

eISSN: 2564-6524



ANKARA ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
DERGİSİ

JOURNAL OF FACULTY OF PHARMACY
OF
ANKARA UNIVERSITY

Cilt / Vol : 45
Sayı / No : 1
Yıl / Year : 2021

eISSN: 2564-6524



**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
DERGİSİ**

**JOURNAL OF FACULTY OF PHARMACY
OF
ANKARA UNIVERSITY**

**Cilt / Vol: 45
Sayı / No: 1
Yıl / Year: 2021**

ANKARA ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ DERGİSİ

(Ankara Ecz. Fak. Derg.)

eISSN: 2564-6524

Sahibi:

Prof. Dr. Asuman BOZKIR

Baş Editör:

Prof. Dr. İlkay YILDIZ

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı,
06560 Yenimahalle-ANKARA,
Tel: 0 312 203 30 69
Faks: 0 312 213 10 81
e-posta: iyildiz@pharmacy.ankara.edu.tr*

Yardımcı Editörler:

Prof. Dr. Canan HASÇİÇEK

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
e-posta: cogan@pharmacy.ankara.edu.tr*

Doç. Dr. Işıl ÖZAKÇA GÜNDÜZ

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı
e-posta: ozakca@pharmacy.ankara.edu.tr*

Alan Editörleri:

Doç. Dr. İlker ATEŞ

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
e-posta: iates@pharmacy.ankara.edu.tr*

Doç. Dr. Özgür ÜSTÜNDAĞ

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı
e-posta: ustundag@pharmacy.ankara.edu.tr*

Doç. Dr. Ceyda Tuba ŞENGEL TÜRK

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
e-posta: ctsengel@pharmacy.ankara.edu.tr*

Doç. Dr. Özge ÜLKER

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
e-posta: oulker@pharmacy.ankara.edu.tr*

Doç. Dr. Banu KAŞKATEPE

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
e-posta: bkaskatepe@ankara.edu.tr*

Doç. Dr. Kayhan BOLELLİ

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
e-posta: bolelli@ankara.edu.tr*

Dr. Öğr. Üyesi Ash KOÇ

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı
e-posta: akoc@ankara.edu.tr*

Dr. Burçin ERGENE

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı
e-posta: ergene@pharmacy.ankara.edu.tr*

Dr. Zuhâl KILIÇ KURT

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
e-posta: zkurt@ankara.edu.tr*

Dr. M. Mesud HÜRKUL

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı
e-posta: mhurkul@ankara.edu.tr*

Dr. Gizem GÜLPINAR

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık İşletmeciliği Anabilim Dalı
e-posta: gaykac@ankara.edu.tr*

Dr. Berna GÜVEN

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı
e-posta: bguven@ankara.edu.tr*

Dr. Derya ÇİÇEK POLAT

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı
e-posta: polatd@ankara.edu.tr*

Dr. Ecem KAYA SEZGİNER

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı
e-posta: ecemkaya@ankara.edu.tr*

Dr. Aysu SELÇUK

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Klinik Eczacılık Anabilim Dalı
e-posta: aysuselcuk@ankara.edu.tr*

Ecz. Melek KARACAOĞLU

*Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı
e-posta: mkaracaoglu@ankara.edu.tr*

Editorial Danışma Kurulu:

- Prof. Dr. Afonso Miguel Neves CAVACO *Lizbon Üniversitesi, Lizbon, PORTEKİZ*
Prof. Dr. Arzu Onay BEŞİKCİ *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Athina GERONIKAKI *Aristoteles Üniversitesi, Selanik, YUNANİSTAN*
Prof. Dr. Ayşegül KÖROĞLU *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Bezhan CHANKVETADZE *Ivane Javakhishvili Tiflis Devlet Üniversitesi, Tiflis, GÜRCİSTAN*
Prof. Dr. Bilgehan DOĞRU *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ *İstanbul Üniversitesi, İstanbul, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Gülbin ÖZÇELİKAY *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Gülçin Hayriye SALTAN İŞCAN *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Gülgün AYHAN KILCIGİL *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Istvan TOTH *Queensland Üniversitesi, AVUSTRALYA*
Prof. Dr. Ivan KOSALEC *Zagreb Üniversitesi, Zagreb, HIRVATİSTAN*
Prof. Dr. İlkay KÜÇÜKGÜZEL *Marmara Üniversitesi, İstanbul, TÜRKİYE*
Prof. Dr. İncilay SÜSLÜ *Hacettepe Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Lütfiye Ömür DEMİREZER *Hacettepe Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Milan STEFEK *Slovak Bilim Akademisi, Bratislava, SLOVAK CUMHURİYETİ*
Prof. Dr. Mine HOŞGÖR LİMONCU *Ege Üniversitesi, İzmir, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL *Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Nina CHANISHVILI *George Eliava Bak., Mik. ve Vir. Enstitüsü, Tiflis, GÜRCİSTAN*
Prof. Dr. Nurten ALTANLAR *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Rudolf BAUER *Graz Üniversitesi, Graz, AVUSTURYA*
Prof. Dr. Selen YEGENOĞLU *Hacettepe Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN *Gazi Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Sibel Ayşıl ÖZKAN *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Şükran KÜLTÜR *İstanbul Üniversitesi, İstanbul, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Tülay ÇOBAN *Ankara Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*
Prof. Dr. Ülfet Pınar ERKEKOĞLU *Hacettepe Üniversitesi, Ankara, TÜRKİYE*

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi (*Ankara Ecz. Fak. Derg.*) Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nin resmi bilimsel bir dergisidir. 1971 ve 2010 yılları arasında basılı olarak yayımlanmıştır.

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi yılda 3 sayı olarak (Ocak-Mayıs-Eylül) yayımlanır. Bu dergi açık erişim, hakemli bir dergi olup, Türkçe veya İngilizce olarak farmasötik bilimlerdeki önemli gelişmeleri içeren orijinal araştırmalar, derlemeler ve kısa bildirimler için uluslararası bir yayın ortamıdır. Yayımlanan yazıların sorumluluğu yazar(lar)ına aittir. Dergiye gönderilen makalelerin daha önce tamamen veya kısmen başka bir yerde yayımlanmamış veya yayımı için başka bir yere başvuruda bulunulmamış olması gereklidir. Makaleler derginin yazım kurallarına uymalıdır.

Tarandığı İndeksler

- Scopus
- Google Scholar (GS)
- Excerpta Medica Database (EMBASE)
- Scimago Journal & Country Rank (SJR)
- OpenAIRE
- UDLEdge (i-Focus, i-Future, i- Journals)
- Index Copernicus

Web adresi: <http://journal.pharmacy.ankara.edu.tr/>

JOURNAL OF FACULTY OF PHARMACY OF ANKARA UNIVERSITY

(J. Fac. Pharm. Ankara)

eISSN: 2564-6524

Owner:

Prof. Dr. Asuman BOZKIR

Editor-in-Chief:

Prof. Dr. İlkay YILDIZ

*Ankara University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry
06560 Yenimahalle-Ankara/TURKEY
Tel: 0 312 203 30 69
Fax: 0 312 213 10 81
e-mail: efd.editor@ankara.edu.tr*

Associate Editors:

Prof. Dr. Canan HASÇİÇEK

*Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology
e-posta: cogan@pharmacy.ankara.edu.tr*

Assoc. Prof. Dr. Işıl ÖZAKÇA GÜNDÜZ

*Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology
e-posta: ozakca@pharmacy.ankara.edu.tr*

Section Editors:

Assoc. Prof. Dr. İlker ATEŞ

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology

e-mail: iates@pharmacy.ankara.edu.tr

Assoc. Prof. Dr. Özgür ÜSTÜNDAĞ

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry

e-mail: ustundag@pharmacy.ankara.edu.tr

Assoc. Prof. Dr. Ceyda Tuba ŞENGEL TÜRK

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology

e-mail: ctsengel@pharmacy.ankara.edu.tr

Assoc. Prof. Dr. Özge ÜLKER

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology

e-mail: oulker@pharmacy.ankara.edu.tr

Assoc. Prof. Dr. Banu KAŞKATEPE

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology

e-mail: bkaskatepe@ankara.edu.tr

Assoc. Prof. Dr. Kayhan BOLELLİ

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry

e-mail: bolelli@ankara.edu.tr

Assist. Prof. Dr. Aslı KOÇ

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry

e-mail: akoc@ankara.edu.tr

Dr. Burçin ERGENE

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy

e-mail: ergene@pharmacy.ankara.edu.tr

Dr. Zuhâl KILIÇ KURT

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry

e-mail: zkurt@ankara.edu.tr

Dr. M. Mesud HÜRKUL

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany

e-mail: mhurkul@ankara.edu.tr

Dr. Gizem GÜLPINAR

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacy Business Administration

e-mail: gaykac@ankara.edu.tr

Dr. Berna GÜVEN

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology

e-mail: bguven@ankara.edu.tr

Dr. Derya ÇİÇEK POLAT

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany

e-mail: polatd@ankara.edu.tr

Dr. Ecem KAYA SEZGİNER

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry

e-mail: ecemkaya@ankara.edu.tr

Dr. Aysu SELÇUK

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Clinical Pharmacy

e-mail: aysuselcuk@ankara.edu.tr

Pharm. Melek KARACAOĞLU

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy

e-mail: mkaracaoglu@ankara.edu.tr

Editorial Advisory Board:

- Prof. Dr. Afonso Miguel Neves CAVACO *University of Lisbon, Lisbon, PORTUGAL*
Prof. Dr. Arzu ONAY BEŐIKCİ *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Athina GERONIKAKI *Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, GREECE*
Prof. Dr. Ayőegöl KÖROĞLU *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Bezhan CHANKVETADZE *Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, GEORGIA*
Prof. Dr. Bilgehan DOĞRU *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Gökçe TOPAL TANYILMAZ *İstanbul University, İstanbul, TURKEY*
Prof. Dr. Gülbin ÖZCELİKAY *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Gülçin Hayriye SALTAN İŞCAN *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Gülgün AYHAN KILCIGİL *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Istvan TOTTH *University of Queensland, AUSTRALIA*
Prof. Dr. Ivan KOSALEC *Zagreb University, Zagreb, CROATIA*
Prof. Dr. İlkey KÜÇÜKGÜZEL *Marmara University, İstanbul, TURKEY*
Prof. Dr. İncilay SÜSLÜ *Hacettepe University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Lütfiye Ömür DEMİREZER *Hacettepe University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Milan STEFEK *Slovak Academy of Sciences, Bratislava, SLOVAK REPUBLIC*
Prof. Dr. Mine HOŞGÖR LİMONCU *Ege University, İzmir, TURKEY*
Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL *Anadolu University, Eskişehir, TURKEY*
Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Nina CHANISHVILI *George Eliava Institute of Bac., Mic. and Vir., Tbilisi, GEORGIA*
Prof. Dr. Nurten ALTANLAR *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Rudolf BAUER *University of Graz, Graz, AUSTRIA*
Prof. Dr. Selen YEĞENOĞLU *Hacettepe University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Sevgi AKAYDIN *Gazi University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Sibel Aysıl ÖZKAN *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. şükran KÜLTÜR *İstanbul University, İstanbul, TURKEY*
Prof. Dr. Tülay ÇOBAN *Ankara University, Ankara, TURKEY*
Prof. Dr. Ülfet Pınar ERKEKOĞLU *Hacettepe University, Ankara, TURKEY*

Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University (*J. Fac. Pharm. Ankara*) is official scientific journal of Ankara University Faculty of Pharmacy. It was published between 1971 and 2010 as a print.

Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University is published three times (January-May-September) a year. It is an international medium, an open access, peer-reviewed journal for the publication of original research reports, reviews and short communications in English or Turkish on relevant developments in pharmaceutical sciences. All the articles appeared in this journal are published on the responsibility of the author(s). The manuscript submitted to the journal should not be published previously as a whole or in part and not be submitted elsewhere. The manuscripts should be prepared in accordance with the requirements specified.

Indexing and Abstracting

- Scopus
- Google Scholar (GS)
- Excerpta Medica Database (EMBASE)
- Scimago Journal & Country Rank (SJR)
- OpenAIRE
- UDLEdge (i-Focus, i-Future, i- Journals)
- Index Copernicus

Web address: <http://journal.pharmacy.ankara.edu.tr/>

İÇİNDEKİLER / CONTENTS 45(1), 2021

Özgün Makaleler / Original Articles








Sayfa / Page

- Aysel PEHLİVANLI, Büşra AKYOL, Özlem SESYILMAZ, Ömer GÖÇÜN, Arzu ONAY BEŞİKCİ, Arif Tanju ÖZÇELİKAY, Gülbın ÖZÇELİKAY – **THE ROLE OF THE PHARMACIST IN HYPERTENSION MANAGEMENT: A MODEL APPLICATION IN PRIMARY HEALTH CARE – HİPERTANSİYON TEDAVİ YÖNETİMİNDE ECZACININ ROLÜ: AİLE SAĞLIĞI MERKEZİ'NDE BİR MODEL UYGULAMASI** 1
- Muhammed Mesud HÜRKUL, Ayşegül KÖROĞLU – **TÜRKİYE'DE DOĞAL OLARAK YETİŞEN BAZI COTONEASTER MEDİK. (ROSACEAE) TÜRLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ – COMPARATIVE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SOME COTONEASTER MEDİK. (ROSACEAE) SPECIES NATIVE TO TURKEY** 12
- Nilay TARHAN – **ECZACILIK ÖĞRENCİLERİNİN İNTERNET ÖZ-YETERLİKLERİ – INTERNET SELF-EFFICACY OF PHARMACY STUDENTS** 34
- Buket HAYAT, Muhsin Selçuk YAVUZ, Engin ŞAHİN, Onur DİRİCAN, Sezen YILMAZ SARIALTIN, Can YILMAZ, Işıl YILDIRIM, Tülay ÇOBAN, Gülçın GÜLER ŞİMŞEK, Serpil OĞUZTÜZÜN – **KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞINDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ MU1 VE TETA1 POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ – THE ROLE OF GLUTATION-S-TRANSFERASE MU1 AND TETA1 POLYMORPHISMS IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE** 41
- Thenmozhi MANI, Rajeswari SIVARAJ – **SCREENING OF ANTI-PEPTIC ULCER ACTIVITY OF JASMINUM SAMBAC – JASMINUM SAMBAC'IN ANTI-PEPTİK ÜLSER AKTİVİTE TARAMASI** 57
- Derlemeler / Reviews**
- Hatice DEMİRTAŞ, Ceyda Tuba ŞENGEL TÜRK – **ALTIN NANOPARTİKÜLLER VE KANSERDE KULLANIMLARI – GOLD NANOPARTICULES AND USES IN CANCER** 70
- Betül ÇAKMAK, Bahar İNKAYA – **MİKROBİYOTANIN HASTALIKLAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ – THE EFFECT OF MICROBIOTA ON DISEASES** 96
- Melike ONGUN, Başaran MUTLU AĞARDAN, Füsun ACARTÜRK – **ALT ÜNİTE BAZLI AŞILARIN PULMONER UYGULAMASINA GENEL BAKIŞ – AN OVERVIEW OF SUBUNIT-BASED VACCINES FOR PULMONARY ADMINISTRATION** 109
- Meliha EKİNCİ, Derya İLEM ÖZDEMİR – **NANOTERANOSTİKLER – NANOTHERANOSTICS** 131



THE ROLE OF THE PHARMACIST IN HYPERTENSION MANAGEMENT: A MODEL APPLICATION IN PRIMARY HEALTH CARE

*HİPERTANSİYON TEDAVİ YÖNETİMİNDE ECZACININ ROLÜ: AİLE SAĞLIĞI
MERKEZİ'NDE BİR MODEL UYGULAMASI*

Aysel PEHLİVANLI¹ , Büşra AKYOL² , Özlem SESYILMAZ³ , Ömer GÖÇÜN⁴ , Arzu
ONAY BEŞİKÇİ² , Arif Tanju ÖZÇELİKAY² , Gülbin ÖZÇELİKAY^{5,*} 

¹Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Ankara University, Ankara, Turkey

²Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Ankara University, Ankara, Turkey

³Karargahtepe Primary Health Care, Ankara, Turkey

⁴Ayas Primary Health Care, Ankara, Turkey

⁵Department of Pharmacy Management, Faculty of Pharmacy, Ankara University, Ankara, Turkey

ABSTRACT

Objective: *Pharmacists have important roles in pharmaceutical care practices. In this study, it was aimed to investigate the potential benefits of the presence of a pharmacist in PHCs (Primary Health Care) in addition to other health care specialists in Ankara Kecioren Karargahtepe PHC and Ankara Ayas PHC.*

Material and Method: *This study is a quasi-experimental type of study which includes a pre-test and a post-test. Pre-test was given to patients by two pharmacists, which was followed by a basic education on hypertension and its treatment. A post-test was done three months after the pre-test in order to assess the efficiency of the education.*

Result and Discussion: *In total, 103 patients (70.9% female; mean age: 62.84 ± 10.44 years) were analysed before and after receiving counselling from two pharmacists. The results of pre- and post-tests were analyzed by Wilcoxon t-test using SPSS 23.0. As a result of the statistical analysis, the education provided by the pharmacists enhanced the mean patient scores significantly (T0 (pre-test) = 6 (5-7), T1 (post-test) = 8 (6-9); P < 0.05). This study revealed the active role and the requirement of the presence of a pharmacist in addition to other health care providers in PHCs.*

Keywords: *Hypertension, pharmaceutical care, pharmacist, primary health care*

* **Corresponding Author / Sorumlu Yazar:** Gülbin Özçelikay
e-mail / e-posta: gozcelikay@ankara.edu.tr, **Phone / Tel.:** +903122033130

ÖZ

Amaç: *Farmasötik bakım uygulamalarında eczacılar önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada Aile Sağlığı Merkezi'nde bulunan diğer sağlık personellerinin yanı sıra eczacı varlığının potansiyel yararları incelenmiştir.*

Gereç ve Yöntem: *Pre-test ve post-testten oluşan yarı-deneysel bir çalışmadır. Hastalara iki ayrı Aile Sağlığı Merkezi'nde (Karargahtepe Aile Sağlığı Merkezi ve Ayaş Aile Sağlığı Merkezi) iki eczacı tarafından öncelikle pre-test uygulanmış ve sonrasında hipertansiyon tedavi yönetimiyle ilgili eğitim verilmiştir. Üç ay sonrasında verilen eğitimin etkinliğini ölçmek amacıyla post-test uygulanmıştır.*

Sonuç ve Tartışma: *Toplamda 103 hastaya ulaşılmış ve danışmanlık sağlanmıştır. Genel yaş ortalaması 62.84 ± 10.44 olan hastaların %70.9'unu kadınlar oluşturmaktadır. Sonuçlar, SPSS 23.0. ile Wilcoxon t testi kullanılarak analiz edilmiştir. Verilen eğitimin sonucu olarak post-testte hastaların puanlarının anlamlı olacak şekilde arttığı gözlenmiştir (T_0 (pre-test) = 6 (5-7), T_1 (post-test) = 8 (6-9); $P < 0.05$). Bu çalışma ile Aile Sağlığı Merkezi'nde diğer sağlık personellerinin yanında eczacının da bulunmasının hipertansiyon hasta yönetimine olumlu katkı sağladığı gösterilmiştir.*

Anahtar Kelimeler: *Birinci basamak sağlık merkezi, eczacı, farmasötik bakım, hipertansiyon*

INTRODUCTION

Family medicine specialists provide comprehensive health care services for patients of all ages including the newborns and the elderly. Not only they give advice and guidance about a wide range of health-related matters, but they also defend the patients' rights. In 2004, PHCs have been established as a part of the health transformation program in Turkey. The applications in these facilities were aimed to provide faster solutions for rather simple health conditions without the requirement of specialists or laboratory services. Today, medical doctors, nurses, midwives, health officers and emergency medical assistants are employed in PHCs.

However, with a daily patient profile of 80-100 patients, family medicine specialists face a real difficulty in providing preventive/therapeutic health care that requires a teamwork [1]. As a result, they cannot have sufficient time for patients and rational drug use practices.

As clearly defined by Hepler and Strand as “taking responsibility to improve patient’s quality of life”, the discussions on the concept of pharmaceutical care have been around since 1990 [2]. Rational drug use (RDU) was defined in Nairobi in 1985 as “receiving medications appropriate to their clinical needs, in doses that meet their own individual requirements, for an adequate period of time, and at the lowest cost to them and their community” [3]. Basic criteria of RDU are: correct indication, correct medication for the correct patient, correct information and follow-up. The first three are followed by medical doctors whereas pharmacists have a significant role in the last two: correct information and follow-up [4].

On the other hand, the number of hypertensive patients is expected to reach 1.5 million by 2025 around the globe. Fifty percent of all deaths are known to be related to hypertension [5]. Hypertension increases the risk of heart disease by 50% and the risk of stroke by 75% [6]. Therefore, applications such as pharmaceutical care and RDU are especially important for the management of chronic diseases such as hypertension, thereby improving the quality of life of patients. World Health Organization

remarks a 50% role of patient compliance in the control of hypertension [7]. In addition, drug-related problems appear more commonly in elderly patients who should take many drugs (polypharmacy). Specifically, the incidence of adverse drug interactions increases dramatically by 13%, 58%, and 82% when two drugs, five drugs, and eight drugs are used in combination respectively [8]. Studies suggest a positive role of the pharmacists in reducing drug-related problems and improving therapeutic results [9]. Therefore, pharmacists can be beneficial in the management of chronic illness such as hypertension. Indeed, studies suggest a significant role of pharmacists in improving patient compliance and regulation of blood pressure [10,11]. Moreover, many other studies highlight the efficiency of doctor-pharmacist cooperation in the management of hypertension [12-14].

This study was aimed to investigate the potential benefits of pharmacists on the management of hypertension in patients who applied to Ankara Kecioren Karargahtepe PHC and Ankara Ayas PHC.

MATERIAL AND METHOD

Study design: This study is a quasi-experimental type of study including a pre-test and a post-test. The sample of this study consisted of 103 volunteer patients, outside the period of pregnancy and lactation, aged 18 years and older, who were diagnosed with hypertension and prescribed medications by the family physician, who were admitted to Ankara Kecioren Karargahtepe PHC and Ankara Ayas PHC from 1 June 2017 to 30 November 2017. Ethics Committee approval No. 56786525-050.04.04/38678 dated 01/06/2017 of Ankara University was obtained for the research.

Intervention: In the first part of the study, an auxiliary questionnaire for the demographic properties of the patients and a pre-test to measure the knowledge of them about correct blood pressure measurement, what hypertension is and what kind of damage it could do to the other organs in case the blood pressure is not controlled and the importance of the drug they use, regular use of drugs and how to use them, side effects of the drugs, the importance of diet and exercise in controlling hypertension, drug interactions (drug-drug, drug-food and drug-herbal supplements) and storage conditions of drugs by using were applied to patients by using face to face questionnaire method. After that all patients were informed about these issues. Three months after the pre-test, the first questionnaire was re-applied to the same patients as a post-test for the evaluation the effectiveness of the given education.

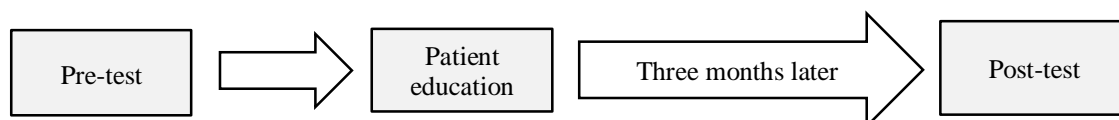


Figure 1. The study process

Data processing and analysis: For the data analysis, Statistical Package for Social Sciences version 23.0 was used. Kuder-Richardson 20 (*KR20*) was calculated to assure coefficients of reliability for test. Quantitative data are summarized as mean (\pm standard deviation) and median; frequency and percentages are presented for qualitative data. Percentages (%) were used for categorical data. The normal distribution of data of numerical variables was evaluated with *Shapiro Wilk* test. The data obtained from pre-test and post-test evaluation of the survey questions were analyzed using *Wilcoxon t-test*. $P < 0,05$ value was considered statistically significant.

RESULT AND DISCUSSION

Beginning on 1 June 2017, 51 patients with hypertension from Karargahtepe PHC and 52 patients with hypertension from the Ayas PHC were reached within 1 month. The mean age of the patients was 62.8 ± 10.4 years (range: 36-85 years). Demographic data of the patients is shown in Table 1.

Table 1. Patient demographics.

Characteristics	N	%
Gender		
Male	30	29.1
Female	73	70.9
Age		
< 65	60	58.3
≥ 65	43	41.7
Educational status		
Illiterate	2	1.9
Literate	4	3.9
Primary school	62	60.2
Secondary school	7	6.8
High school	17	16.5
University	11	10.7
Body mass index		
Underweight	1	1
Normal weight	13	12.6
Overweight	43	41.7
Obese	46	44.7
Smoking	19	18.4

Most of the patients are obese and overweight which are risk factors for hypertension. In the first part of the study, patients were asked about their characteristics. Data obtained from the patients is shown in Table 2. The vast majority of patients (42.7%) takes 4-6 drugs per day and 73 patients (70.9%) are treated with only 1 antihypertensive drug. Most of the patients (68%) take analgesics when they feel pain. The percentage of the patients who take herbal supplements or dietary supplements is 23.3. Most of the patients visits PHC every three months. Unfortunately, it is shown that a very small amount of the patients (4.9%) measures their blood pressure every day.

Table 2. Patient characteristics

Characteristics	N	%
Family history	62	59.6
Duration of illness (years)		
0-5	24	23.3
6-10	30	29.1
11-15	24	23.3
16 and more	25	24.3
Number of total drugs in use		
1-3	40	38.8
4-6	44	42.7
7-9	15	24.6
10 and more	4	3.9
Number of antihypertensive drugs in use		
1	73	70.9
2	28	27.2
3 and more	2	1.9
Frequency of analgesics use		
Every day	8	7.8
When they feel pain	70	68.0
Never	25	24.3
Use of herbal supplements or dietary supplements	22	23.3
Frequency of visiting the FHC		
Every month	7	6.8
Every three months	64	62.1
Not at regular intervals	32	31.1

Additionally, we asked patients about where they received the information on the medications they use. 38.83% of the patients stated that they received information from their physician, 8.74% received information from their pharmacist and 42.72% received information from both their physician and pharmacist, and rest of them (9,71%) does not need any information.

A significant number of patients did not know the importance of blood pressure control or why it is important to use drugs; and these patients were using their antihypertensive drug irregularly (46,6%).

Evaluation of the Outcome of Education

A pre-test and post-test consisting of 10 questions was applied to the patients to measure the effectiveness of the training given by pharmacists. The answers of the questions in the test were evaluated as positive (1 point) and negative (0 point), and the test scores were calculated by summing up the patient's responses. The *KR20* value of the test was found to be 0.662. The training provided by the pharmacists increased the average test scores of the patients thereby eliciting a significant benefit on the patients (Table 3 and Figure 2).

Table 3. Distribution of the pre-test and post-test scores of patients

Mean pre-test score T ₀ Median	Mean post-test score T ₁ Median	P
6 (5-7)	7 (6-9)	< 0.05

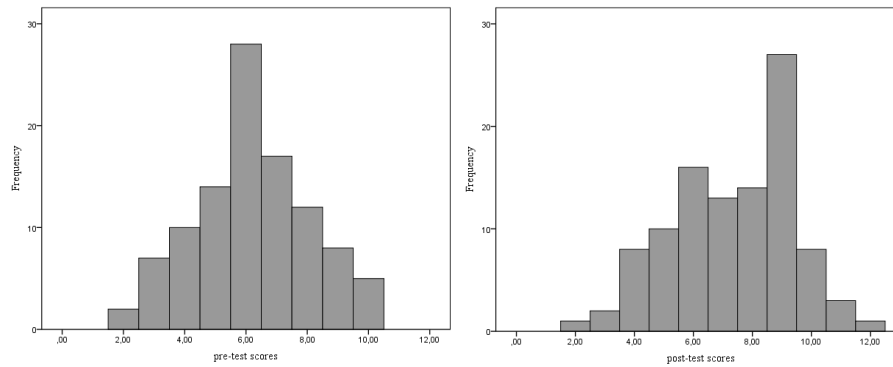
**Figure 2.** Distribution of the pre-test and post-test scores of patients

Table 4 shows the content of the questions asked to the patients, the mean of the responses given by the patients and the *P* value which indicates the significance of the training.

Table 4. Questions asked in the pre- and post-tests and the patients' answers.

Pre-test and post-test questions	Patients answers	Pre-test mean \pm sd	Post-test mean \pm sd	P value
What is the name of your medicine?	-S/he does not know -S/he knows	0.33 \pm 0.47	0.41 \pm 0.49	< 0.05
Why are you using this medicine?	-S/he does not know -S/he knows	0.53 \pm 0.50	0.53 \pm 0.50	> 0.05
Do you know what adverse effects your medicine can cause and what you should do if these side effects occur?	-S/he does not know -S/he knows	0.43 \pm 0.49	0.69 \pm 0.46	< 0.05
Do you know what to do if you forget to take one dose of your medicine?	-S/he does not know -S/he knows	1.0 \pm 0.14	0.96 \pm 0.19	< 0.05
Do you pay attention to your medication to be taken with an empty / full stomach, the correct use, time of use and the dose?	-S/he does not pay attention -S/he pays attention	0.84 \pm 0.39	0.93 \pm 0.25	< 0.05
Do you change the dosage form of the drug? (Do you crush the tablet, throw it into the liquid)?	-S/he changes -S/he does not change	0.96 \pm 0.19	0.99 \pm 0.98	> 0.05
Do you have any information about the interaction of your medicine with food/drink and herbal supplements?	-S/he does not know -S/he knows	0.33 \pm 0.47	0.63 \pm 0.48	< 0.05
Is your blood pressure measured regularly?	-Not measured regularly -Regularly measured	0.09 \pm 0.29	0.09 \pm 0.29	> 0.05
Do you have any information about the correct way of blood pressure measurement?	-S/he does not know -S/he knows	0.26 \pm 0.44	0.48 \pm 0.50	< 0.05
Do you have any information about the importance of nutrition in the treatment of hypertension?	-S/he does not know -S/he knows	0.69 \pm 0.46	0.79 \pm 0.40	< 0.05

After the education some patients learned the trade names of the drugs (66% vs 58.3%, $P < 0.05$) however it was observed that a significant number of patients did not gain awareness about the importance of using their medication ($P > 0.05$).

Pre-test scores showed that 44.7% of the patients did not know about adverse drug reactions. After the education this rate dropped to 26.2% in the post-test ($P < 0.05$).

Patients were told that if they forget to take their medication, they should not take a double dose and if the time of the next dose is too close, then they should continue their routine by taking the next dose. As a result of the training provided, it was seen that the patients gained awareness about this issue ($P < 0.05$).

In the pre-test that was applied, it was observed that the patients did not know about the concept of empty stomach before they were told about the importance of taking their medication with an empty/full stomach and they did not know when the drugs they use should be taken (56.3%). Patients did not know that hunger meant half an hour/an hour before the meal or 2 hours after the meal. As a result of the education it was observed that the level of their knowledge on this issue has increased significantly after the training ($P < 0.05$).

Most commonly used herbal supplements by the patients were camomile, green tea, rosehip and linden tea. Patients were informed about drug-drug and drug-food interactions; it was clearly recommended that the patients should not use any drugs or herbal supplements without the knowledge of their doctor and pharmacists [15]. The awareness on drugs and food products was also assessed in this study. It increased from 33% to 62.1% at pre- and post-tests, respectively ($P < 0.05$).

In the pre-test, it was observed that a significant number of patients did not know the correct blood pressure measurement (73.8%) and did not measure it regularly (90.3%). After the education given by pharmacists, it was found that a significant part of the patients learned how to measure it correctly ($P < 0.05$). However, the same effect on the regularity of blood pressure measurement could not be achieved ($P > 0.05$).

Post-test scores on the knowledge about the importance of life style were higher (82.5%) compared to the score of the pre-test (69.9%) ($P < 0.05$).

An aging population and higher prevalence of chronic diseases lead to increased case complexity and polypharmacy, and consequently greater potential for prescribing errors. Additionally, workload and time pressures exacerbate prescribing errors [17-19].

The increase in chronic diseases necessitates a careful monitoring of community-based disease management programs. Management of a chronic disease includes not only the treatment of the disease but also the knowledge of the patient's self-care abilities [20]. Pharmacists in particular have a significant role in the management of chronic diseases since the patients primarily interact with their

pharmacists more than other healthcare professionals especially about their drug- and/or disease-related changes [21].

Patients compliance is very important for the treatment of a chronic disease. One of the factors causing a negative impact on patients' compliance is the lack of information about the chronic disease and its treatment. Hypertension is one of the chronic diseases. It increases the risk of heart disease by 50% and the risk of stroke by 75% [6]. Therefore, it is important to raise awareness and improve the knowledge of the patients about the efficient blood pressure control and the treatment of hypertension [22].

In the present study, 103 patients with hypertension applying to PHCs were informed about the management of hypertension.

A significant number of patients have learned the correct way of blood pressure measurement (not eating anything or using any medication just before measuring, resting for a while and not talking during the measurement, bringing the arm to the level of heart, being in a sitting position and measuring the blood pressure at the same time daily) which is an important part of the hypertension management [23]. However, it was observed that the same success could not be obtained in regular blood pressure monitoring. The reason for this failure could be due to lack of regular monitoring of blood pressure. We think that it may not be easy for patients to change a permanent habit.

A significant number of patients have gained awareness about drug-food and drug-drug interactions since it was explained the possible risks on the use of any other drugs and herbs without informing the physician or pharmacist may affect the management of the treatment negatively [24]. Additionally, patients have embraced the importance of drug use on empty/full stomach and they have been informed about what kind of adverse effects the hypertensive patients may encounter and importance of consultation with a physician if any adverse effect occurs.

Due to the considerable impact of dietary alterations on blood pressure control [25], additional life style changes such as reducing sodium and increasing potassium intake, limiting alcohol consumption [26] and incorporating vegetables, fruits and reduced fat meat/dairy product [27] were suggested. A significant number of patients have gained awareness about importance of nutrition in the treatment of hypertension.

Interestingly patients could not have awareness about "Why they take their drugs and how to use dosage form of their drugs".

A pharmacist-doctor collaboration contributes to chronic disease management significantly. Several studies have shown that the presence of a pharmacist in PHCs decreases the workload, makes the treatments safer for patients, increases patient satisfaction and provides cost effectiveness especially in cardiovascular disease management such as hypertension [19,28,29]. In addition, interventions of pharmacist have potential for a significant impact on blood pressure. However there is considerable

variability in the extent of the effect in individual studies, meta-analysis suggests a reduction in systolic blood pressure by 7.6 mm Hg (95% CI -9.0 to -6.3) and diastolic by 3.9 mm Hg (95% CI -5.1 to -2.8) [30].

In another meta-analysis, including 2246 patients from 13 studies, systolic blood pressure was significantly ($P= 0.002$) reduced by following the pharmacist's intervention, while it remained unchanged in the standard care group ($P= 0.361$), with a further reduction in systolic blood pressure over controls following pharmacist's intervention ($P= 0.047$). Medication management (82%) and hypertension education (68%) were the most used interventions [31].

The present study demonstrates a need for the presence of a pharmacist in PHCs in addition to other health care professionals. Employment of a pharmacist for pharmaceutical care at PHCs will be efficient especially for the treatment of chronic diseases and rational drug use.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Türk Eczacıları Birliği. Türkiye'de Aile Hekimliği Uygulamasına Genel Bakış: Türk Eczacıları Birliği Raporu. In: Türkiye'de Aile Hekimliği Uygulamaları ve Serbest Eczacılara Yansımaları 2009. Retrieved June 18, 2018, from http://ekutuphane.teb.org.tr/arsiv.php?anabelge_no=398.
2. Van Mil, J.W., Fernandez-Llimos, F. (2013). What is 'pharmaceutical care' in 2013? *Pharm Pract (Granada)*, 11(1), 1–2.
3. Conference of Experts on the Rational Use of Drugs (1985: Nairobi). (1987). The rational use of drugs: report of the Conference of Experts, Nairobi, 25-29 November 1985. World Health Organization, Retrieved June 18, 2018, from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37174>.
4. Toklu, H.Z., Dülger, G. (2010). Eczacılar için akılcı ilaç kullanımı eğitimi. *Sentez*, 6, 16-17.
5. Cazarim, MdS., Freitas, Od., Penaforte, T.R., Achcar, A., Pereira, LRL. (2016). Impact assessment of pharmaceutical care in the management of hypertension and coronary risk factors after discharge. *PLoS One*, 11(6), e0155204.
6. Kearney, PM., Whelton, M., Reynold, K., Muntner P, Whelton PK, He J. (2005). Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*, 365(9455), 217-223.
7. World Health Organization, 2003. Adherence to long-term therapies: evidence for action / [edited by Eduardo Sabaté]. Retrieved June 18, 2018, from <http://www.who.int/iris/handle/10665/42682>.
8. Fulton, M.M., Allen, E.R. (2005). Polypharmacy in the elderly: a literature review. *J Am Acad Nurse Pract.*, 17(4), 123–132.



9. Finkers, F., Maring, J.G., Boersma, F., Taxis, K. (2007). A study of medication reviews to identify drug-related problems of polypharmacy patients in the Dutch nursing home setting. *J Clin Pharm Ther.*, 32(5), 469–476.
10. Morgado, M., Rolo, S., Castelo-Branco, M. (2011). Pharmacist intervention program to enhance hypertension control: a randomised controlled trial. *Int J Clin Pharm.*, 33(1), 132-140.
11. Omboni, S., Sala, E. (2015). The pharmacist and the management of arterial hypertension: the role of blood pressure monitoring and telemonitoring. *Expert Rev Cardiovasc Ther.*, 13(2), 209-221.
12. Green, B.B., Cook, A.J., Ralston, J.D., Fishman, P.A., Catz, S.L., Carlson, J., Carrell, D., Tyll, L., Larson, E.B., Thompson, R.S. (2008). Effectiveness of home blood pressure monitoring, web communication, and pharmacist care on hypertension control: a randomized controlled trial. *JAMA*, 299(24), 2857–2867.
13. Bogden, P.E., Abbott, R.D., Williamson, P., Onopa, J.K., Koontz, L.M. (1998). Comparing standard care with a physician and pharmacist team approach for uncontrolled hypertension. *J Gen Intern Med*, 13(11), 740–745.
14. Carter, B.L, Rogers, M., Daly, J., Zheng, S., James, P.A. (2009). The potency of team-based care interventions for hypertension: a meta-analysis. *Arch Intern Med.*, 169(19), 1748–1755.
15. Tachjian, A., Maria, V., Jahangir, A. (2010). Use of herbal products and potential interactions in patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.*, 55(6), 515–525.
16. American Society of Health System Pharmacists. (1993). ASHP statement on pharmaceutical care. *Am J Hosp Pharm.*, 50, 1720-3.
17. Molokhia, M., Majeed, A. (2017). Current and future perspectives on the management of polypharmacy. *BMC Fam Pract.*, 18, 70.
18. Slight, S.P., Howard, R., Ghaleb, M., Barber, N., Franklin, B.D., Avery, A.J. (2013). The causes of prescribing errors in English general practices: a qualitative study. *Br J Gen Pract.*, 63(615), e713– 20.
19. Komwong, D., Greenfield, G., Zaman, H., Majeed, A., Hayhoe, B. (2018). Clinical pharmacists in primary care: a safe solution to the workforce crisis? *J R Soc Med.*, 111(4), 120-124.
20. Incirkus, K., Nahcivan, N.O. (2011). Kronik hastalık bakımını değerlendirme ölçeği-hasta formu'nun Türkçe versiyonunun geçerlik ve güvenilirliği. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Elektronik Dergisi*, 4(1), 102-109.
21. Adepu, R., Nagavi, B.G. (2006). General practitioners perceptions about the extended roles of the community pharmacists in the state of Karnataka: a study. *Indian J Pharm Sci.*, 68, 36-40.
22. Kara, B., Uzun, S., Yokusoglu, M., Uzun, M. (2009). Hipertansiyon hastalarında ilaç bilgisinin kan basıncını düşürmek için uygulanan yöntemlere etkisi. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 8(3), 231-238.

23. Centers for Disease Control and Prevention. CDC 24/7: Saving Lives, Protecting People. Retrieved May 30, 2020, from <https://www.cdc.gov/bloodpressure/measure.htm>.
24. Tachjian, A., Maria, V., Jahangir, A. (2010). Use of Herbal Products and Potential Interactions in Patients with Cardiovascular Diseases. *J Am Coll Cardiol.*, 55(6), 515–525.
25. O'Shaughnessy, K.M. (2006). Role of diet in hypertension management. *Curr Hypertens Rep.*, 8(4), 292-297.
26. Bazzano, L.A, Green, T., Harrison, T.N., Reynolds, K. (2013). Dietary approaches to prevent hypertension. *Curr Hypertens Rep.*, 15(6), 694–702.
27. Challa, H.J, Uppaluri, K.R. DASH diet (Dietary approaches to stop hypertension). StatPearls. Retrieved May 30, 2020, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482514/>.
28. Malet-Larrea, A., Cardenas, V.G, Benito, L.S, Benrimoj, S.I, Calvo, B., Goyenechea, E. (2016). Cost-effectiveness of professional pharmacy services in community pharmacy: a systematic review. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.*, 0(ja), null.
29. Polgreen, L.A, Han, J., Carter, B.L., Ardery, G.P., Coffey, C.S., Chrischilles, E.A., James, P.A. (2015). CostEffectiveness of a Physician–Pharmacist Collaboration Intervention to Improve Blood Pressure ControlNovelty and Significance. *Hypertension.*, 66(6), 1145–1151.
30. Santschi, V., Chiolero, A., Colosimo, A.L., Platt, R.W., Taffe, P., Burnier, M., Burnand, B., Paradis, G. (2014). Improving Blood Pressure Control Through Pharmacist Interventions: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Am Heart Assoc Cardiovasc Cerebrovasc Dis.*, 3(2), e000718.
31. Machado, M., Bajcar, J., Guzzo, G.C., Einarson, T.R. (2007). Sensivity of patient outcomes to pharmacist interventions. Part II: Systematic review and meta-analysis in hypertension management. *Ann Pharmacother*, 41, 1770-81.



TÜRKİYE'DE DOĞAL OLARAK YETİŞEN BAZI *COTONEASTER* MEDİK. (ROSACEAE) TÜRLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ

COMPARATIVE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SOME *COTONEASTER*
MEDIK. (ROSACEAE) SPECIES NATIVE TO TURKEY

Muhammed Mesud HÜRKÜL^{1,*} , Ayşegül KÖROĞLU² 

¹Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, 06560, Ankara, Türkiye

²Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı,
03200 Afyonkarahisar, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Cotoneaster Medik.* türlerinin hibritleşmeye yatkın olması, türlerin birbirleriyle ve *Amelanchier Medik.* türleri ile karıştırılıyor olması nedeniyle cinsin "*Cotoneaster integerrimus Medik.*, *C. tomentosus (Aiton) Lindl.*, *C. melanocarpus (Bunge) Fischer*, *C. nummularia Fisch. & Mey.*, *C. morulus Pojark.*" türleri üzerinde ayrıntılı morfolojik çalışma ile karşılaştırmalı olarak morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma materyalleri herbaryum kayıtları dikkate alınarak doğal yetiştirme ortamlarında fotoğraflanıp herbaryum örneği ve %70'lik alkol içinde korunacak şekilde numuneler alınmıştır. Bu materyaller ayrıntılı bir şekilde stereomikroskop altında incelenip fotoğraflanmıştır. Elde edilen veriler karşılaştırmalı olarak verilip, cinse ait teşhis anahtarı güncellenmiştir.

Sonuç ve Tartışma: Üzerinde çalışma yürüttüğümüz türleri morfolojik olarak birbirlerinden ayıran önemli karakterlerinin petal rengi, petiyol uzunluğu, meyve rengi ve yaprak ile meyve boyutu olduğu görülmüştür. Bu özellikler haricinde morfolojik teşhisin çok zor olabileceği belirlenmiştir. Ayrıca Davis'e ait Türkiye Florası kitabında incelediğimiz türlere ait eksik olan tohum özellikleri ve yeni bir kayıt olan *C. tomentosus* türüne ait morfolojik özellikler güncellenmiştir. 5 türün yetiştiği adresler verilmiş ve ayrıca Türkiye haritasında yayılış yerleri işaretlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cotoneaster integerrimus*, *Cotoneaster melanocarpus*, *Cotoneaster morulus*, *Cotoneaster nummularia*, *Cotoneaster tomentosus*, morfoloji, Rosaceae

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Muhammed Mesud Hürkul
e-posta / e-mail: mhurkul@ankara.edu.tr

ABSTRACT

Objective: *Cotoneaster* species mix with each other and *Amelanchier* species, also tend to hybridize. Therefore, a detailed and comparative morphological study on “*Cotoneaster integerrimus* Medik., *C. tomentosus* (Aiton) Lindl., *C. melanocarpus* (Bunge) Fischer, *C. nummularia* Fisch. & Mey., *C. morulus* Pojark.” was aimed in this study.

Material and Method: The study materials were photographed in their habitats, taking into account the herbarium records. Also, alcohol samples (%70) and herbarium samples were collected. These materials were examined and photographed under a stereomicroscope in detail. The obtained data were given comparatively and the identification key of the *Cotoneaster* species was updated.

Result and Discussion: It has been observed that the most important distinguishing morphological characters of the species are petal color, petiole length, fruit color, leaf and fruit size. These characters make the species easier to identify. The missing seed characteristics of the species in Davis's book belonging to the Flora of Turkey and the morphological features of a new record, *Cotoneaster tomentosus* were updated. In addition, growing and distribution areas of 5 *Cotoneaster* species are marked on the map of Turkey.

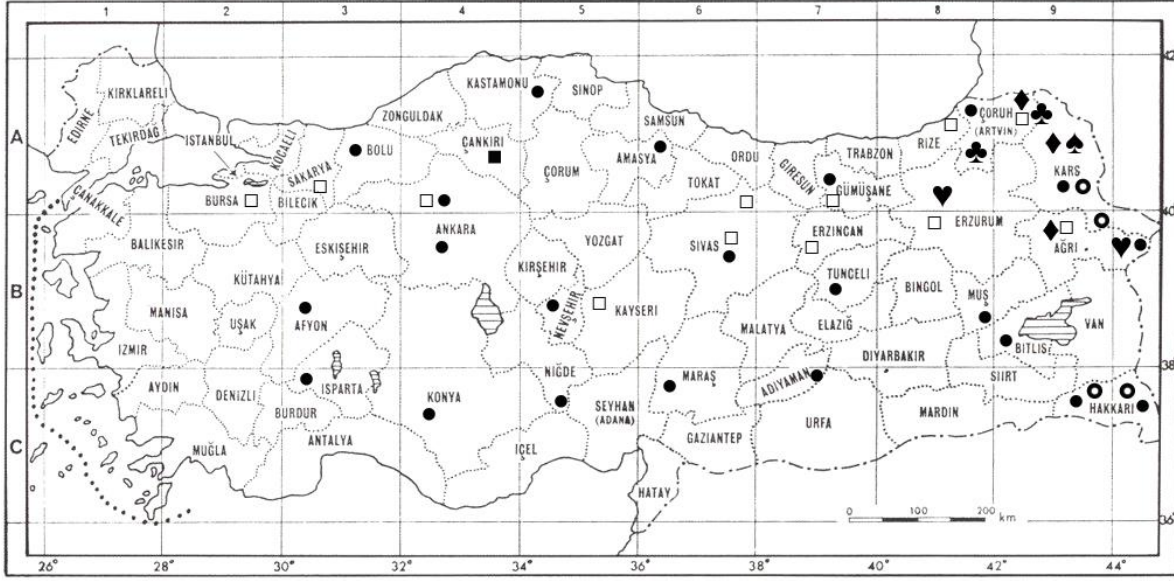
Keywords: *Cotoneaster integerrimus*, *Cotoneaster melanocarpus*, *Cotoneaster morulus*, *Cotoneaster nummularia*, *Cotoneaster tomentosus*, morphology, Rosaceae

GİRİŞ

Rosaceae Juss. familyası, kuzey yarım kürenin ılıman bölgelerinden subtropikal bölgeye kadar olan alanda yayılış gösteren, odunsu ağaçlar, çalılar, tırmanıcı ve otsu bitkilerden oluşan, dünya genelinde 104 cins içeren büyük bir familyadır. Türkiye’de 37 cins ile yaklaşık 297 takson barındıran Rosaceae familyası, 58 endemik takson ile % 24’lük endemizm oranına sahiptir. Ayrıca odunlu türler bakımından 218 takson ile ülkemizdeki en zengin familyadır [1-6].

Cotoneaster Medik. cinsi, *Amygdaloideae* alt familyasına ait *Maleae* Small tribusunda yer alır ve Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya’da dağılmış, yaprak döken veya her zaman yeşil olan çalılar ve nadiren küçük ağaçlardan oluşmuş, 236 takson içerir. *Cotoneaster* cinsinin ülkemizde, Türkiye Florası’na göre *Cotoneaster integerrimus* Medik., *C. tomentosus* (Aiton) Lindl., *C. melanocarpus* (Bunge) Fischer, *C. multiflorus* Bunge, *C. meyeri* Pojark., *C. nummularia* Fisch. & Mey., *C. transcausicus* Pojark., *C. morulus* Pojark. olmak üzere 8 doğal türü yetişmektedir (Şekil 1). *C. integerrimus* Güney Marmara bölümü; Batı ve Doğu Karadeniz bölümü; Yukarı Sakarya, Orta ve Yukarı Kızılırmak bölümleri; Yukarı Fırat, Erzurum-Kars ve Yukarı Murat-Van bölümleri; *C. tomentosus* Batı Karadeniz bölümü; *C. melanocarpus* Erzurum-Kars ve Yukarı Murat-Van bölümleri; *C. multiflorus* Erzurum-Kars, Yukarı Murat-Van ve Hakkari bölümleri; *C. meyeri* Yukarı Murat-Van bölümü; *C. nummularia* Güney Marmara bölümü; Karadeniz bölgesi; İç Batı Anadolu bölümü; Yukarı Sakarya, Orta ve Yukarı Kızılırmak bölümleri; Doğu Anadolu bölgesi; Akdeniz bölgesi; Orta Fırat bölümü ve *C. transcausicus*’un ise Erzurum-Kars bölümünde yayılış gösterdiği belirtilmiştir [1,2,6-9].

Cotoneaster Medik. cinsi hibritleşmeye yatkın bir cinstir ve sistematik açıdan türler birbirleriyle ve *Amelanchier* Medik. türleri ile karıştırılmaktadır. Sistematik açıdan bu karışıkların giderilmesi için ayrıntılı morfolojik çalışmaların yapılması, bu sorunun çözümünde katkı sağlayabilir.



Şekil 1. *Cotoneaster* türlerinin Türkiye Florası [7,9] eserine göre yayılış alanları. □ *C. integerrimus*, ■ *C. tomentosus*, ◆ *C. melanocarpus*, ● *C. multiflorus*, ♥ *C. meyeri*, ● *C. nummularia*, ♠ *C. transcaucasica*, ♣ *C. morulus*

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan bitki materyalleri için bitkinin yetiştiği doğal lokasyonlarına gidilip örnekler toplanmıştır. *Cotoneaster* türlerine ait doğal lokasyonlar Davis'in editörlüğünü üstlendiği "Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları" adlı Türkiye florasını içeren eserde yer alan lokaliteler [7,9] ve herbaryumlarda (AEF, ANK, GAZİ, HUB, İSTE, VANF) kayıtlı olan örneklerin lokasyonları dikkate alınarak belirlenmiştir. 2014-2017 yılları arasında gerçekleştirilen arazi çalışmaları ile toplanan bitki örneklerinden preslenip kurularak hazırlanan herbaryum örnekleri "Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu (AEF)"nda saklanmıştır (Tablo 1).

Türlerin genel görünüşlerinin ve organlarının fotoğrafları araziden toplanırken doğal habitatlarında Nikon D5200 marka fotoğraf makinası ile çekilmiş ve görseller kayıt altına alınmıştır. Herbaryum ve alkol örneklerinin makroskopik fotoğrafları ise Leica Zoom 2000 marka stereomikroskoptan, Panasonic DMC-FX33 marka fotoğraf makinası yardımıyla ayrıntılı bir şekilde alınmıştır. Ayrıca morfolojik bazı özel ayrıntıları fotoğraflayabilmek için Epson Perfection V850 Pro marka tarayıcı kullanılmıştır.

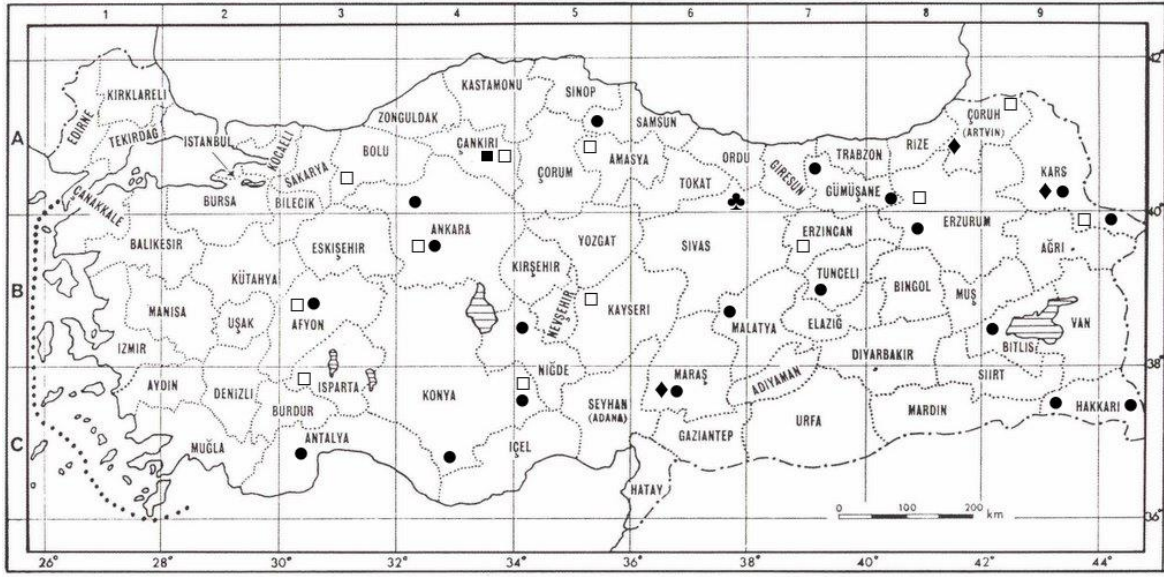
Tablo 1. Örneklerin toplandığı yerler ve herbaryum kayıtları

Bitkinin adı	Lokalite	Herbaryum numarası
<i>C. integerrimus</i>	A4, Çankırı: Kayı köyü, 1200 m., 05.06.2016 M.M. Hürkul	AEF 26916
	A4, Çankırı: Kayı köyü, 1200 m., 22.05.2016 M.M. Hürkul	AEF 26987
	A4, Çankırı: Yeşildumlupınar, 1200 m., 13.09.2014 M.M. Hürkul	AEF 26543
	B4, Ankara: Beynam ormanı, 1200 m., 21.05.2016 M.M. Hürkul	AEF26988
<i>C. tomentosus</i>	A4, Çankırı: Yeşildumlupınar, 1200 m., 05.06.2016 M.M. Hürkul	AEF 26917
	A4, Çankırı: Yeşildumlupınar, 1200 m., 23.08.2015 M.M. Hürkul	AEF 26989
<i>C. melanocarpus</i>	A8, Artvin: Hatila vadisi, 400 m., 05.11.2016 M.M. Hürkul	AEF 26918
<i>C. morulus</i>	A6, Sivas: Suşehri, Kelkit vadisi, 800 m., 21.09.2014 M.M. Hürkul	AEF 26542
<i>C. nummularia</i>	B4, Ankara: Beynam ormanı, 1200 m., 12.09.2014 M.M. Hürkul	AEF 26541
	A4, Çankırı: Kayı köyü, 1200 m., 05.06.2016 M.M. Hürkul	AEF 26991
	A4, Çankırı: Kayı köyü, 1200 m., 06.09.2015 M.M. Hürkul	AEF 26990

SONUÇ VE TARTIŞMA

Türkiye’de doğal olarak yetişen *Cotoneaster* türleri üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada, herbaryum kayıtları ve arazi çalışmalarının sonuçlarına göre, *C. integerrimus*, *C. tomentosus*, *C. melanocarpus*, *C. morulus* ve *C. nummularia* türleri toplanmıştır (Tablo 1). Toplanan ve teşhis edilen bu 5 *Cotoneaster* türünün yayılış alanları, yeni veriler eşliğinde güncellenmiştir (Şekil 2). Türkiye Florası kayıtlarına göre, ülkemizde yetiştiği belirtilen *C. meyeri*, *C. transcaucasicus* ve *C. multiflorus* türlerine ait AEF, ANK, GAZİ, HUB, İSTE, VANF herbaryumlarında örnek bulunamadığı için, Davis’in “Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları” adlı eserindeki kayıtlar dikkate alınarak arazi çalışmaları planlanmış ve verilen adreslere gidilerek arazi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Ancak Türkiye Florası’ndan tespit edilen adreslerde ve daha geniş çevresinde, değişik zanaamlarda gerçekleştirilen arazi çalışmalarına rağmen, *C. meyeri*, *C. transcaucasicus* ve *C. multiflorus*’a rastlanılamamış ve bu türler toplanılamamıştır.

Çalışmada, bitki örnekleri ve herbaryum kayıtlarına göre bitki tanımlamalarında “Türkiye Florası” eserinden farklı olarak elde edilen bulgular **koyu** olarak yazılmış ve cinsin bu türleri için yeni bulgu olarak belirlenmiştir (Tablo 2).



Şekil 2. Arazi çalışmaları (2014-2017) ve herbarium kayıtlarına göre tespit edilen □ *C. integerrimus*, ■ *C. tomentosus*, ◆ *C. melanocarpus*, ● *C. nummularia*, ▲ *C. morulus* türlerinin yayılış alanları.

Cotoneaster integerrimus Medik.

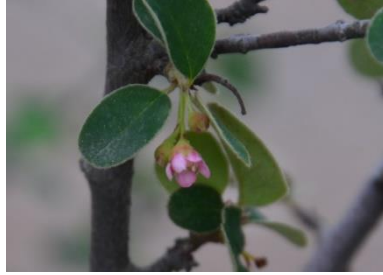
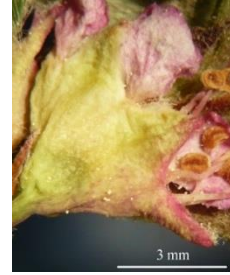
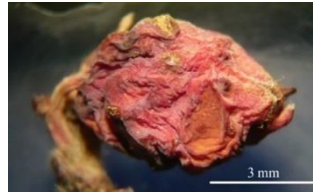
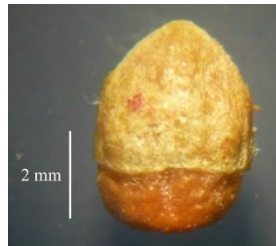


Şekil 3. *Cotoneaster integerrimus*. Genel görünüş

2 m'ye kadar boylanan, dik gür çalı ya da bazen toprak yüzeyine yatık olarak gelişen bitki (Şekil 3). Yapraklar orbikulardan ovata kadar farklı şekillerde, 1,2-(4-5) x 0,9-3 cm, kısa sürgünlerde yaprak uçları obtus ya da mukrolu, uzun sürgünlerde yaprak uçları akut, tabanda dairemsi, yaprak üst yüzeyi donuk yeşil ve tüysüz ya da birkaç dağınık tüylü, alt yüzey grimsi-tomentoz; petiyol 2-4 mm (Şekil 4-5).

Şekil 4. *C. integerrimus*: Yaprak üst yüzeyiŞekil 5. *C. integerrimus*: Yaprak alt yüzeyi

Çiçek durumu kısa simoz, (1-)2-3(-4)- çiçek taşır. Petal pembe, dik (Şekil 6). Pedisel ve kaliks tüysüz ya da hemen hemen tüysüz (Şekil 7). Meyve **bir pom**, kırmızı, hemen hemen küresel, 6-8 mm çapında, tüysüz (Şekil 8); meyve çekirdeği 2-(3-4) tane (Şekil 9). **Her çekirdek 1 tohum taşır. Tohum 3-4 x 1,5-2 mm, açık kahverengi, yüzeyi pürüzlü, yanlardan basık, ovat, tepesi akut** (Şekil 10).

Şekil 6. *C. integerrimus*: ÇiçekŞekil 7. *C. integerrimus*: KaliksŞekil 8. *C. integerrimus*: MeyveŞekil 9. *C. integerrimus*: ÇekirdekŞekil 10. *C. integerrimus*: Tohum

Çiçeklenme 6. Kuru kayalık yamaçlar, çalılık alanlar ya da orman açıklarında, (600-) 1600-3400 m.

C. integerrimus'a ait "Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları"nda yer alan lokalite kayıtları [7]: **A2** Bursa: N. side of Mt. Olympus (Ulu Da.), 1500 m, *Pichler*. **A3** Bolu: Ala Da., on Kartal Kaya Tepe, 2100-2200 m, *D.* 37364. **A4** Ankara: Karagöl, 65 km N. of Ankara, 1600 m, *Coode & Jones* 2169. **A6** Sivas: Yıldız Da., Sariyer, 1800 m, *Tobey* 2370. **A7** Gümüşhane: Karagöl Da., *Sint.* 1894: 7122. **A8** Rize: Verçinin Tepe, 3400 m, *D.* 21166a. **A9** Çoruh: d. Ardanuç, Kordevan Da., 2800 m, *D.* 30374. **B5** Kayseri: Erciyas Da., 1700 m, *Sorger* 65-25-71. **B6** Sivas: Bey Da., S. of Zara, 600 m, *Stn. & Hend.* 5295. **B7** Erzincan: Sipikör Da., Pirinbahçe, *Sint.* 1890: 3164. **B8** Erzurum: nr. Mecretli, *Schischkin*. **B9** Ağrı: 15 km from Eleskirt to Horasan, E. of Tahir pass, 2200 m, *D.* 47118

C. integerrimus'a ait herbaryum kayıtları: **A3** Bolu: Kıbrısçık; Deveören köyü üstü, 1200 m, 15.07.1980, *M. Coşkun* 530 (AEF 7053!). **A4 Çankırı: Kayı köyü girişi, 1200 m, kalkerli arazi, 22.05.2016 M.M. Hürkul (AEF 26987!); Çankırı: Kayı köyü girişi, 1200 m, kalkerli arazi, 05.06.2016 M.M. Hürkul (AEF 26916!); Çankırı: Yeşildumlupınar'ın batısı, kalkerli arazi, 1200 m, 13.09.2014 M.M. Hürkul (AEF 26543!);** Kastamonu: Araç, Tuzaklı köyü çevresi, 09.08.1972, 1000 m, Eskici mah., *P. nigra* orman açıklığı, *S. Erik* (HUB!). **A5** Amasya: Tekirdere sırtları, kalenin kuzeybatısı, 400-700 m, 27.05.1993, çakıllık, *M. Vural* 6538, *F. Karavelioğulları* (GAZİ!). **A8** Erzurum: Erzurum'un 65 km KB'sı, Serçeme deresi, 2100 m, 18.07.1977, *A. Tatlı* 5804a, *K. Browicz* 1977 (HUB!); Erzurum: Erzurum-Tortum arası, Akdağ köyü arkasındaki tepeler, 17.07.1988, *T. Baytop* (İSTE 59364a!); Rize: Çamlıhemşin, Amlakit yaylası, Arkovit çevresi, 2600 m, kayalıklar, 12.08.1984, *A. Güner* 6127 (HUB!); Trabzon: Uzungöl, Çaykara, Lustra-Kalestel yaylası arası, 2000-2250 m, 28.07.1994, *N. Tanker, M. Koyuncu, M. Coşkun, S. Kurucu, G. Yıldız* (AEF 19018!). **A9** Çoruh (Artvin): Ardanuç, Kordevan dağ (Yalnızçam Dağları), ca: 2800 m, *Davis et. Hedge* (ANK 30374!); Kars: Kars Ani arası, Yalınkaya köyü, Yahşitepe mevki, 1980 m, 20.07.1988, *T. Baytop* (İSTE 59396!). **B3** Afyon: Kumalar Dağı, Sandıklı-Şubat yolu 16. km, kayalık, 1650 m, 23.09.2000, *E. Akçiçek* 3358 (GAZİ!). **B4** Ankara: Beynam ormanı, 1200 m, orman açıklığı, 21.05.2016 *M.M. Hürkul (AEF26988!);* Ankara: Beynam, 06.06.1969, *Ö. İncoğlu* (HUB!); Ankara: Bala, Beynam ormanı, 05.06.1969, *A. Pamukçuoğlu, Quezel* (HUB!). **B5** Kayseri: Sultan sazlığı, Kayseri-Develi karayolu, deri fabrikası çevresi, taşlık alan, step, 1071 m, 3.9.1994, *M. Öztekin* 1929 (HUB!). **B7** Erzincan: Kemaliye; Aşağı Umutlar köyü üstü, 1400-1650 m, 28.09.1984, *M. Coşkun, N. Tanker* (AEF 14693!). **B9** Iğdır: Tuzluca, Çiçekli köyü, meşelik, 1887 m, 20.07.2008, *E. Altundağ* 906 (İSTE 85731!). **C3** Isparta: Eğridir, Anamas, Yaka köyü, Melikler mezarlığı, Karagöl, alpin step, kalkerli ve metamorfik K. ve D. yamacı, 1670-2450 m, 08.08.1974, *H. Peşmen, A. Güner* 1971, *Browich*, (HUB!). **C5** Konya: Ereğli, Aydar dağı, Yazıgöl yaylası çıkışı, 2200 m, *Abies, J. excelsa* orm., 16.07.1981, *S. Erik* 3283 (HUB!).

