği karaciğeri alkolsüz steatohepatit ve fibrozise karşı korumuştur (Zakaria vd., 2021).

ARI SÜTÜ

Arı sütü (AS), bal arıları larvalarının beslenmesinde kullanılan salgıdır. Tarihte kadim toplumların kullanımına dair eski tıbbi kitaplarda yer alan bilgiler bulunmakla birlikte özellikle Asya toplumlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Teknolojinin gelişmesi arı sütü içeriğinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olmakta ve arı sütünün insan sağlığını iyileştirme potansiyeline sahip olduğu daha iyi anlaşılmaktadır.

Bal arılarının larvalarını hayatlarının ilk üç günü, kraliçe arıyı hayatı boyunca beslemekte kullandıkları hipofarengal ve mandibular bezlerinden salgıladıkları bu salgı; sarımsı-beyaz renkte, yoğunluğu yüksek ve asidiktir. İçeriğinde de arıların yaşadığı ekosisteme bağlı olarak değişmekle birlikte temelde şekerli, protein ve serbest aminoasitli, vitamin ve lipidin sulu emülsiyonudur. Az miktarda vitamin ve mineral de içermekte-

dir (Tablo 5 ve 6) (Isidorov, Bakier, & Grzech, 2012; Kanelis vd., 2018; López-Gutiérrez, del Mar Aguilera-Luiz, Romero-González, Martínez Vidal, & Frenich, 2014; Sabatini, Marcazzan, Caboni, Bogdanov, & Almeida-Muradian, 2009).

Tablo 5. *Arı Sütü (Royal Jelly) Ortalama Bileşimi*

BİLEŞEN	TAZE	LİYOFİLİZE
Su %	60-70	<5
Lipid%	3-8	8-19
10-Hidroksi-2-Dekenoik Asit (10-HDA) %	>1,4	>3,5
Protein %	9-18	27-41
Mineral %	1,5	
Vitamin	Eser	
Fruktoz + Glikoz+Sakaroz %	7-18	x
Fruktoz %	3-18	x
Glikoz %	4-8	x
Sakaroz %	0,5-2,0	x
Kül %	0,8-3,0	2-5
pH	3,4-4,5	3,4-4,5
Asitlik (ml 0.1N NaOH/g)	3,0-6,0	x
Furozin (mg/100g Protein)	<50	X

Tablo 6. *AS İçeriğindeki Flavonoidler Ve Polifenoller*

FLAVONOİD	POLİFENOL
	Herperetin
	Hesperidin
	Eriositrin
	Eriodiktiyol
	Narirutin
	Pinocembrin
Flavanon	Pinobanksin
	Sakuranetin
	Neeriositrin
	Neohesperidin
	Tamarixetin
	İzosakuranetin
	Naringenin
	Asasetin
	Apigenin
Flavon	Fisetin
	Luteolin
	Krizin
	Galangin
	Quercetin
Flavonol	İzohamnetin
	Rutin
	Coumestrol
	Daidzein
	Daidzin
İzoflavonoid	Formononetin
	Biyokanin
	Glisitin
	Genistein
Dihidrokanonlar	Floridzin

Özellikle üreme sağlığı, nörolojik hastalıklar, yara iyileşmesi, yaşlanmayı geciktirme ve kansere karşı çeşitli mekanizmalar üzerinde etkilere sahip olduğu belirtilmektedir (Cherbuliez, 2013; Pasupuleti, Sammugam, Ramesh, & Gan, 2017; Sığ, Öz-Sığ, & Güney, 2019). AS ile ilgili yapılan bilimsel çalışmalar antioksidan (Buratti, Benedetti, & Cosio, 2007; J. R. Liu, Yang, Shi, & Peng, 2008; Nagai, Inoue, Suzuki, & Nagashima, 2006; Ucar & Barlak, 2019), nörotrofik, hipokolesterolemik, kanser önle-

yici (Miyata & Sakai, 2018), doku koruyucu (Araki vd., 2018; Yamauchi, Kogashiwa, Moro, & Kohno, 2014; Yoneshiro vd., 2018), kan basıncını düzenleyici, antimikrobiyal (Yang, Chou, Widowati, Lin, & Peng, 2018), antiinflamatuvar (Yamauchi vd., 2014; Yang vd., 2018), immünomodülatör ve antitümör (Okic-Djordjevic vd., 2013; Orsolic vd., 2003) gibi farklı etkilerin olabileceğini göstermektedir.

AS'nin obezite ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar obezite ve beraberinde getirdiği hastalıkları önlemede başarılı olduğu yönündedir. AS'nin (1000 mg/gün) tip 2 diyabetik gönüllü elli kadında (25 kişiye AS, 25 kişi plasebo) vücut ağırlığına ve günlük enerji ve makro besin alımına etkisinin araştırıldığı sekiz haftalık bir çalışmada uygulama öncesi ve sonrası gönüllülerin vücut kitle indeksi hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda AS tüketiminin ortalama vücut ağırlığını ve ortalama günlük toplam enerji alımını düşürdüğünü ifade etmiştir (Pourmoradian, Mahdavi, Mobasseri, Faramarzi, & Mobasseri, 2012). AS'nin insülin duyarlılığını artırması obezite ve metabolik bozukluklar üzerine etkisinin araştırılmasına neden olmuştur. C57BL/6J fareleri 17 hafta boyunca ilki normal diyet, ikincisi yüksek yağlı diyet, üçüncüsü %5 AS ve yüksek yağlı diyet ve son olarak dördüncüsü %5 bal arısı larva tozu olmak üzere 4 farklı diyet türüne maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda araştırmacıların elde ettikleri veriler; arı sütü yüksek yağlı diyetin neden olduğu beyaz yağ dokusu (WAT) oluşumunu ve hepatik trigliserit birikimini baskılamıştır, hiperglisemiye ve insülin direncini iyileştirmiştir. Diyetinde AS bulunan grupta kahverengi yağ dokusunda (BAT) termojenik ayrıştırıcı protein 1 (UCP1) ve mitokondriyal sitokrom c oksidaz 4. alt birimi (COX-4) gen ve protein ifadeleri artmıştır. AS'nin ve bal arısı larva tozu kullanımının beyaz yağ dokusunu kahverengileştirmedeği bildirilmiştir. Sonuç olarak arı sütünün obezite ve metabolik bozukluklarla mücadele için umut verici olduğu bildirilmiştir (Yoneshiro vd., 2018).

Townsend ve ark. dört farklı tümör dokusuna karşı 10-HDA üzerinde yaptığı çalışmada AS'nin 10-HDA içeriğinin anti-tümör aktivitesi yaptığını belirtmiştir (Townsend, Morgan, & Hazlett, 1959). Shirzad ve diğ. farelerde üzerinde yaptığı çalışmada, fibrosarkom dokularının tümör büyümesinde AS alan grupta anlamlı farklılık gösterdiğini gözlemlemiştir. AS'nin bu etkiyi immünomodülatör etkisi ile sağladığını ve uzun süreli tedavilerde farkı gözlemleyebildiklerini belirtmiştir (Shirzad, Kord Yazdi, Shahinfard, & Nikokar, 2013).

