

VOLUME

01

RJBB

RESEARCH JOURNAL OF
BIOMEDICAL AND
BIOTECHNOLOGY
2020

Number : 1 / August 2020

Research Journal of Biomedical and Biotechnology

Editör / Editor in Chief: Doç. Dr. Ali Güleç

Editör Yardımcısı / Assistant Editor: Dr. Öğr. Üyesi Hatice Akman

Editör Kurulu / Editorial Board

Doç.Dr. İsmail Şen, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Dr.Öğr.Üyesi Oktay İsmail Kaplan, Abdullah Gül Üniversitesi

Dr.Öğr.Üyesi Tuğba Sardohan Köseoğlu, Isparta Uygulamalı Bilimler
Üniversitesi

Dr. Pınar Deniz Tosun, Düzce Üniversitesi

Yazım ve Dil Editörü / Spelling and Language Editor

Arş. Gör. Aybüke Durgut, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



DANIŞMA KURULU / ADVISORY BOARD

- Prof.Dr. Osman Eroğul, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi
Prof.Dr. Ayşegül Öksüz, Süleyman Demirel Üniversitesi
Prof.Dr. Lütfi Öksüz, Süleyman Demirel Üniversitesi
Prof. Dr. Dilek Çökeliler Serdarođlu, Başkent Üniversitesi
Doç.Dr. Bora Garipcan, Boğaziçi Üniversitesi
Doç.Dr. Sinan Güven, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü
Doç.Dr.Ufuk Çelikkol Akçay, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Doç.Dr. Ali Akpek, Gebze Teknik Üniversitesi
Doç.Dr. Filiz Kuralay, Hacettepe Üniversitesi
Doç.Dr. Pınar Aslan Koşar, Süleyman Demirel Üniversitesi
Doç.Dr. Sadık Çođal, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Dr.Öğr.Üyesi Oktay İsmail Kaplan, Abdullah Gül Üniversitesi
Dr.Öğr.Üyesi Enver Güler, Atılım Üniversitesi
Dr.Öğr.Üyesi Uğur Burak Temel, Süleyman Demirel Üniversitesi



İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Araştırma Makaleleri / Research Articles

Yeni nesil bir nanokanal tasarımı ile yüksek verimli ve hedefe yönelik mikroakışkan hücre füzyonu platformlarının fabrikasyonu..... 1-9
Fabrication of Target Oriented High Yield Microfluidic Cell Fusion Platforms with a Novel Nanochannel Design
Ali Akpek

Elektrikli Lineer Aktüatörler ile Oluşturulan Yeni Nesil bir Elektromekanik Sistem Aracılığıyla TPR20/10 Doz Ölçümünün Gerçekleştirilmesi ve Standart Değerler ile Karşılaştırılması..... 10-19
Realization of TPR20/10 Dose Measurement by a Novel Electromechanical System Created with Electric Linear Actuator and Comparison with Standart Value
Doğan Esen, Gözde Yeşiltaş, Ali Akpek

Derlemeler / Review Articles

Recent Advances in 4D Bioprinting..... 20-23
4B Biyobaskı Çalışmalarında Güncel Yenilikler
Ali Akpek, Ayça Bal Öztürk, Emine Alarçin, Hüseyin Avcı, Meltem Avcı Adalı

Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretim Potansiyeli ve Biyoyararlılığı..... 24-32
Production Potential and Bioavailability of Medicinal and Aromatic Plants
Mücahit Varlı, Hilal Hancı, Gökçe Kalafat



Yeni Nesil bir Nanokanal Tasarımı ile Yüksek Verimli ve Hedefe Yönelik Mikroakışkan Hücre Füzyonu Platformlarının Fabrikasyonu

Ali Akpek^{1,2} 

¹ Gebze Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Gebze, Kocaeli

² Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Tuzla, İstanbul

e-posta: aliakpek@gtu.edu.tr

www.dergipark.org.tr/rjbb

Alınış Tarihi: 09/04/2020

Kabul Tarihi: 13/07/2020

Anahtar Kelimeler: Nanokanal Fabrikasyonu, Hücre Füzyonu, Mikroakışkan platform

Özet

Hücre füzyonu organ biyofabrikasyonu çalışmaları için hayati ehemmiyete sahiptir. Hücre füzyonu sayesinde zarar görmüş olan hücreler başka hücrelerle birleştirilerek işe yarar hücrelere dönüştürülebilir ve bozulmuş olan organ fonksiyonları düzeltilebilir. Hücre füzyonu araştırmaları noktasında son derece net bir ihtiyaç bulunsa da, hücre füzyonu teknolojileri hala fazlaca gelişmiş değildir. Bu çalışma yeni nesil bir nanokanal tasarımı sayesinde geliştirilmiş olan bir mikroakışkan hücre füzyonu platformu tasarımı üzerinde durmaktadır. Bu tasarım sayesinde hem hücrelerin daha kolay bir biçimde yönlendirilmesi hem de hücre canlılığına zarar vermeden daha rahat bir biçimde füzyona uğraması planlanmaktadır. Bu amaca ulaşmak için bir nanokanal ve bu nanokanalı ortadan dikey olarak ikiye ayıran birkaç nanometre kalınlığında bir bariyer üretilmiştir. Buna ilaveten bu bariyerin içerisinde belirli aralıklarla nanometre ölçeğinde boşluk yapıları oluşturulmuştur. Oluşturulmuş olan bu iki kanala L929 fare fibroblast hücreleri yerleştirilmiş ve bariyere AC voltaj uygulanmıştır. Bu bariyere voltaj uygulandıkça, oluşan elektriksel alan bariyer üzerindeki boşluklarda yoğunlaşmıştır. Hücreler nanokanallar içerisinde hidrostatik kuvvet ile yönlendirilmiştir. Elektriksel voltaj sayesinde oluşan dielektroforez ise hücreleri boşluklara yönlendirmiştir. Sonuç olarak hücre füzyonu işlemi gerçekleştirilmiş ve L929 fare fibroblast hücrelerinden oluşan füzyon hücreler üretilmiştir.

Fabrication of Target Oriented High Yield Microfluidic Cell Fusion Platforms with a Novel Nanochannel Design

www.dergipark.org.tr/rjbb

Received: 09/04/2020

Accepted: 13/07/2020

Keywords: Nanochannel Fabrication, Cell Fusion, Microfluidic Platform

Abstract

Cell fusion is vitally important for organ biofabrication. It possesses a possibility to be an alternative for restoring organ functions and replacing damaged cells. However, even there is a clear need for cell fusion, the cell fusion techniques are still not too much advanced. The study focuses on the fabrication of a new design microfluidic chip. This chip provides easiness in leading cells to desired pathways and to increase fusion yield without compromising cell viability. In order to achieve this mission, a nanochannel and a thin barrier which is in only few nanometers that divides the nanochannel into two different chambers were fabricated. In addition, this barrier had numerous nanoslit structures embedded onto it. L929 Mouse fibroblast were injected onto those chambers and then AC voltage applied to the channels. As the voltage applied, electric field distribution concentrates among those nanoslit structures. Hydrostatic force is used to manipulate cells into the channels and dielectrophoresis (DEP) was used to lead and keep cells into the nanoslit structures. Finally, cell fusion was initiated and fusants of L929 mouse fibroblast cells were generated.

1. Giriş

Hücre füzyonu son derece önemli bir hücresel işlemdir. Hücre füzyonu sayesinde çok sayıda tek çekirdekli hücre tek bir çok çekirdekli hücreye dönüştürülebilir [1-2].

Bu sayede hasar görmüş hücreler sağlıklı hücrelerle birleştirilerek tamir edilebilir ve bozulmuş olan organ fonksiyonları işler hale getirilebilir [3-4]. Bu durum hücre füzyonunu organ transplantasyonu için kayda değer bir alternatif haline getirmektedir [5]. Buna ek olarak hücre

füzyonu teknolojisi hibridoma üretilmesi konularında ya da somatik hücrelerin yeniden programlanması konularında fayda sağlayabilir [6-7]. Bu teknik sayesinde somatik hücreler embriyonik hücrelere dönüştürülebilir [8]. Bu durum ise sınırlı sayıda elde edebildiğimiz embriyonik hücreler gibi değerli hücreler için ciddi bir avantajdır. Her ne kadar hücre füzyonu konusunda son derece açık bir ihtiyaç ortada olsa da bu konuda gerçekleştirilmiş çalışmalar çok sınırlıdır. Bunun en önemli nedeni hücreleri arzu edildiği biçimde yönlendirmenin zor olması ve hücreleri bir araya getirerek füzyona uğratmanın teknik zorluklarıdır [9].

Füzyon hücreler oluşturmanın literatürde çok sayıda yolu vardır. Ancak elektriksel hücre füzyonunu gerçekleştirmek diğer metotlara nazaran biraz daha önde gelen bir metottur. Elektriksel hücre füzyonunun en önemli avantajı bu hücrelerin normal hücre fonksiyonlarına herhangi bir zarar vermemesidir. Biyolojik veya kimyasal metotlarda bu durum mümkün değildir [10].

Hücre füzyonu basit iki adımda gerçekleştirilir. İlk aşamada hücrelerin birbirlerine yönlendirilmeleri ve temas ettirilmeleri dielektroforez ile gerçekleştirilir. İkinci aşamada ise birbirlerine temas ettirilmiş olan hücrelerin hücre zarları bir akım darbesi ile delinir. Bu delinmiş hücre zarları aracılığı ile hücreler arasında sitoplazmik transfer gerçekleşir ve hücreler füzyona uğramış olur [11].

Son zamanlarda bazı araştırmacılar bu işlemi basitleştirmek ve süratlendirmek için mikroakışkan platformlar oluşturmuşlardır [12-13]. Bu çalışmalarda hidrodinamik kuvvet hücreleri arzu edilen istikametlere yönlendirmek ve neticesinde diğer hücrelerle bir araya getirmek için kullanılmıştır. Bazı çalışmalarda mikroakışkan kanallarda elektrot düzenekleri kullanıldığı zaman yüksek verimli hücre füzyonunun mümkün olduğu da gösterilmiştir [14-15].

Bu çalışmalar önemlidir ve yüksek verimli mikroakışkan hücre füzyonu platformu oluşturma açısından önemli basamaklardır ancak bu çalışmalarda temel sorun hala çözülememiştir. Birincisi farklı yarıçaplarda hücreler füzyona uğratılmak istendiği zaman füzyonun başarılı olma oranı çok düşüktür. Genel olarak hücrenin çapı, hücre zarını delmek için gerekli olan akım darbesinin gücü ile doğru orantılıdır. Büyük bir hücre için daha güçlü bir akım darbesi verildiğinde bu küçük çapa sahip olan hücrede çok ciddi bir darbeye neden olabilmekte ve hücre içinde sitoplazmik transfer oluşturmak yerine hücrenin ölmesine neden olmaktadır [11]. Bu durumda nihayetinde ciddi oranda hücre ölümlerine ve düşük füzyon oranlarına neden olmaktadır. İkinci sorun ise hücrelerin birebir eşleştirilmesi ve füzyona uğratılması meselesidir [12]. Hücre füzyonu büyük oranlarda gerçekleştirildiği zaman istenmeyen füzyon hücrelerde ortaya çıkabilmektedir. Hedeflenmediği halde aynı türden farklı hücreler ya da ikiden fazla hücrenin bir araya gelip füzyona uğraması mümkün olabilmektedir [16]. İşte bu çalışmanın amacı bu iki sorunu çözmektir.

Bu çalışmada ortaya konulan tasarımda oluşturulacak olan nanokanalların ortasına bir bariyer konmuş ve belirli aralıklarla bu bariyer yapısında boşluklar oluşturulmuştur. Bu bariyere elektriksel akım verildiğinde boşluklar sebebiyle akım darbesinin vereceği etkinin hücrenin çapı ile herhangi bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır. Bu durumunda

farklı hücrelerin birbirleri ile füzyona uğratılabilmesi açısından bir avantaj yarattığı anlamına gelmektedir. Bu sayede yüksek füzyon oranı ve minimum hücre ölümü elde edilmiştir.

Gerçekleştirilen bu tasarım sayesinde hidrodinamik kuvvet ve dielektroforez vasıtasıyla arzu edilen hücrelerin arzu edildiği gibi arzu edilen noktalara yönlendirilebilmesinin mümkün olduğu anlaşılmıştır. Bu durumun hedefe yönelik ve planlanmış füzyon hücreleri oluşturmak adına bir avantaj olduğu anlamına geldiği düşünülmektedir. Bu sayede istenmeyen ya da planlanmamış füzyon hücrelerin oluşturulmasına engel olunmuştur. Bunun hücre füzyonu çalışmaları için kayda değer bir adım olduğu düşünülmektedir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Yöntem

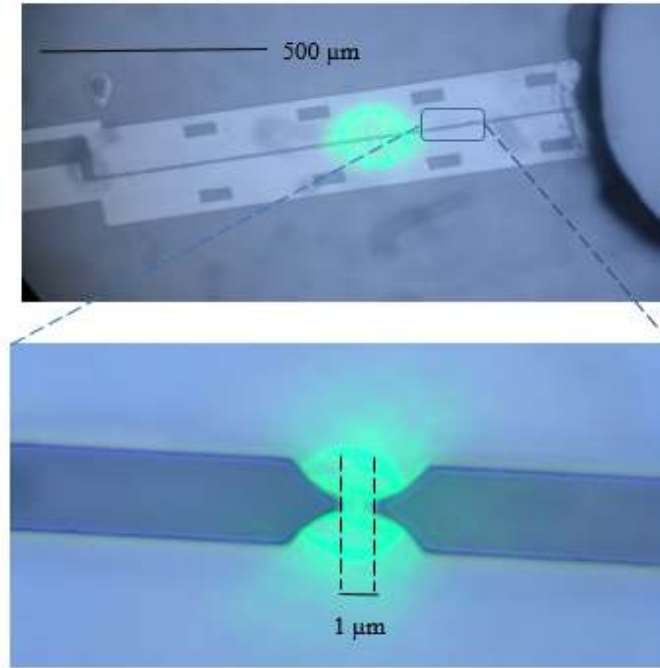
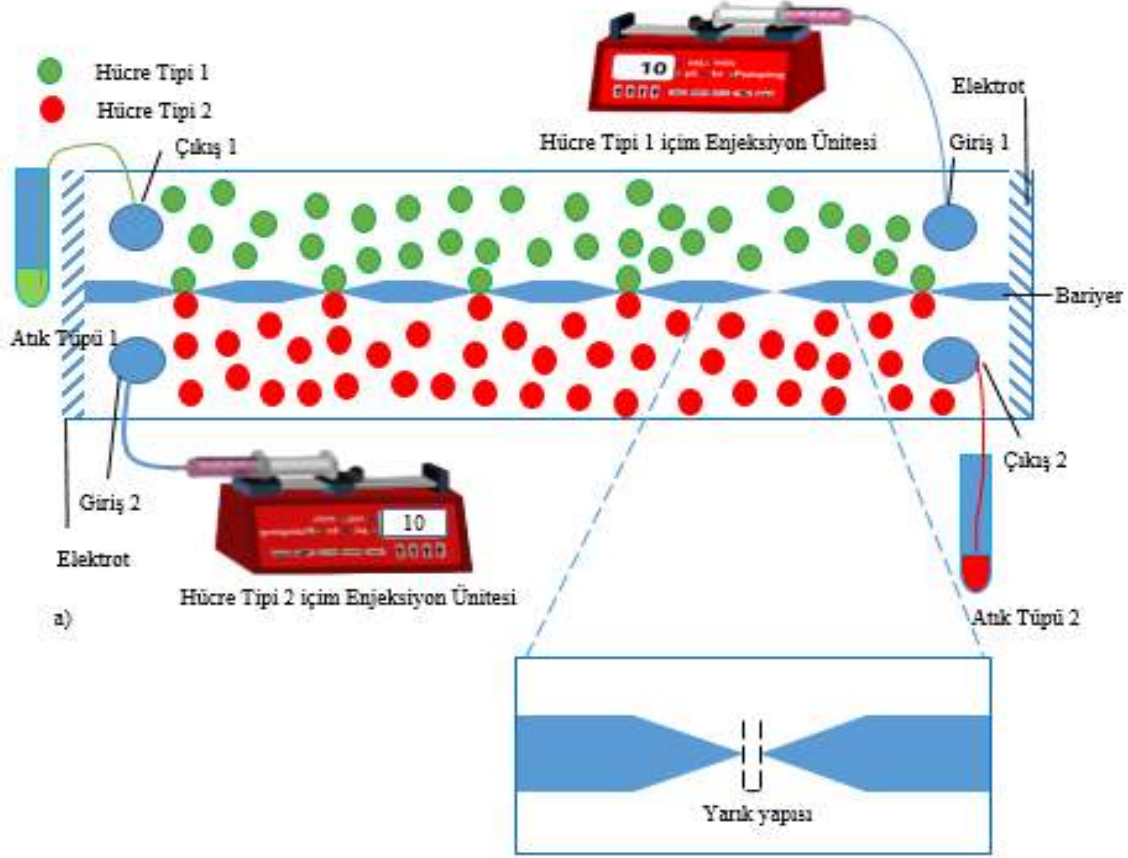
Tasarlanmış olan mikroakışkan hücre füzyonu platformu Şekil 1a'da gösterilmiştir. Üretim süreçlerine yönelik teknik çizimler Şekil 2'de sunulmuştur. Bu platformda iki adet nanokanal ve iki adet giriş yapısı vardır. Çalışma kapsamında nanokanal olarak ifade edilen yapı hücrelerin içerisinde hareket ettikleri kanal yapısıdır. Hücrelerin bir araya toplandıkları yerler boşluk ya da yarık olarak isimlendirilmiştir. Bu iki giriş noktasında iki farklı hücre tipi verilebilir. Bu çalışma kapsamında sadece bir adet hücre tipi kullanılmıştır. Ancak hücreler aynı tip hücreler olmakla birlikte özdeş değildir. Bütün hücreler 10µm ile 30µm arasında farklı farklı boyutlardadır. Bu zaten alınan görüntülerden de anlaşılabilir. İki nanokanalın ortasında bir bariyer yapısı mevcuttur. Şekil 1b'de üretilmiş olan mikroakışkan platform üzerinde bulunan bariyer üstündeki yarık yapıları gösterilmiştir. Bariyere voltaj verildiği zaman, oluşan elektriksel alan bariyerde bulunan boşluklarda yoğunlaşmaktadır. Bu sayede dielektroforez oluşmakta ve hücrelerin hedeflenmiş olan boşluklara yönlendirilmesi temin edilmektedir. Sonrasında da bir akım darbesi verilerek birbirleri ile temas etmiş olan hücrelerin zarlarında boşluklar oluşturulmakta ve hücreler arası sitoplazmik transfer temin edilerek füzyona uğramış hücrelerin oluşması temin edilmektedir.

2.2. Materyal

Füzyon deneyleri için L929 fare fibroblast hatları kullanılmıştır. Boyutları genel olarak 10µm ile 30 µm arasındadır. Hücreler DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) içerisinde kültür edilmiştir. DMEM yapısı 10% fetal sığır serumu ve penicillin-streptomycin ile desteklenmiştir. Monomoleküler tabaka hücre yoğunluğu %90'a ulaşınca değiştirilmiştir. Hücre füzyonu için tampon çözelti olması amacıyla da 0.5 mM Ca asetat, 1 mM Mg asetat, 0.5 mg/ml sığır serum albumin, karıştırılarak kullanılmıştır. Polydimethylsiloxane (PDMS), SU8 fotorezist, ve hücre için boyar madde (calcein-acetoxymethylester) deneyler esnasında kullanılmıştır. Bir CCDC kamera içeren bir ters mikroskop (IX-71, Olympus, Tokyo, Japan) deneyleri görüntülemek için kullanılmıştır.

Kullanılan objektif lensi UPlanApo 10X/0.4 Ph1 ve UPlanApo 40X/0.85 ∞ /0.11-0.23. Hücrelerin takip edilmesi için özel olarak herhangi bir boyar madde kullanılmamıştır. Bu düzenek hücreleri takip etmek için yeterli olmuştur. Sadece bir deneyde füzyon sonuçlarını daha net görüntüleyebilmek adına calcein kullanılmıştır (Dojindo Molecular Technologies, calcein-

acetoxymethylester, Kumamoto, Japan). Programlanabilir bir fonksiyon jeneratörü ihtiyaç duyulan elektriksel alanı oluşturabilmek için kullanılmıştır. Yüksek hızlı ve çift kutuplu bir yükselteç (WF 1974, NF Electronics, Kanagawa, Japan) aracılığı ile hücre füzyonu için gerekli olan akım darbesi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1. a) Mikroakışkan hücre füzyonu platformu,
b) Bariyer üstündeki yarık yapılar

2.3. Mikroakışkan Platform Üretimi

Mikroakışkan platform üretimi üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Kalıp hazırlanması, kalıbın düzenlenmesi ve PDMS dökümünün gerçekleştirilmesi. Kalıp bir spin kaplama cihazı aracılığı ile üretilmiştir. SU8 fotorezist silikon bir wafer üzerine yerleştirilmiş ve $50 \mu\text{m} \pm 10 \mu\text{m}$ olacak şekilde kalınlığı ayarlanmıştır. Sonrasında sırasıyla 75°C 'de 5 dakika ve 100°C 'de 7 dakika hafifçe ısıtılmıştır. Sonrasında hazırlanan kalıp UV ışınlarına maruz bırakılmıştır. Nihayetinde SU8 fotorezist kalıbı bir kere daha 75°C 'de 3 dakika ve 100°C 'de 5 dakika olacak şekilde ısıtılmıştır. Şekil 2'de bu süreç açıklanmıştır. Yarık yapılarının çapı $1 \mu\text{m}$ olarak ayarlanmıştır. Nano boyutun sınırlarına dayandığı için bu tasarım bir nano mimari çalışması olarak değerlendirilmiştir.