C. tomentosus (Aiton) Lindl.

Şekil 11. *Cotoneaster tomentosus*. Genel görünüş

1-2(-3) m. uzunluğunda dik çalı (Şekil 11). Yapraklar **2,5-(6-7) x 1,6-3,2 cm**, genişçe eliptikten suborbikulara kadar ya da genişçe ovata kadar değişen şekillerde, tepesi obtus, yuvarlak, **mukrolu** ya da hafif emarginat. Tabanı genişçe kuneat, yuvarlak ya da nadiren subkordat, üst yüzeyi ince tomentoz, az çok çıplaklaşan ya da **çok seyrek dağınık tüylü**, alt yüzeyi yoğun grimsi-beyaz ya da hafif sarımsı, genellikle biraz buruşuk, belirgin şekilde çıkıntı yapmış damarlı. Petiyol 3-5(-7) mm. uzunluğunda, tomentoz (Şekil 12-13).



Şekil 12. *C. tomentosus*: Yaprak üst yüzeyi



Şekil 13. *C. tomentosus*: Yaprak alt yüzeyi

Çiçek durumu (2-)3-12 çiçekli, uçta ya da koltuklarda, sarkık simoz. Pedunkul, pedisel ve hipantiyum yoğun tomentoz (Şekil 14). Petaller dik, pembe (Şekil 15). Meyve **bir pom**, 6-8 mm.

uzunluğunda, küremsi, olgunlukta kırmızı, tepesi ilk zamanlarda tomentoz, sonra seyrek kısa yumuşak tüylü (Şekil 16). Çekirdek 2-(3-5) tane (Şekil 17). **Her çekirdek 1 tohum taşır. Tohum 4-5 x 2-3 mm, açık kahverengi, yüzeyi pürüzlü, eliptik, tepesi hafif akut** (Şekil 18).



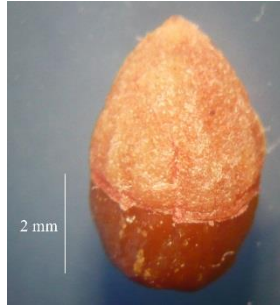
Şekil 14. *C. tomentosus*: Pedisel



Şekil 15. *C. tomentosus*: Çiçek



Şekil 16. *C. tomentosus*: Meyve



Şekil 17. *C. tomentosus*: Çekirdek



Şekil 18. *C. tomentosus*: Tohum

Çiçeklenme (4-)5-6. Meyvelenme 7-8. Kalkerli yamaçlar, 1000-1500 m.

C. tomentosus'a ait "Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları"nda yer alan lokalite kayıtları [9]: A4 Çankırı: W of Yeşildumlupınar, 12 km NE of Kurşunlu, calcareous slope, 1000-1500 m, Boratynski, Browicz, Tomlik & Zielinski 6091.

C. tomentosus'a ait herbaryum kayıtları: A4 Çankırı: Yeşildumlupınar'ın batısı, 1200 m, 23.08.2015 M.M. Hürkul (AEF 26989!); Çankırı: Yeşildumlupınar'ın batısı, 1200 m, 05.06.2016 M.M. Hürkul (AEF 26917!).

C. melanocarpus (Bunge) Fischer

Şekil 19. *Cotoneaster melanocarpus*. Genel görünüş

2-5 m.'ye kadar boylanan çalı (Şekil 19). Yapraklar genişçe ovattan, ovat-oblonga kadar farklı şekillerde, 1-4(-5) x **0,7-2,8 cm.**, obtus ya da emarginat, bazen uzun sürgünlerde subakut ve mukrolu, koyu yeşil ve üst yüzey seyrek kısa yumuşak tüylü, alt yüzey beyazımsı-tomentoz; **petiyol 3-5 mm.** (Şekil 20-21).



Şekil 20. *C. melanocarpus*: Yaprak üst yüzeyi



Şekil 21. *C. melanocarpus*: Yaprak alt yüzeyi

Simoz 3-8(-15) çiçekli, sarkık, kısa yumuşak tüylü ya da tüysüz. Petaller kırmızımsı ya da pembemsi, özellikle kenara yakın kısımları dik. Reseptakulum tüysüz ya da hafif kısa yumuşak tüylü. Meyve kahverengimsi-kırmızı, olgunlukta siyah bir pom (Şekil 22), 5-9 x 3-4 mm, mavimsi beyaz bir mum tabakası ile kaplı; 2-(3) çekirdekli (Şekil 23). Her çekirdek 1 tohum taşır. Tohum 4-5 x 2-2,5 mm, açık kahverengi, yüzeyi pürüzlü, ovat, tepesi akut (Şekil 24).



Şekil 22. *C. melanocarpus*: Meyve



Şekil 23. *C. melanocarpus*: Çekirdek



Şekil 24. *C. melanocarpus*: Tohum

Çiçeklenme 6. *Spiraea* çalılıklarında, kuzeye bakan yamaçlarda, 1650 m.

C. melanocarpus'a ait "Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları"nda yer alan lokalite kayıtları [7]: **A9** Kars: Mt. E. of Kağızman, 8 km from Akçay to Cumaçay, 1650 m, *D.* 46753. **B10** Ağrı: d. Surmalin, 'Mons Ararat minor' (Küçük Ağrı Da.), *Grossheim*.

C. melanocarpus'a ait herbaryum kayıtları: **A8 Artvin: Hatila vadisi, 05.11.2016 M.M. Hürkul (AEF 26918!). A9** Kars: Göle, Karkyazı-Sürügüden köyü arası, Harabahive deresi, 08.07.1981, *Demirkuş* 1047 (HUB!). **C6** Kahramanmaraş: Göksun, Tekir köyü, *Pinus* orman altı, 800 m, 15.05.1978, *B. Yıldız* 1770 (HUB!).

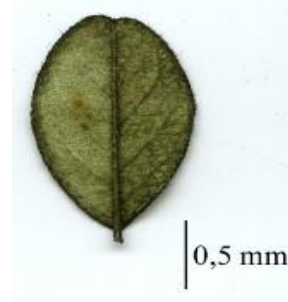
C. morulus Pojark.

Şekil 25. *Cotoneaster morulus*. Genel Görünüş

50-125 cm uzunluğunda çalı şeklinde bitki (Şekil 25). Yapraklar oblong-eliptikten obovata kadar farklı şekillerde, (0·6-) 0·7- 2·2 (-2·6) x (0·4-) 0·5-1·4 (-1·9) cm, obtus, emerginat ya da nadiren subakut, tabanı dar kuneat; açık yeşil, tüysüz ya da orta damar üstünde birkaç tüy bulundurur; **Petiyol 1-5 mm** (Şekil 26-27).

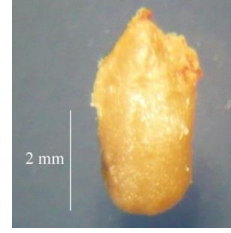


Şekil 26. *C. morulus*: Yaprak üst yüzeyi



Şekil 27. *C. morulus*: Yaprak alt yüzeyi

Simoz dik, sıkı, 3-6(-8) çiçekli. Çiçekler 6-8 mm çapında; petaller beyaz, 2·5 mm (Şekil 28); pedisel ve hipantiyum tomentoloz, nadiren az çok çıplaklaşan tüylü. Meyve **bir pom**, pembemsi-siyah, obovoid, 5-7 x 3-6 mm, mavimsi beyaz bir mum tabakası ile kaplı (Şekil 29); 2 çekirdekli (Şekil 30). **Her çekirdek 1 tohum taşır. Tohum 3-4 x 1-2 mm, açık kahverengi, yüzeyi pürüzlü, ovat, tepesi akut** (Şekil 31).

Şekil 28. *C. morulus*: ÇiçekŞekil 29. *C. morulus*: MeyveŞekil 30. *C. morulus*: ÇekirdekŞekil 31. *C. morulus*: Tohum

Çiçeklenme 5. Kayalık magmatik yamaçlar, 450-950 m.

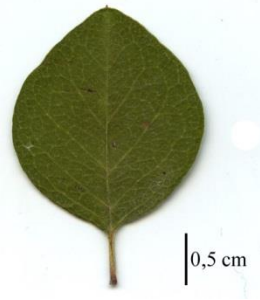
***C. morulus*'a ait "Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları"nda yer alan lokalite kayıtları [7]:**
A8 Çoruh: nr. Tolghom, *Woronow* 1595. *Ordshoch*, above Çoruh, *Turkiewicz* 758. **A9** Çoruh: Ardanuç, 450 m, *Aydin* (ISTO 4309) d. Yusufeli, between Sarıgöl and Barhal, 900-950 m, D. 47668.

***C. morulus*'a ait herbaryum kayıtları:** **A6** Sivas: Suşehri, Kelkit vadisi, 700-800 m, 29.05.1986, *B. Yıldız* 7433 (INU!); **Sivas: Suşehri, Kelkit vadisi, kayalık yamaçlar, 800 m, 21.09.2014 M.M. Hürkul (AEF 26542!).**

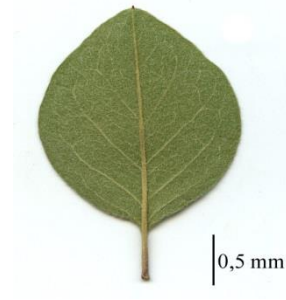
C. nummularia Fisch. & Mey.

Şekil 32. *Cotoneaster nummularia*. Genel Görünüş

2-5 m ya da daha fazla boylanabilen çalı veya alçak ve yayık çalılar (Şekil 32). Yapraklar genişçe eliptik-orbikular, **0,9-2,5-(4) x 0,5-2,5-(3-5) cm** (genellikle 2 cm'den daha uzun değil), kısa sürgünlerde yapraklar mukronat, bazen emerginat, uzun sürgünlerde yapraklar akut, yaprağın üst yüzeyi genç iken seyrek tüylü, sonra tüysüz, alt yüzey gri-tomentoz ya da ara sıra hemen hemen tüysüz; petiyol 2-4 mm, uzun sürgünlerde bazen daha uzun (Şekil 33-34).



Şekil 33. *C. nummularia*: Yaprak üst yüzeyi

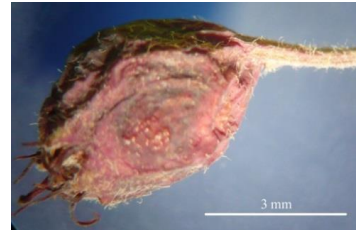


Şekil 34. *C. nummularia*: Yaprak alt yüzeyi

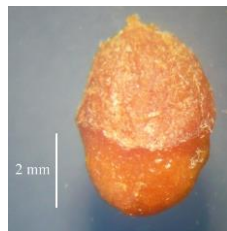
Çiçek durumu sıkı, 3-7 çiçekli. Petaller beyaz, yayık (Şekil 35). Pedisel, reseptakulum ve sepal beyaz-tomentoz. Meyve **bir pom**, kırmızı, ters koni ya da küremsi, **5-8 x 4-5 mm**, gençken kısa yumuşak tüylü; sonra olgunlaşınca tüysüz (Şekil 36); meyve 2 çekirdekli (Şekil 37). **Her çekirdek 1 tohum taşır. Tohum 3,5-4 x 1-2 mm, koyu kahverengi, yüzeyi pürüzlü, ovat, tepesi akut** (Şekil 38).



Şekil 35. *C. nummularia*: Çiçek



Şekil 36. *C. nummularia*: Meyve



Şekil 37. *C. nummularia*: Çekirdek



Şekil 38. *C. nummularia*: Tohum

Çiçeklenme 4-6. Kireçtaşlı kayalık yamaçlar ve gölgeli yamaçlar, step ile açık çalılık ya da bodur ağaçlar arasında, (300-) 800-2300 (-3100) m.

C. nummularia'a ait "Türkiye Florası ve Doğu Ege Adaları"nda yer alan lokalite kayıtları [7]: **A2** Bilecik: Kara-su valley, 300-400 m, *Bornm.* 1929: 13409. **A3 Bolu**: Karaköy, N.W. of Beypazari, *Kühne* 370. **A4 Ankara**: nr. Karagöl, 1000 m, *Guichhard* 37. **A5** Kastamonu: N. of Kastamonu, 800 m, *D.* 38520. **A6** Amasya: Erbaa (Çatalan), 900m, *Tobey* 655. **A7** Gümüşhane: Stadodopi, *Sint.* 1894: 5691. **A8** Çoruh: 5 km N.W. of Artvin, 300 m, *Zohary & Plitm.* 2562-11. **A9** Kars: 'in jugo Karakola', c. 2000 m, *Schischkin.* **B3** Afyon: Afyonkarahisar, *Baytop* 9368. **B4** Ankara: Elma Da., 1800 m, *Kotte.* **B5** Nevşehir: Göreme, c. 10 km W. of Ürgüp, c. 1000 m, *McNeill* 400. **B6** Sivas: Ulaş, between Sivas and Malatya, *Reese.* **B7** Tunceli: Munzur Da., above Ovacık, 2100 m, *D.* 31317. **B8** Muş: 14 km from Varto to Hınıs, E. side of Bingöl Da., 2050, *D.* 46216. **B9** Bitlis: Tatvan, 1900 m, *Tong* 28. **B10** Ağrı: Mt. Ararat (Ağrı Da.), *Tchihatcheff.* **C3** Isparta: Kara Tepe, c. 1300 m, *Sorger* 66-44-29. **C4** Konya: Yemsurdaba Da., nr. Ermenek, *Périonin.* **C5** Niğde: Ala Da., Arpalık Cave, 2190 m, *Parry* 165. **C6** Maraş: Ahir Da., 1850-2150 m., *Haradj.* 1644. **C7** Adıyaman: Karatschor to Kumik, N. of Kahta, *Hand.-Mazz.* **C9** Hakkari: Cilo Da., in Diz deresi at Sua, 2000 m, *D.* 23960. **C10** Hakkari: 8 km from Şemdinli to Yüksekova, 1700 m, *D.* 44973.

C. nummularia'a ait herbaryum kayıtları: **A4** Ankara: Beypazarı-Nallıhan, Baraj yolu ayrımı, 650 m, 09.09.1979 *M. Coşkun* (AEF 6764!); Ankara: Hasanoğlan, İdris dağı, Hasanoğlan üstü, 1400-1700 m, 27.06.1989 *N. Tanker, M. Coşkun, M. Koyuncu, A. Köroğlu* (AEF 16323!); Ankara: Hasanoğlan üstü, 1450 m, 27.06.1990 *M. Coşkun* 8816, *K. Suskun* (AEF 16462!); Ankara: Kalecik yolu Hasayaz yol ayrımının 900 m batısı, ca. 1120 m, 17.08.1976, *K.P. Buttler* (ANK 21557!); Ankara: Kızılcahamam, Kargasekmez 08.09.1979 *M. Coşkun* (AEF 6762!); Ankara: Kızılcahamam, Soğuksu Milli Parkı, Göl deresi civarı, 1300-1350 m, 11.06.1990, *Ö. Eyüboğlu* (GAZİ 1600!); Ankara: Beynam ormanı, 27.05.1968, *T. Baytop* (İSTE 19724!); Çankırı: Atkaracalar, Dumanlı Dağı, Hoşisamlar mevki, 1300-1400 m, taşlı step, 25.06.1991, *Ahmet Duran* (GAZİ 1104!); **Çankırı: Kayı köyü girişi, 1200 m, kalkerli arazi, 05.06.2016 M.M. Hürkul** (AEF 26991!); **Çankırı: Kayı köyü girişi, 1200 m, kalkerli arazi, 06.09.2015 M.M. Hürkul** (AEF 26990!); Kastamonu: Ilgaz dağı, Küçük Hacet dağı, alpin kat 3 yamaç, A.k. kalker, ca. 2400 m, 29.07.1982, *Y. Akman, E. Yurdakul, M. Demirörs* (ANK 12502!). **A5** Samsun: Ladik, Değirmen mevki, doğu vadi, yamaç, sulak yer, c. 900 m, 21.08.1978, *Ş. Yıldırım* 1152 (HUB!). **A7** Gümüşhane, 30.09.1938, *Gassner* (ANK 1231!). **A8** Bayburt: Çoruh vadisi, Darıca köyü, 1720-1850 m, bozkır, 26.07.1991, *A. Güner, T. Ekim, M. Koyuncu, H. Karaca* (GAZİ 9714!); Erzurum: Erzurum Tortum arası, Akdağ köyü arkasındaki tepeler, 17.07.1988, *T. Baytop* (İSTE 59364!); Erzurum: Uzundere, Dikyar köyü, 30.06.2004 *Ufuk Özgen* (AEF 23593!); Rize: Çamlıhemşin, Yukarı Kavrun-Dornag- Arçavit arası, alpinik step, granit arazi, 2200-3000 m, 10.08.1980, *A. Güner* 3017 (HUB!). **A9** Kars: Arpaçay, H.çavuş deresi, 1730 m, Spireae çalılığı, 26.06.1984, *H. Ocakverdi* 2150 (GAZİ!). **B3** Afyon: Bayat, Çubukiçi mevki, Karunkuzu tepesinin kuzeyi, ca. 1230 m, 20.09.1974, *M. Vural* (ANK!); Afyon: Dinar, Akçaköy, Kumalar Dağı, güney yamaçlar, step, 1000 m, 16.05.1999, *E. Akçiçek* 2333

(GAZİ!); Konya: Akşehir, Sultandağları, Vahapgazi (Kesikbaş) civarı, 1050 m, *G. Dökmeci* (İSTE 32779!). **B4 Ankara: Bala, Beynam ormanı, 1200 m, 12.09.2014 M.M. Hürkul (AEF 26541!);** Ankara: Beynam ormanı, 19.05.1960, *K. Karamanoğlu* (ANK!). **B5 Aksaray: Demirci kasabası, Uzunkaya mev., c. 1250 m, 19.09.1994, Füsün Ertuğ 212 (GAZİ!);** Kayseri: Develi-Kayseri, Erciyes Da.-kayalık sırtları, 1900 m, 08.06.1988, *N. ve E. Özhatay* (İSTE 59199!); Kayseri: Hisarcık-Kayak evi, 17.07.1973, *R. Çetlik* (ANK 4042!); Nevşehir: Ortahisar, Pancarlık kilisesi civarı, 1200 m, volkanik tuf, kaya dipleri, 18.08.1989, *M. Vural, Ö. Eyüboğlu* (GAZİ 5573!); Nevşehir: Nevşehir-Ortahisar, 1450 m, *Festuca* stepi, 18.06.1989, *M. Vural ve ark.*, (GAZİ 5220!); Nevşehir: Göreme, 1130 m, volkanik tuf, bağ kenarları, 17.06.1989, *M. Vural, Ü. Kol, N. Adıgüzel* (GAZİ 5163!); Nevşehir: Göreme, Arılıburun dere, volkanik tuf, nemli vadi, 1100-1250 m, 19.05.1989, *M. Vural ve ark.* (GAZİ 4731!); Niğde: Ihlara vadisi, 1220 m, *N. Tanker, M. Tanker, M. Koyuncu* (AEF 14557!); Yozgat: milli Park, ağaçlandırma sahası, ca. 1600 m, 28.07.1979, *Birant Sayın* (ANK 18!). **B6 Malatya: Doğanşehir, Dedeyacı k., Keşiş da., 1800-2200 m, 28.07.1971, H. Peşmen 2549 (HUB!);** Sivas: Şarkışla, Diğnendim tepe, 1600-1900 m, *P. Sylvestris* ormanı, 20.08.2007, *B. Özüdoğru* 1544 (HUB!). **B7 Tunceli: Ovacık, Karagöl vadisi, 1350-1500 m, 08.09.1979, Ş. Yıldırım 2436 (HUB!);** **B8 Erzurum-Tortum çevresi, Ziraat binası batısı, 1500 m, 17.07.1990, Z. Aytaç (GAZİ A3150!);** **B9 Bitlis: Başan Köyü, step ve nemli yerler, ca. 1800 m, 23.06.1989, T. Ekim (GAZİ 7563!);** Van: Gevaş Altıncaç- İnköy arası, 1750 m, 24.05.1999, *M. Koyuncu, Ş. Alp* (VANF!). **B10 Kars: Iğdır, Ağrı Dağı, Süveren köyü, Korhan mah. üstü, 2000 m, 28.09.1984 T. Ekim, M. Koyuncu, B. Yıldız, M. Vural (AEF 14673!);** **C3 Antalya: Akseki, Çukurköy yaylası, Tekeagrağı mevkii, kayalık, 1900 m, 16.08.1995, Ahmet Duran 3129 (GAZİ!);** Antalya: Elmalı, Çıglıkara, kabakçılar mevkinin 5 km batısı, molozlu derin top., orman açıklığı, ca. 1760 m, 26.06.1975 *R. Çetlik* (ANK 1763!); Burdur: Ağlasun, Taşkapı köyü, 1380 m, 29.05.1997, *NA 2809 (GAZİ!);* **C4 Konya: Ermenek, Üçbölük Köyü Olukpınar arası, taşlı yamaçlar 1400 m, 28.05.1981 M. Koyuncu, G. Sezik, F. İzgü (AEF 11571!);** Konya: Ermenek-Karaman yolu, Kamışderesi, 1750 m, 20.07.1983 *M. Koyuncu 6609, M. Coşkun (AEF 12241!);* Konya: Ermenek, Yassıkaya (Keben) üstü tepeler, 1150-1600 m, 15.06.1982 *N. Tanker, M. Koyuncu 5414, F. İhsulu, T. Özcan (AEF 12017!);* **C5 Konya: Ereğli, Aydos dağı, Kayasaray, Katranlık, kalker anakaya, 1800 m, 27.06.1976, S. Erik 1685 (HUB!);** Mersin: Tekir, ağaçlandırma sahası, 1300 m, 17.09.1971, *F. Yaltırık* (ANK 360!). **C6 Kahramanmaraş: Ahır Dağı, Ulucak tepe çevresi, 1700-1800 m, taşlık alanlar, 25.07.1992, Z. Aytaç, H. Duman (GAZİ 4792!);** Kahramanmaraş: Engizek Dağı, Aksu Mahallesi çevresi, c. 1000 m, tarla kenarı, 10.06.1987, *H. Duman (GAZİ 3028!);* **C9 Hakkari, Cilo dağına doğru, Kırıkdağ köyü, Dikmen çevresi, Diz deresi, çerçak, 1450 m, 14.10.2009, Ş. Yıldırım 36011 (İSTE 101918!);** **C10 Hakkari: Yüksekova-Şemdinli, Sapata geçidine giriş, Quercus ormanı açıklığı, c. 1600 m, 24.06.1983, T. Ekim (GAZİ 7957!);**

Morfolojik olarak incelenen 5 türe ait bulgular ve “Türkiye Florası” eserinden farklı olarak elde ettiğimiz veriler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Türkiye’de doğal olarak yetişen 5 *Cotoneaster* türünün morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması (Türkiye Florası’ndan farklı bulgular **koyu** şekilde gösterilmiştir)

	<i>C. integerrimus</i>	<i>C. tomentosus</i>	<i>C. melanocarpus</i>	<i>C. morulus</i>	<i>C. nummularia</i>
Gövde	2 m’ye kadar boylanan, dik gürcü çalı ya da bazen toprak yüzeyine yatık olarak gelişen bitki.	1-2(-3) m uzunluğunda dik çalı.	2·5 m’ye kadar boylanan çalı.	50-125 cm uzunluğunda çalı şeklinde bitki.	2·5 m ya da daha fazla boylanabilen çalı veya alçak ve yayık çalılar.
Yaprak	Yapraklar orbikulardan ovata kadar farklı şekillerde, 1,2 -(4-5) x 0,9 -3 cm, kısa sürgünlerde yaprak uçları obtus ya da mukrolu, uzun sürgünlerde yaprak uçları akut, tabanda dairemsi, yaprak üst yüzeyi donuk yeşil ve tüysüz ya da birkaç dağınık tüylü, alt yüzey grimsi-tomentoz; petiyol 2-4 mm.	Yapraklar 2,5 -(6-7) x 1,6 - 3,2 cm, genişçe eliptikten suborbikulara kadar ya da genişçe ovata kadar değişen şekillerde, tepesi obtus, yuvarlak, mukrolu ya da hafif emerginat. Tabanı genişçe kuneat, yuvarlak ya da nadiren subkordat, üst yüzeyi ince tomentoz, az çok çıplaklaşan ya da çok seyrek dağınık tüylü , alt yüzeyi yoğun grimsi-beyaz ya da hafif sarımsı, genellikle biraz buruşuk, belirgin şekilde çıkıntı yapmış damarlı. Petiyol 3-5(-7) mm uzunluğunda, tomentoz.	Yapraklar genişçe ovattan, ovat-oblonga kadar farklı şekillerde, 1-4(-5) x 0,7 - 2,8 cm, obtus ya da emerginat, bazen uzun sürgünlerde subakut ve mukrolu, koyu yeşil ve üst yüzey seyrek kısa yumuşak tüylü, alt yüzey beyazımsı-tomentoz; petiyol 3-5 mm .	Yapraklar oblong-eliptikten obovata kadar farklı şekillerde, (0·6-) 0·7- 2·2 (-2·6) x (0·4-) 0·5-1·4 (-1·9) cm., obtus, emerginat ya da nadiren subakut, tabanı dar kuneat; açık yeşil, tüysüz ya da orta damar üstünde birkaç tüy bulundurur; Petiyol 1-5 mm .	Yapraklar genişçe eliptik-orbikular, 0,9 - 2,5 -(4) x 0,5 - 2,5 -(3-5) cm (genellikle 2 cm’den daha uzun değil), kısa sürgünlerde yapraklar mukronat, bazen emerginat, uzun sürgünlerde yapraklar akut, yaprağın üst yüzeyi genç iken seyrek tüylü, sonra tüysüz, alt yüzey grimsi-tomentoz ya da ara sıra hemen hemen tüysüz; petiyol 2-4 mm, uzun sürgünlerde bazen daha uzun.

Tablo 2 (Devamı). Türkiye’de doğal olarak yetişen 5 *Cotoneaster* türünün morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması (Türkiye Florası’ndan farklı bulgular **koyu** şekilde gösterilmiştir)

	<i>C. integerrimus</i>	<i>C. tomentosus</i>	<i>C. melanocarpus</i>	<i>C. morulus</i>	<i>C. nummularia</i>
Çiçek durumu	Çiçek durumu kısa simoz, (1-)2-3(-4)- çiçek taşır.	Çiçek durumu (2-)3-12 çiçekli, uçta ya da koltuklarda, sarkık simoz. Pedunkul, pedisel ve hipantiyum yoğun tomentoz.	Simoz 3-8(-15) çiçekli, sarkık, kısa yumuşak tüylü ya da tüysüz.	Simoz dik, sıkı, 3-6(-8) çiçekli. Çiçekler 6-8 mm. çapında.	Çiçek durumu sıkı, 3-7 çiçekli.
Çiçek	Petal pembe, dik. Pedisel ve kaliks tüysüz ya da hemen hemen tüysüz.	Petaller dik, pembe.	Petaller kırmızımsı ya da pembemsi, özellikle kenara yakın kısımları dik. Reseptakulum tüysüz ya da hafif kısa yumuşak tüylü.	petaller beyaz, 2-5 mm; pedisel ve hipantiyum tomentoloz, nadiren az çok çıplaklaşan tüylü.	Petaller beyaz, yayık. Pedisel, reseptakulum ve sepal beyaz-tomentoz.
Meyve	Meyve bir pom , kırmızı, hemen hemen küremsi, 6-8 mm çapında, tüysüz; meyve çekirdeği 2-(3-4) tane. Her çekirdek 1 tohum taşır.	Meyve bir pom , 6-8 mm, küremsi, olgunlukta kırmızı, tepesi ilk zamanlarda tomentoz, sonra seyrek kısa yumuşak tüylü. Çekirdek 2-(3-5) tane. Her çekirdek 1 tohum taşır.	Meyve kahverengimsi-kırmızı, olgunlukta siyah bir pom, 5-9 x 3-4 mm , mavimsi beyaz bir mum tabakası ile kaplı; 2-(3) çekirdekli. Her çekirdek 1 tohum taşır.	Meyve bir pom , pembemsi-siyah, obovoid, 5-7 x 3-6 mm, mavimsi beyaz bir mum tabakası ile kaplı; 2 çekirdekli. Her çekirdek 1 tohum taşır.	Meyve bir pom , kırmızı, ters koni ya da küremsi, 5-8 x 4-5 mm, gençken kısa yumuşak tüylü; sonra olgunlaşınca tüysüz; meyve 2 çekirdekli. Her çekirdek 1 tohum taşır.
Tohum	Tohum 3-4 x 1,5-2 mm, açık kahverengi, yüzeyi pürüzlü, yanlardan basık, ovat, tepesi akut	Tohum 4-5 x 2-3 mm, açık kahverengi, yüzeyi pürüzlü, eliptik, tepesi hafif akut	Tohum 4-5 x 2-2,5 mm, açık kahverengi, yüzeyi pürüzlü, ovat, tepesi akut	Tohum 3-4 x 1-2 mm, açık kahverengi, yüzeyi pürüzlü, ovat, tepesi akut	Tohum 3,5-4 x 1-2 mm, koyu kahverengi, yüzeyi pürüzlü, ovat, tepesi akut

Cotoneaster cinsine ait tür teşhis anahtarı Türkiye Florası'nda 7 tür ile verilmiştir. Türkiye florasına yeni kayıt olarak sonradan ilave edilen *C. tomentosus* bu teşhis anahtarında yer almamaktadır. Bu nedenle *C. integerrimus*, *C. melanocarpus*, *C. morulus* ve *C. nummularia* türlerinin meyvelerine ait tüylenme özellikleri bu teşhis anahtarında eksiklik olarak tarafımızca görülmüş ve bu 5 tür için belirlenen bulguların da kullanılmasıyla hazırlanan anahtar eklenmiştir.

Türkiyede Yetişen *Cotoneaster* Medik. Türlerine Ait Tayin Anahtarı

1. Petaller pembe ya da kırmızımsı, dik

2. Meyve kırmızı

3. Meyve kırmızı; tüysüz; simoz kısa, 1-4 çiçekli *integerrimus*

3. Meyve kırmızı; tepesi ilk zamanlarda tomentoz, sonra seyrek kısa yumuşak tüylü *tomentosus*

2. Meyve siyah, tüysüz, mavimsi beyaz bir mum tabakası ile kaplı; simoz ± uzamış, 3-15 çiçekli

melanocarpus

1. Petaller beyaz, yayık

4. Olgun yapraklar tüysüz ya da alt tarafı seyrek tüylü

5. Meyve kırmızı; yapraklar çoğunlukla obtus *multiflorus*

5. Meyve siyahımsı-mor; yapraklar çoğunlukla akut *meyeri*

4. Olgun yaprakların alt tarafı tomentoz

6. Meyve siyahımsı-mor; tomentoloz yaprak uzunluğu 2 cm ye kadar

morulus

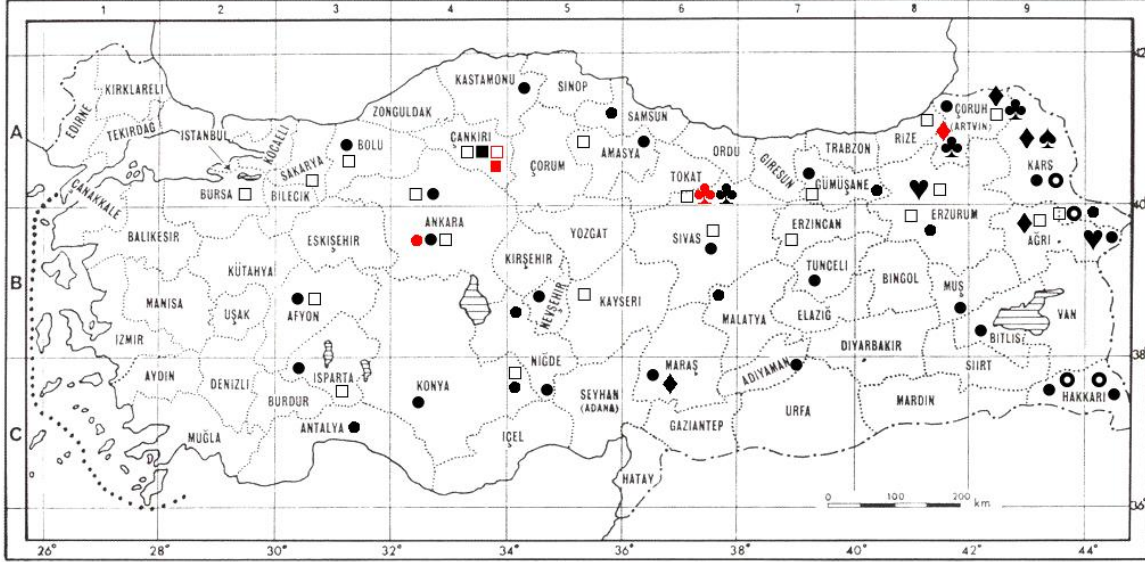
6. Meyve parlak kırmızı; yaprak uzunluğu 4 cm ye kadar

7. Olgun meyve tüysüz; yaprakların şekli çoğunlukla orbikular dan genişçe ovata kadar *nummularia*

7. Yaprakların şekli çoğunlukla obovat *transcaucasicus*

Rosaceae familyası, *Amygdaloideae* Arnott alt familyası ve *Maleae* Small tribusunda yer alan *Cotoneaster* cinsinin [1,2], Türkiye'de şimdiye kadarki flora kayıtlarına göre [7,9] 8 tür (*Cotoneaster integerrimus* Medik., *C. tomentosus* (Aiton) Lindl., *C. melanocarpus* (Bunge) Fischer, *C. multiflorus* Bunge, *C. meyeri* Pojark., *C. nummularia* Fisch. & Mey., *C. transcaucasicus* Pojark., *C. morulus* Pojark.) ile temsil edildiği bilinmektedir. Bu bilgilerle birlikte Türkiye'nin önemli herbaryumlarında (AEF, ANK, GAZİ, HUB, İSTE, VANF) ise sadece *C. integerrimus*, *C. melanocarpus*, *C. nummularia*, *C. morulus* türlerine ait örneklerin bulunduğu tespit edilmiştir. 2014-2017 yılları arasında farklı tarihlerde yapmış olduğumuz 21 arazi çalışması sırasında *C. integerrimus*, *C. tomentosus*, *C.*

melanocarpus, *C. morulus* ve *C. nummularia* türlerine ulaşılabilmektedir. Türkiye Florası kayıtları ve herbaryum örneklerin üzerinde yaptığımız morfolojik çalışmalar sonucunda elde ettiğimiz verilere göre, *Cotoneaster* cinsinin ülkemizdeki yayılış haritası hazırlanmıştır (Şekil 39).



Şekil 39. *Cotoneaster* türlerinin Türkiye’de yayılış alanları. □ *C. integerrimus*, ■ *C. tomentosus*, ◆ *C. melanocarpus*, ● *C. multiflorus*, ♥ *C. meyeri*, ● *C. nummularia*, ♠ *C. transcaucasicus*, ♣ *C. morulus* (Tarafımızdan toplanan türler kırmızı renkli olarak gösterilmiştir).

Türkiye Florası’nda *Cotoneaster* cinsi Rosaceae familyasının 25. cinsi olarak yer almaktadır. Kendisinden önce *Mespilus* (24. cins) sonra ise *Pyracantha* (26. cins) gelmektedir. *Cotoneaster* cinsi Türkiye Florası’na göre *Mespilus* cinsinden çiçeklerinin 1 cm çapından az olması ve meyvelerinin kırmızı ya da siyah olması özellikleri ile ayrılır. *Mespilus* cinsinin ise çiçekleri 1 cm çapından büyük, meyve kahverengi, yeşilimsi ve sarıdır. Cins, *Pyracantha* cinsinden ise yaprak kenarlarının düz olması ile ayrılır. *Pyracantha* cinsinde ise yapraklar serrate ya da dentate. *Cotoneaster* cinsinin bitki teşhisi sırasında Türkiye Florası’nda 35. cins olarak yer alan *Amelanchier* cinsi ile karıştırılmasının nedeni *Amelanchier* türlerinin yapraklarının kenarlarının düz olmasıdır. Ancak bu cinsin yaprakları, tabana yakın serrate ya da bazen tepede dişlidir [10]. Bu özellik, kurutulmuş örneklerde her zaman net olarak görülemediği için yaprak kenarlarının düz olması özelliğine bakılarak yanlış teşhis yapılması mümkündür. Herbaryum çalışmalarımız sırasında herbaryum örnekleri ayrıntılı olarak incelenmiş ve teşhis edilen *Cotoneaster* türlerinin bazılarının başka türler ile ve zaman zaman da *Amelanchier* türleri ile karıştırıldığı tespit edilmiştir (Şekil 40).



Şekil 40. *Cotoneaster integerrimus* olarak teşhis edilmiş bir herbaryum örneği. *Amelanchier rotundifolia* (Lam.) Dum.-Courset subsp. *integrifolia* (Boiss. & Hohen.) Browicz (ANK 108)

Yaptığımız bu çalışmada, topladığımız türlerin morfolojik özellikleri yaprak, meyve ve tohumları ayrıntılı olarak incelenerek tanımlanmıştır. Çok sayıda ölçüm alınıp, bulgular görsel olarak fotoğraflarla desteklenmiştir. Florada türlere ait deskripsiyonlarda eksik bilgiler tamamlanmaya çalışılmıştır. Ayrıca Türkiye florasına sonradan yeni kayıt olarak kazandırılan *C. tomentosus* türü [9] de teşhis anahtarına eklenerek elde ettiğimiz bütün bulgularla birlikte yeni bir teşhis anahtarı düzenlenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

TEŞEKKÜR

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü (BAP)'ne, "Türkiye'de doğal olarak yetişen *Cotoneaster* Medik. (Rosaceae) türleri üzerinde Farmasötik Botanik yönünden araştırmalar" adlı doktora tez çalışmasına 13L3336010 numaralı proje ile destek sağladığı için teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Bremer, B., Bremer, K., Chase, M. W., Fay, M. F., Reveal, J. L., Bailey, L. H., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Stevens, P. F., Anderberg, A. A., Moore, M. J., Olmstead, R. G., Rudall, P. J., Sytsma, K. J., Tank, D. C., Wurdack, K., Xiang, J. Q. Y., Zmarzty, S. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2). <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x>
2. Chase, M. W., Christenhusz, M. J. M., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E., Mabblerley, D. J., Sennikov, A. N., Soltis, P. S., Stevens, P. F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1). <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
3. Erik, S., Tarıkahya, B. (2004). Türkiye florası üzerine. *Kebikeç*, 17, 139–163.
4. Evans, W. (2002). *Trease and Evans' pharmacognosy* (15th ed.). WB Saunders.
5. Heywood, V., Brummitt, R., Culham, A., Seberg, O. (2007). *Flowering Plant Families of the World* (Revised ed). Firefly Books.
6. POWO. (2020). Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.plantsoftheworldonline.org/>
7. Browicz, K. (1972). *Cotoneaster*. In P. H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (pp. 129–132). Edingburg University Press.
8. Güner, A. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)* (A. Güner, S. Aslan, T. Ekim, M. Vural, & M. T. Babaç (eds.)). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. <https://books.google.com.tr/books?id=5Cu3AQAACAAJ>
9. Zielinski, J. (1991). *Cotoneaster tomentosus* (Rosaceae) - A new species for the flora of Turkey. *Karaca Arboretum*, 1(2), 49–52.
10. Browicz, K. (1972). *Amelanchier*. In P. H. Davis (Ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (pp. 168–171). Edingburg University Press.



ECZACILIK ÖĞRENCİLERİNİN İNTERNET ÖZ-YETERLİKLERİ

INTERNET SELF-EFFICACY OF PHARMACY STUDENTS

Nilay TARHAN^{1,*} 

¹ İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık İşletmeciliği Anabilim Dalı, 35620, İzmir, Türkiye

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada eczacılık öğrencilerinin internet öz-yeterlik düzeylerinin tespit edilmesi, eczacılık öğrencileri örnekleminde İnternet Öz-yeterliği Ölçeğinin faktör yapısının belirlenerek bazı değişkenlerin alt boyutlar üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Birinci sınıfta bulunan eczacılık öğrencilerine Türkçe geçerlik ve güvenilirliği Akin ve arkadaşları (2014) tarafından yapılmış İnternet Öz-yeterliği Ölçeğini içeren anket formu uygulanmıştır. Açıklayıcı faktör analizi (AFA), t testi ve ANOVA analizi yapılmış ve ölçek puanları hesaplanmıştır.

Sonuç ve Tartışma: AFA sonucunda 4 faktörlü bir yapı ortaya çıkmış olup tüm faktör yüklerinin 0,5'ten fazla olduğu görülmüştür. İnternette 3-5 saat arasında zaman geçirenlerin 3 saatten az zaman geçirenlere göre iletişim faktörüne daha yüksek yanıt verdikleri, üretkenlik faktöründe kadınların erkeklerden daha yüksek ortalamaya sahip olduğu belirlenmiştir. Ölçek puanlarının ortalaması 78,25 standart sapması ise 19,11 olarak bulunmuştur. Eczacı adaylarının internet öz-yeterliklerinin eczacılık eğitimlerini ve gelecekteki eczacılık hizmetlerini etkileyebileceği göz önüne alındığında bu konuya önem verilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Eczacılık, eczacılık eğitimi, eczacılık hizmetleri, internet öz-yeterliği

ABSTRACT

Objective: This study aimed to determine the internet self-efficacy levels of pharmacy students, to define the factor structure of the Internet Self-Efficacy Scale in pharmacy students sample, and to examine the effects of some variables on sub-dimensions.

Material and Method: A questionnaire including the Internet Self-efficacy Scale that Turkish validity and reliability were made by Akin et al. (2014), was applied to the first year pharmacy students. Explanatory factor analysis (EFA), t test and ANOVA analysis were performed and scale scores were calculated.

Result and Discussion: As a result of EFA, a 4-factor structure emerged and it was observed that all factor loadings were more than 0.5. It was determined that those who spend 3-5 hours on internet responded to the communication factor higher than those who spent less than 3 hours, and women had a higher average than men in generativity factor. Mean scale score was 78.25 and the standard deviation was 19.11. Considering that the internet self-efficacy of pharmacist candidates may affect their pharmacy education and future pharmacy services, importance should be given to this issue.

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Nilay Tarhan
e-posta / e-mail: tarhan8840@gmail.com

Keywords: *Internet self-efficacy, pharmacy, pharmacy education, pharmacy services*

GİRİŞ

İnternet dahil bilgi ve iletişim teknolojilerinin, bilgi alışverişinde, sosyal ağlarda ve topluma katılımda önemli rolü bulunmaktadır [1]. İnternet öğrenme, iletişim ve eğlence gibi birçok alana etki etmekte olup gençlerin hayatlarının vazgeçilmez bir parçası haline gelmiştir [2]. İnternetin birçok alanda kullanıldığı göz önüne alındığında internet kullanma öz yeterliğinin günlük hayatımızı, mesleki ve/veya eğitim hayatımızı kolaylaştırabilmek için gerekli olduğu görülmektedir. Ayrıca COVID-19 pandemisi nedeniyle eğitim kurumları tarafından çevrimiçi dersler yapılmak zorunda kalınmıştır [3]. Ancak e-öğrenme ve çevrimiçi eğitimin beklenen faydayı sağlayabilmesi için etkili bir şekilde kullanılması gerektiği belirtilmektedir [4,5].

Öz-yeterlik Sosyal Bilişsel Kuram'da söz edilen önemli kavramlardan biri olup Bandura tarafından "*bireyin, belli bir performansı göstermek için gerekli etkinlikleri organize edip, başarılı olarak yapma kapasitesi hakkında kendine ilişkin yargısı*" şeklinde tanımlanmaktadır [6, 7]. İnternet öz yeterliği ise internet kullanırken bireyin kendi yeteneğine dair algısıdır [8]. Alivernini ve Lucidi, öz-yeterliğin, akademik başarının göstergesi olduğunu ve öğrencilerin yeni öğrenme ortamı adaptasyonlarına destek olduğunu belirtmektedir [9,10]. Yüksek düzeydeki internet öz-yeterliğinin, öğrencilerin web tabanlı bir ortamda bilgi ararken daha iyi bilişüstü stratejiler geliştirmesine katkı sağlayacağı ve web tabanlı ortamlarda öğrenmelerini kolaylaştıracağı ifade edilmektedir [8]. Algılanan öz-yeterliği daha fazla olanların bir görevi başarmak için daha çok çabaladığı ve ısrarcı olduğu belirtilmektedir [11]. İnternet öz-yeterliğinin eğitim hayatına olan etkisinin önemli olduğu görülmektedir. Ancak eczacılık öğrencilerinin sadece üniversite eğitimleri sırasında değil mesleklerini uygularken de interneti etkili bir şekilde kullanmalarının, kendilerini bu alanda geliştirmelerinin önem taşıdığı düşünülmektedir. Hastalar ve sağlık profesyonelleri arasındaki sağlık bilgisi paylaşımında sosyal medya ve internet kullanımının yaygınlaştığı [12], birçok elektronik sağlık kayıt sisteminin web tabanlı olduğu belirtilmektedir [13]. Toplum eczacılarıyla yapılan bir çalışmada ürün bulunurluğunu tespit etme, ilaç fiyatları, ilaçlar ve hastalıklarla ilgili bilgilere ulaşma amacıyla eczacıların günde birden fazla kez interneti kullandığı ortaya konmuştur [12]. İnternette sağlık bilgilerine olan talep artışı ile eczacıların internet üzerinden verdiği danışmanlık hizmetlerinin önem taşıdığı, bir internet sayfasından klinik eczacılar tarafından sağlanan ilaç danışmanlığı hizmetinden kullanıcıların memnun kaldığı belirtilmektedir [14]. Ayrıca internet tabanlı öğrenme, sürekli eczacılık eğitimi için de uygun bir ortam olarak kabul edilmektedir [15].

Literatürde internet kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar [16, 17] bulunmakla birlikte internet ve bununla ilgili teknolojilerin, uygulamaların hızla değişip geliştiği günümüzde güncel durumun ve

internet öz-yeterlik düzeylerinin tespit edilmesi önem taşımaktadır. Covid-19 pandemisi ile birlikte eğitim faaliyetlerinin de ağırlıklı olarak internet üzerinden yapılmaya başlanması ile öğrencilerin internet öz-yeterliği önem kazanmaktadır. Ayrıca eczacıların mesleklerini uygularken de interneti yoğun olarak kullandıkları bilinmektedir. Eczacı adaylarının internet üzerinden verilen eğitimlerden daha çok faydalanabilmeleri ve ilerideki mesleki uygulamaları için internet öz-yeterlik düzeylerinin de yeterli olması gerekmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 04.09.2020 tarihinde onaylanmıştır. Veri toplama aracı iki üniversitenin eczacılık fakültesi 1. sınıfında okuyan 187 öğrenciye 16-30 Ekim 2020 tarihleri arasında online olarak iletilmiştir.

Veri toplama aracı 3 adet sorudan ve İnternet Öz-yeterlik Ölçeği'nden oluşmaktadır. Kim ve Glassman tarafından geliştirilen İnternet Öz-yeterliği Ölçeği (*Internet Self-efficacy Scale*)'nin [18] Türkçe geçerlik ve güvenilirliği Akın ve arkadaşları tarafından yapılmıştır [19]. Üniversite öğrencileri ile yapılan Türkçe geçerlik ve güvenilirlik çalışması sonucunda bu ölçeğin 17 maddeden ve beş alt boyuttan (*araştırma, ayırma, organizasyon, yaratıcılık ve iletişim*) oluştuğu, Cronbach alfa katsayılarının araştırma alt boyutunda 0,75; ayırma alt boyutunda 0,87; organizasyon alt boyutunda 0,86; yaratıcılık alt boyutunda 0,88; iletişim alt boyutunda 0,83; ölçeğin bütününde ise 0,94 olduğu belirtilmiştir. Ölçekten alınabilecek puanın en az 17, en fazla 119 olduğu ve yüksek puanın yüksek öz-yeterlik düzeyi anlamına geldiği ifade edilmektedir.

Ölçekten elde edilen veriler, alt boyutların belirlenebilmesi için açıklayıcı faktör analizine (AFA) tabi tutulmuştur. AFA sonucunda elde edilen her bir boyutun iç tutarlılıklarını belirlemek amacıyla, Cronbach alfa katsayıları hesaplanmıştır. Analizler için SPSS 24.0 paket programı kullanılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Çalışmaya 106 öğrenci katılmıştır. Tablo 1'de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) değeri ve Bartlett küresellik testi sonuçları verilmiştir. Verilerin faktör analizine uygunluğunun belirlenmesinin ardından AFA yapılmıştır. AFA sonucu ölçeğin eczacılık öğrencileri örnekleminde dört faktörlü bir yapıya sahip olduğu, araştırma ve ayırma alt boyutlarının, mevcut çalışmada tek faktör altında (ilk 6 ifade) toplandığı tespit edilmiş olup Tablo 2'de gösterilmiştir. Diğer faktörler sırasıyla organizasyon, üretkenlik ve iletişim faktörleridir. Ölçekteki tüm maddelerin faktör yükleri 0,5'ten fazladır. Faktörlere ait açıklanan varyans oranları sırasıyla %23,277; %22,088; %21,704 ve %10,092; kümülatif olarak açıklanan varyans oranı ise %77,16 olarak bulunmuştur. Ölçeğin tümüne ait Cronbach alfa katsayısının

0,927; faktörlere ait Cronbach alfa katsayısının ise sırasıyla 0,918; 0,914; 0,889 ve 0,791 olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. KMO ve Bartlett küresellik testi sonuçları

KMO Değeri		0,858
Bartlett Küresellik Testi	χ^2	1455,276
	Serbestlik derecesi	136
	Sig.	0,000

Tablo 2. Faktör yükleri

Faktör Maddeleri	1. Faktör	2. Faktör	3. Faktör	4. Faktör
3. ifade	0,874			
4. ifade	0,829			
5. ifade	0,746			
6. ifade	0,696			
2. ifade	0,670			
1. ifade	0,582			
9. ifade		0,856		
11. ifade		0,837		
10. ifade		0,776		
8. ifade		0,737		
17. ifade			0,903	
16. ifade			0,878	
14. ifade			0,806	
13. ifade			0,804	
7. ifade			0,548	
12. ifade				0,874
15. ifade				0,755

Çalışmaya katılan 106 öğrencinin %58,5'i kadın, %41,5'i erkektir. Cinsiyetin faktörler üzerinde bir etkisi olup olmadığını belirlemek için *t* testi yapılmış, %95 güven aralığında üretkenlik faktöründe istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiş olup (*t*:2,753; Sig. 0,007) kadınların bu faktöre verdikleri yanıt ortalamalarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Diğer faktörlerde anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir. Katılımcıların hiçbiri internet kullanımı ile ilgili bir sertifika/egitim programına katılmamıştır. Gün içinde internette geçirilen süreye ise katılımcıların %31,1'i 3 saatten az, %41,5'i 3-5 saat ve %27,4'ü 5 saatten fazla olarak yanıt vermiştir. İnternette geçirilen zamanın faktörler üzerindeki etkisini araştırmak için tek yönlü ANOVA yapılmıştır. %95 güven aralığında, iletişim (F=3,615; p=0,03) faktöründe istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Varyanslar homojen olduğu için Tukey testi ile gruplar arasındaki farka bakılmıştır. İnternette 3-5 saat arasında zaman geçirenlerin 3 saatten az zaman geçirenlere göre iletişim faktörüne verdikleri yanıt ortalamalarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Ölçek puanlarının ortalaması 78,25 standart sapması ise 19,11'dir. En yüksek puan 114, en düşük puan ise 26'dır. Ölçekteki ifadelerle verilen yanıt ortalamalarına bakıldığında ise "İnterneti kendi sorularımı yanıtlamak için etkili biçimde kullanabilirim." ifadesinin 5,56 ile en yüksek, "Diğer insanların okuyabileceği ve ilgileneceği blog iletileri yazabilirim." ifadesinin 2,88 ile en düşük ortalamaya sahip olduğu görülmüştür.

Literatürde cinsiyetin internet öz-yeterliliğine olan etkisine yönelik farklı sonuçlar bulunmaktadır. Öğretmen adayları ile yapılan bir çalışmada erkeklerin internet öz-yeterliliklerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur [20]. Öğrencilerle yapılan başka bir çalışmada ise kadınların iletişimsel internet öz-yeterliliklerinin erkeklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [21]. Mevcut çalışmada iletişim boyutunda cinsiyetler arasında farklılık tespit edilmemiş ancak üretkenlik boyutunda kadınların erkeklerden daha yüksek ortalamaya sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde üniversite öğrencileriyle yapılan bir çalışmada da bu alt boyutta kadınların erkeklerden daha yüksek seviyede öz-yeterliliğe sahip olduğu belirtilmiştir [18]. İnternetin iletişimi büyük ölçüde kolaylaştırdığı belirtilmektedir [2]. Bu çalışmada "Facebook gibi sosyal ağ sitelerini etkili bir iletişim aracı olarak kullanabilirim." ve "Sosyal ağları diğer insanlarla iletişime geçmek için etkili bir yol olarak kullanabilirim." ifadelerinin iletişim faktörünü oluşturduğu görülmektedir. İnternette daha fazla zaman geçirmenin bu alandaki iletişim becerilerini geliştirmiş olduğu düşünüldüğünde, internette 3-5 saat arasında zaman geçirenlerin 3 saatten az zaman geçirenlere göre bu faktöre daha yüksek yanıt vermeleri beklenen bir durumdur. Yapılan bir çalışmada da internette haftada daha fazla zaman geçiren öğrencilerin iletişimsel internet öz-yeterlilik düzeylerinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir [21]. Öğrencilerin ölçekten aldıkları puan ortalamaları göz önüne alındığında internet öz-yeterliliklerinin orta düzeyde olduğu görülmüştür. Düşük puana sahip öğrenciler de bulunduğu internette öz-yeterlilik düzeylerini arttıracak önlemlerin alınması gerektiği söylenebilir.

Çalışmada elde edilen verilerin eczacılıkta eğitim programının geliştirilmesine de katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Eczacı adaylarının internet öz-yeterlilik düzeylerinin yüksek olmasının yalnızca internet üzerinden verilen eğitimlerden yeterli şekilde yararlanabilmeleri amacıyla değil aynı zamanda meslek hayatları süresince sunacakları eczacılık hizmetleri için de gerekli olduğu göz önüne alındığında eczacılık eğitiminin planlanması ve geliştirilmesi sırasında öğrencilerin internet öz-yeterlilik düzeylerini arttıracak düzenlemelerin yapılması önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Jokisch, M. R., Schmidt, L. I., Doh, M., Marquard, M., Wahl, H. W. (2020). The role of internet self-efficacy, innovativeness and technology avoidance in breadth of internet use: Comparing older technology experts and non-experts. *Computers in Human Behavior*, 106408.











2. Zhang, Y., Qin, X., Ren, P. (2018). Adolescents' academic engagement mediates the association between Internet addiction and academic achievement: The moderating effect of classroom achievement norm. *Computers in Human Behavior*, 89, 299-307.
3. Zheng, F., Khan, N. A., Hussain, S. (2020). The COVID 19 pandemic and digital higher education: exploring the impact of proactive personality on social capital through internet self-efficacy and online interaction quality. *Children and Youth Services Review*, 105694.
4. Saade, R., Kira, D. (2009). Computer anxiety in e-learning: the effect of computer self-efficacy. *Journal of Information Technology Education*, 8(1), 177-191.
5. Hsiao, B., Zhu, Y. Q., Chen, L. Y. (2017). Untangling the relationship between Internet anxiety and Internet identification in students: the role of Internet self-efficacy. *Information Research*, 22(2), paper 753.
6. Bandura, A. (1997). *Self-efficacy; The exercise of control*. New York: Freeman.
7. Aşkar, P., Umay, A. (2001). İlköğretim matematik öğretmenliği öğrencilerinin bilgisayarla ilgili öz-yeterlik algısı. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21(21), 1-8.
8. Tsai, M. J., Tsai, C.C. (2003). Information searching strategies in web-based science learning: the role of Internet self-efficacy. *Innovations in Education and Teaching International*, 40(1), 43-50.
9. Alivernini, F., Lucidi, F. (2011). Relationship between social context, self-efficacy, motivation, academic achievement, and intention to drop out of high school: A longitudinal study. *The Journal of Educational Research*, 104(4), 241-252.
10. Yavuzalp, N., Bahcivan, E. (2020). The online learning self-efficacy scale: its adaptation into turkish and interpretation according to various variables. *Turkish Online Journal of Distance Education*, 21(1), 31-44.
11. Ekizoglu, N., Ozcinar, Z. (2010). The relationship between the teacher candidates' computer and internet based anxiety and perceived self-efficacy. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 2(2), 5881-5890.
12. Shcherbakova, N., Shepherd, M. (2014). Community pharmacists, Internet and social media: an empirical investigation. *Research in Social and Administrative Pharmacy*, 10(6), e75-e85.
13. Anderson, J. G. (2007). Social, ethical and legal barriers to e-health. *International Journal of Medical Informatics*, 76, 480-483.
14. İzzettin, F. V., Yılmaz, Z. K., Okuyan, B., Sancar, M. (2019). Evaluation of satisfaction and internet self-efficacy of inquirers using an internet-based drug information centre. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 14(1), 67-72.
15. Chiu, Y. L., Liang, J. C., Mao, P. C. M., Tsai, C. C. (2016). Improving health care providers' capacity for self-regulated learning in online continuing pharmacy education: the role of internet self-efficacy. *Journal of Continuing Education in the Health Professions*, 36(2), 89-95.

16. Aslan, D., Yeğenoğlu, S., Küçük Biçer, B., Sözen Şahne, B., Acar Vaizoğlu, S., Özçelikay, G. (2013). Internet use of pharmacy students and its assessment with cognitive absorption scale. *Acta Medica*, 2, 53–58.
17. Cavaco, A. M. D. N., Schaafsma, E., Kucuk Bicer, B., Sözen Sahne, B., Volmer, D., Ozcelikay, G., Kurlovics, J., Krauja, N., Postma, M., Yegenoglu, S. (2017). Internet and computer use amongst european pharmacy undergraduates: exploring similarities and differences. *Farmacia*, 65(3), 407-413.
18. Kim, Y., Glassman, M. (2013). Beyond search and communication: Development and validation of the Internet Self-efficacy Scale (ISS). *Computers in Human Behavior*, 29, 1421-1429.
19. Akın A, Kaya, M., Akın Ü., Sahanç, Ü., Uğur, E. (2014). İnternet öz-yeterliği ölçeği Türkçe formu'nun geçerlik ve güvenilirliği. *Bartın Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 3(2), 404-415.
20. Sirakaya, M., Başarmak, U., Baltacı, Ö. (2015). Analysis of teacher candidates' educational internet self-efficacy beliefs in terms of various variables. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 174, 3094-3101.
21. Tsai, M. J., Tsai, C. C. (2010). Junior high school students' Internet usage and self-efficacy: A re-examination of the gender gap. *Computers & Education*, 54(4), 1182-1192.



KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞINDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ MU1 VE TETA1 POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ

THE ROLE OF GLUTATION-S-TRANSFERASE MU1 AND TETA1 POLYMORPHISMS IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Buket HAYAT¹ , Muhsin Selçuk YAVUZ² , Engin ŞAHİN³ , Onur DİRİCAN^{1,*} ,
Sezen YILMAZ SARIALTIN⁴ , Can YILMAZ⁵ , Işıl YILDIRIM⁶ , Tülay ÇOBAN⁴ ,
Gülçin GÜLER ŞİMŞEK⁷ , Serpil OĞUZTÜZÜN¹ 

¹ Kırıkkale Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, 71450, Kırıkkale, Türkiye

² Duatepe Polatlı Devlet hastanesi, Anestezi ve Reanimasyon Kliniği, 06900, Ankara, Türkiye

³ Ankara Atatürk Göğüs Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, 06280, Ankara, Türkiye

⁴ Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 06560, Ankara, Türkiye

⁵ Van Yüzüncüyıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 65090, Van, Türkiye

⁶ Beykent Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Programı, Biyokimya Alanı, 34500, İstanbul, Türkiye

⁷ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, 06000, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: Çalışmamızın amacı, KOAH hastalığının oluşumunda GSTM1 ve GSTT1 gen bölgesindeki "null" allellerinin rolü olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, Polatlı Duatepe Devlet Hastanesi Göğüs hastalıkları bölümünden Etik Kurul izni alınmış 36 KOAH'lı hasta ve 14 kontrol vakası bulunmaktadır. 2019 yılı içerisinde hasta ve kontrol grubundan alınmış olan kan örneklerinden DNA izolasyonları yapıldı. KOAH hasta ve kontrol grubunda qPCR

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Onur Dirican
e-posta / e-mail: onurdirican@hotmail.com

metodu ile GSTM1 ve GSTT1 gen bölgelerinde ki delesyon durumları incelendi. Çalışmanın sonuçları Hardy-Weinberg, Chi-Squared ve fisher's exact kuralına göre gen dozu seviyesinde dağılımları yapılarak karşılaştırmalı olarak değerlendirilmeye alındı.

Sonuç ve Tartışma: Yapılan qPCR analizleri sonrası 36 KOAH hastasından alınan numunelerde, tüm hasta grubunda gen dozlarına bağlı delesyon ifadelerinden; GST-M1 için (+/-) genotipinde 23 birey (%63,8), (-/-) genotipinde 13 birey (%26,2) şeklinde gözlemlenmiştir. GST-T1 için, (+/+) genotipinde 14 bireyde (%38,8) delesyon en yüksek oranda gözlemlenirken, (+/-) genotipinde 4 bireye (%11,1) ve (-/-) genotipinde 18 bireye (%50,1) rastlanmıştır. GST-M1 için erkek bireylerde (+/-) genotipinde delesyon 19 bireyde (%63,3) gözlemlenirken kadınlarda aynı genotipte 4 bireyde (%66,6) şeklinde gözlemlenmiştir. Erkeklerde 11(%36,7) hastada GST-M1 delesyonu gözlemlenmezken, bu oran kadınlarda 2(%33,4) şeklinde gözlemlenmiştir. GST-T1 de bu durum delesyonun gerçekleştiği ve "null allel" frekansının yüksek olarak gözlemlendiği (+/+) genotipinde erkek hastalarda 10(%33,3), kadın hastalarda ise 4(%66,6) bireye rastlanmıştır. (+/-) Genotipinde erkeklerde 3(%10) kadınlarda ise 1(%16,7) bireye rastlanmıştır. Delesyonun gözlemlenmediği ve genin korunduğu (-/-) genotipinde erkek hastalarda 17(%56,7), kadın hastalarda ise 1(%16,7) birey gözlemlenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada, GST-M1 gen bölgesinde gen "null" allel durumunun GST-T1 gen bölgesine göre bir miktar daha fazla olduğu belirlenmiş olup bu durumun kronik obstrüktif akciğer hastalığında etken olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Delesyon, GST izozimleri, KOAH, qPCR

ABSTRACT

Objective: The aim of this study the investigation of "null" alleles in GSTM1 and GSTT1 gene regions in the development of COPD disease.