Kötü beslenme alışkanlığı kaynaklı dislipidemi kardiyovasküler hastalıklar için yüksek risk faktörü oluşturur (Collazo vd., 2021). Yüksek seviye plazma trigliserit, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL) ve düşük seviye yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL) kardiyovasküler hastalıkların en temel nedenleri arasında yer almaktadır (Yan vd.,

2006). Yapılan birçok çalışmada AS kullanımının kan lipid profini düzenlediğini göstermiştir. Bunun en önemli nedeni AS'nin jejunumda kolesterol emiliminin inhibisyonu olabileceği düşünülmektedir. Ek olarak AS'nin safra asitlerinin yeniden emilimini de bloke edebileceği de düşünülmektedir (Kashima vd., 2014).

Hattori ve ark.'ın yaptığı çalışmada farklı konsantrasyondaki (250, 750 ve 1250 µg/ml) AS'yi hücre kültürlerine uygulamışlardır. Gruplardaki sonuçlar benzer değer göstermiş ve lipofilik ekstrakt ile tedavi edilen hücre kültürlerinde yüksek antiproliferatif etki göstermiştir. Bu etkiyi nedenini AS'nin 10-HDA içeriğinden kaynaklandığını belirtmiştir (Hattori, Nomoto, Fukumitsu, Mishima, & Furukawa, 2007). 10-HDA ayrıca PI3K–AKT yolu ile romatoid artrit hastalarında fibroblast benzeri sinoviyositlerine karşı antiproliferatif bir etki göstermektedir (Wang vd., 2015).

AS'nin antimikrobiyal etkisiyle ilgili yapılan çalışmalarda özellikle Gram(+) bakterilere karşı yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ek olarak AS, gıda ve içeceklerin kontaminasyonu ve tüketicilere bulaşma olasılığı nedeniyle beslenme endüstrilerinde büyük bir sorunu alan biyofilm karşı ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Tablo 7.). Yakın tarihte yapılan çalışmalar AS'yi anti-biyofilm ajanı olarak test etmektedir. Özellikle AS, *Listeria monocytogenes*'e karşı etkisi test edilmektedir (Cherbuliez, 2013; Collazo vd., 2021; Yan vd., 2006). Atuntaş ve ark.'ın yapmış olduğu çalışmada *L. monocytogenes* kültürleri farklı konsantrasyonlarda (0.33-41.67 mg/mL) AS'ye tabi tutulmuştur. Sonuç olarak, minimum inhibitör konsantrasyonunu olan (MIC) 90 23.85 mg/mL olarak ölçülmüştür. Bu sonuç, listeriosis kontaminasyonu riskini azaltmak için antibiyofilm ajanı olarak AS'nin kullanılabileceğini göstermektedir (Altuntas, Cinar, & Altuntas, 2020).

Tablo 7. AS'nin Antimikrobiyal Etkinliği

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Candida albicans		1450	1250	700	1320	44683	40300		1100	0.125-1	1340	1250		200	1100
Candida glabatra		1170	1170	350					850		800	980		150	1250
Candida tropicalis		1120	900	490					900		970	950		180	950
Paenibacillus larvae	0.6-2.8						40						6		
Vibrio parahaemolyticus													4		
Enterobacter cloacae		1630	770	570	1500	10	15		1500		1330	1200		1100	900
Escherichia coli		1150	400	1100	1180	44683	1045	15	1100	10	980	950		1450	1500
Lactobacillus acidophilus and															
Lactobacillus helveticus															
Pseudomonas aeruginosa		1120	650	640	1180	10	15-80	30	750		980	940	10	900	670
Staphylococcus aureus		670	550	350	350	10	15-200	30	450		700	670	7-250	950	990
Staphylococcus epidermidis		990	400	250	400		200		780		720	740		880	950
Staphylococcus intermedius and													44899		
Staphylococcus xylosus															
Staphylococcus saprophyticus						15		30							
Streptococcus mutans		1370	780	350	670				980		800	720		1140	780

Streptococcus viridans	900	840	180	780		800	700	580		950	740
Streptococcus alactolyticus									9		
Bacillus subtilis				10	30-40				60		
Klebsiella pneumoniae	1250	1450	470	10	15	900	1260	980		1350	1640
Listeria monocytogenes					200						
Salmonella enterica Paratyphi					200						
Salmonella choleraesuis									9		
Salmonella (infantis, typhi-murium)						10					
Klostridium tetani									250		
Micrococcus luteus (Sarcina lutea)									125		
Bifidobacterium (adolescentis,						10					
Bifidum, breve, infantis, longum)											

1: 10-HDA; 2: 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-propionik asit; 3: 3,10-dihidroksi-dekanoik asit; 4: 3-hidroksi-dodekandioik asit; 5: 9-hidroksi-2-nonanon; 6: Jelleine-I; 7: Jelleine-II; 8: Jelleine-III; 9: Metil paraben; 10: Arı Sütü; 11: AS(CH₂CL₂ özü); 12: AS(MeOH özü); **13**: Royalisin; **14**: Sebasik asit; **15**: Trans-10-hidriksidek-2-enoik asit.

Meme kanseri fare modellerinde oral AS alımı serum (interlökin-2, interferon- α , süperoksit dismutaz (SOD) ve toplam antioksidan kapasitede önemli ölçüde artış ve interlökin-4 konsantrasyonunda azalış), karaciğer (toplam antioksidan kapasite ve glutatyon redüktaz aktivitesinde artış) ve böbrekte (toplam antioksidan kapasite ve glutatyon redüktaz aktivitesinde artış) profilaktik terapötik etki göstermiştir (S. Zhang, Shao, Geng, & Su, 2017).