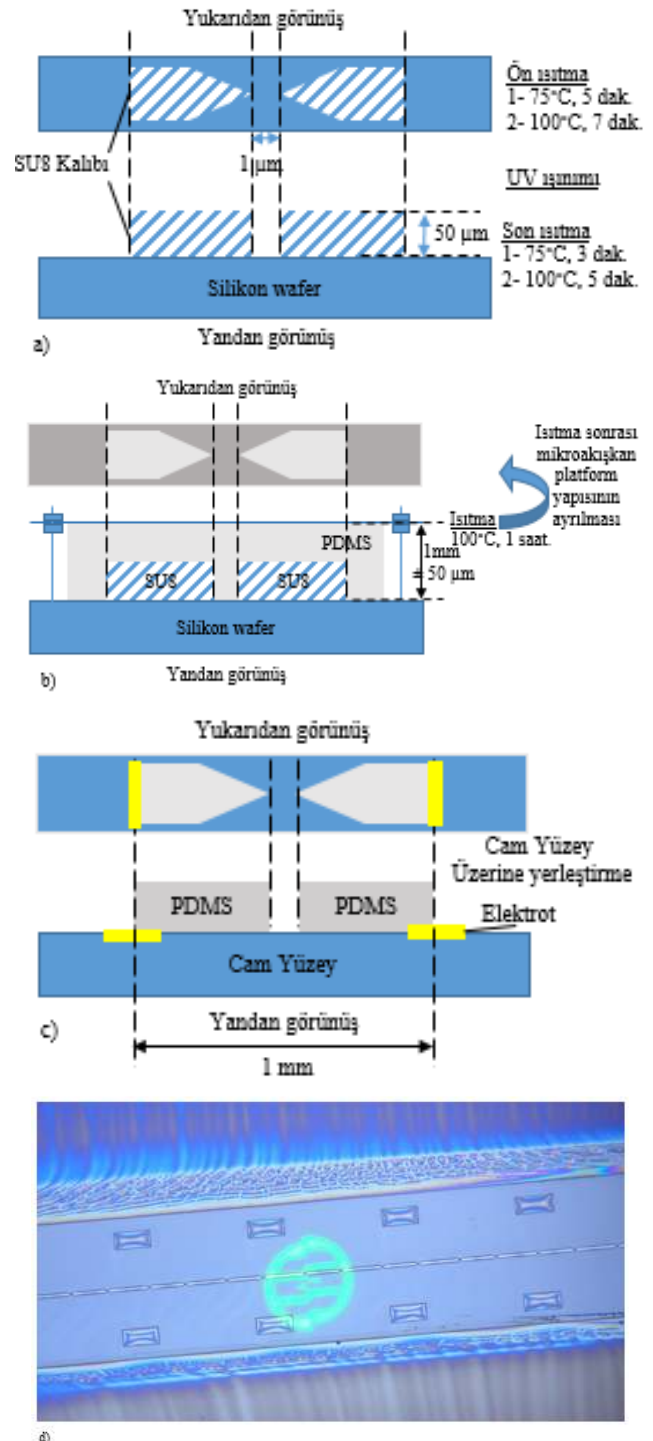
Yarığın bir mikronun altında olması amaçlanmıştır ki sitoplazma geçişi sonrasında füzyona uğrayan hücreler yarığı tıkayabilsin ve çok daha sağlıklı bir hücre füzyonu gerçekleşebilsin. Eğer yarık daha büyük olsaydı, bu durumda hücre duvarı sadece azıcık delinmekle kalmayacak, tamamen parçalanacaktı. Burada yarık çapı çok küçük tutulduğu için hücre duvarı delindikten sonra oluşan yarıktan sitoplazma geçişi sağlanmış ve sonrasında akım darbesi kesildikten sonra yarık çok küçük olduğu için hücre duvarı kendisini onarabilmiştir. Ancak bu olduğu zaman da hücreler yeni şekli ile tek bir hücre olarak şekilde birbirleri ile kaynaşmıştır. Buna da hücre füzyonu denmektedir.

Çalışma kapsamında hücreler arasında çekirdek geçişi amaçlanmamıştır. Bu çalışmada amaç bu değildir. Bu sebeple çekirdeğin geçemeyeceği bir büyüklük olan $1 \mu\text{m}$ genişlik yarık genişliği olarak bırakılmıştır. Eğer yarık genişliği daha büyük olsaydı, bu durumda hücre duvarı çok büyük delineceği için hücre her zaman hayatta kalamayacaktı. Bu hücre füzyonu çalışmalarında füzyon verimliliğinin düşmesinin en önemli nedenidir. Bu çalışmada ise tek tek hedeflenen bütün hücrelerin füzyona uğraması ve hedefe yönelik yüksek hücre füzyonu oranı hedeflenmiştir. Çalışmanın bu açıdan orijinal ve referans değerinde olduğu düşünülmektedir.

PDMS 1g kütleme ajanı ve 15g prepolimerin karıştırılması sonucu üretilmiştir. Ortaya çıkan PDMS 1 saat boyunca desikatör aracılığı ile gazdan arındırılmıştır. PDMS hazırlanan SU8 fotorezist kalıbına dökülmeden önce bir lam dört adet vida aracılığı ile SU8 fotorezist kalıbının üzerine yerleştirilmiştir. Bu vidaların kalınlığı 1 mm olarak ayarlanmıştır. Bu sayede PDMS döküldüğü zaman kalınlığının en fazla 1 mm olması temin edilmiştir. SU8 fotorezist üzerine yerleştirilen PDMS bir ısıtıcı aracılığı ile 100°C 'de 1 saat boyunca ısıtılmıştır. Sonrasında mikroakışkan platform haline gelmiş olan sertleşmiş PDMS sistemden ayrıştırılmıştır. Son olarak alüminyum elektrodların bağlandığı bir lam üretilmiş ve mikroakışkan hücre füzyonu platformu bu lamın üzerine yerleştirilmiştir. Elektrodların birbirinden uzaklığı 1 mm olarak belirlenmiştir. Bu durum Şekil 2c'de gösterilmiştir. Mikroakışkan hücre füzyonu platformunun son hali ise Şekil 2d'de gösterilmiştir.

2.4. Hücrelerin Yönlendirilmesi

Hücreler sisteme hazırlanan bir enjeksiyon ünitesi yardımıyla giriş yapmaktadır. Hücreler füzyon için hazırlanan tampon çözeltinin içerisine yerleştirilmiş ve toplam olarak 5 ml olacak biçimde hazırlanmıştır. Bu 5 ml lik hücre süspansiyonu $2500 \mu\text{l}$ 'lik iki bölüme ayrılmış ve sonrasında iki enjeksiyon ünitesi yardımıyla iki farklı kanaldan sisteme giriş yapmışlardır. Hücreleri içeren hücre süspansiyonu kanalları tamamıyla doldurduktan sonra daha fazla besleme gerçekleştirilmemiştir. Şekil 3'te gösterildiği



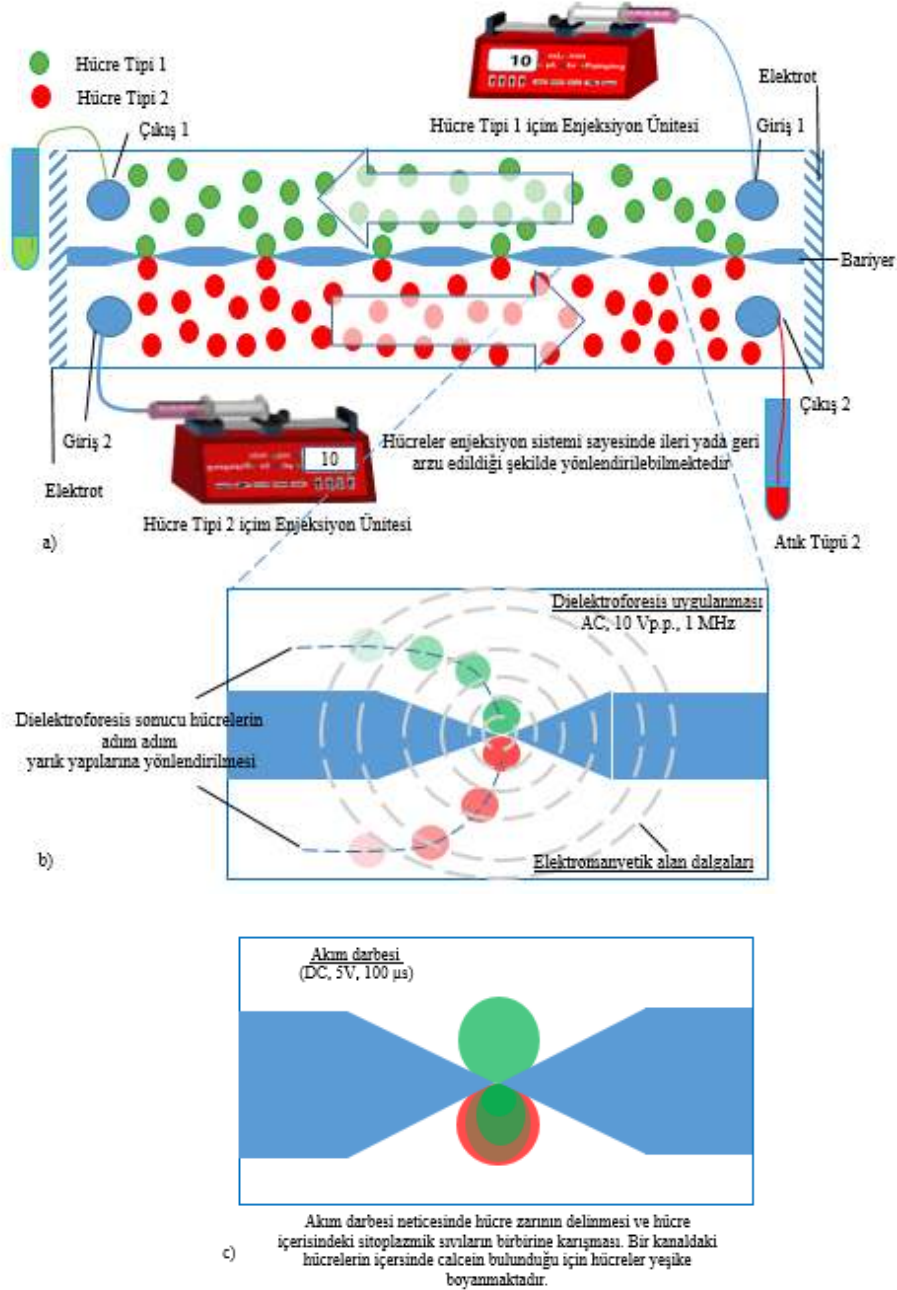
Şekil 2. a) SU8 kalıbının hazırlanması, b) PDMS yapısının SU8 kalıbının üzerine yerleştirilmesi ve sonrasında ayrılması, c) PDMS yapısının elektrot bulunan cam tabakaya yerleştirilmesi d) Mikroakışkan hücre füzyonu platformunun son hali

gibi sistem bir defa hücre süspansiyonu ile doldurulduktan sonra hücreler enjeksiyon ünitesi kontrol edilerek hidrostatik basınç sayesinde ileri ya da geri olacak şekilde arzu edildiği biçimde ve arzu edildiği süratte kontrol edilebilirler. Bu düzenek sayesinde hücrelerin yönlendirilmesi konusunda tam bir hakimiyet tesis edilmiştir.

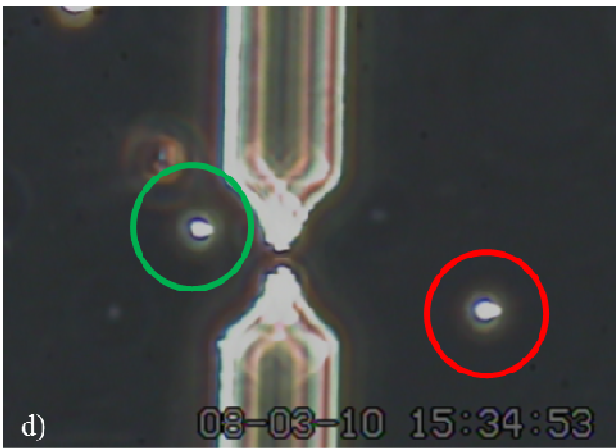
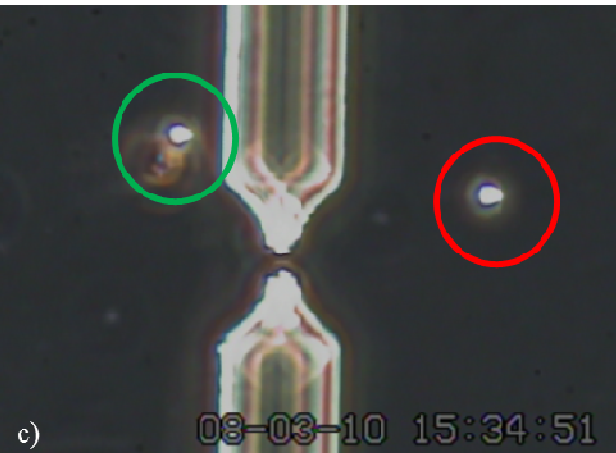
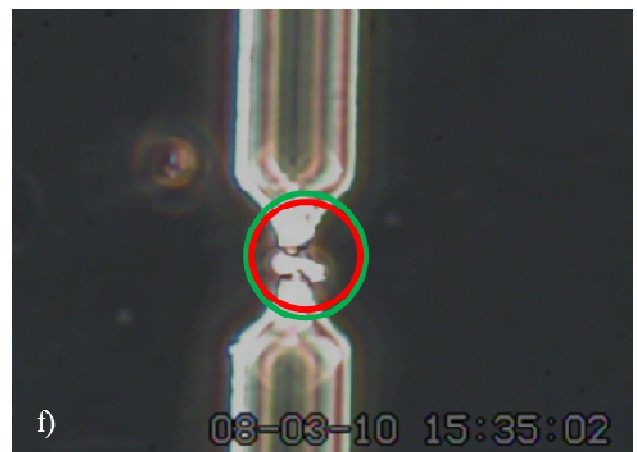
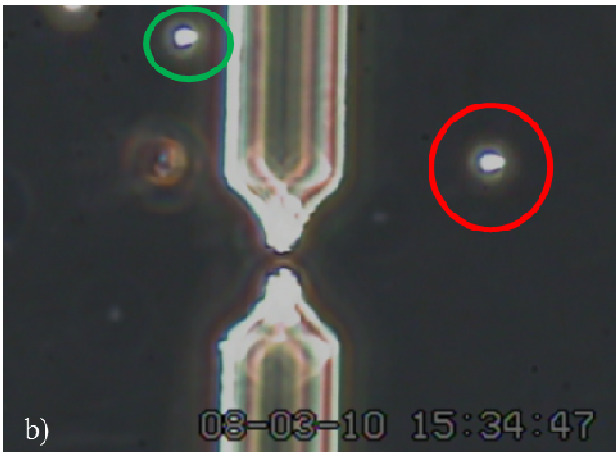
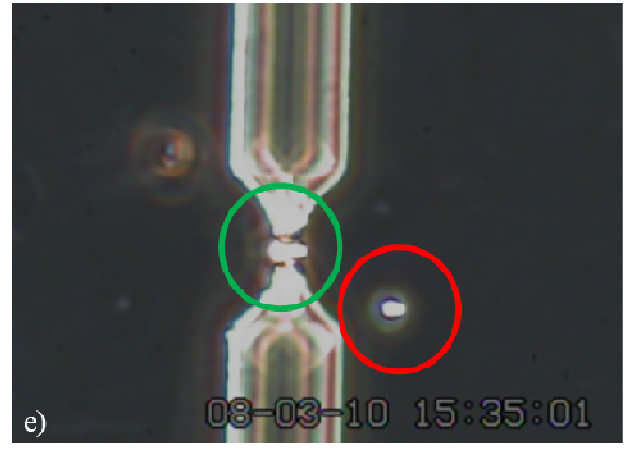
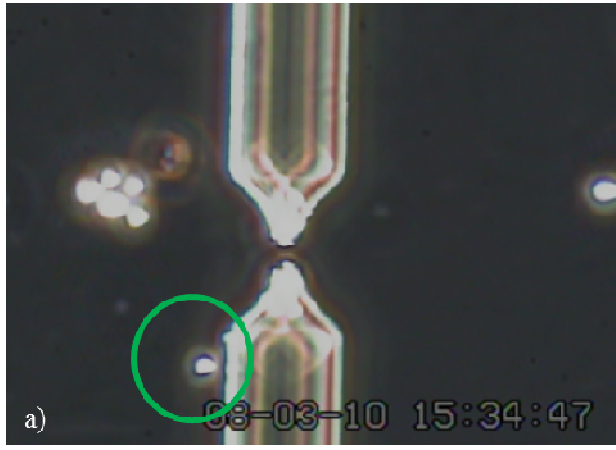
Sonrasında elektriksel alan uygulanmış (AC, 10 Vp.p., 1 MHz) ve hücreler arzu edilen boşluklara dielektroforez yardımıyla yönlendirilmiştir. Nihayetinde hedeflenmiş olan hücrelerin bir araya geldiğinden emin olunduktan sonra elektrostatik alan sona erdirilmiş ve akım darbesi (DC, 5V, 100 μ s) verilerek hücrelerin birbirleri ile füzyona uğraması temin edilmiştir. Sonrasında hücrelere on dakika

boyunca müdahale edilmemiştir. Şekil 4'de bu durum gösterilmiştir.

Hücrelerin nanokanal içerisinde toplandıkları gözlemlenebilir. Ancak tasarlanan bariyer içerisindeki yarıklar yapıları çok küçük olduğu için birden fazla hücrenin yarık üzerinde bulunabilmesi pratik olarak çok zayıf bir ihtimaldir. Gözlemlendiği kadarıyla da böyle bir durum mevcut değildir. Bu bağlamda bu kümelenmelerin yarık civarında toplanmış olmasının bir anlamı yoktur. Bunun deney sonuçlarına bir tesiri olmamıştır.



Şekil 3. a) Üretilen mikroakışkan hücre füzyonu platformunun hücre süspansiyonu ile doldurulduktan sonra enjeksiyon ünitesi kontrol edilerek hücrelerin ileri ya da geri hareket etmelerinin temin edilmesi, b) AC voltaj verilerek hücrelerin dielektroforez ile boşluk yapılarına doğru yönlendirilmeleri, elektromanyetik dalgalar boşluklarda yoğunlaşmaktadır, c) Bir araya gelen hücrelere DC voltaj verilmesi, hücre zarfının delinmesi ve hücreler arası sitoplazmik sıvıların birbirine karışması



Şekil 4. a, b, c) Bir enjeksiyon ünitesi yardımıyla hidrostatik kuvvet ortaya çıkartılması ve hücrelerin ileri veya geri yönlendirilmesi, d, e, f) Dielektroforez yardımıyla hücrelerin boşluk yapılarına doğru yönlendirilmeleri

3. Bulgular

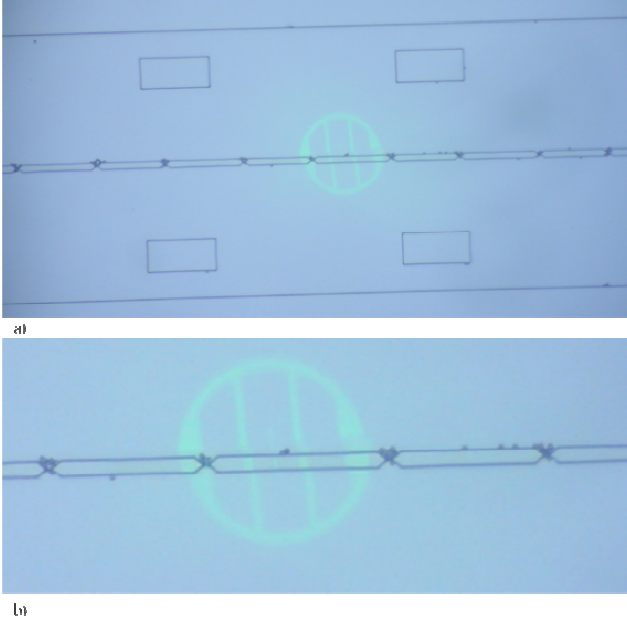
3.1. Hücre Füzyonunun Başarı Oranı

Hücrelerin birbirleri ile füzyona uğramalarındaki başarı oranı doğrudan doğruya mikroskop altında gerçekleştirilen gözlemlerden elde edilmiştir. Şekil 5 deney sonucunda birbirleri ile eşleşen hücreleri göstermektedir. Deney sonucunda hedeflenen hücrelerin %100 oranında yönlendirilerek birbirleri ile eşleştiği gözlemlenmiştir. Eşleştirilen hücrelerin de %95 oranında füzyona uğradıkları belirlenmiştir. Bu füzyon kabiliyeti benzer çalışmalarla kıyaslandığı zaman çok yüksektir.

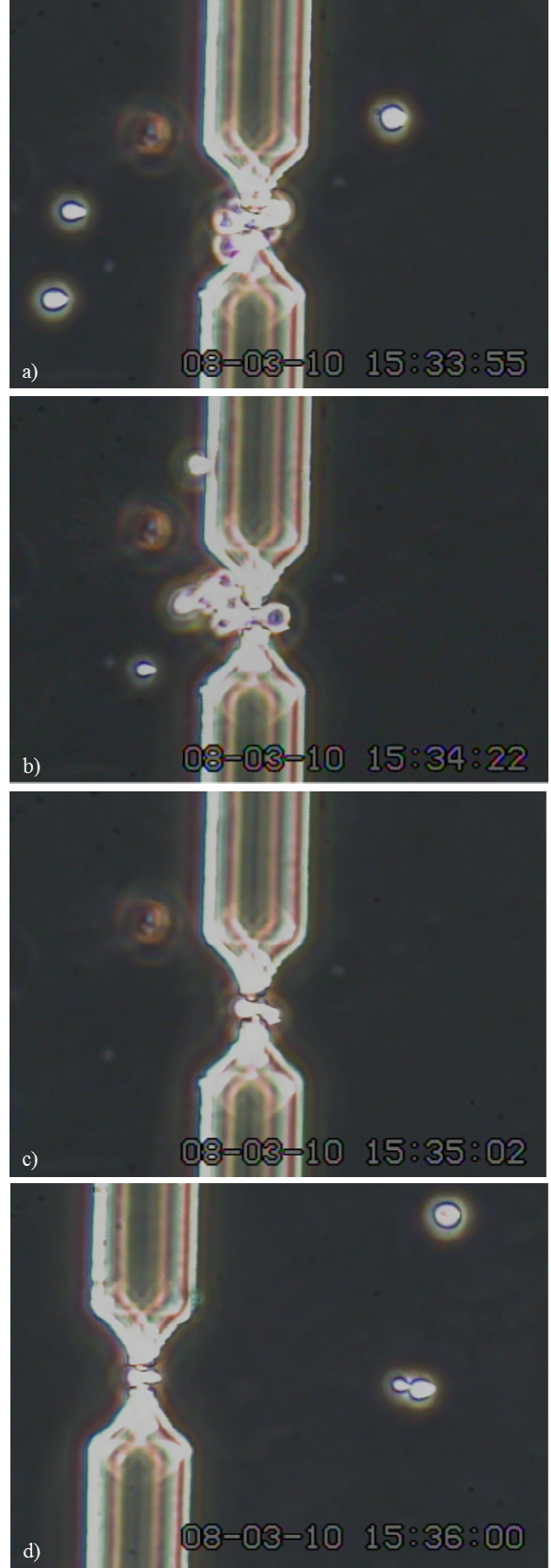
3.2. Füzyon

Deneyin başlangıcında enjeksiyon ünitelerinden bir tanesine calcein eklenmiştir. Bu sayede hücrelerde calcein ile boyanmıştır. Diğer enjeksiyon ünitesindeki hücelere ise herhangi bir boyar madde ilave edilmemiştir. Hücre füzyonu neticesinde hücrelerin içerisindeki sitoplazmik materyal iki hücreye de dağıldığı için hücrelerin ikisi de calcein ile boyanmıştır. Hücrelerin calcein ile boyanması hücre füzyonunun başarısını göstermektedir. Şekil 6 füzyona uğrayan hücreleri göstermektedir. Şekil 7 füzyon sonrası bütünleşmiş bir hücreyi göstermektedir. İki hücrede de calcein boyar maddeden kaynaklı olan yeşil renk

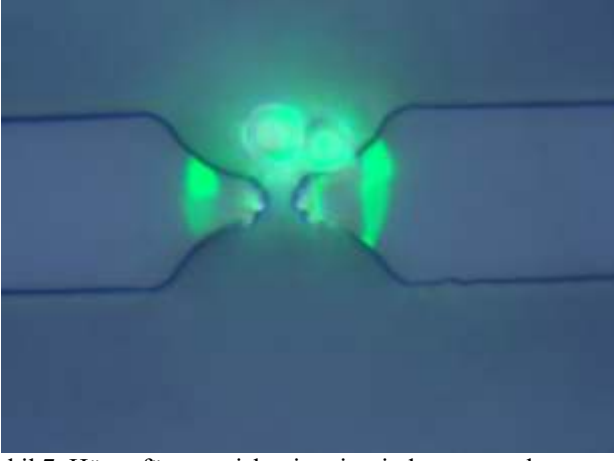
görülebilmektedir. Çalışma neticesinde hedeflenmiş olan hücreler arzu edildiği gibi bir araya getirilmiş ve arzu edildiği gibi füzyona uğramıştır. Çalışma sonrasında füzyona uğramış hücreler on dakika bekletilmiştir. Sonrasında ise PDMS Mikroakışkan hücre füzyonu platformu elektrotlardan ayrılmıştır. Boşluklarda birikmiş olan füzyona uğramış hücreler bu esnada birbirleri ile iyice kaynaştıkları için hareketsiz biçimde kalmaktadırlar. Bu nedenle hücrelerin PDMS platformun hareketi neticesinde dağılması ya da yer değiştirmesi oldukça az bir olasılıktır. Hücreler arasında oluşmuş olan boyun yapısının yeteri kadar sert olduğu kanaatine varılmıştır. Bu platform sonrasında bir petri tabağına yerleştirilmiş ve hücre besisi ortamı içerisinde füzyona uğramış hücrelerin çoğalması temin edilmiştir. Çalışmanın bu kısmı bir Sınıf II biyogüvenlik kabini içerisinde gerçekleştirilmiş ve steril koşullar temin edilmiştir. Sonrasında hücreler 37°C ve 1 atm basınç altında %20 CO₂ inkübatör kabin içerisine yerleştirilmiştir. Çalışmanın amacı hücrelerin kendi aralarında füzyona uğrama oranlarını arttırmak olduğu için hücre kültürü içerisindeki hücrelerin canlılık testleri gerçekleştirilmemiştir.