Material and Method: There are 36 patients with COPD and 14 control cases, who received the Ethics Committee permission from Polatlı Duatepe State Hospital Chest Diseases Department. DNA isolations were made from blood samples from the end of 2019 and the control group. Deletions in GSTM1 and GSTT1 gene regions were examined by qPCR method in COPD patient and control groups. The results of the study were evaluated comparatively by distributing the gene dose according to the Hardy-Weinberg.

Result and Discussion: When seen from 36 COPD patients after qPCR analysis, it was found that deletion expressions due to gene doses in all patient groups; 23 individuals (63.8%) in the (+/-) genotype for GST-M1, 13 individuals (26.2%) in the (-/-) genotype. For GST-T1, 14 (%) in the (+ / +) genotype 38.8), while deletion was observed with the highest rate, 4 individuals (11.1%) in the (+/-) genotype and 18 individuals (50.1%) in the (- / -) genotype were found. For GST-M1, deletion was observed in 19 individuals (63.3%) in the genotype (+/-) in male individuals, while it was observed in 4 individuals (66.6%) with the same genotype in women. While deletion was not observed in 11 (36.6%) male patients, this rate was observed as 2 (33.4%) in women. In the GST-T1 gene region, there were 10 (33.3%) males in male patients and 4 (66.6%) individuals in female patients with deletion occurring and the frequency of the "null allele" was high (+ / +). In the (+/-) genotype, 3 (10%) in males and 1 (16.7%) in females were found. In the genotype where deletion was not observed and the gene was conserved (- / -), 17 (56.7%) individuals were observed in male patients and 1 (16.7%) in female patients. In the case that the gene "null" allele status in the GST-M1 gene region is slightly higher than the GST-T1 gene communication, this situation is thought to be a factor in obstructive pulmonary disease.

Keywords: Deletion, GST Isozymes, COPD, qPCR

GİRİŞ

KOAH; zararlı gaz ve partiküllerin akciğerlerde oluşturduğu anormal iltihabi yanıtla ilişkili yavaş ilerleyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Bu hastalık tam olarak geri dönüşümlü olmayan hava geçişinin engellenmesi ile ayırt edilebilir, önlenebilir ve tedavi edilebilir durumudur [1]. Bu hastalık çeşitli inhalasyon yolu ile alınan ve hava yollarına zarar verme olasılığı yüksek olan gaz, toz ve partiküllere maruz kalma, iç ve dış ortam hava kirliliği, hava yolu hiper reaktivitesi ve astım ile ilişkili olsa da, en önemli faktör sigaradır. Sigara içmenin KOAH gelişimi ile ilişkisi yaklaşık 50 yıldır

bilinmesine rağmen, toplumlar arasındaki KOAH sıklığı sigara içme oranlarından bağımsız olarak büyük değişiklikler göstermektedir [2,3]. Eski veriler tüm sigara içicilerinin ancak % 10-15'inde KOAH oluştuğunu bildirirse de, yeni veriler bu oranın eski verilere göre yaklaşık 2 kat fazla olduğunu ve yaşla birlikte belirgin şekilde arttığını göstermiştir [4]. 2010 yılında kronik solunum hastalıkları sebebi ile gerçekleşen 3.8 milyon ölümün yaklaşık %76'sının (2.9 milyon) nedeni KOAH'tır [5].

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünya genelinde yaklaşık 80 milyon kişinin orta ve ağır KOAH'lı olduğu tahmin edilmekte ve her yıl 3 milyon civarında insan KOAH nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu verilerin çoğu gelişmiş ülkelere ait olmakla birlikte, KOAH'a bağlı ölümlerin %90'undan fazlası orta ve düşük gelir düzeyli ülkelerde gerçekleşmektedir [6]. Hastalığın riskini azaltmak ve tedavisini etkili bir şekilde yürütmek için KOAH yönetim planı oluşturuldu. Bu planın bileşenleri hastalığı değerlendirmek ve izlemek; risk faktörlerini azaltmak, stabil KOAH'ı yönetmektir, alevlenmeler ve komorbiditeler hastalığın şiddetine katkıda bulunur [7]. Son yirmi yılda yapılan çalışmalar, bir toplum sağlığının %15'inin biyolojik ve genetik faktörlere, %10'unun fiziksel çevreye, %25'inin tedavi çalışmalarına ve %50'sinin ekonomik ve sosyal çevreye bağlı olduğunu göstermektedir [8]. Hastalık, hastalığın son aşamasından önce, sakatlığın önemli olduğu durumlarda tanımlanmalıdır. Bununla birlikte, genel popülasyon veya sigara içenlerin spirometrik taramanın yararlarını belirtmek ve sigara tüketimini azaltılmasını sağlamak bu hastalığın temel bir özelliğidir. Tütün dumanına, kişisel maruz kalmanın azaltılması, KOAH'ın başlamasını ve ilerlemesini önlemek için önemli hedeflerdir. Sigara içen ve sigara dumanının zararlı etkilerine karşı duyarlı olan kişilerde ise bu düşünüş daha hızlı olacağından, ilerleyen yaşla birlikte klinik olarak belirgin KOAH önlenmesi için kaçınılmaz olacaktır. KOAH, genetik yatkınlık, çevresel uyarılara maruziyet arasında karşılıklı etkileşim sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır [9].

KOAH'ta, sigara içen ve sigara dumanının zararlı etkilerini azaltmak ancak iyi bir detoksifikasyon ile mümkündür. Bu detoksifikasyon, oksidanların sorumlu olduğu metabolik yolların aktivasyonu ile mümkün olabilmektedir. Glutatyon-S-Transferaz (GST)'lar sigara dumanında bulunan aromatik hidrokarbonları detoksifiye eden enzimlerdendir [10,11]. GST enzimleri elektrofilik substratları glutatyon ile konjuge hale getirir. Bu olay toksinlerin uzaklaştırma ve salgılama metabolizması olarak açıklanır [12]. Teramoto ve ark. Yaptığı çalışmaya göre proteaz-antiproteaz dengesizliği ile ilgili genler ve oksidan-antioksidan dengesizliği, KOAH patolojisinin gelişmesine yol açabilir [13]. GSTM1 ve GSTT1 genleri de oksidan-antioksidan dengesizliği ile ilgili genlerdendir, bu genlerdeki delesyonlar işleyiş bozulmalarına sebep verebilir. Ding ve ark. Ocak 2000 ile Aralık 2017 tarihleri arasındaki çalışmaları kapsayan, içerisinde 37 makale, 4674 KOAH'lı, 5006 kontrol bulunan ve KOAH oluşumunda GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin hastalığa katkısını tahmin etmek için yapılan çalışma sonucuna göre, GSTM1 ve GSTT1 polimorfizminin KOAH duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir. Etnik kökene göre yapılan alt grup analizi, aralarında yakın bir ilişki olduğunu

göstermiştir. Farklı etnik kökenlerdeki KOAH duyarlılığı, GSTT1 delesyonu açısından değerlendirildiği bir çalışmada, yalnızca Asyalı etnik kökene sahip bireylerde KOAH hastalığının ilişkili olduğu gösterilmiştir [14]. Uzun süreli sigara kullanan ve sigara kullanmaya devam eden bireylerde, GST polimorfizmine bağlı KOAH yatkınlığı ve şiddeti arasında ki ilişki üzerinde çalışan Hemini ve ark., 140 KOAH hastası ve 140 kontrol grubunda, GST-M1 delesyonuna sahip bireylerin KOAH gelişimine daha yatkın olduğu, GST-T1 delesyonlarının ise KOAH gelişimi ile ilişkili bir durumunun olmadığı gösterilmiştir [15].

GEREÇ VE YÖNTEM

Kandan DNA İzolasyonu

Bu çalışmada Duatepe Polatlı Devlet Hastanesi Göğüs hastalıkları bölümünden alınan ve Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na getirilen EDTA'lı tüplerdeki tam kan numuneleri ile çalışıldı. Çalışma da kit kullanımı yöntemi ile c-DNA sentezi gerçekleştirildi. Çalışmada c-DNA sentezi için önce RNA izolasyonu daha sonra izole edilen RNA'dan c-DNA sentezi gerçekleştirildi.

RNA izolasyonu

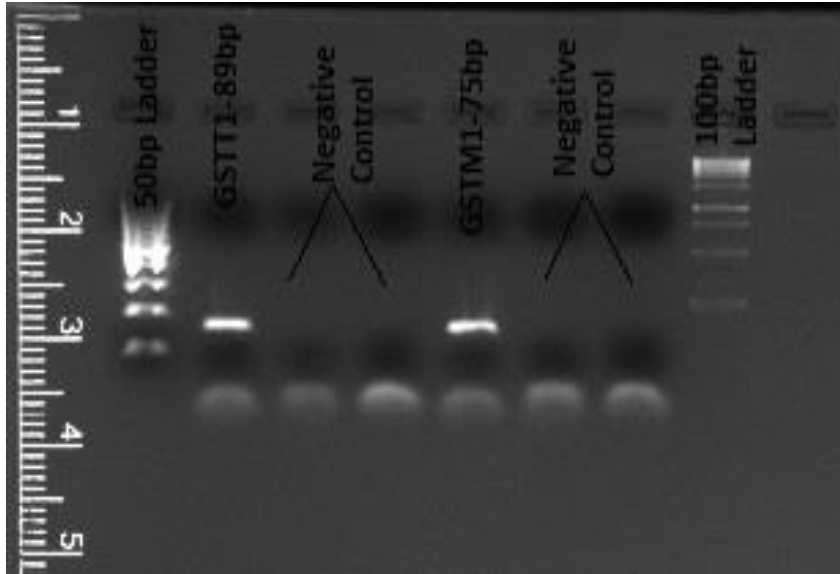
Kandan RNA izolasyonu için EcoPURE tam kandan RNA izolasyon kiti kullanıldı. Kit kullanımı sonunda elde edilen RNA'ların nanodrop cihazı kullanılarak ölçümlendirmeleri yapıldı. Ölçümlendirme sonrası saflık ve konsantrasyon açısından uygun durumda olan numuneler ile ikinci basamak olan "genomik DNA" eldesi için, RT-PCR (Reverse Transkriptaz PCR) yöntemi aşamasına geçilmiştir.

cDNA Sentezi

İzole edilen RNA'dan cDNA sentezi WizScript™ cDNA Sentez Kiti (Yüksek Kapasite) ile yapılmıştır. Elde edilen genomik DNA ların saflık ve konsantrasyon oranları nanodrop cihazı ile belirlenerek uygun oranda olduğu gözlemlenen tüm numuneler ile çalışmanın qPCR kısmına devam edilmiştir. Saflık olarak A260/A280 oranı 1.80-2.00 aralığında olan numuneler saf olarak kabul edilmiş olup, konsantrasyon olarak 100ng/uL ve üzerinde ki numuneler belirleyici olmuştur. Ayrıca kullandığımız genomik DNA'nın , qPCR çalışmasında ki normalizasyon için standardize etmek amacıyla tüm numuneler hesaplamalar sonrası uygun oranlar ile dilüe edilerek 100ng/uL konsantrasyona getirilmiştir [17].

Çalışmada Kullanılacak Primerlerin Belirlenmesi

Yapmış olduğumuz çalışmada kullanmış olduğumuz primer yapılarını belirlerken, Girauld I. ve arkadaşlarının 2005 yılında ki çalışmasında ele alınan GST-M1 ve GST-T1 gen bölgelerinden yararlanılmıştır. Gen doz oranlarının belirlenerek bireylerde ki delesyon durumlarının ortaya konulması için kullandıkları primer zincirleri ile aynı diziler kullanılmak üzere belirlenmiştir. Bu diziler, GST-M1 için; 5'-TGCATTCGTTTCATGTGACAGTATTCT-3'(forward), 5'-GAGAGGAGACCGGGCACTCA-3' (reverse), GST-T1 için; 5'-CAAGTCCCAGAGCACCTCACCTC-3'(forward), 5'-GTGTGCATCATTGTGGCTT-3' (reverse) şeklinde belirlenmiştir. Mevcut dizilerin kodlamış olduğu ilgili gen bölgesinde ki baz büyüklüğü NCBI (National Center for Biotechnology Information) veritabanı üzerinden kontrolleri sağlanarak belirlenmiştir. Ayrıca, kullanılacak primerlerin Tm (Melting Temperature) değerleri hesaplanarak baz büyüklüklerinin kontrolü amaçlı elektroforez jel kontrolünde ki "Annealing" basamağında ki değerler belirlenmiş ve konvensiyonel PCR aşamasında ki protokol bu şekilde belirlenmiştir. Şekil 1.'de görüldüğü üzere primerlerin uygunluğunun kontrolü için yapılan elektroforez jel görüntüsünde ki baz büyüklüklerinin, NCBI veritabanında ki verilerle aynı olduğu gözlemlenmiştir.

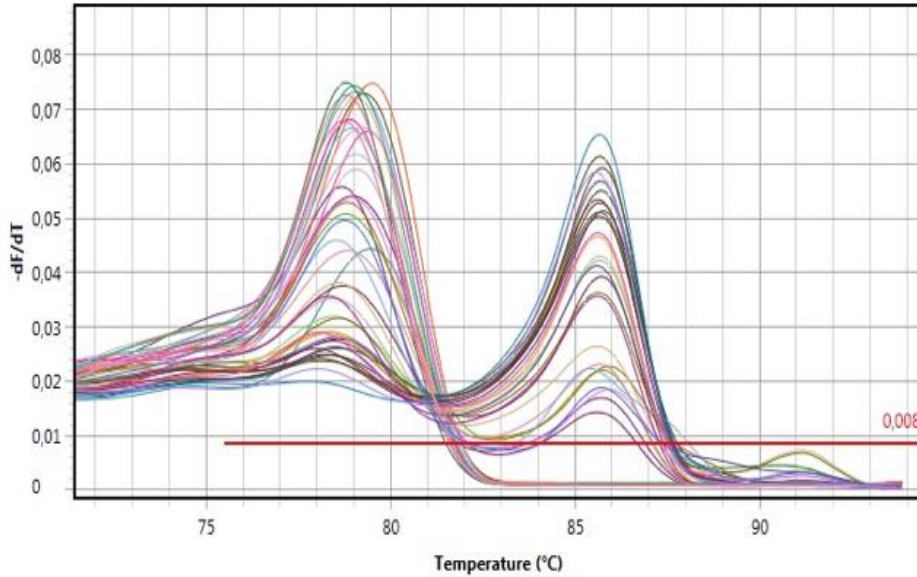


Şekil 1. Primerlerin uygunluğunun kontrolü amacıyla yapılan konvensiyonel PCR ve elektroforez jel görüntüsü. (Kuyucuklar;1-50bp ladder, 2-GST-T1 89bp, 3-Negatif kontrol, 4-Negatif kontrol, 5-GST-M1 75bp, 6-Negatif kontrol, 7-Negatif kontrol, 8-100bp ladder)

Çalışmanın bir sonra ki basamağında kullanılan primerler 10uM seviyesine dilüsyonları gerçekleştirilerek qPCR basamağına hazır hale getirilmiştir.

Kantitatif PCR (qPCR)

qPCR sistemi, spektrofotometrik analiz esasına dayalı, polimeraz zincir reaksiyonu sonrası elde edilen ürünün miktarını, kullanılan bir prob veya yapıya bağlanan bir flouresan bir boya (dye) ile kantitatif olarak belirleyen bir sistemdir. Çalışmamızda bu sistemin “Melting Curve” analizinden yararlanmak suretiyle, BIO-RAD/Sso Advanced Universal Sybr Green Supermix enzim ve flouresan etkili yapı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız kantitatif PCR karışım oranları şu şekildedir; SYBR Green PCR Master Mix (Power) 5uL, forward primer 0,4uL, reverse primer 0,4uL, cDNA 1uL(100ng/uL), Su (DNase/RNase free) 3,2uL şeklinde ve her reaksiyonda toplam hacim 10uL olacak şekilde hazırlanmıştır. qPCR çalışma protokolü ise şu şekilde belirlenmiştir; Ön (initial denaturation) denatürasyon 95°C, 5’; denatürasyon (denaturation) 95°C, 10’’, birleşme reaksiyonu (annealing) 58°C, 20’’, sentez (extension) 72°C, 20’’, 50 döngü; Uzama (Acquisition) 95°C,5’’, 55°C,1’, 1 döngü; Son sentez (Final extension) 40°C, 10’’ şeklinde uygulanmıştır.



Şekil 2. qPCR çalışması sonrası KOAH hastalarına ait melting-curve analiz grafiklerinin genel görüntüsü (dC/dT & Temperature)

İstatistiksel Analiz

Elde edilen sayısal verilerin, kullanılan qPCR sisteminin yazılımı üzerinden eşik değerleri belirlenmiş veriler standardize edilmiştir. Standardize edilen verilerin analizi Hardy-Weinberg prensibine göre gen dozuna bağlı delesyon durumlarının dağılımları yapılmıştır (17).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Verilerin analizi amacıyla IBM SPSS Versiyon 25.0. (Armonk, NY: IBM Corp) istatistik paket programı kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grubunda yer alan katılımcıların klinik ve demografik özelliklerini tanımlayan sayısal değişkenler ortalama±standart sapma/standart hata olarak ifade edilmiştir. Kategorize edilebilen değişkenler betimleyici istatistiklerle hasta/kontrol sayısı (n) ve yüzde (%) olarak tanımlanmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerin anlamlılık düzeylerinin belirlenmesi amacıyla Ki-Kare (Chi square) testi kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grubundaki her bir katılımcının GSTM1 ve GSTT1 gen dozları hesaplanmış, genotipler ve delesyonlar tablolarda ifade edilmiştir. Allel frekanslarının Hardy-Weinberg (HW) eşitliğine göre uyumluluğu değerlendirilmiştir. Popülasyonların ilgili lokuslar bakımında Hardy-Weinberg genetik dengesinde olup olmadıkları Ki-Kare (Chi square) testi ve Fisher's exact test ile kontrol edilmiş ve değerlendirilmiştir. $p < 0.05$ düzeyindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Hasta ve kontrol grubunda yer alan katılımcıların demografik ve klinik özellikleri kategorize edilerek Tablo 1'de açıklanmıştır. Çalışma grubumuzda 36 hasta ve 14 kontrol yer almıştır. Hasta grubumuzun %16.7'si kadınlar, % 83.3'ü erkeklerden oluşmuştur. Kontrol grubu incelendiğinde ise %85.7'sinin kadınlar, %14.3'ünün erkeklerden oluştuğu görülmüştür. Hasta grubunun yaş ortalaması 67.36 ± 1.16 iken, kontrol grubunun yaş ortalaması 45.64 ± 4.80 bulunmuştur. Hasta grubunun %22.2'si, kontrol grubunun ise %50.0'si aktif sigara içicisidir. Hasta grubunun %77.8'i, kontrol grubunun ise %50.0'si sigara kullanmamaktadır. Hem hasta, hem de kontrol grubunda yer alan katılımcıların tamamı hiç alkol kullanmadıklarını beyan etmiştir. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan popülasyonların GSTM1 ve GSTT1 genotipleri belirlenmiştir. Ayrıca hastaların yaş, cinsiyet, sigara ve alkol kullanım durumları da aynı şekilde raporlanmıştır. Tüm bu hasta verileri **Tablo 1.** ve **Tablo 2.**'de özetlenmiştir.

Hasta grubunun gözlenen ve beklenen GSTM1 ve GSTT1 genotip frekansları karşılaştırılmıştır (**Tablo 3**). GSTM1 bakımından hasta popülasyonunda gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasındaki farklılık ($\chi^2 = 6,0179$) istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). GSTT1 bakımından hasta popülasyonunda gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasındaki farklılık ($\chi^2 = 21,6224$) istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Kontrol grubunun gözlenen ve beklenen GSTM1 ve GSTT1 genotip frekansları karşılaştırılmıştır (**Tablo 4**). GSTM1 bakımından kontrol popülasyonunda gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasındaki farklılık ($\chi^2 = 2,4307$) istatistik olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$). GSTT1 bakımından kontrol popülasyonunda gözlenen ve beklenen genotip frekansları arasındaki farklılık ($\chi^2 = 4,6394$) istatistik olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Hasta grubun GST-M1 genotipleme ile ilgili gen dozu ve delesyon bilgileri **Tablo 5.**'te açıklanmıştır.

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri (n, %)

Değişken	Kategori	Hasta Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	p-değeri
Yaş	<65	14 (%38.9)	12 (% 85.7)	0.008
	>=65	22 (%61.1)	2 (% 14.3)	
	Toplam	36 (%100)	14 (%100)	
Cinsiyet	Kadın	6 (%16.7)	12 (% 85.7)	0.0001
	Erkek	30 (%83.3)	2 (% 14.3)	
	Toplam	36 (%100)	14 (%100)	
Sigara Kullanım Durumu	Aktif içici	8 (%22.2)	7 (%50.0)	0.085
	Kullanmıyor	28 (%77.8)	7 (%50.0)	
	Toplam	36 (%100)	14 (%100)	
Alkol Kullanım Durumu	Kullanıyor	0 (%0)	0 (%0)	1.000
	Kullanmıyor	36 (%100)	14 (%100)	
	Toplam	36 (%100)	14 (%100)	

Tablo 2. Hasta ve kontrol grubunun GSTM1 ve GSTT1 genotipleri

Gen	Genotip	Hasta Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	Toplam n(%)
GSTM1*	0/0	-	1 (%7.14)	1 (%2.00)
	1/0	23 (%63.89)	2 (%14.29)	25 (%50.00)
	1/1	13 (%36.11)	11(%78.57)	24 (%48.00)
	Toplam	36 (%100)	14 (%100)	50 (%100)
GSTT1*	0/0	14 (%38.89)	2 (%14.29)	16 (%32.00)
	1/0	4 (%11.11)	2 (%14.29)	6 (%12.00)
	1/1	18 (%50.00)	10 (%71.42)	28 (%56.00)
	Toplam	36 (%100)	14 (%100)	50 (%100)

Tablo 3. Hasta grubunun gözlenen ve beklenen gen frekansları

Gen	Toplam (n)		1/1	1/0	0/0	χ^2	P
GSTM1	36	Gözlenen	0,3611	0,6389	-	6,0179	<0.05
		Beklenen	0,4632	0,4348	0,1020		
GSTT1	36	Gözlenen	0,5000	0,1111	0,3889	21,6224	<0.05
		Beklenen	0,3080	0,4928	0,1971		

Tablo 4. Kontrol grubunun gözlenen ve beklenen gen frekansları

Gen	Toplam (n)		1/1	1/0	0/0	χ^2	P
GSTM1	14	Gözlenen	0,7857	0,1429	0,0714	2,4307	<0.05
		Beklenen	0,7347	0,2449	0,0204		
GSTT1	14	Gözlenen	0,7143	0,1429	0,1429	4,6394	<0.05
		Beklenen	0,6173	0,3367	0,0459		

Tablo 5. KOAH hasta grubunda GST-M1 Genotiplerine bağı gen dozları ve delesyon durumları

Numuneler	GSTM1 Gen Dozu	GSTM1 Delesyon Bağıntısı
GSTM1* 1/0		
37	0,71	(+)
50	0,70	(+)
47	0,62	(+)
31	0,58	(+)
16	0,56	(+)
38	0,55	(+)
28	0,53	(+)
30	0,48	(+)
36	0,48	(+)
17	0,43	(+)
39	0,43	(+)
18	0,42	(+)
46	0,41	(+)
33	0,41	(+)
29	0,40	(+)
34	0,38	(+)
32	0,37	(+)
43	0,37	(+)
41	0,37	(+)
35	0,37	(+)
42	0,37	(+)
40	0,36	(+)
48	0,32	(+)
Ortalama±SD	0,46±0,11	
95% CI	0,51-0,42	
GSTM1* 1/1		
22	1,19	(-)
26	1,14	(-)
25	1,14	(-)
15	1,05	(-)
20	1,03	(-)
19	1,01	(-)
23	0,98	(-)
45	0,96	(-)
21	0,94	(-)
44	0,93	(-)
49	0,85	(-)
27	0,82	(-)
24	0,81	(-)
Ortalama±SD	0,99±0,12	
95% CI	0,92-1,05	

SD: Standart Sapma

95% CI: %95 Güvenilirlik Aralığı

Hasta grubun GST-T1 genotipleme ile ilgili gen dozu ve delesyon bilgileri **Tablo 6.**'da açıklanmıştır.

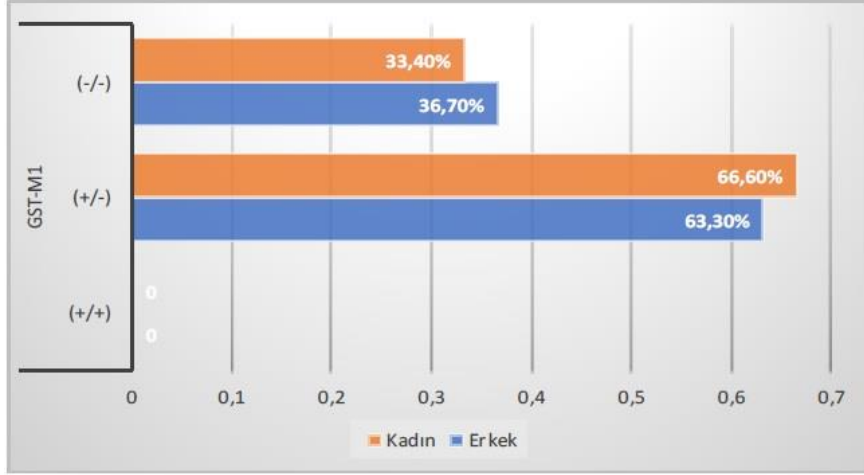
Tablo 6. KOAH hasta grubunda GSTT1 Genotiplerine bağı gen dozları ve delesyon durumları

Numuneler	GSTT1 Gen Dozu	GSTT1 Delesyon Bağıntısı
GSTT1* 0/0		
25	0,35	(+)
23	0,32	(+)
40	0,24	(+)
21	0,19	(+)
43	0,16	(+)
42	0,11	(+)
48	0,10	(+)
41	0,10	(+)
44	0,09	(+)
22	0,09	(+)
32	0,09	(+)
36	0,08	(+)
37	0,06	(+)
39	0,06	(+)
Ortalama±SD	0,15±0,09	
95% CI	0,10-0,20	
GSTT1* 1/0		
26	0,79	(+)
47	0,76	(+)
46	0,68	(+)
17	0,56	(+)
Ortalama±SD	0,70±0,10	
95% CI	0,59-0,80	
GSTT1* 1/1		
15	1,00	(-)
30	1,00	(-)
31	1,00	(-)
34	0,98	(-)
19	0,94	(-)
29	0,93	(-)
33	0,92	(-)
50	0,91	(-)
38	0,91	(-)
35	0,91	(-)
27	0,91	(-)
24	0,90	(-)
16	0,87	(-)
20	0,86	(-)
45	0,83	(-)
28	0,83	(-)
18	0,82	(-)
49	0,82	(-)
Ortalama±SD	0,91±0,06	
95% CI	0,88-0,94	

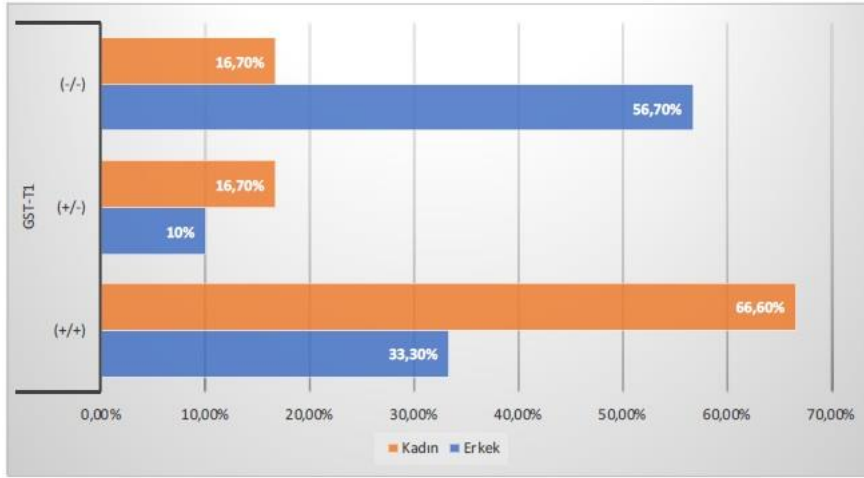
SD: Standart Sapma

95% CI: %95 Güvenilirlik Aralığı

Elde etmiş olduğumuz bu sonuçların yanı sıra cinsiyete bağlı olarak GST-M1 ve GST-T1 gen bölgelerinde ki gen dozu ve delesyon durumlarına ilişkin durumlar ise **Şekil 3.** ve **Şekil 4.**'te gösterildiği gibidir.



Şekil 3. KOAH Hastalarında GST-M1 delesyon oranlarının cinsiyete bağlı dağılımı.



Şekil 4. KOAH Hastalarında GST-T1 delesyon oranlarının cinsiyete bağlı dağılımı.

İncelemiş olduğumuz KOAH hasta grubunda cinsiyete bağlı GST-M genotiplerinde ki dağılıma baktığımızda (+/+) genotipinde hem erkek hem de kadınlar da bir durum gözlemlenmemiştir. (+/-) Genotipinde erkek hastalarda 19, kadın hastalarda ise 4 birey gözlemlenmiştir. Yine GST-M1 genotipinde delesyonun gözlemlenmediği (-/-) genotipinde erkek hastalarda 11, kadın hastalarda ise 2 bireye rastlanmıştır. GST-T1 de bu durum delesyonun gerçekleştiği ve “null allel” frekansının yüksek olarak gözlemlendiği (+/+) genotipinde erkek hastalarda 10, kadın hastalarda ise 4 bireye rastlanmıştır.

(+/-) Genotipinde erkeklerde 3 kadınlarda ise 1 bireye rastlanmıştır. Delesyonun gözlemlenmediği ve genin korunduğu (-/-) genotipinde erkek hastalarda 17, kadın hastalarda ise 1 birey gözlemlenmiştir.

KOAH akciğeri zayıflatan bir hastalıktır zamanla kötüleşir ve günlük aktiviteleri zorlaştırır [14,18]. Günümüzde KOAH teşhisi yapılırken, özellikle hastalığın ilk zamanlarında bronşit ile karıştırılabilir. Bu gibi durumları önlemek amacıyla teşhis için bazı önemli biyobelirteçleri tanımlamak acil bir ihtiyaçtır ve terapötik stratejilere rehberlik edecektir[14]. Sigara kullanımının yaygınlaşması ile son yıllarda KOAH hasta sayısında artış gözlemlendi. KOAH ile ilgili yapılan çalışmalarda birçok enzim ve proteinin rolü incelenmiştir.

Oksidatif strese GST'ler kimyasallara karşı enzimatik savunmanın önemli bir parçasıdır. Strange ve ark. yaptıkları çalışmada akciğer, mesane ve kolon kanserlerinde bazı vaka-kontrol durumlarını, GSTM1 ve GSTT1 genotipleri ile risk arasında ilişkili olduğu gözlemlenirken, diğer çalışmalarda bu polimorfizmlerin sigara ile ilişkili kanser riskine aracılık etmedeki önemi ve tersi bulgular da bildirilmiştir [19].

GSTM1 ve GSTT1 genleri ile yapılan KOAH patolojisi ile ilgili bir başka çalışmada bu genlerdeki delesyonların oksidan-antioksidan dengesiliği ile ilgili işleyiş bozukluğuna sebep olduğu sonuçları elde edilmiş ve sonuçlar bu genlerin KOAH patolojisi ile direkt ilişkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır [13].

Ding ve ark. Ocak 2000 ile Aralık 2017 tarihleri arasındaki çalışmaları kapsayan, içerisinde 37 makale, 4674 KOAH'lı, 5006 kontrol bulunan ve KOAH oluşumunda GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin hastalığa katkısını tahmin etmek için yapılan çalışma sonucuna göre, GSTM1 ve GSTT1 polimorfizminin KOAH duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir. Etnik kökene göre yapılan alt grup analizi, aralarında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir. GSTM1 delesyonu için çalışılan her etnik kökende KOAH duyarlılığı, GSTT1 delesyonu için ise sadece Asyalı KOAH hastaları ile ilişki göstermiştir [14].

Hu ve ark. Yaptığı etnik kökenlere göre yapılan bir başka analize göre GSTM1 delesyonunun, her etnik kökende KOAH riski vardır, ancak GSTT1 delesyonu sadece Asya popülasyonunda KOAH riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [20].

Shukla ve ark. Kuzey Hindistan popülasyonunda 412 denek ile (204 KOAH hastası ve 208 sağlıklı kontrol) GSTM1 boş polimorfizminin KOAH'a genetik yakınlıkla yakın bir ilişkisi olduğunu bulunmuştur [21].

Tkácová ve ark. Göre oksidatif stres, hem akciğer kanserinin hem de kronik obstrüktif akciğer hastalığının (KOAH) gelişimine katkıda bulunur. Antioksidatif enzimler bu tür hasarlara karşı koruma sağlayabilir. Glutatyon S-transferaz M1 ve T1 genlerinin (sırasıyla GSTM1 ve GSTT1) genetik varyasyonlarından aktif alellerin akciğer kanseri olan hastalarda KOAH gelişimine karşı koruyucu bir

etkisi olduğu gösterildi [22]. Biz de çalışmamızda GSTM1 geninde delesyon bulunan hastaların KOAH hatalığına sahip olma riskinin arttığını gözlemleyerek Tkáčová ve ark. bu çalışmalarını destekledik.

Castaldi ve ark. PubMed'de indekslenen ve tüm popülasyonları kapsayan, KOAH ve genetik üzerine yapılan çalışmalarının sistematik bir incelemesini ve meta-analizini gerçekleştirmişlerdir. Yeterli veriye sahip 27 genetik varyant belirledi ancak 23'ünde sonuçlar genetik etkileri tespit etmede yetersiz bulundu. Kantitatif meta-analiz sonucu GSTM1, TGFB1, TNF ve SOD3'te KOAH duyarlılığı ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki belirlenmiştir [23].

Dimov ve ark. Bulgar hastalar ve kontroller üzerinde yapılan vaka kontrol çalışmalarında GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmlerinin KOAH riski ile ilişkisini inceledi. GSTM1 delesyon varlığı için önemli bir vaka-kontrol farkı gözlemlenmiştir (0.67'ye karşı 0.36, $p = 0.003$), ancak GSTT1 için gözlenmedi (0.13'e karşı 0.07, $p = 0.364$). GSTM1 delesyonu ile ilişkili 3.60 kat artmış risk bulundu. GSTM1'in kalıtsal yokluğunun KOAH ile ilişkili bir faktör olduğunu belirlenmiştir [24].

Silverman ve ark. erkeklerde KOAH prevalans oranlarını, tarihsel olarak daha yüksek sigara içme oranları ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, son birkaç on yılda kadınlarda artan sigara içme oranlarını, kadınlarda giderek artan KOAH oranları ile ilişkilendirilmiş ve çalışmanın sonuçları kadınların şiddetli KOAH gelişimine daha duyarlı olabileceği gösterilmiştir [25].

Bu güne dek yapılan çalışmalarda KOAH'ın erkeklerde daha fazla görüldüğü çeşitli çalışmalara dikkat çekmektedir. Pilar Carrasco-Garrido ve arkadaşları tarafından İspanya'da KOAH hastalarında yapılan bir çalışmaya 10.711 kişi alınmış ve hastaların %75,6 oranında erkeklerden oluştuğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmada değerlendirilen KOAH'lı kadınlar KOAH'lı erkeklerden daha genç olduğu, daha az sigara kullandığı, daha fazla komorbiditeye, daha düşük yaşam kalitesine ve daha az hastalık şiddetine sahip olduğu gözlemlenmiştir [26].

Yapmış olduğumuz bu çalışmada GST-M1 gen bölgesinde 36 KOAH'lı hastadan 23'sinde (%63,8) delesyon gözlemlenmiştir. 13 bireyde (%36,2) delesyon olmadığı gözlemlenmiştir. 14 kontrol vakamızdan 3'ünde (%21,4) delesyon gözlenirken, 11'ünde (%78,6) delesyon gözlenmemiştir. GST-T1 gen bölgesinde 36 KOAH'lı hastadan 18'sinde (%50) delesyon gözlenirken, 18'inde (%50) delesyon olmadığı gözlemlenmiştir. 14 kontrol vakamızdan 4 (%28,5) bireyde delesyon gözlenirken 10(%71,5)'un da delesyona rastlanmamıştır. GST-M ve GST-T gen bölgelerindeki "null allele" durumları incelendiğinde, kadınlardaki delesyon durumunun erkeklere oranla daha fazla oranda olduğu gözlemlenmiştir. GST-T1 ve GST-M1 gen bölgelerindeki delesyon durumlarıyla bağlantılı olarak; sigara kullanımı, alkol kullanımı ve yaş ile ilgili, bir bağıntı olmadığı gözlemlenmiştir.

Çalışmamız, kronik obsraktif akciğer hastalığı (KOAH) teşhisi konulmuş bireylerde, ksenobiyotik mekanizmasının faz 2 enzimleri arasında yer alan ve hücre içi detoksifikasyon mekanizmasının önemli etkenlerinden biri olan glutatyon-s transferaz enzimi izozimlerinden GST-T1 (Teta1) ve GST-M1(Mu1) enzimlerinin gen bölgelerinde ki kalıtsal veya epigenetik faktörlere bağlı

olarak gen kaybı (delesyon) durumları incelenmiştir. Bu delesyon (gen kaybı) nedeniyle bu durumun protein ifadesi durumunda olan enzim sentez mekanizmasına engel teşkil edeceği ve dolayısıyla da polimorfik durumunun akciğer hastalıklarında etken olduğu düşünülmektedir. Bu gen bölgelerinde ki delesyon, insersiyon veya mutasyon durumlarının KOAH hastalığının oluşumunda etken olabileceği, elde etmiş olduğumuz sonuçlar doğrultusunda düşünülmektedir. Ancak çalışmanın gelecekte yapılacak ve daha çok klinik veriyle desteklenmesi gerekmektedir. Hatta hasta sayısının artırılarak ülkemizde yapılan bu çalışmanın genetik durumu ile hücrede ki ifadesi ve/veya dokuda ki enzim düzeylerinin de karşılaştırmalı olarak aynı bireylerde daha ayrıntılı çalışılması önerilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası 2019/123. Çalışmamızın Etik Kurul onayı 2012-KAEK-15/1856 sayı numarası ile Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği, Etik Kurulu tarafından 22.05.2019 tarihinde verilmiştir. Ayrıca çalışmamız ön verileri ile 24-25 Nisan 2020 tarihinde V.Uluslararası Gevher Nesibe Sağlık Bilimleri Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Celi, B.R., MacNee, W. (2008). Standarts for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J*, 23, 932.
2. Menezes, A.M., Perez-Padilla, P., Jardim, J.R.. (2005). Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. *Lancet*, 366, 1875-81.
3. Gunen, H., Hacievliyagil, S.S., Yetkin, O. (2008). Prevalence of COPD: first epidemiological study of a large region in Turkey. *Eur J Intern Med*, 19, 499-504.
4. Oulette, D.R. (2004).The answer is fifteen percent: what is the question? *Chest*, 125, 3-5.
5. Lozano, R., Naghavi, M., Foreman, K. (2012). Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380, 2095-128.
6. <http://www.who.int/respiratory/copd/burden/en/index.html> (Erişim tarihi; 20.12.2020)

7. <https://goldcopd.org/gold-reports> (Erişim tarihi; 20.12.2020). Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease.
8. McGinnis, J.M., Williams-Russo, P., Knickman, J.R. (2012). The case for more active policy attention to health promotion. *Health Affairs*, 21, 78-93.
9. Hooper, R., Burney, P., Vollmer, W.M. (2012). Risk factors for COPD spirometrically defined from the lower limit of normal in the BOLD Project. *Eur Respir J*, 39, 1343-53.
10. Crawford, E.L., Khuder, S.A., Durham, S.J., Frampton, M., Utell, M., Thilly, W.G. (2000). Normal bronchial epithelial cell expression of glutathione transferase P1, glutathione transferase M3, and glutathione peroxidase is low in subjects with bronchogenic carcinoma. *Cancer Res*, 60, 1609-18.
11. Han, W., Pentecost, B.T., Pietropaolo, R.L., Fasco, M.J., Spivack, S.D. (2005). Estrogen receptor alpha increases basal and cigarette smoke extract-induced expression of CYP1A1 and CYP1B1, but not GSTP1, in normal human bronchial epithelial cells. *Mol Carcinog*, 44, 202-11.
12. Landi, S. (2000). Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutat Res*, 463, 247-83.
13. Teramoto, S. (2007). 1. COPD Pathogenesis from the Viewpoint of Risk Factors. *Japanese Journal of Medicine*, 46, 77-79.
14. Ding, Z., Wang, K., Li, J., Tan, Q., Tan, W., Guo, G. (2019). Association between glutathione S-transferase gene M1 and T1 polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease risk: a meta-analysis. *Clin Genet*, 95, 53-62.
15. Hemimi, N.E.D., Attar, M.A., Abdelwahab, M.A. (2009). Genetic Polymorphism Of Glutathione-S Transferase And Susceptibility To And Severity Of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *The FASEB Journal*, 27, 117-128.
16. Vasudevan, S.V. (2011). Textbook Of Biochemistry For Medical Students (Sixth Edition b.). New Delhi India: Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd.
17. Girault, I., Lidereau, R., Bièche, I. (2005). Trimodal GSTT1 and GSTM1 genotyping assay by real-time PCR. *Int J Biol Markers*, 20(2), 81-6.
18. Vogelmeier, C.F., Criner, G.J., Martinez, F.J. (2017). Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report: GOLD Executive Summary. *Respirolog*, 22, 575-601.
19. Strange, R.C., Fryer, A.A. (1999). The glutathione S-transferases: influence of polymorphism on cancer susceptibility. *Iarc Scientific Publications*, 148: 231.
20. Hu, G., Yao, W., Zhou, Y. (2008). Meta- and pooled analyses of the effect of glutathione S transferase M1 and T1 deficiency on chronic obstructive pulmonary disease. *International Journal of Tuberculosis & Lung Disease the Official Journal of the International Union Against Tuberculosis & Lung Disease*, 12, 1474-1481.

21. Shukla, R.K., Kant, S., Bhattacharya, S. (2011). Association of Genetic Polymorphism of GSTT1, GSTM1 and GSTM3 in COPD Patients in a North Indian Population. *Copd Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 8, 167-172.
22. Tkacova, R., Salagovic, J., Ceripkova, M. (2004). Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism is related to COPD in patients with non-small-cell lung cancer. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 116, 131-134.
23. Castaldi, P.J., Cohn, C.M., Langerman, F. (2010). The COPD genetic association compendium: a comprehensive online database of COPD genetic associations. *Human Molecular Genetics*, 19, 526.
24. Dimov, D., Vlaykova, T., Kurzawski, M. (2012). Effect of genetic polymorphisms of some cytokines and xenobiotic-metabolizing enzymes on the lung function in patients with COPD. *European Respiratory Journal*, 1750.
25. Silverman, E.K., Weiss, S.T., Drazen, J.M. (2000). Gender related differences in severe, early onset chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 162, 2152–2158.
26. Pilar, C.G., Javier, M.D., Javier, R.G., Antonio, M.C., Elena, G.V., Valentin, H.B., Angel, G.M., Rodrigo, J.G. (2009). Characteristics of chronic obstructive pulmonary disease in Spain from a gender perspective, *BMC Pulmonary Medicine*, 9, 2.



SCREENING OF ANTI-PEPTIC ULCER ACTIVITY OF *JASMINUM SAMBAC*

JASMINUM SAMBAC'IN ANTI-PEPTİK ÜLSER AKTİVİTE TARAMASI

Thenmozhi MANI^{1,*} , Rajeswari SIVARAJ² 

¹ Department of Biotechnology, Vels Institute of Science, Technology and Advanced Studies (VISTAS), Chennai, 600117, Tamilnadu, INDIA

² Department of Chemistry, Government Arts College, Udumalpet, 641126, Tamilnadu, INDIA

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to investigate the antiulcer activity of callus derived metabolites.

Material and Method: The effect of different (2,4-Dichloro-Phenoxyacetic Acid(2,4-D), Indole- 3-Acetic acid, (IAA), Indole-3-Butyric Acid(IBA), Naphthalene Acetic Acid(NAA)) growth hormones and their combination on callus formation, callus texture and weight (fresh and dry) of *Jasminum sambac* were investigated. In this investigation revealed that the best callus performance seen in individual MS medium containing 1.5 mg/L 2,4-D and combination 1.5 mg/L 2,4-D along with 1.5 mg/L IAA. Antiulcer activity was studied using the pylorus ligation method. A dosage of 200mg/kg b.w used for albino wistar rats was selected from the LD₅₀ study. Ulcer inhibition and ulcer score, gastric volume, pH, free acidity, total acidity and pepsin, carbohydrate and protein ratio were analyzed.

Result and Discussion: Plant has show higher activity in percentage of callus formation in MS media supplemented with single hormone of 1.5 mg/L 2,4-D. The friable callus was observed in single and combination of the hormone concentration. The callus extract also comprehensively decreased the gastric volume, free and total acidity, and improved the pH of the gastric fluid, proving its antisecretory activity. The results of this study showed that the surveyed extracts of the investigated callus exhibited potent antiulcerogenic activity and dose related activity.

Keywords: 2,4-D, callus, indole-3-acetic acid, *Jasminum sambac*, ulcer score

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, kallus kaynaklı metabolitlerin ülser önleyici aktivitesini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Farklı (2,4-D, IAA, IBA, NAA) büyüme hormonlarının ve bunların kombinasyonlarının kallus oluşumu, kallus dokusu ve *Jasminum sambac*'in ağırlığı (taze ve kuru) üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu araştırmada, 1.5 mg/L 2,4-D ve 1.5 mg /L 2,4-D kombinasyonu ve 1.5 mg / L IAA içeren bireysel MS ortamında en iyi kallus performansının ortaya çıktığı görülmüştür. Antiülser aktivite pilorligasyonu yöntemi

* Corresponding Author / Sorumlu Yazar: Thenmozhi Mani
e-mail / e-posta: drmthenmozhi@gmail.com

kullanılarak çalışılmıştır. Wistar albino sıçanlara uygulanan 200 mg/kg vücut ağırlığı dozu LD50 çalışmasından seçilmiştir. Ülser inhibisyonu, ülser skoru, gastrik hacim, pH, serbest asitlik, toplam asitlik ve pepsin, karbonhidrat ve protein oranı analiz edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma: Bitki, 1.5 mg / L 2,4-D tek hormon ile takviye edilmiş MS ortamında kallus oluşumu yüzdesinde daha yüksek aktivite göstermiştir. Gevrek kallus, hormon konsantrasyonunun tekli ve kombinasyonunda gözlemlendi. Kallus ekstresi ayrıca mide hacmini, serbest ve toplam asiditeyi kapsamlı bir şekilde düşürdü ve mide sıvısının pH'ını iyileştirerek salgı önleyici aktivitesini kanıtladı. Bu çalışmanın sonuçları, araştırılan kallusun incelenen ekstrelerinin güçlü anti-ülserojenik aktivite ve doza bağlı aktivite sergilediğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: 2,4-D, indol-3-asetik asit, *Jasminum sambac*, kallus, ülser skoru

INTRODUCTION

Plants are the basis of sophisticated approaches to conventional medicine which have been used for millions of years and continue to manage mankind new remedies. *Jasminum sambac* commonly referred to as jasmine of the Oleaceae family of Indian origin. Jasmine is a major traditional flowering crop in India. These flowers are white and used to produce perfumes and aromatizers. The plant is used as aliana for neck and hair decoration in the form of a choker. Jasmine oil has broad range of therapeutic and cosmetic use including perfumery, soaps, flavourings [1]. Essential oil of this flowers has been used as aroma for skin care products, reduces anti inflammation, tones the skin and lifts up mood. Medicinally, it has been used for the action of dry, greasy, sensitive skin and irritated, irritating coughs, alleviating muscular pain, antiseptic, antidepressant, antispasmodic, treating sprains, sedative and uterine tonic. To manufacture high quality jasmine tea, the quality of jasmine flowers is critically important in addition to the quality of the tea leaves used as its foundation. Plant's used traditionally as an antidepressant, analgesic, antiseptic, anti-inflammatory, sedative, aphrodisiac, expectorant and tonic. [2].

Approximately 80 percentage (%) of the world population depend on the curative plants in the form of conventional for their primary health care. Biotechnology approaches, exclusively culture of plant tissue plays an important role in investigating for alternatives to plant based processing of medicinal compounds. Biotechnology offers to develop tissue, organs, cells or total organism by mounting them *in vitro*. It can able to produce required compound synthesis [3-5]. Utilize of methodologies of plant cell and organ culture as way to producing secondary metabolites has a long history.

The production of callus can be achieved from dissimilar vegetative organs, such as the root, leaf, stem, node, shoot tip, petiole, flower bud and embryo [6]. Immature vegetative organs are extra effective for the stimulation of callus. Explants selection and source is one of the significant parameters for successful term for cell culture. Callogenesis is also kind dependent relative on explants.

Gastric ulcer a form of failing narrow tissue associated with various causes is a disease common worldwide. It is habitually imitative from the submucous, mucosa, serosa layers and muscle of stomach,

which are soaked in the gastric juice, gastric acid, and pepsinum. Peptic ulcer is a largely common gastrointestinal disorder in experimental practice [7]. It is a defect in the liner of the stomach or the initial division of the duodenum. It becomes one of the community health problem with high morbidity and significant mortality and has become the focus of experimental and clinical investigations mainly owing to its high incidence in the general population.

Every year peptic ulcer affects almost four million individuals worldwide and affects 10% of global population with dissimilar aetiologies. Ulcers are open sore of the skin or mucus membrane categorized by sloughing of reddened dead tissue [8]. The objective of the present study was to investigate the antiulcer activity of the methanolic extract of *Jasminum sambac* callus using pylorus ligation model induced gastric peptic ulcer.

MATERIAL AND METHOD

Plant Collection and Identification of Plants

The plants used in this study *Jasminum sambac* (L.) Ait. (Figure. 1) No.BSU/SRC/5/23/2011-12/Tech-133 (Oleaceae), was collected from Namakkal District, Tamil Nadu. It was authenticated at Botanical Survey of India, South Circle, Coimbatore, Tamil Nadu. Herbarium is maintained in the Department of Biotechnology, Karpagam University, Coimbatore, TamilNadu.



Figure 1. *Jasminum sambac* (L.) Ait.

Medium and culture condition

MS (Murashige and Skoog) media was used for all over this study. Different hormone and combination of 2,4-D, IAA, IBA, NAA (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L) used in this medium consist of 30 g/L sucrose and 8g/L agar and the pH was adjusted to be within 5.6-5.8. The media were autoclaved at 121°C under 15lbs for 20 minutes. About 1 cm sides of leaf square were selected as explants leaving short length of petiole attached from healthy plant. Explants sterilization and inoculation were done [9]. The sterilized explants were inoculated aseptically. All the cultures were maintained in the culture room temperature at 25±2°C at a humidity of 65-70% photo period of 16/8 h was maintained for all

experiments. Each experiment was repeated three times and percentage of callus formation was observed. Concurrently callus texture and weight (fresh and dry) were also calculated. The percentage of formation callus was recorded after 15 days of inoculation. The increase in mass as gain in weight was recorded as fresh weight of callus after 4 weeks of inoculation. The dried fresh callus weight was observed as dry weight.

Callus induction (%) = (Number of plants produced callus/No. of plants inoculated) X 100

Extraction of callus

Fresh and dry biomass weight was found to be higher in the combination of 1.5mg/L 2,4-D + 1.5mg/L IAA, that combination was used for mass cultivation of the callus and the same was used for further experiments. The methanol solvent was used for the extraction of callus. These callus extract used for the treatment for antiulcer activity.

Animal selection and standards used

Adult wistar albino rats 12-16 weeks male and female between 200 to 300g were used for this study. The animals in huge polypropylene cages were monitored in well ventilated room temperature with regular day–night cycle. Right through the experimental period, they were supplemented with an altruistic diet of rodent pellets and water *ad libitum*. The animals were quarantined for 1 week, to get used laboratory conditions before the experiments. Institutional Animal Ethics Committee, Govt. of India (IAEC) implemented the research protocol. For the standard negative control Vehicle - carboxy methyl cellulose (CMC) (Group I) and positive control (Group- II) omeprazole (antiulcer drug): 40 mg/kg body weight (b.w.) was used for this study (Table 2).

Acute oral toxicity study

The acute toxicity study was conducted according to the guidelines set by organization for economic co-operation and development (OECD) revised draft guidelines 423 B (“Up and Down” method) arriving from committee for the reason of control and supervision of experiments on animals (CPCSEA), Ministry of Social Justice and Empowerment, Government of India [10].

Preparation of animals and dose condition

In the temperature investigational animal room was kept 22±30C. Artificially lighting was maintained for 12:12 h light:dark cycle. The animals were provided with normal rat chow and distilled water *ad libitum*. The animals had been erratically picked and placed in their cages for a minimum 5 days before dosing to allow adaptation on to the laboratory environment. All the doses were prepared in CMC as suspending agent. In each cases the concentrations were prepared in 0.5 ml/100g of b.w.

Investigative substances were administered after fasting for 3 to 4 h in a single dose with stomach intubation. The methanol extract of callus 2000 LD50 Cut-Off mg/kg, body weight the vehicle CMC was used (1/10th of the LD50 doses were taken as therapeutic dose for successive anti-ulcer activity).

Animals and dose levels

In each step six animals was used. While no information was available on the drug to be tested (i.e. extracts), preliminary dose 50 mg/kg b.w. was chosen. Ever there was on the substance to be tested (extracts), selected to be the subsequent LD50 values were obtained for various extracts. Observation was carried out normal activity was note it down.

Pylorus Ligation Induced Gastric Ulcers

Animals were divided into six groups of six animals. Plant extracts were orally administered once a day for 7 days at the dosage of 200 mg/kg b.w. Aspirin was dissolved in 1% CMC solution and given orally for 6 days in non fasted rats once daily at a dosage of 200mg/kg. The animals were orally treated with methanolic callus extract of *J. Sambac* (Group III), at concentrations of 200 mg/kg b.w.

Omeprazole and callus extracts were administered to various behavioural groups 30 minutes before each aspirin treatment when only were provided by the control group (CMC 1% solution). On the 7th day, pylorus ligation was performed on 36 h fasted rats under ether anaesthesia, instantaneously after diagnosis with pylorus ligation aspirin treatment. Drinking water was withheld later than pylorus ligation was approved on the 7th day in each rat and gastric juice accumulated for a time of 4 hours [11].

After 4 h drug administration, pyloric ligation was performed by ligating end of animal stomach. Under chloroform anaesthesia illumination, the abdomen was opened below the xiphoid process by midline incision. The pyloric stomach section was pulled out and ligated somewhat, thereby preventing disruption to its blood supply. The stomach was carefully positioned back, and sutures closed the abdominal wall. Animals were placed in individual cages to heal and stabilize, and were deprived of water during the post-operative period. The animals were sacrificed by cervical displacement 4 hours later; the abdomen was opened and a further ligature was placed at the oesophageal end [12].

Collection of Gastric Juice, pH and Ulcer Score

The stomachs were separated, gathering and centrifuging the gastric substance for 10 min at 3000 rpm. Centrifuged gastric juice was collected and its volume as well as pH was measured. Ulcer score was calculated and expressed as ulcer index [13] method.

Ulcer percentage inhibition of was calculated as below:

$$\% \text{ Inhibition of Ulceration} = \frac{(\text{Ulcer index Control} - \text{Ulcer index Test})}{\text{Ulcer index Control}} \times 100$$

The collected gastric liquid was subjected to bio-chemical determination of free and total acidity in gastric juice [14], estimation of pepsin [15], estimation of proteins [16], estimation of total carbohydrates (hexoses, hexosamine and fucose)[17] were also calculated.

Statistical Analysis

The data obtained from these experiments were subjected to statistical analysis by using the statistical software AGRES, in completely randomized design (CRD). Each experiment was repeated twice with a minimum of three replicates in each. The SEM (Standard Error of Mean), Critical Difference (CD) and Co-efficient of Variation (CV %) values were calculated. Significant differences (p value <0.05) were determined using Duncan's multiple range test (DMRT).

RESULT AND DISCUSSION

Jasminum sambac (Table.1) plant percentage of callus formation highly observed in has shown higher MS media supplemented with single hormone of 1.5 mg/L 2,4-D (63.33 ± 3.21), fresh weight (665.33 ± 2.52) and dry weight (365.52 ± 1.78). Percentage of callus formation was the highest in 2,4-D followed by IAA, IBA and NAA, respectively.

In combination MS media supplemented with 1.5 mg/L 2,4-D+1.5 mg/L IAA (Figure 2) showed the highest activity in callus formation (91.00 ± 2.00). Similarly, fresh weight (992.67 ± 1.53) and dry weight (548.48 ± 3.53) was observed in the same hormone concentration. The friable callus was observed in single and combination of the hormone concentration.

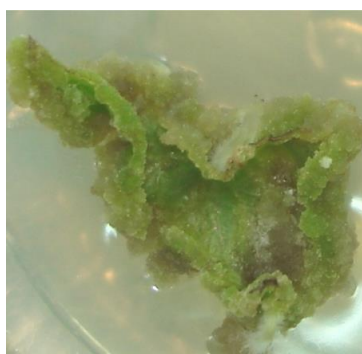


Figure 2. *J. sambac* callus

Table 1. Effect of various concentrations of auxin on callus initiation, callus formation, fresh and dry weight of *J. sambac*

Treatment (mg/L)	Callus initiation (Days)	Texture of the callus	% of callus formation	Weight (mg)	
				Fresh	Dry
2,4-D					
0.5	11-14	C	34.67±1.53 ⁱ	353.33±2.08 ^u	190.74±1.96 ^p
1.0	11-14	C	53.33±2.52 ^s	447.33±1.53 ^k	244.97±1.43 ^m
1.5	11-14	C	63.33±3.21^{cd}	665.33±2.52^c	365.52±1.78^d
2.0	11-14	C	59.67±3.06 ^{de}	544.09±2.87 ^h	303.96±3.76 ⁱ
IAA					
0.5	8-12	F	20.00±3.61 ^m	215.00±2.65 ^u	119.65±1.55 ^w
1.0	8-12	F	35.67±2.52 ⁱ	415.67±2.52 ^l	228.11±1.53 ⁿ
1.5	8-12	F	30.00±2.65 ^{jk}	296.67±1.53 ^q	163.99±1.77 ^s
2.0	8-12	F	26.33±2.52 ^{klm}	238.33±2.08 ^t	133.64±1.75 ^u
IBA					
0.5	12-15	C	18.00±1.00 ^o	235.67±2.52 ⁱ	128.19±0.74 ^v
1.0	12-15	C	26.67±2.52 ^l	313.00±2.65 ^p	174.61±1.67 ^r
1.5	12-15	C	34.33±4.16 ^{ij}	333.33±2.08 ^o	183.03±1.01 ^q
2.0	12-15	C	24.00±3.00 ^{lm}	363.67±2.52 ^m	195.76±2.42 ^o
NAA					
0.5	10-14	C	17.33±2.08 ^o	196.33±2.52 ^v	108.53±0.83 ^x
1.0	10-14	C	23.67±3.06 ^{lmn}	246.67±2.08 ^s	135.22±1.60 ^p
1.5	10-14	C	33.12±2.52 ^{ij}	315.67±1.53 ^p	175.10±1.38 ^r
2.0	10-14	C	19.33±3.51 ^{no}	250.67±2.08 ^t	140.91±1.72 ⁱ
2,4-D+ IAA					
1.5+0.5	9-11	F	66.33±3.06 ^c	578.41±2.50 ^f	320.64±1.57 ^e
1.5+1.0	9-11	F	75.67±3.51 ^b	785.67±3.06 ^b	429.64±3.05 ^c
1.5+1.5	9-11	F	91.00±2.00^a	992.67±1.53^a	548.48±3.53^a
1.5+2.0	9-11	F	68.00±2.00 ^{cd}	657.67±3.21 ^d	359.65±1.47 ^e
2,4-D+ IBA					
1.5+0.5	10-13	C	46.33±3.06 ^h	448.67±2.52 ^k	248.33±1.07 ^l
1.5+1.0	10-13	C	54.33±4.16 ^g	562.00±1.73 ^e	312.80±3.18 ^h
1.5+1.5	10-13	C	74.67±4.04 ^b	784.00±3.61 ^b	432.73±2.55 ^b
1.5+2.0	10-13	C	64.33±3.21 ^c	658.79±2.32 ^d	363.61±1.32 ^d
2,4-D+ NAA					
1.5+0.5	10-12	C	36.67±2.52 ⁱ	428.75±1.39 ^k	245.04±1.35 ^m
1.5+1.0	10-12	C	43.00±3.00 ^h	493.44±2.37 ^j	271.88±1.31 ^k
1.5+1.5	10-12	C	58.67±2.52 ^{ef}	592.33±1.53 ^e	326.43±1.82 ^f
1.5+2.0	10-12	C	51.33±4.51 ^g	517.21±2.55 ⁱ	284.25±1.98 ^j
CD (0.05)			4.5181	3.7516	2.9058
SEM			2.2535	1.8712	1.4494
CV%			6.20	0.50	0.70

C- Compact callus F-Friable callus Data are expressed as mean ± SD of three replicates followed by a common superscript letter are significant at 5% level by using DMRT (p<0.05). 2,4-D), Indole- 3-Acetic acid, (IAA), Indole-3-Butyric Acid (IBA), Naphthalene Acetic Acid (NAA)

Preliminary Screening and Estimation of LD₅₀

Acute toxicity study was carried out according to (up and down method) the method in albino rats. The LD₅₀ of *Jasminum sambac* callus extracts (200 mg/kg b.w) was taken as therapeutic dose and test extracts were administered in different groups higher dose level fixed 2000 mg/kg but no significant changes were observed.

Ulcer Score

Animals in this study indicated a significant ($p < 0.05$) raise in ulcer index and acid secretory parameters like pH, gastric volume, total, free acidity and perforated ulcers when compared with those of vehicle treated group. Administration of *Jasminum sambac* callus produced significant ($p < 0.05$) decrease in ulcer index. The callus extract also comprehensively decreased the gastric volume, free and total acidity, and improved the pH of the gastric fluid, proving its antisecretory activity.

Jasminumsambac callus (Figure. 3 a-c) at a dose of 200 mg/kg body weight indicated ulcer score of 1.01 ± 0.08 and protection index of 65.41% in maximum level followed compare to control. The pyloric ligation induced a control to accrete 5.17 ± 0.05 ml gastric secretions with a pH of 2.22 ± 0.05 . The total and free acidity of the gastric secretions were found to be 120.47 ± 0.46 and 66.44 ± 0.65 mEq/l respectively. In positive control (omeprazole) gastric acid secretions were low (2.30 ± 0.04) at a pH of 5.23 ± 0.08 . Free acidity was observed to be 26.45 ± 0.51 while total acidity was 54.51 ± 0.41 (Table 2). Treatment with callus extracts, significantly reduced the volume of gastric secretions at the dose of 200 mg/kg. Similar effect was observed as with positive control in *Jasminumsambac* callus which showed gastric volume of 2.66 ± 0.06 , pH 3.97 ± 0.05 , free acidity 36.19 ± 0.38 and total acidity 74.35 ± 0.29 . The gastroprotection accessible by the test extract was similar to that of the standard drug, omeprazole (40 mg/kg).

The pepsin content was drastically decreased in with the plant extracts when compared with the control group. The pepsin content was high in control group (9.17 ± 0.41) when compared to the positive control (4.60 ± 0.40). *Jasminumsambac* callus showed slightly higher content (6.49 ± 0.50).

Total carbohydrate (total of hexose, hexosamine and fucose) / protein content ratio (TC / PR) were considerably increased when compared with the control groups (Table 2). Very low carbohydrate: protein ratio was observed in control (0.43) when compared to the (standard- omeprazole) positive control (1.35). Treatment resulted in higher activity in *Jasminumsambac* callus (0.68) in 200mg/kg dose.

In vitro derived callus formation maximum observed in 2,4-D similarly in combination of 2,4-D only shown high callus formation in *Jasminum sambac*. Similar hormone combination has shown higher activity in *Jasminum grandiflorum* plant [9,18].

