

# FEN BİLİMLERİNDE YENİ YAKLAŞIMLAR

EDİTÖR

Dr. Didem CORAL ŞAHİN

YAZARLAR

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Dr. Öğr. Üyesi Adile AKPINAR

Dr. Meliha KOLDEMİR GÜNDÜZ

Dr. Nazlı Pınar ARSLAN

Dr. Pınar DEMİR

Dr. Sadettin ÇELİK

Dr. Mustafa TUNÇSOY

Dr. Servet DURAN

Meryem DOYMUŞ



İKSAD  
Publishing House

# FEN BİLİMLERİNDE YENİ YAKLAŞIMLAR

## EDİTÖR

Dr. Didem CORAL ŞAHİN

## YAZARLAR

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Dr. Öğr. Üyesi Adile AKPINAR

Dr. Öğr. Üyesi Meliha KOLDEMİR GÜNDÜZ

Dr. Öğr. Üyesi Nazlı Pınar ARSLAN

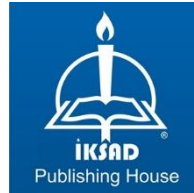
Dr. Pınar DEMİR

Dr. Sadettin ÇELİK

Dr. Mustafa TUNÇSOY

Dr. Servet DURAN

Meryem DOYMUŞ



Copyright © 2021 by iksad publishing house  
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced,  
distributed or transmitted in any form or by  
any means, including photocopying, recording or other electronic or  
mechanical methods, without the prior written permission of the publisher,  
except in the case of  
brief quotations embodied in critical reviews and certain other  
noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic  
Development and Social  
Researches Publications®  
(The Licence Number of Publisher: 2014/31220)  
TURKEY TR: +90 342 606 06 75  
USA: +1 631 685 0 853  
E mail: iksadyayinevi@gmail.com  
www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.  
Iksad Publications – 2021©

**ISBN: 978-625-8061-66-6**  
Cover Design: İbrahim KAYA  
December / 2021  
Ankara / Turkey  
Size = 16x24 cm

## **İÇİNDEKİLER**

### **EDİTÖRDEN / ÖNSÖZ**

*Dr. Didem CORAL ŞAHİN* .....1

### **BÖLÜM 1**

#### **AĞIR METALLER VE KADMİYUM (Cd)**

*Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN*

*Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN*.....3

### **BÖLÜM 2**

#### **3 BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRLERİNİN İLAÇ GELİŞTİRME SÜRECİNDEKİ YERİ**

*Dr. Öğr. Üyesi Meliha KOLDEMİR GÜNDÜZ*.....23

### **BÖLÜM 3**

#### **ATIK SULARDAN AĞIR METAL ADSORPSİYONUNDA KARBONHİDRAT BİYOPOLİMERLERİNİN KULLANIMININ İNCELENMESİ**

*Dr. Pınar DEMİR*.....43

### **BÖLÜM 4**

#### **HYALURONİK ASİT: HÜCRESEL SENTEZDEN TIBBİ VE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALARA**

*Dr. Öğr. Üyesi Nazlı Pınar ARSLAN*

*Meryem DOYMUŞ*.....85

## **BÖLÜM 5**

### **GENOTYPING BY SEQUENCING(GBS) YÖNTEMİ İLE PAMUKTA KURAKLIĞA DAYANIKLILIK İLE İLİŞKİLİ KANTİTATİF ÖZELLİKTEKİ LOKUSLARIN (QTL) BELİRLENMESİ**

*Dr. Sadettin ÇELİK*.....129

## **BÖLÜM 6**

### **ZEHİRDEN İLACA; AKREPLER**

*Dr. Öğr. Üyesi Adile AKPINAR*.....151

## **BÖLÜM 7**

### **BAKIR OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN *Clarias* gariepinus'DA METAL BİRİKİMİ VE KARACİĞER ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

*Dr. Mustafa TUNÇSOY, Dr. Servet DURAN* .....161

## **BÖLÜM 8**

### **ANTİOKSİDAN BİR VİTAMİN OLARAK ASKORBİK ASİT (C VİTAMİNİ)**

*Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN*

*Doç. Dr H. Turan AKKOYUN* .....181

## ÖN SÖZ

Bu kitabı yayına hazırlamaktaki amacımız, bilimin farklı alanlarında akademik çalışmaları ve bulguları bir araya getirerek bu çalışmalardan elde edilen sonuçların bilim dünyasına aktarmaktır. Böylece gelecekteki çalışmalara atıfta bulunarak yeni fikirlerin ortaya çıkarılmasına katkıda bulunmak hedeflenmiştir. Disiplinler arası alanlardaki çalışmalardan oluşan bu kitap öğrencilerin, akademisyenlerin, araştırmacıların gelişimine ve çalışmalarına katkı sağlayacağını düşünülmektedir. Bu titizlikle hazırladığımız kitabımızda emeği geçen tüm hocalarıma ve özenle hazırlanmış bu çalışmaları okuyuculara iletme fırsatı sunan ISPEC Yayın Ajansı ailesinin değerli yöneticilerine ve tüm çalışanlarına tüm kalbimle teşekkür ederim.

Dr. Didem CORAL ŞAHİN



## **BÖLÜM 1**

### **AĞIR METALLER VE KADMİYUM (Cd)**

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN<sup>1</sup>

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji ABD, Siirt, Türkiye,  
turanakkoyun@siirt.edu.tr

<sup>2</sup> Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD, Siirt, Türkiye,  
mahireakkoyun@siirt.edu.tr





# GİRİŞ

## 1.METALLER

Metaller, ekosistemde bulunan doğal bileşenlerdir. Katyonlar; oluşturmak için istemli olarak elektronlarını kaybeden, elektriksel iletkenliği yüksek maddelerdir. Metaller, atmosfer, yer kabuğu, su kütleleri dahil olmak üzere dünyanın her yerinde bulunur ve ayrıca bitkiler ve hayvanlar da dahil olmak üzere biyolojik organizmalarda birikebilir (Godwill ve ark., 2019). Biyolojik anlamda metaller; Esas elementler, Yan elementler ve İz elementler olmak üzere 3 grupta sınıflandırılırlar (Karadede, 2017).

## 2.AĞIR METALLER

Mevcut 35 doğal metal arasından 23'ü, atom ağırlığı 40.04'ten büyük olan  $5 \text{ g / cm}^3$ 'ün üzerinde yüksek özgül yoğunluğa sahiptirler ve bunlar genellikle ağır metal olarak adlandırılır (Godwill ve ark., 2019). Kontaminasyon, toksisite ve eko-toksisite ile ilgili metaller ya da yarı-metaller genellikle ağır metal olarak bilinmektedirler (Özpolat ve Tuli, 2016). Güncel anlamda ise yoğunluğu  $5 \text{ g/cm}^3$ 'den daha büyük olan, atom numarasına bakıldığında ise 20'den fazla olan toksik ve kirliliğe sebep olan metaller şeklinde tanımlanabilirler (Seven ve ark., 2018). Yukarıda belirttiğimiz gibi ağır metaller ile ilgili birçok ayrı tanımlama yapıldığı görülmektedir (Özpolat ve Tuli, 2016). Yoğunluğa göre yapılan tanımlarda; en düşük  $3.5 \text{ g/cm}^3$  den başlamak üzere  $7 \text{ g/cm}^3$  ve üzeri yoğunluğa sahip elementlerin ağır metal olduğunu belirten pek çok farklı ağır metal tanımı bulunmaktadır.

Atom ağırlığına göre yapılan tanımlarda ise; “atom ağırlığı sodyumdan büyük olanlar” veya “atom ağırlığı 40’dan büyük olan metaller ağır metaldir” şeklinde tanımlar bulunmaktadır. Atom numarasına göre yapılan tanımlarda ise; “atom numarası kalsiyumdan fazla olan metaller”, “atom numarası 20 den fazla olan metaller” ve “atom numarası 21 (skandiyum) ila 92 (uranyum) arasında olan metaller ağır metal olarak kabul edilmektedir” şeklinde tanımlar bulunmaktadır. Ağır metallerin skandiyumdan itibaren başladığını belirten tanımlar kabul edildiğinde ise, yoğunluğu  $3 \text{ g/cm}^3$  ’ün altında olan elementler de ağır metal kategorisine girmektedir (Duffus ve Howard, 2002; Doğru, 2007). Bu sebepten ötürü ağır metallerle ilgili net bir tanım bulunmamaktadır (Duffus ve Howard, 2002; Batır, 2014). Genel olarak değerlendirildiğinde; kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), krom (Cr), demir (Fe), kobalt (Co), bakır (Cu), nikel (Ni), cıva (Hg) ve çinko (Zn) gibi 60 dan fazla metaller ağır metal grubunda yer almaktadır (Kahvecioğlu ve ark., 2004; Özkan, 2009). Bahsedilen elementler genel olarak bakıldığında yeryüzünde karbonat, oksit, silikat ve sülfür halinde bileşikler olarak veya silikatlar içinde bulunurlar. İz element ve minerallerin insan sağlığını korumada oldukça önemli olduğu sıklıkla vurgulanmaktadır. Metabolizmada doku ve organlar arasındaki dengenin korunmasında temel görevlerinin olduğu açıktır (Sienko, 1983; Sarkar, 2002; Dökmeci ve Dökmeci, 2005; Selinus ve ark., 2005; Bakar ve Alper, 2009; Güven ve ark., 2009; Kahvecioğlu ve ark., 2009). Ağır metallerden bazıları vücuttaki çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal işlevler için gerekli olan temel besin maddeleridir ve eksiklikleri hastalıkları veya

sendromlarına neden olabilir (Godwill ve ark., 2019). Ağır metallerin ekosistemde dağılımları dikkate alındığında, doğal döngülerinden daha fazla insanların sebep olduğu etkilerden dolayı çevreye yayıldığı görülmektedir. ağır metallerin çevreye dahil olmalarındaki en önemli etkenler, demir çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleri, rafineri, ev aletleri üretimi ve tekstil endüstrisi öne çıkmaktadır (Market, 1993; Facchinelli ve ark., 2001; Altay, 2016). Yine ağır metal kirliliğinin kaynakları arasında fosil yakıtları, gübreler, pestisitler, evsel atıklar, metal içeren maden filizlerinin eritilmesi yani madencilik faaliyetleri ve atmosferik depozisyonudur. Ağır metaller atmosferde genel olarak partiküller halinde bulunurlar. Değişik kaynaklardan atmosfere salınan ağır metaller öncelikle toprağa ardından yüzey sularına ve yer altı sularına karışarak çevreye ciddi oranda zarar veririler. Çeşitli kaynaklardan atmosfere yayılan ağır metaller ve kaynakları Tablo 1 de gösterilmiştir (Market,1993; Shrivastav, 2001; Yazılan, 2010; Seven ve ark., 2018).

**Tablo 1.** Ağır Metal Kaynakları (Market,1993)

<b>1- ENDÜSTRİ KAYNAKLI</b>
Plastikler (Kobalt, Krom, Kadmiyum, Civa)
Ev aletleri yapım sanayi (Bakır, Nikel, Kadmiyum, Çinko, Antimon)
Tekstil (Çinko, Alüminyum, Titanyum, Kalay)
Ağaç işlemeciliği ( Bakır, Krom, Arsenik)
Rafineri (Kurşun, Nikel, Krom)
<b>2- PARTİKÜL VE DUMAN KAYNAKLI</b>
Fosil yakıtlar (Arsenik, Kurşun, Antimon, Selenyum, Çinko, Kadmiyum)
Metal işlemeciliği (Arsenik, Kadmiyum, Krom, Bakır, Manganez, Nikel,

Kurşun, Antimon, Titanyum, Çinko)
Şehir, fabrika vs. (Kadmiyum, Bakır, Kurşun, Kalay, Civa)
Taşıtlar ( Kurşun, Kadmiyum)
<b>3- TARIM KAYNAKLI</b>
Sulama (Kadmiyum, Kurşun, Çinko)
Gübreleme (As, Kadmiyum, Manganez, Çinko)
Pestisit uygulaması (Bakır, Manganez, Çinko)
Hayvansal gübreler (Arsenik, Bakır, Manganez, Çinko)
Kireçler (Arsenik, Kurşun)
Metal aşınması (Demir, Kurşun, Çinko)
<b>4- İŞLETMECİLİĞE BAĞLI ATIK KAYNAKLI</b>
Maden işlemlerinden rüzgarla çevreye yayılanlar (Kadmiyum, Civa, Kurşun, Arsenik)
Metallerin eritilmesinden (Arsenik, Kadmiyum, Civa, Kurşun, Selenyum)
Demir ve çelik endüstrisinden (Çinko, Bakır, Nikel, Krom, Kadmiyum)
Metal işleciliğinden ( Çinko, Bakır, Nikel, Krom, Kadmiyum)
<b>5- DİĞER ATIK KAYNAKLI</b>
Lağım (Kadmiyum, Krom, Bakır, Cıva, Manganez, Molibden, Nikel, Kurşun, Çinko)
Kazma ve delme (Kadmiyum, Demir, Kurşun)
Küller ( Bakır, Kurşun)

İnsan aktivitesi ve endüstri gibi farklı sebeplerle fazla miktarda ortaya çıkan ağır metaller normal şartlarda doğada serbest maden cevheri formunda bulunmaktadır. Endüstriyel hızın artması, kimyasal maddelerin üretim ve tüketimindeki artış, kuruluşlarda arıtma sistemlerinin yeterli olmaması, kirliliğin düzeyini yüksek boyutlara

çıkarmaktadır. Bu sebeple doğada hızla artan ağır metaller canlıların sağlığını olumsuz yönde etkilemekte ve çeşitli sağlık problemlerine sebep olmaktadır (Yılmaz, 1995;Yılmaz, 2002; Güner ve Kavlak, 2017). Yer kabuğunda bulunan ağır metallerin bazıları insan metabolizması için elzemdir ve çok küçük miktarlarda çeşitli yollar ile vücudumuza alınır. Bununla birlikte, yüksek düzeyde vücuda alınan ağır metaller akut veya kronik zehirlenmelere neden olabilirler (Kuzu,2010).

### **3.AĞIR METALLERİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ**

Biyolojik süreçlere katılma seviyelerine göre ağır metaller hayati ve hayati olmayan şekilde kategorize edilebilirler. Hayati olarak nitelendirilen, metallerin metabolizmada belli derişimlerde bulunmaları istenir ve biyolojik tepkimelere katıldıkları için düzenli olarak besinler yoluyla alınmalıdır. Hayati olmayan ağır metaller, çok küçük derişimlerde bile, sağlık problemlerine sebep olurlar (Duffus ve Howard, 1996; Babaei, 2015). Toprakta yüksek konsantrasyonlarda ağır metal alımı, besin zinciri etkileri dikkate alındığında büyük bir sağlık riskiyle sonuçlanabilir. Ağır metallerle kirlenmiş gıda mahsullerinin kullanılması, insanların maruz kalması için önemli bir gıda zinciri yoludur. İnceleme sistemi kapsamlı ve sürekli ekime dayalı olan gıda bitkileri, topraktan büyük bir element çıkarma kapasitesine sahiptir. Bu tür bitkilerin kirli toprakta yetiştirilmesi potansiyel bir risk teşkil etmektedir çünkü bitkisel dokular ağır metaller biriktirebilmektedir (Jordao ve ark., 2006; Singh ve Kalamdhad, 2011). Ağır metaller vücut tarafından metabolize

edilmediklerinde toksik hale gelmekte ve yumuşak dokularda birirmektedir (Sobha ve ark., 2007). Toksik metallerin kronik düzeyde yutulması, insanlar üzerinde istenmeyen etkilere sahiptir ve buna bağlı zararlı etkiler ancak birkaç yıl maruz kaldıktan sonra algılanabilir hale gelir (Khan ve ark., 2008). Ağır metallere, doğal suların kalitesini dūřürmenin yanı sıra insanlarda sinir sistemini, bōbrekleri, karaciğeri ve solunum fonksiyonlarını etkileyen ciddi sağlık sorunlarına da neden olabilirler (Li ve ark., 2014; Godwill ve ark., 2019). İnsanlar ve hayvanlar, farklı yollardan ağır metallere ve eser elementlere maruz kalabilir (Duruibe ve ark., 2007; Hejna ve ark., 2018). Metaller, toz veya duman olarak solunabilir. Bazı metallerin buharları ve solunabilir. Metaller ayrıca istemsiz olarak yiyecek ve iğecek yoluyla da alınabilir. Sindirim sisteminden geręekten emilen miktar, metalin kimyasal formuna bireyin yaşına ve beslenme durumuna bağlı olarak bōyuk ölçüde değişebilir. Bir metal emildikten sonra dokulara ve organlara dağılır. Atılım tipik olarak öncelikle bōbrekler ve sindirim sistemi yoluyla geręekleşir, ancak metaller karaciğer, kemikler ve bōbrekler gibi bazı depolama alanlarında yıllarca veya on yıllarca kalma eğilimindedir (Howard, 2002).