Şekil 5.a) Platform üzerinde bir araya gelmiş hücreler, b) yakından görünüş



Şekil 6. a, b, c, d) Platformun boşluklarında toplanmış füzyona uğrayan hücre yapıları



Şekil 7. Hücre füzyonu işlemi neticesinde ortaya çıkmış yeni füzyon hücre

4. Sonuç

Projenin amacı yeni nesil nanomimari ile yüksek verimli ve hedefe yönelik mikroakışkan hücre füzyonu platformu üretmektir. Bu amacı gerçekleştirmek için hidrostatik kuvvet ve dielektroforez teknolojilerinden faydalanılmış ve özel tasarlanmış bir bariyer yapısı sayesinde birbirlerinden farklı çaplarda da olsalar hücrelerin birbirleri ile başarılı bir biçimde füzyona uğramaları temin edilmiştir. Yine ortaya konulan tasarım sayesinde hedeflenmiş olan hücreler istenildiği gibi manipüle edilebilmiş ve istenilen noktada istenilen başka bir hücre ile füzyona uğraması temin edilebilmiştir. Bu özellikle istenmeyen füzyon hücrelerinin önüne geçilebilmesi adına önemli bir başarıdır. Çalışmanın çözmek istediği iki temel sorundan bir tanesi budur. Bu kapsamda %100 oranın da arzu edilen hücrelerin istenen yarığa yönlendirilmesi mümkün olmuş, %95 oranında da yarıklarda toplanmış olan bu hücrelerin füzyona uğraması temin edilmiştir. Bu ölçüde bir kontrol benzeri çalışmalarda gösterilememiştir.

Çözülmesi amaçlanan bir diğer temel sorunda farklı boyutlardaki hücrelerin füzyona uğramasındaki başarı oranını yükseltmektir. Çalışma kapsamında farklı hücre tipleri kullanılmamakla birlikte kullanılan hücreler geneli itibarı ile 10 mikron ile 30 mikron arasındadır. Bu hücrelerin farklı farklı ölçeklerde olduğu Şekil 4, Şekil 6 ve Şekil 7'de rahatlıkla görülebilir. Bu açıdan füzyona maruz bırakılan %100 ölçeğinde yönlendirilebilen ve %95 oranında füzyona uğrayabilen hücrelerin hemen hepsi birbirinden farklı yarıçaplara sahiptir. Aynı hücre tipinde olmakla birlikte özdeş değildir.

Bunun ötesinde mikroakışkan hücre füzyonu platformunun tasarımı ve çalışmanın yöntemide tamamen çalışmaya özgü olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan bütün biyolojik ve kimyasal ajanların oranları ve bütün elektriksel değerler optimize edilmiştir. Bu amaçla çalışma defalarca tekrar edilmiş ve en ideal değerler keşfedilmeye çalışılmıştır. Netice itibarı ile bu çalışmada belirtilmiş olan akım değerleri ve nanomimari tasarımları keşfedilmiştir. Bu sebeplerle çalışmanın alanında özgün olduğu ve yenilik getirdiği düşünülmektedir. Hücre füzyonu tekniği özellikle hücre mühendisliği çalışmalarında gittikçe artan bir öneme sahiptir. Bu durumunda çalışmanın önemini daha da

arttırdığı düşünülmektedir. Bunun ötesinde çalışmanın ayrıca Türkiye'de alanında öncü olarak gerçekleştirilen biyomedikal ve biyomühendislik çalışmalarını da güçlendireceği ön görülmektedir [17-26].

5. Kaynaklar

- [1] Ahkong QF., Fisher D., Tampion W., Lucy JA. (1975). Mechanisms of cell fusion. *Nature*, 253 (5488), 194.
- [2] Zimmermann U., Vienken J. (1982). Electric field-induced cell-to-cell fusion. *Journal of Membrane Biology*, 67 (1), 165-182.
- [3] Vassilopoulos G., Wang PR., Russell DW. (2003). Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature*, 422 (6934), 901.
- [4] Terada N., Hamazaki T., Oka M., Hoki M., Mastalerz DM., Nakano Y., Scott EW. (2002). Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, 416 (6880), 542.
- [5] Wang X., Willenbring H., Akkari Y., Torimaru Y., Foster M., Al-Dhalimy M., Grompe M. (2003). Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature*, 422 (6934), 897.
- [6] Carroll WL., Mendel E., Levy S. (1988). Hybridoma fusion cell lines contain an aberrant kappa transcript. *Molecular immunology*, 25 (10), 991-995.
- [7] Cowan CA., Atienza J., Melton DA., Eggen K. (2005). Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science*, 309 (5739), 1369-1373.
- [8] Tachibana M., Amato P., Sparman M., Gutierrez NM., Tippner-Hedges R., Ma H., Masterson K. (2013). Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell*, 153 (6), 1228-1238.
- [9] Köhler G., Milstein C. (1976). Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion. *European journal of immunology*, 6 (7), 511-519.
- [10] Chang DC. (1989). Cell poration and cell fusion using an oscillating electric field. *Biophysical journal*, 56 (4), 641-652.
- [11] Zimmermann U. (1986). Electrical breakdown, electropermeabilization and electrofusion. In *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 105, 175-256.
- [12] Skelley A., M., Kirak O., Suh H., Jaenisch R., Voldman J. (2009). Microfluidic control of cell pairing and fusion. *Nature methods*, 6(2), 147.
- [13] Wang J., Lu C. (2006). Microfluidic cell fusion under continuous direct current voltage. *Applied Physics Letters*, 89(23), 234102.
- [14] Hu N., Yang J., Yin ZQ., Ai Y., Qian S., Svir IB., Zheng XL. (2011). A high-throughput dielectrophoresis-based cell electrofusion microfluidic device. *Electrophoresis*, 32(18), 2488-2495.
- [15] Hu N., Yang J., Qian S., Joo SW., Zheng X. (2011). A cell electrofusion microfluidic device integrated with 3D thin-film microelectrode arrays. *Biomicrofluidics*, 5(3), 034121.
- [16] Kirschbaum M., Guernth-Marschner CR., Cherré S., de Pablo Peña A., Jaeger MS., Kroczeck RA. Duschl C. (2012). Highly controlled electrofusion of individually selected cells in dielectrophoretic field cages. *Lab on a Chip*, 12(3), 443-450.

- [17] Akpek A. (2019). Development of a heart assist device as a vibrational viscometer that estimates blood viscosity. *Journal of the Faculty of Engineering & Architecture of Gazi University*, 34 (1), 235-246.
- [18] Akpek A. (2018). Analysis of biocompatibility characteristics of stereolithography applied three dimensional (3D) bioprinted artificial heart valves, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University* 33(3), 929-938.
- [19] Çiftçioğlu, Ç., Koçak, O., Akpek, A. (2015). Remote control of centrifuge and injection systems via MATLAB and ARDUINO. *Medical Technologies National Conference (TIPTEKNO) (1-4)*. IEEE.
- [20] Akpek, A. (2016). Effect of non-uniform temperature field in viscosity measurement. *Journal of Visualization*, 19(2), 291-299.
- [21] Bulut, S., Özçınar, A., Çiftçioğlu, Ç., Akpek, A. (2015). A new algorithm for segmentation and fracture detection in X-ray images. *Medical Technologies National Conference (TIPTEKNO) (1-4)*. IEEE.
- [22] Akpek, A., Youn, C., Kagawa, T. (2013). Temperature measurement control problem of vibrational viscometers considering heat generation and heat transfer effect of oscillators. *9th Asian Control Conference (ASCC) (1-6)*. IEEE.
- [23] Koçak, O., Kurtuldu, H., Akpek, A., Koçoğlu, A., Eroğul, O. (2016). A medical waste management model for public private partnership hospitals. *Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO) (1-4)*. IEEE.
- [24] Altinsu, B., Koçak, O., & Akpek, A. (2016). Design and analysis of an autoclave simulation using MATLAB/Simulink. *Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO) (1-4)*. IEEE.
- [25] Akpek, A. (2017). Effect of Ambient Temperature Variations on Particle Dimensions in Ultrasonic Nebulizers during Cold Vaporization. *Advances in Science, Technology and Engineering Systems Journal*, 2(3), 946-950.
- [26] Ugar, T., Kogak, O., Akpek, A. (2016). New concept design of an insulin pen for visually impaired or blind diabetus mellitus patients. *Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO) (1-4)*. IEEE.

Elektrikli Linear Aktüatörler ile Oluşturulan Yeni Nesil bir Elektromekanik Sistem Aracılığıyla TPR_{20/10} Doz Ölçümünün Gerçekleştirilmesi ve Standart Değerler ile Karşılaştırılması

Doğan Esen¹ , Gözde Yeşiltas² , Ali Akpek^{2,3,*} 

¹*İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği ABD, İstanbul.*
e-posta: dogan.esen85@gmail.com

²*Gebze Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kocaeli*
e-posta: gyesiltas@gtu.edu.tr

³*Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Tuzla*
*Sorumlu yazar e-posta: aliakpek@gtu.edu.tr

www.dergipark.org.tr/rjbb
Alınış Tarihi: 10/04/2020
Kabul Tarihi: 13/07/2020

Anahtar Kelimeler: 6 MV foton enerjisi; 18 MV foton enerjisi; Aktüatör; Linear hızlandırıcı; İyon odası; X ışını

Özet

Bu çalışmada elektrikli linear aktüatör ve arduino programlanabilir kart aracılığıyla elektromekanik bir sistem tasarlanmıştır. Tasarlanan bu düzenek aracılığıyla, hasta tedavisinde kullanılan linear hızlandırıcı cihazının farklı enerji değerlerinde (6 MV ve 18 MV) sonuçları alınmıştır ve yapılan ölçümlerin sonuçları, TPR_{20/10} 'un sonuçları ile karşılaştırılarak ölçüm sisteminin daha etkin ve sürekli kullanılmasına olanak sağlanması amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçların doğruluğunu kontrol edebilmek için, ölçüm detektörü olan 0.13 cc'lik iyon odası ve dose 1 elektrometre kullanılmıştır. 10 cm ve 20 cm derinlikte her bir enerji için 20 defa bu ölçümler alınmış ve ortalama değer olarak en yakın 5 sonuç tablo haline getirilerek, kıyaslamalar yapılmıştır. Elde edilen değerlerin uluslararası kabul gören 6 MV ve 18 MV foton enerjileri için olan değerler ile karşılaştırılmış ve %2' lik hata payının altında olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda alınan sonuçların, standart kullanılan ölçüm sistemleriyle yakın değerlerde olması, kurulumu basit ve kullanımı kolay olması bu sistemin radyoterapi ünitelerinde günlük, aylık ve yıllık kontrol ölçümlerinde ve klinik uygulamalar için de kullanılabilmesi düşüncesini oluşturmuştur.

Realization of TPR_{20/10} Dose Measurement by a Novel Electromechanical System Created with Electric Linear Actuator and Comparison with Standart Values

www.dergipark.org.tr/rjbb
Received: 10/04/2020
Accepted: 13/07/2020

Keywords: 6 MV photon energy; 18 MV photon energy; Actuator; Ion chamber; X-ray

Abstract

In this study, an electromechanical system was designed with electric linear actuator and an arduino programmable card. By means of this designed system, the measurements of the different values (6 MV and 18 MV) of the linear accelerator device used in patient treatment were obtained. The results of the measurements are compared with the results of TPR_{20/10}, and it is aimed to provide a more effective and continuous use of the measurement system. In order to check the accuracy of the results, 0.13 cc ion chamber and dose 1 electrometer were used. The measurements were taken 20 times for each energy level at 10 cm, 20 cm depth and the surface center and the closest 5 results were tabulated as the average value. The obtained values were compared with the values of 6 MV and 18 MV photon energies which are accepted internationally and it was found that the error rate is below 2%. It was thought that the results obtained in the study were close to the standard measurement systems that used, and the installation was simple and easy to use, and it was thought that this system could be used easily in daily, monthly and annual control measurements in radiotherapy units. It is also thought to be used for clinical applications.

1. Giriş

Radyasyon birçok amaçla tanı ve tedavi de tercih edilen yöntemlerin başında gelmektedir. Ayrıca radyasyon tedavisi (radyoterapi), kanser tedavisinde cerrahi müdahale ve kemoterapi ile birlikte üç ana tedavi yönteminden birisi pozisyonundadır [1]. Radyoterapi ile tedavide başlıca amaç; belirlenen tümör yapısında, sağlıklı dokuya en az zarar vermek ve aynı zamanda belirlenmiş tümör bölgesini tamamen kapsamaktır. Bunu yaparken de uluslararası kabul görmüş doz değerleri baz alınarak doğruluğu kesin olarak belirlenmiş radyasyon değerleri hastaya verilmeli ve böylece kanserli doku içinde bulunan hastalıklı yapının metastazı durdurulmalıdır [2, 3]. Radyoterapi alanında farklı radyasyon çeşitleri kullanılmaktadır. Bunlar yapılarına göre; elektromanyetik radyasyon (X-ışınları, γ -ışınları) ve parçacık şeklindeki radyasyonlar (elektronlar, protonlar ve nötronlar) olmak üzere ikiye ayrılırlar [4]. Radyoterapi ile tedavide çoğunlukla malign (kötü huylu) hastalıklar tedavi edilirken, az sayıda da benign (iyi huylu) hastalıklar tedavi edilmektedir [2, 3]. Yüksek teknolojiye sahip radyoterapi cihazlarının kullanımı, kanser tedavilerinde son derece faydalı olmakla beraber hala çeşitli istenmeyen durumların ortaya çıkabilme riski bulunmaktadır. İyonize radyasyon tedavisinde ise bu istenmeyen durumların riskini ortadan kaldırmak için kalite güvence programlarının oluşturulması ve uluslararası düzenlemelere uyulması çok önemli bir yer tutmaktadır [5].

Radyoterapide, iyonize radyasyon kaynaklarının hepsinde monitör iyon odası bulunmaktadır. Lineer hızlandırıcılar da iyonize radyasyon üreten ve radyoterapide sıklıkla kullanılan cihazlardır. Yüksek teknolojiye sahip bir cihaz kullanmak, iyi ve kusursuz bir radyoterapi uygulaması için garanti değildir. Yeterli destek cihazları, eğitim ve öğretim ile yetiştirilmiş bilgili personel ve disiplinli bir yöntem radyasyon kazalarını önlemede esastır.

Monitör iyon odası için yapılan performans testi sonuçları tolerans dışı olması halinde, cihaz ölümcül sonuçlara yol açabilmektedir. Bilinen ilk radyasyon kazası 1974 yılında Amerika'da Kosta Rika'nın başkenti San José'deki San Juan de Dios Hastanesi'nde Co-60 radyoterapi cihazı değiştirildikten sonra radyasyon kazası meydana gelmiştir. Cihaz kalibre edilirken doz hızının %50-60 daha düşük olacak şekilde hesaplanması gerekirken hastalara verilmesi gerekenden çok daha yüksek dozlar, daha uzun sürelerde uygulanmıştır. Bir ay boyunca tedavi gören toplam 115 hasta yüksek doza maruz kalmıştır. Bu hastaların 42'si dokuz ay içinde yüksek doz verilmesinden dolayı hayatını kaybetmiştir. Hasta dosyalarından yapılan değerlendirmeler sonucunda birçok hastanın ya yüksek dozdan öldüğü ya da ölümünde yüksek doz verilmesinin büyük katkısı olduğu saptanmıştır [2, 6].

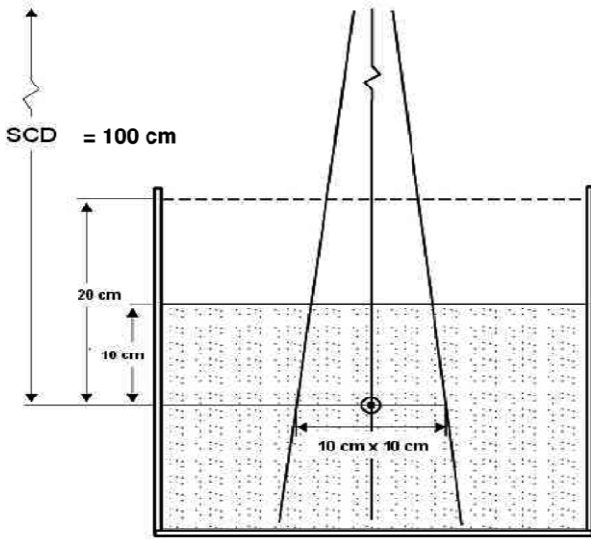
Üç boyutlu radyoterapi çalışmaları için bilgisayarlı tomografi, pozitron emisyon tomografisi-bilgisayarlı tomografi (PET CT) ve manyetik rezonans (MR) görüntüleme ile hastanın anatomisi üç boyutlu olarak modellenebilir ve üç boyutlu olarak modellemeye ile belirlenen tümör hacmi ile sağlıklı doku arasındaki ilişki net bir şekilde ortaya konulabilme avantajı sunar. Bu sayede hastanın korunması gereken sağlıklı dokusu ile yok edilmesi

istenilen tümörlü dokunun alanları kesin hatları ile belirlenmektedir. Diğer taraftan doğrusal hızlandırıcı modellerinde bulunan bilgisayar destekli çoklu yapraklı kolimatörler aracılığıyla tümör tedavisi için verilen doz dağılımı belirlenebilir ve şekillendirilebilir. Ayrıca, hastaya verilen ışının yoğunluğu ve miktarı bilgisayar destekli çoklu yapraklı kolimatörler ile ayarlanabilmektedir. Bu hassas hesaplamalar sayesinde hasta mümkün olan minimum doz miktarında radyasyon alarak, mümkün olduğunca sağlıklı dokuya hasar vermeden tedavi edilmeye çalışılmaktadır [7].

Radyoterapi sık olarak eksternal (harici) ve internal (dahili) olarak uygulanabilmektedir. Bazı hastalıklarda nadir olarak sistemik radyasyon da uygulanabilir. Sistemik radyasyon tedavisi, radyoaktif iyot gibi kanser hücrelerini öldürmek için kanda dolaşan radyoaktif maddelerin kullanıldığı uygulama çeşididir [8]. Harici radyoterapi ise en sık kullanılan radyoterapi şekli olup, hastalıklı bölgeye radyasyon ışın kaynağı olan bir cihaz yardımıyla dışarıdan verilmektedir. Harici radyoterapi uygulamasında, hedef tümör hacminin, tedavi uygulanacak toplam hacmin ve dozun tanımlanması, "The International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU)" tarafından 1978'de yayınlanan rapor 29, 1993'de yayınlanan rapor 50 ve 1999'da yayınlanan rapor 62 ile belirlenmiştir [9]. Üç boyutlu (3-D) konformal radyoterapi; tümörde olabilecek en hassas ve en yüksek dozun elde edilmesini sağlayan ve tümöre komşu organlarda olabilecek en düşük dozun elde edilmesini sağlayan bilgisayar destekli modern bir radyoterapi teknolojisidir. Bu sayede 2 boyutlu (2-D) tedavi planlamalarının eksikliklerini üç boyutlu (3-D) konformal radyoterapi tamamen ortadan kaldırmaktadır. Karmaşık bir teknoloji olması sebebiyle de çok basamaklı yoğun bir çalışmayı bünyesinde barındırmaktadır. Cihazlarda ortaya çıkabilecek ve zamanında tespit edilemeyen kullanıcı hataları, teknik aksaklıklar ya da en çok karşılaşılan kalibrasyon hataları orta ve hatta kısa vadelerde dahi hastaların hayatlarını riske atabilmektedir. Bu nedenle cihazların mümkün olan en yüksek sıklıkla kalibrasyona tabi tutulmaları çok önemlidir [9, 10].