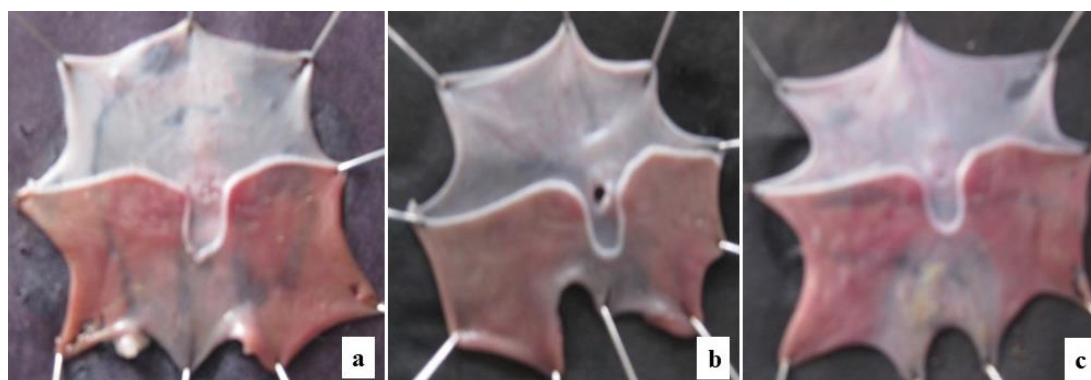


Figure 3. a. Control ulcer, b. Positive control ulcer, c. *J. sambac* ulcer

Table 2. Antiulcer activity of *J. sambac*

Experiments	Control (Group I)	Standard (Group II)	Dosage (mg/Kg 200) (Group III)
% Ulcer Inhibition	0.00	95.21	65.41
Ulcer score	2.92±0.06	0.14±0.02	1.01±0.08
Gastric Volume (ml)	5.17±0.05	2.30±0.04	2.66±0.06
pH	2.22±0.05	5.23±0.08	3.97±0.05
Free Acidity (mg/l)	66.44±0.65	26.45±0.51	36.19±0.38
Total Acidity (mg/l)	120.47±0.46	54.51±0.41	74.35±0.29
Pepsin (µg/ml)	9.17±0.41	4.60±0.40	6.49±0.50
Protein (µg/ml)	628.51±0.56	323.06±0.66	431.95±0.75
Hexose (µg/ml)	186.71±0.84	327.11±0.70	273.45±0.56
HexoSamine (µg/ml)	224.38±0.71	390.85±0.86	320.30±0.50
Fucose (µg/ml)	54.31±0.59	31.44±0.53	42.59±0.54
C:P ratio	1.35	0.43	0.68

Data are expressed as mean ± SED of six replicates

The causes of gastric ulcer are whispered due to stress triggered the addition of hydrochloric acid secretion and/or stasis, and the rate discharge is also an important reason in the ulcer configuration due to the exposure of the stomach's undefended lumen to the accumulating acid [19].

Ulcers are also induced by auto-absorption of the stomach mucosa and breakdown of the stomach mucosal barrier. Such causes are associated with the spread of upper gastrointestinal injury, as well as lesions, ulcers and life-aggressive damage and hemorrhage. Prostaglandin also induces the release of hydrophobic surfactant like phospholipids in the gastric epithelial cells. Volume of gastric secretion is an important factor in ulcer production due to exposure of unprotected stomach lumen to the accumulating acid [20].

The increased activity of the extracts needed in vitro pepsin that suggest a possible and significant in vivo binding of pepsin to substrate proteins through a non-specific hydrophobic interface to form complexes less susceptible to peptic hydrolysis. Although, this is only a hypothesis to which further studies could shed more light. There is strong correlation between the enrichment offered by the extracts and the mucous discharge adjacent to experimental ulcers. It is recognized that the mucus layer that covers the gastrointestinal tract wall is threaten, gastric mucous production may increase. The biochemical characteristics of the component mucin molecules can change in accumulation [21].

Because of the enlargement in acid pepsin accumulation due to pyloric obstruction and subsequent mucosal digestion, pylorus ligation induced gastric ulcers transpire. The sufficient amount of mucus is secreted all through surface damage and provides desirable repair microenvironment. Mucin is an acid barrier which produces viscous glycoprotein, which is comparatively resistant. It constitutes a most important part of the mucus, an important pre-epithelial factor which acts as a first line of defense against ulcerative agents. The increase in mucin is due to significant increase in the individual mucopolysaccharide like sialic acid and total hexoses, which result in a significant increase in carbohydrates altogether. The plant fraction also significantly increase the comfortable glycoprotein of mucosal cells as seen from the increase of the gastric mucosa in the TC:PC ratio [22].

Peptic ulcer is the most common chronic digestive system disease that gives rise to symptoms of upper fullness, abdominal pain, bloating and gas. It may also cause serious problems in a few patients in a few patients, such as bleeding, perforation of the bowel and obstruction. Ulcer bleeding, a general explanation for admission to an emergency hospital, is the basis of most laboratory assessment of local plant antiulcer activity. There are many plants known to have and extended history of use in the digestive tract for calming inflamed and injured mucous membranes. Licorice, for example, may defend the stomach and duodenum by increasing mucin production. In addition, it has been shown that various active components of plants present antiulcer properties on some plants. Accordingly, experimental research reports have shown that compounds such as flavonoids can lower growth other than its direct cytoprotective effects on *Helicobacter pylori* [23,24].

The results of this study showed that the surveyed extracts of the investigated callus exhibited potent antiulcerogenic and dose related activity. Moreover, the methanolic extract of *Jasminum grandiflorum* produced a more effective cytoprotection to the mucosa [25,26]. It is obvious from this study that the plant callus extracts investigated are promising and effective research areas. The antiulcer activity of the investigated callus extracts tested again an antiulcer was substantially equal to the antiulcer drug activity. This is likely to lead to the development of a better drug with minimal side effect, much more efficient than the current antiulcer drugs.

In conclusion, our findings suggest that in vitro derived callus can be helpful to control ulcer in low dose level. Callus provides the source number of drugs formation without interruption of nature

plants. So it can provide drugs without destroying the nature plant and high amount of plant harvest from the environment with maintain the natural habitation.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Sarkic, A., Stappen, I. (2018). Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics— A Critical Review. *Cosmetics*, 5(1) 11; <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010011>.
2. Al-Snafi, A.E. (2018). Traditional uses of Iraqi medicinal plants. *Journal of Pharmacy* 8(8): 32-95.
3. Rao, R.S., Ravishankar, G.A. (2002). Plant tissue cultures chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnol. Adv.*, 20: 101-153.
4. Jedinak, A., Farago, J., Psenakova, I., Maliar, T. (2004). Approaches to flavonoid production in plant tissue cultures. *Biologia, Bratislava*, 59 (6): 697-710.
5. Kulkarni, A.A., Thengane, S.R., Krishnamurthy, K.V. (2000). Direct shoot regeneration from node, internode, hypocotyls and embryo explants of *Withaniasomnifera*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62: 203-209.
6. De, A.K., Dey N., Adak, M.K. (2016). Bioindices for 2,4-D sensitivity between two plant species: *Azollapinnata* R.Br. and *Vernoniacinerea* L. with their cellular responses. *Physiol Mol Biol Plants*, 22(3):371–380 (DOI 10.1007/s12298-016-0375-x).
7. Zhao, X., Li, J., Meng, Y., Cao, M., Wang, J. (2019). Treatment Effects of Jinlingzi Powder and Its Extractive Components on Gastric Ulcer Induced by Acetic Acid in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6:1-12. (<https://doi.org/10.1155/2019/7365841>).
8. Vimala, G., Gricilda Shoba, F. (2014). A Review on Antiulcer Activity of Few Indian Medicinal Plants. *International Journal of Microbiology*, 14 (<https://doi.org/10.1155/2014/519590>).
9. Thenmozhi, M. (2019). Effects of Variations in Hormonal Treatments upon Callus Induction Potential in *Jasminum grandiflorum* L. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 20:(3&4)106-111.
10. Bulus, T., Atawodi, S.E., Mamman, M. (2011). Acute toxicity effect of the aqueous extract of *Terminalia avicennioides* on white albino rats. *Science World Journal*, 6 (1): 1-4.
11. Khushtar, V., Kumar, K., Javed., Uma Bhandarai. (2009). Protective effect of Ginger oil on aspirin and pylorus Ligation – Induced Gastric ulcer model in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71 (5): 554-558.

12. Arun, M., Asha, V.V. (2008). Gastroprotective effect of *Dodonaea viscosa* on various experimental ulcer models. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(3): 460-465.
13. Deshpande, S., Shah G. B., Parmar, N.S. (2003). Antiulcer activity of aqueous extracts of *Basellaru brain* albino rats. *J Nat Rem.*, 3 (2): 212-214.
14. Kalpan, S.P., Sunil, V.G. (2005). Antiulcer activity of *Langenaria Vulgaris. Nig. J. Nat. Prod. And Med.*, 9: 26-28.
15. Srivastava, V., Viswanathaswamy, A.H.M., Govind Mohan. (2010). Determination of the antiulcer properties of sodium cromoglycate in pylorus-ligated albino rats, *Indian J Pharmacol.*, 42 (3): 185–188.
16. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin-Phenol reagents. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
17. Mahendran, P., Vanisree, A.J., Shyamala Devi, C.S. (2002). The Antiulcer activity of *Garciniacambogia* extract against indomethacin induced gastric ulcer in rats, *Phytother. Res.*, 16: 80-83.
18. Rathore M.S., Patel P.R., Siddiqui, S.A. (2019). Callus culture and plant let regeneration in date palm (*Phoenix dactylifera* L.): an important horticultural cash crop for arid and semi-arid horticulture. *Physiol Mol Biol Plants*, (2020-01-03):1-8. (<https://doi.org/10.1007/s12298-019-00733-w>).
19. Raju, D., Ilango, K., Chitra, V., Ashish, K. (2009). Evaluation of Anti-ulcer activity of methanolic extract of *Terminalia chebula* fruits in experimental rats. *J. Pharm. Sci. And Res.*, 3: 101-107.
20. Sakat, S.S., Juvekar, R.A. (2009). Antiulcer activity of methanol extract of *Erythrina indica* Lam. leaves in experimental animals. *Pharmacognosy Research.*, 1: 396-401.
21. Jass, J.R., Walsh, M.D. (2001). Altered mucin expression in the gastrointestinal tract: a review. *J. Cell. Mol. Med.*, 5 (3): 327-351.
22. Pankaj, K., Sunil, S., Suman., Suresh, K. (2011). Antiulcer effect of the methanolic extract of *Tamarindus indica* seeds in different experimental models. *J Pharm Bioallied Sci.*, 3 (2): 236-241.
23. Goso, Y., Ogata, Y., Ishihara, K., Hotta, K. (1996). Effects of traditional herbal medicine on gastric mucin against ethanol-induced gastric injury in rats. *Comp Biochem physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol.*, 113: 17–21.
24. Beil, W., Birkholz, W., Sewing, K.F. (1995). Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Arzneimittelforschung*, 45:697–700.
25. Olaleye, S.B., Farombi, E.O. (2006). Attenuation of Indomethacin- and HCl/Ethanol-induced oxidative gastric mucosa damage in rats by kolaviron (*Garciniabiflavanones*). *Phytother. Res.*, 20: 14-20.

26. Owoyele, B.V., S.B. Olaleye., J.M. Oke., Elegbe R.A.(2001). Anti inflammatory and analgesic activities of leaf extract of *Landolphiaowariensis*. *Afr. J. Biomed. Res.*, (4): 131-133.



ALTIN NANOPARTİKÜLLER VE KANSERDE KULLANIMLARI

GOLD NANOPARTICLES AND USES IN CANCER

Hatice DEMİRTAŞ¹ , Ceyda Tuba ŞENGEL TÜRK^{2,*} 

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı,
Trabzon, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: Nanoteknolojinin hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanımı giderek artan bir şekilde ilgi görmektedir. Altın nanopartiküller (AuNP) sahip oldukları üstün özellikler sayesinde çeşitli kanser türlerinin teşhis ve tedavisinde kullanılmaktadırlar. Bu derleme kapsamında AuNP'ler hakkında genel bilgiler, kanserde kullanımına ilişkin olan bilimsel çalışmalar ve kaydedilen son gelişmeler akademik veri tabanları taranarak sunulmuştur.

Sonuç ve Tartışma: AuNP'lerin benzersiz optik, elektriksel ve fizikokimyasal özellikleri sayesinde bu sistemler kanser teşhis ve tedavisinde ilaç taşıyıcı sistem, görüntüleme ajanı, fototermal tedavi, fotodinamik tedavi ve biyosensör olarak kullanılmaktadır. AuNP sentezinin kolay olması ve pek çok ligand için yüzey modifikasyonuna elverişli olması bu kullanım alanları için büyük fayda sağlamaktadır. Bu özellikleri sayesinde AuNP'ler kanser tedavisinde umut verici sistemler olarak ön plana çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Altın nanopartiküller, ilaç taşıyıcı sistem, kanser

ABSTRACT

Objective: Nanotechnology has become more and more potentially used in diagnosis or treatment of diseases. Gold nanoparticles (AuNP) are used in the diagnosis and treatment of various cancer types thanks to their superior properties. Within the scope of this review, general information about AuNPs, scientific studies on their use in cancer and recent developments have been presented by scanning academic databases.

Result and Discussion: By means of the unique optical, electrical and physicochemical properties of AuNPs, it is used as a drug delivery system, imaging agent, photothermal therapy, photodynamic therapy and biosensor in cancer diagnosis and treatment. The fact that AuNP synthesis is easy and the nanoparticle surface is suitable for modification with many ligands provides great benefits for these applications. Thanks to these features, AuNPs come to the fore as promising systems in cancer treatment.

Keywords: Cancer, drug delivery system, gold nanoparticles

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ceyda Tuba Şengel Türk
e-posta / e-mail: ctsengel@pharmacy.ankara.edu.tr, Tel. / Phone: +903122033152

GİRİŞ

Kanser, anormal hücrelerin hızla yayılması ve kontrolsüz çoğalma ile karakterize olan hayatı tehdit eden bir hastalıktır. Günümüzün en önemli halk sağlığı problemi olup, sebebi bilinen ölümler arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre 2018 yılında tahmini 9,6 milyon insanın bu hastalık sebebiyle hayatını kaybettiği bilinmektedir [1].

Nanoteknoloji, bilim ve teknoloji alanında hızla gelişen önemli alanlardan biridir ve küçük molekülle etkin maddeler, genler, proteinler, peptitler gibi çeşitli terapötik maddeler için ilaç taşıyıcı sistemler olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [2]. Nanoboyutlu sistemler, 1-1000 nm arasında partikül boyutuna sahip olan yeni nesil ilaç taşıyıcı sistemlerdir [3].

Kanser hücrelerinin tedavi edilmesinde nanopartiküller ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanılması, geleneksel tedavi yöntemlerine kıyasla teşhis ve tedavinin eş zamanlı olmasını sağlamaktadır. Nanoteknoloji ve tıp bilimindeki son gelişmelerle sayısız nanopartikül ve nanomateryal, altın, gümüş, demir, bakır, kobalt, platin gibi çeşitli metallere elde edilmiştir. Bu çeşitli inorganik nanopartiküller arasında, altın nanopartikülleri (AuNP), özellikle biyolojik ve farmasötik alanda benzersiz optik ve Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) özelliklerinden dolayı araştırmacılar için öncelikle tercih edilen ilaç taşıyıcı sistemler haline gelmiştir [4].

AuNP'lerin kanserin teşhisi ve terapötik gelişimindeki rolleri, bu sistemlerin özgün ve uygun optik ve fizikokimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu özellikleri sayesinde AuNP'ler biyosensör, görüntüleme, ilaç taşıyıcı sistem, fototermal tedavi (PTT) ve fotodinamik tedavide (PDT) umut vaat eden sistemler olarak görülmektedir [5].

Altın Nanopartiküllerin Özellikleri

AuNP'ler; ultra küçük boyutlu, stabil, biyolojik olarak uyumlu partiküller olup geniş yüzey alan-kütle oranları ve yüksek yüzey reaktivitesi gibi eşsiz fizikokimyasal özelliklere sahiptir [6]. AuNP'lerin sentezi kolaydır ve sentezlenmeleri sonunda 1-150 nm arasında değişen monodispers nanopartiküller elde edilebilmektedir. Yüzey özelliklerinin modifikasyonu da oldukça basit bir prosesle gerçekleştirilebilmektedir [7, 8]. AuNP'lerin optik özellikleri SPR özelliklerine dayanmaktadır. SPR, altın elektronlarının, gelen radyasyona tepki olarak, ışığı hem absorbe etmesi hem de saçılmasını sağlayan rezonans sürecidir [5]. Sonuç olarak, AuNP yüzeyinde elektromanyetik bir alan belirlemek ve nanopartikül yüzeyinde optik özelliklerin gelişmesi gerçekleşmektedir [9].

Altın Nanopartiküllerin Tipleri

AuNP'leri, çok çeşitli uygulamalara yönelik olarak nanoküre, nanoçubuklar (nanorodlar), nanokabuk ve nanoprizmalar gibi çeşitli formlarda sentezlemek mümkündür [10] (Şekil 1).



Şekil 1. AuNP'lerin tipleri [11,12]

Altın nanaküreler: Küresel AuNP'ler olup 2–100 nm aralığında partikül boyutuna sahiptirler ve ilaç taşıyıcı sistem olarak en çok kullanılan altın nanoyapılardan biridir. Çoğu altın nanoküre, sulu kloroaurik asidin sodyum sitrat ile redüksiyonu ile kolaylıkla sentezlenebilmektedir [13-15].

Altın Nanoçubuklar (Nanorodlar): Altın nanoçubuklar, araştırmacılar tarafından sentezlerinin kolay olması ve diğer AuNP tipleriyle karşılaştırıldıklarında birim hacim başına ışıkla etkileşime girebilecek yüzey alanlarının daha geniş olması nedeniyle özel ilgi görmüştür. Bu yapılar, diğer şekillerden farklı olarak, daha üstün absorpsiyon ve daha güçlü ışık saçma özelliklerine sahip olduklarından dolayı görünür ve yakın kızıl ötesi (near infrared, NIR) bölgede enine ve boyuna yüzey plazmon bantları olmak üzere çift absorpsiyon pikleri üretmektedirler [16]. Altın nanoçubuklar, fototermal ve NIR uygulamalarda yaygın olarak kullanılan altın nanoyapılardır [15, 17].

Altın nanoçubuklar genellikle 10 nm ila 100 nm arasında değişen büyüklüklerde üretilmektedir ve sentezleri için çok çeşitli stratejiler bulunmaktadır. Altın nanoçubuklar genel olarak, nanoporlu polikarbonat veya alüminyum membranların porları içindeki altının elektrokimyasal depozisyonuna dayanan, şablon yöntemi (template method) kullanılarak sentezlenmektedir. Bu yöntemin başlıca dezavantajı, tek bir nanoçubuk tabakası hazırlandığı için verimin düşük olmasıdır (14, 18, 19). Bir diğer sentez tekniği olan tohum aracılı sentez (seed-mediated synthesis) ise altın nanoçubuk hazırlamak için en iyi bilinen yöntemlerdendir ve diğer yöntemlerle sentezlenen partiküllere kıyasla daha yüksek boyut oranları sağlayabilmektedir [14, 15, 20, 21].

Altın Nanokabuklar (Nanoshell): Altın nanokabuklar, silika veya polistiren yapılı dielektrik yüklü bir çekirdeğin ince bir altın tabakayla kaplanmasıyla elde edilmektedir [15, 17]. Bu çekirdek malzemeler, yüksek stabilite elde etmek ve monodispersliği sağlamak için yaygın olarak

kullanılmaktadırlar. Genel olarak, çekirdeğin çapı ~100 nm dolaylarında; ince kabuk ise yaklaşık ~ 1-20 nm kalınlığındadır [15]. Katmanların kompozisyonu ve boyutları değiştirilerek altın nanokabuklar, görünür alandan NIR bölgesine kadar değişen SPR pikleri ile tasarlanabilmekte ve üretilebilmektedirler [14, 17].

Altın Nanokafesler (Nanocages): AuNP'ler arasında yer alan altın nanokafesler diğer formlara göre en son elde edilen şekiller olup potansiyel ilaç taşıyıcıları olarak geliştirilmiştir. İçi boş nanoyapılar şeklinde olan altın nanokafeslerin partikül büyüklüğü yaklaşık ~40-50 nm arasındadır [15]. Kesilmiş gümüş (Ag) nanoküpler ve tetrakloroaurik asit (HAuCl₄) arasındaki galvanik değiştirme reaksiyonu ile yüzeyde kontrol edilebilir porlukta nanokafesler hazırlanabilmektedir [22].

Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Saçılma (SERS) nanopartiküller: SERS, floresan ve kemilüminesans gibi geleneksel teknolojilerine kıyasla avantajlar sunan optik bir algılama tekniğidir. Bu teknik, numunenin Raman spektrumuna dayalı ayrıntılı kimyasal görüntülerini üretmek için ışınımsız elektromanyetik dalgalar (NIR spektrumu) kullanır. SERS tekniğinin uygulanmasında yaygın olarak koloidal nanopartiküllerden ve katı yüzeylerde oluşturulan plazmonik SERS temelli platformlardan faydalanılmaktadır. AuNP'ler de SERS temelli nanopartiküllerini hazırlamak için kullanılmaktadır [14, 23, 24].

Sentez Yöntemleri

AuNP'lerin sentezi aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya yönelen teknikleri takiben fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak çeşitli yöntemlerle yapılabilmektedir. Koloidal AuNP'lerin sentezini gösteren ilk bilimsel rapor 1857'de Michael Faraday tarafından yayınlanmıştır. Burada nano boyutlu altın, altın klorürün fosforla sulu ortamda indirgenmesi ile elde edilmiş ve ardından karbon disülfür ile stabilize edilmiştir. Bu çalışmalarda ayrıca koloidal altının dökme altından farklı özelliklere sahip olduğu da gözlemlenmiştir [25-27]. Günümüzde, AuNP'ler en basit şekliyle indirgeyici bir maddenin varlığında altın tuzlarının redüksiyonuyla sentezlenebilmektedir ve sentez sırasındaki agregasyonu önlemek için, işlem sırasında bir stabilizatör madde kullanılmaktadır.

Fiziksel sentez: Fiziksel yöntemler çoğunlukla iyonize veya non-iyonize radyasyonla ışınlandığında materyalde meydana gelen ve metalik partiküllerin nükleasyonuna yol açan redüksiyon reaksiyonlarını tetikleyebilen enerji transferine dayanmaktadır. Bu yöntemler arasında fotokimyasal işlemler, iyonlaştırıcı radyasyon, γ -ışınlama yöntemi, mikrodalga radyasyonu gibi yöntemler bulunmaktadır [28].

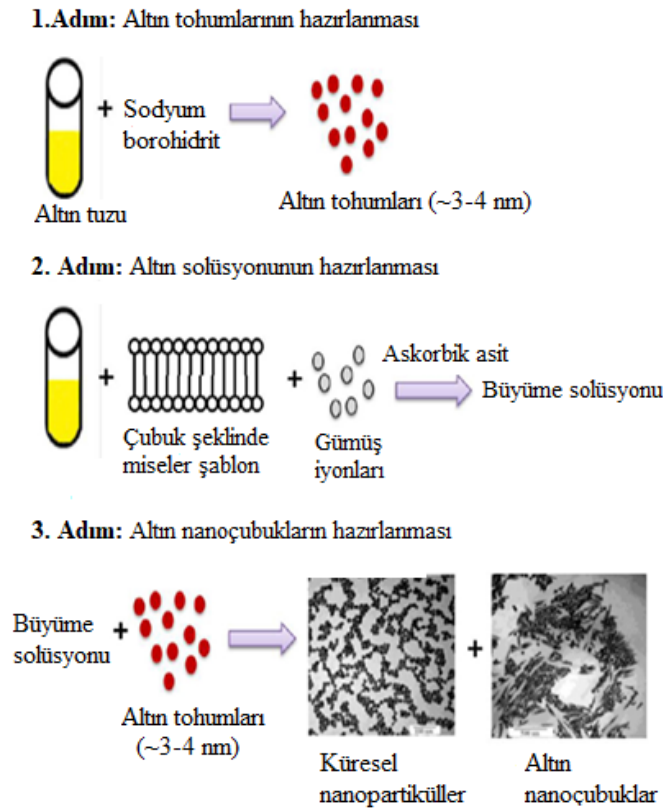
Kimyasal sentez: Bu sentez yöntemi, işlem kolaylığı ve yüksek üretim verimliliğinden dolayı en çok tercih edilen tekniktir. Bu proseste nanopartikül nükleasyonunu tetiklemek ve sentezi başlatmak için sodyum borhidrür (NaBH₄), hidrazin ve sitrat gibi redüksiyon ajanları gerekmektedir [28, 29].

Turkevich Metodu, 1951 yılında, Turkevich ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem, AuNP'lerin özellikle altın nanokürelerin sentezlenmesinde en çok kullanılan sentez tekniğidir. Bu

yöntemle sulu tetrakloroaurik asidin sodyum sitrat ile reaksiyonu sonucu monodispers koloidal AuNP'ler elde edilmektedir. Sodyum sitrat, hem redüksiyon ajanı hem de stabilizör ajanı görevi görmektedir. Bu reaksiyon, başlangıçtaki sodyum sitrat konsantrasyonuna bağlı olarak, büyüklüğü 15 ila 150 nm arasında değişen, küresel AuNP'lerin elde edilmesini sağlamaktadır [9, 13].

Brust Sentezi, Brust ve Schriffin tarafından 1994'te AuNP sentezi amacıyla geliştirilen sentez yöntemidir. Bu sentez tekniğinde, faz transfer reaktifi olarak tetraoktilamonyum bromür (TOAB) ve redüksiyon ajanı olarak sodyum borhidrür (NaBH_4) kullanılarak bifazik indirgenme yoluyla boyut ve şekil olarak daha küçük (2–6 nm) ve daha monodispers olan stabil tiyollenmiş AuNP-tiyolatların (AuS) üretimi gerçekleştirilmektedir. [30].

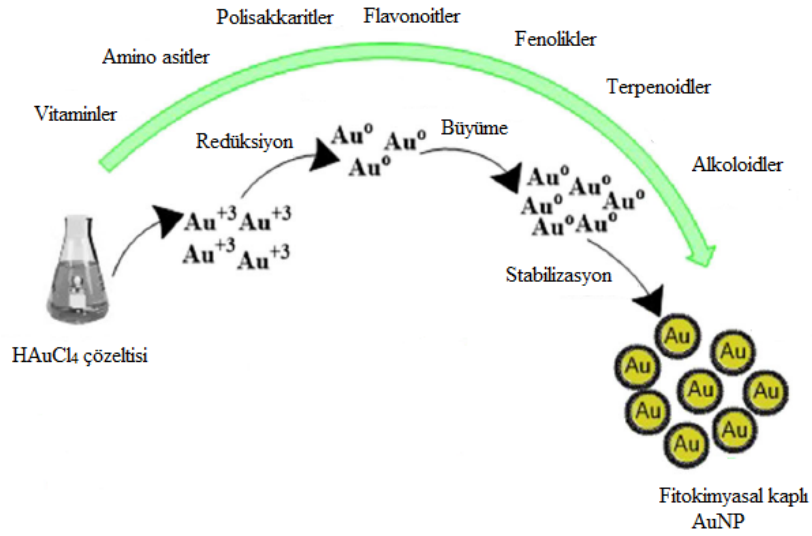
Tohum aracılı büyüme: Bu yöntem ile çoğunlukla altın nanoçubukların sentezlenmesi gerçekleştirilirken altın nanokürelerin sentezi de mümkün olabilmektedir. Burada altın tuzunun kimyasal redüksiyonu, altın tohumları oluşturan sodyum borhidrür (NaBH_4) gibi güçlü bir indirgeyici ajan varlığında meydana gelmektedir. Daha sonra, bu tohumlar, büyümenin sürdürülmesi için hekzadesiltrimetilamonyum bromür ve askorbik asit gibi zayıf bir indirgeyici ajan içeren altın tuzu solüsyonuna eklenmektedir. Solüsyondaki altın tohumları, nanoçubukların oluşumu için nükleasyon yeri görevi görmektedir [14, 20, 21] (Şekil 2).



Şekil 2. Tohum aracılı sentezin aşamaları [31]

Biyolojik sentez (Green sentez): Nanopartiküllerin kimyasal sentezinde, sentez ve üretim sırasında toksik kimyasalların kullanılması ve tehlikeli yan ürünlerin oluşması gibi bazı dezavantajlar bulunmaktadır [32]. Benzer şekilde, fiziksel sentez yöntemlerinde de AuNP üretiminde büyük enerji girdileri gereklidir ve proses oldukça pahalıdır. Kimyasal ve fiziksel sentez yöntemlerinin aksine biyolojik yöntem, AuNP'lerin sentezi için çevre dostu, toksik olmayan, ekonomik, yüksek verimli ve tek adımlı bir süreçtir [27]. Metal nanopartikülleri etkili bir şekilde sentezlemek için bitkiler (örn; *Cassia auriculata*, *Hibiscus rosa-sinensis*), mantarlar (örn; *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus oryzae*) bakteriler (örn; *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*) ve alglar (örn; *Shewanella algae*, *Chlorella vulgaris*) gibi çeşitli biyolojik kaynaklar kullanılmaktadır. Bitki ekstraktları kullanılarak biyolojik sentez yoluyla üretilen AuNP'lerin, antibakteriyel [33], antiparaziter [34], antioksidan [35] ve antikanser aktiviteleri [36] yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Biyolojik sentezle üretilen AuNP'lerin kanserde kullanımına ilişkin bazı çalışmalar Tablo 1'de özetlenmektedir.

AuNP'lerin bitki kaynaklı biyolojik sentezi, gerekli fitokimyasallara sahip bitki materyallerinin (alkaloidler, terpenoidler, fenoller ve flavonoidler) ekstraksiyonu ile elde edilmektedir. Bitki ekstraktı, tetrakloroaurik asitin (HAuCl_4) sulu çözeltisi içinde çözündüğünde, Şekil 3'te gösterildiği gibi, önerilen iki aşamalı bir kimyasal reaksiyon başlamaktadır. Birinci adımda, fitokimyasallar Au^{+3} 'ü Au^0 'ye indirgenirken, ikinci aşamada, aglomerasyon ve stabilizasyon ile koloidal AuNP'lerin oluşumu meydana gelmektedir [27] (Şekil 3).



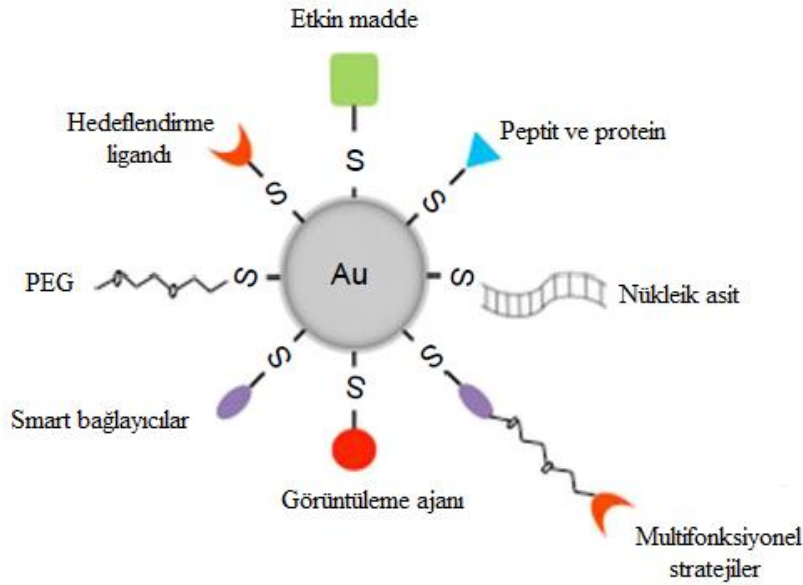
Şekil 3. AuNP'lerin bitki ekstraktı aracılı sentezin genel mekanizması [27]

Tablo 1. Biyolojik yolla sentezlenen AuNP'lerle yapılan çalışmalar

Nanopartikül	Partikül Boyutu (nm)	Hücre Hattı	Sonuç	Kaynak
<i>Scutellaria barbata</i> 'dan sentezlenen AuNP	154	PANC-1 hücresi	Sentezlenen AuNP'ler, PANC-1 hücrelerine karşı etkili antikanser özellik göstermiştir.	[37]
<i>Catharanthus roseus</i> 'dan (CR) sentezlenen AuNP	25–35	HeLa hücresi	Sentezlenen CR-AuNP'ler HeLa hücrelerinde apoptozu arttırmıştır.	[38]
<i>Alternanthera sessilis</i> 'den sentezlenen AuNP	20–40	HeLa hücresi	AuNP'ler serviks kanseri hücrelerinde hem sitotoksiteyi hem de intrinsik apoptotik mekanizmalarını modüle ederek apoptozu indüklemiştir.	[39]
<i>Panax notoginseng</i> 'den sentezlenen AuNP	100	PANC-1 hücresi	AuNP'ler, PANC-1 kanser hücrelerinde sitotoksite, ROS ve apoptozu başarıyla indüklemiştir.	[40]
Resveratrol (RSV)- AuNP (<i>Delftia sp.</i> 'nin kültür süpernatantlarından sentezlenen AuNP)	11.3	A549 hücresi	RSV-AuNP'ler, serbest resveratrol ile kıyaslandığında antikanser etkinlik açısından %65 daha fazla etkinlik göstermiştir.	[41]
<i>Portulaca grandiflora</i> 'dan sentezlenen AuNP	8- 72	C6 glioma kanser hücresi	AuNP'ler C6 glioma hücre hattının canlılığını apoptoz veya ROS üretimiyle %50'ye kadar azaltmıştır.	[42]
<i>Enterococcus sp.</i> 'den sentezlenen AuNP	6 -13	HepG2 ve A549 hücresi	AuNP'lerin artan konsantrasyonuna karşı artmış antikanser aktivite gözlenmiştir.	[43]
<i>Escherichia coli</i> 'den saflaştırılan α -NADPH-bağımlı sülfid redüktaz kullanılarak sentezlenen AuNP	10	Vero ve Hep-2 hücresi	<i>E. coli</i> 'den sentezlenen AuNP'lerin bulaşıcı hastalıklar ve kanser için potansiyel adaylar olabileceği vurgulanmıştır.	[44]
Kahverengi makroalg <i>Cystoseira baccata</i> (CB)'dan elde edilen AuNP (Au@CB)	8.4 ± 2.2	Caco-2 ve HT-29	Au@CB, Caco-2 ve HT-29 hücre hatlarına karşı güçlü sitotoksite göstermiştir. Nanopartiküller ekstrinsik ve mitokondriyal yolak ile apoptozu indüklemiştir.	[45]
Kemferol-AuNP	16.5±2.5	MCF-7 hücresi	Serbest kemferol ile karşılaştırıldığında, AuNP'ler ile MCF-7 hücrelerinde daha yüksek apoptoz ve anjiyogenez inhibisyonu elde edilmiştir.	[46]

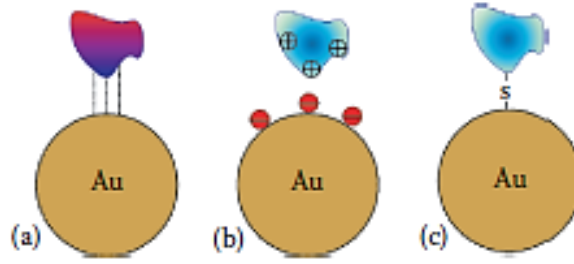
Altın Nanopartiküllerin Yüzey Modifikasyonları

Altının yüzey kimyası, AuNP'leri biyomedikal uygulamalar için umut verici bir platform haline getirmektedir. Biyomakromoleküllerin nanopartikül yüzeyine eklenmesi genellikle “modifikasyon” olarak adlandırılmaktadır. AuNP'lerin yüzeyi; tiyoller, fosfatlar ve aminler gibi fonksiyonel gruplar içeren ligandlarla kolayca modifiye edilebilmektedir. Bu fonksiyonel grupları kullanarak polimer, oligonükleotidler, proteinler ve antikorlar gibi ligandlar da yapıya ilave edilerek daha üstün modifikasyona olanak sağlanabilmektedir [26]. AuNP'lerin yüzey molekülleri ile modifikasyonu, aktif biyosensör, gelişmiş görüntüleme kontrastı, ilaç taşıyıcı sistem ve tümöre hedefleme gibi çeşitli kullanımlara sahip olan multifonksiyonel nanopartikül biyokonjugatlarının üretilmesi amaçlanmaktadır (Şekil 4).



Şekil 4. AuNP'lerde yüzey modifikasyonu [15]

AuNP'lerin modifikasyonu için *adsorpsiyonel* ve *kemosorpsiyonel* olmak üzere iki temel yaklaşım vardır. Adsorpsiyonel yaklaşım, bir polimerin, hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler veya kükürt bağları yoluyla partikül yüzeyine pasif adsorpsiyonuna dayanmaktadır (Şekil 5). Spesifik olarak, proteinler kükürt bağı (sistein ve metiyonin) ve hidrofobik etkileşimler (triptofan) ile altın kolloidlerine bağlanmaktadır. Biyomoleküllerin AuNP'lere kimyasal olarak bağlanması, tiyollerin ve tiyollatlı bağlayıcıların veya makromoleküllerin spesifik kimyasına dayanmaktadır. Altın ve kükürt atomlarının nokta bağ oluşturabildiği bilinmektedir. Bu özellik biyolojik konjugasyon kimyasında, çeşitli biyomoleküllerin alkanetiyol aracılığıyla AuNP'lere kovalent olarak bağlanması için yaygın olarak kullanılmaktadır [10, 47].



Şekil 5. AuNP'lerin adsorpsiyonel yaklaşım ile proteinlerle modifikasyonu. Proteinin AuNP yüzeyine proteinin hidrofobik etkileşimler (a), elektrostatik etkileşim (b) ve kükürt bağıyla (c) bağlanması [48]

Pegilasyon: Nanopartiküller hücreler tarafından internalize edilmez, fizyolojik ortamda bulunan proteinler, nanopartiküllerin yüzeyinde “korona” adı verilen bir kaplama ile protein-korona kompleksini oluşturur [49]. AuNP'lerin yüzeyindeki bu komplekste, immün hücreleri tarafından tanınmalarına neden olan opsoninler bulunmaktadır. Bunlar vücuttaki nanopartiküllerin akıbetini etkilemektedir [50]. Bu kompleks, aynı zamanda partikül büyüklüğünde ve yükte de değişikliklere neden olabilmektedir. Nanopartiküllerin kan dolaşımında kalış sürelerini arttırmak ve Retikuloendotelyal Sistem (RES) makrofajları tarafından tanınmalarını engellemek için kullanılan en temel strateji pegilasyondur. Pegilasyon, polietilen glikol (PEG) zincirlerinin nanopartikülün yüzeyine adsorbe edilmesi ya da kovalent bağlanması ile gerçekleşmektedir. AuNP'lerin pegilasyonu, nanopartikülün yüzeyine plazma proteinlerinin adsorpsiyonunu en aza indirilmektedir [5]. Takeuchi ve arkadaşları, eşit partikül boyutuna (20, 30 ve 50 nm) sahip AuNP ve PEG modifiye AuNP (PEG-AuNP) hazırlamış ve formülasyonları farelere intravenöz (i.v) enjeksiyonla uyguladıktan 48 saat sonra biyodağılımlarını detaylı bir şekilde incelemiştir. Çalışma sonucunda, PEG-AuNP'lerin karaciğer ve dalaktaki birikiminde önemli düşüş olduğu gözlenmiştir [51].

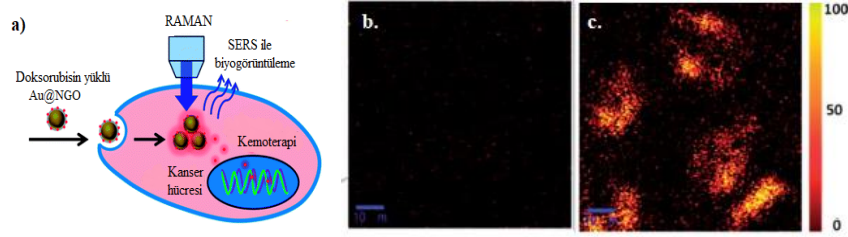
Altın Nanopartiküllerin Kanserde Kullanımları

AuNP'lerin kanserdeki uygulamaları, sahip oldukları uygun optik ve fiziksel özelliklerinden kaynaklanmaktadır [5, 52]. AuNP'lerin kanser tedavisinde görüntüleme, teşhis, tedavi ve ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılması üzerine pek çok çalışma mevcuttur [5].

Biyosensör ve Görüntüleme

Günümüzde, kullanılan moleküler görüntüleme yöntemleri; nükleer tıp, manyetik rezonans görüntüleme (MRI), floresans görüntüleme ve bilgisayarlı tomografiyi (CT) içermektedir. AuNP'ler yüksek elektron yoğunlukları, görünür alan ve NIR bölgesinde ışık absorpsiyonu ve saçılması gibi benzersiz özellikleri sayesinde hücresel görüntüleme ve biyosensör olarak kullanımları için potansiyel bir aday haline gelmiştir [53].

AuNP'lerin en önemli özelliklerinden olan SPR, SERS ile ilişkili uygulamalarda kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Ma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada HeLa kanser hücrelerinde intrasellüler Raman görüntüleme (lazer 488 nm, güç 20 mW) ve doksorubisin taşınımı için teranostik ajan olarak nanoboyutlu grafen oksit (NGO) ile sarılmış AuNP'ler (Au@NGO) hazırlanmıştır. Çalışma sonunda, Au@NGO ile tedavi edilmeyen HeLa hücrelerinde Raman sinyali gözlenmemiş, aksine Au@NGO ile tedavi edilen hücrelerin içinde parlak noktalar gözlenmiştir. Altın konsantrasyonu arttıkça da daha parlak noktaların olduğu görülmüştür [54] (Şekil 6).

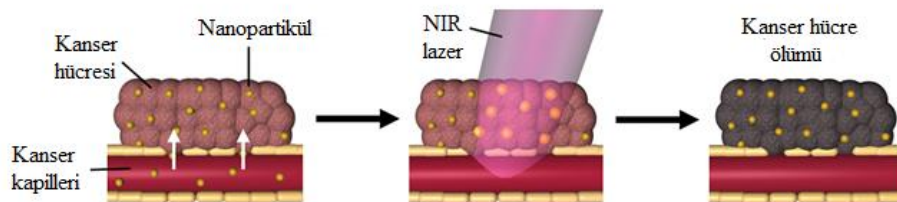


Şekil 6. SERS temelli mekanizma (a) Hela hücrelerinde herhangi bir tedavi yokken Raman görüntülenme (b), Au@NGO ile tedavi yapıldığında oluşan Raman görüntülenme (c) [54]

AuNP'ler, metal iyonları, anyonlar, sakkaritler, nükleotidler, proteinler ve toksinler gibi farklı analitlerin saptanması için etkili sensörler olarak kullanılmıştır [28]. Akbari jonus ve arkadaşları, prostat spesifik antijenin (PSA) belirlenmesi için oldukça hassas elektrokimyasal biyosensör tasarlamıştır. Bu amaçla anti-total PSA monoklonal antikor ve anti-serbest PSA antikor etiketli, indirgenmiş grafen oksit/AuNP (GO/AuNP)'den oluşan elektrot oluşturmuşlardır. Sonuçlar, tasarlanan biyosensörün total ve serbest PSA'ya karşı oldukça hassas olduğunu göstermiştir [55].

Fototermal Tedavi (PTT)

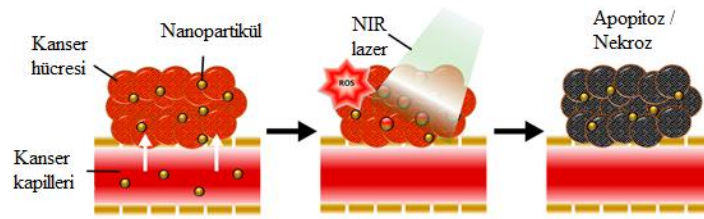
AuNP'ler görünür alan veya NIR bölgelerinde maksimum absorpsiyona sahiptir ve bu alanlara karşılık gelen ışıkla ışınladıklarında ışığa yanıt olarak termal enerji üretip ısı meydana getirir [28, 56]. Bu durumda, AuNP'ler hedef hücrelerin içine veya çevresine lokalize olurlarsa, hipertermiden dolayı kanser hücrelerinde ölüm meydana gelmektedir. Lokal ve genel hipertermi, hücre zarı geçirgenliğinin bozulması ve protein denatürasyonu, hücrelerde geri dönüşümsüz hasara neden olmaktadır (Şekil 7). Ancak, bu proses aynı zamanda sağlıklı dokulara da zarar vermekte ve bu durum tedavi yönteminin kullanımı konusunda ciddi kısıtlamalar getirmektedir [57, 58].



Şekil 7. PTT'de hücre ölümü [59]

Fotodinamik Tedavi (PDT)

Bu tedavi yönteminde ışığa duyarlı (fotosensitizer) madde ve belirli dalga boyuna sahip görünür ışık olmak üzere 2 temel unsur bulunmaktadır. Bu tedavide dokular lazer ışığı ile ışınlanmakta ve ışığa duyarlı etkin madde enerjiyi absorbe ederek uyarılmış duruma getirilmektedir. Burada oluşan enerji daha sonra reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturmak için moleküler oksijene transfer edilmektedir. Bu durum apoptozu ve nekrozu indükleyerek kanser hücrelerinin yok olmasına sebep olmaktadır (Şekil 8). PDT ayrıca tümörün beslenmesini de bozarak mikrodamar ağına zarar vermekte ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı ise ışığa duyarlı etkin maddelerin organizmada uzun süre kalması ve sağlıklı dokuların da ışığa karşı oldukça duyarlı olmasıdır [60].



Şekil 8. PDT'de hücre ölümü [61]

AuNP'lerin PTT ve PDT'de kullanımında dair bazı çalışma örnekleri Tablo 2'de özetlenmektedir.

İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak AuNP'ler

AuNP'ler, eşsiz fizikokimyasal özellikleri, biyouyumlulukları, SPR, optik ve ayarlanabilir özellikleri, 1-150 nm gibi geniş bir aralıkta hazırlanabilmeleri ve kolay yüzey modifikasyonu dolayısıyla ilaç taşıyıcı sistem olarak değerlendirilmektedir. AuNP'lerin ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmasına yönelik yaygın yaklaşım AuNP'lerin katyonik polimerlerle veya reaktif fonksiyonel gruplarla (örneğin, amin, tiyol ve karboksil grupları) yüzey modifikasyonuna dayanmaktadır. AuNP'ler; peptitler, proteinler, plazmid DNA'lar (pDNA), siRNA'lar ve kemoterapötik ajanlar gibi çeşitli etkin maddeler için etkili nanotaşıyıcılar olarak kullanılmaktadır. [28, 62].

Antineoplastik etkin maddelerin AuNP ile Taşınımı: Konvansiyonel tedavide kemoterapötik ajanların tümör dokusunda spesifik şekilde birikmesi mümkün olamamakta, antineoplastik ajanlar kan ve lenf dolaşımı yoluyla tüm organlara dağılmaktadır. Nanopartiküllerin geliştirilmesi, etkin maddelerin taşınması için çok büyük olanaklar sunmaktadır. Kemoterapötik ajanlar, nanopartiküllere yüklenebilmekte veya yüzeylerine tutturulabilmektedir. Pasif veya aktif hedeflendirme stratejileriyle bu etkin maddeler tümör bölgesine spesifik bir şekilde ulaştırılabilmektedir [5].

Tablo 2. AuNP'lerin PTT ve PDT'de kullanımına dair yapılan çalışmalar

Görüntüleme Tekniği	Fonksiyonel Ligand	Nanopartikül Tipi	Hücre Hattı	Sonuç	Kaynak
FototermaI tedavi (808 nm NIR lazer)	Glukozamin	Glukoz ile modifiye edilmiş altın nanokabuklar (GGN)	Melanoma hücresi (A375)	AuNP'lerin NIR enerjisinin verimli bir şekilde ışık enerjisine dönüştürmesiyle A375 hücrelerinde hedeflenmiş lokalize fototermaI hasar gözlenmiştir.	[63]
FototermaI tedavi (808 nm NIR lazer)	Folik asit (FA)	FA ile konjuge edilmiş altın nanokabuklar (FA-SiO ₂ @AuNP)	A375 hücresi	FA- SiO ₂ -AuNP'lere maruz kalan hücrelerde yüksek sitotoksikite gözlenmiştir.	[64]
FototermaI ve Fotodinamik tedavi (635 nm lazer ışınımı) Fotosensitizer: Porfirin	Kitozan (QCS-SH)	Porfirin (TPPS) konjuge Au hibrit NP (TPPS/QCSSH/AuNP)	Normal fare fibroblast hücresi (L929)	PDT ve PTT'nin kombinasyonu ile artmış antitümoral etkinlik gözlenmiştir.	[65]
Fotodinamik tedavi Fotosensitizer: Çinko ftalosiyenin (Pc)	Laktoz	Laktoz-Ftalosiyenin modifiye AuNP'ler (Laktoz-Pc-AuNP)	Meme kanser hücreleri (SK-BR-3, MDA-MB-231)	Ftalosiyenin-AuNP'ler laktoz ile modifiye hale getirilerek hücrelere hedeflenmiş, singlet oksijen üretebilen ve ışınlama üzerine hücre ölümünü etkileyebilen suda dağılılabılır nanopartiküller üretilmiştir.	[66]
Fotodinamik tedavi Fotosensitizer: 5-aminolevolinik asit (5-ALA)	-	5-ALA ile konjuge AuNP'ler	Epidermoid karsinom hücresi (A431)	5-ALA'nın PDT etkinliği AuNP varlığında artmıştır.	[67]
Fotodinamik tedavi Fotosensitizer: Rosebenjal (RB)	Glutasyon (GSH)	RB-AuNP	Vero ve HeLa hücresi	RB-AuNP nanokompleksinin serbest RB'ye kıyasla daha fototoksik olduğu gözlenmiştir.	[68]

AuNP'lerin pasif hedeflenmesinde, tümör dokusunun patofizyolojik özellikleri önem kazanmaktadır. Tümör dokusu genellikle, nanopartiküllerin kolayca birikmesine izin veren artmış geçirgenlik ve tutulum (EPR) etkisi olarak bilinen aralıklı bir damar sistemine sahiptir [5]. Pasif hedeflemede, tümör hücrelerinde etkin maddenin yetersiz ve rasgele dağılımını içeren bazı sınırlamalar mevcuttur. Ayrıca, bütün tümörler EPR etkisine sahip değildir [5].

Aktif hedeflemede ise, monoklonal antikolar, aptamerler, peptitler ve vitaminler gibi tümör spesifik ligandlar AuNP'lerin yüzeyine konjuge edilmektedir. Bu ligandlar, endositoza izin veren tümör hücreleri üzerindeki reseptörler ile etkileşime girmekte ve ardından etkin maddenin salınımına izin vermektedir [69].

Antikanser etkili bir bileşik olan doksorubisinin (DOX) vücuda uygulanması için folik asit, sıcaklığa duyarlı polimer ve PEG barındıran DNA kaplı AuNP'lerle yapılan bir çalışmada elde edilen antineoplastik etkinliğin, serbest DOX'unkinden daha yüksek bir düzeyde olduğu bulunmuştur [70]. Khutale ve Casey'in yapmış olduğu bir çalışmada ise akıllı ilaç taşıyıcı sistem olarak kanser dokusundaki asidik koşullarda DOX'un etkinliğini arttırmak için DOX yüklü, PEG ve poliamidoamin dendrimeriyle (PAMAM) modifiye AuNP'ler (Au-PEG-PAMAM-DOX) geliştirilmiştir. PEG konjugasyonu, su molekülleri ve konjuge PEG molekülü arasında hidrojen bağı oluşumu nedeniyle, bu nanopartiküllerin hidrofiliğini artırarak AuNP'lerin aglomerasyonunu önlediği; dendrimerlerin eklenmesi ile de nanopartiküllerin aglomerasyonunun önlenmesinin yanısıra stabilizasyonuna da yardımcı olduğu görülmüştür. MTT testi ile de A549 hücrelerinde serbest DOX, Au-PEG-PAMAM ve Au-PEG-PAMAM-DOX'nin hücre canlılığı değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda serbest DOX'a göre Au-PEG-PAMAM-DOX'un hücre ölümü üzerinde daha etkin oldukları bulunmuştur [71].

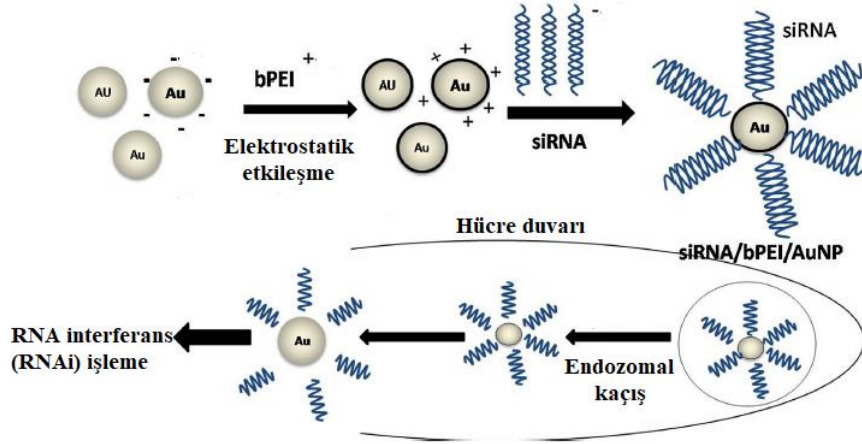
Diğer Maddelerin ve Genlerin AuNP ile Taşınımı: Antitümör maddelerin yanı sıra, AuNP'ler ile taşınan diğer çeşitli ajanlar ampisilin, streptomisin, vankomisin gibi antibakteriyel maddelerdir [48].

Gen tedavisi, genetik ve kazanılmış hastalıkların tedavisi için ideal bir strateji sunmaktadır. AuNP'ler DNA ve RNA taşınımı için ilgi çekmektedir. Bu taşıyıcılar nükleik asidi korumakta ve nükleaz tarafından parçalanmalarını önlemektedirler. Ayrıca nükleik asit transfeksiyon hücrelerine yardımcı olabilmekte ve hedeflemede rol oynayabilmektedir. Günümüzde, bu amaç için nanoküreler ve nanorodlar gibi çeşitli morfolojilere sahip AuNP'ler kullanılmıştır [10].

Düşük immünojenik etkisi sayesinde AuNP'ler, güçlü bir gen inhibitör olan siRNA (small interfering RNA)'nın organizma ve hücresele seviyelerde etkili bir şekilde taşınabilmesini sağlayabilmekte ve bu durum siRNA tedavilerinin genetik hastalıklar için klinik uygulamasını kolaylaştırmaktadır [48].

Shaat ve arkadaşları, insan hepatosellüler karsinom hücrelerinde onkogen c-Myc genini hedefleyen siRNA'nın hücre içine etkili ve güvenilir bir şekilde taşınımını sağlamak için katyonik polietilenimin (bPEI) ile modifiye edilen altın AuNP'ler (siRNA/bPEI/AuNP) geliştirmiştir (Şekil 9). Çalışmada tek başına kullanılan siRNA ile siRNA/bPEI/AuNP kompleksinin transfeksiyondan sonra c-

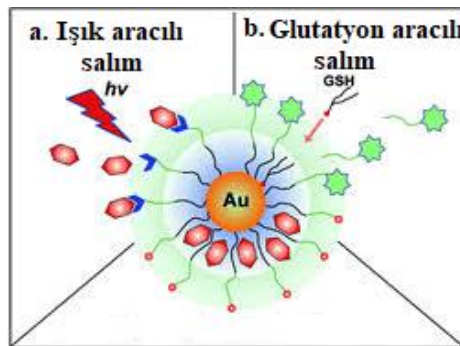
Myc gen ekspresyonunu ölçmek için karşılaştırmalı yarı kantitatif ve kantitatif gerçek zamanlı PCR kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, saf siRNA ve siRNA/bPEI/AuNP'lere sahip transfekte HuH7 hücrelerinde c-Myc protein translasyonu başarılı bir şekilde tespit edilmiştir ancak siRNA/bPEI/AuNP'ler tarafından inhibisyonun çok daha fazla olduğu görülmüştür [72].



Şekil 9. siRNA/bPEI/AuNP'nin oluşumu, hücre içine alınımının şematik gösterimi [72]

AuNP'lerden Etkin Madde Salınımı

AuNP'lerden etkin madde salınımı, iç (internal) veya dış (eksternal) uyarımlarla aracılıyla gerçekleşmektedir. İç uyartım (internal stimülasyon), AuNP'lerin endojen olarak tetiklenen salınımı ifade etmektedir ve hücre içi glutatyon (GSH) konsantrasyonunun yüksek olmasına ya da pH'ya bağlı salınımına dayanmaktadır. AuNP'lere bağlanan etkin maddeler, yer değiştirme reaksiyonları veya disülfür alışverişi yoluyla serbest bırakılabilmektedir. Dış uyartım da (eksternal stimülasyon) ise ışık, sıcaklık gibi dış uyarımlarla uyarmasıyla etkin madde salınımı gerçekleşmektedir [8] (Şekil 10).

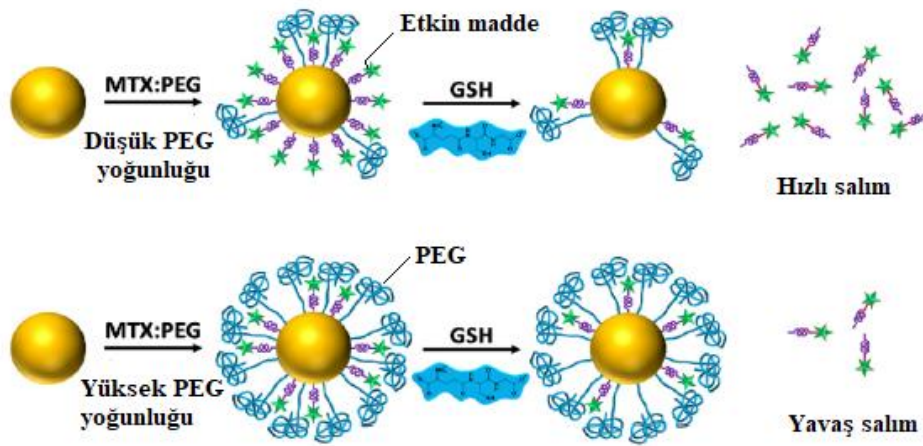


Şekil 10. Eksternal salım (a), İnternal salım (b) [73]

Bao ve arkadaşları, akut karaciğer hasarı tedavisi için glutatyon (GSH) aracılı etkin madde salım özelliğine sahip tiopronin (TPN) ile konjuge AuNP'ler (TPN-GNP'ler) geliştirilmiştir. *İn vitro* salım

çalışmalarında simüle edilmiş hücre içi GSH seviyesinde TPN-GNP'lerden TPN'nin 4 saat boyunca sürekli salımı sağlanmıştır. Aynı zamanda salım ortamının pH değerlerinin veya iyonik gücün, nanopartikül yüzeyinden TPN salımı üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir [74].

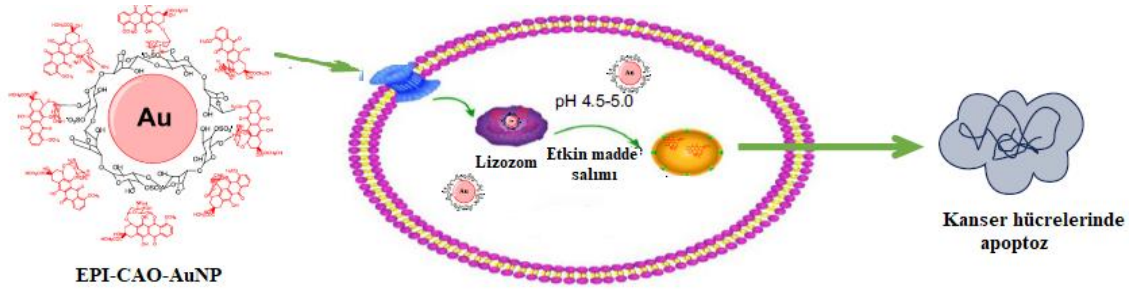
Yoon ve arkadaşları, AuNP'lerden GSH ile tetiklenen *in vitro* mikotoksin (MTX) salımına ilişkin pegilasyonun rolünü, hem Raman hem de floresans spektroskopisi ile araştırmıştır. Çalışma sonucunda kanser hücreleri içindeki AuNP'lerden etkin maddenin salım kinetiğinin kontrolünde pegilasyonun önemli rol oynadığı bulunmuştur. AuNP'lerdeki PEG yoğunluğunun modüle edilmesiyle, GSH'den korunma yoluyla *in vitro* hücre içi etkin madde salımının 24 saat boyunca ~%40 oranında azaltılabileceği gösterilmiştir [75] (Şekil 11).



Şekil 11. Pegilasyon yoğunluğu modülasyonlu hücre içi etkin madde salımının şematik gösterimi [75]

Sreejivungsa ve arkadaşları, ışığa duyarlı ligandlar ve non-kovalent bağlı etkin madde içeren AuNP'leri, UV ışık ile salımın tetiklenebileceği potansiyel bir ilaç taşıyıcı sistem olarak araştırmıştır. Sonuç olarak UV radyasyona maruz kalmayan sisteme kıyasla geliştirdikleri sistemde UV ışık ile birlikte etkin maddenin daha yüksek oranda salındığı bulunmuştur [76].

Chen ve arkadaşları, model antikanser etkin madde olarak seçtiği epirubisini (EPI) green sentez ile hazırladıkları karregen oligosakkarit (CAO) AuNP'lere yüklemiş (EPI-CAO-AuNP) ve bu sistemlerde pH'ya duyarlı etkin madde salımını incelemişlerdir. EPI-CAO-AuNP'lerin pH'ya bağlı davranışını 72 saat boyunca sırasıyla fizyolojik koşul (pH 7.4) ve simüle kanserli ortam (pH 5.0) altında araştırmışlardır. Çalışma sonucunda etkin maddenin pH 5.0'da %96 oranında salındığı, pH 7.4'te ise 72 saatte sadece %30'unun salındığı gözlenmiştir. Bu veriler ile nanosistemden etkin maddenin kanser ortamını simüle eden asidik koşullar altında nötr pH'dakinden daha hızlı salındığı sonucuna varılmıştır [77] (Şekil 12).



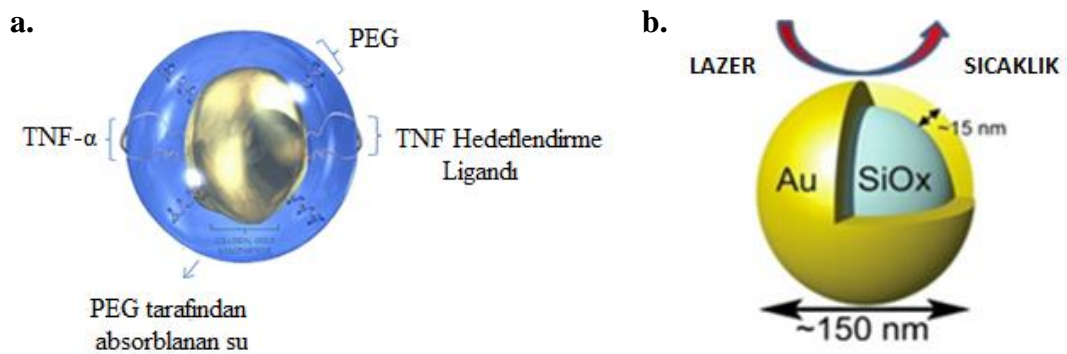
Şekil 12. EPI-CAO-AuNP sisteminin şematik diyagramı ve hücre içi endo/ lizozomal koşullar altında pH ile tetiklenen etkin madde salımı [77]

AuNP'lerin kanserde kullanımına ilişkin yapılan bazı çalışmalar Tablo-3'te özetlenmektedir.

Klinikte Kullanım

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesisi (FDA), tıpta teşhis ve tedavi amaçlı kullanılmak üzere birkaç AuNP bazlı teknolojiyi onaylamıştır [78]. AuNP'lerle yapılan klinik çalışmalar Tablo 4'te gösterilmektedir.

