



# Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni

## *Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association*

e-ISSN: 2667-8381



Cilt (Volume): 12 - Sayı (Issue): 2 - 2021  
<https://dergipark.org.tr/vetfarmatoksbulten>



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni  
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

Prof.Dr. Ender YARSAN (Ankara Üniversitesi, Türkiye)



**Editörler Kurulu / Editorial Board**

Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ (Ankara Üniversitesi, Türkiye)  
Doç.Dr.Begüm YURDAKÖK DİKMEN (Ankara Üniversitesi, Türkiye)  
Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ (Kırıkkale Üniversitesi, Türkiye)  
Dr. Sedat SEVİN (Ankara Üniversitesi, Türkiye)

**Danışma Kurulu / Advisory Board**

Prof.Dr. Abdurrahman AKSOY (Ondokuzmayıs Üniversitesi)	Prof.Dr. Cavit KUM (Adnan Menderes Üniversitesi)
Prof.Dr. Arif ALTINTAŞ (Ankara Üniversitesi)	Prof.Dr. Aneliya MILANOVA (Trakya Üniversitesi, Bulgaristan)
Prof.Dr. Nuri ALTUĞ (Namık Kemal Üniversitesi)	Prof.Dr. Songül SONAL (Uludağ Üniversitesi)
Prof.Dr. Yavuz Osman BİRDANE (Afyon Kocatepe Üniversitesi)	Prof.Dr. İbrahim TAŞAL (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)
Prof.Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU (Fırat Üniversitesi)	Prof.Dr. Bünyamin TRAŞ (Selçuk Üniversitesi)
Prof.Dr. Gürdal DAĞOĞLU (Fırat Üniversitesi)	Prof.Dr.Murat YILDIRIM (İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi)
Prof.Dr. İbrahim DEMİRKAN (Afyon Kocatepe Üniversitesi)	Prof.Dr. Ali Cesur ONMAZ (Erciyes Üniversitesi)
Prof.Dr. Ahmet DOĞANAY (Ankara Üniversitesi)	Dr. Ishraga G. IBRAHİM (Central Veterinary Res Lab, Sudan)
Prof.Dr. Gökhan ERASLAN (Erciyes Üniversitesi)	Dr. Shahram SAGHAEI (Orumieh Azad Üniversitesi, İran)
Prof.Dr. İzzet KARAHAN (Balıkesir Üniversitesi)	Dr. Tomaž SNOJ (Ljubljana Üniversitesi, Slovenya)





Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni  
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association



**İmtiyaz Sahibi :** Prof.Dr. Ender YARSAN

**Yazı İşleri Müdürü :** Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ

**Dernek Yazışma Adresi :** Atmaca Sokak No: 8/3 06110, Dışkapı- Ankara

**Tasarım :** Makromedya Halkla İlişkiler Ltd. Şti.

**Dizgi :** Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ

Bültenin amacı, bilimsel etik kuralları çerçevesinde, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji ile ilgili ulusal- uluslararası literatüre katkıda bulunacak derleme türünde çalışmalarını yayınlamaktır. Yılda üç kez yayınlanan kör hakemli bir açık erişim bültenidir. Bültenin yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir. Alınan tüm yazılar intihal kontrol yazılımları (iThenticate veya Turnitin programı) ile kontrol edilmektedir.

Bültenimiz 2019 yılı Cilt 10, Sayı 1'den itibaren ResearchBib (Academic Research Index), ESJI(Eurasian Scientific Journal Index), ROOTINDEXING, Google Scholar, Sindex (Scientific Indexing Services), 2020 yılı Cilt 11, Sayı 1'den itibaren de ASOS İndeks, Türkiye Atıf Dizini, Index Copernicus ve TR Dizin indeksleri tarafından taranmaktadır. Bültenimizde yayınlanacak makalelere Cilt: 11, Sayı: 1'den itibaren DOI numarası verilmektedir.

Her Hakkı Saklıdır. Bültende yer alan yazılar kaynak gösterilerek alıntı yapılabilir. Yazıların her türlü sorumluluğu yazarlara aittir.

İletişim: [vftdbulden@vetfarmatoks.org.tr](mailto:vftdbulden@vetfarmatoks.org.tr)





Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni  
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Cilt: 12 - Sayı: 2- 2021

---

1. KÖK HÜCRE ÜRETİMİ, İZOLASYONU VE TEDAVİDE KULLANIMI <i>STEM CELL PRODUCTION, ISOLATION AND THEIR USES IN TREATMENT</i> Muhammet Mükerrerem KAYA, Hidayet TUTUN.....	55
2. SU KAYNAKLARINDA MİKROPLASTİKLERİN VARLIĞI VE İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMİ <i>MICROPLASTICS PRESENCE IN WATER SOURCES AND ITS IMPORTANCE FOR HUMAN HEALTH</i> Ömer ÇAKMAK, Ulaş ACARÖZ.....	79
3. VETERİNER HEKİMLİĞİNDE MALPRAKTİS <i>MALPRACTICE IN VETERINARY MEDICINE</i> Ayşe Dilruba ALAT ER, Gökhan ASLİM.....	89
4. YEM VE GIDALARLA HAYATIMIZA GİREN AFLATOKSİNLERİ ÖNLEME YÖNTEMLERİ <i>AFLATOXIN ENTERING OUR LIVES WITH FEED AND FOOD AND PREVENTION METHODS</i> Fadime TONBAK, Pelin DEMİR.....	105
5. BAZI HASTALIKLARIN TEDAVİSİNİN DESTEKLENMESİNDE PROPOLİS KULLANIMININ ÖNEMİ <i>IMPORTANCE OF PROPOLIS UTILIZATION TO COMPLEMENT TREATMENT OF CERTAIN DISESASES</i> İrem UĞUR, Seran TEMELLİ, Ayşegül EYİĞÖR. ....	118



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni  
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association  
e-ISSN: 2667-8381, 12 (2): 55-78, 2021  
DOI: 10.38137/vftd.969798

## KÖK HÜCRE ÜRETİMİ, İZOLASYONU VE TEDAVİDE KULLANIMI

Muhammet Mükerrerem KAYA<sup>1a</sup>, Hidayet TUTUN<sup>1b</sup>

<sup>1</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Burdur

ORCID<sup>a</sup>: 0000-0002-7781-5342, ORCID<sup>b</sup>: 0000-0001-9512-8637

\*Sorumlu Yazar: Hidayet TUTUN  
E-Posta: hidayettutun@gmail.com

Geliş Tarihi: 11.07.2021  
Kabul Tarihi: 19.08.2021

### ÖZET

Kök hücreler, çok hücreli canlıların bütün doku ve organlarını oluşturan temel hücrelerdir. Mitoz bölünme ile farklı hücre ve doku tiplerine farklılaşma ve çoğalma yeteneğine sahiplerdir. Kök hücrelerin hasarlı hücreleri değiştirme veya organları yenileme yetenekleri bazı hastalıkların tedavisinde alternatif bir tedavi seçeneği olmasını sağlamıştır. Kök hücre biyolojisinin anlaşılması ve hastalıkların tedavisinde klinik uygulamalar üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Son yıllarda özellikle kişiye özel tedavi seçeneklerinin ön plana çıktığı çalışmalar göze çarpmaktadır. Kök hücre biyolojisinde önemli ilerlemelere rağmen, embriyonik kök hücrelerle etik tartışmalar, tümör oluşumu ve doku reddi gibi konular bunların kullanımını sınırlandırmaktadır. Kök hücre teknolojisinin gelişmesiyle yakın gelecekte farklı alanlarda kullanılabilen kök hücrelerle elde edilen doku bankalarının oluşturulması ve kişiye özel tedavi stratejisine katkı sağlaması beklenmektedir. Bu derleme, kök hücre tanımı, kökeni ve sınıflandırılması ile bu hücrelerin rejeneratif tıptaki uygulamaları üzerine odaklanır.

**Anahtar Kelimeler:** Kök hücre, Rejeneratif tıp, Tedavi.

### STEM CELL PRODUCTION, ISOLATION AND THEIR USES IN TREATMENT

#### ABSTRACT

Stem cells are the basic cells that form all tissues and organs of multicellular organisms. Stem cells have become an alternative therapy option in the treatment of various illnesses with the ability to repair damaged cells or regenerate organs. In recent years, there has been a tremendous increase in the understanding of stem cell biology and clinical applications in the treatment of diseases. Today, stem cells have been used for therapeutic purposes alongside traditional treatment in the world. Although significant advances in stem cell biology, ethical debates regarding embryonic stem cells, tumorigenesis and rejection limit their use. The successful results in the use of stem cells have made it a new treatment strategy in diseases. It is expected that the development of stem cell technology will contribute to establishment of tissue banks obtained from stem cells with different usage areas and to a personalized treatment strategy in the near future. This review focuses on the definition, origin and classification of stem cells and their applications in regenerative medicine.

**Keywords:** Stem Cell, Regenerative Medicine, Therapy.

#### GİRİŞ

Kök hücre çok hücreli organizmaların herhangi bir hücreye farklılaşabilen, kendini yenileme yeteneğine sahip ve aynı kök hücreden sonsuz sayıda çoğalabilen öncü hücre olarak bulunan farklılaşmamış veya kısmen farklılaşmış hücrelerdir (Zakrzewski ve ark., 2019). Kök hücrelerin bu farklılaşma yeteneği, onları dokuların rejenera-

edilmesi ve onarılmasında büyük bir terapötik potansiyel haline getirir (Biehl ve ark., 2009). Kök hücreler insan vücudundaki her doku ve organı oluşturan temel hücrelerdir. İnsan vücudunda sinir hücresi, kas hücresi, deri hücresi, yağ hücresi gibi yaklaşık 200 farklı özel hücre türü bulunur. Bu özel hücre türleri kök hücrelerin farklılaşması sonucu oluşur. Kök hücrelerin sahip oldukları büyüme

faktörleri ve sitokinler ile ekstraselüler matriks ve diğer hücrelerle temasına bağlı olarak, farklılaşma yetenekleri değişiklik gösterir. Bazı kök hücreler yalnızca belirli hücrelere farklılaşma yeteneğine sahipken, bazıları ise birçok hücre türüne farklılaşma yeteneğine sahiptir (Clause ve ark., 2010; Devkate ve ark., 2019). Kök hücreler sahip oldukları kendini yenileme ve potens adı verilen özellikleri ile diğer hücrelerden ayrılırlar. Potens terimi; hücrelerin, çeşitli türdeki hücrelere farklılaşması olarak tanımlanır (Kalra ve ark., 2014; Singh ve ark., 2016). Kök hücre ilgili çalışmalar 1868 yılında Alman biyolog Ernst Haeckel tarafından yapılmaya başlanmıştır. Haeckel yaptığı çalışmalarda tüm çok hücreli organizmaların tek bir ata hücreden geldiğini tanımlamak için almanca kök hücre anlamına gelen “Stammzelle” terimini kullanmıştır. Kök hücrelerin özelleşmiş hücrelere farklılaşabilme yeteneğinin ortaya konması ise 19. yüzyılın sonlarında August Weismann tarafından ortaya atılmıştır. Theodor Boveri ve Valentin Häcker, Wismann’ın teorisini destekleyerek, genetik materyalin bozulmadan gelecek nesillere aktarıldığını ortaya koymuşlardır. Boveri ve Häcker yaptıkları çalışmalarda ilk kez kök hücre terimini kullanmışlardır. Kök hücrelerin temel özellikleri ile ilgili ilk çalışmalar 1960’lı yıllarda Ernest McCulloch ve James Till tarafından yapılmıştır. Amerikalı biyolog James Thomson 1998 yılında embriyonik kök hücreleri izole etmeyi başarmıştır (Ramalho-Santos ve Willenbring, 2007). Yapılan bu çalışmalar ışığında kök hücrelerin yeni bir teröpatik potansiyeli olduğu ortaya konmuştur. Bu derlemede kök hücrelerin farklılaşması, sınıflandırması, izolasyonu ve tedavide kullanımı hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

## KÖK HÜCRELERİN FARKLIlaşMASI

Kök hücreler organizmada bulunan farklılaşmamış hücrelerdir ve herhangi bir hücre tipine dönüşebilirler. Kök hücreler hem embriyoda hem de yetişkin bireylerde bulunurlar. Kök hücrelerin farklılaşmaları çeşitli şekillerde meydana gelir (Zakrzewski ve ark., 2019). Sahip oldukları farklılaşma yeteneklerine göre totipotent, pluripotent, multipotent veya unipotent şeklinde sınıflandırılırlar (Rajabzadeh ve ark., 2019).

### Totipotent kök hücreler

Totipotent tanımı, organizmada tek bir hücrenin ekstraembriyonik dokular da dahil olmak üzere organizmada bulunan hücrelere farklılaşması olarak tanımlanır. Totipotent kök hücreler, vücutta bulunan tüm hücrelere farklılaşabilme yeteneğindeki kök hücrelerdir. Bu özelliğe sahip olduğu bilinen tek kök hücre tipi fertilize yumurta hücresi olan zigot hücresidir. Zigot hücresi sahip olduğu özellikle organizmadaki tüm özel hücre tiplerinin oluşumu ve fetal gelişim için gerekli olan plasental yapıların oluşumunu sağlar (Mitalipov ve Wolf, 2009; Oyar ve ark., 2015).

### Pluripotent kök hücreler

Pluripotent kök hücreler endoderm, mezoderm ve ektodermden oluşan embriyonik yapıların herhangi birine farklılaşma yeteneğine sahip kök hücreler olarak ifade edilmektedir. Bu kök hücreler totipotent kök hücrelerden oluşan hücrelerdir. Ancak totipotent hücreler gibi ekstraembriyonik yapıların oluşumuna katılmazlar. Pluripotent kök hücreler fetal veya yetişkin herhangi bir hücre tipine (200 farklı tipteki hücreye) farklılaşabilir. İmplantasyon sonrasında



embriyonun blastosist katmanından izole edilebilirler (Mitalipov ve Wolf, 2009; Kumar ve ark., 2010; Girlovanu ve ark., 2015).

Pluripotent olmayan kök hücrelere embriyonik evrede bazı transkripsiyon faktörlerinin eklenmesi ile oluşturulan kök hücrelere indüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPSC) denir. iPSC'ler implantasyondan sonra epiblast katmanından izole edilirler. Bu hücreler doğrudan somatik hücrelerden gen ekspresyonu ve farklılaşmanın tersine çevrilmesi sonucu elde edilen hücrelerdir. iPSC'ler tipik olarak belirli bir hücre tipine potens ile ilişkili germ kümelerinin veya Oct4 (Octamer-binding transcription factor 4), Sox2 (Sex determining region Y-box 2), cMyc ve Klf4 (Kruppel-like factor 4) gibi yeniden programlama ile ilişkili transkripsiyon faktörlerinin aktarılmasıyla elde edilirler. Bu hücrelerin üretilmesi uzun ve verimsiz süreçler içerir. Fare hücreleri için 1-2 hafta, insan hücreleri için ise 3-4 hafta sürer ve verimlilik ise yaklaşık %0,1'dir. Yapılan çalışmalarla yeniden programlama faktörlerinin eklenmesi iPSC üretiminde verimin artmasını sağlamıştır (Ye ve ark., 2013; Guo ve ark., 2015).

### **Multipotent kök hücreler**

Multipotent kök hücrelerin farklılaşma yetenekleri pluripotent kök hücrelerinden daha sınırlıdır ve sadece belirli hücre soylarındaki ayrı hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahiptirler. Multipotent kök hücrelerin çok sayıda hücre tipine dönüşmesi farklılaşma kabiliyetlerini kaybetmelerine neden olur ve sadece küçük bir kısmı bu özelliklerini korur. Örneğin; beyinde bulunan multipotent kök hücreler kan hücrelerine farklılaşabilen farklı nöral hücreler ve glia hücreleri veya hematopoietik kök hücreler üretebilirler; ancak sinir hücrelerine farklılaşma yeteneğine sahip değildirler. Multipotent kök

hücreler sınırlı farklılaşma yeteneklerinden dolayı erişkin kök hücre olarak kabul edilirler ve gelişim, doku onarımı ve savunma mekanizmalarında önemli anahtar görevlere sahiptirler. Yapılan çalışmalarda nöral ve kardiyak bozukluklar gibi çok sayıda bozukluğun tedavisi için multipotent kök hücre uygulamasının potansiyel bir teröpatik etkisi olduğu belirtilmiştir (Blau ve ark., 2001; Girlovanu ve ark., 2015; Oyar, 2015; Zakrzewski ve ark., 2019).

### **Unipotent kök hücreler**

Tek hücre anlamına gelen unipotent hücreler bir kök hücrenin yalnızca bir hücre ve doku tipine farklılaşma yeteneğine sahip olduğunu gösterir (Bernemann ve ark., 2011). Kas hücreleri unipotent hücrelere örnek olarak verilebilir. Yetişkin dokularda diğer kök hücrelere kıyasla farklılaşma potansiyeli en düşük olan hücrelerdir. Bu tip hücrelerin kendilerini yenileme yeteneği yoktur. Sınırlı farklılaşma yeteneklerine rağmen çeşitli hastalıkların tedavisinde bir potansiyel olarak görülürler (Rajabzadeh ve ark., 2019).

### **KÖK HÜCRELERİN SINIFLANDIRILMASI**

Kök hücreler farklılaşma kapasitelerine göre ya da elde edildikleri kaynağa göre sınıflandırılırlar. Kök hücreler elde edildikleri kaynağa göre embriyonik ve yetişkin kök hücreler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Yetişkin kök hücreler fetal kök hücrelerden, kadavradan, göbek kordonundan, plasentadan, kemik iliğinden, yağ dokudan, birçok organda bulunan somatik kök hücrelerden elde edilebilir (Barky ve ark., 2017; Çerçi ve Erdost, 2019).

### **Embriyonik kök hücreler**

Embriyonik kök hücreler memeli blastosistinin iç hücre kitlesinden elde edilebilen, pluripotent yapıda ve kendi kendini yenileme yeteneğine sahip

hücrelerdir. Endoderm, mezoderm ve ektoderm gibi embriyonik yapraklara ve her türlü somatik hücreye farklılaşabilirler. Bu özellikleri sebebiyle doku rejenerasyonunda kullanılırlar. İmplantasyon gerçekleşmeden önce uterusunda bulunan gelişim aşamasındaki embriyolardan elde edilirler. Embriyo gelişiminin ilk döneminden 4-5 günlük bir süre sonra kültür ortamına alınır. Kültür ortamında farklılaşmamış şekilde dondurularak saklanabilir ve istenen herhangi bir hücre hattına farklılaşmaları için uyarılabilirler (Barky ve ark., 2017; Rajpoot ve Tewari, 2018).

### Yetişkin kök hücreler

Yetişkin dokularda bulunan kök hücreler organizmada sınırlı ölçüde kendini yenileme ve farklılaşma yeteneğine sahip hareketsiz hücrelerdir. Yetişkin dokularda çok sayıda kısmen farklılaşmış hücre olan öncü (progenitör) hücre türleri olduğu tespit edilmiştir, bu da dokuların kendi kök hücrelerine sahip olduğunu gösterir. Bu hücreler organizmada fizyolojik yıkımlanmaların veya patolojik süreçler sonucu oluşan hasarların giderilmesinden sorumludurlar (Chagastelles ve Nardi, 2011; Barky ve ark., 2017).

Yetişkin kök hücreler multipotent ve unipotent yapıdadır ve belirli tip hücrelere farklılaşabilirler. İnsan vücudunda en fazla yetişkin kök hücre kemik iliğinde bulunur. Bununla birlikte göbek kordunu kanı, periferik kan, amniyotik sıvı, merkezi sinir sistemi, deri epidermisi, sindirim kanalı, iskelet kası, kornea, retina, pankreas, karaciğer, kalp, yağ dokusu ve akciğer gibi birçok doku ve organdan izole edilebilirler (Oyar, 2015).

Organizmada bulunan birçok dokuda yerleşik şekilde bulunan yetişkin kök hücreler onarım, hastalık veya yaralanma sonucu kaybedilen hücrelerin yerini alacak yeni hücreler üretirler. Bu

dokularda bulunan yetişkin kök hücreler kaynak dokularının dışında farklı hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahiptirler (Passier ve Mummery, 2003).

### Hematopoetik kök hücreler

Hematopoetik kök hücreler (HSC) kendi kendini yenileme potansiyeline sahip ve tüm hematopoetik hücrelere farklılaşarak diğer kan hücrelerinin oluşumunu sağlayan hücrelerdir. Bu sürece hematopoez adı verilir. Hematolojik bozuklukların tedavisinde ve kötü huylu hastalıklarda tam iyileşme sağlayabilmek için yüksek dozda kullanılırlar (Barky ve ark., 2017).

Omurgalılarda bu sürecin büyük bir kısmı kemik iliğinde meydana gelir. Hematopoetik kök hücreler miyeloid ve lenfoid adı verilen farklı kan hücrelerinin üretilmesini sağlarlar. Miyeloid ve lenfoid hücrelerin her ikisi de dendritik hücre oluşumunda rol oynar. Miyeloid hücreler arasında monositler, makrofajlar, nötrofiller, bazofiller, eozinofiller, eritrositler ve megakaryositler ile trombositler bulunur. Lenfoid hücreler arasında T hücreleri, B hücreleri, doğal öldürücü hücreler bulunur. Hematopoetik kök hücreler miyeloid dokuda 1:10.000 oranında hücrenin oluşumunu sağlar. HSC nakilleri, kanserlerin ve diğer bağışıklık sistemi bozukluklarının tedavisinde kullanılırlar (Till ve McCulloch, 1961; Ng ve ark., 2009; Birbrair ve Frenette, 2016).

### Mezenkimal kök hücreler

Mezenkimal kök hücreler (MSC) insan ve hayvanlardan izole edilebilen yetişkin kök hücrelerdir. İnsanlardan izole edilen MSC'ler (hMSC) osteosit, adiposit ve kondrosit gibi mezodermal kaynaklı hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahip multipotent yapıdaki kök hücrelerdir. hMSC'ler ilk kez kemik iliğinde tespit edilmiştir ve yapılan



çalışmalarda yağ dokusu, amniyotik sıvı, endometriyum, diş dokusu, göbek kordonu ve göbek kordonunu çevreleyen yapı olan Wharton peltesi MSC'leri barındıran potansiyel yapılar olarak bildirilmiştir (Ullah ve ark., 2015). hMSC için en yaygın olarak kullanılan kaynak kemik iliği ve adipoz dokudur. Kültür ortamında hızlı çoğalma yeteneğine sahip olan MSC'lerin gelişmesiyle daha önce diğer hücrelerde bulunmayan hücre içi farklılaşma potansiyellerine sahiptirler ve ayrıca fazla miktarda yararlı büyüme faktörü ve sitokin üretme yetenekleri bulunur (Pittenger ve ark., 2019).

MSC'ler belirli hücre sinyalleri sonucu çok sayıda özel hücre tipine farklılaşma yeteneğine sahiptirler. Mezodermal (osteoblastlar, kondrositler, adipositler, miyositler, kardiyomisitler), ektodermal (nöronal hücreler) ve endodermal (hepatik, pankreatik ve solunum epitelı gibi) hücre tiplerine farklılaşabilirler (Song ve Tuan, 2004).

MSC'lerin önemli özelliklerinden biri, immünmodulator etkiye sahip olmalarıdır. *In vitro* olarak elde edilen MSC'ler doğal ve kazanılmış bağışıklık süreçlerinde yer alan efektör hücrelerin işlevlerini düzenleme yeteneğine sahiptirler. Mononükleer hücre proliferasyonunu inhibe ederek doğal ve aktif nötrofillerin apoptozunu bloke eder ve vasküler endotel hücrelere bağlanan nötrofillerin sayısını azaltır ayrıca bölgeye göç etmelerini sınırlayarak immünmodulator etki gösterirler. Aynı zamanda aktive MSC'ler tarafından sentezlenen sitokinler, nötrofil kemotaksisini ve fagositik etkiye sahip makrofajların bölgede toplanmasını ve uyarılmasında görev alan proinflatuar kemokinlerin salgılanmasını uyarıcı etkisi bulunur (Andrzejewska ve ark., 2019).

Makrofajlar inflamasyon bölgesinde sitokin üretiminden sorumlu ana hücrelerdir ve bu sebeple immünmodülasyonun sağlanması için odak noktasını

oluştururlar. Yapılan çalışmalarda MSC'lerin makrofajlar tarafından üretilen TNF- $\alpha$  (Tümör nekroz faktörü alfa), IL-6 (İnterlökin-6) ve IFN- $\gamma$  (Interferon gamma) gibi proinflatuar sitokinlerin üretimini inhibe ettiği belirtilmiştir. Bu sayede bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu ve lokal olarak inflamasyon sürecini kontrol altına alınarak doku hasarı azaltılır. MSC'ler ayrıca inflamasyon bölgelerinin temizlenmesinde önemli rol oynayan fagositik aktiviteye sahip apoptotik hücrelerin gelişimine katkı sağlarlar (Semedo ve ark., 2011).

MSC'ler B lenfositlerinin gelişimi ve farklılaşması sırasında hücre bölünme fazı olan G0 ve G1 aşamalarında döngünün durdurulmasının indüklenmesini sağlayabilir aynı zamanda immüngloblin üretimi için gerekli olan Blimp-1 adı verilen çözünür moleküllerin salınmasıyla, B lenfositlerin farklılaşması ve aktivasyonu modüle edebilirler (Cao ve ark., 2015; Le Blanc ve ark., 2015).

### Epidermal kök hücreler

Deri organizmanın bütünlüğünü sağlayan, patojenler için ilk bariyer görevi gören vücudun en büyük organıdır. Dehidrasyonun önlenmesi, vücut ısısının düzenlenmesi, dokunma, basınç, ısı ve ağrı duyularının sağlanması gibi önemli işlevlere sahiptir. Aynı zamanda doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerini yapısında barındırır. Deri üç ana katmandan oluşmaktadır. Bunlar epidermis, dermis ve hipodermistir. Derinin en dış katmanını oluşturan epidermiste kıl folikülleri, yağ bezleri ve ter bezleri gibi çeşitli oluşumlar bulunur. Memeli epidermisinde kendini yenileme yeteneğine sahip keratinositler oluşan epidermal kök hücreler kıl folikülü ve yağ bezlerinin oluşturduğu yapı olan pilosebase unit etrafında yer alırlar. Sabit lokalizasyon gösterirler ve yüksek proliferasyon yeteneğine sahiptirler. Cildin homeostazını korur, yara iyileşmesini sağlar ve

neoplazma oluşumunun önüne geçerler (Barky ve ark., 2017; Yang ve ark., 2019).

Epidermal kök hücreler sahip oldukları yüzey belirteçleri ile diğer hücrelerden ayrılırlar. Yüzeylerinde yüksek düzeyde CD34, CD200,  $\beta$  integrin ve  $\alpha$  integrin ekspresyonu gösterirler, ayrıca düşük düzeyde CD45 ve CD71 ekspresyonu da gösterirler (Cotsarelis, 2006; Köse, 2015).

Epidermal hücrelerin bazal tabakası tabakalı skuamöz epitelyumu şekillendirmek amacıyla en dış tabaka olan stratum korneum tabakasına kadar çoğalır ve terminal farklılaşma için cilt yüzeyine doğru farklılaşmaya başlar. Epidermal kök hücreler niş adı verilen kök hücre popülasyonunu çevresel hasara ve pigmentasyona karşı koruyan bölgeden çıkıp hücrelerin ara ürünlerini oluşturarak en dış tabakaya hareket ederler. Epidermal kök hücrelerin homeostazı, farklılaşması ve proliferasyonu için farklı sinyal yolları olduğu bildirilmiştir. Notch, Wnt/ $\beta$ -katenin, c-myc ve p63 yolları epidermal kök hücre çekirdek ağını oluştururlar. Notch sinyal yolağı, Notch'un TNF- $\alpha$  dönüştürücü enzim (TACE) ve p-sekretaz tarafından NICD'ye (Notch hücre içi alan) bölünmesi ile aktive edilir. Sonuç olarak NICD, CBF1/CSL transkripsiyon faktörünü bir gen baskılayıcıdan bir gen aktivatörüne dönüştürür, böylece Hes ve Hey ailesi gibi aşağı yönde hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır (Shen ve ark., 2013).

### Hepatik kök hücreler

Karaciğer çok sayıda işlevi yerine getiren karmaşık yapıda bir organdır, bu nedenle birden çok hasar ve işlev bozukluğuna karşı hassastır. Karaciğer hasarın tipine veya boyutuna göre farklı rejenerasyon kapasitesine sahiptir. Olgun karaciğer hücreleri hasarlı dokuları yenilemek için çoğalır ve iyileşme

için parankimal fonksiyon gösterirler (Verhulst ve ark., 2015).

Karaciğer anatomik ve çeşitli işlevler bakımından insan vücudundaki en fonksiyonel organlardan biridir. Ekzokrin ve endokrin bez olarak işlev görmektedir. Sindirim sisteminin düzenlenmesi, aynı zamanda vücudun savunması ve toksik maddelerin yok edilmesi için birçok işlevi yerine getirir. Hepatositler, biliyer epitel hücreleri (kolanjiyositler), Kupffer'in yıldız hücreleri ve karaciğer sinüzoidal endotel hücreleri dahil olmak üzere farklı hücre tiplerinden oluşur. Yüksek rejenerasyon kabiliyetine sahip olan hepatositler çeşitli yaralanmalar sonrasında dokunun hasarlı alanlarının onarımını sağlarlar (Messina ve ark., 2020).

Karaciğer dokularında oluşan hasarın giderilmesi olgun hepatositlerin çoğalması ve sinüzoidal hücrelerin desteklenmesi ile gerçekleşir. Deney hayvanlarında yapılan çeşitli çalışmalar hepatositlerin hasarlı karaciğer dokusunda mitoz bölünmeye uğradığını ve işlev kaybı olmadan en az 69 kez bölünebileceğini göstermiştir. Bu nedenle hepatositlerin hematopoietik kök hücrelere benzer şekilde büyüme potansiyeline sahip olduğunu gösterilmiştir (Overturf ve ark., 1997). Hepatositlerin rejenerasyonun başlamasında Nükleer Faktör Kappa-B, STAT3, AP-1 ve C/EBP- $\beta$  gibi transkripsiyon faktörlerinin rol oynadığı belirtilmiştir (Kountouras ve ark., 2001). Hepatositlerin yaşam süresi boyunca geniş parankimal hücre sayısını muhafaza etme kapasitesi gibi özellikleri hepatositlerin kök hücre olarak sınıflandırılmasını sağlamıştır (Zhang ve ark., 2003).

### Pankreatik kök hücreler

Pankreas ekzokrin ve endokrin olmak üzere iki tip

dokudan oluşur. Ekzokrin doku genel olarak sindirim enzimleri ve bikarbonat salgılayan asiner hücrelerden oluşur. Endokrin doku ise glukagon, insülin, somatostatin, pankreas polipeptidi veya grelin salgılayan hücrelerden oluşur. Bu hormonlar metabolik sinyallere yanıt olarak doğrudan sistemik dolaşıma salınırlar (Ku ve ark., 2008).

Pankreatik kök hücrelerin varlığı üzerinde tartışmalar bulunmaktadır. Ortak düşünce pankreas hasarını takiben  $\beta$  hücre replikasyonu ve pankreas kanallarının yakınında ve içinde bulunan progenitör hücrelerin farklılaşması ile gerçekleştiği yönündedir. Yapılan çalışmalar sonucunda fare pankreas kök hücrelerinin güçlü şekilde kendini yenileyebildiği bildirilmiştir. Bu hücrelerin glukagon, insülin ve somatostatin üreten hücrelere farklılaştığı bildirilmiştir. Sonuç olarak pankreas kanallarının içinde ve yakınında bulunan hücrelerin multipotent karakterde kök hücreler olabileceği belirtilmiştir (Noguchi, 2010).

### Gastrointestinal kök hücreler

Gastrointestinal sistemde yer alan epitel hücrelerin döngüsü fizyolojik şartlar altında 2-7 günlük bir süreç sonunda meydana gelir. Bu süreç gastrointestinal kanalda bulunan epitel hücrelerini ve mide bezleriyle tüm bağırsak kript hücrelerini oluşturabilen multipotent kök hücreler tarafından sağlanır. Gastrointestinal kök hücrelerin mide bezlerinde ve bağırsak kriptlerinde belirli nişlerde yer aldığı bildirilmiştir. Bu hücreler progenitör hücreler aracılığıyla bağırsakta yer alan tüm hücre tiplerine farklılaşabilirler (Brittan ve Wright, 2002).

Gastrointestinal kök hücreler mide epitelyal kök hücreler ve bağırsak kök hücreler olmak üzere iki sınıftan oluşurlar. Bağırsak kök hücrelerinde Wnt sinyali bağırsak kript hücrelerinin çoğalması için gereklidir ve bu sinyal yolunun hedef geni olan *lösin*

açısından zengin G-protein bağlı reseptör 5'in (LGR5) kript tabanındaki hücrelerde eksprese edildiği tespit edilmiştir. LGR5 pozitif hücreler kript tabanında yer alması, pluripotent ve kendi kendini yenileme yeteneğine sahip olduğu için LGR5'in bağırsak kök hücreleri için iyi bir belirteç olduğu sonucuna varmışlardır. Bununla birlikte bu hücrelerin aktiveleri Wnt, Notch, BMP, PI3K gibi sinyal yolları tarafından düzenlenmektedir. Bu yollarda meydana gelebilecek kusurlar kanser gelişimine sebep olabilir. Mide epitelyal kök hücrelerin midede antral-pilorik segment bölgesinde skuamokolumnar bileşke yakınındaki korpus alanında bulunduğu tespit edilmiştir. Yüzeylerinde bağırsak kök hücrelerinde olduğu gibi LGR5'i eksprese ettikleri belirlenmiştir. Ayrıca mide epitel hücrelerinin kendini yenileme, farklılaşma, homeostazisin sağlanması ve tümör oluşumunun önlenmesinde Notch sinyal yolağının kullanıldığı bildirilmiştir (Brabletz ve ark., 2009; Pirvulet, 2015).

### Nöral kök hücreler

Nöral kök hücreler (NSC) sinir sisteminde yer alan kök hücrelerdir. Gelişim sırasında sinir sisteminin oluşumunu sağlarlar. Embriyonik gelişim aşamalarında memelilerin sinir sisteminde nöronlarını ve glia'larını oluşturan radyal glial progenitör hücreleri oluştururlar ve multipotent hücrelerdir. Gelişim tamamlandıktan sonra yetişkinlerde az sayıda NSC kalır ve genellikle hareketsiz şekilde bulunurlar. Gelişim aşamasında memelilerde merkezi sinir sisteminin gelişimi nöral tüpü kaplayan NSC'ler ile oluşur. Merkezi sinir sistemindeki üç ana hücre tipi olan nöronlar, astrositler ve oligodendrositler zamanla sırasıyla NSC'lerden farklılaşırlar (Clarke ve ark., 2000; Zhao ve Moore, 2018).

Epidermal büyüme faktörü (EGF) ve fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) *in vitro* ve *in vivo* koşullarda nöral kök hücrelerin ve progenitör hücrelerin proliferasyonunu ve oranını etkilerler. (Taupin ve ark., 2000).

### KÖK HÜCRE İZOLASYONU

Çeşitli dokularda, kemik iliğinde ve kanda bulunan kök hücrelerin doku ve organlarda oluşan hasarların rejenerasyonunu sağladığı son yıllarda yapılan birçok çalışmada ortaya konmuştur. Yapılan yoğun çalışmalar ile basitleştirilmiş, verimli, kullanıma uygun, işlevsel şekilde kullanılabilen ve birçok doku türüne uygulanabilen kök hücre izolasyon teknikleri

geliştirilmiştir. Bu teknikler geleneksel ayırma yöntemleri ve yeni yöntemler olarak ikiye ayrılırlar (Zhu ve Murthy, 2013).

### Geleneksel kök hücre izolasyon yöntemleri

Kök hücre izolasyonu genel olarak iki farklı parametreye göre yapılır. Bunlar boyut ve yoğunluğa dayalı olan fiziksel teknikler ve kimyasal, elektriksel ve manyetik özelliklere bağlı afiniteye dayalı tekniklerdir (Tablo 1). Fiziksel teknikler kök hücrelerin aynı dokudaki diğer hücrelere göre farklı boyut ve yoğunluğa sahip olmasına dayanır (Radisic ve ark., 2006).

**Tablo 1.** Geleneksel Kök Hücre İzolasyon Yöntemleri (Zhu ve Murthy, 2013).

Yöntem	Avantaj	Dezavantaj	Örnekler
Yoğunluk gradyan santrifüjü	Büyük işlem hacmi, Kolay ölçeklendirme	Düşük saflık, daha fazla heterojenlik	Ficoll-paque; Percoll
Yoğunluk gradyan santrifüjü -negatif seçim	Büyük işlem hacmi, kolay ölçeklendirme, yüksek saflık	Sadece tam kanda uygulanır	RosetteSep (Kök Hücre Teknolojisi)
Ön kaplama	Büyük işlem hacmi, kolay ölçeklendirme	Düşük saflık, daha fazla heterojenlik	İnsan embriyonik kök hücreleri; insan yağ hücresinden türetilmiş kök hücreler
Koşullu genişletme ortamı	Büyük işlem hacmi, Kolay ölçeklendirme	Düşük saflık, daha fazla heterojenlik	Kemik iliğinden insan mezenkimal kök hücreleri
Dielektroforez (DEP)	Kök hücreler üzerinde etiketleme gerek duyulmaz, hücreleri canlılığa göre sıralanır	Çapraz reaktivite düşük saflığa neden olur	Canlı yağ hücresi kaynaklı kök hücreler
Alan akış fraksiyonlama (FFF)	Kök hücrelerin pozitif veya negatif yüklerle etiketlenmesi gerekmez	Kök hücreleri yalnızca boyut ve yoğunluk farklılıklarına göre ayrılabilir	Fetal membrandan insan mezenkimal kök hücreleri
Akış sitometrisi (FACS)	Güçlü, hassasiyet, yüksek çözünürlük	Operasyon için iyi eğitilmiş personel gerektirir, pahalı, büyük ölçekli işlemler için değil, özel bir aparat gerektirir	İnsan Embriyonik Kök Hücre Türevli Nöral Hücre Popülasyonları, insan hematopoietik kök ve progenitör hücreler
Manyetik Aktif Hücre Sıralama (MACS)	FACS'den daha basit	Hedef kök hücreler manyetik parçacıklar içerir	Kolonsuz EasySep (Kök Hücre Teknolojisi); MACS (Miltenyi)

### Yoğunluk gradyan santrifüjü

Yoğunluk gradyan santrifüjü pahalı olmayan bir hücre ayırma tekniğidir. Bununla birlikte sınırlı özgülük, düşük saflık ve düşük verim gösterir. Sıklıkla kullanılan bir laboratuvar tekniği olmasına rağmen uzmanlaşması zor, yavaş ve zahmetli bir süreç içerir. Yoğunluk gradyan ortamının kullanması yaklaşık 30 dakika boyunca aralıksız süren santrifüjleme ardından uygun hücre katmanını dikkatlice hasat edip yıkanmalarını gerektiren bir süreçtir. Bu metot heterojen bir örnek içinde bulunan hücrelerin (Örn; tam kan) sahip oldukları değişken yoğunluklarına dayanmaktadır. Santrifüj işleminden önce numuneye yoğunluk gradyan ortamı eklenir (Örn; Ficoll-paque; Percoll). Santrifüj işlemi sırasında her hücre tipi hücrelerin ve ortamın yoğunluğuna eşit olduğu gradyan bölgesinde yer alır ve bu sayede kök hücrelerin diğer hücrelerden ayrılması sağlanır (Majekodunmi ve ark., 2015).

### Ön kaplama

Ön kaplama tekniği farklı hücre tiplerini ayırmak için uzun yıllardır yaygın şekilde kullanılan bir tekniktir. Bu teknik hücrelerin jelatin kaplı kültür yüzeyine farklı yapışma özelliklerine dayanır. Özellikle kas kök hücrelerinin ayrılmasında kullanılır. Ayrılmış kas dokusunda bulunan kas hücrelerinin kültür plakasına yapışması fibroblast ve epitel hücrelerine göre daha uzun sürmektedir. Hücrelerin kültür plakasına eklenmesinden yaklaşık 60 dakika sonra süpernatant toplanarak oldukça saflaştırılmış kök hücre popülasyonu elde edilebilir. Bu yöntemle %90 oranında verim sağlanabileceği bildirilmiştir. Fare miyeloblastlarında integrin  $\alpha 7$ , MyoD ve desmin gibi miyojenik belirteçlerin ekspresyonuna dayalı olarak yapılan ön kaplama ile %98'e kadar saflık elde edilmiştir (Park ve ark., 2006; Choi ve ark., 2021).

### Koşullu genişletme ortamı

Bu metot mezenkimal kök hücrelerin izolasyonu için kullanılır. Bu hücreler kültür ortamında fibroblast hücrelerine benzer şekilde tutunabilirler ancak kendini yenileme ve farklılaşma kapasiteleri sınırlıdır. Kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücrelerin telomer uzunluğunun kısalması ve uğradığı morfolojik değişikliklerle kültür ortamında hızlı şekilde yaşlanabileceği belirtilmiştir. Hastalarda mezenkimal kök hücrelerin kullanımı önemli yer tutmaktadır. Bu sebeple bu hücrelerin karakterlerinin korunması tedavide önemlidir. Bunun için kültür ortamında hücrelerin korunmasını sağlayan farklı genişletme ortamları oluşturulmuştur. Bunların en sık kullanılanları fetal buzağı serumu (FCS) ve L-glutamin içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium) ortamıdır. Bunların yanında temel fibroblast büyüme faktörü (b-FGF) gibi büyüme faktörlerini de içeren büyüme ortamı da kullanılır. Bunun için en yaygın kullanılan medium, %60 düşük glikozlu DMEM, %40 MCDB-201,  $1 \times$ insülin transferin selenyum,  $1 \times$ linoleik asit sığır serum albümini (BSA),  $10^{-9}$  M deksametazon ve  $10^{-4}$  M askorbik asit, 2-10 ng/mL EGF (Epidermal Growth Factor) ve 10 ng/mL PDGF-BB (Recombinant Human Platelet Derived Growth Factor-BB) ile desteklenmiş fosfat içeren, Catherine Verfaillie tarafından oluşturulan genişletme ortamıdır. Mezenkimal kök hücrelerin kültür ortamında genişlemesiyle ilgili farklı veriler bildirilmiştir. Bazı araştırmacılar 19-21 kat, bazıları 25-30, bazıları ise 30-40 kez pasajlama yapılabileceğini belirtmişlerdir (Apel ve ark., 2009).

### Dielektroforez

Dielektroforez (DEP) elektrik alan gradyanları tarafından oluşturulan elektriksel olarak polarize edilebilir parçacıkların hareketini sağlayan ve

hücreleri içsel elektro-fiziksel özelliklerine göre ayıran bir tekniktir (Pethig ve ark., 2010). DEP alternatif akım elektrik alanının kullanıldığı hücrelerin ve bunları çevreleyen sıvının elektriksel polaritelerindeki farklılıkların kullanılarak hücrelerin manipüle edildiği ve ayrıştırılabildiği bir sistemdir. Aynı zamanda elektriksel özellikleri kullandığı için biyokimyasal etiketlemelere ihtiyaç duymadan hücre alt kümelerinin de tanımlanmasında kullanılan ideal bir yöntemdir. Genellikle heterojen yapıdaki hücre popülasyonları ayırt etmek için kullanılır (Ismail ve ark., 2015). Özellikle hematopoietik kök hücreleri (CD34 antijeni olarak tanımlanan) ve kandaki farklılaşmış türevlerini bunun yanında adipoz dokudaki mezenkimal kök hücreleri ayırt etmek için kullanılan bir tekniktir. Bir hücre elektrik alanına yerleştirildiğinde polarize olur ve bir çift kutup oluşturur. Düzgün olmayan bir elektrik alanına yerleştirildiğinde hücre boyutu, yüzey yükü, nükleik asit içeriğine bağlı olarak tek yönde harekete neden olan net bir kuvvet oluşur (Zhu ve Murthy, 2013). İndüklenen elektriksel momentumun polaritesine bağlı olarak hücreler 2 farklı şekilde hareket ederler. Bu etkiler pozitif DEP ve negatif DEP olarak isimlendirilirler. Pozitif DEP hücrelerin yüksek elektriksel alanların ve değişimlerin olduğu elektrotlara yakın alanlara doğru hareket etmesini sağlar. Negatif DEP ise hücrelerin elektrotlardan uzak alanlara hareket etmesini sağlar. Bu sayede iki hücre popülasyonunun farklı DEP yanıtı vermesiyle hücreler farklı dielektroforetik profillerine ayrılabilirler (Pethig ve ark., 2010; Ismail ve ark., 2015).

#### **Alan akışlı fraksiyonlama**

Alan akışlı fraksiyonlama (FFF) hücre popülasyonu içinde bulunan canlı hücrelerin sahip oldukları

morfolojik ve biyofiziksel farklılıklar ile farklı fraksiyonlara ayrılmalarını sağlar. FFF işlemi sırasında hücrelerin özellikleri ve işlevleri korunur (Roda ve ark., 2009a). FFF, laminer bir akış içeren kılcal ve boş bir alanda mobil bir faz içerisine analitin dikey olarak eklenmesi sonucu mobil faz ile etkileşim göstermesi prensibine dayanır. Mobil faz numune içerisinde bulunan bileşenlerin kanaldan aşağıya doğru hareket etmesini sağlar. Hücrelerin sahip oldukları alan, boyut ve yüzey özelliklerindeki farklılıklar sebebiyle numunelerin laminer akışı dik olarak uygulanır ve bu da farklı hücrelerin farklı tutanma süresi göstermesine sebep olur. Bu sayede hücre popülasyonu arasında ayırım yapılması sağlanır (Roda ve ark., 2009b).

FFF çalışma prensibi olarak sıvı kromatografik yöntemlere benzemektedir, numune bir kanal boyunca hareket ettirilir ve karakterizasyonu sağlamak için bir dedektör veya toplama cihazına aktarılır. Sıvı kromatografik yöntemlerden farklı olarak FFF de sabit faz bulunmaz. FFF numunenin makromoleküllerin ve mikrometre düzeyinde parçacıkların elüsyonlarının hareketini sağlar. Numunelerin oluşan parabolik akış sayesinde birikim duvarına doğru itilmesiyle duvara olan uzaklığı azalır ve bu da numunenin konsantrasyonun artmasını sağlar. Artan konsantrasyon bir konsantrasyon gradyanı oluşmasını sağlar. Birbirine zıt gerçekleşen bu iki işlem dengelendiğinde oluşan numune bulutu ortalama bir yüksekliğe sahip olur. Numunenin molar kütlesi veya boyutu ne kadar küçükse bulut yüksekliği o oranda yüksek olur ve kanaldan çıkma süresi kısalmır (Reschiglian ve ark., 2005).

FFF yönteminin farklı alt teknikleri bulunur. En eski alt teknik termal FFF'dir. Termal FFF'de alan farkı sıcaklık ile oluşturulur. Kanalin bir tarafı ısıtılır diğer tarafı ise soğutulur. Bu sayede kanalin



üst ve alt duvarları arasında uygulanan küçük sıcaklık farkı yüksek termal gradyan üretir. Kullanılan alt tekniklerin en basit örneği yerçekimi etkisini kullanan yerçekimsel alan akış fraksiyonudur (GrFFF). Bu alt tekniğin hücrelerin mikrometre boyutunda çeşitli partiküllerden ayrılmasında ve karakterizasyonunda başarılı olduğu bildirilmiştir. Bir diğer alt teknik, GrFFF'ye benzer prensiple çalışan hücreleri ayırmak ve saflaştırmak için merkezkaç kuvvetini kullanan sedimantasyon FFF'dir (SdFFF). FFF'nin kök hücrelerde ilk kez 1996 yılında fare kemik iliğinden kök hücrelerin izolasyonunda GrFFF alt tekniği ile yapıldığı bildirilmiştir (Kowalkowski ve ark., 2006).

İnsan vücudunda kök hücre çeşitliliğinin az olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple karmaşık hücre popülasyonları arasında kök hücrelerin izolasyonları için immünojenik belirteçler ve etiketlemelerden yararlanılır. Bu etiketlemeler için manyetik bir boncuk veya floresanla etiketleme gibi teknikler kullanılır. Bu teknik kök hücrelerin izolasyonu için avantajlar sağlarken bazı dezavantajları beraberinde getirebilir. Örneğin bir kök hücrenin etiketlenmesi kök hücrelerin farklılaşma süreçlerini engelleyebilir ayrıca pluripotent kök hücreler için spesifik belirteçler mevcut değildir. Bu sebeple FFF yöntemi bu dezavantajların giderilmesi için kullanılabilir önemli bir yöntemdir (Reschiglian ve ark., 2005).