Bu amaçla üç boyutlu konformal radyoterapi için kullanılan en kritik ünite doğrusal hızlandırıcılardır. Kalite kontrolünü temin edebilmek adına birçok marka ve modelde su fantomu üretilmiştir ve bu su fantomlarının amacı doğrusal hızlandırıcıların kalibrasyonlarını sağlamaktır. İnsan dokusuna eşdeğer sonuçlar elde edebilmek için tasarlanmıştır ve insan dokusuyla eş değer sonuçlar elde edebilmek amacıyla sıvı olarak insan vücudunun %70'e yakın içeriği su olduğu için ölçümler genelde su kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Ancak ne yazık ki kullanılan bu ölçüm fantomları fiyatları bakımından son derece maliyetlidir, onkoloji servisindeki diğer bütün çalışmaları engelleyecek kadar fiziksel boyutları bakımından büyüktür. Tüm bu dezavantajlarının yanında ayrıca kullanımının zorluğu da bir problem oluşturmaktadır. Bu nedenle doğrusal hızlandırıcıların kalibrasyonu ve kalite kontrolü çok uzun zaman alabilmektedir [11].

Lineer aktüatör sistemler ve arduino kullanılarak geliştirilmiş çalışmalar literatürde oldukça fazladır [12, 13, 14]. Ancak bu ekipmanlar kullanılarak lineer hızlandırıcı cihazlar için geliştirilmiş bir doz ölçüm cihazının üretilmesinin bir örneğine rastlanılmamıştır.



Şekil 1. TPR_{20,10}'un belirlenmesi için deneysel kurulum [15].

Yüzde derinlik dozu (PDD), doku fantom oranı (TPR), doku maksimum oranı (TMR), doku hava oranı (TAR) ve geri saçılma faktörü (BSF) gibi adlandırılan birkaç radyasyon dozimetrisi miktarı vardır. TPR, dokudaki derinlikli dozdaki değişimi tarif etmek için kullanılan bir parametredir [15, 16]. Bu durum Şekil 1'de gösterilmiştir. Bu miktarın farklı alan büyüklükleri için elde edilen dotalar genellikle tek bir radyoterapi departmanında referans değeri olarak kullanılır. Elde edilen dotalar genellikle, belirli bir alandaki derinlik ve alan büyüklüğünün bir fonksiyonu olarak tablo halinde gösterilmektedir. Tablo haline getirilen verilerin çoğu, tüm bu dozimetri miktarları ampirik olarak tespit edilebilmesine rağmen, alan merkezi ekseninin ölçülen PDD'sinden hesaplanmaktadır [17]. TPD değerlerine dayanan eş merkezli ışın kullanarak, PDD biçimindeki ölçülen radyasyon ışını verilerinden ziyade monitör birimi başına dozu hesaplamak genellikle uygun bir yöntemdir. TPR, iki doz oranından hesaplanabilmektedir ve formülü aşağıda gösterildiği gibidir:

$$TPR = D_d / D_{ref}$$

D_{ref} , merkezi bir eksen üzerinde sabit bir referans derinliğinde belirli bir referans noktasındaki doz değerini göstermektedir. D_d , TPR değerinin isteğe bağlı bir derinlikte ölçülen doz miktarıdır [18]. Referans noktası genellikle kaynaktan eksen mesafesine (SCD) 100 cm olarak tanımlanır ve D_{ref} herhangi bir derinlikte seçilebilir ama genellikle 10 cm olarak tercih edilir [18, 19]. Her ne kadar TPR verileri, bunları yüzde derinlik dozundan türetmektedir fakat bu durum ile ilgili belirsizlikleri önlemek için doğrudan ölçülebilse de, pratikte, genellikle PDD eğrilerinden dönüştürülmektedir. Çünkü PDD'yi sabit bir kaynaktan yüzey mesafesine ölçmek uygun bir yöntemdir. Bunun nedeni, birçok su tankı sisteminin, odayı sabit bir SSD'de bırakırken suyun derinliğini doğru bir şekilde değiştirme kabiliyetine sahip olmamasıdır [23].

Bu çalışmada elektrikli lineer aküatör ve arduino programlanabilir kart aracılığıyla elektromekanik bir sistem tasarlanmıştır. Tasarlanan bu düzenek aracılığıyla, hasta tedavisinde kullanılan lineer hızlandırıcı cihazının farklı enerji değerlerinde (6 MV ve 18 MV) sonuçları alınmıştır

ve yapılan ölçümlerin sonuçları, TPR 20/10'un sonuçları ile karşılaştırılarak ölçüm sisteminin daha etkin ve sürekli kullanılmasına olanak sağlanması amaçlanmıştır. Baka bir ifade ile şu an için kullanılan ve ciddi dezavantajlara sahip büyük ve pahalı su fantomları yerine aynı kalibrasyon kabiliyetine sahip alternatif bir mekanizma geliştirilmeye çalışılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Yapılan çalışmada, Varian marka lineer hızlandırıcı kullanılmış ve bu cihazdan elde edilen 6 MV ve 18 MV foton enerji değerleri ile çalışılmıştır. Ayrıca, lineer hızlandırıcının dışında, su terazisi, programlanabilir elektronik kart (Arduino programlanabilir kart) ve güç kaynağı kullanılmıştır. Ölçüm işlemlerini gerçekleştirmek için ise iyon odası ve dozimetre kullanılmıştır. Bu sistemlerin hassasiyet ve doğruluğunun tespiti, analiz için çok önemlidir. O yüzden de bu cihazların kalibrasyonları ilgili kurumlarca, ölçümler işlemleri gerçekleşmeden önce yaptırılmıştır. İnsan vücudunun yaklaşık olarak %70'i su olduğu için çalışmada sıvı olarak su tercih edilmiştir ve çalışmada doku eşdeğeri olarak kullanılmıştır. Normal şartlarda bu enerjilerin kalite kontrolü son derece pahalı ve zor kullanıma sahip su ya da katı fantomlar aracılığıyla ölçülebilmektedir [21, 22].

Hastalara verilecek olan radyasyonun doz içeriğini ölçmek için hastaların üzerinde ölçüm yapılması mümkün değildir, bu sebeple dokuya eşdeğer su fantomlarıyla ölçümler ve kalibrasyonlar yapılması gerekmektedir. Buradan elde edilecek sonuçlar bilgisayar kontrollü planlama sistemine aktarılır ve gerçek hasta üzerine verilecek olan radyasyon dozu belirlenmektedir. Bu sistemler sayesinde hasta üzerine hangi bölgeye ne kadar doz verileceği yüksek hassasiyetle hesaplanır [11].

2.1. İyon Odası Performans Testleri

Lineer hızlandırıcı için kalite kontrol testleri mekanik ve dozimetrik testler olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır. Bu testler için belirlenen sınırlamalar ve yapıma sıklıkları (AAPM), The International Electrotechnical Commission (IEC) gibi uluslararası kuruluşlar ve çeşitli yayınlar tarafından bildirilmektedir. Burada amaç kalite testlerinin, kalite kontrol araçları, insan gücü ve hasta potansiyeli göz önünde bulundurularak optimum sıklıkta yapılabilmesini sağlamaktır. Medikal lineer hızlandırıcılarda günlük, aylık ve yıllık dozimetrik kalite temini için gerekli testler, toleranslar ve yapıma sıklıkları **Tablo 1**'de verilmiştir.

Bu çalışmada, oluşturulan düzenek klinikte kullanılan lineer hızlandırıcı radyoterapi cihazında bulunan tedavi masası üzerine yerleştirilmiştir. Sistemin hassasiyet ile ilgili gerekli lazer ayarları, SSD (kaynak cilt mesafesi) ayarları ve su terazisinin ayarları hassas su terazisi ile gerçekleştirilmiştir. Ölçüm sistemi düzeneği, lineer hızlandırıcının merkez eksenine, çapraz tellerin merkez ekseninin iz düşümüne karşılık gelecek şekilde hazırlanmıştır. Ölçüm verileri elde etmek için iyon odası, tasarlanan sistemin iyon odası tutucu mekanizmasına yerleştirilmiştir. Lineer hızlandırıcının enerjisi 6 MV ve 18 MV foton olarak iki farklı şekilde ayarlanarak tedavi doz oranı 300 MU/dak hızında 100MU doz olarak verilmiştir. Her bir enerji için 10 cm ve 20 cm

derinliklerde ölçümler alınmıştır. Alınan bu ölçüm sonuçları tablo haline getirilmiştir ve sonuçlar standart protokol değerleriyle karşılaştırılmıştır.

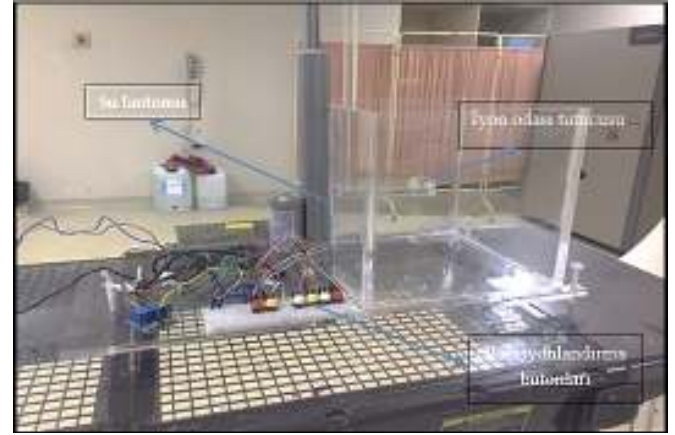
değişmeden yukarı aşağı hareket edebilmektedir. Bu durum Şekil 4 ve Şekil 5'te gösterilmiştir

Tablo 1. Medikal lineer hızlandırıcılarda günlük, aylık, yıllık dozimetrik kalite temini tablosu

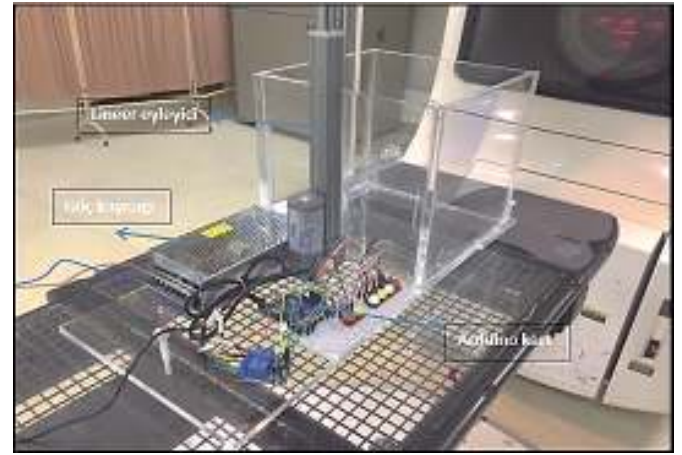
Sıklık	İşlem	Tolerans (±) Yüzde
Günlük dozimetri	X-ışını verimi kalibrasyonu	3
	Elektron verim kalibrasyonu	3
	X-ışını ve elektron verim değişmezliği	3
Aylık dozimetri	X-ışını verimi kalibrasyonu	3
	Elektron verim kalibrasyonu	3
	X-ışını ışın düzgünlüğü ve simetrisi	3
	Elektron ışın düzgünlüğü ve simetrisi	3
Yıllık dozimetri	X-ışını verimi kalibrasyonu	3
	Elektron verim kalibrasyonu	3
	X-ışını ışın düzgünlüğü ve simetrisi	3
	Elektron ışın düzgünlüğü ve simetrisi	3
	Monitör doğrusalığı	1
	Son Etki	<1 MU

İyon odası tutucusu hareketi için doğrusal aktüatör, pozisyon kontrolü için arduino kart, aktüatör motor voltajı için güç kaynağı ve kontrol butonları uygun şekilde konumlandırılmıştır. Bu durum Şekil 2 ve Şekil 3'te gösterilmiştir.

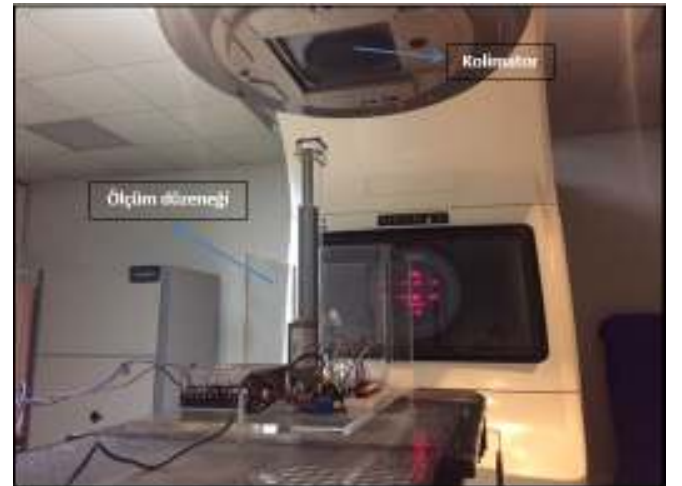
Ölçüm sistemi tedavi masası üzerine yerleştirildikten sonra, lineer hızlandırıcı çapraz telleri ve merkezi belirlemek amacıyla kullanılan lazerler ile ölçüm sistemi tek bir hizaya getirilmiştir. Lineer hızlandırıcının alan lambası ile ölçüm düzeneğinin merkezi birbiri üzerine oturtularak merkez eşleşmesi yapılmıştır. Bu şekilde ölçüm düzeneğinin içinde bulunacak olan iyon odası tek bir hizada olabilecek ve



Şekil 2. Kullanılan eyleyicinin pozisyonlandırılması için gerekli butonlar



Şekil 3. Ölçüm sisteminin ayrıntılı gösterimi



Şekil 4. Ölçüm sisteminin çapraz teller referans alınarak merkezlenerek yerleştirilmesi



Şekil 5. Oluşturulan sistemin tedavi masasına lateral yerleşimi

2.2. Demet Kalitesi (TPR_{20/10}'un belirlenmesi):

Ölçüm düzenegi, su yüzeyi SSD (kaynak cilt mesafesi) 100 cm olacak şekilde ayarlanmıştır. Kolimatörde alan genişliği eş merkezde 10 cm x 10 cm olacak şekilde ayarlanmıştır. Ölçüm alabilmek için düzenek önce 10 cm aşağı sonra 20 cm aşağı indirilmiştir. 300 MU/da doz hızında 100MU'luk ışınlamalar gönderilerek ölçümler alınmıştır. IAEA (Uluslararası Atom Enerjisi Kurumu) TRS 398 protokolüne göre yüksek enerjili foton demetlerinde suda soğurulan doz tayini için referans koşulları; fantom materyali olan su, silindirik iyon odası ve referans yükseklikler (her enerji için farklı derinlik) göz önünde bulundurularak ayarlanmıştır. Ölçüm alınırken, iyon odasının referans noktası, merkezi eksen üzerinde kavite hacminin merkezinde olacak şekilde ayarlanmıştır.

2.3. Yapılan Ölçümler İçin Referans Değerleri

Tablo 2'de TRS 398 protokolüne göre 6 MV için Referans ölçümü değerleri gösterilmiştir.

2.4. Yapılan Ölçümler ve Değerleri

Kullanılan ölçüm sisteminde, iyon odası, oluşturulan fantomun içine lineer hızlandırıcı sisteminde bulunan çapraz teller yardımıyla merkezlenerek yerleştirilmiş ve dose 1 elektrometreye bağlanmıştır ve elektrometre devreye sokulmuştur. Oluşturulan ölçüm fantomu tedavi masasının üzerine yerleştirilmiş, merkezleme yapabilmek için tedavi odasında bulunan lazerler kullanılmıştır. Sistemin içi insan doku eşdeğeri olarak kabul edilen su ile doldurulmuş ve merkezi sıfır noktası olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu merkezi sıfır noktası, sistemde bulunan arduino kartın programına yazılmıştır. Ayrıca, kod sistemi sayesinde hafıza butonlarıyla merkez hafızaya kaydedilmiştir. Daha sonra iyon odası yine sistemde bulunan hafıza butonları ile sırasıyla 10 cm ve 20 cm derinliğe indirilip bu seviyelerde de ölçümler gerçekleştirilmiş ve yine sistemde bulunan farklı hafıza bölgelerine ölçüm sonuçları kaydedilmiştir.

Tablo 2. TRS 398 protokolüne göre 6MV referans ölçümü

Radyoterapi cihazı ve referans koşulları	
Nominal doz hızı	300 MU/dak
Referans fantomu	Su
Referans alan	10 x10 cm x cm
Referans derinlik	10.0 g/cm ²
Nominal hızlandırma potansiyeli	6 MV
Demet kalitesi (TPR _{20/10})	0.677
Kurulum	SSD
Referans mesafe	100 cm

Yukarıda bulunan parametrelere göre oluşturulan düzenek ölçüm alınacak şekilde ayarlanmıştır.

Tablo 3'de TRS 398 protokolüne göre 18 MV referans ölçümü değerleri gösterilmiştir.

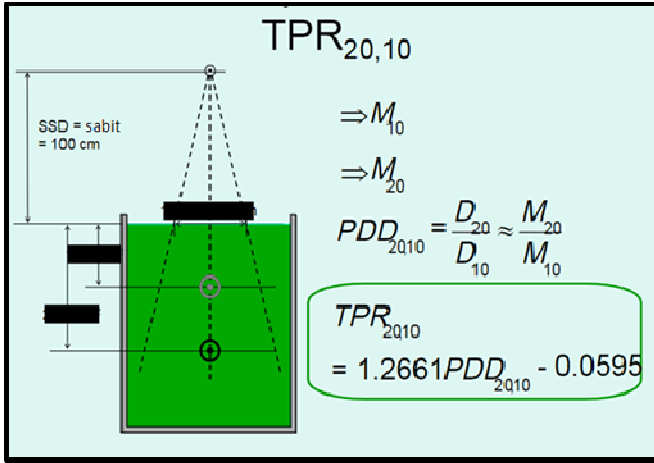
Tablo 3. TRS 398 protokolüne göre 18 MV referans ölçümü

Radyoterapi cihazı ve referans koşulları	
Nominal doz hızı	300 MU/dak
Referans fantomu	Su
Referans alan	10x10 cmxcm
Referans derinlik	10.0 g/cm ²
Nominal hızlandırma potansiyeli	18MV
Demet kalitesi (TPR _{20/10})	0.775
Kurulum	SSD
Referans mesafe	100 cm

Yukarıda bulunan parametrelere göre oluşturulan düzenek ölçüm alınacak şekilde ayarlanmıştır.

Sistem hareket ettirilerek iyon odasının kaydedilen set değerlerine gidip gitmediği kontrol edilmiştir. Ardından iyon odası tekrar sıfır noktasına çekilmiş ve ölçüme hazır hale getirilmiştir. Lineer hızlandırıcı tedavi cihazının gerekli yapılandırma ayarlarını yaparak önce foton 6 ve daha sonrasında foton 18 için her bir enerji değeri ile 100 MU doz verilerek ölçümler alınmış ve sonuçların ölçüm tablosu çıkarılmıştır. Sırasıyla önce foton 6 MV için yüzey alanında, 10 cm derinlikte ve 20 cm derinlikte ölçümler alınmıştır. Alınan bu ölçüm sonuçları tablo haline getirilmiştir. Sonra aynı ölçüm foton 18 MV için yüzey merkezinde, 10 cm derinlikte ve 20 cm derinlikte olacak şekilde tekrar edilmiştir. Her bir enerji için 20 defa bu ölçümler tekrarlanmıştır fakat ortalama değer olarak en yakın 5 sonuç tablo haline getirilerek referans değerleri ile karşılaştırılmıştır. Burada $TPR_{20/10}$ parametresi $10 \times 10 \text{ cm}^2$ alan için, 100 cm sabit kaynak-detektör mesafesinde ve merkezi ışın eksenindeki suda 10 cm ve 20 cm derinlik değerlerinde ölçümler alınarak, değerler belirlenmiştir.

$TPR_{20/10}$ değeri $PDD_{20/10}$ değeri ile bağlantılıdır ve bu bağlantı Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. $TPR_{20/10}$ için kaynak mesafesi, derinlik ve alan boyutu

$$TPR_{20/10} = 1,2661 \times DD_{20/10} - 0,0595$$

$TPR_{20/10}$ değeri ve $PDD_{20/10}$ değeri arasındaki bağlantı ile $TPR_{20/10}$ değeri hesaplanabilmektedir.

2.5. Oluşturulan Sistem ile 6 MV Doz Ölçüm

Tablo 4'te oluşturulan sistem ile 6 MV doz ölçümü ile elde edilen sonuçlar gösterilmiştir. Hesaplamalarda 6MV için $TPR_{20/10}$ referans değeri 0.677 olarak kabul edilmiştir. **Tablo 5**'te 6 MV için referans değerleri ile kıyaslanmasından sonra hata oranları tablosu gösterilmiştir

$TPR_{20/10}$ ve $PDD_{20/10}$ değerleri arasındaki bağlantı ve $DD_{20/10}$ ölçümünden elde edilen sonuçlar ile $TPR_{20/10}$ değerleri hesaplanmıştır. **Tablo 4**'te, oluşturulan sistem ile elde edilen ölçüm değerleri ve hesaplanan $TPR_{20/10}$ değerleri gösterilmiştir. **Tablo 5**'de 6 MV foton enerjisi için uluslararası kabul gören değerler ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır ve elde edilen değerlerin %2'lik bir hata

payının altında olduğu belirlenmiştir. Hata hesabı için kullanılan formül aşağıda gösterildiği gibidir;

$$(\text{Hesaplanan } TPR_{20/10} / \text{Ref } TPR_{20/10}) \times 100$$

Bu formül temel alınarak 6MV enerjisi için hesaplanan hata oranları **Tablo 5**'de gösterilmiştir. Tabloda da görülebileceği üzere referans sonuçları ile karşılaştırıldığında gözlemlenen en büyük hata oranı %0.89 olmuştur. Gerçekleştirilen beş ölçüm sonucunda ortalama hata oranı ise %0.30 olarak hesaplanmıştır. Bu uluslararası ölçüm standartlarının kabul ettiği hata oranı olan %2'nin çok altında bir hata oranıdır [23].

2.6. Oluşturulan Sistem ile 18 MV Doz Ölçüm

Tablo 6'da oluşturulan sistem ile 18 MV doz ölçümü ve elde edilen sonuçlar gösterilmiştir. 18 MV için $TPR_{20/10}$ referans değeri 0.775 olarak kabul edilmiştir.

Tablo 7'de 18 MV için referans değerleri ile kıyaslanmasından sonra hata oranları tablosu gösterilmiştir.

$TPR_{20/10}$ ve $PDD_{20/10}$ değerleri arasındaki bağlantı ile $DD_{20/10}$ ölçümünden $TPR_{20/10}$ değerleri hesaplanmıştır. **Tablo 6**'da, oluşturulan sistem ile elde edilen ölçüm değerleri gösterilmektedir. **Tablo 7**'de ise 18MV foton enerjisi için uluslararası olarak kabul gören değerler karşılaştırılmış ve elde edilen değerlerin %2'lik bir hata payının altında olduğu belirlenmiştir.

$$(\text{Hesaplanan } TPR_{20/10} / \text{Ref } TPR_{20/10}) \times 100$$

Hata hesabı ölçümlerinde yukarıdaki formül kullanılmış ve hata oranları hesaplanmıştır.