Astra Zeneca tarafından Cytimmune ile ortaklaşa yürütülen klinik çalışmalardan biri, esas olarak AuNP temelli kanser tedavisine odaklanmaktadır [79]. Bu çalışmada Aurimune® (CYT-6091), PEG-AuNP (25 nm) yüzeyine bağlı TNF- α içermektedir. AuNP'ler, mononükleer fagositik hücrelerin (MPS) ana organı olan karaciğer ve dalak tarafından alınmasını engellemek için PEG ile kaplanmıştır. PEG sıvıyı absorplayabilen bir molekül olduğundan etkin madde vücut içine alındığında etrafında sıvı kalkını oluşturmaktadır [80] (Şekil 13a).



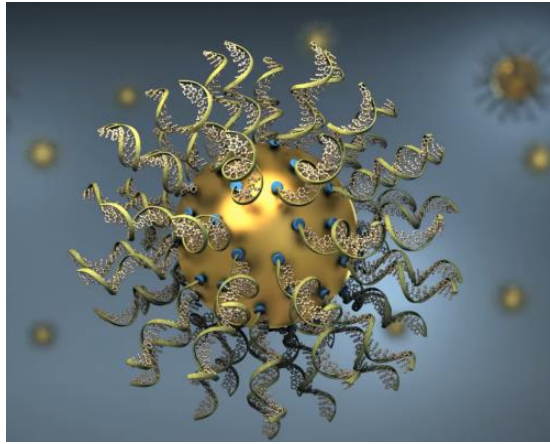
Şekil 13. Aurimune® (CYT-6091)'nin (a) ve AuroShells®'in (b) genel yapısı [81, 82]

Tablo 3. AuNP'lerin kanserde kullanımına ilişkin çalışmalar

Etkin Madde	Modifikasyon	Taşıyıcı sistem	Ortalama Boyut (nm)	Hücre Hattı	Sonuç	Kaynak
DOX Bleomisin (BLM)	PEG	PEG modifiye DOX ve BLM konjuge AuNP (DOX-BLM-PEG-AuNP)	13.7 ± 0.1	Servical kanser hücresi (HeLa)	Yarı maksimal etkili konsantrasyon (EC50) önemli ölçüde azalmıştır. Konjuge AuNP sistemler ile kemoterapötik etkinlik artmıştır.	83
Salinomisin (SAL)	PEG	SAL konjuge AuNP (SAL-AuNP)	18±0.9	Meme kanser hücresi (BCSC)	SAL-AuNP'ler ferroptosisi indükleyerek antikanser etkinliği arttırmıştır.	84
Sisplatin (CİS)	PEG Tiyoil (PEG-SH)	Cis yüklü PEG modifiye içi boş altın nanoküreler (CİS PEG-HGN)	85.6±2.2	HeLa hücresi	Serbest CİS'e göre sitotoksik etki artmıştır.	85
Paklitaksel (PTX)	Kitozan oligosakkarit (COS)	PTX yüklü COS stabilize AuNP (PTX-COS AuNP)	61.86± 3.01	MDA-MB-231 hücresi	ROS türlerinin artması ile apoptozun indüklenmesi sonucu güçlü sitotoksik etki elde edilmiştir.	86
DOX	-	DOX modifiye AuNP (D-GNP)	88±2.16	L929 hücresi	Serbest DOX'a kıyasla daha yüksek antikanser etkinlik ve tümör büyümesinde gecikme gözlenmiştir.	87
5-Fluorourasil (5-FU)	GSH	5-FU yüklü GSH modifiye AuNP'ler 5-FU/GSH-GNP	~9-17	Kolorektal kanser hücresi (SW480)	Serbest 5-FU ile karşılaştırıldığında 2 kat daha yüksek antikanser etkinlik görülmüştür.	88
BCL-2 (B-hücreli lenfoma - 2) siRNA taşınımı	Poliyetenimin (PEI) Arjinin-glisin-aspartik (Arg-Gly-Asp, RGD) peptidi PEG	PEİ ile kaplanmış AuNP'ler/siRNA (Au PENP/ BCL-2 siRNA) (Altın bazlı küresel nükleik asit)	200-350	Glioblastoma hücresi (U87MG)	BCL-2 siRNA, U87MG hücrelerine etkili bir şekilde transfeke edilmiştir. BCL-2 protein ekspresyon seviyelerinde %22'ye kadar azalma görülmüştür.	89
CİS	Glukoz (G)	CİS ve G kaplı AuNP'ler (CG-GNP)	~20	A431 hücresi	Teranostik ajan olarak CG-GNP'ler, tek başına radyasyon ve serbest CİS'li radyasyona kıyasla daha yüksek antitümoral etkinlik göstermiştir.	90
Görüntüleme	Sistamin (CYS) Folik asit (FA)	CYS ve FA modifiye AuNP'ler (FA-CYS-AuNP)	15	KB (karsinom) ve HDF (fibroblast) hücresi	CT ile saptanamayan küçük bir tümör, moleküler olarak hedeflendirilmiş AuNP'ler tarafından görüntülenmiştir.	91
DOX Gd ³⁺	PEG TAT peptit	TAT-AuNP-DOX TAT-AuNP- Gd ³⁺	4.7 ± 1.7	U87 glioma hücresi	DOX ve Gd ³⁺ 'ün kan beyin bariyerini geçmesiyle glioma tedavi etkinliği artmış ve MRI ile gelişmiş görüntüleme sağlanmıştır.	92

Nanospectra tarafından geliştirilen AuroLase® Terapisi, AuroShells® adı verilen yeni bir nanopartikül sınıfının benzersiz “optik ayarlanabilirliğini” kullanmaktadır. AuroShells®, NIR ışık kaynağı ile stimülasyonu takiben katı tümörleri termal olarak yok etmek için tasarlanmış altın metal kabuk ve iletken olmayan bir silika çekirdeğinden oluşmaktadır [80] (Şekil 13b). Işığın emilimi, katı tümörleri termal olarak çözebilen lokal sıcaklıkta artışa neden olmaktadır. Prostat hastalığı için AuroLase® Terapisi, tipik olarak cerrahi, radyasyon ve geleneksel fokal terapilerle ilişkili yan etkileri minimuma indirirken tedavi etkinliğini maksimuma çıkarmak için tasarlanmış ilk ve tek ultra-fokal doku ablasyon tedavisidir [93, 94]. AuroLase® Terapisi ile baş ve boyun kanseri için refrakter ve/veya tekrarlayan tümörleri olan hastaların tedavisinin tamamlandığı bildirilmiştir [93].

Bunlara ek olarak, son zamanlarda birkaç AuNP tabanlı terapötik sistem klinik çalışmalara ilerlemiştir. Halen devam etmekte olan bu denemelerden biri, NU-0129/ Küresel Nükleik Asitli AuNP’ler (SNA)’dir (Şekil 14). Bu partiküller küçük küresel AuNP’lerin (13 nm) yüzeyinde düzenlenmiş siRNA’lardan oluşmaktadır. NU-0129, kan beyin bariyerini geçebilmekte ve tümör içine girdikten sonra nükleik asit bileşeni, glioblastoma multiformede bulunan ve tümör büyümesiyle ilişkili olan BCL2L12 adlı bir geni hedefleyebilmektedir. NU-0129 ile BCL2L12’nin ekspresyonunun inhibe edilmesi, tümör hücrelerinin apoptozunu indüklemektedir [95].



Şekil 14. Küresel nükleik asitli AuNP'nin şematik gösterimi [96]

Başka bir AuNP temelli klinik çalışmada, onkolojide gastrik hastalıkların teşhisi için organik olarak modifiye edilmiş AuNP'lere ve karbon nanotüplere dayalı kimyasal nanosensörler ile nefes analizini içeren yeni bir yöntemin fizibilitesini değerlendirmek amaçlanmıştır. Nanosensör dizisinin, mide kanseri ve ilgili prekanseröz lezyonları ayırt etmek için non-invaziv tarama aracı olabileceği öne sürülmüştür [97].

FDA onaylı NanoGrid teknolojisiyle üretilen Verigene® Sistem, nükleik asit ve proteinlerin *in vitro* tespiti amaçlı kullanılmaktadır. Bu teknolojide kullanılan AuNP'lerin çapı 13-20 nanometredir. Uygulamaya bağlı olarak, her bir nanopartikül, tanımlanmış sayıda oligonükleotitlerle (DNA veya RNA

parçaları) veya ilgilenilen belirli bir proteine özgü tanımlanmış sayıda antikorla modifiye edilmektedir [98].

Tablo 4. AuNP'lerle yapılan mevcut klinik çalışmalar [99]

İlaç/ Cihaz	ClinicalTrials.gov tanımlayıcılar	Çalışmanın Durumu
Aurimune® (CYT-6091) - İlerlemiş katı tümörlü hastaların tedavisinde TNF bağlı kolloidal altın - Primer kanser veya metastatik kanser cerrahisi uygulanan hastalarda tümör nekroz faktörü	NCT00356980 NCT00436410	Faz-1 tamamlanmıştır. Erken Faz-I tamamlanmıştır.
AuroShell® Nanopartikül yönelimli prostat dokusunun ablasyonu için odak tedavisi ile kombine olarak MRI/US füzyon görüntüleme ve biyopsi	NCT02680535	Devam etmektedir.
AuroLase® -Primer ve/veya metastatik akciğer tümörlerinde bireylerde AuroLase® tedavisinin etkinlik çalışması -Baş ve Boynun Refrakter ve / veya Tekrarlayan Tümörlerde AuroLase (tm) Tedavisinin Pilot Çalışması	NCT01679470 NCT00848042	Sonlandırılmıştır. Tamamlanmıştır.
NU-0129 Ameliyata Maruz Kalan Tekrarlayan Glioblastomlu Gliosarkomlu Hastaların Tedavisinde NU-0129	NCT03020017	Erken Faz-I devam etmektedir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Nanoteknoloji, hastalıkların teşhis ve tedavisine özel önem vererek biyomedikal uygulamalar için yeni ve geliştirilmiş materyallerin ortaya çıkmasına olanak sağlamıştır. Küçük boyutları sayesinde, nanopartiküller hem yüzeyde hem de hücrelerin içinde biyomoleküllerle kolayca etkileşime girebilmekte, bu da teşhis ve terapötikler için daha gelişmiş sinyaller ve hedefe spesifite sağlanmaktadır [100].

Metal nanopartiküller arasından AuNP'ler, benzersiz optik (SPR), elektriksel ve fizikokimyasal özellikleri sayesinde uzun yıllardır büyük ilgi görmektedir. Bunlar kolayca sentezlenebilmekte ve dar bir partikül boyut aralığında monodispers olarak elde edilebilmektedirler. Bitki, bakteri gibi çeşitli biyolojik kaynaklar kullanılarak gerçekleştirilen green sentez yöntemi ile AuNP'lerin sentezlenmesi, toksik kimyasalların kullanılmaması ve çevre dostu bir yöntem olmasıyla dikkat çekmektedir.

AuNP'lerin, nanoküre, nanoçubuklar, nanokabuk ve nanoprizmalar gibi çeşitli formlarda sentezlenebilmesi kanserde çeşitli uygulamalara yönelik olarak kullanılması için avantaj sağlamaktadır. Özellikle birim hacim başına ışıkla etkileşime girebilecek yüzey alanının daha geniş olması nedeniyle altın nanoçubukların fototermal ve NIR uygulamalarda yaygın olarak kullanıldığı gözlenmiştir.

AuNP'lerin yüzey modifikasyonuna çok elverişli olması onların ön plana çıkmasında büyük fayda sağlamaktadır. AuNP'lerin pegilasyonu ile RES tarafından tanınması önlenerek kan dolaşımındaki kalış süreleri uzatılmaktadır. Bu nanopartiküllerin yüzeylerinin uygun şekilde modifiye edilmesi ile biyosensör, gelişmiş görüntüleme kontrastı, ilaç taşıyıcı sistem olarak ve tümör hedeflemesi gibi çeşitli amaçlarla farklı kullanımlara sahip olan multifonksiyonel nanopartikül biyokonjugatlarının hazırlandığı pek çok çalışma bulunmaktadır.

AuNP'lerin sahip oldukları uygun optik ve fiziksel özellik sayesinde kanser tedavisinde görüntüleme, teşhis, tedavi ve ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmasına dair pek çok çalışma mevcuttur. AuNP'lerin klinikte kullanımlarına dair birçok ilaç firması tarafından yürütülen faz çalışmaları da bulunmaktadır.

Sonuç olarak bilimsel veriler göz önüne alındığında gelecekte AuNP'lerin kanser tedavisinde umut verici sistemler olarak geliştirileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization (WHO) Web site. Retrieved June 15, 2020, from https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1
2. Kim, B. Y., Rutka, J. T., Chan, W. C. (2010). Nanomedicine. *New England Journal of Medicine*, 363(25), 2434-2443.
3. Hong, Y., Rao, Y. (2019). Current status of nanoscale drug delivery systems for colorectal cancer liver metastasis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 114, 108764.
4. Dykman, L. A., Khlebtsov, N. G. (2016). Multifunctional gold-based nanocomposites for theranostics. *Biomaterials*, 108, 13-34.
5. Singh, P., Pandit, S., Mokkaapati, V. R. S. S., Garg, A., Ravikumar, V., Mijakovic, I. (2018). Gold nanoparticles in diagnostics and therapeutics for human cancer. *International journal of molecular sciences*, 19(7), 1979.
6. Parveen, K., Banse, V., Ledwani, L. (2016, April). Green synthesis of nanoparticles: Their advantages and disadvantages. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1724, No. 1, p. 020048). AIP Publishing.
7. Boisselier, E., Astruc, D. (2009). Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity. *Chemical society reviews*, 38(6), 1759-1782.
8. Ghosh, P., Han, G., De, M., Kim, C. K., Rotello, V. M. (2008). Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced drug delivery reviews*, 60(11), 1307-1315.
9. Sztandera, K., Gorzkiewicz, M., Klajnert-Maculewicz, B. (2018). Gold nanoparticles in cancer treatment. *Molecular pharmaceutics*, 16(1), 1-23.
10. Kong, F. Y., Zhang, J. W., Li, R. F., Wang, Z. X., Wang, W. J., Wang, W. (2017a). Unique roles of gold nanoparticles in drug delivery, targeting and imaging applications. *Molecules*, 22(9), 1445.

11. Sudhakar, S., Santhosh, P. B. (2017). Gold Nanomaterials: Recent Advances in Cancer Theranostics. In *Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly* (Vol. 25, pp. 161-180). Academic Press.
12. Bolaños, K., Kogan, M. J., Araya, E. (2019). Capping gold nanoparticles with albumin to improve their biomedical properties. *International journal of nanomedicine*, 14, 6387.
13. Turkevich, J., Stevenson, P. C., Hillier, J. (1951). A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*, 11, 55-75.
14. Cai, W., Gao, T., Hong, H., Sun, J. (2008). Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology. *Nanotechnology, science and applications*, 1, 17.
15. Guo, J., Rahme, K., He, Y., Li, L. L., Holmes, J. D., O'Driscoll, C. M. (2017). Gold nanoparticles enlighten the future of cancer theranostics. *International journal of nanomedicine*, 12, 6131.
16. Brioude, A., Jiang, X. C., Pileni, M. P. (2005). Optical properties of gold nanorods: DDA simulations supported by experiments. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(27), 13138-13142.
17. Freitas de Freitas, L., Varca, G., dos Santos Batista, J., Benévolo Lugão, A. (2018). An Overview of the Synthesis of Gold Nanoparticles Using Radiation Technologies. *Nanomaterials*, 8(11), 939.
18. Martin, C. R. (1994). Nanomaterials: a membrane-based synthetic approach. *Science*, 266(5193), 1961-1966.
19. Van der Zande, B. M., Böhmer, M. R., Fokkink, L. G., Schönenberger, C. (2000). Colloidal dispersions of gold rods: synthesis and optical properties. *Langmuir*, 16(2), 451-458.
20. Jana, N. R., Gearheart, L., Murphy, C. J. (2001). Wet chemical synthesis of high aspect ratio cylindrical gold nanorods. *The Journal of Physical Chemistry B*, 105(19), 4065-4067.
21. Busbee, B. D., Obare, S. O., Murphy, C. J. (2003). An improved synthesis of high-aspect-ratio gold nanorods. *Advanced Materials*, 15(5), 414-416.
22. Skrabalak, S. E., Chen, J., Sun, Y., Lu, X., Au, L., Copley, C. M., Xia, Y. (2008). Gold nanocages: synthesis, properties, and applications. *Accounts of chemical research*, 41(12), 1587-1595.
23. Sha, M. Y., Xu, H., Penn, S. G., Cromer, R. (2007). SERS nanoparticles: a new optical detection modality for cancer diagnosis. Shaat, H., Mostafa, A., Moustafa, M., Gamal-Eldeen, A., Emam, A., El-Hussieny, E., & Elhefnawi, M. (2016). Modified gold nanoparticles for intracellular delivery of anti-liver cancer siRNA. *International journal of pharmaceutics*, 504(1-2), 125-133.
24. Keren, S., Zavaleta, C., Cheng, Z. D., de La Zerda, A., Gheysens, O., Gambhir, S. S. (2008). Noninvasive molecular imaging of small living subjects using Raman spectroscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(15), 5844-5849.
25. Faraday M. (1857) Experimental relations of gold (and other metals) to gold. *Phil Trans R Soc London* 147:145–181
26. Giljohann, D. A., Seferos, D. S., Daniel, W. L., Massich, M. D., Patel, P. C., Mirkin, C. A. (2010). Gold nanoparticles for biology and medicine. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(19), 3280-3294.

27. Ovais, M., Raza, A., Naz, S., Islam, N. U., Khalil, A. T., Ali, S., Shinwari, Z. K. (2017). Current state and prospects of the phytosynthesized colloidal gold nanoparticles and their applications in cancer theranostics. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(9), 3551-3565.
28. Elahi, N., Kamali, M., Baghersad, M. H. (2018). Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Talanta*, 184, 537-556.
29. Noruzi, M. (2015). Biosynthesis of gold nanoparticles using plant extracts. *Bioprocess and biosystems engineering*, 38(1), 1-14.
30. Brust M, Walker M, Bethell D, Schiffrin DJ, Whyman R (1994). Synthesis of thiol-derivatized gold nanoparticles in a 2-phase liquid-liquid system. *J Chem Soc Chem Comm.*, (7):801–802.
31. Shah, M., Badwaik, V., Kherde, Y., Waghvani, H. K., Modi, T., Aguilar, Z. P., Lawrenz, M. B. (2014). Gold nanoparticles: various methods of synthesis and antibacterial applications. *Front Biosci*, 19(8), 1320-1344.
32. Patra, S., Mukherjee, S., Barui, A. K., Ganguly, A., Sreedhar, B., Patra, C. R. (2015). Green synthesis, characterization of gold and silver nanoparticles and their potential application for cancer therapeutics. *Materials Science and Engineering: C*, 53, 298-309.
33. Soni, N., Prakash, S. (2014). Green nanoparticles for mosquito control. *The Scientific World Journal*, 2014.
34. Lakshmanan, A., Umamaheswari, C., Nagarajan, N. S. (2016). A facile phyto-mediated synthesis of gold nanoparticles using aqueous extract of *Momordica cochinchinensis* rhizome and their biological activities. *Journal of Nanoscience and Technology*, 76-80.
35. Patil, M. P., Kim, G. D. (2017). Eco-friendly approach for nanoparticles synthesis and mechanism behind antibacterial activity of silver and anticancer activity of gold nanoparticles. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(1), 79-92.
36. Patil, M. P., Ngabire, D., Thi, H. H. P., Kim, M. D., Kim, G. D. (2017). Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles and evaluation of their cytotoxic activity on cancer cells. *Journal of Cluster Science*, 28(1), 119-132.
37. Wang, L., Xu, J., Yan, Y., Liu, H., Karunakaran, T., Li, F. (2019a). Green synthesis of gold nanoparticles from *Scutellaria barbata* and its anticancer activity in pancreatic cancer cell 2.(PANC-1). *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 1617-1627.
38. Ke, Y., Al Aboody, M. S., Alturaiki, W., Alsagaby, S. A., Alfaiz, F. A., Veeraraghavan, V. P., Mickymaray, S. (2019). Photosynthesized gold nanoparticles from *Catharanthus roseus* induces caspase-mediated apoptosis in cervical cancer cells (HeLa). *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 1938-1946.
39. Qian, L., Su, W., Wang, Y., Dang, M., Zhang, W., Wang, C. (2019). Synthesis and characterization of gold nanoparticles from aqueous leaf extract of *Alternanthera sessilis* and its anticancer activity on cervical cancer cells (HeLa). *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 1173-1180.
40. Wang, L., Xu, J., Yan, Y., Liu, H., Li, F. (2019b). Synthesis of gold nanoparticles from leaf *Panax notoginseng* and its anticancer activity in pancreatic cancer PANC-1 cell lines. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 1216-1223.

41. Kumar, C. G., Poornachandra, Y., Mamidyala, S. K. (2014). Green synthesis of bacterial gold nanoparticles conjugated to resveratrol as delivery vehicles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 123, 311-317.
42. Ashokkumar, T., Arockiaraj, J., Vijayaraghavan, K. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles using green roof species *Portulaca grandiflora* and their cytotoxic effects against C6 glioma human cancer cells. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 35(6), 1732-1740.
43. Rajeshkumar, S. (2016). Anticancer activity of eco-friendly gold nanoparticles against lung and liver cancer cells. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(1), 195-202.
44. Gholami-Shabani, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Gholami-Shabani, Z., Akbarzadeh, A., Riazi, G., Ajdari, S., Razzaghi-Abyaneh, M. (2015). Enzymatic synthesis of gold nanoparticles using sulfite reductase purified from *Escherichia coli*: a green eco-friendly approach. *Process Biochemistry*, 50(7), 1076-1085.
45. González-Ballesteros, N., Prado-López, S., Rodríguez-González, J. B., Lastra, M., Rodríguez-Argüelles, M. C. (2017). Green synthesis of gold nanoparticles using brown algae *Cystoseira baccata*: Its activity in colon cancer cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 153, 190-198.
46. Raghavan, B. S., Kondath, S., Anantanarayanan, R., Rajaram, R. (2015). Kaempferol mediated synthesis of gold nanoparticles and their cytotoxic effects on MCF-7 cancer cell line. *Process Biochemistry*, 50(11), 1966-1976.
47. Dykman, L., Khlebtsov, N. (2017). *Gold nanoparticles in biomedical applications*. CRC Press.
48. Dykman, L., Khlebtsov, N. (2012). Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. *Chemical Society Reviews*, 41(6), 2256-2282.
49. Aggarwal, P.; Hall, J.B.; McLeland, C.B.; Dobrovolskaia, M.A.; McNeil, S.E. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2009, 61, 428–437.
50. Chen, D., Ganesh, S., Wang, W., Amiji, M. (2017). Plasma protein adsorption and biological identity of systemically administered nanoparticles. *Nanomedicine*, 12(17), 2113-2135.
51. Takeuchi, I., Onaka, H., Makino, K. (2018). Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous injection: Effects of PEGylation at the same particle size. *Bio-medical materials and engineering*, 29(2), 205-215.
52. Huang, X., Jain, P. K., El-Sayed, I. H., El-Sayed, M. A. (2007). Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy.
53. Aminabad, N. S., Farshbaf, M., Akbarzadeh, A. (2019). Recent advances of gold nanoparticles in biomedical applications: State of the art. *Cell biochemistry and biophysics*, 77(2), 123-137.
54. Ma, X., Qu, Q., Zhao, Y., Luo, Z., Zhao, Y., Ng, K. W., Zhao, Y. (2013). Graphene oxide wrapped gold nanoparticles for intracellular Raman imaging and drug delivery. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(47), 6495-6500.
55. Akbari jonus, Z., Shayeh, J. S., Yazdian, F., Yadegari, A., Hashemi, M., Omid, M. (2019). An electrochemical biosensor for prostate cancer biomarker detection using graphene oxide-gold nanostructures. *Engineering in Life Sciences*, 19(3), 206-216.

56. Kodiha, M., Hutter, E., Boridy, S., Juhas, M., Maysinger, D., Stochaj, U. (2014). Gold nanoparticles induce nuclear damage in breast cancer cells, which is further amplified by hyperthermia. *Cellular and molecular life sciences*, 71(21), 4259-4273.
57. Abadeer, N. S., Murphy, C. J. (2016). Recent progress in cancer thermal therapy using gold nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 120(9), 4691-4716.
58. Zou, L., Wang, H., He, B., Zeng, L., Tan, T., Cao, H., Li, Y. (2016). Current approaches of photothermal therapy in treating cancer metastasis with nanotherapeutics. *Theranostics*, 6(6), 762.
59. Riley, R. S., Day, E. S. (2017). Gold nanoparticle-mediated photothermal therapy: applications and opportunities for multimodal cancer treatment. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(4), e1449.
60. Lucky, S. S., Soo, K. C., Zhang, Y. (2015). Nanoparticles in photodynamic therapy. *Chemical reviews*, 115(4), 1990-2042.
61. Kim, H. S., Lee, D. Y. (2018). Near-infrared-responsive cancer photothermal and photodynamic therapy using gold nanoparticles. *Polymers*, 10(9), 961.
62. Westcott, S. L., Oldenburg, S. J., Lee, T. R., Halas, N. J. (1998). Formation and adsorption of clusters of gold nanoparticles onto functionalized silica nanoparticle surfaces. *Langmuir*, 14(19), 5396-5401.
63. Nouri, S., Mohammadi, E., Mehraei, B., Majidi, F., Ashtari, K., Neshasteh-Riz, A., Einali, S. (2019). NIR triggered glycosylated gold nanoshell as a photothermal agent on melanoma cancer cells. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 2316-2324.
64. Majidi, F. S., Mohammadi, E., Mehraei, B., Nouri, S., Ashtari, K., Neshasteh-riz, A. (2019). Investigating the effect of near infrared photo thermal therapy folic acid conjugated gold nano shell on melanoma cancer cell line A375. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 2161-2170.
65. Zeng, J., Yang, W., Shi, D., Li, X., Zhang, H., Chen, M. (2018). Porphyrin derivative conjugated with gold nanoparticles for dual-modality photodynamic and photothermal therapies in vitro. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 4(3), 963-972.
66. Calavia, P. G., Chambrier, I., Cook, M. J., Haines, A. H., Field, R. A., Russell, D. A. (2018). Targeted photodynamic therapy of breast cancer cells using lactose-phthalocyanine functionalized gold nanoparticles. *Journal of colloid and interface science*, 512, 249-259.
67. Amini, S. M., Kharrazi, S., Hadizadeh, M., Fateh, M., Saber, R. (2013). Effect of gold nanoparticles on photodynamic efficiency of 5-aminolevulinic acid photosensitizer in epidermal carcinoma cell line: an in vitro study. *IET nanobiotechnology*, 7(4), 151-156.
68. Prasanna, S. W., Poorani, G., Kumar, M. S., Aruna, P., Ganesan, S. (2014). Photodynamic efficacy of Rosebengal-gold nanoparticle complex on Vero and HeLa cell lines. *Materials Express*, 4(5), 359-366.
69. Bahrami, B., Hojjat-Farsangi, M., Mohammadi, H., Anvari, E., Ghalamfarsa, G., Yousefi, M., Jadidi-Niaragh, F. (2017). Nanoparticles and targeted drug delivery in cancer therapy. *Immunology Letters*, 190, 64-83.
70. Alexander, C. M., Hamner, K. L., Maye, M. M., Dabrowiak, J. C. (2014). Multifunctional DNA-gold nanoparticles for targeted doxorubicin delivery. *Bioconjugate chemistry*, 25(7), 1261-1271.

71. Khutale, G. V., Casey, A. (2017). Synthesis and characterization of a multifunctional gold-doxorubicin nanoparticle system for pH triggered intracellular anticancer drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 119, 372-380.
72. Shaat, H., Mostafa, A., Moustafa, M., Gamal-Eldeen, A., Emam, A., El-Hussieny, E., Elhefnawi, M. (2016). Modified gold nanoparticles for intracellular delivery of anti-liver cancer siRNA. *International journal of pharmaceutics*, 504(1-2), 125-133.
73. Kim, C. K., Ghosh, P., & Rotello, V. M. (2009). Multimodal drug delivery using gold nanoparticles. *Nanoscale*, 1(1), 61-67.
74. Bao, Q. Y., Geng, D. D., Xue, J. W., Zhou, G., Gu, S. Y., Ding, Y., & Zhang, C. (2013). Glutathione-mediated drug release from Tiopronin-conjugated gold nanoparticles for acute liver injury therapy. *International journal of pharmaceutics*, 446(1-2), 112-118.
75. Yoon, J. H., Ganbold, E. O., & Joo, S. W. (2016). PEGylation density-modulated anticancer drug release on gold nanoparticles in live cells. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 33, 345-354.
76. Sreejivungsa, K., Suchaichit, N., Moosophon, P., & Chompoosor, A. (2016). Light-regulated release of entrapped drugs from photoresponsive gold nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 2016.
77. Chen, X., Han, W., Zhao, X., Tang, W., & Wang, F. (2019). Epirubicin-loaded marine carrageenan oligosaccharide capped gold nanoparticle system for pH-triggered anticancer drug release. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
78. Bobo, D., Robinson, K. J., Islam, J., Thurecht, K. J., & Corrie, S. R. (2016). Nanoparticle-based medicines: a review of FDA-approved materials and clinical trials to date. *Pharmaceutical research*, 33(10), 2373-2387.
79. Cytimmune Web Site. Retrieved April 10, 2020, from <http://cytimmune.com/#pipeline>
80. Libutti, S. K., Paciotti, G. F., Byrnes, A. A., Alexander, H. R., Gannon, W. E., Walker, M., Tamarkin, L. (2010). Phase I and pharmacokinetic studies of CYT-6091, a novel PEGylated colloidal gold-rhTNF nanomedicine. *Clinical cancer research*, 16(24), 6139-6149.
81. United States National Nanotechnology Initiative Web Site. Retrieved April 23, 2020, from https://www.nano.gov/sites/default/files/nanomedicine_-_tamarkin.pdf
82. Paithankar, D., Hwang, B. H., Munavalli, G., Kauvar, A., Lloyd, J., Blomgren, R., Mitragotri, S. (2015). Ultrasonic delivery of silica-gold nanoshells for photothermolysis of sebaceous glands in humans: Nanotechnology from the bench to clinic. *Journal of Controlled Release*, 206, 30-36.
83. Farooq, M. U., Novosad, V., Rozhkova, E. A., Wali, H., Ali, A., Fateh, A. A., Wang, Z. (2018). Gold nanoparticles-enabled efficient dual delivery of anticancer therapeutics to HeLa cells. *Scientific reports*, 8(1), 2907.
84. Zhao, Y., Zhao, W., Lim, Y. C., & Liu, T. (2019). Salinomycin-Loaded Gold Nanoparticles for Treating Cancer Stem Cells by Ferroptosis-Induced Cell Death. *Molecular pharmaceutics*.
85. Guan, Y. H., Tian, M., Liu, X. Y., & Wang, Y. N. (2019). Preparation of novel cisplatin-conjugated hollow gold nanospheres for targeting cervical cancer. *Journal of cellular physiology*, 234(9), 16475-16484.

86. Manivasagan, P., Bharathiraja, S., Bui, N. Q., Lim, I. G., & Oh, J. (2016). Paclitaxel-loaded chitosan oligosaccharide-stabilized gold nanoparticles as novel agents for drug delivery and photoacoustic imaging of cancer cells. *International journal of pharmaceutics*, 511(1), 367-379.
87. Dhamecha, D., Jalalpure, S., Jadhav, K., Jagwani, S., & Chavan, R. (2016). Doxorubicin loaded gold nanoparticles: Implication of passive targeting on anticancer efficacy. *Pharmacological research*, 113, 547-556
88. Safwat, M. A., Soliman, G. M., Sayed, D., & Attia, M. A. (2016). Gold nanoparticles enhance 5-fluorouracil anticancer efficacy against colorectal cancer cells. *International journal of pharmaceutics*, 513(1-2), 648-658.
89. Kong, L., Qiu, J., Sun, W., Yang, J., Shen, M., Wang, L., Shi, X. (2017b). Multifunctional PEI-entrapped gold nanoparticles enable efficient delivery of therapeutic siRNA into glioblastoma cells. *Biomaterials science*, 5(2), 258-266.
90. Davidi, E. S., Dreifuss, T., Motiei, M., Shai, E., Bragilovski, D., Lubimov, L., Popovtzer, R. (2018). Cisplatin-conjugated gold nanoparticles as a theranostic agent for head and neck cancer. *Head & neck*, 40(1), 70-78.
91. Khademi, K., Sarkar, S., Shakeri-Zadeh, A., Attaran, N., Kharrazi, S., Ay, M., Azimian, H., Ghadiri, H. (2019). Targeted gold nanoparticles enable molecular CT imaging of head and neck cancer: An in vivo study. *International journal of nanomedicine*, 6, 2859.
92. Cheng, Y., Dai, Q., Morshed, R. A., Fan, X., Wegscheid, M. L., Wainwright, D. A., Rincón, E. (2014). Blood-brain barrier permeable gold nanoparticles: an efficient delivery platform for enhanced malignant glioma therapy and imaging. *Small*, 10(24), 5137-5150.
93. Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2016). Nanoparticles in the clinic. *Bioeng Transl Med* 1: 10–29.
94. Nanospectra Web Site. Retrieved May 10, 2020, from <https://nanospectra.com/>
95. Jensen, S. A., Day, E. S., Ko, C. H., Hurley, L. A., Luciano, J. P., Kouri, F. M., Daniel, W. L. (2013). Spherical nucleic acid nanoparticle conjugates as an RNAi-based therapy for glioblastoma. *Science translational medicine*, 5(209), 209ra152-209ra152.
96. nephroHUB Web Site. Retrieved May 13, 2020, from <http://www.nephrohub.org/our-cores/core-b-kidney-therapeutic-design-development/index.html>
97. Amal, H., Leja, M., Funka, K., Skapars, R., Sivins, A., Ancans, G., Haick, H. (2016). Detection of precancerous gastric lesions and gastric cancer through exhaled breath. *Gut*, 65(3), 400-407
98. Luminex Web Site, Retrieved May 29, 2020, from <https://www.luminexcorp.com/verigenenano-grid-technology/>
99. ClinicalTrials Web Site, Retrieved Jul 05, 2020, from <https://clinicaltrials.gov/>
100. Conde, J., Doria, G., Baptista, P. (2012). Noble metal nanoparticles applications in cancer. *Journal of drug delivery*, 2012.



MİKROBİYOTANIN HASTALIKLAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

THE EFFECT OF MICROBIOTA ON DISEASES

Betül ÇAKMAK^{1,*} , Bahar İNKAYA¹ 

¹Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Esenboğa Yerleşkesi, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: *Vücudumuzda yaşayan mikroorganizmalar olarak tanımlanan mikrobiyotaya kavramı günümüzde oldukça popülerdir. Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalarla birlikte yeni bir organ olarak tanımlanmaktadır. Bu derlemenin yazılmasındaki amaç, insan vücudu açısından oldukça önemli fonksiyon ve etkileri bulunan mikrobiyotanın kronik hastalıklara yönelik etkisini değerlendirmektir.*

Sonuç ve Tartışma: *Her bireye özgü olarak farklı özellikler gösteren mikrobiyotanın kronik hastalıkların gelişiminde etkileri bulunmaktadır. Özellikle hipertansiyon, diyabet, kanser, inflamatuvar bağırsak hastalığı, alzheimer, parkinson bu hastalıklara örnek olarak verilebilir. Bu sebeple sağlıklı Mikrobiyotaya aktivitesinin sürdürülmesi ve geliştirilmesi oldukça önemlidir. Özellikle riskli grup olarak tanımlanan bireyler ve kronik hastalığı olanlar çerçevesinde eğitimlerin planlanması, doğru sağlık davranışı yönlendirilmelerin yapılması ve desteklenmesinin bu sürece katkı sağlayacağı düşünülmektedir.*

Anahtar Kelimeler: *Hastalık, mikrobiyotaya, sağlık*

ABSTRACT

Objective: *The concept of microbiota, which is defined as microorganisms living in our bodies, is quite popular today. It is defined as a new organ with the researches carried out in recent years. The purpose of writing this review is to evaluate the effect of microbiota, which has very important functions and effects for the human body, on chronic diseases.*

Result and Discussion: *Microbiota, which has different characteristics specific to each individual, has effects on the development of chronic diseases. Especially hypertension, diabetes, cancer, inflammatory bowel disease, Alzheimer's, Parkinson can be given as examples of these diseases. For this reason, it is very important to maintain and develop healthy Microbiota activity. It is thought that planning trainings, directing and supporting correct health behaviors within the framework of individuals defined as a risky group and those with chronic diseases will contribute to this process.*

Keywords: *Disease, health, microbiota*

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Betül Çakmak
e-posta / e-mail: betulglchms@gmail.com

GİRİŞ

İnsanlar, mikroorganizmaların 3,8 milyon yıldır varlığını sürdürdüğü bir biyosferde yaşamakta ve 10 bin yıldır biyosferi etkilemektedir. Dünyada son yıllarda mikrobiyota kavramı gündeme gelmekte ve çalışmalarda sık sık kullanılmaktadır. Mikrobiyata terimini ilk kez, 1958'de Nobel Tıp Ödülü'nü kazanan ABD'li Joshua Lederberg kullanmıştır [1].

Mikrobiyota; Vücudumuzda yaşayan mikroorganizmalar sistemini, milyarlarca mantar, bakteri ve tek hücrelilerden oluşan, hayati öneme sahip, çok hassas bir süper organı ifade etmektedir. Mikrobiyota kavramı insanlarla birlikte yaşayan bu özel türlerin tamamını ifade ederken mikrobiyom ise insanlarla kommensal olarak yaşayan mikroorganizmaların taşıdıkları genleri ifade etmektedir [2].

İnsan mikrobiyotası; başta bakteriler olmak üzere, virüsler, mantarlar ve birçok ökaryotik mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Günümüzdeki mikrobiyota araştırmaları ile mikropların düşman olduğu ve hücrelere zarar verdiği görüşünden uzaklaşarak insan mikrobiyotamızın içimizde sağlıklı mikrobiyal çevre oluşturduğu düşüncesi, yeni bir paradigma olarak savunulmaktadır [3].

Vücudumuzdaki mikrobiyota türlerine bakıldığında; yaşamımız boyunca bulunan ve çoğunlukla kommensal olarak varlığını sürdüren kalıcı mikrobiyota ve bedenimizde saatler veya günlerce kalan, kimyasal veya fiziksel değişiklikler meydana getirebilen ve diğer mikroorganizmaların bölgede barınmasına izin vermeyen geçici mikrobiyota bulunmaktadır. Sağlıklı bireylerde bağırsak florasında; Firmicutes (*Clostridium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Anaerostipes*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* vb. gram pozitif cinsleri kapsamakta), Bacteroidetes (*Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella* vb. gram negatif cinsleri kapsamakta), Proteobacteria (*Enterobacteriaceae* gibi gram negatif cinsleri kapsamakta), Actinobacteria (gram pozitif *Bifidobacterium* cinsini kapsamakta) Fusobacteria ve Verrucomicrobia (*Akkermansia* vb. cinsleri kapsamakta) olarak ifade edilen 6 tür bakteri mikrobiyotası bulunmaktadır. [4].

Mikrobiyotanın vücudumuzda hastalık ve sağlık durumlarının gelişmesini düzenleme, bağışıklık sistemi fonksiyonlarının sürdürülmesini teşvik etmek için gerekli sinyalleri oluşturma ve sindirilmemiş karbohidratların absorbe edilmesine ilişkin önemli görevleri bulunmaktadır. İnsan mikrobiyotasının en büyük kısmı sindirim sistemimizde yer almaktadır [2, 5]. Bu derlemenin yazılmasındaki amaç, insan vücudu açısından oldukça önemli fizyolojik görevleri ve etkileri bulunan mikrobiyotanın kronik hastalıklara yönelik olarak etkilerini değerlendirmektir

Bağırsak Mikrobiyotası

Gastrointestinal kanalda kolonize olan bakteri, virüs, mantar, protozoa gibi mikroorganizmalardan oluşan ve organ gibi işlev gören ekosistem “bağırsak mikrobiyotası” olarak adlandırılmaktadır [6]. Yapılan araştırmalar sonucunda sindirim sistemi mikrobiyotası elemanlarının

birçok metabolik olayda, sistemik ve mukozal bağışıklık sistemi fonksiyonlarında önemli işlevleri olan bir “organ” gibi davrandığı anlaşılmıştır. Bu nedenle bağışıklık Sistemi, gastrointestinal epitelin matürasyonu, beslenme, ilaç metabolizması ve hormonlar üzerine etkileri bulunduğu belirtilmektedir. Uzun yıllardır uterusun steril olduğuna yönelik var olan inanç, güncel araştırmalarla artık desteklenmemektedir [7]. Sağlıklı sürdürülen gebelik süreçlerinde amniyotik sıvıda zengin ve çeşitlilik gösteren mikrobiyotaların bulunduğu bildirilmektedir [8].

Doğum sonrası infantil dönemdeki mikrobiyata oluşumunda ise fizyolojik ve fizyolojik olmayan birçok faktör etkilidir. Bunlar anne sütü, formül mama kullanımı, perinatal süreç boyunca kullanılan antibiyotikler, sezaryan ve normal doğum, uzun süre hastanede yatma ve düşük gebelik yaşı olarak bildirilmektedir [7]. Bir yaşından sonra artık intestinal mikrobiyota, genç bir insanın sindirim sistemi mikrobiyotasına benzer hale gelir [9]. Besin alımı ve bağırsak mikrobiyotası arasında karşılıklı ve güçlü bir etkileşim olduğu ve bağırsaktaki mikroorganizmaların bazı vitaminlerin sentezini veya bazı besin bileşenlerinin bozulmasına neden olduğu bildirilmektedir. Özellikle anne sütü bireyin aldığı ilk besin olması sebebiyle bağırsak mikrobiyotası oluşumunda oldukça önemli bir yere sahiptir. Anne sütü, prebiyotikler (anne sütü oligosakkaritleri) ve probiyotikleri (Bifidobacterium, Lactobacillus) bir arada içeren sinbiyotik bir besindir. Anne sütünde bulunan oligosakkaritler, lizozomlar, laktoferrin, antikorlar ve sitokinlerin bağırsaktaki Bifidobacterium sayısını artırdığı bilinmektedir [10]. Sadece anne sütü alan bebeklerin bağırsaklarındaki Lactococcus düzeylerinin formula ile beslenen bebeklere göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Hem anne sütü hem de formula alan bebeklerin ise, sadece formula ile beslenen bebekler ile benzer mikrobiyota kompozisyonuna sahip olduğu gösterilmiştir [11].

Anne sütünden sonra, ek besinlere geçiş sürecinde seçilen besinlerin de mikrobiyotayı şekillendirdiği ve bu dönemde ayına göre, uygun ve doğru besinlerin tüketilmesi ile bağırsaktaki bakteri çeşitliliği artmaya ve bakteri kompozisyonu değişmeye başlamaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının ortalama 2-3 yaşta yetişkin mikrobiyota kompozisyonuna ulaştığı kabul edilmektedir [12]. Farklı coğrafyalarda ya da ülkelerde yaşayan bireylerin beslenme alışkanlıklarına göre de bağırsak mikrobiyotaları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin De Filippo ve arkadaşları (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada İtalya'nın kentsel bölgelerinde yaşayan çocuklar ile Afrika'da Burkina Faso kırsalında yaşayan çocukların mikrobiyotaları karşılaştırılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre Posa ve bitkisel proteinden zengin diyet ile beslenen Afrikalı çocukların bağırsaklarındaki bakteri zenginliği ve çeşitliliği, hayvansal kaynaklı protein ve yağdan zengin diyetle beslenen İtalyan çocuklarından daha yüksek bulunmuştur [13]. Beslenme şekillerine örnek olarak, batı tarzı beslenme modeli, Akdeniz beslenme modeli, vejetaryen beslenme modeli veya glutensiz beslenme modeli ve yüksek proteinli beslenme gibi beslenme modellerinin de mikrobiyota üzerinde etkileri bulunmuştur. Bu etkiler; bakterilerin sayısı ve çeşitliliğinde oluşan değişiklikler, bakterilerin etkinlikleri, inflamasyon süreçleri, reaktif oksijen ürünleri, bağırsak kompensasyon mekanizmaları ve disbiyozis süreci gibi neredeyse tüm

fizyolojik işlevler olarak ifade edilmektedir [13]. Bu etkilere yönelik örneklere bakıldığında; Akdeniz diyetinin obezite, inflamasyon ve lipid göstergelerini iyileştirdiği, vejetaryen diyetin mikrobiyota çeşitliliğini arttırdığı, glutensiz diyetin ise yararlı bakteri sayısını arttıran, zararlı bakteri sayısını ise azaltan etkiler gösterdiği literatürde ifade edilmektedir [15-17].

Floramızdaki bakteriler belirli bir oranda faydalı ve zararlı bakterileri içermektedir. Faydalı/zararlı bakterilerin oranı azaldığında “mikrobiyal disbiyozis” adını verdiğimiz patolojik bir süreç başlamaktadır. Hastalık durumunda oluşan “sağlıksız” mikrobiyota için “disbiyozis” terminolojisi kullanılmaktadır [2, 18]. Faydalı/zararlı bakteri oranının bozulduğu mikrobiyal disbiyozis sürecinin; alerji, enflamatuvar bağırsak hastalığı, kanser, lupus, astım, multipl skleroz, parkinson hastalığı, çölyak hastalığı, obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalık ile ilişkisinin bulunduğu bildirilmektedir [2]. Özellikle Faydalı/zararlı bakteri oranının bozulduğu bir diğer durum da antibiyotik kullanımınıdır. Kullanılan antibiyotiklerin, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve enzim aktivitesini bozduğu ve mikrobiyotanın sülfasalazin, digoksin, lovastatin ve sodyum pikosülfat gibi hidrofilik ilaçların metabolizmasında görev alması nedeniyle bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen dejenerasyonların, ilaçların metabolizma ve emilim süreçlerini de olumsuz olarak etkilediği ifade edilmektedir. Bu değişiklikler ilerleyen dönemde disbiyozis sürecini meydana getirerek bireylerde hastalıkların gelişim sürecini, şiddetini ve tedavisini olumsuz olarak etkilemektedir [19].

Bağırsak Mikrobiyotası ve Obezite

Diyetin mikrobiyota çeşitliliği ve aktivitesi üzerinde kuvvetli bir etkisi bulunmakta olup her mikrobiyota popülasyonu kendi potansiyel aktivitesine sahiptir. Obezlerin mikrobiyotasına bakıldığında farklı sonuçlara sahip çalışmalar olmakla beraber, yaşlılık ve kolorektal kansere benzer şekilde, genelde Firmicutes oranının arttığı, Bacteroidetes oranının ise azaldığı izlenmektedir Çünkü, doymuş yağ asitlerinden zengin diyetin hepatik steatoz ve obezite gelişimine katkıda bulunduğu, bağırsak mikrobiyotasında Firmicutes/Bacteroidetes oranını artırdığı gözlenmiştir [20]. Patojen özellikleri olan bazı gram negatif bakterilerin patojenitesi hücre duvarındaki endotoksin özellikteki lipopolisakkarit (LPS) içeriğinden kaynaklanmaktadır. Sağlık insan kanında bir miktar LPS’ye rastlanması, LPS’nin sürekli olarak düşük miktarda bağırsaktan sızdığını göstermekte olup obezitesi ve tip 2 diyabeti olan olgularda yüksek yağlı beslenme sonucu plazmada artan LPS düzeyi, inflamasyon varlığını göstermektedir. Obezite metabolik bir durum olarak ele alınsa da buradaki temel nokta inflamasyondur. Obezlerin bağırsak geçirgenliği obez olmayanlardan fazla olduğu için sürekli bir inflamatuvar uyarıya yol açmaktadır. Obezite kaynaklı inflamasyon kronik ve düşük düzeylidir ve metabolik hücrelerde besin maddelerinin fazla alınması sonucu ortaya çıkmaktadır. Devamında oluşan inflamatuvar yanıt, metabolik hücreler tarafından yönetilerek özelleşmiş immün hücrelerin aktive olmasına ve dokuda çözülme bir inflamasyona yol açmaktadır. Bu inflamasyon süreci insülinin

çalışma mekanizmasına zarar vermekte, insülin duyarlılığı azalmakta ve besin, enerji metabolizmasını bozmaktadır [18, 21].

Obezitede adipoz doku artmakta ve bu süreçte endokrin ve immün sistemde proinflamatuvar sitokinler ve leptin hormonu gibi yönlendirici görevleri olan mediatörlerin salınımı artmaktadır. Leptin toklukta salgılanan bir hormon olup, yetersiz salgılanması obezite olasılığını artırmaktadır. Obezitenin inflamatuvar mekanizmalara olan etkisinin belirlenmesi amacıyla Cossio ve arkadaşları tarafından (2017) yapılan bir çalışmada normal kilolu farelerin bağırsak mikrobiyotası, bakteriden arındırılmış farelerin bağırsağına transfer edildiğinde alıcı farelerde insülin direncinde artış ile birlikte, kilo alma hızlarında bir artış olduğu gözlemlenmiştir, bu da bağırsaktaki inflamasyonun vücut ağırlığı ve insülin direnci gibi metabolik durumlarla ilişkili olabileceği bildirilmiştir [22].

Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği verilerine göre dünyada ve ülkemizdeki yaşam tarzı değişikliklerinin de etkisiyle obezite sorunu, her geçen gün artarak devam etmektedir [23]. Obezitenin artması, enerji alımının artmasına ve enerji harcamasının azalmasına bağlı olup, yağ dokusunun önemli miktarda artmasına yola açarak sağlığı olumsuz etkilemektedir. Bu durum birçok kronik hastalığın görülme sıklığında önemli artışlara neden olmaktadır. [21]. Bu nedenle sağlıklı bir mikrobiyataya sahip olmak için doğru girişimlerde bulunmak oldukça önemlidir. Örneğin obezite üzerinde egzersiz etkinliğinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada, düzenli egzersiz yapan sporcularda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anti-obezite bakterisi olan *Akkermansia muciniphila* yoğunluğunun daha fazla olduğu gözlenmiştir [24]. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmaların sonuçları ise kısıtlı ve çelişkilidir. *Laktobasillus gasseri* ile Japonya’da yapılan bir çalışmada 12 hafta boyunca probiyotikli süt tüketen bireylerde kontrastlı tomografi ile ölçülerek abdominal obezitede azalma olduğu saptanmıştır. Kilo kaybı ise bu 12 haftanın sonunda probiyotik kullanan grupta 1 kg olarak ölçülmüştür [25].

Bağırsak Mikrobiyotası ve Hipertansiyon

Dünyada gerçekleşen ölümlerin 17,5 milyonu (3’te biri) kalp ve damar hastalıklarına bağlı olarak gerçekleşmektedir. 2030 yılında bu rakamın 22,2 milyon olacağı tahmin edilmektedir Bakteri ve bakteri ürünleri uzun yıllardır kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmiş ve aterosklerotik plaklarda bakteri DNA’sı ile hücreleri saptanmıştır. Aterosklerotik plaktaki bakteriyel ürünlerin birçoğunun insan ağız ve bağırsak bakterileri ile aynı olduğunun gözlenmesi, bu bölgedeki bakterilerin aterosklerotik süreçte rol aldıklarına dair bir inanışa neden olmuştur. Ateroskleroz etiyopatogenezine bakıldığında yüksek yağlı ve proteinli beslenmenin bu süreçte etkili olduğu görülmektedir [4]. Yüksek yağlı beslenme sonucunda meydana gelen mukozal bütünlükte bozulmalar sonucunda bağırsak hücrelerinde duvar geçirgenliği ve plazma LPS seviyesi artmaktadır. Plazma LPS seviyesindeki artış, bazal enflamasyonun artması ve metabolik hastalıkların oluşmasında etmen olan ortamların oluşmasında etkili

olmaktadır. [26]. Proteinden ağırlıklı beslenme durumunda ise diyetle bulunan kolin ve fosfatidilkolinin mikrobiyota tarafından metabolize olması sonucu trimetilamin (TMA) oluşmaktadır. Trimetilamin karaciğerde trimetilamin oksidaza (TMAO) dönüşür. Plazma TMAO seviyesindeki artış ile ateroskleroz riskinin arttığı gösterilmiştir. TMAO'nun majör kardiyovasküler hastalıkları artırdığının saptanması mikrobiyota ateroskleroz ilişkisi açısından devrim niteliğindedir. TMAO trombositlerle etkileşerek hiperaktiviteye neden olmakta ve bu da trombosit eğilim yaratmaktadır [27]. Ek olarak yüksek protein ve karbonhidrat ile beslenen bireylerde ortaya çıkan parçalanmamış polisakkaritler mikrobiyota ile fermentasyona uğramaktadır. Fermentasyon sonucu oluşan Kısa zincirli yağ asitleri (KZYA)'nin obezlerde zayıflardan %20 daha fazla olduğu bildirilmektedir. Obezitenin adipogenez oluşum sürecini arttırması ve böbrek ve kan damarlarının düz kas hücrelerinde bulunan KZYA reseptörlerinin kemoreseptörlerinin uyarılması sonucu renin- aldosteron sistemi üzerinden kan basıncı etkilenmektedir [4]. Bunların dışında, Kötü ağız hijyeninin, kardiyovasküler hastalıklara yönelik bir risk olduğu ve oral floranın aterosklerotik plaklardaki bakterilerin kaynağı olabileceği öne sürülmüştür. Çalışmalara bakıldığında, oral patojen *Porphyromonas gingivalis*'in aterosklerotik plaklarında sıklıkla yer aldığı bildirilmekte, farelerle gerçekleştirilen bir araştırma örneğinde ise *Porphyromonas gingivalis*'in direk farelere uygulanması sonucunda ateroskleroz gelişiminin hızlandığı bildirilmektedir. [28, 29]. Bağırsak mikrobiyotasının hipertansiyon gelişimine yönelik etkisine bakıldığında, KZYA'larının hormonal etkileri, LPS ile artan bazal enflamasyonun endotel işlevlerini bozması ve TMAO'nun ateroskleroza neden olmasıyla birlikte kan basıncının yükseltmesi mümkündür [18].

Bağırsak Mikrobiyotası ve İnflamatuvar bağırsak hastalığı

İnflamatuvar bağırsak hastalığı, gastrointestinal sistemin kronik hastalıklarından biri olup, klinikte Crohn hastalığı olarak tanınmaktadır. Genetik, çevresel ve yaşam tarzı kaynaklı olan Crohn hastalığında konağın düzensiz immün sistemi ve bağırsak mikrobiyotasının adaptif immün cevapları da rol oynamaktadır. Hastalığın oluşmasında 3 temel bileşen bulunmaktadır. Bunlar; genler, immünite (doku hasar mekanizması) ve mikrobiyota (çevresel stimülüs) olarak ifade edilmektedir. Genetik olarak doğal immün sistemdeki bir takım anormallikler sonucunda oluşan bağırsak mikrobiyota değişiklikleri kolit oluşturma potansiyeline sahipken, hayatın ilk yıllarında bağırsak mikrobiyotasının oluşması üzerinde önemli rolü olan bağırsak mikrobiyotasının komponentlerinde, olası antibiyotik kullanımına bağlı, erken dönemde meydana gelen değişiklikler, stres, ilaç kullanımı, hava kirliliği gibi etkenler bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve fonksiyonel aktivitesini etkilemekte ve irritable bağırsak hastalığına yönelik yatkınlığa yol açabilmektedir [21, 30]. Ek olarak bağırsak mikrobiyotası irritable bağırsak hastalığının çeşitli evrelerinde, fibrozis, yapışıklık, darlık veya abse gibi morbiditesi yüksek komplikasyon ve klinik durumların gelişiminde de rol oynamaktadır.

Bireylerin maruz kaldıkları bu etkilere bağlı olarak mukozal bariyerde oluşan geçici hasarlanmalar immün sistemi yerleşik mikrobiyotaya maruz bırakmakta ve patojen-spesifik T hücrelerinin çoğalmasına neden olmaktadır. Böylece patojenik T hücreleri fizyolojik inflamasyonu patolojik duruma doğru çevirerek irritable bağırsak hastalığının başlangıç sürecini oluşturduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda irritable bağırsak hastalığı olan bireylerdeki bağırsak mukozasındaki bakteri sayısındaki değişiklikler ve bakteri çeşitliliğindeki azalmalar konusunda bazı çıkarımlar yapılmasına rağmen tam etkisi net olarak ifade edilememektedir [30].

Diyetin inflamatuvar bağırsak hastalıklarında önleyici veya nedensel etki gösterebildiğine yönelik olarak, irritable bağırsak hastalığında bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerde beslenmenin etkisine bakıldığında, antiinflamatuvar protein ve diyetdeki fiberi kullanarak kolon epiteline enerji kaynağı olarak KZYA üretebilme kabiliyeti olan *Faecalibacterium prausnitzii*'nin ileal Crohn hastalığında sayısının azaldığı gösterilmiştir [31]. İrritable bağırsak hastalığının tedavisinde mikrobiyotanın terapötik rolüne bakıldığında; antibiyotikler, pro-prebiyotikler ve fekal mikrobiyota transplantasyonu (FMT) olmak üzere 3 şekilde kullanılmaktadır [32].

Bağırsak Mikrobiyotası ve Nörolojik Hastalıklar

Literatürde mikrobiyotanın depresyon, anksiyete ve nörodejenerasyon gibi pekçok nörolojik hastalığın patolojisine katkıda bulunduğu bildirilmektedir [33]. Bağırsak mikrobiyotasının beyin sinyalizasyonuna olan etkisi sebebiyle vagus siniri kalp hızı ve bağırsak hareketi gibi birden fazla organın işlevini kontrol edebilir. Buna ek olarak bağırsak mikroorganizmaları da vagus siniri yoluyla beyin fonksiyonlarını ve bağışıklık sistemini etkileyebilmektedir [34]. Yaşlanmayla azalan bağırsak mikrobiyotasında çeşitlilik, mikroglia aktivasyonunda gerçekleşen azalma kan-beyin bariyeri bütünlüğünü, nöroenezisi ve nörotransmitterlerin üretimini etkilemektedir. Bu sebeple gelişen bir disbiyozis durumunda, nörolojik hastalıkların hastalığın oluşumunun başlatabileceği hatta ilerlemesinin gerçekleşebileceği bildirilmektedir [35]. Oksidatif hasar ve inflamasyonunda, nörodejenerasyon tablosunun şiddetini arttıran diğer iki başlıca sistemik neden olduğu ve yaşın ilerlemesiyle meydana gelen normal fizyolojik yavaşlamalar ile tetiklendiği ve ortaya çıkan reaktif oksidatif ürünlerinin mitokondri metabolizmasında disfonksiyona neden olduğu ifade edilmektedir. Yaşla, hücrel savunmaların ilerleyici kayıplarıyla artan hasarlan hücre ölümlerine yol açması nedeniyle oksidatif hasarın ve oluşturduğu dejenerasyonun alzheimer ve parkinson hastalığı gelişimde çok etkili olduğu ifade edilmektedir [36].

Bağırsak Mikrobiyotası ve Diyabet

Diyabet gelişiminde süreçlere bakıldığında insülin direnci, insülinin salınımdaki bir defekt ya da insülin salınımindaki yetersizlik ya da obezite gibi durumların diyabet gelişimindeki en önemli

nedenler olduğu bilinmektedir. Fakat son yıllarda, bu nedenlere ek olarak mikrobiyatanın da diyabet gelişimindeki etkisinden bahsedilmektedir. Diyet, fiziksel inaktivite, dengesiz beslenme gibi faktörlerin yanı sıra bağırsak mikrobiyatasında meydana gelen değişikliklerinde de insülin direncinin gelişmesinde etkili olduğu bildirilmektedir [37]. Bağırsak mikrobiyatası nedeniyle bağırsak geçirgenliğimizdeki değişiklikler şilomikron sekresyonu sırasında enterositlerce absorbe edilmeleri sonucu LPS'nin sistemik dolaşıma katılması ve subklinik bir inflamasyona yol açmasıyla enterositlerin yüzeyinde bulunan Toll Like reseptörler (TLR) bakteriyel inflamasyonu başlatırlar. TLR'ler (özellikle TLR-4) inflamasyonu başlatarak insülin direncinin diğer önemli mekanizmasını oluştururlar. Artmış interlökin-6 (IL-6) seviyelerinin, bakteri kaynaklı LPS lerin nitrik oksit üretimini artırarak yüksek oranda yağ içeren besinlerle beslenmenin gram negatif/gram pozitif bakteri oranını arttırdığı ve bu durumun LPS miktarını ve dolayısıyla endotoksemi ve subklinik inflamasyonu arttırarak insülin direncinin gelişiminde etkili olduğu bildirilmektedir [38]. Diyabet hastalığının gelişiminde mikrobiyatanın etkili olduğuna dair ilk veriler 2004 yılında yapılan bir araştırma ile ortaya atılmıştır. Ardından Çin ve İsveç'te insan bağırsak mikrobiyotasının tip 2 diyabet üzerindeki rolünü araştıran her iki çalışmada da diyabetli bireylerde mikrobiyota dengesinin bozulmuş olduğu gösterilmiştir [39, 40].

Bağırsak Mikrobiyatası ve Kanser

İnce bağırsakta yer alan mikrobiyota, intestinal epitel hücrelerin farklılaşması ve canlılığıyla ilişkili olması nedeniyle kanser gelişmesine zemin hazırlayabilmektedir. Trilyonlarca bakteri, virus ve mantara ev sahipliği yapan bağırsaklarımız vücut fonksiyonlarımızın sağlıklı bir biçimde sürdürülmesinde rol olsa da bir çok dış etken bu sürece hasar verebilmektedir. Genetik özelliklerimiz, yaşam tarzımız ve beslenme alışkanlıklarımız, immune sistemimiz üzerinde değişiklikler meydana getirerek kanser gelişimine ortam hazırlayabilmektedir [41].

Bu nedenle mikrobiyata içeriğinde meydana gelen disbiyozis, karsinogenezis sürecini başlatabilmektedir. Buna göre; Mikrobiyotanın uzak organlardaki karsinogenezise tümör nekrotizan faktör tarafından düzenlenen sistemik inflamasyon, oksidatif stres ve epiteyal genotoksisite ile katkıda bulunduğu belirtilmiştir [21, 42]. Günümüzde kanser gelişiminde etkisi olduğuna dair en çok bilinen mikroorganizma *Helicobacter pylori*' dir [43].

Antibiyotik kullanımı sonucu gelişen kolondaki *candida albicans* kolonizasyonu, akciğerlerde tümörlerin proliferatif etkilerinin artışı ve gonadlarda östrojen metabolizmasındaki değişimlerin çeşitli kanserlerin oluşumuna zemin hazırladığı bildirilmektedir [42]. Güncel literatüre bakıldığında sayısız mikrobiyotanın başta gastrointestinal sistem olmak üzere bir çok kanser türünün gelişiminde etkili olduğu bildirilmektedir. Örneğin Kolorektal kanserli hastalarda *Fusobacterium nucleatum*, Mide kanseri hastalarında *H. pylori*, Oral mukozada yerleşen *P. gingivalis*, and *Capnocytophaga gingivalis* ' in de kanser gelişiminde etkili olduğu bildirilmektedir [41, 44].

Ek olarak epitelyal alandaki prekanseröz yapıların gelişimini sağlayarak kolorektal ve pankreas kanseri oluşumunda *P. gingivalis*, and *F. nucleatum* varlığından da sıklıkla söz edilmektedir [45].

Azalan bağışıklık metabolizması, dış etkenler ve stres ile birlikte var olan mikroorganizmaların neoplazmik oluşum sürecine etkisi artmakta ve kanser gelişimi hızlanmaktadır [46].

İnsan hayatı için ciddi bir tehdit olan kanser hastalığı konusunda yapılan çalışmalar da mikrobiyatanın kanser tedavisindeki önemi de vurgulanmaktadır. Özellikle hastalara uygulanan tedavilere verilen yanıt ve toksisiteye yönelik farklılıkların nedenleri arasında hastaların mikrobiyota çeşitliliğinin olduğu belirtilmektedir [47]. Okzaliptin, siklofosamid, doksorubisin, gempitabin, metotreksat gibi kanser hastalarının tedavisinde kullanılan farmakolojik yaklaşımların mikrobiyota içeriğini değiştirmeleri ve intestinal toksisite oluşturmaları gibi meydana getirdikleri major değişimler ilaçların antitümoral etkinliğini azaltmaktadır [46].