**Tablo 2.** Sağlık Etkilerinin Özelliklerine Göre Metallerin Sınıflandırılması (Robert ve ark., 2004).

Beslenme Açısından Gerekli Metaller	Muhtemel Faydalı Etkilere Sahip Metaller	Yararlı Etkileri Bilinmeyen Metaller
Kobalt	Bor	Alüminyum
Krom	Nikel	Antimon
Bakır	Slikon	Arsenik
Demir	Vanadyum	Baryum
Manganez		Berilyum
Molibden		Kadmiyum
Selenyum		Kurşun
Çinko		Cıva

#### 4.KADMİYUM

Atom numarası 48, atom ağırlığı 112.411 g/mol, erime ve kaynama noktası sırasıyla 321°C ve 765 °C, yoğunluğu 7.86 g/cm<sup>3</sup> olan gümüş beyazlığında olan kadmiyum periyodik tabloda 2B grubunda yer alan ağır metaldir. Kokusu ve tadı yoktur fakat oldukça zehirlidir. Cd'nin sekiz kararlı izotopu vardır: <sup>106</sup> Kadmiyum, <sup>108</sup> Kadmiyum, <sup>110</sup> Kadmiyum, <sup>111</sup> Kadmiyum, <sup>112</sup> Kadmiyum, <sup>113</sup> Kadmiyum, <sup>114</sup> Kadmiyum ve <sup>116</sup> Kadmiyum. En yaygın izotoplar <sup>112</sup> Cd ve <sup>114</sup> Cd'dir (Adriano, 2001; Bradl, 2005; Sönmezay, 2011; İpek, 2014). Kadmiyum (Cd), arsenik, kurşun, cıva ve kromun yanı sıra, fizyolojik bir işlevi olmayan ve genellikle toksik olarak kabul edilen ağır bir metaldir (Sinicropi ve ark., 2010a; Sinicropi ve ark., 2010b; Carocci ve ark., 2014; Carocci ve ark., 2016; Genchi 2017; Friberg ve ark.,



2019; Genchi ve ark., 2020). Kadmiyum ayrıca çeşitli karmaşık organik aminler, kükürt kompleksi, kloro kompleksleri ve şelatlar oluşturur. Cd iyonları karbonatlar, arsenatlar, fosfatlar ve ferrosiyanyür bileşiklerinin çözümlü tuzlarını oluşturur. Çinko üretimine eşlik eden farklı ticari şekillerde üretilebilir. Elektro kaplamada ve pigment üretiminde alaşım olarak, aynı şekilde polivinil plastik için stabilizatör olarak ve pillerde kullanılır (Cobb, 2008; Adriano, 2001). Doğal olarak bulunan kadmiyum insan sağlığı için ciddi bir risk faktörüdür. Cd, endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır (Bayramoğlu Akkoyun ve ark., 2018). Kadmiyum (Cd), çok küçük miktarlarda bile insanlar ve hayvanlar için çok toksik olan ciddi bir çevre kirleticisidir (Akkoyun ve ark., 2018). İçme sularında bulunan kadmiyum düzeyi 0,005 mg/L'den fazla olmamalıdır. Günlük tüketim ürünleri ile yaklaşık olarak 180–200 µg kadmiyum alındığı bildirilmektedir (Vural,1984; Koizumi ve Waalkes, 1989). Vücuda sindirim yoluyla giren kadmiyumun çoğu karasal gıdalardan gelir. Toprakta yetişen bitkilerden veya toprakta yetişen bitkileri yutan hayvanların etlerinden elde edilir. Bu nedenle, doğrudan veya dolaylı olarak, toprakta bulunan kadmiyum ve bu kadmiyumun gıda bitkilerine aktarılması, atmosferden yenilebilir bitki kısımlarında biriken kadmiyum ile birlikte insan kadmiyum alımının büyük çoğunluğunu oluşturur. Alınan kadmiyumun %98'i karasal gıdalardan gelirken, sadece %1'i balık ve kabuklu deniz ürünleri gibi sucul gıdalardan ve %1'i ise içme suyundaki kadmiyumdan kaynaklanmaktadır (Van Assche, 1998). Yapılan çalışmalarda sebzeler arasında yer alan pancar, havuç ayrıca ıspanakta Cd oranının yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra

daha çok hayvan yemi olarak kullanılan tahıllardan özellikle arpa ve yulafta Cd içeriğinin yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Cd içeriğinin besinlerin yetiştirildikleri toprağa göre farklılıklar göstereceği belirtilmiştir. Cd içeriğinin toprakta yükselmesi, besinlerdeki Cd miktarında artmasına sebep olur (Rakıcıoğlu, 1991). Kadmiyum elementinin metabolizmadan atılımının oldukça az olması ve vücutta birikmesi nedeniyle sağlık üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda bu olumsuz etkilerin yaş ile doğru orantılı olarak arttığı belirtilmiştir (Güner ve Kavlak, 2017). İnsanlarda Cd'ye maruz kalmanın, böbrek ve karaciğer disfonksiyonu, pulmoner ödem, testis hasarı, osteomalazi ve adrenal ve hemopoietik sistemde hasar gibi çeşitli yan etkilere neden olabileceği ortaya çıkarılmıştır (Tinkov ve ark., 2018). Cd çeşitli organ ve dokularda birikmesinden dolayı böbrek korteksinde Cd etkileri için en hassas hedef organ olarak kabul edilmiştir (Järup ve ark., 1998). Yapılan toksikolojik çalışmalarda, Cd'a uzun süreli maruziyetlerde kademeli olarak biriktiğini ve daha uzun süreli maruziyetlerde bu birikimin böbreklerde giderek daha belirgin olduğunu göstermiştir. Bu fenomenin açıklaması, Cd'nin düşük moleküler ağırlıklı protein olan metallothioneine (MT) bağlı olarak böbreğe taşınmasıdır (Nordberg ve ark., 1985; Nordberg ve Nodberg, 2000). Bahsedildiği gibi kadmiyum, kadmiyum-metallothionein (Cd-MT) şeklinde böbreğe ulaşır. Cd-MT, glomerülde süzülür ve ardından proksimal tübülde yeniden emilir. Daha sonra tübül hücrelerinde kalır ve kadmiyum vücut yükünün büyük bir kısmını oluşturur (Svartengren ve ark., 1986). Metabolizmaya alınan Cd elementinin kalsiyum, demir, çinko

ve manganez gibi farklı elementlerin metabolizmaları ile de ilgisi bulunmaktadır. Örneğin metabolizmada demir miktarının fazla olması kadmiyumun emilimini olumsuz yönde etkiler (Rakıcıoğlu, 1991). Kadmiyumun metabolizmaya özellikle besin yoluyla alınması neticesinde karaciğer fonksiyon bozuklukları, böbrek yetmezliği ve ciddi olarak akciğer hastalıkları gözlemlenir. Bunun sebebi incelendiğinde ise enzimlere çinko yerine kadmiyum geçtiği görülür. Yine kadmiyum elementinin etkisiyle böbrek üstü bezi etkileri, kansızlık, kadın ve erkek yumurtalıklarında doku harabiyeti ve indirgenmiş hemoglobün miktarı belirlenen problemler arasındadır. Bunlara ek olarak kadmiyum oranının kemikleride etkilediği ve kemiklerde problemlere neden olabileceği tesbit edilmiştir (Sönmez, 2011). Kadmiyumun sindirim sistemi ile metabolizmaya alınmasının yanı sıra inhalasyon yolu ile alınması da oldukça yüksektir (Cannino ve ark., 2009). Çapları 2–3 µm'den oldukça küçük olan kadmiyum moleküllerinin alveollere geçtikleri, çapı biraz daha fazla olanların ise nazofarengal bölgede toplandıkları bu durumda akciğerler açısında oldukça tehlikeli olduğu belirtilmiştir (Evcimen 2019). Ayrıca Solunum vasıtasıyla metabolizmaya alınan kadmiyumun, devam eden baş ağrıları, uykusuzluk, baş dönmesi, kusma, astım, mide bulantısı, kemik erimesi gibi çeşitli problemlere neden olduğu bilinmektedir (Asri ve ark., 2007).

Sonuç olarak; Kadmiyum elementi, karsinojen özelliklere sahip ve vücut için esansiyel olmayan oldukça toksik bir maddedir. Metabolizmadan atılımının sınırlı şekilde gerçekleşmesi ve farklı türde kimyasal formlara dönüşmemesi, kadmiyumu insanlar

açısından oldukça önemli bir tehdit unsuru haline dönüştürmektedir. Kadmiyum elementinin endüstriyel olarak çok fazla kullanımı sonucunda insan sağlığı üzerinde uzun süreli olumsuz etkilerinin ortaya çıkması sebebiyle kadmiyum kullanımının azaltılması, kadmiyum emisyonlarının düşürülmesi ve böylece kadmiyumun olumsuz etkilerini azaltılması oldukça önemlidir. Bu sebeple araştırma ve geliştirme çalışmalarına hızla devam edilmesi önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Adriano, D.C. (2001). Trace elements in terrestrial environments biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2nd ed. . Newyork: Springer-Verlag, 264.
- Akkoyun, H ., Bengu, A ., Ulucan, A ., Bayramoglu Akkoyun, M ., Ekin, S., Temel, Y., Çiftçi, M . (2018). Effect Of Astaxanthin On Rat Brains Against Oxidative Stress Induced By Cadmium:Biochemical, Histopathological Evaluation . Journal of the Institute of Science and Technology , 8 (4) , 33-39
- Altay, Ö. (2016). Niğde İli Topraklarının Ağır Metal İçeriğinin Araştırılması. T.C. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Asri, F. Ö., Sönmez, S., Çıtak, S. (2007). Kadmiyumun Çevre ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Derim*, 24(1), 32-39.
- Babacı, P. (2015). Ev Tozlarında Ağır Metal Konsantrasyonlarının İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Bakar, C., Alper, B. (2009). Heavy Metals And Human Health: Environmental Health Problem From Twenty Centuries To Future Generation. 1.Tıbbi Jeoloji Çalıştayı, Ürgüp Bld., Kültür Merkezi, Ürgüp/ NEVŞEHİR
- Batır, M.B. (2014). Kurşun (Pb) ve Bakır (Cu) Ağır Metal Stresi Uygulanan Enginar (*Cynara scolymus* L.) Tohumlarının Fidelerinde Oluşan DNA Değişikliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi.
- Bayramoğlu Akkoyun, M., Bengü, A.Ş., Temel, Y., Akkoyun, H.T., Ekin, S., Ciftci, M.(2018). The effect of astaxanthin and cadmium on rat erythrocyte G6PD, 6PGD, GR, and TrxR enzymes activities in vivo and on rat erythrocyte 6PGD enzyme activity in vitro. *J Biochem Mol Toxicol*, Aug;32(8):e22170.
- Bradl, H.B.(2005). Heavy Metals in the Environment, Elsevier Academic Press First Edition, Netherlands.
- Cannino, G., Ferruggia, E., Luparello, C., Rinaldi, A. M. (2009). Cadmium and mitochondria. *Mitochondrion*, 9(6), 377-384.

- Carocci, A., Rovito, N., Sinicropi, M.S., Genchi, G.(2014). Mercury toxicity and neurodegenerative effects. *Rev. Environ. Contam, Toxicology*, (229), 1–18.
- Carocci, A., Catalano, A., Lauria, G., Sinicropi, M.S., Genchi, G.(2016). Lead Toxicity, antioxidant defense and environment. *Rev. Environ, Contam, Toxicology*, (238), 45–67.
- Cobb, A.B.(2008). The elements cadmium. 1st ed. . New York: Marshall Cavendish Corporation, 8–10.
- Doğru, M.İ. (2007). Ağır Metal Ve Adrenomedullin Uygulamasının Bazı Sıçan Dokularında Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Tc İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
- Dökmeci, İ., Dökmeci, A.H.(2005). Toksikoloji Zehirlendirmede Tanı ve Tedavi, 4.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri.
- Duffus, J.H., Howard, G.J.(1996). Worth, “Fundamental toxicology for chemists”, Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry Information Services.
- Duffus, J.H. (2002). Heavy metals-A meaningless term?, *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793-807.
- Duruibe, J.O., Ogwuegbu, M.O.C., Egwurugwu, J.N.( 2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 2, 112–118.
- Evcimen, M. (2019). Kadmiyum Toksikasyonuna Maruz Bırakılan Ratlarda Polydatin ve Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Kan, Karaciğer, Böbrek, Beyin ve Testis Dokularına Etkilerinin Histopatolojik ve Oksidan-Antioksidan Göstergelerle Araştırılması.
- Facchinelli, A., Sacchi, E., Mallen, L.(2001). Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils. *Environ Pollut*, 114 (3), 313–324.
- Friberg, L.T., Elinder, G.G., Kjellstrom, T., Nordberg, G.F.(2019). Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal: Volume 2: Effects and Response (Vol. 1); CRC Press: Boca Raton, FL, USA.

- Genchi, G., Sinicropi, M.S., Carocci, A., Lauria, G., Catalano, A. (2017). Mercury exposure and heart diseases. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14, 74.
- Genchi, G., Sinicropi, M.S., Lauria, G., Carocci, A., Catalano, A. (2020). The Effects of Cadmium Toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public*, 3782.
- Godwill, E.A., Ferdinand, P.U, Nwalo, F.N, Unachukwu, M.N. (2019). Mechanism and health effects of heavy metal toxicity in humans. In: *Poisoning in the modern world - new tricks for an old dog?* IntechOpen, 82511
- Güner, Ö., Kavlak, O. (2017). The effects of cadmium on male reproductive system. *Androloji Bülteni*, 19(3):86–91.
- Güven, A., Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Timur S. (2009). *Metallerin Çevresel Etkileri-III*, 38.
- Hejna, M., Gottardo, D., Baldi, A., Dell'Orto, V., Cheli, F., Zaninelli, M., Rossi, L. (2018). Review: Nutritional ecology of heavy metals. *Animal*, 12 (10), 2156-2170.
- Howard Hu, M.D., M.P.H. (2002). Human Health And Heavy Metals Exposure. In: *Life Support: The Environment and Human Health* Michael McCally, Chapter 4.
- İpek, B. (2014). *Kadmiyum(Iı) ve Nikel(Iı) İyonlarının Karayosunu (Homalothecium Sericeum) Üzerinde Adsorpsiyonla Su Ve Atık Sulardan Uzaklaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.*
- Järup, L., Berglund, M., Elinder, C.G., Nordberg, G., Vahter, M. (1998). Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, (24), 1–51.
- Jordao, C.P., Nascentes, C.C., Cecon, P.R., Fontes, R.L.F., Pereira, J.L. (2006). Heavy metal availability in soil amended with composted urban solid wastes. *Environmental Monitoring and Assessment*, (112), 309–326.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S. (2004). *Metallerin çevresel etkileri-I*, *Metalurji Dergisi*, (136), 47-53,

- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S.(2009). Metallerin Çevresel Etkileri-I, Metalurji, 136.
- Karadede, H. (1997). Atatürk Baraj Gölü'nde su, sediment ve balık türlerinde ağır metal birikiminin araştırılması, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Diyarbakır, 72.
- Khan, S., Cao, Q., Zheng, Y.M., Huang, Y.Z., Zhu, Y.G. (2008). Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental Pollution*, (152), 686-692.
- Koizumi, T., Waalkes, M.P.(1989). Effects of zinc on the distribution and toxicity of cadmium in isolated interstitial cells of the rat testis. *Toxicology*, (56),137–46.
- Kuzu, N. (2010). Erzurum İlindeki Bazı İşletmelerde Üretilen Alabalıkların Ağır Metal Yönünden İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü .
- Li, Z., Ma, Z., Van der Kuijp, T., Yuan, Z., Huang, L. (2014). A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. *Science of the Total Environment* ,(468),843–853.
- Market, B. (1993). Plant as Biomonitors, Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment, VCH Publisher, Weinheim, 644.
- Nordberg, G.F., Kjellstrom, T., Nordberg, M. (1985). Kinetics and metabolism. In: Friberg L, Elinder CG, Kjellstro`m T, Nordberg GF, editors. Cadmium and health: a toxicological and epidemiological appraisal. Exposure dose and metabolism. Boca Raton, FL: CRC,103178.
- Nordberg, M., Nordberg, G.F. (2000). Toxicological Aspects of Metallothionein. *Cellular and Molecular Biology*,(46),451463.
- Özkan, G. (2009). Endüstriyel Bölge Komşuluğunda Kıyısal Kırsal Alandaki Hava Kalitesi; Muallimköy'de Partikül Maddede ve Topraktaki Ağır Metal Kirliliği, Yüksek Lisans Tezi, GYTE Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze, 9,12-22.
- Özpolat, G., Tuli, A. (2016). Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 25(4),502-521.



