

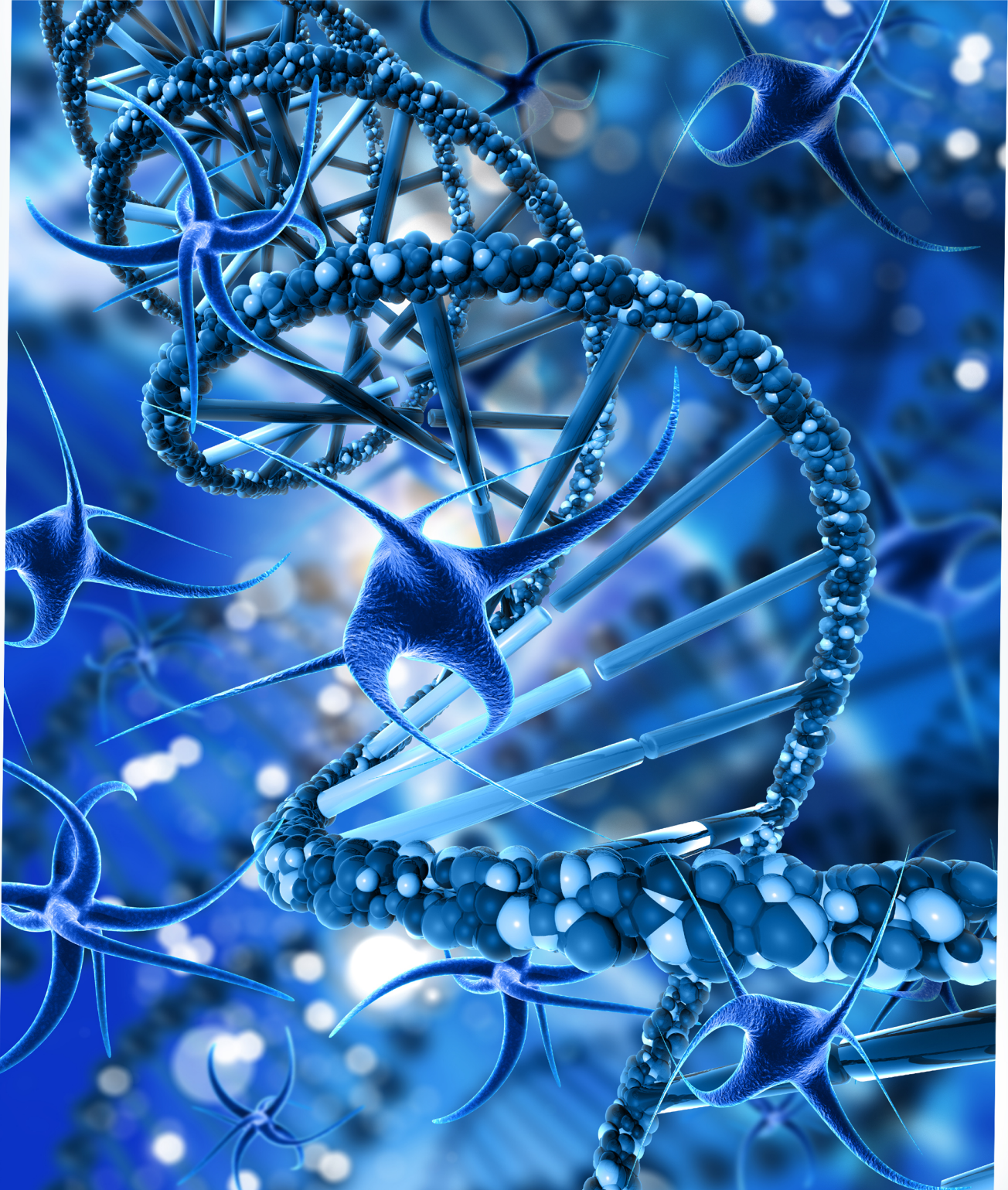


FARABI TIP DERGİSİ

FARABI MEDICAL JOURNAL

VOLUME 4 · ISSUE 3 · September 2025

CİLT 4 · SAYI 3 · Eylül 2025



FARABİ MEDICAL JOURNAL

FARABİ TIP DERGİSİ

OFFICIAL JOURNAL OF FACULTY OF MEDICINE OF KARADENİZ TECHNICAL UNIVERSITY
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ RESMİ DERGİSİ

Journal Owner / İmtiyaz Sahibi

Sevdegül AYDIN MÜNGAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Editor / Editör

Ahmet MENTEŞE, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Associated Editor / Editör Yardımcısı

Selim DEMİR, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Section Editors / Alan Editörleri

Ahmet EROĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Esin YULUĞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Gülin RENDA, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Gürdal YILMAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Murat LİVAOĞLU, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Mustafa KANDAZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Özlem KANBER UZUN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Rengin REİS, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar University, İstanbul, TR

Songül AKTAŞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Tamer TÜZÜNER, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Statistics Editor / İstatistik Editörü

Zeliha AYDIN KASAP, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Language Editors / Dil Editörleri

İsmail ABİDİN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Fulya BALABAN YÜCESAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Advisory Board / Danışma Kurulu

Abdulkaki AGBAS, Kansas City University, Kansas, USA

Ali AYGÜN, Ordu University, Ordu, TR

Başak ARU, Yeditepe University, İstanbul, TR

Başak TOĞAR, Bayburt University, Bayburt, TR

Burhan Hakan KANAT, Malatya Turgut Özal University, Malatya, TR

Cihan Süleyman ERDOĞAN, Yeditepe University, İstanbul, TR

Didem SEVEN, Yeditepe University, İstanbul, TR

Diler US ALTAY, Ordu University, Ordu, TR

Esra BEKİRCAN, Trabzon University, Trabzon, TR

Giuseppe BIAGINI, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, IT

Gül BÜLBÜL MARAŞ, İzmir Demokrasi University, İzmir, TR

İbrahim TURAN, University of Health Science, Ankara, TR

Karolin YANAR, İstanbul University-Cerrahpaşa, İstanbul, TR

Müge KOPUZ ALVAREZ NOVAL, Yeditepe University, İstanbul, TR

Nurcan KIRICI BERBER, Malatya Turgut Özal University, Malatya, TR

Savaş YAYLI, Koç University, İstanbul, TR

Seda GÜLEÇ YILMAZ, Yeditepe University, İstanbul, TR

Sevim GÖNEN, Gazi University, Ankara, TR

Süha TÜRKMEN, Qatar University, Doha, QA

Süleyman TÜREDİ, University of Health Science, Trabzon, TR

Şükrü KELEŞ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Volkan ERGİN, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Zehra BATU, İzmir Demokrasi University, İzmir, TR

Bibliographical Advising / Bibliyografik Danışman

Beyhan KARPUZ, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Design / Tasarım

Gonca ARSLAN, Karadeniz Technical University, Trabzon, TR

Journal Communication / Dergi İletişim

Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Farabi Street, 61080, Trabzon, Türkiye.

e-mail: farabimedj@ktu.edu.tr

e-ISSN: 2979-9821

This journal is peer-reviewed and published 4 issues per year.

There is no charge for submitting and publishing articles to our journal.

Hakemli bir dergi olup yılda 4 sayı olarak yayımlanmaktadır.

Dergimize makale göndermek ve yayımlamak için herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

Issue Content / Sayı İçeriği
Research Articles / Araştırma Makaleleri
Kübra Şentürk, Turan Set Erişkin Bireylerde Beslenme Okuryazarlığı ile Obezite İlişkisinin Değerlendirilmesi (Evaluation of the Relationship Between Nutrition Literacy and Obesity in Adult) __54-62
Zekeriya Duzgun, Funda Demirtas-Korkmaz, Ebru Alp Computational Investigation of the Interaction of Large-scale Plant and Animal-Derived Natural Secondary Metabolites with FOXM1 (Geniş Ölçekteki Bitki ve Hayvan Kökenli Doğal İkincil Metabolitlerin FOXM1 ile Etkileşiminin Hesaplamalı Olarak Araştırılması) __63-72
Mustafa Guner, Elif Ates Comparison of Vitamin B12 Levels and Cardiovascular Disease Risk Groups (Vitamin B12 Düzeyleri ile Kardiyovasküler Hastalık Risk Gruplarının Karşılaştırılması) __73-79
Ayşegül Sumer The Effect of Topiramate on Adiponectin Secretion in 3T3-L1 Adipocytes: An <i>In Vitro</i> Approach to Anti-Obesity Mechanisms (Topiramatin 3T3-L1 Hücrelerinde Adiponektin Salınımı Üzerine Etkisi: Anti-obezite Mekanizmalarına Yönelik Bir <i>In Vitro</i> Yaklaşım) __80-87
Kübra Güner-Karaca, Burak Kaya, Merve Erboğa, Cihangir Efe Aydın, Elif Ceren Arıkan, Süleyman Kaan Bayram, Ege Alemdaroğlu, Sude Naz Sarı, Ayşe Betül Baş, Berika Yumbul, Muhammed Ali Coşkun, Buğrahan Cıvı, Mihriban Özdemir, Mehmet Ali Bal, Koray Emre Çakmakoglu, Miraç Sevgi, Aleyna Nur Genç, Erdal Danacı, Turan Set Bir Üniversite Hastanesine Ayaktan Başvuran Hastaların Akılcı İlaç Kullanımı Durumlarının Değerlendirilmesi (Evaluation of the Rational Drug Use Status of Outpatients Applying to a University Hospital) __88-93
Review / Derleme
Nurseli Saylam, Elife Nur Köse, Özlem Çoban Lipid-Polimer Hibrit Nanopartiküller: Özellikleri, Hazırlama Yöntemleri ve Karakterizasyonlarına Güncel Bir Bakış (Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles: Current Insight into Their Properties, Preparation Methods and Characterization) __94-111

Issue Reviewers / Sayı Hakemleri

Aliye ÇELİKKOL, Tekirdağ Namık Kemal University, Tekirdağ, TR
Ash KOÇ, Ankara University, Ankara, TR
Bakiye GÖKER BAĞCA, Aydın Adnan Menderes University, Aydın, TR
Burcu KAYHAN TETİK, İnönü University, Malatya, TR
Çağdaş AKTAN, Bandırma Onyedi Eylül University, Balıkesir, TR
Ersan GÜRSOY, Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, TR
Esra PEZİK, Erzincan Binali Yıldırım University, Erzincan, TR
Hazal Ezgi GÜLTEKİN, İzmir Katip Çelebi University, İzmir, TR
Huriye DEMİR KABAŞ, Ondokuz Mayıs University, Samsun, TR
Mahcube ÇUBUKÇU, Samsun University, Samsun, TR
Mahmut Ozan TOKSOY, Dicle University, Diyarbakır, TR
Mehmet KAYHAN, Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu, TR
Melike KARABULUT ÖZER, Ordu University, Ordu, TR
Selçuk YAMAN, University of Health Sciences, Trabzon, TR
Sıla GÜLBAĞ PINAR, Süleyman Demirel University, Isparta, TR
Sibel TUNÇ KARAMAN, University of Health Sciences, İstanbul, TR
Tuğba Raika KIRAN, Malatya Turgut Özal University, Malatya, TR
Ümmühan YILMAZ, Adıyaman University, Adıyaman, TR
Yasemin SOYSAL, Dokuz Eylül University, İzmir, TR

Erişkin Bireylerde Beslenme Okuryazarlığı ile Obezite İlişkisinin Değerlendirilmesi

Evaluation of the Relationship Between Nutrition Literacy and Obesity in Adult

Kübra Şentürk^{1,2,a,*}, Turan Set^{2,b}

¹Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Erzincan İl Sağlık Müdürlüğü, İzzetpaşa Aile Sağlığı Merkezi, Erzincan, Türkiye.

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye.

*Sorumlu yazar e-posta: kubrasenturk@dr.com

^a<https://orcid.org/0009-0008-9496-2230>

^b<https://orcid.org/0000-0001-5931-0861>

ÖZET

Bu çalışmada beslenme okuryazarlığı ile obezite ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamız; kesitsel nitelikte olup Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı'nda Aralık 2023 ile Nisan 2024 tarihleri arasında yapılmıştır. Çalışmaya Aile Hekimliği polikliniklerine başvuran 18-64 yaş arası 328 hasta alınmıştır. Katılımcılar Vücut Kitle İndeksi (VKİ) <30 ve VKİ ≥30 olacak şekilde 2 gruba ayrılıp; katılımcılara sosyodemografik özellikleri ve Yetişkinlerde Beslenme Okuryazarlığı Değerlendirme Aracı'nı (YBOYDA) içeren bir anket formu, yüz yüze görüşme yöntemiyle uygulanmıştır. Çalışmamızda katılımcıların yaş ortalaması 35.1±12.7 yıl, VKİ ortalaması 29.2±6.9 kg/m² idi. Katılımcıların %67.7'sini (n=222) kadınlar, %39.6'sını (n=130) üniversite mezunları oluşturmaktaydı. Gruplar (Grup 1: VKİ <30 ve Grup 2: VKİ ≥30) karşılaştırıldığında; yaş (p=0.000), medeni durum (p=0.000), çocuk sayısı (p=0.000), eğitim durumu (p=0.000) ve kronik hastalık varlığı (p=0.000) açısından aralarında anlamlı fark vardı. Grupların YBOYDA'ndan aldıkları puanlar değerlendirildiğinde obez olan grubun besin grupları (p=0.004), porsiyon miktarları (p=0.03) ile sayısal okuryazarlık ve gıda etiketi okuma (p=0.000) altbölümlerinde diğer gruba göre yeterli puan alma oranları anlamlı derecede düşüktü. Çalışmamızda erişkinlerde VKİ arttıkça YBOYDA'dan alınan puanın azaldığı, obez olan bireylerde obez olmayanlara göre beslenme okur yazarlığı düzeyinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Çalışmamızın neticesinde obezitenin önlenmesinde kişilerin ve toplumun beslenme okur yazarlığı seviyesinin artırılmasının önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Beslenme, Obezite, Okuryazarlık

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the relationship between nutrition literacy and obesity. Our research was a cross-sectional study conducted at the Department of Family Medicine, Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, between December 2023 and April 2024. A total of 328 patients aged 18-64 who applied to the Family Medicine Outpatient Clinic were included in the study. Participants were divided into two groups based on Body Mass Index (BMI) <30 and BMI ≥30. A face-to-face questionnaire was administered, which included sociodemographic characteristics and the Evaluation Instrument of Nutrition Literacy on Adults (EINLA). In our study, the mean age of participants was 35.1±12.7 years, and the mean BMI was 29.2±6.9 kg/m². Among the participants, 67.7% (n=222) were female, and 39.6% (n=130) were university graduates. When comparing the two groups (Group 1: BMI <30 and Group 2: BMI ≥30), there were statistically significant differences in age (p=0.000), marital status (p=0.000), number of children (p=0.000), educational status (p=0.000), and presence of chronic disease (p=0.000). When evaluating the scores obtained from the EINLA, the group with obesity had significantly lower rates of achieving adequate scores in the subdomains of food groups (p=0.004), portion sizes (p=0.03), and numeracy and food label reading (p=0.000), compared to the non-obese group. Our findings revealed that as BMI increases in adults, scores from the nutrition literacy assessment tool decrease, indicating that individuals with obesity have lower levels of nutrition literacy compared to those without obesity. As a result of our study, it was concluded that improving the nutrition literacy levels of individuals and the general population plays a significant role in the prevention of obesity.

Keywords: Literacy, Nutrition, Obesity

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tanımına göre fazla kiloluluk ve obezite; vücutta, sağlığı bozacak oranda anormal ve aşırı yağ birikimidir. Obezite genel olarak vücut yağ kütesinin aşırı artışı sonucu, vücut boy uzunluğuna göre ağırlığın istenilen düzeyin üzerine çıkmasıdır.¹ Obeziteyi belirlemek için DSÖ'nün formül haline getirdiği indeks kullanılmaktadır. Bu indeks Vücut Kitle İndeksi (VKİ) olarak isimlendirilmiştir. DSÖ sınıflandırmasına göre; VKİ'si 18.5 kg/m² ve altında olan bireyler zayıf, VKİ'si 18.5 ile 25 kg/m² arasında olan bireyler normal kilolu, VKİ'si 30 kg/m² ve üzerinde olan bireyler obez olarak sınıflandırılmıştır.² DSÖ verileri 2022 yılında, 18 yaş ve üstündeki 2.5 milyar kişinin aşırı kilolu olduğunu ve bunların 890 milyondan fazlasının da obez olduğunu göstermiştir.³ DSÖ'nün 2022 yılındaki Avrupa Bölgesi Obezite Raporu verilerine bakıldığında ise; Avrupa Bölgesi'ndeki obezite prevalansı en yüksek olan ülkenin Türkiye olduğu görülmüştür. Türkiye'deki yetişkin nüfus incelendiğinde, nüfusun %66.8'inin fazla kilolu, %32.1'inin ise obez olduğu saptanmıştır.⁴ Yüksek VKİ'nin 2019 yılında, kardiyovasküler sistem hastalıkları, diyabet, maligniteler, kronik pulmoner hastalıklar, nörolojik hastalıklar ve gastrointestinal sistem hastalıklarına bağlı yaklaşık 5 milyon ölüme neden olduğu tahmin edilmektedir.⁵ Müdahale edilmezse, aşırı kilo ve obezitenin küresel maliyetinin 2030 yılına kadar yılda 3 trilyon dolara ulaşacağı ve 2060 yılına kadar 18 trilyon dolardan fazla olacağı tahmin edilmektedir.⁶

Obezite aşırı kalori alımı, yetersiz enerji harcanması veya her ikisine bağlı olarak uzun süreli enerji dengesizliği ile karakterize, kişinin genetiği ile çevre arasındaki karmaşık etkileşimin bir sonucu olarak gelişen kronik bir durumdur.⁷ Obezite harcanan enerjiye oranla aşırı enerji tüketiminden kaynaklansa da etiyolojisi oldukça karmaşıktır ve fizyolojik, çevresel, psikolojik, genetik, sosyal ve ekonomik pek çok faktörü içerir.⁸

Ülkemizde obezitenin en önemli nedenlerinin başta yaşlanma, diyabet ve hipertansiyon olduğu, bunlara ek olarak yaşanan çevre, sosyal ortam, kişinin eğitim düzeyi, yetersiz fiziksel aktivite gibi yaşam biçimini oluşturan faktörlerin de obezite gelişiminde katkısı olduğu bulunmuştur.² Obezite tedavisinde multidisipliner bir yaklaşım gereklidir. Tedavinin

temelinde diyet, egzersiz, eğitim ve davranış tedavisini içine alan yaşam tarzı değişiklikleri yer almaktadır.⁹

Beslenme: yaşamın sürdürülmesi, büyüme ve gelişme, sağlığının iyileştirilmesi, korunması ve geliştirilmesi, yaşam kalitesinin iyileştirilmesi, üretkenliğin sağlanması için gerekli olan besin öğelerinin tüketilerek vücutta kullanılması şeklinde tanımlanmaktadır.¹⁰ Beslenme okuryazarlığı ise: besin ve beslenme ile ilgili bilgilere ulaşma, analiz etme, değerlendirme, doğru kararlar alarak uygulayabilme, sağlıklı beslenmeyi sürdürme, uygun miktarda sağlıklı besin seçme ve tüketme, besin sisteminin işleyişini değerlendirme ve besin güvencesinin sağlanması için gerekli olan istek, bilgi, beceri, tutum, davranış ve yeteneklerin bileşimi olarak tanımlanmıştır. Ayrıca beslenme okuryazarlığı; sağlıklı beslenmeye yönelik motivasyonun sağlanması, sağlıklı besin seçiminin yapılması, sağlıklı beslenmenin sürdürülebilmesi, yiyecek ve içeceklerin doğru saklama koşullarında muhafaza edilmesi, besin etiketini doğru okuyabilme gibi temel amaçlara da hizmet etmektedir.¹¹ Bu çalışmada sağlığı koruma, geliştirme, toplumda beslenme ile ilişkilendirilen hastalıkları önleme ve yaşam kalitesini arttırmada önemli yeri olan beslenme okuryazarlığının obezite ile ilişkisinin olup olmadığının Yetişkinlerde Beslenme Okuryazarlığı Değerlendirme Aracı (YBOYDA) kullanılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Etik kurul onayı

Bu çalışmanın yürütülebilmesi için Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 2023/224 (14.12.2023) protokol numaralı etik kurul onayı alınmıştır. Katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Araştırmanın tipi

Bu çalışma kesitsel bir çalışmadır. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür.

Araştırma evreni ve örneklem

Araştırma evrenini; Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği polikliniklerine ve üniversitemize bağlı eğitim Aile Sağlığı Birimine başvuran 18-64 yaş arası hastalar arasından seçilen gönüllüler oluşturmaktadır.

Örneklem büyüklüğü bağımsız iki grup için hesaplanmıştır. Bağımsız örneklemelerde t testi çalışmasında, etki büyüklüğü Cohen d=0.4 ve tip 1 hata

0.05 olarak alındığında % 95’lik güç ile örneklem hacmi her bir grup için 164 olmak üzere toplam 328 olarak hesaplanmıştır. Örneklem hesabı G.Power version 3.1.9.7 ile yapılmıştır.

Çalışmaya alınma kriterleri

Okur-yazar olmak, 18-64 yaş arasında olmak, VKİ $\geq 18.5 \text{ kg/m}^2$ olmak olarak belirlenmiştir.

Çalışmadan dışlanma kriterleri

Araştırma boyunca görüşmeyi sürdüremeyecek düzeyde fiziksel ve/veya ruhsal bozukluğa sahip olmak, Yeme bozukluğuna sahip (anoreksiya nervoza, bulimia nervoza vs) olmak olarak belirlenmiştir.

Veri toplama araçları

Veriler araştırmacılar tarafından oluşturulan katılımcıların sosyodemografik özelliklerini sorgulayan sosyodemografik veri bilgi formu ile Yetişkinlerde Beslenme Okuryazarlığı Değerlendirme Aracı’ndan oluşan anket formuyla toplanmıştır.¹² Anketler uygulanmadan önce her hasta çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş ve Helsinki bildirgesine uygun olarak hazırlanmış bilgilendirilmiş gönüllü onam formu imzalatılmıştır.

Sosyodemografik veri bilgi formu

Bu çalışma için araştırmacılar tarafından hazırlanmış olan formda katılımcıların; yaş, boy, kilo, cinsiyet, medeni durum, çocuk sahibi olma durumu, meslek, eğitim düzeyi, aylık toplam gelir, kronik hastalık varlığı, sigara-alkol kullanım durumu ve günlük fiziksel aktiviteleri dışında egzersiz yapma durumu sorgulandı. Ayrıca bu sorulara ek olarak paketli gıda tüketim durumu, aldıkları gıdaların etiketini okuma durumu ve aldıkları gıdaların içeriğini okuma durumu beşli likert tipi sorularla değerlendirildi. Puanlaması 1 (hiçbir zaman) ile 5 (her zaman) arası puanlar verilerek yapıldı.

Yetişkinlerde beslenme okuryazarlığı değerlendirme aracı (YBOYDA)

35 sorudan oluşan ankette: birinci bölümde genel beslenme bilgisi, ikinci bölümde okuduğunu anlama ve yorumlama, üçüncü bölümde besin grupları, dördüncü bölümde porsiyon miktarları, beşinci bölümde sayısal okuryazarlık ve gıda etiketi okuma ile ilgili sorular bulunmaktadır. Doğru cevaplanan her soru bir puanken, yanlış cevaplanan ve boş bırakılan soruların puanı sıfır olarak hesaplanmıştır. Araçtan alınabilecek toplam puan 35’tir. Toplam puan üzerinden 0-11 puan arası yetersiz, 12-23 puan arası sınırdaki, 24-35 puan arası yeterli beslenme okuryazarlığı düzeyi olarak puanlandırıldı.

Alt bölümlerin puanlandırılması:

1. bölümde genel beslenme bilgisi ile ilgili 10 soru bulunurken; 0-3 puan yetersiz, 4-7 puan sınırdaki, 8-10 puan yeterli beslenme okuryazarlığı düzeyi,
2. bölümde okuduğunu anlama ve yorumlama ile ilgili 6 soru bulunurken; 0-2 puan yetersiz, 3-4 puan sınırdaki, 5-6 puan yeterli beslenme okuryazarlığı düzeyi,
3. bölümde besin grupları ile ilgili 10 soru bulunurken. 0-3 puan yetersiz, 4-7 puan sınırdaki, 8-10 puan yeterli beslenme okuryazarlığı düzeyi,
4. bölümde porsiyon miktarları ile ilgili 3 soru bulunurken, 0-1 puan yetersiz, 2 puan sınırdaki, 3 puan yeterli beslenme okuryazarlığı düzeyi,
5. bölümde sayısal okuryazarlık ve gıda etiketi okuma ile ilgili 6 soru bulunurken; 0-2 puan yetersiz, 3-4 puan sınırdaki, 5-6 puan yeterli beslenme okuryazarlığı düzeyi olarak değerlendirilmiştir.

Cesur, Koçoğlu ve Sümer tarafından 2015 yılında geliştirilen YBOYDA’nın madde güçlük derecesi 0.55, madde ayırt edicilik gücü 0.73, Cronbach Alfa güvenilirlik katsayısı 0.75 ve test tekrar test yöntemine göre korelasyon katsayısı 0.85 olarak bulunmuştur.¹² Yapmış olduğumuz bu çalışma için Cronbach Alfa değeri 0.74 olarak bulunmuştur.

İstatistiksel analiz

Çalışma verilerinin değerlendirilmesinde SPSS 26.0 paket programı kullanıldı. İstatistik hesaplamalar araştırmacılar tarafından yapıldı. Numerik değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu skewness ve kurtosis (çarpıklık ve basıklık) katsayılarının -1.5 ile +1.5 arasında olmasına göre değerlendirildi.¹³

Tanımlayıcı istatistikler yapıldı. Kategorik değişkenler arasındaki karşılaştırmalarda Ki-kare testi, numerik değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında bağımsız örneklemelerde T-Testi ve Mann Whitney U Testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

Çalışmaya katılan 328 katılımcının yaş ortalaması 35.1 ± 12.7 yıl, VKİ’lerinin ortalaması ise $29.2 \pm 6.9 \text{ kg/m}^2$ idi. Katılımcıların aylık toplam gelirlerinin ortancası 25000 (IQR: 12000-45500) TL olarak saptandı. Katılımcıların %67.7’si (n=222) kadın, %52.7’si (n=173) evliydi. Katılımcıların %35.1’i (n=115) öğrenciyken, %23.5’i (n=77) ev hanımıydı. Katılımcıların %64’ünün (n=210) bilinen kronik hastalığı yokken; %62.8’i (n=206) sigara kullanmamaktaydı. Katılımcılara yöneltilen “Günlük fiziksel aktiviteleriniz dışında düzenli egzersiz yapar

mısınız?” sorusuna, katılımcıların %63.4’ü (n=208) “Hayır” cevabını vermiştir. Çalışmamızda katılımcılar VKİ’lerine göre; Grup 1: VKİ<30 ve Grup 2: VKİ≥30 olacak şekilde 2 gruba ayrılarak gruplar arasında karşılaştırmalar yapılmıştır. Katılımcıların gruplara göre sosyodemografik özellikleri Tablo 1’de gösterilmiştir.

Katılımcıların paketli gıda tüketimi ile ilgili tutumlarını değerlendirmek amacıyla sorular sorulmuştur. Sorulardan sadece “Aldığınız gıdaların etiketini okur musunuz?” sorusuna iki grubun verdiği cevaplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Katılımcıların gruplara (Grup 1: VKİ<30 ve Grup 2: VKİ≥30) göre verdikleri cevaplar Tablo 2’de gösterilmiştir.

Katılımcıların YBOYDA’ndan aldığı en düşük puan 11 iken en yüksek puan 35’tir. YBOYDA’nda okuduğunu anlama altboyutundan obez olan grup 5.1±0.7; VKİ<30 olan grup 5.3±0.7 puan (p=0.009) almış olup katılımcıların YBOYDA’ndan aldığı puanlar Tablo 3’te verilmiştir.

Çalışmamızda besin grupları altboyutunda: obez olan grubun %83.5’i, VKİ<30 olan grubun %93.9’u (p=0.004) yeterli puan alırken; porsiyon miktarları altboyutunda obez olan grubun %52.4’ü, VKİ<30 olan grubun %39’u (p=0.03) yetersiz puan almıştır, Katılımcıların YBOYDA’ndan aldığı puanların değerlendirilmesi Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 1. Katılımcıların gruplara göre sosyodemografik özellikleri

		Grup 1 (VKİ<30)		Grup 2 (VKİ≥30)		p
Yaş (yıl) [Ortalama±Standart Sapma]		29.7±10.4		40.4±12.5		0.000*
Aylık toplam gelir (TL) [Ortanca (% 25-75 Çeyrekler Arası Aralık)]		23500 (10000-50000)		25000 (15000-40000)		0.827**
		n	%	n	%	
Cinsiyet	Kadın	111	67.7	111	67.7	1.00***
	Erkek	53	32.3	53	32.3	
Medeni durum	Evli	52	31.7	121	73.8	0.000***
	Bekar	112	68.3	43	26.2	
Çocuk sayısı	Yok	111	67.7	55	33.5	0.000***
	1 tane	14	8.5	19	11.6	
	2 tane	28	17.1	41	25.0	
	3 tane	6	3.7	43	26.2	
	4 ve üzeri	5	3.0	6	3.7	
Eğitim düzeyi	İlkokul ve altı	9	5.5	41	25.0	0.000***
	Ortaokul	4	2.4	10	6.1	
	Lise	71	43.3	63	38.4	
	Üniversite	80	48.8	50	30.5	
Kronik hastalık	Yok	132	80.5	78	47.6	0.000***
	Var	32	19.5	86	52.4	
Sigara	Evet	52	31.7	57	34.8	0.540***
	Hayır	107	65.3	99	60.3	
	Bıraktım	5	3.0	8	4.9	
Alkol	Evet	15	9.1	15	9.1	0.161***
	Hayır	148	90.3	143	87.2	
	Bıraktım	1	0.6	6	3.7	
Egzersiz	Evet	53	32.3	67	40.9	0.109***
	Hayır	111	67.7	97	59.1	

*Bağımsız örneklemelerde T testi, **Mann Whitney U testi, ***Ki-Kare testi

Tablo 2. Paketli gıda tüketimi ile ilgili sorulara katılımcıların gruplara göre verdiği cevaplar

		Paketli gıda tüketir misiniz?		Aldığınız gıdaların etiketini okur musunuz?		Aldığınız gıdaların içeriğini okur musunuz?	
		n	%	n	%	n	%
Grup 1 (VKİ<30)	Hiçbir zaman	3	1.8	8	4.9	10	6.1
	Nadiren	33	20.1	49	29.8	37	22.6
	Bazen	65	39.7	61	37.2	59	36.0
	Çoğunlukla	52	31.7	36	22.0	47	28.6
	Her zaman	11	6.7	10	6.1	11	6.7
Grup 2 (VKİ≥30)	Hiçbir zaman	11	6.7	28	17.1	20	12.2
	Nadiren	45	27.4	43	26.2	41	25.0
	Bazen	62	37.8	49	29.8	40	24.4
	Çoğunlukla	38	23.2	37	22.6	46	28.0
	Her zaman	8	4.9	7	4.3	17	10.4
p		0.058*		0.010*		0.075*	

*Ki-Kare testi

Tablo 3. Katılımcıların gruplara göre YBOYDA'ndan aldığı puanlar

YBOYDA alt bölümleri puanları	Grup 1 (VKİ<30)	Grup 2 (VKİ≥30)	p
Genel beslenme bilgisi puanı [Ortanca (% 25-75 Çeyrekler Arası Aralık)]	9 (8-10)	9 (8-10)	0.269*
Okuduğunu anlama ve yorumlama puanı [Ortalama±Standart Sapma]	5.3±0.7	5.1±0.7	0.009**
Besin grupları puanı [Ortanca (% 25-75 Çeyrekler Arası Aralık)]	9 (9-10)	9 (8-10)	0.015*
Porsiyon miktarları puanı [Ortalama±Standart Sapma]	1.7±0.7	1.5±0.8	0.054**
Sayısal okuryazarlık ve gıda etiketi okuma puanı [Ortalama±Standart Sapma]	3.5±1.7	2.9±1.4	0.001**
Toplam puan [Ortanca (% 25-75 Çeyrekler Arası Aralık)]	29 (26-31)	27 (24-29)	0.000*

*Mann Whitney U testi, **Bağımsız Örneklemelerde T testi

Tablo 4. Katılımcıların gruplara göre YBOYDA’ndan aldığı puanların değerlendirilmesi

YBOYDA alt bölümleri değerlendirme		Grup 1 (VKİ<30)		Grup 2 (VKİ≥30)		p
		n	(%)	n	(%)	
Genel beslenme bilgisi değerlendirilmesi	Yetersiz	1	0.6	1	0.6	0.786*
	Sınırdaki	30	18.3	35	21.4	
	Yeterli	133	81.1	128	78.0	
Okuduğunu anlama ve yorumlama değerlendirilmesi	Yetersiz	0	0	0	0	0.657*
	Sınırdaki	26	15.9	29	17.7	
	Yeterli	138	84.1	135	82.3	
Besin grupları değerlendirmesi	Yetersiz	0	0	6	3.7	0.004*
	Sınırdaki	10	6.1	21	12.8	
	Yeterli	154	93.9	137	83.5	
Porsiyon miktarları değerlendirilmesi	Yetersiz	64	39.0	86	52.4	0.030*
	Sınırdaki	69	42.1	48	29.3	
	Yeterli	31	18.9	30	18.3	
Sayısal okuryazarlık ve gıda etiketi okuma değerlendirilmesi	Yetersiz	44	26.8	67	40.8	0.000*
	Sınırdaki	73	44.5	79	48.2	
	Yeterli	47	28.7	18	11.0	
Toplam puan değerlendirilmesi	Yetersiz	0	0	1	0.6	0.122*
	Sınırdaki	17	10.4	28	17.1	
	Yeterli	147	89.6	135	82.3	

*Ki-Kare testi

TARTIŞMA

Çalışmamızda erişkinlerde VKİ arttıkça Yetişkinlerde Beslenme Okuryazarlığı Değerlendirme Aracından alınan puanın azaldığı, obez olan bireylerin olmayanlara göre beslenme okur yazarlığı düzeyinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca, obezitenin artan yaş, evli olma durumu, çocuk sayısının fazlalığı, düşük eğitim düzeyi ve kronik hastalık varlığı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda obez olan grupta katılımcıların yaş ortalaması obez olmayan gruba göre anlamlı olarak daha yüksekti. Özenoğlu ve ark.¹⁴ ile Kulak ve ark.¹⁵ tarafından yapılan çalışmalarda da yaş arttıkça VKİ’nin arttığı gösterilmiştir. Artan yaşla beraber bazal metabolizma hızının ve enerji tüketiminin azalmasına ek olarak fiziksel aktivitenin de azalması obezite eğilimini arttırmaktadır.

Çalışmamızda gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Özenoğlu ve ark.¹⁴ ile Bektaş ve ark.¹⁶ tarafından yapılan çalışmalarda katılımcıların cinsiyetleri ile VKİ ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu ve erkeklerin VKİ ortalamasının kadınlara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda medeni durum değerlendirildiğinde obez olan grupta evlilerin oranının anlamlı olarak daha fazla olduğu saptandı. Başka çalışmalara bakıldığında Kaner ve ark. evli olmanın obeziteyi arttırdığını¹⁷; Çayır ve ark. dul ya da boşanmış olmanın bekar ve evli olmaya göre obeziteyi arttırdığını saptamıştır.¹⁸ Bu durum evliliğin yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıklarında değişikliklere sebep olması ile ilişkilendirilebilir.

Çalışmamızda obez olmayan gruptaki katılımcıların obez olanlara göre daha az çocuk sahibi olduğu görülmüştür. Çayır ve ark. çocuk sayısı arttıkça, obezite

oranının arttığını¹⁸; Kaner ve ark. üç ya da daha fazla doğum yapan kadınlarda bir ya da iki doğum yapan kadınlara göre obezite görülme sıklığının arttığı saptanmıştır.¹⁷ Bu da kadınların doğum sayısı arttıkça, doğumdan sonra eski ağırlık değerlerine dönmemesinin zor olduğunu düşündürmektedir.

Gruplar karşılaştırıldığında ilkökul ve altı eğitim düzeyine sahip olan katılımcılar obez olan grupta anlamlı olarak fazlaydı. Eğitim seviyesi arttıkça obezitenin azaldığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır.^{18,19} Eğitim düzeyi arttıkça obezitenin azalması, kişinin bilinçlendikçe sağlığıyla ilgili sorumluluklarını almasıyla ilişkilendirilebilir.