SONUÇ VE TARTIŞMA

Hastalıkların gelişiminde, ilerlemesinde ve önlenmesinde çok önemli fonksiyonları bulunan mikrobiyota her bireye özgü olarak farklı özellikler göstermektedir. Fizyolojik işlevleri tam olarak hala aydınlatılamasa da bireylerin mikrobiyota içeriklerinin; genetik özellikler, beslenme, genel sağlık durumu, yaş, sezaryen ya da normal doğum ile dünyaya gelmesi, yaşam biçimlerindeki değişiklikler ve kullanılan ilaçlarla ile şekillenmekte olduğu belirtilmektedir [48]. Dünyada araştırma konusu olarak daha çok yeni bir başlık olan mikrobiyota kavramının etkilerine bakıldığında hastalıkların gelişimi, önlenmesi ya da korunma konusunda önemli etkilere sahip olduğu görülmektedir. Özellikle inflamasyon sürecini tektiklemesi, şiddetlendirmesi ve devam eden süreçte kronik hastalıkların gelişimine zemin hazırlayan bir ortam oluşturduğu belirtilmektedir [19, 21, 39, 40, 42]. Vücudumuzda meydana gelen her bir değişikliğin mikrobiyota içeriğine, fonksiyonlarına ve çeşitliliğine katkısı olduğu düşünüldüğünde mikrobiyota aktivitesinin devamlılığı açısından riskli grup olarak değerlendirilen bireylere bu konuda doğru eğitimlerin verilmesi, yönlendirilmesi ve desteklenmeleri oldukça önemlidir. Hastalarda sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotası oluşturmanın günümüzdeki en etkili yollarından biri de fekal mikrobiyota transplantasyonudur. Karadesh ve Sule (2013) tarafından gerçekleştirilen klinik çalışmalarda da vakalardaki başarı oranının %83-100 arasında olduğu bildirilmektedir [49]. İşlem için uygun donörün seçilmesi, işlem öncesi ve sonrası hastanın takip ve komplikasyonlardan korunması konusunda hemşirelerin önemli sorumlulukları bulunmaktadır. [32]. Bağırsak mikrobiyotasına yönelik ortaya çıkan hastalıkların çok büyük bir çoğunluğunun iç hastalıkları hemşireliği konuları arasında yer alması sebebiyle, hemşirelerin mikrobiyota ile ilgili yeterli bilgiyi edinmeleri, güncel literatürü takip etmeleri gerekmektedir. Mikrobiyota etkilerinin hastaların üzerindeki olumlu ve olumsuz etkilerini ortaya çıkaracak araştırmaların hemşireler tarafından planlanması ve uygulanmasının bakım sürecine ve hasta eğitim içeriklerine olumlu katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu konuda gerçekleştirilen araştırmalar

kısıtlı olmakla birlikte artık bir organ olarak tanımlanan mikrobiyotanın insan hayatına yönelik etkilerinin belirlenmesine yönelik gerçekleştirilecek olan deneysel ve gözlemsel araştırmaların literature önemli düzeyde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Lederberg, J., McCray, A. T. (2001). Ome SweetOmics--A genealogical treasury of words. *The scientist*, 15(7), 8-8.
2. Yılmaz, K., Altındış, M. (2017). Sindirim sistemi mikrobiyotasi ve fekal transplantasyon. *Nobel Medicus*, 13(1), 9-15.
3. Altındış, S., Adıgöl, M. P. (2017). Mikrobiyota Çalışmalarında Etik. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(3), 62-68.
4. Varım, P., Vatan, M. B., Varım, C. (2017). Kardiyovasküler Hastalıklar ve Mikrobiyota. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1, 141-147.
5. Karatay, E. Mikrobiyota, prebiyotik ve probiyotikler. *Anadolu Güncel Tıp Dergisi*, 1(3), 68-71.
6. Özdemir, A., Demirel, Z. B. (2017). Beslenme ve Mikrobiyota ilişkisi. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1, 25-33.
7. Ficara, M., Pietrella, E., Spada, C., Della Casa Muttini, E., Lucaccioni, L., Iughetti, L., Berardi, A. (2020). Changes of intestinal microbiota in early life. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 33(6), 1036-1043.
8. Pelzer, E., Gomez-Arango, L. F., Barrett, H. L., Nitert, M. D. (2017). Maternal health and the placental microbiome. *Placenta*, 54, 30-37.
9. Matamoros, S., Gras-Leguen, C., Le Vacon, F., Potel, G., de La Cochetiere, M. F. (2013). Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends in microbiology*, 21(4), 167-173.
10. Ballard, O., Morrow, A. L. (2013). Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric Clinics*, 60(1), 49-74.
11. Madan, J. C., Hoen, A. G., Lundgren, S. N., Farzan, S. F., Cottingham, K. L., Morrison, H. G., Sogin, M.L., Li, H., Moore, J.H., Karagas, M. R. (2016). Association of cesarean delivery and formula supplementation with the intestinal microbiome of 6-week-old infants. *JAMA pediatrics*, 170(3), 212-219.
12. Laursen, M. F., Bahl, M. I., Michaelsen, K. F., Licht, T. R. (2017). First foods and gut microbes. *Frontiers in microbiology*, 8, 356.
13. De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(33), 14691-14696.

14. Ayyıldız, F., Yıldırım, H. (2019). Farklı Diyet Modellerinin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkisi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 47(2), 77-86
15. Singh, R. K., Chang, H. W., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., Abrouk, M., Farahnik, B., Nakamura, M., Zhu, T.H., Bhutani, T. (2017). Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of translational medicine*, 15(1), 73.
16. Wu, G. D., Compher, C., Chen, E. Z., Smith, S. A., Shah, R. D., Bittinger, K., Chehoud, C., Alberberg, L.G., Nessel, L., Gilroy, E., Star, J. (2016). Comparative metabolomics in vegans and omnivores reveal constraints on diet-dependent gut microbiota metabolite production. *Gut*, 65(1), 63-72.
17. Melini, V., Melini, F. (2019). Gluten-free diet: Gaps and needs for a healthier diet. *Nutrients*, 11(1), 170.
18. Altıntaş, Y., Batman, A. (2017). Mikrobiyota ve metabolik sendrom. *Türk Kardiyol Dern Ars*, 286-296.
19. Kim, D. H. (2015). Gut microbiota-mediated drug-antibiotic interactions. *Drug Metabolism and Disposition*, 43(10), 1581-1589.
20. Bäckhed, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F., Gordon, J. I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(3), 979-984.
21. Kalip, K., Atak, N. Intestinal microbiota and health. *Türkiye Halk Sağlığı Dergisi*, 16(1), 58-73.
22. de Cossío, L. F., Fourrier, C., Sauvant, J., Everard, A., Capuron, L., Cani, P. D., Laye, S., Castanon, N. (2017). Impact of prebiotics on metabolic and behavioral alterations in a mouse model of metabolic syndrome. *Brain, behavior, and immunity*, 64, 33-49.
23. Obezite tanı ve tedavi kılavuzu -*Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği* - ISBN 978-605-4011-31-5 8. Baskı: Nisan 2019.
24. Clarke, S. F., Murphy, E. F., O'Sullivan, O., Lucey, A. J., Humphreys, M., Hogan, A., Hayes, P., O'Reilly, M., Jeffery, I.B., Wood-Martin, R., Kerins, D. M. (2014). Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut*, 63(12), 1913-1920.
25. Kadooka, Y., Sato, M., Ogawa, A., Miyoshi, M., Uenishi, H., Ogawa, H., Ikuyama, K., Kagoshima, M., Tsuchida, T. (2013). Effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in fermented milk on abdominal adiposity in adults in a randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition*, 110(9), 1696-1703.
26. Rodes, L., Khan, A., Paul, A., Coussa-Charley, M., Marinescu, D., Tomaro-Duchesneau, C., Shao, W., Kahouli, I., Prakash, S. (2013). Effect of probiotics *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on gut-derived lipopolysaccharides and inflammatory cytokines: an in vitro study using a human colonic microbiota model. *J Microbiol Biotechnol*, 23(4), 518-526.
27. Seldin, M. M., Meng, Y., Qi, H., Zhu, W., Wang, Z., Hazen, S. L., Lusa, A. J., Shih, D. M. (2016). Trimethylamine N-oxide promotes vascular inflammation through signaling of

- mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- κ B. *Journal of the American Heart Association*, 5(2), e002767
28. Kozarov, E. V., Dorn, B. R., Shelburne, C. E., Dunn Jr, W. A., Progulsk-Fox, A. (2005). Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 25(3), e17-e18.
 29. Gibson Iii, F. C., Hong, C., Chou, H. H., Yumoto, H., Chen, J., Lien, E., Wong, J., Attardo Genco, C. (2004). Innate immune recognition of invasive bacteria accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 109(22), 2801-2806.
 30. Eminler, A. T., Toka, B., Uslan, M. İ. (2017). İnflamatuvar Barsak Hastalığı Ve Barsak Mikrobiyotası. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1, 81-85.
 31. Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L. G., Gratadoux, J. J., Blugeon, S., Bridonneau, C., Furet, J.P., Corthier, G., Grangette, C., Vasquez, N., Pochart, P., Trugnan, G., Thomas, G., Blottiere, H.M., Dore, J., Marteau, P., Seksik, P., Langella, P. (2008). *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(43), 16731-16736.
 32. Özden, G., Aktura, S. Ç., Sarıtaş, S. Ç. (2020). Fekal Mikrobiyota Transplantasyonu ve Hemşirelik Bakımı. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, 7(2), 175-179.
 33. Friedland, R. P. (2015). Mechanisms of molecular mimicry involving the microbiota in neurodegeneration. *Journal of Alzheimer's Disease*, 45(2), 349-362.
 34. Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., Bienenstock, J., Cryan, J. F. (2011). Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(38), 16050-16055.
 35. Alagöz, A. N. (2017). Mikrobiyota ve nörodejenerasyon. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1, 115-122.
 36. Zhu, X., Raina, A. K., Lee, H. G., Casadesus, G., Smith, M. A., Perry, G. (2004). Oxidative stress signalling in Alzheimer's disease. *Brain research*, 1000(1-2), 32-39.
 37. Altun, H. K., Yıldız, E. A. (2018). Diyabet ve Mikrobiyota. *Türkiye Klinikleri Beslenme ve Diyetetik-Özel Konular*, 4(2), 36-42.)
 38. Yetkin, İ., Yetiş, H., Satış, N. K. (2017). Bağırsak mikrobiyotasının insülin direnci, diabetes mellitus ve obezite ile ilişkisi. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi*, 2(1), 1-8
 39. Qin, J., Li, Y., Cai, Z., Li, S., Zhu, J., Zhang, F., Liang, S., Zhang, W., Guan, Y., Shen, D., Peng, Y., Zhang, D., Jie, Z., Wu, W., Qin, Y., Xue, W., Li, J., Han, L., Lu, D., Wu, P., Dai, Y., Sun, X., Li, Z., Tang, A., Zhong, S., Li, X., Chen, W., Xu, R., Wang, M., Feng, Q., Gong, M., Jing, Y., Zhang, Y., Zhang, M., Hansen, T., Sanchez, G., Raes, J., Falony, G., Okuda, S., Almeida, M., LeChatelier, E., Renault, P., Pons, N., Batto, J.M., Zhang, Z., Chen, H., Yang, R., Zheng, W., Li, S., Yang, H., Wang, J., Ehrlich, S.D., Nielsen, R., Pedersen, O., Kristiansen, K., Wang, J. (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490(7418), 55-60.

40. Karlsson, F. H., Tremaroli, V., Nookaew, I., Bergström, G., Behre, C. J., Fagerberg, B., Nielsen, J., Bäckhed, F. (2013). Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*, 498(7452), 99-103.
41. Raza, M. H., Gul, K., Arshad, A., Riaz, N., Waheed, U., Rauf, A., Aldakheel, F., Alduraywish, S., Ur Rehman, M., Abdullah, M., Arshad, M. (2019). Microbiota in cancer development and treatment. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 145(1), 49-63.
42. Salman, T., Varol, U., Yıldız, İ., Küçükzeybek, Y., Alacacıoğlu, A. (2015). Mikrobiyota ve kanser. *Acta Oncologica Turcica*, 48(2), 73-78.
43. Perez-Chanona, E., Trinchieri, G. (2016). The role of microbiota in cancer therapy. *Current opinion in immunology*, 39, 75-81.
44. Karpiński, T. M. (2019). Role of oral microbiota in cancer development. *Microorganisms*, 7(1), 20.
45. Fan, X., Alekseyenko, A. V., Wu, J., Peters, B. A., Jacobs, E. J., Gapstur, S. M., Purdue, M.P., Abnet, C.C., Stolzenberg-Solomon, R., Miller, G., Ravel, J. (2018). Human oral microbiome and prospective risk for pancreatic cancer: a population-based nested case-control study. *Gut*, 67(1), 120-127.
46. Genç, A. C., Hacİbekiroğlu, İ. (2017). Mikrobiyota ve Kanser. *Journal of biotechnology and strategic health research*, 1, 123-131.
47. Yip, L. Y., Chan, E. C. Y. (2015). Investigation of host–gut microbiota modulation of therapeutic outcome. *Drug Metabolism and Disposition*, 43(10), 1619-1631.
48. Ottman, N., Smidt, H., De Vos, W. M., Belzer, C. (2012). The function of our microbiota: who is out there and what do they do?. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 104.
49. Karadsheh, Z., Sule, S. (2013). Fecal transplantation for the treatment of recurrent clostridium difficile infection. *North American journal of medical sciences*, 5(6), 339.



ALT ÜNİTE BAZLI AŞILARIN PULMONER UYGULAMASINA GENEL BAKIŞ

AN OVERVIEW OF SUBUNIT-BASED VACCINES FOR PULMONARY ADMINISTRATION

Melike ONGUN^{1,*} , Başaran MUTLU AĞARDAN¹ , Füsün ACARTÜRK¹ 

¹Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06330, Etiler, Ankara,
TÜRKİYE

ÖZ

Amaç: Son yıllarda pulmoner bağışıklama parenteral aşılamaya ilişkin sorunları ortadan kaldırması, hem sistemik hem de mukozal bağışıklığı indüklemesi ile ilgi odağı olmuştur. Bu derlemede, inhale alt birim aşı çalışmaları ve gelişmeleri ele alınmıştır.

Sonuç ve Tartışma: Tüm patojen bazlı aşılarla kıyasla daha güvenli olan alt birim aşılar, karmaşık yapılı patojenlerin neden olduğu hastalıklarda spesifik ve koruyucu bağışıklık yanıtı oluşturmaktadır. Bu aşıların, çeşitli taşıyıcı sistemler ve adjuvanlarla formüle edildiklerinde, solunum sisteminde hedeflenen bölgede spesifik immün yanıt oluşturduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Son yıllarda konu ile ilgili yapılan araştırmalar stabil, invazif olmayan, soğuk zincir gerektirmeyen, kitlesel aşılamaya uygun kuru toz inhale aşıların formülasyonlarının geliştirilmesi ve bu aşılarla uygun tek kullanımlık cihaz tasarımı üzerine odaklanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Alt birim aşı, inhale aşı, pulmoner bağışıklama

ABSTRACT

Objective: In recent years, pulmonary immunization has been the center of interest as it eliminates the problems related the parenteral vaccination and induces both systemic and mucosal immunity. In this review, the inhaled subunit vaccination studies and recent developments have been discussed.

Result and Discussion: Subunit vaccines, which are safer compared to whole pathogen-based vaccines, have provided a specific and protective immune response in diseases caused by complex pathogens. It has been shown that the formulations of these vaccines with carrier systems and adjuvants, obtain a specific immune response in the targeted area of the respiratory system. The recent studies focus on the formulation development of stable, non-invasive, dry powder inhaled vaccines that do not require cold chain storage and suitable for mass vaccination, also disposable devices which are suitable for this vaccines.

Keywords: subunit vaccine, inhalable vaccine, pulmonary immunization

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Melike Ongun
e-posta / e-mail: melike.ongun@gazi.edu.tr

GİRİŞ

Aşı, hastalık etkeni virüs, bakteri vb. mikroorganizmaların hastalık yapma özelliklerinin ortadan kaldırılması ile geliştirilen biyolojik bir üründür. Vücudun savunma mekanizmasını uyararak kişinin hastalık etkenine karşı bağışıklık kazanıp dirençli hale gelmesini sağlar [1]. Ülkemizde ilk aşılama uygulaması, çiçek hastası bir kişinin cildindeki kabarcıklarından toplanan canlı çiçek virüsünün bir başkasına aktarılması yoluyla 18. yüzyılda yapılmıştır. Leydi Mary W. Montagu, Türkiye’de yaşarken, çiçek hastalığına karşı yapılan aşı uygulamalarını gözlemlemiştir. Batı ülkeleri, bu yöntemi Dr. Timoni ve Lady Mary W. Montagu’nun yazıları aracılığıyla öğrenmiştir. Ülkemiz bu tedavi yönteminin Batı’ya aktarılmasında, medeniyetler arasında bir köprü olarak kilit bir rol oynamıştır. Enfeksiyon riski taşıyan bu yöntem, ilk kez Edward Jenner (1789) tarafından daha güvenli ve bilimsel bir aşılama olarak geliştirilmiştir [2].

Bağışıklık sisteminin patojenlere karşı üç özelliği vardır; indüklenebilirlik, özgüllük ve hafıza özellikleri. Bu özellikler aşı tasarımı ve gelişiminde oldukça önemlidir. İndüklenebilirlik, pasif olan bağışık yanıtın ancak enfeksiyon veya aşılama ile hızlı ve etkili şekilde harekete geçeceğini ifade etmektedir. Özgüllük, bağışıklık sisteminin belirli patojenlere (veya aşılarla) cevap verme yeteneğini ifade eder ve böylece bağışıklık yanıtının belirli bir enfeksiyonla savaşmak için ideal olmasını sağlar. Bağışıklık yanıtının hafıza bileşeni ise, bir enfeksiyona tekrar maruz kalındığında daha hızlı ve etkili şekilde tepki verilmesidir. Aşı çalışmalarında karşılaşılan temel sorunlar, patojenlerin karmaşık yapıları, patojenlerin yüksek mutasyon oranları ve doğru tipte bağışıklık yanıtı üretme yeteneği olarak üç ana sınıfa ayrılabilir. Çiçek hastalığı gibi canlı virüs aşılarının etkinliği yüksek olmasına rağmen taşıdığı riskler, araştırmacıları orijinal patojene benzer bir bağışık yanıt indükleyebilen, bulaşıcı organizmanın sadece bazı bölümlerini kullanarak aşı geliştirme çalışmalarına yönlendirmiştir. Bu derlemede, daha güvenli bir yaklaşım olarak görülen alt birim aşıların pulmoner uygulaması üzerine yapılan çalışmalar incelenmiştir.

Aşıların Sınıflandırılması

Aşılar, üretim teknolojilerine göre geleneksel ve biyoteknolojik aşılar olarak sınıflandırılabilir. Geleneksel olarak aşılar, canlı zayıflatılmış patojenler, tamamen inaktive edilmiş organizmalar veya inaktive edilmiş bakteriyel toksinlerden oluşmakta olup, genellikle yeterince immunojeniktirler. Tüm patojeni içeren geleneksel aşılar, uzun süreli koruyucu bağışıklık sağlamalarına rağmen hafif veya ölümcül etkilere neden olmaktadır. Güvenlik, aşı geliştirmede büyük bir sorun kaynağıdır. Geleneksel aşıların kullanımı, bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde hastalığa neden olabilirliliği ve tekrar virülans kazanma riski nedeniyle sınırlıdır. Bu sınırlamalar doğrultusunda, aşı tasarımı için yeni stratejiler ortaya çıkmakta ve aşı gelişimi, canlı zayıflatılmış veya inaktive aşıların tam hücre temelli yaklaşımından daha

güvenli olan split ve alt birim aşı teknolojilerine doğru ilerlemektedir. Split aşular, tam patojenin daha küçük bileşenlere fiziksel olarak ayrılması ile elde edilir. Bu atılımlara önemli bir katkı, antijen üretimi problemini çözen rekombinant DNA teknolojisinin geliştirilmesiyle sağlanmıştır. Ayrıca konjuge aşuların, alt birim aşuların ve replike edici olmayan rekombinant virüs benzeri partiküllerin (VLP'ler) geliştirilmesi, başarılı aşı geliştirme çalışmalarına büyük katkı sağlamıştır [3].

Canlı Zayıflatılmış (Atenüe) Aşular

Geleneksel aşuların temeli canlı zayıflatılmış aşulara dayanmaktadır. Hastalığa neden olan patojenin laboratuvar koşullarında zayıflatılmasıyla elde edilen canlı zayıflatılmış aşular, vücutta doğal enfeksiyon oluşumunu taklit etmeleri sayesinde etkili bir aşılama stratejisi oluşturur. Bu aşuların avantajı hem güçlü bir hücresel yanıt hem de antikor yanıt oluşturmalarıdır. Genellikle uzun süreli koruma sağladıkları için tek doz aşılama yeterli olmaktadır [4]. Virüs kaynaklı canlı ve zayıflatılmış aşı geliştirmek bakterilere kıyasla daha kolaydır. Çünkü virüsler daha az gene sahiptir ve bu nedenle viral özelliklerini kontrol etmek daha kolaydır. Tüberküloza karşı kullanılan BCG aşısı, suçiçeği, kızamık, kabakulak ve kızamıkçık karma (KKK) aşısı canlı zayıflatılmış aşulara örnek olarak verilebilir. Priorix®, piyasada bulunan KKK aşısıdır. Aşı zayıflatılmış KKK virüsleri içerir [5].

İnaktive Edilmiş Aşular

İnaktif aşular patojenin kimyasal, ısı, radyasyon gibi işlemlerle inaktive edilmesiyle hazırlanırlar. Bu inaktivasyon mikroorganizmayı daha stabil hale getirmektedir. Ölü veya inaktive edilmiş aşuların zayıflatılmış aşulara göre temel avantajı daha güvenli olmalarıdır. Tekrar virülans kazanma riskleri azdır. Öte yandan ölü/inaktif aşular, patojenik bileşenlerin yapısının korunması nedeniyle yeni alt birim aşulara kıyasla daha karmaşık veya daha büyük bir enflamatuvar bağışıklık yanıtına yol açar. Ancak replikasyon özelliklerinin olmaması, vücuttan hızla uzaklaştırılmalarına ve canlı aşulara kıyasla etkinliklerinin azalmasına neden olur [6].

DNA Aşuları

DNA aşuları geleneksel aşulara kıyasla birçok avantaja sahip yeni nesil aşılardır. DNA aşılama ya da genetik aşılama olarak adlandırılan bu yöntemin temel prensibi, protein veya peptit formunda antijen enjekte etmek yerine konakçı hücreleri, antijeni kodlayan plazmid DNA (pDNA) ile transfekte ederek bağışık yanıt oluşturmaktır. DNA aşılama ile konakçı hücreler, DNA tarafından kodlanan proteini (antijen) üretir ve bu özel proteine karşı bağışıklık indüklenir. DNA aşuları genellikle kas içi (im) ve intradermal (id) yolla uygulanır. Kas içi uygulama ile daha yüksek antijen ekspresyonu elde edilmesine rağmen, bu uygulama yolu intradermal uygulamaya göre daha az immunojeniktir. Bunun nedeni kas dokusunda antijen sunan hücre sıklığının deriye göre daha az olmasıdır. Bu intradermal

uygulamalarda gen tabancası, elektroporasyon, jet enjeksiyon, ultrason ve mikroiğne yöntemleri kullanılmaktadır. Nispeten düşük maliyetlerle kolay üretilebilir olmaları ve hem hücrel hem humoral yanıt oluşturabilmeleri önemli avantajlarındandır. İntraselüler patojenlere (virüs gibi) ve kansere karşı hücrel bağışıklık oluşturma yeteneğine sahiptirler. DNA aşılı vektör sistemine dayanan aşılarla kıyasla avantajlıdır. Çünkü vektör sistemine dayanan aşılarla vektöre ait bağışıklık gelişebilmektedir. Bu durum esas olarak ilgili antijene karşı oluşan bağışıklık yanıtta azalmaya neden olabilir. Modifiye virüs Ankara (MVA) ve adenovirüs aşılamada kullanılan vektörlere örnektir. MVA, çiçek aşısında kullanılmış ve şu anda bulaşıcı hastalık ve kanser aşılarında rekombinant viral vektör olarak kullanılmak amacıyla geliştirilen zayıflatılmış bir türevidir. MVA, bir veya daha fazla yabancı antijeni kodlayabilme özelliğiyle çok değerlikli bir aşı işlevi görebilir. Vektör, intrinsik adjuvan özelliklere sahip olup humoral ve hücrel immün yanıtı indükler [7]. DNA aşılı ise sadece çıplak DNA'dan oluşur. Bazı durumlarda sentetik taşıyıcılarla formüle edilmelerine rağmen asla başka antijen içermezler [8]. DNA aşılaması sadece istenen bağışıklık yanıtına özgü proteinlerin üretilmesini sağlar. Böylece vektöre özgü bağışıklık yanıt veya istenmeyen etkiler görülmez. Ayrıca pDNA oda sıcaklığında oldukça stabildir, bu sayede DNA aşılarının saklanması için soğuk zincir gerekliliği ortadan kalkar. Şu ana kadar hiçbir DNA aşısı insan kullanımı için onaylanmamıştır. Veteriner kullanımı için onaylı ve kayıtlı bazı DNA aşıları bulunmaktadır [9].

Alt Birim Aşılar

Alt birim aşılar hastalığa neden olan bakteri, virüs ve parazitlerin bileşenlerinin kullanıldığı ve bu etkenlere karşı edinsel (özgül) bağışıklık sağlayan aşılardır [10]. Antijen olarak adlandırılan bu patojen bileşenleri genellikle spesifik protein ya da sentetik peptitlerdir. Son yıllarda peptit ve protein yapıda antijen içeren birçok aşı klinik çalışmalarla test edilmiştir. Bu aşıların bazıları dünya çapında ticari olarak bulunmaktadır. Alt birim aşılar, tüm organizmayı içeren aşılarla kıyasla çok daha güvenli olup, fiziksel ve kimyasal özellikleri daha iyi tanımlanmıştır. Bu aşılar yüksek oranda saflaştırılmış antijenler içermelerine rağmen, antijenin tanınması için gerekli olan patojenle ilişkili moleküler modellerin (PAMP) eksikliği ve boyutlarının küçük olması zayıf immunojeniteye neden olur [11]. Bu nedenle, formülasyonlarına immün yanıtı uyarmak ya da artırmak amacıyla adjuvanlar dahil edilir. Alt birim aşılar immunojenite, güvenlik ve stabilite gibi çeşitli hususlar doğrultusunda geliştirilmiştir. Bu aşıların tasarımında en önemli nokta, aşılamaya ile indüklenen bağışıklık yanıtının nicel ve nitel özelliğidir. Bağışıklık yanıtının koruyuculuk oluşturacak düzeyde ve spesifik olması amaçlanmaktadır. Alt birim aşıların oluşturduğu bağışıklık yanıtını etkileyen temel faktörler; immunojenlerin doğası ve dozu, formülasyonda kullanılan adjuvan veya taşıyıcılar, immunizasyon programı, uygulama yolu, aşının uygulandığı konağın bağışıklık durumudur. Diğer faktörler ise alt birim aşı tasarımı ve formülasyon optimizasyonu ile ilişkilidir.

Bakteriyel alt birim aşıların iki tipi bulunmaktadır. İlk tip, hastalığa neden olan bakteriyel toksinlere karşı üretilen toksoid aşılarıdır. Toksinler, formaldehit uygulanması gibi kimyasal yöntemlerle detoksifiye edilerek toksoidlere dönüştürülürler. Toksoidin toksine benzerliği, bağışıklık sisteminin anti-toksoid antikorlarını üretmesiyle doğal toksinleri nötralize etmesini sağlar. Difteri, tetanoz ve boğmaca hastalıklarına karşı yaygın olarak kullanılan toksoid aşılar, bu tür aşıların en bilinen örneğidir. İkinci bakteriyel alt birim aşı tipi, kapsüllü bakterilerin kapsüler polisakkaritlerinden üretilen aşılarıdır. *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Haemophilus influenzae tip b* (Hib) enfeksiyonlarına karşı aşılar bu gruba örnektir. Bu tip aşıların bir çeşidi de konjuge aşılarıdır. Konjuge aşılar, bir antijenin (genellikle bakteri polisakkaritleri) taşıyıcı proteine kimyasal olarak bağlanması ile oluşur. Bu aşılar polisakkarit aşılarıyla elde edilen immün yanıtı artırmak için geliştirilmiş daha etkili aşılarıdır. Virus alt birim aşıları ise virüslerin yapısının parçalanarak, çeşitli viral bileşenlerin karışımından hazırlanan split viral aşılarıdır [6].

Alt Birim Aşılarında Adjuvanların Rolü

Aşı tasarımı ve gelişiminde karşılaşılan en önemli zorluklardan biri, yüksek derecede saflaştırılmış rekombinant proteinlerine dayanan birçok yeni alt birim aşının zayıf immunojeniteye sahip olması ve koruyucu bağışıklık için yetersiz yanıt oluşturmasıdır. Bu durum adjuvan kullanımı gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Aşı adjuvanı, bir antijene karşı immün yanıtı kuvvetlendiren ve/veya istenen immün yanıtı düzenleyen bileşen olarak tanımlanır. Adjuvan terimi, Latince yardımcı olmak anlamına gelen *adjuvare* kelimesinden türetilmiştir. Alüminyum uzun yıllar boyunca tek onaylı adjuvan olarak kullanılmıştır. Alüminyum tuzları (Alum) küçük çocuklar, yaşlılar, hamile kadınları da içermek üzere farklı popülasyonlarda kabul edilebilir güvenlik profiline sahiptir. Zamanla aşılarında adjuvan olarak sadece alüminyum tuzlarının kullanımının daha güçlü ve gelişmiş bağışıklık gerektiren bazı karmaşık patojenlere (Herpes virüsü, *Malaria plasmodium*, İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü-HIV, *Mycobacterium tuberculosis* gibi) karşı yetersiz kaldığı öne sürülmüştür [12]. Son yıllarda, alt birim aşılar için yeni etkili adjuvanların keşfiyle önemli ilerlemeler kaydedilmiştir ve bunlardan birkaçı onaylanmış lisanslı aşı bileşenleri olarak piyasada bulunmaktadır (Tablo 1). Spesifik hastalığa karşı hücresel veya mukozal bağışıklığı veya bunların kombinasyonlarını uyarabilen etkili ve güvenli adjuvanlara ilgi artmaktadır [13].

Adjuvanlar, etki mekanizmalarına göre taşıyıcı sistemler ve immunpotensiyatör gruplar olarak sınıflandırılabilirler. Adjuvanlar taşıyıcı sistem olarak, antijenlerin antijen sunan hücrelere (APC) bozunmaya uğramadan iletilmesini sağlarlar. Adjuvan ve taşıyıcı sistemler aşı geliştirme alanında artık birbiri ile bütünleşmiş terimlerdir. Taşıyıcı sistemler, genellikle partiküler formda olup, antijen sunan hücreler için doğal bir hedef olan patojenlere benzer boyutta ve şekilde oldukları için patojenleri taklit niteliğindedirler. Yapılan klinik öncesi pek çok çalışmada lipozom, emülsiyon, virüs benzeri partikül,

virozom, immün uyarıcı kompleksler (ISCOM), polimer bazlı partiküler sistemler adjuvan olarak kullanılmıştır. Bozkır ve Hayta, yaptıkları çalışmada Hemaglutinin antijeni (influenza virüsü yüzey antijeni) içeren çoklu emülsiyon formülasyonu geliştirmişlerdir. Geliştirilen bu emülsiyon formülasyonu 3 ay boyunca stabilitesini korumuş ve sıçanlarda geleneksel aşından daha etkili bir immün yanıt oluşturmuştur. Yapılan karakterizasyon ve immunizasyon çalışmaları sonucunda çoklu emülsiyon sistemlerinin etkili bir adjuvan olabileceği gösterilmiştir [14]. Yapılan bir diğer çalışmada Sayın ve arkadaşları, mukozal aşılamada immunojenitenin artırılmasında kitozanı adjuvan/taşıyıcı sistem olarak kullanmışlardır. Kitozan biyobozunur, biyoyumlu ve düşük toksisite özelliklerine sahip hem adjuvan hem taşıyıcı sistem olarak kullanılabilen bir biyopolimerdir. Bu çalışmada nanopartikülleri ve dispersiyonları hazırlanarak mukozal immün yanıtı artırdığı gözlenmiştir. Bu çalışma negatif yüklü kitozan türevi olan Mono-N-karboksümetil kitozan (MCC) nanopartiküllerinin mukozal immunizasyon sağlamak amacıyla taşıyıcı sistem olarak kullanıldığı ilk çalışmadır [15]. Lipozomlar taşıyıcı sistem olarak protein yapısındaki maddelerin parçalanmasını önleme, aşılarda mukozal membrandan geçişini artırma ve antijenlerin hücrelere optimum düzeyde sunulmasını sağlama gibi üstünlüklere sahiptir. Kaplan ve Çelebi, nazal yoldan uygulanmak üzere antijen ovalbumin (OVA) içeren lipozom-jel aşı formülasyonları geliştirmişlerdir. Çalışma sonucunda, formülasyonlarının 7 ay boyunca stabilitesinin ve antijen yapısal bütünlüğünün korunduğu gözlenmiştir. Ayrıca jellerin mekanik ve mukoadhezif özelliklerinin nazal mukozaya uygun olduğu gösterilmiştir. Jel-lipozom formülasyonlarının nazal yoldan uygulanacak aşılarda için uygun taşıyıcı sistemler olduğu sonucuna ulaşılmıştır [16]. Antijenler, taşıyıcı sisteme yüzeye adsorpsiyon veya enkapsülasyon yoluyla dahil olurlar. Taşıyıcı sistemler; antijenin stabilizasyonunda, APC'lere hedeflendirilmesinde, hücre içine alınmasının kontrolünde, bağışıklık sistemi hücrelerine maruziyet süresinin uzatılmasında rol oynarlar. Ayrıca, immün yanıt artırıcı özelliklere sahip olabilirler veya adjuvanlarla kombine edilerek istenilen profilde özelleştirilebilirler.

Adjuvanlar immün yanıtı artırmak için; depo etkisi, sitokinlerin ve kemokinlerin up-regülasyonu, enjeksiyon bölgesinde hücreler arası iletişim, antijen alımının ve APC'lere sunumunun artırılması, APC'lerin aktivasyonu ve sonrasında olgunlaşarak lenf nodlarına göç etmesi, enflamasyon aktivasyonu gibi mekanizmalardan yararlanır [17]. İmmün yanıtı artırıcı bileşikler doğal tanıma reseptörleri aracılığıyla (PPRs) antijen sunan hücrelerle etkileşime girerek doğal bağışıklık sisteminin aktifleşmesini sağlarlar. Yani immün yanıtı artıran bu bileşikler doğal immün reseptör ligandlarıdır. Doğal tanıma reseptörleri membran proteinleri olarak adlandırılırlar. Toll benzeri reseptörler (TLR), NOD benzeri reseptörler (NLR), C tipi lektin reseptörleri (CLP), RIG-I (retinoik aside bağlı gen-I) benzeri reseptörler (RLR) bunlara örnektir. Bu doğal tanıma reseptörleri sitokin salımını tetikleyen patojen ilişkili moleküler modelleri (PAMP) tanırlar [4]. Lipopolisakkarit (endotoksin), peptidoglikan (bakterilerin hücre duvarı), lipoproteinler (bakteri kapsülü), bakteriyel flagellin, RNA, bakteriyel

DNA'da metillenmemiş CpG motifleri patojen ilişkili moleküler modellere örnektirler [18,19]. TLR agonistleri ise sıklıkla kullanılan güçlü aşı adjuvanlarıdır. Monofosforil lipid A (MPL), aşı uygulamalarında en çok çalışılan TLR agonistidir. MPL, gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritlerden elde edilir [20].

Tablo1. İnsanlarda kullanımı onaylanmış adjuvanlar

Adjuvant adı	Taşıyıcı sistem	Aşının ticari adı	Kullanıldığı hastalık	İmmun yanıt tipi	Referans
Alüminyum hidroksit/fosfat	Mineral tuzu	Various	Difteri, tetanoz, hepatit vb.	Th2 Tfh IgG1/IgE ↑	[21]
MF59	Yağ/su emülsiyonu	Fluad	Influenza, kuş gribi	Polifonksiyonel IgG1/IgG2a ↑ Th1/Th2 Tfh	[21]
AS03	Yağ/su emülsiyonu	Arepanrix	Influenza	Th1/Th2 IgG1/IgG2a ↑	[22]
AS04	MPL + Alum	Fendrix	Hepatit B	Th1/Th2	[23]
Virüs benzeri partikül (VLP) + Alum		Gardasil	HPV	Th2 IgG↑	[24]
VLP + MPL + Alum		Cervarix	HPV	Th1/Th2 IgG↑	[24]

MPL: Monofosforil lipid A; VLP: Virus benzeri partikül; HPV: İnsan papilloma virusü; Tfh: Foliküler yardımcı T hücreleri

Mukozal Aşı Uygulamaları

Aşıların verilmiş yolu, elde edilen bağışıklık yanıtının tipini ve şiddetini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Aşı uygulama yolları şu şekilde sınıflandırılabilir [25]:

- Parenteral yol: İntramusküler (kas içi), subkütan (deri altı), intradermal (deri içi), intraperitoneal (karın içi boşluk) uygulamalar
- Mukozal yol: Oral, nazal, pulmoner, vajinal, rektal uygulamalar
- Deri yolu
- Diğer yollar: Oküler, sublingual uygulamalar

Mukozal aşı çalışmaları, parenteral olmayan aşı uygulamaları arasında dikkat çekmektedir. Çoğu patojen insan konağına solunum, sindirim ve genital sistemlerin mukozasından girer. Enfeksiyon ve bulaşmanın meydana geldiği yerde mukozal bağışıklık oluşturmak avantajlı bir durumdur. Mukozal aşılanmanın ağrıya neden olan enjeksiyon uygulaması gerekliliğini ortadan kaldırması, kitlesel aşılamaya uygun olması ve parenteral uygulamaya kıyasla daha az sistemik yan etki oluşturması gibi avantajları vardır. Hem mukozal bölgede hem de sistemik seviyede koruyucu bağışıklık sağlamak için mukozal bölgelerin hedeflenmesi ilgi odağı olmuştur. Son on yılda, yüksek immunojeniteye sahip uygun antijenlerin, mukozal uygulama yollarının (oral, nazal, pulmoner ve vajinal), immün uyarıcı adjuvan moleküllerin ve taşıyıcıların seçilmesiyle yeni mukozal aşı adaylarının geliştirilmesinde ilerleme kaydedilmiştir. Mukozal immünizasyonla, genellikle parenteral uygulamadan farklı olarak IgA salımı daha fazladır [26]. Muttill ve arkadaşları, difteri CRM-197antijeni (CrmAg) yüklenmiş poli laktik-koglikolik asit (PLGA) nanopartikülleri geliştirmişlerdir. L-lösin ile püskürtülerek kurutma işlemine tabi tutulan formalin ile muamele edilmiş ve muamele edilmemiş CrmAg nanopartikülleri kobaylara parenteral ve pulmoner yolla uygulanmıştır. İntramusküler yoldan aşılamada en yüksek serum IgG antikor titresi elde edilirken, pulmoner uygulamada en yüksek IgA titresi elde edilmiştir. Bu çalışma, difteriye karşı korunmada kuru toz aşıları ile pulmoner immünizasyonun, solunum yolunda yüksek bir mukozal bağışıklık yanıt ve sistemik dolaşımda yeterli nötralize edici antikor oluşumu ile sağlandığını göstermiştir [27]. Ballester ve arkadaşları, yeni anti-tüberküloz aşılarının geliştirilmesi üzerine yaptıkları çalışmada, inhale aşımın konvansiyonel intradermal uygulanan aşıya kıyasla daha iyi koruma sağladığını göstermişlerdir. Özellikle, NP-Ag85B ve Th1'i uyarıcı bir adjuvan olan oligonükleotid CpG kullanılarak yapılan pulmoner yoldan aşılama, pulmoner bağışıklık yanıtını değiştirerek *Mycobacterium tuberculosis*'e (Mtb) karşı koruma sağlamıştır [28]. Aerosollerin en umut verici çalışmaları paranteral yolla uygulanmayan kızamık aşısı üzerinedir ve etkinliklerinin enjekte edilen aşı ile karşılaştırılabilir düzeyde olduğu düşünülmektedir. Wongh-Chew ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, aerosolize kızamık aşısının, 9 aylık ve daha büyük çocuklara uygulandığında subkütan aşıya eşit derecede veya daha fazla immunojenik olduğu sonucuna ulaşılmıştır [29]. Tüm bu avantajlara rağmen mukozal aşılama, yeterli sistemik bağışık yanıt ortaya çıkaramayabilir, çünkü mukozal dokularda bulunan birçok enzim, aşı immunojenlerinin yapısını kolayca bozabilir. Bu nedenle, geliştirilen taşıyıcı sistemlerin hedef bölgeye ulaşana kadar taşıdıkları antijenin yapısını koruyabilmesi ve stabilitesi hayati önem taşır.

Akciğer Bağışıklık Sistemi

Solunum sistemi anatomik olarak burun, ağız boşluğu ve boğazı içeren üst kısım ile trake ve akciğerlerden oluşan alt kısım olmak üzere iki kısımdan meydana gelir. Bu iki kısım glottis adı verilen akciğerler ve ağız arasında birincil kapak olarak bilinen açıklık ile ayrılır [30]. Solunum sisteminde iletken hava yolları boyunca, kalın bir mukus tabakası ile kaplanmış silyalı epitel hücreleri bulunmaktadır.[31]. Solunum yollarında mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattı mukosililer klirenstir. İstilaçı mikroorganizmaların yanı sıra diğer partiküller de mukus ile ağızdan atılırlar ya da yutulurlar. Mukus ayrıca lizozim, laktoferrin, defensinler ve yüzey aktif madde gibi bir dizi antimikrobiyal madde içerir [32]. Mikroorganizmalara karşı solunum yollarındaki bir sonraki savunma hattı hücresel bileşenler, epitel hücreleri ve özellikle alveoler makrofajlardan oluşur [30].

Hava yollarının epitel hücreleri, mikroorganizmaların varlığını algılayabilecek TLR gibi bir dizi tanıma reseptörü eksprese eder. Buna cevap olarak bir dizi proinflamatuvar kemokin ve sitokinlerin yanı sıra defensinler üretebilir, böylece nötrofiller ve doğal öldürücü (NK) hücreler indüklenirler. Alveoler makrofajlar, akciğerlerdeki en büyük lökosit popülasyonunu oluşturur. Çok aktif olarak alveoler boşluğa ulaşan her türlü parçacığı fagosite ederler. Akciğerin doğal bağışıklık yanıtından sorumludurlar. Adaptif immün yanıtların uyarılmasına katkıda bulunmazlar [33].

Solunum sisteminin adaptif bağışıklık mekanizması, T-yardımcı (Th) hücrelerinin ve sitotoksik T lenfositlerinin (CTL) CD4 +, CD8 + gibi çeşitli alt sınıflarının genel antikorlarını içerir. İmmüoglobulin A (IgA) ile immüoglobulin G (IgG) solunum yollarında bulunan yaygın ve önemli antikor alt tipleridir [34]. Solunum sistemindeki antikorlar lokal B hücreleri tarafından üretilir. Alternatif olarak, kemik iliğinde uzun ömürlü plazma hücreleri tarafından üretilen antikorlar, serumdan transudasyon ile alt hava yollarına ulaşabilir. Sağlıklı konağın solunum yollarında az miktarda lokal T hücresi bulunur. T hücreleri birincil enfeksiyondan sonra akciğer parankimasında 6-7 günde ortaya çıkmaya başlar, enfeksiyondan 10 gün sonra sayıları zirveye ulaşır ve sonrasında azalmaya başlar. Ancak sınırlı sayıda hafıza T hücresi kalır. Daha sonra akciğerde azalan hafıza T hücreleri, dolaşımdan alınan T-hücreleri ile desteklenir. Hafıza T hücreleri tekrar enfekte olma durumunda çok hızlı yanıt vererek enfeksiyonun erken evresinde virüs replikasyonunu sınırlar [35].

Antijenin aktive edilmiş dendritik hücreler (DC'ler) tarafından T hücrelerine sunulması, bağışıklık yanıtının başlatılmasında önemli bir adımdır. Submukozal dokuda veya hava yolunda, alveoler lümende solunum yolu boyunca farklı DC popülasyonları bulunur. Solunan antijenler veya antijen partikülleri, alveoler epitelyuma yayılmış dendritik hücre ağıyla karşılaşır ve alveoler sıvıdan hücreye alınırlar. Daha sonra antijenler işlenir ve antijenik peptit parçaları, T hücresi reseptörleri tarafından tanınmak üzere MHC (Büyük Doku Uyum Kompleksi) sınıf I ve II yollarıyla T hücrelerine sunulur. Bu antijen sunumu ve T hücre aktivasyonu lenf nodunda gerçekleşir. DC'lerin lenf düğümlerine göçünde, dendritik hücreler 'olgunlaşmamış' durumdan (antijen alımı için yüksek kapasite, T hücresi

aktivasyonu için düşük kapasite) 'olgun' hale (antijen alımı için düşük kapasite, T hücresi aktivasyonu için yüksek kapasite) dönüşürler. DC'ler saf T hücrelerinin çeşitli spesifik efektör/hafıza T hücresi popülasyonlarına farklılaşmasını başlatır [36].

Pulmoner Uygulamada Aşı Tasarımı

Akciğer, geniş yüzey alanı (80 m²), yoğun damarlanma ağı, hemen etki istenen durumlarda hızlı emilim sağlaması, ince alveoler epitele barsaklara kıyasla daha az enzimatik aktiviteye ve çözünen madde değişimi için yüksek kapasiteye sahip olması gibi özellikleri ile hem lokal hem de sistemik aşuların uygulaması için ideal bir seçenektir [37]. Akciğerde, alveoler makrofajlar (AM'ler), dendritik hücreler ve B hücreleri gibi antijen sunan hücrelerin yüksek yoğunlukta bulunması, hem mukozal hem de sistemik olarak güçlü ve spesifik bir bağışıklık tepkisi oluşturmak için önemli bir hedefi temsil ederler [38]. Özellikle, solunum yollarının farklı bölmelerindeki DC'lerin hedeflenmesi, DC popülasyonlarının bölgesel farklılıkları ve işlevleri nedeniyle dikkat çekmektedir. Mukoza dokularındaki immün indükleyici bölgelere mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT) denir. Bronş ile ilişkili lenfoid doku (BALT) son zamanlarda solunum yolu dendritik hücre ve T hücre etkileşimleri için etkili bir bölge olarak tanımlanmıştır. BALT, solunum yolu enfeksiyonuyla indüklenir ve iBALT olarak adlandırılır. Optimum pulmoner aşı tasarımında iBALT'ın uyarılmasının avantajlı olabileceği, antijen alımının makrofajlar yerine dendritik hücreler tarafından sağlanması ve geliştirilen formülasyonların dendritik hücreleri uygun şekilde aktive etmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır [36,39].

Pulmoner aşı tasarımı bir diğer önemli faktör ise partikül büyüklüğüdür. Akciğerde pasif hedefleme, inhalasyon yoluyla uygulanan formülasyonların önemli bir parametresi olan aerosol damlacıklarının veya partiküllerinin büyüklüklerine bağlı birikimi ile gerçekleştirilir. Partikül büyüklüğü sadece farklı solunum yolu bölmelerinde birikmeyi değil, aynı zamanda bir antijenin ve taşıyıcısının akciğer doku bileşenleri ve bağışıklık hücreleriyle nasıl etkileşime gireceğini de belirler. Ayrıca, antijenin akciğer parankimasına, kan dolaşımına, lenfatik sisteme ve spesifik APC popülasyonuna translokasyon etkinliğini, hızını ve yönünü belirler. Alt ünite aşuların akciğerlere başarılı bir şekilde iletilebilmesi için, aşı içeren uygun boyut aralığındaki toz partikül veya damlacık aerosolü, ağız yoluyla solunmalıdır. Toz partiküller veya damlacıklar çok küçük olduğunda nefes yoluyla dışarı atılacaktır. Diğer taraftan, partiküller çok büyük olduğunda, trakenin üst kısmını, boğazın arkasındaki keskin kıvrımı geçemezler. Aerodinamik partikül büyüklüğünün 1 ile 5 µm arasında olmasının pulmoner uygulama için ideal olduğu düşünülmektedir. İnhalasyon manevrası doğru yapıldığında, bu büyüklük aralığındaki partiküllerin çoğunun akciğerlerde birikeceği öngörülmektedir. Yapılan çalışmalar doğrultusunda inhale aşı uygulamasıyla optimal immün yanıt eldesi için akciğerlerin hangi bölümünün hedeflenmesi gerektiği açık olmamakla birlikte, derin akciğer iletiminin optimum immün yanıtı neden olduğu bildirilmiştir [40,41].

Geleneksel aşı hazırlamada kullanılan antijenlerin boyutları değişiklik gösterir. En küçük antijenler (<10 nm), daha büyük partiküller veya agregatlar oluşturmak için sıklıkla adjuvanlarla kombine edilen protein veya viral alt birim antijen aşılarıdır. Virüs benzeri partiküller (VLP) ve nanopartiküller gibi supramoleküler partikül antijenleri daha büyüktür ve antijen boyutları 100-200 nm'dir. Mikropartiküller, lipozomlar, yağ içinde su emülsiyonları (Freund adjuvanı), su içinde yağ emülsiyonları (MF59 adjuvanı), mineral tuzları (şap) ile formüle edilmiş antijenler ve tüm patojen aşıları ise en büyükleridir (100 nm - 20 µm) [42]. Antijen büyüklüğü de antijen sunan hücreler tarafından alımda önemli belirleyici faktördür. Tam hücre aşıları, virozomlar ve VLP'ler gibi partikül antijenleri veya lipozomlar ve mikropartiküller gibi partiküler adjuvanlar ile formüle edilmiş antijenler, yüklü, hidrofobik veya reseptör ile etkileşebilen büyük yüzeylere sahiptir. DC'ler tarafından antijen alımı makro-pinositoz, reseptör aracılı endositoz ve/veya fagositoz ile gerçekleşir [36].

Foged ve arkadaşları, antijenin hem partikül boyutunun hem de yüzey yükünün, insan DC'leri tarafından alınımın belirlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca, DC'ler tarafından optimal alım için tercih edilen partikül boyutunun 0.5 µm (çap) olduğu kabul edilmiştir. Pozitif yüzey yüküne sahip olduklarında, büyük partiküllerin (~ 1 µm) alınımın büyük ölçüde arttığı gösterilmiştir [38].

Pulmoner Aşılamada Kullanılan Cihaz ve Formülasyonlar

Etkili bir pulmoner aşılama; formülasyonun akciğerde hedeflenen bölgede birikimine, formülasyonun uygulanacağı cihaz ve hedeflenen popülasyon ile uyumuna bağlıdır. Formülasyonun hedef bölgede birikmesinde, bölgeye özgü partikül büyüklüğüne sahip partiküllerin üretilmesi ve doğru nefes tekniği ile doğru dozda inhale edilmesi yani inhalasyon manevrasının doğru yapılması en önemli faktörlerdendir. Astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kistik fibrözis gibi akciğer hastalıklarında lokal etkili tedavi yaklaşımları uzun yıllardır çalışılmaktadır. Bu hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş üç tip geleneksel inhalasyon cihazı bulunmaktadır. Bunlar kuru toz inhalerler, nebulizatörler (jet, ultrasonik) ve basınçlı ölçülü doz inhalerlerdir. [43]. İnhalasyon cihazları tek dozlu ve çok dozlu olarak veya tek kullanımlık ve tekrar kullanılabilir inhalerler olarak sınıflandırılabilir. Solunum yolu enfeksiyonlarında etkili aşılar genellikle uzun sürelerle, sık uygulama gerektirmeksizin uygulanır. Takviye dozları ise ilk aşılamadan 3 ila 6 ay sonra uygulanmaktadır. Bu nedenle tekrar kullanılabilir ve çoklu doz cihazların pulmoner aşılama için uygun olmadığı düşünülmektedir. Çok kullanımlık cihazlar kitlesel aşılama programları için kullanılabilir, ancak hastalıkların kişiler arasında bulaşını önlemek için her kullanımdan sonra detaylı bir şekilde temizlenmesi gerekir. Çok kullanımlık cihazlar, aşının kontaminasyonunu önleyebilecek tek kullanımlık ara yüzey ile de kullanılabilir [44]. Bu üç cihazın pulmoner aşılamada birbirlerine kıyasla avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Alt birim aşıların pulmoner uygulamasında formülasyon ve cihaz tasarımı çalışmaları devam etmektedir. Bu çalışmalar Tablo 2'de özetlenmiştir.

Nebulizatörler

Nebulizatörler sulu çözeltilerin veya süspansiyonların aerosol olarak uygulanmasına olanak sağlayan cihazlardır. Temel olarak, ultrasonik ve jet nebulizatörler olmak üzere iki klasik nebulizatör türü vardır. Ultrasonik nebulizatörler, çözeltiyi küçük damlacıklara dağıtmak için yüksek frekanslı dalgalar kullanır. Bu dalgalar, salımlı bir piezo elemanından sulu çözeltilere veya süspansiyona yüksek frekanslı darbeler uygulanarak üretilir. Jet nebulizatörlerde, aerosol üretmek için iki akışkanlı bir başlık kullanır. Kompresör veya basınçla oluşan hava, damlacıkların oluştuğu iki kanalı geçer. Boyut dağılımını daraltıp 1-5 µm gibi istenen aralığa ayarlamak için, büyük parçacıkları sıvı haznesine geri toplayan bir bölme başlık üzerine yerleştirilir [44].

Nebulizasyon, alt birim aşılarda da dahil olmak üzere aşılarda pulmoner uygulanmasına yönelik klinik çalışmaların çoğunda kullanılır. Bunun temel nedeni basit formülasyon gerekliliği ve neredeyse tüm sıvı ürünler için kullanılacak nebulizatörlerin mevcut olmasıdır. Her ne kadar nebulizasyon birçok çalışmada kullanılsa da bu tür cihazların toplu aşılamada programlarında kullanımını sınırlayan birkaç dezavantajı vardır. Hem ultrasonik hem de jet nebulizatörlerin ürettiği aerosol, soluk alıp verme ile uygulanır. Her inhalasyonda, nebulizatörün çıkış hızına bağlı olarak dozun sadece küçük bir kısmı akciğerlerde birikir. Bu nedenle, tam doz solunma 10-15 dakika kadar sürebilir. Bu durum yaşlılar ve küçük çocuklar gibi bazı hedef popülasyonlar için sorun oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün aşı programları özellikle çocuklara odaklanmaktadır. 6 ila 12 aylıktan küçük bebekler sadece burundan nefes alırlar ve çocuklar 4 ile 6 yaşından itibaren verilen inhalasyon talimatına uyabilir. Küçük çocuklar için her iki tipteki nebulizatör de burnu ve ağız kaplayan bir yüz maskesi ile uygulanabilir [45]. Meksikalı çocuklarda kızamık aşısının pulmoner uygulamasına ilişkin çalışmada, "Classical Mexican Device" olarak adlandırılan bir jet nebulizatör kullanılmıştır. Bu çalışmalarda, liyofilize kızamık aşısı sulandırılmış ve uygulama sonuna kadar kırılmış buz üzerine tutulmuştur. Çocuklara aşı uygularken bir yüz maskesi yoluyla solunan aerosolün üretilmesi için bir güç kaynağına bağlı olan kompresör kullanılmıştır. Maskenin kontaminasyonunu önlemek için tek kullanımlık bir kağıt koni tercih edilmiştir [46].

İlaç çözeltisinin fizikokimyasal özellikleri, jet basıncı ve inhalasyon manevrası gibi birçok değişken nebulizatörden çıkan damlacık büyüklüğü dağılımını ve çıkış hızını etkileyebilir. Avrupa Farmakopesi'ne göre inhale edilebilir sıvı formülasyonlar, 3 ile 8.5 pH aralığında, tercihen steril ve izotonik olmalıdır [47]. Saklama sırasında sterilitiyi korumak için koruyucu maddeler eklenebilir. Uzun uygulama süresi, nebulizatör kabındaki büyük kalıntı hacmi ve böylece artan doz ihtiyacı nebulizatörlerin dezavantajlarından. Ultrasonik nebulizatörlerde uygulanan yüksek frekanslı darbeler ve artan sıcaklığın, protein yapısında bozulma ve agregasyona neden olabildiği gösterilmiştir [48]. Çoğu antijen, protein veya peptid yapısına sahip olduğundan, ultrasonik nebulizatörlerin aşı uygulamalarında uygun olmadığı düşünülmektedir. Çoğu nebulizatör, tek kullanımlık olacak şekilde tasarlanmış olsa da

tekrar kullanılabilir cihazlardır. Bu nedenle, düzenli olarak temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi gerektiğinden, farklı hastalar tarafından kullanılacağı durumlarda tercih edilmezler. Çeşitli tek kullanımlık jet nebulizatörler mevcut olsa da bunların hepsi damlacık büyüklüğü dağılımı ve çıkış hızı açısından yeniden kullanılabilir cihazlar kadar etkili olmayabilir ve yine de basınçlı temiz bir hava sistemi gerektirirler. Ayrıca güç kaynağı da gerektirmesi taşınabilirlik sorunu yaratır ve uygulama alanlarını hastaneler ile sınırlar [44].

Basınçlı Ölçülü Doz İnhalerler (ÖDİ)

Basınçlı ölçülü doz inhaleler, ölçülü valf, aktüatör (aktive edici kısım), süspansiyon veya çözeltiyi içeren basınçlı taşıyıcı kap ve ağızlıktan oluşur. Taşıyıcı kap, basınç altında bir itici gaz içinde çözünmüş veya süspand edilmiş aşı içerir. Kap aşağı doğru bastırıldığında belirli miktarda formülasyon dışarı çıkar. İtici gazın hızlı bir şekilde genişmesi, aşı formülasyonunu küçük, solunabilir parçacıklara dağılmasını sağlar. ÖDİ'ler tasarımları nedeniyle çok dozlu cihazlardır. Aerosol, ÖDİ'den yüksek hızda (5 m/s) salınır. Bu nedenle, dozun salınması ve solunması aynı anda olmalıdır. Solunum geciktiğinde, tüm doz ağızın arka kısmında kalabilir. Dozu akciğerlere uygun şekilde uygulamak için, iyi el-akciğer koordinasyonu gereklidir [45]. ÖDİ şeklinde tasarlanan aşı formülasyonları itici gaz ve antijenden oluşur. Günümüzde itici gaz olarak hidrofloroalkan kullanımına izin verilmiştir. Antijen itici gaz içinde süspand edildiğinde, antijenin çökme veya asılı kalmasına bağlı doz dalgalanmaları oluşabilmektedir. Bu nedenle, kutu kullanılmadan önce iyice çalkalanmalı ve süspansiyon fiziksel olarak stabil olmalıdır. Diğer bir seçenek ise yüzey aktif maddeler veya yardımcı çözücüler kullanarak antijeni itici gaz içinde çözmektir [49]. ÖDİ'ler için aşı formülasyonlarının geliştirilmesindeki temel zorluk, proteinin itici gaz içerisindeki bütünlüğü ve stabilitesidir. İtici gazın hidrofobik yapısı, protein bazlı antijenlerin denatürasyonuna neden olabilir. Aşıların pulmoner uygulaması için ÖDİ'ler kullanılarak yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Her ne kadar ucuz ve taşınabilir olsalar da stabil aşı formülasyonları geliştirmenin zorlukları onları bu uygulama için daha az uygun kılmaktadır. Ayrıca, yanlış el-akciğer koordinasyonu durumunda yanlış dozlamaya sebebiyet verebilecekleri için kullanımları verimli değildir [44].

Kuru Toz İnhalerler (KTİ)

Kuru toz inhaleler aşı formülasyonu, cihazın tasarımıyla uyumlu fizikokimyasal özellikleri olan, hedeflenen bölgeye uygun aerodinamik partikül büyüklüğü dağılımına sahip ve aerosole dönüştürülebilir toz formülasyonunu ifade eder. KTİ'nin aşıların pulmoner uygulamasında diğer cihazlara kıyasla daha uygun olduğu düşünülmektedir. Çünkü KTİ'ler genellikle nebulizatörler ve ölçülü doz sıvı inhalelere kıyasla daha az karmaşık ve daha ucuzdur, dolayısıyla tek kullanımlık cihazlar olarak kullanımları mümkün olup soğuk zincir gerekliliğini ortadan kaldırır. Bunlara ek

olarak, tozlar, sıvı formülasyonlara kıyasla genellikle daha immunojenik ve stabil olma avantajına da sahiptir. Amorij ve arkadaşları, püskürtmeli-dondurarak kurutma yöntemiyle influenza alt birim aşısı hazırlamışlardır. Fareler üzerinde yapılan çalışmada, hazırladıkları kuru toz formülasyonun pulmoner uygulaması, alt ünite aşının sulu çözeltisinin pulmoner uygulaması ile karşılaştırılmıştır. Kuru toz aerosollerin aerodinamik partikül büyüklüğü, sıvı aerosol içindeki damlacıklardan daha küçük bulunmuştur (sırasıyla 5.3 ve 25 µm). Sonuçlarda kuru toz aşının uygulandığı grupta serum IgG titreleri ve lokal IgA titrelerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. İmmün yanıtta farkın, aerodinamik partikül büyüklüğünün ve cihaz farkının bir sonucu olarak birikme bölgesine bağlı olabileceği ifade edilmiştir [50].

Kuru toz aşı formülasyonundaki küçük parçacıklar birbirlerini Van der Waals kuvvetleri ile çeker ve akciğerlerde birikmeyecek kadar büyük aglomeratların oluşumuna neden olurlar. Bu nedenle KTİ, bu aglomeratları parçalamak ve tasarlanan boyutta toz partikülleri oluşturmak için bir dağılma mekanizmasına sahip olmalıdır. KTİ'lerin çoğu pasif cihazlardır. İnhalasyon manevrası ile cihaz aktive olarak oluşan aglomeratlar dağılır. Tek bir inhalasyon manevrası ile çalıştırıldığı için uygulama süresi kısadır [44,51].

Kuru toz aşı formülasyonları geliştirilirken antijenler sulu çözelti halinde hazırlanırlar. Sonrasında püskürterek kurutma, püskürtmeli-dondurarak kurutma ve süperkritik akışkanla kurutma gibi işlemlerden geçirilerek kuru toz haline getirilirler. Alt birim aşılar, protein yapıları nedeniyle sert kurutma koşullarında kolayca bozunabilecek nitelikte moleküllerdir. Bu nedenle kurutma sırasında antijenin immunojenitesini korumak için stabilize edici yardımcı maddeler kullanılmalıdır. Protein yapılu ilaç etkin maddelerini stabilize etmek için genellikle şeker türevleri (inülin, trehaloz, dekstran) kullanılır. Dondurarak kurutma işleminin aksine, püskürterek kurutma, suda veya tuzlu suda kolayca dağılabilen daha düzgün bir şekilde kurutulmuş, pulmoner uygulama için ideal ince tozların eldesine olanak sağlar. Daha da önemlisi, kuru toz aşılar akciğer parankimasında iltihaplanma olmaksızın pulmoner bölgelere güvenle uygulanabilir [52]. Saluja ve arkadaşları, influenza alt ünite aşısını püskürterek kurutma ve püskürtmeli-dondurarak kurutma yöntemleriyle stabilizan olarak inulin kullanarak geliştirmiştir. İki yöntemle hazırlanan formülasyonlar fizikokimyasal ve immunojenite özellikleri açısından karşılaştırılmış ve her iki formülasyonunun da, pulmoner uygulamadan sonra immün yanıt oluşturduğu ve bu yanıtın aşının intramüsküler uygulamasına göre çok daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. Püskürterek kurutma yöntemiyle elde edilen toz partiküllerin dondurarak kurutma yöntemine kıyasla daha küçük boyutta ve non-poröz yapıda olduğu belirtilmiştir [53].