Bu formül temel alınarak 18 MV enerjisi için hesaplanan hata oranları **Tablo 7**'de gösterilmiştir. Tabloda da görülebileceği üzere referans sonuçları ile elde edilen değerler karşılaştırıldığında, en büyük hata oranı %1.03 olarak bulunmuştur. Gerçekleştirilen beş ölçüm sonucunda belirlenen ortalama hata oranı ise %0.38 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4. Oluşturulan sistem ile 6MV doz ölçümü elde edilen sonuçlar

	DD10(Gy)	DD20(Gy)	DD _{20/10}	TPR _{20/10}
1.ölçüm	66.95/100	38.92/100	0.581	0.676
2.ölçüm	67.2/100	38.95/100	0.580	0.674
3.ölçüm	66.8/100	39/100	0.583	0.678
4.ölçüm	67.58/100	38.98/100	0.577	0.671
5.ölçüm	67/100	39.15/100	0.584	0.679
Ortalama	67.106/100	39/100	0.581	0.675

Tablo 5. 6 MV için referans değerleri ile kıyaslanmasından sonra hata oranları tablosu

	TPR _{20/10}	Ref TPR _{20/10} ile oranı	Hata oranı (%)
1.ölçüm	0.676	99.85	0.15
2.ölçüm	0.674	99.55	0.45
3.ölçüm	0.678	100.14	0.14
4.ölçüm	0.671	99.11	0.89
5.ölçüm	0.679	100.29	0.29
Ortalama	0.675	99.70	0.30

Tablo 6. Oluşturulan sistem ile 18 MV doz ölçümü ve elde edilen sonuçlar

	DD10	DD20	DD _{20/10}	TPR _{20/10}
1.ölçüm	77.2/100	51.1/100	0.6619	0.778
2.ölçüm	77.13/100	51/100	0.6612	0.777
3.ölçüm	77.3/100	50.8/100	0.657	0.772
4.ölçüm	76.9/100	51.23/100	0.666	0.783
5.ölçüm	76.93/100	50.95/100	0.662	0.778
Ortalama	77.092/100	51.016/100	0.661	0.777

Tablo 7. 18 MV için referans değerleri ile kıyaslanmasından sonra hata oranları tablosu

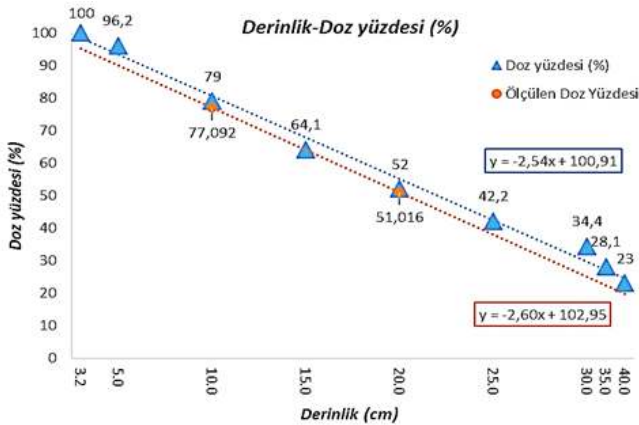
	TPR _{20/10}	Ref TPR _{20/10} ile oranı	Hata oranı (%)
1.ölçüm	0.778	100.38	0.38
2.ölçüm	0.777	100.25	0.25
3.ölçüm	0.772	99.61	0.39
4.ölçüm	0.783	101.03	1.03
5.ölçüm	0.778	100.38	0.38
Ortalama	0.778	100.38	0.38

3. Sonuç

Kanser tedavisinde, tümörü sonlandırabilecek nihai bir sonuca ulaşabilmek için tedavide kullanılan lineer hızlandırıcıların ışın karakteristiklerinin kesin ve net bir biçimde belirlenmesi ve doz miktarının hassas bir şekilde hesaplanması büyük bir önem taşımaktadır. Bu durum da ancak gerekli ve belirli protokoller doğrultusunda yapılan kalibrasyon ölçümleri ile mümkün olabilmektedir. Bu protokollerin uygulanması esnasında kullanılan dozimetrik ekipmanın hassasiyeti, doğruluğu, kurulum ve kullanım kolaylığı bu cihazların geliştirilmesinde en önemli parametrelerin başında gelmektedir. Sistemin güvenilirliği ve doğru dozun belirlenmesi ancak bu şekilde sağlanabilmektedir.

Bu amaçla geliştirilen mekanik düzeneğin protokollere uygunluğu, kurulum ve kullanım kolaylığı, doğru konumlandırılabilme kapasitesi ve doğru bir ölçüm sonucu temin edebilme konuları incelenmiş, elde edilen sonuçlar standart protokollerle karşılaştırılarak hata oranları hesaplanmış ve elde edilen hata oranının uluslararası protokollere göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmada kullanılan mekanik düzenek yardımıyla, iyon odası ve elektrometre ile gerçekleştirilen ölçümler sayesinde 6MV ve 18 MV gibi farklı foton enerjileri için değerler elde edilmiştir. Bu ölçüm değerleri **Tablo 4** ve **Tablo 6**'da gösterilmektedir. Bu ölçüm sonuçları baz alınarak referans değerleri ile karşılaştırılmış ve hata oranları hesaplanmıştır. Hata ölçüm tabloları da **Tablo 5** ve **Tablo 7**'de verilmiştir.



Şekil 7. 6 MV foton enerjisi için 10 cm² alanda derinliğe bağlı derin doz eğrisi ile ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması

Şekil 7 ve Şekil 8'te ise bu karşılaştırma grafikler üzerinden daha belirgin olarak gösterilmiş ve yorumlanabilmektedir. Şekil 7'de BJR (British Journal of Radiology Supplement 25) yayınında bulunan 6 MV foton enerjisi için uluslararası derin doz değerleri aracılığı ile elde edilmiş 6 MV için 10 cm² alanda derinliğe bağlı derin doz eğrisi ile **Tablo 4**'de bulunan ölçüm sonuçları karşılaştırılmıştır.

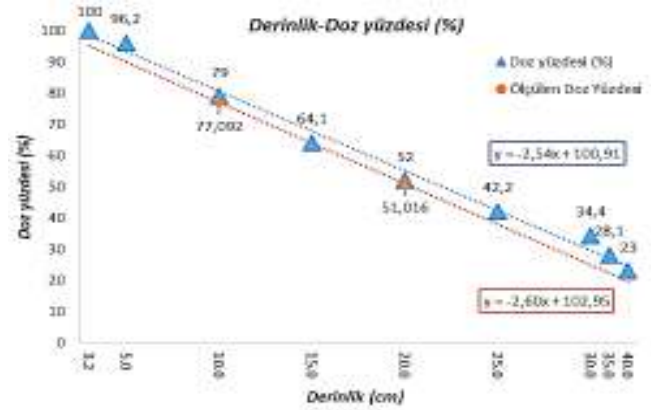
Şekil 7'de de görüldüğü gibi referans olan derinlik-doza yüzdesi eğrisinin denklemi;

$$y = -2,64x + 97,4 \quad (1)$$

yukarıda belirtildiği gibi iken çalışma sonucunda elde edilen ölçüm eğrisinin denklemi;

$$y = -2,81x + 95,2 \quad (2)$$

olarak bulunmuştur.



Şekil 8. 18MV foton enerjisi için 10 cm² alanda derinliğe bağlı derin doz eğrisi ile ölçüm sonuçlarının karşılaştırılması

Şekil 8 için aynı çalışma gerçekleştirildiğinde referans olan derinlik-doza yüzdesi eğrisinin denklemi;

$$y = -2,54x + 100,91 \quad (3)$$

yukarıda belirtildiği gibi iken çalışma sonucunda elde edilen ölçüm eğrisinin denklemi;

$$y = -2,60x + 102,95 \quad (4)$$

olarak bulunmuştur.

Elde edilen eğri denklemlerinden (1) ve (2) numaralı eşitlikler birbirlerine göre korelasyonu;

$$r = \frac{\sum(x \cdot y) - (\sum x)(\sum y)/n}{\sqrt{(\sum x^2) - (\sum x)^2/n} \sqrt{(\sum y^2) - (\sum y)^2/n}}$$

Yukarıda belirtilen formülden hesaplanır.

Korelasyon hesabı iki doğru üzerinde bulunan beş noktanın seçilerek gerçekleştirilmiştir. Bu noktalar 5, 10, 15, 20 ve 25 noktalarıdır. Ölçümler aracılığı ile elde edilemeyen sonuçlar ise formül (2) aracılığı ile hesaplanmıştır. Ölçüm sonuçları ile formül (2)'den elde edilen sonuçların birbirleri ile çok uyumlu oldukları gözlemlenmiştir.

Bu kapsamda n hesaba katılan nokta sayısı olmak üzere, x referanslardan alınan değerleri, y ise ölçümler aracılığıyla elde edilen sonuçlarını göstermektedir.

Böylelikle;

$$n=5, \sum x=265,25, \sum y=275,3, (\sum x)^2=70357,56, (\sum y)^2=75790,09, \sum(xy)=16602,57, \sum x^2=16045,53, \sum y^2=17219,25 \text{ olmuştur.}$$

Bu sayede formül (1) ve formül (2) arasındaki korelasyon $r=0,99$ olarak hesaplanmıştır.

Aynı korelasyon hesabı formül (3) ve formül (4) arasında gerçekleştiğinde ise;

$$n=5, \quad \Sigma x=319.75, \quad \Sigma y=333.5, \quad (\Sigma x)^2=102240.062, \\ (\Sigma y)^2=111222.25, \quad \Sigma(xy)=23082.32, \quad \Sigma x^2=22138.01 \quad \text{ve} \\ \Sigma y^2=24089.09 \quad \text{olmuştur.}$$

Böylelikle formül (3) ve formül (4) arasındaki korelasyonda $r = 0,99$ olarak hesaplanmıştır.

Çalışma sonucunda oluşturulan elektromekanik düzenek ile elde edilen sonuçların referans değerler ile çok yüksek oranda benzeştiği ($r = 0,99$) tespit edilmiştir.

Çalışma esnasında elde edilen ölçümler 10 cm ve 20 cm derinliklerden alınmıştır. Standart su fantomu ile yapılan ölçümlerde referans olarak kabul edilen ve TAEK (Türkiye Atom Enerji Kurumu) kararlarına göre radyoterapide doz kalibrasyonu için kullanılan IAEA (International Atomic Energy Agency) kurumunun TRS 398 (Technical Report Series) protokolü TPR_{20/10} değerini belirlemek için iki noktadan ölçüm alınmasını yeterli görmüştür. Bu sebeple çalışma esnasında 10 cm ve 20 cm derinliklerde her biri için beşer kez olmak üzere sadece bu noktalardan ölçüm alınmış, farklı derinliklerde ölçüm gerçekleştirmeye ihtiyaç duyulmamıştır. Korelasyon hesaplaması için ihtiyaç duyulan veriler ise elde edilen doğru denklemleri aracılığı ile belirlenmiştir. Doğru denklemleri ile ölçüm sonuçlarının tam olarak birbiri ile uyumlu oldukları gözlemlenmiştir.

Çalışmada geliştirilen elektromekanik düzenek yukarıda bahsedilmiş ve kabul edilen bir protokol olan TRS 398'de önerilmiş standartlarla da uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak geliştirilen elektromekanik düzenek aracılığıyla elde edilen ölçüm değerlerinin, lineer hızlandırıcının verdiği dozun kalite kontrolünde ve hastaya verilen dozun ölçülmesinde kullanılan, **Tablo 3**'de gösterilmiş olan standart su fantomundaki standart veriler ile eşleştiği gözlemlenmiştir. Tüm bunların ötesinde çıkan sonuçların uluslararası geçerli bir protokol olan ve TAEK tarafından kullanılması tavsiye edilen BJR (British Journal of Radiology Supplement 25)'de verilen 6MV ve 18 MV için ölçülen değerlere yakın bir değerde olduğu tespit edilmiştir [23]. Bunun ötesinde çalışmanın ayrıca Türkiye'de alanında öncü olarak gerçekleştirilen biyomedikal ve biyomühendislik çalışmalarını da güçlendireceği ön görülmektedir [24-33].

Protokollerde belirtilen değerler ile dizaynı yaptığımız elektromekanik sistemden elde edilen değerlerin istatistiksel karşılaştırılmasında, aradaki farkın kabul edilebilir hata oranı olan %2'nin çok altında olduğu gözlemlenmiştir.

Yapılan ölçümlerin ve alınan sonuçlar incelendiğinde, tasarlanan sistemin kullanılan standart ölçüm sistemleriyle yakın değerde olması, pratik kullanıma uygun olması, kurulum ve kullanım kolaylığı sağlaması, oluşturulan bu sistemin radyoterapi ünitelerinde yoğun olarak kullanılabilmesi izlenimini oluşturmaktadır. Bütün bu nedenlerden ötürü geliştirilen düzeneğin radyoterapi protokolleri çerçevesinde günlük, aylık ve 6 aylık kontrol ölçümlerinde rahatlıkla kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Ayrıca, tasarlanan sistemin diğer ticari sistemlere göre çok daha ekonomik olması, maliyet bakımından da büyük avantaj sağlayacağı düşünülmüştür. Tasarlanan sistemlerin diğer kullanılan sistemlere nazaran daha pratik olması, kaba bir sistem olmaması, radyoterapi ünitelerinin bütün bir gün ölçüm ve kalibrasyon amacıyla kapatılmalarının engellenmesini sağlayacaktır. Kurulum ve kullanım kolaylığına sahip olması, bunun üzerine de radyoterapi protokollerine uygun olması ve düşük hata oranlarına sahip ölçüm sonuçları elde edebiliyor olması tasarlanan bu elektromekanik düzeneğin klinik uygulamalar için de sıklıkla kullanılabilmesi olasılığını düşündürmektedir.

4. Kaynaklar

- [1] Thacker S C, Glick S J. (2004). Physics in Medicine and Biology, 49(24): 5433-5444
- [2] YI Y, LAI C J, HAN T et al. (2011). Medical Physics, 38(2): 589-597.
- [3] Boone J M, Shah N, Nelson T R. Medical Physics, 2004, 31 (2): 226-235.
- [4] Leitz W, Axelsson B, Szendrő G. (1995). Radiation Protection Dosimetry, 57(1-4): 377-380.
- [5] Khan FM. (2003). The physics of radiation therapy. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; p. 3-58.
- [6] Task Group on the Biological Effects of Space Radiation, Rudiufion Hazards IO Ci-ew of Interpioneluy Missions: Biological Issues urrd Research Struregies, NRC. National Academy Press, Washington. DC.
- [7] Dahlin, H., Lamm, I.L., Landerrberg, T., Levernes, S., Uls, N., (1983). "User Requirements on CT. Based Computer Dose Planning Sistem İn Radiation Therapy", Acta Oncol, 22-24 .
- [8] Richmond N, Brackenridge R. (2014). A comparison of small-field tissue phantom ratio data generation methods for an Elekta Agility 6 MV photon beam. Med Dosim; 39:60-3.
- [9] Altundağ Ordu, İ. (2008). "Beyin tümörlerinde konformal radyoterapi tedavisi", Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2.
- [10] Ding GX, Krauss R. (2013). An empirical formula to obtain tissue-phantom ratios from percentage depth-dose curves for small fields. Phys Med Biol; 58:4781-9.
- [11] Purdy J A. (1977). Relationship between tissue-phantom ratio and percentage depth dose. Med phys; 4: 66-7.
- [12] Morón, C., Ferrández, D., Saiz, P., Vega, G., & Díaz, J. P. (2017). New prototype of photovoltaic solar tracker based on arduino. Energies, 10(9), 1298.
- [13] Davino, D., Giustiniani, A., & Visone, C. (2014). Compensation of magnetostrictive hysteresis by Arduino: Floating versus fixed-point performances. IEEE Transactions on Magnetics, 50(11), 1-4.
- [14] Latha, N. A., Murthy, B. R., & Kumar, K. B. (2016). Distance sensing with ultrasonic sensor and Arduino. International Journal of Advance Research, Ideas and Innovations in Technology, 2(5), 1-5.
- [15] Bedford JL, Childs PJ, Nordmark Hansen V et al. (2003). Commissioning and quality assurance of the Pinnacle(3) radiotherapy treatment planning system for external beam photons. Br J Radiol; 76: 163-76
- [16] Das I J et al. (1996). Characteristics of a dedicated linear accelerator-based stereotactic radiosurgery – radiotherapy unit Radiotherapy, Oncol; 38: 61-8.

- [17] Rahman M A, M. Jahangir Alam and M. Akhtaruzzaman, (2016). Characteristics analysis of high energy external radiotherapy beams in water. *Malays. j. med. biol. Res*, 3:1.
- [18] Bedford JL, Hansen VN, Webb S. (1998). The derivation of tissue-maximum ratio from percentage depth dose requires peak scatter factor to be considered a function of source-to-surface distance. *Br J Radiol*; 71:876-81.
- [19] Ceylan C, Kucuk N, Bas Ayata H, Guden M, Engin K. (2010). Dosimetric and physical comparison of IMRT and CyberKnife plans in the treatment of localized prostate cancer. *Rep Pract Oncol Radiother*;15:181-9.
- [20] IAEA1. (2000). TRS-398: Absorbed Dose Determination in External Beam Radiotherapy: An International Code of Practice for Dosimetry based on Standards of Absorbed Dose to Water. (P. Andreo, D. T. Burns, K. Hohlfeld, M. S. Huq, T. Kanai, F. Laitano, et al., Eds.) Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency.
- [21] Huq, M. S., Andreo, P., Song, H. (2001). Comparison of the IAEA TRS-398 and AAPM TG-51 absorbed dose to water protocols in the dosimetry of high-energy photon and electron beams. *Physics in Medicine & Biology*, 46(11), 2985.
- [22] Deniz D., Dörter G, Güçlü İ., (2005). Radyasyon Hasarlarının Tanı ve Tedavisi (çeviri) ÇNAEM İstanbul.
- [23] BJR Supplement 25 Central Axis Depth Dose Data For Use in Radiotherapy: A Survey of Depth Dose and Related Data Measured in Water or Equivalent Media, syf 65-79, July 1996
- [24] Akpek A. (2019). Development of a heart assist device as a vibrational viscometer that estimates blood viscosity. *Journal of the Faculty of Engineering & Architecture of Gazi University*, 34 (1), 235-246.
- [25] Akpek A., (2018). Analysis of biocompatibility characteristics of stereolithography applied three dimensional (3D) bioprinted artificial heart valves, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University* 33(3), 929-938.
- [26] Çiftçioğlu, Ç., Koçak, O., Akpek, A. (2015). Remote control of centrifuge and injection systems via MATLAB and ARDUINO. In 2015 Medical Technologies National Conference (TIPTEKNO) (pp. 1-4). IEEE.
- [27] Akpek, A., Effect of non-uniform temperature field in viscosity measurement. *Journal of Visualization*, 19(2), 291-299, 2016.
- [28] Bulut, S., Özçınar, A., Çiftçioğlu, Ç., Akpek, A. (2015). A new algorithm for segmentation and fracture detection in X-ray images. In 2015 Medical Technologies National Conference (TIPTEKNO) (pp. 1-4). IEEE.
- [29] Akpek, A., Youn, C., Kagawa, T. (2013). Temperature measurement control problem of vibrational viscometers considering heat generation and heat transfer effect of oscillators. In 2013 9th Asian Control Conference (ASCC) (pp. 1-6). IEEE.
- [30] Koçak, O., Kurtuldu, H., Akpek, A., Koçoğlu, A., Eroğul, O. (2016). A medical waste management model for public private partnership hospitals. In 2016 Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO) (pp. 1-4). IEEE.
- [31] Altınsu, B., Koçak, O., & Akpek, A. (2016). Design and analysis of an autoclave simulation using MATLAB/Simulink. In 2016 Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO) (pp. 1-4). IEEE.
- [32] Akpek, A. Effect of Ambient Temperature Variations on Particle Dimensions in Ultrasonic Nebulizers during Cold Vaporization. *Adv. Sci. Technol. Eng. Syst. J*, 2(3), 946-950, 2017.
- [33] Ugar, T., Kogak, O., Akpek, A. (2016). New concept design of an insulin pen for visually impaired or blind diabetus mellitus patients. In 2016 Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO) (pp. 1-4). IEEE.

Recent Advances in 4D Bioprinting

Ali Akpek^{1,2} , Ayça Bal Öztürk^{3,4} , Emine Alarçin⁵ ,
Hüseyin Avcı⁶ , Meltem Avcı Adalı⁷ 

¹Department of Bioengineering, Gebze Technical University, Gebze Kocaeli Turkey,

²Sabancı University nanotechnology Research and Application Center, Sabancı University, Istanbul, Turkey

*Corresponding author : aliakpek@gtu.edu.tr

³Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Istinnye University, 34010, Zeytinburnu, Istanbul, Turkey,

⁴Institute of Health Sci., Dep. of Stem Cell and Tissue Engineering, Istinnye University, 34010, Zeytinburnu, Istanbul, Turkey,
aozturk@istinnye.edu.tr

⁵Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Marmara University, Istanbul, Turkey,
emine.alarcin@marmara.edu.tr

⁶Metallurgical and Materials Engineering, Eskisehir Osmangazi Uni., Eskisehir, Turkey,
havgiesogu@gmail.com

⁷Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, University Hospital Tübingen, Tübingen, Germany,
meltem.avci.adali@gmail.com

www.dergipark.org.tr/rjbb

Alınış Tarihi: 29/02/2020

Kabul Tarihi: 09/07/2020

Keywords: 4D Bioprinting, 3D Bioprinting, Biofabrication, Tissue Engineering, Smart Materials

Abstract

Four-dimensional (4D) bioprinting, is generally accepted as the future of biofabrication technologies. 4D bioprinting develops dynamic and 3D based biological materials which can shift their shapes or alter their behaviors when several stimulants like electricity, temperature, humidity, magnetic etc. are applied. In this review, we highlighted the important aspects of several smart materials for 4D bioprinting that have been used recently for biofabrication researches. It is believed that in immediate future, smart materials and 4D Bioprinting techniques will have an excessive importance for designing of soft robotic systems and architecture of hierarchial, complex, thick and vascularized tissue structures

4B Biyobaskı Çalışmalarında Güncel Yenilikler

www.dergipark.org.tr/rjbb

Received: 29/02/2020

Accepted: 09/07/2020

Anahtar Kelimeler: 4B Biyobaskı, 3B Biyobaskı, Biyofabrikasyon, Doku Mühendisliği, Akıllı Malzemeler

Özet

Dört boyutlu (4B) biyobaskı tekniklerinin biyofabrikasyon teknolojilerinin geleceği olduğu düşünülmektedir. Elektrik, sıcaklık, nem, manyetik vs. gibi uyarıcılar aracılığı ile şekil değiştiren akıllı malzemeler kullanılarak ortaya çıkartılmış olan 4B biyobaskı tekniği, 3B biyolojik materyallerden oluşmuş ve zamanla şekil değiştirebilen yapılar üretilebilmektedir. Bu mini derlemede bu alanda son yıllarda ortaya konmuş olan pek çok akıllı malzeme ve bunların önemleri açıklanmıştır. Akıllı malzemelerin ve 4B biyoyazıcı tekniklerinin çok yakın bir gelecek içerisinde yumuşak robotik sistemlerin tasarımlarında ve hiyerarşik, kompleks, kalın ve damar dokusu eklenmiş doku yapılarının tasarımı ve üretilmesinde aşırı derecede önem kazanacağı düşünülmektedir.