KAYNAKÇA

- Aabed, K., Bhat, R. S., Al-Dbass, A., Moubayed, N., Algahtani, N., Merghani, N. M., . . . El-Ansary, A. (2019). Bee pollen and propolis improve neuroinflammation and dysbiosis induced by propionic acid, a short chain fatty acid in a rodent model of autism. *Lipids Health Dis*, 18(1), 200. doi:10.1186/s12944-019-1150-0
- Adeniyi, I. A., Babalola, K. T., Adekoya, V. A., Oyebanjo, O., Ajayi, A. M., & Onasanwo, S. A. (2022). Neuropharmacological effects of honey in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation, cognitive impairment, anxiety and motor impairment. *Nutr Neurosci*, 1-14. doi:10.1080/1028415X.2022.2063578
- Adib-Tezer, H., & Bayerl, C. (2018). Honeybee and wasp venom allergy: Sensitization and immunotherapy. *J Dtsch Dermatol Ges*, 16(10), 1228-1247. doi:10.1111/ddg.13670
- Ahn, D. G., Shin, H. J., Kim, M. H., Lee, S., Kim, H. S., Myoung, J., . . . Kim, S. J. (2020). Current Status of Epidemiology, Diagnosis, Therapeutics, and Vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J Microbiol Biotechnol*, 30(3), 313-324. doi:10.4014/jmb.2003.03011
- Albayrak, S., & Albayrak, S. (2008). Propolis: Doğal antimikrobiyal madde. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 37(3), 201-215.
- Alfawaz, H., Al-Onazi, M., Bukhari, S. I., Binobead, M., Othman, N., Algahtani, N., . . . El-Ansary, A. (2018). The Independent and Combined Effects of Omega-3 and Vitamin B12 in Ameliorating Propionic Acid Induced Biochemical Features in Juvenile Rats as Rodent Model of Autism. *J Mol Neurosci*, 66(3), 403-413. doi:10.1007/s12031-018-1186-z
- Allsop, K. A., & Miller, J. B. (1996). Honey revisited: a reappraisal of honey in pre-industrial diets. *Br J Nutr*, 75(4), 513-520. doi:10.1079/bjn19960155
- Altay, A., Irtem Kartal, D., Sagdicoglu Celep A. G., Guray, T., & Bozoglu, F. (2018). Modulation of Cytochrome p450s and Antioxidant Enzymes by Caffeic Acid, p-Coumaric Acid and Quercetin-rich Anatolian Propolis in Human Adenocarcinoma Ht-29 Cells. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(1), 336-345.
- Altuntas, S., Cinar, A., & Altuntas, V. (2020). Modelling of *Listeria monocytogenes* growth and survival in presence of royal jelly, a promising anti-biofilm agent. *Journal of Food and Nutrition Research*, 59(1), 7-15.
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3, 15-23. doi:https://doi.org/10.1007/s12349-009-0051-6
- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., . . . Dash, C.

- K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi J Biol Sci*, 26(7), 1695-1703. doi:10.1016/j.sjbs.2018.08.013
- Araki, K., Miyata, Y., Ohba, K., Nakamura, Y., Matsuo, T., Mochizuki, Y., & Sakai, H. (2018). Oral Intake of Royal Jelly Has Protective Effects Against Tyrosine Kinase Inhibitor-Induced Toxicity in Patients with Renal Cell Carcinoma: A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial. *Medicines (Basel, Switzerland)*, 6(1), 2. doi:https://doi.org/10.3390/medicines6010002
- Arawwawala, L. D. A. M., & Hewageegana, H. G. S. P. (2017). Health benefits and traditional uses of honey: A review. *Journal of Apitherapy*, 2(1), 9-14. doi:10.5455/ja.20170208043727
- Bangroo, A. K., Khattri, R., & Chauhan, S. (2005). Honey dressing in pediatric burns. *Journal of Indian Association of Pediatric Surgeons*, 10(3), 172-175. doi:10.4103/0971-9261.16970
- Bankova, V. S., Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1), 3-15. doi:https://doi.org/10.1051/apido:2000102
- Barajas, J., Cortes-Rodriguez, M., & Rodriguez-Sandoval, E. (2011). Effect of temperature on the drying process of bee pollen from two zones of Colombia. *Journal of Food Process Engineering*, 35(1), 134-148. doi:10.1111/j.1745-4530.2010.00577.x
- Barene, I., Daberte, I., & Siksna, S. (2014). Investigation of bee bread and development of its dosage forms. *Medicinos Teorija ir Praktika*, 21(1), 16-22. doi:10.15591/mtp.2015.003
- Buratti, S., Benedetti, S., & Cosio, M. S. (2007). Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta*, 71(3), 1387-1392. doi:10.1016/j.talanta.2006.07.006
- Campos, M. G., Frigerio, C., Lopes, J., & Bogdanov, S. (2010). What is the future of Bee-Pollen? *Journal of Apiprodukt and Apimedical Science*, 2(4), 131-144. doi:10.3896/IBRA.4.02.4.01
- Carneiro, A. L. B., Gomes, A. A., Alves da Silva, L., Alves, L. B., Cardoso da Silva, E., da Silva Pinto, A. C., . . . Naiff, M. d. F. (2019). Antimicrobial and Larvicidal Activities of Stingless Bee Pollen from Maues, Amazonas, Brazil. *Bee World*, 96(4), 98-103. doi:10.1080/0005772X.2019.1650564
- Carroll, M. J., Brown, N., Goodall, C., Downs, A. M., Sheenan, T. H., & Anderson, K. E. (2017). Honey bees preferentially consume freshly-stored pollen. *PLoS One*, 12(4), e0175933. doi:10.1371/journal.pone.0175933
- Chen, Y. W., Ye, S. R., Ting, C., & Yu, Y. H. (2018). Antibacterial activity of propolis from Taiwanese green propolis. *J Food Drug Anal*, 26(2), 761-768. doi:10.1016/j.jfda.2017.10.002
- Cherbuliez, T. (2013). Apitherapy – The Use of Honeybee Products. In M. Grass-

- berger, Sherman, R., Gileva, O., Kim, C., Mumcuoglu, K. (Ed.), *Biotherapy - History, Principles and Practice*.
- Collazo, N., Carpena, M., Nunez-Estevez, B., Otero, P., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Health Promoting Properties of Bee Royal Jelly: Food of the Queens. *Nutrients*, 13(2). doi:10.3390/nu13020543
- Crane, E. (2009). *Bee Products*. Academic Press: Academic Press.
- Denisow, B., & Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *J Sci Food Agric*, 96(13), 4303-4309. doi:10.1002/jsfa.7729
- Fratellone, P. M., Tsimis, F., & Fratellone, G. (2016). Apitherapy Products for Medicinal Use. *J Altern Complement Med*, 22(12), 1020-1022. doi:10.1089/acm.2015.0346
- Gupta, R. K., & Stangaciu, S. (2014). Apitherapy: Holistic Healing Through the Honeybee and Bee Products in Countries with Poor Healthcare System. In *Beekeeping for Poverty Alleviation and Livelihood Security*.
- Habryka, C., Kruczek, M., & Draygas, B. (2016). Bee products used in apitherapy. *World Scientific News*, 48, 254-258.
- Hattori, N., Nomoto, H., Fukumitsu, H., Mishima, S., & Furukawa, S. (2007). Royal jelly and its unique fatty acid, 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid, promote neurogenesis by neural stem/progenitor cells in vitro. *Biomed Res*, 28(5), 261-266. doi:10.2220/biomedres.28.261
- Isidorov, V. A., Bakier, S., & Grzech, I. (2012). Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of volatile and extractable compounds of crude royal jelly. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 885-886, 109-116. doi:10.1016/j.jchromb.2011.12.025
- Jagua-Gualdrón, A., Peña-Latorre, J. A., & Fernandez-Bernal, R. E. (2020). Apitherapy for Osteoarthritis: Perspectives from Basic Research. *Complementary Medicine Research*, 27, 184-191. doi:https://doi.org/10.1159/000505015
- Javed, A. (2021). Efficacy of Apitherapy for Skin Regeneration. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, 75(1), 80-85.
- Kanelis, D., Tananaki, C., Liolios, V., Rodopoulou, M. A., Goras, G., Argana, N., & Thrasyvoulou, A. (2018). Investigating the Effect of Supplementary Feeding on Carbohydrate Composition and Quantity of Royal Jelly. *Open Journal of Applied Sciences*, 8, 141-149. doi:10.4236/ojapps.2018.84011
- Karaman, M. R. (2019). Evaluation Of Some Nutritional and Antioxidant Values Of Bee Bread (Perga) For Athletes. *Sportif Bakış: Spor ve Eğitim Bilimleri Dergisi*(4), 390-398. doi: 10.33468/sbsebd.114
- Kashima, Y., Kanematsu, S., Asai, S., Kusada, M., Watanabe, S., Kawashima, T., . . . Nagaoka, S. (2014). Identification of a novel hypocholesterolemic protein, major royal jelly protein 1, derived from royal jelly. *PLoS One*, 9(8),