Tablo 2. Alt ünite aşuların pulmoner uygulama çalışmaları

Antijen	Formülasyon	Hazırlanma Yöntemi	Uygulama şekli	Uygulanan hayvan türü	Referans
Antijen 85B (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	Antijen içeren PLGA mikropartikülleri	Püskürterek kurutma	Toz olarak Insufflator aracılığıyla	Kobay	[56]
Antijen 85B (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	Antijen nanopartikül konjugatı	Emülsiyon polimerizasyonu,	Sıvı formda; Konjugat PBS içinde disperse edilmiş	Fare	[28]
F1 ve V alt ünite aşısı (<i>Yersinia pestis</i>)	Antijen içeren PLLA mikropartikülleri	Emülsifikasyon	Sıvı formda; Mikropartiküller PBS içinde süspand edilmiş	Fare	[57]
HBsAg (Hepatit B)	Antijen içeren PLGA/PEG nanopartikülleri	Emülsifikasyon ve püskürterek kurutma	Toz olarak Insufflator aracılığıyla	Kobay	[58]
HBsAg (Hepatit B)	Antijen içeren PLGA mikropartikülleri	Emülsifikasyon-çözücü buharlaştırma	Sıvı formda; partiküller PBS içinde disperse edilmiş	Sıçan	[59]
HBsAg (Hepatit B)	Antijen içeren PLA/PLGA nanopartikülleri	Emülsifikasyon-çözücü buharlaştırma	Sıvı formda; partiküller PBS içinde disperse edilmiş	Sıçan	[60]
Influenza alt ünite aşısı (H3N2)	İnülin ile antijen enkapsülasyonu	Püskürterek kurutma-dondurma	Toz olarak Insufflator aracılığıyla	Fare	[61]
Influenza alt ünite aşısı (H3N2)	İnülin ile antijen enkapsülasyonu	Püskürterek kurutma	Toz olarak Insufflator aracılığıyla	Fare	[53]
Influenza alt ünite aşısı	ISCOMATRIX (adjuvan)	Antijen enkapsülasyonu	Sıvı formda; bronoskop ile uygulama	Koyun	[62]
MVA85A (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	Antijenin PBS içinde süspansiyonu	-	Sıvı formda; Titreşimli nebulizatörü ile ağ	Maymun	[63]
Difteri toksoidi	Kitozan ve dekstran mikropartiküllerine antijen enkapsülasyonu	Püskürterek kurutma-dondurma	Toz olarak Insufflator aracılığıyla	Kobay	[64]
Influenza alt ünite aşısı (H1N1)	Lipid mikropartiküllerde antijen enkapsülasyonu	Püskürterek kurutma	Toz olarak Insufflator aracılığıyla	Sıçan	[65]

Nebulizatör ile uygulanması öngörülen sıvı aşı formülasyonları, raf ömrünü arttırmak ve soğuk zincir gerekliliğini ortadan kaldırmak için üretimden sonra şeker varlığında kurutulmuş kullanımdan önce sulandırılacak şekilde tasarlanabilir. Yapılan bir çalışmada inhale Tüberküloz aşı formülasyonu geliştirmek amacıyla alt birim aşı antijeni H56'nın katyonik lipozom formülasyonu (H56/CAF01) hazırlanmış ve püskürterek kurutma yöntemiyle kuru toz partikülleri elde edilmiştir. Rekonstitüye edilerek uygulanan bu formülasyonun, püskürterek kurutma işlemi uygulanmamış formülasyon ile benzer hücrel ve humoral bağışıklık yanıt oluşturduğu sonucu elde edilmiştir. Çalışmada püskürterek kurutma yönteminin elde edilen kuru toz formülasyonun fizikokimyasal özelliklerinde ve oluşturduğu immün yanıtta değişikliğe neden olmadığı sonucuna varılmıştır [54].

Bugüne kadar pulmoner aşı uygulamasında KTİ teknolojisinin kullanıldığı klinik çalışma yayınlanmamış olmasına rağmen çok sayıda klinik öncesi araştırma yapılmıştır. Bir çalışmada, kuru toz kızamık aşısının uygulanması, Puffhaler (Aktiv-Dry) ve Solovent (BD Technologies) cihazları kullanılarak incelenmiştir. Çoğu KTİ'nin aksine hem Puffhaler hem de Solovent aktif cihazlardır. Her iki cihaz da yeniden kullanılabilir cihazlar olmalarına rağmen tek kullanımlık kullanıcı ara yüzüne sahiptir. Canlı zayıflatılmış kızamık virüsünün süperkritik akışkan kurutma ile üretilen kuru toz formülasyonu maymunlar üzerinde test edilmiştir [55]. Sonuçlar, her iki cihazın da immün yanıtın indüklenmesinde eşit derecede iyi performansla sahip olduğunu göstermiştir. KTİ kullanılarak yapılan klinik öncesi aşı çalışmalarının çoğunda, tozu deney hayvanlarının akciğerlerine uygulamak için bir Kuru Toz Insufflator™ kullanılmıştır. Başka bir prototip cihaz ise, tek kullanımlık bir inhaler olan üç plastik plaka ve alüminyum blisterden oluşan Twincer™'dir. Twincer™, basit bir tasarıma sahip olduğu için üretim maliyeti daha düşüktür. Saluja ve arkadaşları, influenza alt ünite aşısı üzerine yaptıkları çalışmada, uygun partikül büyüklüğünde pulmoner uygulama için Twincer™ kullanılabileceğini göstermişlerdir. Friebe ve Steckel, TwinCaps (Hovione), Conix One (3M) ve DirectHaler Pulmoner (Direct-Haler A/S) dahil olmak üzere tek kullanımlık KTİ'lere kapsamlı bir genel bakış açısı sunmuştur. Söz konusu cihazların, düşük maliyetleri sayesinde pulmoner aşılama için uygun bir alternatif olabilecekleri ifade edilmiştir [44].

SONUÇ VE TARTIŞMA

Birçok çalışmada gösterildiği gibi alt birim aşılarda pulmoner uygulama parenteral uygulamaya kıyasla iyi bir alternatif olabilir. Alt birim aşılarda uygun taşıyıcı sistem ve immunpotensiyatör özellikteki adjuvanlar ile formülasyonu spesifik immün yanıt oluşturulmasında umut vadetmektedir. Literatürde optimum immün yanıt için derin akciğer birikiminin gerekliliği kabul edilmiş olsa da son zamanlarda yapılan çalışmalarda inhale edilen her antijen için bunun gerekli olmadığı tartışılmaktadır. Optimum yanıt için solunum sisteminin hangi kısmının ideal olduğu henüz aydınlatılmamıştır [39]. Optimum birikim bölgesinin, antijenin tipine ve solunum yolundaki spesifik

reseptörlerin, bağlanma bölgelerinin varlığına bağlı olarak değişebileceği düşünülmektedir [66]. Son zamanlarda kuru toz aşılarda pulmoner uygulaması yüksek stabilite ve etkili immün yanıt özellikleriyle ilgi çekmekte olup devam eden klinik öncesi çalışmalar bulunmaktadır. Pulmoner aşı formülasyonları ile ilgili daha çok klinik çalışmaya ihtiyaç duyulmakta olup, çalışmaların hedef patojene, bölgeye ve popülasyona özgü cihaz tasarımı ile paralel şekilde planlanmasının daha doğru sonuçların alınmasına olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

1. T.C. Sağlık Bakanlığı Web site. (2018). Retrieved 22 July, 2020, <https://asi.saglik.gov.tr/genel-bilgiler/41-asi-turleri.html>
2. Dinc, G., Ulman, Y.I. (2007). The introduction of variolation “A La Turca” to the West by Lady Mary Montagu and Turkey’s contribution to this. *Vaccine*, 25 (21), 4261-4265.
3. Rappuoli, R. (2007). Bridging the knowledge gaps in vaccine design. *Nature Biotechnology*, 25, 1361-1366.
4. Clem, A.S. (2011). Fundamentals of vaccine immunology. *Journal of Global Infectious Disease*, 3, 73-78.
5. Wellington, K., Goa, K.L. (2003). Measles, mumps, rubella vaccine (Priorix™; GSK-MMR): A review of its use in the prevention of measles, mumps and rubella. *Drugs*, 63, 2107-2126.
6. Kallerup, R.S., Foged, C. (2015). Classification of Vaccines. In: Foged C, Rades T, Perrie Y, Hook S, (Eds), *Subunit Vaccine Delivery*, (p.15). New York: Springer Science and Business Media.
7. Ferran, M.C., Skuse, G.R. (2017). Generation and Production of Modified Vaccinia Virus Ankara (MVA) as Vaccine Vector. In: Pavot V, Sebastian S, Turner V. A, Matthews J, Gilbert C.S (Eds), *Recombinant Virus Vaccines*, (pp. 97-119). New York: Springer Science and Business Media.
8. Van den Berg, J.H., Nuijen, B., Schumacher N.T., Haanen, B.A.G.J., Storm, G., Beijnen, H.J., Hennink, E.W. (2010). Synthetic vehicles for DNA vaccination. *Journal of Drug Targeting*, 18, 1-14.
9. Bins, A.D., van den Berg, J.H., Oosterhuis, K., Haanen, J.B.A.G. (2013). Recent advances towards the clinical application of DNA vaccines. *Netherlands Journal of Medicine*, 71, 109-117.

10. Powell, M.F., Newman, M.J. (1994). Immunological and formulation design considerations for subunit vaccines. In: Powell, M.F., Newman, M.J. (Eds), *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach*, (p.1). New York: Springer Science and Business Media.
11. Nevagi, R.J., Skwarczynski, M., Toth, I. (2019). Polymers for subunit vaccine delivery. *European Polymer Journal*, 114, 397-410.
12. O'Hagan, D.T., Friedland, L.R., Hanon, E., Didierlaurent, A.M. (2017). Towards an evidence based approach for the development of adjuvanted vaccines. *Current Opinion in Immunology*, 47, 93-102.
13. Foged, C. (2011). Subunit vaccines of the future: The need for safe, customized and optimized particulate delivery systems. *Therapeutic Delivery*, 2 (8), 1057-1077.
14. Bozkır, A., Hayta, G. (2004). Preparation and evaluation of multiple emulsions water-in-oil-in-water (w/o/w) as deliver system for influenza virus antigens. *Journal of Drug Targeting*, 12 (3), 157-164.
15. Sayın, B., Somavarapu, S., Li, X.W., Thanou, M., Sesardic, D., Alpar, H.O., Şenel, S. (2008). Mono-N-carboxymethyl chitosan (MCC) and N-trimethyl chitosan (TMC) nanoparticles for invasive vaccine delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 363 (1-2), 139-148.
16. Kaplan, M., Çelebi, N. (2014). Mukozal yoldan uygulanan aşı formülasyonlarının geliştirilmesi ve değerlendirilmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
17. Awate, S., Babiuk, L.A., Mutwiri, G. (2013). Mechanisms of action of adjuvants. *Frontiers in Immunology*, 4, 114.
18. Gay, N.J., Gangloff, M. (2007). Structure and function of toll receptors and their ligands. *Annual Review of Biochemistry*, 76, 141-165.
19. Medzhitov, R. (2001). Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 1, 135-145.
20. Casella, R.C., Mitchell, T.C. (2008). Putting endotoxin to work for us: monophosphoryl lipid A as a safe and effective vaccine adjuvant. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65 (20), 3231-3240.
21. McKee, A.S., Marrack, P. (2017). Old and new adjuvants. *Current Opinion in Immunology*, 47, 44-51.
22. Del Giudice, G., Rappuoli, R., Didierlaurent, A.M. (2018). Correlates of adjuvanticity: A review on adjuvants in licensed vaccines. *Seminars in Immunology*, 39, 14-21.
23. Garçon, N., Chomez, P., Van Mechelen, M. (2007). GlaxoSmithKline Adjuvant Systems in vaccines: Concepts, achievements and perspectives. *Expert Review of Vaccines*, 6 (5), 723-739.
24. Schiller, J.T., Castellsagué, X., Villa, L.L., Hildesheim, A. (2008). An update of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like particle vaccine clinical trial results. *Vaccine*, 26, K53-K61.
25. Şenel, S., Dericci M.K. (2019). Aşı: Akademik, Endüstriyel ve Resmi Otorite Yönüyle. In: A. Bozkır and B. Devrim (Eds), *Aşı Uygulama Yolları*, (p.53). Ankara: Hipokrat Yayınevi.

26. Zhang, L., Wang, W., Wang, S. (2015). Effect of vaccine administration modality on immunogenicity and efficacy. *Expert Review of Vaccines*, 14 (11), 1509-1523.
27. Muttill, P., Pulliam, B., Garcia-Contreras, L., Fallon, J.K., Wang, C., Hickey, A.J., Edwards, A.D. (2010). Pulmonary immunization of guinea pigs with diphtheria CRM-197 antigen as nanoparticle aggregate dry powders enhance local and systemic immune responses. *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 12 (4), 699-707.
28. Ballester, M., Nembrini, C., Dhar, N., de Titta, A., Piano, C., Pasquier, M., Simeoni, E., van der Vlies, A.J., McKinney, D.J., Hubbell, J.A., Swartz, M.A. (2011). Nanoparticle conjugation and pulmonary delivery enhance the protective efficacy of Ag85B and CpG against tuberculosis. *Vaccine*, 29 (40), 6959-6966.
29. Wong-Chew, R.M., Islas-Romero, R., García-García, M.D.L., Beeler, J.A., Audet, S., Santos-Preciado, J.I., Gans, H., Lew-Yasukawa, L., Maldonado, A.Y., Arvin, M.A., Valdespino-Gómez, L.J. (2006). Immunogenicity of aerosol measles vaccine given as the primary measles immunization to nine-month-old Mexican children. *Vaccine*, 24 (5), 683-690.
30. Sato, S., Kiyono, H. (2012). The mucosal immune system of the respiratory tract. *Current Opinion in Virology*, 2 (3), 225-232.
31. Yaghi, A., Dolovich, M. (2016). Airway Epithelial Cell Cilia and Obstructive Lung Disease. *Cells*, 5 (4), 40.
32. Martin, T.R., Frevert, C.W. (2005). Innate immunity in the lungs. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2 (5), 403-411.
33. Guilliams, M., Lambrecht, B.N., Hammad, H. (2013). Division of labor between lung dendritic cells and macrophages in the defense against pulmonary infections. *Mucosal Immunology*, 6 (3), 464-473.
34. Renegar, K.B., Small, P.A., Boykins, L.G., Wright, P.F. (2004). Role of IgA versus IgG in the Control of Influenza Viral Infection in the Murine Respiratory Tract. *The Journal of Immunology*, 173 (3), 1978-1986.
35. Kohlmeier, J.E., Woodland, D.L. (2009). Immunity to respiratory viruses. *Annual Review of Immunology*, 27, 61-82.
36. Blank, F., Stumbles, P., Von Garnier, C. (2011). Opportunities and challenges of the pulmonary route for vaccination. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 8, 547-563.
37. Scheuch, G., Kohlhaeufel, J.M., Brand, P., Siekmeier, R. (2006). Clinical perspectives on pulmonary systemic and macromolecular delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, 996-1008.
38. Kunda, N.K., Somavarapu, S., Gordon, S.B., Hutcheon, G.A., Saleem, I.Y. (2013). Nanocarriers targeting dendritic cells for pulmonary vaccine delivery. *Pharmaceutical Research*, 30, 325-341.
39. Marasini, N., Kaminskis, L.M. (2019). Subunit-based mucosal vaccine delivery systems for pulmonary delivery - Are they feasible? *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45 (6), 882-894.

40. Minne, A., Louahed, J., Mehauden, S., Baras, B., Renauld, J.C., Vanbever, R. (2007). The delivery site of a monovalent influenza vaccine within the respiratory tract impacts on the immune response. *Immunology*, 122 (3), 316-325.
41. Todoroff, J., Ucakar, B., Inglese, M., Vandermarliere, S., Fillee, C., Renauld, J.C., Huygen, K., Vanbever, R. (2013). Targeting the deep lungs, Poloxamer 407 and a CpG oligonucleotide optimize immune responses to Mycobacterium tuberculosis antigen 85A following pulmonary delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 84 (1), 40-48.
42. Bachmann, F.M., Jennings, T.G. (2010). Vaccine delivery: a matter of size, geometry, kinetics and molecular patterns. *Nature Reviews Immunology*, 10, 787-796.
43. Kesser, C.K., Geller, D.E. (2009). New aerosol delivery devices for cystic fibrosis. *Respiratory Care*, 54 (6), 767-768.
44. Tonnis, W.F., Lexmond, A.J., Frijlink, H.W., De Boer, A.H., Hinrichs, W.L.J. (2013). Devices and formulations for pulmonary vaccination. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 10 (10), 1383-1397.
45. Kallerup, R.S., Foged, C. (2015). Pulmonary Administration of Subunit Vaccines. In: F.W. Tonnis, L.W.A. T. Huckriede, L.J.W. Hinrichs, W.H. Frijlink (Eds), *Subunit Vaccine Delivery*, (p.307). New York: Springer Science and Business Media.
46. Bennett, J. V., De Castro, J.F., Valdespino-Gomez, J.L., De Lourdes Garcia-Garcia, M., Islas-Romero, R., Echaniz-Aviles, G., Jimenez-Corona, A., Sepulveda-Amor, J. (2002). Aerosolized measles and measles-rubella vaccines induce better measles antibody booster responses than injected vaccines: *Randomized trials in Mexican schoolchildren*. *Bulletin of the World Health Organization*, 80 (10), 806-812.
47. Council of Europe, (2008). *European Pharmacopoeia*, 6th edn. Preparations for Inhalation (Ph Eur monograph 0671), (pp. 740–742). Strasbourg.
48. Khatri, L., Taylor, K.M.G., Craig, D.Q.M., Palin, K. (2001). An assessment of jet and ultrasonic nebulisers for the delivery of lactate dehydrogenase solutions. *International Journal of Pharmaceutics*, 227, 121-131.
49. Smyth, H.D.C. (2005). Propellant-driven metered-dose inhalers for pulmonary drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2 (1), 53-74.
50. Tonnis, W.F., Kersten, G.F., Frijlink, H.W., Hinrichs, W.L.J., De Boer, A.H., Amorij, J.P. (2012). Pulmonary vaccine delivery: A realistic approach? *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 25 (5), 249-260.
51. Frijlink, H.W., De Boer, A.H. (2004). Dry powder inhalers for pulmonary drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 1 (1), 67-86.
52. Sou, T., Morton, D.A.V., Williamson, M., Meeusen, E.N., Kaminskas, L.M., McIntosh, P.M. (2015). Spray-dried influenza antigen with trehalose and leucine produces an aerosolizable powder vaccine formulation that induces strong systemic and mucosal immunity after pulmonary administration. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 28 (5), 361-371.
53. Saluja, V., Amorij, J.P., Kapteyn, J.C., de Boer, A.H., Frijlink H.W., Hinrichs, W.L.J. (2010). A comparison between spray drying and spray freeze drying to produce an influenza subunit vaccine powder for inhalation. *Journal of Controlled Release*, 144 (2), 127-133.

54. Thakur, A., Ingvarsson, P.T., Schmidt, S.T., Rose, F., Andersen, P., Christensen, D., Foged, C. (2018). Immunological and physical evaluation of the multistage tuberculosis subunit vaccine candidate H56/CAF01 formulated as a spray-dried powder. *Vaccine*, 36 (23), 3331-3339.
55. Lin, W.H., Griffin, D.E., Rota, P.A., Papania, M., Cape, P.S., Bennett, D., Quinn, B., Sievers, E.R., Shermer, C., Powell, K., Adams, J.R., Godin, S., Winston, S. (2011). Successful respiratory immunization with dry powder live-attenuated measles virus vaccine in rhesus macaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 (7), 2987-2992.
56. Lu, D., Garcia-Contreras, L., Muttill, P., Padilla, D., Xu, D., Liu, J., Braunstein, M., McMurray, D.N., Hickey, A.J. (2010). Pulmonary immunization using antigen 85-b polymeric microparticles to boost tuberculosis immunity. *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 12 (3), 338-347.
57. Eyles, J.E., Williamson, E.D., Spiers, I.D., Alpar, H.O. (2000). Protection studies following bronchopulmonary and intramuscular immunisation with yersinia pestis F1 and V subunit vaccines coencapsulated in biodegradable microspheres. *Vaccine*, 18 (28), 3266-3271.
58. Muttill, P., Prego, C., Garcia-Contreras, L., Pulliam, B., Fallon, J.K., Wang, C., Hickey, J.A., Edwards, D. (2010). Immunization of guinea pigs with novel hepatitis B antigen as nanoparticle aggregate powders administered by the pulmonary route. *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 12, 330-337.
59. Thomas, C., Gupta, V., Ahsan, F. (2010). Particle size influences the immune response produced by hepatitis B vaccine formulated in inhalable particles. *Pharmaceutical Research, An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 27, 905-919.
60. Thomas, C., Rawat, A., Hope-Weeks, L., Ahsan, F. (2011). Aerosolized PLA and PLGA nanoparticles enhance humoral, mucosal and cytokine responses to hepatitis B vaccine. *Molecular Pharmaceutics*, 8, 405-415.
61. Amorij, J-P., Saluja, V., Petersen, H., Hinrichs, W.L.J., Huckriede, A., Frijlink, H.W. (2007). Pulmonary delivery of an inulin-stabilized influenza subunit vaccine prepared by spray-freeze drying induces systemic, mucosal humoral as well as cell-mediated immune responses in BALB/c mice. *Vaccine*, 25 (52), 8707-8717.
62. Wee, J.L.K., Scheerlinck, J-P.Y., Snibson, K.J., Edwards, S., Pearse, M., Quinn, C., Sutton, P. (2008). Pulmonary delivery of ISCOMATRIX influenza vaccine induces both systemic and mucosal immunity with antigen dose sparing. *Mucosal Immunology*, 1 (6), 489-96.
63. White, A.D., Sibley, L., Dennis, M.J., Gooch, K., Betts, G., Edwards, N., Reyes-Sandoval, A., Carroll, M.W., Williams, A., Marsh, P.D. (2013). Evaluation of the safety and immunogenicity of a candidate tuberculosis vaccine, MVA85A, delivered by aerosol to the lungs of macaques. *Clinical and Vaccine Immunology*, 20 (5), 663-72.
64. Amidi, M., Pellikaan, H.C., Hirschberg, H., Boer, H.A., Crommelin, J.A.D., Hennink, E.W., Kersten, G., Jiskoot, W. (2007). Diphtheria toxoid-containing microparticulate powder formulations for pulmonary vaccination: preparation, characterization and evaluation in guinea pigs. *Vaccine*, 25, 6818-6829.

65. Smith, D.J., Bot, S., Dellamary, L., Bot, A. (2003). Evaluation of novel aerosol formulations designed for mucosal vaccination against influenza virus. *Vaccine*, 21, 2805–2812.
66. Tomara, J., Tonnis W.F., Patil H.P., Boer A.H., Hagedoorna, P., Vanbeverb, R., Frijlink, H.W., Hinrichsa, L.J.W. (2019). Pulmonary immunization: deposition site is of minor relevance for influenza vaccination but deep lung deposition is crucial for hepatitis B vaccination. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 9 (6), 1231-1240.



NANOTERANOSTİKLER

NANOTHERANOSTICS

Meliha EKİNCİ¹ , Derya İLEM ÖZDEMİR^{1,*} 

¹Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Radyofarmasi Anabilim Dalı, 35100, Bornova, İzmir,
TÜRKİYE

ÖZ

Amaç: Son yıllarda, nanoteknolojideki gelişmeler sayesinde hastalıkların erken teşhis ve tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmektedir. Tanısal görüntüleme yöntemleriyle tedavi yöntemlerini birleştiren bir kavram olan “teranostik” kavramının doğmasıyla kanser nanotıbbı hızlı bir yükselişe geçmiştir. Bu derlemede, teranostik kavramı, kanser nanotıbbı, ilaç ve gen taşıyıcı sistem çeşitleri, nanogörüntüleme yöntemleri, nanoproblar, nanosensörler, kişiselleştirilmiş tedavi ve aktif ve pasif hedeflendirme ile ilgili bilgiler verilerek, son yıllarda bu konularda yapılmış olan çalışmaların gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

Sonuç ve Tartışma: Hedeflendirilmiş çeşitli ilaç, gen ve görüntüleme maddelerini taşıyan nanoyapıların kullanılması kişiselleştirilmiş tedaviye yeni olanaklar sağlamıştır. Tıpta nanoboyutlu ilaç taşıyıcı sistemler ile vücuttaki biyolojik bariyerler aşılarak, görüntüleme sistemleriyle hedefe yönelik teşhis ve tedavisi sağlanmaktadır. Dünyada başlıca ölümlü sebebi olan kanserin erken teşhisini ve tedavisini sağlayan nanoteranostiklerin tıpta kullanımının gün geçtikçe daha geniş bir yer kaplayacağı kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: İlaç taşıyıcı sistemler, kişiselleştirilmiş tedavi, nanoteknoloji, radyofarmasötik, teranostik

ABSTRACT

Objective: In recent years, significant advances have been made in early diagnosis and treatment of diseases, thanks to advances in nanotechnology. With the birth of the concept of “theranostic”, a concept that combines diagnostic imaging methods with therapeutic methods, cancer nanotherapy has started to rise rapidly. In this review, it is aimed to review the recent studies on these subjects by giving information about the theranostic concept, cancer nanotherapy, drug and gene delivery systems, nanoprobles, nanosensors, personalized therapy, and active and passive targeting.

Result and Discussion: The use of nanostructures carrying various targeted drugs, genes and imaging agents has provided new possibilities for personalized medicine. In medicine, by overcoming biological barriers in the body with nanoscale drug delivery systems, targeted diagnosis with imaging systems and treatment with theranostics are provided. We believe that the use of nanoteranostic in medicine, which

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Derya İlem Özdemir
e-posta / e-mail: deryailem@gmail.com

provides early diagnosis and treatment of cancer, which is the main cause of death in the world, will take up a wider place day by day.

Keywords: *Drug delivery systems, personalized medicine, nanotechnology, radiopharmaceuticals, theranostics*

GİRİŞ

Teranostikler, tanısal ve terapötik uygulamaları tek bir sistemde birleştiren yeni bir nükleer tıp alanıdır. Moleküler görüntülemeyi moleküler tedaviyle birleştirerek, hastalığın erken aşamada tespiti, hastalık evrelemesi, tedavi seçimi, tedavi planlaması, tedavinin erken aşamalarında yan etkilerin tanımlanması ve takip tedavilerinin planlanması gibi kişiselleştirilmiş tedavinin birçok yönüne uygulanabilir [1,2].

Radyofarmasötiklerdeki gelişmeler ile, vücuttaki belirli bir biyolojik özelliği görüntülemenin yanı sıra, bir hastalığın spesifik özellikleri için tasarlanmış, hedefli ilaç dağıtımı gibi uygulamalar sayesinde nükleer tıbbın gelişimi sağlanmıştır. Terapötik radyoizotopların kullanımı, geçmişte terapötik onkolojinin önemli ancak küçük bir bileşeni iken, şimdi “Teranostik” uygulamaların geliştirilmesiyle birlikte, çeşitli tümörlerde hedeflenen dahili radyonüklid tedavileri için oldukça önemli hale gelmiştir [3]. Teranostiklerin amacı, tedavinin etkinliğini ve güvenliğini optimize etmenin yanı sıra tüm ilaç geliştirme sürecini kolaylaştırmaktır [4].

Nükleer tıpta nanoboyuttaki parçacıkların kullanılması ile teşhis ve tedavide sayısız avantaj sağlanır [5]. Örneğin, nanosensörler, küçük bir örnek hacmindeki çok çeşitli biyobelirteçleri ölçebilir [6,7] ve nanotıp sayesinde düşük yan etkileri olan ilaçlar, kan damarlarından tümör bölgesine veya reseptör aracılı aktif hedefleme ile ekstrasözasyon yoluyla daha yüksek dozlarda uygulanabilir [8].

Bu derlemede, nanoteranostiklerin kanser nanotıbbında kullanımına ve teranostik sistemlerde nanopartikül uygulamalarına değinilmiştir.

Teranostik Kavramı

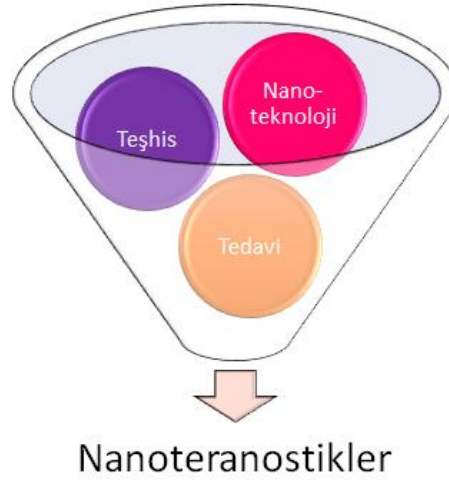
“Teranostik” terimi ilk olarak 2002 yılında Funkhouser tarafından kullanılıp [9] tedavi yöntemleri ile tanısal görüntüleme yöntemlerini birleştiren bir alan olarak tanımlanmıştır. Böylece teranostikler, bir sisteme aynı anda terapötik ilaç ve tanısal görüntüleme ajanı sunarlar. Tanısal yöntem ile tedavi yönteminin ilişkisi 3 grupta toplanabilir [10]:

1. Tanısal ve tedavi molekülü aynı
2. Tanısal ve tedavi molekülleri benzer
3. Tanısal ve tedavi molekülü farklı, ancak süreçleri benzer

Yöntemler arasındaki ilişki fark etmeksizin, teranostik yaklaşımda, önce tanısal yöntemler uygulanarak terapötik ajanın etkili olup olmayacağı belirlenir. Tanısal testi pozitif çıkan hastalara tedavi

yöntemi uygulanabilirken, tanısal testi negatif çıkan hastalar diğer tedavi seçeneklerine yönlendirilir [10].

Teranostik kavramının hızlı gelişmesiyle, tanısal ve tedavi edici ajanlar nanopartiküle yüklenerek “nanoteranostik” kavramı doğmuştur (Şekil 1). Nanoteranostikler, ileri teranostikler için nanotıp stratejilerini uygular. Nanoteranostikler, vücuda enjekte edilen ilacın farmakokinetiği ve farmakodinamiğini izlemek için uygun bir pencere sağlar. Nanoyapıların yardımıyla, ilacın, sistemik dolaşımdan sonra hastalıklı hücreleri aynı anda hedeflemesi, bağışıklık sisteminden kaçması ve patolojik bölgeleri görüntülemesi ile uygun tanı ve terapötik müdahale sağlanabilir [11].



Şekil 1. Nanoteranostik kavramı.

Kanser Nanotıbbı

Başlıca ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer alan kanserin erken teşhisi, mortalite ve morbidite açısından önemli bir husustur [12]. Geleneksel tanı yöntemleri ile kanserin erken evrelerde teşhisi oldukça zordur. Bu nedenle, nanoteknoloji bazlı nükleer tıp yöntemleri, kanserin teşhisi ve tedavisi açısından önemli olanaklar sunmaktadır.

Kanser, basit bir şekilde kontrolsüz hücre çoğalması olarak tanımlanabilir. Kanser en önemli özelliği, vücudun çeşitli bölgelerinde ortaya çıkan ve diğer organlara yayılabilen anormal hücre bölünmeleridir [13].

Kanser teşhisinde kullanılan radyolojik yöntemlerle tümör, boyutu ancak 0,5-1 cm³ çapa ulaştığında tespit edilir. Bu durumda erken teşhis çok mümkün olamamaktadır. Kanser vakalarının büyük bir çoğunluğu vaka ölümcül hale geldiğinde teşhis edilmiştir [14].

Nanoteknoloji sayesinde, tümörler erken dönemde teşhis edilebilmektedir. Nanoyapıların, tek bir tümör hücresi içerisine girebilmesiyle, bu konuda çalışılan görüntüleme tekniklerinin limitleri artmıştır. Örneğin; mamografi ile en az 1.000.000 tümör hücresinin bulunmasıyla meme kanserine klinik teşhis

konulabilirken, nanoteknoloji yardımı ile 100'den az tümör hücresinin bulunduğu durumda bile meme kanserini teşhis etmek mümkün olabilmektedir [15].

Teşhis ve tedavide kullanılan nanoyapılar, biyolojik yapılar ile aynı boyutlardadır. Boyutlarından ötürü nanopartiküller, *in vivo*, özellikle başta kanser olmak üzere hastalık bölgelerine doğru lokalize olma avantajlarına sahiptir. Örneğin; insan vücudundaki hücreler 10.000–20.000 nm çapında, damar sisteminde dolaşan hemoglobin 5 nm çapındadır. Boyutu 50 nm'den küçük olan yapılar, birçok hücre içine kolaylıkla girebilmekte, boyutu 20 nm'den küçük yapılar ise kan dolaşımı ile taşınabilmektedir. Bu sayede ilaçların tümör hücrelerinde hücre içi konsantrasyonları artarken, sağlıklı hücrelere olan toksik etkiler de en aza inmektedir. Nanoteknolojinin sağladığı bu avantajlar ile nanopartiküllerin kanser teşhis ve tedavisindeki rolü artmaktadır [16,17].

Nanopartikül Platformu

Partikül boyutları 1–1000 nm arasında değişen, çözünmüş, enkapsüle edilmiş veya adsorbe haldeki etkin maddeyi açığa çıkaran, doğal veya sentetik yapıdaki polimerlerle hazırlanmış kolloidal polimerik partiküler sistemlere “nanopartiküller” denilmektedir [18,19].

Nanopartiküller, eşsiz görüntüleme ve işlevselleştirme imkânı sunan özelliklere sahiptir. Partikül boyutlarından dolayı nanopartiküllerin, *in vivo* hastalık bölgelerinde, özellikle kanserli hücrelerde lokalize olma gibi avantajları vardır. Örneğin, yüzey işlevselliğine bağlı olarak, nanopartiküller kanda standart kemoterapötiklere göre ilacın dolaşım süresini arttırmaktadır. Daha uzun dolaşım yarılama ömrü, nanopartiküllerin, tümör kan damarlarından tümör dokularına ekstrasvazasyon yoluyla geçme şansını artırır. Ayrıca, nanopartiküller, görüntüleme problemleri, hedeflenen ligandlar ve terapötik moleküller için yüksek yükleme kapasitesi sağlayan yüzey alanı/hacim oranına sahiptir. Ayrıca, birçok nanopartikül, nanoteranostik olmak üzere işlevselleştirilebilen içsel görüntüleme özelliklerine sahiptir. Böyle çok işlevli bir sistem, kanser gibi oldukça değişken hastalıkların belirli moleküler yapısını taramak ve teşhis etmek, tedavi stratejilerini optimize etmek ve tedavi etkilerini izlemek için kişiselleştirilmiş tedavi uygulamalarına büyük fayda sağlamaktadır [20].

Nanopartiküller, çok sayıda ilaç taşıyıcı sistemleri, görüntüleme ajanları ve hedefleme kısımları ile kombinasyon halinde geliştirilmiştir, bu da tanı ve tedaviyi aynı anda sağlayabilen teranostik nanopartiküllerin formülasyonuna yol açmıştır.

Yang ve ark., bir amfifilik blok kopolimeri ile kapsüllenmiş manyetik nanokristaller ve antikanser ilaçlardan oluşan çok fonksiyonlu manyeto-polimerik nanohidritler geliştirmiştir. Antikor modifiyeli nanohidritler, tümör büyümesinin inhibisyonu üzerinde mükemmel sinerjistik etkileri olan Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ile ultrasensitif hedefli saptama sergilemiştir [21]. Liu ve ark., akciğer kanserine karşı teranostik taşıyıcı olarak bir Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) görüntüleme probu içeren poliakrilamid bazlı hidrojel parçacıkları sentezlemiştir [22]. Bu çalışmalar, teranostik yaklaşımın

çeşitli kanser türlerinin eşzamanlı tanısı ve tedavisi için yeni bir nanoilaç dağıtım sistemi olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Teranostik nanopartiküllerin kişiselleştirilmiş tedavide uygulanması, *in vivo* kimyasal veya fiziksel değişiklikler üretebilen uyarılara duyarlı, aktifleştirilebilen nanomalzemelerin geliştirilmesini gerektirir. Ek olarak, terapötik içeriğin kontrollü salımı için *in vivo* değişikliklere uygun şekilde cevap verebilmeleri, metabolizma hakkında bilgi elde edebilmeleri ve terapi ve sinyal indüksiyonu için uygun bir zamanda etkinleştirilebilmeleri gerekir. Bu nedenle, sadece lokalize etkiler üreten aktive edilebilir nanomateryal bazlı tedaviler, cerrahi ve spesifik olmayan ilaç uygulaması gibi geleneksel tedavilere göre daha az invazivdir. Nanoteranostiklerin, toksisite gibi istenmeyen yan etkileri azaltırken, terapötik ajanların etkinliğini arttırmaları beklenir. Ayrıca, antikanser ilaçların sistemik yan etkisini ve ilaç salım kinetiğini düzenleyerek büyük ölçüde azaltabilirler [23,24].

Özellikle, aktifleştirilebilen teranostik nanopartiküllerin kanser tedavisinde kullanımı, moleküler hedefin hastada varlığı tanımlanana kadar ilaç kaybının en aza indirilmesini sağlamakla beraber, teranostik nanopartiküllerin hedefe ulaştığını ve uygulanan tedavinin çalıştığını gösterebilir. Son zamanlarda, tümör hücrelerine organik olarak çözünebilir antikanser ilaçları ileten ve tümörleri MRG için etkili bir şekilde işaretleyen pH ile aktifleştirilebilen teranostik ajanlar geliştirilmiştir [23]. Tümörlerin hücre dışı pH'sı, tümörlerin mikro ortamı nedeniyle kan ve normal dokulardan (pH 7,4) daha asidiktir (pH 5-6), yani laktik asit tümörler tarafından üretilir ve hücre dışı bölgelere salınır. Bu gerçek, normal fizyolojik koşullarda inaktif kalırken düşük pH değerlerine sahip kanser hücrelerine spesifik olarak cevap verebilen ilaç taşıyıcıları geliştirmek için aktif olarak kullanılmaktadır [25]. Bu pH'ya duyarlı ilaç taşıyıcılarının ilaç salım profilleri, pH değerinin bir fonksiyonu olarak anlaşılabilir. Bu nedenle, teranostik nanotaşıyıcıların pH'ya duyarlı ek fonksiyonu, kanser tedavisi için güçlü, çok işlevli, hepsi bir arada bir sisteme yol açabilir. Bu yöntemde, ilaç taşıma bölgesi MRG tespit bölgesine denk gelir. Ayrıca, hedef bölgeye ulaşıldığında, verilen ilacın miktarını ve salım süresini tahmin etmek için kullanılabilen ilaç salım profili, tedavi etkinliğini değerlendirmek için yakından izlenebilir. Bu özellikler, hastaya özgü ilaç uygulama stratejileri için karar verme sürecine büyük ölçüde yardımcı olabilir, yenilikler yaratacak ve nanotıpta kritik rol oynayacak etkili kanser tedavisinin tam uygulanmasına yaklaşabilir [23].

İlaç Ve Gen Taşıyıcı Sistemler

İlaç ve gen taşıyıcı sistemler, ilaç, gen ya da görüntüleme ajanları taşıyarak, tanısal görüntüleme ve/veya tedavi amaçlı maddelerin hedef organ ya da dokuya güvenli, kontrollü ve etkin bir şekilde ulaşmasını sağlar. Nanoilaç ve gen taşıyıcıların ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılması sayesinde kan-beyin bariyeri, solunum sistemindeki bronşiyoller ve derideki sıkı bağlantılar gibi çeşitli anatomik ve biyolojik yapıların aşılmasıyla taşınan maddenin hedef dokuya ulaştırılması sağlanır [26]. Farklı

nanotaşıyıcı sistemler geliştirmek amacıyla lipid, polimer ve inorganik bazlı yapılar kullanılır. Polimerik konjugatlar, polimerik miseller, polimerik nanopartiküller, altın nanopartikülleri, dendrimerler, lipozomlar ve kuantum noktaları üzerinde en çok çalışma yapılan ve geliştirilen nanotaşıyıcı sistemlerdir [27] (Şekil 2).



Şekil 2. Nanotaşıyıcı sistem çeşitleri.

Etkin Madde-Polimer Konjugatları

Polimerik moleküllerin ilaçlarla veya fonksiyonel görüntüleme ajanlarıyla (etkin madde) kovalent bağlanmasıyla etkin madde-polimer konjugatları oluşturulabilir. Polimer konjugatları, biyoaktif polimerik ilaçları, polimer-ilac/görüntüleme ajanı konjugatlarını ve polimer-protein konjugatlarını kapsamaktadır [28].

Peptid-protein yapısındaki biyolojik moleküller ilaç etkin maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu moleküllerin konjugasyon yaptığı polimerler; polikaprolakton, polietilen, polietilenglikol, polietilen oksit, polilaktik asit, poli (laktik-ko-glikolik asit) olarak sıralanabilir. Günümüzde, polietilen glikol, peptid-protein ilaçların formülasyonunda en fazla kullanılan polimerdir [29,30].

Teranostik uygulama için, Jackson ve ark., poli (L-glutamik asit) (PGA)-paklitaksel (PGA-PTX) ve PGA-Gadolinium (PGA-Gd) konjugatlarının ardışık uygulaması ile tedaviye bağlı tümör nekrozunun MR ile görüntülenmesini bildirmişlerdir [31]. Bu çalışmada, insan Colo-205 ksenograft ve sinojenik murin OCA-1 yumurtalık tümörleri kullanılmıştır. Nekrotik tepki, PGA-PTX konjugatı ile muamele edilerek indüklenmiştir. Kontrast enjeksiyonundan hemen sonra ve 4 güne kadar T1 ağırlıklı spin eko görüntüleri elde edilmiş ve buna karşılık gelen histolojik örneklerle karşılaştırılmıştır. Kontrol olarak iki düşük moleküler ağırlıklı kontrast maddeler olan DTPA-Gd ve oligomerik L-PGA-DTPA-Gd kullanılmıştır. Başlangıçta, L-PGA-DTPA-Gd veya D-PGA-DTPA-Gd enjeksiyonunu takiben minimal miktarda tümör görüntülenebilirken, düşük moleküler ağırlıklı ajanların enjeksiyonu ile görüntüleme hızı bir artış olmuştur. Bununla birlikte, polimerik kontrast maddelerinin (ancak düşük moleküler ağırlıklı kontrast ajanlar değil), hem PGA-PTX ile tedavi edilen tümörlerde hem de tedavi edilmemiş tümörlerde, tümör nekrozu bölgelerinde sürekli biriktiği tespit edilmiştir. Bu veriler, polimerik MR kontrast maddelerinin nekrotik dokuya spesifik lokalizasyonu için in vivo biyodegradasyon yerine yüksek moleküler ağırlığın gerekli olduğunu göstermektedir. Araştırmacılar, PGA-DTPA-Gd kullanılarak yapılan MR görüntüleme ile tedaviye bağlı nekrozun invaziv olmayan karakterizasyonu için yararlı bir teknik olabileceğini sonucuna varmışlardır [31].

Vaidya ve ark., kontrastlı-MRG'nin iki işlevli PGA-fotosensitizer/Gd çift konjugatı ile ksenograft tümörleri üzerindeki fotodinamik tedavinin etkinliğini bildirmiştir [32]. Işığa duyarlılaştırıcı ajan olan mezoklorin e6 ve MRG kontrast maddesi olan Gd (III)-DO3A kullanarak pegilatl ve pegile olmayan PGA konjugatları sentezlemişlerdir. Pegilasyonun biyodağılım ve tümör hedeflemesi üzerindeki etkisi, MR ile MDA-MB-231 tümör ksenograftları taşıyan farelerde invaziv olmayan bir şekilde görüntülenmiştir. Tümör taşıyan farelere MRG eşliğinde fotodinamik tedavi uygulanmıştır. Fotodinamik tedaviye tümör yanıtı, dinamik kontrastlı MRG ve histolojik analiz ile değerlendirilmiştir. Pegilatl konjugenin MRG'de gösterildiği gibi pegile olmayan konjugattan daha uzun kan dolaşımı, daha düşük karaciğer alımı ve daha yüksek tümör birikimi olduğu görülmüştür. Tümörlerin bölgeye yönelik lazerle ışınlanması, pegilatl konjugat için pegile olmayan konjugattan daha yüksek terapötik etkinlik ile sonuçlanmıştır. Ayrıca, fotodinamik tedavi ile tedavi edilen hayvanlar, histolojik analizde DCE-MRG'de vasküler geçirgenliğin ve mikrodamar yoğunluğunun azaldığını göstermiştir. Polimer iki işlevli konjugatların pegilasyonu, spesifik olmayan karaciğer alımını azaltarak tümör alımını artırmıştır, bu da tümör kontrastının artmasına ve yüksek terapötik etkinliğe neden olmuştur. Araştırmacılar, pegilatl PGA bifonksiyonel konjugatının, kanser tedavisinde kontrastlı MRG kılavuzluğunda fotodinamik tedavi için umut verici olduğu sonucuna varmışlardır [32].

Tan ve ark. tarafından yayınlanan bir derlemede de, tümör damarlarının hiper geçirgenliği nedeniyle PGA konjugatının tercihen tümör bölgesinde biriktiği ve kontrastlı MRG ile doğru lokalizasyon ve görüntüleme tümör kontrastının artmasına neden olduğu bildirilmiştir [33].

Polimerik Miseller

Miseller, lipid veya polimer yapıda, boyutları onlu nanometrelerde, küresel ya da tabakalı yapılardır. Hidrofilik bir kabuk ve hidrofobik bir çekirdekte oluşan polimerik bir misel yapısı, ayarlanabilir boyutu ve yüzey işlevselliği, yüksek monodispersite ve mükemmel stabilitesi nedeniyle ilaç taşıma sistemi olarak sıklıkla kullanılmaktadır [34]. Misellerin en önemli özelliği, taşıdığı hidrofilik ve hidrofobik gruplar sayesinde, çözünürlüğü az olan vitaminler, enzimler, steroidler gibi etkin maddeleri çözünür hale getirmeleri ve bu sayede organizmada emilimlerini arttırmalarıdır. Ayrıca misellerin ilaç taşımada kullanılan diğer nanopartiküllere göre daha düşük toksisiteye sahip olma, hazırlama kolaylıkları, yüksek yükleme verimliliği ve yapısal esneklikleri gibi avantajları nedeniyle teranostik uygulamalarda kullanımları vardır [35,36].

Kaida ve ark., klinik olarak onaylanmış Gd bazlı MRG kontrast maddeleri ve Platin (Pt) antikanser ilaçlarını içeren çok fonksiyonlu polimerik misel nanotaşıyıcıları kullanarak, insan pankreatik tümörün eşzamanlı görüntüleme ve tedavisini başarıyla gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir [37]. Miseller tarafından elde edilen güçlü tümör kontrastı artışı, bugüne kadar bildirilen klinik olarak onaylanmış Gd şelatlarını kullanan formülasyonlar için en yüksek olan, Gd şelatlarının r1'in 24 kat artışı ile korelasyon göstermiştir. Lezyonların mikrosinkrotron radyasyon X-ışını floresans spektrometri taramasından hem Gd şelatlarının hem de miseller tarafından verilen Pt ilaçlarının tümör iç kısmında seçici olarak renklendirildiğini göstermişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmanın yüksek kontrastlı ve bölgeye özgü klinik potansiyele sahip teranostik misellerin tasarımı için yeni bilgiler sunduğunu vurgulamışlardır [37].

Bir başka çalışmada, kontrollü ilaç iletimi ve etkili MRG kontrast özelliklerine sahip $\alpha\beta3$ integrinleri ile kanser hedefleme özelliğine sahip çok fonksiyonlu polimerik miseller geliştirilmiştir [38]. Doksorubisin (DOX) ve bir süperparamanyetik demir oksit nanopartikül grubu, misel çekirdeğinin içine başarıyla yüklenmiştir. Misel yüzeyindeki siklik arginin-glisin-aspartat (cRGD) varlığı, $\alpha\beta3$ eksprese eden tümör hücrelerine hedefli iletimi sağlamıştır. *İn vitro* MRG ve sitotoksikite çalışmaları, bu çok fonksiyonlu polimerik misellerin ultrasensitif MRG'yi ve $\alpha\beta3$ 'e özgü sitotoksik cevabını göstermiştir [38].

Polimerik Nanopartiküller

Klinik olarak en çok kullanılan nanoplatform, metalik olmayan nanopartiküller ve daha spesifik olarak polimer bazlı nanopartiküllerdir. Polimerik nanopartiküller, genellikle amfifilik polimerler, kemoterapötikler veya görüntüleme ajanları gibi hidrofobik moleküller için iç çekirdekler ve spesifik hastalık biyobelirteçlerini hedeflemek amacıyla ligand konjugasyonu için bir dış kabuk içerirler. Polimerik nanopartiküller biyoyumlulukları, stabiliteyi, yüklü ilaç/teşhis maddesinin korunması ve kontrollü/sürekli salım nedeniyle teşhis ve terapötik ajanın hedefe birlikte verilmesi amacıyla teranostik

uygulamalarda kullanılmaktadır. Polimerik nanopartiküller, monomerlerin polimerizasyonu veya polimerlerin dispersiyonu yöntemleri ile hazırlanırlar [39,40].

Liu ve ark. tarafından, eş zamanlı tümör MRG ve tedavisi için çok fonksiyonlu pH'ya duyarlı polimerik nanopartikül sistemi geliştirilmiştir [41]. Nanopartiküllerin yüzeyine anti-hepatosellüler karsinom ilacı olan sorafenib yüklenmiş ve Gd iyonları nanopartikül yüzeyinde dağıtılan DTPA gruplarına şelatlanmıştır. Biotinile vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR) antikorları, hedef pH'ya duyarlı teranostik nanopartikülleri oluşturmak için avidin bağlayıcı yoluyla nanopartiküllerin yüzey biyotin gruplarına bağlanmıştır. *İn vivo* anti-tümör çalışmalarında, pH'ya duyarlı teranostik nanopartiküller, H22 tümörü (VEGFR aşırı ekspres edilen hücre hattı) taşıyan farelerde, çözündürülmüş sorafenib çözeltisi grubuna kıyasla önemli ölçüde daha yüksek antitümöral etki göstermiştir. Pozitif bir kontrast maddesi olarak, pH'ya duyarlı teranostik nanopartiküller, tümör taşıyan farelerin MRG tanısında Magnevist® ile karşılaştırıldığında daha yüksek çözünürlük ve daha uzun görüntüleme süresi sergilemiştir. Tüm bu sonuçları değerlendiren araştırmacılar, pH'ya duyarlı polimerik nanopartiküllerin, yeni çok işlevli teranostik ajanların geliştirilmesi için umut verici bir platform olabileceği sonucuna varmışlardır [41].

Pan ve ark. tarafından, mitokondriyal hedefleme/görüntüleme, kanser/normal hücre farklılaşması, erken evre kanser tanısı ve mitokondriye dayalı fototermal tedavi yapabilen teranostik nanopartiküller geliştirilmiştir [42]. Nanopartiküller, misel oluşturan kopolimeri Pluronic F127'nin (PF127) iç çekirdeğine yakın kızıl ötesi (NIR) heptametin siyanin boyası me-IR825'in fiziksel kapsüllenmesi ile üretilmiştir. PF127/me-IR825 nanopartikülleri ~610 nm'de ve 845 nm'de iki floresan emisyonu sergilemiştir. Birincisi, *in vitro* mitokondriyal floresan görüntüleme, kanser/normal hücre farklılaşması ve yüksek floresan kontrastlı erken evre kanser tespiti için kullanılırken, ikincisi, *in vivo* NIR floresan görüntüleme için kullanılmıştır. Nanopartiküller, yüksek bir güç yoğunluğunda 808 nm'lik bir lazerle ışılandıktan sonra hem *in vitro* hem de *in vivo* mükemmel fototermal tümör ablasyonu elde etmiştir. Ayrıca, PF127/me-IR825 nanopartiküllerin iç çekirdeğindeki me-IR825, fototermal tedavi işleminden sonra nanopartiküllerin tedavi sonrası biyogüvenliğini garanti eden biyoyumlu ürünlere ayrıştırılabilmektedir. Araştırmacılar, iyi kolloidal dağılıbilirlik/stabilite, mükemmel kanser/normal hücre farklılaşma yeteneği ve mükemmel *in vivo* çift model görüntüleme güdümlü terapötik sonuç sağlayan PF127/me-IR825 nanopartiküllerin, biyomedikal alanındaki uygulamalar için bir teranostik nanoplatform olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır [42].

Altın Nanopartikülleri

İnorganik nanopartiküller, gelişmiş sentez teknikleri sayesinde yüzey fonksiyonelleştirme etkinliği ile ligandları/terapötik molekülleri hedefe ileterek moleküler görüntüleme amacıyla kullanılmaktadır. Sentezlenen çok sayıda metalik nanopartikülden altın nanopartikülleri, düşük

toksisiteleri ve benzersiz yüzey özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalar için en yüksek potansiyele sahiptir.

Altın nanopartikülleri çok çeşitli çaplar, altın nanorodlar gibi değişen en-boy oranları ve altın nanoküreler, nanoküpler ve nanokafesler gibi benzersiz şekillerle sentezlenebilir. Altın nanopartiküllerinin şekil ve boyutundaki değişiklikler, lokalize yüzey plazmon rezonansında (LSPR) spesifik değişikliklere neden olur ve bu da altın nanopartiküllerinin optik ve termal özelliklerini belirler. Belirli LSPR'ye ayarlı bir lazer enerjisi ile ayarlandıklarında, altın bazlı nanomateryaller doku ablasyonu için yüksek sıcaklıklara neden olan güçlü titreşim enerjisi sergiler. Altın nanopartikülleri bir tümör bölgesine hedeflendiğinde, tümör dokusunu, özellikle kullanımı zor bölgelerde ablatmak için fototermal terapi uygulanabilir. LSPR'nin *in vivo* yeteneklerinden yararlanmak için altın nanopartikülleri doku derinlemesine nüfuz eder. Tedaviye ek olarak, altın nanopartikülleri spesifik moleküler biyobelirteçleri tespit etmek için kullanılabilen LSPR nedeniyle etkili floresan söndürme özelliklerine sahiptir. Ek olarak, altın nanopartikülleri, yüksek atom sayıları ve X-ışını absorpsiyon katsayıları nedeniyle bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüleme ajanları veya radyoterapi duyarlılaştırıcılar olarak kullanılabilir. Köklü yüzey konjugasyon yöntemleri ile birleştiğinde, altın nanopartikülleri kişiselleştirilmiş tedavide etkili nanoterapötikler olarak hizmet edebilmektedir [20,43].

Xiao ve ark., hedefli antikanser ilaç iletimi ve tümörlerin PET görüntülenmesi için çok fonksiyonlu altın nanorod (GNR) tabanlı teranostik nanoplatform geliştirmişlerdir [44]. Bir antikanser ilaç olan DOX, pH'ya duyarlı kontrollü ilaç salımı sağlamak için bir hidrazon bağı yoluyla pegilattlı GNR nanotaşıyıcıları üzerine kovalent olarak konjuge edilmiştir. Tümör hedefli ligandlar (siklo (Arg-Gly-Asp-D-Phe-Cys) peptitleri, cRGD) ve Cu-64-şelatörleri (1,4,7-triazasiklononan-N, N', N''-triasetik asit (NOTA)), sırasıyla aktif tümör hedefleme ve PET görüntüleme elde etmek için PEG kollarının uzak uçları üzerine konjuge edilmiştir. Akış sitometri analizine göre, cRGD-konjuge nanotaşıyıcıları (GNR-DOX-cRGD), hedeflenmemiş olanlara göre (GNR-DOX) daha yüksek bir hücre alımı ve sitotoksite sergilemiştir. Bununla birlikte, GNR-DOX-cRGD ve GNR-DOX nanotaşıyıcılarının, *in vivo* PET görüntüleme ve biyodağılım çalışmalarına göre benzer biyodağılımlara sahip olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar, GNR'lerin benzersiz optik özellikleri nedeniyle, bu çok fonksiyonlu GNR tabanlı teranostik nanoplatformun, kombine kanser terapileri (kemoterapi ve fototermal terapi) ve çok modlu görüntüleme (PET, optik, X-ışını BT vb.) için potansiyel olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır [44].

Dendrimerler

Dendrimerler, oldukça dallanmış bir küresel polimer içeren sentetik makromoleküllerdir. Nanoteranostik olarak kullanılan dendrimerlerin partikül boyutu genellikle 10-100 nm'dir [39]. Dendrimerler; çekirdek, dallar ve reaktif gruplar olmak üzere üç kısımdan oluşur. Yüksek etkin madde

yükleme kapasiteleri, kolay hazırlanabilmeleri, stabil olmaları, aktif hedeflendirmede etkin olmaları ve fonksiyonelleştirilebilir olmaları nedeniyle ilaç taşıyıcı sistem olarak sıklıkla kullanılırlar [45].

Saad ve ark., *in vitro* ve *in vivo* uygulamalar için paklitaksel ve teşhis maddesi (Cy5.5) taşıyan bir teranostik dendrimer geliştirmiştir [46]. Kanseri hücrelerinin zarında aşırı ekspresye edilen reseptörlere hedeflenen lüteinize edici hormon salan hormon (LHRH) peptidinin sentetik bir analogu, tümör hedefleme parçası olarak dendrimere bağlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, tümör hedefli teranostik dendrimerin yüksek hücre alımına, sağlıklı organlar üzerindeki olumsuz etkiyi azaltan ve floresan problemleri kullanarak kanser görüntülemenin özgüllüğünü ve duyarlılığını arttıran hedeflenmiş paklitaksel birikiminin eşlik ettiği görülmüştür. Araştırmacılar, LHRH reseptörü hedefli dendrimerin teranostik olarak kullanılabilirliği sonucuna varmışlardır [46].

Başka bir çalışmada, Taratula ve ark., ftalosiyanıninler (Pc) tümöre hedeflenmesi için yeni bir dendrimer bazlı teranostik sistem geliştirmiştir [47]. Biyouyumluluk ve tümör hedefli iletimin sağlanabilmesi için, sistemin yüzeyi sırasıyla PEG ve LHRH peptit ile modifiye edilmiştir. Dendrimer bazlı nanotaşıyıcıda tutulan sentezlenmiş Pc türevi, etkili bir fotodinamik terapi ve floresan görüntüleme için gerekli olan belirgin bir NIR absorpsiyonu (700 nm) ve floresans emisyonu (710 ve 815 nm) sergilemiştir. Geliştirilen nanotaşıyıcının *in vitro* hücre içi lokalizasyonunun ve *in vivo* organ dağılımının, kapsüllenmiş Pc'nin kendinden floresans özelliklerine göre belirlenebilir olduğu gösterilmiştir. *In vivo* görüntüleme çalışmaları, LHRH'nin hedeflediği teranostik dendrimerin tümör birikimlerini göstermesinin yanı sıra *in vitro* çalışmalar da teranostik dendrimerin kanser hücrelerine etkili bir içselleştirme yapabildiğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar, dendrimerlerin etkili bir NIR teranostik ajanı olarak önemli potansiyele sahip olduğunu vurgulamışlardır [47].

Lipozomlar

Lipozomlar, sulu bir merkezi alanı çevreleyen, kendiliğinden birleşen küresel, kapalı kolloidal, çift katlı lipit tabakalardır. Lipozomlar, ilaç ve gen taşıma amaçlı üzerinde sıklıkla çalışılan nanopartiküller formülasyonudur. Lipozomal formülasyonların vücuda alındıktan sonra makrofajlar tarafından yakalanmaması için yüzeylerine hidrofilik karbonhidrat veya polimerler eklenmesiyle yüzeyi modifiye edilmiş lipozomlar oluşturulur. Bu yüzey modifikasyonu sayesinde dolaşımdan hızlıca uzaklaşma sorunu çözümlenmiş, lipozomal formülasyonlara kanda belirgin bir şekilde artan yarı ömür sağlanmıştır [48,49].

Saeso ve ark., teranostik özelliğe sahip anti-CD20 (Rituximab; RTX) ile fonksiyonelleştirilmiş süperparamanyetik demir oksit nanopartiküllerinden oluşan, boyutu 140-190 nm olan ve negatif yüklü yüzeylere sahip küresel lipozomlar üretmişlerdir [50]. RTX konjuge lipozomun neden olduğu B-lenfoma hücrelerinde hücre içselleştirmesi ve apoptoz etkisi nedeniyle, kan-beyin bariyeri için etkili bir ilaç taşıyıcı sistem olduğu vurgulanmıştır [50].

Wen ve ark., beyine hedefli, kuantum noktaları ve apomorfine yüklü teranostik lipozomlar geliştirmişlerdir [51]. Lipozomların etkinliği, *in vitro* beyin endotel hücre alımı ve *in vivo* biyogörüntüleme ile değerlendirilmiştir. *In vitro* hücre alım çalışması, reseptör aracılı endositoz yollarından lipozomların iletimini doğrulamıştır. Kuantum noktalarından kaynaklanan floresans, biyogörüntüleme sırasında görüntülenmiştir. Serbest kuantum noktalarına kıyasla, teranostik lipozomlar önemli bir dağılım göstermiştir. Kuantum noktaları yüklü lipozomların beyin tutulumu, serbest lipozomlara göre artış göstermiştir. Beyindeki floresans, lipozomal grup için 1 saat görüntülenmiş ve serbest kuantum noktalarının beyinden hızla elimine olarak, karaciğerde 35 dakikaya kadar daha fazla tutulum gösterdiği görülmüştür. Araştırmacılar bu çalışmayla, kanser teşhisi ve tedavisi için teranostik lipozomları kullanarak hayvan modellerinde biyogörüntülemenin ön çalışmasını yapmışlardır [51].

Benzer şekilde başka bir çalışmada, Al-Jamal ve ark., sitotoksik ilaç (DOX) yüklü bir teranostik lipozom geliştirmişlerdir [52]. Fizyolojik koşullarda dağılım sağlaması için, lipit tabakalarına kuantum noktaları yüklemişlerdir. İlacın başarılı bir şekilde yüklenmesi, hibridlerin içindeki DOX kristallerinin gözlemlenmesi ile doğrulanmıştır. Teranostik lipozomlar, hücreler tarafından alınarak, sitotoksitede önemli bir artışla kanıtlandığı üzere, ilacı hücre içinde serbest bırakmışlardır [52,53].

Kuantum Noktaları (QD)

Kuantum noktaları (QD), 2-10 nm arasında değişen boyutlara sahip, yarı iletken nanokristallerdir. QD'ler birkaç benzersiz optik özelliğe sahiptir. Örneğin, foto-ağartmaya, büyük emilim kesitine, nispeten uzun floresan ömrüne ve %70-80 kadar büyük olabilen iyi kuantum verimine karşı mükemmel direnç gösterirler [54]. QD'ler mükemmel floresan probalar ve nano-vektörler olup, dar emisyon ve geniş uyarma spektrumları, ilgili birkaç molekülün dinamiklerini *in vivo* veya *in vitro* olarak izlemeyi mümkün kılar [55].

QD'ler tipik olarak periyodik tablonun II-VI (örn: CdSe ve CdTe) veya III-V (örn: InP ve InAs) grubundaki yarı iletken malzemeleri içerirler. Yarı iletken QD'ler nanometre boyutunda olup, gelişmiş sinyal parlaklığı ve kararlılığı ile eşsiz optik ve elektronik özellikleri sağlar. Farklı dalga boyları yayan QD'ler ile birden fazla tümör bölgesinin aynı anda görüntülenmesi ve izlenebilmesi mümkündür. Bu durum QD'lerin kanser hücrelerini saptama özgüllüğünü ve duyarlılığını artırmaktadır [56].

2017 yılında yayınlanan bir çalışmada Huang ve ark., ilaç yüklü polimer ile kaplanmış QD'lere dayanan yeni bir nanoteranostik sistem geliştirmiştir [57]. Geliştirdikleri sisteme, antitümöral ilaç PTX ve lipoik asit (LA) yüklemişlerdir. Sistem, UV ışığına (365 nm) maruz bırakıldığında, LA disülfür bağı iki sülfidre ayrılmıştır, bu da nanoteranostik bir sistem oluşturmak için CdSe/ZnS QD'lerin yüzeyine yapışabilmektedir. Bu yeni sistem, ilaç ve polimer arasındaki ester bağlantısı nedeniyle kontrollü ilaç salım davranışı sergilemiştir. Araştırmacılar, tipik kanser hücre çizgilerini kullanarak, bu nanoterapötik sistemin *in vitro* kanser tanı ve tedavisinde umut verici olduğu sonucuna varmışlardır [57].