1. Introduction

Numerous useful information and applications have been obtained from the structures obtained as a result of the combination of living cells and biomaterials in many different methodologies used by scientists. However, there are significant problems in real applications of the obtained cell and non-cell biostructures in the dynamic environment of the human body. For this reason, 4D biofabrication have recently emerged, especially by taking advantage of 3D bioprinters with adding 'time' as the fourth dimension. Here, the objects obtained from the 3D bioprinting can

change their morphology and functionality by external stimuli such as temperature, pH, ion or internal ones i.e. cells and their components. These biostructures, which can adapt to the dynamic environment in the human body, are expected to bring significant advantages in tissue regeneration, treatment of diseases and drug development.

Environmentally responsive biomaterials have a strong potential to be used in 4D bioprinting which can be grouped under two main headings. These are chemical stimuli that alter molecular interaction, such as pH, CO₂, salt and various solvents. For example, pH-responsive hydrogels

based on alginate can be used for this purpose. Furthermore, physical stimuli for example heat, light, magnetic with electrical field, ultrasound and mechanical strength play an important role in altering polymer chain dynamics to guide 4D biostructures. For this purpose, various studies have been conducted on biostructures that can be changed at different temperature ranges [1-2]. In addition to external stimuli, biochemical stimuli, such as cell traction forces, enzymes, glucose, antigen, amino acid, nucleic acid, polysaccharides, and etc. are important potentials to utilize the actual functions of biological components. For example, the mixtures obtained by inoculating the antigen and antibody groups interacting with each other into different polymer chains may form crosslinked structures, while the free antigen added to the medium can be displaced by breaking the existing antigen-antibody interaction yields gel swelling behavior [3].

2. Limitations of 3D Bioprinting

3D-bioprinting is an additive manufacturing method for rapid fabrication of large number of complex three-dimensional constructs with precise control in an automated manner. However, there are several drawbacks related with 3D printing. Presently printed constructs may not completely mimic the hierarchical structure of living tissues that have multiple layers [4]. For this reason, 3D-bioprinting technology needs time-dependent behavior that can respond to environmental stimuli. By the help of this, it may be possible to form multiple layers that can accurately mimic the hierarchical and complex structure of the various organ tissues [4]. In the following section of the mini-review, the type of stimuli-responsive biomaterials effectively used in 4D-printing technology is briefly summarized.

In addition, one of the other challenges of 3D-bioprinting technology is non-homogeneous cell encapsulation within the printed constructs that is due to the low-viscosity bioink [5]. Bioink term is mainly used for cell encapsulated biomaterials. Also, high-viscosity bioinks require higher pressures during printing process, and that adversely affect cell viability because of the increased shear forces during the extrusion process [5]. To overcome these bottlenecks among existing bioinks, many scientists are focusing on designing the advanced bioinks with shear-thinning (thixotropic) and rapidly self-healing characteristics. In that way, the designed bioinks will have easy printability and cell viability. This will hinder mechanically damaging effects on the cells. After the extrusion, the viscosity rises, resulting in high-precision printability [6, 7].

3D-Bioprinting technology has gained an enormous attention to fabricate synthetic tissues and organs for transplantation. Greatest current challenge of 3D-printed constructs toward the clinical translation is the absence of multifunctional vascular network for oxygen and nutrient diffusion. Without vascularization, 3D-printed constructs will have insufficient nutrient availability, growing up incomplete tissue formation or necrosis [8, 9]. This is more often due to the printing restrictions in resolution and speed [8]. More time, effort, and multidisciplinary expertise will be needed to fulfill shortcomings in clinical potentials of

3D-Bioprinting technology. All these problems are also needed to solve by 4D bioprinting techniques.

3. Novel smart materials for 4D Bioprinting

Thermo-responsive materials have gained great deal of attention due to their potential application in drug delivery and regenerative medicine [10, 11]. These materials can exhibit significant changes in their physicochemical properties following the change of temperature.

In particular, thermo-responsive material should have lower critical solution temperature (LCST) close or below to physiological temperature in order to manipulate them in easiness [12]. Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) is probably the most widely employed material because of its appropriate sol-gel behavior with its relatively low LCST ($\approx 32-35$ °C) [13, 14]. When the external temperature is below its LCST, PNIPAM behave like a sol. However, above this temperature, polymer solution returns into gel due to sol-gel transition [12]. For instance, Liu et al. designed a dual printed gel tubes using PNIPAM and polyacrylamide. They show the printability of material as well as a number of shape changes such as uniaxial elongation, radial expansion, bending, and gripping [15]. Moreover, there are some attractive reports on printability and cellular viability of printed cell laden thermos-responsive materials to show potential usage of these materials to print 4D structures [16, 17].

Humidity responsive materials are able to absorb or release moistures with the variation in humidity [18, 19]. In particular, the shape and size of the material can change due to swelling up or shrinkage of material in a response to humidity alteration. Herein, it is vital to certainly control the swelling or shrinking rate of humidity responsive materials to maintain the printed construct. Additionally, since cells need a specific osmotic pressure to live, degree of alteration in shape can be adjusted to osmotic pressure [20]. Lv et al. humidity responsive 3D printed poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogel using two-photon photopolymerization. They inspired from open and close the stomata of plants to achieve nano-interconnected pores of the structure. Humidity-driven swelling ability was controllable and reproducible and obtained structure was stable even after 10000 cycles [18].

Light can also be used as stimulus to induce shape and size changes of 3D printed devices. Yang et al. [21] generated photoresponsive shape memory composites by incorporation of carbon black into shape-memory polymer polyurethane and printed using fused-deposition modelling (FDM) sunflower like devices. The light illumination converted the closed sunflower shape to opened state as the blooming of the flowers. In a recent study, Cui et al. [22] incorporated photothermal graphene into thermally responsive shape memory polymer to create 4D printed near-infrared light (NIR) responsive nanocomposite brain model. Thermal energy is produced by the absorption of photons of the NIR illumination by graphene. A great advantage of this method is that NIR can efficiently penetrate tissues without biological harm. Light responsive materials and 3D printing can be also combined to release therapeutics. Gupta and

colleagues 3D printed drug capsules containing therapeutics in the core and covering the core with a poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA) shell containing plasmonic gold nanorods [23]. Using an irradiating laser, capsules can be ruptured for a programmable and selective release of drugs.

The functionalization of polymers with magnetic nanoparticles consisting of e.g. iron (Fe), cobalt (Co), or nickel (Ni) enables the generation of magneto-responsive polymeric systems [24]. Wei et al. [25] produced tubular 4D shape-changing structures by incorporation of magnetic iron oxide nanoparticles into poly(lactic acid) (PLA) polymer and direct write printing and ultraviolet (UV) cross-linking of PLA. Heating of iron oxide by alternating magnetic field was able to create sufficient energy to induce the transformation of the shape to the initial tubular configuration. In another study, magnetically responsive structures with a fast response time were created by incorporation of Fe into poly(dimethylsiloxane) (PDMS) and 3D printing [26].

Finally, electric fields can be applied to orientate cells to defined directions or manipulate cells to desired positions. Especially, muscle or nerve tissue engineering can be improved by the electrical stimulation. Cvetkovic et al. [27] developed stereolithographic 3D printed poly(ethylene glycol) diacrylate (PEGDa) hydrogel. The electrical stimulation triggered the contraction of skeletal muscle cell laden strip. Sayyar and colleagues generated flexible conductive composites by incorporation of graphene into methacrylated-poly(trimethylene carbonate) and UV crosslinking [28]. Thereby, the tensile strength and the electrical conductivity of the polymer was significantly increased. The electrical stimulation further improved the osteogenesis of seeded mesenchymal stem cells.

4. Conclusion

With the exciting developments in the field of 4D bioprinting, more intensive research is needed, especially in order to predict the changes that may occur after printing in a safe and predictable manner. In this sense, it is thought that the development of mathematical models will contribute positively. On the other hand, if live cells are used, changes in the biostructure during and after bioprinting must have minimal adverse effects on the cells, like cellular stress. Particular attention should be paid to the structural design of the biomaterials, rheological properties of the bioink, crosslinkers, additives and etc. Therefore, it is expected that the use of suitable hybrid structures containing soft and hard materials which can adapt to multiple stimuli encountered in vivo with not causing any negative reaction in the immune system. As a result, inevitably total costs of production will begin to rise more rapidly in short term. 4D biostructures, which are expected to bring an advanced level to biofabrication by enabling the realization of exciting real applications in a short period of time, particularly necessitating multidisciplinary studies [29-35].

5. References

- [1] Shida Miao, Wei Zhu, Nathan J. Castro, Margaret Nowicki, Xuan Zhou, Haitao Cui, John P. Fisher, and Lijie Grace Zhang. (2016). 4D printing smart biomedical scaffolds with novel soybean oil epoxidized acrylate. *Sci. Rep.* 6: 27226.
- [2] Shida Miao, Wei Zhu, Nathan J. Castro, Jinsong Leng, and Lijie Grace Zhang. (2016). Four-dimensional printing hierarchy scaffolds with highly biocompatible smart polymers for tissue engineering applications. *Tissue Eng Part C Methods* 22(10): 952-963.
- [3] Yong Qiu, Kinam Park, (2001). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 53(3): 321-339.
- [4] Ashammakhi, N., Ahadian, S., Zengjie, F., Suthiwanich, K., Lorestani, F., Orive, G., Khademhosseini, A. (2018). Advances and future perspectives in 4D bioprinting. *Biotechnology journal*, 13(12), 1800148.
- [5] Li, Y. C., Zhang, Y. S., Akpek, A., Shin, S. R., & Khademhosseini, A. (2016). 4D bioprinting: the next-generation technology for biofabrication enabled by stimuli-responsive materials. *Biofabrication*, 9(1), 012001.
- [6] Wilson, S. A., Cross, L. M., Peak, C. W., & Gaharwar, A. K. (2017). Shear-thinning and thermo-reversible nanoengineered inks for 3D bioprinting. *ACS applied materials & interfaces*, 9(50), 43449-43458.
- [7] Chimene, D., Lennox, K. K., Kaunas, R. R., & Gaharwar, A. K. (2016). Advanced bioinks for 3D printing: a materials science perspective. *Annals of biomedical engineering*, 44(6), 2090-2102.
- [8] Bishop, E. S., Mostafa, S., Pakvasa, M., Luu, H. H., Lee, M. J., Wolf, J. M., Reid, R. R. (2017). 3-D bioprinting technologies in tissue engineering and regenerative medicine: Current and future trends. *Genes & diseases*, 4(4), 185-195.
- [9] Ke, D., Murphy, S.V. (2019). Current challenges of bioprinted tissues toward clinical translation. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 25(1), 1-13.
- [10] Cheng X, Jin Y, Sun T, Qi R, Fan B and Li H. (2015). Oxidation-and thermo-responsive poly (N-isopropylacrylamide-co-2-hydroxyethyl acrylate) hydrogels cross-linked via diselenides for controlled drug delivery. *RSC Advances*. 5 4162-70
- [11] Klouda L. (2015). Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications: A seven-year update. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 97, 338-49.
- [12] Soledad Lencina M M, Iatrudi Z, Villar M A and Tsitsilianis C. (2014). Thermoresponsive hydrogels from alginate-based graft copolymers. *European Polymer Journal*. 61, 33-44
- [13] Bakarich S E, Gorkin R, 3rd, in het Panhuis M and Spinks G M. (2015). 4D Printing with Mechanically Robust, Thermally Actuating Hydrogels *Macromol Rapid Commun*, 36; 1211-1217
- [14] Han, D., Lu, Z., Chester, S. A., & Lee, H. (2018). Micro 3D printing of a temperature-responsive hydrogel using projection micro-stereolithography. *Scientific reports*, 8(1), 1-10.
- [15] Liu J, Erol O, Pantula A, Liu W, Jiang Z, Kobayashi K, Chatterjee D, Hibino N, Romer L.H. and Kang S.H. (2019). Dual-Gel 4D Printing of Bioinspired Tubes. *ACS applied materials & interfaces*, 11; 8492-8

- [16] Hsieh F.Y, Lin H.H. and Hsu S.H., (2015). 3D bioprinting of neural stem cell-laden thermoresponsive biodegradable polyurethane hydrogel and potential in central nervous system repair *Biomaterials*, 71; 48-57.
- [17] Mellati A, Fan C M, Tamayol A, Annabi N, Dai S, Bi J, Jin B, Xian C, Khademhosseini A and Zhang H, (2017). Microengineered 3D cell-laden thermoresponsive hydrogels for mimicking cell morphology and orientation in cartilage tissue engineering *Biotechnology and bioengineering* 114, 217-31.
- [18] Lv C, Sun X.C, Xia H, Yu Y.H, Wang G, Cao X.W, Li S.X, Wang Y.S, Chen Q.D, Yu Y.D and Sun H.B. (2018). Humidity-responsive actuation of programmable hydrogel microstructures based on 3D printing *Sensors and Actuators B: Chemical*, 259; 736-44.
- [19] Zhang L, Liang H, Jacob J and Naumov P. (2015). Photogated humidity-driven motility. *Nature communications*, 6; 7429.
- [20] Ashammakhi N, Ahadian S, Zengjie F, Suthiwanich K, Lorestani F, Orive G, Ostrovidov S and Khademhosseini A. (2018). Advances and Future Perspectives in 4D Bioprinting *Biotechnol J*. 13, 1800148
- [21] Yang, H., Leow W.R., Wang T., Yu J., He K., Qi D., Wan C., Chen X. (2017). 3D printed photoresponsive devices based on shape memory composites. *Advanced Materials*, 29(33): p. 1701627.
- [22] Cui, H.T., Miao S., Esworthy T., Lee S.J., Zhou X., Hann S.Y., Webster T.J., Harris B.T., Zhang L.G., (2019). A novel near-infrared light responsive 4D printed nanoarchitecture with dynamically and remotely controllable transformation. *Nano Research*, 12(6): p. 1381-1388.
- [23] Gupta, M.K., Meng F., Johnson B.N., Kong Y.L., Tian L, Yeh Y.W., Masters N., Singamameni S., McAlpine M.C. (2015). 3D printed programmable release capsules. *Nano letters*, 15(8): p. 5321-5329.
- [24] Tamay, D.G., Usal T.D., Alagöz A.S., Yücel D., Hasırcı N, Hasırcı V. (2019). 3D and 4D Printing of Polymers for Tissue Engineering Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7.
- [25] Wei, H.Q., Zhang Q., Yao Y., Liu L., Liu Y., Leng J., (2017). Direct-Write Fabrication of 4D Active Shape-Changing Structures Based on a Shape Memory Polymer and Its Nanocomposite. *Acs Applied Materials & Interfaces*, 9(1): p. 876-883.
- [26] Zhu, P.F., Yang W., Wang R., Gao S., Li B., Li Q., (2018). 4D Printing of Complex Structures with a Fast Response Time to Magnetic Stimulus. *Acs Applied Materials & Interfaces*, 10(42): p. 36435-36442.
- [27] Cvetkovic, C., Raman R., Chan V., Williams B.J., Tolish M., Bajaj P., Sakar M.S., Asada H.H., Saif M.T.A., Bashir R. (2014). Three-dimensionally printed biological machines powered by skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(28): p. 10125-10130.
- [28] Sayyar, S., Bjorninen M., Haimi S., Miettinen S., Gilmore K., Grijpma D., Wallace G. (2016). UV cross-linkable graphene/poly(trimethylene carbonate) composites for 3D printing of electrically conductive scaffolds. *ACS applied materials & interfaces*, 8(46): p. 31916-31925.
- [29] Liu, W., Heinrich, M. A., Zhou, Y., Akpek, A., Hu, N., Liu, X., Zhang, Y.S. (2017). Extrusion bioprinting of shear-thinning gelatin methacryloyl bioinks. *Advanced healthcare materials*, 6(12), 1601451.
- [30] Heinrich, M. A., Liu, W., Jimenez, A., Yang, J., Akpek, A., Liu, X., Prakash, (2019). J. 3D bioprinting: from benches to translational applications. *Small*, 15(23), 1805510.
- [31] Avci, H., Doğan Güzel, F., Erol, S., Akpek, (2018). A. Recent advances in organ-on-a-chip technologies and future challenges: a review. *Turkish Journal of Chemistry*, 42(3).
- [32] Kizilkurtlu, A. A., Polat, T., Aydın, G.B., Akpek, (2018). A. Lung on a chip for drug screening and design. *Current Pharmaceutical Design*, 24(45), 5386-5396.
- [33] Akpek, A. (2018). Triküspit kalp kapakçıklarının üç boyutlu (3B) biyobaskı metotları ile fabrikasyonu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2), 740-745.
- [34] Wei, W., Li, Y., Yang, H., Nassab, R., Shahriyari, F., Akpek, A., Zhang, Y.S. (2017). 3D Printed Anchoring Sutures for Permanent Shaping of Tissues. *Macromolecular bioscience*, 17(12), 1700304.
- [35] Akpek, A. (2018). Analysis of biocompatibility characteristics of stereolithography applied three dimensional (3D) bioprinted artificial heart valves. *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 33(3), 929-938.

Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretim Potansiyeli ve Biyoyararlılığı

Mücahit Varlı* , Hilal Hancı , Gökçe Kalafat 

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölköy Kampüsü, Bolu

*Sorumlu yazar e-posta: mucahitvarli@hotmail.com

e-posta: hilalhan.m@hotmail.com

e-posta: gkcklft52@gmail.com

www.dergipark.org.tr/rjbb

Alınış Tarihi: 29/04/2020

Kabul Tarihi: 09/07/2020

Anahtar Kelimeler: Tıbbi ve Aromatik Bitkiler, Uçucu Yağlar, Üretim ve Ticaret, Bitkilerin Biyoyararlılığı

Özet

Bu çalışmada, tıbbi ve aromatik bitkilerin tarladaki üretiminden başlayan kalite ve verimlilik süreçlerinin önemini vurgulamak amaçlanmaktadır. Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları, tarımsal üretimi ve ekonomideki önemi ile beraber uçucu yağ bileşenleri, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, fenolik madde içerikleri ile ilgili bilgiler verilmeye çalışılmıştır. Tıbbi ve aromatik bitkiler bitkisel yağ, fonksiyonel gıda, ilaç etkin maddesi ve kozmetik ürün olabilme potansiyellerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda sanayinde gıda katkı maddesi, baharat, bitkisel çay, gıda takviyesi gibi ürünler için tıbbi ve aromatik bitkilerin uygun kalitede ve standartlarda üretilmesi ve işlenmesi önemlidir.

Production Potential and Bioavailability of Medicinal and Aromatic Plants

www.dergipark.org.tr/rjbb

Received: 29/04/2020

Accepted: 09/07/2020

Keywords: Medicinal and Aromatic Plants, Essential Oils, Production and Trade, Bioavailability of Plants

Abstract

In this study, it is aimed to emphasize the importance of quality and productivity processes starting from the production of medicinal and aromatic plants in the field. It is tried to give information about the usage areas of medicinal and aromatic plants, the importance of agricultural production on the economy, essential oil components, antioxidant activity, antimicrobial activity, and phenolic content. Medicinal and aromatic plants are widely used because of their potential as vegetable oil, functional food, pharmaceutical active substance, and cosmetic product. In the food industry, it is important to produce and process medicinal and aromatic plants of appropriate quality and standards for products such as food additives, spices, herbal tea, and food supplements.

1. Giriş

Tıbbi ve aromatik bitkiler, yüzyıllar boyunca tüm dünyada günlük yaşamın ve kültürün ayrılmaz bir parçası olmuştur. Gıda olarak tüketilen tıbbi ve aromatik bitkilerin dünyada 10.000'den fazla olduğu bilinmektedir. Bu bitkiler eczacılıkta, kozmetikte, yemeklerde ve son yıllarda antioksidan olarak gıda teknolojisinde kullanılmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin toplanması ve ekimi tarih boyunca devam etmiştir [1].

Tarih öncesi çağlarda bitkilerin insanlar tarafından tıbbi amaçla kullanımlarına dair pek çok arkeolojik kanıt bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar "Tıbbın babası" olarak da bilinen Hipokrat'ın, bitkilerin tatları ile tedavi edici özelliklerini birleştirdiğini göstermektedir. Hipokrat "Yiyecekleri ilacınız yapın, ilacınızı yemeğiniz" demiştir.

Ayrıca, Hipokrat, kitaplarında pek çoğu tıbbi ve aromatik 400 bitkiden bahsetmiştir. Günümüzde tıbbi ve aromatik bitkiler ilaçlar, baharatlar, renklendiriciler, koruyucular ve diğer birçok benzer ürün için hammadde haline gelmiştir. Elde edilen veriler bugüne kadar, tıbbi ve aromatik bitkilerin en eski ve en yaygın ilaçlar olduğunu kanıtlamaktadır [2].

Tıbbi ve aromatik bitkiler biyoaktif sekonder metabolitler olan steroidleri, flavonoidleri, saponinleri, alkaloidleri, terpenleri ve fenolik bileşikler içerir. Bu sekonder metabolitler antimikrobiyal, antifungal, antialerjik, antidiyabetik, kardiyovasküler sistemi koruyucu, antioksidan, antikanser, antitiroid, antihistaminik, antimalaryal, antihelmintik, antienflamatuvar, antihipertansif, spazm çözücü ve ağrı kesici özelliklere sahiptir [3]. Dünya nüfusunun yaklaşık %80'i tıbbi bitkisel ürünleri koruyucu ve hastalık sonrası tedavinin ilk aşamasında kullanılmaktadır. Sağlık bilincinin farkındalığıyla

ilişkili olarak tıbbi ve aromatik bitki ürünlerinin pazardaki payı artmaktadır. 2017 yılında 107 milyar dolar olan bu payın, 2020 yılında 115 milyar dolara kadar artması beklenmektedir [4]. Bitkisel ilaçlar, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, insan sağlığında önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen ürünlerin kalite kriterleri belirlenerek standardizasyon sağlanmalıdır [5].

Bu çalışmanın amacı, uzun yıllardır geleneksel ve endüstriyel yöntemler ile toplanan ve tüketilen tıbbi ve aromatik bitkilerin tarımsal üretim ve ekonomideki potansiyeli, insan sağlığı üzerindeki önemi ve endüstrideki kullanım alanlarını değerlendirmektir.