### Akış sitometrisi

Akış sitometrisi (FACS), monoklonal antikorlara konjuge edilen floresan boyalar ile boyanmış farklı tiplerdeki hücrelerin hızlı bir şekilde incelenmesine olanak sağlar. Her hücre biyokimyasal ve antijenik açıdan farklı özellikler gösterdiği için ayrı ayrı değerlendirilir (Preffer ve Dombkowsk, 2009). Bu yöntem akan bir sıvı içerisindeki hücrelerin özelliklerinin incelenmesi şeklinde özetlenebilir.

FACS yönteminin temeli hücrelerin boyutu, şekli, DNA ve RNA içeriği ve stoplazmik içeriği yönünden incelenmesidir. Bunun için hedef yapı veya hücre öncelikle floresan madde ile işaretli bir antikor veya özel fluoressan yapıdaki bir madde (antikor veya nükleik asitlere özel propidium iodide gibi özel bir boya) ile işaretlenir (Kanev ve Muranlı, 2016). FACS bir ışık kaynağından geçen bir sıvı akışındaki mikroorganizmalar, çekirdekler ve kromozomlar gibi tek bir hücrenin veya diğer partiküllerin sahip olduğu optik ve floresan özelliklerini ölçme yeteneğine sahiptir. Antikorlarla veya boyalar ile işaretlenen hücrelerin boyutu, tanecikliği ve floresan özellikleri de hücreleri analiz etmek ve farklılaştırmak için kullanılan parametrelerdir (Adan ve ark., 2017).

Lazer demetinin içinden geçen her bir hücre veya partikül lazer ışınının sapmasına neden olur. Hücreler tarafından yayılan fluorosen ışınlar bir araya getirilir ve optik filtreler aracılığıyla sahip oldukları farklı dalga boylarına göre ayrılırlar ve analog sinyaller elde edilir. Fluorosen antikorlar hücrelerin sahip oldukları spesifik yüzey reseptörlerinin yoğunluğunun tespit edilmesini sağlar. Bu sayede farklılaşmış hücre tipleri ve bunların alt popülasyonlarında tespit edilir (Karaboz ve ark., 2008).

FACS yöntemi heterojen hücre popülasyonları arasında hücrelerin ve bunların bileşenlerinin kantitatif özelliklerini hızlı bir şekilde analiz edilmesini sağlar. Kök hücrelerin izole edilebilmesi için monoklonal antikorların kullanıldığı immünofenotiplendirme yöntemi kullanılır. Monoklonal antikorlar kullanılarak kök hücrelerin yüzeylerinde bulunan spesifik belirteçler saptanabilir. Bu antikorlarla istenen antijenik yapının varlığı ya da yokluğu belirlenebilir (Kanev ve Muranlı, 2016).

### Manyetik aktif hücre sıralama

Manyetik aktif hücre sıralama (MACS) tekniği hücrelerin yüzeyinde bulunan yüzey belirteçlerine dayalı hedef hücrelerin yüksek verimle tanımlanmasına olanak sağlar. Biyoteknolojide *in vitro* çalışmalarda hücre temelli geliştirilen tedavide geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Hücre temelli yapılan çalışmalarda yüksek saflık, geri kazanım ve verimli biyomedikal uygulamalar için kritik öneme sahiptir. Özellikle FACS yöntemi heterojen karışımlar içerisinde hücrelerin sahip olduğu birden çok optik parametreyi eşzamanlı olarak ölçerek spesifik izolasyonlar yapabilmesi bu yöntemi önemli bir araç haline getirmiştir. Bununla birlikte her hücre için kantitatif ölçüm gerektirmesi bir dezavantaj oluşturur. MACS yöntemi ise bunun aksine manyetik olarak etiketlenmiş hedef hücrelerin yüksek verimle ayrılmasına olanak sağlar (Adams ve ark., 2008).

MACS yöntemi ile hücrelerin farklılaşma gruplarına göre farklı hücre türleri izole edilir. %90'nın üzerinde saflık istenen durumlarda hücre popülasyonlarının izolasyonunu sağlayabilir. Hücrelerin izolasyonunun için monoklonal antikor, enzim, lektin veya streptavidin ile kaplanan manyetik boncuklar hücre yüzeylerinde bulunan yüzey antijenlerine bağlanırlar. Daha sonra hücre süspansiyonları manyetik alana yerleştirilir. Etiketlenmemiş hücrelerin yıkanması sağlanarak uzaklaştırılır ve manyetik alanda kalan etiketlenmiş hücreler yakalanır. Manyetik alanın kapatılması sonucu etiketlenen hücreler elde edilir (Kaur ve ark., 2019; Zeb ve ark., 2019).

MACS yönteminin pozitif ve negatif ayırma olmak üzere iki ayırma tekniği bulunur. Pozitif ayırma tekniğinde normal çalışma prensibine göre etiketlenmemiş hücreler yıkanarak uzaklaştırılır, istenen hücrelerin bağlanması için ise antikor ile

kaplı manyetik boncuklar kullanılır. Negatif ayırma tekniği ise genellikle türe özgü maddelerin mevcut olmadığı durumda kullanılır. İşlem görmemiş hücreler antikor kokteyli ile kaplanır böylece etiketlenmemiş hücreler yakalanırken etiketlenen hücrelerde yıkanarak toplanabilir (Zeb ve ark., 2019).

Kök hücre çalışmalarında özellikle kemik iliği, göbek kordonu kanı ve lipoaspirat örneklerinden elde edilen MSC popülasyonunun izole etmek için kullanılmıştır. Bunun yanında MSC'lere benzer özellik gösteren kemik iliği stromal kök hücrelerin de izolasyonu için bu yöntemin kullanıldığı bildirilmiştir. Bu kök hücrelerin izolasyonu için yüzeylerinde bulunan CD106 antijenin işaretleyicisi STRO-1 kullanılmıştır. STRO-1 kök hücrelerin eritrositlerden ve lenfositlerden ayrılmasına olanak sağlar. Bunun dışında CD11b, CD34 ve CD45 gibi antijenlerin kök hücrelerin MACS yöntemiyle izolasyonunda hedef olarak seçilebileceği bildirilmiştir (Markides ve ark., 2019).

### Yeni yöntemler

Kök hücre izolasyonunda yüksek saflıkta hücre elde etmek, izolasyon işlemini basitleştirmek ve seri üretimin sağlanması amacıyla yeni izolasyon yöntemleri ortaya çıkmaktadır. Yeni yöntemler mevcut yöntemlerin geliştirilmesi veya yeni bir prensibin oluşturulmasına dayanır (Zhu ve Murthy, 2013).

### Sıcaklığa duyarlı iki fazlı sistem

Yeni bir yöntem olan bu sistem sıcaklık farkına dayalı kök hücrelerin izole edilebilmesini sağlar. Sıcaklığa duyarlı bir polimer olan poli (N-izopropilakrilamid) (PNIPAAm) oda sıcaklığında (20°C) suda çözünebilirken, 32-35°C'de ise sulu

çözeltilerde çöker. Kök hücreye özgü spesifik belirteçleri tanıyan PNIPAAm ile konjuge edilen antikolar kullanılarak hücrelerin izolasyonu sağlanır. Sıcaklık 20°C'den 32-35°C'ye yükseltilerek sulu çözeltiden çöktürülebilir. Bu sayede sulu çözeltide çökelmiş hücreler polietilen glikol (PEG) (üst faz) ve dekstran (alt faz) tarafından oluşturulan iki fazlı bir yoğunluk farkında santrifüjleme ile diğer hücrelerden ayrılabilir. Hedef hücreler iki fazın arasında tortu şeklinde bantlar halinde bulunurken, diğer hücreler ise alt kısımda toplanır (Zhu ve Murthy, 2013).

### **Eksponansiyel zenginleştirme ile sistematik ligand geliştirme**

Eksponansiyel zenginleştirme ile sistematik ligand geliştirme (SELEX) hedeflenen hücrelerin izolasyonu için hedeflerine üç boyutlu şekillerinden dolayı yüksek seçicilik ve duyarlılıkla bağlanan oligonükleotidler (RNA veya ssDNA) olan aptamerlerin kullanıldığı bir yöntemdir. Bu yöntem ile herhangi iki hücre tipi arasındaki yüzey moleküllerinin ekspresyonun arasındaki farklılıklar belirlenebilir. Genellikle eritrositlerin, kanser hücrelerinin ve kök hücrelerin izolasyonunda kullanılır. Aptamerler 15-60 bazdan oluşan aminoasit, peptit, protein, nükleozit, bazı ilaçlar ve mikroorganizmalar gibi farklı hedeflere yüksek özgünlükte bağlanabilme yeteneği bulunan RNA ve DNA oligonükleotitleridir. Üç boyutlu ve kıvrımlı bir yapıya sahiptirler. Hedef molekülleriyle aralarında hidrojen bağları, elektrostatik etkileşimler ve Van der Waals etkileşimleri oluşturarak hedef yapıya bağlanabilirler. Aptamerler antikolara benzer şekilde hedef moleküllere yüksek afinite ve özgüllük gösterirler. Bunun yanında hem ısı denatürasyonuna hem de indirgeme koşullarına karşı dayanıklılık gösterir (Didar ve Tabrizian, 2010).

SELEX tabanlı hücre izolasyonuna başlamak için öncelikle DNA ya da RNA ile hazırlanan yaklaşık  $10^{16}$  oligonükleotit içeren bir oligonükleotit kütüphanesi hazırlanır. Elde edilen kütüphane rastgele dizilmiş 40-80 nükleotit uzunluğunda bir merkez bölgeye sahip olan DNA ya da RNA parçalarıyla hazırlanır ve kütüphane PCR ile çoğaltılır. Daha sonra aptamerler kök hücre popülasyonu ile inkübe edilirler. Bağlanmayan aptamerler uzaklaştırılır. Bağlanan aptamerler daha sonra hücre yüzeylerinden ayrıştırılır. Bir sonraki SELEX döngüleri için RT-PCR ile tekrar çoğaltılır. DNA ve RNA havuzlarının istenmeyen bölgelerine spesifik bağlanmaları önlemek için önceden belirlenen DNA ve RNA havuzu kontrol hücrelerine maruz bırakılır. Her bir döngü SELEX turu olarak ifade edilmektedir ve 10-12 tekrar sonrasında hedef moleküle yüksek afinite bağlanabilen DNA dizileri elde edilmiş olur. Hedef seçme ve çıkarma işlemlerinden sonra homojen aptamer popülasyonunda spesifik olarak hedef hücreye bağlanır. Spesifik aptameri tespit etmek için mikroakışkan cihazlar kullanılır. Bu cihazlar seçim sürecinin hızlı, verimli ve otomatik hale getirirler (Stoltenburg ve ark., 2007; Ohuchi, 2012; Bayraç ve Kandemir, 2018).

### **Mikroakışkanlar**

Mikroakışkan sistemler kök hücre izolasyonunda da kullanılan, cihazların ve sistemlerin küçültülmesini amaçlayan yeni bir uygulama alanıdır. Bu sistemler istenen mikro çevreyi elde etmek için mikrometre ölçeğe kadar olan sıvı akışlarını hassas şekilde manipüle ederler. Bu sayede kök hücrelerin kültürü, düzenlenmesi ve izolasyonu için önemli araçlar haline gelmişlerdir. Geliştirilen mikroakışkan cihazlar kök hücre analizleri dışında hastalıkların teşhisi, ilaç taraması, metabonomi, doku mühendisliği ve diğer biyolojik uygulamalar gibi

çok sayıda alanda yaygın olarak kullanılırlar (Zhang ve ark., 2017).

Mikroakışkan sistemlerde hedef *in vitro* ortamların mikro düzeyde taklit edilmesidir. Optik şeffaflık ve geliştirilen protokollerin otomatik hale gelmesi gibi avantajlara sahiptirler. Bu sayede mikro ortamlarda incelenen hücrelerin morfolojileri ve işlevleri sistematik olarak incelenebilir ve gerçek zamanlı olarak taranabilir (Wu ve ark., 2011). Diğer avantajları ise küçük boyutlara sahip olması sebebiyle reaksiyon hızlarının ve analiz sürelerinin azalması, reaktiflerin ve analitlerin tüketiminin azalması, potansiyel olarak olabilecek zararlı yan ürünlerin üretiminin azalması ve tek bir çip üzerinde birden fazla test veya birden fazla entegre işlem yapabilmesidir (van Noort ve ark., 2009).

## KÖK HÜCRELERİN TEDAVİDE KULLANIMI

Kök hücre alanındaki ilerlemeler geleneksel ilaçlarla tedavi edilemeyen hastalıkların tedavisinde hücre temelli yöntemlerin ön plana çıkmasını sağlamıştır. Kök hücreler monoklonal antikörlere benzer şekilde kullanılarak kişiye özel bir tedavi seçeneği sunmaktadır. Kök hücrelerin sahip olduğu farklılaşma yeteneği rejeneratif tıp olarak isimlendirilen bu alanın sınırlarının genişlemesini sağlamıştır. Kök hücreler rejeneratif tıpta doku rejenerasyonunu sağlayarak, patojenlerin ve kötü huylu hücrelerin immünizasyonu için otolog, allojenik ve singenik olarak kullanılabilirler (Mahla, 2016; Kaya ve Tutun, 2021).

### Multipotent kök hücrelerin tedavide kullanımı

Bu hücreler çeşitli hastalıkların tedavisinde antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilere yol açarak bir dizi hücrenel veya mekanik yolu aktive edebilirler. Bu hücrenel ve moleküler yolların

inhibe edilmesi veya aktivasyonu ile terapötik etkiler sergilediği bildirilmiştir (Mirzaei ve ark., 2017).

Multipotent kök hücreler dokularda meydana gelen hasar sonucu kemokin miktarını ve buna bağlı olarak kemokin reseptörlerinin ekspresyonunun artması sebebiyle hasarlı bölgeye göç edebilecekleri bildirilmiştir. Oluşturulan hayvan modellerinde omurilik yaralanması, kemik kırığı, otoimmün bozukluk, romatoid artrit ve hematopoetik bozukluklar gibi farklı hastalıkların tedavisinde multipotent kök hücreler uygulamalarının başarılı olabileceği belirtilmiştir (Sobhani ve ark., 2017).

**Kardiyovasküler hastalıklar:** Multipotent kök hücreler miyokard dokusunda meydana gelen hasarın giderilmesi ve dokunun yenilenmesini sağlar. Yapılan denemelerde miyokardiyal perfüzyonu ve skar dokusunu iyileştirdiği, kardiyomiyositlerin yenilenmesini hızlandırdığı ve endojen progenitör hücrelerin aktivasyonunu sağladığı belirtilmiştir. Bu etkileri ile sistolik ve diyastolik hacimler gibi kardiyak fonksiyonun önemli derecede iyileşmesini ve kalp yetmezliği gelişimini azalttığı görülmüştür (Miyahara ve ark., 2006). Bir başka çalışmada ise amniyotik kök hücrelerin terapötik potansiyeli ortaya konmuştur. Amniyotik kök hücreler koroner arterlerde ligasyon uygulanarak iskemi oluşturulan sıçanlarda uygulanmıştır. Kök hücre tedavisi sonucu miyokardiyal hücre ölümünün önlendiği ve dokuda nekroz gelişiminin azaldığı belirtilmiştir (Bollini ve ark., 2011).

Köpeklerde enfarktüs sonrası ölü miyokard dokusunun kardiyak progenitör hücreleri içerip içermediğini belirlemek için yapılan bir çalışmada ise hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1) ile aktive edilen kök hücreler aracılığıyla enfarktüslü kalbin

iyileştirilebileceği ortaya konmuştur. Bu çalışmada kalpteki kardiyak kök hücrelerin varlığı yüzeylerinde eksprese ettikleri c-kit, MDR-1 ve Sca-1 yüzey antijenlerinin tespit edilmesiyle belirlenmiştir. Enfarktüsün oluşumundan sonra kalpte bulunan kardiyak kök hücrelerin aktivasyonunu sağlamak için HGF ve IGF-1 enfarktüsün olduğu komşu miyokardiyuma enjekte edilmiştir. IGF-1 ve HGF ilgili hücreler tarafından eksprese edilmekte ve göç, çoğalma ve hayatta kalmalarını aktive ederler. İmplantasyonun ardından ekokardiyografik ve yapısal parametreler incelenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda büyüme faktörü uygulanan grubun büyüme faktörü uygulanmayan gruba kıyasla progenitör hücrelerin sayısı artmıştır (Linke ve ark., 2005). HGF'nin damar büyümesini ve miyokardiyal rejenerasyonu artırdığı bildirilmiştir. IGF-1'in uyarılması ise hücre ölümünün önüne geçer ve kardiyomyositlerin farklılaşmasını indükler (Reiss ve ark., 1996).

**Otoimmün hastalıklar:** *In vitro* denemelerde amniyotik kök hücrelerin hematopoetik hücrelere farklılaşma yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. İmmün yetmezliği olan farelerde amniyotik kök hücre transplantasyonundan 4 ay sonra bu kök hücrelerden farklılaşan makrofaj, doğal öldürücü hücre, B ve T lenfositlerinin varlığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar multipotent yapıdaki amniyotik kök hücrelerin hematopoetik sistemde immünmodülasyon sağlayarak otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılabilirliğini göstermiştir (Ditadi ve ark., 2009).

Deneysel bir fare modeli üzerinde yapılan bir çalışmada farelerde deneysel otoimmün ensefalomyelit oluşumu indüklenmiş ve mezenkimal multipotent kök hücreleri tedavi amacıyla kullanılmıştır. Multipotent kök hücreler hastalığın indüklenmesinden önce koruyucu amaçlı

olarak ve hastalığın oluşumu sırasında uygulanmıştır. Her iki dönemde de  $1 \times 10^6$  hücre intravenöz olarak uygulanmıştır. Uygulanan kök hücreler farelerin tibia ve femurlarında bulunan kemik iliğinden izole edilerek hazırlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda multipotent kök hücreler hem anti-CD3 veya anti-CD28 ile aktive edilen farelerde, hem de miyelin oligodendrosit glikoproteini (MOG) ile uyarılmış farelerde oluşan T hücre yanıtlarının inhibe edilmesini sağlamıştır. Buna bağlı olarak multipotent kök hücrelerin farelerde T hücresi aracılı deneysel otoimmün ensefalomyeliti tedavi ettiği bildirilmiştir (Zappia ve ark., 2005).

**Diyabet:** Diyabet dünya üzerinde her yaşta insanda görülebilen kronik bir hastalıktır. Son yıllarda diyabet tedavisi için düzenli insülin enjeksiyonu, insülin pompasının kullanımı, Beta hücresi veya pankreas nakli gibi yöntemler kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar multipotent hücrelerin diyabet tedavisinde kullanılabilirliğini göstermiştir. Amniyotik kök hücrelerin uygulandığı diyabetik farelerde insülin ve GLUT-2 mRNA'nın ekspresyonunun arttığı ve kan glikoz seviyesinin düştüğü gözlenmiştir. Buna bağlı olarak da vücut ağırlıklarının normal seviyelere düştüğü belirtilmiştir. Amniyotik kök hücrelerin insülin ve glukagon üreten hücrelere farklılaşarak bu hormonların seviyelerinin yükselmesini sağlamıştır. Bu etkileri ile diyabet tedavisinde kullanılabilirliği belirtilmiştir (Wei ve ark., 2003; Sobhani ve ark., 2017).

**Karaciğer yetmezliği:** Karaciğer dokusu, parankiminde oluşabilecek bir yıkımlanma sonrasında güçlü bir rejenerasyon potansiyeline sahiptir. Bazı durumlarda rejenerasyon kapasitesi yetersiz kalır ve karaciğer yetmezliği meydana gelir. Oluşan karaciğer hasarının giderilmesi ve rejenerasyonun desteklenmesi amacıyla mezenkimal

kök hücrelerin kullanımı için çalışmalar yapılmıştır. MSC'lerin hepatositler rejenerasyon sağladığı, immünomodülatör ve antiinflamatuvar yanıtları indüklediği belirtilmiştir. Ayrıca proinflamatuvar fibrinojenik sitokin aktivitesini inhibe ederek ve apoptozisi azaltarak etkili olmuştur. Ayrıca, MSC'lerin epidermal büyüme faktörü (EGF) salgılayarak hepatosit proliferasyonunu ve fonksiyonunu sağladığı belirtilmiştir (de Miguel ve ark., 2019).

Klinik denemelerde MSC'ler intravenöz (IV), intrahepatik (portal ven veya hepatik arter aracılığıyla) ve intrasplenik gibi çeşitli yollarla hastalara nakledilmiştir. IV enjeksiyon kolay uygulanabilirliği sebebiyle klinik uygulama için en çok kullanılan yoldur. Uygulama kolaylığına rağmen, uygulanan hücrelerin 1-2 saat içerisinde yaklaşık %60'lık kısmının akciğerde birikebileceği ve immün sistem hücreleri tarafından temizlenmesi sebebiyle karaciğere ulaşamayacağı bildirilmiştir. İntraportal enjeksiyon ise daha hızlı uygulama ve hedef doku dışında birikimin olmaması sebebiyle MSC'lerin karaciğer hastalıklarında kullanımı için en uygun yoldur. İntrasplenik yöntem ise en az kullanılan uygulama yoludur (Yang ve ark., 2020).

**Solunum yolu hastalıkları:** Solunum yolu hastalıkları hafif soğuk algınlığı gibi hastalıklardan pnömoni, pulmoner emboli, akut astım ve akciğer kanseri gibi tehlikeli hastalıklara kadar çeşitlilik gösterebilir. Bu hastalıkların tedavisi için bronkodilatörlerin kullanımı, organ nakli ve rejenerasyonun sağlanması gibi seçenekler mevcuttur. MSC'ler sahip oldukları rejenerasyon kapasitesi ile obstrüktif bronşiolit, idiyopatik pulmoner fibroz ve KOAH gibi kronik akciğer hastalıklarının tedavisinde terapötik bir ajan olarak kullanılabilirler. Plasental ve kemik iliğinden elde edilen MSC'ler endotoksin veya bakteriyel

kaynaklı gelişen akciğer doku hasarında inflamasyonu ve doku hasarını azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca, endojen kök hücrelerin hasarlı bölgeye ulaşması ve lokal kök hücrelerin ise farklılaşma sinyallerinin oluşturulmasıyla akciğer dokusunda rejenerasyonu başlattığı düşünülür. MSC'ler tarafından salgılanan stromal hücrelerden üretilen faktör (SDF-1) ismi verilen kemokinin anjiogenesi sağladığı ve MSC'lerin rejeneratif etkilerine aracılık ettiği belirtilmiştir. Bununla birlikte inflamatuvar sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretiminin baskılanmasıyla antiinflamatuvar ve koruyucu etki gösterirler (Hosseiniad ve ark., 2018).

**İnfeksiyöz hastalıklar:** Farklı yüzeylerde veya doku implantlarında oluşan biyofilmleri tedavi etmek için tek başına antibiyotik kullanımının yeterli olmadığı ve antibiyotiklerle beraber alternatif tedavi seçeneklerine de ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Johnson ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda mezenkimal kök hücrelerin fagositlerin aktivitelerini ve antimikrobiyal peptitlerin aktivitelerini artırarak antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Krasnodembskaya ve ark., 2012; Alcaayaga-Miranda ve ark., 2015).

Farelerde oluşturulan kronik bir *Staphylococcus aureus* enfeksiyonunda MSC'lerin etkisi antibiyotiklerle beraber değerlendirilmiştir. Bu çalışmada tedavi edilmeyen kontrol grubu, sadece antibiyotik uygulanan grup, sadece MSC uygulanan grup, aktive edilmiş MSC uygulanan grup, MSC ile beraber antibiyotik uygulanan grup ve aktive edilmiş MSC ile birlikte antibiyotik uygulanan grup olmak üzere 6 farklı grup oluşturulmuştur. Antibiyotik olarak amoksisiliklavulanik asit oral yoldan, MSC'ler ise sistemik olarak uygulanmıştır. Uygulama sonunda Toll benzeri reseptör 3 (Toll Like Receptor 3-TLR3) ligandı ile aktive edilmiş



MSC ile beraber antibiyotik uygulanan grupta yapılan biyoluminesans görüntüleme ve kültür yoluyla bakteri sayımına dayalı olarak yara bölgesinde bakteri yükünü önemli ölçüde azaltan tek tedavi olduğu bildirilmiştir (Johnson ve ark., 2017).

### Pluripotent kök hücrelerin tedavide kullanımı

Pluripotent kök hücreler sonsuz sayıda çoğalma ve üç embriyonik germ katmanını da farklılaşma yeteneğindedir. Bu özellikleri ile çeşitli hastalıkların tedavisinde kendisine yer bulmuştur. Klinik kullanım için iki tip pluripotent hücre kullanılır. Bunlar embriyonik kök hücreler ve iPSC'lerdir. İnsan embriyonik kök hücreleri (hESC) ile omurilik yaralanmaları, yaşa bağlı makula dejenerasyonu ve tip 1 diyabet gibi çeşitli hastalıkların ve yaralanmaların tedavisi için araştırmalar sürmektedir. hESC'lerin klinik kullanımıyla ilişkili olarak iki endişe mevcuttur. Bunlar; insan embriyolarının kullanılmasıyla ilgili etik sorunlar ve kök hücre tedavisinin ardından oluşabilecek bağışıklık reddidir. Bağışıklık reddinin giderilebilmesi için araştırmacılar nükleer transfer yoluyla hastanın kendi somatik hücrelerinden hESC üretmek için çalışmalar yapmışlardır. Bu amaçla ilk çalışmalardan biri 1996 yılında koyun Dolly üzerinde yapılmıştır. Dolly üzerinde yapılan çalışmaların olumlu sonuçlar vermesi bilim insanlarının bu alana yönelmelerini sağlamıştır. Bu doğrultuda somatik hücrelere Oct3/4, Sox2, Klf4 ve cMyc gibi yeniden programlama faktörlerinin aktarılmasıyla pluripotensin indüklendiği belirtilmiştir ve bunun sonunda iPSC'ler elde edilmiştir. İnsan iPSC'leri ilk kez 2007 yılında üretilmeye başlanmıştır. O tarihten günümüze kadar birçok araştırmacı iPSC'lerin hastalar üzerinde kullanımı konusunda çalışmalarını sürdürmektedir

(Takahashi ve ark., 2007; Freund ve ark., 2010; Yamanaka, 2020).

**Diyabet:** Son yıllarda biyoteknolojik ürünlerdeki gelişim diyabet tedavisi için yeni stratejilerin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Bunlar gen terapisi, doku mühendisliği ve hücre terapisi. Bu doğrultuda kök hücrelerin farklılaşması ile insülin salgılayan hücrelerin veya adacıkların transplantasyonuna dayanan yeni prosedürler geliştirilmiştir (Liras ve ark., 2013).

iPSC'ler ile  $\beta$  hücrelerinin üretimi ilk olarak 2008 yılında gerçekleştirilmiştir. *In vitro* olarak dört aşamalı bir prosedürle insan dermal fibroblast hücrelerinden türetilmiş iPSC'ler fonksiyonel insülin üretme yeteneğine sahip adacık benzeri (ILC) hücrelerine farklılaşmıştır. Bu hücreler glikoz stimülasyonuna yanıt olarak insülin salgılamış ve insülin miktarının doza bağlı şekilde arttırdığı belirtilmiştir (Tateishi ve ark., 2008; Soejitno ve Prayudi, 2011).

Tip 1 diyabet (T1DM) hastalarının deri fibroblast hücreleri kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise iPSC'lerin insülin üreten hücrelere farklılaşabileceği belirtilmiştir. DiPS (T1D-specific iPS cells) olarak da isimlendirilen bu hücreler hastaya özgü otolog bir hücre kaynağı olarak işlev görebilir ve bu sayede klasik allojenik kök hücrelerin sebep olabileceği bağışıklık reddinin oluşmasının önüne geçilebilirler (Maehr ve ark., 2009).

Tip 2 (T2DM) diyabet modelinin oluşturulduğu farelerde intraportal yolla karaciğer parankimine iPSC'lerin uygulanmasından sonra insülin üreten P benzeri hücrelere farklılaştığı ve kan glikoz seviyelerini normal seviyelere düşürdüğü belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarla oluşan P benzeri hücrelerin karaciğer parankimine stabil ve eşit bir şekilde dağıldığı bildirilmiştir. Bu nedenle iPSC

hücrelerinden elde edilen insülin üreten P benzeri hücrelerin hem T1DM hem de T2DM fare modellerinde *in vivo* kan glikoz seviyesini normalleştirebildiği ve bu hastalıkların tedavisi için bir seçenek olabileceği belirtilmiştir (Soejitno ve Prayudi, 2011).

**Kardiyovasküler hastalıklar:** İnsan pluripotent kök hücrelerinin kardiyomyositlere farklılaşma yeteneğinin olduğunun belirlenmesi rejeneratif tıpta büyük bir ilgi uyandırmıştır. Ancak kalp dokusuna erişimin zor olması, fazla miktarda hücre popülasyonunun elde edilememesi ve prosedürlerin karmaşık olması, insan kardiyomyositlerinin *in vitro* modeller üzerinde geliştirilmesinin önünde engel teşkil eder. Bu engellerin giderilebilmesi için bazı çözüm önerileri sunulmuştur. Bunun için yeni doğan hayvanların kardiyomyositler izolasyonu ve bazı hedef proteinleri yüksek düzeyde ekspres eden yeni modeller sunulmuştur. Bu modellerin insan kardiyomyositler kıyasla fizyolojik açıdan farklılıklar barındırması, yüksek maliyet ve çeşitli etik sorunları beraberinde getirmesi bu yöntemlerin sınırlı kullanımına neden olmuştur. Yapılan çalışmalarda aktif kardiyomyosit hücrelerine farklılaşma yeteneğine sahip tek yetişkin kök hücrenin kardiyak progenitör hücreler olduğu belirtilmiştir (Lu ve ark., 2011).

Pluripotent kök hücrelerin kardiyomyositler farklılaşması için Fibroblast büyüme faktörü (FGF), kemik morfogenetik proteini 2 ve 4 (BMP2, BMP4), Aktivin A, Wnt3a gibi spesifik büyüme faktörleri kullanılmaktadır (DeGeorge ve ark., 2008; Lu ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2012).

Kardiyomyositlerin transplantasyonu ile yapılan rejeneratif çalışmalarda deri fibroblastlarından elde edilen iPSC'lerin kalp yetmezliği olan sıçanlarda başarıyla uygulandığı

belirtilmiştir. Miyokard infarktusu bulunan kobaylarda yürütülen bir başka çalışmada ise hücre transplantasyonundan sonra kalp fonksiyonlarının normal döndüğü ve ventriküler aritmilerin azaldığı belirtilmiştir. Hücrelerin kalp dokusuna transplantasyonu için doğrudan kalp içine uygulama ve hücre yaprağı teknolojisi kullanılmaktadır. Hücre yaprağı teknolojisi hücrelerin epikardiyuma nakledilerek çok katmanlı bir kardiyomyosit tabakası oluşturulması sağlanır. Miyokard dokusu elektriksel olarak yalıtkan bir yapıya sahip olduğu için bu yöntem ile alıcı kalbinin elektrofizyolojik senkronizasyonun bozulmamasını sağlamaktadır. (Kishino ve ark., 2020).

#### **Nörodejeneratif hastalıklar:**

Nörodejeneratif hastalıklar motor nöron işlev kaybının veya merkezi sinir sistemindeki (MSS) nöronların progresif ve kontrolsüz bir şekilde ölümü ile şekillenir. Alzheimer (AD), Parkinson (PD), amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve multipl skleroz (MS) gibi nöronlarda dejenerasyonla seyreden hastalıkların tedavisi için yeni terapötik stratejilere ihtiyaç vardır. Yapılan çalışmalarla iPSC'lerin kültür ortamında uzun süreli korunabilmesi, yeniden programlama faktörlerine maruz kaldıklarında farklılaşma yetenekleri, nörodejeneratif tıp ve nörolojik hastalıkların modellenmesi alanlarında umut verici terapötik yaklaşımlar sağlar. iPSC hücreleri kullanılarak MSS veya periferik sinir sisteminde etkin bir nöral popülasyon oluşturmak için Rho ile ilişkili protein kinaz (ROCK) inhibitörü olan Y-27632 bileşiği kullanılarak embrioid cisimciğin (EB) oluşumu sağlanır. Elde edilen bu yapı kültür ortamında besleme ve doğrudan indüksiyon ile iPSC hücrelerinden nöral popülasyonun oluşumunu sağlar (Kolagar ve ark., 2020). Ayrıca, dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) inhibitörleri ve BMP sinyali kullanılarak nöral

indüksiyon etkinliğini ve hızını büyük ölçüde artırılabilirliği bildirilmiştir (Tabar ve Studer, 2014).

Yeniden programlama teknolojisi ile elde edilen iPSC hücreleri insanlarda nörodejeneratif hastalıkları modellemek ve tedavi etmek için önemli bir potansiyele sahiptir. Nörodejeneratif hastalıklarda hastaya özgü iPSC hücreleri (örneğin deri biyopsisinden izole edilerek hücrelere transkripsiyon faktörlerinin transferi ile türetilen) iki farklı şekilde kullanılabilirler. Bunlardan birincisi hastalığa neden olan mutasyonun bilindiği

durumlarda (örneğin ailesel Parkinson hastalığı) DNA dizisini onarmak için gen hedefleme kullanılabilir. Gene göre düzeltilmiş hastaya özgü iPSC hücreleri daha sonra etkilenen nöronal alt tipe (örneğin, orta beyin dopaminerjik nöronlar) göre farklılaşmaya uğratılır ve hastanın beyin dokusuna nakledilir. Bir diğer kullanım yolu ise hastadan alınan hasarlı hücreler *in vitro* ortamda incelenir ve hücreler üzerinde potansiyel ilaçlar taranarak yeni terapötik bileşiklerin keşfedilmesine yardımcı olabilir (Robinton ve Daley, 2012).

**Tablo 2.** Kök Hücre Tedavisinde Kullanılan Onaylanmış Ürünler (Cuende ve ark., 2018).

Kök Hücre	Kök Hücre Yapısı	Kullanıldığı Hastalık	Onay Yılı ve Onay Yeri
Cellgram®-AMI	Otolog Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre	Akut Miyokard İnfarktüsü	2011- Güney Kore
HPC, Cord Blood (Ducord)	Allojenik Kordon Kanı Kaynaklı Hematopoietik Kök Hücre	Hematopoietik Hastalıklar	2012- Amerika
Cartistem®	İnsan Göbek Kordonu Kanından Türetilmiş Mezenkimal Kök Hücre	Osteoartritli hastalarda diz kıkırdak kusurlarının tedavisi	2012- Güney Kore
HPC, Cord Blood (Allocord)	Allojenik Kordon Kanı Kaynaklı Hematopoietik Kök Hücre	Hematopoietik Hastalıklar	2013- Amerika
Neuronata-R®	Otolog Kemik İliği Mezenkimal Kök Hücre Tedavisi	Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS)	2014- Güney Kore
Holoclar	Otolog İnsan Kornea Epitel Hücreleri	Kornea Hastalıkları	2015- EMA
Temcell HS	Mezenkimal Kök Hücre	GVHD	2015- Japonya
Remestemcel-L (Prochymal)	İnsan Mezenkimal Kök Hücre	Akut graft-versus-host hastalığı (GVHD)	2015- Kanada

Tablo 2. (devamı).

Kök Hücre	Kök Hücre Yapısı	Kullanıldığı Hastalık	Onay Yılı ve Onay Yeri
HPC, Cord Blood (Clevecord)	Allojenik Kordon Kanı Kaynaklı Hematopoietik Kök Hücre	Hematopoietik Hastalıklar	2016- Amerika
Stempeucel®	Mezenkimal Kök Hücre	Buerger Hastalığına Bağlı Ekstremitte İskemisi	2016- DCGI
MPC therapy	Mezenkimal Kök Hücre	Sol Ventrikül Sistolik Disfonksiyon	2017- Amerika
CEVA101	Otolog Kemik İliği Kaynaklı Kök Hücre	Travmatik beyin hasarı	2017- Amerika
Multistem	Multipotent Yetişkin Progenitör Hücre	İskemik İnme	2017- Amerika
AST-OPC1	Pluripotent Embriyonik Kök Hücre	Omurilik Yaralanmaları	2017- Amerika
ATIR101	Hematopoietik Kök Hücre	Ek İmmünoteröpatik	2017- Amerika
Ixmyelocel-T	Mezenkimal Kök Hücre	İskemik Dilate Kardiyomiyopatiye Bağlı İlerlemiş Kalp Yetmezliği	2017- Amerika
jCell	Retina Progenitör Hücreleri	Retinitis pigmentosa	2017- Amerika
HPC, Cord Blood (Hemacord)	Allojenik Kordon Kanı Kaynaklı Hematopoietik Kök Hücre	Hematopoietik Hastalıklar	2018- Amerika
Darvadstrocel (Alofisel ®)	İnsan Mezenkimal Kök Hücre	Crohn hastalığı ile ilişkili perianal fistüller	2018- EMA
Cupistem®	Otolog Yağ Dokusu Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre	Crohn hastalığı ile ilişkili perianal fistüller	2018- Güney Kore
Alofisel	Allojenik Adipoz Kök Hücre	Crohn hastalığı ile ilişkili perianal fistüller	2018- İsviçre
Stemirac	Mezenkimal Kök Hücre	Omurilik Yaralanması	2018- Japonya
Romyelocel-L	Hematopoietik Kök Hücre	AML'li hastalarda bakteri ve mantar enfeksiyonlarının önlenmesi	2018- Amerika
CLBS14-RfA	Hematopoietik Kök Hücre	Refrakter anjina	2018- Amerika
CAP-1002	Allojenik Kök Hücre	Duchenne Musküler Distrofi	2018- Amerika

EMA: European Medicines Agency, DCGI: Drug Controller General of India.

**SONUÇ**

Kök hücrelerin kendini yenileme ve adiposit, osteosit, kondrosit, nöron hücresi gibi farklı hücre tiplerine farklılaşma yeteneğinin bulunması hastalıklara karşı yeni bir rejeneratif stratejinin geliştirilmesini sağlamıştır. Bununla birlikte kök hücre biyolojisi üzerine yapılan çalışmalar kök hücre üretiminin ve izolasyonunun daha kolay ve anlaşılır olmasını sağlamıştır. Kök hücre teknolojisindeki bu ilerlemelerle hastalığa göre uygun kök hücre tipinin seçilmesi, kök hücrelerin farklılaşmasının daha uygun şekilde gerçekleşmesi ve yan etkilerin azaltılması sağlanmıştır. Laboratuvar ve klinik denemelerin olumlu sonuçlar vermesi rejeneratif tıpta kök hücreye olan ilgiyi daha da arttırmaktadır. Yakın gelecekte kök hücre uygulamalarının çok çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılması beklenmektedir.

**KAYNAKLAR**

Adams, JD., Kim, U., & Soh, HT. (2008). Multitarget magnetic activated cell sorter. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(47), 18165-18170.

Adan, A., Alizada, G., Kiraz, Y., Baran, Y., & Nalbant, A. (2017). Flow cytometry: basic principles and applications. *Critical reviews in biotechnology*, 37(2), 163-176.

Alcayaga-Miranda, F., Cuenca, J., Martin, A., Contreras, L., Figueroa, FE., & Khoury, M. (2015). Combination therapy of menstrual derived mesenchymal stem cells and antibiotics ameliorates survival in sepsis. *Stem cell research & therapy*, 6(1), 1-13.

Andrzejewska, A., Lukomska, B., & Janowski, M. (2019). Concise review: mesenchymal stem cells: from roots to boost. *Stem Cells*, 37(7), 855-864.

Apel, A., Groth, A., Schlesinger, S., Bruns, H., Schemmer, P., Büchler, MW., & Herr, I. (2009). Suitability of human mesenchymal stem cells for gene therapy depends on the expansion medium. *Experimental Cell Research*, 315(3), 498-507.

Barky, ARE., Ali, EMM., & Mohamed, TM. (2017). Stem cells, classifications and their clinical applications. *American Journal of Pharmacology*, 1(1), 001-007.

Bayraç, AT., & Kandemir, BB. (2018). Domuz Jelatinine Özgü DNA Aptamerlerinin Seçilimi ve Karakterizasyonu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2), 774-778.

Bernemann, C., Greber, B., Ko, K., Sternecker, J., Han, DW., Araúzo-Bravo, MJ., & Schöler, HR. (2011). Distinct developmental ground states of epiblast stem cell lines determine different pluripotency features. *Stem cells*, 29(10), 1496-1503.

Biehl, JK., & Russell, B. (2009). Introduction to stem cell therapy. *The Journal of cardiovascular nursing*, 24(2), 98.

Birbrair, A., & Frenette, PS. (2016). Niche heterogeneity in the bone marrow. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1370(1), 82.

Blau, HM., Brazelton, TR., & Weimann, JM. (2001). The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell*, 105(7), 829-841.

Bollini, S., Cheung, KK., Riegler, J., Dong, X., Smart, N., Ghionzoli, M., Loukogeorgakis, SP., Maghsoudlou, P., Dubé, KN., Riley, PR., Lythgoe, MF., & De Coppi, P. (2011). Amniotic fluid stem cells are cardioprotective following acute myocardial infarction. *Stem cells and development*, 20(11), 1985-1994.

Brabletz, S., Schmalhofer, O., & Brabletz, T. (2009). Gastrointestinal stem cells in development and cancer. *The Journal of pathology*, 217(2), 307-317.

Brittan, M., & Wright, NA. (2002). Gastrointestinal stem cells. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 197(4), 492-509.

Cao, W., Cao, K., Cao, J., Wang, Y., & Shi, Y. (2015). Mesenchymal stem cells and adaptive immune responses. *Immunology letters*, 168(2), 147-153.

Chagastelles, PC., & Nardi, NB. (2011). Biology of stem cells: an overview. *Kidney international supplements*, 1(3), 63-67.

Choi, KH., Yoon, JW., Kim, M., Lee, HJ., Jeong, J., Ryu, M., Jo, C., & Lee, CK. (2021). Muscle stem cell isolation and in vitro culture for meat production: A methodological review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 429-457.

Clarke, DL., Johansson, CB., Wilbertz, J., Veress, B., Nilsson, E., Karlström, H., Lendahl, U., & Frisen, J. (2000). Generalized potential of adult neural stem cells. *Science*, 288(5471), 1660-1663.

Clause, KC., Liu, LJ., & Tobita, K. (2010). Directed stem cell differentiation: the role of physical forces. *Cell communication & adhesion*, 17(2), 48-54.

Cotsarelis, G. (2006). Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *Journal of investigative dermatology*, 126(7), 1459-1468.

Cuende, N., Rasko, JE., Koh, MB., Dominici, M., & Ikonou, L. (2018). Cell, tissue and gene products with marketing authorization in 2018 worldwide. *Cytotherapy*, 20(11), 1401-1413.

Çerci, E., & Erdost, H. (2019). Kök Hücre. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14(2), 221-228.

de Miguel, MP., Prieto, I., Moratilla, A., Arias, J., & Aller, MA. (2019). Mesenchymal stem cells for liver regeneration in liver failure: from experimental models to clinical trials. *Stem cells international*, 2019.

- DeGeorge, Jr, BR., Rosenberg, M., Eckstein, V., Gao, E., Herzog, N., Katus, HA., Koch, WJ., Frey, N., & Most, P. (2008). BMP-2 and FGF-2 Synergistically Facilitate Adoption of a Cardiac Phenotype in Somatic Bone Marrow c-kit+/Sca-1+ Stem Cells. *Clinical and translational science*, 1(2), 116-125.
- Devkate, GV., Tate, SS., Bhujbal, AS., Tupe, AP., & Patil, RN. (2016). Stem cell: A Review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8, 295-311.
- Didar, TF., & Tabrizian, M. (2010). Adhesion based detection, sorting and enrichment of cells in microfluidic Lab-on-Chip devices. *Lab on a Chip*, 10(22), 3043-3053.
- Ditadi, A., de Coppi, P., Picone, O., Gautreau, L., Smati, R., Six, E., Bonhomme, D., Ezine, S., Frydman, R., Cavazzana-Calvo, M., & André-Schmutz, I. (2009). Human and murine amniotic fluid c-Kit+ Lin- cells display hematopoietic activity. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 113(17), 3953-3960.
- Dulak, J., Szade, K., Szade, A., Nowak, W., & Józkwicz, A. (2015). Adult stem cells: hopes and hypes of regenerative medicine. *Acta Biochimica Polonica*, 62(3), 329-337.
- Fitzsimmons, RE., Mazurek, MS., Soos, & A., Simmons, CA. (2018). Mesenchymal stromal/stem cells in regenerative medicine and tissue engineering. *Stem cells international*, 8031718.
- Freund, C., Davis, RP., Gkatzis, K., Ward-van Oostwaard, D., & Mummery, CL. (2010). The first reported generation of human induced pluripotent stem cells (iPS cells) and iPS cell-derived cardiomyocytes in the Netherlands. *Netherlands Heart Journal*, 18(1), 51.
- Girlovanu, M., Susman, S., Soritau, O., Rus-Ciucu, D., Melincovici, C., Constantin, AM., & Miha, CM. (2015). Stem cells-biological update and cell therapy progress. *Clujul medical*, 88(3), 265.
- Guo, X. L., & Chen, JS. (2015). Research on induced pluripotent stem cells and the application in ocular tissues. *International journal of ophthalmology*, 8(4), 818.
- Hosseinirad, H., Rashidi, M., Moghaddam, MM., Tebyanian, H., Nouraei, S., Mirhosseini, SA., Rasouli, M., & Habibian, S. (2018). Stem cell therapy for lung diseases: From fundamental aspects to clinical applications. *Cellular and Molecular Biology*, 64(10), 92-101.
- Ismail, A., Hughes, MP., Mulhall, HJ., Oreffo, ROC., & Labeed, FH. (2015). Characterization of human skeletal stem and bone cell populations using dielectrophoresis. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 9(2), 162-168.
- Johnson, V., Webb, T., Norman, A., Coy, J., Kurihara, J., Regan, D., & Dow, S. (2017). Activated mesenchymal stem cells interact with antibiotics and host innate immune responses to control chronic bacterial infections. *Scientific reports*, 7(1), 1-18.
- Kalra, K., & Tomar, PC. (2014). Stem cell: basics, classification and applications. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 2(7), 919-930.
- Kanev, M., & Muranlı, F. G. (2016). Flow sitometri ve kullanım alanları. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(1), 33-38.
- Karaboz, İ., Kayar, E., & Akar, S. (2008). Flow sitometri ve kullanım alanları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 6(2), 1-18.
- Kaur, RP., Ludhiadch, A., & Munshi, A. (2019). Single-Cell Genomics: Technology and Applications. In: Barh D, Azevedo V. Editors. *Single-Cell Omics*. United States Academic Press. pp: 179-197.
- Kaya, MM., & Tutun, H. (2021). Monoclonal Antibodies and Their Uses in Therapy. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(3), 515-530.
- Kishino, Y., Fujita, J., Tohyama, S., Okada, M., Tanosaki, S., Someya, S., & Fukuda, K. (2020). Toward the realization of cardiac regenerative medicine using pluripotent stem cells. *Inflammation and regeneration*, 40(1), 1-6.
- Kolagar, T. A., Farzaneh, M., Nikkar, N., & Khoshnam, S.E. (2020). Human pluripotent stem cells in neurodegenerative diseases: potentials, advances and limitations. *Current stem cell research & therapy*, 15(2), 102-110.
- Kountouras, J., Boura, P., & Lygidakis, NJ. (2001). Liver regeneration after hepatectomy. *Hepato-gastroenterology*, 48(38), 556-562.
- Kowalkowski, T., Buszewski, B., Cantado, C., & Dondi, F. (2006). Field-flow fractionation: theory, techniques, applications and the challenges. *Critical reviews in analytical chemistry*, 36(2), 129-135.
- Köse, O. (2015). Epidermal Kök Hücreler/Epidermal Stem Cells. *Turk Dermatoloji Dergisi*, 9(1), 23.
- Krasnodembskaya, A., Samarani, G., Song, Y., Zhuo, H., Su, X., Lee, J-W., Gupta, N., Petrini, M., & Matthay, MA. (2012). Human mesenchymal stem cells reduce mortality and bacteremia in gram-negative sepsis in mice in part by enhancing the phagocytic activity of blood monocytes. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 302(10), 1003-1013.
- Ku, HT. (2008). Pancreatic Progenitor Cells—Recent Studies. *Endocrinology*, 149(9), 4312-4316.
- Kumar, R., Sharma, A., Pattnaik, AK., & Varadwaj, PK. (2010). Stem cells: An overview with respect to cardiovascular and renal disease. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 1(1), 43.
- Le Blanc, K., & Davies, LC. (2015). Mesenchymal stromal cells and the innate immune response. *Immunology letters*, 168(2), 140-146.
- Linke, A., Müller, P., Nurzynska, D., Casarsa, C., Torella, D., Nascimbene, A., Castaldo, C., Cascapera, S., Böhm, M., Quaini, F., Urbanek, K., Leri, A., Hintze, TH., Kajstura, J., & Anversa, P. (2005). Stem cells in the dog heart are self-renewing, clonogenic, and multipotent and regenerate infarcted myocardium, improving cardiac function. *Proceedings of the national academy of sciences*, 102(25), 8966-8971.