Bagalkot ve ark., QD-aptamer (Apt)-DOX konjugatından [QD-Apt (DOX)] oluşan yeni bir teranostik sistem geliştirmişlerdir [58]. Bu amaçla, floresan QD yüzeyini prostat spesifik membran antijeninin (PSMA) hücre dışı alanını tanıyan A10 RNA aptamer ile fonksiyonelleştirerek, PSMA proteinini eksprese eden prostat kanseri hücrelerinin diferansiyel alımını ve görüntülemesini yapabilen hedeflenmiş bir QD görüntüleme sistemi (QD-Apt) geliştirmişlerdir. Bu basit çok işlevli nanopartikül sistemi DOX'u hedeflenen prostat kanseri hücrelerine iletmekte ve eş zamanlı olarak kanser hücrelerini görüntüleyen QD floresansını aktive ederek DOX'un iletimini algılayabilmektedir. Araştırmacılar, bu nanopartikül konjugatının *in vitro* kanser görüntüleme, tedavi ve algılama sistemi olarak özgüllüğünü ve duyarlılığını göstermişlerdir [58].

Nanogörüntüleme Yöntemleri

Nanoteknolojinin tıpta en önemli kullanım alanı, teranostik uygulamalarıdır. Teranostik nanopartiküller biyolojik engelleri aşarak, hastalıkların tanısı, tedavisi ve tedavi yanıtının takibini sağlamaktadır. Bu amaçla nanoteknoloji ve nükleer tıp teknikleri olan SPECT ve PET ile görüntüleme, tedavi ve yeni nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi sağlanmaktadır [59]. Nükleer tıp görüntüleme tekniklerinin yanı sıra anatomik görüntüleme tekniği olan MRG de teranostik uygulamalar için sıklıkla kullanılan bir görüntüleme tekniğidir.

Tek Foton Emisyon Tomografisi (SPECT)

SPECT görüntüleme sisteminde, uygulama üzerine ilgili dokudan yayılan γ radyasyon dozunu tespit etmek için bir kamera sistemi kullanılır. Tipik olarak, Tc-99m, I-133 ve Ga-67 gibi radyonüklidler uygulanır. Bu radyonüklidlerin hem hedef ligandları hem de bir teranostik olarak kullanılmak üzere bir ilacı içeren bir nanopartikül platformuna bağlanması, onu hedef doku alanlarına yönlendirmeye yardımcı olur. Hedef dokuda birikim sağlandıktan sonra, gama detektörleri vücut etrafında döndürülerek ışın yayan dokunun tam yeri saptanır. Ayrıca, sağlanan 360 derecelik görüntüler ile ilgili alanın üç boyutlu görüntüleri üretilebilir. Hassas ölçüm yapabilmesi, küçük arka plan artefaktı, sinyal amplifikasyonu gerektirmemesi, PET'ten daha ucuz olması, kullanılan radyonüklidlerin uzun yarı ömürlü olması, aynı anda birden fazla radyonüklid tespit edilebilmesi, yüksek hassasiyete sahip olması ve kantitatif olması SPECT kullanmanın avantajları arasında yer alırken, düşük uzaysal çözünürlük içermesi, yüksek maliyetli olması, radyasyon kullanımı ve ekipmanların nispeten hantal boyutu sistemin dezavantajları arasında yer alır [60,61].

Kao ve ark., epidermal büyüme faktörü reseptörü eksprese edilmiş A549 insan akciğer kanseri için I-131 ile işaretli yeni bir teranostik ajan olan immüno altın nanopartikülün tümör hedeflemesini ve terapötik etkinliğini değerlendirmiştir [62]. MikroSPECT/BT kullanılan bu çalışmada, araştırmacılar, I-131 ile işaretli radyo immüno altın nanopartiküllerinin epidermal büyüme faktörü reseptörü eksprese

kansere karşı yeni bir hedefe yönelik görüntüleme ve tedavi yaklaşımı sağlayabileceği sonucuna varmışlardır [62].

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET)

PET sisteminde görüntüler elde edebilmek için In-111, Cu-64 ve F-18 gibi kısa yarı ömre sahip olan radyonüklidler ve bunlardan dolayı olarak yayılan γ ışınları kullanılır. SPECT'in aksine, radyonüklid, zıt yönlerde iki kamera tarafından tespit edilen iki ışın üretmeden önce bir elektronla etkileşim kurmak için kısa bir mesafe kat eden bir pozitron yayar. PET kullanımının avantajları, doğrudan üç boyutlu bir görüntü oluşturması, SPECT'ten daha yüksek hassasiyete sahip olması ve görüntü üretebilmek için düşük konsantrasyonda radyonüklid gerektirmesidir. PET kullanımının dezavantajları ise, kullanılan radyonüklidlerin üretimlerinin pahalı olması, mekânsal çözünürlük sınırlamaları, ekipman maliyeti, bir seferde sadece bir radyonüklidi görüntüleyebilmeleri ve radyasyon maruziyetidir [60,63].

Chen ve ark., PET görüntüleme kontrast ajan olarak kullanılmak üzere biyoyumlu mezoporöz silika nanopartiküllerini sentezlemiştir [64]. Tiyol grupları ile yüzey fonksiyonelleştirmesi, PEGilasyon ve TRC105 antikoru (CD105/endoglin için spesifik) ile konjugasyonu içeren 80 nm boyutundaki partiküller, Cu-64 ile işaretlenerek meme kanseri tümöründe in vivo etkili bir şekilde birikerek tümöre DOX'u başarılı bir şekilde iletmıştır. Araştırma ekibi, bu sistemin gelecekte teranostik olarak kullanılabilme potansiyeli olduğunu vurgulamıştır [64].

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)

MRG, esas olarak vücutta yüksek çözünürlüklü anatomik görüntüler elde etmek için kullanılırken, aynı zamanda milimetre altı çözünürlük ile mükemmel kontrast sağlamada kullanılan yaygın bir görüntüleme tekniğidir. Ayrıca, fizyokimyasal durumların belirlenmesi için kullanılır ve fonksiyonel MRG ayrıntılı nörolojik bilgi verebilir. MRG, invaziv olmaması ve görüntüleri elde etmek için iyonlaştırıcı olmayan radyasyon kullanması nedeniyle, X-ışını ve bilgisayarlı tomografi gibi diğer anatomik görüntüleme tekniklerine göre birçok avantaja sahiptir. Üretilen görüntüler üç boyutludur ve fizyolojik dokular arasındaki gevşeme süreleriyle elde edilir. Bu gevşeme sürelerindeki farklılıklar, uzunlamasına (T1) veya enine (T2) olabilir ve öncelikle büyük miktarda görüntü kontrastı üretmek amacıyla kullanılır. MRG kullanımının dezavantajı ise, donatılması ve bakımı pahalı olan lantanit bazlı kontrast maddelerine duyulan gereksinimdir ve bu görüntüleme sistemi tıbbi cihazlar implante edilmiş hastalarda kullanılamaz [60].

Wang ve ark., DOX ve plazmid DNA ile yüklenmiş ve akciğer ve prostat kanseri hücrelerini hedefleyen bir T2 kontrast maddesi olarak kullanılmak üzere kitozan manyetik nanopartiküller geliştirmiştir [65]. Sistem, hem terapötiklerin etkili bir şekilde iletilmesi hem de terapötik etkilerin

gerçek zamanlı olarak izlenebilmesi sayesinde tümörlerin gelişmiş MRG ile T2 ağırlıklandırmasında güçlü bir kontrast artışı göstermiştir. Bu sonuçlar, multifonksiyonel kitozan manyetik nanopartiküllerin sağlam ve güvenli bir teranostik platform sağladığını göstermektedir [65].

Nanoprobalar

Nanoprobalar, 2-500 nm arasında değişen boyutlarda küre, çubuk, kabuk, yıldız, kafes, hilal, kutu veya prizma şeklindeki cihazlardır. Biyomedikal alanda kullanılan çoğu nanoprobun boyutu ise 10-100 nm arasındadır. Nanoprobalar, görüntüleme ve fototermal terapi için etkili kontrast maddeleri ve terapötikleri ilaç taşıyıcı araçlar olarak hedefe iletirler. İmalat kolaylığı, kimyasal kararlılık, çok işlevsellik ve biyouyumluluk gibi özellikleri nedeniyle nanoprobalar, teşhis ve tedavi için son derece çekici hale gelmiştir [66].

Aktive edilebilir prob tasarımları, moleküler işaretlere benzemektedir. Örneğin; floresanla aktive edilebilir probalar, biyolojik yolda, hedefli biyobelirteç peptidi tarafından belirli bir substratın bölünmesi üzerine lokalize bir floresan sinyali aktive edebilir [67,68]. Bununla birlikte, moleküler işaretler baskın olarak sadece *in vitro* uygulamalar için oligonükleotitleri tanımlarken, nanopartikül bazlı aktive edilebilir probalar *in vitro* diagnostiklerin ötesine geçerek, *in vivo* önemli hastalık durumlarını tanımlar [69].

Apoptoz, hücrenin çekirdeğinde meydana gelen, genetik olarak programlı bir hücre ölüm biçimidir. Apoptoz aşamasında hücrede kaspazlar aktive olur. Kaspazlar; başlatıcı kaspazlar (kaspaz-8,9), etkileyici kaspazlar (kaspaz-3,7) ve inflamatuvar kaspazlar olmak üzere üçe ayrılır. Vücudumuzda günde 2000 adet tümör hücresi oluşup apoptoz mekanizmasıyla yok edilmektedir. Hücrede apoptoz mekanizmasının ortaya konması, başta kanser olmak üzere, kalp hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar ve AIDS gibi birçok hastalığın tanı ve tedavisi için önemli rol oynar [70].

Bir çalışmada Kim ve ark., kaspaz-3 ve kaspaz-7 etkileyici kaspazları tarafından spesifik olarak aktive edilebilen, hücre geçirgen ve biyouyumlu polimerik nanopartikülleri sentezlemişlerdir [71]. Kaspaz-3 ve kaspaz-7'nin sistein proteazları, spesifik olarak tetra motif Asp-Glu-Val-Asp'nin (DEVD) N-terminalini ayırmaktadır. DEVD'nin bu tetrapeptit motifinden, tek hücre düzeyinde apoptoz görüntüleme, kaspaz spesifik problemleri geliştirmek için yararlanılmıştır. Prob olarak, etkileyici kaspaza özgü NIR floresan probu olan Cy5.5-DEVD kullanılmıştır. Kaspaz-3'ün varlığında, bir apoptotik işaretleyici olan substrat hidrolize edilerek boya serbest bırakılmış ve floresan yaklaşık on kat artışta aktive edilmiştir. Bu polimerik nanopartikül, hücre içermeyen durumda ve hücre kültürü sisteminde hem kaspaz-3 hem de kaspaz-7 ile etkili ve spesifik olarak ayırmıştır. Araştırmacılar, canlı hücrelerde apoptozun gerçek zamanlı olarak görüntülenmesini sağlayabilen otomatik olarak tasarlanmış bir görüntüleme probu geliştirerek, bu sistemin apoptoz inhibitörleri veya indükleyicileri için hücre bazlı yüksek verimli filtrelerdeki apoptozu ölçmek için kullanılabileceği sonucuna varmışlardır [71].

Başka bir polimerik nanopartikül sistemi, kaspaz-3 ile *in vitro* ve *in vivo* etkileşime girdiğinde floresan sinyalinin arttırmak için Lee ve ark. tarafından tasarlanmıştır [72]. Polimerik nanopartikül platformuna göre hazırlanan yeni apoptoz nanoprobuyla (Apo-NP), canlı hücrelerde apoptoz sırasında floresan sinyallerinin artabileceği ve apoptozun tek bir hücrede ve *in vivo* olarak gerçek zamanlı görüntülenmesinin sağlanabileceği sonucu bulunmuştur. Apo-NP, kimyasal olarak işaretli, çift-söndürülmüş kaspaz-3-duyarlı florojenik peptitleri hücrelere etkin bir şekilde vererek kaspaz-3-bağımlı güçlü floresan amplifikasyonunun apoptotik hücrelerde gerçek zamanlı ve yüksek çözünürlükte görüntülenmesini sağlamaktadır. Prob, bir ucunda bir NIR, Cy5.5 bulunan kaspaz-3 ayrılabilir substrat GDEVEAPKGC'den oluşurken diğer ucunda bir söndürücü içermektedir. Bu problar daha sonra biyouyumlu bir polimerik nanopartikül olan, hyaluronik asit-kolanik asit amfifilik nanopartikülleri (HA-NP) yüzeyinde konjuge edilmiştir. Boya, söndürücü-boya etkileşimleri ve boya-boya kendiliğinden söndürme mekanizmaları ile söndürülür. Bu geliştirilmiş floresan söndürme, arka plan floresan sinyalinin önceki tasarımlara göre azaltarak apoptotik hücrelerde genel olarak aktive edilmiş floresan sinyalinin arttırmaktadır. Ayrıca araştırmacılar tarafından, Apo-NP'nin esnek tasarlandığı ve patolojilerde kaspaz ile ilişkili apoptozun tanımlanması ve kanser tedavisinde apoptotik ilaçların terapötik etkinliğinin izlenmesi gibi çok çeşitli uygulamalar için kullanılabilirliği bilgisi verilmiştir [72].

Son zamanlarda, karmaşık bir proteaz sinyal mekanizmasını takip etmek için sadece bir kaspazın değil, çoklu kaspazların (kaspaz 3, 8 ve 9) görüntülenmesi için daha gelişmiş bir sistem geliştirilmiştir [73]. Sistem, çoklu proteazların varlığında artan floresan sinyalleri üretmek için birden fazla söndürücüyü içine alabilen tek bir nanopartikül platformundan yararlanır. Teranostik sistemler, benzer prensipler kullanılarak ya da daha basit bir şekilde bu problemlere ek olarak geliştirilebilir.

Nanosensörler

Nanosensörler, sensörün bir kısmının nano ölçekte çalıştığı kimyasal veya biyolojik bir kuvveti algılayan cihazlardır. Metalik ve manyetik nanopartiküller, optik, mekanik, elektriksel ve manyetik sinyaller ve antikor, peptid, oligonükleotit ve aptamer gibi hedefler nanosensör için gerekli bileşenlerdir [6]. Genel olarak, nanosensörler, ligandın ilgilenilen spesifik işaretleyiciyi bulduğu, nanosensör özgülüğü veren ve nanopartikülün bir sinyal jeneratörü veya etkeni olarak görev yaptığı, hassasiyeti belirleyen bir hedefleme ligandına konjuge edilmiş nanopartiküllere dayanır. Nanopartiküller, yüksek reaktivite, artan elektriksel iletkenlik, güç, benzersiz manyetik özellikler ve yüksek oranda yüzey alanı/hacim oranını tespit edebilmek için eşsiz özellikler sunar [74-76]. Nanopartiküllerin yüzey modifikasyon stratejisi, nanosensörlerin analitik performansını belirler ve biyomoleküller ve nanopartiküller için etkili biyo-konjugasyon stratejisi esas olarak bir nanosensörün etkinliğini belirler. Nanosensörler, gerçek zamanlı olarak çoklu parametrik analiz ve algılama sinyallerinin doğrudan okunmasını sağlar. Ayrıca, nano ölçekli özellikler şekillerine göre ayarlanabilir; bu nedenle, nanotüpler,

nanoteller, ince filmler ve nanomanivelalar, nanosensörlere çok yönlü ve yüksek hassasiyetli algılama sağlar. Yüksek hassasiyetli nanosensörler, biyobelirteçlerin tespit sınırlarını bilinen önceki konsantrasyonların altına çekmek için optik, mekanik, elektriksel ve manyetik gevşeme özelliklerini kullanır. Bu gibi hassas stratejiler yeni hastalık biyobelirteçlerini keşfetmek için de kullanılabilir. Nanosensörler pico- (p, 10^{-12}), femto- (f, 10^{-15}), atto- (a, 10^{-18}) ve zepto- (z, 10^{-21}) ölçekleri tespit edebilmektedir [6].

Nanosensör uygulamaların birkaç örneği son literatürlerde mevcuttur. Chen ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, kanserli hücrelerin taranması ve öldürülmesinin hedeflenmesi için teranostik ajan olarak akıllı plazmonik glikoz nanosensörleri geliştirilmiştir [77]. Glikoza duyarlı, hassas glikoz oksidaz modifiyeli Ag/Au-nanokabukları ile kanser hücrelerinin normal taramadan ayrılması için hızlı ve hedefe yönelik *in vitro* bir yöntem sunulmuştur. Akıllı nanosensörün kanser hücrelerine (tipik olarak daha yüksek bir glikoz alım seviyesine sahiptir) ve normal hücrelere sahip farklı lokalize yüzey plazmon rezonans tepkilerine (ve renklerine) dayanmasıyla, altın nanopartikülleri, kanser hücresi görüntüleme ve fototermal terapi için başarılı bir şekilde uygulanmıştır [77].

Xia ve ark., donör olarak biyoluminesans proteinleri ve alıcılar olarak proteaz substratları ile konjuge kuantum nokta nanosensörleri kullanarak bir biyoluminesans rezonans enerji transferi tabanlı analiz yöntemi geliştirmiştir [78]. Yöntem, birçok kanserde aşırı eksprese edilen matris metaloproteinazları (MMP'ler) tespit etmek amacıyla tasarlanmıştır ve araştırmacılar, bu yöntemle tamponda ve fare serumunda nanogram/mililitre aralığında MMP aktivitesini tespit edebilmişlerdir [78].

Wang ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, glutatyon (GSH) ve kanser teranostiklerinin hassas ve seçici bir şekilde algılanması için karbon nanopartikülü (CPs)@MnO₂-Ag nanopartiküllerinin çok fonksiyonlu bir nanosensörü yapılmıştır [79]. Çalışmada, *in vitro* ve *in vivo* olarak GSH algılaması için yeni bir floresan dönüşlü nanosensör geliştirilmiştir. GSH algılaması için, optimum koşullar altında 0,55 µM saptama limiti ile 0,8-80 µM'lik bir doğrusal aralık elde edilmiştir. Kanser terapisi için, GSH'ye duyarlı floresan görüntüleme kapasitesi, karbon nanopartiküllerinin fototermal aktivitesi ve Ag nanopartiküllerinin antikanser etkisi entegre edilerek, CPs@MnO₂-Ag nanopartikül nanokompozitleri başarıyla uygulanmıştır. Kanser fluoresans tanınması, kanserde GSH'nin aşırı eksprese edilmesiyle elde edilirken, karbon nanopartiküllerinden gelen fototermal tedavi ve altın nanopartiküllerinden gelen kemoterapi ile birlikte geliştirilmiş bir terapötik etki üretilmiştir [79].

Bir diğer çalışmada, biyolojik ortamdaki moleküler etkileşimleri tespit etmek için biyoyumlu manyetik nanosensörler tasarlanmıştır [80]. Hazırlanan nanosensörler, hedef bağlanma üzerinde, komşu su moleküllerinin spin ± spinrelaksasyon sürelerinde manyetik rezonans (NMR/MRG) teknikleriyle tespit edilebilen değişikliklere neden olmaktadır. Bu manyetik nanosensörler, düşük fmoL (0,5±30 fmoL) hassasiyetiyle spesifik RNA, proteinler, enzimatik aktivite ve patojenleri (örn: virüs) tespit etmek için tasarlanmıştır [80].

Kişiselleştirilmiş Tedavi

Teranostikler, hedefe yönelik görüntüleme metotları, hedefe yönelik tedavi taşınımı ve hedefe yönelik tedavinin düzenlenmesinden oluşur. Moleküler görüntülemenin moleküler tedavi ile birleşmesiyle oluşan teranostik sistemler, hastalıkların erken teşhisi, hastalık evrelemesi, tedavi seçimi, tedavi planlaması, tedavinin erken evrelerinde advers etkilerin tanınması ve takip tedavilerinin planlanması gibi kişiselleştirilmiş tedavinin birçok yönünde uygulanabilir.

Kanser tedavisi herkese uyan tek bir senaryo olmadığı için, tedavinin hastanın spesifik biyomoleküllerine uyarlanması gerekir. Kişiselleştirilmiş tıp tam da bunu yapar. Tanıyı anlamak ve kesin tanıya dayanarak spesifik bozukluğu tedavi etmek için biyobelirteçleri kullanır. Bu nedenle, bir hastalıkta yer alan anahtar moleküllerin tanısal testi, kişiselleştirilmiş tedavi gelişiminin merkezinde yer alır. Kanser için uygulanacak kişiselleştirilmiş tedavide teranostik sistem, önce kanser sınıfının tipini teşhis eder, tümörün heterojenliğini görüntüler, teşhis ve görüntüleme sonuçlarına göre özel bir tedavi uygular ve son olarak tedavi etkinliğini izler.

Kişiselleştirilmiş tedavi, daha iyi hasta bakımı sağlamak amacıyla tedavi için en iyi yanıt ve en yüksek güvenlik marjını kullanır. Her hastanın daha erken tanı, risk değerlendirmesi ve optimal tedavi almasını sağlayarak deneme-yanılma reçetesini azaltır, olumsuz ilaç reaksiyonlarından kaçınmayı sağlayarak ilaç kullanımını daha güvenli hale getirir, hastanın tedaviye uyuncunu artırır ve klinik çalışmaların zamanını ve maliyetini azaltarak, sağlık hizmetlerini iyileştirir [81].

Hedeflendirme

İlaçların etkili bir şekilde hedeflenmesini sağlamak için iki temel gereklilik yerine getirilmelidir. Bunlar, ilaçların uygulamadan sonra, hacminde ve aktivitesinde kayıp olmadan kan dolaşımıyla istenen tümör bölgelerine ulaşabilmeleri ve sağlıklı dokuya zarar vermeden sadece tümör hücrelerini öldürmeleridir. Bu gereksinimler ilaçların pasif ve aktif hedeflenmesi ile sağlanabilir [82].

Pasif Hedefleme

Pasif hedefleme, tümör damarlarının benzersiz patofizyolojik özelliklerinden faydalanarak nano boyuttaki ilaçların tümör dokularında birikmesini sağlar. Tipik olarak, tümör damarları oldukça düzensizdir ve endotelial hücreler ile zayıflatılmış lenfatik drenaj arasında genişlemiş boşluk bağlantılarına sahiptir. Artmış geçirgenlik ve alıkonma etkisi (EPR) olarak ifade edilen bu durum, çapı 400 nm'ye kadar olan makromoleküllerin tümör bölgesine geçmesine izin verir.

Tümör dokusunu çevreleyen ve pasif hedeflemeyi destekleyen mikroçevre olan EPR etkisi sağlıklı hücrelerinkinden farklıdır. Hızlı büyüyen tümör hücrelerinin yüksek metabolik hızına dayanarak, tümör hücreleri için daha fazla oksijen ve besin gerekir. Sonuç olarak glikoliz, ekstra enerji elde etmek için uyarılır ve bu da tümör çevresinde asidik bir ortam yaratır. Bunun avantajına bağlı

olarak, fizyolojik pH 7,4'te stabil, ancak asidik pH'ta ilaç moleküllerini serbest bırakmak için pH'ya duyarlı formülasyonlar tasarlanmaktadır.

Pasif hedefleme yaklaşımları klinik tedavinin temelini oluştursa da çeşitli sınırlamaları vardır. Bir tümör içindeki tüm hücreleri hedeflemek her zaman mümkün değildir, çünkü bazı ilaçlar etkili bir şekilde yayılamaz ve bu yaklaşımın rastgele doğası, süreci kontrol etmeyi zorlaştırır. Ayrıca bazı tümörler EPR etkisi göstermez ve damarların geçirgenliği tek bir tümör boyunca aynı olmaz [82,83].

Aktif Hedefleme

Aktif hedefleme, antikorlar, peptidler, aptamerler veya sadece hücre yüzeyinde spesifik reseptörlere bağlanan küçük moleküller gibi afinite ligandlarının çeşitli konjugasyon kimyaları ile nanotaşıyıcıların yüzeyine bağlanmasıyla yapılan hedeflemedir.

Nanotaşıyıcılar, hücre yüzeyindeki reseptörlerin veya epitoplarmın ekspresyonuyla ligand-reseptör etkileşimleri yoluyla hedef hücreleri tanır ve bağlanır. Yüksek spesifisite elde etmek için, bu reseptörler sadece tümör hücreleri yüzeyinde homojen bir şekilde ve yüksek oranda eksprese edilmelidir. Hedefleme konjugatlarının içselleştirilmesi, hedef hücrelere bağlandıktan sonra reseptör aracılı endositoz ile meydana gelir, bu şekilde hücrelerin içinde ilaç salınımı kolaylaşır. Bu mekanizmaya dayanarak, hedefleme konjugatları önce reseptörleri ile bağlanır, ardından bir endozom oluşturmak için ligand-reseptör kompleksi etrafında plazma membranını çevreler. Yeni oluşan endozom belirli organellere aktarılır ve ilaçlar asidik pH veya enzimler tarafından salınır [82,84].

SONUÇ VE TARTIŞMA

Teranostik ajanların nanopartiküllere yüklenmesiyle oluşan nanoteranostikler sayesinde ilaç ve gen taşıyıcı sistemler tümörlere hedeflenerek kişiselleştirilmiş tedavide önemli adımlar sağlanmaktadır. Tıpta nanoboyutlu ilaç taşıyıcı sistemler olarak genellikle polimerik konjugatlar, polimerik miseller, polimerik nanopartiküller, altın nanopartikülleri, dendrimerler, lipozomlar ve kuantum noktaları kullanılmaktadır. Bu taşıyıcı sistemler ile vücuttaki biyolojik bariyerler aşılarak, görüntüleme sistemleriyle hedefe yönelik teşhis ve teranostikler ile de tedavi sağlanmaktadır. Dünyada başlıca ölüm sebebi olan kanserin erken teşhisini ve tedavisini sağlayan nanoteranostiklerin tıpta kullanımının gün geçtikçe daha geniş bir yer kaplayacağı kanaatindeyiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Sumer, B. and Gao, J. (2008). Theranostic nanomedicine for cancer. *Nanomedicine*, 3(2), 137–140.
2. Kurdziel, K., Ravizzini, G., Croft, B.Y., Tatum, J.L., Choyke, P.L., Kobayashi, H. (2008). The evolving role of nuclear molecular imaging in cancer. *Expert Opinion on Medical Diagnostics*, 2(7), 829–842.
3. Bozkurt, M.F. and Özcan, Z. (2018). The evolving role of nuclear medicine and molecular imaging: theranostics and personalized therapeutic applications. *Molecular Imaging and Radionuclide Therapy*, 27, 1–2.
4. Aulić, S., Bolognesi, M.L., Legname, G. (2013). Small-molecule theranostic probes: A promising future in neurodegenerative diseases. *International Journal of Cell Biology*, 2013, 150952.
5. Kim, T.H., Lee, S. and Chen, X. (2013). Nanotheranostics for personalized medicine. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 13(3), 257–269.
6. Swierczewska, M., Liu, G., Lee, S., Chen, X. (2012). High-sensitivity nanosensors for biomarker detection. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2641–2655.
7. Chikkaveeraiah, B.V., Bhirde, A.A., Morgan, N.Y., Eden, H.S., Chen, X. (2012). Electrochemical immunosensors for detection of cancer protein biomarkers. *ACS Nano*, 6(8), 6546–6561.
8. Farokhzad, O.C. and Langer, R. (2006). Nanomedicine: Developing smarter therapeutic and diagnostic modalities. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(14), 1456–1459.
9. Funkhouser, J. (2002). Reinventing pharma: The theranostic revolution. *Current Drug Discovery*, 2, 17–19.
10. Durak, H. (2015). Onkolojide kişiselleştirilmiş tedavi ve teranostik yaklaşımlar. *Nükleer Tıp Seminerleri*, (2), 80–4.
11. Kalash, R.S., Lakshmanan, V.K., Cho, C.-S., Park, I.-K. (2016). Theranostics. In: M. Ebara (Ed.), *Biomaterials Nanoarchitectonics*, (p. 197–215). 1st Edition. Elsevier Inc.: William Andrew.
12. Cancer Web site. (2018). Retrieved Jan 17, 2020, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
13. Nayak, K.A. and Pal, D. (2010). Nanotechnology for targeted delivery in cancer therapeutics. *Seemanta Institute of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 1–7.
14. Wang, L.V. (2004). Ultrasound-mediated biophotonic imaging: A review of acousto-optical tomography and photo-acoustic tomography. *Disease Markers*, 19, 123–138.
15. Singh, K. (2005). Nanotechnology in cancer detection and treatment. *Technology in Cancer Research and Treatment*, 4, 583–584.

16. National Cancer Institute Web site. (2004). "*Cancer Nanotechnology*". Retrieved Jan 25, 2020, from <https://nano.cancer.gov/>.
17. Oylar, Ö. and Tekin, İ. (2011). Nanotechnology in cancer diagnosis and treatment. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 16(1), 147–154.
18. Erdoğan, A. and Özkan, A. (2013). Kanser tedavisinde ve tümör görüntülemesinde nanoteknolojik uygulamalar. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 22(3), 426–440.
19. Şengel-Türk, C. and Hasçıçek, C. (2009). Polimerik nanopartiküller ilaç taşıyıcı sistemlerde yüzey modifikasyonu. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 38, 137–154.
20. Mura, S. and Couvreur, P. (2012). Nanotheranostics for personalized medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(13), 1394-1416.
21. Yang, J., Lee, C.H., Ko, H.J., Suh, J.S., Yoon, H.G., Lee, K., Huh, Y.M., Haam, S. (2007). Multifunctional magneto-polymeric nanohybrids for targeted detection and synergistic therapeutic effects on breast cancer. *Angewandte Chemie - International Edition*, 46(46), 8836–8839.
22. Liu, Y., Ibricevic, A., Cohen, J.A., Cohen, J.L., Gunsten, S.P., Fréchet, J.M., Walter, M.J., Welch, M.J., Brody, S.L. (2009). Impact of hydrogel nanoparticle size and functionalization on in vivo behavior for lung imaging and therapeutics. *Molecular Pharmaceutics*, 6(6), 1891–1902.
23. Lim, E.K., Huh, Y.M., Yang, J., Lee, K., Suh, J.S., Haam, S. (2011). PH-triggered drug-releasing magnetic nanoparticles for cancer therapy guided by molecular imaging by MRI. *Advanced Materials*, 23(21), 2436–2442.
24. Hyung, W., Ko, H., Park, J., Lim, E., Park, S.B., Park, Y.J., Yoon, H.G., Suh, J.S., Haam, S., Huh, Y.M. (2008). Novel hyaluronic acid (HA) coated drug carriers (HCDCs) for human breast cancer treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, 99(2), 442–454.
25. Gatenby, R.A. and Gawlinski, E.T. (1996). A reaction-diffusion model of cancer invasion. *Cancer Research*, 56(24), 5745–5753.
26. Wickham, T.J. (2003). Ligand-directed targeting of genes to the site of disease. *Nature Medicine*, 9(1), 135–139.
27. Saltzman, W.M. (2001). *Drug Delivery*, Oxford University Press, New York, p.384.
28. Wang, Z., Niu, G., Chen, X. (2014). Polymeric materials for theranostic applications. *Pharmaceutical Research*, 31(6), 1358–1376.
29. Sezgin Bayındır, Z. and Yüksel, N. (2007). Pegilasyon: PEG konjugatlarının hazırlanması ve uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 36(4), 249–266.
30. Tüylek, Z. (2017). İlaç taşıyıcı sistemler ve nanoteknolojik etkileşim. *Bozok Medical Journal*, 7(3), 89–98.
31. Jackson, E.F., Esparza-Coss, E., Wen, X., Ng, C.S., Daniel, S.L., Price, R.E., Rivera, B., Charnsangavej, C., Gelovani, J.G., Li, C. (2007). Magnetic resonance imaging of therapy-induced necrosis using gadolinium-chelated polyglutamic acids. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 68(3), 830–838.

32. Vaidya, A., Sun, Y., Ke, T., Jeong, E.K., Lu, Z.R. (2006). Contrast enhanced MRI-guided photodynamic therapy for site-specific cancer treatment. *Magnetic Resonance in Medicine*, 25(9), 2002–2011.
33. Tan, M. and Lu, Z.-R. (2011). Integrin targeted MR imaging. *Theranostics*, 1, 83–101.
34. Haag, R. (2004). Supramolecular drug-delivery systems based on polymeric core-shell architectures. *Angewandte Chemie - International Edition*, 43(3), 278–282.
35. Mitra, A., Nan, A., Line, B.R., Ghandehari, H. (2006). Nanocarriers for nuclear imaging and radiotherapy of cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 12(36), 4729–4749.
36. Portney, N.G. and Ozkan, M. (2006). Nano-oncology: Drug delivery, imaging, and sensing. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384(3), 620–630.
37. Kaida, S., Cabral, H., Kumagai, M., Kishimura, A., Terada, Y., Sekino, M., Aoki, I., Nishiyama, N., Tani, T., Kataoka, K. (2010). Visible drug delivery by supramolecular nanocarriers directing to single-platformed diagnosis and therapy of pancreatic tumor model. *Cancer Research*, 70(18), 7031–7041.
38. Nasongkla, N., Bey, E., Ren, J., Ai, H., Khemtong, C., Guthi, J.S., Chin, S.F., Sherry, A.D., Boothman, D.A., Gao, J. (2006). Multifunctional polymeric micelles as cancer-targeted, MRI-ultrasensitive drug delivery systems. *Nano Letters*, 6(11), 2427–2430.
39. Muthu, M.S., Leong, D.T., Mei, L., Feng, S.S. (2014). Nanotheranostics - application and further development of nanomedicine strategies for advanced theranostics. *Theranostics*, 4(6), 660–677.
40. Vijayakumar, M.R., Muthu, M.S., Singh, S. (2013). Copolymers of poly(lactic acid) and d- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate-based nanomedicines: Versatile multifunctional platforms for cancer diagnosis and therapy. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 10(4), 529–543.
41. Liu, Y., Feng, L., Liu, T., Zhang, L., Yao, Y., Yu, D., Wang, L., Zhang, N. (2014). Multifunctional pH-sensitive polymeric nanoparticles for theranostics evaluated experimentally in cancer. *Nanoscale*, 6(6), 3231–3242.
42. Pan, G.-Y., Jia, H.-R., Zhu, Y.-X., Sun, W., Cheng, X.-T., Wu F.-G. (2018). Correction to cyanine-containing polymeric nanoparticles with imaging/therapy-switchable capability for mitochondria-targeted cancer theranostics. *ACS Applied Nano Materials*, 1(6), 2885–2897.
43. Akhter, S., Ahmad, M.Z., Ahmad, F.J., Storm, G., Kok, R.J. (2012). Gold nanoparticles in theranostic oncology: Current state-of-the-art. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 9(10), 1225–1243.
44. Xiao, Y., Hong, H., Matson, V.Z., Javadi, A., Xu, W., Yang, Y., Zhang, Y., Engle, J.W., Nickles, R.J., Cai, W., Steeber, D.A., Gong, S. (2012). Gold nanorods conjugated with doxorubicin and cRGD for combined anti-cancer drug delivery and PET imaging. *Theranostics*, 2(8), 757–768.
45. Sayiner, Ö. and Çomoğlu, T. (2016). Nanotaşıyıcı sistemlerde hedeflendirme. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 40(3), 62–79.

46. Saad, M., Garbuzenko, O.B., Ber, E., Chandna, P., Khandare, J.J., Pozharov, V.P., Minko, T. (2008). Receptor targeted polymers, dendrimers, liposomes: Which nanocarrier is the most efficient for tumor-specific treatment and imaging?. *Journal of Controlled Release*, 130(2), 107–114.
47. Taratula, O., Schumann, C., Naleway, M.A., Pang, A.J., Chon, K.J., Taratula, O. (2013). A multifunctional theranostic platform based on phthalocyanine-loaded dendrimer for image-guided drug delivery and photodynamic therapy. *Molecular Pharmaceutics*, 10(10), 3946–3958.
48. Sapra, P., Tyagi, P., Allen, T. (2005). Ligand-targeted liposomes for cancer treatment. *Current Drug Delivery*, 2(4), 369–381.
49. Zhao, Y.Z., Dai, D.D., Lu, C.T., Chen, L.J., Lin, M., Shen, X.T., Li, X.K., Zhang, M., Jiang, X., Jin, R.R., Li, X., Lv, H.F., Cai, L., Huang, P.T. (2013). Epirubicin loaded with propylene glycol liposomes significantly overcomes multidrug resistance in breast cancer. *Cancer Letters*, 330(1), 74–83.
50. Saesoo, S., Sathornsumetee, S., Anekwiang, P., Treetidnipa, C., Thuwajit, P., Bunthot, S., Maneepprakorn, W., Maurizi, L., Hofmann, H., Rungsardthong, R.U., Saengkrit, N. (2018). Characterization of liposome-containing SPIONs conjugated with anti-CD20 developed as a novel theranostic agent for central nervous system lymphoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 161, 497–507.
51. Wen, C.J., Zhang, L.W., Al-Suwayeh, S.A., Yen, T.C., Fang, J.Y. (2012). Theranostic liposomes loaded with quantum dots and apomorphine for brain targeting and bioimaging. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 1599–1611.
52. Al-Jamal, W.T. Al-Jamal, K.T, Tian, B., Lacerda, L., Bomans, P.H., Frederik, P.M., Kostarelos, K. (2008). Lipid - Quantum dot bilayer vesicles enhance tumor cell uptake and retention in vitro and in vivo. *ACS Nano*, 2(3), 408–418.
53. Al-Jamal, W.T. and Kostarelos, K. (2011). Liposomes: From a clinically established drug delivery system to a nanoparticle platform for theranostic nanomedicine. *Accounts of Chemical Research*, 44(10), 1094–1104.
54. Yong, K.T., Roy, I., Swihart, M.T., Prasad, P.N. (2009). Multifunctional nanoparticles as biocompatible targeted probes for human cancer diagnosis and therapy. *Journal of Materials Chemistry*, 19, 4655–4672.
55. Gao, X., Yang, L., Petros, J.A., Marshall, F.F., Simons, J.W., Nie, S. (2005). In vivo molecular and cellular imaging with quantum dots. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(1), 63–72.
56. Xu, G., Mahajan, S., Roy, I., Yong, K.T. (2013). Theranostic quantum dots for crossing blood-brain barrier in vitro and providing therapy of HIV-associated encephalopathy. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 140.
57. Huang, H.-K., Yan, J., Liu, P., Zhao, B.-Y., Cao, Y., Zhang, X.-F. (2017). A novel cancer nanotheranostics system based on quantum dots encapsulated by a polymer-prodrug with controlled release behaviour. *Australian Journal of Chemistry*, 70(12), 1302–1311.
58. Bagalkot, V., Zhang, L., Levy-Nissenbaum, E., Jon, S., Kantoff, P.W., Langer, R., Farokhzad,

- O.C. (2007). Quantum dot-aptamer conjugates for synchronous cancer imaging, therapy, and sensing of drug delivery based on Bi-fluorescence resonance energy transfer. *Nano Letters*, 7(10), 3065–3070.
59. Silindir, M., Erdoğan, S., Özer, A.Y., Maia, S. (2012). Liposomes and their applications in molecular imaging. *Journal of Drug Targeting*, 20(5), 401–415.
60. Cole, J.T. and Holland, N.B. (2015). Multifunctional nanoparticles for use in theranostic applications. *Drug Delivery and Translational Research*, 5(3), 295–309.
61. Pysz, M.A., Gambhir, S.S., Willmann, J.K. (2010). Molecular imaging: current status and emerging strategies. *Clinical Radiology*, 65(7), 500–516.
62. Kao, H., Lin, Y.Y., Chen, C.C., Chi, K.H., Tien, D.C., Hsia, C.C., Lin, M.H., Wang, H.E. (2013). Evaluation of EGFR-targeted radioimmuno-gold-nanoparticles as a theranostic agent in a tumor animal model. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(11), 3180–3185.
63. Gambhir, S.S. (2002). Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. *Nature Reviews Cancer*, 2(9), 683–693.
64. Chen, F., Hong, H., Zhang, Y., Valdovinos, H.F., Shi, S., Kwon, G.S., Theuer, C.P., Barnhart, T.E., Cai, W. (2013). In vivo tumor targeting and image-guided drug delivery with antibody-conjugated, radiolabeled mesoporous silica nanoparticles. *ACS Nano*, 7(10), 9027–9039.
65. Wang, C., Ravi, S., Garapati, U.S., Das, M., Howell, M., MallelaMallela, J., Alwarapan, S., Mohapatra, S.S., Mohapatra, S. (2013). Multifunctional chitosan magnetic-graphene (CMG) nanoparticles: A theranostic platform for tumor-targeted codelivery of drugs, genes and MRI contrast agents. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(35), 4396–4405.
66. Panchapakesan, B., Book-Newell, B., Sethu, P., Rao, M., Irudayaraj, J. (2011). Gold nanoprobe for theranostics. *Nanomedicine*, 6(10), 1787–1811.
67. Lee, S., Xie, J., Chen, X. (2010). Activatable molecular probes for cancer imaging. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(11), 1135–1144.
68. Lee, S., Xie, J., Chen, X. (2010). Peptide-based probes for targeted molecular imaging. *Biochemistry*, 49(7), 1364–1376.
69. Tyagi, S. and Kramer, F.R. (1996). Molecular beacons: Probes that fluoresce upon hybridization. *Nature Biotechnology*, 14(3), 303–308.
70. Gültekin, N., Karaoğlu, K., Küçükates, E. (2008). Hücrede apoptoz ve sağkalım mekanizmalarinin keşfedilmesi ve yeni potansiyel tedavi stratejileri. *Türk Kardiyoloji Dernegi Arsivi*, 36(2), 120–130.
71. Kim, K. Lee, M., Park, H., Kim, J.-H., Kim, S., Chung, H., Choi, K., Kim, I.-S., Seong, B.L., Kwon, I.C. (2006). Cell-permeable and biocompatible polymeric nanoparticles for apoptosis imaging. *Journal of the American Chemical Society*, 128(11), 3490–3491.
72. Lee, S., Choi, K.Y., Chung, H., Ryu, J.H., Lee, A., Koo, H., Youn, I.C., Park, J.H., Kim, I.S., Kim, S.Y., Chen, X., Jeong, S.Y., Kwon, I.C., Kim, K., Choi, K. (2011). Real time, high resolution video imaging of apoptosis in single cells with a polymeric nanoprobe. *Bioconjugate Chemistry*, 22(2), 125–131.

73. Huang, X., Swierczewska, M., Choi, K.Y., Zhu, L., Bhirde, A., Park, J., Kim, K., Xie, J., Niu, G., Lee, K.C., Lee, S., Chen, X. (2012). Multiplex imaging of an intracellular proteolytic cascade by using a broad-spectrum nanoquencher. *Angewandte Chemie - International Edition*, 51(7), 1625–1630.
74. Chen, Y. Xianyu, Y., Wu, J., Yin, B., Jiang, X. (2016). Click chemistry-mediated nanosensors for biochemical assays. *Theranostics*, 6(7), 969–985.
75. Brennan, J.L., Hatzakis, N.S., Tshikhudo, T.R., Dirvianskyte, N., Razumas, V., Patkar, S., Vind, J., Svendsen, A., Nolte, R.J., Rowan, A.E., Brust, M. (2006). Bionanoconjugation via click chemistry: The creation of functional hybrids of lipases and gold nanoparticles. *Bioconjugate Chemistry*, 17(6), 1373–1375.
76. Cutler, J.I., Zheng, D., Xu, X., Giljohann, D.A., Mirkin, C.A. (2010). Polyvalent oligonucleotide iron oxide nanoparticle “click” conjugates. *Nano Letters*, 10(4), 1477–1480.
77. Chen, L., Li, H., He, H., Wu, H., Jin, Y. (2015). Smart plasmonic glucose nanosensors as generic theranostic agents for targeting-free cancer cell screening and killing. *Analytical Chemistry*, 87(13), 6868–6874.
78. Xia, Z., Xing, Y., So, M.K., Koh, A.L., Sinclair, R., Rao, J. (2008). Multiplex detection of protease activity with quantum dot nanosensors prepared by intein-mediated specific bioconjugation. *Analytical Chemistry*, 80(22), 8649–8655.
79. Wang, Q., Wang, C., Wang, X., Zhang, Y., Wu, Y., Dong, C., Shuang, S. (2019). Construction of CPs@MnO₂-AgNPs as a multifunctional nanosensor for glutathione sensing and cancer theranostics. *Nanoscale*, 11, 18845–18853.
80. Perez, J.M., Josephson, L., Weissleder, R. (2004). Use of magnetic nanoparticles as nanosensors to probe for molecular interactions. *ChemBioChem*, 5(3), 261–264.
81. Vogenberg, F.R., Barash, C.I., Pursel, M. (2010). Personalized medicine - Part 1: Evolution and development into theranostics. *Pharmacy and Therapeutics*, 35(10), 560–576.
82. Bamrungsap, S., Zhao, Z., Chen, T., Wang, L., Li, C., Fu, T., Tan, W. (2012). Nanotechnology in therapeutics: a focus on nanoparticles as a drug delivery system. *Nanomedicine London England*, 7(8), 1253–1271.
83. Sinha, R., Kim, G.J., Nie, S., Shin, D.M. (2006). Nanotechnology in cancer therapeutics: Bioconjugated nanoparticles for drug delivery. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(8), 1909–1917.
84. Farokhzad, O.C., Langer, R. (2009). Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano*, 3(1), 16–20.

Yayım Koşulları

1. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi (Ankara Ecz. Fak. Derg. - J. Fac. Pharm. Ankara) yılda üç kez (Ocak-Mayıs-Eylül) yayımlanır.
2. Dergiye Eczacılığın her alanında daha önce hiçbir yerde yayınlanmamış, Türkçe veya İngilizce olarak hazırlanmış makaleler kabul edilir. Deneylerde, insan için “the Declaration of Helsinki” ve hayvan için “European Community Guidelines”’a bağlı kalınmalıdır.
3. Yayın Komisyonuna gelen makaleler en az 2 danışmana gönderilir.
4. Makaleler yayına kabul ediliş sırasına göre yayınlanır.
5. Danışmanlar tarafından önerilen düzeltmelerin yapılması için yazar/ yazarlara geri gönderilen makaleler, düzeltilip yayınlanmak üzere 3 ay içinde tekrar yayın kuruluna gönderilmezse, yeni başvuru olarak işlem görür. Makale yayımlanmadan önce yazarların yayımcıya makalenin “Copyright Transfer Form”unu doldurarak telif hakkını göndermesi gerekmektedir.
6. Yayınlarında intihal olup olmadığı kontrol edilmelidir.
7. Dergimize aşağıdaki makale türleri kabul edilir:
 - a) **Araştırma makalesi:** Türkçe veya İngilizce hazırlanmış, şekiller ve tablolar dahil tamamı en çok 20 A4 kağıdı sayfası olan, orjinal araştırmaların bulgu ve sonuçlarını açıklayan makalelerdir.
 - b) **Derleme:** Türkçe veya İngilizce hazırlanmış, şekil ve tablolar dahil tamamı en çok 25 A4 kağıdı sayfası olan, yeterli sayıda bilimsel makale taranarak, o güne kadarki gelişmeleri özetleyerek ortaya koyan ve sonuçlarını yorumlayarak değerlendiren makalelerdir.
 - c) **Önbilgiler:** Devam etmekte olan bir çalışmanın bulgularını zaman kaybetmeden duyurmak için Türkçe veya İngilizce yazılan en çok 5 A4 kağıdı sayfası olan makalelerdir.

Yayım Gönderme

Yazarlar makalelerini <https://dergipark.org.tr/tr/pub/jfpanu> adresinden online olarak yükleyeceklerdir.

Yazım Kuralları

1. Metinler, A4 normunda (21 x 29,7 cm) yazılmış olmalıdır.
 2. Bütün tablo ve şekiller metin içindeki yerlerine yazım alanından taşmadan yerleştirilmiş olmalıdır.
 3. Metinler A4 normundaki sayfanın sağ ve sol tarafından 2,5 cm., üst ve alt kenarlarından 3 er cm boşluk bırakılarak (ilk sayfada yukarıdan 5 satır aralığı) 1,5 satır aralıkla yazılmalıdır. Yayımlı kabul edilen makaleler doğrudan “Microsoft Word” dosyası halinde online olarak sisteme yüklenecektir (online submission). Ana metin yazı karakteri “Times New Roman” ve 11 punto olmalıdır.
 4. Sayfa numaraları makalede belirtilmemelidir.
 5. Yazar adı (küçük harf) ve soyadı (büyük harf) koyu olarak başlığın altına üç satır aralık verildikten sonra altına unvan belirtmeden yazılmalıdır. Birden çok yazar varsa virgülle ayrılıp bir boşluk bırakılarak yazılmalıdır. Yazarların soyadları üzerine konulacak rakamlarla hemen isimlerin altındaki satıra kurum adları ve posta adresleri açıkça yazılmalıdır.
 6. Başlık sayfasında yayın adı, yazar/yazarların adları ve yazışma yapılacak yazarın açık adresi, telefon ve faks numaraları, varsa e-mail adresi belirtilmelidir. Sorumlu yazarın soyadının üstüne (*) işareti konularak belirtilmelidir. Bu kişinin açık adresi, faks numarası, telefon numarası ve e-mail adresi başlık sayfasının en altında belirtilmelidir.
 7. Tablolar üstlerine, şekiller (formül, grafik, şema, spektrum, kromatogram, fotoğraf v.b.) de altlarına arabik rakamlarla (**Şekil 1.**, **Tablo 2.**) numaralandırılmalıdır. “Tablo”, “Şekil” sözcükleri ile bunlara ait numaralar koyu yazılmalı ve 11 punto olmalıdır. Şekil/Resim (JPG formatında) makale içinde yerleşmiş olmalıdır.
 8. Tablo adları Tabloların üstüne ve şekil adları da Şekillerin altına birer satır aralıkla ve bunların genişliğini aşmayacak şekilde 11 punto yazılmalıdır. Tabloya ait açıklama varsa tablonun altına 1 boşluk bırakılarak 9 punto ile yazılmalıdır. Tablo ve Şekiller metin içine yerleştirilirken metin ile aralarında net ayrımı sağlayacak kadar boşluk bırakılmalıdır.
 9. Paragraf başları 1 cm içeriden başlamalıdır.
 10. Uluslararası kısaltmalar kullanılabilir. Metin içinde mililitre için ml; dakika için dak. olarak belirtilen şekliyle yazılmalıdır.
 11. Makalelerin bölümleri Başlık, Öz, Anahtar kelimeler, Giriş, Gereç ve Yöntem, Sonuç ve Tartışma, Teşekkür ve Kaynaklar sırasına uygun olarak hazırlanmalıdır. Derleme makalelerinde Gereç ve Yöntem bölümü bulunmayabilir. Bu bölümler birbirlerinden 2 satır aralık ile ayrılmalıdır. Bu bölümleri ifade eden başlıklar 12 punto ile koyu olarak büyük harflerle ve sayfanın solundan başlanarak yazılmalıdır. Bölüm başlıkları ile metin arasında ayrıca aralık bırakılmamalıdır.
- **Başlık:** Türkçe ve İngilizce olarak büyük harf ve ilk başlık 14 punto, koyu ve ikinci başlık 12 punto, italik olarak yazılmalıdır. Başlık metine uygun, kısa, çalışmayı tanıttıcı ve açık ifadeli olmalıdır.
 - **Öz:** Türkçe ve İngilizce (Abstract) olarak makalelerin başında 200'er kelimeyi geçmeyecek şekilde 10 punto ile, *italik* olarak ve çerçeve içinde yazılmalıdır. Yabancı dilde yazılmış makalelerde mutlaka Türkçe özet bulunmalıdır. Ayrıca öz, kendi içinde amaç, gereç ve yöntem, sonuç ve tartışma olarak alt başlıklar halinde yazılmalıdır.
 - **Anahtar kelimeler:** En fazla 5 sözcükten oluşmalı ve özetlerin hemen altına ilgili dilde alfabetik ve italik olarak yazılmalıdır.
 - **Giriş:** Araştırmanın amacı ve konuyla ilgili çalışmaların yer aldığı bölüm olmalıdır.
 - **Gereç ve Yöntem:** Kullanılan gereç belirtilerek, uygulanan yöntem hakkında gerekli bilgiler açıkça ifade edilmelidir. Deneylerde hayvan kullanılması durumunda lokal etik komiteden veya ilgili düzenleyici makamlardan onay alınmalıdır ve bilgilendirilmiş onam belgelendirilmelidir.
 - **Sonuç ve Tartışma:** Bulguların verilerek değerlendirildiği bölümdür.

- **Teşekkür:** Varsa araştırmayı destekleyen kuruluşa ve katkısı olan kişilere kaynaklardan önce yer alan bu bölümde kısaca teşekkür edilebilir.
- **Kaynaklar:** Kaynak yazım stili Amerikan Psikoloji Derneği'ne (APA) göre dir. Metinde, geçiş sırasına göre köşeli parantez içinde, örneğin: [1,2,...] gibi numaralandırılmalı ve metin sonunda bu numaralara göre sıralanmalıdır. Kaynaklar aşağıdaki örneklere uygun olarak yazılmalıdır.

i. **Makale için:** Yazarın soyadı, adının baş harfleri, makalenin tam başlığı derginin adı, cilt no, varsa sayı no (parantez içinde), başlangıç ve bitiş sayfa no, yıl yazar isimlerinden sonra (parantez içinde) olarak yazılmalıdır. Birden fazla yazar varsa hepsi yazılmalıdır. Makalenin adı yazılırken ilk kelimenin ilk harfi büyük diğer kelimelerin ilk harfi küçük yazılmalıdır. Kaynaklarda verilen dergi adları kısaltma yapılmadan açık olarak yazılmalıdır.

Moncada, S., Palmer, R.M.J., Higgs, E.A. (1989). Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochemistry and Pharmacology*, 38, 1709 – 1715.

ii. **Elektronik Makale için:**

Perneger, T. V. and Giner, F. (1998). Randomized trial of heroin maintenance programme for adults who fail in conventional drug treatments. *British Medical Journal*, 317. Retrieved August 12, 2005, from <http://www.bmj.com/cgi/content/full/317/7150/>

iii. **Web sitesi için:**

Clinical Pharmacology Web site. (2001). Retrieved June 16, 2004, from <http://cpip.gsm.com/>

iv. **Kitap için:** Yazarın soyadı, adının baş harfleri, kitabın adı, cilt no (varsa), kitabevi, yayımlandığı şehir, sayfa no, basıldığı yıl (parantez içinde) yazılmalıdır.

Franke, R. (1984). *Theoretical Drug Design Methods*, Elsevier, Amsterdam, p.130.

v. **Kitap Bölümü için:** Yazarın soyadı, adının baş harfleri, bölümün başlığı, editör/editörlerin soyadı, adının baş harfleri, (Ed./Eds.) ibaresi, kitabın adı, varsa cilt no, kitabevi, yayımlandığı şehir, sayfa no, basıldığı yıl (parantez içinde) yazılmalıdır.

Weinberg, E.D. (1979). Antifungal Agents. In: M.E. Wolff and S.E. Smith (Eds.), *Burger's Medicinal Chemistry*, (pp. 531-537). New York: John Wiley and Sons.

12. Bileşiklerin karakterizasyonu ayrı bir paragraf ile gösterilmeli ve yeni bileşiklerin saflıkları ve yapı aydınlatılmaları sağlanmalıdır.

Instruction for Authors

1. The Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University (J. Fac. Pharm. Ankara) is published three times (January-May-September) a year.
2. The Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University publishes articles in every field of Pharmaceutical Sciences. The manuscript to the journal should not be published previously as a whole or in part and not be submitted elsewhere. Manuscript should be written in Turkish or English. The experiments used have to be adhered to the Declaration of Helsinki for humans and European Community Guidelines for animals.
3. All manuscripts will be submitted to a review process by the editors and by qualified at least 2 outside reviewers.
4. Manuscripts are published in order of final acceptance after review and revision.
5. If a manuscript returned to the authors for revision is not received back to the editor within 3 months it will be treated as a new article. When the article is published, the by authors are considered to transfer all rights of the manuscript to the Publisher.
6. Manuscript will be controlled using plagiarism checker.
7. Manuscripts with the following characteristics are accepted:
 - a) **Research article:** Articles written in English or Turkish in scientific format presenting original research. Articles should be printed on A4 size papers not exceeding 20 pages (including tables and figures)
 - b) **Review:** An updated comprehensive review of scientific works on a particular subject. Articles written in English or Turkish should be printed on A4 size papers not exceeding 25 pages (including tables and figures).
 - c) **Rapid communication:** Rapid announcement of the results of a continuing research written in English or Turkish, no longer than 5, A4 size pages.

Submission of Manuscripts

Online submission: <https://dergipark.org.tr/en/pub/jfpanu>

Preparation of Manuscript

1. Manuscripts should be typed on A4 size papers marked in 21 x 29,7 cm area.
 2. All tables and figures should be inserted in the text, not exceeding text margins.
 3. Manuscripts should be typed with 1.5 line spacing with a margin of 2,5 cm on left-hand and right-hand sides, 3 cm on the top (5 line spacing on the first page) and bottom. Since articles will be loading online, authors are requested to submit their manuscripts as "Microsoft Word" file. The font of main text should be "Times New Roman" with 11 pt font size.
 4. Page numbers shouldn't be placed on the pages.
 5. Author names (first name with small letters, surname with capital letters, no qualification) should be written allowing 3 line space from the title of the article. Having more than one author, the names should be separated with comma and 1 free space. By using number as superscripts, the institution and mailing address of authors must be indicate on the next line.
 6. Title page of the manuscript should include title, authors' names and full mailing addresses. Corresponding author should be indicated by an asteriks (*). His/Her marking address, a fax, telephone numbers and e-mail address should indicate at the bottom of the title page.
 7. All tables and figures/images must be cited in the text consecutively. Every table must have a descriptive title at the top and should be numbered with Arabic numerals (**Table 1.**, **Table 2.**) Please submit tables as editable text and not as images. Figures (chemical formulas, graphics, photographs, chromatographs, spectra etc) should also be numbered with Arabic numerals (**Figure 1.**, **Figure 2.**) Captions should be typed with 11 pt font size. Figures/Images (JPG) should be embedded in the Manuscript file.
 8. An appropriate heading of tables and figures should be used for each and typed with 11 pt font size at the top of the table, at the bottom of the figure with one line space. If there is an explanation about the table, it should be written with 1 line space below and should be typed with 9 pt font size. Between text and figures/tables must be adequate space to distinguish each of them.
 9. In each paragraph, indentation must be done (1 cm space).
 10. International abbreviations should be used. In text 'ml' should be used for mililiter and 'min' should be used for minute to make harmonize for common abbreviation.
 11. Manuscripts should be organise as follows: Title, Abstract, Keywords, Introduction, Material and Method, Result and Discussion, Acknowledgement, References. Each section must be separated with 2 line spaces. The section titles must be written with bold capital letters at 12 pt font size. No line ' spaces between section headings and text.
- **Title:** It should be written in Turkish and English. Font size must be 14 pt as a bold for first title. In the second title, font size must be 12 pt as an italic. The title must be appropriate to the text.
 - **Abstract:** It should be written in Turkish and English no longer than 200 words, 10 pt, *Italic*. Abstract should be written in a border. If manuscript is written in a foreign language, must include Turkish abstract. In addition, the abstract should be written in subheadings as objective, material and method, result and discussion within itself.
 - **Keywords:** Up to 5 key words should be provided in alfabetic and *italic* at the end of the abstract.
 - **Introduction:** It should contain a clear statement of the aim and novelty of the study.
 - **Material and Method:** It should be described in sufficient detail to allow other works to dublicate the study. **If animals are used, authors must indicate that approvals of the relevant regulatory authorities or local ethical commitees were obtained and that appropriate regulatory or local ethical commitee approvals were obtained and that informed consent was documented.**

- **Result and Discussion:** The results must be clearly and concisely described with the help of appropriate illustrative material. The discussion should deal with the interpretation of the results.
- **Acknowledgement:** If necessary, this section should be given at the end of the text, before references.
- **References:** The style of references is that of the American Psychological Association (APA). They should be numbered with Arabic numerals consecutively in the order in which they first appear in the paper, for example: [1, 2,...]. Cited publications should be listed in numerical order at the end of the paper. If there is more than one author, all the names of the authors should be written. Examples are given below;

i. **Article:** Reference to a journal publication (journal names in full, not abbreviated)

Moncada, S., Palmer, R.M.J., Higgs, E.A. (1989). Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication, *Biochemistry and Pharmacology*, 38, 1709 – 1715.

ii. **Electronic Article:**

Perneger, T. V. and Giner, F. (1998). Randomized trial of heroin maintenance programme for adults who fail in conventional drug treatments. *British Medical Journal*, 317. Retrieved August 12, 2005, from <http://www.bmj.com/cgi/content/full/317/7150/>

iii. **Web page:**

Clinical Pharmacology Web site. (2001). Retrieved June 16, 2004, from <http://cpip.gsm.com/>

iv. **Book:**

Franke, R. (1984). *Theoretical Drug Design Methods*, Elsevier, Amsterdam, p.130.

v. **Chapter in a book:**

Weinberg, E.D. (1979). Antifungal Agents. In: M.E. Wolff and S.E. Smith (Eds.), *Burger's Medicinal Chemistry*, (pp. 531-537). New York: John Wiley and Sons.

12. The characterization of compounds should be presented in a separate paragraph and for all new compounds, evidence to confirm both identity and purity have to be provided.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ DERGİSİ

YAYIN SAHİBİNİN ADI : Prof. Dr. Asuman BOZKIR
SORUMLU YAZI İŞLERİ MÜDÜR ADI : Prof. Dr. İlkay YILDIZ
YAYIN İDARE MERKEZİ ADRESİ : Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Dekanlığı, 06560 Yenimahalle/Ankara
YAYIN İDARİ MERKEZİ ADRESİ TEL : 0 (312) 203 30 69
YAYIN TÜRÜ : Bilimsel Periyodik Elektronik Dergi, Yılda 3 Sayı

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Özgün Makaleler / Original Articles

Sayfa / Page

- Aysel PEHLİVANLI, Büşra AKYOL, Özlem SESYILMAZ, Ömer GÖÇÜN, Arzu ONAY BEŞİKCİ, Arif Tanju ÖZÇELİKAY, Gülbin ÖZÇELİKAY – **THE ROLE OF THE PHARMACIST IN HYPERTENSION MANAGEMENT: A MODEL APPLICATION IN PRIMARY HEALTH CARE – HİPERTANSİYON TEDAVİ YÖNETİMİNDE ECZACININ ROLÜ: AİLE SAĞLIĞI MERKEZİ'NDE BİR MODEL UYGULAMASI** 1
- Muhammed Mesud HÜRKUL, Ayşegül KÖROĞLU – **TÜRKİYE'DE DOĞAL OLARAK YETİŞEN BAZI COTONEASTER MEDİK. (ROSACEAE) TÜRLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ – COMPARATIVE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SOME COTONEASTER MEDİK. (ROSACEAE) SPECIES NATIVE TO TURKEY** 12
- Nilay TARHAN – **ECZACILIK ÖĞRENCİLERİNİN İNTERNET ÖZ-YETERLİKLERİ – INTERNET SELF-EFFICACY OF PHARMACY STUDENTS** 34
- Buket HAYAT, Muhsin Selçuk YAVUZ, Engin ŞAHİN, Onur DİRİCAN, Sezen YILMAZ SARIALTIN, Can YILMAZ, Işıl YILDIRIM, Tülay ÇOBAN, Gülçin GÜLER ŞİMŞEK, Serpil OĞUZTÜZÜN – **KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIGINDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ MU1 VE TETA1 POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ – THE ROLE OF GLUTATION-S-TRANSFERASE MU1 AND TETA1 POLYMORPHISMS IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE** 41
- Thenmozhi MANI, Rajeswari SIVARAJ – **SCREENING OF ANTI-PEPTIC ULCER ACTIVITY OF JASMINUM SAMBAC – JASMINUM SAMBACIN ANTI-PEPTİK ÜLSER AKTİVİTE TARAMASI** 57
- Derlemeler / Reviews**
- Hatice DEMİRTAŞ, Ceyda Tuba ŞENGEL TÜRK – **ALTIN NANOPARTİKÜLLER VE KANSERDE KULLANIMLARI – GOLD NANOPARTICULES AND USES IN CANCER** 70
- Betül ÇAKMAK, Bahar İNKAYA – **MİKROBİYOTANIN HASTALIKLAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİ – THE EFFECT OF MICROBIOTA ON DISEASES** 96
- Melike ONGUN, Başaran MUTLU AĞARDAN, Füsun ACARTÜRK – **ALT ÜNİTE BAZLI AŞILARIN PULMONER UYGULAMASINA GENEL BAKIŞ – AN OVERVIEW OF SUBUNIT-BASED VACCINES FOR PULMONARY ADMINISTRATION** 109
- Meliha EKİNCİ, Derya İLEM ÖZDEMİR – **NANOTERANOSTİKLER – NANOTHERANOSTICS** 131