e105073. doi:10.1371/journal.pone.0105073

- Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Blazejak, S., Chlebowska-Smigielska, A., & Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 170-180. doi:https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.021
- Komosinska-Vashev, K., Olczyk, P., Kazmierczak, J., Mencner, L., & Olczyk, K. (2015). Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 297425. doi:10.1155/2015/297425
- Kumar Gupta, R. (2014). *Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security* (Vol. 1): Springer.
- Kuo, C. C., Wang, R. H., Wang, H. H., & Li, C. H. (2018). Meta-analysis of randomized controlled trials of the efficacy of propolis mouthwash in cancer therapy-induced oral mucositis. *Support Care Cancer*, 26(12), 4001-4009. doi:10.1007/s00520-018-4344-5
- Lima, W. G., Brito, J. C. M., & da Cruz Nizer, W. S. (2021). Bee products as a source of promising therapeutic and chemoprophylaxis strategies against COVID-19 (SARS-CoV-2). *Phytother Res*, 35(2), 743-750. doi:10.1002/ptr.6872
- Liu, F., Horton-Sparks, K., Hull, V., Li, R. W., & Martinez-Cerdeno, V. (2018). The valproic acid rat model of autism presents with gut bacterial dysbiosis similar to that in human autism. *Mol Autism*, 9, 61. doi:10.1186/s13229-018-0251-3
- Liu, J. R., Yang, Y. C., Shi, L. S., & Peng, C. C. (2008). Antioxidant properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest. *J Agric Food Chem*, 56(23), 11447-11452. doi:10.1021/jf802494e
- López-Gutiérrez, N., del Mar Aguilera-Luiz, M., Romero-González, R., Martínez Vidal, J. L., & Frenich, A. G. (2014). Fast analysis of polyphenols in royal jelly products using automated TurboFlow™-liquid chromatography–Orbitrap high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 973, 17-28. doi:10.1016/j.jchromb.2014.09.038.
- Miyata, Y., & Sakai, H. (2018). Anti-Cancer and Protective Effects of Royal Jelly for Therapy-Induced Toxicities in Malignancies. *Int J Mol Sci*, 19(10). doi:10.3390/ijms19103270
- Mojarab, S., Shahbazzadeh, D., Moghbeli, M., Eshraghi, Y., Bagheri, K. P., Rahimi, R., . . . Mahdavi, M. (2020). Immune responses to HIV-1 polytope vaccine candidate formulated in aqueous and alcoholic extracts of Propolis: Comparable immune responses to Alum and Freund adjuvants. *Microb Pathog*, 140, 103932. doi:10.1016/j.micpath.2019.103932
- Mu, Q., Tavella, V. J., & Luo, X. M. (2018). Role of Lactobacillus reuteri in Human Health and Diseases. *Front Microbiol*, 9, 757. doi:10.3389/fmicb.2018.00757

- Nagai, T., Inoue, R., Suzuki, N., & Nagashima, T. (2006). Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly. *J Med Food*, 9(3), 363-367. doi:10.1089/jmf.2006.9.363
- Okic-Djordjevic, I., Trivanovic, D., Krstic, J., Jaukovic, A., Mojsilovic, S., Santibanez, J. F., . . . Bugarski, D. (2013). GE132+Natural: Novel promising dietetic supplement with antiproliferative influence on prostate, colon, and breast cancer cells. *J BUON*, 18(2), 504-510. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23818369>
- Onbasli, D. (2019). Apiterapi ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1), 49-56. doi:<https://doi.org/10.32707/ercivet.538001>
- Orsolic, N., Knezevic, A., Sver, L., Terzic, S., Hackenberger, B. K., & Basic, I. (2003). Influence of honey bee products on transplantable murine tumours. *Vet Comp Oncol*, 1(4), 216-226. doi:10.1111/j.1476-5810.2003.00029.x
- Özdemir, G., Ersöz, E., & Dilek, N. M. (2021). Apiterapi ve Sağlık. *Black Sea Journal of Health Science*, 4, 1-7. doi:doi:10.34248/bshealthscience.816036
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 1259510. doi:10.1155/2017/1259510
- Pourmoradian, S., Mahdavi, R., Mobasser, M., Faramarzi, E., & Mobasser, M. (2012). Effects of royal jelly supplementation on body weight and dietary intake in type 2 diabetic females. *Health Promot Perspect*, 2(2), 231-235. doi:10.5681/hpp.2012.028
- Sabatini, A. G., Marcazzan, G. L., Caboni, M. F., Bogdanov, S., & Almeida-Muradian, L. B. (2009). Quality and standardisation of Royal Jelly. *Journal of Apiprodukt and Apimedical Science*, 1, 16-21. doi:10.3896/IBRA.4.01.1.04
- Salomao, K., Pereira, P. R., Campos, L. C., Borba, C. M., Cabello, P. H., Marcucci, M. C., & de Castro, S. L. (2008). Brazilian propolis: correlation between chemical composition and antimicrobial activity. *Evid Based Complement Alternat Med*, 5(3), 317-324. doi:10.1093/ecam/nem058
- Saral, O., Sahin, H., Saral, S., Alkanat, M., Akyildiz, K., Topcu, A., & Yilmaz, A. (2022). Bee pollen increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor and suppresses neuroinflammation in adult rats with chronic immobilization stress. *Neurosci Lett*, 766, 136342. doi:10.1016/j.neulet.2021.136342
- Sawicka, D., Car, H., Borawska, M. H., & Niklinski, J. (2012). The anticancer activity of propolis. *Folia Histochemica Et Cytobiologica*, 50(1), 25-37.
- Seven, İ., Aksu, T., & Tatlı Seven, P. (2007). Propolis ve Hayvan Beslemede Kullanımı. *Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 18(2), 79-84.
- Shirzad, M., Kordyazdi, R., Shahinfard, N., & Nikokar, M. (2013). Does Royal