2. Malzeme ve Yöntem

Araştırma materyali Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) ve Uluslararası Ticaret Merkezi (ITC) kayıtları, sempozyum ve

kongre bildirimleri, tez ve makalelerden oluşmaktadır. Kullanılan kurum verileri kayıtlarından tarama ve gruplandırma yöntemiyle çizelgelerde yıllara göre ürünlerin ekiliş alanı (da), üretim miktarı (ton), ithalat ve ihracat değerleri özetlenmiştir. İthalat ve ihracat değerleri dolar cinsinden ifade edilmiştir.

3. Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Sürdürülebilir Tarımın Önemi

Tıbbi ve aromatik bitkiler tarımsal üretim ya da doğadan toplama yolu ile temin edilmektedir. Tarımsal olarak üretimi yapılan bitkiler genellikle ülkemizde nane, haşhaş, lavanta, kimyon, rezene, papatya, maydanoz, sinameki, sarı kantaron gibi bitkilerdir [6]. Çizelge 1’de TÜİK verilerinden seçilmiş tıbbi ve aromatik bitki grubundaki bitkilerin yıllara göre ekildiği alan ve üretim miktarları verilmiştir.

Çizelge 1 : Türkiye’de 2016-2019 yılları arasında üretimi yapılan bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin ekildiği alan ve üretim miktarları [7] Kaynak: TÜİK, 2020

Ürün	2016		2017		2018		2019	
	Ekiliş (da)	Üretim (ton)	Ekiliş (da)	Üretim (ton)	Ekiliş (da)	Üretim (ton)	Ekiliş (da)	Üretim (ton)
Haşhaş	299217	16550	237314	13836	451226	26991	677369	27288
Kimyon	268849	18586	267358	19175	361761	24195	321889	20245
Kırmızı Biber	122415	228531	101710	179264	119865	227380	119 409	240 656
Kekik	121127	14724	121472	14477	139061	15895	157074	17965
Anason	136552	9491	121833	8418	124455	8664	239171	17589
Gül (yağlık)	29753	12267	33277	13372	34205	14773	38457	16560
Çörekotu	23160	2527	32560	3094	33864	3322	37085	3603
Rezene	17503	2464	16525	2022	23400	3067	33859	4655
Yonca	21478	1206	15848	922	18488	1204	30025	1513
Lavanta	5700	747	6606	845	8684	1040	11903	1462
Şerbetçi otu	3415	1846	3300	1785	3300	1785	3307	1800
Adaçayı	3681	411	4123	557	3951	428	5602	1233
Kışniş	503	42	410	29	405	29	155	12
Melisa	213	108	207	106	172	84	209	93

İklim çeşitliliği ve toprak zenginliği ile Türkiye çok çeşitli bitki topluluklarını içinde barındırmaktadır [1]. Tıbbi ve aromatik bitkiler, doğal zenginliklerin kullanımında ve biyoçeşitliliğin korunmasında hayati öneme sahiptir. Aromatik bitkilerin içerdikleri uçucu yağları nedeniyle sürdürülebilir tarımdaki yeni uygulamalar için kullanımı konusunda, önemli bir potansiyeli vardır. Bu nedenle aromatik bitkilerin kültüre alınması ile ilgili daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir [2]. Doğal yollardan ürün elde edilmesi ve sürdürülebilir tarımın önem kazanmasıyla hayvan yetiştiriciliğinde de doğal ürünlerin kullanımı artmaktadır. Antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antifungal vb. faydalı özelliklerinden dolayı tıbbi ve aromatik bitkiler tercih edilmektedir [8].

Türkiye, coğrafik konumu nedeniyle büyük genetik çeşitlilik ve endemizmeye sahiptir. Türkiye, dünyanın en önemli tıbbi ve aromatik bitki ticaretini yapan ülkelerinden biridir fakat Türkiye'deki tıbbi ve aromatik bitkilerin yüksek ihracat potansiyeline rağmen, istenen seviyeye henüz ulaşamamıştır [9]. İhraç edilen farklı ürün gruplarındaki tıbbi ve aromatik bitkilerin miktarı 2014'den 2018'e kadar 48 tondan 57.5 tona yükselmiştir. 2019 yılında ise bu miktar 51.08 tona gerilemiştir. Türkiye'de ithal edilen farklı ürün gruplarındaki tıbbi ve aromatik bitkilerin miktarı 2014 yılında 59.9 ton iken, 2019 yılında 121.651 tona ulaşmıştır [10]. Türkiye'den en fazla ihraç edilen tıbbi ve aromatik bitkiler defne yaprağı, anason, kimyon, zencefil ve kekiktir (Çizelge 2, 3).

Çizelge 2 : Yıllara göre ülkemizde kahve, çay, tıbbi bitki ve baharatların ithalat değerleri (Amerikan Doları, \$) [10]

Ürün	2014 (\$)	2015 (\$)	2016 (\$)	2017 (\$)	2018 (\$)	2019 (\$)
Kahve (kavrulmuş veya kafeyi alınmış olsun olmasın); kahve kabukları ve derileri; kahve yerine kullanılanlar	109170	146799	130503	191808	186584	194729
Çay, aromalı ve aromasız	16045	17015	41089	59929	38911	39475
Köri, defne yaprağı, kekik, zerdeçal zencefil, safran ve diğer baharatlar (biber hariç)	11660	14348	14494	16112	13719	14472
Biber; <i>Capsicum</i> cinsinin kurutulmuş veya ezilmiş veya öğütülmüş meyveleri	8869	10698	12710	32676	12009	16187
Anason, badian, rezene, kişniş, kimyon veya kimyon tohumu; ardıç meyveleri	6391	7430	10632	11596	10155	438
Tarçın ve tarçın ağacı çiçekleri	1732	1265	2083	3396	1901	3177
Mate	350	724	3180	2048	1552	2606
Hindistan cevizi, kakule	160	588	774	1109	929	1078
Karanfil, bütün meyve, sapları	571	594	353	726	483	836
Vanilya	243	318	181	180	60	126

Kaynak: ITC, 2020

Türkiye'de birçok ülkeye kıyasla kayıtlı olan tıbbi ve aromatik bitki sayısı kısıtlıdır. İstenen kalitede ürün çeşitlerinin geliştirilmesi için ekim teknikleri belirlenmeli ve ekolojik koşullara uygun bölgelerde yetiştirilmelidir [11]. Kaliteli hammadde bileşenlerine sahip tıbbi ve aromatik bitkilerin kimya, gıda ve kozmetik gibi sektörlerde katma değeri yüksek ürünler üretilmesi için araştırmalar yapılmalıdır [12]. Kaliteli sağlık hizmetlerine doğru erişimin ve danışmanlığın sağlanması, planlamacılar tarafından doğru yönlendirilmelidir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin sürdürülebilir bir biçimde üretiminde doğal çevre, sağlıklı toplumlar ve ekonomik canlılık birbirini tamamlayıcı faktörlerdir (Şekil 1) [13].

4. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları

Tıbbi bitkiler ve baharatlar eski çağlardan beri geleneksel olarak ilaçlarda ve çeşitli gıdalarda koruyucu madde olarak kullanılır. Doğal sağlık destek ve kişisel bakım ürünlerinin artan üretimi ve pazara sunulması, tıbbi ve aromatik bitkilere de artan bir endüstriyel talep yaratmıştır [14]. Sabit ve uçucu yağlar, gıda endüstrisinde, alkolsüz içeceklerde ve şekerlemelerde, kozmetik endüstrisinde ise parfümlerde, cilt ve saç bakım ürünlerinde ve aromaterapide kullanılır. Tıbbi ve aromatik bitkiler, taze, dondurulmuş veya kuru formda olabilir. İlaç endüstrisinde ise bu bitkiler tedavi edici özellikleri nedeniyle tercih edilir [15].

Aromatik bitkiler, esansiyel yağ, zambak, balsam ve oleoresin içeren yaprak, çiçek, dal, kök ve meyvelere sahiptir [14]. *In vivo* çalışmalarda bazı bitkilerin, antiviral, antimetastatik,



Şekil 1: Tıbbi ve aromatik bitkilerin üretimi için sürdürülebilirlik döngüsü [13]

antitümoral, antitrombik, antimutajenik, yaşlanma karşıtı, antimikrobiyal, antiülser, antihipertansif ve antikarsinojenik etkinliği olduğu tespit edilmiştir [16]. Tıbbi ve aromatik bitkiler sentetik kemo-terapötik bileşiklere kıyasla daha az yan etkiye sahip ve ucuz kaynaklardır [17]. Ülkemizde yerel halk ihtiyacı olan bitkileri çevre dağ ve ormanlardan toplamaktadır. Bu gelenek kırsal bölgelerde günümüzde varlığını sürdürmektedir. Pek çok tıbbi bitkinin toprak üstü kısımları ya da kök kısımları sebze gibi kullanılmaktadır. Bu bitkiler kurutulmuş, salamuralı veya turşu olarak tüketildiği gibi işlem görmeden veya pişmiş şekilde de tüketilmektedir. Genellikle, Türkiye’de Ege ve Karadeniz bölgelerinde çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerin bulunduğu bilinmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkiler tat ve koku vermeleri sebebiyle sıklıkla kullanılmaktadır [18]. aşağıdaki gibidir:

a) Uçucu yağ üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadırlar. Uçucu yağ üretimi en önemli kullanım alanlarından [19].

Çizelge 3 : Yıllara göre ülkemizde kahve, çay, tıbbi bitki ve baharatların ihracat değerleri (Amerikan Doları, \$) [10]

Ürün	2014 (\$)	2015 (\$)	2016 (\$)	2017 (\$)	2018 (\$)	2019 (\$)
Köri, defne yaprağı, kekik, zerdeçal zencefil, safran ve diğer baharatlar (biber hariç)	105971	106714	113613	109656	113700	107502
Anason, badian, rezene, kişniş, kimyon veya kimyon tohumu; ardıç meyveleri	29730	23031	35813	22987	31994	22379
Çay, aromalı ve aromasız	20414	23614	28585	24966	13090	15142
Kahve (kavrulmuş veya kafeini alınmış olsun olmasın); kahve kabukları ve derileri; kahve yerine kullanılanlar	7358	7162	9225	10704	12082	13299
Biber; <i>Capsicum</i> cinsinin kurutulmuş veya ezilmiş veya öğütülmüş meyveleri	7455	7311	7887	9097	8896	8687
Vanilya	779	257	315	213	396	751
Tarçın ve tarçın ağacı çiçekleri	178	164	203	189	265	267
Hindistan cevizi, kakule	81	119	91	109	144	189
Karanfil, bütün meyve, sapları	111	110	151	172	104	80
Mate	0	0	7	245	16	53

Kaynak: ITC, 2020

Özetle, tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları

b) Mutfaklarda baharat olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde perakende baharat satışı yapan firmalar tarafından pazara arz edilmektedir [20].

c) Tıbbi amaçlı kullanım alanları vardır. Çaylar, alkollü ekstraktlar, pomat, tentür, bitki özleri, krem, lavman, losyon, solüsyon, parfüm, şampuan, şurup, toz ve yağ formlarında kullanılırlar [21]. Bitkisel çaylar beğenilen lezzetlerinin yanında sağlıklı olmak için tüketilmektedir [22].

d) Gıda takviyesi olarak tıbbi aromatik bitkilerden faydalanılmaktadır. Türk Gıda Kodeksi tarafından Takviye Edici Gıdalar Tebliği’nde (Tebliğ No:2013/49) gıda takviyeleri “Normal beslenmeyi takviye etmek amacıyla, vitamin, mineral, protein, karbonhidrat, lif, yağ asidi, amino asit gibi besin öğelerinin veya bunların dışında besleyici veya fizyolojik etkileri bulunan bitki, bitkisel ve hayvansal kaynaklı maddeler, biyoaktif maddeler ve benzeri maddelerin konsantre veya ekstraktlarının tek başına veya karışımlarının kapsül, tablet, pastil, tek kullanımlık toz paket, sıvı ampul, damlalıklı şişe ve diğer benzeri sıvı veya

toz formlarda hazırlanarak günlük alım dozu belirlenmiş ürünler” şeklinde tanımlanmaktadır.

e) Çeşitli grup kozmetiklerin, boyaların, oda spreylerinin, dezenfektanların, bitkisel böcek ilaçlarının, böcek kovucuların üretiminde kullanılırlar.

f) Kanatlı sektöründe etlik piliçlerin beslenmesinde, tıbbi ve aromatik bitkilerin önemli yeri vardır. Antibiyotik kullanımının kısıtlanması nedeniyle bunların yerini alabilecek kanatlıların gelişiminde rol alabilecek yeni faktörler araştırılmaya başlanmıştır. Bunun sonucunda bitkilerden çıkarılan uçucu yağların ve bunların biyoaktif bileşenlerinin antilipidemik, antioksidan, antimikrobiyal özellikleri, performans artırıcı etkileri, yem verimliliğinin artması ve hayvanların hayatta kalma gücünü artırıcı etkileri olduğu belirtilmektedir [8].

g) Alkollü yada alkolsüz içeceklerde ve sigara endüstrisinde de yine tıbbi aromatik bitkilerden faydalanılmaktadır.

5. Tıbbi ve Aromatik Bitki Uçucu Yağları

Bitkilerin çiçek, meyve, ağaç kabuğu, yaprak, kök, sap, reçine ve ağaç kısımlarından elde edilen uçucu yağlar birçok alanda farklı amaçlar için kullanılır [23]. Uçucu yağların kimyasal yapıları ve biyolojik aktiviteleri üzerine çalışmalar mevcuttur [24-28]. Uçucu yağların bileşenleri üzerine yapılan çalışmalar, endüstriyel alanlarda kullanılabilmesini belirtir. Günümüzde tıbbi ve aromatik bitkilerin temel aktif maddelerinin ve uçucu yağlarının bilimsel ve ekonomik olarak elde edilip değerlendirilmesi oldukça önemlidir [23]. Uçucu yağ ihracatındaki artış, üretim tesislerinin sayısında da artışa neden olmaktadır. Akdeniz illerindeki üretim tesislerinde defne, kimyon, kekik, biberiye, limon yaprağı, melisa ve anason vb. tıbbi ve aromatik bitkilerden esansiyel yağ üretilmektedir [29].

Esansiyel veya eterik yağlar olarak da adlandırılan uçucu yağlar, bitkinin farklı kısımlarından elde edilen aromatik yağlı sıvılardır. Uçucu yağlar, düşük kaynama noktalı fenilpropaner ve terpenlerden oluşan sekonder metabolitlerin karmaşık karışımlarıdır. Özellikle karakteristik bitki özleri ve kokularından dolayı “bitki ve baharat” olarak tanımlanırlar [30]. Uçucu yağların kimyasal bileşimi, çevresel ve genetik faktörler, türler ve alt türler, coğrafi konum, toplanma mevsimi, kullanılan bitki kısmı ve izolasyon yönteminden etkilenebilir [23]. Özellikle, aromatik bitkilerin yetiştirme koşullarına göre gübrelenmesi, uçucu yağın miktarını ve kalitesini belirleyen önemli bir yetiştirme faktörüdür. Tarımsal üretim sonrasında tıbbi ve aromatik bitkilerin minimum düzeyde işlenip tüketilmesi gereklidir, çünkü biyoaktif bileşenlerini kaybedebilir [31].

Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin, uçucu yağları ve bileşenlerinin, antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Küflere ve bakterilere karşı antimikrobiyal etkinliği olan biberiye ve kekik uçucu yağları yaygın olarak kullanılmaktadır [32]. Günümüzde uçucu yağlar, gıda sanayinde bozulmayı önlemek ve ürünlerin raf ömrünü artırmak için biyokoruyucu olarak kullanılmaktadır [33]. Bu yağlar kompleks karışımlar oldukları için, etki dereceleri içerdikleri maddelerin miktarına ve çeşidine bağlı olarak değişmektedir [34].

Aromatik bitkiler ve uçucu yağları, fenolik bileşikler, öjenol, timol, karvakrol gibi doğal antioksidanları içerir [35]. Fenolik antioksidanların, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, enflamatuar barsak sendromu ve Alzheimer hastalığı gibi kronik hastalıkların gelişimini geciktirmede önemli rol oynadığı gösterilmiştir [36]. Fenolik antioksidanlar, bitkilerde ikincil metabolizmanın ürünleridir [37]. İnsan diyetlerinde tıbbi ve aromatik bitkilerin tüketimi az yer alıyor olsa da içerisinde barındırdıkları biyoaktif bileşenler sebebiyle fonksiyonel gıda uygulamalarında ya da doğal antioksidan kullanımlarında bu bitkiler önemli bir yer edinmektedir. Yapılan bir çalışmada kullanılan tıbbi ve aromatik bitkilerden anason, adaçayı, çemen, defne, ıhlamur, melisa, nane, reyhan, rezene ve sinamekide, ferulik asit, kafeik asit, klorojenik asit, protokateşuik asit, kersetin ve kampferol bulunmuştur [38].

Esansiyel yağlar lipid metabolizması, antioksidan enzimlerin aktivitesi ve çoklu doymamış yağ asitleri üzerinde faydalı etkiler gösterir [15]. Flavonoid türevlerinin antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar, antikanser ve antialerjik aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir [39].

Lipid oksidasyonu ürün kalitesini ve kabul edilebilirliğini sınırlayan faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Gıda endüstrisinde, antioksidanlar oksidasyonu geciktiren maddelerdir [40]. Yağların oksidatif stabilitelelerini ve raf ömürlerini arttırmak amacıyla propil gallatlar (PG), bütil hidroksitoluen (BHT), tersiyer bütil hidroksikininon (TBHQ), ve bütil hidroksianisol (BHA) vb. sentetik antioksidanlar kullanılmaktadır. Sentetik antioksidanlar etkin, stabil ve ekonomik olmalarına rağmen, bazı yan etkileri bulunmaktadır. Sentetik antioksidanların canlılarda karsinojenik ve teratojenik etkisinin bulunduğu dikkat çekilmektedir [41]. Son yıllarda tüketiciler doğal antioksidanları ve antimikrobiyal maddeleri tercih etmektedirler. Bu sebeple tüketici seçimleri, endüstriyi doğal antioksidan kaynakları bulmaya ve kullanmaya yöneltmiştir. Böylece aromatik bitkilerin kullanımı daha da önem kazanmaktadır [42].

6. Bazı Önemli Yağ Bitkileri

6.1. Lavanta (*Lavandula spp.*)

Lavanta, *Lamiaceae* familyasından önemli bir uçucu yağ bitkisidir [43]. Türkiye’de farklı lavanta türleri üzerinde çeşitli araştırmalar bulunmaktadır ve esansiyel yağ bileşenlerinin yüzdesi tür, iklim, genetik özellikler, toplanma ve işlenme şekilleri vb. faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Lavanta esansiyel yağının kalitesi linalool ve linalil asetat içeriğine bağlıdır. Diğer bileşikler arasında borneol, a-terpineol, terpinen-4-ol, lavandulil asetat, limonen, karyofilen, sineol, farnesen ve linalol oksitler bulunur. Ana bileşik sınıfı oksijenli monoterpenlerden oluşur ve büyük oranda monoterpen alkoller bulunur [44]. Lavanta çiçeklerinden elde edilen uçucu yağın geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Kozmetik endüstrisi için önem taşımaktadır [45]. Lavanta yağı, merkezi sinir sistemi üzerinde uyarıcı etkiye sahip olup, sakinleştirici, stres önleyici olarak kullanılır. Cilt tedavilerinde yanık ve kızarıklığa karşı fayda sağlamaktadır. Aromaterapi uygulamalarında lavanta yağı antiseptik,

antibiyotik etkisi nedeniyle ve uçucu yağın karakteristik özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır [46]

6.2. Kekik (*Origanum spp.*)

Kekik gıdalarda lezzet, aroma ve muhafaza edici özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılır. Genellikle yemeklere baharat olarak katılır [47]. Kekik, *Lamiaceae* familyasından önemli bir uçucu yağ bitkisidir ve *Origanum* cinsine ait dünyada 41 türü bulunur. Esansiyel yağlarının bileşenleri türlere göre farklılık göstermekle birlikte timol ve karvakrol baskın bileşenleridir [48]. Kekik esansiyel yağlarının biyolojik aktivite sergilediği bilinmektedir. Çoğunlukla timol, karvakrol gibi fenolik bileşiklerin varlığına ve γ -terpinen, p-sikmen gibi hidrokarbonlara bağlı güçlü antimikrobiyal aktivite sundukları için patojenik mikroorganizmaların büyümesini geciktirmek veya inhibe etmek için kullanılırlar [47], [49]. Ayrıca soğuk algınlığı ve boğaz enfeksiyonlarının tedavisinde rahatlatıcı olarak kullanılır. Kekik bitkisinin uçucu yağı yaygın olarak kas krampları, burkulmalar, kas ezilmesi gibi durumlarda, romatizmal ağrıların hafifletilmesinde, öksürük, epileptik nöbetler ve zatürre gibi hastalıkların iyileştirilmesinde kullanılır [46].

6.3. Kimyon (*Cuminum cyminum*)

Tek başına veya diğer baharatlarla karışım halinde kullanılan bir bahattır. Kimyonun ülkemizde en önemli kullanım alanı et ve et ürünleridir. Ayrıca et ürünlerinin marinasyonunda kullanılan soslarda da bulunmaktadır. Kimyon Avrupa ülkelerinden Norveç ve Hollanda'da bazı özel aromalı peynirlerde, Almanya ve Fransa'da ekmek ve kek gibi pastane ürünlerinde yaygın olarak kullanılır [50]. Kimyon tohumu, sabit yağ ve %1.5-4 arasında uçucu yağ içerir. Kumin aldehit kimyonun en önemli aktif bileşimidir. Uçucu yağının en çok kullanıldığı alan kozmetik endüstrisidir [51]. Uçucu yağı çıkarıldıktan sonra geriye artan posa ise hayvan yemi olarak değerlendirilebilir [50].

6.4. Rezene (*Foeniculum vulgare*)

Rezene, *Apiaceae* familyasından bir bitkidir. Rezene tıbbi olarak önemli bir bahattır. Tedavi edici özelliğinden dolayı ilaç gibi kullanılır. Halk arasında süt artırıcı, gaz giderici ve midevi özelliğinden dolayı yaygın kullanıma sahiptir [52]. Çeşitli çalışmalarda rezeneden elde edilen uçucu yağın antioksidan ve antimikrobiyal etkileri de olduğu belirlenmiştir [53]. Rezene uçucu yağının ana bileşeni trans-etanol'dür (%60-70). Diğer bileşikler anisaldehyd estragol, α -fenkon, limonen, karvon ve cis-anetol'dür [52], [54].