Çalışmamızda obez katılımcıların kronik hastalığa sahip olma oranı obez olmayan gruba göre anlamlı olarak fazlaydı. Kozan ve ark.'nın²⁰ yaptığı bir çalışmada benzer sonuçlar bulunurken Ünal ve ark.'nın bir çalışmasında kronik hastalık durumu ile VKİ arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.²¹ Obezitenin başta DM, HT, dislipidemi olmak üzere pek çok kronik hastalıkla ilişkili olduğu bilinen bir gerçek olduğundan farklı çalışmalarda farklı sonuçlar çıkmasının popülasyon özellikleriyle ilişkili olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızda aylık toplam gelir, sigara, alkol tüketimi ve egzersiz yapma durumunda iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Çayır ve ark.¹⁸ ile Kilpi ve ark.²² gelir düzeyi arttıkça obezitenin azaldığını; Ünal ve ark.²¹ ise gelir düzeyi arttıkça obezitenin arttığını tespit etmiştir. Kozan ve ark.'nın²⁰ çalışmasında ise bizim çalışmamızdaki gibi aylık toplam gelirle obezite arasında bir ilişki saptanmamıştır. Cinemre ve ark.²³ ile Kaner ve ark.¹⁷ çalışmalarında düzenli egzersiz yapanların daha düşük VKİ'ye sahip oldukları bulunmuşken bizim çalışmamızda egzersiz yapma durumu ile obezite arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bunun nedeni çalışmamızda değerlendirilmemiş olmakla birlikte obez katılımcıların bir kısmının kilo verme girişimi içinde olup egzersiz yapıyor olması olabilir.

Çalışmamızda tarafımızca katılımcıların paketli gıda tüketimi ile ilgili tutumlarını değerlendirmek amacıyla hazırlanan sorulardan; "Paketli gıda tüketir misiniz?" "Aldığınız gıdaların içeriğini okur musunuz?" sorularına iki grup benzer yanıtlar verirken, "Aldığınız gıdaların etiketini okur musunuz?" sorusuna obez olan grupta "Hiçbir zaman" cevabını veren katılımcıların sayısı obez olmayan gruba göre anlamlı olarak fazlaydı. Bundan obez bireylerin gıda etiketi okuma alışkanlıklarının zayıf olduğu sonucu çıkarılabilir.

Çalışmamızda obez olmayan grubun YBOYDA toplam puan ortancası 29 (26-31) iken obez olan grubun toplam puan ortancası 27 (24-29) olarak bulunmuştur. Gruplar karşılaştırıldığında obez olan grup YBOYDA'ndan obez olmayan gruba göre anlamlı olarak daha düşük puan almıştır.

Ölçek altboyut puanları değerlendirildiğinde okuduğunu anlama ve yorumlama, besin grupları ile sayısal okuryazarlık ve gıda etiketi okuma puanlarının da obez olan grupta anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur. Genel beslenme bilgisi ve porsiyon miktarları için gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Cesur ve ark. Sivas'ta 18-64 yaş arasında 266 bireyle yaptığı bir çalışmada katılımcıların YBOYDA puan ortalaması 26.2 olarak saptanmıştır.²⁴ Kırsal kesimde Topçu ve ark.²⁵ kadınlarda yaptığı bir çalışmada katılımcıların YBOYDA toplam puan ortalaması 23.66±4.54; üniversite öğrencilerinde yapılan bir çalışmada öğrencilerin YBOYDA puan ortalaması 25.06±5.62 bulunmuştur.²⁶ Bu gibi çalışmalardan yola çıkarak beslenme okur yazarlığını etkileyen VKİ dışında cinsiyet, yaş, eğitim durumu gibi birçok faktör olduğu sonucu çıkarılabilir.

Çalışmamızda obez olan grubun %82.3'ü YBOYDA'ndan yeterli, %17.1'i sınırdan, %0.6'sı yetersiz puan alırken; obez olmayan grubun %89.6'sı yeterli, %10.4'ü sınırdan puan almıştır. Obez olan gruptaki katılımcıların beslenme okur yazarlığı düzeyi daha düşük olsa da aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Kozan ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada YBOYDA'ndan alınan toplam puana göre fazla kilolu/obez olan kadınların %91.7'si "yeterli", %7.4'ü "sınırdan", %0.8'i ise "yetersiz beslenme okuryazarlığı düzeyine" sahip olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada YBOYDA'ndan alınan toplam puana göre fazla kilolu/obez olmayan kadınların %94.1'inin "yeterli", %4.2'sinin "sınırdan", %1.7'sinin ise "yetersiz beslenme okuryazarlığı düzeyine" sahip olduğu bulunmuştur.²⁰ Bizim çalışmamızda YBOYDA'ndan yeterli puan alma oranının daha düşük olmasının nedeni Kozan ve arkadaşlarının çalışmasında katılımcıların sadece kadınlardan oluşuyor olması olabilir. Çalışmamızda değinilmemiş olsa da başka çalışmalarda kadınların YBOYDA'ndan aldıkları puanların daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.^{24,26}

Cesur ve ark.'nın çalışmasında katılımcılardan yeterli düzeyde beslenme okuryazarlığına sahip olanların oranı %79.8 bulunmuşken,²⁴ Kılıç ve ark.'nın kadınlarda yaptığı bir çalışmada katılımcıların %98.5'inin

beslenme okuryazarlığı düzeyi yeterli olarak bulunmuştur.²⁷ Bursa’da yapılan bir çalışmada katılımcıların %94.4’ünün YBOYDA’ndan yeterli düzeyde puan aldığı saptanırken,²¹ Yozgat’ta üniversite öğrencilerinde yapılan bir çalışmada ise katılımcıların %73.5’inin YBOYDA’ndan yeterli düzeyde puan aldığı bulunmuştur.²⁶ Farklı sonuçlar alınması çalışmaların yapıldığı merkezlerin, şehirlerin farklı olması ve katılımcıların sosyodemografik özellikleriyle ilişkilendirilebilir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre bireylerin çoğunluğunun genel beslenme bilgisi, okuduğunu anlama yorumlama ve besin gruplarını değerlendirme oranları yüksekken günlük porsiyon miktarları ile gıda etiketi ve sayısal okuryazarlık gerektiren hesaplamalar konusunda yetersiz oldukları görülmüştür.

Porsiyon bilgisi yeterli ve dengeli beslenmede dikkate edilmesi gereken önemli bir noktadır. Gıda etiketi okuma uzmanlarca önerilen kalori kontrol yöntemlerinin başında gelmektedir. Gıda etiketi okumayı doğru bilmek besinlerin kalorisini ve içeriğini görmeyi ve kalori kontrolünü sağlamaktadır.

Hazır gıda alımında ürün etiketi okuma kişileri yönlendirmektedir. Zaman kısıtlılığı, çalışma şartları gibi nedenlerle insanlar hazır ve hızlı beslenme seçeneklerine başvurmaktadır. Bu gibi durumlarda gıda etiketleri sağlık açısından iyi bir yönlendiricidir.

Çalışmamızda kullanılan YBOYDA’nda sayısal okuryazarlık ve gıda etiketi okuma bölümünde ilk soruda VKİ’ye göre obezite sınıflandırmasında ‘Zayıf:<20kg/m²’ iken ‘Normal kilolu: 20.0-24.9 kg/m²’ olarak belirtilse de DSÖ sınıflaması baz alınarak sorudaki bilgilendirme kısmı değiştirilmiştir. Bu durum çalışmamızın için sınırlılık olarak görülebilir. Ayrıca çalışmamızda katılımcılara daha önce beslenme danışmanlığı alıp almadığı, diyet yapma durumu sorgulanmamıştır, bu durum da sınırlılık olarak değerlendirilebilir.

SONUÇ

Çalışmamızda erişkinlerde VKİ arttıkça YBOYDA’ndan alınan puanın azaldığı, obez olan bireylerde obez olmayanlara göre beslenme okur yazarlığı düzeyinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu sonuçtan yola çıkarak kişilerin ve toplumun beslenme okur yazarlığı seviyesinin artırılmasının obezitenin önüne geçilmesinde önemli bir yere sahip olduğu düşünülebilir.

Çalışmamızda her iki grupta da katılımcıların çoğunun temel beslenme, okuduğunu anlayıp yorumlayabilme ve

besin grupları bilgisinin yüksek olduğu görülmüştür. Fakat katılımcıların çoğunluğunun porsiyon miktarları, gıda etiketi ve sayısal okuryazarlık bilgi düzeylerinin yetersiz olduğu saptanmıştır. Obez olan grupta ise besin grupları, porsiyon miktarları ile sayısal okuryazarlık ve gıda etiketi okuma altboyutlarında yeterli puan alma oranları anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ölçeğin diğer altboyutlarında da obez olan grubun yeterli puan alma oranları daha düşük olmakla birlikte bu durum iki grup arasında anlamlı bulunmamıştır.

Sağlıklı ve dengeli beslenmeyi teşvik etme ve toplumu bilinçlendirmede aile hekimlerine önemli görevler düşmektedir. Birinci basamak hastanın en kolay ulaşabileceği ve sürekliliği sağlayabileceği noktadır. Bu durumu fırsata çevirip toplumun beslenme okur yazarlığı düzeyini artırılabilir, obezite farkındalığı kazandırılabilir, değiştirilebilir risk faktörlerine yönelik korunma ve müdahale çalışmaları düzenlenebilir.

Yazarlık katkı beyanı

Konsept ve dizayn: KŞ, TS.

Verilerin eldesinde: KŞ.

Verilerin analizinde ve yorumlanmasında: TS, KŞ.

Makale yazımında: KŞ, TS.

Makale revizyonu ve entelektüel katkı: TS.

Gözetiminde: TS.

Yazar çıkar çatışması

Yazarlar potansiyel çıkar çatışmalarına sahip değildir.

Etik onay

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol no: 2023/224).

Veri ve materyallerin mevcudiyeti

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler bu yayınlanan makaleye dahil edilmiştir.

Destek

Bu araştırma için herhangi bir mali destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Janić M, Janež A, El-Tanani M, Rizzo M. Obesity: Recent Advances and Future Perspectives. *Biomedicines*. 2025;13(2):368.
2. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu. 2019. Accessed July 1, 2024. https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/20190506163904-2019tbl_kilavuz5ccdcb9e5d.pdf?a=1
3. World Health Organization. Obesity and Overweight. Accessed July 9, 2024. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

4. World Health Organization Regional Office for Europe. WHO European Regional Obesity Report 2022. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022.
5. GBD 2019 Risk Factors Collaborators. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020;396(10258):1223-1249.
6. Okunogbe A, Nugent R, Spencer G, Powis J, Ralston J, Wilding J. Economic impacts of overweight and obesity: current and future estimates for 161 countries. *BMJ Glob Health*. 2022;7(9):e009773.
7. National Research Council (US) Committee on Diet and Health. Diet and health: Implications for reducing chronic disease risk. Washington (DC): National Academies Press (US); 1989.
8. Aronne LJ, Nelinson DS, Lillo JL. Obesity as a disease state: a new paradigm for diagnosis and treatment. *Clin Cornerstone*. 2009;9(4):9-29.
9. Racette SB, Deusinger SS, Deusinger RH. Obesity: overview of prevalence, etiology, and treatment. *Phys Ther*. 2003;83(3):276-288.
10. Yardım N, Çelikay N, Aykul F, Kelat EZ. Türkiye Beslenme Rehberi TUBER 2022. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü; 2022.
11. Aktaş N, Özdoğan Y. Gıda ve beslenme okuryazarlığı. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*. 2016;20(2):146-153.
12. Cesur B, Koçoğlu G, Sümer H. Evaluation instrument of nutrition literacy on adults (EINLA): the study of validity and reliability. *Integr Food Nutr Metab*. 2015;2(3):174-177.
13. Tabachnick BG, Fidell LS. Using Multivariate Statistics. 6th ed. Boston, MA: Pearson; 2013.
14. Özenoğlu A, Gün B, Karadeniz B, et al. Yetişkinlerde beslenme okuryazarlığının sağlıklı beslenmeye ilişkin tutumlar ve beden kütle indeksi ilişkisi. *NWSA Academic Journals*. 2021;16(1):1-18.
15. Kulak E, Berber B, Temel H, et al. Determination of type 2 diabetes risk levels in individuals applying to family medicine. *Turk J Fam Pract*. 2019;23(1):20-30.
16. Bektaş Y, Gültekin T, Akın G, Önal S. Obezitenin değerlendirilmesinde beden kütle indeksi ve biyoelektrik empedans metotlarının etkinliğinin karşılaştırılması. *Anthropology*. 2014;28:67-86.
17. Kaner G, Seremet Kürklü N, Tel Adıgüzel K, Bellikci Koyu E. Obesity prevalence and related risk factors in women who apply to nutrition and diet clinic in Izmir. *Pamukkale Med J*. 2017;10(3):250-257.
18. Çayır A, Atak N, Köse SK. Beslenme ve Diyet Kliniğine başvuranlarda obezite durumu ve etkili faktörlerin belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. 2011;64(1):13-19.
19. Çın A, Akkan T, Dağdeviren M, Şengezer T, Altay M. Valuation of the relationship of health literacy and healthy eating attitude in obesity. *Turk J Fam Pract*. 2022;26(4):154-163.
20. Kozan EH. Fazla kilolu ve obez olan ve olmayan erişkin kadınların beslenme okuryazarlığı ve etkileyen faktörler [Yüksek Lisans tezi]. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü; 2019.
21. Ünal E. Bursa ili merkez ilçelerindeki sağlıklı yaşam merkezlerinin obezite danışma birimlerini tercih eden bireylerin beden kitle indeksleri ile beslenme okuryazarlıkları düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi [Yüksek Lisans tezi]. Bursa: Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2018.
22. Kilpi F, Webber L, Musingner A, et al. Alarming predictions for obesity and non-communicable diseases in the Middle East. *Public Health Nutr*. 2014;17(5):1078-1086.
23. Cinemre S. Beslenme danışma merkezine başvuran kadınların beslenme okuryazarlığının obezite ile ilişkisi [Yüksek Lisans tezi]. İstanbul: Haliç Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü; 2021.
24. Cesur B. Sivas İl Merkezi Yetişkin Nüfusta Beslenme Okuryazarlığı Durumu ve Yaşam Kalitesi ile İlişkisi [Doktora tezi]. Sivas: Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2014.
25. Topçu S, Torpil H. Kırsal kesimde yaşayan kadınların beslenme okuryazarlığının değerlendirilmesi. *HÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*. 2022;9(2):438-451.
26. İbiş R, Öztürk A. Üniversite öğrencilerinde beslenme okuryazarlığı durumu ve obezite ile ilişkisi: Yozgat örneği. *Gümüşhane Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2023;12(2):700-712.
27. Kılıç G. Yetişkin kadınların beslenme okuryazarlığı durumlarının incelenmesi [Yüksek Lisans tezi]. Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2021.

To Cite: Senturk K, Set T. Evaluation of the Relationship Between Nutrition Literacy and Obesity in Adult. *Farabi Med J*. 2025;4(3):54-62.

Computational Investigation of the Interaction of Large-scale Plant and Animal-Derived Natural Secondary Metabolites with FOXM1

Geniş Ölçekteki Bitki ve Hayvan Kökenli Doğal İkincil Metabolitlerin FOXM1 ile Etkileşiminin Hesaplamalı Olarak Araştırılması

Zekeriya Duzgun^{1,a,*}, Funda Demirtas-Korkmaz^{1,b}, Ebru Alp^{1,c}

¹Giresun University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Giresun, Türkiye.

*Corresponding author e-mail: zduzgun@gmail.com, zekeriya.duzgun@giresun.edu.tr

^a<https://orcid.org/0000-0001-6420-6292>

^b<https://orcid.org/0000-0003-3978-9427>

^c<https://orcid.org/0000-0001-7303-666X>

ABSTRACT

FOXM1, a transcription factor from the Forkhead box family, serves as a crucial proto-oncogene that plays a role in cancer advancement, spread to distant sites, and resistance to chemotherapy across various human malignancies. The development of selective and therapeutically efficient FOXM1 inhibitors remains a significant challenge in the field. This study employed a multi-step computational approach to identify novel small-molecule compounds that target the DNA-binding domain (DBD) of FOXM1. A structure-guided virtual screening process was conducted using an extensive chemical compound database, evaluated against the crystallographic structure of FOXM1's DNA-binding domain (PDB ID: 3G73). The top-ranking compounds underwent preliminary 10-nanosecond evaluations, subsequently followed by comprehensive 100-nanosecond molecular dynamics (MD) simulations. The binding affinities of the most thermodynamically stable protein-ligand complexes were determined through MM/GBSA calculations. The preliminary computational screening revealed 21 compounds that exhibited docking scores superior to -9.1 kcal/mol. Following 10 ns MD simulations, five compounds were selected, and 100 ns MD simulations confirmed the stable binding of these two compounds (comp_105546, comp_112458). MM/GBSA calculations identified comp_112458 as the most potent binder (-36.25±3.5 kcal/mol). This study successfully identified novel chemical scaffolds with high predicted affinity and stable binding modes against FOXM1, providing a strong foundation for the development of targeted anticancer agents. These promising computational results require validation through *in vitro* and *in vivo* studies.

Keywords: Cancer therapy, FOXM1, MM/GBSA, Molecular dynamics, Virtual screening

ÖZET

FOXM1, Forkhead box ailesinden bir transkripsiyon faktörü olup, çeşitli insan malignitelerde kanserin ilerlemesi, uzak bölgelere yayılması ve kemoterapiye karşı direnç gelişmesinde rol oynayan kritik bir proto-onkogendir. Seçici ve terapötik olarak etkili FOXM1 inhibitörlerinin geliştirilmesi bu alanda önemli bir zorluk olmaya devam etmektedir. Bu çalışma, FOXM1'in DNA-bağlama alanını (DBD) hedefleyen yeni küçük molekül bileşiklerini belirlemek için çok aşamalı bir hesaplamalı yaklaşım kullanmıştır. FOXM1'in DNA-bağlama alanının kristalografik yapısına (PDB ID: 3G73) karşı geniş bir kimyasal bileşik veritabanı kullanılarak yapı-güdümlü sanal tarama işlemi gerçekleştirilmiştir. En yüksek sıralamaya sahip bileşikler, öncelikle 10-nanosaniye değerlendirmelerinden geçirilmiş, ardından kapsamlı 100-nanosaniye moleküler dinamik (MD) simülasyonları ile takip edilmiştir. Termodinamik olarak en kararlı protein-ligand komplekslerinin bağlanma afiniteleri MM/GBSA hesaplamaları ile belirlenmiştir. Ön hesaplamalı tarama, -9.1 kcal/mol'den daha iyi docking skorları gösteren 21 bileşik ortaya çıkarmıştır. 10 ns MD simülasyonları sonrasında beş bileşik seçilmiş ve 100 ns MD simülasyonları bu iki bileşiğin (comp_105546, comp_112458) kararlı bağlanmasını doğrulamıştır. MM/GBSA hesaplamaları comp_112458'i en güçlü bağlayıcı (-36.25±3.5 kcal/mol) olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, FOXM1'e karşı yüksek öngörülen afinite ve kararlı bağlanma modları olan yeni kimyasal iskeletleri başarıyla tanımlamış ve hedefli antikanser ajanlarının geliştirilmesi için güçlü bir temel sağlamıştır. Bu umut verici hesaplamalı sonuçların *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: FOXM1, Kanser tedavisi, MM/GBSA, Moleküler dinamik, Sanal tarama

INTRODUCTION

The Forkhead box (FOX) family of transcription factors represents a large family of evolutionarily conserved proteins which control various cellular functions such as cell division cycles, cellular specialization, programmed cell death, and metabolic processes. Among the FOX family members, Forkhead box M1 (FOX M1) is currently acknowledged as an essential cancer-promoting gene. FOXM1 represents a vital growth-related protein that is abnormally elevated in most human cancers and controls various cancer cell behaviors, such as proliferation, spreading, relapse, and stem cell characteristics.

Under normal physiological conditions, FOXM1 expression is tightly regulated and restricted to proliferating cells, with maximum levels occur during the S and G2/M stages of cell division. Nevertheless, FOXM1 shows abnormal elevation across numerous types of human cancers and, functioning as a gene regulator, it controls various target genes whose disruption contributes to virtually all cancer characteristics.¹ A strong link exists between this dysregulated expression and aggressive tumor characteristics, such as increased proliferation, invasion, metastasis, angiogenesis, and resistance to both chemotherapy and radiotherapy.

Recent studies have further elucidated FOXM1's role in cancer biology and therapeutic resistance. Chemoresistance to various anti-cancer drugs is linked to FOXM1 expression; additionally, multiple studies have verified that inhibiting FOXM1 improves the drug sensitivity of different cancer cell types.¹ Additionally, FOXM1 is frequently found at elevated levels in human malignancies and is closely linked to treatment resistance and reduced patient survival rates, particularly affecting chemotherapy effectiveness for patients with the most aggressive forms.²

The development of FOXM1 inhibitors has been an active area of research, with several approaches being pursued. Recent evidence indicates that combining small molecular compounds that block FOXM1 with existing cancer treatments could offer a new treatment approach for chemotherapy-resistant cancers.¹ Recent advances have led to the identification of several promising compounds, including STL001, an initial-generation modified compound that enhances human cancer susceptibility to various cancer treatments, along with NB compounds², which demonstrate strong and

effective FOXM1 blocking activity in aggressive serous ovarian cancer cells.¹

Even with these advancements, developing effective FOXM1 inhibitors still faces considerable hurdles. FOXM1-targeting small molecular compounds encounter numerous obstacles, and existing research shows these inhibitors at various developmental phases, requiring examination of present difficulties and future clinical implementation strategies for FOXM1 inhibition.¹ Importantly, while several small-molecule FOXM1 inhibitors have been tested in laboratory settings, none have reached clinical trials, underscoring the pressing need for innovative chemical structures that possess better drug-like qualities and greater therapeutic promise.³ Computational drug discovery approaches have emerged as powerful tools for identifying novel inhibitors and overcoming traditional drug development challenges. During the initial phases of pharmaceutical development, structure-guided virtual screening functions as an essential methodology.¹ Recent technological advances have significantly enhanced these capabilities, with recently available open-source AI-enhanced virtual screening systems for pharmaceutical research are now accessible.^{1,4}

The incorporation of AI and machine learning has dramatically transformed computer-based drug discovery processes. Virtual screening represents a fundamental and continuously developing component of drug discovery methodology, where artificial intelligence plays a broad role in pharmaceutical research to minimize time and resource usage, and when combined with machine learning techniques, VS has evolved into an innovative technology that operates through sophisticated decision-making processes for data organization and compound identification from extensive virtual libraries within minutes or hours.⁵ These advances are particularly important considering the major transformation toward adopting computational methods in both academic and pharmaceutical sectors, characterized primarily by the overwhelming amount of information regarding molecular properties and their interactions with therapeutic targets and their three-dimensional configurations, extensive computational resources, and the emergence of accessible virtual collections containing billions of drug-like small compounds.⁶ Recent computational studies have demonstrated the feasibility of identifying novel FOXM1 inhibitors

through *in silico* approaches. Studies have successfully focused on discovering possible FOXM1 blocking compounds through computer-based analysis of drug databases, utilizing pharmacophore modeling with the FOXM1 inhibitor FDI-6, and subsequently conducting virtual screening of DrugBank and Selleckchem repositories.⁷ These studies validate the potential of computational approaches for FOXM1 inhibitor discovery and demonstrate the successful application of integrated computational methodologies.

This research utilizes a thorough computational workflow that integrates structure-based virtual screening, all-atom molecular dynamic molecular modeling and Molecular Mechanics/Generalized Born Surface Area (MM/GBSA)-based binding energy computations. Our objective is to discover potent lead compounds with stable binding modes and favorable drug-like properties that could serve as starting points for the development of next-generation FOXM1-targeted cancer therapeutics.

METHODS

Ethical approval

This study does not require ethical approval as it is a computational study.

Protein structure preparation

Coordinates for the 3D configuration of the human FOXM1 DNA-binding region were procured from the RCSB Protein Data Bank (PDB ID: 3G73).⁸ This crystal structure, resolved at 2.21 Å, features the FOXM1 DBD in complex with a DNA duplex. For ligand docking purposes, the protein structure was prepared using standard protocols. All non-protein entities including DNA chains, water molecules, and co-solvents were removed. Hydrogenation was performed and protonation states of ionizable amino acids were assigned assuming physiological pH 7.4.⁹

Ligand library and virtual screening

A diverse library of 104,525 small molecules was prepared for virtual screening, with all compound structures sourced from the Human Metabolome Database (HMDB).¹⁰ The ligands were extensively refined using Open Babel¹¹ before the docking process. This refinement workflow involved generating 3D coordinates from the initial 2D structures, adding hydrogen atoms assuming a physiological pH of 7.4, and then performing energy minimization with the MMFF94 force field to obtain a stable, low-energy initial conformation for each ligand.

Following this preparation, the Amber ff94 force field¹² was employed to assign atomic partial charges to both the protein receptor and the refined ligands, a critical step for an accurate representation of electrostatic interactions. Structure-based virtual screening on the prepared library was then conducted using the Qvina software.¹³ The search space was defined by a grid box of 20×20×20 Å, centered on the known inhibitor binding site within the FOXM1 DBD. The docking algorithm in Qvina evaluated multiple binding poses for each of the 104,525 ligands, and these poses were subsequently ranked based on the software's empirical scoring function to identify potential inhibitors.

Molecular dynamics simulations

A multi-stage simulation protocol was used to screen and analyze promising compounds. Initially, the top 21 compounds selected from docking (with binding scores of -8.0 kcal/mol or better) were subjected to a short 10 nanosecond molecular dynamics simulation. The binding free energy of each of these 21 complexes was then calculated from its trajectory using MM/GBSA method. Based on these energy values, compounds exhibiting the most favorable binding were selected for extended analysis. Top five compounds (comp_105546, comp_11184, comp_11309, comp_18920, comp_112458), along with the reference inhibitor FDI-6, were submitted to 100-ns production MD simulations for a thorough assessment of their dynamic behavior and stability.

The GROMACS 2020 software was utilized for conducting all simulations.¹⁴ The protein complexes were modeled using the Amber99SB-ILDN force field.¹⁵ Each system was positioned in an orthorhombic box, hydrated with TIP3P water molecules¹⁶ and neutralized with counterions, then sodium and chloride ions were added to reach 150 mM concentration. The hydrated system was energy-minimized using steepest descent, followed by NVT equilibration (100 ps) and NPT equilibration (1000 ps) before the final molecular dynamics simulation.

Post-MD trajectory analysis

Complex stability was assessed through analysis of 100 ns molecular dynamics trajectories. RMSD values for protein backbone and ligand heavy atoms were determined relative to starting positions. Radius of gyration was calculated to evaluate protein compactness and structural integrity. RMSF values for individual residues were computed to identify flexible areas.

MM/GBSA binding energy computation

Binding free energies for stable protein-ligand complexes were computed using the MM/GBSA approach implemented in gmx_mmpbsa tool.¹⁷ MM/GBSA models provide rapid and cost-effective ligand binding energy prediction methods, with calculations being about 5 times faster than MM-PBSA. Computations were conducted on snapshots from the final 10 ns of molecular dynamics trajectories.

RESULTS and DISCUSSION

Virtual screening identifies high-affinity candidate inhibitors

Structure-guided virtual screening was performed to discover potential FOXM1 blocking compounds from

an extensive chemical database. The docking results yielded compounds with favorable predicted binding energies. The top 21 compounds exhibited docking scores ranging from -9.1 to -8.0 kcal/mol, indicating strong theoretical affinity for the target binding site (Figure 1A). The overall distribution of docking scores was skewed, with a large peak of compounds scoring around -2 kcal/mol, and a long tail extending towards higher affinity scores (Figure 1B). The selected hits represent the high-affinity tail of this distribution, suggesting statistical significance.

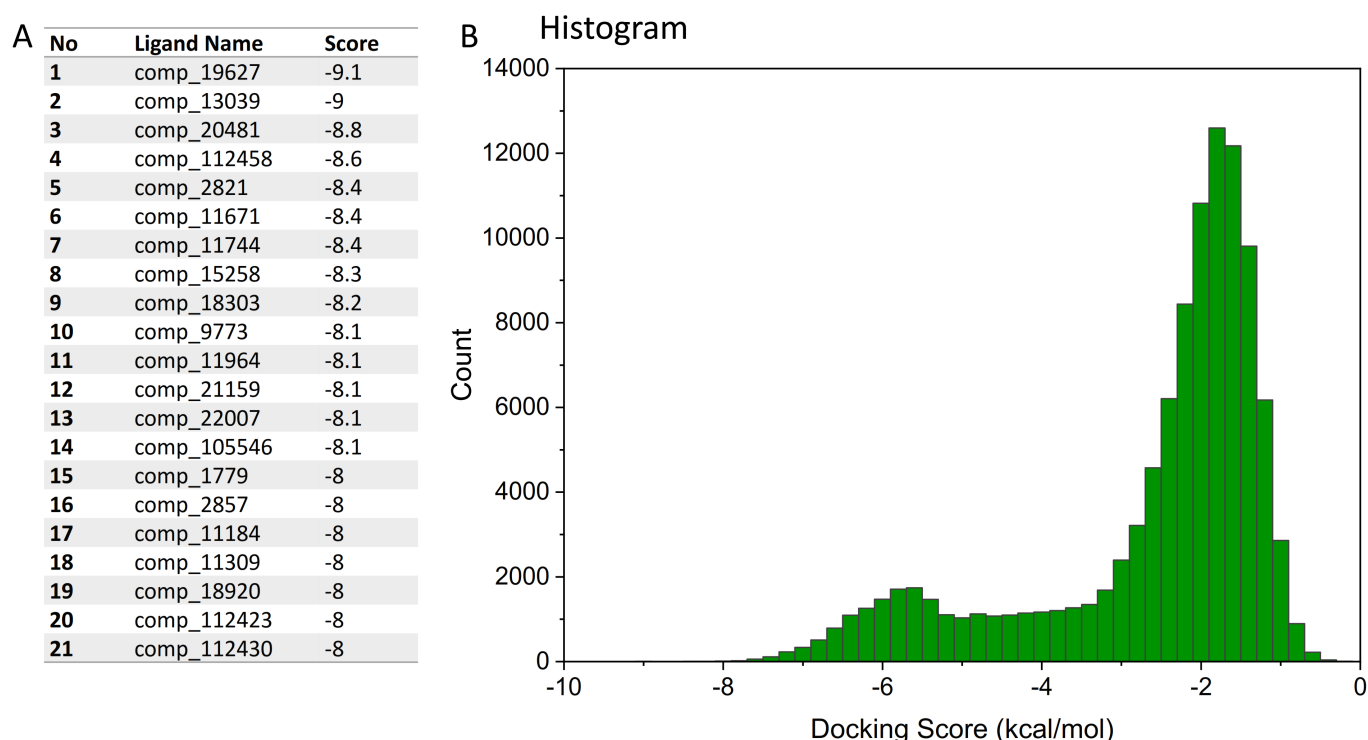


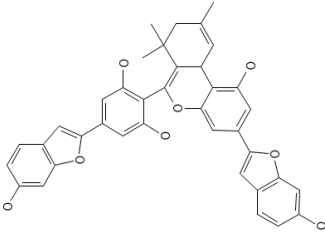
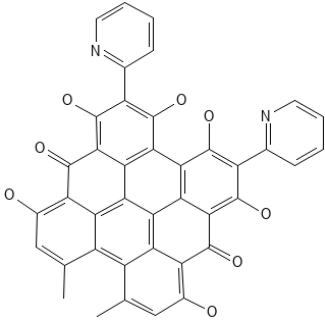
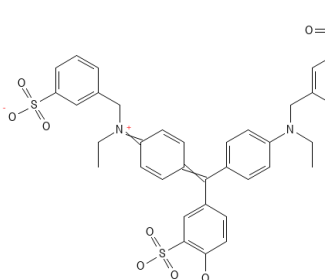
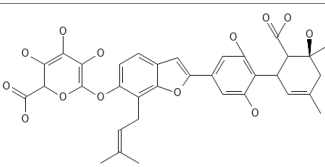
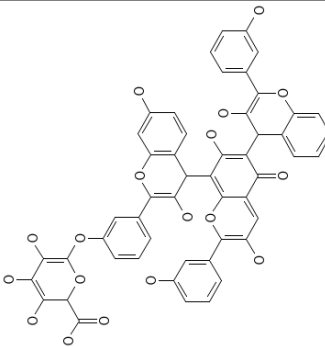
Figure 1. Virtual screening results

(A) Table showing the top 21 compounds identified from virtual screening, ranked by their docking score (kcal/mol), (B) Histogram illustrating the distribution of docking scores across the entire screened compound library, The x-axis represents the docking score, and the y-axis represents the count of compounds within each score bin

The histogram analysis in Figure 1B demonstrates that the vast majority of screened compounds exhibited moderate to poor binding scores, with only a small fraction achieving the high-affinity scores observed in our selected candidates. This distribution pattern validates the screening methodology and confirms that our top-ranked compounds represent genuine high-affinity outliers rather than computational artifacts.

Following initial screening, five compounds (comp_105546, comp_11184, comp_11309, comp_18920 and comp_112458) were selected for molecular dynamics simulations based on docking scores, structural diversity, and visual inspection of binding poses. The chemical structures and identifiers for these compounds are provided in Table 1.

Table 1. HMDB and SMILE codes of compounds with the best scores and stability

Compound	HMDB code	Smile code	2D Conformation
comp_11184	HMDB0030068	<chem>cc1=cc2c(c(oc3=cc(=cc(o)=c23)c2=cc3=c(o2)c=c(o)c=c3)c2=c(o)c=c(c=c2o)c2=cc3=c(o2)c=c(o)c=c3)c(c)(c)c1</chem>	
comp_11309	HMDB0030196	<chem>cc1=cc(o)=c2c(=o)c3=c(o)c(c4ccccc4)=c(o)c4=c3c3=c2c1=c1c(c)=cc(o)=c2c(=o)c5=c(o)c(c6ccccc6)=c(o)c4=c5c3=c12</chem>	
comp_18920	HMDB0038220	<chem>ccn(cc1=cc(=cc=c1)s(o)(=o)=o)c1=cc=c(c=c1)c(c1=cc(=c(o)c=c1)s(o)(=o)=o)=c1c=c(c(c=c1)[n+](cc)cc1=cc(=cc=c1)s([o-])(=o)=o</chem>	
comp_105546	HMDB0126209	<chem>[c]1=c([c]=c(c(=c1o)[c]1[c]=c([c])[c]c@([c]1c(=o)[o])(c1=c([c]=c([c]=[c]1)o)o)o)c1=[c]c2=[c][c]=c(c(=c2o1)[c][c]=c([c])[c]o[c]1([c]([c]([c](o1)c(=o)[o])o)o)c(=o)[o])o)o</chem>	
comp_112458	HMDB0135052	<chem>[c]1c2c(c(c(c2o[c]([c]1o)c1=[c]c(=[c][c]=[c]1)o)[c]1c2=c([c]=c([c]=[c]2)o)[c]([c]1o)c1=[c][c]=[c]c(=[c]1o)[c]1([c]([c]([c](o1)c(=o)[o])o)o)o)[c]1c2=[c][c]=c([c]=c2o[c]([c]1o)c1=[c][c]=[c]c(=[c]1o)o</chem>	

This approach is consistent with recent successful virtual screening studies for other cancer targets.¹⁸ The virtual screening campaign successfully identified high-scoring compounds, representing the statistical high-affinity tail of the screening library. The validation of

our screening methodology is supported by the skewed distribution of docking scores, which also indicates that our chosen compounds are authentic high-potential candidates and not merely computational artifacts.

Molecular dynamics simulations validate complex stability

To evaluate the dynamic stability of ligand-protein interactions predicted by docking, 100 ns all-atom MD simulations were performed for the five selected compounds and the reference inhibitor FDI-6 in

complex with the FOXM1 DBD. The stability of each system was assessed by monitoring RMSD of protein backbone and ligand heavy atoms over the simulation period.