- jelly affect tumor cells? *Journal of Herbmед Pharmacology*, 2, 45-48.
- Sığ, A. K., Öz-Sığ, Ö., & Güney, M. (2019). Royal jelly: a natural therapeutic? *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 11(3), 333-341. doi:<https://doi.org/10.21601/ortadogutipdergisi.500434>
- Terbach, N., & Williams, R. S. (2009). Structure-function studies for the panacea, valproic acid. *Biochem Soc Trans*, 37(Pt 5), 1126-1132. doi:10.1042/BST0371126
- Thakur, M., & Nanda, V. (2020). Composition and functionality of bee pollen: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 82-106. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.001>.
- Townsend, G. F., Morgan, J. F., & Hazlett, B. (1959). Activity of 10-hydroxydecanoic acid from royal jelly against experimental leukaemia and ascitic tumours. *Nature*, 183(4670), 1270-1271. doi:10.1038/1831270a0
- Ucar, M., & Barlak, Y. (2019). The Antioxidant Activity of Water, DMSO and Methanol Extracts of Royal Jelly from Bursa Province in Turkey. *Pharmaceutical Drug Regulatory Affairs Journal*, 2(1), 110.
- Ugur, A., & Arslan, T. (2004). An in vitro study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *J Med Food*, 7(1), 90-94. doi:10.1089/109662004322984761
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Alvarez, J. A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *International Journal of Food Science*, 73(9), 117-124. doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x.
- Wagh, V. D. (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv Pharmacol Sci*, 2013, 308249. doi:10.1155/2013/308249
- Wang, J., Zhang, W., Zou, H., Lin, Y., Lin, K., Zhou, Z., . . . Yang, X. (2015). 10-Hydroxy-2-decanoic acid inhibiting the proliferation of fibroblast-like synoviocytes by PI3K-AKT pathway. *Int Immunopharmacol*, 28(1), 97-104. doi:10.1016/j.intimp.2015.05.036
- Ware, M. (2018). Honey: Health Benefits, Uses and Risks. Retrieved from <https://www.medicalnewstoday.com/articles/302572#1>
- Yamauchi, K., Kogashiwa, Y., Moro, Y., & Kohno, N. (2014). The effect of topical application of royal jelly on chemoradiotherapy-induced mucositis in head and neck cancer: a preliminary study. *Int J Otolaryngol*, 2014, 974967. doi:10.1155/2014/974967
- Yan, A. T., Yan, R. T., Tan, M., Hackam, D. G., Leblanc, K. L., Kertland, H., . . . Guidelines Oriented Approach to Lipid Lowering Registries, I. (2006). Contemporary management of dyslipidemia in high-risk patients: targets still not met. *Am J Med*, 119(8), 676-683. doi:10.1016/j.amjmed.2005.11.015
- Yang, Y. C., Chou, W. M., Widowati, D. A., Lin, I. P., & Peng, C. C. (2018). 10-hydroxy-2-decanoic acid of royal jelly exhibits bactericide and anti-inf-

lammatory activity in human colon cancer cells. *BMC Complement Altern Med*, 18(1), 202. doi:10.1186/s12906-018-2267-9

Yoneshiro, T., Kaede, R., Nagaya, K., Aoyama, J., Saito, M., Okamatsu-Ogura, Y., . . . Terao, A. (2018). Royal jelly ameliorates diet-induced obesity and glucose intolerance by promoting brown adipose tissue thermogenesis in mice. *Obes Res Clin Pract*, 12(Suppl 2), 127-137. doi:10.1016/j.orcp.2016.12.006

Zakaria, Z., Othman, Z. A., Suleiman, J. B., Che Jalil, N. A., Ghazali, W. S. W., Nna, V. U., & Mohamed, M. (2021). Hepatoprotective Effect of Bee Bread in Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) Rats: Impact on Oxidative Stress and Inflammation. *Antioxidants (Basel)*, 10(12). doi:10.3390/antiox10122031

Zhang, C., Shen, X., Chen, J., Jiang, X., & Hu, F. (2017). Identification of Free Radical Scavengers from Brazilian Green Propolis Using Off-Line HPLC-DPPH Assay and LC-MS. *J Food Sci*, 82(7), 1602-1607. doi:10.1111/1750-3841.13730

Zhang, S., Shao, Q., Geng, H., & Su, S. (2017). The effect of royal jelly on the growth of breast cancer in mice. *Oncol Lett*, 14(6), 7615-7621. doi:10.3892/ol.2017.7078

Zheko, R. (2018). Water Content of Honey Bee Collected Pollen from 50 Plants from Bulgaria. *Modern Concepts & Developments in Agronomy*, 3(3), 314-316. doi:10.31031/MCDA.2018.03.000563

Zhu, F., & Wongsiri, S. (2008). A Brief Introduction to Apitherapy Health Care. *Journal of Thai Traditional & Alternative Medicine*, 6(3), 1-10.

“

Bölüm 20

**GERİATRİK KANSER HASTALARINDA
KANSER TEDAVİSİ GENÇLERLE AYNI
MIDIR ?**

*İlyas KÜÇÜK¹,
Abdullah DADAK²,
Mehmet KARADENİZ³*

”

1 Öğr. Gör., Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ORCID ID: 0000-0002-9768-3770

2 Öğr. Gör., Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, ORCID ID: 0000-0002-6490-9235

3 Hatay Sağlık Hizmetleri MYO/Yaşlı Bakım Öğrenci E-mail:mhblacksea@gmail.com

Özet

Yaşam koşulları, koruyucu ve tedavi edici sağlık hizmetlerinin geliştirilmesi nedeni ile insan ömrü giderek uzamaktadır. Günümüzde doğum hızının azalması yaşlı popülasyon oranında göreceli bir artışa neden olmaktadır. Yaşlılarda azalmış bazal metabolizma ve vücut kompozisyonunda değişiklikler söz konusudur. Bu fizyolojik değişiklikler yaşlıları kanser tedavisinde toksisitelere karşı daha duyarlı hale getirir. Yaşlı hastalarda kanser tedavisi planlanırken her bireyin durumu kendi içinde değerlendirilmelidir. Bu hastalarda yaş faktörü dışında hayat beklentisi, tedavi toleransı, morbidite, mortalite, tedavi toleransı, hayat kalitesi belirlenmelidir. Buda kapsamlı geriatrik değerlendirme ile yapılır. Yapılan birçok araştırma tek başına yaşlılığın kanser tedavisi için kontrendikasyon durumu oluşturmadığını göstermiştir. Kronolojik yaş, her ikisi de büyük ölçüde değişiklik gösteren, fizyolojik bozulma ile ilişkili olmayabilir ve fonksiyonel rezervdeki düşüş ile ilişkili olmayabilir. Bu nedenle, yaşlılarda kanser tedavisinde kronolojik yaştan ziyade komorbidite ve fonksiyonel durumun derecesine bakılmalıdır