- Rakıcıoğlu, N. (1991). Kadmiyumun Sağlık ve Beslenmedeki Önemi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 20(1), 107-115.
- Robert, G., Mari, G., Harlal, C., Michael, H., Elaina, K., Marc, S. (2004). Issue Paper On The Human Health Effects Of Metals. U.S. Environmental Protection Agency Risk Assessment Forum 1200, Pennsylvania Avenue, NW Washington, DC 20460.
- Sarkar, B. (2002). *Heavy Metals in the Enviroment*, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Selinus, O., Alloway, B., Centeno, J.A., Finkelman, R.B., Fuge, R., Lindh, U., Smedley, P. (2005). *Essentials of Medical Geology, Impacts of Natural Environment on Publice Health*, Elsevier Academic Pres.
- Seven, T., Can, B., Darende, B.N., Ocak, S. (2018). Hava ve Toprakta Ağır Metal Kirliliği. *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1(2), 91-103.
- Shrivastav, R. (2001). Atmospheric heavy metal pollution, *Resonance*, 68, 62-68.
- Sienko, R.A. (1983). *Temel Kimya (Chemistry: Principles and Properties)*, (Çevirenler: Gündüz, N., Gündüz, T., Tüzün, C., Pulat, E., Üneri, S., Zeren, A., Özgüner, S. Savaş Yayınları, Fen Bilimleri Dizisi.
- Sinicropi, M.S., Caruso, A., Capasso, A., Palladino, C., Panno, A., Saturnino, C. (2010a). Heavy metals: Toxicity and carcinogenicity. *Pharmacology online*, 2, 329-333.
- Sinicropi, M.S., Amantea, D., Caruso, A., Saturnino, C. (2010b). Chemical and biological properties of toxic metals and use of chelating agents for the pharmacological treatment of metal poisoning. *Arch, Toxicology*, (84), 501-520.
- Singh, J., Kalamdhad, A. (2011). Effects of Heavy Metals on Soil, Plants, Human Health and Aquatic Life. *International Journal of Research in Chemistry and Environment*, (1), 15-21.
- Sobha, K., Poornima, A., Harini, P., Veeraiah, K. (2007). A study on biochemical changes in the fresh water fish, catla catla (hamilton) exposed to the heavy metal toxicant cadmium chloride. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 1 (4), 1-11.

- Sönmez, E. (2011). Nikel kadmiyum sulu çözeltilerinden kadmiyumun sinerjistik ekstraksiyonu.
- Sönmezay, A. (2011). Mangan Oksit Minerali Kullanılarak Sulu Çözeltilerden Adsorpsiyon Yöntemi ile Kadmiyum ve Kurşun Giderimi”, Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek teknoloji Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı.
- Svartengren, M., Elinder, C.G., Friberg, L., Lind, B. (1986). Distribution and concentration of cadmium in human kidney. *Environmental Research*, (39)(1),1–7.
- Tinkov, A.A., Filippini, T., Ajsuvakovae, O.P., Skalnaya M.G., Aasethf, J., Björklundh, G., Gatiatulina, E.R., Popova, E.V., Nemereshina, O.N., Huangk, P.T., Vinceti, M., Skalny, A.V. (2018). Cadmium and atherosclerosis: A review of toxicological mechanisms and a meta-analysis of epidemiologic studies. *Environmental Research*, (162),240–260.
- Van Assche, F.J. (1998) "A Stepwise Model to Quantify the Relative Contribution of Different Environmental Sources to Human Cadmium Exposure," Paper to be presented at NiCad '98, Prague, Czech Republic, 21-22, 1998.
- Vural, N. (1984). Toksikoloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:73.
- Yazılan, S. (2010). Dilovası Organize Sanayi Bölgesi (Gebze-Kocaeli)’ ndeki Ağır Metal Kirliliğinin Bitkiler Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Yılmaz, O. (1995). Bursa yöresinden sağlanan insan karaciğer ve böbreklerinde ağır metal kalıntı düzeyleri: I. Cıva. *YYU Sağlık Bil Enst Derg*,1:6–11.
- Yılmaz, O. (2002). Cadmium and lead levels in human liver and kidney samples obtained from Bursa Province. *Journal of Environmental and Public Health*,(12),181–5.



## **BÖLÜM 2**

### **3 BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRLERİNİN İLAÇ GELİŞTİRME SÜRECİNDEKİ YERİ**

Dr. Meliha KOLDEMİR GÜNDÜZ<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Dr. Öğretim Üyesi, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Temel Mühendislik Bilimleri Bölümü, Kütahya, Türkiye.  
E-posta: meliha.koldemirgunduz@ksbu.edu.tr



## GİRİŞ

İlaç geliştirme, hedef tanımlamasından öncü keşif ve optimizasyona, klinik öncesi doğrulama ve klinik çalışmalara kadar farklı aşamalardan geçen uzun ve maliyetli bir süreçtir (Langhans, 2018). Günümüzde yeni ilaç keşfi için yapılan çalışmalarda, tüm ilaçların yarısından fazlası, etkinlik eksikliği nedeniyle Faz II ve Faz III klinik çalışmalarında başarısız olmaktadır. İlaçların yaklaşık üçte biri, yetersiz terapötik indeks içeren güvenlik sorunları nedeniyle başarısız olmaktadır (Arrowsmith ve Miller, 2013). İlaç keşfinde daha iyi hassasiyet sağlayan yeni teknolojilere acil ihtiyaç duyulmaktadır. İlaç geliştirmedeki başarı oranlarının artması, yeni biyobelirteçlerin belirlenmesi ve *in vitro* ortamda *in vivo* ortam biyolojisi ve mikroekonomik faktörleri daha iyi özetleyen yeni prelinik modellerin varlığı ile hassas tıbbın ilerlemesine bağlıdır. Dokuların temel faktörlerini taklit eden üç boyutlu (3B) sistemlerdeki kültürlerin, *in vivo* ortamları basit iki boyutlu (2B) tek tabakalara göre daha fazla temsil ettiği kabul edilmektedir ( Pampaloni ve ark., 2007; Ravi ve ark.,2015). Tek tabakalı kültürler hala hücrel deneylerde hâkim olmakla birlikte, ilaç keşiflerinde kullanılan uygulamalar için 3B hücre kültürü teknikleri hızla ilerlemektedir (Edmondson ve ark., 2014; Montanez-Sauri ve ark., 2015; Sittampalan ve ark., 2015; Ryan ve ark., 2016). İdeal bir 3B kültür modeli, hücrelerin çoğalabileceği, toplanabileceği ve farklılaşabileceği dokuya özgü fizyolojik veya patofizyolojik hastalığa özgü bir mikro ortamı simüle eder. Böyle bir model, hücre-hücre ve hücre-ECM etkileşimlerini, dokuya özel sertliği, oksijen, besin ve metabolik atık gradyanlarını ve dokuya özel

iskele kombinasyonunu içermelidir (Griffith ve Swartz, 2006). 3 boyutlu biyoyazıcılar, cilt, kas, karaciğer ve sinir dokusu gibi çeşitli organlar için, *in vivo* organ modellemesinin yapıldığı *in vitro* 3B doku modelleri ile bir çipte organ platformlarının geliştirilmesine izin verir. Günümüzde, organoidler üzerinde yapılan transkriptom profillemesi ile ilaç keşfi ve hassas terapi uygulamaları değişmektedir (Fatehullah ve ark., 2016; Liu ve ark., 2016). Bununla birlikte, son yıllarda, *in vivo* mikro-çevresel ortamı modelleyen ve klinik sonuç için daha yüksek prediktif değeri olan sonuçlar vermesi beklenen 3B hücre kültür sistemleri, ilaç keşiflerinde kullanımı daha belirgin hale gelmektedir. 3B hücre modeli, yakın bir gelecekte hem terapötik transplantasyon hem de yeni etkili ve güvenli ilaçların keşfi için uygun bir araç olabilecektir.

## **1.İLAÇ KEŞFİNİ DESTEKLEMEDE 3B BASKI**

3B baskı, tıp, elektronik, havacılık ve diğer alanlarda bulunabilen gelişmekte olan bir alandır. Kişiselleştirilmiş ve son derece özelleştirilmiş özellikleriyle 3B baskı, ilaç endüstrisinde büyük bir potansiyele sahiptir (Zhu ve ark., 2020). Katmanlı üretim olarak da adlandırılan 3B baskı ilk olarak 1980'lerin başında mühendis Charles Hull tarafından önerildi (Ventola, 2014). 3B baskı, malzemelerin bir varlık oluşturmak için katman katman biriktirildiği bir üretim sürecidir. Önceden tasarlanmış bir 3B dijital modele dayanarak, bir 3B nesnenin yapımını tamamlamak için basılı katmanları katman katman biriktirir. 3B baskı son derece esnektir ve malzeme bileşiminin ve mikro yapının yerel kontrolüne izin verir. Geleneksel süreçlerle

karşılaştırıldığında, 3B baskının oldukça karmaşık ve özel tasarımı ürünler üretmede büyük avantajları vardır, bu nedenle daha ekonomiktir ve zaman tasarrufu sağlar (Zastrow, 2020; Melocchi ve ark., 2020; Li ve ark., 2020). 3B biyo-baskı teknolojisinin yüksek hassasiyeti, insan vücudunun normal fizyolojik işlevlerini taklit eden organlar veya çip üzerinde organ oluşturmaya olanak tanır. Bu organlar veya çip üzerindeki organ, ilaç testi için kullanılabilir.

Erken faz ilaç geliştirme, ilaç keşfi, prelinik çalışmalar ve insanda ilk klinik deneme süreçlerini kapsamaktadır. İlaç keşfi kapsamında, 3B biyobaskı aktif farmasötik bileşenleri üretmek için kullanılabilir. Böylece klinik öncesi ilaç geliştirme potansiyeli artmaktadır. Biyolojik baskılamadaki gelişmeler araştırmacılara, metabolik çalışmaların yanı sıra akut ve kronik ilaç toksisite taraması için uygun hayvan ve insan dokularını 3 boyutlu basabilme imkanı sağlamaktadır. Tıbbi ve tedavi amaçlı çalışmalar için kullanılacak karaciğer ve böbrek dokusu gibi yapısal ve işlevsel insan doku modelleri 3B biyobaskılama ile elde edilebilmektedir (Awad ve ark., 2018). Sağlıklı ya da hastalıklı dokunun yapı ve işlevini taklit etmek üzere tasarlanmış çipte organ oluşturmak için 3B biyobaskılama yöntemi kullanılmaktadır. Harvard Üniversitesindeki araştırmacılar ilaç yanıtlarına ek olarak laminar kardiyak dokuların kontraktıl gelişimini incelemek için kardiyak mikrofizyoloji cihazını basmışlardır (Lind ve ark. 2016). Bu sayede mide, pankreas ve ince barsak gibi farklı organ modellerinin 3B biyobasımında daha ileri bir adım atılmasına olanak sağlamıştır (Costello ve ark., 2017). Bu durum ilaç yanıtlarının *in vitro* test edilmesi ve toksikoloji taramaları için yeni yollar



açmaktadır. Özellikle, yeni ilaç adayı taramasının doğruluğunu artırarak daha etkili biyo bağlantılı modeller oluşturulabilir. Bu tür biyo bağlantılı modellerin 3B biyobaskılama kullanılarak geliştirilmesi, klinik öncesi çalışmalar için gerekli hayvan sayısını azaltabilir, ilaç geliştirme maliyetlerini ve ilacın pazara sunma süresini azaltabilir (Hatton ve ark., 2015).

Çipte organ teknolojisi (Knowlton ve ark., 2016) (örneğin karaciğer (Bhise ve ark., 2016), kalp (Zhang ve ark. 2016)), canlı organların fizyolojik özelliklerini taklit edebilir ve hayvanlar adına ilaç testleri yapabilir (Lee ve Cho, 2016). Araştırmacılar, hücreleri kapsüllemek için genellikle jelatin, hiyalüronik asit, aljinat ve hücre dışı matrisi (dECM) kullanır. Çünkü hücre dışı matrisin (ECM) doğal fiziksel ve kimyasal özelliklerini çok iyi bir şekilde simüle ederler ve iyi biyoyumluluk, basılabilirlik, mekanik ve yapısal bütünlük ve biyolojik olarak parçalanabilirlik açısından uyumludurlar. 3B biyo-baskıda kullanılan hücreler temel olarak farklı tiplere (mezenkimal kök hücreler, adipozdan türetilmiş kök hücreler ve nöral kök hücreler gibi) ve pluripotent tiplere (Sun ve ark., 2020) bölünmüş kök hücrelerdir. 3B biyo-baskı teknolojisi, akıllı tasarım, gelişmiş biyo-mürekkepler ve polimerizasyon teknolojileri (Park ve ark.,2016) aracılığıyla insan dokularını yenilemek için hücreleri esnek ve doğru bir şekilde konumlandırabilir (Park ve ark., 2017). Bu nedenle araştırmacılar, 3 boyutlu biyoyazıcı ve farklı hücreler içeren biyo-mürekkep kullanarak farklı dokular oluşturabilir ve ardından bu dokuları çip üzerindeki organlara aktarabilir. 3B baskı, taze birincil hücreler, paketleme için jeller ve diğer bileşenlerden oluşan bir çip

üzerinde organın ana bileşeni olan mikrobiyoreaktörün (Sheikh ve Farster, 2020) otomatik ve yüksek verimli üretimini mümkün kılar.

Bhise ve ark. (2016), 3B biyoyazıcı ve HepG2/C3A hücreleri ile ilaç toksisitesini değerlendirmek için karaciğer platformu geliştirdi. Kültür sırasında karaciğer yapısının işlevini gösteren dört biyobelirtecin (albümin, alfa-1 antitripsin, transferrin ve seruloplazmin) salgılanma oranları düzenli olarak arttığını, hücre sayısının 1. günde  $4 \pm 0.5 \times 10^5$  iken 30. günde  $4 \pm 0.2 \times 10^6$ 'ya yükseldiği tespit edildi. Daha sonra akut asetaminofen (APAP) ile hepatotoksik reaksiyon başlattılar: APAP tedavisi olmayan biyoreaktörde metabolik aktivite  $\%78 \pm 4$  arttı; APAP ile tedavi edilen biyoreaktörde ise, metabolik aktivite  $\%63 \pm 2$  azaldı. Bu, çipteki karaciğerin akut toksik ilaçlara yanıt verdiğini ve ilaç taraması için kullanılabileceğini göstermektedir (Bhise ve ark., 2016). Zhang ve ark. (2016) yapmış oldukları çalışmada, indüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPSC'ler) ve 3B biyo-baskı teknolojisini kullanarak endotelize edilmiş kalp çipi oluşturdu. Kardiyomiyositler, baskılı yapı iskelesi üzerinde büyümüştür, kasılma için protein sarkomerik  $\alpha$ -aktini ve iletkenlik için connexin-43'ü güçlü bir şekilde ifade etmiştir ve kardiyomiyositler güçlü bir şekilde atmıştır (Zhang ve ark., 2016). Araştırmacılar daha sonra doksorubisinin kardiyak toksisitesini test ettiler: 10  $\mu$ M ve 100  $\mu$ M'ye maruz kalan kardiyomiyositlerin atma oranları sırasıyla  $\%70,5$  ve  $\%1,62$ 'ye düştü. VWF (von willebrand faktörü) salgılama seviyeleri sırasıyla  $\%76,0$  ve  $\%35,3$ 'e düşürüldü. Bu sonuçlar çipte kalbin ilaç taraması potansiyeline sahip olduğunu gösteriyor (Zhang ve ark., 2016). Glioblastoma ilişkili makrofajlar (GAM'lar), glioblastoma multiform

(GBM) gelişiminde önemli bir rol oynarlar. Heinrich ve ark. iki hücre türü arasındaki etkileşimleri simüle etmek için hem GBM hem de GAM'leri içeren beynin 3B yazdırılmış bir mini modelini oluşturdu ve anti-tümör ilaçların etkinliğini test ederek başarılı sonuçlara ulaştılar (Brancato ve ark. 2020).

## **2. IN VİTRO 3 BOYUTLU DOKU MODELLERİNİN ÇEVİRİ KAPASİTESİ**

Hastalıkların heterojen doğasını araştırmak için mevcut yöntemler, 2B hücre kültürlerine ve hayvan modellerine dayandıkları için yetersizdir. Hücre hattına dayalı ilaç etkinliği ve toksisite deneyleri, tedavi maddelerine karşı hastalıkların tepkisini tahmin edemez ve moleküler yolun, düz biyoloji olarak adlandırılan *in vitro* olarak nasıl özetlenmediği halihazırda geniş çapta tartışılmıştır. Öte yandan, hayvan modelleri, insan ve hayvanlardaki biyolojik farklılık nedeniyle ilaçların yan etkilerini tespit etmekte, hastalığı ilerletmeyi ve bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimi taklit etmekte başarısız olmaktadır. Dahası, etik ve düzenleyici konular hayvan deneylerini sınırlar. İlaç/biyoteknoloji şirketleri her yıl vakaların sadece %5'inde başarılı olan ilaç keşif ve test süreçlerinde kaynaklarını kaybediyor. Hastalık mikro ortamının fizyopatolojisini dikkate alarak ilaç testi sürecini geliştirmek için doğru ve öngörücü platformların doğrulanmasına acil ihtiyaç vardır. Üç boyutlu *in vitro* modeller, hastalıklar için etkili ilaçların geliştirilmesinde ilaç üreticilerini güçlendirebilir. 2B kültür ve hayvan modellerine kıyasla 3B *in vitro* hastalık sistemlerinin kanıtlanmış avantajlarına rağmen, bunlar klinik

öncesi denemeler için gereken standardizasyona hala ulaşmamaktadır (Brancato ve ark. 2020).