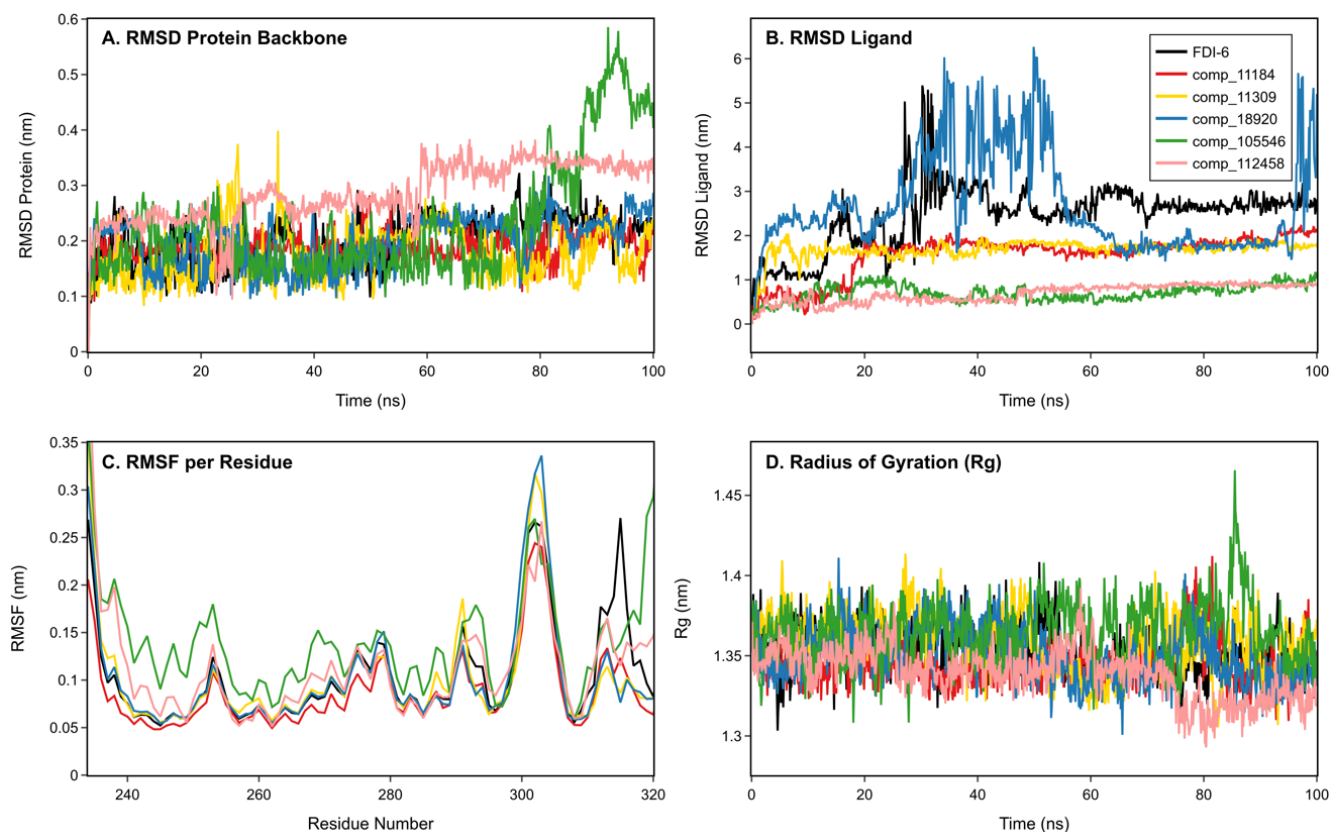


Figure 2. Molecular dynamics simulation analysis of FOXM1-ligand complexes over 100 ns

(A) Protein backbone RMSD trajectories showing equilibration within 20 ns for all complexes, with comp_18920 (blue) displaying the largest deviation (~0.55 nm) and comp_112458 (pink) showing fluctuations exceeding 0.4 nm while maintaining overall protein fold, (B) Ligand heavy atom RMSD demonstrating stable binding for comp_105546 (green) and comp_112458 (pink), contrasting with unstable profiles of FDI-6 (black) and comp_11309 (yellow) indicating dissociation tendency, (C) Per-residue RMSF analysis revealing higher terminal flexibility and critically, low fluctuation values in the binding pocket region (residues 280-310) for stable ligands, indicating effective binding site stabilization, (D) Radius of gyration (Rg) maintaining values around 1.35-1.37 nm throughout simulations, confirming absence of major structural unfolding in all complexes

For the protein backbone RMSD (Figure 2A), all six complexes equilibrated within the first 20 ns. Comp_18920 (blue line) displayed the largest deviation, reaching ≈ 0.55 nm after 80 ns. Comp_112458 (pink line), showed more significant fluctuations that exceeded 0.4 nm towards the end of the simulation, although the overall folded structure of the protein was maintained. Ligand RMSD analysis (Figure 2B) revealed different stability patterns. Comp_105546 (green line) and comp_112458 (pink line) showed stable binding within the active site. In contrast, the reference inhibitor FDI-6 (black line) and comp_11309 (yellow

line) displayed an unstable profile, showing a tendency to dissociate from the binding pocket.

The RMSF analysis per residue (Figure 2C) showed that terminal regions exhibited higher flexibility as expected. Importantly, residues constituting the binding pocket (approximately residues 280-310) showed relatively low fluctuation values when bound to stable ligands, suggesting effective binding site stabilization. Radius of Gyration analysis (Figure 2D) confirmed overall protein structural integrity, with all complexes maintaining Rg values around 1.35-1.37 nm throughout the simulations, indicating no major structural unfolding.

Molecular dynamics simulations provided crucial validation of the static docking predictions. The RMSD analyses revealed that comp_105546 and comp_112458 maintained stable binding throughout the 100 ns simulations. This variation in stability highlights the necessity of dynamic validation within computational drug discovery, since static docking scores by themselves can often be deceptive.¹⁹ The 100 ns simulation length employed in this study is considered sufficient for evaluating protein-ligand complex

stability and has been validated in numerous recent studies.²⁰

MM/GBSA calculations provide refined binding affinity estimates

While MD simulations confirmed binding stability, MM/GBSA calculations were performed to obtain quantitative binding affinity estimates. The calculations were performed on two different time scales: 10 ns and 100 ns trajectories to assess convergence.

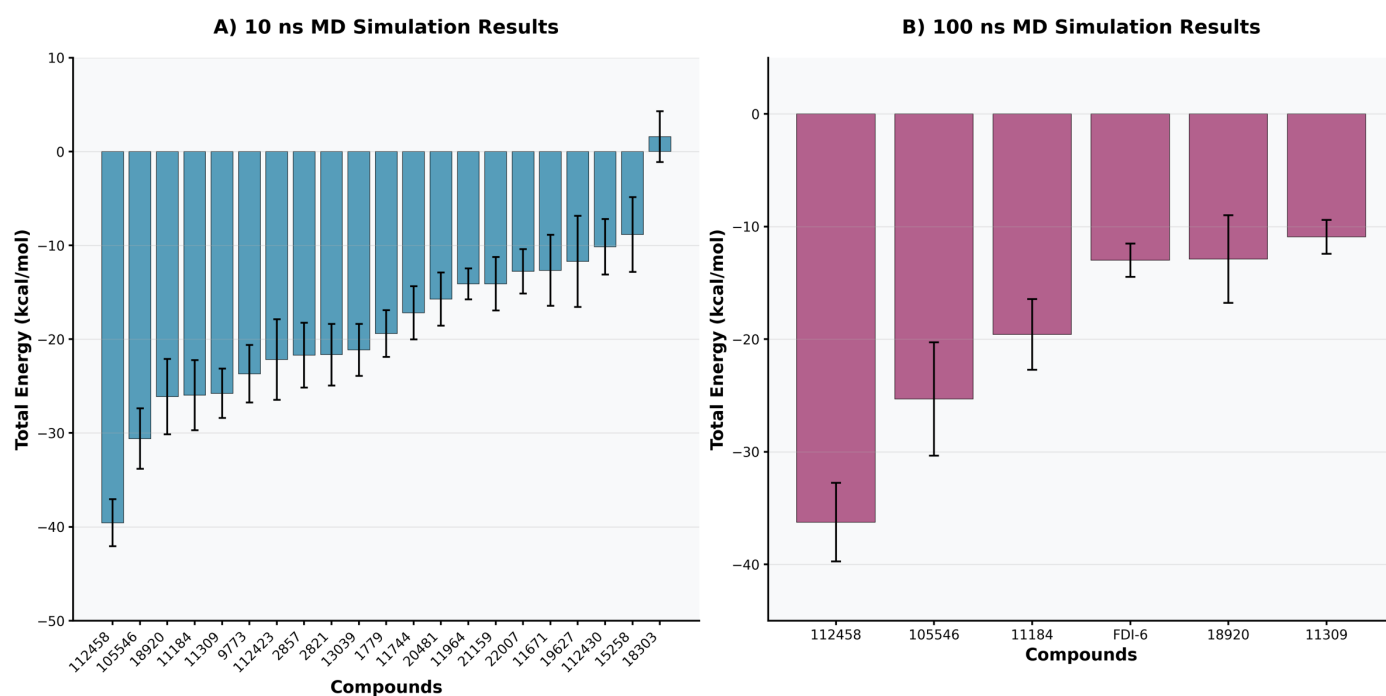


Figure 3. MM/GBSA binding free energy calculations

(A) Binding free energies calculated from 10 ns MD trajectories for multiple compounds, showing the range of binding affinities across the compound library, (B) Refined 100 ns MM/GBSA calculations for the five selected compounds and FDI-6 with error bars representing standard deviations,

The 10 ns MM/GBSA results (Figure 3A) showed varying binding free energies across multiple compounds, with several showing favorable binding energies below -20 kcal/mol. The 100 ns calculations (Figure 3B) were performed for the five selected compounds and the reference inhibitor FDI-6. Comp_112458 emerged as the most potent binder with a binding free energy of -36.25 ± 3.5 kcal/mol, followed by comp_105546 (-25.31 ± 5.04 kcal/mol) and comp_11184 (-19.59 ± 3.14 kcal/mol). The large negative values indicate strong binding affinity, with comp_112458 showing exceptional binding strength. The MM/GBSA calculations provided refined binding affinity estimates, identifying comp_112458 as the most promising candidate with a binding free energy of -36.25 kcal/mol. This exceptionally favorable binding

energy, combined with stable MD behavior, suggests that comp_112458 represents a high-quality lead compound for further development. Recent benchmarking studies have demonstrated that MM/GBSA calculations provide reliable binding affinity estimates that correlate well with experimental data.^{21, 22}

Implications for FOXM1 inhibitor development

The RMSF analysis revealed that ligand binding effectively stabilizes the functionally important binding pocket region (residues 280-310), a characteristic of effective inhibitors. This localized stabilization suggests that our lead compounds may indeed interfere with FOXM1's normal biological function by preventing DNA binding, which is consistent with the mechanism of action of known FOXM1 inhibitors.⁷

Our findings are particularly significant in the context of recent FOXM1 research. The compounds identified in this study (Table 1) represent novel chemical scaffolds that have not been previously explored for FOXM1 inhibition. Given the challenges associated with existing FOXM1 inhibitors, including limited potency and selectivity issues,¹ these novel scaffolds could provide important alternatives for drug development.

The computational approach employed in this study addresses several limitations of previous FOXM1 inhibitor discovery efforts. Unlike high-throughput screening approaches that are limited by available compound libraries, virtual screening allows exploration of vast chemical space, potentially identifying novel chemotypes not represented in physical libraries.²³ Additionally, the integration of molecular dynamics simulations and free energy calculations provides a more comprehensive evaluation of compound quality compared to docking-based screening alone.

The chemical diversity of our identified compounds is another important consideration. The two lead compounds (comp_105546 and comp_112458) represent distinct chemical scaffolds, providing multiple starting points for medicinal chemistry optimization. This diversity reduces the risk associated with scaffold-specific limitations and increases the likelihood of successful lead optimization.²⁴

CONCLUSION

This *in silico* investigation successfully discovered small molecule inhibitors targeting the FOXM1 DNA binding region using an integrated strategy that combines structure-based virtual screening, molecular dynamics simulations, and MM/GBSA binding free energy calculations. The comprehensive screening of a large chemical library yielded 21 high-affinity candidates, from which five compounds (comp_105546, comp_11184, comp_11309, comp_18920 and comp_112458) were selected for detailed validation through 100 ns MD simulations.

The molecular dynamics analysis revealed distinct stability profiles among the two lead compounds, with comp_105546, and comp_112458 all maintaining stable binding interactions throughout the 100 ns trajectory. The MM/GBSA calculations provided refined binding affinity estimates, identifying comp_112458 as the most promising candidate with an exceptionally favorable binding free energy of -36.25 ± 3.5 kcal/mol,

Study limitations and future directions

While these computational predictions are highly promising, several limitations should be acknowledged. First, the predictions are based on a single crystal structure of FOXM1, which may not capture all relevant conformational states of the protein. Future studies could benefit from ensemble docking approaches using multiple conformations.²⁵

Second, while MM/GBSA provides improved binding affinity estimates compared to docking scores, experimental validation remains essential to confirm the predicted activities. The next critical step involves synthesizing or procuring these compounds for *in vitro* biochemical assays to measure actual binding affinities and functional inhibition of FOXM1 transcriptional activity.

Third, our study focused on the DNA-binding domain of FOXM1, but recent research has identified other potentially druggable sites, including allosteric binding sites and protein-protein interaction interfaces.²⁶ Future computational studies could explore these alternative targeting strategies.

Finally, the drug-like properties and potential off-target effects of our lead compounds require careful evaluation. While the compounds were selected from a drug-like library, detailed ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity) profiling will be necessary to assess their therapeutic potential.²⁷

significantly outperforming existing FOXM1 inhibitors in computational predictions.

The identified compounds represent novel chemical scaffolds that have not been previously explored for FOXM1 inhibition, offering important alternatives to existing inhibitors that face significant challenges in clinical translation. The computational approach employed in this study addresses key limitations of traditional screening methods by enabling exploration of vast chemical space while providing comprehensive evaluation of compound quality through dynamic simulations and free energy calculations.

The binding mode analysis demonstrated that the lead compounds effectively stabilize the functionally critical binding pocket region (residues 280-310), suggesting potential interference with FOXM1's DNA-binding activity. This mechanism of action is consistent with the therapeutic strategy of disrupting FOXM1's transcriptional functions, which are essential for cancer cell proliferation and survival.

The findings are particularly significant given the urgent need for effective FOXM1-targeted therapeutics. Despite FOXM1's recognition as a high-priority cancer target and its designation as "Molecule of the Year" in 2010, no FOXM1 inhibitor has successfully progressed to clinical trials. The novel compounds identified in this study, particularly comp_112458, represent promising starting points for drug development efforts aimed at addressing this critical gap in cancer therapeutics. However, experimental validation remains essential to confirm the computational predictions. Future studies should focus on synthesizing or procuring these compounds for *in vitro* biochemical assays to measure actual binding affinities and functional inhibition of FOXM1 transcriptional activity. Additionally, comprehensive ADMET profiling will be necessary to assess their therapeutic potential and identify any potential off-target effects.

In conclusion, this computational study provides a robust foundation for FOXM1 inhibitor development by identifying high-quality lead compounds with favorable binding properties and novel chemical scaffolds. The integration of multiple computational approaches enhances confidence in the predictions and establishes a validated pipeline for future FOXM1 inhibitor discovery efforts. With appropriate experimental validation and medicinal chemistry optimization, these compounds could contribute to the development of much-needed FOXM1-targeted cancer therapeutics.

Acknowledgement

All numerical calculations in this research were performed at TUBITAK ULAKBIM, High Performance and Grid Computing Center (TRUBA resources).

Authorship contribution statement

Consept and desing: ZD, FDK.

Acquisition of data: EA.

Analysis and interpretation of data: ZD.

Drafting of the manuscript: ZD.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: ZD, FDK.

Statistical analysis: ZD, EA.

Declaration of competing interest: None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval: This study does not require ethical approval as it is a computational study.

Availability of data and materials: All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding: This research was supported by Giresun

University Scientific Research Projects Commission (Project No: SAĞ-BAP-A-250221-45).

REFERENCES

1. Raghuwanshi S, Gartel AL. Small-molecule inhibitors targeting FOXM1: Current challenges and future perspectives in cancer treatments. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2023;1878(6):189015.
2. Raghuwanshi S, Zhang X, Arbieva Z, et al. Novel FOXM1 inhibitor STL001 sensitizes human cancers to a broad-spectrum of cancer therapies. *Cell Death Discov*. 2024;10(1):211.
3. Merjaneh N, Hajjar M, Lan YW, Kalinichenko VV, Kalin TV. The promise of combination therapies with FOXM1 inhibitors for cancer treatment. *Cancers (Basel)*. 2024;16(4):756.
4. Noor F, Junaid M, Almalki AH, Almaghrabi M, Ghazanfar S, Tahir ul Qamar M. Deep learning pipeline for accelerating virtual screening in drug discovery. *Sci Rep*. 2024;14(1):28321.
5. Zhou G, Rusnac DV, Park H, et al. An artificial intelligence accelerated virtual screening platform for drug discovery. *Nat Commun*. 2024;15(1):7761.
6. Naithani U, Guleria V. Integrative computational approaches for discovery and evaluation of lead compound for drug design. *Front Drug Discov*. 2024;4:1362456.
7. busharkh KAN, Comert Onder F, Çınar V, Hamurcu Z, Ozpolat B, Ay M. A drug repurposing study identifies novel FOXM1 inhibitors with in vitro activity against breast cancer cells. *Med Oncol*. 2024;41(8):188.
8. Littler DR, Alvarez-Fernández M, Stein A, et al. Structure of the FoxM1 DNA-recognition domain bound to a promoter sequence. *Nucleic Acids Res*. 2010;38(13):4527-4538.
9. Lasham J, Djurabekova A, Zickermann V, Vonck J, Sharma V. Role of protonation states in the stability of molecular dynamics simulations of high-resolution membrane protein structures. *J Phys Chem B*. 2024;128(10):2304-2316.
10. Wishart DS, Guo AC, Oler E, et al. HMDB 5.0: The human metabolome database for 2022. *Nucleic Acids Res*. 2022;50(D1):D622-D631.
11. O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison GR. Open babel: An open chemical toolbox. *J Cheminform*. 2011;3:33.
12. Bayly CI, Merz KM, Ferguson DM, et al. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *J Am Chem Soc*. 1995;117(19):5179-5197.
13. Alhossary A, Handoko SD, Mu Y, Kwoh CK. Fast, accurate, and reliable molecular docking with QuickVina 2. *Bioinformatics*. 2015;31(13):2214-2216.
14. Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*. 2015;1-2:19-25.
15. Lindorff-Larsen K, Piana S, Palmo K, et al. Improved side-chain torsion potentials for the Amber ff99SB protein force field. *Proteins Struct Funct Bioinforma*. 2010;78(8):1950-1958.
16. Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW,

- Klein ML. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys.* 1983;79(2):926-935.
17. Valdés-Tresanco MS, Valdés-Tresanco ME, Valiente PA, Moreno E. Gmx_MMPBSA: A new tool to perform end-state free energy calculations with GROMACS. *J Chem Theory Comput.* 2021;17(10):6281-6291.
 18. Pinzi L, Rastelli G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4331.
 19. Gomes AMM, Costa PJ, Machuqueiro M. Recent advances on molecular dynamics-based techniques to address drug membrane permeability with atomistic detail. *BBA Adv.* 2023;4:100099.
 20. Pavan M, Menin S, Bassani D, Sturlese M, Moro S. Qualitative estimation of protein-ligand complex stability through thermal titration molecular dynamics simulations. *J Chem Inf Model.* 2022;62(22):5715-5728.
 21. Genheden S, Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opin Drug Discov.* 2015;10(5):449.
 22. Wang E, Sun H, Wang J, et al. End-point binding free energy calculation with MM/PBSA and MM/GBSA: Strategies and applications in drug design. *Chem Rev.* 2019;119(16):9478-9508.
 23. Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules.* 2015;20(7):13384-13421.
 24. Baell JB, Holloway GA. New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays. *J Med Chem.* 2010;53(7):2719-2740.
 25. Amaro RE, Baudry J, Chodera J, et al. Ensemble docking in drug discovery. *Biophys J.* 2018;114(10):2271-2278.
 26. Zhang H, Dai S, Liang X, Li J, Chen Y. Mechanistic insights into the preference for tandem binding sites in DNA recognition by FOXM1. *J Mol Biol.* 2022;434(5):167426.
 27. Swanson K, Walther P, Leitz J, et al. ADMET-AI: a machine learning ADMET platform for evaluation of large-scale chemical libraries. *Bioinformatics.* 2024;40(7):btac416.
- To Cite:** Duzgun Z, Demirtas-Korkmaz F, Alp E. Computational Investigation of the Interaction of Large-scale Plant and Animal-Derived Natural Secondary Metabolites with FOXM1. *Farabi Med J.* 2025;4(3):63-72.

Comparison of Vitamin B12 Levels and Cardiovascular Disease Risk Groups

Vitamin B12 Düzeyleri ile Kardiyovasküler Hastalık Risk Gruplarının Karşılaştırılması

Mustafa Guner^{1,2,a,*}, Elif Ates^{2,b}

¹Ministry of Health of the Republic of Türkiye, Sakarya Provincial Health Directorate, Erenler Family Health Center, Sakarya, Türkiye.

²Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Family Medicine, Trabzon, Türkiye.

*Corresponding author e-mail: mdmustafaguner@gmail.com

^a<https://orcid.org/0000-0002-8259-3860>

^b<https://orcid.org/0000-0001-9713-4555>

ABSTRACT

Vitamin B12 is a water-soluble vitamin involved in various metabolic processes. It plays a crucial role in the prevention of anemia, the maintenance of healthy neuronal function, and DNA synthesis. Moreover, vitamin B12 acts as a cofactor in homocysteine metabolism. Elevated homocysteine levels have been associated with a range of endothelial alterations and have been linked to cardiovascular diseases (CVD). In Turkey, CVD-related mortality remains the leading cause of death. However, the relationship between vitamin B12 deficiency and the risk of CVD has not yet been clearly established in the academic literature. In this retrospective cross-sectional study, we aimed to compare individuals' vitamin B12 levels across different CVD risk groups. A total of 128 participants were included, with 32 individuals in each risk group. Using the SCORE (Systemic Coronary Risk Evaluation) risk model, we compared vitamin B12 levels across four CVD risk categories. The differences in vitamin B12 levels among the CVD risk groups were not statistically significant ($p=0.209$), and no correlation was found ($p>0.05$). Given that cardiovascular diseases continue to pose a major public health concern, further studies are needed to identify additional parameters that may assist in the identification of high-risk individuals.

Keywords: Heart diseases, Risk assessment, Vitamin B12

ÖZET

Vitamin B12 suda çözünen ve çeşitli metabolik süreçlerin yürütülmesinde kullanılan bir vitamindir. Aneminin önlenmesinde, sinir hücrelerinin fonksiyonlarını sağlıklı sürdürmesinde ve DNA sentezinde önemli görevleri vardır. Ayrıca B12 vitamini homosistein metabolizmasında kofaktör olarak bulunur. Homosistein endotelde bir dizi değişikliklere sebep olup; kardiyovasküler hastalıklarla (KVH) ilişkilendirilmiştir. KVH'lara bağlı ölümler ülkemizde hala tüm ölümler içinde birinci sırada bulunmaktadır. Vitamin B12 eksikliği ile kardiyovasküler hastalık riski arasındaki ilişki akademik alanda henüz netlik kazanmamıştır. Bu retrospektif kesitsel çalışmada kişilerin vitamin B12 düzeyleri ile KVH risk gruplarını karşılaştırmayı amaçladık. Çalışmaya her risk grubunda 32 kişi olacak şekilde toplam 128 kişi alındı. SCORE (Sistemic Coronary Risk Evaluation) risk modeli kullanılarak dört risk grubunun vitamin B12 düzeylerini karşılaştırdık. KVH risk grupları ile vitamin B12 düzeyleri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.209$) ve aralarında korelasyon saptanmadı ($p>0.05$). Kardiyovasküler hastalıklar günümüzde hala önemli bir halk sağlığı sorunu olduğundan, yüksek riskli bireylerin belirlenmesinde kolaylık ve fayda sağlayacak ek parametreler üzerinde çalışılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Kalp hastalıkları, Risk değerlendirmesi, Vitamin B12

INTRODUCTION

Cardiovascular disease-related deaths rank first among all causes of death in our country as well as in the world.¹ Therefore, knowledge of risk factors for cardiovascular diseases and early detection of high-risk individuals are of great importance in preventing mortality and morbidity. Risk factors for cardiovascular diseases can be broadly divided into two groups. These are: non-modifiable and modifiable risk factors. While age, gender, ethnicity and family history are among the non-modifiable risk factors, hypertension, diabetes, obesity, dyslipidemia, smoking and sedentary life are among the modifiable risk factors. Apart from these risk factors, many biomarkers have been reported to increase the risk of cardiovascular disease. High sensitive-CRP, homocysteine, lipoprotein a, myeloperoxidase, phospholipase A2 are just a few of these biomarkers.²⁻⁴ Homocysteine causes a number of changes in the endothelium, which lines blood vessel walls and inner surface.⁵ Some studies suggest homocysteine increases the risk of cardiovascular disease.^{6,7} The fact that vitamin B12 is involved in homocysteine metabolism raises the question of whether there is a relationship between vitamin B12 and cardiovascular disease risk. Whether vitamin B12 deficiency constitutes an independent risk factor for CVD remains a subject of ongoing debate in the scientific community. While there are studies that show that vitamin B12 deficiency is associated with cardiovascular disease,⁸⁻¹⁰ there are studies that say otherwise.^{11,12} Many risk estimation systems have been developed to determine the risk of CVD. The SCORE (Systemic Coronary Risk Evaluation) calculation model is one of the CVD risk estimation systems.¹³ Turkish Society of Endocrine and Metabolism recommends the use of SCORE as a cardiovascular risk calculator.¹⁴ This model estimates the 10-year risk of fatal cardiovascular disease in individuals aged 40 to 70 years who do not have existing heart disease. When determining the risk score, the point at which the necessary data (age, gender, tobacco use status, cholesterol value and systolic blood pressure) are combined is taken as the basis. SCORE has 4 risk groups: Low risk (<1%), Medium risk (1-4%), High risk (5-9%) and Very high risk (≥10%). In this study, it was aimed to compare vitamin B12 levels with CVD risk groups using the SCORE calculation model.

METHODS

Ethical approval

For this research, ethics committee approval was obtained from the Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, dated September 7, 2021, with the reference number 24237859-758.

Data for this cross-sectional study were obtained through retrospective archival research starting from December 31, 2020.

Sample size calculation

The required sample size for this study was calculated using G*Power version 3.1.9.7. Based on a medium effect size ($d=0.3$), an alpha level of 0.05, and a statistical power of 81%, it was determined that a minimum of 32 participants per group would be necessary. Accordingly, the total sample size required was calculated as 128 participants.

Inclusion criteria

- Age between 40 and 70 years (in accordance with the valid age range for the SCORE risk model)
- Documented smoking and alcohol use status in the patient's medical history
- Blood pressure and anthropometric measurements (height and weight) taken during the polyclinic examination
- Laboratory evaluation including complete blood count, lipid panel, vitamin B12, folate, and ferritin levels
- Not currently receiving vitamin B12 treatment

Exclusion criteria

- Individuals with folate deficiency
- Pregnant individuals
- Individuals with a history of cancer or those currently undergoing chemotherapy or radiotherapy for cancer
- Individuals with any known liver disease

SCORE risk calculator

For individuals aged 40 years and older, the SCORE risk calculator estimates the 10-year risk of fatal cardiovascular events. The risk score is determined by locating the value at the intersection of gender, age, smoking status, total cholesterol level, and systolic blood pressure on the SCORE chart. The chart used for risk calculation is presented in Figure 1.

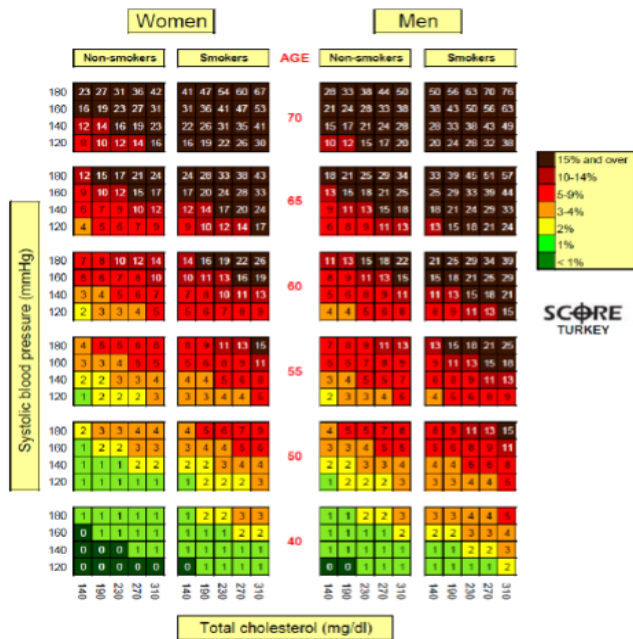


Figure 1. SCORE risk charts for Türkiye showing the 10-year risk of fatal cardiovascular disease based on age, sex, smoking status, systolic blood pressure, and total cholesterol levels

Conducting the study

Hospital records of people aged 40-70 years who met the criteria for admission to the study who applied to our Family Medicine outpatient clinic for any reason were examined retrospectively from 31 December 2020. The values in the first application and first blood analysis of individuals who applied to more than one outpatient clinic and had blood analysis were taken as basis. Individuals with additional illnesses that should be considered high and very high risk in the current situation were placed in the risk group that was suitable for them without the use of the SCORE calculator. SCORE calculator was used for other people. Table 1 shows clinical cases in which individuals are classified as high or very high risk irrespective of the SCORE calculator.

The outcome measure

The main outcome measure of the study is the comparison of vitamin B12 levels with risk groups calculated using SCORE.

Statistical analysis

IBM SPSS for Windows 23.0 statistical package program was used in the analysis of the data. Categorical data are presented as number (n) and percentage (%); quantitative data are presented as mean, standard deviation, median, minimum, maximum and quartile values. Chi-square test was used to compare categorical data.

Table 1. Clinical situations in which individuals would be considered high and very high risk

Very high risk	- Known cardiovascular disease (previous myocardial infarction, acute coronary syndrome etc.) - Presence of cardiovascular disease detected by imaging methods (for example plaque seen on carotid ultrasound) - Patients with diabetes mellitus with complications or diabetes with smoking, hypertension, dyslipidemia - Severe chronic kidney disease
High risk	- Total cholesterol > 310 mg/dl, familial hypercholesterolemia, blood pressure > 180/100 mmHg - Diabetics without complications - Moderate chronic kidney disease

Conformity of the data to the normal distribution was analyzed by Kolmogorov-Smirnov test. The Student t-test or Anova was used to compare data where the distribution was normal. Measurements that did not show normal distribution used either the Mann-Whitney U test or the Kruskal-Wallis test. Bonferroni test was performed in Post Hoc analysis results. Spearman Correlation Analysis was used to assess dependence and relationship. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Of the 128 participants enrolled in the study, 78 (60.9%) were women. The median age (25th–75th percentile) was 50 (45–57) years. A total of 52 participants (40.6%) were obese, and 63 (49.2%) had vitamin B12 deficiency. The distribution of frequency and percentage values according to gender, body mass index, and vitamin B12 classification is presented in Table 2. While 34 (26.6%) of the people in the study smoked, 14 (10.9%) had a history of CVD. 52 (40.6%) of people had a history of dyslipidemia in first-degree family members, while 18 (14.1%) had a history of early CVD in first-degree family members. In addition, 28 (21.9%) of the participants in the study had diabetes and 42 (32.8%) had hypertension. The distribution of factors affecting the cardiovascular disease risk states of people is shown in detail in Table 3.

Table 2. Frequency and percentage values of people according to gender, body mass index and vitamin B12 classification

		n (%)
Gender	Male	50 (39.1)
	Female	78 (60.9)
Body mass index (kg/m²)	Normal (18.5-24.99)	27 (21.1)
	Overweight (25.00-29.99)	49 (38.3)
	Obese (≥ 30.00)	52 (40.6)
Vitamin B12 classification (pg/mL)	Deficiency (<200)	63 (49.2)
	Border (200-300)	43(33.6)
	Normal (>300)	22 (17.2)

Table 4. Comparison of cardiovascular disease risk classes and vitamin B12 classification

	Vitamin B12 classification n (%)			p* Value
CVD risk classes	Deficiency	Border	Normal	
Low and Medium	36 (56.3)	20 (31.3)	8 (12.4)	
High and Very high	27 (42.2)	23 (35.9)	14 (21.9)	0.209

*Pearson Chi-square, n: number, %: percentage, r: Spearman Correlation Analysis

Table 3. Distribution of factors affecting people's CVD risk status

		n (%)
Smoking status	Current smoker	34 (26.6)
	Former smoker	11 (8.6)
	Never smoker	83 (64.8)
Alcohol use status	Current drinker	6 (4.7)
	Former drinker	5 (3.9)
	Never drinker	117 (91.4)
History of CVD	Yes	14 (10.9)
	No	114 (89.1)
Dyslipidemia in the family	Yes	52 (40.6)
	No	76 (59.4)
A family history of CVD	Yes	18 (14.1)
	No	110 (84.9)
Diabetes	Yes	28 (21.9)
	No	100 (78.1)
Hypertension	Yes	42 (32.8)
	No	86 (67.2)
Chronic renal failure	Yes	3 (2.3)
	No	125 (97.7)

Table 5. Comparison of people's age, body mass index and biochemical values according to CVD risk classification

	CVD Risk Classification				P
	Low	Medium	High	Very High	
Age (years)	44 (40-49) ^a	52 (40-60) ^a	55 (40-69) ^a	57 (41-67) ^a	<0.001 ^{c,1}
BMI (kg/m²)	27.5 (20.2-37.5) ^a	29.3 (21.8-46.0) ^a	27.0 (21.7-39.0) ^a	30.3 (22.1-62.6) ^a	0.142 ^c
Vit.B12 (pg/mL)	183 (87-587) ^a	193 (89-370) ^a	241 (123-660) ^a	183 (108-1134) ^a	0.036 ^{c,2}
Folate (ng/mL)	8.82 (5.39-17.49) ^a	7.29 (4.58-17.08) ^a	9.58 (4.62-24.00) ^a	8.16 (4.60-24.00) ^a	0.342 ^c
Ferritin (ml/ng)	18.1 (2.4-138.2) ^a	49.8 (4.7-1021.9) ^a	55.7 (3.7-558.6) ^a	60.5 (0.8-604.2) ^a	0.009 ^{c,3}
T. Cholesterol (mg/dL)	207 $\pm$ 37 ^b	225 $\pm$ 43 ^b	242 $\pm$ 57 ^b	218 $\pm$ 44 ^b	0.021 ^{d,4}
HDL (mg/dL)	53 (27-80) ^a	49 (31-73) ^a	54 (37-87) ^a	47 (32-73) ^a	0.039 ^{c,5}
LDL (mg/dL)	128 $\pm$ 30 ^b	144 $\pm$ 34 ^b	158 $\pm$ 47 ^b	139 $\pm$ 34 ^b	0.014 ^{d,6}
Triglyceride (mg/dL)	103 (47-316) ^a	134 (35-411) ^a	115 (49-514) ^a	122 (53-739) ^a	0.182 ^c
Glucose (mg/dL)	91 (75-144) ^a	94 (61-113) ^a	96 (74-251) ^a	103 (85-561) ^a	0.001 ^{c,7}
Hemoglobin (g/dL)	13.4 (8.4-15.9) ^a	13.9 (9.6-17.3) ^a	13.8 (10.5-17.7) ^a	14.3 (10.9-17.5) ^a	0.055 ^c

^aMedian (minimum-maximum), ^bMean $\pm$ standard deviation, ^cKruskal Wallis H Test, ^dOne-Way ANOVA

1. Significant differences were observed between the low and medium (p<0.001), low and high (p<0.001), and low and very high risk groups (p<0.001).

2. Significant differences were observed between the low and high risk groups (p=0.010), the medium and high risk groups (p=0.029), and the high and very high risk groups (p=0.020).

3. Significant differences were observed between the low and medium (p=0.035) and the low and very high risk groups (p=0.015).

4. A significant difference was observed between the low and high risk groups (p=0.015).

5. Significant differences were observed between the low and medium (p=0.047), the low and very high (p=0.044), the medium and high (p=0.038), and the high and very high risk groups (p=0.035).

6. A significant difference was observed between the low and high risk groups (p=0.009).

7. Significant differences were observed between the low and very high (p=0.001) and the medium and very high risk groups (p=0.005).

While 27 (42.2%) of the people in the group with high and very high risk of cardiovascular disease had vitamin B12 deficiency; Vitamin B12 levels were found to be deficient in 36 (56.3%) of people in the low and medium risk groups in the study. When comparing CVD risk classification with vitamin B12 classification, no statistically dependent relationship was found between them ($r=0.155$ $p>0.05$), (Table 4). With cardiovascular disease risk classification of the people in the study, age ($p<0.001$), vitamin B12 level ($p=0.036$), ferritin ($p=0.009$), cholesterol ($p=0.021$), HDL ($p=0.039$), LDL ($p=0.014$), and blood glucose ($p=0.001$), were found to be statistically significant when the difference was compared; BMI, folate, triglycerides and hemoglobin were compared, the difference was not statistically significant ($p>0.05$), (Table 5).