Giriş

Tüm dünyada iskemik kalp hastalarına bağlı ölümlerden sonra 2. sırada yer alan en sık ölüme neden olan hastalık Kanserdir. Erken teşhis ve tedaviye rağmen halen ölüm oranları giderek artan, maddi ve manevi yıkıntılara neden olan bu hastalık Dünyada her yıl 8,2 milyon kişinin ölümüne sebep olmaktadır.(1) Ülkemizdeki en son resmi rakamlar değerlendirildiğinde bir yıl içerisinde yaklaşık 96.200 erkek ve 67.200 kadının kanser teşhisi aldığı tahmin edilmektedir. (1)

Yaşlanma, doku ve organların yapısında ve işlevlerinde negatif anlamda değişimlere yol açan, ilerleyici fakat fizyolojik bir süreçtir. Yaşlılarda azalmış bazal metabolizma ve vücut kompozisyonunda değişiklikler söz konusudur. Yaşlanma ile karaciğer hacmi ve karaciğerin kanlanması azalır, buda ilaçların metabolizmasını azaltacağından yüksek dozda ilaca maruziyet artar. Böbrek fonksiyonu yaşla birlikte düşer. Azalan böbrek rezervi hem ilaç atılımı azaltır, hemde kemoterapi ilişkili bulantı kusma ishal gibi yan etkiler olursa kalıcı böbrek yetersizliğine neden olabilir. Yaşla birlikte azalan kemik iliği rezervi yada yaşa bağlı gelişen koroner arter hastalığı yada kalp kapak hastalıkları, azalmış kas kitlesi yaşlı kanser hastalarında kanser tedavisinde zorlayıcı fizyolojik değişiklikler olarak karşımıza çıkmaktadır. (3)

Gelişmiş Ülkelerde ve gelişmekte olan Ülkelerde 65 yaş ve üstü insanlar nüfusun en hızlı büyüyen kesimidir. Amerika Birleşik Devletlerinde, Batı Avrupa ve Japonyada 2030 itibariyle, bu grup toplam nüfusun yaklaşık yüzde 20'sini oluşturacaktır. Yaşlı nüfus sayısındaki bu demografik

artışın önemi, 60 yaşından sonra çoğu kanser türünün görülme sıklığındaki artış olmasıdır. Yaşlılarda daha fazla kanser görülmesinin nedenlerinden biride daha uzun süre karsinojenlere maruz kalmalarıdır. Şu anda, tüm kanserlerin yaklaşık yüzde 50'si ve kanser ölümlerinin yüzde 70'i 65 yaş üzeri hastalarda meydana gelmektedir.(2) Yaşlı popülasyonda kanserin ortaya çıkma sıklığına rağmen, bu grup klinik çalışmalarda anlamlı şekilde düşüktür. Klinik çalışmalara dahil edilen yaşlı hastalar dikkatlice seçilmiş, 80 yaşın üzerinde olan,organ fonksiyon bozukluğu bulunan, performansı kötü olan yada kemik iliği fonksiyonları yetersiz olan hastalar çalışmalarda hep dışlanmıştır.(4)

Yaşlılarda kanser tedavisinin temel prensipleri genç hastalarda olduğu gibidir. Bununla birlikte, yaşa bağlı organ fonksiyonu azalması ve tıbbi komorbiditesi olan yaşlı hastalarda kemoterapi tedavisi özel dikkat gerektirmektedir. Kronolojik yaş her zaman fizyolojik bozulma ile ilişkili olmayabilir, bu nedenle, yaşlılarda kanser tedavisi kronolojik yaştan ziyade komorbidite, yaşam kalitesi ve fonksiyonel durumun derecesine göre yapılmalıdır. Yaşam kalitesi (Quality Of Life), yaşlı kanser hastalarını tedavi ederken karar vermenin önemli bir bileşenidir. Mevcut veriler, yaşlı hastaların tıpkı genç meslektaşları gibi kemoterapiyi denemeye istekli olduklarını, ancak tedaviye bağlı ciddi yan etkilerden daha çok endişe ettiklerini göstermiştir.(5)

Yaşlı hastalarda kanser tedavisi planlanırken her bireyin durumu kendi içinde değerlendirilmelidir. Buda geriatristin kapsamlı geriatrik değerlendirme yapması ile daha yararlı olacaktır. Bazı çalışmalar kanser hastalarında kapsamlı geriatrik değerlendirme yapılmasının kanser tedavi kararını almada, tedaviden kaynaklanan komplikasyonları ve yan etkileri tahmin etmede, sağkalımı belirlemede, ruhsal sorunları çözmede ve ağrı kontrolünü sağlamada oldukça yararlı olduğunu göstermiştir. (6,7,8)

Amerikan Klinik Onkoloji Derneği, Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı ve Uluslararası Geriatrik Onkoloji Derneği' nin fikir birliği kılavuzları, 65 yaş ve üstü yaşlı hastalar için Kapsamlı Geriatrik Değerlendirmenin rutin kullanımını önermektedir (9) Kapsamlı geriatrik değerlendirme (KGD), yaşlı bir yetişkinin yaşlanma ile genel sağlığı en üst düzeye çıkarmak için koordine edilmiş bir plan geliştirmek amacıyla tıbbi, psikososyal ve işlevsel yeteneklerini tanımlayan multidisipliner bir tanı ve tedavi süreci olarak tanımlanır. KGD, bir sağlık uzmanı ekibi tarafından kırılğan yaşlı kişilerin sistematik bir şekilde değerlendirilmesinin, çeşitli tedavi edilebilir sağlık sorunlarını tanımlayabileceği ve daha iyi sağlık sonuçlarına yol açabileceğine dayanmaktadır. Bununla birlikte KGD klinisyenlerin kanser tedavisi için koordineli bir plan geliştirmelerine ve belirli problemler için uygun müdahaleleri yönlendirmelerine yardımcı olmasına rağmen zaman alabilir ve tüm hastalar için pratik olmayabilir. KGD'nin temel bileşenleri İşlevsel

kapasite, Düşme riski, Biliş, Mood/Durum, Çoklu ilaç kullanımı, Sosyal destek, Mali endişeler, Bakımın amaçları, Gelişmiş bakım tercihleridir. Ek bileşenler ayrıca Beslenme / kilo değişimi, İdrar kontinansını Cinsel işlevi, Vizyon/işitmeyi, Yaşam durumunu ve Maneviyatı içerebilir.