- Liras, A., Segovia, C., & Gabán, AS. (2013). Pluripotent Stem Cells. In: Bhartiya D, Lenka N. Editors. *Induced Pluripotent Stem Cells: Therapeutic Applications in Monogenic and Metabolic Diseases, and Regulatory and Bioethical considerations*. London, United Kingdom: In Tech Open, pp: 529-554.
- Lu, SJ., Lee, RJ., Napoli, C., Oh, S., Kimbrel, EA., & Feng, Q. (2011). The promise and therapeutic potential of human ES and iPS cells. *Stem Cells International*, 959275.
- Maehr, R., Chen, S., Snitow, M., Ludwig, T., Yagasaki, L., Golland R., Leibel, RL., & Melton, DA. (2009). Generation of pluripotent stem cells from patients with type 1 diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(37), 15768-15773.
- Mahla, RS. (2016). Stem cells applications in regenerative medicine and disease therapeutics. *International journal of cell biology*, 6940283.
- Majekodunmi, SO. (2015). A review on centrifugation in the pharmaceutical industry. *American Journal of Biomedical Engineering* 5(2), 67-78.
- Markides, H., Webb, WR., El Haj, AJ., Chippendale, TWE., Coopman, K., Rafiq, Q., & Hewitt, C. (2019). Isolation of mesenchymal stem cells from bone marrow aspirate. In: Moo-Young M. Editor. *Comprehensive Biotechnology*. United Kingdom: Elsevier. pp: 115-123.
- Messina, A., Luce, E., Hussein, M., & Dubart-Kupperschmitt, A. (2020). Pluripotent-stem-cell-derived hepatic cells: hepatocytes and organoids for liver therapy and regeneration. *Cells*, 9(2), 420.
- Mirzaei, H., Sahebkar, A., Sichani, LS., Moridikia, A., Nazari, S., Sadri Nahand, J., Salehi, H., Stenvang, J., Masoudifar, A., Mirzaei, HR., & Jaafari, MR. (2018). Therapeutic application of multipotent stem cells. *Journal of Cellular Physiology*, 233(4), 2815-2823.
- Mitalipov, S., & Wolf, D. (2009). Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming. *Engineering of stem cells*, 114, 185-199.
- Miyahara, Y., Nagaya, N., Kataoka, M., Yanagawa, B., Tanaka, K., Hao, H., Ishino, K., Ishida, H., Shimizu, T., Kangawa, K., Sano, S., Okano, T., Kitamura, S., Mori, H. (2006). Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nature medicine*, 12(4), 459-465.
- Ng, YY., Baert, MR., de Haas, EF., Pike-Overzet, K., & Staal, FJ. (2009). Isolation of human and mouse hematopoietic stem cells. *Methods in molecular biology*, 506, 13-21.
- Noguchi, H. (2010). Pancreatic stem/progenitor cells for the treatment of diabetes. *The review of diabetic studies*. *The Review of Diabetic Studies*, 7(2), 105-111.
- Ohuchi, S. (2012). Cell-SELEX technology. *BioResearch open access*, 1(6), 265-272.
- Overturf, K., Al-Dhalimy, M., Ou, C. N., Finegold, M., & Grompe, M. (1997). Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes. *The American journal of pathology*, 151(5), 1273.
- Oyar, P. (2016). Dental Kök Hücre Kaynakları ve Kemik Doku Rejenerasyonunda Kullanılma Potansiyelleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 26(15), 96-101.
- Park, Y. G., Moon, J. H., & Kim, J. (2006). A comparative study of magnetic-activated cell sorting, cytotoxicity and preplating for the purification of human myoblasts. *Yonsei medical journal*, 47(2), 179.
- Passier, R., & Mummery, C. (2003). Origin and use of embryonic and adult stem cells in differentiation and tissue repair. *Cardiovascular research*, 58(2), 324-335.
- Pethig, R., Menachery, A., Pells, S., & De Sousa, P. (2010). Dielectrophoresis: a review of applications for stem cell research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 182581
- Pirvulet, V. (2015). Gastrointestinal stem cell up-to-date. *Journal of medicine and life*, 8(2), 245.
- Pittenger, M. F., Discher, D. E., Péault, B. M., Phinney, D. G., Hare, J. M., & Caplan, A. I. (2019). Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *NPJ Regenerative medicine*, 4(1), 1-15.
- Preffer, F., & Dombkowski, D. (2009). Advances in complex multiparameter flow cytometry technology: Applications in stem cell research. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 76(5), 295-314.
- Radisic, M., Iyer, R. K., & Murthy, S. K. (2006). Micro- and nanotechnology in cell separation. *International journal of nanomedicine*, 1(1), 3.
- Rajabzadeh, N., Fathi, E., & Farahzadi, R. (2019). Stem cell-based regenerative medicine. *Stem cell investigation*, 6.19.
- Rajpoot, S., & Tewari, G. (2018). Review Article Review on Stem Cells: Basics Classification and Applications. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 49(2), 48-52.
- Kalra, K., & Tomar, P. C. (2014). Stem cell: basics, classification and applications. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 2(7), 919-930.
- Ramallo-Santos, M., & Willenbring, H. (2007). On the origin of the term "stem cell". *Cell stem cell*, 1(1), 35-38.
- Reiss, K., Cheng, W., Ferber, A., Kajstura, J., Li, P., Li, B., Olivetti, G., Homcy, CJ., Baserga, R., & Anversa, P. (1996). Overexpression of insulin-like growth factor-1 in the heart is coupled with myocyte proliferation in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(16), 8630-8635.
- Reschigliani, P., Zattoni, A., Rodai, B., Michelinii, E., & Rodai, A. (2005). Field-flow fractionation and biotechnology. *TRENDS in Biotechnology*, 23(9), 475-483.
- Robintoni DA., & Daley, GQ. (2012). The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy. *Nature*, 481(7381), 295-305.

- Roda, B., Lanzoni, G., Alviano, F., Zattoni, A., Costa, R., Di Carlo, A., Marchionni, C., Franchina, M., Ricci, F., Luigi Tazzari, P., Pagliaro, P., Scalinci, SZ., Bonsi, L., Reschiglian, P., & Bagnara, GP. (2009a). A novel stem cell tag-less sorting method. *Stem cell reviews and reports*, 5(4), 420-427.
- Roda, B., Zattoni, A., Reschiglian, P., Moon, M. H., Mirasoli, M., Michelini, E., & Roda, A. (2009b). Field-flow fractionation in bioanalysis: A review of recent trends. *Analytica chimica acta*, 635(2), 132-143.
- Semedo, P., Burgos-Silva, M., Donizetti-Oliveira, C., & Camara, NOS. (2011). How do mesenchymal stem cells repair? In: Gholamrezanezhad A. Editors *Stem Cells in Clinic and Research*. London: United Kingdom, IntechOpen. P:83-104.
- Shen, Q., Jin, H., & Wang, X. (2013). Epidermal stem cells and their epigenetic regulation. *International journal of molecular sciences*, 14(9), 17861-17880.
- Singh, V. K., Saini, A., Kalsan, M., Kumar, N., & Chandra, R. (2016). Describing the stem cell potency: the various methods of functional assessment and in silico diagnostics. *Frontiers in cell and developmental biology*, 4, 134.
- Sobhani, A., Khanlarkhani, N., Baazm, M., Mohammadzadeh, F., Najafi, A., Mehdinejadani, S., & Aval, FS. (2017). Multipotent stem cell and current application. *Acta Medica Iranica*, 6-23.
- Soejitno, A., & Prayudi, PKA. (2011). The prospect of induced pluripotent stem cells for diabetes mellitus treatment. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 2(5), 197-210.
- Song, LIN., & Tuan, RS. (2004). Transdifferentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow. *The FASEB Journal*, 18(9), 980-982.
- Stoltenburg, R., Reinemann, C., & Strehlitz, B. (2007). SELEX—a (r) evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands. *Biomolecular engineering*, 24(4), 381-403.
- Tabar, V., & Studer, L. (2014). Pluripotent stem cells in regenerative medicine: challenges and recent progress. *Nature Reviews Genetics*, 15(2), 82-92.
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *cell*, 131(5), 861-872.
- Tateishi, K., He, J., Taranova, O., Liang, G., D'Alessio, AC., & Zhang, Y. (2008). Generation of insulin-secreting islet-like clusters from human skin fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 283(46), 31601-31607.
- Taupin, P., Ray, J., Fischer, WH., Suhr, ST., Hakansson, K., Grubb, A., & Gage, FH. (2000). FGF-2-responsive neural stem cell proliferation requires CCg, a novel autocrine/paracrine cofactor. *Neuron*, 28(2), 385-397.
- Till, JE., & McCulloch, EA. (1961). A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation research*, 14(2), 213-222.
- Ullah, I., Subbarao, RB., & Rho, GJ. (2015). Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective. *Bioscience reports*, 35(2).
- van Noort, D., Ong, S. M., Zhang, C., Zhang, S., Arooz, T., & Yu, H. (2009). Stem cells in microfluidics. *Biotechnology progress*, 25(1), 52-60.
- Verhulst, S., Best, J., van Grunsven, L. A., & Dollé, L. (2015). Advances in hepatic stem/progenitor cell biology. *EXCLI journal*, 14, 33.
- Wei, J.P., Zhang, T.S., Kawa, S., Aizawa, T., Ota, M., Akaike, T., Kato, K., Konishi, I., & Nikaido, T. (2003). Human amnion-isolated cells normalize blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice. *Cell transplantation*, 12(5), 545-552.
- Wu, HW., Lin, CC., & Lee, GB. (2011). Stem cells in microfluidics. *Biomicrofluidics*, 5(1), 013401.
- Yamanaka, S. (2020). Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy—Promise and Challenges. *Cell stem cell*, 27(4), 523-531.
- Yang, R., Liu, F., Wang, J., Chen, X., Xie, J., & Xiong, K. (2019). Epidermal stem cells in wound healing and their clinical applications. *Stem cell research & therapy*, 10(1), 1-14.
- Yang, X., Meng, Y., Han, Z., Ye, F., Wei, L., & Zong, C. (2020). Mesenchymal stem cell therapy for liver disease: full of chances and challenges. *Cell & Bioscience*, 10(1), 1-18.
- Ye, L., Swingen, C., & Zhang, J. (2013). Induced pluripotent stem cells and their potential for basic and clinical sciences. *Current Cardiology Reviews*, 9(1), 63-72.
- Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M., & Rybak, Z. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem cell research & therapy*, 10(1), 1-22.
- Zappia, E., Casazza, S., Pedemonte, E., Benvenuto, F., Bonanni, I., Gerdoni, E., Giunti, D., Ceravolo, A., Cazzanti, F., Frassoni, F., Mancardi, & G., Uccelli, A. (2005). Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood*, 106(5), 1755-61.
- Zeb Q, Wang C, Shafiq S, Liu L (2019). An Overview of Single-Cell Isolation Techniques. In: Barh D, Azevedo V. Editors, *Single-Cell Omics*. United States Academic Press pp:101-135.
- Zhang, J., Liu, J., Liu, L., McKeehan, WL., & Wang, F. (2012). The fibroblast growth factor signaling axis controls cardiac stem cell differentiation through regulating autophagy. *Autophagy*, 8(4), 690-691.
- Zhang, J., Wei, X., Zeng, R., Xu, F., & Li, X. (2017). Stem cell culture and differentiation in microfluidic devices toward organ-on-a-chip. *Future Science OA*, 3(2), FSO187.
- Zhang, Y., Bai, XF., & Huang, CX. (2003). Hepatic stem cells: existence and origin. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 9(2), 201.
- Zhao, X., & Moore, DL. (2018). Neural stem cells: developmental mechanisms and disease modeling. *Cell and tissue research*. 371(1),1-6.
- Zhu, B., & Murthy, SK. (2013). Stem cell separation technologies. *Current opinion in chemical engineering*, 2(1), 3-7.



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni  
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association  
e-ISSN: 2667-8381, 12 (2): 79-88, 2021  
DOI: 10.38137/vftd.922677

## SU KAYNAKLARINDA MİKROPLASTİKLERİN VARLIĞI VE İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMİ

Ömer ÇAKMAK<sup>1a</sup>, Ulaş ACARÖZ<sup>2b</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Esenyurt Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü,  
İstanbul

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,  
Afyonkarahisar

ORCID<sup>a</sup>: 0000-0002-7898-1764, ORCID<sup>b</sup>: 0000-0002-1533-4519

\*Sorumlu Yazar: Ömer ÇAKMAK  
E-Posta: omercakmak@esenyurt.edu.tr

Geliş Tarihi: 20.04.2021  
Kabul Tarihi: 26.08.2021

### ÖZET

Dünya genelinde plastik kullanımı yılda 300 milyon tonun üzerindedir. Üretilen plastiğin büyük bir kısmı, fiziko-kimyasal işlemlerle daha küçük partiküllere parçalanırlar. Standart bir tanımı olmamakla birlikte genellikle mikroplastikler 5 mm'den küçük ancak 1 µm veya 100 nm'den büyük plastik partiküller olarak kabul edilir. Ortamdaki mikroplastikler, eklendikleri kişisel temizlik ürünleri (örneğin güneş kremleri ve diğer kozmetik ürünler) ile endüstriyel ürünlerin (boyalı yüzeyler, lastikler ve sentetik kumaşların) parçalanması sonucu meydana gelebilmektedir. Bu çeşitli kaynaklar, doğal çevrenin mikroplastiklerle yaygın şekilde kirlenmesine yol açmıştır. Plastiklerin ayırım gözetmeksizin kullanımı ve atıklarının yetersiz bertarafı küresel düzeyde ekosistemde ciddi endişelere yol açmaktadır. Mikroplastik kirliliğin yaygınlaşması canlı organizmalar üzerindeki zararlı etkilerine dair endişeleri de arttırmaktadır. Mikroplastikler son zamanlarda içme suyunda ve içme suyu kaynaklarında tespit edilmiştir. Bununla birlikte, mikroplastikler için standart örnekleme, ekstraksiyon ve tanımlama yöntemleri olmadığından içme suyundaki varlığına yönelik araştırmalar sınırlıdır. Bilimsel kanıtlar, mikroplastiklere maruziyet sonucu çeşitli hücre ve organlarda toksik etkiler, beslenmenin bozulmasından üreme sisteminde yan etkilere, karaciğer fizyolojisinde olumsuz değişimlere, enerji metabolizması bozulmalarına kadar çeşitli etkilere neden olduğunu ortaya koymaktadır. Mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki riskleri değerlendirildiğinde içme suyunda oluşumu hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, mikroplastiklerin potansiyel kaynaklarının azaltılması, atıksu arıtma teknolojileri ve atık yönetimi bakımından yasal düzenlemeler önem arz etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Mikroplastik, Halk Sağlığı, İçme Suyu, Su Güvenliği.

### MICROPLASTICS PRESENCE IN WATER SOURCES AND ITS IMPORTANCE FOR HUMAN HEALTH

#### ABSTRACT

The use of plastic worldwide is over 300 million tons per year. Most of the plastic produced is broken down into smaller particles by physico-chemical processes. Although there is not a standard definition for microplastics, they are generally considered as plastic particles smaller than 5 mm but larger than 1 µm or 100 nm. Microplastics in the environment can be derived from the breakdown of personal cleaning products (eg sunscreens and other cosmetic products) and industrial products (painted surfaces, tires, and synthetic fabrics) to which they are added. These various sources have led to widespread contamination of the natural environment with microplastics. The indiscriminate use of plastics and the inadequate disposal of their waste cause serious concerns about ecosystem quality at the global level. The widespread use of microplastic pollution also raises concerns about its harmful effects on living organisms. Microplastics have recently been detected in drinking water and drinking water supplies. However, since there are no standard sampling, extraction and identification methods for microplastics, there is a limited number of studies on their presence in drinking water. Scientific evidence reveals that exposure to microplastics causes a wide range of toxic effectson different cells and organs, from nutritional deterioration to reproductive performance, adverse alterations in liver physiology, energy metabolism impairments. Further studies are needed on the formation of microplastics in drinking water in terms of risk assessment on human health. In addition, legal regulations are important in terms of reducing potential sources of microplastics, wastewater treatment technologies and waste management.

**Keywords:** Drinking Water, Microplastics, Public Health, Water Safety.

## GİRİŞ

Mikroplastikler kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinin içerisindeki küçük plastikler olup çevreye atılan büyük plastik atıkların zamanla parçalanması sonucunda da oluşur ve çevresel ortamlardaki diğer kirleticilerin taşınımında büyük rol oynar (Guzzetti ve ark., 2018).

Özellikle son yıllarda çeşme suyu, şişelenmiş su, arıtılmış içme suyu ve su kaynaklarında (göl ve nehir sularında) mikroplastiklerin varlığı gündeme gelmektedir (Mintenig ve ark., 2019; Wang ve ark., 2020). İçme suyunda mikroplastik varlığı ve insan sağlığına yönelik risklerine ilişkin endişeler söz konusudur (Campanale ve ark., 2020). Mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri tam olarak bilinmese de, bazı potansiyel tehlikelerin olabileceği bildirilmektedir. Bu maksatla, mikroplastiklerin toksisitesini incelemek için hem in-vivo hem de in-vitro çalışmalar yapılmıştır. Mikroplastiklerin insan sağlığını olumsuz etkilediği ve hücre ölümüne yol açtığı belirtilmektedir (Choi ve ark., 2020; Hou ve ark., 2021). İçme suyundaki mikroplastiklerin konsantrasyonu ile ilgili mevcut yasal sınırlama olmamasına rağmen, su arıtma tesisleri tarafından mevcut miktarın azaltılması veya ortadan kaldırılmasına yönelik önlemler alınması önemlidir (Novotna ve ark., 2019). Mevcut içme suyu arıtma teknolojilerinin özellikle sularındaki mikroplastiklerin arındırılmasına uygun olacak şekilde yenilenmesine yönelik çalışmalar da mevcuttur ve en yüksek etkiye sahip Ultra Filtrasyon uygulamasının olduğu ifade edilmektedir (Mintenig ve ark., 2017; Ma ve ark., 2019).

İçme suyunda mikroplastik analizi yapmak için özellikle örnekleme ve ekstraksiyon prosedürleri açısından standart bir yöntem geliştirilemediğinden mevcut analitik yöntemler arasında farklılık görülmektedir (Koelmans ve ark., 2019).

## MİKROPLASTİKLERİN TANIMI

1970'li yılların başında, milimetre ölçekli plastikler ilk olarak denizlerde ve balıklarda gözlemlenmiştir (Carpenter ve ark., 1972). Su kaynaklarına giren çeşitli şekilde ve büyüklükteki plastiklerin güneşe maruz kalması, oksijen reaksiyonu ve fiziksel etkilerinden dolayı bozulması neticesinde küçük parçalara ayrılmasına neden olur. Bu mikroskobik plastik parçalarına mikroplastik denir. Mikroplastik terimi ilk kez Thompson ve ark. (2004) tarafından <5 mm plastik parçacıklar olarak tanımlanmıştır (Andrady, 2011). Bu tanım, suda çözünmeyen birincil veya ikincil üretim kaynaklı, normal ya da düzensiz şekilli 1 µm-1 mm arasında değişen boyutlara sahip sentetik katı parçacıkları veya polimerik matrisleri temsil edecek şekilde geliştirildi (Verschoor, 2015; Lusher ve ark., 2017). Tablo 1'de boyutlarına göre plastiklerin sınıflandırılması gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Boyutlarına göre plastiklerin sınıflandırılması (Tutoğlu, 2019).

Plastiklerin Sınıflandırılması	
Plastik Adı	Uzunluk Değeri
Megaplastikler	>1 m
Makroplastikler	<1 m
Mezoplastikler	<2,5 cm (25 mm)
Büyük Mikroplastikler	1 mm – 5 mm
Küçük Mikroplastikler	1 mm – 20 µm (0,02 mm)
Nanoplastikler	1 nm – 100 nm

Mikroplastiklerin birincil kaynaklarını kalıplamada kullanılan plastik tozlar ve kozmetik ürünlerdeki mikro boncuklar oluşturmaktadır. İkincil kaynaklarını ise büyük plastiklerin parçalanması sonucunda ortaya çıkan parçalanma ürünleri oluşturmaktadır (Andrady, 2011; GESAMP, 2015).

Birincil kaynaklar, genellikle kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde kullanılan mikro boncuklar olarak adlandırılan küçük plastikler ve temizleme özellikli ürünlerin aşındırıcı etkisini arttırmak için

kullanılan yan ürünler oluşturmaktadır (Juliano ve Magrini, 2017). Mikroboncuklar, lavaboda yıkandıklarında mikroskopik yapılarından dolayı su sistemlerine ve daha sonra da doğal su yollarına girebilmektedirler (Cole ve ark., 2011).

İkincil mikroplastik kaynakları, büyük plastiklerin güneşin etkisi, sert rüzgarlara ve fiziksel parçalanmaya maruz kalması sonucunda daha küçük parçacıklara ayrışması neticesinde ortaya çıkar (Andrady, 2011; Song ve ark., 2017). Sentetik tekstil ürünleri ve giysiler de büyük mikroplastik üretimine neden olur. Örneğin çamaşırların yıkanması sırasında kimyasallar ve deterjanlara maruziyet nedeniyle aşınma, sentetik elyafların daha küçük mikro elyaflara parçalanmasına neden olur (Browne, 2015). Deniz ortamında plastiklerin varlığı, balıkçılık ve su ürünlerinde ekonomik kayıplara ve halk sağlığı problemlerine yol açmaktadır (Hardesty ve ark., 2015). Bununla birlikte, denizlerdeki plastik kirliliği küçük zooplanktonlardan en büyük balinalara kadar 700'den fazla türü içermektedir (Xanthos ve Walker, 2017).

### İÇME SUYUNDA MİKROPLASTİKLERİN VARLIĞI

Doğada çevresel kirlenme sonucu bulunan büyük plastiklerin rüzgara ve ışığa maruz kalarak sürekli parçalanması sonucu mikroplastikler oluşmaktadır. Mikroplastiklerin tarım arazilerine, besin zincirine ve ekosistemlere karışması sonrasında küresel olarak farkedildiği bildirilmektedir. Bununla birlikte geçmiş dönemlerde buzullarda mevcut olan yüksek miktardaki mikroplastiklerin küresel ısınmanın

etkisine maruz kalması sonucunda hızla erimeye başlayan buzullardan açık denizlere ulaşmaktadır (Obbard ve ark., 2014). Özellikle kullanılan kozmetik ürünler ile sentetik tekstil ve giyim ürünlerinin yıkanmasında çeşitli liflerin kopması sonucunda ortaya çıkan mikroplastiklerin sucül ekosisteminde bulunmasında atıksu arıtma tesislerinde yeterli düzeyde arıtımın gerçekleşmemesi etkili olmaktadır (Napper ve Thompson, 2016). Mikroplastikler su kaynaklarında ve içme sularında görülmektedir. Bu durumun meydana gelmesinde mevcut bir atıksu arıtma tesisinde filtrasyon sonrası arıtılmış suyun, bir içme suyu kaynağına yakın bölgeye boşalması sonucunda içerdiği çok büyük miktarlarda mikroplastik parçacığının içme sularına geçmesi önemli rol oynamaktadır (Carr ve ark., 2016). İşlenmemiş suyu (hem yüzey hem de yer altı suyu) ve arıtma tesislerinden toplanan arıtılmış içme suyunu inceleyen beş araştırmadan, dördünde mikroplastiklerin varlığı bildirilmiştir (Pivokonsky ve ark., 2018; Mintenig ve ark., 2019; Wang ve ark., 2020). Genellikle arıtılmamış yüzey sularındaki mikroplastik konsantrasyonları yeraltı sularından daha yüksektir (Uhl ve ark., 2018). Ayrıca, şişelenmiş sularda genellikle daha yüksek düzeyde mikroplastik konsantrasyonları gözlemlenmiştir. Çünkü bu sular plastik ambalajlar ile (kapaklar ve şişeler) kirlenebilmektedir (Oßmann ve ark., 2018). İçme sularındaki mikroplastik dağılımı meteorolojik ve coğrafik faktörlerden büyük ölçüde etkilenmektedir (Lusher ve ark., 2017). Bu maksatla; mikroplastiklerin içme sularında varlığına ilişkin yapılmış çalışmalar Tablo 2'de gösterilmiştir.



Tablo 2. İçme sularında mikroplastiklerin varlığına ilişkin bazı çalışmalar

Numune Adı	Numune Miktarı	Mikroplastik Miktarı	Boyut	Çeşit	Analiz Metodu	Ülke	Kaynak
Şişelenmiş su	259 adet	315 MP/L ve 10,4 MP/L ortalama konsantrasyonlu	<100 – >100 µm	Parçacık	Floresan Mikroskopu	Çin, Brezilya, Hindistan, Endonezya, Meksika, ABD	Mason ve ark. (2018)
İçme suyu	10 adet	2–44 MP/L tek kullanımlık plastik şişe,	5-20 µm	Parçacık, PET,PP,PE	Raman spektroskopisi	Almanya	Schymanski ve ark. (2018)
Kaynak su	12 adet	28–241 MP/L geri dönüştürülebilir plastik şişe, 4–156 MP/L cam şişe su, 5–20 MP/L karton kaplı su					
Musluk suyu	159 adet	0–61 MP/L	100–5000 µm	Lif, Parçacık, Film	Diseksiyon mikroskopu	Küba, Ekvador, İngiltere, Fransa, Almanya, Hindistan, Endonezya, İrlanda, İtalya, Lübnan, Slovakya, İsviçre, Uganda, ABD	Kosuth ve ark. (2018)

## MİKROPLASTİKLERİN TESPİT EDİLMESİNDE KULLANILAN METODLAR

Mikroplastiklerin, tanımlanması mikroskopik yöntemler ile yapılabilmektedir. Bu yöntemin haricinde analiz verilerini destekleyen hassasiyeti yüksek olan spektroskopik metotların kullanılması da önerilmektedir. Mikroplastiklerin karakteristik yapılarının tespit edilmesi amacıyla; FT-IR (Fourier Kızılötesi Dönüştürme) ve Raman spektroskopisi metotlarının kullanılması yaygınlaşmaktadır. Özellikle doğada mikroplastik kirliliğinin artması sonucunda bilimsel amaçlı basit, karşılaştırılabilir ve etkili yöntemlerin kullanılmasında yeni gelişmeler ortaya çıkmıştır. Mikroplastiklerin analizi büyük ölçüde uygun ve

kabul edilebilir analitik yöntem esaslarına bağlıdır. Mikroplastiklerin hem çevrede heterojen olarak dağılmış olması hem de boyutlarının küçük olması tespit edilmesini zorlaştırmaktadır (Lassen ve ark., 2015; Mahon ve ark., 2017; Lusher, 2020). Birçok çalışmada çeşitli numune alma yöntemleri, numune işlemleri ve tespit yöntemleri tanımlanmıştır. Mikroplastikler, polimer türünün tanımlanması yapılmadan önce görsel olarak tanımlanabilirken küçük mikroplastikler ise son teknoloji titreşim mikroskobu teknikleri ve taramalı elektron mikroskobu ile değişkenli görüntü analiz teknikleri kullanılarak tespit edilebilmektedir. Farklı boyutlara, renklere ve bileşimlere sahip olan sentetik polimerlerden oluşan mikroplastik partiküllerin



kesin olarak tanımlanmasında spektroskopik veya spektrometrik yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (Volkheimer ve ark., 1974; Lassen ve ark., 2015; Mahon ve ark., 2017). Günümüzde genellikle mikroskopi ve spektroskopi analizlerinin kombinasyonundan oluşan tespit yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak, analiz edilen numunelerde tespit etme süresini en aza indirmek ve numunelerde mikron altı plastiklerin belirlenmesi için yeni yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Mikroplastiklerin boyutu <1 mm ve mikron düzeyinde olduğunda mikroskobik analiz, spektroskopik veya termal analiz gibi kimyasal

yöntemlerle birleştirilmelidir. Mikroplastik analizdeki iki temel özellik, fiziksel (boyut, şekil ve renk) ve kimyasal (polimer tipi) unsurlardır. Tek bir analiz yöntemi kullanılarak her iki tür özelliği de tespit etmek zor olduğundan, birden fazla yöntemden oluşan kombinasyon uygulanabilmektedir. Mikroplastiklerin geniş boyut aralığında olması, şekillerinin, renklerinin ve polimer türlerinin karmaşık yapısı araştırmacıların mikroplastik veri sınıflandırmasını zorlaştırmaktadır (Connors ve ark., 2017; Li ve ark., 2018; Koelmans ve ark., 2019). Mikroplastiklerin tanımlanmasında kullanılan metodlar Tablo 3'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Mikroplastik belirleme yöntemleri

S.No.	Metot	Boyut	Avantajları	Kaynak
1	Stereomikroskop	20 µm - 5 mm	Hızlı ve kolay	Erni-Cassola ve ark. (2017)
2	Fourier kızılötesi dönüştürme Spektroskop (FT-IR)	>500µm-10 µm	Kızıl ötesi polikromatik kaynak	Veerasingam ve ark. (2020)
3	Michelson İnterferometre	Nanopartikül	Ucuz ve yüksek çözünürlüklük	Teresa ve ark. (2017)
4	Raman Spektroskopisi	>0,5 µm < 20 µm	Zaman tasarrufu	Araujo ve ark. (2018)
5	Yüzey Geliştirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS)	Nanopartikül	Düşük konsantrasyon	Xu ve ark. (2020)
6	Isı Analizi	50-100 µm	Ucuz ve kolay	Peñalver ve ark. (2020)

0,2 µm ile 12 µm arasında değişen gözeneklere sahip elekler veya filtreler, mikroplastikleri işlenmemiş ve işlenmiş içme sularından izole etmek için kullanılmıştır (Strand ve ark., 2018; Mintenig ve ark., 2019).

### MİKROPLASTİKLERİN İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Mikroplastiklerin imalatında kullanılan bazı monomerler ve oligomerler gibi hem kimyasal maddeler hem de dış yüzeyine yerleşen kalıcı özellikteki poliklorlu bifeniller, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organoklorlu pestisitler gibi hidrofobik organik maddelerin mikroplastikler ile birlikte insan vücuduna alınması durumunda insan

sağlığı üzerinde zararlı etkileri ortaya çıkabilmektedir (Rist ve ark., 2018). Mikroplastiklerin bileşimindeki kimyasal içerik ve fiziksel olarak da partikül büyüklüklerinin boyutsal nitelikleri insan sağlığını olumsuz etkilemektedir (Campanale ve ark., 2020; Padervand ve ark., 2020). Bu nedenle, insan sağlığı üzerine potansiyel tehlikeleri şu şekilde sınıflandırılabilir: fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik (WHO, 2019).

**Fiziksel Tehlikeler:** Mikroplastiklerin yutulması vücuda alınmasının ardından hayvan organlarına translokasyon yaptığı gözlemlenmiştir (Farrell ve Nelson, 2013). Stock ve ark. (2019) tarafından 1-10 µm arasında değişen mikroplastiklerin insan bağırsak epitel hücrelerine nüfuz edebilecekleri bildirilmiştir. Mikroplastikler, vücuttan daha yavaş atılımlarından kaynaklanabilecek yan etkilere neden olabilmektedir (Anbumani ve Kakkar, 2018).

**Kimyasal Tehlikeler:** Mikroplastiklerden salınan monomerlerden (veya oligomerlerden) ve mikroplastik yüzeylerine adsorbe edilebilen ağır metaller ile kalıcı organik kirleticilerden kaynaklanmaktadır (Thompson ve ark., 2004). Polikarbonat plastiklerde yaygın olarak bulunan bir monomerdir (Acaroz ve ark., 2019). İnsanların yutma, cilt teması ve solunum yolları ile bu kimyasala maruz kalacağı kabul edilmektedir. Potansiyel olarak çocukluk çağı obezitesine yol açan hormonal bozucu kimyasal bir maddedir (Cingotti ve Jensen, 2019). Bununla birlikte hem sinir hücreleri hem de beyindeki zararlı etkileri deneysel çalışmalarla tespit edilmiştir. Kadınlarda ve erkeklerde üreme bozukluğuna da neden olduğu bildirilmektedir (Rist ve ark., 2018). Fitalatlar, plastiklerin bileşiminde din-oktil fitalat (DnOP) ve di (2-etilheksil) fitalat (DEHP) şeklinde yaygın

olarak kullanılan kimyasal katkı maddeleridir. Çeşitli malzemelerin dayanıklılık ile esneklik özelliklerinin arttırılmasında plastikleştiriciler olarak kullanılmaktadır (Besseling ve ark., 2014). Fitalatlar, insanda endokrin sisteminin bozulmasına ve üreme sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Rist ve ark., 2018). Mikroplastikler, meme kanseri bakımından potansiyel olarak bağlantılı olan krom (Cr), bakır (Cu) ve kurşun (Pb) gibi ağır metaller için taşıyıcı vektör olarak rol oynamaktadırlar (Mason ve ark., 2018). Plastik ürünlerin imalatında alev geciktirici olarak kullanılan Polibromludifenil eterler (PBDE) canlılarda toksik etkiye sahiptirler. Ayrıca insanlarda hormon bozukluğu üzerindeki etkisi ortaya konulmuştur (Rist ve ark., 2018).

**Mikrobiyolojik Tehlikeler:** *Vibrio parahaemolyticus* dahil insanlar için patojen mikroorganizmalar mikroplastik yüzeylerde kolonileşebilmektedir (Kirstein ve ark., 2016). Mikroplastiklerin toksikolojik etkilerini incelemek amacıyla farklı canlılar üzerinde yürütülen çok sayıda in-vivo çalışma yapılmıştır. Sonuç olarak doku iltihabı, hücre boyutunda küçülme, hücre ölümü oranında artış olmak üzere çeşitli veriler elde edilmiştir (Sá ve ark., 2015; Ziajahromi ve ark., 2018). Bununla birlikte mikroplastiklerin varlığı diğer kirletici maddelerin emilimini ve toksisitesini artırabilmektedir (Triebkorn ve ark., 2019). Rainieri ve ark. (2018) düşük yoğunluklu polietilen (PE) partikülleri (125-250 µm) ve perflorlu bileşiklerden oluşan karışım ile beslenen zebra balıklarında yüksek miktarda karaciğer vakuolizasyonunu tespit etmişlerdir. Yapılan deneysel bir çalışmada kemirgenlere yutturulan mikroplastiklerin kanda çok güç emilebildiği (< % 1) ancak sınırlı miktarın lenf yoluyla kan dolaşımına ulaşabildiği saptanmıştır

(Bouwmeester ve ark., 2015). Mikroplastik ve nanoplastiklerin > % 90'ının insan vücudundan dışkı yoluyla atıldığı tespit edilmiştir (Smith ve ark., 2018). Büyük boyutlu mikroplastik parçalar hücre membranından geçiş sağlayamamaktadır. Ancak, mikroplastiklerin bağırsakta lokal etkileri sonucunda inflamasyon dolayısı ile bağışıklık sistemi etkilenmektedir. Mikroplastiklerin insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri konusundaki mevcut bilgiler sınırlıdır (Rist ve ark., 2018).

Polietilen ve polistiren mikrokürelerinin potansiyel olarak (sırasıyla 3 µm, 16 µm ve 10 µm), kanser hücrelerinin büyümesini teşvik edebilen reaktif oksijen türlerinin oluşumu vasıtasıyla beyinde ve bağırsak epitel hücrelerinde oksidatif stresi tetiklediği bildirilmiştir (Schirinzi ve ark., 2017). Hwang ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada polipropilen (PP) mikroplastiklerin (20 µm-25 µm-200 µm) hücrel tepkisini çeşitli insan orijinli hücreler kullanarak test etmişler ve hücrelerde inflamatuvar sitokinlerin artışıyla bağışıklık sisteminin uyarılabileceğini bildirmişlerdir.

## SULARDA MİKROPLASTİKLERİN İZLENMESİ GEREKSİNİMİ

Sularda mikroplastik varlığı insan sağlığını tehdit etmekte ve endişelere yol açmaktadır (Yurtsever, 2019; Zhang ve ark., 2020), Kaynak sularında, mikroplastikler zamanla birikebileceğinden ve özellikle mikroplastiklerin giderilmesi için mevcut içme suyu arıtma tesislerinin teknolojik olarak uygun tasarlanmadığı göz önüne alındığında bu değer artabilmektedir (Mintenig ve ark., 2017). Bu nedenle, mikroplastikler içme suyu tedarikçileri için gelecek zamanlarda hedef bir kirletici olabilir (Novotna ve ark., 2019).

## SONUÇ

Son yıllarda iklim değişiklikleri ve küresel ısınma sonucunda su kaynaklarında azalma meydana gelmektedir. Bununla birlikte mevcut su kaynaklarının plastik atıklar ile kirlenmesi hem çevreyi hem de temiz içilebilir nitelikte su temininde yaşanan sorunlar insan sağlığını tehdit etmektedir. İçme suyu kaynaklarında mikroplastiklerin varlığına yönelik çalışmalarda son zamanlarda artış söz konusudur. Ancak mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki etkilerinin hangi düzeyde olduğuna dair yeterli sayıda araştırma bulunmamaktadır.

İçme sularındaki mikroplastikler son zamanlarda bildirilen yeni kirleticilerdir ve konsantrasyonlarını analiz etmek için standardize bir analiz metodu bulunmamaktadır. Bu nedenle mikroplastiklerin tespiti için güvenilir, sürdürülebilir ve standart bir analiz metodu geliştirilmelidir.

Ülkemizde ve diğer ülkelerde atıksu arıtma tesislerinde mikroplastiklerin giderilmesi arıtma yöntemleri açısından incelenmiştir. Mikroplastiklere ilişkin olarak hem limit bir değer hem de artırılması ile ilgili mevcut yasal bir zorunluluk olmadığından hali hazırdaki arıtma tesislerinin birçoğu mikroplastiklerin giderilmesine uygun olacak şekilde tasarlanmamıştır. Fakat modern arıtma yöntemlerinin uygulanması mikroplastiklerin giderilmesinde etkili olmaktadır. Bu nedenle; atıksu arıtma tesislerindeki çamur birikintisi içerisinde toplanan mikroplastiklerin su kaynaklarını kirlenmesini önlemek amacıyla hem etkili arıtma teknolojileri hem de düzenli bir atık yönetimi uygulanmalıdır. Ayrıca, mikroplastiklere maruz kalmanın en aza indirilmesi için evsel olarak içme suyu filtreleme sistemlerinin kullanımı teşvik edilmelidir. Mikroplastik kirliliğinin kaynakları

belirlenerek içme suyundaki oluşumunun daha iyi anlaşılması için fazla sayıda araştırma yapılmalıdır.

Günümüzde literatür çalışmaları incelendiğinde; mikroplastiklerin insan sağlığına direkt olarak olumsuz bir etkisi olmasa da kimyasal bileşiminde yer alan veya yüzeyinde tutunan fitalatlar, PC, PBDE, PE, PS ve PP gibi maddeler insan sağlığını olumsuz olarak etkileyebilmektedir. Canlılar üzerinde deneysel amaçlı daha fazla toksikolojik çalışmalar yapılarak akut ve kronik etkiye neden olan mikroplastik miktarının toksik limit değeri belirlenmelidir.

Mikroplastikler, su kaynaklarına ulaştıklarından hem çevresel hem de insan sağlığı açısından potansiyel bir risk faktörüdür. Bu nedenle, toplumlarda medya vasıtasıyla bilinçli olarak plastik kullanımının farkındalığı artırılmalıdır.

## KAYNAKLAR

- Acaroz, U., Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Gurler, Z., Demirel, HH., Kucukurt, I., Eryavuz, A., Kara, R., Varol, N., & Zhu, K. (2019). Bisphenol-A induced oxidative stress, inflammatory gene expression, and metabolic and histopathological changes in male Wistar albino rats: protective role of boron. *Toxicol Res*, 8 (2), 262-269.
- Anbumani, S., & Kakkar, P. (2018). Ecotoxicological effects of microplastics on biota: A review. *Environ Sci Pollut Res*, 25 (15), 14373-14396.
- Andrady, AL. (2011). Microplastics in the marine environment. *Mar Pollut Bull*, 62 (8), 1596-1605.
- Araujo, CF., Nolasco, MM., Ribeiro, A., & Ribeiro-Claro, P. (2018). Identification of microplastics using Raman spectroscopy: latest developments and future prospects. *Water Res*, 142, 426-440.
- Ball, H., Cross, R., Grove, E., Horton, A., Johnson, A., Jürgens, M., Read, D., & Svendsen, C. (2019). Sink to River, River to Tap-A Review of Potential Risks From Nanoparticles and Microplastics. UK Water Industry Research Limited, 19/EQ/01/18
- Besseling, E., Wang, B., Lüring, M., & Koelmans, AA. (2014). Nanoplastic Affects Growth of *S. obliquus* and Reproduction of *D. magna*. *Environ Sci Technol*, 48 (20), 12336-12343.
- Bouwmeester, H., Hollman, PCH., & Peters, RJB. (2015). Potential Health Impact of Environmentally Released Micro- and Nanoplastics in the Human Food Production Chain: Experiences from Nanotoxicology. *Environ Sci Technol*, 49 (15), 8932-8947.
- Browne, MA. (2015). Sources and Pathways of Microplastics to Habitats. In Bergmann M, Gutow L, Klages M. Editors. *Marine Anthropogenic Litter*. 2015. pp. 229-244.
- Campanale, C., Massarelli, C., Savino, I., Locaputo, V., & Uricchio, VF. (2020). A Detailed Review Study on Potential Effects of Microplastics and Additives of Concern on Human Health. *Int J Environ Res Public Health*, 17 (4), 1212. 1244.
- Carpenter, EJ., & Smith, KL. (1972). Plastics on the Sargasso Sea Surface. *Sci*, 175 (4027), 1240-1241.
- Carr, SA., Liu, J., & Tesoro, AG. (2016). Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. *Water Res*, 91, 174-182.
- Choi, D., Bang, J., Kim, T., Oh, Y., Hwang, Y., & Hong, J. (2020). In vitro Chemical and physical toxicity of polystyrene microplastics in human-derived cells. doi:10.21203/rs.3.rs-16642/v1.
- Cingotti, N., & Jensen, GK. (2019). Health and Environment Alliance (HEAL). Food Contact Materials and Chemical Contamination. Health and Environment Alliance, Brussels, Belgium, 2019.
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, TS. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar Pollut Bull*, 62 (12), 2588-2597.
- Connors, KA., Dyer, SD., & Belanger, SE. (2017). Advancing the quality of environmental microplastic research. *Environ Toxicol Chem*, 36 (7), 1697-1703.
- Erni-Cassola, G., Gibson, MI., Thompson, RC., & Christie-Oleza, JA. (2017). Lost, but Found with Nile Red: A Novel Method for Detecting and Quantifying Small Microplastics (1 mm to 20 µm) in Environmental Samples. *Environ Sci Technol*, 51 (23), 13641-13648.
- Farrell, P., & Nelson, K. (2013). Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environ Pollut*, 177, 1-3.
- GESAMP (2015). Sources, Fate and Effects of Microplastics in The Marine Environment: A Global Assessment. GESAMP Reports and Studies No. 90, Erişim adresi: Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment (Part 1) | GESAMP.
- Guzzetti, E., Sureda, A., Tejada, S., & Faggio, C. (2018). Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 64, 164-171.
- Hardesty, BD., Holdsworth, D., Revill, AT., & Wilcox, C. (2015). A biochemical approach for identifying plastics exposure in live wildlife. *Methods in Ecology and Evolution*, 6 (1), 92-98.
- Hwang, J., Choi, D., Han, S., Choi, J., & Hong, J. (2019). An assessment of the toxicity of polypropylene microplastics in human derived cells. *Sci Total Environ*, 684, 657-669.
- Hou, B., Wang, F., Liu, T., & Wang, Z. (2021). Reproductive toxicity of polystyrene microplastics: In vivo experimental study on testicular toxicity in mice. *J Hazard Mater*, 405, 124028.