DISCUSSION

In the study conducted by Mahalle et al. on 300 Indian individuals with coronary artery disease, it was concluded that vitamin B12 was significantly low in patients with diabetes, hypertension and dyslipidemia, and that serum vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia were associated with cardiovascular risk factors in these patients.⁸ In a systematic review by Rafnsson et al. in which they examined seven prospective cohort studies, it was concluded that there was insufficient evidence that vitamin B12 deficiency causes cardiovascular diseases in adults.¹¹ Another meta-analysis concluded that there was a positive association between vitamin B12 elevation and cardiovascular mortality rate.¹⁵ A cohort study of 7770 people found that low and high vitamin B12 levels were associated with a higher risk of death from cardiovascular disease in people with type 2 diabetes.¹⁶ In our study, when cardiovascular disease risk groups and vitamin B12 levels were compared, no statistically significant correlation was found between them. When the results of our study are evaluated together with the existing literature, it is evident that the relationship between vitamin B12 levels and cardiovascular disease risk remains inconclusive. In this context, further large-scale and comprehensive studies involving a greater number of patients are needed to clarify this association more definitively. Age is an independent risk factor for CVDs. Advanced age increases the risk of cardiovascular disease.¹⁷ Because age is a predictor of SCORE, as expected in our study, cardiovascular disease risk levels also increased as age increased. 78 (60.9%) of the people in the study were

women. This situation can be explained by the fact that more women apply to our clinic. 52 (40.6%) of the total 128 people were obese. In the 2019 Turkey Diabetes, Hypertension, Obesity and Endocrinological Diseases Prevalence Study (TURDEP-2), the prevalence of obesity in Turkey was found to be 31.2%.¹⁸ The high obesity rate in our study may be due to the fact that we also provide weight management consultancy to obese individuals in our outpatient clinics. In the study conducted by Gebara et al.¹⁹ in 2023, where they compared SCORE and unconventional risk factors, a positive relationship was observed between SCORE and BMI; however, no relationship was observed between SCORE and sociodemographic status and family history. In our study, no significant difference was found between SCORE risk levels and BMI average. In another study investigating whether the addition of other risk markers to the SCORE algorithm improved cardiovascular disease risk stratification, it was found that although 15 of the risk factors were independent risk factors for mortality, none of them had a significant effect on cardiovascular disease risk stratification.²⁰ The pathogenesis of cardiovascular diseases is multifactorial. However, it can be said that the evidence available in the literature is not yet sufficient for the addition of other risk factors to the SCORE risk assessment. Hypertension is one of the most important causes of cardiovascular disease. In a study conducted in our country in 2003, the prevalence of hypertension was found to be 31.8%.²¹ In the 2nd version of the same study conducted in 2012, this rate was found to be 30.3%;²² the number of patients diagnosed with hypertension in our study was 32.8%, which is similar to the literature. In the academic field, hypertension due to vitamin B12 deficiency is at the case level and the level of evidence is low.²³ Today, the main problem with hypertension in our country, as in the world, is still the lack of early detection of hypertension, the level of awareness of patients and the inability to control hypertension. There are conflicting results regarding the role of ferritin in coronary heart disease. It has been suggested that iron can increase the risk of heart diseases through lipid peroxidation by catalyzing the production of free radicals. A retrospective cohort study conducted in 2023 demonstrated that elevated ferritin levels were associated with increased short-term mortality among critically ill patients with heart failure.²⁴ In another study, a negative correlation was found between ferritin level and myocardial

infarction.²⁵ In our study, it was observed that the median value of serum ferritin increased as the cardiovascular disease risk level increased. These findings suggest that the relationship between serum ferritin and cardiovascular risk deserves further investigation in larger prospective studies. As it is known, SCORE2 was published as a new algorithm by the European society of cardiology in January 2021. The study found that SCORE2 facilitated the identification of individuals with high cardiovascular risk in the European population.²⁶ In a study comparing SCORE and SCORE2 in cardiovascular risk assessment, it was found that a significant portion of those in the low risk group with SCORE were in the high risk group with SCORE2.²⁷ In the comparison made in the East Asian population, it was concluded that SCORE 2 showed improvement compared to SCORE, but modifications were also needed.²⁸ Considering that Turkey is located in the European region, it may be more useful to use the new algorithm SCORE2 to identify high-risk individuals. One of the limitations of this study may be considered as why we used the SCORE risk calculator and not the SCORE 2 risk calculator. Since our study was also a thesis study, SCORE 2 was not published during the thesis writing period. In the article period, as authors, we decided to use the SCORE risk calculator to avoid any difference between the thesis and the article. Another limitation of this study is its retrospective design, single-center nature, and limited sample size. Furthermore, the lack of data on potential confounding factors such as dietary intake and homocysteine levels may have influenced the findings.

CONCLUSION

Knowing the risk factors for cardiovascular diseases and early detection of risky individuals are of great importance. For this reason, we think that it would be beneficial to widespread use of the SCORE/SCORE2 risk calculator, which is recommended for use in our country, at all levels of the healthcare system, especially primary care. In our study, venous blood vitamin B12 levels and cardiovascular disease risk groups were compared and no statistically dependent relationship was found between them. Since cardiovascular diseases are still an important public health problem today, additional parameters that will provide convenience and benefit in identifying high-risk individuals need to be studied.

Acknowledgement

We would like to express our sincere gratitude to Prof. Dr. Turan Set, Head of the Department at Karadeniz Technical University, for his invaluable guidance, support, and contributions throughout this study.

Authorship contribution statement

Consept and desing: EA, MG.

Acquisition of data: MG.

Analysis and interpretation of data: MG.

Drafting of the manuscript: MG.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: EA, MG.

Statistical analysis: MG.

Declaration of competing interest: None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval: For this research, ethics committee approval was obtained from the Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Karadeniz Technical University, dated September 7, 2021, with the reference number 24237859-758.

Availability of data and materials: All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding: No financial support was received for this research.

REFERENCES

1. Turkish Statistical Institute (TÜİK). Mortality and Cause of Death Statistics, 2023. Published 2024. Accessed July 8, 2025. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Olum-ve-Olum-Nedeni-Istatistikleri-2023-53709>
2. Li J, Ma H. Associations of the hs-CRP/HDL-C ratio with cardiovascular disease among US adults: Evidence from NHANES 2015–2018. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2025;35(4):103814.
3. Aversa M, Cefalù AB. LP(a): The new marker of high cardiovascular risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2025;35(3):103845.
4. Ndrepepa G. Myeloperoxidase – A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clin Chim Acta.* 2019;493:36-51.
5. Sezgin Y. Vitamin B12 Yetersizliğine Yaklaşım. *Konuralp Medical Journal.* 2019;11(3):482-488.
6. Nomura SO, Bhatia HS, Garg PK, et al. Lipoprotein(a), high-sensitivity c-reactive protein, homocysteine and cardiovascular disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Prev Cardiol.* 2024;21:100903.
7. Kumakura H, Funada R, Matsuo Y, et al. Fifteen-year clinical prognosis and cardiovascular or limb event associated with homocysteine levels in peripheral arterial disease. *J Cardiol.* 2023;82(5):423-428.

8. Mahalle N, Kulkarni MV, Garg MK, Naik SS. Vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia as correlates of cardiovascular risk factors in Indian subjects with coronary artery disease. *J Cardiol.* 2013;61(4):289-294.
 9. Pawlak R. Is vitamin B12 deficiency a risk factor for cardiovascular disease in vegetarians?. *Am J Prev Med.* 2015;48(6):e11-e26.
 10. Chen X, Yu P, Zhou L, et al. Low concentration of serum vitamin B₁₂ may be a strong predictor of large-artery atherosclerosis stroke: A case-control study. *Clin Biochem.* 2024;131-132:110813.
 11. Rafnsson SB, Saravanan P, Bhopal RS, Yajnik CS. Is a low blood level of vitamin B12 a cardiovascular and diabetes risk factor? A systematic review of cohort studies. *Eur J Nutr.* 2011;50(2):97-106.
 12. van Oijen MGH, Vlemmix F, Laheij RJF, Paloheimo L, Jansen JBMJ, Verheugt FWA. Hyperhomocysteinemia and vitamin B12 deficiency: The long-term effects in cardiovascular disease. *Cardiology.* 2006;107(1):57-62.
 13. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J.* 2003;24(11):987-1003.
 14. Turkish Society of Endocrine and Metabolism. *Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu* 2019. 2019.
 15. Liu K, Yang Z, Lu X, et al. The origin of vitamin B12 levels and risk of all-cause, cardiovascular and cancer specific mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Arch Gerontol Geriatr.* 2024;117:105230.
 16. Liu Y, Geng T, Wan Z, et al. Associations of Serum Folate and Vitamin B12 Levels With Cardiovascular Disease Mortality Among Patients With Type 2 Diabetes. *JAMA Netw Open.* 2022;5(1):e2146124.
 17. Koldaş ZL Yaşlılık ve kardiyovasküler yaşlanma nedir?. *Türk Kardiyol Dern Ars.* 2017;45(90):1-4.
 18. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol.* 2013;28(2):169-180.
 19. Gebara N, Abdel-Massih T, Sahakian JP, et al. Unconventional Cardiovascular Risk Factors and Systematic Coronary Risk Estimation (SCORE) in the Lebanese Rural Population: The Forgotten Factors. *Vasc Health Risk Manag.* 2023;19:507-517.
 20. Graversen P, Abildstrøm SZ, Jespersen L, Borglykke A, Prescott E. Cardiovascular risk prediction: Can Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE) be improved by adding simple risk markers? Results from the Copenhagen City Heart Study. *Eur J Prev Cardiol.* 2016;23(14):1546-1556.
 21. Altun B, Arici M, Nergizoglu G, et al. Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Turkey (the PatenT study) in 2003. *J Hypertens.* 2005;23(10):1817-1823.
 22. Sengul S, Akpolat T, Erdem Y, et al. Changes in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control rates in Turkey from 2003 to 2012. *J Hypertens.* 2016;34(6):1208-1217.
 23. Dogan M, Ariyuca S, Peker E, et al. Psychotic disorder, hypertension and seizures associated with vitamin B12 deficiency: a case report. *Hum Exp Toxicol.* 2012;31(4):410-413.
 24. Zhou Z, Yang D, Li C, Wu T, Shi R. Serum ferritin and the risk of short-term mortality in critically ill patients with chronic heart failure: a retrospective cohort study. *Front Physiol.* 2023;14:1148891.
 25. Zhou J. Serum ferritin and the risk of myocardial infarction: A Mendelian randomization study. *Medicine (Baltimore).* 2024;103(17):e37952.
 26. SCORE2 working group and ESC Cardiovascular risk collaboration. SCORE2 risk prediction algorithms: new models to estimate 10-year risk of cardiovascular disease in Europe. *Eur Heart J.* 2021;42(25):2439-2454.
 27. Silva C, Mendes JE, Ramos R, Gaspar A, Leal F, Mendes N. Cardiovascular risk assessment in Portugal's primary health care system: SCORE vs. SCORE2. *Rev Port Cardiol.* 2024;43(8):449-455.
 28. Choi J, Sung S, Park SK, et al. SCORE and SCORE2 in East Asian Population: A Performance Comparison. *JACC Asia.* 2023;4(4):265-274.
- To Cite:** Guner M, Ates E. Comparison of Vitamin B12 Levels and Cardiovascular Disease Risk Groups. *Farabi Med J.* 2025;4(3):73-79.

The Effect of Topiramate on Adiponectin Secretion in 3T3-L1 Adipocytes: An *In Vitro* Approach to Anti-Obesity Mechanisms

Topiramatin 3T3-L1 Hücrelerinde Adiponektin Salınımı Üzerine Etkisi: Anti-obeziye Mekanizmalarına Yönelik Bir *In Vitro* Yaklaşım

Aysegul Sumer^{1,a,*}

¹Recep Tayyip Erdogan University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Rize, Türkiye.

*Corresponding author e-mail: aysegul.sumer@erdogan.edu.tr

^a<https://orcid.org/0000-0003-4918-4368>

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of topiramate, a pharmacological agent with emerging metabolic benefits on adipocyte differentiation and adipokine secretion, with a particular focus on adiponectin levels in 3T3-L1 adipocytes. 3T3-L1 preadipocytes were induced to differentiate and subsequently treated with varying concentrations of topiramate (1–100 μ M). Lipid accumulation was evaluated using Oil Red O staining, while adiponectin levels were measured via ELISA at 6, 12, and 24 hours. Cell viability was assessed using the MTT assay. Topiramate promoted significant lipid accumulation without cytotoxicity at concentrations up to 100 μ M, with the 50 μ M dose showing the highest lipid deposition. A significant increase in adiponectin secretion was observed in differentiated cells at 12 and 24 hours post-treatment ($p<0.01$), with the highest levels detected at 24 hours ($p<0.001$). Topiramate enhances adipocyte maturation and stimulates adiponectin secretion, indicating potential insulin-sensitizing and anti-inflammatory effects. These findings suggest that topiramate may exert part of its anti-obesity effects through adiponectin-mediated mechanisms and highlight its potential as a therapeutic agent in metabolic disease management.

Keywords: Adipogenesis, Adiponectin, Obesity, Topiramate, 3T3-L1 cells

ÖZET

Bu çalışma, metabolik açıdan giderek daha fazla yararları ortaya çıkan farmakolojik bir ajan olan topiramatin adiposit farklılaşması ve adipokin salınımı üzerindeki etkilerini, özellikle 3T3-L1 adipositlerinde adiponektin düzeylerine odaklanarak araştırmayı amaçlamıştır. 3T3-L1 preadipositleri farklılaşmaya indüklenmiş ve ardından değişen konsantrasyonlarda (1–100 μ M) topiramat ile muamele edilmiştir. Lipit birikimi, Oil Red O boyama yöntemi kullanılarak değerlendirilmiş; adiponektin düzeyleri ise 6, 12 ve 24. saatlerde ELISA ile ölçülmüştür. Hücre canlılığı MTT testi ile belirlenmiştir. Topiramat, 100 μ M'a kadar olan konsantrasyonlarda sitotoksikite oluşturmada anlamlı lipit birikimi sağlamış, en yüksek lipit depolanması 50 μ M dozunda gözlenmiştir. Farklılaşmış hücrelerde, tedaviden sonraki 12. ve 24. saatlerde adiponektin salınımında anlamlı bir artış saptanmış ($p<0.01$) ve en yüksek düzeyler 24. saatte belirlenmiştir ($p<0.001$). Topiramat, adiposit olgunlaşmasını artırmakta ve adiponektin salınımını uyarmaktadır; bu da potansiyel insülin-duyarlılaştırıcı ve antiinflatuvar etkilerine işaret etmektedir. Bulgular, topiramatin kilo düşürücü etkilerinin bir kısmını adiponektin aracılı mekanizmalar üzerinden gösterebileceğini ve metabolik hastalıkların tedavisinde potansiyel bir ajan olabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Adipogenez, Adiponektin, Obezite, Topiramat, 3T3-L1 hücreleri

INTRODUCTION

Obesity is a multifactorial chronic disease that has reached epidemic proportions globally and poses a significant threat to public health. It is associated with an increased risk of numerous comorbidities, including type 2 diabetes mellitus, cardiovascular diseases, non-alcoholic fatty liver disease, and several forms of cancer.¹ The pathophysiology of obesity is complex and involves genetic, environmental, and behavioral factors that lead to an imbalance between caloric intake and energy expenditure. Importantly, obesity is characterized not only by an excess accumulation of adipose tissue but also by profound alterations in the endocrine and immune functions of this tissue.²

Adipose tissue, once considered an inert depot for energy storage, is now recognized as a highly dynamic and metabolically active organ that plays a central role in maintaining energy homeostasis. It is composed of various cell types, including adipocytes, preadipocytes, macrophages, and endothelial cells, all of which contribute to its endocrine function.³ In obesity, adipose tissue undergoes significant remodeling, including adipocyte hypertrophy, increased infiltration of immune cells, and altered secretion of signaling molecules. These changes impair the normal metabolic and endocrine functions of adipose tissue and contribute to systemic insulin resistance and chronic low-grade inflammation.⁴

One of the hallmark features of adipose tissue dysfunction in obesity is the dysregulated secretion of adipokines bioactive peptides and proteins released by adipocytes that act in autocrine, paracrine, and endocrine manners to influence systemic metabolism.⁵ Adipokines such as leptin, resistin, visfatin, and adiponectin play key roles in regulating appetite, glucose metabolism, lipid homeostasis, and immune responses. In the obese state, the balance of pro-inflammatory and anti-inflammatory adipokines is disrupted, tipping toward a pro-inflammatory milieu that promotes insulin resistance and metabolic complications.⁶

Adiponectin is a unique adipokine that stands out for its anti-inflammatory, insulin-sensitizing, and anti-atherogenic properties. Unlike most adipokines, adiponectin levels are paradoxically decreased in obesity, with low circulating concentrations correlating with increased risk of metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease.⁷ Adiponectin

exerts its effects through AdipoR1 and AdipoR2 receptors, activating downstream signaling pathways such as AMP-activated protein kinase (AMPK) and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR- α), which enhance fatty acid oxidation and improve insulin sensitivity.⁸ Thus, therapeutic strategies aimed at increasing adiponectin levels or enhancing its signaling have garnered interest in the context of metabolic disease management.

Topiramate, a sulfamate-substituted monosaccharide initially approved as an anticonvulsant, has gained attention in recent years for its weight-reducing and metabolic regulatory effects. Clinical studies have demonstrated that topiramate induces significant weight loss in obese patients, especially when used in combination with other agents such as phentermine.^{9,10} Although the precise mechanisms remain to be fully elucidated, topiramate is believed to suppress appetite, modulate neurotransmitter activity, and potentially alter energy metabolism. Emerging data suggest that topiramate may also exert effects on adipose tissue biology and adipokine secretion, including the modulation of adiponectin levels, thereby contributing to its overall metabolic benefits.¹¹ However, the precise molecular mechanisms underlying these effects especially in relation to adipokine regulation remain insufficiently characterized.

Given adiponectin's pivotal role in metabolic homeostasis and the observed reduction of its levels in obesity, there is growing interest in pharmacological agents that can enhance its expression and signaling. Topiramate, due to its favorable metabolic profile, represents a promising candidate in this context. Nonetheless, further research is needed to clarify how topiramate affects adiponectin production and function at the cellular level. To address this knowledge gap, the present study aimed to investigate the effects of topiramate on adiponectin expression using 3T3-L1 cells, a well-established murine preadipocyte model widely employed to study adipocyte differentiation and adipokine dynamics. Given their capacity to recapitulate key features of adipogenesis and adipokine secretion, 3T3-L1 cells provide a robust *in vitro* platform to evaluate the potential of pharmacological agents to modulate adipocyte function.

METHODS

Ethical approval

This study does not require ethical approval as it is a computational study.

Chemicals

Topiramate, Sigma, T0575-10MG Biotin, [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), and Oil Red O were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Fetal bovine serum (FBS) was obtained from Biochrom (Berlin, Germany). Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) was acquired from the American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA). 2-Propanol was purchased from J.T. Baker (PA, USA). Mouse adiponectin levels were measured using a commercial ELISA kit (Mouse Adiponectin ELISA Kit, Cat. No: EMA2500-1, Lot No: 071041003; AssayPro, St. Charles, MO, USA).

Cell culture and differentiation protocol

3T3-L1 preadipocytes (ATCC, Manassas, VA, USA) were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM; ATCC) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS; Biochrom, Berlin, Germany) under standard conditions (37 °C, 5% CO₂, humidified atmosphere). For adipogenic differentiation, cells were seeded in 6-well plates and allowed to reach full confluence. Two days post-confluence (designated day 0), the medium was replaced with an induction cocktail containing DMEM, 10 µg/mL insulin, 0.25 µM dexamethasone, 0.5 mM IBMX, and 100 ng/mL biotin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), and incubated for four days.¹²

On day 4, cells were switched to maintenance medium (DMEM with 10% FBS, 10 µg/mL insulin) containing various concentrations of topiramate (TPM). TPM was dissolved in DMEM and diluted to final concentrations; control groups received vehicle (DMEM) only. On day 6, the medium was refreshed with DMEM supplemented with 10% FBS, 10 µg/mL insulin, and 100 ng/mL biotin to promote further maturation. Treatments were maintained consistently to evaluate TPM's effects on adipogenic differentiation.

Oil red O staining

Lipid accumulation in differentiated adipocytes was assessed by Oil Red O staining, following the method of Ramírez-Zacarías et al.¹³ with minor modifications. Cells were washed twice with phosphate-buffered saline (PBS) and fixed with 10% neutral-buffered formalin for 1 hour at room temperature. After fixation, wells were rinsed twice with 60% 2-propanol to prepare for staining.

Cells were then incubated with freshly prepared Oil Red O working solution for 10 minutes at room temperature.

Excess stains were removed by washing the wells five times with distilled water. Lipid droplets were visualized and imaged using an inverted phase-contrast microscope (Nikon Eclipse TS100, Tokyo, Japan).

For quantification, 100% 2-propanol was added to elute the retained dye, and a 1 mL aliquot of the eluate from each well was collected. Absorbance was measured at 520 nm using a UV-visible spectrophotometer (Shimadzu UV1601, Kyoto, Japan). Absorbance values were used to quantify intracellular lipid accumulation.

Cell viability assay

Cell viability was evaluated using the MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay, as originally described by Mosmann.¹⁴ Briefly, 3T3-L1 cells were seeded into flat-bottom 96-well plates and allowed to adhere for 24 hours. After attachment, the cells were treated with various concentrations of topiramate (TPM; µM; 0, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 750, 1000) and incubated for 72 hours under standard culture conditions.

MTT solution (final concentration: 0.25 mg/mL) was added to each well and cells were incubated for 4 hours at 37°C. During this incubation period, viable cells reduce MTT to purple formazan crystals via mitochondrial dehydrogenase enzymes. Following incubation, the medium was removed, and formazan crystals were solubilized in 100 µL of DMSO per well to allow quantification. Absorbance was measured at 570 nm using a microplate reader (Versamax, Molecular Devices, CA, USA).

The optical density (OD) values were used to calculate cell viability as a percentage of the untreated control group using the following formula:¹⁵ Cell viability (%) = $OD_{\text{treatment}}/OD_{\text{control}} \times 100$

Adiponectin measurement

To evaluate the effect of topiramate on adiponectin secretion, fully differentiated 3T3-L1 adipocytes were first washed with PBS, and the culture medium was replaced with serum-free Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM). Cells were then treated with topiramate, and culture supernatants were collected at 6, 12 and 24 hour post-treatment.

The selection of 6, 12 and 24 hour time points for collecting culture supernatants was based on standard time-course protocols commonly used in secretory response assays of adipocytes. These intervals were chosen to capture both early (6 h) and intermediate (12 h) stages of adiponectin secretion, as well as the later or sustained phase (24 h) following topiramate treatment.

Adiponectin secretion is known to be a dynamic process regulated by intracellular signaling cascades and transcriptional events, which can respond to pharmacological stimuli over varying time frames. Early changes (within a few hours) may reflect rapid post-translational or signaling effects, while later time points can indicate transcriptional regulation or accumulated secretion. Therefore, this time-course design allows for a comprehensive evaluation of both acute and delayed effects of topiramate on adiponectin release from mature adipocytes.

Adiponectin levels in the collected supernatants were determined using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit, following the manufacturer's instructions (Assay Pro Mouse Adiponectin ELISA Kit, Cat. No: EMA2500-1, Lot No: 071041003). Quantification was carried out using a standard curve generated from known concentrations of recombinant adiponectin, and the results were expressed as nanograms per milliliter (ng/mL).

Statistical analysis

To compare the levels of differentiation among the experimental groups, one-way analysis of variance (One-Way ANOVA) was performed. When the ANOVA indicated a statistically significant difference, Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) post-hoc test was conducted to determine which specific group comparisons accounted for the observed differences. Additionally, to examine the relationship between differentiation level and the adiponectin levels, Spearman's rho correlation analysis was performed, taking into consideration the distribution characteristics of the variables. A significant level of $p < 0.05$ was adopted for all analyses. Statistical analyses were conducted using SPSS software, version 23.0.

RESULTS

Effect of topiramate on the viability of 3T3-L1 cells

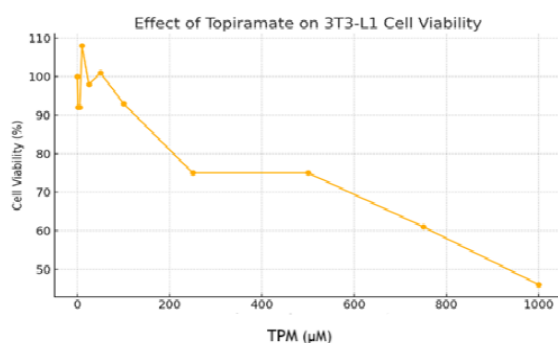


Figure 1. Effect of topiramate on the viability of 3T3-L1 adipocytes as determined by MTT assay

The cytotoxic effect of topiramate on 3T3-L1 cells was assessed using the MTT assay. Cells were treated with increasing concentrations of topiramate (1–1000 μM) for 72 hours, and cell viability was calculated relative to the untreated control group (Figure 1). The results revealed that topiramate exhibited no significant cytotoxic effect at lower concentrations (1–100 μM), with cell viability remaining above 90% in these groups. However, a marked decline in cell viability was observed at 250 μM and 500 μM concentrations. At 250 μM, cell viability dropped to approximately 65%, while treatment with 500 μM further reduced viability to nearly 40%. This concentration-dependent decrease in viability suggests that topiramate may exert cytotoxic effects at higher doses. These findings support the selection of the 1–100 μM concentration range as non-cytotoxic and physiologically relevant for subsequent experiments, including differentiation and adipokine analysis. The absence of cytotoxicity at these doses also reinforces the reliability of downstream functional assays involving topiramate treatment.

Effect of topiramate on adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells

The effect of topiramate on adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells was assessed using the Oil Red O staining method, a widely accepted technique for evaluating intracellular lipid accumulation. Lipid accumulation was quantified by measuring the absorbance of the extracted Oil Red O dye at 520 nm using a spectrophotometer (Table 1).

Table 1. Effect of topiramate on adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells

	$\bar{X}$	SD	F	p	Tukey
B (Undiff) ^a	0.38	0.01			a<b,c,d,e,f,g
0 (Diff) ^b	0.52	0.01			b<f,g
1μM ^c	0.53	0.02			c< f,g
5μM ^d	0.52	0.01	15.6	0.000*	d<f,g
10μM ^e	0.54	0.01			e<f,g
50μM ^f	0.63	0.01			f>a,b,c,d,e,g
100μM ^g	0.59	0.01			g>a,b,c,d,e
					g<f

One-way ANOVA revealed a statistically significant difference in differentiation levels among the cell groups ($F(6,14)=158.603$; $p<0.001$). To identify the specific group differences contributing to this significance, pairwise comparisons were conducted using Tukey's post hoc test. a; B (undifferentiated), b; 0 (Differentiated), c; 1 μM, d; 5 μM, e; 10 μM, f; 50 μM, g; 100 μM.

F; One-Way ANOVA, $p<0.05$, $\bar{X}$; Mean, SD; Standard Deviation

The undifferentiated cells exhibited significantly lower levels of differentiation compared to all other groups ($p<0.05$). In contrast, the 50 μM group showed the highest differentiation levels among all groups, with statistically significant differences ($p<0.05$). The 100 μM group demonstrated significantly higher differentiation compared to the differentiated with no TPM 0, 1 μM , 5 μM , and 10 μM groups ($p<0.05$), but significantly lower differentiation than the 50 μM group ($p<0.05$). These findings indicate a pronounced and dose-dependent effect of different treatment conditions on adipogenic differentiation.

According to the Tukey HSD post hoc analysis, a statistically significant difference was observed between undifferentiated cells and the 0 group ($p<0.001$). The mean differentiation value of the undifferentiated group ($\bar{X}=0.38$) was significantly lower than that of the 0 group ($\bar{X}=0.52$). Furthermore, the undifferentiated group also exhibited significantly lower differentiation levels compared to the 1 μM , 5 μM , 10 μM , 50 μM , and 100 μM groups ($p<0.05$). The 0 group, on the other hand, showed significantly lower differentiation than the 50 μM and 100 μM groups ($p<0.05$), but did not differ significantly from the 1 μM , 5 μM , and 10 μM groups ($p>0.05$). These results indicate that topiramate promotes lipid accumulation in a dose-dependent manner, potentially by enhancing adipocyte differentiation or lipid uptake pathways.

Effects of topiramate on adiponectin levels

To investigate whether topiramate modulates adiponectin secretion as an indicator of its potential role in adipocyte differentiation, fully differentiated 3T3-L1 adipocytes were treated with topiramate, and the levels of adiponectin secreted into the culture supernatants were measured using a quantitative ELISA. This approach allowed for the assessment of topiramate's effect on the functional output of mature adipocytes, as adiponectin is a key adipokine associated with adipocyte maturation and metabolic activity.

Adiponectin levels were assessed at 6, 12, and 24 hours. A significant increase in adiponectin concentration was observed in differentiated cells compared to undifferentiated controls at 12 and 24 hours ($P<0.01$). Furthermore, at 24 hours, adiponectin levels were significantly higher across all concentrations compared to both 6- and 12-hour time points ($P<0.001$) (Figure 2). These results support the hypothesis that topiramate enhances adipogenic differentiation, as differentiated

cells are expected to secrete higher levels of adipokines such as adiponectin.

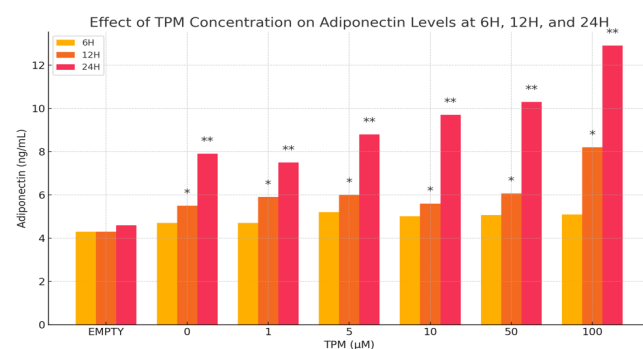


Figure 2. Changes in adiponectin levels over time and across topiramate concentrations in differentiated cells (* $P<0.01$ compared to undifferentiated cells; ** $P<0.001$ compared to 6- and 12-hour time points)

Correlation between adiponectin levels and lipid accumulation

Spearman's rank correlation analysis was performed between adiponectin levels and intracellular lipid accumulation, as assessed by Oil Red O staining. The analysis demonstrated a moderate positive correlation ($\rho=0.464$), but this relationship was not statistically significant ($p=0.294$). Although the result does not reach statistical significance, the trend suggests a potential link between adiponectin secretion and lipid accumulation during differentiation.

DISCUSSION

Beyond serving as a passive lipid storage depot, adipose tissue is an active endocrine organ that secretes a wide range of bioactive molecules, adipokines that modulate metabolic homeostasis, inflammation, and insulin sensitivity.¹ Among these, adiponectin is of particular interest due to its insulin-sensitizing, anti-inflammatory, and anti-atherogenic properties.¹⁷ In obesity, circulating adiponectin levels are paradoxically reduced despite increased adiposity, contributing to the pathogenesis of insulin resistance and metabolic syndrome.¹⁸ Restoration of adiponectin levels is therefore a potential therapeutic target in obesity management.¹⁹ Topiramate has been primarily used as an antiepileptic and antimigraine agent; however, its weight-reducing and insulin-sensitizing effects have garnered increasing attention in metabolic research. Although the mechanisms are not yet fully elucidated, studies suggest that topiramate modulates central appetite regulation, increases thermogenesis, and improves glucose and lipid metabolism. Importantly, recent data indicate that

topiramate may influence adipose tissue remodeling and adipokine secretion.²⁰⁻²² In the present study, Oil Red O staining was used to evaluate intracellular lipid accumulation as an indicator of adipogenic differentiation in 3T3-L1 adipocytes. Quantitative analysis revealed that topiramate increased lipid accumulation in a dose-dependent manner within the non-cytotoxic concentration range (1–100 μ M). The most pronounced effect was observed at 50 μ M, where lipid deposition was significantly higher compared to both untreated differentiated controls and lower drug concentrations, indicating an optimal dose for promoting adipogenesis under these experimental conditions. At supraphysiological doses (≥ 250 μ M), lipid accumulation markedly declined, which aligns with the observed reduction in cell viability, indicating cytotoxicity-mediated suppression of differentiation. From a mechanistic perspective, enhanced lipid accumulation in mature adipocytes is typically interpreted as an indicator of effective differentiation, which in turn is often associated with improved adipokine secretion profiles, particularly adiponectin. In obesity, impaired adipogenesis and the predominance of hypertrophic, dysfunctional adipocytes contribute to reduced adiponectin production, increased pro-inflammatory cytokine release, and systemic insulin resistance. Pharmacological agents that promote the formation of smaller, metabolically active adipocytes can restore endocrine function and ameliorate metabolic derangements.^{16,17,20} Interestingly, the positive relationship observed between lipid accumulation and adiponectin secretion in our study, although not statistically significant, suggests that topiramate may enhance adipocyte maturation in parallel with endocrine competence. The 50 μ M concentration may therefore represent a threshold where topiramate optimally supports both lipid storage capacity and beneficial adipokine output without inducing lipotoxicity. It is important to note that in the context of obesity therapy, increased lipid accumulation within adipocytes *in vitro* does not necessarily translate to adverse effects *in vivo*. On the contrary, healthy adipogenesis can facilitate the safe sequestration of fatty acids into subcutaneous depots, thereby reducing ectopic fat deposition in liver and muscle and improving whole-body insulin sensitivity.^{23,24} In this light, the Oil Red O findings of our study support the hypothesis that topiramate may improve adipose tissue health not by reducing the number of adipocytes, but by enhancing their functional

capacity. Future studies should investigate whether the increased lipid accumulation observed here is accompanied by changes in lipogenic and lipolytic gene expression (e.g., PPAR γ , C/EBP α , ATGL, HSL) and whether similar effects are seen in primary human adipocytes. Such analyses would clarify whether topiramate's effect on adipogenesis is mediated through canonical differentiation pathways.

In this study, adiponectin secretion in 3T3-L1 adipocytes increased significantly following topiramate treatment, with the most pronounced elevations observed at 12 and 24 hours across all non-cytotoxic concentrations (1–100 μ M). This time-dependent increase suggests that topiramate exerts both early and sustained stimulatory effects on adiponectin production. The delayed peak at 24 hours may reflect transcriptional upregulation, protein synthesis, and secretion processes, consistent with the known kinetics of adipokine regulation in mature adipocytes.^{16,17,25} The correlation analysis revealed a moderate but non-significant positive relationship between lipid accumulation and adiponectin secretion ($p=0.464$, $p=0.294$). Although not statistically significant, the direction of this association is biologically plausible. Well-differentiated, metabolically healthy adipocytes generally store more triglycerides and produce higher levels of adiponectin. The lack of statistical significance here may be due to the limited sample size or intrinsic variability in *in vitro* adipokine measurements. Nevertheless, the trend suggests that topiramate's promotion of adipogenesis (as indicated by Oil Red O staining) and its enhancement of adiponectin secretion may be mechanistically linked. Clinically, this dual effect is relevant because healthy adipose tissue expansion coupled with increased adiponectin can help divert lipids away from ectopic sites such as liver and muscle, thereby mitigating lipotoxicity and improving whole-body metabolic homeostasis.²⁶ Moreover, adiponectin elevation could partially explain the metabolic improvements observed in clinical trials of topiramate-containing weight-loss regimens.

Topiramate is clinically recognized for its weight-reducing effects, particularly when combined with phentermine, primarily attributed to appetite suppression and reduced caloric intake.²¹ However, our findings suggest that direct modulation of adipocyte function enhancing differentiation and adiponectin secretion may represent an additional peripheral mechanism. This dual action could provide synergistic

benefits in obesity management, addressing both energy intake and adipose tissue health. Given that low adiponectin levels in obesity are associated with insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease, pharmacologically induced increases in adiponectin especially in parallel with improved adipogenesis may translate into meaningful metabolic improvements.^{27,28} Beyond its impact on adiponectin regulation, topiramate may exert additional metabolic benefits through other mechanisms. Experimental and clinical studies have reported that topiramate can reduce oxidative stress by enhancing antioxidant defense systems and lowering reactive oxygen species production. Furthermore, topiramate has been shown to improve mitochondrial function, potentially through modulation of mitochondrial biogenesis and efficiency, which could contribute to improved cellular energy homeostasis.²⁹ Although our findings suggest a potential metabolic benefit of topiramate reflected by increased adiponectin secretion no direct measurements of insulin sensitivity were performed in this study. Key indicators such as GLUT4 expression, glucose uptake assays, or phosphorylation levels of insulin signaling intermediates (e.g., Akt or IRS-1) were not assessed. Therefore, any inference regarding improved insulin sensitivity remains speculative. Given the well-established role of adiponectin in enhancing insulin responsiveness, it is reasonable to hypothesize that the observed increase in adiponectin may contribute to such effects. However, this interpretation should be made cautiously. Future studies should include specific molecular and functional analyses to determine whether topiramate indeed improves insulin signaling pathways in adipocytes. A more appropriate conclusion, given the current data, would be: “Since adiponectin is associated with improved insulin sensitivity, this possibility should be explored in future studies”.

The strength of this study lies in its integrated assessment of adipogenesis, adiponectin secretion, and cytotoxicity across a concentration range, allowing identification of an optimal effective dose (50 μ M) for *in vitro* adipocyte function. However, the *in vitro* model does not capture systemic influences such as neural regulation, hepatic lipid metabolism, or long-term tissue remodeling. Additionally, total adiponectin was measured without distinguishing high-molecular-weight (HMW) forms, which possess the strongest metabolic effects. Future studies should assess the expression of adipogenesis-related transcription factors

such as PPAR γ and C/EBP α , as well as lipid metabolism genes including ATGL and HSL, to clarify the molecular basis of the observed effects. In addition, incorporating inflammatory marker profiling would help determine whether topiramate exerts anti-inflammatory actions alongside its metabolic effects. Finally, validating these findings in primary human adipocytes and *in vivo* models with comprehensive metabolic readouts will be essential to confirm their translational relevance.

CONCLUSION

In conclusion, this study provides novel evidence that topiramate enhances adipogenesis and adiponectin secretion in 3T3-L1 adipocytes at non-cytotoxic doses, with optimal effects at 50 μ M. These findings suggest that topiramate’s anti-obesity action may extend beyond appetite suppression to include direct improvement of adipose tissue endocrine function, potentially contributing to enhanced insulin sensitivity and reduced inflammation. By promoting the development of metabolically healthy adipocytes and restoring a favorable adipokine profile, topiramate may offer a multifaceted approach to obesity treatment.

Authorship contribution statement

Concept and design: AS.

Acquisition of data: AS.

Analysis and interpretation of data: AS.