*In vitro* 3B doku modelinin çeviri kapasitesinin belirlenmesi, elde edilen verilerin ilaç keşfi ve geliştirme süreci sırasında karar vermede kullanılabilir olmasını sağlamada önemli bir detaydır. Bir *in vitro* model, etkinlik veya toksisite modeli gibi farklı amaçlar için kullanılabilir. Hepatositleri, Kupffer hücrelerini ve yıldız hücrelerini içeren bir 3B karaciğer modeli, uygun tahribatın hastalıkla ilgili bir fenotip vermesi koşuluyla, karaciğer toksisite değerlendirmeleri için veya antifibrotik ilaçları test etmek için bir hastalık modeli olarak kullanılabilir (Prestigiacomo ve ark., 2017; van Grunsven, 2017). 3B doku modelinin geçerliliğini modelin kullanılabileceği uygulamalarda, temel biyolojik bileşimi, fenotiplemeyi (fonksiyonel ve / veya fizyolojik temelde ve transkriptomik veya proteomik düzeyde) ve farmakolojik yanıtı (ana doku ve / veya organ yolları küçük moleküller ile modüle edilebilir) ile uyumlu hale getirilebilir (Klem ve ark., 2019).

Günümüzde birçok teknoloji *in vivo* benzeri doku mimarisini, biyolojiyi ve farmakolojik tepkileri yansıtan pratik 3B doku modellerinin geliştirmeye odaklanmıştır. Bu teknolojiler, hem indüklenmiş pluripotent kök hücre (iPSC) hem de birincil hücreler olmak üzere hastadan türetilmiş hücrelerin kullanımını, daha yeniden üretilebilir ve ölçeklenebilir bir şekilde 3B doku modelleri üretme yöntemlerini ve biyomoleküllerin yerinde miktar tayinine olanak tanıyan yöntemleri içerir (Fang ve Eglen, 2017). Bu teknolojilerin

birçoğu ticari olarak temin edilebilen: (i) otomasyon ve tarama altyapısı ile uyumlu mikro plakalarda üretilen, etkinlik ve güvenlik ekranlarında binlerce ilacın test edilmesine olanak tanıyan sferoid ve organoid mikro doku modelleri (Mathews ve ark., 2014); (ii) biyofabrike dokular ve daha düşük tarama çıktıtlı, ancak organ yapısını ve işlevini daha yakından yansıtan "çip üzerinde organ" teknolojileri (Huh ve ark., 2010); ve (iii) insan temelli sistemik doğrulama için mikrofizyolojik, sistemlerden oluşmaktadır (Verneti ve ark., 2017).

Bu teknolojik gelişmelere rağmen araştırmacılar, hastalık biyolojisinde ana sinyal yolları, uygulanacak dozların belirlenmesi, hedeflenen bileşiklerin fizyolojik sonlanım noktaları hakkında 3B modellerin tahmin gücünü belirlemede uzun bir yol kat edecektir. En önemli zorluk, 3B doku modeli sistemlerinin "dönüştürme kapasitesini" belirlemektir. Bir 3B doku modelinin "çevirme kapasitesi", *in vivo* "gerçekliği" nasıl tanımladığımızı ve nicel olarak nasıl ölçüldüğüne bağlıdır. Kantitatif eşdeğerlik analizi (3B *in vitro* modellerin ve *in vivo* verilerin) olarak bir organdan biyopsi alınmış doku ile bir *ex vivo* deneyde, *in vitro* 3B dokuların ve organoidlerin morfolojik, fenotipik ve işlevsel ve / veya fizyolojik davranışları üzerinde gerçekleştirilebilir. Ek olarak değişkenliğin temel sebebi, hücre kaynağıdır. Farklı satıcılardan veya laboratuvarlardan elde edilen aynı hücre tipleri (hücre hatları veya birincil hücreler), hem 2B hem de 3B yapılarında davranışları açısından büyük farklılıklar gösterir. 3B doku modellerini doğrulamada, hücrelerin temini için uyumlaştırılmış kalite kontrol standartları, bunların depolanması ve stabilitesi önemlidir. 3B doku modellerinin, hayvan modellerinde ve

insanlarda küçük moleküllü bileşiklerin etkileri açısından 2B hücrel modellerine göre daha fazla toksisite ve / veya etkinlik tahmini olduğunu gösteren birçok örnek olmasına rağmen (Mathews ve ark., 2014; van Grunsven, 2017), klinik bir sonuca ulaşmak için 3 boyutlu doku teknolojilerinden yararlanmada hala karşılanmamış bir ihtiyaç vardır. *İn vitro* biyolojide daha yüksek çeviri kapasitesi geliştirme, ilaç keşfinde daha yüksek verimlilik sağlayacaktır.

### **3. 3B İLAÇ ARAŞTIRMALARININ EKONOMİK FAYDALARI**

Klinik öncesi ilaç testi için sağlam, ölçeklenebilir ve tekrarlanabilir 3B doku modellerinin geliştirilmesine yönelik istikrarlı ilerlemelere rağmen, sistematik fizyolojik ve farmakolojik doğrulama ve kıyaslamaya ihtiyaç vardır. Şu an devam eden ve gelecekteki çalışmalar, 3B doku modellerinin daha öngörücü olup olmadığına, başarısızlık oranını azaltmaya yardımcı olup olmadığına ve ilaç keşfi ve geliştirme hattında karar verme için kullanılabileceğine dair kanıtlar üretmelidir (Klem ve ark., 2019).

Araştırmalar sonrasında tedavi amaçlı geliştirilen yeni ilacın, ilaç onayına sunulmasındaki başarısızlık oranı, geçtiğimiz on yıllarda %90'a yakın kalmıştır (Smietana ve ark., 2016). Bu yüksek başarısızlık oranı, ilaç endüstrisini çok düşük yatırım getirisi olan zor bir sürece götürdü ve yeni klinik olarak ilgili hedefleri belirlemek ve ilaç keşfi ve geliştirme sürecinin klinik öngörülebilirliğini iyileştirmek için çığır açan yenilikçi çözümler arayışına doğru itti (Mullard, 2015). İlaç ve biyoteknoloji endüstrileri 50 yıldan fazla bir süredir, yeni hastalık hedeflerini keşfetmek ve yeni nesil hastalık müdahalelerini

geliştirmek için genetik, proteomik ve fenotipik seviyelerde büyük teknolojik ilerlemeleri birleştirmektedir. Ancak, birçok etkileyici biyoteknolojik ilerlemeye rağmen, yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesi ve yeni ilaç oluşumlarının geliştirilmesi için ortalama başarı oranlarında herhangi bir büyük ilerleme kaydedilememiştir. Günümüzde gen terapisi, hücre temelli tedaviler ve doku rejenerasyonu gibi terapötik modaliteler, geleceğin yeni tedavileri olarak ortaya çıkmaktadır. Geliştirilecek terapötik yöntem ne olursa olsun, hastalıkla ilgili insanlarda etkinlik ve toksisite açısından öngörücü olan *in vitro* modeller kritik olmaya devam etmektedir (Harrison, 2016).

*În vitro* modeller mevcut hayvan modellerine kıyasla klinik geliştirme için en iyi terapötik varlığın seçilmesini daha verimli ve uygun maliyetli hale getirmektedir. Aynı zamanda hayvanlar üzerinde yapılan testlerin miktarını azaltmaktadır. 3B doku modelleri onlarca yıldır geliştirilmiş ve *in vitro* araştırmalar için yeni boyut haline gelmiştir (Abbott, 2003). 3B doku modellerinin kullanım sıklığının artması ile gelişmiş *in vitro* fizyolojik ortam ilaçların geliştirilmesinde daha verimli hale gelecek ve böylece süreç hızlanarak mevcut yüksek başarısızlık oranları azalacaktır (Kuepfer ve ark., 2018).

#### **4. KİŞİSELLEŞTİRİLMİŞ İLAÇ TESLİMİ**

3D baskının belirli hasta gruplarını tedavi etmek için kişiselleştirilmiş ilaçlar üretme yeteneğine sahip olduğu göz önüne alındığında, bireysel hastalar veya gruplar için özelleştirilmiş tedavi çözümleri sağlar. Bu nedenle, 3 boyutlu baskı, epilepsi, Alzheimer hastalığı ve kanser gibi

karmaşık hastalıkların yanı sıra pediatrik ve geriatrik hasta popülasyonlarının tedavisi için etkili bir klinik çözüm olarak kullanılabilir (Alhman ve ark., 2016; Choonara ve ark., 2016). Kişiselleştirilmiş terapi kavramı, bir birey için doğru dozu doğru zamanda vermeyi vaat eder, böylece istenen farmakokinetik ve farmakodinamik yanıtları sergilemek için ilaç tedavisinden maksimum fayda sağlar. Ek olarak, bu tür bir terapi, doz titrasyonu ve dozaj formlarının tasarımı için genetik yapı, cinsiyet, yaş ve ağırlık gibi diğer faktörleri de dikkate alır. Aksine, geleneksel dozaj formları, hasta popülasyonunun çoğunu desteklemek için yalnızca sabit güçlere dayanmaktadır. Dahası, 3 boyutlu baskı, yerinde üretim için esneklik sağlarken, geleneksel terapi, son teknoloji makinelerle eksiksiz bir üretim kurulmasına dayanır. Bu nedenle, 3B baskı, tedaviyi popülasyon merkezli bir yaklaşıma yerine bireysel merkezli bir yaklaşıma doğru yönlendirebilir (Warsi ve ark., 2018; Robles-Martinez ve ark., 2019)

## **5. SONUÇ**

Geleneksel ilaç endüstrisi tıbbın ihtiyaçlarının çoğunu karşılayabilmesine rağmen, yine de bazı sınırlamaları vardır. İlaç testi için organ modeli oluşturmak için hücrelerin, hücre dışı matrisin, biyomalzemelerin ve içindeki dolaşım cihazlarının mükemmel bir dağılımını elde etmek için 3B biyo-baskı gereklidir (Chakka ve Salem, 2019; Okkalidis ve Marinakis, 2020). 3B baskı üzerine son teknoloji araştırmaları her gün yayınlanmaktadır. 3B baskı teknolojisinin hala teknoloji ve malzeme açısından eksiklikleri olsa da ilerleyen dönemlerde bu sorunlar çözülecektir. Preklinik modeller olarak



kullanılabilecek *in vitro* modellerin, gelecekteki ilaç testlerinin etkisini büyük ölçüde iyileştireceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKÇA

- Abbott, A. (2003). Biology's new dimension. *Nature*, Vol. 21, No. 424 (Aug 424), pp 870–872
- Alhnan, M.A., Okwuosa, T.C., Sadia, M., Wan, K., Ahmed, W., Arafat, B. (2016). Emergence of 3D printed dosage forms: opportunities and challenges. *Pharmaceutical Research*, Vol. 33, No. 8 (Aug, 2016), pp 1817–1832
- Arrowsmith, J., ve Miller, P. (2013). Trial watch: phase II and phase III attrition rates 2011-2012. *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 12, No. 8 (Aug 2013) pp 569
- Awad, A., Trenfield, S.J., Goyanes, A., Gaisford, S., Basit, A.W. (2018). Reshaping drug development using 3D printing. *Drug Discovery Today*, Vol. 23, No. 8 (Aug 2018), pp 1547-1555
- Bhise, N.S., Manoharan, V., Massa, S., Tamayol, A., Ghaderi, M., Miscuglio, M., et al. (2016). A liver-on-a-chip platform with bioprinted hepatic spheroids. *Biofabrication*, Vol. 12, No. 8 (Jan 2016), pp 014101
- Brancato, V., Oliveira, J.M., Correlo, V.M., Reis, R.L., Kundu, S.C. (2020). Could 3D models of cancer enhance drug screening?. *Biomaterials*, Vol. 232, (Feb 2020), pp 119744
- Costello, C.M., Phillipsen, M.B., Hartmanis, L.M., Kwasnica, M.A., Chen, V., Hackam, D., et al. (2017). Microscale bioreactors for in situ characterization of GI epithelial cell physiology. *Scientific Reports*, Vol. 2, No. 7 (Oct 2017), pp 12515
- Chakka, J.L., Salem, A.K. (2019). 3D printing in drug delivery systems. *3D Printing in Medicine*, Vol. 3, No. 2 (Jun 2019), pp 59–62
- Choonara, Y.E., du Toit, L.C., Kumar, P., Kondiah, P.P.D., Pillay, V. (2016). 3D-printing and the effect on medical costs: a new era?, *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research*, Vol. 16, No. 1 (Jan 2016), pp 23–32
- Edmondson, R., Broglie, J.J., Adcock, A.F., Yang, L. (2014). Threedimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based

- biosensors. *ASSAY and Drug Development Technologies*, Vol. 12, No. 4 (May 2014), pp 207–218
- Fang, Y., Eglen, R.M. (2017). Three-dimensional cell cultures in drug discovery and development. *Slas Discovery*, Vol. 22, No. 5 (Jun 2017), pp 456–472
- Fatehullah, A., Tan, S.H., Barker, N. (2016). Organoids as an in vitro model of human development and disease, *Nature Cell Biology*, Vol. 18, No. 3 (Mar 2016), pp 246–254
- Griffith, L.G., ve Swartz, M.A. (2006). Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol. 7, No. 3 (Mar 2006), pp 211–224
- Hatton GB, Yadav, V., Basit, A.W., Merchant, H.A. (2015). Animal Farm: considerations in animal gastrointestinal physiology and relevance to drug delivery in humans. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 104, No. 9 (Sep 2015), pp 2747–2776
- Harrison, R.K. (2016) Phase II and phase III failures: 2013–2015, *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 15, No. 12 (Dec 2016), pp 817–818
- Huh, D., Matthews, B.D., Mammoto, A., Montoya-Zavala, M., Hsin, H.Y., Ingber, D.E. (2010). Reconstituting organ-level lung functions on a chip, *Science*, Vol. 328, No. 328 (Jun 2010), pp 1662–1668
- Klem, J.M., Lal-Nag, M., Sittampalan, G.S., Ferrer, M. (2019). Translational in vitro research: integrating 3D drug discovery and development processes into the drug development pipeline. *Drug Discovery Today*, Vol. 24, No. 1 (Jan 2019), pp 26-30
- Knowlton, S., Yenilmez, B., Tasoglu, S. (Sep 2016). Towards Single-Step Biofabrication of Organs on a Chip via 3D Printing. *Trends Biotechnology*, Vol. 34, No. 9 (2016), pp 685–688
- Kuepfer, L., Clayton, O., Thiel, C., Cordes, H., Nudischer, R., Blanket, L.M., et al. (2018). A model-based assay design to reproduce in vivo patterns of acute drug-induced toxicity. *Archives of Toxicology*, Vol. 92, No. 1 (Jan 2018), pp 553–555

- Langhans, S.A. (2018). Three-Dimensional in Vitro Cell Culture Models in Drug Discovery and Drug Repositioning. *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 23, (Jan 2018), pp 6-9
- Lee, H., Cho, D.W. (2016). One-step fabrication of an organ-on-a-chip with spatial heterogeneity using a 3D bioprinting technology. *Lab Chip*, Vol. 16, No. 14 (Jul 2016) pp 2618–2625
- Li, H., Fan, W., Zhu, X. (2020). 3D printing: the potential technology widely used in medical fields. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 108, No. 11 (Nov 2020), pp 2217-2229
- Lind, J.U., Busbee, T.A., Valentine, A.D., Pasqualini, F.S., Yuan, H., Yadidet, M., et al. (2016). Instrumented cardiac microphysiological devices via multimaterial three-dimensional printing. *Nature Materials*, Vol. 16, No. 3 (Mar 2016), pp 303-308
- Liu, F., Huang, J., Ning, B., Liu, Z., Chen, S., Zhao, W. (2016). Drug discovery via human-derived stem cell organoids. *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 22, No. 7 (Sep 2016), pp 334
- Mathews, G.L.A., Guha, R., Shinn, P., Young, R.M., Keller, J.M., Liu, D., Goldlust, I.S. (2014). High-throughput combinatorial screening identifies drugs that cooperate with ibrutinib to kill activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 111, No. 111 (Feb 2014), pp 2349–2354
- Melocchi A, Ubaldi M, Maroni A, et al. 3D printing by fused deposition modeling of single- and multi-compartment hollow systems for oral delivery – a review. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020;119155.
- Montanez-Sauri, S.I., Beebe, D.J., Sung, K.E. (2015). Microscale screening systems for 3D cellular microenvironments: platforms, advances, and challenges. *Cellular and Molecular Life Sciences*, Vol. 72, No. 2 (Jan 2015), pp 237–249.
- Mullard, A. (2015). Industry R&D returns slip. *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol. 15, (Jan 2015), p 7