- Juliano, C., & Magrini, GA. (2017). Cosmetic Ingredients as Emerging Pollutants of Environmental and Health Concern. A Mini-Review. *Cosmet*, 4 (11), 1-18.
- Kirstein, IV., Kirmizi, S., Wichels, A., Garin-Fernandez, A., Erler, R., Löder, M., & Gerds, G. (2016). Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. On microplastic particles. *Mar Environ Res*, 120, 1-8.
- Koelmans, AA., Mohamed Nor, NH., Hermesen, E., Kooi, M., Mintenig, SM., & De France, J. (2019). Microplastics in freshwaters and drinking water: Critical review and assessment of data quality. *Water Res*, 155, 410-422.
- Kosuth, M., Mason, SA., & Wattenberg, EV. (2018). Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt. *PLoS One*, 13 (4), doi:10.1371/journal.pone.0194970.
- Lassen, C., Hansen, SF., Magnusson, K., Hartmann, NB., Rehne Jensen, P., Nielsen, TG., & Brinch, A. (2015). Microplastics: Occurrence, effects and sources of releases to the environment in Denmark. Danish Environmental Protection Agency, pp. 1-207.
- Li, J., Liu, H., & Paul Chen, J. (2018). Microplastics in freshwater systems: a review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. *Water Res*, 137, 362-374.
- Lusher, A., Hollman, P., & Mendoza-Hill, J. (2017). Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, No. 615. Erişim adresi: Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety (fao.org).
- Lusher, AL., Bråte, ILN., Munno, K., Hurley, RR., & Welden, NA. (2020). Is It or Isn't It: The Importance of Visual Classification in Microplastic Characterization. *Applied spectroscopy*, 74 (9), 1139-1153.
- Ma, B., Xue, W., Hu, C., Liu, H., Qu, J., & Li, L. (2019). Characteristics of microplastic removal via coagulation and ultrafiltration during drinking water treatment. *Chem Eng J*, 359, 159-167.
- Mahon, AM., O'connell, B., Healy, MG., O'connor, I., Officer, R., Nash, R., & Morrison, L. (2017). Microplastics in sewage sludge: effects of treatment. *Environ Sci Technol*, 51 (2): 810-818.
- Mason, SA., Welch, VG., & Neratko, J. (2018). Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water. *Front Chem*, 6, 1-11.
- Mintenig, S., Int-Veen, I., Löder, M., Primpke, S., & Gerds, G. (2017). Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based microFourier-transform infrared imaging. *Water Res*, 108, 365-372.
- Mintenig, S., Löder, M., Primpke, S., & Gerds, G. (2019). Low numbers of microplastics detected in drinking water from ground water sources. *Sci Total Environ*, 648, 631-635.
- Napper, IE., & Thompson, RC. (2016). Release of synthetic microplastic plastic fibres from domestic washing machines: Effects of fabric type and washing conditions. *Mar Pollut Bull*, 112 (1-2), 39-45.
- Novotna, K., Cermakova, L., Pivokonska, L., Cajthaml, T., & Pivokonsky, M. (2019). Microplastics in drinking water treatment-Current knowledge and research needs. *Sci Total Environ*, 667, 730-740.
- Obbard, RW., Sadri, S., Wong, YQ., Khitun, AA., Baker, I., & Thompson, RC. (2014). Global warming releases microplastic legacy frozen in Arctic Sea ice. *Earth's Future*, 2 (6), 315-320.
- Oßmann, BE., Sarau, G., Holtmannspötter, H., Pischetsrieder, M., Christiansen, SH., & Dicke, W. (2018). Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled mineral water. *Water Res*, 141, 307-316.
- Padervand, M., Lichtfouse, E., Robert, D., & Wang, C. (2020). Removal of microplastics from the environment. A review. *Environ Chem Lett*, 18 (3), 807-828.
- Peñalver, R., Arroyo-Manzanares, N., López-García, I., & Hernández-Córdoba, M. (2020). An overview of MPs characterization by thermal analysis. *Chemosphere*, 242, 125170.
- Pivokonsky, M., Cermakova, L., Novotna, K., Peer, P., Cajthaml, T., & Janda, V. (2018). Occurrence of microplastics in raw and treated drinking water. *Sci Total Environ*, 643, 1644-1651.
- Rainieri, S., Conlledo, N., Larsen, BK., Granby, K., & Barranco, A. (2018). Combined effects of microplastics and chemical contaminants on the organ toxicity of zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Res*, 162, 135-143.
- Rist, S., Almroth, BC., Hartmann, NB., & Karlsson, TM. (2018). A critical perspective on early communications concerning human health aspects of microplastics. *Sci Total Environ*, 626, 720-726.
- Sá, LCD., Luís, LG., & Guilhermino, L. (2015). Effects of microplastics on juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*): Confusion with prey, reduction of the predatory performance and efficiency, and possible influence of developmental conditions. *Environ Pollut*, 196, 359-362.
- Schirinzi, GF., Pérez-Pomeda, I., Sanchís, J., Rossini, C., Farré, M., & Barceló, D. (2017). Cytotoxic effects of commonly used nanomaterials and microplastics on cerebral and epithelial human cells. *Environ Res*, 159, 579-587.
- Schymanski, D., Goldbeck, C., Humpf, HU., & Fürst, P. (2018). Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water. *Water Res*, 129, 154-162.
- Smith, M., Love, DC., Rochman, CM., & Roni, N. (2018). Microplastics in Seafood and the Implications for Human Health. *Curr Environ Health Rep*, 5 (3):375-386.
- Song, YK., Hong, SH., Jang, M., Han, GM., Jung, SW., & Shim, WJ. (2017). Combined Effects of UV Exposure Duration and Mechanical Abrasion on



- Microplastic Fragmentation by Polymer Type. *Environ Sci Technol*, 51 (8), 4368-4376.
- Stock, V., Böhmert, L., Lisicki, E., Block, R., Cara-Carmona, J., Pack, L.K., Selb, R., Lichtenstein, D., Voss, L., Henderson, L.C., Elke Zabinsky, E., Sieg, H., Braeuning, A., & Lampen, A. (2019). Uptake and effects of orally ingested polystyrene microplastic particles in vitro and in vivo. *Arch Toxicol*, 93 (7), 1817-1833.
- Strand, J., Feld, L., Murphy, F., Mackevica, A., & Hartmann, N.B. (2018). Analysis of microplastic particles in Danish drinking water. Aarhus University, Danish Centre for Environment and Energy. Scientific Report No. 291. Erişim adresi: Analysis of microplastic particles in Danish drinking water (au.dk).
- Teresa, APR., & Armando, CD. (2017). Duarte Characterization and Analysis of Microplastics, Volume 75, Elsevier.
- Thompson, RC., Olsen, Y., Mitchell, RP., Davis, A., Rowland, SJ., John, AWG., McConigle, D., & Russell, AE. (2004). Lost at Sea: Where is All the Plastic? *Sci*, 304 (5672), 838.
- Triebkorn, R., Braunbeck, T., Grummt, T., Hanslik, L., Huppertsberg, S., Jekel, M., Knepper, TP., Kraus, S., Müller, YK., Pittroff, M., Ruhl, AS., Schmiege, H., Schür, C., Stobel, C., Wagner, M., Zumbülte, N., & Köhler, H. (2019). Relevance of nano and microplastics for freshwater ecosystems: A critical review. *Trends Analyt Chem*, 110, 375-392.
- Tutoğlu, N. (2019). Sucul Ortamdaki Mikroplastiklerin İnsan Sağlığına Etkisi Ve Arıtma Yöntemlerinin Araştırılması. Ankara, Türkiye, Uzmanlık Tezi.
- Uhl, W., Eftekhardakhah, M., & Svendsen, C. (2018). Mapping microplastic in Norwegian drinking water. Norwegian Water Report No.241. Erişim adresi: <https://www.eureau.org/resources/publications/3100-norsk-vann-report-on-microplastics-in-drinking-water-1/file>.
- Veerasingam, S., Ranjani, M., Venkatachalapathy, R., Bagaev, A., Mukhanov, V., Litvinyuk, D., Mugilarasan, M., Gurumoorthi, K., Gunganathan, L., Aboobacker, VM., & Vethamony, P. (2020). Contributions of Fourier transform infrared spectroscopy in microplastic pollution research: A review. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 1-63.
- Verschoor, A. (2015). Towards a definition of microplastics: Considerations for the specification of physico-chemical properties. National Institute for Public Health and the Environment. RIVM Letter report 2015-0116, 1-42. Erişim adresi: Towards a definition of microplastics (rivm.nl).
- Volkheimer, G. (1974). Passage of particles through the wall of the gastrointestinal tract. *Environ Health Perspect*, 9, 215-225.
- Wang, Z., Lin, T., & Chen, W. (2020). Occurrence and removal of microplastics in an advanced drinking water treatment plant (ADWTP). *Sci Total Environ*, 700, 134520.
- WHO (2019). World Health Organization, Microplastics in drinking-water. Geneva, Switzerland. Erişim adresi: WHO Microplastics in drinking-water.
- Xanthos, D., & Walker, TR. (2017). International policies to reduce plastic marine pollution from single-use plastics (plastic bags and microbeads): A review. *Mar Pollut Bull*, 118 (1), 17-26.
- Xu, G., Cheng, H., Jones, R., Feng, Y., Gong, K., Li, K., Fang, X., Tahir, MA., Valev, VK., & Zhang, L. (2020). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Facilitates the Detection of Microplastics <1 µm in the Environment. *Environ Sci Technol*, 54 (24), 15594-15603.
- Yurtsever, M. (2019). Nano-ve Mikroplastik'lerin İnsan Sağlığı ve Ekosistem Üzerindeki Olası Etkileri. Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 5 (2), 17-24.
- Zhang, Q., Xu, EG., Li, J., Chen, Q., Ma, L., Zeng, EY., & Shi, H. (2020). A Review of Microplastics in Table Salt, Drinking Water, and Air: Direct Human Exposure. *Environ Sci Technol*, 54 (7), 3740-3751.
- Ziajahromi, S., Kumar, A., Neale, PA., & Leusch, FD. (2018). Environmentally relevant concentrations of polyethylene microplastics negatively impact the survival, growth and emergence of sediment-dwelling invertebrates. *Environ Pollut*, 236, 425-431.
- Zuccarello, P., Ferrante, M., Cristaldi, A., Copat, C., Grasso, A., Sangregorio, D., Fiore, M., & Conti, GO. (2019). Exposure to microplastics (<10 µm) associated to plastic bottles mineral water consumption: The first quantitative study. *Water Res*, 157, 365-371.





Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni  
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association  
e-ISSN 2667-8381, 12 (2): 89-104, 2021  
DOI: 10.38137/vftd.951028

## VETERİNER HEKİMLİĞİNDE MALPRAKTİS

Ayşe Dilruba ALAT ER<sup>1a</sup>, Gökhan ASLIM<sup>1b</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı, Konya

ORCID<sup>a</sup>: 0000-0002-1597-6087, ORCID<sup>b</sup>: 0000-0001-5976-8186

\*Sorumlu Yazar: Gökhan ASLIM  
E-Posta: gokhan.aslim@selcuk.edu.tr

Geliş Tarihi: 11.06.2021  
Kabul Tarihi: 27.08.2021

### ÖZET

Günümüz veteriner hekimlerinin büyük çoğunluğu, ev hayvanlarının bakımlarıyla ilgili uygulamalara yoğunlaşmıştır. Hayvan sahipleri hayvanları ile aralarında duygusal bağ geliştirdiklerinden, tıbbi bir müdahale sonucu başarılı olunmadığında hayal kırıklığına uğrayabilmekte ve bu durum veteriner hekimin doğru prosedürleri uygulamadığı ya da prosedürleri yanlış uyguladığı düşüncesine yol açabilmektedir. Bir veteriner hekim, tıbbi bir müdahale sonucunda, bir evcil hayvanın yaralanmasına ya da ölümüne neden olduysa, bu durum malpraktis konusunu gündeme getirmektedir. Kısaca tıbbi uygulama hatası olarak tanımlanan malpraktis maddi manevi kayıplara neden olabilmektedir. Günümüzde veteriner hekimliği hizmetlerine olan talebin arttığı ve bununla paralel olarak malpraktis davalarının da arttığı görülmektedir. Bu bağlamda çalışmada, veteriner hekimliğinde malpraktis kavramının tanımlanması, yasal olarak nasıl değerlendirildiği, malpraktisi önlemek amacıyla nasıl önlemler alınması gerektiği konularına güncel bir yaklaşım sunulması amaçlanmıştır. Malpraktis konusu hem bilimsel anlamda hem de yasal anlamda veteriner hekim, hayvan sahibi ve hayvanları ilgilendiren oldukça önemli bir konudur. Uluslararası anlamda pek çok ülkede konuya ilişkin çeşitli yasal düzenlemeler ve çalışmalar mevcut olmakla birlikte Türkiye’de veteriner hekimliği mevzuatında özel bir düzenleme ve bilimsel çalışma bulunmamaktadır. Bu doğrultuda veteriner hekimliği alanında konu ile ilgili bilimsel araştırmaların artırılması ve yasal düzenlemelerin yapılması gerektiği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Malpraktis; veteriner hekim; veteriner hekimliği mevzuatı; veteriner malpraktis.

## MALPRACTICE IN VETERINARY MEDICINE

### ABSTRACT

The most majority of today’s veterinarians focused on practices related to the care of pets. Since animal owners have developed a serious emotional bond with their animals, they may be disappointed when medical intervention is not successful, and this may lead to the thought that the veterinarian does not apply the correct procedures or performs the procedures incorrectly. If a veterinarian caused injury or death to a pet due to medical intervention, this raises malpractice issues. Malpractice, which is defined as a medical application mistake, in short, can cause material and moral losses. Today, it is seen that the demand for veterinary medicine services has increased significantly, and in parallel with this, malpractice cases have also increased. In this context, it is aimed to present an up-to-date approach to the definition of the concept of malpractice in veterinary medicine, how it is legally evaluated, and what measures should be taken to prevent malpractice. Therefore, malpractice is an important subject, either scientifically and legally, concerning veterinarians, animal owners and animals. Although various legal regulations and studies are available in many countries internationally, there are no specific regulation and scientific studies in veterinary medicine legislation in Turkey. In this context, it can suggest that should increase scientific researches and should make legal arrangements on the subject in veterinary medicine.

**Keywords:** Malpractice; veterinarian; veterinary legislation; veterinary malpractice.

## GİRİŞ

Tarihsel süreçte veteriner hekimler daha çok tarımsal üretimin parçası olan hayvanların hayatlarını kurtarmak üzerine yoğunlaşmışken (Walker, 2009), günümüz veteriner hekimlerinin büyük çoğunluğu gıda üretiminin bir parçası olmayan, ev hayvanlarının bakımlarıyla ilgili uygulamalara yoğunlaşmıştır. Başka bir ifadeyle tedavi edilen hayvanın, kendi mülk değerinin üzerinde para harcayabilen insanlara hizmet vermektedirler (Hessler, 2006).

Son yıllarda dünyada meydana gelen teknolojik ve bilimsel gelişmeler insanların yaşamını kolaylaştırmakla birlikte, yalnızlaşmalarına da yol açmaktadır. İnsanlar yalnızlıklarını evcil hayvanları sahiplenerek, onlarla dostluk bağı kurarak gidermektedirler (Erol Sarıyev, 2016). Hayvanlar geleneksel olarak hukukta mülk olarak görülseler de günümüzde hayvan severler evcil hayvanları, kişisel mülkten daha çok ailenin üyeleri, çocukları veya en yakın arkadaşları olarak görmekte, hayvanın aile içindeki rolünü “çok önemli” olarak tanımlamakta (White, 2009; Pugliese ve ark., 2019) ve onlar için birer ebeveyn gibi davranabilmektedirler (Woodward ve Bauer, 2007).

Hayvan sahipleri, pet hayvanlara bağlanmanın sonucunda hayvanları öldüğünde derin bir keder yaşamaktadırlar. Bununla birlikte pet hayvanını haksız ve/veya hatalı bir eylem nedeniyle kaybetmiş kişilerin depresyon belirtisi gösterdiği de görülmektedir (Livingston, 2004). Hayvan sahipleri hayvanları ile aralarında duygusal bağ geliştirdiklerinden, tıbbi bir müdahale sonucu başarılı olunmadığında hayal kırıklığına uğrayabilmekte ve bu durum veteriner hekimin doğru prosedürleri uygulamadığı ya da prosedürleri yanlış uyguladığı düşüncesine yol açabilmektedir

(Center ve Smeshko, 2011).

Evcil hayvanlar için sunulan veteriner hekimlik hizmetleri, nöroloji, kardiyoloji, dermatoloji gibi özel uzmanlık alanları, hastalıkların tedavileri ve koruyucu veteriner hekimlik ile ilgili geniş bir yelpazeye sahip olup (Pugliese ve ark., 2019), birçok yönden insan tıbbi ile karşılaştırılabilir (Gardiner ve ark., 2015). Veteriner hekimler birçok uzmanlık alanında dikkate değer bir biçimde gelişime uğramaktadır. Bununla birlikte hayvan sahiplerinin hayvanlarının tedavileri konusunda beklentilerinin giderek artmış, farklılaşmış ve daha karmaşık hale gelmiş olması veteriner hekimlerin sorumluluğunu net bir şekilde daha da arttırmıştır (Schnobel, 2016).

Hekimlik mesleği, yapılan iş gereği hekimler açısından oldukça riskli bir meslektir. Komplikasyonların hata olarak kabul edilmemesi ile birlikte tıbbi uygulamaların özenle yapılması da (özen borcu) gerekmektedir. Bu özen, elde var olan imkânlar ve tıbbi uygulamaların seviyesi ile orantılıdır. Hekimler uyguladıkları tedaviler sonucunda oluşacak riskten ancak kusurlu olması, yani “malpraktis” durumunda sorumlu tutulabilir (Koç, 2014).

Günümüzde veteriner hekimliği hizmetlerine olan talebin önemli oranda arttığı ve bu bağlamda malpraktis davalarının da çoğaldığı görülmektedir. Türkiye’de veteriner hekimliğinde malpraktis konusuna ilişkin yeterince bilimsel kaynağın ve yasal bir düzenlemenin bulunmaması dolayısıyla bu çalışmada, veteriner hekimliğinde malpraktis kavramının tanımlanması, yasal olarak nasıl değerlendirildiği, malpraktisi önlemek amacı ile alınması gereken önlemler konularına güncel bir yaklaşım sunulması amaçlanmıştır.

**MALPRAKTİS****Malpraktis Kavramı**

Malpraktis terimi, kökenini Latince “*mala*” ve “*praxis*” kelimelerinin birleşiminden almaktadır ve “*kötü, hatalı uygulama*” anlamına gelmektedir. Türkçe’de ise kısaca “*tıbbi uygulama hatası*” ya da “*tıbbi kötü uygulama*” anlamına gelmektedir (Babacan ve ark., 2018). İngilizce’de “*malpractice*” olarak kullanılan bu kavram, Türk Dil Kurumu (TDK)’nun Büyük Türkçe Sözlüğü’nde, “*özen göstermeksizin veya yanlış uygulanan tedavi sonucunda ortaya çıkan, görevi kötüye kullanma anlamına gelen hukuki durum*” olarak karşımıza çıkmaktadır (TDK, 2013). Türk Tabipler Birliği’nin Meslek Etiği Kuralları İkinci Bölüm Genel Kurallar ve İlkeler başlığı altında bulunan 13. maddesinde malpraktis için “*bilgisizlik, deneyimsizlik ya da ilgisizlik nedeniyle bir hastanın zarar görmesi*” “*hekimliğin kötü uygulaması*” tanımı yapılmıştır (TTB, 2012).

Malpraktis, hastaların tıbbi uygulamayı yapan kişiler tarafından “*kasıtsız haksız fiile*” uğraması olarak da ifade edilebilmektedir (Babacan ve ark., 2018). Genel olarak malpraktis kavramı, hekimlerin, günümüz tıp teknolojisinin en gelişmiş hali ile ilgili edindiği bilgileri tıbbi uygulamalar sırasında tıbbın uygun gördüğü biçimde uygulamaması, tıp standartlarının altında hizmet vermesi ya da hiç hizmet vermemesi durumunda ortaya çıkan durumu ifade etmektedir (Değdaş, 2018). Bunun yanı sıra bu kavrama daha da geniş bir anlam yüklenerek, mevcut şartlarda hekimin yapılması uygun görülen hizmet ve bakım ile ilgili başarısız olması, tecrübeli bir hekimin göstermesi gereken performansı sergileyememesi, belirli bir standarda ulaşmış olan uygulamalarının gereğinden sapmış olması ya da standardını düşürmesi ve

bundan bir zarar meydana gelmesi şeklinde de tanımlanabilmektedir (Çokar, 2009).

Malpraktis kavramını tanımlarken kullanılan “*ihmal, kusur ve sorumluluk*” terimlerine bakılacak olursa; “*İhmal*”; “*Gereken ilgiyi göstermeme, boşlama, savsaklama, savsama, önem vermeme*” anlamlarına gelmektedir. “*Kusur*”; “*Bilerek veya bilmeyerek bir işi gereği gibi yapmama*” (TDK, 2020) olarak tanımlanmaktadır. Kusur, dikkatsizlik, tedbirsizlik, meslekte acemilik-yetersizlik ve özen eksikliği olarak alt kavramlarda da değerlendirilebilmektedir (Sağesen, 2013). “*Sorumluluk*” ise “*kişinin kendi davranışlarını veya kendi yetki alanına giren herhangi bir olayın sonuçlarını üstlenmesi, sorum, mesuliyet*” anlamlarını taşımaktadır (TDK, 2020).

**Malpraktis ile Karşılabilecek Bir Kavram: Komplikasyon**

Fransızca “*complication*” kelimesinden dilimize geçen “*komplikasyon*” kelimesi TDK sözlüğüne göre (TDK, 2020) “*karmaşıklık*” anlamına gelmektedir. Tıpta kabul edilmiş hali ile komplikasyon terimi; “*Normal risk ve sapmalar*” olarak ifade edilebilmektedir (Hancı, 2005). Komplikasyon ayrıntılı olarak; “*Her türlü dikkat ve özveri ile tıbbi standartlara uyularak yapılan müdahaleye rağmen, hekimlik uygulamalarının doğası gereği, ortaya çıkma ihtimali öngörülebilir ve müdahale sonrasında meydana gelmesi kaçınılmaz olan zararlar*” olarak da ifade edilmektedir (Şahin, 2021).

Sağlık alanında hizmet veren uzmanlar, kimi uygulamalarda bazı risklerin var olduğunu bilip bu durumdan kaçınmaktadır. Günümüz hukukunda, hekimler ve sağlık alanında çalışan personeller icraatlarını “*izin verilen risk*” sınırları içerisinde

yapmalıdırlar. Bu izin verilen riskin hekimlikteki karşılığı komplikasyon olup, hata olarak kabul edilmemektedir (Koç, 2014).

Malpraktis ile komplikasyonun iyi şekilde ayırt edilmesi gerekmektedir. Hekimlerin hastaya zarar verebilecek tıbbi bir müdahalede bulunması durumunda hatalı olup olmamasına göre bazı sorumlulukları olabileceği söylenmektedir. Fakat eksiksiz ve hatasız yapılmış olan teşhis ve tedavi sonucunda oluşabilecek ve hastanın da bilgisi dahilinde oluşan komplikasyonlardan hekim sorumlu tutulmamaktadır (Değdaş, 2018).

Ameliyata hazırlanma aşamaları, ameliyat esnası veya post-operatif takip aşamasında göz önünde bulundurulabilen ya da tahmin edilemeyen bazı komplikasyonlar gelişebilmektedir. Komplikasyonlardan hekimlerin sorumlu tutulmaması için gerekli bazı şartlar bulunmaktadır. Malpraktis ya da komplikasyonun oluşmasına neden olan durum ameliyat sonucunda ya da tedavi sonucunda meydana gelmektedir. Müdahale öncesinde hasta (veteriner hekimlikte hasta sahibi) mutlaka gelişebilecek komplikasyonlarla ilgili bilgilendirilmelidir ve rızası alınmış olmalıdır. Olumsuz sonucun ihmal, tedbirsizlik, dikkatsizlik gibi hatalı durumların bulunmaması şartı ile gerçekleşmiş olması gerekmektedir (Koç, 2014; Şahin, 2021). Her koşulda hekimler, bu komplikasyonları en iyi biçimde yönetmekle yükümlüdürler ve olası komplikasyonlarla ilgili önceden tedbirlerin alınmış olması gerekmektedir. Zira ilk etapta komplikasyon olarak başlayan bir durumun iyi yönetilmemesi sonucunda malpraktise dönüşmesi kaçınılmazdır. Yapılan uygulamalarda meydana gelen komplikasyonların takibinde yeterli özen gösterilmemesi, ihmal ya da hataların yapılması, hastayı zamansız taburcu etmek ya da sevk etmek malpraktise sebep olabilir (Koç, 2014).

Hekimlikte olduğu gibi veteriner hekimliğinde de komplikasyonlarla sık sık karşılaşıldığı, bu konuda dikkatli davranarak riskli uygulamalardan kaçınılması ve gerekli önlemlerin alınmasının, yapılan uygulamaların malpraktise dönüşümünün önüne geçilmesi adına yararlı olacağı söylenebilir.

## MALPRAKTİSİN MEYDANA GELMESİ

### Malpraktisin Öznesi

Hayvanlara uygulanacak tıbbi ve cerrahi her türlü müdahale ve üremenin kontrol altına alınması için yapılan kısırlaştırma işlemleri yalnızca veteriner hekimler tarafından yapılabilmektedir (Resmi Gazete, 2004a). Bu durumda veteriner hekimler, tedavi ya da operasyon sonucunun olumsuz olduğu durumlarda, malpraktisten sorumlu olan birinci derecede meslek grubudur. Veteriner hekimlerin görev ve yetkileri de 6343 sayılı “Veteriner Hekimliği Mesleğinin İcrasına, Türk Veteriner Hekimleri Birliği ile Odalarının Teşekkül Tarzına ve Göreceği İşlere Dair Kanun” un 5. maddesinde açıkça belirtilmektedir (Resmi Gazete, 1954). Veteriner hekimlerin Kanunda belirtilen görev ve yetki alanlarını bilmeleri ve mesleklerini bu doğrultuda icra etmelerinin malpraktisin önlenmesi açısından önemli olduğu söylenebilir.

Malpraktisin hukuki olarak değerlendirilmesi sırasında tıbbi uygulamayı kimin uyguladığı cezai sorumluluk açısından önem arz etmektedir. Çünkü malpraktisten bahsedilebilmesi için uygulamanın yetkili kişi tarafından yapılmış olması gerekmektedir. 6343 sayılı Kanun (Resmi Gazete, 1954) gereğince, belirtilmiş şartları yerine getiren ve veteriner hekim olma hakkını elde etmiş kişiler, yetkili kişiler olarak kabul edilmekte ve malpraktis vakalarından sorumlu tutulabilmektedir. Adı geçen Kanunda belirtilen yetkili kişi dışında biri tarafından yapılmış olan uygulamalar malpraktis kapsamına

alınmaz. Örnek olarak bazı veteriner hekimler, sermaye sahipleri ile birlikte muvazaalı şekilde (sahibi veteriner hekim olmayan) muayenehane, poliklinik ve hayvan hastanelerinin açılmasına yardımcı olmaktadır. Bu durumda veteriner hekim olmayan kişiler hekimlik hizmeti vermekte ve hayvanlara tıbbi müdahalelerde bulunmaktadır (TVHB, 2010; TVHB, 2018). Yapılan bu müdahaleler malpraktis sayılmayacağı gibi, resmi olarak ruhsatta ismi bulunan veteriner hekimin, hiçbir müdahale yapmamasına rağmen malpraktisten sorumlu tutulması durumuyla karşı karşıya kalabileceği söylenebilir. Bununla birlikte veteriner hekim olmayan kişilerin tıbbi ve cerrahi müdahalelerde bulunması da kanunen yasak olup (Resmi Gazete, 1954; Resmi Gazete, 2004a) bu uygulamalarda bulunan kişiler için yasal yaptırımlar söz konusudur.

### Malpraktisin Oluşumu

Malpraktis ilk olarak yapılmaması gerekeni yapma durumu, ikinci olarak yapılması gerekeni yapmama durumudur ve bu durumlar hastaya zarar verilmesine ya da istenmeyen bir sonucun ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Koç, 2014).

Tıbbi uygulamaların hukuka uygunluğunun belirlenmesinde bazı kriterler söz konusudur. Bunlar;

- Uygulayan kişinin yetkili olması,
- Tıbbi endikasyon varlığı,
- Hastanın ve/veya hasta temsilcisinin yapılacak uygulamaya izin vermesi,
- İşlemin daha önce kabul görmüş tıbbi kurallara uygun yapılması,
- Yapılan işlemin kanun ile yasaklanmamış olması şeklinde sıralanmaktadır (Aktaş, 2021).

Malpraktisin oluşması üzerinde, vakanın niteliği, karşılaşılma sıklığı, olumsuz sonuçlanma sıklığı, bu olumsuz sonucun erken fark edilebilmesi, engellenebilmesi durumu ya da tedavi koşulları önemlidir. Bu etmenler dava açılması durumunda bilirkişi ya da yargı kararlarının verilmesini direkt olarak etkileyebilmektedir. Hekim, oluşabilecek komplikasyonlar ile ilgili eksik, hatalı işlemler yapmış, kullanılan ilacın yaygın olarak bilinen yan etkisini önemsememiş, eksik olduğunu düşündüğü bir uzmanlık alanında konsültasyona başvurmamış ya da gerekli tetkikleri yapmamış olması ve bunun sonucunda hasta zarar görmüş ise bu durumda hekim sorumluluğu altında malpraktis ortaya çıkacaktır (Koç, 2014). Ayrıca teşhis, tedavi ve bakım sırasında yapılan uygulamalarda kullanılan çeşitli tıbbi ürünler bulunmaktadır ve malpraktis olgularının bazıları doğrudan bu ürünlerin neden olduğu zarardan kaynaklanabilmektedir (Çokar, 2009).

Malpraktisi değerlendirirken hekimlerin çalışma koşulları da göz önünde bulundurulması gereken durumlar arasındadır. Herhangi bir olguda, donanımlı bir hastanede görev yapan bir hekim ile oldukça zor koşullarda tek başına çalışan bir hekimin sorumluluğu aynı olmayacağı gibi (Koç, 2014), kamuda görev yapmakta olan bir veteriner hekimle, mesleğini serbest olarak icra eden bir veteriner hekimin sorumluluğu da aynı olmayacaktır.

### Malpraktis Türleri ve Nedenleri

Malpraktis iddiaları ile ilgili birbirine benzeyen ancak farklı türde iki iddia şekli bulunmaktadır. Birincisi, temel ya da geleneksel ihmal (çoğunlukla klinik hizmeti verilen yerin sorumlu olduğu hayvan/hasta sahipleri veya çevredeki kişiler için kayma, düşme veya yaralanma durumları,

hasta/hayvan sahibinin gerekli durumlarda bir uzmana yönlendirilmemesi, normal mesai saatleri dışında hastaların 24 saat acil ve kritik bakıma erişim ya da bakım sağlayabilecek başka bir yere yönlendirilmemesi vb.), ikincisi ise veteriner hekimlerin sorumlu olduğu durumlarda yanlış uygulama ya da mesleki ihmaldir (Wilson, 2011).

Özçetin (2016) malpraktis hatalarını; Tanıda yapılan hatalar, aydınlatma ve onam hataları, tedavi sürecinde yapılan hatalar, ilaç uygulama hataları, hastane enfeksiyonları, kliniğe gelen kişilerin düşmesi, hastanın yetersiz şekilde takip edilmesinden kaynaklanan hatalar, iletişim eksikliğinden kaynaklanan hatalar, uygun olmayan ya da yanlış malzeme kullanımına bağlı oluşan hatalar şeklinde alt başlıklarda kategorize etmiştir.

**Tanı/teşhis hataları:** Teşhis, hastanın muayene edilmesi ve muayene sonrasında yapılacak tetkik işlemleri ile hastalığın belirlenmesi, semptomların araştırılması işlemidir (Değdaş, 2018). Yapılacak cerrahi operasyon öncesi, esnası ya da sonrasında uygulanacak tetkikler ile tanı konması sırasında yapılan hatalı girişimler sebebi ile hastanın zarar görmesi durumunda hata ortaya çıkabilmektedir. Bu sürecin gecikmesi, güncel olmayan, eksik ve bilimsel temele dayanmayan yöntemlerle tanının yanlış konması ya da hiç konulamaması bu kapsamda değerlendirilebilir (Koç, 2014; Çoltu, 2012). Bazı durumlarda çok hızlı teşhis koymak da, yetersiz ya da ihmalkâr gibi görünmeye sebep olabilir. Çünkü basit gibi görünen vakalarda zaman zaman gözden kaçırılabilen hususlar olabilmektedir (Wilson, 2011).

**Tedavi ve tedavi sonrası uygulama hataları:** Tedavi süreci hastalık teşhis edildikten sonra başlayan süreçtir (Değdaş, 2018). Yanlış doz ya da yöntemle ilaç uygulanması, tedavinin geciktirilmesi, yanlış tedavi yönteminin seçilmesi,

cerrahi operasyon sırasında yapılan hatalar, gereksiz tedaviler, post-operatif bakımın yetersiz veya uygun olmayan şekilde yapılması gibi örnekler bu kapsamda değerlendirilebilir (Çoltu 2012; Koç, 2014).

**Diğer hatalar:** İletişim eksikliği, ekipmanların yetersizliği ya da diğer sistem yetersizlikleri (Çoltu, 2012), hekimin müdahaleden kaçınması ya da tedaviyi geciktirmesi (Değdaş, 2018) olarak örneklendirilebilir. Tıbbi bakım ve ücretlerle ilgili iletişimdeki aksaklıklar malpraktis şikâyetlerinin temel nedenlerini oluşturabilmektedir. Tıbbi müdahalelerden kaynaklanan komplikasyonların ücretleri tahmin edilemeyebileceğinden, bu durum hasta sahiplerinden istenecek ücretle ilgili çeşitli sorunlara yol açabilmektedir. Veteriner hekimler tedaviyi planlama aşamasında tedavinin ne kadar süreceği ile ilgili kesin bilgi veremeyebilirler. Bu durumun doğal sonucu olarak tahmini tedavi ve ücretlerle ilgili, net bir öngöründe bulunamayabilirler. Veteriner hekimlerin, hasta sahiplerinin kabulü olmaksızın tahmini maliyetleri aşmaları da malpraktis iddialarına yol açabilmektedir. Bu durum aynı zamanda maliyetlerin karşılanmasını da zorlaştırmaktadır (Wilson, 2011).

## VETERİNER HEKİMİN SORUMLULUĞU

### Hayvanların Hukukî Konumu

Hayvanların tedavi edilmesi, veteriner hekimlerin en önemli sorumluluklarından biridir. Bu nedenle tartışmalı olsa da hukuken eşya sayılan ancak yaşama hakkına sahip oldukları da kanun tarafından ifade edilen hayvanlar, veteriner hekimlerin birincil sorumluluk alanına girerler (Resmi Gazete, 2004a; Oral, 2014).

Almanya (Alman Medeni Kanunu, 2002; Federal Alman Cumhuriyeti Anayasası, 2014),



İsviçre (İsviçre Medeni Kanunu, 1907), Avusturya (Avusturya Medeni Kanunu, 1988), Çekya (Çekya Medeni Kanunu, 2012) gibi hayvanlara saygının da yasal bir değer olarak kabul edildiği ve hayvanların belirli yasal korumadan yararlanmasına izin veren ülkeler vardır. Türkiye’de ise 2004 yılında çıkartılan 5199 sayılı “Hayvanları Koruma Kanunu” nda hayvanlar ile ilgili pek çok tanım yer almakla birlikte, hayvanların eşya olmadığı ile ilgili herhangi bir hüküm bulunmamaktadır (Resmi Gazete, 2004a). Bahsedilen uluslararası hukuk sistemlerindeki görüşlerin Türk Hukuk sistemi tarafından benimsenebileceği düşünülse de, hayvanları aynı hak konusu olmalarından dolayı Türk Hukuk sisteminde halen eşya olarak kabul edilmektedir (Oral, 2014).

Eşya, hukuki anlamda “*üzerinde bireysel hâkimiyet sağlanabilen, ekonomik bir değer taşıyan, kişi ve hayvanlar dışındaki cismanî varlık*” olarak tanımlanmaktadır. Erol Sarıyev (2016), hayvanların eşya benzeri olduklarını kabul eden bazı yazarların mevcut olduğundan bahsetmiştir. Bu yazarlar (Oğuzman ve ark., 2012), hayvanların yine de taşınır veya taşınmaz üzerinde doğrudan doğruya egemenlik yetkisi veren ve herkese karşı ileri sürülebilen haklar (aynî hak) (TDK, 2020) konusu olabileceğini savunmaktadırlar. Hayvanların alım-satım işlerine konu olabileceği, üzerlerinde mülkiyet hakkı ve rehin gibi aynı hakların varlığı (Resmi Gazete, 2004a) göz önünde bulundurulduğunda da Türk Hukukunda eşya olma özelliğinin devam ettiği söylenmektedir. Hayvanların hukuken eşya sayıldığını kabul edenler, ekonomik değerinin varlığının önemsiz olsa da, üzerinde fiilen hâkimiyet kurulabilen, kişisel niteliği olmayan, sınırları belirgin maddî varlıkların hukuken eşya sayıldığını düşünmektedirler. Türkiye’de hayvanların hukuken eşya sayılmadığını söyleyebilmek için bahsedilen

ülkeler gibi kanuni düzenlemelere gereksinim duyulmaktadır (Erol Sarıyev, 2016).

Türkiye’de yürürlükte olan kanunlarda aynı hak tarafından sağlanan tasarruf ve korunma hakkından, hayvanlar üzerinde hak sahibi olan bireyler faydalanmaktadır. Bunun sonucu olarak, veteriner hekim tarafından, hukuken eşya olarak kabul edilen hayvanlara uygulanacak tedavi sonrası oluşabilecek hukukî (adli yargı-tazmin davası), cezaî (adli yargı-ceza davası), idarî (kurum içi soruşturma) ya da meslekî (veteriner hekimleri odası, haysiyet divanı vd.) (Sağesen, 2013) sorumluluktan söz edilebilmesi için, söz konusu hayvanların ev ve süs hayvanı, kontrollü hayvan veya sahipli çiftlik hayvanı şeklindeki sahipli hayvanlar statüsünde olması gerekmektedir (Erol Sarıyev, 2016; Resmi Gazete, 2004a). Çünkü herhangi bir olumsuzluk neticesinde “*hayvanda oluşabilecek zarardan hayvan sahibinin de zarara uğraması durumunda*” veteriner hekimin sorumluluğundan söz edilebilmektedir (Erol Sarıyev, 2016).

### Veteriner Hekimin Sorumluluğu

Gerek beşeri, gerekse de veteriner hekimliğin “*izin verilen risk (komplikasyon)*” kavramı çerçevesinde yerine getirilmesi gerekmektedir. Kabul edilen normal risk ve sapmalardan kaynaklanabilecek sorunlar hekimi sorumlu kılmamaktadır. Fakat hekimlik mesleğinin “*özenle yürütülmesi zorunluluğu (özen borcu)*” vardır. Hekimlerin uyguladıkları tedavilerin sonrasında meydana gelebilecek riskten sorumlu tutulabilmesi için ancak bir kusur işlemesi gerekmektedir (Tuğcu ve ark., 2009).

Veteriner hekimlerin uymakla yükümlü oldukları mesleki etik kuralları mevcuttur ve bu kuralları içerisinde sorumlu oldukları etik ilkeler bulunmaktadır. Bu ilkeler, temel olarak zarar

vermeme, yararlılık, özerklik ve adalet ilkesidir. Bu temel etik ilkelere yardımcı etik ilkeler ise aydınlatılmış onam, gizliliğe saygı, sır saklama, sadakat, sözünde durma, kötü davranmama ve eşitlik ilkeleridir (Yaşar, 2014). Fakat hem ceza kanununda hem medeni kanunda hekimlerin “cezaî ve hukukî” sorumluluklarını düzenleyen özel bir madde bulunmamaktadır. Hekimlerin uygulamalarındaki sorumlulukları çeşitli yasa, tüzük ve yönetmeliklerle belirlenmiştir. Meslek etiği kuralları ile ilgili yasalarda bulunan genel tanımlara dayanılarak, cezaî ve hukukî yönden hekimler sorumlu hale gelmektedirler (Tuğcu ve ark., 2009; Çelik, 2020).

“Türk Veteriner Hekimleri Birliği Hizmetlerinin Yürütülmesine İlişkin Uygulama Yönetmeliği”nin Sekizinci Bölüm “Deontoloji” başlığı altında veteriner hekimlerin görev ve sorumlulukları esnasında malpraktis ile ilişkili olabilecek çeşitli maddeler bulunmaktadır. Bu maddelerde veteriner hekimlerin, genel hekimlik kurallarına aykırı aldatıcı teşhis ve tedavi yapamayacağı (78. madde); Veteriner hekimlerin, uygulayacağı tedavide maddi ve manevi en emin yolu seçmesi gerektiği ve önceden denenmiş ve yarar sağlamayacağı anlaşılmış yöntemleri uygulamaktan sakınması gerektiği (79. madde); Veteriner hekimlerin, bilimsel yöntemlere uyarak teşhis koyması ve gereken tedaviyi yapması, hastalığın iyileşme ile sonuçlanmamasının veteriner hekimin başarısızlığını göstermediği gibi bu nedenle kınanmasının da kabul edilemeyeceği (86. madde) hükümleri yer almaktadır (Resmi Gazete, 2006).

Veteriner hekimlerin tedavi sözleşmesinden kaynaklanan hukukî sorumlulukları da oluşmaktadır. Hasta sahibi ile veteriner hekim arasında bir “vekâlet sözleşmesi” bulunmaktadır. Bu sözleşme doğrultusunda hasta sahibi, hastasına yapılacak olan tedavi ile ilgili veteriner hekimi vekil tayin

etmektedir. Veteriner hekim de sözleşme doğrultusunda hastasını deneyim ve bilgisi ile özenle tedavi etmeli, hasta sahibini aydınlatmalı ve tedavi süreci ile ilgili bildirimlerde bulunmalıdır. Türk Hukukunda tedavi sözleşmesi, vekâlet sözleşmesi şeklinde kabul görmektedir (Özcan ve Özel, 2007; Oral, 2014).

Veteriner hekimler sözleşmenin dışında “haksız fiil, vekâletsiz iş görme ve kusursuz sorumluluk hükümleri” yönünden de sorumlu tutulabilmektedir. Vekâletsiz iş görme, hayvan için acil bir durumda ya da hayvan sahibinin vakanın olduğu yerde bulunmamasından dolayı tedavi sözleşmesi yapılamaması durumunda, veteriner hekimin meslek etiği gereği müdahalede bulunması halinde söz konusu olmaktadır (Oral, 2014).

Veteriner hekimler, “Türk Borçlar Kanunu”nun 67. maddesine göre, kendilerine sahipleri tarafından tedavi amaçlı ve geçici olarak bırakılan hayvandan, hayvanı bulunduran ve hayvanın bakımını ve yönetimini üstlenen kişi olarak sayılacağından, “kusursuz sorumlu” olacaktır. Aynı Kanunun 66. maddesine göre, yardımcı sağlık personeli tarafından hayvana ve dolayısıyla hayvan sahibine zarar veren bir eylemde bulunulmuşsa, bu yardımcı sağlık personeli bağlı bulunduğu veteriner hekimin çalışma alanında istihdam ediliyor, bağlılık ilişkisi içerisinde çalışıyorsa, zarar veren eylem hizmet sırasında meydana gelmiş ise bu kişiyi çalıştıran veteriner hekim, kusursuz dahi olsa personel çalıştırma hükümlerine göre yargılanır. Söz konusu personel ise haksız fiilden yargılanır. Yine aynı Kanunun 71. maddesinde veteriner hekimlerin sorumluluğunda bulunan işletmelerde tehlike arz edecek cihaz/malzemelerin kontrol altında tutulması, burada bulundurulmuş hayvanların da kontrol altında tutulması, tehlikeyi önleme sorumluluğu bulunduğundan kusursuz sorumluluk

olarak değerlendirilebilmektedir (Resmi Gazete, 2011a; Oral, 2014).

Veteriner hekimlerin meslek hayatları süresince teknolojik gelişmelerle uyum içinde olması gerekliliği de mesleki sorumluluk kapsamında değerlendirilebilecek bir konudur. Hekimin güncel gelişmeleri takip ederek, bilimsel ve mesleki sınırlar içerisinde kalarak, yeni tedavi metotlarını seçmesi ve uygulaması kusur olarak değerlendirilmez (Değdaş, 2018).

### MALPRAKTİSİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Veteriner hekimlerin hayvanlara olan sorumluluğu genel olarak ulusal/bölgesel yasalara tabidir. Ev hayvanları da dâhil olmak üzere tüm evcil hayvanlar, malpraktis kaynaklı zararlarda hayvanın mülk olarak görülmesi sebebiyle mal (eşya) olarak değerlendirilmektedir (Hankin, 2007). Amerika Birleşik Devletleri'nde çoğu eyalet malpraktis uygulamalarının, mülk değeri olarak görülen hayvanın adil piyasa değerinin geri kazanılmasının sağlanması hedeflenmiştir (Eichinger, 2006). Tüm eyaletlerde, bu değerler için ortak bir terminoloji yoksa da, bu evcil hayvanın "gerçek değeri" olarak adlandırılabilir. Bu standarda göre, bir evcil hayvanın ölümüne veya yaralanmasına ihmalkâr bir şekilde neden olan veteriner hekim, evcil hayvanın sahibi için hayvanın sahip olduğu değeri (hayvanın maddi değeri) karşılamakla sorumludur. Bir evcil hayvanın gerçek değeri, aşılama, kısırlaştırma ve eğitim gibi hayvana yapılan yatırımların yanı sıra yeni bir hayvan satın almanın maliyetlerini de içermektedir (Huss, 2002). Fakat bu durum hayvan sahipleri için değerlerini asla karşılayamamaktadır. Hayvanlar ile insanlar arasında oluşan arkadaşlık ve duygusal değerlerin "gerçek değer" kavramına dahil edilmediği görülmektedir (Centner ve Smeshko, 2011).

Sivil toplum örgütleri, hayvan hakları savunucuları gibi bazı gruplar, bir evcil hayvanın kaybının manevi olmayan bileşenlerinin tazminini (Huss, 2004; Livingston, 2004), evcil hayvan sahipleri için vesayet statüsünü (Eichinger, 2006; Helms ve Bain, 2009), yeni bir yasal "evcil hayvan mülkiyeti" kategorisini (Hankin, 2007) ve hayvanlar için hak talep etme hakkının verilmesini istemektedirler (Favre, 2010). Bu görüşler, veteriner hekimlerin yetersiz mesleki uygulamaları için sorumluluklarını önemli ölçüde artırabilmektedir (Centner ve Smeshko, 2011).

### Malpraktis İddiaların Sonuçlanması

Sağlık alanında malpraktis davaları, "kusura (haksız fiile) dayalı" telafi sistemine göre değerlendirilip, sonuçlandırılmaktadır. Türkiye'de uygulanan bu sistemde, kusura dayalı eylemde bulunan kişi ya da kurumun kusuru, yargılama sürecinden sonra belirlenmektedir ve sigorta aracılığı ile ya da direkt bu kişi ya da kurumdan karşılanması sağlanmaktadır (Çokar, 2009).

Yargılama süreçleri sonrasında, tazminatın sigorta aracılığı ile ödenmesi aşamasında, bu sigorta kapsamına yalnızca, serbest, kamu veya özel sağlık kurum ve kuruluşlarında çalışan, tıp hekimleri, diş hekimleri ve tıpta uzmanlık hükümlerine göre mezun olmuş hekimler alınmaktadır (Resmi Gazete, 2010). Tıbbi kötü uygulamaya ilişkin zorunlu mali sorumluluk sigortası ile ilgili veteriner hekimler için henüz bir düzenleme bulunmadığı görülmektedir. Veteriner hekimin kötü uygulamaları ile ilişkili olarak Türk Ceza Kanunu (TCK)'nin "mala zarar verme" (151. madde) suçu ile fiilen benzeri hükümler kapsamında suç duyurusunda bulunulabilir (Resmi Gazete, 2004a; Resmi Gazete, 2004b; Resmi Gazete, 2006). Bununla birlikte "Kişilere karşı işlenen suçlar" başlığı altında,

“taksirli” ya da “kasten” öldürmeye ve yaralamaya ilişkin hükümler (81.ve 89. maddeler arasında) yer almakta, ancak hayvanların durumuna ilişkin bir detaylandırma bulunmamaktadır. Bu durumun da veteriner hekimliğinde malpraktisi yorumlarken önemli bir kısıtlılık oluşturduğu söylenebilir.

Veteriner hekimlerin görev ve yükümlülükleri, 6343 sayılı Kanuna dayanılarak hazırlanan “*Türk Veteriner Hekimleri Birliği Hizmetlerinin Yürütülmesine İlişkin Uygulama Yönetmeliği*” kapsamında açıkça belirtilmiştir (Resmi Gazete, 2006). Bu yükümlülüklere uyulmaması durumunda, veteriner hekimlerin bağlı bulunduğu veteriner hekim odalarına, ihlal ile ilgili hükümler kısaca belirtilerek bir dilekçe ile başvuru yapılır. Veteriner Hekimleri Odası tarafından şikâyet incelemeye alınır ve Oda Haysiyet Divanı’na iletilir. İletilen şikâyet incelenir ve konunun muhatabı veteriner hekim tarafından savunma istenir (Nart, 2020). Haysiyet Divanı, ilgili yönetmeliğin 10. bölümündeki “*Disiplin Suçları ve Cezaları*” uyarınca karar verir. Bu bölümün 116. maddesinde yer alan disiplin cezaları; “(1) Yazılı ihtar, (2) Kanunda belirtilen miktarlarda para cezası, (3) On beş günden altı aya kadar meslek icrasından geçici olarak men kararı, şeklindedir (Resmi Gazete, 2006; Çelik, 2020). Oda Haysiyet Divanı ve Yüksek Haysiyet Divanı tarafından, gerekçesi belirtilerek suçla ilgili, bir üst ceza verebileceği gibi, suçun tekrarlanması durumunda da bir üst ceza da verilebilmektedir. Malpraktis ile ilgili cezaların hangi durumlarda verileceği ile ilgili ayrıntılar da, Yönetmeliğin 116. maddesinde açıkça ifade edilmektedir. Öngörülen disiplin cezalarının kesinleşmesi durumunda, eğer eylem TCK’da da suç teşkil ediyorsa (Madde 117), Oda Yönetim Kurulu tarafından Cumhuriyet Savcılığına suç duyurusunda bulunulması gerekmektedir (Resmi Gazete, 2006).

Oda üyesi olan veteriner hekimler ile ilgili soruşturmada yetkili merci Oda Yönetim Kuruludur. Oda Haysiyet Divanının yetkileri, bağlı bulunduğu oda ile sınırlı olmakla birlikte, bölgeleri dışında oluşan olaylarla ilgili görüşlerini, Merkez Konseyi’ne ve bağlı oldukları odalara iletebilmektedirler. Merkez Konseyi gerekli değerlendirmeleri yaptıktan sonra, ilgili Oda Yönetim Kuruluna gerekli işlemi bildirir. Bu odalar da soruşturma açılmasına dair Merkez Konseyi’nin isteğini acilen gündeme alır. Soruşturma ile ilgili onaylama ve karar süreci Uygulama Yönetmeliğinin 128. maddesine göre yapılmaktadır. Veteriner hekimin, Oda Haysiyet Divanı tarafından verilen kararlar için, tebliğ tarihinden itibaren 15 gün içinde Yüksek Haysiyet Divanı’na itiraz başvurusu yapma hakkı bulunmaktadır. İtiraz edilmeyen kararlar ise hemen uygulanmaktadır (Resmi Gazete, 2006). Yüksek Haysiyet Divanı, gelen itirazlarla ilgili 6343 sayılı Kanunun 52, 53 ve 54. maddeleri doğrultusunda işlem yapmaktadır (Resmi Gazete, 1954). Ayrıca Yönetmeliğin 53. maddesi ç bendinde de, veteriner hekimleri odası yönetim kurullarının “*meslek hatalarını kovuşturma komisyonu*” oluşturabileceği (Resmi Gazete, 2006) ifade edilmiştir. Ancak, veteriner hekim odalarının büyük çoğunluğunda bu komisyonların henüz kurulmadığı söylenebilir.

Veteriner hekime açılacak tazminat davaları başlıca “*tıbbi kusur*” çerçevesinde yer almaktadır. Bu kusur “*kast*” ya da “*ihmal*” şeklinde değerlendirilir. Örneğin bir veteriner hekimin kontamine bir tıbbi aleti sterilize etmeden başka bir hayvanda kullanması sonucu hastalık bulaştırması kasti kusur olarak kabul edilir. Operasyon sırasında hasta vücudunda cerrahi alet unutulması “*ağır ihmal*”, bir cerrahi aletin bozuk olduğu, ancak

dikkatle ve özenle kullanıldığında işlevini yerine getirebileceği öngörüsünde bulunamamak “hafif ihmâl” olarak değerlendirilir. Bu kusurların derecesi tazminat miktarına etki etmektedir (Erol Sarıyev, 2016).