Drafting of the manuscript: AS.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: AS.

Statistical analysis: AS.

Declaration of competing interest

None of the authors have potential conflicts of interest to be disclosed.

Ethical approval

This study does not require ethical approval as it is a computational study.

Availability of data and materials

All data generated or analyzed during this study are included in this published article.

Funding

No financial support was received for this research.

REFERENCES

1. Abad-Jiménez Z, Vezza T. Obesity: a global health challenge demanding urgent action. *Biomedicines*. 2025;13(2):502.
2. Kirichenko TV, Markina YV, Bogatyreva AI, Tolstik TV, Varaeva YR, Starodubova AV. The role of adipokines in inflammatory mechanisms of obesity. *Int J Mol Sci*. 2022;23(23):14982.

3. Jia Y, Lacombe M, Muller C, Milhas D. Adipose tissue and androgens: the ins and outs. *Adipocyte*. 2025;14(1):2508885.
4. Song Q, Xu P, Xiao Q, Zhang C, Mao Y. Crosstalk between white adipose tissue and skin: unraveling its role in psoriasis pathogenesis. *Mol Med Rep*. 2025;31(6):169.
5. Kushner RF, Shapiro M. Obesity: assessment and treatment across the care continuum. *Ann Med*. 2025;57(1):2521433.
6. Almpandou S, Vachliotis ID, Goulas A, Polyzos SA. The potential role of adipokines and hepatokines in age-related ocular diseases. *Metab Open*. 2025;26:100365.
7. Supriya R, Tam BT, Yu AP, et al. Adipokines demonstrate the interacting influence of central obesity with other cardiometabolic risk factors of metabolic syndrome in Hong Kong Chinese adults. *PLoS One*. 2018;13(8):e0201585.
8. Lee S, Kwak HB. Role of adiponectin in metabolic and cardiovascular disease. *J Exerc Rehabil*. 2014;10(2):54-59.
9. Kulkarni C, Kumar S, Khatoon S, et al. Isovixetin, a natural adiponectin agonist, prevents glucocorticoid-induced osteosarcopenia. *Endocrine*. 2025;89(2):565-577.
10. Xiong GL, Gadde KM. Combination phentermine/topiramate for obesity treatment in primary care: a review. *Postgrad Med*. 2014;126(2):110-116.
11. De Simone G, Supuran CT. Antiobesity carbonic anhydrase inhibitors. *Curr Top Med Chem*. 2007;7(9):879-884.
12. Mentese A, Alver A, Sumer A, Demir S. Effects of homocysteine on adipocyte differentiation and CD36 gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *J Cell Commun Signal*. 2016;10(1):55-60.
13. Ramírez-Zacarias JL, Castro-Muñozledo F, Kuri-Harcuch W. Quantitation of adipose conversion and triglycerides by staining intracytoplasmic lipids with Oil Red O. *Histochemistry*. 1992;97(6):493-497.
14. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65(1-2):55-63.
15. Xuan H, Li Z, Yan H, et al. Antitumor activity of Chinese propolis in human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014;2014:280120.
16. Baldelli S, Aiello G, Mansilla Di Martino E, et al. The role of adipose tissue and nutrition in the regulation of adiponectin. *Nutrients*. 2024;16(15):2436.
17. Alzubi A, Glowacki HX, Burns JL, et al. Dose-dependent effects of short-chain fatty acids on 3T3-L1 adipocyte adipokine secretion and metabolic function. *Nutrients*. 2025;17(3):571.
18. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1784-1792.
19. Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell*. 2014;156(1-2):20-44.
20. Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2094-2101.
21. Gadde KM, Allison DB, Ryan DH, et al. Effects of low-dose, controlled-release, phentermine plus topiramate combination on weight and associated comorbidities in overweight and obese adults (CONQUER): a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2011;377(9774):1341-1352.
22. Sümer A, Keha EE, Mentese A, Alver A. Effects of topiramate on adipocyte differentiation and gene expression of certain carbonic anhydrase isoenzymes. *Turk J Biochem*. 2020;45(2):217-223.
23. Pollard AE. New concepts in the roles of AMPK in adipocyte stem cell biology. *Essays Biochem*. 2024;68(3):349-361.
24. Scheidl TB, Wager JL, Thompson JA. Adipose tissue stromal cells: rheostats for adipose tissue function and metabolic disease risk. *Can J Cardiol*. 2025; Epub ahead of print.
25. Gao D, Bing C, Griffiths HR. Disrupted adipokine secretion and inflammatory responses in human adipocyte hypertrophy. *Adipocyte*. 2025;14(1):2485927.
26. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85-97.
27. Choi HM, Doss HM, Kim KS. Multifaceted physiological roles of adiponectin in inflammation and diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(4):1219.
28. Shan Y, Chen Y, Gu H, Wang Y, Sun Y. Regulatory basis of adipokines leptin and adiponectin in epilepsy: from signaling pathways to glucose metabolism. *Neurochem Res*. 2023;48(7):2017-2028.
29. Chen QW, Meng RT, Ko CY. Modulating oxidative stress and neurogenic inflammation: the role of topiramate in migraine treatment. *Front Aging Neurosci*. 2024;16:1455858.

To Cite: Sumer A. The Effect of Topiramate on Adiponectin Secretion in 3T3-L1 Adipocytes: An *In Vitro* Approach to Anti-Obesity Mechanisms. *Farabi Med J*. 2025;4(3):80-87.

Bir Üniversite Hastanesine Ayaktan Başvuran Hastaların Akılcı İlaç Kullanımı Durumlarının Değerlendirilmesi

Evaluation of the Rational Drug Use Status of Outpatients Applying to a University Hospital

Kübra Güner-Karaca^{1,4,a,*}, Burak Kaya^{2,b}, Merve Erboğa^{2,c}, Cihangir Efe Aydın^{2,d}, Elif Ceren Arıkan^{2,e}, Süleyman Kaan Bayram^{2,f}, Ege Alemdaroğlu^{2,g}, Sude Naz Sarı^{2,h}, Ayşe Betül Baş^{2,i}, Berika Yumbul^{2,j}, Muhammed Ali Coşkun^{2,k}, Buğrahan Cival^{2,l}, Mihraban Özdemir^{2,m}, Mehmet Ali Bal^{2,n}, Koray Emre Çakmakoglu^{2,o}, Miraç Sevgi^{2,p}, Aleyna Nur Genç^{2,q}, Erdal Danacı^{3,r}, Turan Set^{4,s}

¹Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Ortahisar İlçe Sağlık Müdürlüğü, 61040, Trabzon, Türkiye.

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıp Fakültesi Öğrencisi, 61080 Trabzon, Türkiye.

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi (Farabi Hastanesi Başhekimliği) Biyomedikal Birimi 61080, Trabzon, Türkiye.

⁴Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, 61080, Trabzon, Türkiye.

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

^a<https://orcid.org/0009-0000-3021-8500>; ^b<https://orcid.org/0009-0004-8345-6325>; ^c<https://orcid.org/0009-0001-8499-7463>

^d<https://orcid.org/0009-0007-3581-517X>; ^e<https://orcid.org/0009-0002-6171-9636>; ^f<https://orcid.org/0009-0006-3647-6395>

^g<https://orcid.org/0009-0005-1576-0293>; ^h<https://orcid.org/0009-0001-2939-0474>; ⁱ<https://orcid.org/0009-0000-5288-8847>

^j<https://orcid.org/0009-0009-4119-0238>; ^k<https://orcid.org/0009-0005-7032-3731>; ^l<https://orcid.org/0009-0001-2648-4512>

^m<https://orcid.org/0009-0000-2136-2922>; ⁿ<https://orcid.org/0009-0000-2465-0946>; ^o<https://orcid.org/0009-0007-5638-1163>

^p<https://orcid.org/0009-0002-2851-7821>; ^q<https://orcid.org/0009-0001-6722-6878>; ^r<https://orcid.org/0009-0002-2070-1683>

^s<https://orcid.org/0000-0001-5931-0861>

ÖZET

Bu çalışmada Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farabi Hastanesi polikliniklerine ayaktan başvuran (18 yaş ve üzeri) yetişkin hastaların akılcı ilaç kullanım bilgi düzeyinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Kesitsel ve tanımlayıcı tipteki bu çalışma, toplam 850 katılımcı ile yürütülmüştür. Veriler, sosyodemografik bilgi formu ve Akılcı İlaç Kullanımı Ölçeği kullanılarak yüz yüze görüşme yöntemiyle toplanmıştır. Elde edilen verilerin analizinde tanımlayıcı istatistiksel yöntemler ve Pearson Ki Kare testi ve Fisher's Exact Test kullanılmıştır. Katılımcıların %60.2'sini kadınlar, %39.8'ini erkekler oluşturmaktadır. Yaş ortancası 33 yıl (IQR:22-48) idi. Çalışma bulgularına göre, Akılcı İlaç Kullanımı Ölçeği yeterlilik düzeyleri; kadınlar, bekar bireyler, üniversite ve üstü eğitim almış olanlar, şehir merkezinde yaşayanlar, ailede sağlık çalışanı bulunanlar, hastalandığında ilk başvuru noktası olarak üniversite hastanesini tercih edenler, ilaç prospektüsünü okuyan ve ilaçların saklama koşullarına dikkat eden bireyler ile tavsiye üzerine ilaç kullanmayan, başkalarına ilaç tavsiyesinde bulunmayan katılımcılar ile bitkisel ürünleri ilaç yerine kullanmayanlarda daha yüksek bulunmuştur. Katılımcıların Akılcı İlaç Kullanımı Ölçeği puan ortancası 39 (IQR: 36-41) olup, %85.4'ünün (n=726) bilgi düzeyinin ölçek kesme puanının üzerinde (yeterli) olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda erişkin bireylerin akılcı ilaç kullanım bilgi düzeyleri yüksek bulunmuş ancak bazı değişkenlere göre anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Bu bulgular, bilinçli ilaç kullanımı için hedef gruplara yönelik eğitim ve farkındalık çalışmalarının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Akılcı ilaç kullanımı, Bilgi düzeyi, Yetişkin

ABSTRACT

This study aimed to assess the knowledge level of rational drug use among adult patients (aged 18 and over) who applied to the outpatient clinics of Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Farabi Hospital. This cross-sectional and descriptive study included 850 participants. Data were collected through face-to-face interviews using a sociodemographic form and the Rational Drug Use Scale. Descriptive statistics, Pearson's Chi-Square, and Fisher's Exact Test were used for data analysis. Of the participants, 60.2% were female and 39.8% male. The median age was 33 years (IQR: 22–48). Rational drug use knowledge was significantly higher among women, single individuals, those with university-level education or above, city center, individuals with a healthcare worker in the family, those preferring a tertiary care hospital as the first point of care, those who read drug leaflets, and those attentive to storage conditions. Higher knowledge was also observed in individuals who avoided using or recommending medications based on others' advice and those who did not substitute herbal products for medicine. The median score on the Rational Drug Use Scale was 39 (IQR: 36–41), and 85.4% (n=726) of participants scored above the cut-off, indicating sufficient knowledge. The study revealed that adult participants had a high level of knowledge regarding rational drug use, although significant differences were observed based on certain variables. These findings highlight the need for targeted education and awareness initiatives to promote rational drug use in specific population groups.

Keywords: Adult, Knowledge level, Rational drug use

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre Akılcı ilaç kullanımı (AİK): hastaların klinik durumlarına uygun, bireysel ihtiyaçlarını karşılayacak doz ve sürede, en düşük maliyetle etkili ilaç tedavisinin sağlanmasıdır.¹ Akılcı ilaç kullanımı; ilaç endüstrisi, sağlık çalışanları ve toplumun ortak sorumluluğunu gerektirir. Bu süreçte hekim, eczacı ve hasta, ilacın doğru seçimi, temini ve kullanımı konusunda temel aktörlerdir.² Akılcı olmayan ilaç kullanımı; polifarmasi, endikasyon dışı antimikrobiyal kullanımı, gereksiz enjeksiyonlar, kılavuzlara uyumsuz reçeteler, reçeteli ilaçlarla kendi kendine tedavi ve tedaviye uyumsuzluk gibi uygulamalar örnek verilebilir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, ilaçların yarısından fazlası uygun olmayan biçimlerde reçetelenmekte veya kullanılmakta, hastaların önemli bir bölümü tedaviye yeterince uyum göstermemekte ve dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri temel ilaçlara ulaşamamaktadır. Akılcı olmayan ilaç kullanımı, sağlık kaynaklarının ekonomik israfına ve ciddi halk sağlığı sorunlarına yol açmaktadır.³ Bu sebeple çeşitli çözüm yolları geliştirilmeye çalışılmaktadır. Sağlık politikalarının düzenlenmesi ile doğrudan alınan önlemlerin yanında, AİK uygulamaları devreye sokulmaktadır.⁴ Türkiye'deki verilere bakıldığında ise; 2018'de yapılan bir çalışmada katılımcıların akılcı olmayan ilaç kullanımı DSÖ'nün de belirttiği gibi %53.4 olarak saptanmıştır.⁵ Birçok ülkede ilaç harcamalarının toplam sağlık bütçesi içindeki payının yüksek olması ve farmasötik ürünlerin artışı, ilaç tüketimi ve maliyetlerini de beraberinde getirmiş böylece akılcı ilaç kullanımını gün geçtikçe daha önemli hale getirmiştir. Bu bağlamda, AİK ve ilaç yönetiminin ulusal ilaç politikaları çerçevesinde değerlendirilmesi gerekmektedir.⁶ Ülkemizde sağlık harcamaları artmaktadır. Toplam sağlık harcaması 2023 yılında bir önceki yıla göre %105.0 artarak 1 trilyon 244 milyar 237 milyon TL'ye yükselmiştir.⁷ Sağlık harcamaları, birçok ülkede ekonomiye ciddi yük getirmektedir. Kronik hastalıkların ve ilaç kullanımının giderek artması da göz önüne alındığında, sağlık hizmetlerinin maliyeti özellikle gelişmiş ülkeler için önemli bir mücadele alanı haline gelmiştir.⁸ Dünyada ve Türkiye'de AİK alanında ilerleme sağlansa da sorunlar devam etmektedir. Eğitsel çabalar sürdürülmeli, tutumların korunması için yapısal düzenlemelerle destek sağlanmalıdır.⁴

Bu çalışmada, bir üniversite hastanesine ayaktan başvuran 18 yaş ve üzeri yetişkin bireylerin AİK durumlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM

Etik kurul onayı

Bu çalışmanın yürütülebilmesi için Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 2025/90 protokol numaralı etik kurul onayı alınmıştır. Kullanılan ölçek için yazılı izinler temin edilmiştir. Çalışma, Helsinki Bildirisi'ne uygun olarak yürütülmüştür.

Araştırmanın tipi

Bu çalışma, tek merkezli, kesitsel ve tanımlayıcı tipte bir araştırmadır.

Araştırma evreni ve örneklem

Araştırma evrenini; herhangi bir sebeple Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi herhangi bir sebeple Farabi Hastanesi polikliniklerine başvurmuş olan 18 yaş ve üzeri gönüllü bireyler oluşturmaktadır.

Birey sayısı bilinmeyen bir toplumdaki bireylerde AİK bilgisine sahip olma sıklığı %50 alındığında %99 güvenirlilikle ve %5 sapmayla tip 1 hata 0.05 öngörülerek örneklem hacmi 664 olarak hesaplanmıştır. Örneklem hesabı OpenEpi Version 3 ile yapılmıştır. Toplam 850 yetişkin birey çalışmaya dahil edilmiştir.

Veri toplama araçları

Araştırmacılar tarafından iki bölümden oluşan anket formu yüz yüze görüşme tekniği ile uygulanmıştır. İlk bölüm katılımcıların sosyodemografik özelliklerini değerlendiren 16 sorudan oluşmaktadır. İkinci bölümü ise 21 maddelik Akılcı İlaç Kullanımı Ölçeği (AİKÖ) oluşturmaktadır. Anketler uygulanmadan önce her birey çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş ve Helsinki bildirgesine uygun olarak hazırlanmış bilgilendirilmiş gönüllü onam formu imzalatılmıştır.

Akılcı ilaç kullanım ölçeği

Demirtaş ve arkadaşları (2018) tarafından geliştirilmiştir. Ölçek 10 doğru, 11 yanlış olmak üzere toplam 21 önermeden oluşmaktadır. Katılımcılardan her önermeye 'doğru', 'yanlış' ve 'bilmiyorum' seçeneklerden birinin seçilmesi istenmekte ve puanlama sistemi ile toplam skor hesaplanmaktadır. Doğru cevap 2, bilmiyorum 1, yanlış cevap 0 puan olarak değerlendirilmektedir. Bilgi seviyesi arttıkça anketten alınan puanın arttığı kabul edilmektedir. Ölçekten en fazla 42 puan, en az 0 puan alınmaktadır. Katılımcıların ölçekten 35 puan ve üzeri alması durumunda AİK bilgi düzeyi yeterli olarak kabul edilmektedir.⁹

Çalışmanın ana sonuç ölçütü, katılımcıların AİK düzeylerini değerlendirmek amacıyla uygulanan AİKÖ puanıdır.

İstatistiksel analiz

Veri analizi için SPSS 26.0 paket programı kullanılmıştır. İstatistiksel analizler araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir. Sayısal verilerin normal dağılıma uyup uymadığını değerlendirmek amacıyla Kolmogorov-Smirnov testi uygulanmıştır. Tanımlayıcı istatistikler hesaplanmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla Pearson Ki Kare testi ve Fisher's Exact Test kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya toplam 850 kişi katılmıştır. Katılımcıların yaş ortancası 33 yıl (IQR:22-48) saptanmıştır. Katılımcıların %60.2'sini kadınlar, %39.8'ini erkekler oluşturmaktadır. %60.1'i ailesinde sağlık çalışanı olmadığını, %68.4'ünün eğitim durumunun üniversite ve üstü olduğu görülmektedir. Bekarların %85.8'i üniversite veya daha yüksek eğitim düzeyine sahipken, evlilerde bu oran %52.8 olarak bulunmuştur.

Katılımcıların cinsiyet, medeni durum, eğitim durumu, meslek, ailede sağlık çalışanı durumu ve yaşanılan yere göre AİK bilgisi incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Akılcı ilaç kullanımı bilgisi yeterli olanların oranı kadınlarda erkeklere göre, bekar olanlarda evlilere göre, ailede sağlık çalışanı olanlarda olmayanlara göre anlamlı derecede daha fazlaydı. Üniversite ve üzeri eğitime sahip bireylerde AİK bilgi düzeyi yeterli olanların oranı %90.0 iken, bu oran ilköğretim mezunlarında %67.1 ve okuryazar olmayanlarda %36.4 olarak bulunmuştur. Katılımcıların meslek gruplarına göre dağılımı incelendiğinde, yeterli bilgi düzeyinin en yüksek olduğu grup memurlar, en düşük olduğu grup ise serbest çalışanlar olarak tespit edilmiştir. Yaşanılan yere göre yapılan değerlendirmede ise yeterli bilgi düzeyinin şehir merkezinde en yüksek (%89.3), köyde ise en düşük (%63.6) olduğu saptanmıştır. Katılımcıların evde birlikte yaşadığı (yalnız/aile bireyleri /bakımveren) kişilere göre AİK bilgi düzeyi puanı yeterliliği incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Katılımcıların sosyodemografik özelliklerine göre AİK bilgilerinin değerlendirilmesi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Katılımcıların sosyodemografik özelliklerine göre akılcı ilaç kullanımı bilgilerinin karşılaştırılması

Değişkenler (n=850)		% (n)	AİK ölçeği bilgisi yeterli % (n)	p değeri
Cinsiyet	Kadın	60.2 (512)	89.1 (456)	<0.001
	Erkek	39.8 (338)	79.9 (270)	
Medeni durum	Evli	52.8 (449)	82.9 (372)	0.026
	Bekar	47.2 (401)	88.3 (354)	
Yaşam Ortamı	Yalnız	12.1 (103)	86.4 (89)	0.351
	Aile	87.7 (745)	85.4 (636)	
	Bakımveren	0.2 (2)	50 (1)	
Eğitim durumu	Okuryazar değil	1.3 (11)	36.4 (4)	<0.001
	İlkokul	8.2 (70)	67.1(47)	
	Ortaokul	4.9 (42)	71.4 (30)	
	Lise	17.2 (146)	83.6 (122)	
	Üniversite ve üstü	68.4 (581)	90.0 (523)	
Meslek	Memur	24.9 (211)	92.9 (196)	<0.001
	Emekli	5.7 (48)	75.0 (36)	
	Esnaf	2.8 (24)	79.2 (19)	
	İşçi	10.9 (93)	82.8 (77)	
	Serbest	10.8 (92)	72.8 (67)	
	Çalışmıyor	44.9 (382)	86.6 (331)	
Ailede sağlık çalışanı	Var	39.9 (339)	88.8 (301)	0.023
	Yok	60.1 (511)	83.2 (425)	
Yaşanılan yer	Şehir merkezi	69 (587)	89.3 (524)	<0.001
	İlçe merkezi	23.2 (197)	81.2 (160)	
	Köy	7.8 (66)	63.6 (42)	

Katılımcıların %28.6'sı kronik hastalığa sahip olduğunu, %37.4'ü düzenli ilaç kullandığını belirtmektedir. Kronik hastalık ve düzenli ilaç kullanma durumları ile bilgi düzeyi arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Katılımcıların hastalandıklarında ilk başvurdıkları sağlık kuruluşu en fazla aile sağlığı merkezi olarak belirtildi. Gruplar arasında AİK bilgi düzeylerinde anlamlı fark bulunmuştur (p=0.026). İlk başvuru noktası olarak üniversite hastanesine giden bireylerin %92.9'u yeterli bilgi düzeyine sahipken eczaneye başvuran bireylerde %80.0 olarak belirlenmiştir. İlaç prospektüsünü okuma, ilaç saklama

koşullarına dikkat etme, başkalarına ilaç tavsiye etmeme ve bitkisel/ilaç dışı ürünleri ilaç yerine kullanmama davranışları, yüksek bilgi düzeyi ile ilişkili saptanmıştır. Katılımcıların sağlık durumu ve ilaç kullanım özellikleri ile AİKÖ puanlarının değerlendirilmesi Tablo 2'de gösterilmiştir. Katılımcıların AİKÖ puan ortancası 39 (IQR:36-41) olarak hesaplanmıştır. Katılımcıların AİKÖ puanlarının kestirim puanına göre değerlendirilmesi sonucunda, %85.4'ünün (n=726) yeterli (≥ 35) bilgi düzeyine sahip oldukları, %14.6'sının (n=124) ise yetersiz (≤ 34) bilgi düzeyine sahip oldukları saptandı.

Tablo 2. Katılımcıların sağlık durumu ile ilaç kullanım özelliklerine göre akılcı ilaç kullanımı ölçeği puanlarının değerlendirilmesi

Değişkenler (n=850)		AİK ölçeği bilgisi		
		% (n)	yeterli % (n)	p değeri
Kronik hastalık	Var	28.6 (243)	82.7 (201)	0.163
	Yok	71.4 (607)	86.5 (525)	
Düzenli ilaç kullanımı	Var	37.4 (318)	84.3 (268)	0.483
	Yok	62.6 (532)	86.1 (458)	
Hastalandığınızda ilk başvuru noktanız	Aile hekimliği	48.6 (413)	87.4 (361)	0.026
	Devlet hastanesi	30.1 (256)	80.5 (206)	
	Üniversite hastanesi	10.0 (85)	92.9 (79)	
	Eğitim araştırma hastanesi	5.5 (47)	78.7 (37)	
	Özel hastane	4.6 (39)	89.7 (35)	
	Eczane	1.2 (10)	80.0 (8)	
İlaçların prospektüsünü okurum	Evet	78.4 (666)	88.7 (591)	<0.001
	Hayır	21.6 (184)	73.4 (135)	
İlaçların saklama koşullarına dikkat ederim	Evet	86.6 (736)	86.4 (636)	0.045
	Hayır	13.4 (114)	78.9 (90)	
Tavsiye ile ilaç kullanırım	Evet	21.3 (181)	73.5 (133)	<0.001
	Hayır	78.7 (669)	88.6 (593)	
İlaç tavsiye etme durumu	Evet	24.4 (207)	80.7 (167)	0.031
	Hayır	75.6 (643)	86.9 (559)	
Bitkisel ve doğal ürünler gibi ilaç dışı ürünleri ilaç yerine kullanırım	Evet	43.9 (373)	78.3 (292)	<0.001
	Hayır	56.1 (477)	91.0 (434)	

TARTIŞMA

Akılcı ilaç kullanımı, ilaçların etkili, güvenli ve maliyet etkin biçimde kullanımını; yalnızca bireysel tedavi başarısını değil, aynı zamanda toplum sağlığının korunmasını ve sağlık sistemlerinin sürdürülebilirliğini hedefleyen sistematik bir yaklaşımdır.

Çalışmamızda katılımcıların %85.4'ünün yeterli AİK bilgi düzeyine (35 puan ve üzeri) sahip olduğu ve ortanca puanının 39 (IQR:36-41) olduğu bulunmuştur. Çetin ve ark. 18 yaş üzeri yetişkinlerle yaptığı çalışmada katılımcıların %88.21'i yeterli bilgiye sahip, ölçekten

elde edilen ortalama puan 38.0 ± 3.5 olarak bulunmuştur.¹⁰ Kılıç ve ark. AİK puan ortalamasının 34.1 olduğu ve katılımcıların %48.7'sinin yeterli bilgi düzeyine sahip olduğu belirlenmiştir.¹¹ Bu çalışmada AİK bilgi düzeyi yüksek olmakla birlikte literatürde daha düşük olduğunu gösteren çalışmalar olduğu görülmektedir. Bu nedenle akılcı ilaç kullanımının sağlanması için sağlık hizmeti sunumunda her karşılaşma bir fırsat olarak değerlendirilmelidir. Aile hekimleri sürekli bakım vermesi nedeniyle akılcı ilaç kullanımının artırılmasında önemli bir role sahiptir.

Çalışmalardaki bilgi düzeyi farklılıkları büyük ölçüde örneklem yapısındaki değişkenlerle ilişkili olabilir. Bu bulgu, sağlık eğitimi ve farkındalık çalışmalarının hedef kitleye göre özelleştirilmesinin önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda kadınların erkeklere göre bilgi düzeyinin daha yeterli olduğunu saptadık. Bu durum, kadınların sağlık konularında daha ilgili olmaları, sağlık hizmetlerine daha sık başvurmaları ve bakım verme rollerinin daha belirgin olmasıyla ilişkilendirilebilir. Literatürdeki benzer çalışmalar da bu bulguyu desteklemektedir.^{5,9}

Çalışmamızda, bekar bireylerin evli bireylere göre daha yüksek AİK bilgi düzeyine sahip olduğu saptanmıştır. Ancak literatürde, çalışmamızın aksine evli bireylerin bilgi düzeyinin daha yüksek olduğuna dair bulgulara rastlanmaktadır.^{10,12}

Bu farklılığın, araştırmalarda yer alan örneklem özelliklerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim çalışmamızda bekar bireylerin eğitim düzeylerinin evli bireylere kıyasla daha yüksek olması, evli bireylerin bilgiye erişimde yaşadığı güçlüklerin olası nedenlerinden biri olarak değerlendirilebilir. Eğitim düzeyi, bilgiye erişim yollarını bilme ve kaynakları etkin kullanma becerilerini doğrudan etkilemektedir.

Üniversite ve üstü eğitim düzeyine sahip bireylerin AİK bilgi düzeylerinin daha yüksek olduğu, eğitim düzeyi arttıkça bilgi düzeyinin arttığını ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı. Bu durum beklenen bir bulgu olup literatürdeki diğer çalışmalarla da uyumludur.^{12,13} Eğitim düzeyi arttıkça bilinçli sağlık davranışı arttığı düşünülmektedir.

Katılımcıların ailesinde sağlık çalışanı olanlarda olmayanlara göre AİK bilgi düzeyi daha yüksek bulunmuş ve gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır. Literatürde sağlık eğitimi almış bireylerin AİK bilgi düzeyinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.^{10,12}

Her ne kadar bu çalışmalar bizim değişkenimizle doğrudan karşılaştırılabilir olmasa da bulgular yön benzerliği göstermekte ve artan sağlık okuryazarlığının olası aracı etkisine işaret etmektedir.

Çalışmamızda şehir merkezinde yaşayan bireylerin bilgi düzeylerinin ilçe/köyde yaşayanlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Uçman T ve ark.'nın yaptığı çalışma da sonucumuza paralel şekilde il merkezindeki bireylerin bilgi yeterlilik düzeyinin ilçe ve köye göre daha yüksek olduğu bulunmuştur.¹² İlçe/köylerde yaşayanların AİK bilgi düzeylerinin daha düşük

olmasının nedeni; sağlık hizmetlerine erişimin zorluğu, sağlık okuryazarlığı ve eğitim düzeyinin etkisiyle açıklanabilir.

Çalışmamızda kronik hastalığı olan ve düzenli ilaç kullanan bireylerin bilgi düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. 2024'te Yazıcı ve ark. yaptığı çalışmada da kronik hastalık ve AİK arasında ilişki bulunmamıştır.¹⁴ Bu kişilerin ilaç kullanımını alışkanlık haline getirmeleri ve ilaçlar hakkında ayrıntılı bilgi edinme ihtiyacı duymamaları bu sonuca neden olmuş olabilir.

Çalışmamızda, prospektüs okuyan ve ilaçların saklama koşullarına dikkat eden bireylerin bilgi düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, Kılıç'ın çalışmasıyla paralellik göstermektedir.¹¹ Bu tür bilinçli davranışların akılcı ilaç kullanımını desteklediği düşünülmektedir.

Çalışmamızda yaklaşık %25'i tavsiye ile ilaç kullandığını ve ilaç tavsiye ettiğini belirtmişti. Bu bireylerin ise akılcı ilaç bilgi düzeyini daha düşük saptamıştık. Özkan ve ark. yaptığı çalışmasında sonuçlar benzer oranlarda bulunmuştur.¹⁵ Bu durum, ilaç kullanımında bireysel deneyim yerine sağlık profesyoneli rehberliğinin önemini ortaya koymaktadır. Katılımcıların %43.9'u ilaç yerine bitkisel ürünleri tercih ettiğini belirtmiştir. Benzer şekilde, Karataş ve arkadaşlarının çalışmasında bu oran %60 olarak bildirilmiştir.¹⁶ Çalışmamızda, bitkisel ürünleri ilaç yerine kullanan bireylerin AİK bilgi düzeylerinin daha düşük olması, bu tercihlerin bilimsel temelli bilgi eksikliğiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Çalışmanın Sınırlılıkları

Veriler, herhangi bir nedenle hastaneye başvuran bireylere uygulanan anketler aracılığıyla toplandığından, elde edilen sonuçların genellenebilirliği sınırlıdır.

SONUÇ

Son yıllarda ilaç kullanımı artmış, ancak bu kullanımın çoğu zaman bilinçsiz ve kontrolsüz olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle, bireylerin ilaç kullanım alışkanlıklarının belirlenmesi, topluma yönelik eğitimlerin planlanması açısından önemlidir. Çalışmamızda erişkin bireylerin akılcı ilaç kullanımına ilişkin bilgi düzeylerinin genel olarak yüksek olduğu görülmekle birlikte, bu düzeyin bazı değişkenlere bağlı olarak anlamlı biçimde farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Toplumda akılcı ilaç kullanımını destekleyecek eğitim ve farkındalık çalışmalarının hedef gruplar belirlenerek yürütülmesinin önemini göstermektedir.

Yazarlık katkı beyanı

Konsept ve dizayn: KGK, TS.

Verilerin eldesinde: KGK, BK, ME, CEA, ECA, SKB, EA, SNS, ABB, BY, MAC, BC, MÖ, MAB, KEÇ, MS, ANG, ED.

Verilerin analizinde ve yorumlanmasında: KGK, TS.

Makale yazımında: KGK, TS.

Makale revizyonu ve entelektüel katkı: TS.

Gözetiminde: TS.

Yazar çıkar çatışması

Yazarlar potansiyel çıkar çatışmalarına sahip değildir.

Etik onay

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol no: 2025/90).

Veri ve materyallerin mevcudiyeti

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler bu yayınlanan makaleye dahil edilmiştir.

Destek

Bu araştırma için herhangi bir mali destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Promoting rational use of medicines: core components. WHO Policy Perspectives on Medicines. Published 2002. Accessed August 1, 2025. <https://iris.who.int/handle/10665/67438>
2. Yılmaztürk A. Türkiye’de ve dünyada akılcı ilaç kullanımı. Kastamonu Univ İktisadi İdari Bil Fak Derg. 2013;2(2):42-49.
3. World Health Organization. Antimicrobial resistance: a threat to global health security. Rational Use of Medicines by Prescribers and Patients. WHA58. Published 2005. Accessed September 23, 2025. https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA58/A58_14-en.pdf
4. Sürmelioglu N, Kiroglu O, Erdoğdu T, Karataş Y. Akılcı olmayan ilaç kullanımını önlemeye yönelik tedbirler. Arsiv Kaynak Tarama Derg. 2015;24(4):452-462.
5. Dağtekin G, Demirtaş Z, Alaiye M, et al. Birinci basamak sağlık kuruluşuna başvuran erişkinlerin akılcı ilaç kullanım tutum ve davranışları. ESTUDAM Halk Sağlığı Derg. 2018;3(1):12-23.

6. Acar A, Yeğenoğlu S. Pharmacoeconomics & hospital formularies from the perspective of rational drug utilization. Ankara Univ Ecz Fak Derg. 2005;34(3):207-218.
7. Türkiye İstatistik Kurumu. Sağlık harcamaları istatistikleri 2023. Published February 10, 2025. Accessed June 28, 2025. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Saglik-Harcamaları-Istatistikleri-2023-53561>
8. Aydın B, Gelal A. Akılcı ilaç kullanımı: yaygınlaştırılması ve tıp eğitiminin rolü. DEU Tıp Fak Derg. 2012;26(1):57-63.
9. Demirtaş Z, Dağtekin G, Sağlan R, et al. Akılcı ilaç kullanımı ölçeği geçerlilik ve güvenilirliği. ESTUDAM Halk Sağlığı Derg. 2018;3(3):37-46.
10. Çetin S, Çetin E. Researching the levels of rational drug use of individuals. J Healthc Leadersh. 2024;1:100-110.
11. Kılıç R. Denizli ili Pamukkale ilçesindeki Aile Sağlığı Merkezlerine Başvuran Yetişkinlerde Akılcı İlaç Kullanımı [Tıpta Uzmanlık tezi]. Denizli: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Denizli; 2020.
12. Uçman T, Uysal N. Yetişkin bireylerde akılcı ilaç kullanımı ve etkileyen faktörlerin belirlenmesi. Bandırma Onyedi Eylül Univ Sağlık Bilimleri Araştırmaları Derg. 2021;3(2):126-133.
13. Auta A, Omale S, Folorunsho TJ, David S, Banwat SB. Medicine vendors: self-medication practices and medicine knowledge. N Am J Med Sci. 2012;4(1):24-28.
14. Yazıcı E, Dayan A, Taşkın Egici M, Başaran Ö, Börklü Doğan Ö. Rational drug use in type 2 diabetic patients who applied to the family medicine diabetes outpatient clinic. Haydarpaşa Numune Med J. 2024;64(4):533-538.
15. Özkan S, Özbay OD, Aksakal FN, İlhan MN, Aycan S. Bir üniversite hastanesine başvuran hastaların hasta olduklarındaki tutumları ve ilaç kullanım alışkanlıkları. Türk Silahlı Kuvvetleri Koruyucu Hekim Bul. 2005;4(5):223-237.
16. Karataş Y, Dinler B, Erdoğdu T, Ertuğ P, Seydaoğlu G. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi’ne başvuran hasta ve hasta yakınlarının ilaç kullanım alışkanlıklarının belirlenmesi. Cukurova Univ Tıp Fak Derg. 2012;37(1):1-8.

To Cite: Güner-Karaca K, Burak Kaya, Merve Erboğa, et al. Evaluation of the Rational Drug Use Status of Outpatients Applying to a University Hospital. Farabi Med J. 2025;4(3):88-93.

Lipid-Polimer Hibrit Nanopartiküller: Özellikleri, Hazırlama Yöntemleri ve Karakterizasyonlarına Güncel Bir Bakış

Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles: Current Insight into Their Properties, Preparation Methods and Characterization

Nurseli Saylam^{1,2,a,*}, Elife Nur Köse^{3,b}, Özlem Çoban^{4,c}

¹İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim dalı, İstanbul, Türkiye.

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim dalı, Trabzon, Türkiye.

³Karadeniz Teknik Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Trabzon, Türkiye.