Meta-analizlerin çoğu, kapsamlı geriatrik değerlendirmenin (KGD) geriatrik problemlerin daha iyi tespit edilmesine ve belgelenmesine yol açtığını göstermiştir(11). Bununla birlikte, CGA'nın sonuçları iyileştirme kabiliyeti (örneğin hastanede yatış, hastaneye yatış ve ölüm oranlarında azalma) özel KGD modellerine ve bunların uygulandığı yerlere bağlıdır. Çeşitli randomize çalışmaların meta-analizleri beş KGD modelini değerlendirmiştir (11):

- Ev geriatrik değerlendirme
- Akut geriatrik bakım üniteleri
- Hastane sonrası taburcu
- Ayakta tedavi konsültasyonu
- Yatan hasta konsültasyonu

Evde geriatrik değerlendirme ve akut geriatrik bakım ünitelerinin çeşitli sağlık sonuçları için tutarlı bir şekilde faydalı olduğu gösterilmiştir.

Overcash ve arkadaşlarının yaptığı 500 hastalık retrospektif bir çalışmada fonksiyonel durum değerlendirmesi ve mini mental bilişsel değerlendirmeden oluşan kısaltılmış geriatrik değerlendirme çizelgesi oluşturulmuştur.(10) Bu nedenle 65 yaş ve üstü her hasta için kendi kendine uygulanan basitleştirilmiş bir geriatrik değerlendirme (fizyolojik durum, yetersiz beslenme, depresyon/psikiyatrik durum, bilişsel fonksiyonlar, sosyal destek, aldığı ilaçlar ve komorbidite) yapılması hem tedaviye karar vermede yol gösterici hemde zamandan kazanç sağlamaktadır. İlk değerlendirmeden önce hastaya veya bakıcıya gönderilen bir ziyaret öncesi anketi, büyük miktarda bilgi toplamak için zaman kazandıran bir yöntem olabilir (tablo 1) . Bu anketler elektronik sağlık kayıtlarının güvenli portalları aracılığıyla da (Ülkemizde medulla sistemi gibi) doldurulabilir. Bu anketler tıbbi geçmiş, kullandığı ilaçlar, sosyal çevre hakkında bilgi toplamak için kullanılabilir.

	Sorular	Gösterge (Puanlama bireysel alanlara uygulanır)
Fonksiyonel durum		
Günlük yaşam aktiviteleri (GYA)	Banyo yapmak, giyinmek, tuvalet yapmak, transfer etmek, sürekliliği sağlamak, beslemek	Yardım olmadan tamamlamak mümkün; mümkün ama zorluk; yardım olmadan tamamlanamıyor
Destekle/aletle GYA	Telefonu kullanmak, alışveriş yapmak, yemek hazırlamak, ev işlerini yapmak, çamaşır yıkamak, toplu taşıma araçlarını kullanmak veya araba kullanmak, ilaç almak, mali işler kullanmak	Yardım olmadan tamamlamak mümkün; yardım olmadan tamamlanamıyor
Görme bozukluğu	televizyon izlemek, okumak veya günlük aktivitelerinizden herhangi birini yapmakta zorlanıyor musunuz	Evet ise Snellen göz şemasına bak
İşitme bozukluğu	Yaşınız 70 yaşından büyük mü?	1 puan
	Erkek cinsiyet	1 puan
	12 ya da daha az yıllık eğitiminiz var mı	1 puan
	Hiç duyma sorunu için doktora gittin mi?	2 puan
	Bir işitme cihazı olmadan, o kişi size odadan fısıldıyorsa, bir kişinin yüzünü görmeden ne söylediğini duyabiliyor ve anlıyor musunuz?	Hayır ise 1 puan
	Bir işitme cihazı olmadan, o kişi size normal bir sesle odanın diğer tarafından konuşursa, yüzünü görmeden bir insanın ne dediğini duyabilir ve anlayabilir misiniz?	Hayır ise 2 puan
		Evet ise 3 puan
İdrarını tutamamak	Nasıl tedavi edilebileceğini bilmek isteyecek kadar rahatsız edici idrar kaçırma (idrarınızı kaybetme) yaşadınız mı?	Evet ise pozitif ekran

Malnutrisyon/ Kilo kaybı	Geçen sene hiç kilo verdiniz mi Geçen sene kilo kaybettiniz mi?	Geçen yılki normal kilonun en az yüzde 5'inin kaybı pozitif ekran
Yürüme, denge, düşmeler	Son 12 ayda iki veya daha fazla kez mi düştün?	Herhangi bir evet cevabı pozitif ekran
	Son doktor ziyaretinizden bu yana düşüp kendini incittin mi?	
	Denge veya yürüme sorunları nedeniyle düşmekten korktunuz mu?	
Depresyon,Anksiyete, Distres	Geçtiğimiz iki hafta boyunca, ne sıklıkta rahatsız oldunuz?	Her biri için cevap puanı: 0: hiç değil 1: birkaç gün 2: Günlerin yarısından fazlası 3: hemen hemen her gün Toplam ≥ 3 , pozitif ekran
	Bir şeyler yapmak için küçük bir ilgi veya zevk?	
	Depresyonda ya da umutsuz hissetmek	
Kognitif problemler	Üç maddeli hatırlama	2'den azsa pozitif ekran
	Saat-çizim testi	Aşağıdaki hatalardan herhangi biri pozitif ekranı gösterir: yanlış zaman, el yok, eksik sayılar, sayı değişimleri, tekrarlama, reddetme
Çevresel problemler	Ev güvenliği kontrol listeleri, sigorta durumu,ulaşım, yardımcı desteği	

Yaşlı hastaların tıbbi değerlendirmesi bir doktor (genellikle bir geriatrilen), hemşire, Onkoloji doktoru veya doktor asistanı tarafından yapılabilir. Çekirdek ekip (geriatrilen, hemşire, sosyal hizmet uzmanı) kısa bir başlangıç değerlendirmesi veya tarama yapabilir. Bu değerlendirme sonrası gerekirse diğer uzmanlıkların değerlendirmesinde yapılabilir. Örneğin diyet alımını değerlendirmek ve beslenmeyi optimize etmek için bir diyetisyene ihtiyaç duyulabilir veya kolostomili yada dekübit ülserli hastanın

bakımını yapmak için Cerrahinin değerlendirmesi gerekebilir.

Onkoloji ile ilgili çok boyutlu geriatrik değerlendirme çizelgeleri geliştirilmiş. Burada onkolojik hikaye, fizik muayene, hastanın performans durumu, günlük yaşam aktivitesi, fonksiyonel durumu, sosyal desteği ve psikolojik durumu değerlendirilir. Bakılan bu değerlendirme ile hastanın yaşam beklentisi öngörüsü ve kemoterapi komplikasyonları için yüksek riskli hastalar saptanabilir.