Hayvanın yaşam standartlarını bozacak ya da bedensel bütünlüğüne zarar verecek her türlü tıbbi müdahale, hukuka aykırı ve kusurlu uygulamalardır. Dolayısıyla da hayvan sahibi böyle bir durum neticesinde maddi-manevi zarar görmüş ise veteriner hekime tazminat davası açabilir. Maddi tazminat davalarının amacı, hayvan sahiplerinin mal varlığının (hayvan) önceki durumuna gelmesini sağlamaktır. Bundan dolayı zarara uğranılan miktardan daha fazla tazminata karar verilemez (Oğuzman ve ark., 2012). Hayvan sahibi sadece uğradığı fiili zararı ve bu sürede elde edemediği kârını talep edebilir. Manevi tazminat davalarında ise hayvan sahibinin kaybı sonrasında yaşayacağı acı, keder, ıstırap gibi duyguları ya da yaşama sevincini kaybetmesi gibi manevi durumların da giderilmesini amaçlar (Erol Sarıyev, 2016). Ancak buradaki durum da genel olarak TCK’nın 151. maddesinde yer alan “mala zarar verme” kapsamında ele alınmaktadır (Resmi Gazete, 2004b). Burada ticari amaçla beslenen, ekonomik değeri olan hayvanlarla, duygusal anlamda bağ kurularak bakılan, manevi değer atfedilen (arkadaş) hayvanlar arasında herhangi bir ayırım yapılmadığı söylenebilir.

Veteriner hekimin malpraktis ve sözleşme dışı hallerden dolayı açılan maddi/manevi tazminat davalarında Hukuk Mahkemeleri yetkilidir (Resmi Gazete, 2011b). Veteriner hekim ile hayvan sahibi arasında sözleşme bulunmadığı durumlarda, “Hukuk Mahkemeleri Kanunu”nun 2. maddesi gereği “Dava konusunun değer ve miktarına bakılmaksızın malvarlığı haklarına ilişkin davalarda, şahıs

varlığına ilişkin davalarda görevli mahkeme, aksine bir düzenleme bulunmadıkça asliye hukuk mahkemesidir” hükmü bulunmaktadır (Resmi Gazete, 2011b). Yani, serbest çalışan veteriner hekimler veya yardımcı sağlık personeli ile ilgili haksız fiillerde, istihdam etme sorumluluğu ya da vekâletsiz iş görme hükümlerine dayanılarak, “Asli Hukuk Mahkemesi”nde maddi manevi tazminat davası açılabilir (Erol Sarıyev, 2016).

“Adli Yargı İlk Derece Mahkemeleri ile Bölge Adliye Mahkemelerinin Kuruluş, Görev ve Yetkileri Hakkında Kanunu”nun 5. maddesinde belirtildiği üzere; “Asliye hukuk mahkemeleri, sulh hukuk mahkemelerinin görevleri dışında kalan ve özel hukuk ilişkilerinden doğan her türlü dava ve işler ile kanunların verdiği diğer dava ve işlere bakar.” (Resmi Gazete, 2004c). Malpraktis sonucunda zarara uğramış bir hayvan sahibi, haksız fiillerden doğan borç kapsamında, “Türk Borçlar Kanunu”nun 49. maddesine göre de dava açabilmektedir. Haksız fiil kapsamında, haklara sahip olan kişiler, hayvanların kendi kaderini belirleyememesi, kendisine yapılacak işlemlere izin verememesi sebebiyle hasta sahipleridir. Hasta sahiplerinin, hayvan üzerinde mülkiyet hakkı olduğundan dolayı, bu kişilerin tedavi öncesi verdiği rızanın sorumluluğu engelleyeceği kabul edilmektedir (Oral, 2014). Kanunun 50. maddesine göre zarar gören, zararı ve zarar verenin kusurlu olduğunu ispatlamak zorundadır. Kamu dışında çalışan sağlık personelinin sebep olduğu zararın tazmini için Borçlar Hukukunun genel çerçeveleri doğrultusunda tazminat davası açılabilir (Resmi Gazete, 2011a; Erol Sarıyev, 2016). Kanunun 72. maddesine göre de dava, taraflar davayı öğrendikten sonra iki yıl ve eylemin gerçekleşmesini takip eden 10 yıl boyunca geçerlidir. Bu sürelerin geçirilmesi davanın zaman

aşımına uğramasına sebep olur (Resmi Gazete, 2011a).

Kanunlarda yer alan istisnai durumlar dışında hekimler tarafından yapılan “*endikasyonsuz tıbbi müdahale*”lerde tümüyle hukuka aykırı olarak değerlendirilmektedir (Hakeri, 2014). Bu müdahaleler olası kasıt oluşturmaktadır. Veteriner hekimliğinde de hayvanlara gerekmediği halde fazladan çeşitli ilaç ve biyolojik madde uygulanması ve bu uygulamaların malpraktise neden olduğu durumlarla karşılaşılabılır. Bu ve benzeri endikasyonsuz tıbbi müdahaleler, hayvanın zarar görmesi ve malpraktise neden olması ihtimali nedeniyle kaçınılması gereken müdahalelerdir.

Bazı durumlarda veteriner hekimin neden olduğu malpraktis, konu ile ilgili yeterli bilgiye sahip olmayan hasta sahibi tarafından ispat edilemeyebilir. Bu gibi durumlarda tıp hekimliğinde olduğu gibi veteriner hekimliğinde de bilirkişi incelemelerinin devreye sokulması gerekebilir (Erol Sarıyev, 2016).

### MALPRAKTİSİN ÖNLENMESİ

Veteriner hekimliğinde malpraktis iddialarının azaltılmasına yardımcı olabilecek faktörler, eksiksiz muayene, kaliteli tedavi, iyi tutulmuş medikal kayıtlar, aydınlatılmış onam ve eksiksiz hayvan/hasta sahibi iletişimidir (Meagher, 2005). Herhangi bir komplikasyon meydana gelmesi ihtimali zamanında fark edilmişse, gerekli önlemlerin alınması sağlanmışsa ya da önlemler alınmış ve standartlaşmış gerekli tıbbi girişimlerde bulunmuşsa malpraktis meydana gelmesi önlenecektir (Sağesen, 2013).

Amerika Veteriner Hekimleri Birliği (AVMA), olası malpraktis iddialarının ya da şikâyetlerin azaltılması için veteriner hekimlere çeşitli tavsiyelerde bulunmuştur, Bunlar;

1) Tedaviden önce; Hasta sahibine tedavi seçenekleri, tedavinin riskleri ve tahmini maliyet hakkında bilgilendirme yapılarak aydınlatılmış onam formu düzenlenmelidir. Uygulanacak tedavi protokolünün hasta sahipleri tarafından iyi anlaşıldığından emin olunmalıdır. Konu ile ilgili uzmanlığın yetersizliğinde müdahalede bulunmamalı ve uzman desteği alınmalıdır. Gelen hastanın başka bir veteriner hekim tarafından tedavi altında olup olmadığı öğrenilmelidir. Böyle bir durum mevcut ise gerekli kayıtların temin edilmesi istenmelidir. Veteriner hekimler çalıştıkları yerlerde, tercih edilen teşhis ve tedavi prosedürü için yeterli ekipmana sahip değilse hastaya sevk teklif edebilir. Acil müdahalelerde sevk mümkün değilse hasta sahipleri riskler hakkında detaylı olarak bilgilendirilmeli ve yazılı onay alınmalıdır. Hastanın tıbbi kaydı, tahmini tedavi prosedürü mutlaka kayıt altına alınmalıdır (AVMA, 2020).

2. Tedavi sırasında; Uygulamalar esnasında yapılan muayene bulgularının ve tedavi yöntemlerinin doğru ve detaylı kayıtlarının tutulması sağlanmalıdır. Hayvanların zapt-ı raptı için profesyonel destek alınmalıdır. Tedavi süreci, yapılış şekli, prognozu ve maliyete yansımaları hakkında hayvan/hasta sahipleri ile düzenli olarak iletişimde olunmalıdır (AVMA, 2020).

3. Tedavi sonrasında; Ölüm sebebinin belirlenmesi için hasta sahiplerine her zaman, mümkünse bir veteriner patalog tarafından yapılacak otopsi seçeneğinin sunulması gerekmektedir. Hasta sahipleri ile iletişim devam ettirilerek, her zaman gerçekler söylenmeli, tahminden kaçınılmalıdır. Tıbbi ya da radyografik kayıtların orijinallerini yayınlamak yerine, talep ya da yasal gereklilik halinde kopyalarının tedarik edilmesi sağlanmalıdır (AVMA, 2020). Bu kayıtları basılı kopya ya da



elektronik dosyalarda belgeleyebilmek için sistemler geliştirilmeli ya da var ise bu sistemler kullanılmalıdır. Ayrıca bu kayıtlara (özellikle hekimlerin karşı taraftan yeterince dinlenmediklerini düşündüklerinde) danışanlara yapılan tüm tavsiyeleri de eklemek önerilmektedir (Wilson, 2011). Tıbbi kayıtlar, yanlış uygulamalarda önemli kanıtlar oluşturabilir ve bu nedenle veteriner hekimler, bunların uygun şekilde muhafaza edilmesine büyük özen göstermelidir (McEachern, 2004).

Günümüzde hayvanların zapt edilmesinin sahipleri tarafından yapılması sorgulanmaktadır. Çünkü insanlar, hayvanlar ya da işletmede çalışan personel, yeterli zapt-ı raptın sağlanamaması durumunda çeşitli kazalara maruz kalmaktadır. Hayvan sahipleri zoonoz hastalıklar ve paraziter hastalıklara karşı alınabilecek önlemler hakkında yeteri kadar bilgilendirilmelidirler. Ayrıca hasta sahiplerinin bekleme alanında hayvanları ile birlikte buldukları sırada hayvanlarının kaçmalarını, başka bir hayvana ya da insana zarar verme durumunu önlemek amacıyla belirli uyarıların ya da yönlendirmelerin yapıldığı ve sorumluluğun hasta sahiplerinde olduğunu belirten uyarılar buldurması, bu durumun yol açabileceği olası malpraktis durumlarının ve davalarının önüne geçebilir (Wilson, 2011).

Aydınlatılmış onamın amacı, hasta sahibine tavsiye edilen sağlık bakımı hakkında bilinçli bir karar verebilmesi için hasta sahibine yeterli bilgi vermektir (Flemming, 2004). Tıbbi bilgilendirilmiş onam prosedürleri, klinisyen veteriner hekimlerin hasta sahibi saldırısı veya görevi kötüye kullanma suçlamalarından korunmasında önemli bir rol oynar (Jackson, 2016). Aydınlatılmış onam aynı zamanda hem hayvan sahibi hem de veteriner hekim için yasal koruma sağlamak adına kullanılır (Flemming, 2004)

ve bazı kaynaklarda öncelikle bir risk yönetimi aracı olarak tanımlanmıştır (Martin, 2006).

Sağlık sisteminde meydana gelen sorunlar her geçen gün artmakta, bu durum da malpraktis vakaları ve bu vakalardan kaynaklanan ceza ve hukuki davalarının ve mesleki sigorta sayılarının artmasına yol açmaktadır (Koç, 2007). Beşeri hekimlerin mesleki sorumluluk sigortası, görevlerini yerine getirirken ihmal, yanlış uygulama ya da hata gibi durumların sonucunda oluşacak zararların tazmini ve ilgili maddi zararlardan hekimi korumak amacıyla yapılmaktadır. Hekimlerin ve sağlık kuruluşlarının bu sigorta sayesinde malpraktisten doğan zararları da teminat altına alınmaktadır (Gökmen ve Güleç, 2010). Oysaki Türkiye’de bu sigortaların malpraktis sonucunda oluşabilecek mağduriyetlere karşı talep edilebilecek maddi tazminatlar için veteriner hekimi güvence altına almasına rağmen, birçok veteriner hekimin sorumluluk sigorta poliçesine sahip olmadığı görülmüştür (Nart, 2020).

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Veteriner hekimlerin hukuki sorumluluğu, hukuken kişilik hakkı bulunmayan “hayvanları” tedavi ettikleri için beşeri hekimlerin sorumluluklarından ayrılmaktadır. İnsanların kişilik haklarına saldırı durumunda hekimlerin karşılaştıkları sonuçlar ile hayvanların zarar görmesi sonucu veteriner hekimlerin karşılaştıkları sonuçlar aynı olmasa da, veteriner hekimlerin de hayvanların acı, ağrı, ıstırap duyduklarını, onların da hissedebilen varlıklar olduğunu yani “eşya” dan farklı olduklarını göz önünde bulundurması ve yapılan tedavilerde maksimum özeni göstermeleri gerekmektedir (Oral, 2015).

Mevcut yasalara göre hayvanlar, mülk olarak değerlendirilmekte, bu da evcil hayvan sahiplerinin,

veteriner hekimliği malpraktis tazminini gerektiği gibi anlamadıkları anlamına gelmektedir (Centner ve Smeshko, 2011). Bu duruma yanıt vermek ve bu hayvanların gerçek değerini tanımak için bugün birçok ülke anayasasında olan hayvanların haklara sahip olduğu ve eşya olarak kabul edilmediğine yönelik düzenlemeler emsal alınarak, mevzuatın yeniden düzenlenmesi ve malpraktise ilişkin özel bir düzenleme yapılması gerektiği söylenebilir.

Veteriner hekim adaylarının, eğitimleri sırasında icra edecekleri mesleğin mevzuatı, hukuki hak ve sorumlulukları ile ilgili yeterli bilgi edinmesi, yasal anlamda karşılaştığı tüm durumları kavraması ve malpraktis iddialarına karşı nasıl tavır alması gerektiği konusunda yol gösterici olabilir.

Sahip olunan veteriner hekimlik bilgi ve becerilerinin yeterli olabilmesi için her zaman veteriner hekimliği ile ilgili güncel araştırma ve gelişmeler takip edilmelidir. Bu güncellemelerin veteriner hekime, hastalara yaklaşımda ve tedavinin geçerliliği ve yeterliliği çerçevesinde yarar sağlayacağı söylenebilir.

Tedavi sürecini hasta sahipleri ile açık bir şekilde konuşmak ve aydınlatılmış onam formu düzenlemek yararlı olabilmektedir. Olası bir şikâyeti yüz yüze konuşma ve her türlü durumu açıklığa kavuşturmak açısından daha etkili olacağı söylenebilir.

Veteriner hekimler ihmal davaları nedeniyle mağduriyet yaşamamak ve olası iddialara karşı kendilerini güvence altına alabilmek için, hekim sorumluluk sigortasına başvurabilirler. Bu uygulamalar hakkında veteriner hekimlerin daha fazla bilgilendirilmesi ve sigorta uygulamalarının yaygınlaştırılması önerilebilir.

Sonuç olarak Türkiye’de veteriner hekimliğinde malpraktis ile ilgili kaynakların yetersiz olması, var olan çalışmaların önemli bir

kısımının tıbbi malpraktis ile ilgili yapılan çalışmalar olması, malpraktis üzerine veteriner hekimliği alanında yasal bir düzenleme olmaması önemli bir sorun teşkil etmektedir. Bu bağlamda veteriner hekimliği alanında konu ile ilgili bilimsel araştırmaların artırılması ve malpraktise ilişkin yasal düzenlemelerin oluşturulması gerektiği söylenebilir.

## KAYNAKLAR

- Aktaş, EÖ. (2020). Pediatrik onkolojide hukuksal sorumluluk. [Erişim tarihi: 06 Aralık 2020]. Erişim linki: [http://tpog.org.tr/uploads/19\\_Sunum/15.30%20-%20Ekin%20%20C3%96zg%C3%BCr%20Akta%C5%9F.pdf](http://tpog.org.tr/uploads/19_Sunum/15.30%20-%20Ekin%20%20C3%96zg%C3%BCr%20Akta%C5%9F.pdf).
- Alman Medeni Kanunu (2002). 2 Ocak 2002. [Erişim tarihi: 06.04.2021]. Erişim linki: [https://www.gesetze-im-internet.de/englisch\\_bgb/englisch\\_bgb.html#p0272](https://www.gesetze-im-internet.de/englisch_bgb/englisch_bgb.html#p0272).
- AVMA (2020). Amerikan Veteriner Hekimler Birliği, Client management guidelines; reduce the likelihood of malpractice allegations and board complaints. [Erişim tarihi: 11 Ekim 2020]. Erişim linki: [https://www.avmaplit.com/uploadedfiles/avma\\_plit/resources/public\\_resources/client%20management%20guidelines-2018update.pdf](https://www.avmaplit.com/uploadedfiles/avma_plit/resources/public_resources/client%20management%20guidelines-2018update.pdf).
- Avusturya Medeni Kanunu (1988). 01 Temmuz 1988. [Erişim tarihi: 06.04.2021] Erişim linki: <https://www.jusline.at/gesetz/abgb/paragraf/285a>.
- Babacan, E., Öztürk, H., & Kahriman, İ. (2018). Tıbbi hatalar ve hasta güvenliği: Hemşirelere yönelik eğitimlerin etkinliğinin değerlendirilmesi. Sağlıkta Performans ve Kalite Dergisi, 14(2), 57-72.
- Centner, TJ., & Smeshko, N. (2011). Compensating companion animal owners for veterinary malpractice through an alternative dispute resolution mechanism. Journal of Social Sciences, 7(4), 597-604.
- Çekya Medeni Kanunu (2012). 03 Şubat 2012. [Erişim tarihi: 06.04.2021]. Erişim linki: <http://obcanskyzakonik.justice.cz/images/pdf/Civi1-Code.pdf>.
- Çelik, F. (2020). Cerrahin yasal sorumlulukları. [Erişim tarihi: 06 Aralık 2020] Erişim linki: <https://www.medimagazin.com.tr/guncel/tr-cerrahin-yasal-sorumluluklari-11-666-7204.html>.
- Çokar, M. (2009). Türkiye’de malpraktis konusunda yasal düzenleme girişimleri: Zorunlu mali sorumluluk sigortası bir çözüm müdür? Türkiye Biyoetik Derneği e-Bülteni, 19, 7-16.
- Çoltu, A. (2012). Tıbbi Uygulama Hataları. Koç S. 1st ed. 1.Tıp Hukuku Günleri Tıbbi Uygulama Hataları, İstanbul, Turkey: İstanbul Tabip Odası Yayınları
- Değdaş, UC. (2018). Hatalı tıbbi uygulamadan (malpraktis) doğan hukuki ve cezai sorumluluk. Hukuk Fakültesi Dergisi, 1(6), 41-65.

- Eichinger, GL. (2006). Veterinary medicine: External pressures on an insular profession and how those pressures threaten to change current malpractice jurisprudence. *Mont. Law Rev*, 67, 231-274.
- Erol Sarıyev, A. (2016). Veteriner hekimin sözleşme dışı sorumluluğu. *TBB Dergisi*, 127, 264-298.
- Favre, D. (2010). Living Property: A new status for animals within the legal system. *Marquette Law Rev*, 93, 1021-1071.
- Federal Alman Cumhuriyeti Anayasası (2014). 23 Aralık 2014. [Erişim tarihi: 06.04.2021]. Erişim linki: file:///C:/Users/USER/Downloads/Grundgesetz\_T R\_endgltig.pdf.
- Flemming, DD., & Scott, E. (2004). The informed consent doctrine: what veterinarians should tell their clients. *JAVMA*, 224(9), 1436-1439.
- Gardiner, A., Corr, S., Palmer, C., & Sandøe, P. (2015). Companion Animal Ethics. The development and role of the veterinary and other professions in relation to companion animals. Ed: Sandøe P, Corr S, Palmer C. United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2015. pp. 24-40.
- Gökmen, H., & Güleç, S. (2010). Tıbbi malpraktis riskinin yönetiminde bir araç olarak hekim mesleki sorumluluk sigortaları. *Sağlık Performans ve Kalite Dergisi*, 1, 9-16.
- Hakeri, H. (2014). Ceza Hukuku: Genel Hükümler, Temel Bilgiler. Güncellenmiş ve genişletilmiş 11. Baskı, Ankara, Turkey: Seçkin Yayıncılık.
- Hancı, İİ. (2005). Malpraktis mi? Komplikasyon mu? *Mevzuat Dergisi*, 90(8), 1.
- Hankin, SJ. (2007). Not a living room sofa: Changing the legal status of companion animals. *Rutgers Journal of Law & Public Policy*, 4(2), 314-309.
- Helms, TD., & Bain, MJ. (2009). Evaluation of owner attachment to dogs on the basis of whether owners are legally considered guardians of their pets. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 234, 896-900.
- Hessler, KM. (2006). Mediating animal law matters. *Journal of Animal Law & Ethics*, 2(21), 21-75.
- Huss, RJ. (2002). Valuing man's and woman's best friend: The moral and legal status of companion animals. *Marq. Law Rev*, 86, 47-105.
- Huss, RJ. (2004). Valuation in veterinary malpractice. *Loyola University Chicago Law Journal*, 35(2), 459-453.
- İsviçre Medeni Kanunu (1907). 10 Aralık 1907. [Erişim tarihi: 06.04.2021]. Erişim linki: [https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/24/233\\_245\\_233/en](https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/24/233_245_233/en).
- Jackson, E. (2016). Consent I: Understanding. In: *Medical Law: Text, Cases and Materials*. United Kingdom, Oxford University Press.
- Koç, S. (2007). Yasal düzenlemeler çerçevesinde hekim sorumluluğu. *Türkderm*, 41, 33-38.
- Koç, S. (2014). Adli tıbbi açıdan malpraktis ve hekimin sorumluluğu. *Toraks Cerrahisi Bülteni*, 5(1), 14-22.
- Livingston, M. (2004). The calculus of animal valuation: Crafting a viable remedy. *Nebraska Law Rev*, 82, 783-748.
- Martin, EA. (2006). Managing client communication for effective practice: What skills should veterinary graduates have acquired for success? *JVME*, 33(1), 45.
- Meagher, DM. (2005). A review of equine malpractice claims. *AEPP Proceedings*, 51, 508-514.
- McEachern, MM., & Weedon, GR. (2004). Modern trends in veterinary malpractice: How our evolving attitudes toward non-human animals will change veterinarian medicine. *Animal Law*, 10(125), 125-161.
- Nart, A. (2020). Veteriner Hekimler için mesleki sorumluluk sigortası nedir? [Erişim tarihi: 12 Ekim 2020]. Erişim linki: <https://veterinerturkiye.com/veteriner-hekimler-icin-mesleki-sorumluluk-sigortasi-nedir/>.
- Oğuzman, MK., Seliçi, Ö., & Oktay Özdemir, S. (2012). Eşya Hukuku. 15. Baskı, İstanbul, Turkey: Filiz Kitabevi.
- Oral, T. (2014). Veteriner hekimin sözleşme dışı sorumluluğu. *Türkiye Adalet Akademisi Dergisi*, 5(16), 319-335.
- Özcan, BG., & Özel, Ç. (2007). Kişilik hakları- Hasta hakları bağlamında tıbbi müdahale sonucu çıkan hukuki ilişkide aydınlatma yükümlülüğü ve aydınlatılmış rızaya ilişkin bazı değerlendirmeler. *Hacettepe Sağlık İdaresi Dergisi*, 10(1), 51-73.
- Özçetin, E. (2016). Sağlık alanında malpraktis. İstanbul, Turkey, Thesis of PhD, Beykent Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü.
- Pugliese, M., Voslarova, E., Biondi, V., & Passantino, A. (2019). Clinical practice guidelines: an opinion of the legal implication to veterinary medicine. *Animals*, 9(8), 577.
- Resmi Gazete (1954). 6343 sayılı Veteriner Hekimliği Mesleğinin İcrasına, Türk Veteriner Hekimleri Birliği ile Odalarının Teşekkül Tarzına ve Göreceği İşlere Dair Kanun. 18 Mart 1954. <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.3.6343.pdf>.
- Resmi Gazete (2004a). 5199 sayılı Hayvanları Koruma Kanunu. 24 Haziran 2004. [Erişim tarihi: 06.04.2021]. Erişim linki: <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.5199-20100611.pdf>.
- Resmi Gazete (2004b). 5235 sayılı Adli Yargı İlk Derece Mahkemeleri ile Bölge Adliye Mahkemelerinin Kuruluş, Görev ve Yetkileri Hakkında Kanun. 07 Ekim 2004. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2004/10/20041007.htm#1>.
- Resmi Gazete (2004c). 5237 sayılı Türk Ceza Kanunu. 26 Eylül 2004. <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.5237.pdf>.
- Resmi Gazete (2006). Türk Veteriner Hekimleri Birliği Hizmetlerinin Yürütülmesine İlişkin Uygulama Yönetmeliği. 13 Eylül 2006. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2006/09/20060913-9.htm>.
- Resmi Gazete (2010). Tıbbi Kötü Uygulamaya İlişkin Zorunlu Mali Sorumluluk Sigortasında Kurum Katkısına İlişkin Usul ve Esaslara Dair Tebliğ. 21 Temmuz 2010. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/07/20100721-17-1.htm>.
- Resmi Gazete (2011a). 6098 sayılı Türk Borçlar Kanunu. 04 Şubat 2011. <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.6098.pdf>.

- Resmi Gazete (2011b). 6100 sayılı Hukuk Mahkemeleri Kanunu. 04 Şubat 2011. <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.6100.pdf>
- Sağesen, SS. (2013). Malpraktis. [Erişim tarihi: 19 Ekim 2020]. Erişim linki: <https://slideplayer.biz.tr/slide/2749416/>.
- Schnobel, SA. (2016). Prioritising the best interests of the animal and re-framing veterinary negligence. Birmingham, England, Thesis of Doctoral, The University of Birmingham.
- Şahin, AB. (2021). Tıbbi malpraktis (hatalı tıbbi uygulama) – komplikasyon ayırımı ve buna ilişkin sorumluluklar. [Erişim tarihi: 05.05.2021]. Erişim linki: <https://kplegal.com.tr/tibbi-malpraktis-hatali-tibbi-uygulama-komplikasyon-ayrimi-ve-buna-iliskin-sorumluluklar>.
- Tuğcu, H., Yorulmaz, C., & Koç, S. (2009). Hekim sorumluluğu ve tıbbi malpraktis. Klinik Gelişim, 22, 6-10.
- TDK (2013). Türk Dil Kurumu, Malpraktis. Büyük Türkçe Sözlük, Ankara, Turkey.
- TDK (2020). Türk Dil Kurumu, [Erişim tarihi: 15 Ekim 2020]. Erişim linki: <https://sozluk.gov.tr/>.
- TTB (2012). Türk Tabipler Birliği, Hekimlik Meslek Etiği Kuralları, Ankara, Turkey. [Erişim tarihi: 15 Ekim 2020]. Erişim linki: [https://www.ttb.org.tr/mevzuat/index.php?option=com\\_content&id=65&Itemid=31](https://www.ttb.org.tr/mevzuat/index.php?option=com_content&id=65&Itemid=31)
- TVHB (2010). Türk Veteriner Hekimleri Birliği, 3. Türk Veteriner Hekimliği Kurultayı. Serbest Veteriner Hekimlik Komisyonu Sonuç Raporu. Ankara, Turkey: 2010. pp. 235-276.
- TVHB (2018). Türk Veteriner Hekimleri Birliği, 4. Türk Veteriner Hekimliği Kurultayı. Kamu ve Serbest Veteriner Hekimlik Komisyonu Raporu, Ankara, Turkey, 2018. pp. 197-245.
- Walker, JB. (2009). Food animal medicine in crisis. JAVMA, 235(4), 368-374.
- White, S. (2009). Companion animals: Members of the family or legally discarded objects? UNSW Law Journal, 32(3), 852-878.
- Wilson, JF. (2011). The Law of Professional Negligence. Indianapolis, USA: Priority Press Ltd.
- Woodward, LE., & Bauer, AL. (2007). People and their pets: A relational perspective on interpersonal complementarity and attachment in companion animal owners. Society and Animals, 15, 169-189.
- Yaşar, A. (2014). Veteriner hekimliği etiği ve mevzuatı ders notları. Konya, Turkey: Selçuk Üniversitesi Yayınları.



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni  
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association  
e-ISSN: 2667-8381, 12 (2): 105-117, 2021  
DOI: 10.38137/vftd.966325

## YEM VE GIDALARLA HAYATIMIZA GİREN AFLATOKSİNLERİ ÖNLEME YÖNTEMLERİ

Fadime TONBAK<sup>1a</sup>, Pelin DEMİR<sup>2b</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye  
<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin / Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 23119, Elazığ, Turkey

ORCID<sup>a</sup>: 0000-0001-7308-512X, ORCID<sup>b</sup>: 0000-0002-0824-1672

\*Sorumlu Yazar: Pelin DEMİR  
E-Posta: p.demir@firat.edu.tr

Geliş Tarihi: 08.07.2021  
Kabul Tarihi: 30.08.2021

### ÖZET

Aflatoksinler, yemlerde ve gıdalarda bulunan mantar metabolitleridir. Mikotoksinler arasında, aflatoksin grubu insan ve hayvan sağlığı üzerine ciddi etkileri nedeniyle çok dikkat çekmiştir. Geviş getiren hayvanlar Aflatoksin B1 (AFB1) içeren yemleri yediğinde, bu toksin metabolize olur ve Aflatoksin M1 (AFM1) olarak süte geçer. Son yıllarda, toksin maruziyeti ile kanser hücresi proliferasyonu ve invazyonu arasındaki korelasyonda AFB1 ve AFM1'den sıkça söz edilmektedir. Son zamanlarda kanser hücreleri üzerindeki aflatoksin etkilerini değerlendirmeyi amaçlayan bazı epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu derlemede, AFB1 ve AFM1'in aktivasyon durumları ve literatürde kanser gelişimiyle ilgili korelasyon hakkında rapor edilmiş olan bazı veriler özetlenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** AFB1, AFM1, Aflatoxin, Kanser, Süt.

### AFLATOXIN ENTERING OUR LIVES WITH FEED AND FOOD AND PREVENTION METHODS

#### ABSTRACT

Aflatoxins are fungal metabolites found in feeds and foods. Among mycotoxins, the aflatoxin group has received much attention due to its serious effects on human and animal health. When ruminants eat feed containing Aflatoxin B1 (AFB1), this toxin is metabolized and passed into milk as Aflatoxin M1 (AFM1). In recent years, AFB1 and AFM1 have been frequently mentioned in the correlation between toxin exposure and cancer cell proliferation and invasion. Recently, some epidemiological studies have been conducted to evaluate the effects of aflatoxin on cancer cells. This review summarizes of some data reported in the literature on the activation states of AFB1 and AFM1 and their correlation with cancer development.

**Keywords:** AFB1, AFM1, Aflatoxin, Cancer, Milk.

### GİRİŞ

Aflatoksinler (AF) dünyanın her tarafında yaygın olan, sıcak ve nemli koşullarda gelişen *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus paraticus* gibi bazı mantar (küf) türleri tarafından sentezlenen en zararlı mikotoksinlerdir (Li ve ark., 2020). Bu toksinler kimyasal yapılarına, ürettikleri mantar çeşidine, etki ettikleri organ, doku veya sisteme göre çeşitli sınıflara ayrılırlar. Hayvanlar ve insanlar tarafından tüketildikleri zaman, bazı faktörlere bağlı olarak

latent, akut ve kronik karakterde zehirlenmelere sebep olurlar (Kaya, 1989). Aflatoksinler tarih boyunca büyük ekonomik kayıplara, insan ve hayvan ölümlerine neden olmasının yanısıra modern tarım endüstrisinin sürdürülebilir ve kaliteli gelişimini tehdit eden, son derece toksik metabolitlerdir (Danesh ve ark., 2018; Assaf ve ark., 2019a). Yemlerde ve gıdalarda aflatoksin grubu bilinen 20' den fazla metabolit tespit edilmiştir (Mahmood Fashandi ve ark., 2018).

Dünya genelinde 4,5 milyardan fazla insanın farklı AF düzeyleri ile kontamine gıda maddelerine maruz kalma riski altında olduğu bildirilmiştir (Williams ve ark., 2018). Üretimin herhangi bir aşamasında gıda ve yem ürünleri kontamine olabilir. Özellikle, bitkilerin hasat edilmesi esnasında, taşıma ve depolama sırasında, gıdanın hazırlanması ve teknolojik işlemler sırasında, küflerin gelişmesine elverişli sıcak ve nemli ortamlar oluştuğunda insan ve hayvan sağlığına zararlı mikotoksinler şekillenebilmektedir (Sweeney ve Dobson, 1998; Hussein ve Brasel, 2001; Villers, 2014).

Aflatoksinlerin ultraviyole (UV) ışık altında mavi floresans (Blue) veren bileşenlerine AFB1 ve AFB2, sarı-yeşil floresans (Green) verenlerine ise Aflatoksin G1 (AFG1) ve Aflatoksin G2 (AFG2) ismi verilmiştir. Aflatoksin içeren yemleri tüketen hayvanların sütlerinde bu toksinlerin bir türevi salgılandığı belirlenmiş ve sütte bulunmasından ötürü buna “süt toksini” (milk toxin) anlamında Aflatoksin M (AFM) adı verilmiştir. Aflatoksin M1 (AFM1) ve Aflatoksin M2 (AFM2) türevleri, AFB1 ve AFB2'nin süt üreten hayvanlarda metabolik değişikliğe uğratılarak vücuttan atılan şekilleri olarak kabul edilir (Şanlı, 1995; Akdemir ve Altıntaş, 2004; Polat, 2013). Aflatoksin M2 aynı zamanda dihidro-aflatoksin M1 olup, bunların içinde en fazla toksik etkisi olan Aflatoksin B1 olarak kabul edilmektedir (Polat, 2013). Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), insan kanserojenleri olarak AFB1 ve AFM1'i sırasıyla Grup 1 ve Grup 2B' ye ait sınıflandırmıştır (Marchese ve ark., 2018a).

## SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE AFLATOKSİNLER

Aflatoksin B1, birçok gıda maddesinde yaygın olarak bulunan, genotoksitesisi ve kanserojenliği

nedeniyle halk sağlığı endişesi hala devam eden bir mantar metaboliti ürünüdür (Nugraha ve ark., 2018). Yerfıstığı, fındık, antepfıstığı gibi diğer yenilebilir kabuklu yemişlerde ve ürünlerinde, kuru meyvelerde, çeşitli baharatlarda ve farklı tahıl türlerinde küfler tarafından sentezlenebilir. Kontamine hayvan yemi ile alınan AFB1, hayvanın gastrointestinal sistemi tarafından sindirilerek, karaciğerinde AFM1 ve AFM2'ye dönüştürülür ve süte geçer. Süt ve süt ürünlerinde AFM1, AFB1'den daha az toksik olsa da, insanlar ve bazı hayvan türleri için oldukça zararlıdır (Kumar ve ark., 2017; Li ve ark., 2018). Bu nedenle sütte aflatoksin bulunması, küçük miktarlarda bile olsa, süt endüstrileri ve süt ürünleri tüketicileri için gerçek bir endişe kaynağı oluşturmaktadır (Assaf ve ark., 2019b).

Yapılan deneysel çalışmalarda AFB1 uygulamasından 12 saat sonra hayvanların sütlerinde AFM1'e rastlanılmış ve bu kalıntının yaklaşık 3 gün boyunca devam ettiği görülmüştür (Weidenbörner, 2001). İnek sütlerinde AFB1'in AFM1 olarak taşınmasının %0,3 ile %6,2 arasında değiştiği belirlenmiştir (Veldman ve ark., 1992). Kontamine süt içerisinde AFM1 parçalanmaz; ısıl işlemler, sterilizasyon veya pastörizasyon gibi farklı endüstriyel işlemlere karşı da oldukça dayanıklıdır (Motawee, 2013). AFM1, sadece çiğ sütte değil, aynı zamanda peynir, yoğurt, krema ve süt tozu dahil tüm türev ürünlerinde de zararlı boyutta olmaya devam etmektedir (Bovo ve ark., 2016). Yapılan çalışmada AFM1, sütle üretilen ürüne geçerken peynirde 3-7 katına, süt tozunda 7-8 katına kadar ulaşabilmektedir (Erol, 2007). Bu nedenle, AFM1'in sütte az miktarlarda olması dahi onu endişe verici bir konu haline getirmektedir (Ismail ve ark., 2015).

Atasever ve ark. (2011) marketlerden temin ettikleri 80 yoğurt örneği ve 80 ayran örneğinde AFM1 düzeyini ELISA metoduyla araştırdıkları



çalışmalarında, yoğurt örneklerinin %87,5'i ve ayran örneklerinin ise %90'ında belirlenebilir limitlerin üzerinde olduğunu (5 ng/kg) bulmuşlardır. Bu çalışmada araştırmacılar, AFM1 seviyesinin 16 (%20) yoğurt numunesinde ve 11 (%13,5) ayran numunesinde Türk Gıda Kodeksi (TGK) limitlerini aştığını tespit etmişlerdir.

Elazığ ilinde tüketime sunulan çiğ ve UHT sütlerde AFM1 düzeyini ortaya koymak amacıyla yapılan çalışmada, HPLC metoduyla analizi yapılan 50 adet çiğ süt numunesinin, 16 tanesinde AFM1 0,005-0,23 µg/kg (ppb) düzeyinde bulunmuştur. Sadece 1 örnekte AFM1'in 0,23 µg/kg (ppb) seviyesinde olduğu belirlenmiş ve bu numunenin TGK Yönetmeliğine göre kabul edilebilir AFM1 sınır değerinin üzerinde (> 0,05 µg/kg (ppb)) olduğu saptanmıştır. 50 adet sade UHT sütlerin 49 tanesinde ise AFM1 tespit edilmemiş ancak sadece bir tanesinde AFM1 düzeyi 0,018 µg/kg (ppb) olarak tespit edilmiştir (Kızıl ve ark., 2017).

Yapılan bir çalışmada 150 UHT süt örneğinde AFM1 düzeyinin incelenmiş, UHT süt örneklerinin %59'unun AFM1 içerdiği saptanmış ve %10,7'sinin AFM1 yönünden TGK ve Avrupa Birliği tarafından düzenlenen yasal limitleri aştığı belirtilmiştir (Atasever ve ark., 2010a).

Yine Özkaya ve ark. (2002), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden topladıkları 360 adet çiğ süt örneğinin %44,3'ünün ile 49 adet beyaz peynir örneğinin %13,3'ünde AFM1 içerdiği ve miktarının TGK limitini aştığını tespit etmişlerdir.

Türkiye'de tüketilen bazı peynir çeşitleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise toplam 304 peynir örneği (85 beyaz peynir, 75 kaşar peynir, 62 civil peynir, 82 krem peynir) AFM1 yönünden ELISA metoduyla incelenmiştir. Beyaz peynir örneklerinin %82,4, kaşar peynir örneklerinin %80, civil peynir örneklerinin %19,4 ve krem peynir

örneklerinin ise %84,2'sinde AFM1'e rastlanılmıştır. Çalışmada, AFM1 yönünden yasal limitleri aşan numune oranı beyaz peynir, kaşar peynir ve krem peynir örneklerinde sırasıyla %27,1, %34,7, %17,1 olarak belirlenmiştir. TGK'ya göre civil peynir örneklerinde limiti aşan numuneye rastlanmamıştır (Atasever ve ark., 2010b).

Akdemir ve Altıntaş (Akdemir ve Altıntaş, 2004), Ankara Yöresi'nde üretim yapan 2 ayrı süt fabrikasında, çeşitli illerden getirilen 12 ayrı kaynaktan alınan, toplam 48 adet çiğ inek sütü örneğini AFM1 yönünden, immünoafinite kolon temizleme ve floresans dedektörlü HPLC ile incelemişler. Sonuç olarak, örneklerin %70,83'ünün AFM1 içerdiği ve %33,3'ünün TGK'da bildirilen limit değerinin (0,05 ppb) üzerinde olduğu belirlenmiştir. Yörelere arasında AFM1 düzeyleri açısından belirgin farklılıklar olduğu da saptanmıştır. En yüksek AFM1 düzeyi Ankara yöresine ait süt örneklerinde tespit edilmiş (0,817 ppb). Burdur ve yöresinin en riskli yöre olduğu, Eskişehir yöresinin ise risk taşımadığı belirlenmiştir.

Van ilinde tüketime sunulan UHT sütlerde yapılan araştırmada, analize alınan tam yağlı UHT sterilize süt örneklerinin 9 tanesinin (%36), yarım yağlı UHT sterilize süt örneklerinin ise 7 tanesinin (%28) AFM1 seviyesi yönünden TGK'da süt için verilen limitlere (50 ng/l) uygun olmadığı ortaya konulmuştur (İşleyici ve ark., 2012).

Erkan ve ark. (2018), Elazığ ilinde satışa sunulan 100 adet tulum peynirinde ELISA yöntemi kullanarak AFM1 analizi yapılan tüm peynir örneklerinde (%100) AFM1 düzeyinin, TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde bildirilen limit değer olan 50 µg/kg (0,05 ppb)'den yüksek bulunmuştur.

AFB1 kirliliği ve maksimum limiti aşma oranı ile AFM1 ortalamaları yönünden mevsimler arasında farklılıkların olabileceği vurgulanmaktadır.

Ülkemizde en yüksek riskin ilkbaharda görüldüğü ve bu mevsimde AFM1 miktarının sütte arttığı bildirilmiştir (Özkaya ve ark., 2002). Mevsimlerle, yem ve süt ürünlerindeki aflatoksinlerin bulaşıklığını ilişkilendirmek oldukça zor olup çeşitli modeller ve veri dizileri geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Bu amaçla Van der Fels-Klerx HJ ve ark. (2019) tarafından, iklim değişikliğinin mısırdaki AFB1 üretimi üzerindeki etkilerini ve inek sütündeki AFM1 kontaminasyonu üzerindeki sonuçlarını araştırmayı amaçlayan bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada, Doğu Avrupa' da yetiştirilen ve Hollanda' daki süt ineklerinin karma yemlerine katılmak amacıyla Hollanda' ya ithal edilen mısır üzerine odaklanılmıştır. Yapılan modelleme sonucu 2030 yılına kadar sütte, maksimum oranda bir artış olacağı tespit edilmiştir. Tüm bulaşma ve iklim modelleri kombinasyonlarından elde edilen sonuçlar ise, 2030 yılına kadar sütte AFM1'in 0,05 µg / kg ile AB sınırının üzerinde bulunmakta olduğunu göstermiştir. Yapılan modelleme çalışması ile diğer mikotoksinler ve gıda güvenliği tehlikeleri birlikte tahmin modellerinin de dahil edilebileceği ifade edilirken; senaryo analiziyle bu şekilde bütünleşmiş bir yaklaşım, politikacıların ve risk yöneticilerinin, zincirin başlangıcındaki değişikliklerin nihai ürün üzerindeki etkilerini araştırmasına imkan sunduğu bildirilmiştir.

AFM1 dahil aflatoksinlerin toksisitesi ve konakçı üzerindeki etkisi cinsiyet, yaş, tür ve beslenme davranışına bağlıdır (Williams ve ark., 2018). Beslenme özellikleri nedeniyle bebekler, yetkili otoriteler tarafından doğum sonrası 6 ay boyunca anne sütüyle beslenmesi teşvik edilmektedir. Radonić ve ark. (2016), tarafından, insan sütü örneklerinde AFM1 içeriğini belirlemek ve bebeklerin aflatoksinlerin gıda kontaminasyonuna maruz kalma riskini

değerlendirmek için bir çalışmada, alınan numunelerde insan sütünde (kolostrum ve anne sütü) AFM1 kontaminasyonunda endişe verici seviyeleri tespit etmişler ve doğumdan 4-8 ay sonra toplanan anne sütü ve kolostrum örneklerinin %36,4'ünün AFM1 ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir (Mohammed ve ark., 2016).

Yem, süt ve süt ürünlerinde AF maksimum limit miktarları her ülkede farklı düzenlenmiştir. İran'da yürütülen bir çalışmada, popüler marketlerden elde edilen pastörize süt (116 örnek) ve UHT süt (109 örnek) içeren 225 ticari süt örneğinde AFM1 oluşumunu belirlemek için ELISA yönteminin kullanıldığı çalışmada, pastörize süt örneklerinin 83'ünde (%71,5) (ortalama 52,8 ng/l) ve UHT süt örneklerinin 68 tanesinde (%62,3) (ortalama 46,4 ng/l) olmak üzere toplam 151 örnekte (%67,1) saptanmıştır. Çalışmada AFM1, ABD/FDA ve İran standart limitleri göre, 2 pastörize (%1,7) ve 3 UHT süt örneğinde (%2,7) maksimum tolerans sınırının üzerinde olduğu görülmüştür. Ancak, Avrupa Komisyon (EC) limitlerine (50 ng/l) göre, bu rakam pastörize ve UHT süt için sırasıyla 31 (%26,7) ve 19 (%17,4) örnek olarak daha yüksek bulunmuştur (Fallah, 2010). Yine İran'ın Erdebil şehrinde toplanan çiğ süt örneklerinin %14,75'inde limiti (50 ng/l) aşan AFM1 düzeyleri tespit edilmiştir (Kamkar ve ark., 2011).

### AFLATOKSİNLERLE İLGİLİ HASTALIKLAR

Dünya Sağlık Örgütü 2016 yılında, küresel hastalık yükünün ve ölümlerinin %20'sinden fazlasının değiştirilebilir çevresel faktörlere bağlı olduğunu bildirmiştir. AFB1 ve AFM1 maruziyetine bağlı, hem çevresel hem de genomik karakterize risk faktörlerini de bu grupta değerlendirmiştir (Joubert ve ark., 2020).

Yapılan bir çalışmada, bazı genlerin, proteinlerin ve miRNA'ların (mikroRNA) AFB1 ve AFM1 maruziyeti nedeniyle hasar belirteçleri olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Araştırmacılar, genlerin/proteinlerin/miRNA'ların ekspresyon değişikliklerinin AFB1 ve AFM1 maruziyetine bağlı hasar belirteçleri olarak kullanımı noktasında, kanser başlangıcı veya ilerleme indeksleri göz önüne alınarak yapılan çalışmaların çok ilginç olacağını vurgulamışlardır (Marchese ve ark., 2018b).

Yemlerdeki 15 ppb düzeyinde AF'e bir sefer dahi maruz kalınması dişi ratlarda 80, erkek ratlarda 70 hafta boyunca %100'e varan oranda karaciğer kanseri oluşturabildiği görülmüştür. Buna karşılık yemle birlikte alınan 1 ppb aflatoksinin bile karaciğer kanserine yol açabildiği belirtilmektedir. Ayrıca böbrek tümörlerine, kolonik musinöz adenokarsinom, sarkom ve fibrosarkom ile kötü huylu nörofibrosarkoma sebep olabileceği belirtilmektedir (Kaya, 1989). Bununla birlikte araştırmacılar aflatoksinlerin DNA üzerinde lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasara sebep olduğunu belirtmektedir (Verma, 2004).

#### **Karaciğer kanserleri ve aflatoksinler:**

Gelişmekte olan ülkelerde, AFB1'e yüksek maruziyet kronik toksisiteye neden olabilir ve genellikle Hepatoselüler Karsinom (HCC) insidansını arttırabilir. Küresel olarak AFB1 maruziyetine atfedilen HCC vakalarının %4,6-28,2 oranında yüksek bir hepatokarsinojen olarak ortaya çıktığı bulunmuştur (Kucukcakan ve Hayrulai-Musliu, 2015). Ayrıca, bireyler kronik hepatit B virüsü (HBV) ile AFB1'e birlikte maruz kalırlarsa, 30 kat daha artırarak kanser riski açısından ciddi bir hal almaktadır (Liu ve Wu, 2010). Aflatoksinin yüksek konsantrasyonları akut hepatite neden olurken, kronik maruziyet daha çok karaciğer kanserine neden olduğu bildirilmiştir (Rapisarda ve

ark., 2016). İnsan karaciğer tümörleri arasında AFB1 maruziyet ilişkisiyle kanserlerin tanılabilirliğini doğruladığı vurgulanmıştır (Fedele ve ark., 2017). Başka bir çalışmada, siroz ve HBV varlığında ve yokluğunda AFB1 maruziyeti ile HCC gelişimi arasındaki zaman aralıklarının önemi ortaya konmuş ve HBV hastalarında siroz ve HCC gelişme riskini doz-tepki şeklinde artabileceğini kanıtlamıştır (Chu ve ark., 2017).

Yapılan çalışmalarda aflatoksin oranı yüksek gıdalarla beslenme sonucu gelişen uzun süreli aflatoksin maruziyeti, insanlarda karaciğer kanser gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (Yu ve ark., 1997; Shi ve ark., 2016). Başka bir çalışmada hastalar üzerinde AFB1 ve AFM1 maruziyeti, kronik HBV hastaları, Hepatit C virüsünün (HCV) eşzamanlı varlığı, HCC riski ve idrar seviyeleri ile ilişkili olup olmadığı değerlendirilmiş, bu hastalarda artan AFM1 düzeyleri ve HBV varlığı olan hastalarda HCC riski 3,3 kat artmıştır (Sun ve ark., 1999).