⁴Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Ankara, Türkiye

*Sorumlu yazar e-posta: saylamnurseli@gmail.com

^a<https://orcid.org/0009-0000-5080-2747>

^b<https://orcid.org/0009-0006-0607-1688>

^c<https://orcid.org/0000-0003-1154-7602>

ÖZET

Nano boyutlu ilaç taşıyıcı sistemler, başta kanser olmak üzere birçok hastalıkta tedavi etkinliğini artırmaktadır. Bu sistemler arasında lipid ve polimer nanopartiküllerin avantajlarının bir araya gelmesiyle oluşan lipid-polimer hibrit nanopartiküllere (LPHNP) yoğun bir ilgi vardır. Bu çalışmada, Google Scholar, YÖK Tez Merkezi, ScienceDirect, PubMed, ResearchGate, ACS Publication, Taylor & Francis Online kaynak olarak kullanılarak LPHNP'lerin özellikleri, hazırlama yöntemleri ve karakterizasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır. Literatürler, çekirdek-kabuk yapısına sahip LPHNP'lerin yüksek stabilite, biyoyumluluk, biyoyararlanım ve ilaç yükleme kapasitesi, hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaç yükleme, kontrollü ve sürekli salım, yüzey modifikasyonu ve hedefleme gibi birçok avantaja sahip olduğunu göstermiştir. Öte yandan, çekirdek-kabuk yapısının elde edilememesi, ölçek büyütme zorluğu ve teknik sorunlar LPHNP'lerin dezavantajlarıdır. Boyut, boyut dağılımı ve morfoloji gibi birçok özelliği etkileyen LPHNP'leri hazırlama yöntemleri iki ana bölüme ayrılmıştır: 'iki adımlı yöntem' ve 'tek adımlı yöntem'. Ancak, bu iki yöntemin dezavantajlarının üstesinden gelmek için 'mikroakışkan nanopresipitasyon yöntemi', 'çok girişli vorteks mikroyerleştirme yöntemi' ve 'tek adımlı sonikasyon yöntemi' gibi yeni teknikler geliştirilmiştir. Etkinliklerini ve stabilitelerini değerlendirmek için koloidal özellikleri, ilaç yükleme kapasiteleri, morfolojileri, lipid kabuk kalınlıkları, salım hızları, etkinlikleri ve toksisiteyi çeşitli *in vitro* ve *in vivo* deneylerle belirlenmiştir. Lipozom veya nanopartikül formunda sağlık otoriteleri tarafından onaylanmış ürünler bulunmasına rağmen, nispeten yeni bir sistem olan LPHNP'ler için henüz faz çalışmasında olan veya onaylanmış bir ürün bulunmamaktadır. Ancak LPHNP'ler üzerine yapılan çeşitli çalışmalardan elde edilen olumlu sonuçların yakın gelecekte bu durumu tersine çevirmesi beklenmektedir.

Anahtar kelimeler: Hazırlama yöntemleri, İlaç taşıyıcı sistemler, Karakterizasyon, Lipid-polimer hibrit nanopartiküller, Lipozomlar, Polimerik nanopartiküller

ABSTRACT

Nano-sized drug delivery systems enhance treatment efficacy in many diseases, particularly cancer. Among these systems, there is intense interest in lipid-polymer hybrid nanoparticles (LPHNPs), which combine the advantages of lipid and polymer nanoparticles. This study aims to investigate the properties, preparation methods, and characterization of LPHNPs using Google Scholar, YÖK Thesis Center, ScienceDirect, PubMed, ResearchGate, ACS Publication, and Taylor & Francis Online as sources. The literature shows that LPHNPs with a core-shell structure have many advantages, including high stability, biocompatibility, bioavailability, and drug loading capacity, loading of both hydrophilic and hydrophobic drugs, controlled and sustained release, surface modification, and targeting. On the other hand, the inability to obtain a core-shell structure, scaling difficulties, and technical issues are disadvantages of LPHNPs. Preparation methods for LPHNPs, which affect many properties such as size, size distribution, and morphology, are divided into two main categories: the 'two-step method' and the 'one-step method'. However, to overcome the disadvantages of these two methods, new techniques such as the 'microfluidic nanoprecipitation method', 'multi-inlet vortex microreactor method', and 'one-step sonication method' have been developed. Their efficacy and stability have been evaluated by determining their colloidal properties, drug loading capacities, morphologies, lipid shell thicknesses, release rates, efficacies, and toxicities through various *in vitro* and *in vivo* experiments. Although products in the form of liposomes or nanoparticles have been approved by health authorities, there are currently no products in phase trials or approved for LPHNPs, which are a relatively new system. However, the positive results obtained from various studies on LPHNPs are expected to reverse this situation in the near future.

Keywords: Characterization, Drug delivery systems, Lipid-polymer hybrid nanoparticles, Liposomes, Polymeric nanoparticles, Preparation methods

GİRİŞ

Hastalıkların tanı ve tedavisinde sağladıkları avantajlardan dolayı, günümüzde nanoteknolojik sistemlerin sağlık alanındaki kullanımı hızla yaygınlaşmaktadır. 1960'larda lipozomların ve 1970'lerin sonunda polimer-ilaç konjugatlarının keşfi ve nanoteknoloji kavramının ortaya çıkmasıyla nano-boyutlu ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir.¹ Boyutları 10-1000 nm arasında değişen bu sistemler, farklı formlarda bulunmaktadır ve ilaç taşınması konusunda fazlasıyla ümit vadetmektedir. Küçük boyutları sayesinde hücre içerisine etkin şekilde alınabilir; hedef bölgeye özgü ilaç taşıyabilir, terapötik etkiyi artırırken yan etki ve toksisiteyi azaltabilir. Ayrıca bu sistemler, yüzey modifikasyonuna elverişlidir ve etkin maddenin uzun süreli salımını sağlayabilir. İçerdikleri aktif bileşiği biyolojik ortamdaki enzimatik parçalanmaya karşı korur; aynı zamanda biyolojik bariyerlerin geçilmesinde etkin rol oynar. Bu nedenle antikanser ilaçlar, gen, peptit-protein ve hormon kökenli pek çok etkin maddenin vücuda verilmesinde kullanılmaktadır.² Klinik deneyler, yapılan araştırmalar, piyasada bulunan lisanslı ürünler ve onaylı ilaçlar incelendiğinde; ilaç yükleme kapasitesi, enkapsülasyon verimliliği, salım profili ve uygulanabilirlik açısından çeşitli nanosistemlerin değerlendirildiği görülmektedir. Bu sistemler arasında ilaç-polimer konjugatları, polimerik nanopartiküller, lipozomlar, niozomlar, katı lipid nanopartiküller, dendrimerler, miseller, karbon nanotüpler, kuantum noktacıkları (kuantum dot), altın nanopartiküller ve mezoporöz silika nanopartiküller yer almaktadır. Tüm bu yapılar arasında özellikle lipozomlar ve biyoparçalanabilir polimerik nanopartiküller, öne çıkan iki sistem olarak dikkat çekmektedir.^{3,4} Lipozomlar, tekli veya çoklu çift katmanlı fosfolipit yapıdan oluşan, çekirdeği ve ara katmanları sulu faz içeren yaklaşık 0.02-3.5 µm çapında küresel veziküler sistemlerdir.⁵ Biyoparçalanır polimerik nanopartiküller ise, partikül büyüklüğü 10-1000 nm arasında tanımlanabilen, ancak ideal olarak 10-100 nm boyutlarında olması istenen katı koloidal partiküllerdir.⁶ Lipozomların ve biyoparçalanır polimerik nanopartiküllerin yapı ve özelliklerinden dolayı çeşitli avantaj (yüksek biyoyoumluluk, uygun farmakokinetik profil, non-immünojenik, non-toksik, artmış terapötik yanıt, hidrofilik-liyofilik madde enkapsülasyonu, artmış *in-vitro/in-vivo* stabilite, iyileştirilmiş yapısal bütünlük)

ve dezavantajları (sınırlı oral emilim, düşük ilaç yükleme kapasitesi, düşük fiziksel ve kimyasal stabilite, retiküloendotelyal sistem (RES) tarafından kolayca vücuttan atılma, ilaç sızıntısı, tekrarlanabilirliğinin ve ölçek büyütmenin zorluğu, üretimde organik çözücü kullanılması) bulunmaktadır.^{4,7,8} Bu kapsamda bu sistemlerin avantajlarını bir araya getirmek ve dezavantajlarını azaltabilmek için çekirdek kabuk yapılı lipid-polimer hibrit nanopartikül (LPHNP) adı verilen yeni nesil terapötik taşıyıcı sistem 2004'te Wong ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir.⁹ Bu yeni sistem, polimerik çekirdeğin yapısal özellikleri ve stabilitesi ile lipozomun biyoyoumluluğunu bir araya getirmek üzere tasarlanmıştır.⁹ LPHNP, lipid tabaka ile polimerik çekirdeğin elektrostatik etkileşim, hidrofobik etkileşim veya Van der Waals bağları ile birleşmeleri sonucu oluşur. Kanser tedavisinde, aşı adjuvanı olarak, nükleik asit taşınmasında, aktif hedeflemede, genetik hastalıkların tedavisinde ve teşhis amaçlı görüntülemede kullanımına dair LPHNP ile yapılan araştırmalar devam etmektedir. Özellikle çoklu ilaç direnci gelişmiş ve hayati tehlikesi yüksek olan kanser türlerinin tedavisinde birden fazla ilaç yüklemesine elverişli olmasından dolayı son yıllarda LPHNP ile yapılan çalışmalar hız kazanmıştır.²

Bu çalışmamızda, güncel çalışmalar göz önüne alınarak, sahip oldukları *in vitro* ve *in vivo* avantajlarından dolayı yakın gelecekte kanser ve otoimmün gibi kompleks hastalıkların tedavisinde kullanımının yaygınlaşacağı öngörülen LPHNP'lerin yapısal türleri, hazırlama yöntemleri ve karakterizasyonlarında kullanılan teknikler özetlenmiştir.

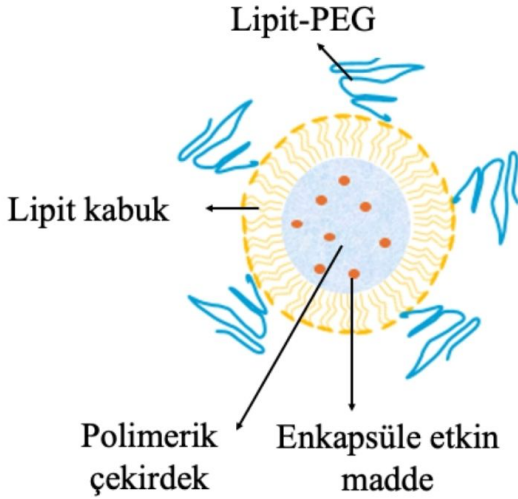
GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, konu ile ilgili olarak 'lipid-polymer hybrid nanoparticles', 'nano size drug delivery systems', 'characterization', 'preparation methods', 'liposomes' ve 'polymeric nanoparticles' anahtar kelimeleri kullanılarak Google Akademik, YÖK (Yükseköğretim Kurulu) Tez Merkezi, ScienceDirect, PubMed, ResearchGate, ACS Publication (American Chemical Society – Amerikan Kimya Derneği), Taylor & Francis Online veri tabanlarında yer alan ve son 15 yılda yapılan çalışmalar değerlendirilmeye alınmıştır. Genel olarak lipid-polimer hibrit nanopartiküllerin yapısal özelliklerinden, hazırlama yöntemlerinden ve karakterizasyonunda incelenen parametrelerden bahsedilmiştir.

BULGULAR

Lipit-polimer hibrit nanopartiküllerin yapısal özellikleri ve türleri

LPHNP, nanometre boyutunda katı formda, çekirdek-kabuk tipi hibrit sistemlerdir. Hazırlama teknikleri ve lipitin türüne göre farklı özellikler sergilemektedir. Genellikle üç ana katmandan oluşur; en içte polimerik çekirdek, ortada lipit tabaka ve en dışta lipit-hidrofilik polimer konjugatı yapısındaki kabuk (Şekil 1).



Şekil 1. Lipit-polimer hibrit nanopartiküllerin yapısı

En içteki polimerik çekirdek aktif molekülü taşıyan kısımdır. Hidrofilik ve hidrofobik ilaçların taşınmasına imkan verir. Taşıyıcı sistemin iskeletidir ve mekanik stabiliteyi sağlar. Etkin maddenin kontrollü salımını gerçekleştirir ve metabolik bozunmasını engeller. Partikül büyüklüğü dağılımının belirli sınırlar içinde kalmasını sağlar. Yapı olarak biyoparçalanabilir, biyoyoumlu ve toksik olmayan poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), polikaprolakton (PCL), polilaktik asit (PLA), dekstran ve albümin tercih edilmektedir. Ortada bulunan lipit yapıları tabaka doğal veya sentetik lipitten oluşmaktadır. Merkez polimerik çekirdeği kaplayarak biyoyoumluluğu artırır. İstenilen farmakokinetik özellikleri sağlar. Sürekli salıma olanak verir. Çekirdekte bulunan aktif molekülün sızmasını önler, böylece taşıyıcı sisteme yüklenebilecek ilaç miktarını artırır. Suyun penetrasyonunu sınırlandırır ve ilacın bozunmasını engeller. Lipit tabakayı oluşturmak için

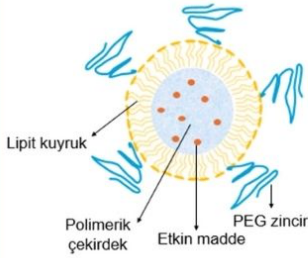
nötral, zwitter iyonik, anyonik ve katyonik fosfolipitler kullanılabilir. Lesitin, dipalmitoil fosfatidilkolin (DPPC), dipalmitoil trimetilamonyum propan (DPTAP), dioleil trimetilamonyum propan (DOTAP) ve dioleil fosfoetanolin (DOPE) bu lipitlere örnektir. Bu lipitler aynı zamanda en dıştaki kabuk yapısında da kullanılır. Lipit ile polimer arasında elektrostatik etkileşimlerin oluşabilmesi için polimer ile lipit zıt yüklü olmalıdır. Dolayısıyla lipit tabaka genellikle zwitter iyonik veya katyonik tipte seçilir. En dıştaki lipit-hidrofilik polimer konjugatı kabuk ise polimerin hidrofilik yapısı sayesinde RES hücreleri tarafından algılanmayı engelleyip ilaç taşıyıcı sistemin fagosite edilmesini önler. Bu şekilde ilacın daha uzun süre dolaşım sisteminde kalmasını sağlar. Sterik engel oluşturup stabiliteyi artırır. Hedefe özgü ilaç salımına, yüzey modifikasyonuna dolayısıyla partikülü işlevselleştirmeye imkân verir.^{4,7,8} Bu amaçla farklı lipit-PEG türleri kullanılmaktadır. PEG'in immünoyoumluluğu yüksektir dolayısıyla RES'ten kolayca kaçır. PEG'e metoksi grubu eklenmesi halinde immünojenitesi iyice azalır ve biyoyararlanımı artar. Ayrıca hidrofilik yapısı sayesinde hidrofobik maddelere spesifik olan opsonin ile minimum düzeyde etkileşir ve fagositozu önler.⁷

Yapılarında yer alan polimerlerin ve lipitlerin konfigürasyonundaki farklılığa göre LPHNP'lerin farklı türleri bulunmaktadır.¹⁰ Şekil 2'de bu farklılıklara göre sınıflandırılmış LPHNP türleri, sahip oldukları yapısal özellikleri ve avantajları özetlenmiştir.^{2,10}

Lipit-polimer hibrit nanopartikül hazırlama yöntemleri

LPHNP hazırlama yöntemleri, 'iki basamaklı yöntem' ve 'tek basamaklı yöntem' olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Hazırlama yöntemine bağlı olarak nanopartikülün boyutu, dağılımı (polidispersite indeksi-PDI) ve şekli gibi birçok özelliği değişeceği için doğru tekniğin seçimi önemlidir.¹¹ LPHNP hazırlarken biyoyoumlu ve biyoparçalanır olmasından dolayı klinik olarak onaylanmış PLGA kopolimeri sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanılan lipitlere ise fosfatidilkolin (PC), 1,2-distearoil-sn-glisero-3-fosforiletanolamin (DSPE), kolesterol (Chol), DPPC ve 1,2-dilauroil-sn-glisero-3-fosfokolin (DLPC) örnek olarak verilebilir.¹²

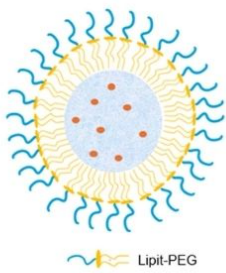
Polimer çekirdek- lipit kabuk



Bir polimerik çekirdeğin tek veya çok tabakalı lipit katmanı (lipoidal kabuk ve lipit PEG kabuk) ile kaplanması sonucu oluşmaktadır. LPHNP'lerin en basit şeklidir. Bu sistemler ilk olarak immünoji kitleri ve biyomoleküler tanımlamada kullanılan biyosensörler gibi biyoteknolojik ve biyomedikal uygulamalar için üretilmiştir. Son zamanlarda, ise kanser kemoterapisinin başarısındaki en büyük engel olan antikanser ilaca gelişen direncin üstesinden gelmek üzere bir antikanser ilaç ile bu ilaca karşı direnç mekanizmasını inhibe eden bir ajanın birlikte verilmesi için tasarlanmıştır. Zhao ve arkadaşları pankreas kanseri tedavisinde gözlenen ilaç direncinin önüne geçebilmek için hipoksi ile indüklenebilir faktör 1α (HIF-1α; son yıllarda pankreas kanseri tedavisi için ümit verici bir ajan) siRNA (si-HIF1α) ve gemsitabini birlikte taşıyan, PEG ile lipit çift tabakası ile kaplı biyoyoumlu çekirdek-kabuk tipi LPHNP tasarlamış ve zeta potansiyeli -34mV ve partikül boyutu $141,8\text{nm}$ olan nanopartiküller elde etmişlerdir. Bu tasarım sayesinde gemsitabin sızıntısı engellenmiş, si-HIF1α bozunması önlenmiş ve dolaşımda kalış süresi artırılmıştır. Böylece daha iyi bir antitümör etki sağlanmıştır.

Avantajları: Artmış enkapsülasyon kapasitesi, ayarlanabilir partikül boyutu ve ilaç salınımı, iyileştirilmiş sürekli salım profili, aynı anda hidrofilik ve hidrofobik ilaçları taşıyabilmesi, hedef bölgeye özgü ilaç taşınımı, yüklü lipit tabaka ile artmış serum stabilitesi

Lipozomun polimer içerisinde hapsediği sistemler

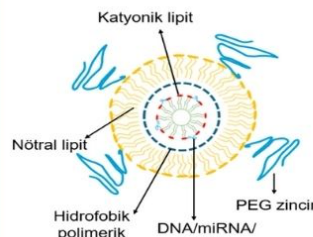


Hibrit nanopartikülün stabilitesini artırmak için lipozomun üzerinin polimer ile kaplanması esasına dayanır. İstenilen özellikleri elde etmek için yüzey modifikasyonuna elverişli polimer içeren lipozomlar olarak adlandırılabilirler. Bütün LPHNP sistemler içerisinde en yüksek stabilite ve uyarana duyarlı ilaç salınımı sergiler.

Aoki ve arkadaşları $123 \pm 11\text{nm}$ çapında multimodal termo-aktifleştirilebilir polimer (40°C 'de hidrofobik ve aktif hale getirilebilir bir kontrast maddeye dönüşen, ısıya duyarlı hidrofilik özelliktedir) ile kaplı lipozomdan oluşan hibrit bir sistem geliştirmiştir. Bu sistem, uygulandıktan sonra 8 saat boyunca stabil kalarak artmış antitümör aktivite göstermiştir. Ayrıca lokalize tümör için manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gerçekleştirilmiştir.

Avantajları: Polimer-lipit karışım oranı ile azalmış sistemik toksisite, hidrofilik kabuk sayesinde azalmış su penetrasyonu, iyileştirilmiş lipozomal stabilite, gelişmiş ilaç salım profili (örneğin daha düşük pH değerlerinde), artmış ilaç taşıma kapasitesi

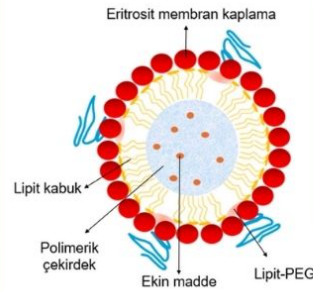
Çekirdek kabuk tipi içi boş lipit polimer-lipit hibrit nanopartiküller



Üç ana katmandan oluşur: En içte pozitif yüklü, içi boş lipit tabaka, ortada hidrofobik polimerden (genellikle PLGA) oluşan çekirdek, en dışta polimer matriksi ile kaplanmış nötr lipit-PEG tabaka. Hem polimer lipoplekslerin hem de PLGA nanopartiküllerin özelliklerini taşırlar. Lipit ve polimer tabakalarının arasındaki boşluk su veya sulu tampon çözeltisi ile doludur. Polimerik çekirdeğe kıyasla, lipitlerin katyonik yapısı sayesinde anyonik ilaçların daha kolay bir şekilde sisteme yüklenebildiği görülmüştür. Stabiliteleri artırmak için en dış katmandan birden fazla lipit kullanıldığında, lipitlerden biri hidrofilik kafa kısmı sulu faza ve hidrofobik kuyruk kısmı polimere bakacak şekilde dizilirken diğer lipitler karmaşık bir lipit-PEG yapısı oluşturur. Lipit konsantrasyonu düşük ise istenilen hibrit yapı elde edilemez. Bu hibrit yapı için, iç katmandaki katyonik lipit, PEG zincir yoğunluğu ve polimerin molekül ağırlığı oldukça önemlidir. Shi ve arkadaşları modifiye edilmiş çift emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi ile kendi kendine birleşen bir sistem tasarlamıştır. Bu sistem, siRNA'nın katyonik lipit tabakasına sahip en içte bulunan içi boş çekirdekte kapsüllemesi sayesinde %78-82'lik bir kapsülleme etkinliği gösterirken PEG-PLGA nanopartikülleri %4-8 kapsülleme etkinliğine sahipti.

Avantajları: Gelişmiş gen taşınımı, artmış renal filtrasyon, fagositik geri alım (uptake) inhibisyonu, dıştaki lipit-PEG tabakası sayesinde artmış *in vivo* stabilite

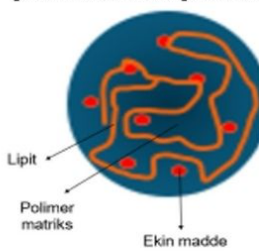
Eritrosit membranı ile kamufle edilmiş polimerik nanopartikül



PEG'in tek başına nanopartiküller için yeterli *in vivo* stabilite sağlanamaması nedeniyle yüzeyi eritrosit (kırmızı kan hücresi) membranı ile kaplı LPHNP'ler geliştirilmiştir. Boyutları 100nm 'nin altında olan bu sistemler, doğal zarları taklit eden yüzey kimyaları sayesinde 'biyomimetik nanopartikül' olarak da adlandırılmaktadırlar. Böylece makrofaj ile uzaklaştırılmanın önüne geçilir. İlaç molekülleri polimerik çekirdeğe yüklenir. Hu ve arkadaşları, 130nm partikül boyutuna sahip ve zeta potansiyeli $-12,7\text{mV}$ olan eritrosit membranı ile kamufle edilmiş PLGA nanopartikülleri tasarlamışlardır. Dolaşımda iki kat daha fazla kalmasından dolayı PEG ile kaplı nanopartiküllerinden daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu sistem diğer hibrit yapılara göre birçok avantaja sahip olsa da farklı kan grubuna sahip hastalarda farklı eritrosit yüzey antijeni bulunduğu için transfüzyon sırasında çapraz karşılaştırma yani uyumsuzluk görülebilir. Bu durum kullanımı kısıtlayan en önemli faktördür.

Avantajları: Sistemik dolaşımda uzun süre kalması, doğal (homotipik) hedefleme yapabilmesi, membran benzeri yapısı sayesinde biyoyoumlu olması, biyolojik bariyerlerden kolayca geçmesi, zardaki lipit yoğunluğu sayesinde artmış sürekli ilaç salımı

Monolitik (karışım) lipit polimer hibrit nanopartikül



İçerisinde lipit moleküllerinin disperse edildiği polimerik matriksten oluşan ve ilaç taşınmasında kullanılan koloidal bir sistemdir. Fosfolipitler, bu hibrit yapının ayrılmaz bir parçasıdır ve vezikül benzeri bir yapı oluşturabilirler, ancak yüzey modifikasyonuna elverişli değildirler. Bu durumun üstesinden gelebilmek için lipitlere PEG konjuge edilir, böylece nanopartiküllere farklı özellikler kazandırılabilir. Cai ve arkadaşları, dış katmanda fosfolipit ve ramnolipit kullanarak 24 saat içinde tam ilaç salımı gösteren amoksisilin (%10,2) ve pektin sülfattan oluşan sürekli salım yapan negatif yüklü monolitik sistem hazırlamışlar ve %93,6'lık enkapsülasyon verimliliğine ve 200nm civarında boyuta sahip hibrit nanopartikül sistem elde etmişlerdir.

Avantajları: Azalmış sistemik toksisite, sitotoksik kemoterapötik ajanların hedeflenebilmesi

Şekil 2. Lipit-polimer hibrit nanopartikül türleri, yapısal özellikleri ve avantajlarının özeti^{10,13-21}

İki basamaklı yöntem

LPHNP'lerin geliştirildiği ilk yıllarda hazırlamada en sık kullanılan bu yöntemde polimerik nanopartiküller ve lipid veziküller ayrı hazırlanmakta ve daha sonra çeşitli yöntemler ile bir araya getirilmektedir.^{2,4} Ancak hazırlama aşamasının uzun sürmesi, suda çözünen ilaçlarda gözlenen düşük yükleme kapasitesi gibi dezavantajlarından dolayı günümüzde yerini farklı hazırlama yöntemleri almıştır.²

İki basamaklı yöntemde LPHNP'lerin fiziksel özelliklerini etkileyen faktörler; önceden oluşturulmuş lipid vezikülün boyutu ve polidispersite indeksi, lipidin yüzey yükü, sürekli (sulu) fazın iyonik kuvveti, lipid/polimer oranı, PEG-lipit zincir uzunluğu ve fraksiyonu, lipid vezikülün ve polimerik nanopartikülün üretim tekniği, polimerin ve lipidin tipi olarak sıralanabilir.^{2,22} Ekstrüzyon ile üretimde, hidrasyon ile üretime kıyasla, daha küçük partikül boyutuna sahip polidispersite indeksi düşük lipid veziküller elde edilmiştir.⁷ Oluşan LPHNP'lerin monodispersitesi kullanılan lipidlerin yüzey yüküne de bağlıdır. Lipit olarak katyonik DPTAP ve zwitter iyonik DPPC'in birlikte kullanıldığında katyonik DPTAP ile zwitter-iyonik DPPC arasındaki elektrostatik etkileşimler nedeniyle agregatlar oluştuğu gözlenirken tek tip lipid (yalnız DPTAP veya yalnız DPPC) kullanıldığı zaman agregat oluşumu en aza inmiştir.^{22,23} Kolloidal stabilitede lipid vezikül/polimerik nanopartikül oranı (L/P) da oldukça önemlidir. Lipit veziküller elektrostatik stabilizatör olarak görev yaptığı için L/P oranı arttıkça stabilitenin de arttığı görülmüştür. Tam tersine, L/P oranı azaldıkça polimerik nanopartikül yeterli kaplanamamış ve agregatlar oluşmuştur, dolayısıyla stabilite azalmıştır.⁴ PEG zinciri uzadıkça, LPHNP'nin zeta potansiyeli (+51 mV'dan +22 mV'a) düşmüştür ancak bu zincirler polimerin etrafında sterik engel oluşturduğu için kolloidal stabilitenin arttığı görülmüştür. Ayrıca PEG-lipit fraksiyonunun artması da stabiliteyi artırmıştır.⁷

İki basamaklı yöntem, 'konvansiyonel yöntem' ve 'konvansiyonel olmayan yöntem' olmak üzere iki alt kategoriye ayrılmaktadır.²⁴ Yöntemlere ait açıklamalar ve görseller Şekil 3'te gösterilmektedir. Devamında ise bu yöntemler kullanılarak yapılmış çalışmalara yer verilmiştir. Konvansiyonel iki basamaklı yöntemin önemli dezavantajları, etkin maddenin lipid kabuk oluşmadan önce, sistemin çekirdeğinden su fazına difüze olması ve polimerik çekirdeğin lipid veziküller ile tam kaplanamamasıdır.^{4,25} Hasan ve arkadaşları²⁶, ıslak

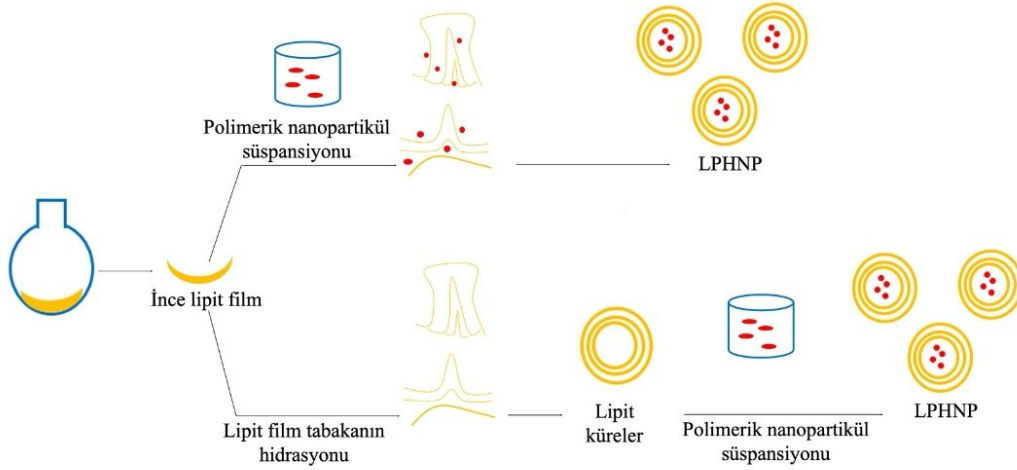
olmayan plaka üzerinde partikül tekrarı (Particle replication in non-wetting templates-PRINT) olarak adlandırılan yumuşak litografi partikül oluşturma tekniği ile prostat kanseri tedavisinde kullanılmak üzere siRNA yüklü LPHNP hazırlamışlardır. Bu yöntemde, polimer (PLGA) ve genetik materyal (siRNA), organik çözücü içerisinde çözündürülmüş ve bir polietilen tereftalat (PET) levha üzerine dökülmüştür. Daha sonra PET levha, 80-320 nm boyutlu şablon içeren bir PRINT kalıbı ile temas halindeyken ısıtılmıştır. Polimer, bu PRINT kalıbına akmış ve sıcaklığı ortam koşullarına döndürüldükten sonra katılaşmıştır. Böylece polimerik nanopartiküller elde edilmiştir. Ardından, PRINT kalıbı, bir PVA kaplı PET levha ile temas ettirilerek nanopartiküller bu kalıplardan çıkarılmış ve sulu bir lipid (DOTAP, DOPE) çözeltisi kullanılarak nanopartiküller PVA kaplı PET levhalardan ayrıştırılmıştır. Bu aşamada lipid çözeltisi PVA katmanını çözdüğü için nanopartiküller kalıptan çıkarılabilmekte ve eş zamanlı olarak lipid kaplı polimer nanopartikülleri elde edilmektedir. Ardından liyofilize edilmiş ve bu şekilde elde edilen LPHNP'lerin iğne şeklinde ve 200 nm boyuta sahip olduğu görülmüştür. PRINT tekniği sayesinde şekil ve boyut hassas bir şekilde kontrol altına alınmıştır. Konvansiyonel olmayan iki basamaklı yöntemin önemli dezavantajları, polimerin ve lipidin ayrı hazırlanmasından kaynaklı teknik sorunlar ve düşük imalat/üretim verimidir.²⁷

Tek basamaklı yöntem

Tek basamaklı hazırlama yöntemleri, zamandan ve enerjiden tasarruf edebilmek amacıyla ortaya çıkmıştır.² Hazırlama süresinin kısa olması, tekrarlanabilirliğinin yüksek olması, partikül boyutu ve PDI kontrol altına alınarak tek tip nanopartikül üretimine imkan vermesi yöntemin avantajları olarak sıralanabilir.⁸ Bu yöntemde –ayrı ayrı hazırlama gerekmezsizin- polimer ve lipid çözeltileri karıştırılmış, ardından “modifiye edilmiş nanoçöktürme” veya “modifiye edilmiş emülsiyon çözücü-uçurma” teknikleri ile kendi kendine birleşmeleri sonrasında LPHNP oluşumu gerçekleşmiştir.^{4,7} Cheow ve Hadinoto, alternatif bir yöntem geliştirmiş ve lipidi de organik fazda çözündürerek LPHNP hazırlamışlardır. Ofloksasin, PLGA ve PC, dikolorometan içerisinde çözündürülmüş daha sonra bu çözelti deiyonize suya ilave edilerek emülsiyon elde edilmiştir.²⁵ Yöntemlere ait açıklamalar ve görseller Şekil 4'te gösterilmektedir. LPHNP hazırlanmasında kullanılan yöntemler ve sonuçlarına dair literatür verilerine Tablo 1'de yer verilmiştir.