- Okkalidis, N., Marinakis, G. (2020). Technical Note, Accurate replication of soft and bone tissues with 3D printing. *Medical Physics*, Vol. 47, No. 5 (May 2020), pp 2206-2211
- Pampaloni, F., Reynaud, E.G., Stelzer, E.H. (2007). The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol. 8, No. 10 (Oct 2007), pp 839–845
- Park, J.H., Jang, J., Lee, J.S., Cho, D.W. (2016). Current advances in three-dimensional tissue/organ printing. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, Vol. 13, No. 6 (Dec 2016), pp 612–621
- Park, J.H., Jang, J., Lee, J.S., Cho, D.W. (2017). Three-Dimensional Printing of Tissue/Organ Analogues Containing Living Cells. *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 45, No. 1 (Jan 2017), pp 180–194
- Prestigiacomo V, Weston, A., Messner, S., Lampart, F., Suter-Dick, L. (2017). Pro-fibrotic compounds induce stellate cell activation, ECM-remodelling and Nrf2 activation in a human 3D-multicellular model of liver fibrosis. *PLoS One*, Vol. 12, No. 6 (Jun 2017), pp e0179995
- Ravi, M., Paramesh, V., Kaviya, S.R., Anuradha, E., Solomon, F.D. (2015). 3D cell culture systems: advantages and applications. *Journal of Cellular Physiology*, Vol. 230, No. 1 (Jan 2015), pp 16–26
- Robles-Martinez P, Xu, X., Trenfield, S.J., Awad, A., Goyanes, A., Telford, R., Basit, A.W., Gaisford, S. (2019). 3D Printing of a multi-layered polypill containing six drugs using a novel stereolithographic method. *Pharmaceutics*, Vol. 11, No. 6 (Jun 2019), pp 274–286
- Ryan, S.L., Baird, A.M., Vaz, G., Urquhart, A.J., Senge, M., Richard, D.J., O'Byrne, K.J., Davies, A.M. (2016). Drug discovery approaches utilizing three-dimensional cell culture, *ASSAY and Drug Development Technologies*, Vol. 14, No. 1 (Feb 2016), pp 19–28
- Sittampalam, S., Eglen, R., Ferguson, S., Maynes, J.T., Olden, K., Schrader, L., Shelper, T., Ferrer, M. (2015). Three-dimensional cell culture assays: are they more predictive of in vivo efficacy than 2D monolayer cell-based

- assays?, *ASSAY and Drug Development Technologies*, Vol. 13, No. 5 (Jun 2015), pp 254–261.
- Sheikh, A., Forster, B.B. (2020). Holding It in Your Hand": Musculoskeletal Applications of 3D Printing. *Canadian Association of Radiologists Journal*, Vol. 71, No. 2 (May), pp 129-130
- Smietana, K., Siatkowski, M., Møller, M. (2016). Trends in clinical success rates. *Nature Reviews Drug Discovery*. Vol. 15, No. 6, (Jun 2016), pp 379–380
- Sun, W., Starly, B., Daly, A.C., Burdick, J.A., Groll, J., Skeldon, G., et al. (2020). The bioprinting roadmap. *Biofabrication*, Vol. 12, No. 2 (Feb 2020), pp 022002
- Van Grunsven, L.A. (2017). 3D in vitro models of liver fibrosis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 1, No. 121 (Nov 2017), pp 133–146
- Ventola, C.L. (2014). Medical Applications for 3D Printing: Current and Projected Uses, *P T.*, Vol. 39 (No. 10 Oct 2014), pp 704–711
- Vernetti, L., Gough, A., Baetz, N., Blutt, S., Broughman, J.R., Brown, J.A., et al. (2017). Functional coupling of human microphysiology systems: intestine, liver, kidney proximal tubule, blood–brain barrier and skeletal muscle. *Scientific Reports*, Vol. 8, No. 7 (Feb 2017), pp 42296
- Warsi, M.H., Yusuf, M., Robaian, M.A., Khan, M., Muheem, A., Khan, S. (2018). 3D printing methods for pharmaceutical manufacturing: opportunity and challenges. *Current Pharmaceutical Design*, Vol. 24, No. 42 (Des 2018), pp 4949–4956
- Zastrow, M. (2020). 3D printing gets bigger, faster and stronger. *Nature*, Vol. 578, No.1 7793 (Feb 2020), pp 20–23
- Zhang YS, Arneri A, Bersini S, Shin, S.R., Zhu, K., Goli-Malekabadi, Z., et al. (2016). Bioprinting 3D microfibrinous scaffolds for engineering endothelialized myocardium and heart-on-a-chip. *Biomaterials*, Vol. 110 (Dec 2016), pp 45–59
- Zhu X, Li H, Huang L, Huang, L., Zhang, M., Fan, W., Cui, L. (2020). 3D printing promotes the development of drugs, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol. 131 (Nov 2020), pp 110644



## **BÖLÜM 3**

### **ATIK SULARDAN AĞIR METAL ADSORPSİYONUNDA KARBONHİDRAT BİYOPOLİMERLERİNİN KULLANIMININ İNCELENMESİ**

Dr. Öğr. Üyesi Pınar DEMİR<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi, Organize Sanayi Bölgesi Meslek Yüksekokulu, Elazığ, Türkiye.  
E-mail: pdemir@firat.edu.tr.





## GİRİŞ

Su, gezegendeki tüm canlı formları için temel bir ihtiyaçtır. Temiz su, sağlıklı bir yaşam sürmek için gereklidir, çünkü kirli su, tehlikeli kimyasallarla doğrudan veya dolaylı temas yoluyla halkın sağlığını riske atabilir (Sajid, 2018). Çevre kirliliği, sanayi devrimi ve antropolojik faaliyetlerle daha da şiddetlenmiştir. Okyanusa önemli miktarda kirletici deşarjı, kıyı ortamları için büyük tehlikelere yol açmıştır. Su kirliliği, esas olarak tarım ve sanayi sektörlerindeki gelişmeler nedeniyle büyük ilgi gören ciddi bir çevre sorununu temsil etmektedir (Zhang, 2016). Bu sektörler metaller, boyalar, farmasötikler, herbisitler, fenoller, fosfat ve nitratlar gibi çeşitli kirleticileri içeren atık sular oluştururlar. Bu tür kirleticiler zehirlidir ve izin verilen konsantrasyonları aşıldığında organizmaları olumsuz etkiler (Reddy, 2013; Bhatnagara, 2009).

Ağır metaller endüstriyel atık sulardaki en önemli kirleticilerden biridir. Ağır metallerin tanımı devam eden bir tartışmadır ve oldukça belirsiz olabilir, ancak yoğunluğu suyunkinden çok daha yüksekse ve doğal kaynaklıysa ve esas olarak yer kabuğunda meydana geliyorsa bir element ağır metal olarak sınıflandırılabilir. Yüzey sularında bulunan başlıca ağır metal kirleticiler Kurşun ( $Pb^{2+}$ ), Çinko ( $Zn^{2+}$ ), Kadmiyum ( $Cd^{2+}$ ), Bakır ( $Cu^{2+}$ ), Nikel ( $Ni^{2+}$ ), Arsenik ( $As^{3+}$ ), Kobalt ( $Co^{2+}$ ), Demir ( $Fe^{3+}$ ), Mangan ( $Mn^{2+}$ ), Cıva ( $Hg^{2+}$ ), Krom ( $Cr(VI)$ ), Gümüş ( $Ag^+$ ), Altın ( $Au^{3+}$ ), Paladyum ( $Pd^{2+}$ ), Platin ( $Pt^{3+}$ ), Uranyum ( $U(VI)$ ), Sezyum ( $Cs^+$ ) ve Rubidyum ( $Rb^+$ ). Bunlardan  $Cu^{2+}$ ,  $Cr(VI)$ ,

$Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  iyonları doğada özellikle atık sularda oldukça toksiktir (Barakat, 2011).

Çinko, baryum, kurşun, gümüş gibi bazı ağır metaller, düzenleyici limitlerin ( $Zn < 5$  ppm;  $Ba < 2$  ppm;  $Pb < 0.015$  ppm;  $Ag < 0.001$  ppm) altında olduklarında insan sağlığı için önemli olmakla birlikte, bu ağır metallerin çoğunun farklı düzeylerde zararlıdır ve bunlara aşırı maruz kalmak ölümcül olabilir (Engwa, 2019). Endüstriler, atık akışlarını ekolojik sisteme boşaltmadan önce, bu metallerin konsantrasyonunu hükümet tarafından belirlenen standart bir konsantrasyonun altına indirmeleri gerekmektedir. Ağır metaller besin zincirine esas olarak bitkiler ve balıklar yoluyla girer. Bitkiler suda çözünen ağır metalleri alma eğilimindedir ve bu metaller köklerinde birikerek daha sonra sebze ve meyve gibi yenilebilir kısımlara taşınırlar (Ahmad, 2017). Vücut için bu metallerin minimum konsantrasyonu gerekli olsa da, sınırları aşmak insanlar için tehlikeli olabilir. Örneğin, esas olarak elektrokaplama endüstrilerinden, mineral işleme tesislerinden ve pil üretim endüstrilerinden kaynaklanan nikel, kronik astım, dermatit ve akciğer kanserine neden olabilir. Benzer şekilde, esas olarak metal kaplama endüstrilerinden, pil endüstrilerinden, cevher ergitme, gübre ve böcek ilacı endüstrilerinden gelen kurşun, beyin hasarına, üreme ve sindirim sorunlarına ve kansızlığa neden olabilir. Kadmiyum böbrek hasarına ve böbrek bozukluğuna neden olabilir. Alaşımların imalatı, elektrokaplama ve ergitme endüstrileri kadmiyum kirliliğinin başlıca kaynaklarıdır. Ayrıca elektronik endüstrisinden kaynaklanan bakır ve cihaz artıkları uykusuzluk, wilson hastalığı ve karaciğer hasarına neden olabilir. Benzer şekilde krom, cıva ve çinko gibi diğer metaller

de canlılar için çok zararlıdır ve bu nedenle endüstriyel atık suların ekolojik sisteme deşarj edilmeden önce uygun şekilde arıtılması şarttır (Ahmad, 2017).

Ağır metallere maruz kalma hava, yüzey suyu veya yiyecekler yoluyla gerçekleşebilir. Birçok alanda yüzey suyu kaynaklarında ağır metallerin varlığı, çoğunlukla madencilik, otomobil emisyonları ve imalatla kullanılan ağır metal içeren bileşiklerin kullanılması gibi insan faaliyetlerinden kaynaklanır. Endüstriler tarafından oluşturulan atık su, başta akarsular olmak üzere çevreye salınmaktadır. Endüstriyel atık sularında, elektrokaplama, metal eritme, kimya ve imalat endüstrileri dahil olmak üzere az sayıda antropojenik ağır metal kaynağı vardır (Leung, 2000). Ev yapımı, ticari ve tarımsal atık su, birçok gelişmiş ülkede sıklıkla atmosfere atılan yüksek metal konsantrasyonları içerir (Samiey, 2014). Ayrışma ve volkanik patlamalar, dünyanın belirli bölgelerinde ağır metal emisyonlarına yol açan diğer doğal olaylardır. Bu nedenle, ağır metaller tarafından su kirlenmesi genellikle yerin coğrafi, biyolojik ve endüstriyel aktivitesine bağlıdır. Bu ağır metallerin besin zincirine girme riskleri oldukça yüksektir. Bu nedenle, atık suları atmosfere bırakmadan önce mümkün olduğunca konsantrasyonunu azaltmak ekosistemi korumak adına oldukça önemlidir.

## **1. ADSORPSİYON**

Ağır metalleri atık sulardan uzaklaştırmak için fiziksel, kimyasal ve biyolojik teknikler dahil olmak üzere farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar ayrıca ultrafiltrasyon, çökeltme, oksidasyon

ve elektrolitik yöntemlerle solvent ekstraksiyonu, membran filtrasyon, iyon değişimi yöntemlerini içerir. Bu geleneksel yöntemlerden bazılarının kullanımı, yüksek işletme maliyetleri ve karmaşıklık, yoğun enerji ihtiyacı, çamur oluşturma gibi büyük miktarlarda ikincil kirleticilerin üretimi, eser düzeydeki kirleticilerin giderilmesinde düşük verimlilik gibi dezavantajlar sunmaktadır. Bu nedenle, düşük maliyeti ve işletme kolaylığı nedeniyle dikkatler adsorpsiyona odaklanmıştır. Adsorpsiyon yöntemi ile su numunelerindeki ağır metal iyonlarının uzaklaştırılmasında fiziksel ve kimyasal işlemler etkili olmuştur.

Günümüzde, adsorpsiyon yöntemi, ağır metallerle iyi bağlanma yeteneklerine sahip düşük maliyetli adsorbanlardan dolayı atık suların kaliteli arıtımını sağlamıştır (Leung, 2000). Ağır metallerin uzaklaştırılması için çok sayıda adsorban kullanılmıştır. Bununla birlikte, bu adsorbanların temel dezavantajları, zayıf adsorpsiyon kapasiteleri, metalik iyonlarla zayıf bağlantıları ve bazılarının sudan çıkarılması ve yeniden üretilmesindeki karmaşıklıklarıdır. İyon değiştirme reçineleri, metal iyonlarını önemli ölçüde çıkarabilir; bununla birlikte, düşük seçiciliğe sahiptirler ve zayıf mekanik stabilite ile ilişkili olarak önemli düzeyde şişme gösterirler (Samiey, 2014). Bu nedenle, dikkatler karbonhidrat biyopolimerleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Endüstriyel talepleri karşılamak için, güvenli ve verimli, düşük maliyetli biyomateryaller potansiyel adsorbanlar olarak incelenmiştir. Bu tür adsorbanlar geleneksel ve geleneksel olmayanlar olarak iki gruba ayrılır.

Alümina, zeolit, AC, silika jel ve boksit gibi geleneksel adsorbanlar küçük ölçekte kullanılmaktadır. Geleneksel olmayan adsorbanlar içinde ağır metallerin uzaklaştırılması için en sık kullanılan adsorbanlar; tarımsal ve endüstriyel atıklar, doğal malzemeler ve biyokütledir. Karbonhidrat biyopolimerleri, yenilenebilir bitki kaynaklarından, nişasta ve şekerden sentezlenen kimyasallardan üretilirler (Falarz, 2018). Eşsiz yapıları, fiziko-kimyasal özellikleri, kimyasal kararlılıkları, hidroksil, asetamid veya amino grupları gibi kimyasal reaktif grupların polimer zincirlerine dahil edilmesinden kaynaklanan yüksek hassasiyetleri ve yüksek seçicilikleri nedeniyle bu biyopolimerler oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Ek olarak, bu malzemeler doğada bol bulunur, yeniden kullanılabilir, biyolojik olarak parçalanabilir ve çok çeşitli molekülleri fiziksel ve kimyasal olarak bağlayabilmektedir (Joly, 2020; Feng, 2017). Çeşitli karbonhidrat biyopolimerleri, atık sudaki ağır metallerin uzaklaştırılması için adsorbanlar olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar arasında Kitosan, Lignin, Karboksimetil selüloz ve Aljinat bazlı adsorbanlar, düşük maliyetleri, etkinlikleri, biyouyumlulukları ve biyolojik olarak parçalanabilmeleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Amin, hidroksit, fenolik hidroksil, metoksil karboksil asit gibi farklı fonksiyonel gruplar içerirler ve ayrıca iyi hidrofiliğe sahiptirler. Biyopolimer bazlı adsorbanların bu fonksiyonel grupları, kompleksi oluşturan şelatlayıcı metal iyonları nedeniyle su numunelerinden ağır metallerin uzaklaştırma verimliliğini artırır.

## 2. KARBONHİDRAT BİYOPOLİMERLERİ VE ADSORPSİYON ÖZELLİKLERİ

Doğal olarak oluşan birçok biyopolimer kolayca temin edilebilir. Bunlardan bazıları atık su arıtımı için uygun bulunmuştur. Bu bölümde, atık su arıtımı için potansiyele sahip olduğu kanıtlanan karbonhidrat esaslı biyopolimerler ve bu konuyla ilgili yapılan çalışmalar literatür özeti şeklinde verilmiştir.

### 2.1. Kitosan

Kitosan, doğada en bol bulunan biyopolimerlerden biri olan kitinin deasetilasyonu ile elde edilir. Yenilenebilir, ekonomik ve yaygın olarak bulunabilen bir biyomateryaldir. Buna ek olarak biyolojik olarak parçalanabilir, biyolojik olarak uyumlu ve pozitif yüklü toksik olmayan mukoadezif biyopolimerdir. Kitin, N-asetil glukozaminden oluşur ve selülozdan sonra en bol bulunan doğal polisakkarittir. Gıda endüstrisi, kozmetik, ilaç dağıtımı vb. alanlarda geniş uygulamaları vardır. Kitosan, pozitif yüklü bir biyopolimerdir ve genellikle adsorpsiyon amacıyla boncuk şeklinde kullanılır. Kitosanın pul formundan ziyade boncuk formunda uygulanması, yüksek özgül yüzey alanı nedeniyle. Ancak boncuklar ayrıca düşük mekanik mukavemet, kırılabilir yapı vb. gibi bazı dezavantajlara sahiptir ve bu nedenle gerçek uygulamalar için uygun değildir. Uygun inorganik malzemelerle veya bazı uyumlu biyopolimerlerle kimyasal modifikasyon yoluyla dezavantajlarının önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Zincirinde hidroksil (-OH) ve amino (-NH<sub>2</sub>) grupları gibi farklı fonksiyonel gruplar bulunur. Bu gruplar, organik madde ve

geçiş metal iyonlarının uzaklaştırılması için koordinasyon ve reaktif bölgeler olarak hareket ederler. Amino grupları asidik ortamda protonlanabilir. Kitosan mükemmel antibakteriyel özelliğe sahiptir ve doplama yoluyla bu özellik geliştirilebilir. Kitosan, çevresel iyileştirme amacıyla sıklıkla kullanılan en bol biyopolimerlerden biridir. Bununla birlikte, kitosan tanecikleri, jel oluşturma ve 5.5 'in altındaki bir pH'da çözünme eğilimine sahiptir. Bu dezavantajın üstesinden gelmek için diğer polimerlerle çapraz bağlanması sıklıkla denenir. Segment hareketliliği genellikle çapraz bağlanma nedeniyle azalır (Vakili, 2016). Kitosanı modifiye etmek için epiklorohidrin, glutaraldehit, etilen glikol diglisidil eter vb. gibi çeşitli çapraz bağlayıcılar kullanılmaktadır (Bhatnagar, 2009). Kitosanın katyonik yapısı ve ağır metal iyonlarının katyonik yapısı nedeniyle pH 6-6.5 olan sulu çözeltiden ağır metal iyonlarının uzaklaştırılmasında uygulanmıştır (Salehi, 2016).