Mısır' da yürütülen bir çalışmada, siroz ve HCC hastalarının idrar ve serumunda AFM1 düzeyleri değerlendirilmiştir. Siroz hastalarının serum ve idrarlarında, HCC hastalarının da idrarlarında daha yüksek AFM1 konsantrasyonu olduğu tespit edilmiştir (Mokhles ve ark., 2007). Yetişkinlerde yapılan bir çalışmada ise, aflatoksin maruziyetinin bir biyobelirleteri olan idrar AFM1 düzeyi ile gıda alımı arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplanan ve test edilen 444 adet idrar örneğinden 199'u AFM1 için pozitif bulunmuştur. Ancak, gıda gruplarının tüketimi ile idrardaki AFM1 düzeyi arasındaki ilişkinin zayıf olduğu bildirilmiştir (Sulaiman ve ark., 2018).

Kronik hepatitli 515 hastada primer karaciğer kanseri başlangıcı ile AFM1 maruziyeti arasındaki ilişkinin değerlendirilmesine odaklanan bir çalışma yapılmıştır. Karaciğer fonksiyon bozukluğu ile

ilişkili idrar miktarının AFM1 ile arttığı bildirilmiştir (Lu ve ark., 2010). Başka bir çalışmada, idrar AFM1 düzeyleri ve serum alfa-fetoprotein düzeyleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerde, idrar AFM1 düzeylerinin artmasıyla HCC geliştirme riskinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (Saad-Hussein ve ark., 2013).

**Akciğer kanserleri ve aflatoksinler:** İşçilerin, tahıl tozları nedeniyle pulmoner AFB1'e maruz kaldıklarında akciğer kanseri gelişebildiği bildirilmiştir. Bu nedenle, pulmoner kanserojen ve AFB1 ile akciğer kanserleri arasındaki ilişkiye odaklanan bazı farklı epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Araştırmalar, AFB1 maruziyetinin akciğer tarafından bir DNA bağlayıcı metabolit üretimini uyararak insanların pulmoner AFB1'e duyarlılığını vurgulamıştır (Donnelly ve ark., 1996). Yapılan bir çalışmada AFB1 maruziyetinin, insan bronşiyal epitel hücrelerini ve tümör baskılayıcı proteinleri hedefleyerek tümör oluşumunu teşvik edebilen bir sisteme yüksek oranda yatkınlık olduğu bildirilmiştir (Van Vleet ve ark., 2006). Ayrıca, AFB1'in kanserojenik rol oynadığını ve inhalasyonla ilişkili insan akciğer karsinogenezinde kritik bir rol alabileceği gösterilmiştir (He ve ark., 2006).

**Gastrointestinal kanserler ve aflatoksinler:** Sindirim sistemi, maruz kalman kontamine gıdalara karşı ilk bariyerdir. AFB1 ve AFM1'in bağırsak kanserojen potansiyelinin olduğu bildirilmiş ve AFM1'in AFB1'e kıyasla daha yüksek sindirim sisteminde tutulması nedeniyle daha çok bağırsak kanserojenliğine sahip olabileceği düşünülmüştür (Zhang ve ark., 2015). Farklı mikotoksin kombinasyonlarının olası sinerjik etkilerini değerlendirmek için yürütülen bir çalışmada, AFM1 ve okratoksin A (OTA)'nın diğer toksinlerden daha sitotoksik olduğu görülmüştür

(Gao ve ark., 2016). Ayrıca farklı organlardan (kolon, rektum, meme, serviks ve karaciğer) AFB1-DNA ilişkisinin incelendiği bir çalışmada, normal dokular ve tümör dokuları analiz edilmiş ve tüm örnekler pozitif sonuç vermiştir (Harrison ve ark., 1993).

**Diğer hastalıklarla aflatoksin ilişkisi:** Domuz gribi virüsü (SIV) hem hayvanlar hem de insanlar için önemli bir patojendir. Sun ve ark. (2018) AFB1'e düşük seviyede maruz kalmanın SIV enfeksiyonuna neden olduğu bildirilmiştir.

Çocuklarda idrar AFM1 seviyelerini belirlemek ve aflatoksin albümin (AF-alb) seviyelerini değerlendirmek için yürütülen çalışmada, çocuklardan farklı zamanda idrar ve kan örnekleri alınmıştır. Çalışma kapsamında bazı yerlerde hem AFM1 hem de AF-alb seviyeleri aynı kalırken bazı yerlerdeki örneklerde de hasattan altı ay sonra, başlangıç seviyesine göre bu düzeyler daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte araştırmacılar, bir sonraki ziyarette AFM1 seviyelerini idrarda düşük bulurken, sonraki ziyarette AF-alb seviyelerini yüksek bulmuşlardır. Burada AFM1'in kısa süreli maruz kalmayı ölçtüğünü, AF-alb ise uzun süreli maruz kalmayı yansıttığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak üriner AFM1'in, çocuklarda AFB1 maruziyeti için iyi bir biyobelirteç olduğunu vurgulayarak, gıda kaynaklı toksine maruz kalındığında coğrafi ve zamansal varyasyonları yansıtacağını ifade etmişlerdir (Chen ve ark., 2018).

Karaciğer dışında bağışıklık sisteminin baskılanması, süt veriminin düşmesi ve vücut dokularına düşük oksijen temini gibi, diğer zarar verici etkiler de AFB1 ve AFM1'le ilişkilendirilmiştir (Ajani ve ark., 2014). AFB1'e uzun süre maruz kalmanın Tip 1 Diyabetes Mellitus üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, AFB1 uygulamasından sonra majör üriner protein 1

(MUP1) seviyelerinin fare karaciğerlerinde daha düşük olduğunu vurgulamıştır. Bu nedenle, majör MUP1'in yüksek insülin duyarlılığının bir işareti olarak kullanıldığı düşünüldüğünde, araştırmada, AFB1 maruziyetinin farelerde kan şekeri seviyelerini arttırdığı ve karaciğer kanseri gelişme olasılığını yükselttiği gösterilmiştir (Tsai ve ark., 2017).

### AFLATOKSİN ANALİZ YÖNTEMLERİ

Gıda güvenliğini ve tüketicilerin sağlığını güvence altına almak için çeşitli gıdalarda aflatoksin varlığının izlenmesi ve bunun için analiz edilmesi gerekmektedir. Doğal kirleticiler olan aflatoksinler, birçok tarım ürününde (mısır, pirinç, yer fıstığı vb.), gıdalarda (yemelik bitkisel yağ, süt, et vb.) ve yemelerde bulunur ve ekim, hasat, taşıma, depolama gibi çeşitli aşamalarda ortaya çıkabilir (Zhao ve ark., 2018). Bu aşamalarda hassas analiz yöntemlerinin kullanılması ve aflatoksin kontaminasyonunun izlenmesi, riskleri azaltmak için kontamine gıdaların tespit edilmesinde anahtar bir araçtır.

Aflatoksin tespiti için birçok analitik yöntemler geliştirilmiştir. ELISA, Floresan detektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Sheijooni-Fumani ve ark., 2011; Kong ve ark., 2013) ve ultra performans sıvı kromatografisi - tandem kütle spektrometresi (UPLC-MS/MS) gibi enstrümantal yöntemler (Scholl ve Groopman, 2008; Deng ve ark., 2017), aflatoksin tespiti için kullanılan yöntemlerdir. Ancak, bu tür analizler laboratuvarlardaki özel ekipmanlarla yapılabilmesi ve ekstraksiyonunun zaman alıcı olması gibi konularla sınırlı kalmaktadır. Bunun yerine sahada da kullanılabilecek hızlı taramalar üzerinde durulmaktadır (Hu ve ark., 2017).

Hızlı tarama testlerinden şerit yöntemi, kullanıcılar için basit ve sahada kullanışlı olduğu

bildirilmiştir. Bu strip testinin hassasiyetini arttırmak amaçlı farklı tasarımlar düşünülmüştür. Zamanla çözünen floresans immünokromatografi deneyi (TRFICA), geleneksel altın nanoparçacık bazlı şerit denemesine (GNP) kıyasla tespit duyarlılığının birkaç katını arttırdığı bildirilen önemli yeni yöntemlerden biri olarak görülmektedir. Şerit yönteminin kullanıcılar için çok basit ve kullanışlı olduğu düşünüldüğünde, şerit testinin hassasiyetini arttırmak için, geleneksel altın nanoparçacık bazlı test hassasiyetine göre birkaç kat daha fazla test duyarlılığı artırılarak birçok TRFICA geliştirilmiştir. AFM1 tespiti, toplam aflatoksin (AFB1+B2+G1+G2) tespiti için TRFICA'nın gıdalarda ve tarımsal ürünlerde aflatoksinin izlenmesinde önemli araçlardan biri olabileceği bildirilmektedir (Li ve ark., 2020).

AF-alb analizleri genellikle insanlarda aflatoksin maruziyeti için bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. İnsan kanında aflatoksin serum albümini için kullanılan ELISA yöntemi, süt sığırlarından toplanan sığır kan serum örneklerini (n=22) analiz etmek için kullanılmıştır. Albümin verileri ile bu ineklerden alınan süt örneklerinde AFM1 seviyeleri karşılaştırılmış araştırmada bu yöntemin, AF-alb tayiniyle süt sığırlarında kronik aflatoksin maruziyetinin bir ölçüsü olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır (Saltzman ve ark., 2020).

Günümüzde giderek daha fazla üretici, ürünlerinin kalitesini izlemek için yerinde test yöntemlerini kullanmak istemektedirler. Bu amaçla farklı analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Geliştirilen immünoanalizler arasında aflatoksin tayini için membran bazlı şerit deneyi, ELISA'dan daha düşük duyarlılığa sahip olmasına rağmen, giderek daha popüler hale geldiği vurgulanmıştır (Anfossi ve ark., 2013; Wang ve ark., 2016).

## YEMLERDE VE SÜTLERDE BULUNMASINA İZİN VERİLEN AFLATOKSİN DÜZEYLERİ

Çoğu ülkeler ve kuruluşlar, küflenmelerden ileri gelebilecek problemleri en aza indirmek için, başta aflatoksinler olmak üzere mikotoksin miktarlarının sınırlandırılmasıyla ilgili yasal düzenlemeler yapmıştır (Li ve ark., 2020). AFM1, sütte maksimum kalıntı limitlerinin (MRL) oluşturulduğu tek mikotoksin olup, AFB1 ile benzer şekilde kanserojenik ve immünoşüpresif etkileri bildirilmiştir (Marchese ve ark., 2018b). AFM1'in, yeni doğanların ilk ve tek gıdası olan anne sütünde de var olduğu düşünüldüğünde çok fazla dikkate değer görülmüştür (Jafari ve ark., 2017).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) gibi kuruluşlar ilk olarak gıdalarda tolere edilebilecek aflatoksin miktarını 30 ppb olarak belirlemiştir. Daha sonra Avrupa ülkeleri bu normlardan daha düşük miktarları benimsemiş ve Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu (UNICEF) gibi kuruluşlar çocuklar tarafından tüketilecek miktarın daha düşük olması gerektiğini vurgulamıştır. İnsan ve hayvanlarda akut, kronik ve karsinojenik etkilerden kaçınmak için yem ve yem hammaddeleri ile gıdalarda izin verilen en yüksek düzey Amerika Besin ve İlaç Dairesi tarafından (FDA) 20 ppb güvenli düzey olarak belirlenmiştir (Kaya ve Şanlı, 2002).

Türkiye'de çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt için maksimum limit 0,050 µg/kg olarak belirlenmiştir. Ancak, bebek formülleri ve devam formülleri için (bebek sütleri ve devam sütleri dahil) 0,025 µg/kg olarak kabul edilmiştir. Bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında AFB1 maksimum limiti ise 0,10 µg/kg olarak belirlenmiştir (TGK, 2011).

Yemlerde bulunan 200 ppb'ye kadar olan aflatoksin kalıntıları, klinik olarak akut ve subakut belirtileri ender bir durumken bu miktarın kronik zehirlenmelere yol açabileceği bildirilmektedir. Hayvanlarda immün sistemin baskılanması, kanın biyokimyasal yapısında değişiklikler (pıhtılaşmada görevli protein sentezinin aksamaması), başta safra kanalları olmak üzere karaciğer ve diğer dokularda hücre hasarına yol açması nedeniyle bazı limitler getirilmiştir (Kaya ve Şanlı, 2002). Ülkemizde, yemlerde istenmeyen maddeler kapsamında hayvan yemi olarak kullanılan ürünlerde Aflatoksinlerin (B1, B1+B2+G1+G2) kabul edilebilir maksimum miktarları belirlenmiştir. Bu kapsamda %12 rutubet içeren yeme göre yem maddelerinde en yüksek miktar 0,02 mg/kg (ppm) olarak tespit edilmiştir. Süt sığırları ve buzağular, süt koyunları ve kuzular, süt keçileri ve oğlaklar için karma yemlerinde ise maksimum limit 0,005 mg/kg olarak kabul edilmiştir (TGK, 2011).

EC kapsamında çiğ süt, kuru ya da işlenmiş süt ürünlerindeki AFM1 düzeyinin 50 ng/kg (0,05 ppb)'ı aşmaması gerektiği belirtilmiştir. Amerika'da AFM1 miktarı, yasal limitlere göre 500 ng/kg (0,50 ppb)'ı aşmamalıdır. Pek çok ülkede sütte ve süt ürünlerinde resmi bir AFM1 düzenlemesine gidilmemiştir (Rastogi, 2004). Aflatoksinin zararlı etkileri nedeniyle, birçok ülke ve uluslararası kuruluşlar yem ve gıdadaki AF seviyelerini sıkı bir şekilde düzenlemiştir. Bu nedenle, sütte kabul edilebilir en yüksek AFM1 seviyesi, Avrupa Birliği (AB) ve Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından belirlendiği üzere, sırasıyla 0,05 µg/kg ve 0,5 µg/kg arasında değişmektedir (EC, 2006). Bu nedenle, ABD, Brezilya, Japonya ve Hindistan'da sütte kabul edilen AFM1 sınırı (0,5 µg/kg, ppb) iken; Fransa, Almanya, Belçika, Avustralya ve Türkiye'de (0,05



µg/kg, ppb) diğer ülkelere kıyasla daha az sınırlama getirilmiştir (Ismail ve ark., 2016).

### AFLATOKSİNLERİN ÖNLENMESİ VE KONTROLÜ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 2016 yılında yapılan küresel bir değerlendirmede, küresel hastalık yükünün %24'ünün ve tüm ölümlerin %23'ünün insan sağlığına etki eden fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikeler de dahil olmak üzere değiştirilebilir çevresel faktörlere bağlı olduğu bildirilmiştir (Prüss-Ustün ve ark., 2016).

İyi Tarım Uygulamaları (GAP) uygulaması, gıda ve yemlerdeki AF miktarını sınırlamanın en iyi yoludur ancak mutlak önlenmesini garantileyemez (Karlovsy ve ark., 2016). Ayrıca, hasat öncesi ve sonrası AF'e maruziyeti azaltmak için yenilikçi teknolojilerin uygulanması tavsiye edilmektedir. Bu teknolojilerin bazıları ozon fumigasyonu (Palou, 2002), biyolojik ışınlama (Kanapitsas ve ark., 2015; Markov ve ark., 2015) ve kimyasal ajanlardır (Udomkun ark., 2015). Süt gibi sıvı ürünlerde AFM1 bağlama yeteneğinin araştırıldığı çalışmalarda, probiyotik bakterilerin biyofilmleri (Assaf ve ark., 2019b) ile kitin veya karides kabuğunun (öğütülmüş ve öğütülmemiş) (Assaf ve ark., 2018) farklı inkübasyon sürelerinde ve sıcaklıklarında analizleri yapılmıştır. Bu gibi oldukça umut verici teknikler ve araştırmalar hala devam etmektedir.

Ülkemizde gıda olarak tüketilen süt ve süt ürünleriyle çeşitli tahıl ürünleri ve hayvan yemlerinden belirli aralıklarla plan dâhilinde ilgili otoritelerce düzenli numuneler alınmakta ve ücretsiz olarak analiz edilmektedir. Kalıntı İzleme Planı kapsamında yemde AFB1 ve sütte AFM1, maksimum kalıntı limiti üzerinde tespit edildiğinde zaman geçirilmeden geri izleme prosedürü uygulanmaktadır. 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri,

Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu, kalıntı izleme programlarında esas alınan Kanun'dur. Kanununun 21., 22., 23., 24., 25., 26., 31., 32., 34., maddeleri kalıntı limitlerinin aşılması durumunda geri izleme çalışmalarının yürütülmesini sağlayan Kanun maddeleridir. Kalıntı izleme programlarında Kanun'un 37., 40. ve 41. maddeleri uygulanan yaptırımların yasal dayanağını teşkil etmektedir.

Süt ve süt ürünlerine uygulanan pastörizasyon işlemleri ısıya dayanıklı olan AFM1 miktarını etkilemediğinden, yürütülmekte olan izleme programlarının temel stratejisi hem insan hem de hayvanlar için maruz kalma riskinin azaltılmasına yöneliktir (Lopez ve ark., 2003). Aflatoksinlerle kontamine olmuş ürünlerin kullanılmaması ve ticaretinin yasaklanması bir çözüm yoludur (Udomkun, 2017). Doğrudan veya dolaylı olarak sütteki AFM1 azaltımına yol açan stratejiler, iyi tarım uygulamalarını benimsemekten yenilikçi detoksikasyon yöntemlerini kullanmaya kadar değişmektedir (Assaf ve ark., 2017; Assaf ve ark., 2018). Süt üreten hayvanların AFB1'li yemleri tüketmelerinin önüne geçilmesi AFM1 için en önemli basamağı oluşturmaktadır.

Yemlerde küf gelişiminin kontrol edilmesi için hammaddenin tarlada gelişimi, hasadı, depolanması, nakliyesi ve ürünlerin işlenmesi aşamalarında kontaminasyonun engellenmesi tüm mikotoksinlerin önlenmesi için önemlidir. Yem maddelerinde, kontaminasyonu önlemek ve üründen uzaklaştırmak için fiziksel, kimyasal ve biyolojik pek çok yöntem denenmektedir. Ayrıca, mikroorganizmalar ve bunların saflaştırılmış enzimatik ürünleri gibi farklı biyotransformatörlerin yemlerde kullanılması, AF molekülünün katabolizasyonuna, parçalanmasına veya toksik olmayan metabolitlere dönüştürülmesine yol açabilir. Benzer şekilde bentonit, hidratlı sodyum

kalsiyum alüminosilikat (HSCAS), zeolit ve aktif kömür de dahil olmak üzere çeşitli kil materyalleri, kontamine yemlerde AF'yi azaltmak için önemi gösterilmiştir. Ancak bu zamana kadar AF kontaminasyonunu azaltmak için en çok çalışılan yöntemler, esas olarak bakteri ve maya gibi biyolojik adsorbanların kullanımına dayanmaktadır (Giovari ve ark., 2015).

Sonuç olarak süt ve ürünlerinde AFM1'in bulunma oranının yüksek olduğu ve halk sağlığını tehdit edebilecek düzeylerde bulunabileceği bilinmektedir. İnsan ve hayvanlarda verim kayıpları yanında çeşitli virüs ve kanserlerle ilişkilendirilen AFB1 ve AFM1'in önemi ve eliminasyon yöntemleri gün geçtikçe ilerleme kaydetmektedir. Geliştirilen analiz ve eliminasyon yöntemleriyle, yem ve ham maddelerinde AFB1 ile süt ve ürünlerinde AFM1'in korunma ve kontrolüne titizlikle uyulmaya devam edilmelidir. Bu nedenle, ülkemizde yem, çeşitli gıdalar, süt ve süt ürünleri konusunda faaliyet gösteren kişi ve kuruluşların, üretici ve tüketicilerin, çeşitli etkinliklerle bilgilendirerek bilinçlendirilmelerinin sağlanmasında yarar vardır.

## KAYNAKLAR

- Ajani, J., Chakravarthy, DVS., Tanuja, P., & Vali Pasha, K. (2014). Aflatoxins. *Indian J Adv Chem Sci*, 3, 49-60.
- Akdemir, Ç., & Altıntaş, A. (2004) Ankara'da işlenen sütlerde aflatoksin-M1 varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 51, 175-179.
- Anfossi, L., Baggiani, C., Giovannoli, C., Biagioli, F., D'Arco, G., & Giraudi, G. (2013). Optimization of a lateral flow immunoassay for the ultrasensitive detection of aflatoxin M1 in milk. *Anal Chim Acta*, 772, 75-80.
- Assaf, JC., Atoui, A., El Khoury, A., Chokr, A., & Louka, NA. (2017). Comparative study of procedures for binding of aflatoxin M1 to *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Brazilian J Microbiol*, 49, 120-127.
- Assaf, JC., El Khoury, A., Atoui, A., Louka, N., & Chokr, A. (2018). A novel technique for aflatoxin M1 detoxification using chitin or treated shrimp shells: In vitro effect of physical and kinetic parameters on the binding stability. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102, 6687-6697.
- Assaf, JC., EL Khoury, A., Chokr, A., Louka, N., & Atoui, A. (2019b). A novel method for elimination of aflatoxin M1 in milk using *Lactobacillus rhamnosus* GG biofilm. *Dairy Technol*, 70, 1-9.
- Assaf, JC., Nahle, S., Chokr, A., Louka, N., Atoui, A., & Khoury, A. (2019a). Assorted methods for decontamination of aflatoxin M1 in milk using microbial adsorbents. *Review Toxins (Basel)*, May 29, 11 (6), 304.
- Atasever, MA., Adıgüzel, G., Atasever, M., Özlü, H., & Özturan, K. (2010a). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 119-122.
- Atasever, MA., Adıgüzel, G., Atasever, M., & Özturan, K. (2010b). Determination of Aflatoxin M1 Levels in Some Cheese Types Consumed in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (Suppl-A): S87-S91, 2010. DOI:10.9775/kvfd.2009.1639.
- Atasever, MA., Atasever, M., & Özturan, K. (2011). Aflatoxin M1 levels in retail yoghurt and ayran in Erzurum in Turkey Atatürk University. *Turk J Vet. Anim Sci*, 35 (1), 59-62.
- Bovo, F., Ganey, KC., Mousavi, A., Portela, B., Cruz, AG., Granato, D., Corassin, CH., Augusto, C., Oliveira, F., & Sant, AS. (2016). The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M1: A review. *Food Control*, 68, 310-329.
- Chen, G., Gong, YY., Martin, E., Kimanya, ME., Shirima, CP., & Routledge, MN. (2018). Comparison of urinary aflatoxin M1 and aflatoxin albumin adducts as biomarkers for assessing aflatoxin exposure in Tanzanian children. *Comparative Study Journal Biomarkers Mar*, 23 (2), 131-136.
- Chu, YJ., Yang, HL., Wu, HC., Liu, J., Wang, LY., Lu, SN., Lee, MH., Jen, CL., You, SL., Santella, RM., & Chien-Jen, C. (2017). Aflatoxin B1 exposure increases the risk of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus carriers. *Int J Cancer*, 141, 711-720.
- Danesh, NM., Bostan, HB., Abnous, K., Ramezani, M., Youssefi, K., Taghdisi, SM., & Karimi, G. (2018). Ultrasensitive detection of aflatoxin B1 and its major metabolite aflatoxin M1 using aptasensors: a review. *Trends Anal Chem*, 99, 117-128. doi: 10.1016/j.trac.2017.12.009.
- Deng, H., Su, X., & Wang, H. (2017). Simultaneous determination of aflatoxin B1, bisphenol A, and 4-nonylphenol in peanut oils by liquid-liquid extraction combined with solid-phase extraction and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Anal Method*, 11, 1303-1311.
- Donnelly, PJ., Stewart, RK., Ali, SL., Conlan, AA., Reid, KR., Petsikas, D., & Massey, TE. (1996). Biotransformation of aflatoxin B1 in human lung. *Carcinogenesis*, 17, 2487-2494.
- Erkan, S., Demir, P., & Öksüztepe, G. (2018). Elazığ'da satışa sunulan Şavak Tulum peynirlerinin Aflatoksin M1 (AFM1) ve bazı kimyasal

- parametreler bakımından incelenmesi. FÜ Sağ Bil Vet Derg, 32 (1), 45-51.
- Erol, İ. (2007). Gıda hijyeni ve mikrobiyolojisi. Ankara, Turkey: Pozitif Matbaacılık.
- EC (2006). European Commission, Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006. Off. J. Eur. Union, 364, 5.
- Fallah, AA. (2010). Assessment of aflatoxin M1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. Food Chem Toxicol, 48, 988-991.
- Fedele, BI., Chawanthayatham, S., Croy, RG., Wogan, GN., & Essigmann, JM. (2017). Early detection of the aflatoxin B1 mutational fingerprint: A diagnostic tool for liver cancer. Mol Cell Oncol, 4, e1329693:1-e1329693:3.
- Gao, YN., Wang, JQ., Li, SL., Zhang, YD., & Zheng, N. (2016). Aflatoxin M1 cytotoxicity against human intestinal Caco-2 cells is enhanced in the presence of other mycotoxins. Food Chem Toxicol, 96, 79-89.
- Giovati, L., Magliani, W., Ciociola, T., Santinoli, C., Conti, S., & Polonelli, L. (2015). AFM1 in milk: physical, biological, and prophylactic methods to mitigate contamination. Toxins (Basel), 7, 4330-4349.
- Harrison, JC., Carvajal, M., & Garner, RC. (1993). Does aflatoxin exposure in the United Kingdom constitute a cancer risk? Environ Health Perspect, 99, 99-105.
- He, XY., Tang, L., Wang, SL., Cai, QS., Wang, JS., & Hong, JY. (2006). Efficient activation of aflatoxin B1 by cytochrome P450 2A13, an enzyme predominantly expressed in human respiratory tract. Int J Cancer, 118, 2665-2671.
- Hu, LM., Luo, K., Xia, J., Xu, GM., Wu, CH., Han, JJ, Zhang, GG., Liu, M., & Lai, WH. (2017). Advantages of time-resolved fluorescent nanobeads compared with fluorescent submicrospheres, quantum dots, and colloidal gold as label in lateral flow assays for detection of ractopamine. Biosens Bioelectron, 91, 95-103.
- Hussein, HS., & Brasel, JM. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167, 101-134.
- Ismail, A., Akhtar, S., Levin, RE., Ismail, T., Riaz, M., & Amir, M. (2015). Aflatoxin M1: Prevalence and decontamination strategies in milk and milk products. Crit Rev Microbiol, 42, 418-427.
- Ismail, A., Akhtar, S., Levin, RE., Ismail, T., Riaz, M., & Amir, M. (2016). Aflatoxin M1: Prevalence and decontamination strategies in milk and milk products. Crit Rev Microbiol, 42, 418-427.
- İşleyici, Ö., Morul, F., & Sancak, YC. (2012). Van'da tüketime sunulan UHT sterilize inek sütlerinde aflatoxin M1 düzeyinin araştırılması. YYU Vet Fak Derg, 23 (2), 65-69.
- Jafari, T., Fallah, AA., Kheiri, S., Fadaei, A., & Amini, SA. (2017). Aflatoxin M1 in human breast milk in Shahrekord, Iran and association with dietary factors. Food Addit. Contam Part B, 10, 128-136.
- Joubert, BR., Mantooth, SN., & McAllister, KA. (2020). Environmental Health Research in Africa: Important Progress and Promising Opportunities. Review Front Genet, Jan 16, 10, 1166.
- Kamkar, A., Jahed Khaniki, GHR., & Alavi, SA. (2011). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Ardebil of Iran. Iran. J Environ Health Sci Eng, 8 (2), 123-128.
- Kanapitsas, A., Batrinou, A., Aravantinos, A., & Markaki, P. (2015). Effect of  $\gamma$ -radiation on the production of aflatoxin B1 by *Aspergillus parasiticus* in raisins (*Vitis vinifera* L.). Radiat Phys Chem, 106, 327-332.
- Karlovsky, P., Suman, M., Berthiller, F., de Meester, J., Eisenbrand, G., Perrin, I., Oswald, IP., Speijers, G., Chiodini, A., Recker, T., & Dussort, P. (2016). Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. Mycotoxin Res, 32, 179-205.
- Kaya, S, & Şanlı, Y. (2002). Medikal Veterinerlik Hizmetleri Hayvansal Ürünler Ticaret ve Paz. Ltd. Şti. Yayını; ISBN 975-6676-08-6.
- Kaya, S. (1989). Yem ve besinlerdeki mikotoksinler: İnsan ve hayvan sağlığı için önemleri. Ankara Univ Vet Fak Derg, 36 (1), 226-253.
- Kızıl, M., Demir, P., Erkan, S., & Öksüztepe, Ö. (2017). Elazığ ilinde satılan çiğ süt ve UHT sütlerde Aflatoxin M1 düzeyi. Dicle Üniv Vet Fak Derg 10 (2), 115-121.
- Kong, WJ., Li, JY., Qiu, F., Wei, JH., Xiao, XH., Zheng, YG., & Yang, MH. (2013). Development of a sensitive and reliable high-performance liquid chromatography method with fluorescence detection for high-throughput analysis of multi-class mycotoxins in coix seed. Anal Chim Acta, 799, 68-76.
- Kucukcakan, B., & Hayrulai-Musliu, Z. (2015). Challenging role of dietary aflatoxin B1 exposure and hepatitis B infection on risk of hepatocellular carcinoma. Open Access Maced J Med Sci, 3, 363-369.
- Kumar, P., Mahato, DK., Kamle, M., & Mohanta, TK. (2017). Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. Front Microbiol, 7, 1-10.
- Li, H., Wang, D., Tang, X., Zhang, W., Zhang, Q., & Li, P. (2020). Time-resolved fluorescence immunochromatography assay (TRFICA) for Aflatoxin: aiming at increasing strip method sensitivity. Front Microbiol, 6 (11), 676.
- Li, H., Xing, L., Zhang, M., Wang, J., & Zheng, N. (2018). The toxic effects of aflatoxin B1 and aflatoxin M1 on kidney through regulating l-proline and downstream apoptosis. Biomed Res Int, 1-11.
- Liu, Y, & Wu, F. (2010). Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A risk assessment. Environ Health Perspect, 118, 818-824.
- Lopez, CE., Ramos, LL., Ramadan, SS., & Bulacio, LC. (2003). Ribesence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. Food Control, 14, 31-34.
- Lu, PX., Wang, JB., Zhang, QN., Wu, Y., Sun, Y., & Chen, TY. (2010). Longitudinal study of aflatoxin exposure in the development of primary liver

- cancer in patients with chronic hepatitis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 90, 1665-1669.
- Mahmood Fashandi, H., Abbasi, R., & Mousavi Khaneghah, A. (2018). The detoxification of aflatoxin M1 by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.*: A review. *Food Process Preserv*, 42, 1-10.
- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, A., Costantini, S., & Severino, L. (2018a). Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Review Toxins*, (Basel) May 24, 10 (6), 214.
- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, S., Costantini, S., & Severino, L. (2018b). Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Toxins*, (Basel) 10, 1-19.
- Markov, K., Mihaljević, B., Domijan, AM., Pleadin, J., Delaš, F., & Frece, J. (2015). Inactivation of aflatoxigenic fungi and the reduction of aflatoxin B1 invitro and in situ using gamma irradiation. *Food Control*, 54, 79-85.
- Mohammed, S., Munissi, JE., Nyandoro, S. (2016). Aflatoxin M1 in raw milk and aflatoxin B1 in feed from household cows in Singida, Tanzania. *Food Addit Contam*, 9, 85-90.
- Mokhles, M., Abd El Wahhab, MA., Tawfik, M., Ezzat, W., Gamil, K., & Ibrahim, M. (2007). Detection of aflatoxin among hepatocellular carcinoma patients in Egypt. *Pak J Biol Sci*, 10, 1422-1429.
- Motawee, M. (2013). Reduction of Aflatoxin M1 Content during Manufacture and Storage of Egyptian Domaiti Cheese. *Vet Med*, 11.
- Nugraha, A., Khotimah, K., & Rietjens, IMCM. (2018). Risk assessment of aflatoxin B1 exposure from maize and peanut consumption in Indonesia using the margin of exposure and liver cancer risk estimation approaches. *Food Chem Toxicol*, 113, 134-144.
- Özkaya, Ş., Başaran, A., Kaymak, T., Çoksöyler, N., Kesici, S., Balıkcı, T., Özkan, R., & Alma, A. (2002). Gıda ve yemlerde mikotoksin düzeylerinin tespiti. Bölüm 2: Türkiye’de üretilen süt ve peynirlerde aflatoksin M1 aranması. Gıdalarda katkı, kalıntı ve bulaşanların izlenmesi II. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı, Koruma-Kontrol Genel Müdürlüğü Tebliği, Bursa.
- Palou, L., Crisosto, CH., Smilanick, JL., Adaskaveg, JE., & Zoffoli, JP. (2002). Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biol Technol*, 24, 39-48.
- Polat, F. (2013). Hatay ili süt ineği işletmelerinde kullanılan yemlerin aflatoksin düzeylerinin belirlenmesi ve bu yemlerin kan parametreleri ile sütteki aflatoksin düzeyleri üzerine etkisi. Hatay, Turkey, Thesis of PhD, AU, diss.
- Prüss-Ustün, A., Wolf, J., Corvalán, CF., Neville, T., Bos, R., & Neira, M. (2016). Diseases due to unhealthy environments: an updated estimate of the global burden of disease attributable to environmental determinants of health. *J Public Health*, 39 (3), 464-475.
- Radonić, JR., Tanackov, SDK., Mihajlović, IJ., Zorica, S., Miloradov, MBV., Škrinjar, MM., & Turk, MM. (2016). Occurrence of aflatoxin M1 in human milk samples in Vojvodina, Serbia: Estimation of average daily intake by babies. *J. Environ. Sci. Health Part B*, 52, 59-63.
- Rapisarda, V., Loreto, C., Malaguarnera, M., Arditi, A., Proiti, M., Rigano, G., Frazzetto, E., Ruggeri, MI., Malaguarnera, G., Bertino, N., Malaguarnera, M., Catania, VE., di Carlo, I., Toro, A., Bertino, E., Mangano, D., & Bertino, G. (2016). Hepatocellular carcinoma and the risk of occupational exposure. *World J Hepatol*, 8, 573-590.
- Rastogi, S., Dwivedi, PD., Khanna, SK., & Das, M. (2004). Detection of aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control*, 15, 287-290.
- Saad-Hussein, A., Beshir, S., Moubarz, G., Elserougy, S., & Ibrahim, MI. (2013). Effect of occupational exposure to aflatoxins on some liver tumor markers in textile workers. *Am J Ind Med*, 56, 818-824.
- Saltzman, J., Xu, Y., Gong, YY., Lindahl, J., Kersten, S., Dänicke, S., & Routledge, MN. (2020). Preliminary Study on the Relationship Between Aflatoxin-Bovine Serum Albumin Adducts in Blood and Aflatoxin M1 Levels in Milk of Dairy Cows. *Mycotoxin Res*, May, 36 (2), 207-211.
- Scholl, PF., & Groopman, JD. (2008). Long-term stability of human aflatoxin B1 albumin adducts assessed by isotope dilution mass spectrometry and high performance liquid chromatography-fluorescence. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, 17, 1436-1439.
- Shejoooni-Fumani, N., Hassan, J., & Yousefi, SR. (2011). Determination of aflatoxin B1 in cereals by homogeneous liquid-liquid extraction coupled to high performance liquid chromatography-fluorescence detection. *J Sep Sci*, 34, 1333-1337.
- Shi, J., He, J., Lin, J., Sun, X., Sun, F., Ou, C., & Jiang, C. (2016). Distinct response of the hepatic transcriptome to aflatoxin B1 induced hepatocellular carcinogenesis and resistance in rats. *Sci Rep*, 6, 31898:1-31898:9.
- Sulaiman, SH., Jamaluddin, R., & Sabran, MR. (2018). Association Between Urinary Aflatoxin (AFM1) and Dietary Intake Among Adults in Hulu Langat District, Selangor, Malaysia. *Nutrients*, Apr 7, 10 (4), 460.
- Sun, Y., Zixuan Liu, Z., Dandan Liu, D., Jin Chen, J., Fang Gan, F., Huang, K. (2018). Low-level aflatoxin B1 promotes influenza infection and modulates a switch in macrophage polarization from M1 to M2. *Cell Physiol Biochem*, 49 (3), 1110-1126.
- Sun, Z., Lu, P., Gail, MH., Pee, D., Zhang, Q., Ming, L., Wang, J., Wu, Y., Liu, G., Wu, Y., & Zhu, Y. (1999). Increased risk of hepatocellular carcinoma in male hepatitis B surface antigen carriers with chronic hepatitis who have detectable urinary aflatoxin metabolite M1. *Hepatology*, 30, 379-383.
- Sweeney, MJ., & Dobson, DW. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and

- Penicillium sp.* International Journal of Food Microbiology, 43, 141-158.
- Şanlı, Y. (1995). Veteriner Klinik Toksikoloji. Bölüm 2/Özel Toksikoloji, Mikotoksinler, 14, 283-328.
- Tsai, FJ., Chen, SY., Liu, YC., Liao, HY., & Chen, CJ. (2017). The comparison of CHCA solvent compositions for improving LC-MALDI performance and its application to study the impact of aflatoxin B1 on the liver proteome of diabetes mellitus type 1 mice. PLoS ONE, 12, e0181423:1-e0181423:16.
- TGK (2011). Türk Gıda Kodeksi, Bulaşanlar Yönetmeliği. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete (3. Mükerrer).
- Udomkun, P., Nimo, A., Nagle, M., Müller, J., Vanlauwe, B., & Bandyopadhyay, R. (2017). Innovative technologies to manage aflatoxins in foods and feeds and the profitability of application-A review. Food Control, 76, 127-138.
- Van der Fels-Klerx, HJ., Vermeulen, LC., Gavai, AK., & Liu, C. (2019). Climate change impacts on aflatoxin B1 in maize and aflatoxin M1 in milk: A case study of maize grown in Eastern Europe and imported to the Netherlands. PLoS One, Jun 27, 14 (6), e0218956.
- Van Vleet, TR., Watterson, TL., Klein, PJ., & Jr Coulombe, RA. (2006). Aflatoxin B1 alters the expression of p53 in cytochrome P450-expressing human lung cells. Toxicol Sci, 89, 399-407.
- Veldman, A., Meijs, J., Borggreve, G., & Heeres-van der Tol, J. (1992). Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. Anim Sci, 55, 163-168.
- Verma, RJ. (2004). Aflatoxin cause DNA damage. Int J Hum Genet, 4 (4), 231-236.
- Villers, P. (2014). Aflatoxins and safe storage. Front Microbiol, 5, 1-6.
- Wang, D., Zhang, ZW., Li, PW., Zhang, Q., & Zhang, W. (2016). Time resolved fluorescent immuno chromatography of aflatoxin B1 in soybean sauce: A rapid and sensitive quantitative Analysis. Sensors, 1094-1102.
- Weidenbörner, M. (2001). Encyclopedia of food mycotoxins. Springer-Verlog, Berlin.
- Williams, JH., Phillips, TD., Jolly, PE., Stiles, JK., Jolly, CM., & Aggarwal, D. (2018). Human aflatoxicosis in developing countries: A review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. Am J Clin Nutr, 80, 1106-1122.
- Yu, MW., Lien, JP., Chiu, YH., Santella, RM., Liaw, YF., & Chen, CJ. (1997). Effect of aflatoxin metabolism and DNA adduct formation on hepatocellular carcinoma among chronic hepatitis B carriers in Taiwan. J Hepatol, 27, 320-330.
- Zhang, J., Zheng, N., Liu, J., Li, FD., Li, SL., & Wang, JQ. (2015). Aflatoxin B1 and aflatoxin M1 induced cytotoxicity and DNA damage in differentiated and undifferentiated Caco-2 cells. Food Chem Toxicol, 83, 54-60.
- Zhao, M., Wang, P., Guo, Y., Wang, L., Luo, F., Qiu, B., Guo, L., Su, X., Lin, Z., & Chen, G. (2018). Detection of aflatoxin B1 in food samples based on target-responsive aptamer-crosslinked hydrogel using a hand held pH meter as readout. Talanta, 176, 34-39.





Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni  
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association  
e-ISSN: 2667-8381, 12 (2): 118-140, 2021  
DOI: 10.38137/vftd.962340

## BAZI HASTALIKLARIN TEDAVİSİNİN DESTEKLENMESİNDE PROPOLİS KULLANIMININ ÖNEMİ

İrem UĞUR<sup>1a</sup>, Seran TEMELLİ<sup>2b</sup>, Ayşegül EYİĞÖR<sup>2c</sup>

<sup>1</sup> Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Görükle Kampüsü, 16059, Nilüfer, Bursa, Türkiye

<sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Görükle Kampüsü, 16059, Nilüfer, Bursa, Türkiye

ORCID<sup>a</sup>: 0000-0003-3719-4497, ORCID<sup>b</sup>: 0000-0002-8869-4929, ORCID<sup>c</sup>: 0000-0002-2707-3117

\*Sorumlu Yazar: Seran TEMELLİ  
E-Posta: seran@uludag.edu.tr

Geliş Tarihi: 06.07.2021  
Kabul Tarihi: 03.09.2021

### ÖZET

Son yıllarda geleneksel ve tamamlayıcı tıp, apiterapi ve organik ürünlere olan ilgi ve talebin artması ile fonksiyonel bir gıda ürünü olan propolis, alternatif olarak ön plana çıkmış ve bu konuda yapılan araştırmalar artmıştır. Çalışmalarda, propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antikanser, antitümör, lokal anestezi, antiinflamatuar ve antioksidan özellikleri ile kalp ve diyabet gibi kronik hastalıklar, kanser, ağız ve diş hastalıkları, viral hastalıklar, gastrointestinal, nörolojik ve deri hastalıklarında olumlu yönde etkisinin bulunduğu bildirilmiştir. Propolis standardizasyonu ile ilgili çalışmalar ülkemizde yürütülmekte olup diğer ülkelerde de mevcut çalışmalar içerisinde eksiklikler olmakta ve henüz genel kabul görmüş bir standardizasyon bulunmamaktadır. Bu nedenle, propolis fonksiyonel özellikleri üzerinde değişen etkiler oluşturması önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca, doz-yanıt ve yapı-işlev mekanizmasının daha iyi anlaşılmasını sağlayabilecek nitelikte yeni araştırmalara gereksinim duyulmaktadır. Bu derlemede, propolis bazı hastalıkların tedavisine destek olabilecek ortaya konulmuş faydalı etkilerinin güncel olarak belirlenmesi ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kanser, kronik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, propolis, viral hastalıklar.

## IMPORTANCE OF PROPOLIS UTILIZATION TO COMPLEMENT TREATMENT OF CERTAIN DISEASES

### ABSTRACT

In recent years, with increasing interest and demand for traditional and complementary medicine, apitherapy and organic products, propolis, a functional food product, has been on the spotlight as an alternative, with increasing research on this field. Studies have reported that propolis, with its various antibacterial, antifungal, antiviral, anticancer, antitumor, local anesthetic, antiinflammatory and antioxidant properties, has proven to have beneficial effects on chronic diseases related to heart and diabetes, cancer, oral and dental infections, viral infections, gastrointestinal, neurological, and skin diseases. There are ongoing studies in our country on the standardization of propolis, as well as lack of data in current studies from other countries, thus there appears to be no standardization yet with an overall acceptance. Therefore, changes in the functional properties of propolis, leading to varying effects, happens to be a significant problem. Further studies are required to better understand its dose-response and structure-function mechanisms. This review aims to determine and evaluate the current proven beneficial effects of propolis to complement treatment of certain diseases.

**Keywords:** Cancer, chronic diseases, neurological diseases, propolis, viral diseases.



## GİRİŞ

Yunanca bir kelime olan propolis; “pro” (ön, savunma) ve “polis” (şehir) kelimelerinin birleşmesi ile meydana gelmiştir. Bal arılarının (*Apis mellifera*) doğada çeşitli bitkilerin tomurcuk, yaprak ve gövdelerinden topladığı reçinemi maddeleri ve bitki salgılarını kendi enzimleri ve balbunu ile birleştirerek oluşturduğu bir arı ürünüdür. Rengi kirli sarıdan yeşil ve koyu kahverengiye, açık kırmızıdan koyu kırmızı ve hatta açık siyaha kadar değişen renklerde olup oda sıcaklığında yarı katı halde bulunur. Arılar, oluşturdukları propolisi kovadaki çatlak ya da yarıkların kapatılması ve kovanın dezenfekte edilmesinde kullanmaktadır (Heşşen ve ark., 1996; Simone-Finstrom ve Spivak, 2010).

Propolis genel olarak %45-50 reçine, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik maddelerden (B1, B2, C ve E vitaminleri, Cu, Ca, Al, V, Sr gibi elementler ve çeşitli mineraller) oluşmaktadır. Propolisin kimyasal yapısında, 300’den fazla aktif bileşik bulunmakta olup bu bileşiklerin başlıcaları; fenolik bileşikler (flavonoidler ve fenolik asitler), benzoik asit ve türevleri, sinamik alkol, sinamik asit ve türevleri, monoterenler, diterpenler, triterpenler, sesquiterpenler ve bunların alkol ve benzaldehit türevleri, diğer fenolik asit ve türevleri, alkoller, ketonlar, heteroaromatik bileşikler, alifatik hidrokarbonlar, mineraller, steroid hidrokarbonlar ve aminoasitlerdir (Vit ve ark., 1994; Marcucci ve ark., 2001; Bankova ve ark., 2002; Kasiotis ve ark., 2017).

Propolis Çin başta olmak üzere Brezilya, Arjantin, Uruguay, Şili, Kanada ve Doğu Avrupa ülkelerinde oldukça yaygın bir şekilde üretilmekte olup, bileşimi toplandığı bitkilerin tür ve çeşitlerine, kaynağı olan bölgenin bitki örtüsü, mevsim ve iklim koşullarına, arı ırkına ve ekstrakte edildiği çözücüye

göre farklılıklar göstermektedir (Bankova, 2005; Karlıdağ ve Ferat, 2007; Bonamigo ve ark., 2017; Keskin, 2018; Bakkaloğlu ve Arıcı, 2019).

Yapılan çalışmalarda; propolisin antibakteriyel, antimikrobiyal antifungal, antiviral, antiinflamatuar, antitümoral ve antioksidan aktivite gibi çeşitli biyolojik özellikleri (Kujumgiev ve ark., 1999; Simone-Finstrom ve ark., 2017; Tlak ve ark., 2017) sayesinde, bazı hastalıkların tedavisi ya da önlenmesi yönünde olumlu katkılar sağlayan bir alternatif olarak ön plana çıktığı görülmektedir (Freires ve ark., 2016; Franchin ve ark., 2018; Pahlavani ve ark., 2020; Rivera ve ark., 2021).

Bu derlemede, güncel literatürler incelenerek propolisin tip 2 diyabet, kardiyovasküler, astım gibi kronik hastalıklar, kanser, ağız ve diş hastalıkları, gastrointestinal sistem hastalıkları, viral, nörolojik ve deri hastalıklarının tedavi ve önlenmesindeki kullanımı ile ilgili detaylı bilgi verilmiştir.

## Tip 2 Diyabet Üzerine Etkisi

Tip 2 diyabet, insülin direnci ve sekresyon bozukluğunun ön planda olduğu önemli bir halk sağlığı hastalığı olup, Dünya genelindeki artışa paralel olarak ülkemizde de görülme sıklığı ve hasta sayısı hızla artmakta, hem doğrudan hem de dolaylı etkileri ile sağlık sistemlerini ve toplumsal yaşamı tehdit etmektedir (Coşansu, 2015). Tip 2 diyabet tedavisinde, yaşam tarzı modifikasyonu (diyet değişiklikleri ve fiziksel egzersiz) ve ilaç tedavisi etkili olsa da, alternatif bitki ve diğer gıda desteklerine duyulan ilginin arttığı bilinmektedir (Lin ve ark., 2016). Çeşitli çalışmalar, oksidatif stresin tip 2 diyabet ve insülin direnci patogeneğinde önemli bir rol oynadığını, bazı doğal ürünlerdeki polifenollerin tip 2 diyabetli hasta birey ve hayvanlarda oksidatif stresi önemli ölçüde azaltmaya yardımcı olabileceğini ortaya

koymaktadır (Rani ve Mythili, 2014; Dragan ve ark., 2015; Lin ve ark., 2016; Román-Pintos ve ark., 2016; Patche ve ark., 2017). Benzer şekilde, bu tip hastalarda propolis kullanımının, içeriğindeki zengin polifenol (flavonoidler, fenolik asit ve esterleri gibi) kaynaklarına bağlı olarak güçlü antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmektedir (Wang ve ark., 2013; Salas ve ark., 2016).