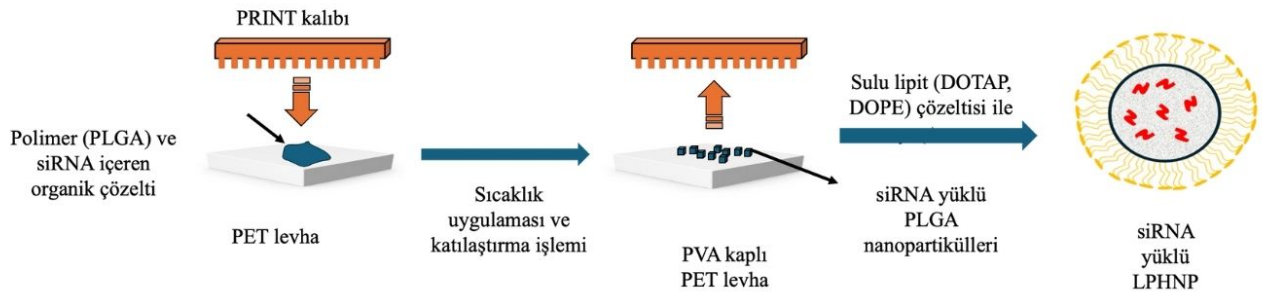
Konvansiyonel İki Basamaklı Yöntem

- Çekirdek-kabuk tipi LPHNP'lerin hazırlanmasında kullanılan en eski yöntem
- Çekirdek yapısını oluşturan polimerik nanopartikül ve kabuk yapısını oluşturan lipid vezikül ayrı hazırlanır ve karıştırılarak ve elektrostatik etkileşimler ile lipid veziküller polimerik nanopartikülün üzerini kaplar.
- Dezavantajı, etkin maddenin lipid kabuk oluşmadan önce, sistemin çekirdeğinden su fazına diffüze olmas ve polimerik çekirdeğin lipid veziküller ile tam kaplanamaması



Konvansiyonel Olmayan İki Basamaklı Yöntem

- Bu yöntemde en sık kullanılan teknikler 'püskürterek kurutma' ve 'yumuşak litografi ile partikül oluşturma'
- Konvansiyonel yöntemle kıyasla daha büyük ölçekli üretimlerde kullanılmak üzere geliştirilmiştir
- Dezavantajı, polimerin ve lipidin ayrı hazırlanmasından kaynaklı teknik sorunlar ve düşük imalat/üretim verimi

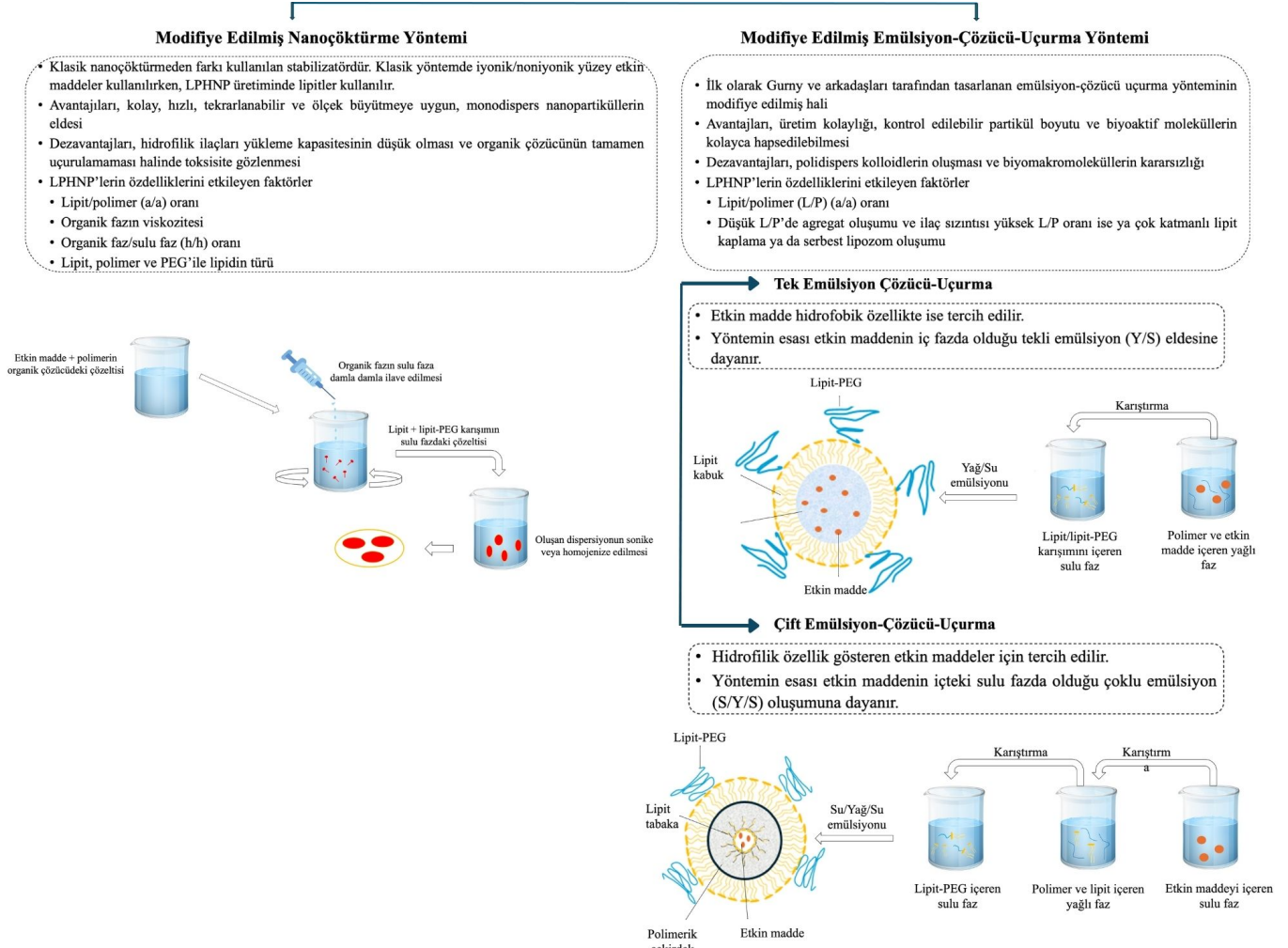


Şekil 3. İki basamaklı (konvansiyonel ve konvansiyonel olmayan) yöntemlere ait açıklamalar ve görseller^{2,4,8,11-13,22,24,25,27,28}

Tablo 1. LPHNP hazırlanmasında kullanılan bazı yöntemler ve sonuçları

Etkin Madde (Hazırlama Yöntemi)	Kullanılan polimer/lipit ve diğer yardımcı maddeler, karakterizasyon ve önemli sonuçlar
Dosetaksel (Tek basamaklı nanoçöktürme)	Hazırlanan poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)/lesitin ve 1,2-distearoil-sn-glisero-3-fosfoetanolamin-polietilen glikol (DSPE-PEG) bazlı nanopartiküller yaklaşık 92 nm boyutunda, PDI 0.21-0.24, ZP -30 ila -34 mV ve EE %59 olarak rapor edilmiştir. Bu formülasyonların sürekli salım profili, uygun serum stabilitesi, yüksek hücresel hedefleme kapasitesi ve ölçeklenebilir üretim avantajı sunduğu belirtilmiştir. ²⁹
Paklitaksel (Konvansiyonel iki basamaklı emülsiyon-çözücü-uçurma)	Hazırlanan PLGA/PEG ile oktadesil-kuaternize lizin ile modifiye edilmiş kitosan bazlı nanopartiküller, folik asit ligandıyla fonksiyonlandırılmıştır. Elde edilen partiküller 224-356 nm boyutunda, PDI 0.15-0.33, ZP ~-20 mV ve EE %84 değerlerine sahiptir. Bu formülasyonun, piyasadaki paklitaksel formülasyonuna (Taxol®) kıyasla daha düşük sitotoksitesite gösterdiği rapor edilmiştir. ³⁰
Metotreksat (Tek basamaklı nanoçöktürme)	Hazırlanan poli(ε-kaprolakton) (PCL)/fosfolipid bazlı nanopartiküller Tween 80, Lutrol® F-87, Kolliphor® P 407 veya polivinil alkol gibi sürfaktanlarla stabilize edilmiştir. Formülasyonların partikül boyutu 150-300 nm, PDI 0.15-0.38, ZP -13 ila -15 mV ve EE %80-90 aralığında bulunmuştur. Bu nanopartiküllerin sürekli salım sağladığı ve partikül boyut kontrolünün tümör hücresi etkileşimlerinde kritik rol oynadığı gösterilmiştir. ³¹
Dosetaksel (Folat Konjugeli) (Tek basamaklı emülsiyon-çözücü-uçurma)	Hazırlanan PLGA/1,2-dilauroil-sn-glisero-3-fosfokolin (DLPC), DSPE-PEG2000 ve DSPE-PEG5000-folat (FOL) bazlı nanopartiküller folik asitle konjuge edilmiştir. Elde edilen partiküller 200-300 nm boyutunda, PDI 0.13-0.16, ZP -20 ila -26 mV ve EE %60-66 değerlerine sahiptir. <i>İn vitro</i> sitotoksitesite çalışmalarında, folat konjugeli formülasyonların konjuge edilmemişlere göre %50.91, Taxotere®'e göre ise %93.65 daha yüksek etki gösterdiği bulunmuştur. ³²
Kurkumin (Çift basamaklı emülsiyon-çözücü-uçurma)	Hazırlanan metoksil poli(etilen-glikol)-PLGA (mPEG-PLGA)/lesitin ve kolesterol bazlı nanopartiküller, Arg-Gly-Asp (RGD) peptidi ile modifiye edilmiş PEG-kolesterol kopolimerleri ile fonksiyonlandırılmıştır. Formülasyonun partikül boyutu 216 nm, PDI 0.2-0.23 ve EE %96 olarak rapor edilmiştir. Melanom hücrelerinde kurkuminin sitotoksitesitesini ve apoptoz indüksiyonunu önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir. ³³
İtrakonazol (Çözücü emülsifikasyon/difüzyon tekniği)	Hazırlanan poloksamer 188 ve kitozan/gliseryl monostearat bazlı nanopartiküller 42-489 nm boyutunda, PDI 0.34, ZP +7 ila +23 mV ve EE %78-91 değerlerine sahiptir. Optimize formülasyonların küçük partikül boyutu, yüksek enkapsülasyon verimi ve iyileştirilmiş çözünme profili sunduğu bildirilmiştir. İtrakonazol salımı Korsmeyer–Peppas modeline uygun bulunmuştur. ³⁴
Dosetaksel (Farklı Formülasyon) (Tek basamaklı nanoçöktürme)	Hazırlanan PLGA/1,2-dioleoyl-sn-glisero-3-fosfoetanolamin (DOPE), oleik asit, DSPE-PEG2000, yumurta kaynaklı fosfatidilkolin ve kolesterol bazlı nanopartiküller Lutrol® F-87 ile stabilize edilmiştir. Bu formülasyonlar 151 nm partikül boyutu, PDI 0.18, ZP -12 mV ve EE %59 değerlerine sahiptir. MDA-MB-231 hücrelerinde <i>in vitro</i> hücresel tutulumun yüksek olduğu, <i>in vivo</i> modellerde ise tedavi edilen farelerde tümör yükünün azaldığı rapor edilmiştir. ³⁵
Palbosiklib (Tek basamaklı nanoçöktürme)	Hazırlanan PLGA/DSPE-PEG-folat bazlı nanopartiküller, folik asit ligandıyla fonksiyonlandırılmıştır. Formülasyonların partikül boyutu 143 nm, PDI 0.17, ZP +16 mV ve EE %93 olarak belirlenmiştir. <i>İn vitro</i> çalışmalar, bu nanopartiküllerin MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde serbest palbosiklibe kıyasla IC50 değerlerinde 48 saat içinde yaklaşık 9-11 kat azalma sağladığını göstermiştir. ³⁶
Nintedanib Esilat (Tek basamaklı nanoçöktürme)	Hazırlanan PLGA/soya lesitini ve DSPE-PEG2000 bazlı nanopartiküller yaklaşık 100 nm boyutunda, PDI 0.19, ZP -27 mV ve EE %88 değerlerine sahiptir. Bu formülasyonların sürekli salım sağladığı, alveol bölgesinde yüksek birikim gösterdiği ve hedef dokuda etkin konsantrasyon sağlayabildiği rapor edilmiştir. ³⁷
Solasonin ve Solamargin (Tek basamaklı emülsiyon-çözücü-uçurma)	Hazırlanan kitozan/illipe yağı bazlı nanopartiküller Tween 80 ile stabilize edilmiştir. Partiküller 130 nm boyutunda, PDI 0.22, ZP +21 mV, enkapsülasyon verimi ise Solasonin için %91, Solamargin için %88 olarak rapor edilmiştir. Bu nanopartiküllerin mesane kanseri hücrelerinde anti-proliferatif ve sitotoksik etki gösterdiği, üç boyutlu kültür modellerinde serbest glikoalkaloidlere göre IC50 değerlerinde iki kat azalma sağladığı belirtilmiştir. ³⁸
cRGD Peptidi (Tek basamaklı nanoçöktürme)	Hazırlanan PLGA/lesitin, kolesterol ve DSPE-PEG2000 bazlı nanopartiküller biyotin ile fonksiyonlandırılmıştır. Formülasyonların partikül boyutu 179 nm, PDI 0.05, ZP +29 mV ve EE %76 olarak bulunmuştur. Tümör taşıyan farelerde bu nanopartiküllerin tümör büyümesini etkili şekilde inhibe ettiği ve sağkalımı artırdığı rapor edilmiştir. ³⁹
GapmeR (Tek basamaklı nanoçöktürme yöntemiyle)	Hazırlanan PLGA/lesitin, DC-kolesterol ve DOPE-mPEG2000 bazlı nanopartiküller 150 nm boyutunda, PDI 0.23, ZP +29 mV ve EE %90 olarak rapor edilmiştir. Bu formülasyonların hücresel tutulumda 12 kat artış sağladığı ve Tob1 ekspresyonunu 48 saatte %60–70 oranında azalttığı bildirilmiştir. Mikroakışkan tekniğiyle hazırlanan nanopartiküller ise 180 nm boyutunda, PDI 0.24, ZP +32 mV ve EE %91 olup, hücresel tutulumda 6 kat artış sağlamıştır. ⁴⁰
Hesperidin (Emülsiyon-çözücü-uçurma)	Hazırlanan kitozan/soya lesitini bazlı nanopartiküller polivinil alkol ile stabilize edilmiştir. Formülasyonlar 91 nm boyutunda, PDI 0.21, ZP +23 mV ve EE %93 değerlerine sahiptir. Bu formülasyonun sürekli salım sağladığı ve cilt uygulamaları için en etkili sistem olduğu doğrulanmıştır. ⁴¹

PB, partikül büyüklüğü; **PDI**, polidispersite indeksi; **ZP**, zeta potansiyeli; **EE**, enkapsülasyon etkinliği; **NP**, nanopartikül; **LPHNP**, Lipit-Polimer Hibrit Nanopartikül; **PLGA**, poli(laktik-ko-glikolik asit); **DLPC**, 1,2-dilauroilfosfatidilkolin; **DSPE-PEG₂₀₀₀**, 1,2-distearoil-sn-glisero-3-fosfoetanolamin-N-[metoksi(poli(etilen glikol))-2000]; **DSPE-PEG₅₀₀₀-FOL**, 1,2-distearoil-sn-glisero-3-fosfoetanolamin-N-[folat(poli(etilen glikol))-5000]; **DSPE-PEG-FA**, distearoilfosfatidiletanolamin-poli (etilen glikol) -folik asit konjugatı; **DOPE**, Dioleoil-fosfoetanolamin SS ve SM, *Solanum lycocarpum* meyvesinden ekstrakte edilen glikoalkaloidler Solasonin ve Solamargin; **IC50**, %50 İnhibisyon Konsantrasyonu; **GapmeR**, (5'-GAATTGCTGGTTAGAA-3') *Tob1* gen ekspresyonunu susturmak için spesifik gen; **DC-kolesterol**, (3β-[N-(N',N'-dimetilaminoetan)-karbamoyl-kolesterol hidroklorür]; **DOPE-mPEG₂₀₀₀**, (1,2-distearoil-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-[methoxy(polyethylene glycol))-2000] (amonyum tuzu)



Şekil 4. Tek basamaklı (modifiye edilmiş nanoçöktürme ve modifiye edilmiş emülsiyon çözücü-uçurma) yöntemlere ait açıklamalar ve görseller^{2,7,11,24-29,42}

LPHNP hazırlamada kullanılan yeni yöntemler

Bu yöntemler; ‘mikro-akışkan nanoçöktürme yöntemi’, ‘çok girişli vorteks mikoreaktör yöntemi’ ve ‘tek basamaklı sonikasyon yöntemi’ olarak sıralanabilir.^{7,43}

Mikroakışkan nanoçöktürme yöntemi

LPHNP'lerin boyut homojenliğini iyileştirmek için Valencia ve arkadaşları⁴⁴, nanoçöktürmeyi bir mikro kanalda gerçekleştirmiştir. Böylece lipit-polimer karışımı hassas bir şekilde kontrol edilebilmiştir. Bu tek adımlı yöntemde LPHNP'ler çok kısa bir zaman diliminde, çözücünün yer değiştirmesi nedeniyle PLGA moleküllerinin kendiliğinden birleşerek bir PLGA çekirdeğini oluşturması ve lipit moleküllerinin, oluşan PLGA çekirdeklerinin yüzeyine temas ederek lipit kabuğu oluşturması ile elde edilir. Şöyle ki; lipit içeren sulu faz ile polimer içeren organik faz, mikro ölçekte karıştırılmış ve homojen bir polimerik çekirdek elde edilerek uygun boyutta LPHNP'ler hazırlanmıştır. Bununla birlikte, mikro ölçekli karıştırma sayesinde polimer çekirdeğin etrafı eşit kalınlıkta lipit ile

kaplanmış. Sulu faz ile organik fazın etkin şekilde karışmasını sağlamak amacıyla, mikrokanaal içerisinde Tesla geometrisine sahip statik bir karıştırıcı kullanılmıştır. “Tesla mikseri” olarak adlandırılan bu mikrokarıştırıcı, Reynolds sayısının 20'yi aştığı durumlarda çalışan düzlem içi bir yapıya sahiptir. Yüksek akış hızlarında, hem difüzyon hem de konveksiyon mekanizmalarına katkı sağlayarak karışım verimliliğini artırmaktadır. Bu sayede, polimer çekirdeğin oluşması için gereken süreden daha kısa bir zamanda organik faz yer değiştirebilmiştir ve homojen bir polimer çekirdeğin oluştuğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, lipidin polimerik çekirdeğe ulaşmasından önce, yanlamasına difüzyon ve konveksiyon yolları ile çözücünün tam yer değiştirmesi sağlanmıştır. Sonuç olarak lipit, polimer çekirdek oluşumunda önemli bir rol oynamamıştır. Lipidin esas rolü, yapıyı agregasyondan koruyup stabilizeyi iyileştirmektir. Optimum L/P oranında, polimer çekirdek ile polimer çekirdeği stabilize etmek için gereken minimum lipit kaplama bu yöntemde aynı zamanda oluşmuş ve böylece kararlı

monodispers LPHNP'ler elde edilmiştir. Hazırlanan LPHNP'lerin ortalama boyutu 40nm ve zeta potansiyeli -20mV olarak ölçülmüştür.⁴⁴ Wan ve arkadaşları⁴⁵, lipid olarak TPGS (tokoferol polietilen glikol süksinat), polimer olarak PLGA ve üç girişli bir mikro-akışkan çip kullanarak ultra küçük LPHNP hazırlamıştır. Mikro akışkan çipin dış kanalına HEPES tamponunda çözündürülmüş TPGS içeren sulu faz, iç kanalına asetonitrilde çözündürülmüş PLGA içeren organik faz, şırıngalar kullanarak pompalanmış ve mikrovorteksleme ile bu fazlar hızla karıştırılmıştır. Mikrovorteksleme sayesinde, difüzyon ve konvektif karıştırmaya dayanan geleneksel mikro-akışkan yöntemlerine göre 1000 kat kadar daha yüksek verimlilik sağlanmıştır. İşlem sonucu elde edilen nanopartikül dispersiyonu, 4 saat boyunca manyetik karıştırma altında karanlık bir odada saklanmış ve organik çözücü uzaklaştırılmıştır. Sonuç olarak Wan ve arkadaşları 2020 yılında yaptıkları çalışmada 100nm'den küçük LPHNP'ler elde etmişlerdir.⁴⁵ Mikroakışkan sistemlerde karşılaşılan düşük verim sorununu gidermek amacıyla Kim ve arkadaşları, LPHNP'lerin ölçeklenebilir üretimi için desen ayarlanabilir bir mikrovorteks platformu geliştirmiştir. Bu platform, akış hızlarının değiştirilmesi yoluyla (Reynolds sayısı: 30–150), ortalama nanopartikül boyutunu ~30–170 nm aralığında kontrol edebilmekte; aynı zamanda düşük PDI (~0.1) ve yüksek üretim verimliliği (~3 g/saat) sağlayabilmektedir. Bu çalışmada, LPHNP'lerin geleneksel mikroakışkan difüzyon sentezlerine göre 1000 kata kadar daha hızlı üretilebileceği gösterilmiştir.⁴⁶

Çok girişli vorteks mikoreaktör yöntemi

Fang ve arkadaşları, polimerik nanopartiküller ve nanoçöktürme yoluyla üretilen hibrit nanopartiküller arasındaki benzerliklerden yola çıkıp, bu makro ölçekli karıştırma cihazını kullanarak hibrit nanopartiküllerin büyük ölçekte üretiminin mümkün olduğu varsayımı ile gerekli uyarlamaları yapıp LPHNP üretmek için dört girişli vorteks mikoreaktör kullanmışlardır. Bu vorteks mikoreaktörün giriş kanallarının çapı 1.1 mm; çıkış kanallarının çapı 1.3 mm, reaksiyon odasının çapı 6mm ve yüksekliği 1.5mm'dir. Bu çalışmada, sadece iki faz kullanıldığından, çözeltilerin reaksiyon odasına girişini ayırmak için T şeklinde bir bağlantı kullanılmış ve bu şekilde fazlardan biri diğerinin karşısına gelecek şekilde reaksiyon odasına gönderilmiştir. Hazırlanış kısaca şöyledir: Lipidin (Yumurta-PC) ve lipid-PEG'in (DSPE-PEG) sudaki çözeltisi ile sulu faz; polimerin (PLGA)

asetonitrildeki çözeltisi ile organik faz hazırlanmıştır. Organik ve sulu fazın, şırınga pompaları vasıtasıyla eşit hızda (2mL/dk) akışı sağlanmıştır. Böylece bu iki faz aynı anda reaksiyon odasına ulaşmış ve hızlı bir nanoçökelme ile LPHNP'ler oluşmuştur. Oluşan LPHNP boyutu polimer konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak artmış ve 100-200 nm arasında değişiklik göstermiştir. Ayrıca PDI 0.05 olarak tespit edilmiştir.⁴⁷ Her ne kadar çok girişli vorteks karıştırıcılar, ölçeklenebilir nanopartikül üretimi için potansiyel bir yöntem olarak önerilse de; bu sistemlerle elde edilen nanopartiküllerin kontrol edilebilirliği ve tekrarlanabilirliği sınırlı kalmaktadır. Bokare ve arkadaşları, söz konusu kısıtlamaları aşmak amacıyla, akış kanallarında balıksırtı desenlerine sahip üç boyutlu (3B) yazdırılmış çok girişli vorteks karıştırıcılar kullanarak üç farklı yöntemle üretilen LPHNP'lerin tekrarlanabilirliklerini karşılaştırmıştır. Bu yöntemler sırasıyla mikroakışkan tekniği, geleneksel çok girişli vorteks tekniği ve balıksırtı desenli 3B yazdırılmış çok girişli vorteks tekniğidir. Elde edilen bulgulara göre, balıksırtı desenli 3B yazdırılmış sistem, diğer tekniklerle karşılaştırıldığında en küçük partikül boyutlarına ve en düzgün boyut dağılımına sahip LPHNP'leri üretmiş; aynı zamanda daha yüksek tekrarlanabilirlik sunmuştur.⁴⁸

Tek basamaklı sonikasyon yöntemi

Tek basamaklı sonikasyon yöntemi, kontrol edilebilir ve tekdüze parçacık boyutuna sahip LPHNP hazırlamak için Fang ve arkadaşları⁴⁹ tarafından geliştirilen yeni ve hızlı bir yöntemdir. Bu yöntemde, ısıtma, vorteksleme ve çözücü buharlaştırma yerine hızlı bir sonikasyon yöntemi kullanılır. Ultrasonikasyon banyosu ile bütün LPHNP oluşumu yaklaşık 5 dakika sürmektedir. Bu süre modifiye nanoçöktürme yöntemindeki birkaç saat ile kıyaslanınca oldukça kısadır. Bu yöntem sayesinde üretim hızı yaklaşık 20 kat artmaktadır. Ayrıca nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri üzerinde olumsuz bir etki göstermemiştir. Fang ve arkadaşları bu yöntemi kullanarak kısaca şu şekilde LPHNP hazırlamışlardır. Kullanılan polimer (PLGA) asetonitril içerisinde çözündürülmüştür. Lipitler (lesitin, DSPE-PEG) ayrı ayrı ağırlıkça %4 etanol içeren su içerisinde çözündürülmüş ve bu çözeltiler deiyonize suya eklenmiştir. Daha sonra polimer çözeltisi ve sulu çözelti bir araya getirilmiştir. Elde edilen karışım, bir sonikatör kullanılarak 5 dakika boyunca sonikasyona tabi tutulmuştur. Bu esnada LPHNP yapısı oluşmuştur. Daha sonra santrifüj filtresi kullanılarak saflaştırma

yapılmıştır. Elde edilen LPHNP'lerin boyutu 65 nm, zeta potansiyeli -48 mV, PDI'i 0.08 olarak bulunmuştur.⁴⁹

Lipit polimer hibrit nanopartiküllerin karakterizasyonu

Nano boyutlu yapıların karakterizasyonu, *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda istenilen davranışların kontrolü açısından oldukça önemlidir. Nanopartiküllerin boyutu, boyut dağılımı ve zeta potansiyeli stabilitesini etkilemektedir (küçük, tekdüze ve zeta potansiyeli (+/-) 30 mV'dan büyük olması istenir). Ayrıca partikül boyutu ile etkin maddenin salım hızı arasında bir ilişki vardır; nanopartiküllerde boyut küçük olduğu için salım hızlıdır. Morfolojik görüntüleme sayesinde hazırlanan nanopartikülün şekil ve yüzey özellikleri (boyut, porozite, yüzey modifikasyonu gibi) analiz edilir, çünkü bu özellikler nanopartikülün *in vitro* ve *in vivo* davranışını etkilemektedir. İlaç yükleme kapasitesi ve etkin madde salım çalışmaları geliştirilen nanopartikülün *in vivo* etkinliğinin tahmin edilmesinde önemli parametrelerdir.⁵⁰

Karakterizasyon çalışmalarında kullanılan yöntemler mikroskopik yöntemler, spektroskopik yöntemler ve kromatografik yöntemler olarak sıralanabilir.⁴ LPHNP'lerde gerçekleştirilen karakterizasyon çalışmalarına Tablo 2'de yer verilmiştir.

Partikül boyutu

Partikül boyutu, LPHNP'lerin hem *in vitro* hem de *in vivo* etkinlik profillerinin belirlenmesi için oldukça önemlidir.⁴ Özellikle sistemik dolaşım ömürlerinin ve tümör dokularında pasif olarak birikme yeteneklerinin belirlenmesinde en kritik parametrelerden birisidir.⁵¹ Perrault ve arkadaşları, çeşitli faktörlerin ilaç hedefleme etkinliği üzerindeki etkisini araştırmıştır. Bu çalışmada, boyutları 20-100 nm aralığında olan nanopartiküllerin hedeflemeye en yüksek etkinliğe sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca partikül boyutunun doğrudan tümör dokusuna nüfuz etme ve bu dokuda birikme yeteneği üzerinde etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.^{4,52} Partikül boyutunun analizi için kullanılan yöntemler; dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) yöntemi ve transmisyon (geçirilmiş) elektron mikroskobu (TEM) yöntemi olarak sıralanabilir.⁵¹

Polidispersite indeksi

Polidispersite indeksi (PDI), partikül boyutu dağılımını ifade eden bir değerdir. PDI değeri, 0 ile 1 aralığında değişebilir.⁵³ PDI 0.1-0.25 arasında olduğu zaman sistemin monodispers (dar partikül boyutu dağılımına

sahip), PDI 0.5'in üzerinde olduğunda ise sistemin polidispers (geniş çaplı partikül varlığı ve agregat oluşumuna bağlı olarak geniş bir partikül boyutu dağılımına sahip) olduğu anlaşılmaktadır.⁵⁴ Partikül boyutu dağılımını analiz etmede foton korelasyon spektroskopisi ve DLS yöntemleri kullanılmaktadır.²

Men ve arkadaşları, kanser tedavisinde kontrollü salım gösteren, doksorubisin (DOX) yüklü pH ve redoks duyarlı LPHNP hazırlamışlardır. DOX yüklü polimerik misel (PM) ve LPHNP'lerin serumdaki stabilitesini incelemek için PDI'leri farklı zamanlarda (1. gün, 2. gün, 3. gün ve 4. gün) DLS yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Farklı PEG-lipit mol oranlarına (%0, %3, %5, %7 ve %10) sahip LPHNP hazırlanmış ve ölçümler bu nanopartiküller üzerinde yapılmıştır. Tüm LPHNP'lerin PDI'si 0.30'dan düşük bulunmuştur. 4. günün sonunda PM'lerin partikül boyutu yaklaşık 130 nm'den 240 nm'ye yükseltirken, LPHNP'lerin parçacık boyutunun 95 nm'den yaklaşık 140nm'ye yükseldiği görülmüştür. Ayrıca, LPNP'lerin PDI'si, PM'lere kıyasla ihmal edilebilir bir artış göstermiştir (LPHNP'lerin PDI'si 0.30 civarında kalırken PM'lerin PDI'si 0.215'ten 0.617'ye çıkmıştır). Bu sonuçlar, hazırlanan LPHNP'lerin, PM'lere kıyasla yüksek serum stabilitesine sahip olduğunu ve LPHNP'lerin vücutta daha uzun süre dolaşımda kalabileceğini göstermektedir.⁵⁵

Morfoloji

Morfoloji de LPHNP'lerin hem *in vitro* hem de *in vivo* etkinlik profillerinin belirlenmesi için oldukça önemlidir. LPHNP'lerin morfolojisini belirlerken kullanılan yöntemler; TEM, SEM, atomik kuvvet mikroskobu (AFM), konfokal lazer taramalı mikroskop (CLSM), floresans mikroskobu olarak sıralanabilir.²

Elkateb ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada darunavir ve ritonavir yüklü LPHNP'lerin morfolojik yapıları detaylı bir şekilde incelenmiştir. Bu amaçla kullanılan SEM analizi, partiküllerin pürüzsüz yüzeylere sahip, küresel biçimli yapılar olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca TEM ile yapılan görüntülemelerde, partikül çekirdeğini çevreleyen koyu renkli halkaların varlığı dikkat çekmiş; bu halkaların daha iyi gözlemlenmesi için örnekler %2'lik sulu uranil asetat çözeltisinde inkübe edilmiştir. Uranil asetat ile gerçekleştirilen bu kontrastlama işlemi, partikül çevresindeki elektron yoğunluğunu artırarak lipid kabuğun görünür hale gelmesini sağlamış ve böylece LPHNP'lerin çekirdek-kabuk yapısına sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu morfolojik bulgular,

nanopartikül sisteminin yapısal özelliklerini ortaya koyarak formülasyonun nanoteknolojik başarısını

desteklemiştir.⁵⁶

Tablo 2. Literatürde LPHNP'lerde Gerçekleştirilen Karakterizasyon Çalışmaları

Etkin madde (Salımı)	Partikül büyüklüğü ve PDI	Yüzey yükü	Morfoloji	İlaç yükleme kapasitesi	<i>In vivo</i> karakterizasyon	Diğer analizler
İtrakonazol ³⁴ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	SEM	UV	-	ATR-FTIR, DSC
Dosetaksel ³⁵ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	SEM	HPLC	Dişi fare	<i>In vitro</i> hücre kültürü, Hücre canlılığı, FITC Anneksin-V apoptoz saptama kiti
Palbosiklib ³⁶ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	TEM, Floresan mikroskopu	HPLC	-	ATR-FTIR, ¹ H NMR, DSC, MTT
Nintedanib esilat ³⁷ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	TEM, XRD	UV	Dişi sıçan	DSC
Solasonin ve Solamargin ³⁸	DLS, NTA	DLS	AFM, Kriyo-TEM	LC-MS	Dişi fare	DSC, 2D ve 3D hücre kültürü, 3D hücre alımı, Western Blot, PCR
Sispilatin ⁵⁷ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	TEM	UV	-	¹ H NMR, Hücre canlılığı, Hücre alım, Hücre sitotoksitesi, Florasan mikroskopi
Vankomisin ⁵⁸ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	TEM	HPLC	-	DSC, MTT, Kristal viyole Canlılık testi
Sorafenib ⁵⁹ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	TEM	HPLC	-	FTIR, DSC, pXRD, Hücre kültürü, <i>in vitro</i> sitotoksitesi, Hücre alım, Hücre büyüme baskılama testi
Lonidamin ^{60,61} (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	TEM	UV	Sıçan	ELISA, Masson üçlü boyama, TUNEL, Işık mikroskopu
Santrifüjleme	PCS	LDA	TEM, FESEM	UV	-	DSC, SAXS, RSM
Darunavir ve Ritonavir ⁵⁶ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	SEM, TEM	LSC	-	Hücre kültürü
Doksorubisin ^{55,62} (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	TEM	UV	-	Floresans spektrofotometre, Hücre kültürü, Hücre alım, CCK-8
(Membran tüpü)	DLS	DLS	TEM	UV	-	DSC, XRD, MTT
Gemsitabin ⁶³ (Franz difüzyon)	DLS	DLS	TEM	HPLC	-	-
Hesperidin ⁴¹ (Difüzyon hücresi-yumurta zarı)	DLS	DLS	TEM	UV	-	FTIR, DSC, XRD
Karboplatin ve Paklitaksel ⁶⁴ (Diyaliz torbası)	DLS	DLS	JEM-1010	RP-HPLC	Fare	MTT, Hücre alım, Chou-Talalay Metodu

PDI, Polidispersite indeksi; **DLS**, Dinamik ışık saçılması; **SEM**, Taramalı elektron mikroskopu; **TEM**, Geçirimli elektron mikroskopu; **HPLC**, Yüksek performanslı sıvı kromatografisi; **ATR-FTIR**, Zayıflatılmış toplam yansıma-fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi; **¹H NMR**, Proton nükleer manyetik rezonans spektroskopisi; **DSC**, Diferansiyel taramalı kalorimetri; **NTA**, Nanopartikül takip analizi; **AFM**, Atomik kuvvet mikroskopu; **Kriyo-TEM**, Kriyo-geçirimli elektron mikroskopu; **LC-MS**, Sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi; **XRD**, X-ışını kırınımı; **MTT**, 3-(4,5-dimetil-tiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (Canlılık testi); **UV**, Ultraviyole spektroskopisi; **PCR**, Polimeraz zincir reaksiyon; **pXRD**, Toz X-ışını kırınımı; **ELISA**, Enzim Bağlantılı İmmünoabsorbent Testi; **TUNEL**, Terminal deoksinitridil transferaz aracılı dUTP uç işaretleme testi; **LSC**, Sıvı sentilasyon sayımı; **PCS**, Foton korelasyon spektroskopisi; **LDA**, Lazer doppler anemometresi; **FESEM**, Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskopu; **SAXS**, Küçük açılı X-ışını saçılması; **RSM**, Tepki yüzeyi metodolojisi, **CCK-8**, Hücre sayım kiti-8; **XRD**, X-ışını kırınımı; **RP-HPLC**, Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi

Yüzey yükü

Zeta potansiyeli (ζ) olarak da ifade edilen yüzey yükü, parçacık yüzeyi ile çözelti (ortam) arasındaki elektrokinetik potansiyelin bir ölçüsüdür.⁴ Bu değer nanopartiküllerin yüzey elektrik yüklerini temsil eder ve partiküllerin hem *in vitro* hem de *in vivo* stabilitesinin belirlenmesinde kritik bir faktördür.⁵¹ Zeta potansiyeli 30 mV'den yüksek (hem negatif hem de pozitif olarak) ise monodispers nanopartiküller elde edilmektedir. Buna karşılık, zeta potansiyeli 5 mV'den düşük (hem pozitif hem de negatif olarak) ise agregasyon gözlenmektedir.⁴ Yüzey yükünü ölçmede en sık kullanılan yöntem DLS'dir. Ayrıca foton korelasyon spektroskopisi ve elektroforetik ışık saçılımı (ELS) yöntemi de kullanılabilir.^{2,65}

Sengel-Turk ve Hascicek tarafından yürütülen çalışmada LPHNP formülasyonları geliştirilmiş ve zeta potansiyelleri -29.8 ile -51.3 mV arasında ölçülen bu nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerinin zamanla nasıl değiştiği, 4 °C ve 25 °C, %50 bağıl nem koşullarında, 3 ve 6 aylık periyotlarla incelenmiştir. Bulgular, 4 °C'de saklanan örneklerde partikül boyutu, PDI ve zeta potansiyelinde belirgin bir değişiklik olmadığını ve hibrit yapının korunduğunu göstermiştir. Buna karşın 25 °C'deki saklama koşulları, agregat oluşumuna neden olarak partikül boyutunda ve PDI değerlerinde artışa yol açmış; ayrıca zeta potansiyelinde düşüş gözlenmiştir. Bu çalışma, nanoteknolojik ilaç taşıyıcılarının çevresel faktörlere karşı duyarlılığını vurgulayarak, stabilite açısından kontrollü koşullarda muhafaza edilmesinin önemini partikül boyutu, PDI ve yüzey yükü ölçümleri ile ortaya koymaktadır.⁶¹

Lipit kabuk kalınlığı

Lipit kabuk kalınlığı, nanopartikülün stabilitesini etkileyen faktörlerden birisidir. Kalınlığın artırılması ile stabilitenin arttığı gözlenmiştir.⁶⁶ Lipit kalınlığının ölçümü için kullanılan yöntemler; TEM ve küçük açılı X-ışını saçılımı (SAXS) yöntemleridir.²² Thevenot ve arkadaşları hazırladıkları LPHNP'lerde lipit kabuk kalınlığını SAXS yöntemi kullanarak analiz etmişlerdir. Bu çalışmada, PEG-lipit konsantrasyonunun veya PEG zincir uzunluğunun artması sonucu lipit kabuğunun kalınlığının arttığı ve bu durumun da kolloidal stabiliteyi etkileyebileceği gözlenmiştir.