KGD'den elde edilen bilgiler, yaşlı erişkin popülasyonda kemoterapi toksisitesini tahmin etmek için kemoterapi rejimi, hematolojik ve böbrek fonksiyonu, işitme bozukluğu ve kanser tipi gibi diğer bilgilerle de birleştirilerek (Yaş ≥ 72 yıl, Kanser tipi gastrointestinal veya genitoüriner, Kemoterapi dozu, Kemoterapi ilaçlarının sayısı, Hemogloblin <11 g / dL (erkek), <10 g / dL (kadın), Kreatinin klirensi <34 mL / dakika, İşitme, Son altı aydaki düşüş sayısı, İlaçların kullanımı, Fiziksel / duygusal sağlık nedeniyle azalan sosyal aktivite) kanser hastaları için değerlendirmeler yapılmış.

Kanser hastaları için en çok kullanılan geriatrik değerlendirmede hastalar 3 grupta incelenir.(12) Grup 1 hastalar sağlıklı, performansı iyi ve kimseye bağımlı olmayan hastalar, Grup 2 hastalar kısmı bağımlı olan, ek hastalıkları bulunan ve standart tedaviyi tolere edebilecek hastalar, Grup 3 hastalar tam bağımlılık gösteren 3 ten fazla ek hastalığı bulunan ve tedaviyi tolere edemeyecek olan hastalardır. Grup 1 ve 2 hastalar kemoterapi alabilirken, grup 3 hastalar –ki bu hastalar kırılgan hasta olarak tanımlanır-palyatif bakıma alınır, bu hastalara kemoterapi uygulanmaz Kırılganlık en sık olarak geç yaşamdaki fizyolojik düşüş sendromu olarak tanımlanır; Kırılgan yaşlı yetişkinler, akut hastalık ya da travma gibi strese maruz kalan genç yetişkinlere göre daha az uyum sağlayabilir. Bu artan güvenlik açığı, prosedürel komplikasyonlar, düşmeler, kurumsallaşma, sakatlık ve ölüm dahil olmak üzere çok sayıda olumsuz sonuç için riskin artmasına katkıda bulunur. Artan oranda yaşlı hastalarda kırılganlık, geriatrik sendromun belirleyici özelliğidir ve düşme, kırık, deliryum ve inkontinans dahil olmak üzere birçok geriatrik sendromun öncüsüdür. 85 yaş ve üzeri, herhangi bir günlük aktivitede bağımlı, üç ve üzeri komorbiditesi olan veya bir ve üzeri geriatrik sendromu bulunan hastalar 'kırılgandır'. Bu hastaların fonksiyonel rezervleri yoktur ve kanser tedavisi alamazlar.

Yaşlılarda kemoterapi ilaçlarının kullanımındaki farmakokinetik farklılıklar potansiyel olarak artmış toksisiteye katkıda bulunabilir. Böbrekler tarafından atılan ilaç dozajlarına özel dikkat gösterilmelidir. Dozajlar, serum kreatininine değil, hesaplanan kreatinin klirensine bağlı olarak değiştirilmelidir

En az komorbidite ve normale yakın fonksiyonel rezervi olan sağlıklı yaşlı hastalar için, özellikle potansiyel olarak iyileştirici ortamda, tam doz

kemoterapi dahil agresif tedavi verilebilir ve genç hastalardakine benzer sonuçlar alınabilir

Tek başına yaşlılık herhangi bir ilaç için kontrendikasyon durumu oluşturmaz. Çeşitli retrospektif çalışmalarda 70 yaş üstünde kemoterapinin beklendiği gibi toksik olmadığını göstermiş. Bu yüzdende yaş tek başına kriter değildir. 85 yaş üzeri için hastalarda yinede veriler çok azdır.

Sonuç

Tek başına kronolojik yaş, yaşlı erişkinlerde tedavi planındaki değişiklik veya ilaç dozunun bir göstergesi değildir. Renal fonksiyon normalse ve anlamlı bir komorbidite yoksa, çoğu kemoterapi ajanı tam dozlarda verilebilir. Bununla birlikte, ilaç toksisitesi komorbid koşullarla üst üste geldiğinde veya komplikasyonlara karşı artan bir duyarlılık olduğunda, doz modifikasyonları veya kullanılan ajanlardaki bir değişiklik sıklıkla gereklidir. Yaşlı popülasyonda kanser tedavisinde önemli farklılıklar olsa da, uygun önlemler alındığında genç hastalarda kullanılan aynı prensipler uygulanabilir. Komorbidite ve fonksiyonel bozuklukların yaygınlığı tedavinin başlamasından önce değerlendirilmeli ve genel tedavi planına dahil edilmelidir. Kapsamlı bir geriatrik değerlendirme kanser hastaları için özellikle faydalı olur.

Kaynakça

- 1-Kanser verileri:<https://www.saglik.gov.tr/Eklenti/8635,kanser-istatistikleri>
- 2-Lichtman SM.(2006). Therapy insight: Therapeutic challenges in the treatment of elderly cancer patients. *Nat Clin Pract Oncol* ; 3:86
- 3- Sawhney R, Sehl M, Naeim A.(2005) Physiologic aspects of aging: impact on cancer management and decision making, part I. *Cancer J*; 11:449
- 4- Scher KS, Hurria A.(2012) Under-representation of older adults in cancer registration trials: known problem, little progress. *J Clin Oncol*; 30:2036.
- 5- Yellen SB, Cella DF, Leslie WT.(1994). Age and clinical decision making in oncology patients. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86:1766.
- 6-Kenis C, Bron D, Libert Y, et al.(2013). Relevance of a systematic geriatric screening and assessment in older patients with cancer: results of a prospective multicentric study. *Ann Oncol*; 24:1306.
- 7-Balducci L, Extermann M.(2000). Management of cancer in the older person: a practical approach. *Oncologist* ; 5:224.
- 8-Repetto L, Fratino L, Audisio RA, et al.(2002) Comprehensive geriatric assessment adds information to Eastern Cooperative Oncology Group performance status in elderly cancer patients: an Italian Group for Geriatric Oncology Study. *J Clin Oncol* 2002; 20:494.
- 9- Extermann M, Aapro M, Bernabei R, et al.(2005) Use of comprehensive geriatric assessment in older cancer patients: recommendations from the task force on CGA of the International Society of Geriatric Oncology (SIOG). *Crit Rev Oncol Hematol*; 55:241.
- 10- Overcash JA, Beckstead J, Extermann M, Cobb S.(2005). The abbreviated comprehensive geriatric assessment (aCGA): a retrospective analysis. *Crit Rev Oncol Hematol*; 54:129
- 11-Bachmann S, Finger C, Huss A, et al.(2010). Inpatient rehabilitation specifically designed for geriatric patients: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*; 340:c1718.
- 12- Yaşlı hastalarda kanser kemoterapisi.(2008) *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi* 3-18.