Tip 2 diyabetli hastalarda, Çin propolisinin glikoz metabolizması, antioksidan işlevi ve inflamatuvar sitokinler üzerindeki etkilerini değerlendiren 18 haftalık çalışmanın sonucunda, 900 mg propolis takviyesi alan grupta, serum glutatyon (GSH), flavonoidler, polifenoller ve interlökin (IL)-6 seviyelerinin önemli ölçüde arttığı, serum laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin ise önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada, kan şekeri, glikolize edilmiş hemoglobin (HbA1c), insülin, aldoz redüktaz ve adiponektin değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı da bildirilmiştir (Gao ve ark., 2018). Zhao ve ark. (2016), Brezilya yeşil propolis takviyesi alan deney grubu ve almayan kontrol grubu arasında kan şekeri, HbA1c, insülin, aldoz redüktaz veya adiponektin miktarları açısından anlamlı bir fark bulunmadığını, bununla birlikte propolis grubunda serum GSH ve toplam polifenollerin önemli ölçüde arttığını ve serum karboniller, LDH aktivitesi ve serum tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) düzeyinin de önemli ölçüde azaldığını tespit etmiştir. Tip 2 diyabetin patofizyolojisi ve tedavisinde önemli bir belirteç ve L-laktat metabolizmasında, hücre hasarı ve inflamasyonda rol oynayan bir enzim olan LDH aktivitesinin (Adeva ve ark., 2013) bu çalışmalarda ortak bir bulgu olarak azalmasının, propolis kullanımı ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Zhao ve ark., 2016; Gao ve ark., 2018).

Tip 2 diyabetli 62 hastada 2019 yılında 8 hafta boyunca yürütülen bir çalışmada, günde 3 kez 500 mg (toplam 1500 mg/gün) İran propolisi alınımının, kandaki toplam antioksidan kapasite düzeylerini gösteren glutatyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini önemli ölçüde artırdığı, açlık ve tokluk kan şekeri, insülin, insülin direnci, HbA1c seviyelerini ise önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Afsharpour ve ark., 2019). Benzer şekilde, 12 hafta boyunca günlük 900 mg İran propolisi takviyesinin, tip 2 diyabetli hastalarda kan şekeri ve bazı serum lipid düzeylerinde iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Samadi ve ark., 2017). Bir diğer çalışmada ise, kronik periodontitis (CP) ve tip 2 diyabetli hastalarda 6 ay boyunca 400 mg/gün propolis alınımının ortalama HbA1c ve açlık kan şekeri seviyelerini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (El Sharkawy ve ark., 2016).

Ülkemizde 2020 yılında Giresun Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada, etanol ile ekstrakte edilen Anadolu propolisinin, diyabetik sıçanlarda kan şekeri seviyelerini düşürerek potansiyel antidiyabetik aktivite oluşturduğu, pankreas, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiği, ayrıca propolis oranındaki artışa (%30'luk yüksek konsantrasyon) paralel olarak iyileşmenin de hızlandığı bildirilmiştir (El Adaouia Taleb ve ark., 2020). 2018 yılında Sains Üniversitesi'nde yapılan in vivo bir çalışmada, gebe diyabetlilerde tek başına Malezya propolisinin veya tek başına insülin kullanımının açlık kan şekerini düşürdüğü, fakat insülin ve propolisin kombine kullanımının istatistiksel olarak önemli düzeyde iyileşmeler meydana getirdiği rapor edilmiştir (Usman ve ark., 2018). Fukuda ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada ise, Brezilya yeşil

propolisi verilen hastaların insülin direnci düzeyi (HOMA-IR) seviyelerinde iyileşme sağlanmadığı ancak plasebo (kontrol) grubuna kıyasla serum ürik asit ve glomerüler filtrasyon hızı (eGFR) seviyelerinin kötüleşmesinin engellendiği tespit edilmiştir.

Zulhendri ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada da, propolis proinflatuvar sinyal kademelerini, ileri glikasyon son ürünlerinin (AGE'ler) ve reseptörlerinin (RAGE'ler) ekspresyonunu ve etkileşimini inhibe ederek, ayrıca hücre antioksidan sistemleri iyileştirerek metabolik sendrom ve ilişkili kronik hastalıkların önlenmesinde ve gelişiminin engellenmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir.

Bu sonuçlar, propolis kullanımının GSH, flavonoid ve polifenol seviyeleri gibi serum antioksidan parametrelerinde iyileşme oluşturarak ve insülin üretiminden sorumlu beta hücrelerindeki oksidatif hasarı önleyerek, glisemik durumda düzelme ve insülin direncinde azalma sağlamaya ve diyabet komplikasyonlarını önlemeye yardımcı olabileceğini göstermektedir. Ancak, propolis glikoz metabolizması üzerindeki iyileştirici rolünü doğrulamak için daha fazla araştırmaya (Örn; farklı türlerdeki bileşim farklılıkları, vücuda alınma şekli, günlük alınan miktar karşılaştırmaları gibi) ihtiyaç duyulmaktadır.

### **Diğer Kronik Hastalıklar Üzerine Etkisi**

Kronik hastalıklar, birçok faktöre bağlı olarak ortaya çıkan ve kişinin yaşamı boyunca devam eden sağlık sorunlarının başında gelmektedir (Çakmak ve Nural, 2017). 2017 yılında Şili'de yapılan çalışmada, propolis takviyesi alan grupta, oksidatif hasar belirleyicisi olan tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) seviyelerinin %67 azaldığı, serum GSH düzeylerinin %175 ve yüksek yoğunluklu

lipoprotein (HDL) seviyelerinin %22 arttığı fakat aynı zamanda, toplam kolesterol seviyelerinde de %17'lik bir artış olduğu görülmüştür (Mujica ve ark., 2017). 2019 yılında yapılan bir çalışmada ise, özellikle pinokembrinin olmak üzere propolisteki bazı fenolik bileşiklerin, serbest yağ asidi reseptörü 4'ün (FFA4) aktivasyonu yoluyla enerji homeostazının kontrolünü etkileyebileceği bildirilmiştir (Cho ve ark., 2019). Yuan ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada da Brezilya yeşil propolisi kullanımının, hücre döngüsünün düzenlenmesinde önemli bir hücre içi sinyal yolu olan PI3K/Akt/mTOR yolağı aracılı Nrf/HO-1 yolu ile oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiği ve okside düşük dansiteli lipoprotein (Ox-LDL) aracılı kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde uygulanabileceği rapor edilmiştir. Çin propolisinin hipertansif sıçanlarda reaktif oksijen türlerinin sentezinde azalma ile kalp kası fonksiyonları ve kan damarları üzerinde koruyucu etkileri olduğu görülmüştür (Zhou ve ark., 2020). Benzer şekilde Sun ve ark. (2016)'nın yaptığı çalışmada, propolisdeki flavonoidlerin, atriyal natriüretik faktör (ANF) ve  $\beta$ -miyozin ağır zinciri ( $\beta$ -MHC) üzerindeki etkileri ile farelerde kardiyak hipertrofiyi (PCH) ve kalp yetmezliğini hafifletebileceği bildirilmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda da, propolis platelet agregasyonunu aspirine benzer şekilde adenosin difosfat üzerinden inhibe ederek trombüs (pıhtı) oluşumunu engelleme yolu ile aterosklerotik ve trombotik kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde potansiyel yararlı etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Papapanagiotou ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2017; Bojić ve ark., 2018). Liu ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, propolis ve balda yüksek seviyelerde bulunan bir biyoflavonoid bileşiği olan kirisinin, antiplatelet aktivitesine sahip

olduğu, agregasyonda önemli rolü olan integrin  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  aracılı reseptörler üzerinde yalnızca "içten dışa" sinyal iletimini değil, aynı zamanda "dıştan içe" sinyal iletimini de baskıladığı görülmüştür.

Çin'de gerçekleştirilen bir çalışmada, kafeik asit fenetil ester (KAFE)'in hava yolu inflamasyonunu hafiflettiği ve astım hastalığının tedavisinde potansiyel bir ajan olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır (Ma ve ark., 2016). Farias ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, propolisin inflamatuvar hücrelerin alveolar boşluğa girişini ve alerjik inflamasyonun sistemik ilerlemesini engelleyerek astım patolojisini azalttığı rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada ise propolisin, orta derecede persistan astımın klinik ve fizyolojik bulgularını iyileştirdiği ve eozinofilik inflamasyonu baskılayabildiği görülmüştür (Mirsadraee ve ark., 2021). Başka bir çalışmada da propolisin, kronik obstrüktif akciğer hastalığının (KOA) temel belirtisi olan amfizemdeki akciğer hasarını alveolar boşlukların geri kazanılmasıyla onardığı ve akut akciğer iltihabını antioksidan ve antiinflamatuvar etki ile önlediği bildirilmiştir (Barroso ve ark., 2017).

Akut böbrek yetmezliği (ABY) hastalarında renal hasara en sık sebep olan durumlardan iskemi reperfüzyon (IR) üzerinde kırmızı propolisin etkisini araştıran bir çalışmada, propolisin oksidatif stress parametrelerini önemli ölçüde iyileştirdiği ve böbreği ABY'ne karşı koruduğu görülmüştür (da Costa ve ark., 2015). 2021 yılında yapılan benzer bir çalışmada da Brezilya yeşil propolisinin, sepsisi olan sıçanlarda akut böbrek hasarını ve akciğer hasarını azaltıp sağkalımı iyileştirdiği bildirilmiştir (Silveira ve ark., 2021).

Yapılan çalışmalarda, propolisin yüksek fenolik bileşik içeriği göz önüne alındığında,

özellikle oksidatif stres üzerindeki etkileri ile birçok kronik hastalığın prognozunu iyileştirebileceği ve hastalık riskini azaltmaya katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

### Kanser Üzerine Etkisi

Son yıllarda oldukça artan ve halk sağlığı için büyük tehlike oluşturan kanser hastalığının tedavi yöntemleri üzerinde yenilikçi tedaviler araştırılmakta olup bunlardan biri immunoterapidir. Kanser immunoterapisine yönelik çalışılmakta olan pek çok yeni stratejinin prensibi, konağın kendi immun yanıtının tümör hücrelerine karşı güçlendirilmesine dayanmaktadır (Onur ve ark., 2018). Yapılan bazı çalışmalar sonucunda propolisin, melanom (kötü huylu) hücrelerde apoptoz ve otofajiyi uyardığı bildirilmiştir (Choudhari ve ark., 2013; Novak ve ark., 2014). Budisan ve ark. (2019) tarafından yapılan in vitro bir çalışmada, KAFE ve kaemferolün, hücreleri moleküler düzeyde değiştirerek kolon kanserinin gelişimini ve ilerlemesini yavaşlattığı ve azalttığı saptanmıştır. 2020 yılında yapılan çalışmada ise, KAFE'in serum yumurtalık karsinom hücrelerine karşı sitotoksik ve proapoptotik aktivitesi ile antikanser özelliği gösterdiği belirlenmiştir (Klecza ve ark., 2020). Benzer başka bir çalışmada, KAFE ve kafeik asidin meme kanseri üzerinde güçlü kemopreventif etkilere sahip bileşikler olduğu tespit edilmiştir (Kabała-Dzik ve ark., 2017).

Hep-2 kanser hücresine karşı propolisin antitümör aktivitesinin incelendiği bir diğer çalışmada, kırmızı propolisin insan kanser hücrelerinde apoptotik etkileri teşvik ettiği ve kanser tedavisini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (da Silva Frozza ve ark., 2017). Vukovic ve ark. (2018), propolisten izole edilmiş flavonoidlerin insan kolon ve meme kanseri hücrelerine karşı sitotoksitelerini,

apoptoz indüksiyonu üzerindeki etkilerini ve antioksidatif aktivitelerini incelenmiştir. Çalışma sonucunda, 11 flavonoid içerisinde 6'sının sitotoksik etkilere neden olduğu, luteolin, galangin ve mirisetinin flavonoidlerinin test edilen kanser hücreleri üzerinde antioksidan etkiye sahip olup hücrelerde apoptozu ortaya çıkardığı, hücre hattında süperoksit anyon radikali ( $H_2O_2$ ) ve nitrit seviyelerini düşürdüğü saptanmıştır. Test edilmiş bu flavonoidlerin yeni antikanser ilaçların geliştirilmesinde kullanılabilir iyi adaylar olduğu rapor edilmiştir.

2016 yılında yapılan başka bir çalışmada, propolis bileşeni galangin ile *Berberis vulgaris* özütünün önemli bir bileşeni olan berberinin sinerjistik kombinasyonel tedavisinin, belirgin toksisite olmaksızın özofajial karsinom hücrelerinde tümör büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği ve artan hücre içi reaktif oksijen türleri ile G2/M fazında hücre büyümesi inhibisyonu, apoptoz ve hücre döngüsü durması gibi farklı moleküler mekanizmalar yoluyla güçlü antikanser aktiviteleri sergilediği görülmüştür (Ren ve ark., 2016). Benzer şekilde, Yeni Zelanda propolisi takviyesinin kalın bağırsak, kolon, yemek borusu ve mide kanser hücresi üzerinde hücre dizisi proliferasyonunu inhibe ettiği ve inhibisyon derecesinin maruz kalma süresinin uzamasıyla arttığı, güçlü antiinflamatuvar ve lipid antioksidan aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir (Catchpole ve ark., 2018).

Antikanser bir ilaç olan irinotecan (IRI) ve propolis ekstraktının sinerjistik etkisinin incelendiği bir çalışmanın sonucunda ise, propolis uygulamasının IRI etkinliğini artırdığı ve tümör gelişimini yavaşlattığı bildirilmiştir (Lisičić ve ark., 2014). Brihoum ve ark. (2018), insan akciğer adenokarsinom hücre hattında (A549) Cezayir propolisinin antiproliferatif ve kemopreventif

etkisini değerlendirmiştir. Benzopiren ile indüklenen akciğer kanserli ratlarda, 5 gün süreyle 25 mg/kg propolis tedavisinin, A549'un proliferasyonu üzerine inhibe edici bir etki göstererek hücrelerin fibrinojen tarafından yapışmasını bloke ettiğini saptamıştır. Ayrıca propolis grubunda benzopiren tarafından üretilen oksidatif stresin, lipid peroksidasyonu ve yan etkilerin azaldığını, antioksidan seviyelerinin arttığını rapor etmiştir.

Propolisin tedavinin yan etkisini azaltması ile ilgili yapılan çalışmalardan birinde, tüm dünyada kansere bağlı ölümlerin üçüncü nedeni olan hepatoselüler karsinom (HCC) ile indüklenmiş sıçanlarda, İran propolisinin doğrudan mitokondriyal hedefleme ve apoptoz indüksiyonu yoluyla HCC sıçan hepatositleri üzerinde umut verici bir seçici toksisite gösterip etkili bir anti-HCC ajanı olabileceği belirtilmiştir (Seydi ve ark., 2016). Ebeid ve ark. (2016) tarafından, radyoterapi alan meme kanseri hastalarında, propolis desteğinin koruyucu etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan bir diğer çalışmada, propolis ile desteklenen grupta radyasyona bağlı DNA hasarının önemli ölçüde azaldığı, hücre büyümesinde ve kanser hücrelerinin ilaç direncinde önemli bir rol oynayan redüktaz alt birimi M2 (RRM2) seviyesinin azalarak normal kontrol seviyesine geldiği tespit edilmiştir. 2019 yılında, çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için kullanılan kemoterapötik bir ajan olan sisplatin ile indüklenen sıçanlarda propolis kullanımının, böbrek doku hasarını doza bağlı olarak önlediği bildirilmiştir (Yuluğ ve ark., 2019).

Çalışmaların çoğunun, propolisin kanser tedavisine yardımcı ve yan etki azaltıcı rolü ile ilişkili olduğu görülmektedir. Fakat yakın zamanda Koo ve ark. (2019) tarafından yapılan bir araştırmada, günde 20'den fazla sigara içen kişiler üzerinde propolis takviyesinin tütün kanserojenleri

olan benzoapiren (BaP) ve nikotinin idrarla atılımını artırarak kanser veya tütün içimi ile ilişkili hastalık risklerini azaltabileceği ve kanserden korunmada da etkili olabileceği sonucunu göstermiştir.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, propolisin antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar, immünomodülatör, sitostatik, antineoplastik, antiproliferatif ve apoptotik etki göstermesi ile dikkat çeken ve kanser immunoterapisinde umut vadeden bir bileşen olduğu görülmektedir (Ishida ve ark., 2018; Aru ve ark., 2019; Botteon ve ark., 2021). Kanser hastalığında konvansiyonel tedavinin kaçınılmazlığı kabul edilirken, propolis gibi tamamlayıcı desteklerin kilit rolü göz ardı edilmemeli, ancak propolisin kanser metabolizmasının farklı hedeflerine etki eden çeşitli inhibitör mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için doz-yanıt ve yapı-işlev ilişkisi ile ilgili daha fazla araştırma gerçekleştirilmelidir.

### Ağız ve Diş Sağlığı Üzerine Etkisi

Ağız ve diş hastalıklarında antimikrobiyallerin sistemik ve lokal olarak uygulanması, yan etkileri ve çoklu ilaç direnci (ÇİD)'ne sahip mikroorganizmaların varlığı nedeni ile ilgili endişeleri beraberinde getirmektedir. Bu nedenle, yeni tedavilerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır (Canoğlu, 2009). 2018 yılında yayımlanan bir çalışmada, propolisten izole edilen artemisin C ve bakarin bileşikler, periodontal hastalıklar için temel bir patojen olan *Porphyromonas gingivalis*'e karşı membran kabarması ile bakteriyostatik aktivite gösterirken, ursolik asit bileşikler membran rüptürü ile bakterisidal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Yoshimasu ve ark., 2018).

Çoğunlukla insan ağız boşluğunda bulunan ve diş çürüğünün oluşumunda önemli bir etken olan

*Streptococcus mutans*'a karşı propolisin, bakterisidal ve antikaryojenik etkilerinin olduğunu rapor eden çalışmalar bulunmaktadır (Suleman ve ark., 2015; Cardoso ve ark., 2016; Veloz ve ark., 2016). Yapılan bir çalışma sonucunda, propolisin Gram pozitif bakterileri, Gram negatif bakterilere göre inhibe etmede daha etkili olduğu ve oral mikroorganizmalar üzerinde klorheksidin (CHX) kadar etkili olabileceği tespit edilmiştir (Akca ve ark., 2016). Benzer şekilde, Brezilya propolisinin kavite dezenfeksiyonunda %2 CHX ile eşit derecede etkili olduğu bildirilmiştir (Mohan ve ark., 2016). Martins ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, Brezilya kırmızı propolisi içeren gargaraların, *Streptococcus* spp.'ne karşı antibakteriyel ve antibiyofilm aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. 2018 yılında, tedaviye bağlı oral mukoziti olan kanser hastalarında propolis gargarasının mukoziti anlamlı derecede azalttığı ve hiçbir yan etki göstermediği saptanmıştır (Kuo ve ark., 2018). Bu çalışmalar, propolisin çeşitli yan etkileri bulunan CHX yerine doğal bir alternatif tedavi olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

2020 yılında yapılan in vitro bir çalışmada, %5 propolis ile zenginleştirilmiş ksilitol sakızlarının yumuşak ve demineralize dentin tabakasının remineralizasyonuna katkı sağladığı, mikro sertlikte belirgin bir iyileşme ve pürüzlülükte hafif bir azalma gösterdiği bildirilmiştir (Gargouri ve ark., 2020). Bueno-Silva ve ark. (2013)'nin yaptığı benzer bir çalışmada, kırmızı propolisin, diş demineralizasyonunun ve çürük lezyonlarının gelişimini azalttığı ve remineralizasyonu artırmada florür kadar etkili olduğu rapor edilmiştir. Otuz sağlıklı diş hekimliği öğrencisi ile yapılan çalışmada, propolis içeren bitkisel diş macunu, misvak ve ticari bir diş macunu ile karşılaştırılmış ve propolis içeren bitkisel diş macununun plak



birikimini azaltmada daha etkili ve güvenli olduğu belirlenmiştir (Bhat ve ark., 2015). Kouidhi ve ark. (2010)'nın yaptığı başka bir çalışmada, Tunus propolisinin, streptokoklar ve enterokoklar dahil olmak üzere 33 oral patojene karşı karyojenik ve oral biyofilm oluşumunu engelleme etkisinin yanında, incelenen tüm kanser hücre dizilerine karşı güçlü bir antiproliferatif etki gösterdiği saptanmıştır.

2021 yılında yapılan bir çalışmada, topikal propolis uygulamasının, diş eti oral mukozasındaki yüzeysel dermal yanıklar üzerindeki kimyasal hasarlı dokularda inflamatuvar yanıtları artıran ve yara iyileşmesini geciktiren başlıca faktörler olan proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ ) ekspresyonunu düzenleyerek hasarlı dokuların inflamatuvar tepkilerini hafiflettiği, epitel hücre büyümesini artırarak yaranın iyileşmesini hızlandırdığı, epitel hücrelerinin orta çaplı liflerini oluşturan bir protein olup yaralı gingival fibroblastlarda bulunan ve dokulardaki yara iyileşmesini sağlayan keratin 14 ve 5 ekspresyonunda artış sağladığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, propolisin antiinflamatuvar ve yara iyileştirici etkilere sahip olup beyazlatma sırasında oluşabilecek kimyasal yanıklar gibi hafif mukozit tedavisinde topikal uygulanmasının etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca genellikle tedaviye dirençli olan yaşlı bireylerde, stomatit tedavisinde de propolisin etkili olabileceğini düşündürmektedir (Frukawa ve ark., 2021). Propolisin, yara iyileşme sürecindeki etkisini destekleyen başka bir çalışmada ise propolis ve gümüş sülfadiazinin yara iyileşmesi üzerindeki terapötik etkileri karşılaştırılmış ve propolisin Tip I ve III kollajenler dahil olmak üzere hücre dışı matriks makromoleküllerinin ekspresyonunu daha fazla artırdığı belirlenmiştir (Olczyk ve ark., 2013). Yapılan çalışmalar, propolis bazlı preparatların antibakteriyel, antiviral,

antifungal, antiinflamatuvar, analjezik ve karyostatik etkisiyle diş hekimliğinin çeşitli uzmanlık alanlarında geniş bir uygulama alanına sahip olabileceğini göstermektedir.

### **Gastrointestinal Sistem Hastalıkları Üzerine Etkisi**

Dünya çapında yüksek insidans oranları ile gastrit, ülser, kolit ve mukozit gibi birçok hastalık gastrointestinal sistemi etkilemektedir. Tıbbi tedavi protokolleri uygulansa da, bitkisel takviyelerin rolü, yeni etkili ve güvenli stratejiler geliştirmek için araştırılmaktadır. Propolis de, gastrointestinal sistem hastalıklarında olumlu etkisi olduğu düşünülen takviyelerden biridir (Silva ve ark., 2018).

2018 yılında yapılan bir çalışmada, Brezilya yeşil propolisinden izole edilmiş artepillin C, bakarin, drupanin, aromadendrin, kaempferid bileşiklerinin, intraperitoneal yolla etanol/HCl ile indüklenen ülseri ve oral yolla indometasin kaynaklı ülseri önlediği, gastro protektif etki gösterdiği, SOD, katalaz ve glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitelerini normalleştirdiği, miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesini, mide suyu hacmini, toplam asitliği ve pepsin aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca aromadendrin ve kaempferid bileşiklerinin gastrik müsin içeriğini artırdığı ve TNF miktarını azalttığı bildirilmiştir (Costa ve ark., 2018).

Capistrano ve ark. (2013) yaptığı bir çalışmada, *Candida* ile ilişkili protez stomatitin tedavisinde kullanılan mikonazol jeli ile Brezilya yeşil propolisinin benzer etkilere sahip olduğunu, *Candida* kolonilerinde önemli bir azalma ve protez stomatitinde önemli bir gerileme görüldüğünü rapor etmiştir.

Etiyolojisi tam olarak anlaşılamayan yaygın bir bağırsak iltihabı hastalığı olan ülseratif kolit

üzerinde Brezilya kırmızı propolisinin antiinflamatuar, antioksidan ve koruyucu etkilerini değerlendiren bir çalışmada, propolis ile tedavi edilen sıçanların kolon dokusunda MPO konsantrasyonlarında, doku hasarının brüt ve histolojik skorlarında ve indüklenbilir nitrik oksit sentazın (iNOS) ekspresyonunda önemli düşüşler tespit edilmiştir (Bezerra ve ark., 2017). 2018 yılında yapılan benzer bir çalışma ile, propolis bileşeni olan KAFE'in, ülseratif kolitte epitelyal bariyer işlevini güçlendirirken, inflamasyonla tetiklenen MPO aktivitesini ve proinflamatuar sitokin üretimini baskılamada etkili olduğu bildirilmiştir (Khan ve ark., 2018). Benzer şekilde, propolisin bağırsak mikrobiyotasının modülasyonunda ve bağırsak mukozal bariyer fonksiyonunun iyileştirilmesinde rol oynayabileceğini gösteren makaleler bulunmaktadır (Miryan ve ark., 2021; Soleimani ve ark., 2021). Dodda ve ark. (2014) yaptığı araştırmada, propolisin inflamatuvar bağırsak hastalıklarının semptomlarına karşı terapötik etkinliğini değerlendirmiş, kuersetin bileşiği verilen sıçanların kolonlarındaki biyokimyasal ve morfolojik değişikliklerin önemli ölçüde azaldığını saptamıştır. Propolis tedavisinin FcyRI aracılı bazofil aktivasyonu üzerindeki inhibitör etkisini araştıran in vivo bir çalışma sonucunda, tedavi edilen farelerin, bazofillerde IL-4, IL-6 ve IL-13 üretimini baskıladığı, IgE-CAI'yi inhibe ettiği, ovalbumin kaynaklı bağırsak anafilaksisini ve alerjik inflamasyonu baskıladığı rapor edilmiştir (Kashiwakura ve ark., 2020).

Rochetto ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, yüksek yağlı yemle beslenen farelerde disbiyozu önleyerek inflamatuvar yanıtı azalttığı, bağırsak mikrobiyotasına olumlu etkiler sağladığı ve metabolik parametreleri iyileştirdiği belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda, gastrit ve gastrik ülser, duodenal ülser, kanser, primer gastrik B-hücreli lenfoma gibi gastritle ilişkili hastalıkların en önemli nedeni olan *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)'yi propolisin etkili bir şekilde inhibe ettiği ve anti *H. pylori* aktivitesi gösterdiği görülmüştür. 2019 yılında yapılan bir çalışmada, propolisin 4 ana polifenol bileşeninin (kirisin, pinokembrin, galangin ve KAFE), hem tek tek hem de birlikte kullanımının *H. pylori* suşlarını inhibe ettiği, *H. pylori* tedavisinde kullanılan amoksisiline benzer bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Romero ve ark., 2019). Jadhav ve ark. (2013) yaptığı benzer bir çalışmada, kumarin türevleri bileşiklerin önemli ölçüde anti *H. pylori* aktivitesi ve *H. pylori* üreaz inhibe edici aktivite gösterdiği saptanmıştır. Benzer şekilde, 15 farklı etanolik propolis özütleri kullanılarak yapılan bir çalışmada da, tüm propolis özütlerinin yüksek *H. pylori* inhibisyonu ve *H. pylori* üreaz inhibe edici aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Baltas ve ark., 2016). 2015 yılında Şili'nin 9 arıcılık bölgesinden alınan 22 propolis ekstraktının mide mukozasından izole edilen 10 adet *H. pylori* izolatu üzerindeki inhibitör aktivitesini değerlendirmek amacı ile yapılan bir çalışmada, propolis ekstraktlarının etkili bir anti *H. pylori* aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir (Villanueva ve ark., 2015). 2018 yılında ülkemizin farklı illerinden temin edilen toplam 30 adet bal ve propolis örnekleri incelenmiş, propolis örneklerinin tümünde çok yüksek anti *H. pylori* ve antiüreaz aktivitesi olduğu, en yüksek etkinliğin ise Ereğli'den temin edilen örneklerde saptandığı bildirilmiştir (Tarakçı, 2018). Başka bir deneysel çalışma, propolisin antihistaminerjik, antiinflamatuar, anti *H. pylori* ve antiasit aktiviteleri ile mide ülseri tedavisinde kullanılabileceğini bildirmiştir (Paulino ve ark., 2015).

Dünyanın farklı bölgelerinden alınan propolisler kullanılarak yapılan çalışmalar, propolis ekstraktının, insan sağlığını iyileştirmek için başta *H. pylori* kaynaklı hastalıklar olmak üzere gastrointestinal sistem hastalıklarını önleme ve tedavide kullanılabilecek iyi bir inhibitör olduğunu desteklemektedir.

### Viral Hastalıklar ve Covid19 Üzerine Etkisi

Propolis özütlerinin, hücrelere virüs girişinin inhibisyonu ve viral replikasyon mekanizmasını bozması ile virüs paneline karşı güçlü ve geniş bir antiviral aktiviteye sahip olduğunu bildiren bir çok araştırma bulunmaktadır. 2020 yılında yapılan bir çalışmada, Brezilya propolisinden ekstrakte edilen kaemferol, p-kumarik asidin (p-CA) ve daha önce bilinen 8 propolis bileşiğinin, Dünya çapında soğuk algınlığı vakalarının yarıdan fazlasından sorumlu olduğu kabul edilen insan rinovirüslerinin (HRV'ler) üzerindeki etki mekanizmaları araştırılmıştır. kaemferol ve p-CA bileşiklerinin, virüs inokulasyonundan sonraki erken aşamalarda (0-4 saat) eklendiğinde HRV-3'ün ribonükleik asit (RNA) replikasyon seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğü ve enfeksiyonu inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca inhibisyon konsantrasyonu (IC50) değerlerine göre, kaemferol, kuersetin, kirisin ve luteolinin antiviral aktivitesinin, tedavide kullanılan ribavirinden daha belirgin olduğu saptanmıştır (Kwon ve ark., 2020).

Yıldırım ve ark. (2016) tarafından ülkemizde yapılan bir çalışmada, Hatay ilinden toplanan propolisin, uçuğa neden olan Herpes Simplex Virüs (HSV)-1 ve HSV-2'ye karşı önemli antiviral etkinlik düzeylerine sahip olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, HSV'ünün DNA replikasyonunu güçlü şekilde önleyen bir guanozin nükleozid analogu olan asiklovir ilacı ile propolisin birlikte kullanımının, sinerji içerisinde üretilen antiviral etkinliğin tek

başına asiklovire göre daha güçlü olduğu sonucuna varılmıştır. Benzer bir çalışmada, Brezilya propolisinin C-glikosil flavonlar, kateşin-3-O-gallat ve 3,4 dikaffeoilkinik asit bileşenleri ile HSV replikasyonunu ve virüsün hücrelere girişini engellediği tespit edilmiştir (Coelho ve ark., 2015).

Ma ve ark. (2015) yaptığı in vivo bir çalışmada, kobaylarda Nanometre propolis flavonlarının domuz parvovirüsünü (PPV) önemli ölçüde inhibe ederek anti-PPV etkisi oluşturduğu, ayrıca akciğer, gonad, kan ve dalakta PPV kopyalanmasını gözle görülür şekilde sınırladığı rapor edilmiştir. 2020 yılında, Meksika'ya özgü bir arıdan hasat edilen propolisin, yüksek ölüm oranlarıyla sistemik enfeksiyona yol açan bir RNA virüsü olan Canine Distemper Virüs (CDV)'üne karşı istatistiksel olarak anlamlı bir antiviral etkiye sahip olduğu, propolisin viral enfeksiyondan bir saat önce uygulandığında da etkisinin arttığı bildirilmiştir (Jiménez ve ark., 2020).

De Marco ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, propolisin akciğer, deri ve sistemik enfeksiyonlarda rol oynayan ve biyofilm oluşturan *Pseudomonas aeruginosa* bakteriyel patojenine karşı hem doğrudan hem de dolaylı olarak antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösterdiği, biyofilm oluşumunu ve hareketliliğini etkileyerek anti *Pseudomonas* özellik gösterdiği tespit edilmiştir. 2017 yılında yapılan başka bir çalışma, propolis tedavisinin *Leishmania* parazitlerinin neden olduğu bir bulaşıcı hastalık olan Amerikan Tegumentario Leishmaniasis (ATL) hastalarına ait hücreler üzerinde immunomodülatör etkiler gösterdiğini, IL-4 ve IL-17'yi artırdığını, IL-10'u ve iltihaplanmayı azalttığını ayrıca bu etkileri ile parazit kontrolüne katkıda bulunabileceğini göstermiştir (dos Santos Thomazelli ve ark., 2017).

Son yıllarda yayınlanan bazı çalışmalarda (Ali ve Kunugi, 2021; Ripari ve ark., 2021), propolis ekstraktının ve bazı bileşenlerinin, Coronavirüs hastalığı (COVID-19)'na karşı antiviral etkisi olduğu bildirilmiştir. Propolis bu etkiyi, viral enfeksiyonda önemli roller oynayan transmembran proteazı serin 2 (TMPRSS2) enzimi gibi proteazların ve spike proteinlerin ekspresyonunu azaltma (Hoffmann ve ark., 2020; H Elwakil ve ark., 2021; Refaat ve ark., 2021) ve anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) ankrajını azaltma (Güler ve ark., 2020; Sekiou ve ark., 2020) gibi birkaç önemli hedefe karşı hareket etmesi kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Bu şekilde, virüsün hedefe girişini zorlaştırma, inflamatuvar aktiviteleri ve neden olduğu fibrozu belirleyen PAK1 enzimini bloke etme (Piñeros ve ark., 2020) ve monositlerin/makrofajların immunomodülasyonu (Silveira ve ark., 2021) ile sağladığı bildirilmektedir. Spesifik çalışmalarda, propolis içeriğinde bulunan rutin bileşiğinin hedefe yüksek afinite göstererek en iyi inhibisyon potansiyeline sahip olduğu (Güler ve ark., 2020; Refaat ve ark., 2021) ve bunu mirisetin, KAFE, hesperetin ve pinokembrin bileşiklerinin izlediği bildirilmiştir (Güler ve ark., 2020). Ayrıca propolis optimize edilmiş lipozomal formülünün, Mısır propolis ekstraktına kıyasla antiviral etkisinin önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir (Refaat ve ark., 2021). Silveria ve ark. (2021), hastanede yatan yetişkin COVID-19 hastalarında yaptığı bir çalışmada, 7 gün boyunca 400 mg/gün ve 800 mg/gün propolis takviyesinin, hastanede kalış süresini önemli ölçüde kısalttığını, ayrıca yüksek doz propolis alan grupta önemli oranda daha az akut böbrek hasarı geliştiğini tespit etmiştir. 2021 yılında yapılan başka bir çalışmada, hafif üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE) bulunan 122 sağlıklı yetişkinde, propolis oral spreyinin 3 günlük tedavi

uygulamasının etkinliği değerlendirilmiş, tedavi edilen grubun %83'ünde semptomlarda gerileme görülürken, kontrol grubunun %72'sinde en az bir semptom kaldığı saptanmıştır (Esposito ve ark., 2021). Silva-Beltrán ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada ise, Brezilya kırmızı propolisinin, yeşil propolise göre daha güçlü antiviral etki gösterdiği rapor edilmiştir.

Bu çalışmalar propolisin, hücrelere virüs girişinin inhibisyonu ve viral replikasyon mekanizmasını bozması ile virüs paneline karşı güçlü ve geniş bir antiviral aktiviteye sahip olduğunu, viral hastalıkların önlenmesinde ve yardımcı bir ajan olarak tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir.

### Nörolojik Hastalıklar Üzerine Etkisi

Geleneksel, tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamalarından biri olan apiterapi, Dünya'da çok çeşitli hastalıkların önlenmesinde, tanısında ve tedavisinde kullanılırken, arı ürünleri polifenollerinin nörolojik bozuklukların tedavi ve önlenmesine katkıda bulunabileceği düşünülmekte ve bir arı ürünü olan propolisin de nörolojik hastalıklarda kullanımı ve endikasyonları ile ilgili çalışmaların sayısı artmaktadır (Çağlayan ve ark., 2018; El-Seedi ve ark., 2020),

Propolisin en kapsamlı araştırılan aktif bileşenlerinden KAFE ve pinokembrin, farklı nörolojik rahatsızlık, serebral iskemi, nöroinflamasyon, konvülsiyon, bilişsel ve psikiyatrik bozukluklar gibi farklı nörodejeneratif bozukluklar üzerinde nöroprotektif etkisiyle ön plana çıkmaktadır (Balaha ve ark., 2021; Menezes da Silveira ve ark., 2021). 2020 yılında yapılan bir çalışmada, KAFE'nin subaraknoid kanama sonrası iskemik beyin hasarını önlemeye yardımcı olduğu ve serebral vazospazmı azaltmada olumlu etkisi

bulunduğu, ayrıca kan-beyin bariyerini (BBB) geçme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür (Palaz ve Akçay, 2020). *KAFE'nin yaygın travmatik kafa travmasının zerrelum dokusuna verdiği hasar üzerindeki antioksidatif ve antiinflamatuvar etkilerinin araştırıldığı çalışmada, travmatik beyin hasarı grubunda, granüler tabakada kılcal damarlarda dilatasyon, hemoraji ve kan damarlarının çevresinde iltihaplı hücre infiltrasyonu görülürken, KAFE tedavi grubunda beyindeki beyaz maddedeki küçük kılcal damarların hafifçe genişlediği, iltihaplı hücrenin kalmadığı ve granüler tabakada yoğun kromatin/granüler hücreler olduğu gözlenmiştir. Çalışma sonucunda, KAFE'nin trombosit endotel hücre adezyon molekülü-1 (PECAM-1) ve mitojenle aktive olan protein kinaz (p38 MAPK) proteinlerini etkileyerek inflamasyonu, hücre hasarını ve anjiyogenetik gelişimi düzenlediği sonucuna varılmıştır (Çetin ve Deveci, 2019).*

Hwang ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada da, KAFE'nin, antiinflamatuvar özellikleri yoluyla iskemik beyin hasarı üzerinde dikkate değer bir nöroprotektif etki gösterdiği ve böylece serebral enfarktüsün terapisine bir fayda sağladığı bildirilmiştir. KAFE'nin, bir kemoterapi ilacı olan doksorubisin (DOX) ile birlikte tedavide kullanılmasının, sıçan beyin dokularında DOX kaynaklı bilişsel işlev bozukluğunu, davranışsal ve moleküler anormallikleri, hafıza eksikliklerini, oksidatif dengesizliği önemli ölçüde önlediği ve nörodejenerasyona karşı nöroprotektif aktivite göstererek nöroinflamasyonu baskıladığı tespit edilmiştir (Ali ve ark., 2020).

Propolis bileşiklerinden pinokembrinin, akut iskemik inme için onaylanmış tek tedavi olan doku tipi plazminojen aktivatörü (t-PA) uygulamasının neden olduğu kan-beyin bariyeri hasarını ve

enfarktüs hacmini önemli ölçüde azalttığı ve olumsuz nörolojik etkileri iyileştirdiği görülmüştür (Ma ve ark., 2018). Zaitone ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, KAFE tedavisinin rotenon ile indüklenmiş parkinson hastası farelerde nörodejenerasyona karşı nöroprotektif etki gösterdiği, striatal dopamin seviyesini yükselttiği ve inflamatuvar yükü azaltarak ve hayatta kalan nöron sayısının artmasına fayda sağlayarak lokomotor aktivitede iyileşmeye yol açtığı tespit edilmiştir. Klorpirifos tarafından indüklenen parkinson hastası farelerde, KAFE plazma ve beyin dokusunda paraoksonaz (PON1) aktivitesi, lipid profili seviyeleri, toplam sialik asit (TSA), toplam antioksidan kapasite (TAC) ve toplam oksidan kapasitesi (TOC) üzerinde koruyucu etkiler göstermiş ve beyin dokusundaki nörodejenerasyonları önlediği görülmüştür (Deveci ve ark., 2018). KAFE tedavisi, çözünür amiloid-beta oligomerleri (A $\beta$ O) ile indüklenen alzheimer hastası fareleri mekansal bilişteki düşüşe karşı koruyarak öğrenme ve hafızayı geliştirdiği, ayrıca nöronal apoptozu ve nöroinflamasyonu azalttığı tespit edilmiştir (Morrone ve ark., 2017). KAFE uygulamasının, oksidatif stres ve inflamasyonun hafifletilmesi yoluyla streptozotosinin neden olduğu demansı iyileştirdiği, bilişsel eksikliklerin gelişimini durdurduğu saptanmıştır (Kumar ve ark., 2017). Aynı araştırmacıların (Kumar ve ark., 2018) bir yıl sonra yaptığı çalışmada da, KAFE uygulamasının streptozotosinin kaynaklı hafıza kaybını PI3-kinaza bağımlı yoldan engellediği belirlenmiştir.

KAFE'nin glokom üzerindeki etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada, KAFE ile tedavi edilen hayvanlarda retina gangliyon hücrelerinin (RGC'ler) ölümünün önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. Ayrıca, KAFE, IL-6, IL-8, iNOS, siklooksijenaz-2, TNF- $\alpha$  ve kemokin dahil



olmak üzere inflamatuvar sitokinlerin azalmış ekspresyonu ile retinadaki inflamasyonun şiddetini azalttığı görülmüştür (Jia ve ark., 2019). KAFE tedavisinin beyin dokusunu, bir kemoterapötik ajan olan ifosfamid kaynaklı merkezi nörotoksositeye karşı koruyabileceği ve toksisitesini azaltabileceği ortaya konulmuştur (Ginis ve ark., 2016). Benzer başka bir çalışmada KAFE'nin, yüksek afiniteli sinir büyüme faktörü reseptörü (trkA) aracılığıyla bir kemoterapötik ilaç olan sisplatinin nörotoksitesine karşı koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Ferreira ve ark., 2018). Sonrasında aynı araştırmacılar (Ferreira ve ark., 2019) tarafından KAFE'nin nöroproteksiyonunu AMPK/SIRT1, MAPK/Erk ve PI3k/Akt sinyal yollarını aktive ederek sağladığı ek mekanizmalar bildirilmiştir.

Propolisin anksiyeteye ve bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin sempatik deri cevabı ve yükseltilmiş T labirent ile araştırıldığı bir çalışma sonucunda, propolisin anksiyeteye ilişkin yanıtlarının doza bağlı olarak değiştiği, düşük (10 mg/kg) ve orta (30 mg/kg) doz propolisin anksiyetik etki yaparken, yüksek (50 mg/kg) doz propolisin anksiyolitik etki gösterdiği görülmüştür (Nisari ve ark., 2020).

Yapılan çalışmalar, propolis bileşiklerinden özellikle KAFE'nin, ilerleyen nörodejeneratif hastalıklara karşı potansiyel olarak umut verici bir nöroprotektif ajan olarak düşünülebileceğini göstermektedir.

### Deri Hastalıkları Üzerine Etkisi

Propolisin, antioksidatif, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve antikanser etkileri dahil olmak üzere çeşitli biyoaktiviteler sergilediği bilinmektedir. Bununla birlikte, günümüzde propolisin cilt hastalıklarında kullanımı da ön plana çıkmıştır. Propolisin topikal uygulama potansiyelini

arttırmak ve protein karbonilasyonu yolu ile ultraviyole (UV) radyasyon hasarına karşı cilt korumasını amaçlayan *in vitro* bir çalışmada, propolis uygulamasının cildin UV radyasyona aşırı maruz kalması ile oluşan oksidatif stresi azaltarak ciddi cilt hasarlarını engellemeye yardımcı olduğu görülmüştür (Correa ve ark., 2020). Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada, propolisin UV aracılı cilt yaşlanmasına karşı, fosfoinositid 3-kinaz (PI3k) aktivitesi inhibisyonu ile doğrudan geciktirici etkiler gösterdiği ve matris metaloproteinaz (MMP)-1 üretimini baskılayarak cilt dokularında kollajen bozulmasını engellediği tespit edilmiştir (Kim ve ark., 2020). 2020 yılında yapılan benzer çalışmada, propolisin oksidatif stresi azaltma etkisi ile UV A'dan kaynaklanan deri apoptozunu engellemeye yardımcı olduğu ve karsinogeneze karşı koruma sağladığı rapor edilmiştir (Kuo ve ark., 2020). Karapetsas ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada da, Yunan propolisinin antioksidan, fotokoruyucu ve yaşlanma önleyici etkiler gösterdiği bildirilmiştir.

Sıçanlarda yaraların tedavisi için Brezilya mikronize propolis özütü içeren topikal formülasyonun etkinliğini değerlendiren bir çalışma sonucunda, propolis içeren merhemlerin hasarlı bölgenin altındaki nemi muhafaza etme yeteneği ile herhangi bir tedavi uygulanmayan lezyonlara kıyasla iyileşmeler sağladığı, antiinflamatuvar aktivite gösterdiği, fibroplazi ve hidrokisprolin üretimi ile yara iyileşmesini hızlandırdığı ve daha kaliteli bir cildin oluşmasına yardımcı olduğu görülmüştür (Nani ve ark., 2018). 2019 yılında yapılan bir çalışmada, *Hypericum perforatum* (HP), *Liquidambar orientalis* (LO) ve propolisin eşit oranda karışım kombinasyonlarının, yaralarına günlük olarak uygulanan tedavi gruplarında kontrol grubuna göre anjiyogenez ve epitelizasyon



oranlarının anlamlı olarak daha yüksek ve inflamasyon oranlarının daha düşük olduğu, kesi yaralarında pozitif bir sinerji ile iyileşmeyi arttırdığı rapor edilmiştir (Altıparmak ve ark., 2019).

Üreme çağındaki kadınlarda vulvovajinitlerin en yaygın nedeni olan bakteriyel vajinozun tedavisi üzerindeki propolis vajinal krem ile ilk basamak tedavi olarak kabul edilen metronidazol vajinal jelinin etkisinin karşılaştırıldığı çalışmada, metronidazol ve propolis gruplarında tedaviye yanıtın sırasıyla %95,8 ve %70,8 olduğu ve propolisin ana tedavinin yanında tamamlayıcı olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır (Mousavi ve ark., 2016).

Mazzareollo ve ark. (2018) tarafından hafif ve orta şiddette akne vulgarisi olan 60 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, %20 propolis, %3 çay ağacı yağı ve %10 *Aloe vera* içeren krem tedavisinin, akne tedavisinde kullanılan %3 eritromisin içeren krem tedavisine göre eritem izlerini, akne şiddet indeksini ve toplam lezyon sayısını azaltmada daha iyi olduğu görülmüştür. 2018 yılında yapılan, 1. ve 2. evre ayak ülserleri bulunan diyabetik hastalarda günde 2 kez %5 propolis içeren merhem ile geleneksel tedavinin karşılaştırıldığı 4 haftalık çalışmada, propolis kullanan grupta ülser boyutunun daha fazla küçüldüğü gözlemlenmiştir (Afkhamizadeh ve ark., 2018). Deri ödeminin topikal tedavisi için propolis flavonoidlerini içerisine alan katı lipid nanopartiküllerin formülasyonu kullanılarak yapılan bir çalışmada, nanopartiküllerin HSF-PI 18 hücre hattı üzerinde hiçbir sitotoksikite sergilemediği, cilt ödem hacminde üç kat azalma olduğu ve uzun süreli antiinflamatuvar etki gösterdiği tespit edilmiştir (Afra ve ark., 2020).

2020 yılında yapılan bir çalışmada, Poxviridae ailesinin Capripoxvirüs cinsine ait Lumpy deri hastalığı virüsünün (LSDV) neden

olduğu bulaşıcı bir hastalık olan yumru deri hastalığı (LSD) ile enfekte bir grup sığır, propolis-aljinat nanopartikülleri göz damlası, oral yol ve topikal sprey gibi farklı yollarla kullanılarak tedavi edilirken, diğer grup tetrasiklin grubu antibiyotiklerle tedavi edilmiştir. Çalışma sonucunda, propolis-aljinat nanopartiküllerinin enfekte sığırlarda %100 iyileşme sağladığı, kanla temas ettiğinde toksik olmadığı ve LSD enfeksiyonlarına karşı tedavide potansiyel bir aday olabileceği belirlenmiştir (Frag ve ark., 2020). Kutanöz şarbon hayvan modellerinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada, propolis alan grupta, papüller, nodüller ve skar gibi deri bulguları ile deri dokusu nekrozu bulunmadığı, propolisin maruziyetten önce veya kısa bir süre sonra uygulanmasının cilt belirtilerini önleyebileceği ve aynı zamanda klinik belirtiler ortaya çıktığında inflamatuvar reaksiyonları azaltabileceği rapor edilmiştir (Kusumawardani ve ark., 2020).