İlaç yükleme kapasitesi

İlaç yükleme kapasitesinin belirlenmesinde öncelikle nanopartiküllerin enkapsüle olmamış serbest ilaçtan ayrılması sağlanmalıdır. Bu işlem için diyaliz, membran filtrasyon ve santrifüj yöntemleri gibi saflaştırma

yöntemleri kullanılır. Sonrasında elde edilen örneklerde (saflaştırılmış nanopartikül veya serbest ilacı içeren ortam) etkin madde miktarı UV, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS), gaz kromatografisi (GC) gibi yöntemler ile tespit edilebilir.^{4,27} Enkapsülasyon etkinliği (EE) ve yükleme kapasitesi (YK) aşağıda verilen denklemler ile hesaplanmaktadır.⁶⁷

Eşitlik 1: EE (%) = LPHNP'lerdeki ölçülen ilaç miktarı/formülasyonda kullanılan toplam ilaç miktarı X 100

Eşitlik 2: YK (%) = LPHNP'lerdeki ölçülen ilaç miktarı/LPHNP'lerin miktarı X 100

Etkin madde salımı

Tasarlanan ilaç taşıyıcı sistemlerin etki gösterebilmesi için içine hapsedilmiş etkin maddenin hedef bölgede açığa çıkması gerekmektedir. Bu açıdan etkin madde salım hızı çalışmaları yapılarak, LPHNP'lerin *in vivo* ortamdaki davranışı tahmin edilebilmektedir.⁶⁷ LPHNP'lerden etkin madde salımı farklı şekillerle gerçekleşebilir. Eğer etkin madde fiziksel olarak kapsüle edilmiş ise salım difüzyon veya polimerin erozyonu ile gerçekleşir. Fakat etkin madde kimyasal etkileşimler ile sisteme yüklenmiş ise öncelikle etkin madde ve polimer arasındaki bağlar hidroliz olur ve ardından difüzyon ile salım gerçekleşir.⁵¹ LPHNP'lerin ilaç salım profilini etkileyen faktörler; ilaç polimer etkileşimi, ilaç çözünürlüğü, polimer bozunma hızı ve partikül boyutu olarak sıralanabilir.⁵¹ Etkin madde salım çalışmalarında tercih edilen bir yöntem olan diyaliz yöntemi kullanılarak, nanopartikülden açığa çıkıp salım ortamına geçen ve burada çözünen etkin madde ortamdan alınır. Ardından HPLC, UV-VIS spektrofotometri veya MS yöntemleri kullanılarak salım ortamındaki etkin maddenin miktarı tayini yapılır.^{27,51}

İn vivo karakterizasyon

Nanopartiküller ile *in vitro* çalışmalar (fagositik alım, hücresel alım, kompleman sistem aktivasyonu gibi) yapıldıktan sonra, güvenlikleri ve terapötik etkinlikleri hayvan modellerinde test edilmektedir. Hayvan çalışmalarının sonuçları, klinik araştırmalarda doğru karar vermede çok önemli bir rol oynamaktadır. İnsanlarda görülen hastalıkların patofizyolojisini yansıtabilen hayvan modelleri, ilaç ya da formülasyonların insanda ortaya çıkacak terapötik sonuçlarını tahmin etmek için oldukça önemli araçlardır.⁶⁹

Sengel-Turk ve arkadaşlarının çalışmasında, benign prostat hiperplazisi (BPH) tedavisi amacıyla lonidamin

yüklü LPHNP formülasyonları geliştirilmiş ve bu sistemin terapötik etkinliği ile toksisite profili *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. Erkek sıçanlarda oluşturulan BPH modeli üzerinden yürütülen çalışmada, lonidaminin serbest formu ve LPHNP formu karşılaştırılmıştır. Prostat indeksi (PI) değerleri her iki formülasyonun hiperplastik doku miktarını azalttığını gösterirken, lonidamin yüklü LPHNP'ler serbest lonidamine kıyasla daha etkili bulunmuştur. Ayrıca, hepatik enzim düzeylerine [Alanin Aminotransferaz (ALT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST)] ilişkin analizler, saf lonidaminin LPHNP formuna göre daha yüksek toksik etkiye yol açtığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, lonidaminin LPHNP formülasyonu şeklinde sunulmasının hem etkinliği artırabileceğini hem de toksisiteyi azaltabileceğini göstermektedir.⁶⁰

Meyer ve arkadaşları, hedefe yönelik mRNA taşımını amacıyla LPHNP formülasyonları geliştirmiştir. İntravenöz uygulamaları takiben, karaciğerde belirgin LPHNP lokalizasyonu gözlenmesine rağmen, adsorbe edilmiş mRNA taşıyan partiküller, kapsüllenmiş mRNA'lı partiküllere kıyasla farelerin akciğer ve dalak dokularında protein ekspresyonu açısından daha yüksek performans sergilemiştir. Öte yandan, intramüsküler enjeksiyon sonrası kapsüllenmiş partiküller, daha belirgin lokal protein ekspresyonu sağlamış ve bu ekspresyon enjeksiyonu takiben 12 gün süreyle tespit edilebilmiştir.⁷⁰

Piyasada bulunan ürünler

1995'te Doxil®'in piyasaya çıkmasından beri bir çok nanotaşıyıcı sistem kullanılmaktadır.⁷¹ Piyasadaki nano taşıyıcı formunda olan ürünlere; Doxil® (Doksorubisin yüklü lipozom), AmBisome® (Amfoterisin B yüklü lipozom), DaunoXome® (Daunorubisin sitrat yüklü lipozom), Tricor® (Fenofibrat yüklü nanokristal), Emend® (Aprepitant yüklü nanokristal), Abraxane® (Paklitaksel yüklü albümin nanopartikül), Myocet® (doksorubisin yüklü lipozom), Combidex® (Demir oksit yüklü dekstran kaplı demir oksit nanopartikül), Oncaspar® (L-asparaginaz yüklü polimer protein konjugatı), GenexolPM® (Paklitaksel yüklü misel), Amphotec® (Amfoterisin B yüklü katı lipid nanopartikül), Rapamune® (Rapamisin yüklü nanokristal), Megace® (Megestrol yüklü nanokristal), Depocyt® (Sitarabin yüklü lipozom), Bexxar® (İyot-131 yüklü anti-CD20 –monoklonal antikor–), Ontak® (difteri toksini yüklü IL2 füzyon protein merkezli nanotaşıyıcı) örnek olarak verilebilir.^{72,73} Ancak yapılan araştırmalar sonucunda henüz LPHNP şeklinde

hazırlanmış ve faz çalışmasında olan veya resmi otoriteler tarafından onaylanmış bir ürüne rastlanmamıştır.

TARTIŞMA

Lipit-polimer hibrit nanopartiküllerin özellikleri

Nano boyutlu taşıyıcı sistemler, sağladıkları avantajlardan dolayı günümüzde sıklıkla kullanılan ve oldukça ilgi gören sistemlerdir. Bu sistemler içinde lipozomlar ve biyoparçalanır polimerik nanopartiküller öne çıkmaktadır. Bu iki nano boyutlu ilaç taşıyıcı sistemin avantajlarını bir araya getirmek ve dezavantajlarını azaltmak üzere LPHNP'ler geliştirilmiştir. Bu yeni sistemin tasarlanma nedeni, polimerik çekirdeğin yapısal özellikleri ve stabilitesi ile lipozomun biyoyumluluğunu bir araya getirmektir.⁴ Bu şekilde LPHNP'ler, sahip olduğu yüksek ilaç yükleme kapasitesi, amfifilik yapısına bağlı olarak hidrofilik ve hidrofobik terapötik ajanın yüklenebilmesi, artmış *in vitro* ve *in vivo* stabilite, kontrollü ve sürekli salım özelliği, yüksek biyoyumluluk ve biyoyararlanım, yüzey modifikasyonu, partikül boyutuna bağlı olarak pasif hedeflenebilirlik gibi avantajları sayesinde oldukça ümit vadetmektedir.^{2,7,12}

LPHNP'lerde kullanılan polimerler, yapısal bütünlük, iyileştirilmiş stabilite ve değiştirilmiş salım kinetiği sağlar; lipidler ise ilaç yükleme kapasitesini artırır ve biyoyumluluğu iyileştirir. Bu polimerlerin ve lipidlerin konfigürasyonundaki farklılığa göre LPHNP'ler beş farklı sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar; polimer çekirdek-lipit kabuk tipi sistemler, lipozomun polimer içerisinde hapsediği sistemler, çekirdek-kabuk tipi içi boş lipid-polimer-lipit hibrit nanopartiküller, eritrosit membranı ile kamufle edilmiş polimerik nanopartiküller, monolitik (karışım) lipid polimer hibrit nanopartiküllerdir. Tüm LPHNP'ler kendi içinde çeşitli avantaj ve dezavantajlara sahiptir.¹⁰ Yapılan literatür taramalarına göre çalışmaların polimer çekirdek-lipit kabuk tipi sistemler üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür. Bu sistem çeşitli kanser tiplerinde etkili tedavi sağlayan en basit LPHNP formudur, çünkü lipid-polimer yapının amfifilik yapısı hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçlarının taşıyıcı içerisinde kolayca hapsedilmesini mümkün kılar.¹⁰ Çekirdek-kabuk yapısı sayesinde yüksek yapısal bütünlük, iyileştirilmiş stabilite, kontrollü salım profili ve iyileştirilmiş biyoyumluluk ve biyoyararlanım gibi avantajlara sahiptir.⁷

Nitekim Scopel ve arkadaşları geliştirdikleri nanotaşıyıcıların floresan ile benzer fitokimyasal

özelliklere benzer maddeler için kontrollü salım sistemleri olarak kullanılabileceklerini göstermişlerdir.⁷⁴ Başka bir çalışmada, linezolid yüklü LPHNP'lerin serbest linezolidle kıyasla daha yüksek antibiyofilm aktivitesi sergilediği ortaya konmuştur. Bu nanopartikül sistemleri, hem hücre içi hem de biyofilm içinde yerleşik metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) bakterilerini elimine etmede serbest linezolidten anlamlı şekilde daha etkilidir. Bu bulgular, özellikle osteomyelit tedavisinde nüks riskinin azaltılması açısından linezolid yüklü LPHNP'leri umut vadeden bir terapötik alternatif olarak öne çıkarmaktadır.⁷⁵

LPHNP sistemlerinin sınırlılıkları ve zorlukları

LPHNP sistemleri, ilaç taşıma alanında çeşitli avantajlar sunmakla birlikte, klinik uygulamaya geçişlerini zorlaştıran birtakım teknik, yapısal ve biyolojik sınırlamalara sahiptirler. Karmaşık ve çok bileşenli yapıları, üretim süreçlerinde tekrarlanabilirliği ve kalite standartlarını sağlama açısından zorluk yaratır; bu nedenle kapsamlı karakterizasyon tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Formülasyon parametrelerinin (örneğin, polimer/lipit oranı, partikül boyutu, yüzey özellikleri) hassas kontrolü terapötik etkinlik açısından kritik öneme sahiptir. Çevresel faktörlere duyarlılık, uzun vadeli stabiliteyi tehdit ederek partikül agregasyonu ve etkinlik kaybı gibi sorunlara yol açabilir. Endüstriyel ölçekleme aşamasında ise laboratuvar ortamında elde edilen homojen yapının korunması, üretim verimliliği ve maliyet açısından teknik engeller oluşturur.⁷⁶

Biyolojik yönden, LPHNP sistemlerinin hedef bölgelere seçici ve homojen dağılımı henüz ideal düzeyde değildir. Yüzey modifikasyonlarıyla bu hedefleme geliştirilmeye çalışılsa da, biyodağılım kontrolü ve hedef dışı etkilerin önlenmesi halen sınırlı kalmaktadır.⁷⁷

Hazırlama yöntemlerinin karşılaştırılması

LPHNP hazırlama yöntemleri, 'iki basamaklı yöntem' ve 'tek basamaklı yöntem' olmak üzere iki ana başlığa ayrılmaktadır. Hazırlama yöntemine bağlı olarak nanopartikülün boyutu, PDI'si ve şekli gibi birçok özelliği değişeceği için doğru tekniğin seçimi oldukça önemlidir.¹¹

İki basamaklı yöntemler, konvansiyonel ve konvansiyonel olmayan olarak iki başlığa ayrılmaktadır, LPHNP'lerin geliştirildiği ilk yıllarda hazırlamada en sık kullanılan yöntemdir. Ancak hazırlama aşamasının uzun sürmesi, suda çözünen

ilaçlarda gözlenen düşük yükleme kapasitesi gibi dezavantajlarından dolayı günümüzde yerini farklı hazırlama yöntemleri almıştır.² Ayrıca konvansiyonel iki basamaklı yöntemin önemli dezavantajları; etken maddenin lipit kabuk oluşmadan önce, sistemin çekirdeğinden su fazına diffüze olması²⁵ ve polimerik çekirdeğin lipit veziküller ile tam kaplanamamasıdır.⁴ Konvansiyonel olmayan iki basamaklı yöntemin önemli dezavantajları ise polimerin ve lipidin ayrı hazırlanmasından kaynaklı teknik sorunlar ve düşük imalat/üretim verimidir.²⁷

Tek basamaklı hazırlama yöntemleri, zamandan ve enerjiden tasarruf edebilmek amacıyla ortaya çıkmıştır.² Kısa hazırlama süresi, yüksek tekrarlanabilirlik, partikül boyutu ve PDI kontrol altına alınarak tek tip nanopartikül üretimine imkân vermesi yöntemin avantajlarıdır.⁸ Tek basamaklı yöntemlerin de kendi içerisinde avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Modifiye nanoçöktürme yöntemi, LPHNP üretiminde kullanılan, kolay, hızlı, tekrarlanabilir, ölçek büyütme uygun, monodispers nanopartiküllerin elde edildiği bir yöntemdir.^{11,28,29} Fakat hidrofilik ilaçları yükleme kapasitesinin düşük olması ve organik çözücünün tamamen uçurulamaması halinde toksisite gözlenmesi sebebi ile çok elverişli değildir.^{2,11} Diğer bir yöntem olan modifiye emülsiyon-çözücü uçurma yöntemi; üretim kolaylığı, hem hidrofilik hem de hidrofobik etkin maddelerin yüklenebilmesi, partikül boyutunun kontrol edilebilmesi ve biyoaktif moleküllerin kolayca hapsedilebilmesi gibi avantajlara sahiptir. Bununla birlikte, polidispers kolloidlerin oluşması ve biyomakro moleküllerin kararsızlığı yöntemin kullanımını kısıtlayan faktörlerdir.¹¹

Hazırlama esnasında karşılaşılan sorunların üstesinden gelebilmek için yeni hazırlama yöntemleri ortaya çıkmıştır. Mikro-akışkan nanoçöktürme yöntemi sayesinde boyut, rijidite, şekil, yapı ve yüzey modifikasyonu hassas bir şekilde kontrol altına alınabilmektedir.⁷⁸ LPHNP üretiminde esas kullanım amacı boyut homojenliğini iyileştirmektir.⁷ Çok girişli vorteks mikoreaktör yöntemi, LPHNP'lerin yüksek verimle üretimi için kullanılmaktadır.⁷ Tek adımlı sonikasyon yöntemi ise çok kısa zamanda (dakikalar içerisinde) kontrol edilebilir ve tekdüze parçacık boyutuna sahip LPHNP hazırlamak için geliştirilmiştir.⁴⁹

2025 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada, aynı bileşenler ve oranlar kullanılarak hem tek basamaklı

nanoçöktürme yöntemiyle hem de mikroakışkan tekniği ile LPHNP'ler hazırlanmış ve bu iki üretim yönteminin performansı karşılaştırılmıştır. Her iki üretim tekniğinde de sırasıyla optimum boyuta (150-180 nm), PDI'ye (0,23-0,24) ve pozitif zeta potansiyeline (29-32 mV) sahip LPHNP'ler elde edilmiştir. Her iki yöntemle üretilen LPHNP'lerin fizikokimyasal özellikleri, kararlılıkları ve salım profilleri benzer bulunmuştur. Bununla birlikte hücrel alım çalışmaları, nanoçöktürme tekniğiyle hazırlanan LPHNP'lerin serbest etkin maddeye göre 12 kat, mikroakışkan teknikle hazırlananların ise 6 kat daha yüksek alım sağladığını göstermiştir. Her iki üretim yöntemiyle elde edilen LPHNP'lerin etkin maddeyi terapötik olarak taşıma verimliliği, yonteme bağlı olmaksızın yüksek bulunmuş (%60–70); bu da her iki yaklaşımın biyolojik açıdan işlevsel olduğunu ortaya koymuştur.⁴⁰

LPHNP'lerin sahip olması gereken özelliklerin önemi

Nano boyutlu yapıların karakterizasyonu, *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda istenilen davranışların kontrolü açısından oldukça önemlidir. Nanopartiküllerin boyutu, boyut dağılımı ve zeta potansiyeli stabilitesini etkilemektedir. Ayrıca partikül boyutu ile etkin maddenin salım hızı arasında bir ilişki vardır; nanopartiküllerde boyut küçük olduğu için salım hızlıdır. Morfolojik görüntüleme sayesinde hazırlanan nanopartikülün şekil ve yüzey özellikleri (boyut, porozite, yüzey modifikasyonu gibi) analiz edilir. Çünkü bu özellikler nanopartikülün *in vitro* ve *in vivo* davranışını etkilemektedir. İlaç yükleme kapasitesi ve etkin madde salım çalışmaları, geliştirilen nanopartikülün *in vivo* etkinliğinin tahmin edilmesinde önemli parametrelerdir.⁵⁰

Yalcin ve arkadaşları meme kanseri tedavisinde kullanılan Gemko® (gemsitabin yüklü, intravenöz enjeksiyon için liyofilize toz içeren flakon) ve gemsitabin yüklü LPHNP'lerin karşılaştırıldığı bir çalışma yapmışlardır. Hazırlanan LPHNP'ler 200 nm partikül boyutu, düşük PDI (0.2), iyi enkapsülasyon etkinliği (%45) ve –18 mV zeta potansiyeline sahiptir. Ayrıca dış yüzeyinde PEG tabaka bulunmaktadır ve Gemko® ile kıyasla 4.2 kat yavaş ve sürekli salım göstermiştir. LPHNP'ler, sahip oldukları bu özellikler sayesinde *in vivo* farmakokinetik çalışmalarda piyasa ürününe (Gemko®) göre daha yüksek tedavi etkinliği ve daha düşük toksisite ve yan etki göstermiştir.

Böylece LPHNP'lerin meme kanseri tedavisinde iyi bir seçenek olabileceği gösterilmiştir.⁷⁹

Yapılan başka bir çalışmada, LPHNP üretiminde kullanılan lipid/polimer oranı ile lipid kabuk yapısında yer alan PEG miktarının, elde edilen partiküllerin boyutunu doğrudan etkilediği yönünde bulgular elde edilmiştir. Lipit olarak soya fosfatidilkolini ve polimer olarak PLGA'nın kullanıldığı çalışmada en yüksek partikül boyutu (275 nm), yüksek lipit/polimer kütle oranı (%30) ve yüksek DSPE-PEG miktarı (15 mg) ile elde edilmiştir. En düşük partikül boyutu ise (185 nm) düşük PLGA 50:50/PLGA 65:35 kütle oranı, düşük lipit/polimer kütle oranı ve düşük DSPE-PEG miktarının birleşimine sahip formülasyonda elde edilmiştir. En düşük partikül boyutunun, polimerik çekirdeğin yüzeyinde yer alan ince lipit ve DSPE-PEG tabakalarının varlığıyla ilişkili olabileceği öne sürülmektedir.⁶³

PEG zincir uzunluğunun stabiliteye etkisinin incelenmesi için yapılan bir çalışmada ise kısa PEG zincir uzunluğuna (n-16) sahip LPHNP'lerin lipit kabuk kalınlığı 2.4 nm olarak ölçülmüş ve bu değer için stabil bir formülasyon için yeterli olmadığı bulunmuştur. Daha uzun PEG zincirlerine (n-113) sahip LPHNP'lerin lipit kabuk kalınlığı ise 9.8 nm olarak ölçülmüş ve aynı zamanda düşük partikül boyutu ve PDI'ye sahip bu nanopartiküllerin stabil olduğu gösterilmiştir.⁸⁰

SONUÇ

Yürütülen bu derleme çalışmasında lipid-polimer hibrit nanopartiküller, ilaç taşıma sistemleri açısından sahip oldukları yapısal avantajları ve farmasötik potansiyelleri doğrultusunda değerlendirilmiştir. LPHNP'ler, lipozomların biyoyumluluğunu ve polimerik nanopartiküllerin stabilitesini bir araya getiren çekirdek–kabuk düzenine sahip nanotaşıyıcı sistemlerdir. Literatürdeki bulgular, bu sistemlerin hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçları etkin şekilde taşıyabildiğini, kontrollü salım sağladığını ve yüzey modifikasyonuna olanak verdiğini göstermektedir. Özellikle polimer çekirdek–lipit kabuk yapısına sahip formülasyonlar, yüksek stabilite ve hedefleme kapasitesi bakımından öne çıkmaktadır. Karakterizasyon parametrelerinin (partikül boyutu, PDI, zeta potansiyeli, kabuk kalınlığı) stabilite ve biyolojik performans üzerinde belirleyici olduğu ortaya konmuştur. Ancak piyasada henüz onaylanmış bir LPHNP ürünü bulunmamakla birlikte, mevcut bilimsel

veriler bu sistemin gelecekte klinik uygulamalarda umut vadeden bir terapötik araç olabileceğini göstermektedir.

Yazarlık katkı beyanı

Konsept ve dizayn: ÖÇ, NS, ENK.

Verilerin eldesinde: NS, ENK.

Verilerin analizinde ve yorumlanmasında: NS, ENK, ÖÇ.

Makale yazımında: NS, ENK, ÖÇ.

Makale revizyonu ve entelektüel katkı: NS, ENK, ÖÇ.

Gözetiminde: NS, ÖÇ.

Yazar çıkar çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Etik onay

Bu çalışma için etik kurul onayı gerekmemektedir.

Veri ve materyallerin mevcudiyeti

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler bu yayınlanan makaleye dahil edilmiştir.

Destek

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Sevinç-Özakar R. Daidzein yüklü nanopartiküler sistemlerin hazırlanması ve in vitro olarak değerlendirilmesi [Doktora tezi]. Erzurum, Türkiye: Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2015.
2. Yalçın TE. Lipit polimer hibrit nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi ve değerlendirilmesi [Doktora tezi]. Ankara, Türkiye: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2017.
3. Richards DA, Maruani A, Chudasama V. Antibody fragments as nanoparticle targeting ligands: a step in the right direction. *Chem Sci*. 2017;8(1):63-77.
4. Sengel-Türk CT, Gumustas M, Uslu B, Ozkan SA. A novel approach for drug targeting: core-shell type lipid-polymer hybrid nanocarriers. In: Mozafari MR, ed. *Design of Nanostructures for Theranostics Applications*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2018:69-107.
5. Lee MK. Liposomes for enhanced bioavailability of water-insoluble drugs: in vivo evidence and recent approaches. *Pharmaceutics*. 2020;12(3):264.
6. Müderrisoğlu AE, Çomoğlu T. İlaç taşıyıcı polimerik partiküler sistem formülasyonlarına genel bakış. *Ankara Üniv Eczac Fak Derg*. 2010;39(4):343-368.
7. Hadinoto K, Sundaresan A, Cheow WS. Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a new generation therapeutic delivery platform: a review. *Eur J Pharm Biopharm*. 2013;85:427-443.
8. Tahir N, Haseeb MT, Madni A, et al. Lipid polymer hybrid nanoparticles: a novel approach for drug delivery. In: *Role of novel drug delivery vehicles in nanobiomedicine* [Internet]. London: IntechOpen; 2020. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/72574>
9. Wong HL, Bendayan R, Rauth AM, Wu XY. Development of solid lipid nanoparticles containing ionically-complexed chemotherapeutic drugs and chemosensitizers. *J Pharm Sci*. 2004;93:1993-2004.
10. Mohanty A, Uthaman S, Park IK. Utilization of polymer-lipid hybrid nanoparticles for targeted anti-cancer therapy. *Molecules*. 2020;25(19):4377.
11. Ghitman J, Biru EI, Stan R, Iovu H. Review of hybrid PLGA nanoparticles: future of smart drug delivery and theranostics medicine. *Mater Des*. 2020;193:108805.
12. Garg NK, Tandel N, Jadon RS, Tyagi RK, Katore OP. Lipid-polymer hybrid nanocarrier-mediated cancer therapeutics: current status and future directions. *Drug Discov Today*. 2018;23(9):1610-1621.
13. Dave V, Tak K, Sohagura H, Gupta A, Sadhu V, Reddy KR. Lipid polymer hybrid nanoparticles: synthesis strategies and biomedical applications. *J Microbiol Methods*. 2019;160:130-142.
14. Chaudhary Z, Ahmed N, Rehman A, Khan GM. Lipid polymer hybrid carrier systems for cancer targeting: a review. *Int J Polym Mater Polym Biomater*. 2017;67(2):86-100.
15. Zhao X, Li F, Li Y, et al. Co-delivery of HIF-1 α si-RNA and gemcitabine via biocompatible lipid-polymer hybrid nanoparticles for effective treatment of pancreatic cancer. *Biomaterials*. 2015;46:13-25.
16. Zhang RX, Ahmed T, Li LY, Li J, Abbasi AZ, Wu XY. Design of nanocarriers for nanoscale drug delivery to enhance cancer treatment using hybrid polymer and lipid building blocks. *Nanoscale*. 2017;9(4):1334-1355.
17. Aoki I, Yoneyama M, Hirose J, et al. Thermo-activatable polymer-grafted liposomes for low-invasive image-guided chemotherapy. *Transl Res*. 2015;166(6):660-673.
18. Date T, Nimbalkar V, Kamat J, Mittal A, Mahato RI, Chitkara D. Lipid-polymer hybrid nanocarriers for delivering cancer therapeutics. *J Control Release*. 2018;271:60-73.
19. Shi J, Xiao Z, Votruba AR, Vilos C, Farokhzad OC. Differentially charged hollow core/shell lipid-polymer-lipid hybrid nanoparticles for small interfering RNA delivery. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2011;50:7027-7031.
20. Hu CM, Zhang L, Aryal S, Cheung C, Fang RH, Zhang L. Erythrocyte membrane-camouflaged polymeric nanoparticles as a biomimetic delivery platform. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:10980-10985.
21. Cai J, Huang H, Song W, et al. Preparation and evaluation of lipid polymer nanoparticles for eradicating *H. pylori* biofilm and impairing antibacterial resistance in vitro. *Int J Pharm*. 2015;495:728-737.
22. Mukherjee A, Waters AK, Kalyan P, Achrol AS, Kesari S, Yenugonda VM. Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a next-generation drug delivery platform: state of the art,

- emerging technologies, and perspectives. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:1937-1952.
23. Troutier AL, Delair T, Pichot C, Ladavière C. Physicochemical and interfacial investigation of lipid/polymer particle assemblies. *Langmuir*. 2005;21:1305-1313.
 24. Singh AP, Rathour NK, Mishra S. A comprehensive review on polymer-lipid hybrid nanoparticles. *Int J Pharm Sci*. 2025;3(3):1388-1403.
 25. Cheow WS, Hadinoto K. Factors affecting drug encapsulation and stability of lipid-polymer hybrid nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2011;85:214-220.
 26. Hasan W, Chu K, Gullapalli A, et al. Delivery of multiple siRNAs using lipid-coated PLGA nanoparticles for treatment of prostate cancer. *Nano Lett*. 2012;12(1):287-292.
 27. Mandal B, Bhattacharjee H, Mittal N, et al. Core-shell-type lipid-polymer hybrid nanoparticles as a drug delivery platform. *Nanomedicine*. 2013;9:474-491.
 28. Li Q, Cai T, Huang Y, Xia X, Cole SPC, Cai Y. A Review of the structure, preparation, and application of NLCs, PNP, and PLNs. *Nanomaterials (Basel)*. 2017;7(6):122.
 29. Zhang L, Chan JM, Gu FX, et al. Self-assembled lipid-polymer hybrid nanoparticles: a robust drug delivery platform. *ACS Nano*. 2008;2:1696-1702.
 30. Zhao P, Wang H, Yu M, et al. Paclitaxel-loaded folic acid targeted nanoparticles of mixed lipid-shell and polymer-core: in vitro and in vivo evaluation. *Eur J Pharm Biopharm*. 2012;81:248-256.
 31. Garg NK, Singh B, Sharma G, et al. Development and characterization of single step self-assembled lipid polymer hybrid nanoparticles for effective delivery of methotrexate. *RSC Adv*. 2015;5:62989-62999.
 32. Liu Y, Li K, Pan J, Liu B, Feng SS. Folic acid-conjugated nanoparticles of mixed lipid monolayer shell and biodegradable polymer core for targeted delivery of docetaxel. *Biomaterials*. 2010;31:330-338.
 33. Zhao Y, Lin D, Wu F, et al. Discovery and in vivo evaluation of novel RGD-modified lipid-polymer hybrid nanoparticles for targeted drug delivery. *Int J Mol Sci*. 2014;15:17565-17576.
 34. Yousaf R, Khan MI, Akhtar MF, et al. Development and in-vitro evaluation of chitosan and glyceryl monostearate-based matrix lipid polymer hybrid nanoparticles (LPHNPs) for oral delivery of itraconazole. *Heliyon*. 2023;9(3):e14817.
 35. Jadon RS, Sharma G, Garg NK, et al. Efficient in vitro and in vivo docetaxel delivery mediated by pH-sensitive LPHNPs for effective breast cancer therapy. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2021;203:111760.
 36. Rajana N, Chary PS, Bhavana V, et al. Targeted delivery and apoptosis induction of CDK-4/6 inhibitor loaded folic acid decorated lipid-polymer hybrid nanoparticles in breast cancer cells. *Int J Pharm*. 2024;651:123787.
 37. Patel M, Karampuri S, Kansara V, Vyas B. Inhalable dry powder containing lipid polymer hybrid nanoparticles of nintedanib esylate: in vitro and in vivo evaluations. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2023;86:104716.
 38. Carvalho IPS, Silva LB, do Amaral RLF, et al. Evaluation of in vivo and in vitro efficacy of solasonine/solamargine-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles against bladder cancer. *Int J Pharm*. 2024;661:124411.
 39. Yang Q, Zhou Y, Chen J, Huang N, Wang Z, Cheng Y. Gene therapy for drug-resistant glioblastoma via lipid-polymer hybrid nanoparticles combined with focused ultrasound. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:185-199.
 40. González-García D, Tapia O, Évora C, García-García P, Delgado A. Conventional and microfluidic methods: design and optimization of lipid-polymeric hybrid nanoparticles for gene therapy. *Drug Deliv Transl Res*. 2025;15:908-924.
 41. Jangde R, Elhassan GO, Khute S, et al. Hesperidin-Loaded Lipid Polymer Hybrid Nanoparticles for Topical Delivery of Bioactive Drugs. *Pharmaceutics (Basel)*. 2022;15(2):211.
 42. Gurny R, Peppas N, Harrington D, Banker G. Development of biodegradable and injectable latices for controlled release of potent drugs. *Drug Dev Ind Pharm*. 1981;7:1-25.
 43. Bochicchio S, Lamberti G, Barba AA. Polymer-Lipid Pharmaceutical Nanocarriers: Innovations by New Formulations and Production Technologies. *Pharmaceutics*. 2021; 13(2):198.
 44. Valencia PM, Basto PA, Zhang L, et al. Single-step assembly of homogenous lipid-polymeric and lipid-quantum dot nanoparticles enabled by microfluidic rapid mixing. *ACS Nano*. 2010;4(3):1671-1679.
 45. Wan F, Kłodzinska SN, Jumaa H, et al. Ultrasmall TPGS-PLGA hybrid nanoparticles for site-specific delivery of antibiotics into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in lungs. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2020;12:380-389.
 46. Kim Y, Lee Chung B, Ma M, et al. Mass Production and Size Control of Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles through Controlled Microvortices. *Nano Letters*. 2012;12:3587-3591.
 47. Fang RH, Chen KNH, Aryal S, Hu CMJ, Zhang K, Zhang L. Large scale synthesis of lipid-polymer hybrid nanoparticles using a multi-inlet vortex reactor. *Langmuir*. 2012;28:13824-13829.
 48. Bokare A, Takami A, Kim JH, et al. Herringbone-patterned 3D-printed devices as alternatives to microfluidics for reproducible production of lipid polymer hybrid nanoparticles. *ACS Omega*. 2019;4(3):4650-4657.
 49. Fang RH, Aryal S, Hu CMJ, Zhang L. Quick synthesis of lipid-polymer hybrid nanoparticles with low polydispersity using a single-step sonication method. *Langmuir*. 2010;26(22):16958-16962.
 50. Jain A, Gautam L, Vishwakarma N, et al. Emergence of polymer-lipid hybrid systems in healthcare scenario. In: Tekade RK, ed. *Multifunctional Nanocarriers for Contemporary Healthcare Applications*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2020:448-470.
 51. Zhang LI, Zhang L. Lipid-polymer hybrid nanoparticles: synthesis, characterization and applications. *Nano Life*. 2010;1:163-173.
 52. Perrault SD, Walkey C, Jennings T, Fischer HC, Chan WC. Mediating tumor targeting efficiency of nanoparticles through design. *Nano Lett*. 2009;9:1909-1915.
 53. Raval N, Maheshwari R, Kalyane D, et al. Importance of physicochemical characterization of nanoparticles in pharmaceutical product development. In: Tekade RK, ed.

- Basic Fundamentals of Drug Delivery. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2019:369-400.
54. Özkahraman B, Acar I, Gök MK, Güçlü G. Poli(N-Vinilkaprolaktam) mikrojellerinin sentez şartlarının optimizasyonu. *Afyon Kocatepe Univ Fen Bilim Derg.* 2014;14:13-21.
 55. Men W, Zhu P, Dong S, et al. Fabrication of dual pH/redox-responsive lipid-polymer hybrid nanoparticles for anticancer drug delivery and controlled release. *Int J Nanomedicine.* 2019;14:8001-8011.
 56. Elkateb H, Tatham LM, Cauldbeck H, Niezabitowska E, Owen A, Rannard S, McDonald T. Optimization of the synthetic parameters of lipid polymer hybrid nanoparticles dual loaded with darunavir and ritonavir for the treatment of HIV. *Int J Pharm.* 2020;588:119794.
 57. Khan MM, Madni A, Filipczak N, et al. Folate-targeted lipid chitosan hybrid nanoparticles for enhanced anti-tumor efficacy. *Nanomedicine.* 2020;28:102228.
 58. Jaglal Y, Osman N, Omolo CA, Mocktar C, Devnarain N, Govender T. Formulation of pH-responsive lipid-polymer hybrid nanoparticles for co-delivery and enhancement of the antibacterial activity of vancomycin and 18 β -glycyrrhetic acid. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2021;64:102607.
 59. Tahir N, Madni A, Li W, et al. Microfluidic fabrication and characterization of sorafenib-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles for controlled drug delivery. *Int J Pharm.* 2020;581:119275.
 60. Sengel-Turk CT, Alcigir ME, Ekim O, Bakar-Ates F, Hascicek C. Clinicopathological and immunohistochemical evaluation of lonidamine-entrapped lipid-polymer hybrid nanoparticles in treatment of benign prostatic hyperplasia: an experimental rat model. *Eur J Pharm Biopharm.* 2020;157:211-220.
 61. Sengel-Turk CT, Hascicek C. Design of lipid-polymer hybrid nanoparticles for therapy of BPH: Part I. Formulation optimization using a design of experiment approach. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2017;39:16-27.
 62. Ramasamy T, Tran TH, Choi JY, et al. Layer-by-layer coated lipid-polymer hybrid nanoparticles designed for use in anticancer drug delivery. *Carbohydr Polym.* 2014;102:653-661.
 63. Yalcin TE, Ilbasimis-Tamer S, Takka S. Development and characterization of gemcitabine hydrochloride loaded lipid polymer hybrid nanoparticles (LPHNs) using central composite design. *Int J Pharm.* 2018;548(1):255-262.
 64. Wang J. Combination Treatment of Cervical Cancer Using Folate-Decorated, pH-Sensitive, Carboplatin and Paclitaxel Co-Loaded Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles. *Drug Des Devel Ther.* 2020;14:823-832.
 65. Varenne F, Botton J, Merlet C, et al. Standardization and validation of a protocol of zeta potential measurements by electrophoretic light scattering for nanomaterial characterization. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2015;486:218-231.
 66. Salminen H, Helgason T, Kristinsson B, Kristbergsson K, Weiss J. Tuning of shell thickness of solid lipid particles impacts the chemical stability of encapsulated omega-3 fish oil. *J Colloid Interface Sci.* 2017;490:207-216.
 67. Chen Y, Deng Y, Zhu C, Xian GC. Anti prostate cancer therapy: aptamer functionalized, curcumin and cabazitaxel co-delivered, tumor targeted lipid-polymer hybrid nanoparticles. *Biomed Pharmacother.* 2020;127:110181.
 68. Tahir N, Madni N, Balasubramanian V, Rehman M, Correia A, Kashif PM. Development and optimization of methotrexate-loaded lipid-polymer hybrid nanoparticles for controlled drug delivery applications. *Int J Pharm.* 2017;533:156-168.
 69. Cho EJ, Holback H, Liu KC, Abouelmagd SA, Park J, Yeo Y. Nanoparticle characterization: state of the art, challenges, and emerging technologies. *Mol Pharm.* 2013;10(6):2093-2110.
 70. Meyer RA, Hussmann GP, Peterson NC, Santos JL, Tuesca AD. A scalable and robust cationic lipid/polymer hybrid nanoparticle platform for mRNA delivery. *Int J Pharm.* 2022;611:121314.
 71. Barenholz YC. Doxil®—the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J Control Release.* 2012;160:117-134.
 72. Farah FH. Nanocarriers as delivery systems for therapeutics agents. *Int J Pharm Sci Res.* 2019;10(8):1000-1022.
 73. Bharali DJ, Siddiqui IA, Adhami VM, et al. Nanoparticle delivery of natural products in the prevention and treatment of cancers: current status and future prospects. *Cancers (Basel).* 2011;3:4024-4045.
 74. Scopel R, Falcão MA, Cappellari AR, et al. Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a targeted drug delivery system for melanoma treatment. *Int J Polym Mater Polym Biomater.* 2020;71:127-138.
 75. Guo P, Buttar BA, Xue HY, Tran NT, Wong HL. Lipid-polymer hybrid nanoparticles carrying linezolid improve treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) harbored inside bone cells and biofilms. *Eur J Pharm Biopharm.* 2020;151:189-198.
 76. Ottonelli I, Baraldi C, Ruozi B, Vandelli MA, Tosi G, Duskey JT. Advantages and challenges of polymer-lipid hybrid nanoparticles for the delivery of biotech drugs. *Nanomedicine.* 2025;20(7):641-643.
 77. Rahat I, Yadav P, Singhal A, et al. Polymer lipid hybrid nanoparticles for phytochemical delivery: challenges, progress, and future prospects. *Beilstein J Nanotechnol.* 2024;15:1473-1497.
 78. Zhang L, Chen Q, Ma Y, Sun J. Microfluidic methods for fabrication and engineering of nanoparticle drug delivery systems. *ACS Appl Bio Mater.* 2020;3(1):107-120.
 79. Yalcin TE, Ilbasimis-Tamer S, Takka S. Antitumor activity of gemcitabine hydrochloride loaded lipid polymer hybrid nanoparticles (LPHNs): In vitro and in vivo. *Int J Pharm.* 2020;580:119246.
 80. Thevenot J, Troutier A, David L, Delair T, Ladavière C. Steric stabilization of lipid/polymer particle assemblies by poly(ethylene glycol)-lipids. *Biomacromolecules.* 2007;8(11):3651-3660.
- To Cite:** Saylam N, Kose EN, Coban O. Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles: Current Insight into Their Properties, Preparation Methods and Characterization. *Farabi Med J.* 2025;4(3):94-111.