Literatürde kitosan kullanılarak ağır metallerin atık sulardan uzaklaştırılması için birçok çalışma mevcuttur.

Kitosan nanofiber bazlı adsorbanların kullanımı, ağır metal iyonlarını sudan uzaklaştırmanın mükemmel bir yoludur. Kitosan boncukları, ağır metal iyonlarının daha iyi adsorpsiyonu için polimerik ağı genişletmek amacıyla 4-aminobenzoik asit ile aşılansmıştır. 4-aminobenzoik asit aşılı çapraz bağlı kitosan (FGCX) ve pH, dozaj, başlangıç konsantrasyonu, temas süresi, iyonik güç ve çalkalayıcı hızı gibi çeşitli parametreler çalışılarak ağır metal adsorpsiyonunda kullanılmıştır. Langmuir ve DKR izoterm modelleri gibi farklı izoterm



modelleri adsorpsiyon verilerine yerleştirilmiştir. Bazı metallerin Freundlich ve Temkin modelleri ile uyumlu olduğu gözlenirken; diğerleri Langmuir modelini izlediği saptanmıştır. FGCX adsorbanı metal iyonlarını kimyasal adsorpsiyon, iyon değişimi ve elektrostatik etkileşimlerle uzaklaştırdığı belirlenmiştir. Bu biyosorbent ayrıca metal iyonlarının ortadan kaldırılması için endüstriyel atık su üzerinde test edilmiştir (Igberase, 2017).

Çapraz bağlı kitosan mikroküreleri, atık sudan  $Cd^{2+}$  iyonlarının daha iyi adsorpsiyonu için poli(metakrilik asit) (PMAA/CCS) ile modifiye edilmiştir. PMAA, CCS yüzeyinde karboksilik grupların mevcudiyeti nedeniyle atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) ile CCS mikrokürelerine kolayca aşılabilir. PMAA/CCS nanokompoziti,  $Cd^{2+}$  iyonlarının sulu çözeltiden, optimum pH 5'te 1 saat içinde adsorbe ettiği görülmüştür (Huang ve ark., 2013).

Glutaraldehit-kitosan ile aşılabilir poli (akrilik asit) nano-kompozit adsorban (PAACS), kullanılarak atıksu numuneleri ağır metal adsorpsiyonu çalışılmıştır. Bu adsorban, pH 5.0 da 734.3 mg/ g bir adsorpsiyon kapasitesine ulaşmıştır. PAACS nanokompoziti, sulu çözeltiden  $Pb^{2+}$  adsorpsiyonu için oldukça seçici olduğu belirlenmiştir (Ge ve ark., 2016).

$Zn^{2+}$  suda ağır bir metaldir ve ayrıca ciddi çevre sorunlarına neden olan, dokularda birikerek insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara sebep olan bir ağır metaldir. Yapılan çalışmada kitosan biyopolimerleri, asetil ve amin grupları nedeniyle sulu çözeltiden  $Zn^{2+}$  adsorpsiyonunu arttırdığı gözlenmiştir. Adsorpsiyon,  $Zn^{2+}$  iyonlarının

başlangıç konsantrasyonu, pH, temas süresi ve sıcaklık gibi çeşitli parametrelerin bir fonksiyonu olarak  $Zn^{2+}$  iyonlarının uzaklaştırılması için çalışılmıştır. Kitosan nanoparçacıkları için parçacık boyutu, 190.84 nm olarak, kitosan mikropartikülleri ve nanopartiküller için optimum pH sırasıyla 7 ve 5 olarak belirlenmiştir.  $Zn^{2+}$  iyonlarının maksimum uzaklaştırma verimi, kitosan mikropartikülleri ve kitosan nanopartikülleri için sırasıyla %90.80 ve %99.10 olduğu, kitosan makro ve nano boyutlu partiküller tarafından maksimum adsorpsiyon kapasitesi sırasıyla 196.07 ve 370.37 mg/g olduğu saptanmıştır. Adsorpsiyon kinetiği, yalancı ikinci dereceden bir model izlemiştir. Nanokitosan, kitosan partikülleri ile karşılaştırıldığında, nano boyutlu partiküller, daha büyük adsorpsiyon yüzeyleri ve daha fonksiyonel gruplar nedeniyle Çinko metalleri için daha yüksek bir uzaklaştırma verimine sahip olduğu belirlenmiştir (Seyedmohammadi ve ark., 2016).

Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), kitosan ile fonksiyonelleştirilmiş manyetik grafen oksit (mGO) üzerine dahil edilerek hazırlanan nano-biyokompozit, çözeltide tekli ve ikili sistemlerde  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$  iyonlarının uzaklaştırılması için bir adsorban olarak başarıyla kullanılmıştır. Tekli sistem, 0.3 g/L dozaj ile pH 5'te sırasıyla 2.33 ve 1.05 mg/g adsorpsiyon kapasiteleri ile  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$  iyonları için daha iyi adsorpsiyon davranışı sergilediği gözlenmiştir. Yalancı birinci dereceden kinetik model,  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$ 'nin adsorpsiyon kinetik modellerine iyi uymuştur. Adsorpsiyon işleminin kendiliğinden ve endotermik olduğu belirlenmiştir. CS/EDTA-sılan/mGO nanokompoziti,  $Pb^{2+}$ 'nin daha düşük yarıçapından dolayı

$Cd^{2+}$ dan daha yüksek  $Pb^{2+}$  adsorpsiyonu göstermiştir (Shahbazi ve ark., 2019).

3-aminopropiltrioksilan (APTES) ve kitosan kullanılarak adsorban olarak mezogözenekli silika (AMS) elde edilmiştir. Gözenek boyutu (3.38 nm) ve gözenek hacmi (0.036cm<sup>3</sup>/g) ile 511.77 m<sup>2</sup>/g'lik yüksek bir yüzey alanı göstermiştir. Mezogözenekli silika yardımıyla  $Cd^{2+}$  ve  $Pb^{2+}$  adsorpsiyonu sulu çözelti içinde uygulanmıştır. Temas süresi, pH,  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$  konsantrasyonu ve elektrolit konsantrasyonları gibi çeşitli parametreler, katı/çözelti ara yüzeyinde adsorpsiyon mekanizmasını gözlemlemek için kullanılmıştır. Langmuir adsorpsiyon izotermi deneysel sonuçlara uydurulmuştur.  $Cd^{2+}$  ve  $Pb^{2+}$ 'nin adsorpsiyonu en iyi yalancı ikinci derece kinetik ile tanımlanmıştır.  $Cd^{2+}$  ve  $Pb^{2+}$ 'nin adsorpsiyon kapasitesi sırasıyla 11.54 mg/g ve 8.59 mg/g olduğu belirlenmiştir (Lalchhingpui ve ark., 2017).

Kitosan/sporopollenin mikrokapsüllerinin sentezi, kitosan ve sporopollenin çapraz bağlanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Mikrokapsüller, ağır metallerin atık sulardan uzaklaştırılmasında uygulanmıştır. Adsorpsiyon yeteneği, pH, sıcaklık ve adsorpsiyon süresi gibi çeşitli parametrelerin bir fonksiyonu olarak değerlendirilmiştir. Kitosan/sporopollenin kompozitinin, adsorpsiyon kapasitesi  $Cu^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  ve  $Ni^{2+}$  için sırasıyla maksimum 1.34, 0.99, 0.77, 0.71 ve 0.58 mmol/g olarak bulunmuştur. Bu kompozit, atık sudan hedef metal iyonlarının uzaklaştırılması için kullanılabilir (Sargın ve ark., 2015).

Kitin nanolifleri (CNF), bir kitin mikropartikülleri (CMP'ler) süspansiyonunun öğütülmesi ve sıkıştırılmasıyla, dondurarak kurutma yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır (Liu ve ark., 2013). CMP'li CNF, kimyasal yapı ve kristal yapı değiştirilmeden nanofibrillere değiştirildi. Sırasıyla 330.15, 134.72, 141.08, 134.03, 303.49 ve 16.28 mg/g adsorpsiyon kapasiteleri ile  $Cd^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ve  $Cr^{2+}$  iyonlarının uzaklaştırılmasında adsorban olarak kullanılmıştır. Bu kitin kompoziti sert bir yapıya, iyi adsorpsiyon aktivitesine ve ayrıca sulu çözeltide metal iyonları ile gelişmiş bağlanmaya sahiptir. Bu sert kompozit suda ve diğer çözücülerde çözünmemiş ve CNF'lerin yüksek yüzey alanı ve iyi gözenek boyutu göstermiştir. Bu parametreler, çeşitli ağır metal iyonlarının adsorpsiyon kapasitesini arttırmıştır (Yang ve ark., 2015).

## 2.2. Selüloz

Selüloz karbonhidrat biyopolimeridir ve  $\beta(1\rightarrow4)$  glikozit bağlarının D-glikoz türevinden elde edilir. Selüloz hidrofilik bir yapıya sahiptir, biyolojik olarak parçalanabilir, biyolojik olarak uyumlu ve suda çözünmezdir. Selüloz bitki yapraklarında, pamukta, ahşapta bulunur ve kolay erişilebilir düşük maliyetli bir malzemedir. Selüloz bazlı nanokompozitler, ağır metal iyonlarının uzaklaştırılması ve su örneklerinden şelasyon için iyi bir adsorpsiyon göstermiştir (Daochalermwong ve ark., 2020). Ağır metallerin sudaki etkisini en aza indirmek için atık su arıtımında çoğunlukla selüloz bazlı kompozitler ve nanokompozit malzemeler kullanılmıştır. Tarımsal atıklardan büyük miktarlarda üretilmiştir ve ağır metal iyonlarının sulu

çözeltiden uzaklaştırılması için uygun hidroksil grupları içermektedir (Abdolali ve ark., 2014). Düşük maliyeti ve kolay modifikasyonu nedeniyle farklı biyomalzemelerden hazırlanabilir. Hidroksil grupları, düşük adsorpsiyon giderme kapasiteleri göstermiştir ve bu nedenle, bir anyonik ligand olarak karboksil, amidoksim, amid, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) kükürt ve trietilentetramin gibi diğer malzemelerle modifiye edilmesi gerekmektedir. Bu modifiye edilmiş selüloz bazlı adsorbanlar, ağır metal iyonlarının uzaklaştırılmasında ( $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ) yaygın olarak kullanılmaktadır. Modifiye edilmiş selüloz, iyi adsorpsiyon kapasitesi ve su numunelerinden ağır metal iyonlarının değiştirilmemiş numunelere göre daha iyi uzaklaştırılmasını göstermiştir.

Poliakrilamid kompozit (CMC/PAM) ile kaplanmış karboksimetil selüloz, sulu çözeltiden ağır metal iyonlarının adsorpsiyonu için sentezlenmiştir. Bu kompozit,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$  iyonlarının güçlü adsorpsiyonu için hidrojellerden yapılmıştır ve bu aynı zamanda Langmuir adsorpsiyon modelini ve yalancı ikinci dereceden kinetik modeli de desteklemiştir (Godiya ve ark., 2019).

Karboksimetil selüloz kaplı  $Fe_3O_4$  (CMC- $Fe_3O_4$ ) nanompozit kullanılarak sudan  $Pb^{2+}$  iyonlarının uzaklaştırılması gerçekleştirilmiştir.  $Pb^{2+}$  için 152.0 mg/g adsorpsiyon kapasitesi ile saf  $Fe_3O_4$ 'ten daha iyi bir adsorpsiyon kapasitesi sergilediği rapor edilmiştir. Sonuçlar,  $Pb^{2+}$  adsorpsiyonunun Langmuir izoterm modeline ve yalancı ikinci dereceden kinetik modele iyi uyduğunu ortaya koymuştur. Bu nanokompozit, atık sudan  $Pb^{2+}$  iyon

adsorpsiyonundan sonra adsorbanın tekrar kullanılabilirliği ve stabilitesi için sürekli adsorpsiyon ve desorpsiyon döngüleri için test edilmiştir (Fan ve ark., 2019).

Manyetik karboksimetil kitosan nanokompozitleri (CMC manyetik nanokompozitler) birlikte çöktürme yöntemi ile Charpentier ve ark. (2016) tarafından hazırlanmıştır. CMC manyetik nanokompozitler,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Zn}^{2+}$  ağır metallerinin sulu çözeltilerden daha iyi ve hızlı uzaklaştırılmasını sağlamıştır. CMC manyetik nanokompoziti, saf kitosan ile karşılaştırıldığında çok sayıda bağlanma alanı içerdiği ve ağır metal iyonlarının adsorpsiyon kapasitesini arttırdığı belirlenmiştir. Adsorpsiyon verileri, Freundlich adsorpsiyon izotermine en iyi şekilde tanımlandığını ortaya koymuştur. Bu adsorbanın geri dönüştürülebilirliği ve yeniden kullanılabilirliği de geliştirilmiştir. CMC manyetik nanokompozit, temiz içme suyu üretmek için endüstriyel atık su arıtımında da uygulanmıştır.

Karboksimetil selüloz (CMC) hidrojel boncukları, süspansiyonda çapraz bağlama maddesi olarak epiklorohidrin (ECH) kullanılarak etkili bir şekilde Yang ve ark. (2011) tarafından hazırlanmıştır. FTIR spektrumunda, ECH ve CMC arasında hidrojel boncuk oluşumunun belirgin kanıtını sağlayan bir eter bağlantısı görülmüştür. Bu hidrojel, metal parçacıklarının oksijen grupları üzerine bağlanmasının, X-ışını karakterizasyonu ile desteklenen malzemenin kristallikliğini arttırdığını göstermiştir. Ağır metallerin adsorpsiyonu optimize edilmiş pH'ta araştırılmış ve adsorbanın adsorpsiyon kabiliyetini belirlemek için Freundlich ve Langmuir izoterm modellerine

yerleştirilmiştir. Hidrojelin metal partiküller için maksimum adsorpsiyon kapasitesi Cu(II), Ni(II) ve Pb(II) için sırasıyla 6.49, 4.06 ve 5.15 mmol/g olarak belirlenmiştir.

Epiklorohidrin çapraz bağlı karboksimetil selüloz lifleri (ECMCF) hazırlanmış ve 20-90 mm arasında küçük lifli şekiller ve partikül boyutlarında ECMCF lifleri elde edilmiştir. Bunlar kaba ve gözenekli bir yüzeye sahipti. ECMCF 'nin bu karakteri, Cd<sup>2+</sup>'nın sudan uzaklaştırılması için adsorpsiyon performansını arttırmıştır. Bunlar pH 6.0 'da daha yüksek sorpsiyon göstermiş ve adsorpsiyon kapasitesi 150.60 10.47 mg/g olarak belirlenmiştir (Wei ve ark., 2015).

Dış pirinç katmanlarından elde edilen ve yeterince kullanılmayan bir yan ürün olan pirinç kepeği, bolluğu, çevre dostu olması ve düşük maliyeti nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Wu ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada, pirinç kepeğinin ana bileşenleri olan selüloz, hemiselüloz ve lignin fraksiyonlanmış ve bunların Cd<sup>2+</sup> adsorpsiyon kapasiteleri, davranışları ve mekanizmaları ayrıntılı olarak incelenmiştir. Selülozun Cd<sup>2+</sup> için adsorpsiyon kapasitesi, 10 dakikalık denge süresi içinde 5.79 mg/g dir; bu değer hemiselüloz ve ligninin sırasıyla 1.8 ve 3.6 katı olduğu belirlenmiştir. Selüloz üzerine Cd<sup>2+</sup> adsorpsiyonu tek tabakalı yüzey davranışı sergilerken, hemiselüloz ve lignin için heterojen adsorpsiyon davranışı gözlemlenmiştir. Selülozun çok delikli çubuk morfolojisi ve hemiselülozun gözenekli bloklu yapısı gözlenirken, lignin kompakt ve aglomere bloklu yapı göstermiştir. Sonuç olarak, pirinç kepeğinden elde edilen selülozun, Cd<sup>2+</sup> giderimi için adsorban olarak uygulanma potansiyelinin büyük olduğunu vurgulamaktadır.