6.5. Reyhan (*Ocimum basilicum*)

Gıda sanayisinde baharat karışımlarında, şekerlemelerde, sirkelerde, bazı alkolsüz içeceklerde ve bazı çeşni karışımlarında kullanılır. Reyhan %0.3-1.0 arasında uçucu yağ içerir. Reyhandan kaliteli ve verimli bir ürün elde etmek için hasat edildiği dönem oldukça önemlidir. Hasat dönemi biyoaktif bileşenleri üzerinde de etkilidir. Uçucu yağları antimikrobiyal etki gösterir [55].

6.6. Papatya (*Matricaria spp.*)

Papatya farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Alternatif tıptaki kullanımı halk arasında oldukça yaygındır [56]. Çiçeklerin ana bileşenleri, fenolik bileşikler ve apigenin, kersetin, patulin, lutein ve glikozidleridir. Çiçeklerden ekstrakte edilen uçucu yağın temel bileşenleri α -bisabolol ve oksitleri, kamazulen ve asetilen türevleri dahil olmak üzere oksit azulendir [57]. Papatya bitkisinden elde edilen biyoaktif bileşenler ile yapılan çalışmalar papatyanın, antimikrobiyal, antioksidan, kolesterol düşürücü, antienflamatuvar, antimitojenik, spazm çözücü ve yatıştırıcı etkiye sahip olduğunu göstermektedir [58].

6.7. Ihlamur (*Tilia cordata* Miller)

Bitki çayı olarak özellikle kış mevsimlerinde çok tüketilen bir bitkidir [59]. Ihlamur uçucu yağlar bakımından oldukça zengindir. İçeriğinde bulunan aromatik yağlar parfümlerde ve diğer kozmetik ürünlerinde, gıdalarda, bazı ilaçlarda ve temizlik ürünlerinde kullanılır [60]. Uçucu yağı sineol, linalol, kafur, karvon, geraniol, timol, karvakrol, anetol, farnesol ve farnesil asetat gibi bileşenleri içerir. Ihlamur flavonoidler (hiperozit, astragalin, izokersitrin gibi kemferol ve kersetol heterozitleri ve bunların esterleri), klorojenik asit, kafeik asit gibi fenolikler ve müsilağ maddeleri bakımından zengindir. Ihlamur, antienflamatuvar, sedatif, antidepresan ve antimikrobiyal etkiye sahiptir [61].

6.8. Sinameki (*Cassia angustifolia*)

Sinameki ateş düşürücü olarak kullanılır. Kabızlık için önleyici etkiye sahiptir. İçerisinde bulunan antrokinon nedeniyle müsil özelliği gösterir. Ayrıca p-sitosterol, sennozid ile A, B, C ve D vitaminlerini içerir [62].

6.9. Anason (*Pimpinella anisum*)

Anason %1-6 oranında uçucu yağ içerir. Anasona has kokuyu veren trans-anetoldür. Anason bitkisinde bulunan bu uçucu yağ sindirim uyarıcı, balgam söktürücü, iltihap kurutucu ve antidepresan özelliğe sahiptir [63].

6.10. Çemen Otu (*Trigonella foenum-graecum*)

Çemen, *Fabaceae* familyasının, *Trigonella* cinsinde yer almaktadır. Sıklıkla tıpta, gıda, eczacılık ve kozmetik ürünlerinde kullanılır [64]. Çemen bir baharat bitkisidir. Türkiyede birçok ilde tarımı ve ihracatı yapılmaktadır [65]. Çemen otu tohumu gıda endüstrisinde ekmek, alkollü içecekler, şekerleme ürünleri, çeşniler, dondurma, jelatin, şurup ve şekerli soslar, sakızlar, pudingler ve şekerli kremalar ve et ürünleri gibi ürünlerde kullanılır. Baharat karışımları ile birlikte turşular, çorbalar, salatalar, güveçler, soslar ve etlerde kullanılır [66]. Çemen otu tohumu önemli miktarda protein, mineral madde ve vitamin içerir [67]. Ağır bir kokuya sahip olan çemen tohumu %6.5 oranında sabit yağ içermektedir [61]. Çemenden ürünlerin üretim standartlarının iyileştirilmesi için, en uygun üretim parametrelerinin belirlenmesi ve kullanım alanlarının genişletilmesi gerekmektedir [65].

6.11. Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum*)

Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalarla bitkinin sedatif etkisi tespit edilmiştir. Karaciğeri koruyucu etkinliği ve ağrı giderici etkisi olduğu da belirlenmiştir. Özellikle yanıkların tedavisinde kullanımı ile ilgili yapılmış çalışmalar literatürde mevcuttur. Sarı kantaron, %6.5-15 kateşik tanen, proantosiyanidinler, flavonoidler, rutin, kesretin, %0.05-1.0 oranında uçucu yağ, %0.05-0.15 naftodiantronlar, ksantonlar, steroller ile A ve C vitaminlerini içerir [42]. Sarı kantaron bitkisi kantaron çayı, kantaron detoksu, kantaron yağı, kantaron tentürü ve kantaron ekstresi olarak kullanılır. Özellikle bitkinin çiçek, yaprak ve saplarından elde edilen ekstraların üretimi yaygındır [68], [69].

6.12. Adaçayı (*Salvia officinalis*)

Baharat, aromaterapi, parfümeri, sabun, kozmetik, boya ve gıda endüstrisinde adaçayının kullanım alanları bulunmaktadır. Güve ve sinek kovucu etkisi vardır. Antibakteriyel özelliğinden dolayı tıbbi amaçlı olarak da kullanılmaktadır. Terleme karşıtıdır. Bitkisel deodorantların içeriğinde yer almaktadır. Menapoz dönemindeki rahatsızlıkların hafifletilmesinde etkilidir [46]. Adaçayının yapraklı kısımları %0.5-2.5 oranında uçucu yağ bulundurmaktadır. Adaçayı bitkisinin yağı, α -, β -thujon, okaliptol, kafur, borneol, boril asetat gibi bileşenleri içermektedir. Sineol, adaçayının temel aktif bileşimidir. Adaçayı nezle, soğuk algınlığı, boğaz rahatsızlıkları gibi hastalıklarda çay formunda kullanılmaktadır. Boğaz ve solunum yolları enfeksiyonlarında antiseptik ve fungusit etkisi sebebiyle kullanılmaktadır. Türkiye’de tıbbi adaçayı’nın, bazı firmalar tarafından tarımına da başlanmıştır [9].

7. Hammaddelerin Kalitesi ve Ürün Standardizasyonun Belirlenmesi

Tıbbi ve aromatik bitkilerin kalite ve standardizasyonu ile ilgili faktörleri incelediğimizde bazı hususlar dikkat çekmektedir. Bunlar doğru hammadde kaynağı ülke ya da bölge, botanik isim, hasat zamanı, duyuşal testler, makroskopik, mikroskopik ve kimyasal testlerdir. Günümüzde kalite standardının önemi giderek artmaktadır [20].

Türk Standartlar Enstitüsü’nün bir takım tıbbi ve aromatik bitkiler hakkında çalışmaları bulunmaktadır. Fakat bunlar tüm bitkileri kapsamamaktadır [20]. Bu bitkilerin tüketiciler tarafından güvenle kullanılabilmesi için üretilen ürünlerin standardize edilmesi ve denetim standartlarının oluşturulması da son derece önem arz etmektedir [29].

8. Sonuç

Tıbbi ve aromatik bitkiler fonksiyonel özellikleri sebebiyle geleneksel olarak kullanımı ile birlikte farklı endüstri alanlarında da kullanılmaktadır. Doğadan toplama ve endüstriyel üretimi yapılan bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin yetiştiği bölge, iklim koşulları ve toprak özellikleri bitki bileşenlerini doğrudan etkilemektedir. Bu sebeple kayıtlı tohum ve tür sayımızın artırılması hedeflenmeli, iyi tarım

uygulamaları kullanılmalı ve üretim standardize edilmez. Endüstride tıbbi ve aromatik bitkilerin tarımsal üretimi ve kullanımı artırılmalıdır.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin yaygın kullanımı insanların sağlık üzerine farkındalıklarının artması, hastalıklara karşı önlem alma ve kendi tedavilerini oluşturma istekleri ile ilgilidir. Bu yaklaşımlar tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni endüstriyel ürünlere dönüştürülmesinde teşvik edicidir. Gıda takviyeleri, baharatlar, bitkisel ekstraktlar ve bitki çayları gibi ürünler kodeks ve farmakopelere uygun, standart yöntemler uygulanarak üretilmelidir.

Uçucu yağ bileşenleri potansiyel biyolojik aktiviteye sahiptir. Özellikle uçucu yağ bileşenleri antimikrobiyal aktivite ve antioksidan aktivite göstermektedir. Yaygın olarak anason, defne, kimyon, melisa, kekik ve biberiye vb. tıbbi ve aromatik bitkilerden uçucu yağ üretilmektedir. Uçucu yağın aktif bileşen miktarlarının artırılması, üretim aşamalarında bileşen kayıplarının yaşanmaması için önlemler alınmalı ve yeni üretim yöntemleri geliştirilmelidir.

Sonuç olarak tıbbi ve aromatik bitkiler gıda katkı maddelerine, sentetik antioksidanlara ve sentetik ilaç etkin maddelerine alternatif olabilir.

9. Kaynaklar

- [1] Nohutçu, L., Tunçtürk, M., Tunçtürk, R. (2019). Yabani bitkilerin korunması ve sürdürülebilirlik. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 24(2), 142-151.
- [2] Solomou, A. D., Martinos, K., Skoufogianni, E., Danalatos, N. G. (2016). Medicinal and aromatic plants diversity in Greece and their future prospects: A review. Agricultural Science, 4(1), 9-21.
- [3] Aftab, T. (2019). A review of medicinal and aromatic plants and their secondary metabolites status under abiotic stress. Journal of Medicinal Plants, 7(3), 99-106.
- [4] Ağca, A.C., (2017). Geleneksel ve tamamlayıcı tıp ürünlerinin ruhsatlandırılması sempozyumu raporu. Türkiye Bilimler Akademisi, Ankara, Türkiye, Bildiriler Kitabı, 25-28p.
- [5] Baidoo, M. F., Asante-Kwatia, E., Mensah, A. Y., Sam, G. H., Amponsah, I. K. (2019). Pharmacognostic characterization and development of standardization parameters for the quality control of *Entada africana* Guill. Perr. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 12, 36-42.
- [6] Kılıç, S. (2018). Aromatik bitki ve yağlarının mineral element miktarlarının karşılaştırılması. GIDA, 43(4), 617-623.
- [7] Türkiye İstatistik Kurumu Verileri, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 [Erişim: 20.06.2020].
- [8] Adıyaman, E., Ayhan, V. (2010). Etlik piliçlerin beslenmesinde aromatik bitkilerin kullanımı. Hayvansal Üretim, 51(1).
- [9] Bayraktar, Ö. V., Öztürk, G., Arslan, D. (2017). Türkiye’de bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin üretimi ve pazarlamasındaki gelişmelerin değerlendirilmesi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 26(2), 216-229.

- [10] ITC (2020). International Trade Statistics Database <http://www.trademap.org/>, (Erişim Tarihi: 29.06.2020).
- [11] Ekren, S., Sönmez, Ç., Sancaktaroğlu, S., Bayram, E. (2007). Farklı biçim yüksekliklerinin adaçayı (*Salvia officinalis* L.) genotiplerinde agronomik ve teknolojik özelliklere etkisinin belirlenmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 44(1), 55-70.
- [12] Aslan, R. (2019). Gelenekten günümüze tıbbi ve aromatik bitkiler. Ayrıntı Dergisi, 7(73).
- [13] Omogbadegun, Z. O. (2018). Medicinal and aromatic plants productivity and sustainability monitoring framework. European Journal of Medicinal Plants, 1-24.
- [14] Igwillo U. C., Ola-Adedoyin A. T., Abdullahi M. M And Chukwuemeka A. E. (2019). A review of opportunities and challenges in conservation and use of medicinal and aromatic plants in Nigeria. International Journal of Advanced Research, 7 (4). 770-778 (ISSN 2320-5407)
- [15] Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic plants as a source of bioactive compounds. Agriculture, 2(3), 228-243.
- [16] Unsal, V., Toroğlu, S., Kurutaş, E. B., Taner, S. Ş., Atalay, F., Bahar, G. (2014). Dereotu, semizotu ve roka'da antioksidan ve antimikrobiyal aktivitenin araştırılması. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(2), 25-32.
- [17] McLean, K. G., Johnston, S., Castillo, A. R. (2012). The role of indigenous peoples in global environmental governance: Looking through the lens of climate change. Green Economy and Good Governance for Sustainable Development: Opportunities, Promises and Concerns, United Nations Press, Tokyo.
- [18] Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 11(1), 52-67.
- [19] Temel, M., Tımmaz, A. B., Öztürk, M., Gündüz, O. (2018). Dünyada ve Türkiye'de tıbbi-aromatik bitkilerin üretimi ve ticareti. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 21, 198-214.
- [20] Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Kızıl, O. A. S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi (2010), 11-5.
- [21] Göktaş, Ö., Gıdık, B. (2019). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları. Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 2(1), 145-151.
- [22] Toker, R., Gölükcü, M., Tokgöz, H., Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (2015). Tıbbi ve aromatik bitkilerin gıda sanayisinde kullanım alanları. Türkiye Tohumcular Birliği, 15, 54-59
- [23] Çelik, E., Çelik, G. Y. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 5(2), 1-6.
- [24] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446-475.
- [25] Kaskatepe, B., Kıymacı, M. E., Suzuk, S., Erdem, S. A., Cesur, S., Yıldız, S. (2016). Antibacterial effects of cinnamon oil against carbapenem resistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates. Industrial Crops and Products, 81, 191-194.
- [26] Oliveira, R. C., Carvajal-Moreno, M., Correa, B., Rojo-Callejas, F. (2020). Cellular, physiological and molecular approaches to investigate the antifungal and anti-aflatoxigenic effects of thyme essential oil on *Aspergillus flavus*. Food Chemistry, 315, 126096.
- [27] Şenol, F. S., Orhan, I. E., Erdem, S. A., Kartal, M., Şener, B., Kan, Y., Doğan, M. (2011). Evaluation of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of wild and cultivated samples of sage (*Salvia fruticosa*) by activity-guided fractionation. Journal of Medicinal Food, 14(11), 1476-1483.
- [28] Agatonovic-Kustrin, S., Kustrin, E., Morton, D. W. (2019). Essential oils and functional herbs for healthy aging. Neural regeneration research, 14(3), 441-445.
- [29] Gölükcü, M., Tokgöz, H., Toker, R., Çelikyurt, M. A., Tuğrul A.S. (2012). Tıbbi ve aromatik bitki işletmelerinin yapısal analizi. Erdem Ofset, Antalya.
- [30] Brenes, A., Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. Animal Feed Science and Technology, 158(1-2), 1-14.
- [31] Kutlu, M., Cakmakçı, R., Hosseinpour, A., Karagöz, H. (2019). The use of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr)'s effect on essential oil rate, essential oil content, some morphological parameters and nutrient uptake of turkish oregano. Applied Ecology And Environmental Research, 17(2), 1641-1653
- [32] Uçar, E., Köse, E. O., Özyiğit, Y., Turgut, K. (2015). Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerde esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10(2), 118-124..
- [33] Van Vuuren, S. F., du Toit, L. C., Parry, A., Pillay, V., Choonara, Y. E. (2010). Encapsulation of essential oils within a polymeric liposomal formulation for enhancement of antimicrobial efficacy. Natural product communications, 5(9), 1401-1408. .
- [34] Bayaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antitumör aktivite. Academic Food Journal/Akademik GIDA, 12(3).
- [35] Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., Kanazawa, K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. Journal Of Agricultural And Food Chemistry, 51(3), 571-581.
- [36] Chun, S.S., Vatter, D.A., Lin, Y.T., Shetty, K. (2005). Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. Process Biochemistry, 40(2), 809- 816.
- [37] Miron, T. L., Gazi, I., Del Moral, M. P. (2010). Romanian aromatic plants as sources of antioxidants. Innovative Romanian Food Biotechnology, 6, 18.
- [38] Karadağ, A. (2019). Türkiye'deki bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin antioksidan potansiyelleri ve fenolik kompozisyonları. Avrupa Bilim Ve Teknoloji Dergisi, (16), 631-637.
- [39] Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., de Tommasi, N. (2005). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. Food Chemistry, 92(2), 349-355.
- [40] Miguel, M.G. (2010). Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. Flavour and Fragrance Journal, 25, 291-312.
- [41] Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M. (2013). Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6(2), 233-265.
- [42] Deveci, H. A., Nur, G., Kırpık, M., Harmankaya, A., Yıldız, Y. (2016). Fenolik bileşik içeren bitkisel

antioksidanlar. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9(1), S26-32.

[43] Kara, N. Baydar, H. (2011). Türkiye’de lavanta üretim merkezi olan Isparta ili Kuyucak yöresi lavantalarının uçucu yağ özellikleri. Selçuk Journal of Agriculture and Food Sciences, 25(4), 42-46

[44] Prusinowska, R., Śmigielski, K. B. (2014). Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A review. Herba Polonica, 60(2), 56-66.

[45] Arabacı, O., Bayram, E. (2005). Aydın ekolojik koşullarında lavanta (*Lavandula angustifolia* Mill.)’nın Bazı agronomik ve kalite özellikleri üzerine bitki sıklığı ve azotlu gübrenin etkisi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2(2), 13-19.

[46] Güler, H. K., Dönmez, İ., Aksoy, S. A. (2015). Tıbbi ve aromatik bitkilerin antibakteriyel aktivitesi ve tekstil sektöründe kullanımı. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi, 10(2), 27-34.

[47] Santoro, G. F., das Graças Cardoso, M., Guimarães, L. G. L., Salgado, A. P. S., Menna-Barreto, R. F., Soares, M. J. (2007). Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. Parasitology Research, 100(4), 783-790.

[48] Bayar, F. U., Çınar, O. (2020). Kültür koşullarında yetiştirilen farklı *Origanum* spp. türlerinin bazı verim ve kalite parametreleri. Derim, 10-17.

[49] Kaskatepe, B., Yıldız, S. S., Kıymacı, M. E., Yazgan, A. N., Cesur, S., Erdem, S. A. (2017). Chemical composition and antimicrobial activity of the commercial *Origanum onites* L. oil against nosocomial carbapenem resistant extended spectrum beta lactamase producer *Escherichia coli* isolates. Acta Biologica Hungarica, 68(4), 466-476.

[50] Polat, Ü., Yüksel, K. A. N. (2006). Kimyon (*Cuminum cyminum* L.) tohumlarına yapılan farklı kimyasal uygulamaların verim ve bazı karakterleri üzerine etkileri. Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi, 20(40), 65-72.

[51] Kızıl, S., Arslan, N., İpek, A. (2003). Farklı kimyon (*cuminum cyminum* L.) hatlarının Diyarbakır ekolojik koşullarında adaptasyonu üzerine bir çalışma. Tarım Bilimleri Dergisi, 9 (3) 340-343

[52] Kan, Y., Kartal M., Aslan S., Yıldırım N., (2006). Composition of essential oil of fennel fruits cultivated at different conditions. Journal Of Faculty Of Pharmacy Of Ankara University, Ankara, 35 (2): 95–101.

[53] Karayel, H. B. (2019). Kütahya-Gediz koşullarında yetiştirilen rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.)bitkisinin uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi. Avrupa Bilim Ve Teknoloji Dergisi, (16), 131-135.

[54] Yeşilbağ, D. (2018). Yumurtacı bildircin rasyonlarına biberiye ve rezene uçucu yağı ilavesinin performans ve yumurta kalite parametreleri üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 65(4), 413-418..

[55] Sönmez, Ç., Soysal, A. Ö. Ş., Yıldırım, A., Berberoğlu, F., Bayram, E. (2019). Farklı biçim zamanlarının yeşil ve mor fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) tiplerinde bazı verim ve kalite özellikleri üzerine etkisi. Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 29(1), 39-49.

[56] Sökmen, B. B., Burçak, Sari., Tuğba, Azap (2018). Papatyadan (*Matricaria chamomilla* L.) lipaz enziminin saflaştırılması ve çeşitli taşıyıcılara immobilize edilmesi. Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 8(1), 131-143.

[57] Murti, K., Panchal, M. A., Gajera, V., Solanki, J. (2012). Pharmacological properties of *Matricaria recutita*: a review. Pharmacologia, 3(8), 348-351.

[58] McKay, D. L., Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 20(7), 519-530.

[59] Parlak, S., Gönültaş, O., Hamurcu, H. (2019). Gümüşü ıhlamur (*Tilia tomentosa Moench*) doğal popülasyonlarında çiçek yağ verimini etkileyen fizyografik faktörler. Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 20(1), 1-6.

[60] Koç, S., Fakir, H. (2019). Yaz ıhlamuru (*Tilia platyphyllos Scop.*)’nun bazı morfolojik özellikleri ile yaprak ve çiçek uçucu bileşenlerinin belirlenmesi. Bilge International Journal Of Science And Technology Research, 29.

[61] Toker, G. (1995). Ihlamur çiçek ve kabuklarının biyolojik aktivitesi ve kullanılışı. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, 20, 75-79.

[62] Çalhoğulları, P. (2016). Çay olarak tüketilen bazı bitkilerin sindirim enzimleri üzerinde in vitro inhibitör etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi.

[63] Hajyzadeh, M., Yıldırım, M. U., Karagöz, İ., Sarıhan, E. O., Khawar, K. M. (2017). Farklı yaşlardaki anason (*Pimpinellaanisum* L.) tohumlarının çimlenmesine gibberellikasitin (Ga3) etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 20, 332-336.

[64] Gökçe, Z., Efe, L. (2016). Çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) bitkisinin kullanım alanları ve tıbbi önemi. Nevşehir Bilim Ve Teknoloji Dergisi, 5, 355-363.

[65] Küçük, M , Gürbüz, B . (1999). Bazı Çemen (*Trigonella foenum-graecum*) hatlarında yağ ve yağ asitleri bileşenlerinin araştırılması. Gıda, 24 (2).

[66] Tokbay, İ. İ. (2007). Aydın ekolojik koşullarında farklı ekim zamanı ve sıra aralığının çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.)’in verim ve kalite özelliklerine etkisi. Doctoral dissertation, Adnan Menderes Üniversitesi.

[67] Wu, Z., Cai, Y.S., Yuan, R., Wan, Q., Xiao, D., Lei, J., Yu, J. (2020). Bioactive pterocarpanes from *Trigonella foenum-graecum* L. Food Chemistry, 313, 126092.

[68] Mahady G.B., Fong H.H.S., Farnsworth N.R. (2001). Botanical dietary supplements: quality, safety and efficacy. Lisse, The Netherlands: Swets and Zeilinger.

[69] Çırak, C., Kurt, D. (2014). Önemli tıbbi bitkiler olarak *hypericum* türleri ve kullanım alanları. Anadolu, Journal of Aegean Agricultural Research Institute, 24 (1), 42 - 58.