Yapılan çalışmalar, propolis bileşiklerinin antibakteriyel, antimikrobiyal, antifungal, antiinflamatuvar, antioksidan aktivite gibi çeşitli biyolojik özellikleri sayesinde, cilt hastalıklarının tedavisinde ve korunmasında olumlu katkılar sağlayan bir alternatif olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

### Propolisin Yan Etkileri ve Toksikitesi

Bilgimiz dahilinde, literatürde propolisin akut ve kronik toksisitesiyle ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Genel olarak toksik olmayan ve güvenli bir madde olup, düşük oranda (%3-6) alerjiye neden olabilmektedir. Doksan fare üzerinde yapılan denemeler ile propolisin, hiçbir olumsuz etkinin görülmediği düzey (NOAEL)'inin 1400 mg/kg/gün veya yaklaşık 70 mg/gün olduğu bildirilmiştir (Burdock, 1998). Propolis ile temas

alerjisinden en çok etkilenebilecek grup olan arıcılar ile yapılan bir çalışmada, 558 Polonyalı arıcı arasında 17 kişide (%3,05) propolis temas alerjisi olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada, arıcıların 404'ünde tedavi edici ajan olarak oral propolis kullanmış ve 11 (%2,72)'inde propolis alerjisi belirlenirken propolis kullanan 2205 aile üyesinden de sadece 14 (%0,63)'ünde alerjik reaksiyonlar saptanmıştır (Basista ve Filipek, 2012). Benzer bir çalışmada, 1051 arıcı arasından 37 (%3,6)'sinde propolise karşı alerjik reaksiyon vakası bildirilmiştir. Propolis ile temas alerjisi, akciğer hastalıkları ve diğer alerjik reaksiyonlarla önemli ölçüde ilişkili olup arıcılar, ellerini temizlemek için kullanılan çözücülerin hastalığın gelişmesinde rol oynayabileceğini düşünmektedir (Münstedt ve ark., 2007).

Czarnobilska ve ark. (2011) tarafından, egzamalı atopik çocukları etkileyen en önemli duyarlılaştırıcıları belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 7-8 yaşlarındaki 103 çocuğun %16,5'i ve 16-17 yaşlarındaki 93 ergenin %5,4'ü propolise tepki göstermiştir. Çalışma sonunda, propolisin çocuklarda rutin yama testine dahil edilmesi gerektiği bildirilmiştir. 2013 yılında yayımlanan bir derleme makalesinde, propolisin oral uygulamasının büyük ölçüde güvenli olup topikal uygulamasının bazı yan etkilere ve nadir görülen ani tip reaksiyonlara neden olabileceği, propolis bileşenlerinden özellikle kafeik asit esterlerinin güçlü duyarlılaştırıcılar olduğu sonucuna varılmıştır (de Groot, 2013).

Genel olarak insanlarda ve hayvanlarda önemli bir alerji ve toksisite bildirilmemiş olsa da, 2005 yılında yapılan bir çalışmada, kolanjiyokarsinomlu 59 yaşındaki erkek bir hastada 2 hafta boyunca günde 3 kez 5 mL propolis propolis kullanımının ABY'ne neden olduğu, propolis

kullanımı bırakıldıktan sonra böbrek fonksiyonlarının düzeldiği bildirilmiştir. Kesin bir patolojik tanı için böbrek biyopsisi yapılmasına hasta tarafından izin verilmemiş ancak propolis ve ABY arasındaki ilişki, propolise yeniden maruz bırakılmasından sonra oluşan böbrek fonksiyonlarındaki olumsuz değişim ile doğrulanmıştır (Li ve ark., 2005).

2009 yılında yayımlanan bir olgu sunumunda, 4 haftalık makülopapüler ekzantem öyküsü ile gelen 63 yaşında bir kadının döküntü başlangıcından önceki 6 hafta boyunca 'bağışıklık uyarımı' için propolis kapsülleri ve reçeteli lipid düşürücü bir ilaç olan simvastatin kullandığı bildirilmiştir. Hasta simvastatin ve propolis almayı bırakıp topikal steroid ile tedavi edildiğinde döküntüler bir hafta içerisinde kaybolmuş ve 2 yıldan uzun bir gözlem süresi boyunca nüks görülmemiştir. İyileşmeden 2 ay sonra, %10'luk propolis içeren petrolatum jel ile yapılan yama testi negatif sonuçlar vermiş fakat hasta, %5'lik oral propolis kapsüllerine pozitif reaksiyon göstermiştir. Bu vakada propolis kapsüllerinin, ekzantemin tetikleyicisi olduğu düşünülmüştür (Komericki ve Kränke, 2009).

Cho ve ark. (2011) tarafından bildirilen başka bir vakada, yüz, boyun, kollar, karın ve uylukta şiddetli kaşıntı, deri döküntüsü ve ödem ile başvuran 36 yaşındaki bir kadın hastanın, birkaç haftadır bir arıcıdan aldığı propolis içeren doğal tonik solüsyonu kullandığı rapor edilmiş ve hastanın uygun tedavi ile döküntülerinin tamamen iyileşmesinden sonra bir yama testi yapılmıştır. Yapılan testlerde hastanın, propolise ve %10'luk propolis içeren vazeline güçlü pozitif reaksiyonlar gösterdiği görülmüştür.

Bu raporlar, propolisin yan etkileri ve toksisitesini değerlendirmek ve nedensel ilişkiyi kanıtlamak için ek çalışmalar gerektiğini

göstermekte olup, propolisin tıbbi veya diyet takviyesi olarak kullanılmasında dikkat ve özen ihtiyacını vurgulamaktadır.

## SONUÇ

Son yıllarda geleneksel/tamamlayıcı tıp, apiterapi ve organik ürünlere olan ilgi ve talebin artması ile fonksiyonel bir gıda ürünü olan propolis alternatif olarak ön plana çıkmış ve bu konuda yapılan araştırmalar artmıştır. Çalışmalarda, propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antikarsinojenik, antitümör, antikanser, lokal anestezi, antiinflamatuvar ve antioksidan gibi farklı biyolojik ve farmakolojik özellikleri ile kalp hastalıkları ve şeker hastalığı gibi kronik hastaların, kanser, ağız ve diş hastalıkları, gastrointestinal sistem hastalıkları gibi çeşitli hastalıklar ve enfeksiyonlar üzerine olumlu yönde etkisinin bulunduğu bildirilmiştir.

Yapılan araştırmalardaki temel sorunlardan biri propolisin standardizasyonunun olmaması ve bileşiminin toplandığı bitkilerin tür ve çeşitlerine, kaynağı olan bölgenin bitki örtüsüne, mevsim ve iklim koşullarına, arı ırkı gibi bir çok değişkene bağlı olarak farklılık göstermesidir. Ayrıca, sektörlerdeki kullanım amacına bağlı olarak ekstrakte edilmesi gereken propolis için farklı çözücüler tercih edilmektedir. Propolisin farklı çözücülerle ekstraksiyonu toplam fenolik bileşen içeriği, antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal özelliklerinde farklılıklara neden olmakta ve fonksiyonel özellikleri üzerine etki etmektedir. Bunlara ek olarak; bal, arı poleni, arı sütü ve propolis gibi arı ürünlerinin yapılarında alerjik reaksiyonları tetikleyebilecek ya da toksisite oluşturabilecek bileşenler taşıdığı da bildirilmektedir. Çapraz alerjik reaksiyonlardan kaçınmak için, atopik bireylerin, içerisinde arı ürünleri bulunan gıdaları tüketirken dikkatli olması gerekmektedir.

Ham propolisin ve ekstraktlarının standart bileşimde olmaması ve farklı bireysel duyarlılıklar nedeniyle, gelecekte doz-yanıt ve yapı-işlev mekanizmasının daha iyi anlaşılmasını sağlayabilecek nitelikte propolis araştırmalarına gereksinim duyulmaktadır. Propolisin bir ilaç olmadığı, tıbbi tedaviyi destekleyici nitelikte olduğu, uzman kontrolünde ve tavsiyesinde dikkatli bir şekilde kullanılması gerektiği unutulmamalıdır.

## KAYNAKLAR

- Adeva, M., González-Lucán, M., Seco, M., & Donapetry, C. (2013). Enzymes involved in l-lactate metabolism in humans. *Mitoch*, 13(6), 615-629.
- Afkhamizadeh, M., Aboutorabi, R., Ravari, H., Fathi Najafi, M., Ataei Azimi, S., Javadian Langaroodi, A., & Sahebkar, A. (2018). Topical propolis improves wound healing in patients with diabetic foot ulcer: a randomized controlled trial. *Nat Prod Res*, 32(17), 2096-2099.
- Afra, B., Mohammadi, M., Soleimani, M., & Mahjub, R. (2020). Preparation, statistical optimization, in vitro characterization, and in vivo pharmacological evaluation of solid lipid nanoparticles encapsulating propolis flavonoids: a novel treatment for skin edema. *Drug Dev Ind Pharm*, 46(7), 1163-1176.
- Afsharpour, F., Javadi, M., Hashemipour, S., & Koushan, Y. (2019). Propolis supplementation improves glycemic and antioxidant status in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Complement Ther Med*, 43, 283-288.
- Akca, AE., Akca, G., Topçu, FT., Macit, E., Pıkdöken, L., & Özgen, İŞ. (2016). The comparative evaluation of the antimicrobial effect of propolis with chlorhexidine against oral pathogens: An in vitro study. *Bio Med Res Int*, 2016, 1-8.
- Ali, MA., Menze, ET., Tadros, MG., & Tolba, MF. (2020). Caffeic acid phenethyl ester counteracts doxorubicin-induced chemobrain in Sprague-Dawley rats: Emphasis on the modulation of oxidative stress and neuroinflammation. *Neuropharmacology*, 181, 108334.
- Ali, AM., & Kunugi, H. (2021). Propolis, bee honey, and their components protect against coronavirus disease 2019 (Covid-19): A review of in silico, in vitro, and clinical studies. *Molecules*, 26(5), 1232.
- Altıparmak, M., Kule, M., Öztürk, Y., Çelik, SY., Öztürk, M., Duru, ME., & Koçer, U. (2019). Skin wound healing properties of Hypericum perforatum, Liquidambar orientalis, and propolis mixtures. *Eur J of Plast Surg*, 42(5), 489-494.
- Aru, B., Güzelmeric, E., Akgül, A., Demirel, GY., & Kırmızıbekmez, H. (2019). Antiproliferative

- activity of chemically characterized propolis from Turkey and its mechanisms of action. *Chem Biodivers*, 16(7), e1900189.
- Asgharpour, F., Moghadamnia, AA., Motallebnejad, M., & Nouri, HR. (2019). Propolis attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through intracellular ROS and NO levels along with downregulation of IL-1 $\beta$  and IL-6 expressions in murine RAW 264.7 macrophages. *J Food Biochem*, 43(8), e12926.
- Bakkaloğlu, Z., & Arıcı, M. (2019). Farklı çözücülerle propolis ekstraksiyonunun toplam fenolik içeriği, antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(4), 538-545.
- Balaha, M., De Filippis, B., Cataldi, A., & di Giacomo, V. (2021). CAPE and Neuroprotection: A Review. *Biomolecules*, 11(2), 176-206.
- Baltas, N., Karaoglu, SA., Tarakci, C., & Kolayli, S. (2016). Effect of propolis in gastric disorders: inhibition studies on the growth of *Helicobacter pylori* and production of its urease. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 31, 46-50.
- Bankova, V., Popova, M., Bogdanov, S., & Sabatini, AG. (2002). Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results. *Z Naturforsch C*, 57(5-6), 530-533.
- Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol*, 100(1-2), 114-117.
- Barroso, MV., Cattani-Cavaliere, I., de Brito-Gitirana, L., Fautrel, A., Lagente, V., Schmidt, M., & Lanzetti, M. (2017). Propolis reversed cigarette smoke-induced emphysema through macrophage alternative activation independent of Nrf2. *Bioorg Med Chem*, 25(20), 5557-5568.
- Basista, KM., & Filipek, B. (2012). Allergy to propolis in Polish beekeepers. *Postępy Dermatol Alergol*, 29(6), 440-445.
- Bezerra, GB., de Souza, LDM., Dos Santos, AS., de Almeida, GKM., Souza, MTS., Santos, SL., & de Albuquerque Júnior, RLC. (2017). Hydroalcoholic extract of Brazilian red propolis exerts protective effects on acetic acid-induced ulcerative colitis in a rodent model. *Biomed Pharmacother*, 85, 687-696.
- Bhat, N., Bapat, S., Asawa, K., Tak, M., Chaturvedi, P., Gupta, VV., & George, PP. (2015). The antiplaque efficacy of propolis-based herbal toothpaste: A crossover clinical study. *J Nat Sci, Biol Med*, 6(2), 364-368.
- Bojić, M., Antolić, A., Tomičić, M., Debeljak, Ž., & Maleš, Ž. (2018). Propolis ethanolic extracts reduce adenosine diphosphate induced platelet aggregation determined on whole blood. *Nutr J*, 17(1), 1-8.
- Botteon, CEA., Silva, LB., Ccana-Ccapatinta, GV., Silva, TS., Ambrosio, SR., Veneziani, RCS., & Marcato, PD. (2021). Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles using Brazilian red propolis and evaluation of its antimicrobial and anticancer activities. *Sci Rep*, 11(1), 1-16.
- Bonamigo, T., Campos, JF., Alfredo, TM., Balestieri, JBP., Cardoso, CAL., Paredes-Gamero, EJ., & Dos Santos, EL. (2017). Antioxidant, cytotoxic, and toxic activities of propolis from two native bees in Brazil: *Scaptotrigona depilis* and *Melipona quadrifasciata anthidioides*. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 1-12.
- Brihoum, H., Maiza, M., Sahali, H., Boumeltout, M., Barratt, G., Benguedouar, L., & Lahouel, M. (2018). Dual effect of Algerian propolis on lung cancer: antitumor and chemopreventive effects involving antioxidant activity. *Braz J Pharm Sci*, 54(1), e17396.
- Budisan, L., Gulei, D., Jurj, A., Braicu, C., Zanoaga, O., Cojocneanu, R., & Berindan-Neagoe, I. (2019). Inhibitory effect of CAPE and kaempferol in colon cancer cell lines possible implications in new therapeutic strategies. *Int J Mol Sci*, 20(5), 1199.
- Bueno-Silva, B., Koo, H., Falsetta, ML., Alencar, SM., Ikegaki, M., & Rosalen, PL. (2013). Effect of neovestitol-vestitol containing Brazilian red propolis on accumulation of biofilm in vitro and development of dental caries in vivo. *Biofouling*, 29(10), 1233-1242.
- Burdock, GA. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol*, 36(4), 347-363.
- Canoğlu, E., Güngör, HC., & Bozkurt, A. (2009). Çocuk diş hekimliğinde ilaç kullanımı. *Hacettepe Diş Hek Fak Derg*, 33(2), 30-44.
- Capistrano, HM., de Assis, EM., Leal, RM., Alvarez-Leite, ME., Brener, S., & Bastos, EM. (2013). Brazilian green propolis compared to miconazole gel in the treatment of *Candida*-associated denture stomatitis. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 1-6.
- Cardoso, JG., Iorio, NLP., Rodrigues, LF., Couri, MLB., Farah, A., Maia, LC., & Antonio, AG. (2016). Influence of a Brazilian wild green propolis on the enamel mineral loss and *Streptococcus mutans*' count in dental biofilm. *Arch Oral Biol*, 65, 77-81.
- Catchpole, O., Mitchell, K., Bloor, S., Davis, P., & Suddes, A. (2018). Anti-gastrointestinal cancer activity of cyclodextrin-encapsulated propolis. *J Funct Foods*, 41, 1-8.
- Cho, E., Lee, JD., & Cho, SH. (2011). Systemic contact dermatitis from propolis ingestion. *Ann Dermatol*, 23(1), 85.
- Cho, H., Kim, K., Kim, N., Woo, M., & Kim, HY. (2019). Effect of propolis phenolic compounds on free fatty acid receptor 4 activation. *Food Sci Biotechnol*, 1-6.
- Choudhari, MK., Haghniaz, R., Rajwade, JM., & Paknikar, KM. (2013). Anticancer activity of Indian stingless bee propolis: an in vitro study. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 1-10.
- Coelho, GR., Mendonça, RZ., Vilar, KDS., Figueiredo, CA., Badari, JC., Taniwaki, N., & Negri, G. (2015). Antiviral action of hydromethanolic extract of geopropolis from *Scaptotrigona postica* against *antitherpes simplex virus (HSV-1)*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 1-10.
- Correa, L., de Carvalho Meirelles, G., Balestrin, L., de Souza, PO., Moreira, JCF., Schuh, RS., &

- Teixeira, HF. (2020). In vitro protective effect of topical nanoemulgels containing Brazilian red propolis benzophenones against UV-induced skin damage. *Photochem Photobiol Sci*, 19(10), 1460-1469.
- Costa, P., Almeida, MO., Lemos, M., Arruda, C., Casoti, R., Somensi, LB., & de Andrade, SF. (2018). Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-O-methyl-ether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. *J Ethnopharmacol*, 226, 82-89.
- Coşansu, G. (2015). Diyabet: Küresel bir salgın hastalık. *Okmeydanı Tıp Derg*, 31, 1-6.
- Czarnobilska, E., Obtulowicz, K., Dyga, W., & Spiewak, R. (2011). The most important contact sensitizers in Polish children and adolescents with atopy and chronic recurrent eczema as detected with the extended European Baseline Series. *Pediatr Allergy Immunol*, 22(2), 252-256.
- Çağlayan, HZB., Ataoğlu, EE., & Kibaroglu, S. (2018). The Assesment of Efficacy of Traditional and Complementary Medicine Practices in Neurology. *Turk Norol Derg*, 24(2), 111.
- Çakmak, S., & Nural, N. (2017). Kronik Hastalıklarda Tamamlayıcı ve Alternatif Tedavi Uygulamaları. *Türkiye Klin J Intern Med Nurs-Special Topics*, 3(2), 57-64.
- Çetin, A., & Deveci, E. (2019). Evaluation of PECAM-1 and p38 MAPK expressions in cerebellum tissue of rats treated with caffeic acid phenethyl ester: a biochemical and immunohistochemical study. *Folia Morphol*, 78(2), 221-229.
- da Costa, MFB., Libório, AB., Teles, F., da Silva Martins, C., Soares, PMG., Meneses, GC., & Martins, AMC. (2015). Red propolis ameliorates ischemic-reperfusion acute kidney injury. *PhyMed*, 22(9), 787-795.
- da Silva Frozza, CO., Santos, DA., Rufatto, LC., Minetto, L., Scariot, FJ., Echeverrigaray, S., & Henriques, JAP. (2017). Antitumor activity of Brazilian red propolis fractions against Hep-2 cancer cell line. *Biomed Pharmacother*, 91, 951-963.
- de Groot, AC. (2013). Propolis: a review of properties, applications, chemical composition, contact allergy, and other adverse effects. *Dermatitis*, 24(6), 263-282.
- De Marco, S., Piccioni, M., Pagiotti, R., & Pietrella, D. (2017). Antibiofilm and antioxidant activity of propolis and bud poplar resins versus *Pseudomonas aeruginosa*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 1-11.
- Deveci, HA., & Karapehlivan, M. (2018). Chlorpyrifos-induced parkinsonian model in mice: Behavior, histopathology and biochemistry. *Pestic Biochem Phys*, 144, 36-41.
- Dodda, D., Chhajed, R., & Mishra, J. (2014). Protective effect of quercetin against acetic acid induced inflammatory bowel disease (IBD) like symptoms in rats: possible morphological and biochemical alterations. *Pharmacol Rep*, 66(1), 169-173.
- dos Santos Thomazelli, APF., Tomiotto-Pellissier, F., da Silva, SS., Panis, C., Orsini, TM., Cataneo, AHD., & Conchon-Costa, I. (2017). Brazilian propolis promotes immunomodulation on human cells from American Tegumentar Leishmaniasis patients and healthy donors infected with *L. braziliensis*. *Cell Immunol*, 311, 22-27.
- Dragan, S., Andrica, F., Serban, MC., & Timar, R. (2015). Polyphenols-rich natural products for treatment of diabetes. *Curr Med Chem*, 22(1), 14-22.
- Ebeid, SA., Abd El Moneim, NA., El-Benhawy, SA., Hussain, NG., & Hussain, MI. (2016). Assessment of the radioprotective effect of propolis in breast cancer patients undergoing radiotherapy. New perspective for an old honey bee product. *J Radiat Res Appl Sci*, 9(4), 431-440.
- El Adaouia Taleb, R., Djebli, N., Chenini, H., Sahin, H., & Kolayli, S. (2020). In vivo and in vitro anti-diabetic activity of ethanolic propolis extract. *J Food Biochem*, 44(7), e13267.
- El-Seedi, HR., Khalifa, SA., Abd El-Wahed, A., Gao, R., Guo, Z., Tahir, HE., & Abbas, G. (2020). Honeybee products: An updated review of neurological actions. *Trends in Food Sci Technol*, 101, 17-27.
- El Sharkawy, HM., Anees, MM., & Van Dyke, TE. (2016). Propolis improves periodontal status and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol*, 87(12), 1418-1426.
- Esposito, C., Garzarella, EU., Bocchino, B., D'Avino, M., Caruso, G., Buonomo, AR., & Daglia, M. (2021). A standardized polyphenol mixture extracted from poplar-type propolis for remission of symptoms of uncomplicated upper respiratory tract infection (URTI): A monocentric, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytomedicine*, 80, 153368.
- Farag, TK., El-Houssiny, AS., Abdel-Rahman, EH., & Hegazi, AG. (2020). A new approach to the treatment of lumpy skin disease infection in cattle by using propolis encapsulated within alg nps. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 8(12), 1346-1355.
- Farias, JHCD., Reis, AS., Araújo, MAR., Araújo, MJAM., Assunção, AKM., Farias, JCD., & Nascimento, FRFD. (2014). Effects of stingless bee propolis on experimental asthma. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 1-8.
- Ferreira, RS., Dos Santos, NAG., Bernardes, CP., Sisti, FM., Amaral, L., Fontana, AC., & Dos Santos, AC. (2019). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects PC12 cells against cisplatin-induced neurotoxicity by activating the AMPK/SIRT1, MAPK/Erk, and PI3k/Akt signaling pathways. *Neurotox Res*, 36(1), 175-192.
- Franchin, M., Freires, IA., Lazarini, JG., Nani, BD., da Cunha, MG., Colón, DF., & Rosalen, PL. (2018). The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. *Eur J Med Chem*, 153, 49-55.
- Freires, IA., de Alencar, SM., & Rosalen, PL. (2016). A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. *Eur J Med Chem*, 110, 267-279.



- Fukuda, T., Fukui, M., Tanaka, M., Senmaru, T., Iwase, H., Yamazaki, M., & Marunaka, Y. (2015). Effect of Brazilian green propolis in patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized placebo-controlled study. *Biomed Rep*, 3(3), 355-360.
- Furukawa, M., Wang, J., Kurosawa, M., Ogiso, N., Shikama, Y., Kanekura, T., & Matsushita, K. (2021). Effect of green propolis extracts on experimental aged gingival irritation in vivo and in vitro. *J Oral Biosci*, 63(1), 58-65.
- Gao, W., Pu, L., Wei, J., Yao, Z., Wang, Y., Shi, T., & Guo, C. (2018). Serum antioxidant parameters are significantly increased in patients with type 2 diabetes mellitus after consumption of Chinese propolis: A randomized controlled trial based on fasting serum glucose level. *Diabetes Ther*, 9(1), 101-111.
- Gargouri, W., Kammoun, R., Elleuche, M., Tlili, M., Kechaou, N., & Ghoul-Mazgar, S. (2020). Effect of xylitol chewing gum enriched with propolis on dentin remineralization in vitro. *Arch Oral Biol*, 112, 104684.
- Ginis, Z., Ozturk, G., Albayrak, A., Kurt, SN., Albayrak, M., & Fadillioğlu, E. (2016). Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on ifosfamide-induced central neurotoxicity in rats. *Toxicol Ind Health*, 32(2), 337-343.
- Guler, HI., Tatar, G., Yildiz, O., Belduz, AO., & Kolayli, S. (2021). Investigation of potential inhibitor properties of ethanolic propolis extracts against ACE-II receptors for COVID-19 treatment by Molecular Docking Study. *Arch Microbiol*, 1-8.
- H Elwakil, B., Shaaban, MM., Bekhit, AA., El-Naggar, MY., & Olama, ZA. (2021). Potential anti-COVID-19 activity of Egyptian propolis using computational modeling. *Future Virol*, 16(2), 107-116.
- Hepşen, İF., Tilgen, F., & Er, H. (1996). Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. *Turgut Özal Tıp Merk Derg*, 3(4), 386-391.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 181(2), 271-280.
- Hwang, SA., Kim, CD., & Lee, WS. (2018). Caffeic acid phenethyl ester protects against photothrombotic cortical ischemic injury in mice. *Korean J Physiol Pharmacol*, 22(1), 101-110.
- Ishida, Y., Gao, R., Shah, N., Bhargava, P., Furune, T., Kaul, SC., & Wadhwa, R. (2018). Anticancer activity in honeybee propolis: functional insights to the role of caffeic acid phenethyl ester and its complex with  $\gamma$ -cyclodextrin. *Integr Cancer Ther*, 17(3), 867-873.
- Jadhav, SG., Meshram, RJ., Gond, DS., & Gacche, RN. (2013). Inhibition of growth of *Helicobacter pylori* and its urease by coumarin derivatives: molecular docking analysis. *J Pharm Res*, 7(8), 705-711.
- Jia, Y., Jiang, S., Chen, C., Lu, G., Xie, Y., Sun, X., & Huang, L. (2019). Caffeic acid phenethyl ester attenuates nuclear factor- $\kappa$ B-mediated inflammatory responses in Müller cells and protects against retinal ganglion cell death. *Mol Med Rep*, 19(6), 4863-4871.
- Jiménez, OVD., Pérez, BR., Sánchez, TAC., Tovar, CGG., Bordes, JLN., & Zárate, CIS. (2020). Evaluation of the Antiviral Activity of Propolis from Native Bees (*Plebeia frontalis*) against Canine Distemper Virus. *Open J Vet Med*, 10(12), 207-218.
- Kabała-Dzik, A., Rzepecka-Stojko, A., Kubina, R., Jastrzębska-Stojko, Ż., Stojko, R., Wojtyczka, RD., & Stojko, J. (2017). Comparison of two components of propolis: caffeic acid (CA) and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) induce apoptosis and cell cycle arrest of breast cancer cells MDA-MB-231. *Molecules*, 22(9), 1554.
- Karapetsas, A., Voulgaridou, GP., Konialis, M., Tsochantaridis, I., Kynigopoulos, S., Lambropoulou, M., & Pappa, A. (2019). Propolis extracts inhibit UV-induced photodamage in human experimental in vitro skin models. *Antioxidants*, 8(5), 125.
- Karlıdağ, SK., & Genç, F. (2007). Farklı Balırsı (*Apis Mellifera*) İrk ve Yöntemleri İle Üretilen Propolis Örneklerinin Reçine Miktarları. *U Bee J*, 7(2), 52-58.
- Kashiwakura, JI., Yoshihara, M., Saitoh, K., Kagohashi, K., Sasaki, Y., Kobayashi, F., & Matsuda, T. (2020). Propolis suppresses cytokine production in activated basophils and basophil-mediated skin and intestinal allergic inflammation in mice. *Allergol Int*, 1-8.
- Kasiotis, KM., Anastasiadou, P., Papadopoulou, A., & Machera, K. (2017). Revisiting Greek propolis: chromatographic analysis and antioxidant activity study. *PLoS one*, 12(1), e0170077.
- Keskin, M. (2018). Propoliste standardizasyon mümkün mü? *U Bee J*, 18(2), 101-110.
- Khan, MN., Lane, ME., McCarron, PA., & Tambuwala, MM. (2018). Caffeic acid phenethyl ester is protective in experimental ulcerative colitis via reduction in levels of pro-inflammatory mediators and enhancement of epithelial barrier function. *Inflammopharmacology*, 26(2), 561-569.
- Kim, DH., Auh, JH., Oh, J., Hong, S., Choi, S., Shin, EJ., & Byun, S. (2020). Propolis Suppresses UV-Induced Photoaging in Human Skin through Directly Targeting Phosphoinositide 3-Kinase. *Nutrients*, 12(12), 3790.
- Klecza, A., Kubina, R., Dzik, R., Jasik, K., Stojko, J., Cholewa, K., & Kabała-Dzik, A. (2020). Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) Induced Apoptosis in Serous Ovarian Cancer OV7 Cells by Deregulation of BCL2/BAX Genes. *Molecules*, 25(15), 3514.
- Komericki, P., & Kränke, B. (2009). Maculopapular exanthem from propolis: case report and review of systemic cutaneous and non-cutaneous reactions. *Contact Derm*, 61(6), 353-355.
- Koo, HJ., Lee, KR., Kim, HS., & Lee, BM. (2019). Detoxification effects of aloe polysaccharide and propolis on the urinary excretion of metabolites in smokers. *Food Chem Toxicol*, 130, 99-108.
- Kouidhi, B., Zmantar, T., & Bakhrouf, A. (2010). Anticariogenic and anti-biofilms activity of Tunisian



- propolis extract and its potential protective effect against cancer cells proliferation. *Anaerobe*, 16(6), 566-571.
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., & Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol*, 64(3), 235-240.
- Kumar, M., Kaur, D., & Bansal, N. (2017). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents development of STZ-ICV induced dementia in rats. *Pharmacogn Mag*, 13, 10-15.
- Kumar, M., & Bansal, N. (2018). Caffeic acid phenethyl ester rescued streptozotocin-induced memory loss through PI3-kinase dependent pathway. *Biomed Pharmacother*, 101, 162-173.
- Kuo, CC., Wang, RH., Wang, HH., & Li, CH. (2018). Meta-analysis of randomized controlled trials of the efficacy of propolis mouthwash in cancer therapy-induced oral mucositis. *Supportive Care Cancer*, 26(12), 4001-400.
- Kuo, YH., Chiang, HL., Wu, PY., Chu, Y., Chang, QX., Wen, KC., & Chiang, HM. (2020). Protection against Ultraviolet A-Induced Skin Apoptosis and Carcinogenesis through the Oxidative Stress Reduction Effects of N-(4-bromophenethyl) Caffeamide, A Propolis Derivative. *Antioxidants*, 9(4), 335.
- Kusumawardani, A., Kariosentono, H., Purwanto, B., Redhono, D., Arief, RC., Wasita, B., & Adji, RS. (2020). The Effect of Ethanolic Extract of Propolis on Skin Manifestation and Skin Tissue Necrosis in Cutaneous Anthrax Animal Model. *Syst Rev Pharm*, 11(11), 1539-1544.
- Kwon, MJ., Shin, HM., Perumalsamy, H., Wang, X., & Ahn, YJ. (2020). Antiviral effects and possible mechanisms of action of constituents from Brazilian propolis and related compounds. *J Apic Res*, 59(4), 413-425.
- Li, YJ., Lin, JL., Yang, CW., & Yu, CC. (2005). Acute renal failure induced by a Brazilian variety of propolis. *Am J Kidney Dis*, 46(6), 125-129.
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., & Chen, S. (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374.
- Lisičić, D., Benković, V., Đikić, D., Blažević, AS., Mihaljević, J., Oršolić, N., & Knežević, AH. (2014). Addition of propolis to irinotecan therapy prolongs survival in ehrlich ascites tumor-bearing mice. *Cancer Biother Radiophar*, 29(2), 62-69.
- Liu, G., Xie, W., He, AD., Da, XW., Liang, ML., Yao, GQ., & Ming, ZY. (2016). Antiplatelet activity of chrysin via inhibiting platelet  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 mediated signaling pathway. *Mol Nutr Food Res*, 60(9), 1984-1993.
- Ma, X., Guo, Z., Shen, Z., Liu, Y., Wang, J., & Fan, Y. (2015). The anti-porcine parvovirus activity of nanometer propolis flavone and propolis flavone in vitro and in vivo. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 1-10.
- Ma, Y., Zhang, JX., Liu, YN., Ge, A., Gu, H., Zha, WJ., & Huang, M. (2016). Caffeic acid phenethyl ester alleviates asthma by regulating the airway microenvironment via the ROS-responsive MAPK/Akt pathway. *Free Radic Biol Med*, 101, 163-175.
- Ma, Y., Li, L., Kong, L., Zhu, Z., Zhang, W., Song, J., & Du, G. (2018). Pinocembrin protects blood-brain barrier function and expands the therapeutic time window for tissue-type plasminogen activator treatment in a rat thromboembolic stroke model. *BioMed Res Int*, 2018, 1-13.
- Marcucci, MC., Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Bankova, VS., De Castro, SL., Dantas, AP., & Paulino, N. (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol*, 74(2), 105-112.
- Martins, ML., Monteiro, ASN., Guimarães, JEC., Guimarães, MBDCT., da Silva, RF., Cabral, LM., & Fonseca-Gonçalves, A. (2019). Cytotoxic and antibacterial effect of a red propolis mouthwash, with or without fluoride, on the growth of a cariogenic biofilm. *Arch Oral Biol*, 107, 104512.
- Mazzarello, V., Donadu, MG., Ferrari, M., Piga, G., Usai, D., Zanetti, S., & Sotgiu, MA. (2018). Treatment of acne with a combination of propolis, tea tree oil, and Aloe vera compared to erythromycin cream: two double-blind investigations. *Clin Pharmacol*, 10, 175-181.
- Menezes da Silveira, CC., Luz, DA., da Silva, CC., Prediger, RD., Martins, MD., Martins, MA., & Maia, CS. (2021). Propolis: A useful agent on psychiatric and neurological disorders? A focus on CAPE and pinocembrin components. *Med Res Rev*, 41(2), 1195-1215.
- Mirsadraee, M., Azmoon, B., Ghaffari, S., Abdolsamadi, A., & Khazdair, MR. (2021). Effect of Propolis on moderate persistent asthma: A phase two randomized, double blind, controlled clinical trial. *Avicenna J Phytomedicine*, 11(1), 22-31.
- Mohan, PU., Uloopi, KS., Vinay, C., & Rao, RC. (2016). In vivo comparison of cavity disinfection efficacy with APF gel, propolis, diode laser, and 2% chlorhexidine in primary teeth. *Contemp Clin Dent*, 7(1), 45.
- Miryan, M., Alavinejad, P., Abbaspour, M., Soleimani, D., & Ostadrahimi, A. (2021). Effects of propolis supplementation on the severity of disease in irritable bowel syndrome subjects: a randomized, double-blind clinical trial, *Research Square*, 2021, 1-15.
- Morroni, F., Sita, G., Graziosi, A., Turrini, E., Fimognari, C., Tarozzi, A., & Hrelia, P. (2018). Neuroprotective effect of caffeic acid phenethyl ester in a mouse model of Alzheimer's disease involves Nrf2/HO-1 pathway. *Aging Dis*, 9(4), 605.
- Mousavi, MS., Mannani, R., Mottaghi, M., Torkan, B., & Afrouzan, H. (2016). Comparing the effect of propolis vaginal cream and metronidazol vaginal gel for treatment of bacterial vaginosis. *J Adv Med Biomed Res*, 24(106), 42-50.

- Mujica, V., Orrego, R., Pérez, J., Romero, P., Ovalle, P., Zúñiga-Hernández, J., & Leiva, E. (2017). The role of propolis in oxidative stress and lipid metabolism: a randomized controlled trial. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 1-11.
- Münstedt, K., Hellner, M., Hackethal, A., Winter, D., & Von Georgi, R. (2007). Contact allergy to propolis in beekeepers. *Allergol Immunopathol*, 35(3), 95-100.
- Nani, M., Leone, A., Bom, VP., Buszinski, AF., Oliveira de Souza, R., Pinheiro, VA., & Nogueira, R.JL. (2018). Evaluation and comparison of wound healing properties of an ointment (alpapawash) containing brazilian micronized propolis and peucedanum ostruthium leaf extract in skin ulcer in rats. *Int J Pharm Compd*, 22(2), 154-163.
- Nisari, M., Emre, MH., Dolu, N., Acer H., & Pektaş, F. (2020). Investigation of dose related effects of propolis on anxiety and some biochemical parameters with sympathetic skin response and increased T-maze. *J Surg Med*, 4(5), 346-350.
- Novak, EM., Marcucci, MC., Sawaya, ACHF., López, BGC., Fortes, MAHZ., Giorgi, RR., & Maria, DA. (2014). Antitumoural activity of Brazilian red propolis fraction enriched with xanthochymol and formononetin: An in vitro and in vivo study. *J Funct Foods*, 11, 91-102.
- Olczyk, P., Wisowski, G., Komosinska-Vassev, K., Stojko, J., Klimek, K., Olczyk, M., & Kozma, EM. (2013). Propolis modifies collagen types I and III accumulation in the matrix of burnt tissue. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 1-10.
- Onur, E., Nalbantsoy, A., & Kışla, D. (2018). İmmünoterapi ve propolisin kanser immünoterapisinde kullanım potansiyeli. *Food and Health*, 4(4), 231-246.
- Pahlavani, N., Malekhamadi, M., Firouzi, S., Rostami, D., Sedaghat, A., Moghaddam, AB., & Ghayour-Mobarhan, M. (2020). Molecular and cellular mechanisms of the effects of Propolis in inflammation, oxidative stress and glycemic control in chronic diseases. *Nutr Metab*, 17(1), 1-12.
- Palaz, MN., & Akcay, E. (2020). The impact of propolis factor caffeic acid phenethyl-ester on the cerebral vasospasm and early brain damage in the experimentally induced subarachnoid hemorrhage on rats. *World Neurosurg*, 138, e736-e742.
- Papapanagiotou, A., Daskalakis, G., Siasos, G., Gargalionis, A., & G Papavassiliou, A. (2016). The role of platelets in cardiovascular disease: molecular mechanisms. *Curr Pharm Des*, 22(29), 4493-4505.
- Patche, J., Girard, D., Catan, A., Boyer, F., Dobi, A., Planesse, C., & Rondeau, P. (2017). Diabetes-induced hepatic oxidative stress: a new pathogenic role for glycated albumin. *Free Radic Biol Med*, 102, 133-148.
- Paulino, N., Coutinho, LA., Coutinho, JR., Vilela, GC., da Silva Leandro, VP., & Paulino, AS. (2015). Antiulcerogenic effect of Brazilian propolis formulation in mice. *Pharmacol Pharm*, 6(12), 580.
- Piñeros, AR., de Lima, MH., Rodrigues, T., Gembre, AF., Bertolini, TB., Fonseca, MD., & Bonato, VL. (2020). Green propolis increases myeloid suppressor cells and CD4+ Foxp3+ cells and reduces Th2 inflammation in the lungs after allergen exposure. *J Ethnopharmacol*, 252, 112496.
- Rani, AJ., & Mythili, S. (2014). Study on total antioxidant status in relation to oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Diagn Res: JCDR*, 8(3), 108-110.
- Refaat, H., Mady, FM., Sarhan, HA., Rateb, HS., & Alaaeldin, E. (2021). Optimization and Evaluation of Propolis liposomes as a promising therapeutic approach for COVID-19. *Int J Pharm*, 592, 120028.
- Ren, K., Zhang, W., Wu, G., Ren, J., Lu, H., Li, Z., & Han, X. (2016). Synergistic anti-cancer effects of galangin and berberine through apoptosis induction and proliferation inhibition in oesophageal carcinoma cells. *Biomed Pharmacother*, 84, 1748-1759.
- Ripari, N., Sartori, AA., da Silva Honorio, M., Conte, FL., Tasca, KI., Santiago, KB., & Sforcin, JM. (2021). Propolis antiviral and immunomodulatory activity: a review and perspectives for COVID-19 treatment. *J Pharm Pharmacol*, 73(3), 281-29.
- Rivera-Yañez, N., Rivera-Yañez, CR., Pozo-Molina, G., Méndez-Catalá, CF., Méndez-Cruz, AR., & Nieto-Yañez, O. (2021). Biomedical properties of propolis on diverse chronic diseases and its potential applications and health benefits. *Nutrients*, 13(1), 78.
- Roquette, AR., Monteiro, NES., Moura, CS., Toret, VC., de Pace, F., Dos Santos, A., & Amaya-Farfan, J. (2015). Green propolis modulates gut microbiota, reduces endotoxemia and expression of TLR4 pathway in mice fed a high-fat diet. *Food Res Int*, 76, 796-803.
- Román-Pintos, LM., Villegas-Rivera, G., Rodríguez-Carrizalez, AD., Miranda-Díaz, AG., & Cardona-Muñoz, EG. (2016). Diabetic polyneuropathy in type 2 diabetes mellitus: inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function. *J Diabetes Res*, 2016, 1-16.
- Romero, M., Freire, J., Pastene, E., García, A., Aranda, M., & González, C. (2019). Propolis polyphenolic compounds affect the viability and structure of *Helicobacter pylori* in vitro. *Rev Bras Farmacogn*, 29(3), 325-332.
- Salas, AL., Alberto, MR., Zampini, IC., Cuello, AS., Maldonado, L., Rios, JL., & Isla, MI. (2016). Biological activities of polyphenols-enriched propolis from Argentina arid regions. *Phytomedicine*, 23(1), 27-31.
- Samadi, N., Mozaffari-Khosravi, H., Rahmadian, M., & Askarishahi, M. (2017). Effects of bee propolis supplementation on glycemic control, lipid profile and insulin resistance indices in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind clinical trial. *J Integr Med*, 15(2), 124-134.
- Sekiou, O., Bouziane, I., Bouslama, Z., & Djemel, A. (2020). In-silico identification of potent inhibitors

- of COVID-19 main protease (Mpro) and angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) from natural products: Quercetin, hispidulin, and cirsimaritin exhibited better potential inhibition than hydroxy-chloroquine against COVID-19 main protease active site and ACE2. ChemRxiv. Preprint, pp. 22.
- Seydi, E., Hosseini, SA., Salimi, A., & Pourahmad, J. (2016). Propolis induce cytotoxicity on cancerous hepatocytes isolated from rat model of hepatocellular carcinoma: Involvement of ROS-mediated mitochondrial targeting. *PharmaNutrition*, 4(4), 143-150.
- Silva, LMD., Souza, PD., Jaouni, SKA., Harakeh, S., Golbabapour, S., & de Andrade, SF. (2018). Propolis and its potential to treat gastrointestinal disorders. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 1-12.
- Silva-Beltrán, NP., Balderrama-Carmona, AP., Umsza-Guez, MA., & Machado, BAS. (2020). Antiviral effects of Brazilian green and red propolis extracts on Enterovirus surrogates. *Environ Sci Pollut Res*, 27(23), 28510-28517.
- Silveira, MAD., Capcha, JMC., Sanches, TR., de Sousa Moreira, R., Garnica, MS., Shimizu, MH., & Andrade, L. (2021). Green propolis extract attenuates acute kidney injury and lung injury in a rat model of sepsis. *Sci Rep*, 11(1), 1-11.
- Silveira, MAD., De Jong, D., Berretta, AA., dos Santos Galvão, EB., Ribeiro, JC., Cerqueira-Silva, T., & da Hora Passos, R. (2021). Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial. *BioMed & Pharmacother*, 138, 111526.
- Simone-Finstrom, M., & Spivak, M. (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41(3), 295-311.
- Simone-Finstrom, M., Borba, RS., Wilson, M., & Spivak, M. (2017). Propolis counteracts some threats to honey bee health. *Insects*, 8(2), 46.
- Soleimani, D., Miryan, M., Tutunchi, H., Navashenaq, JG., Sadeghi, E., Ghayour Mobarhan, M., & Ostadrahimi, A. (2021). A systematic review of preclinical studies on the efficacy of propolis for the treatment of inflammatory bowel disease. *Phytother Res*, 35(2), 701-710.
- Suleman, T., Van Vuuren, S., Sandasi, M., & Viljoen, AM. (2015). Antimicrobial activity and chemometric modelling of South African propolis. *J Appl Microbiol*, 119(4), 981-990.
- Sun, GW., Qiu, ZD., Wang, WN., Sui, X., & Sui, DJ. (2016). Flavonoids extraction from propolis attenuates pathological cardiac hypertrophy through PI3K/AKT signaling pathway. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 1-11.
- Tarakçı, C. (2018). *Helicobacter Pylori Karakterizasyonu, Bal ve Propolis Örneklerinin Bakteri ve Üreazı Üzerine İnhibisyon Etkilerinin Araştırılması*. Rize, Türkiye, Yüksek Lisans Tezi, RTEÜ.
- Tlak, GI., Iva, P., Mirza, B., Ivan, K., Siniša, S., Toni, V., & Josipa, V. (2017). Components responsible for antimicrobial activity of propolis from continental and Mediterranean regions in Croatian. *Czech J Food Sci*, 35(5), 376-385.
- Tünger, Ö. (2008). *Helicobacter pylori* infeksiyonları. *Türk J Infect*, 22(1), 107-15.
- Usman, UZ., Bakar, ABA., & Mohamed, M. (2018). Propolis improves pregnancy outcomes and placental oxidative stress status in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complement Alternat Med*, 18(1), 1-6.
- Veloz, JJ., Saavedra, N., Alvear, M., Zambrano, T., Barrientos, L., & Salazar, LA. (2016). Polyphenolic extract from propolis reduces the expression and activity of Streptococcus mutans glucosyltransferases at subinhibitory concentrations. *BioMed Res Int*, 2016, 1-7.
- Villanueva, M., González, M., Fernandez, H., Wilson, M., Manquían, N., Otth, C., & Otth, L. (2015). In vitro antibacterial activity of Chilean propolis against *Helicobacter pylori*. *Rev Chilena Infectol*, 32(5), 530-535.
- Vit, P., Bogdanov, S., & Kilchenmann, V. (1994). Composition of Venezuelan honeys from stingless bees (Apidae: Meliponinae) and *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 25(3), 278-288.
- Vukovic, NL., Obradovic, AD., Vukic, MD., Jovanovic, D., & Djurdjevic, PM. (2018). Cytotoxic, proapoptotic and antioxidative potential of flavonoids isolated from propolis against colon (HCT-116) and breast (MDA-MB-231) cancer cell lines. *Food Res Int*, 106, 71-80.
- Wang, K., Ping, S., Huang, S., Hu, L., Xuan, H., Zhang, C., & Hu, F. (2013). Molecular mechanisms underlying the in vitro anti-inflammatory effects of a flavonoid-rich ethanol extract from Chinese propolis (poplar type). *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 1-11.
- Yildirim, A., Duran, GG., Duran, N., Jenedi, K., Bolgul, BS., Miraloglu, M., & Muz, M. (2016). Antiviral activity of hatay propolis against replication of herpes simplex virus type 1 and type 2. *Med Sci Mon Int Med J Exp Clin Res*, 22, 422-430.
- Yoshimasu, Y., Ikeda, T., Sakai, N., Yagi, A., Hirayama, S., Morinaga, Y., & Nakao, R. (2018). Rapid bactericidal action of propolis against *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res*, 97(8), 928-936.
- Yuan, W., Chang, H., Liu, X., Wang, S., Liu, H., & Xuan, H. (2019). Brazilian green propolis inhibits Ox-LDL-stimulated oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells partly through PI3K/Akt/mTOR-mediated Nrf2/HO-1 pathway. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 1-12.
- Yuluğ, E., Türedi, S., Yıldırım, Ö., Yenilmez, E., Aliyazıcıoğlu, Y., Demir, S., & Menteşe, A. (2019). Biochemical and morphological evaluation of the effects of propolis on cisplatin induced kidney damage in rats. *Biotech Histochem*, 94(3), 204-213.
- Zaitone, SA., Ahmed, E., Elsherbiny, NM., Mehanna, ET., El-Kherbetawy, MK., ElSayed, MH., & Moustafa, YM. (2019). Caffeic acid improves locomotor

- activity and lessens inflammatory burden in a mouse model of rotenone-induced nigral neurodegeneration: Relevance to Parkinson's disease therapy. *Pharmacol Rep*, 71(1), 32-41.
- Zhang, YX., Yang, TT., Xia, L., Zhang, WF., Wang, JF., & Wu, YP. (2017). Inhibitory effect of Propolis on platelet aggregation in vitro. *J Healthc Eng*, 2017, 1-6.
- Zhao, L., Pu, L., Wei, J., Li, J., Wu, J., Xin, Z., & Guo, C. (2016). Brazilian green propolis improves antioxidant function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Env Res Public He*, 13(5), 498.
- Zhou, H., Wang, H., Shi, N., & Wu, F. (2020). Potential Protective Effects of the Water Soluble Chinese Propolis on Hypertension Induced by High Salt Intake. *Clin Transl Sci*, 13(5), 907-915.
- Zulhendri, F., Ravalia, M., Kripal, K., Chandrasekaran, K., Fearnley, J., & Perera, CO. (2021). Propolis in metabolic syndrome and its associated chronic diseases: a narrative review. *Antioxidants*, 10(3), 348.