Ağır metal iyonlarının adsorpsiyonunda en önemli problemlerden biri, adsorbanların dar gözenek yapısından kaynaklanan yavaş adsorpsiyon kinetiğidir. Qiao ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada yeni bir süper gözenekli küresel selüloz adsorban, ağır metal iyonlarının yüksek verimli adsorpsiyonu için kolay ancak etkili bir ön kimyasal çapraz bağlama stratejisi ile üretilmiştir. Bu strateji ile, komşu selüloz zincirleri çapraz bağlandı ve büyük selüloz kümeleri halinde birleştirildi, bu sayede gözenek boyutu 0.5-1.0 mm olan benzersiz süper gözenekler oluşturulmuştur. Hazırlanan süper gözenekli selüloz boncukları glutamik asit ile modifiye edilmiş ve ardından adsorpsiyon değerlendirmesi için uygulanmıştır. Adsorbanın ağır metal iyonlarına ( $\text{Cu}^{2+}$  için 98.86 mg/g ve  $\text{Co}^{2+}$  için 102.29 mg/g) ve hızlı ayırmaya (30 dakika içinde denge) karşı olağanüstü adsorpsiyon yetenekleri sergilediği belirtilmiştir. Ek olarak, selüloz boncuklar ayrıca mükemmel geri dönüştürülebilirlik ve rejenerasyon göstermiştir. Düşük maliyetli ve çevre dostu selüloz desteği ile birlikte, süper gözenekli selüloz boncuklar yeşil ve sürdürülebilir olarak kabul edilir ve ağır metal iyonlarının işlenmesinin endüstriyel uygulaması için büyük potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir.

Bir başka çalışmada, ağır metal iyonlarını etkin bir şekilde adsorbe edebilen tiyol işlevli bir selüloz nanofiber membranın üretimi yapılmıştır. Tiyol, elektrospun selülozasetat nano liflerinin deasetilasyonu ve ardından bir tiyol öncü molekülünün esterleştirilmesiyle üretilen selüloz nano liflerinin yüzeyine dahil edilmiştir. Adsorpsiyon mekanizması, adsorpsiyon izotermeleri kullanılarak araştırılmıştır.  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  ve  $\text{Pb}^{2+}$  iyonları için Langmuir



izotermindeki maksimum adsorpsiyon kapasiteleri sırasıyla 49.0, 45.9 ve 22.0 mg/g olarak belirlenmiştir. Zamana bağlı adsorpsiyon kapasiteleri, yalancı ikinci dereceden bir kinetik modeli izlemiştir; bu, çift yüklü her metal iyonunun kimyasal adsorpsiyonunun, yüzeyde iki tiyol grubu ile gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, potansiyellerini ve su iyileştirme uygulamalarına yönelik uygulanabilirliklerini genişletmek için biyoyumlu, toksik olmayan ve sürdürülebilir selüloz malzemeler üzerindeki yüzey işlevselliğinin önemini vurgulamaktadır. (Yeol ve ark., 2020).

Modifiye edilmiş selüloz hidrojelleri Zhao ve ark. tarafından (2019) akrilamid ve akrilik asit ile harmanlanarak ve çapraz bağlanarak hazırlanmıştır. Optimize edilmiş koşullar altında, modifiye edilmiş selülozda maksimum adsorpsiyon kapasitesi  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Cd}^{2+}$  iyonlarının hidrojelleri sırasıyla 157.51, 393.28 ve 289.97 mg/g olarak belirlenmiştir. Ayrıca metal iyonu adsorpsiyon prosesi, yalancı ikinci dereceden hız denklemi ve Langmuir adsorpsiyon izotermiyle uyumlu olduğu saptanmıştır. Adsorpsiyon işlemi, iyon değiştirme mekanizması tarafından kontrol edilmiştir.

Bir başka çalışmada, bir kompozit adsorban hazırlamak için selüloz ve kitosan gibi biyolojik olarak parçalanabilen, çevre dostu malzemelerin kimyasal modifikasyonu gerçekleştirilmiş ve kontamine sulu atıklardan Cr, Pb ve Cd gibi ağır metal iyonlarının adsorpsiyonu için optimize edilmiş bir koşul oluşturulmuştur. Daha iyi adsorpsiyon özelliklerine sahip olmak için HCl ve  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ile muamele edilmiştir. Aksine, kitosan modifikasyonu asetaldehit çözeltisi ve asetik asit ile

gerçekleştirilmiştir. Bileşik adsorban, belirli bir oranda (2g:1g) modifiye edilmiş selüloz ve kitosan içeren bir karışım olarak elde edilmiştir. Metal konsantrasyonu ve adsorban dozu 60 ppm ve 1.0 g/L olduğunda pH 4 'te Cr, Pb ve Cd'nin kompozitler tarafından maksimum uzaklaştırma verimliliği sırasıyla %56, 85 ve %94 olduğu görülmüştür. Cr, Pb ve Cd'nin kompozitler tarafından maksimum adsorpsiyonu, metal konsantrasyonu ve adsorban dozajı 120 ppm ve 1.0 g/L olduğunda pH 4'te sırasıyla 55, 80 ve 91 mg/ g olarak belirlenmiştir (Rahaman ve ark., 2021).

Yüksek derecede toksik boyalar ve ağır metal iyonları içeren tekstil atık sularının arıtılması, acilen ele alınması gereken ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Karboksilatlanmış selüloz kumaş filtreler, 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil (TEMPO) aracılı oksidasyon ile üretilmiş ve simüle edilmiş atık sudan adsorpsiyon yoluyla ağır metal iyonlarını ve boya ve boyaları verimli bir şekilde uzaklaştırmak için kullanılmıştır. Karboksilatlanmış selüloz kumaşlar, çekme deneyleri ve diğer dokuma olmayan muadilleri ile karşılaştırmalarla kanıtlanan mükemmel mekanik özellikler sergilemişlerdir. Pb<sup>2+</sup> için maksimum adsorpsiyon kapasitesi 81.30 mg/g olarak belirlenmiştir. Selüloz kumaşlardan spiral sargılı bir kartuş üretilmiş ve aynı anda 2,0 mg/L Pb<sup>2+</sup> içeren çok bileşenli atık suya karşı uzun vadeli bir filtrasyon performansı gösterilmiştir. 3,6 g filtrenin atık su arıtma kapasitesi, orijinal selüloz kumaşlarınkinden 10 kat daha yüksek olan 21.7 L 'ye kadar çıkmıştır. Filtrelerin geri dönüşümü ve yeniden kullanılabilirliği de gösterildi, bu da karboksilatlı selüloz kumaşların atık su arıtımı için

sürdürülebilir filtreler olarak kabul edilebileceğini göstermiştir (Li ve ark., 2020).

### 2.3. Aljinat

Aljinat lineer zincirli bir kopolimerdir ve ayrıca iki ünite mannuronik asit ve guluronik asit ile bağlantılıdır. Alglerden ve bazı bakterilerden elde edilir. Düşük maliyeti, biyolojik olarak parçalanabilirliği, toksik olmaması ve biyouyumluluğu nedeniyle atıksu arıtımında uygulanmaktadır ( Sibaja ve ark., 2015; Papageorgiou ve ark., 2006). Genel olarak kuru aljinat, düşük gözeneklilik, gevşek ağ yapısı, zayıf su direnci özelliği ve ağır metal iyonlarının düşük difüzyonu nedeniyle daha düşük bir adsorpsiyon kabiliyeti sağlar (Daochalermwong ve ark., 2020). Bu nedenle, yüksek gözenekli aerogeller ve yüksek gözenekli bazlı aljinat malzemelerin çoğu, ağır metal iyonlarının atık sudan uzaklaştırılması için uygulanır. Aljinat ayrıca ağır metal iyonlarının uzaklaştırılmasında iki tip mekanizma izler ve bunlar adsorpsiyon ve iyon değişimini içerir (Yu ve ark., 2013). İyonotropik metal aljinatların daha yüksek adsorpsiyon kapasitesi aktivitesi, ağır metal iyonlarını ortadan kaldırmak için kullanılmıştır (Kong ve ark., 2020). Polielektrolit, kimyasal stabiliteyi, ağır metallerin seçici adsorpsiyonunu geliştirmek ve ağır metal iyonlarının adsorpsiyonunu arttırmak için aljinatlara dahil edilir (Zhan ve ark., 2018).

Cataldo ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada sulu çözeltiden  $Pb^{2+}$  iyonlarının adsorpsiyonu için bir aktif karbon-kalsiyum aljinat kompoziti (ACAA-Ca) kullanmıştır. Bu adsorpsiyon iyonik kuvvetli

(0.75 mol/L) NaCl ortamındaki  $Pb^{2+}$  'yı uzaklaştırmak için yapılmış ve ayrıca test edilmiştir. ACAA-Ca kompoziti, sulu çözeltiden  $Pb^{2+}$  uzaklaştırma sonuçlarına uyması için Langmuir ve Freundlich izoterm modellerini tercih etmiştir.  $Pb^{2+}$  'nın sulu çözelti içinde adsorpsiyonu için sözde birinci derece, sözde ikinci derece ve Vermuelen kinetiği uygundur. Kalsiyumaljinat (AA-Ca), maksimum adsorpsiyon kapasitelerinin sırasıyla 15.7 ve 10.5 mg/ g olduğu ACAA-Ca kompozitinde aktifleştirilmiş karbonun (AC) adsorpsiyon kapasitesini geliştirdiği görülmüştür.

Polivinil alkol/sodyum aljinat (PVA/SA) boncukları, Isawi (2020) tarafından polivinil alkol (PVA), sodyumaljinat (SA) ve çapraz bağlama ajanı olarak kullanılan glutaraldehit karışımı kullanılarak hazırlanmıştır. Bu nano-kompozit boncuklar, ağır metal iyonlarının eliminasyonu için adsorban olarak kullanılmıştır. Adsorpsiyon verileri, sözde birinci dereceden modele ve Langmuir modeline uymuştur. Bu adsorban, ağır metal iyonlarının maksimum adsorpsiyon kapasitesini göstermek için pH 6.0'da optimize edilmiştir. Ağır metal iyonlarının adsorpsiyon kapasitesini hafifçe azaltan 10 döngü için yeniden kullanılabilirlik gerçekleştirilmiştir.

Kadmiyum metal iyonlarını sulu çözeltiden adsorplamak için Ebrahimi ve ark. (2019) tarafından poli (vinil alkol) (PVA) ve sodyum aljinat kullanılarak kompozit nanolifler hazırlanmıştır. Bu lifler, elde edilen çözeltilerden nano lifler üretmek yerine PVA (ağırlık %10)/sodyumaljinat (%2 ağırlık) elektro-eğirmesi ile sentezlenmiştir. Adsorban olarak poli(vinil alkol)/sodyum aljinat nanolifleri 40/60

oranında seçilmiştir. Sentezlenen adsorban, başlangıç metal iyon konsantrasyonu, pH, sıcaklık, temas süresi ve karıştırma hızı gibi çeşitli parametrelerin bir fonksiyonu olarak kadmiyum metalini uzaklaştırmak için kullanılmış ve parametrelerin optimum değerleri elde edilmiştir. Adsorpsiyon işleminin sonuçları deneysel verilere uyacak şekilde uyarlanmıştır. Langmuir modeli daha iyi olduğu ve bu model aracılığıyla maksimum adsorpsiyon kapasitesi 93.163 mg/g adsorban olarak elde edilmiştir.

De Castro Alves ve ark. (2019), manyetik nanopartiküller ( $Fe_3O_4$  NP'ler) üzerine kaplanmış sodyum aljinatı, çapraz bağlayıcı olarak  $Ca^{2+}$  iyonları ile küresel yapılar oluşturmak için bir ters birlikte çöktürme işlemi kullanarak hazırlamışlardır.  $Cd^{2+}$  iyonlarının etkili bir şekilde uzaklaştırılması için manyetik aljinat aktif karbon (MAAC) boncukları oluşturdu. MAAC boncuklarının adsorpsiyon davranışı, pH, temas süresi, adsorban dozajı, ajitasyon ve dönüş hızının sudan  $Cd^{2+}$  iyonu giderimi üzerindeki etkisi ile araştırılmıştır.  $Cd^{2+}$  'nın uzaklaştırma yüzdesi, pH 6'da MAAC kürecikleri ile %90 olmuştur. Maksimum adsorpsiyon kapasitesi  $Cd^{2+}$  için 150 mg/g olarak belirlenmiştir. MAAC boncuk deneysel verileri, atık sudan iyi bir uzaklaştırma verimliliği ve kolay rejenerasyon kaydetmiştir.

Kadmiyum (Cd) ve kurşunun (Pb) kalsiyum aljinat boncukları (CAB) tarafından kesikli sistemlerde sulu çözeltilerden adsorpsiyonu, Alfaro-Cuevas-Villanueva ve ark. (2014) tarafından araştırılmıştır. Aljinat boncukları arasındaki iyi çekim nedeniyle  $Pb^{2+}$  sorpsiyonunun  $Cd^{2+}$  sorpsiyonundan daha yüksek bir kinetik hız sabiti gösterdiği

belirlenmiştir. Langmuir-Freundlich (LF) ve Dubinin-Radushkevich (D–R) izoterm modelleri  $Cd^{2+}$  ve  $Pb^{2+}$ 'nin CAB tarafından adsorpsiyonu için uygun olduğu ve adsorpsiyon kapasitesi  $Cd^{2+}$  için 27,4 mg/g ve  $Pb^{2+}$  için 150.4 mg/g olduğu belirlenmiştir CAB, 6 ve 7 arasındaki pH'da daha yüksek adsorpsiyon aktivitesi göstermiştir.

Sangeetha ve ark. (2018), bir hidroksiapatit-aljinat/jelatin nanokompozitini,  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$  'nın uzaklaştırılması için bir adsorban olarak kullanmıştır. Hidroksiapatit-aljinat/jelatin nanokompozitinin adsorpsiyon kapasitesi, adsorban dozajı, adsorbat konsantrasyonları ve temas süresi gibi çeşitli parametrelerin etkisi altında incelenmiştir. Yalancı ikinci dereceden denklem ve Langmuir izoterm modeli, ağır metallerin hidroksiapatit/aljinat kompozit adsorban ile adsorpsiyonu için uygun olduğu belirlenmiştir. Hidroksiapatit-aljinat kompozit ve hidroksiapatit/Aljinat/jelatin kompozitin adsorpsiyon kapasitesi,  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$  için 550 ve 361 mg/g ve  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$  için 616 ve 388 mg/g Langmuir izoterm modelleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu nanokompozit, sulu ortamda ağır metallerin neden olduğu engelleme nedeniyle adsorpsiyon kapasitesini azaltmıştır. Böylece atık su arıtımı için seramik/polimer kompozitlerin hazırlanması önerilmiştir.

Sodyum aljinat üzerine hidrazit modifikasyonu kullanılarak ağır metal iyonlarının ayrılması ve uzaklaştırılması için yeni bir potansiyel adsorban Shi ve ark. (2022) tarafından hazırlanmıştır. Emicinin yapısal ve kimyasal özelliklerinin karakterizasyonu, dialdehit sodyum aljinat (DSA) aşılınmış adipik asit dihidrazidin (AAD) çok önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Adsorpsiyon işlemi, Freundlich izotermi

ve yalancı ikinci derece kinetik modelleri ile iyi bir korelasyon göstermiştir. Ek olarak, Hg<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> ve Cu<sup>2+</sup> için adsorpsiyon kapasiteleri sırasıyla 7.833, 2.036, 4.766 ve 3.937 mmol/ g olarak bulunmuştur. Sorpsiyon için termodinamik parametre, işlemin endotermik ve kendiliğinden olduğunu göstermiştir. Ayrıca, 10 kez adsorpsiyon-desorpsiyon geri dönüşümlerinden sonra, adsorbanın adsorpsiyon verimi biraz azalmıştır. Sonuç olarak, hazırlanan adsorbanın, pratik su kirliliği saflaştırmasında büyük potansiyele sahip olduğu ifade edilmiştir.

*Saccharomyces cerevisiae*'nin biyokütlesi, bira üreten endüstriler tarafından yaygın olarak üretilen ve bir biyosorbent olarak kullanım için umut vaat eden bir yan üründür; ancak sulu çözeltilerdeki parçalanma nedeniyle doğada kullanımı pratik değildir. De Rossia ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada, aljinat bazı kullanılarak yapılan *Saccharomyces cerevisiae* biyokütlesinden boncuklar geliştirmeyi ve sudaki toksik metaller Pb<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup> ve Cd<sup>2+</sup> 'nin adsorban potansiyelini değerlendirmeyi amaçlanmıştır. Adsorban materyal hazırlanmış ve karakterize edilmiştir. Adsorpsiyon pH'ı belirlenmiş ve adsorpsiyon dengesi izotermal modeller kullanılarak analiz edilmiştir. Gerçek atık su içeren adsorpsiyon testleri de yapılmıştır. Adsorpsiyon kapasitesi, sırasıyla 179.1, 72.1 ve 30.7 mg/ g olarak belirlenmiş ve Langmuir modeli tarafından tahmin edilen maksimum tek tabakalı çıkarma yeteneği, Pb<sup>2+</sup> > Cr<sup>6+</sup> > Cd<sup>2+</sup> sırasında meydana gelmiştir. Gerçek atık sudaki uygulama, 3.0 g/ Ln biyosorbent dozları kullanılarak Cr<sup>6+</sup> 'nin %95'inden daha üstün bir giderim sağlanmıştır.

Genel olarak, üretilen biyosorbent kompozitin çalışılan ağır metallerin uzaklaştırılması için umut verici olduğu kanıtlanmıştır.

#### **2.4. Lignin**

Lignin, lignoselüloz biyokütlesi içeren doğal karbonhidrat biyopolimerlerinden biridir ve ayrıca karboksil, fenolik hidroksil, metoksi ve alifatik gruplar gibi fonksiyonel grupları içeren üç boyutlu bir ağ yapısı olarak bulunur. Lignin, biyorafineri endüstrilerinde büyük ölçekte hazırlanır ve ayrıca dağıtıcılar, plastikleştirici yapıştırıcılar ve adsorbanlar gibi çeşitli uygulamalarda kullanılır. Normal olarak lignin, ağır metal iyonları ile daha az çekim nedeniyle düşük adsorpsiyon kapasitesi göstermiştir (Lora ve Glasser, 2002). Lignin, ağır metallerin sudan uzaklaştırılmasını arttırmak için amin ve sülfonik gruplarla işlevselleştirilmektedir (Petemele ve ark., 1999; Xiao ve ark., 2019). Ağır metal iyonlarını sulu çözeltiden etkili bir şekilde çıkarması ve ayrıca yüzey alanındaki artış, difüzyondaki artış ve modifiye fonksiyonel gruplarla dispersiyon ve gelişmiş adsorpsiyon aktivitesi nedeniyle kopolimerize edilmiştir (Li, Chen ve Ge, 2017).

Li ve ark. (2015) tarafından ligninosülfonat gibi lignin türevleri,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{SO}_2$  ve  $\text{Ca(OH)}_2$  ile biyokütleden bir sülfid hamurlaştırma yöntemi kullanılarak ayrılmıştır. Elemental kükürtün %6.5 'i lignin sülfonat içermektedir. Bu lignosülfonat, ağır metal iyonlarının sulu çözeltiden uzaklaştırılması için kullanılmıştır. Bu nedenle, çapraz bağlama maddesi epiklorohidrin ile Na-Alginat ile aşılansız Lignosülfonat kullanılmıştır. pH5.0, 30 0C'de maksimum adsorpsiyon



kapasitesi (27.1 mg/g) ile  $Pb^{2+}$  iyonlarının adsorpsiyonu için toplu deneyler yapılmıştır. Bu adsorban aktivitesi, partikül içi difüzyon denklemi ve mono tabaka kaplaması için Langmuir izoterm modeli ile test edilmiştir.

Sulu çözülden ağır metal iyonlarının adsorpsiyonu için lignin adsorbanları üzerinde kaplanmış tiyol Jin ve ark. (2017) tarafından seçilmiştir. Tiyol grupları, suda çözünürlüğü, hidrofobik yapıyı azaltmış ve adsorpsiyondan sonra adsorbanı kolayca yeniden oluşturmuştur. Modifiye lignin bazlı adsorbanın (LBA) tiyol kısmı ile sentezi pH 6.0'da 72.4 mg/g,  $Cd^{2+}$  iyonları için 25°C'lik yüksek bir adsorpsiyon kapasitesi ve saf lignine göre 8.6 kat daha yüksek seçicilik göstermiştir. Yalancı ikinci derece ve Langmuir izoterm modelinin sırasıyla adsorpsiyon kinetiği ve adsorpsiyon izotermi için uygun olduğu belirlenmiştir. Bu, LBA yüzeyinde tek katmanlı adsorpsiyon ile LBA ve  $Cd^{2+}$  iyonları arasında bir kimyasal sorpsiyon olduğunu göstermiştir.

Lignin (Lig) ve çeşitli miktarlarda Lig200, Lig400, Lig600, Lig800 ve Lig1000 ile kalsine lignin ile sulu çözülden  $Cd^{2+}$ 'nin adsorpsiyonu Ogata ve ark. (2020) tarafından gerçekleştirilmiştir. Adsorbanların spesifik yüzey alanı ve gözenek hacmi dahil üzere özellikleri araştırılmış ve adsorpsiyon yeteneği ile sıcaklık, temas süresi ve etki pH'ının  $Cd^{2+}$  iyonlarının adsorpsiyonu üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Adsorban yüzeyinin özellikleri, sulu fazdan  $Cd^{2+}$  iyonlarının adsorpsiyon kabiliyeti ile ilgiliydi ve adsorbe edilen miktar ile spesifik yüzey alanı ve toplam gözenek hacimleri arasındaki

korelasyon katsayıları sırasıyla 0.872 ve 0.960 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Lig800 (91.3 mg/g) adsorpsiyon kapasitesi diğer adsorban numunelerinden daha yüksek çıkmıştır. Adsorpsiyon mekanizması,  $Cd^{2+}$  iyon adsorpsiyonundan önce ve sonra bağlanma enerjisi ve element dağılımını araştırmak için aydınlatılmıştır. Son olarak, bir hidroklorik asit çözeltisi kullanılarak Lig800'den  $Cd^{2+}$  iyonlarının desorpsiyon kabiliyeti gösterilmiştir. Burada elde edilen sonuçlar, Lig800'ün  $Cd^{2+}$  iyonlarının uzaklaştırılması için potansiyel bir aday olduğunu göstermektedir.

Çelik ve Demirtaş (2005), modifiye edilmiş ligninin biyokütle kaynaklarından metal iyonlarını etkin bir şekilde uzaklaştırılabileceğini önermiştir. Metal iyonları ile etkileşim için uygun aktif noktaların doygunluğunu temsil eden plato değerlerine ulaşmak için  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  için başlangıç konsantrasyonları 12.7 ppm'ye kadar yükseltilmiştir. Lignin üzerinde  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ve  $Cd^{2+}$  için maksimum adsorpsiyon kapasiteleri sırasıyla 11.3, 17.5 ve 7.7 m /g olarak bildirilmiştir. Maksimum adsorpsiyon yüzdesi, 330 K'de 4 saat boyunca  $Pb^{2+}$  için %96,7 ve 290 K'de 10 saat boyunca  $Zn^{2+}$  için %95,0' olarak bulunmuştur. Tüm ağır metal iyonlarının adsorpsiyonu ilk önce pH ile artmış ve  $Cu^{2+}$  için neredeyse 4.0 civarında bir plato değerine ulaşmıştır. Daha yüksek pH değerinde yüksek adsorpsiyon, metal iyonlarının iyon değişimi yoluyla lignin ile etkileşime girmesini kolaylaştırmaktadır. Kısıtlı fonksiyonel bölgeleri nedeniyle, ağır metallerin ham biyosorbentler üzerindeki adsorpsiyonunun daha az verimli olduğu Kour ve ark. (2013) tarafından keşfedilmiştir. Karboksilat, hidroksil, sülfat gibi fonksiyonel gruplar fosfat, amid

veya aminin biyosorbentler üzerindeki önemli metal bağlanmalarından sorumlu olduğu bulunmuştur. Tüm biyosorbentlerin içsel sorpsiyon özelliği, emici yüzeylerdeki etkili grupların konsantrasyonuna ve konfigürasyonuna dayanmaktadır. Biyosorbentler güçlü sorpsiyon göstermezler çünkü bu etkili bağlanma gruplarının sayısı tipik olarak düşüktür (Thirumavalavan v ark., 2010).

Ghimire ve arkadaşları (2013) çalışmalarında  $Cd^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  gibi ağır metallerin uzaklaştırılması için işlevselleştirilmiş biyosorbentlerin kullanılması gerekliliğini vurgulamıştır. Çalışmalarında, işlevselleştirilmiş biyosorbentler iyi seçicilik ve adsorpsiyon kapasiteleri göstermiştir. Ancak, atıksu arıtımında maliyet etkinliğinin araştırılması ve uygulanması bildirilmemiştir. Başka bir çalışmada, Zhan ve çalışma arkadaşları (2018) bir adsorban olarak polietilimin ile kimyasal olarak modifiye edilmiş sodyum aljinatın etkinliğini vurgulamışlardır. Modifiye edilmiş adsorban, büyük miktarlardaki karboksilik ve amino gruplarına adsorban yüzeyi ve gözenekli yapılardan dolayı olabilen  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  ve  $Pb^{2+}$ 'ye daha fazla adsorpsiyon kabiliyeti göstermiştir. Rejenerasyon çalışmaları rapor edilmiştir. Ancak maliyetinin etkinliği araştırılmamıştır (Thirumavalavan v ark., 2010).

Lignin ksantat reçinesi (LXR), iki aşamalı reaksiyonlarla alkalilignin ve karbon disülfid kullanılarak Li ve ark. (2015) tarafından hazırlanmıştır. LXR oluşumu çeşitli enstrümental tekniklerle doğrulanmış ve LXR'nin gözenekli yapısı gösterilmiştir. LXR, pH, dozaj, kinetik ve sıcaklığın etkisini içeren farklı parametrelerin bir

fonksiyonu olarak sulu çözeltilerden  $Pb^{2+}$  iyonlarını çıkarmak için kullanılmıştır. LXR, ksantat ve gözenekli yapı ilavesi nedeniyle 30 C'de alkali ligninden daha yüksek bir adsorpsiyon kapasitesi (4,8 daha yüksek) göstermiştir. Atık su arıtma prosesi için daha yüksek adsorpsiyon kabiliyeti, fizibilite ve biyoyumluluk ve çevre dostu reaksiyon sağlamıştır.

Modifiye lignin (FAL), Wang ve ark. (2020) tarafından, yüzey alanını geliştirmek için modifiye edici olarak trimerkapto-s-triazin trisodyum tuzu ile üretilmiştir. Modifiye edilmiş FAL, pH 3-6'da  $Pb^{2+}$  iyonlarının uzaklaştırılmasını artırmak için iki tip elektrostatik ve koordinasyon bağı göstermiştir.  $Pb^{2+}$  20.0 mg/g adsorpsiyon kapasitesinin yanı sıra modifiye FAL ile daha yüksek pH'da büyük miktarda  $Pb^{2+}$  iyonu adsorbe edilmiştir. Modifiye edilmiş FAL,  $Pb^{2+}$  iyonlarının yüksek oranda uzaklaştırıldığını gösterdi ve adsorpsiyon prosesleri ile FAL ve  $Pb^{2+}$  arasında iyi bir etkileşim sergilemiştir.

Ağır metaller artan sayıda kirlilik olayını artırmış ve su ve insan sağlığına ciddi zararlar vermiştir. Bu nedenle ağır metal iyonlarını ortadan kaldırmak için etkin ve verimli yaklaşımlara acil ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla Zhanga ve ark. (2019) tarafından yeni hibrit nanopartiküller, amino-fonksiyonelleştirilmiş manyetik nanopartiküller ve karboksimetillenmiş lignin arasında çapraz bağlayıcı olarak epiklorohidrin kullanılarak kolay bir yöntemle hazırlanmıştır. XRD, FTIR, XPS, SEM ve TEM dahil olmak üzere çoklu karakterizasyon yöntemleri, oluşan nanoyapıları ve lignin bazlı hibrit nanoparçacıkların kimyasal özelliklerini doğruladı. Sentezlenen

hibrit nanopartiküller,  $Pb^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  için sırasıyla 150.33 ve 70.69 mg/g'lık yüksek adsorpsiyon kapasiteleri sergilemiştir. Daha da önemlisi,  $Pb^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$ 'nın hibrit nanopartiküller üzerindeki adsorpsiyon dengeleri, şimdiye kadar bildirildiği üzere  $Pb^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  uzaklaştırma için en hızlı fonksiyonel adsorbanlar arasında yer alan 30 saniye içinde elde edilebilir. Ultra hızlı adsorpsiyon sadece nano yapılara değil, aynı zamanda karboksimetillenmiş lignin tarafından sağlanan bol aktif bölgelere de atfedilir.  $Pb^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$ 'nın hibrit nanopartiküller tarafından uzaklaştırılmasının mekanizması esas olarak iyon değişimi ve hidrojen bağına bağlanabilir. Olağanüstü adsorpsiyon etkinliği ve verimliliğine sahip özel nanoyapılı hibrit nanopartiküller, düşük maliyetli ve çevre dostu olup, potansiyel olarak su arıtma adsorbanlarını büyük ölçekte üretmek için uygun maliyetli kriterleri karşılamaktadır.

Amino ve sülfonik gruplarla (ASL) iki işlevli lignin, Mannich reaksiyonu ve sülfometilasyon yoluyla Ge ve ark. (2014) tarafından sentezlenmiştir. Sistemik olarak FT-IR, element analizi, yüzey yükü ve XPS ile karakterize edilmiştir.  $Cu^{2+}$  ve  $Pb^{2+}$  'nin ASL üzerine adsorpsiyonu üzerindeki ilk pH, temas süresi ve ilk metal iyon konsantrasyonunun etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, biyosorbentin düşük pH çözeltilerinden bile metaller için mükemmel performans gösterdiğini göstermiştir. Adsorpsiyon kinetiği ve izotermi, sırasıyla yalancı ikinci mertebe ve D-R modeli ile iyi bir şekilde tanımlanabilir. Metal yüklü ASL'nin FT-IR ve XPS ile daha fazla araştırılması, metallerle farklı şekilde reaksiyona giren amino ve sülfonik grupları aydınlatmıştır.

Çok işlevli kompozit malzemeler, adsorpsiyon kapasitesini ve çevresel faydayı iyileştirmenin anahtarıdır. Wang ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada adsorban (SLCA), akrilik asidin sodyum liginosülfonat ve sitrik asit ile serbest radikal polimerizasyonu ile elde edilmiştir. SLCA adsorbanlarının yapı ve özelliklerini kanıtlamak için FTIR, SEM, TGA ve XPS karakterizasyon yöntemleri kullanılmıştır. Optimize edilmiş SLCA adsorbanının maksimum alım kapasiteleri sırasıyla 276 mg/g  $\text{Cu}^{2+}$  ve 323 mg/g  $\text{Pb}^{2+}$ 'dir. Langmuir izotermi ve ikinci dereceden kinetik model,  $\text{Cu}^{2+}$  ve  $\text{Pb}^{2+}$ 'nin adsorban tarafından yakalanmasının tek tabaka üzerindeki kimyasal adsorpsiyona ait olduğunu göstermek için kurulmuştur. XPS analizi, kompleksleşmenin ve elektrostatik çekimin kirletici uzaklaştırma mekanizması olduğunu doğruladı. Sadece bu değil, sonuçta ortaya çıkan adsorban, 5 sorpsiyon-desorpsiyon döngüsü çalışmasından sonra bile adsorpsiyon döngüsü verimliliğinde önemli bir azalma göstermemiştir, bunun büyük bir stabiliteye sahip olduğunu ve umut verici bir aday adsorban olarak kabul edilebileceğini ortaya koymuştur.

### 3. SONUÇ

Genel olarak, ağır metallerin özellikleri, maruz kalma kaynakları ve endüstriyel kullanımları vurgulanmıştır. Bu kirleticilerin insanlar ve diğer tüm canlı organizmalar için sorun teşkil ettiği açıktır. Yukarıda bahsedilen ağır metallerin giderilmesi için çok sayıda yaklaşım ve teknik kullanılmaktadır. Adsorpsiyonun en yeterli teknik olduğu ve bu nedenle tercih edildiği kanıtlanmıştır ve ağır metallerin gideriminde karbonhidrat biyopolimerlerinin kullanımı literatür örnekleri verilerek ayrıntılı olarak tartışılmıştır. Karbonhidrat biyopolimerlerinin

geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında ağır metalleri uzaklaştırmanın alternatif yolları olduğu görülmüştür. Bu derlemede yenilenebilir kaynaklardan elde edilen karbonhidrat biyopolimerlerinin ikincil kirliliği en aza indirmek ve ağır metal yük adsorbanlarının çevreye salınmasının toksisitesini azaltmak için kullanıldığı ve yeniden kullanım uygulamaları hakkında ayrıntılar sağlamıştır. Sonuçlar bu tür adsorbanların etkin, çevreci ve geri dönüştürebilir olduğunu ortaya koymuştur.

## KAYNAKÇA

- Abdolali, A., Guo, W.S., Ngo, H.H., Chen, S.S., Nguyen, N.C., Tung, K.L. (2014). Typicallignocellulosic wastes and by-products for biosorption process in water andwastewater treatment: a critical review, *Bioresource Technology*, (160), 57–66, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.037>.
- Ahmad, M., Manzoor, K., Ikram, S. (2017). Versatile nature of hetero-chitosan based derivatives as biodegradable adsorbent for heavy metal ions; a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, (105), 190–203.
- Alfaro-Cuevas-Villanueva, R., Hidalgo-Vázquez, A.R., Cortés Penagos, C.D.J., Cortés-Martínez, R. (2014). Thermodynamic, kinetic, and equilibrium parameters forthe removal of lead and cadmium from aqueous solutions with calciumalginate beads, *The Scientific World Journal*, doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2014/647512>.
- Barakat, M.A. (2011). New trends in removing heavy metals from industrialwastewater, *Arabian Journal of Chemistry*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.07.019>.
- Bhatnagar, A., Sillanpää, M. (2009). Applications of chitin- and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater – A short review. *Advances in Colloid and Interface Science*, (152), 26–38.
- Cataldo, S., Gianguzza, A., Milea, D., Muratore, N., Pettignano, A. (2016). Pb(II)adsorption by a novel activated carbon – alginate composite material. Akinetic and equilibrium study, *International Journal of Biological Macromolecules*, (92), 769–778, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.099>.
- Celik, A., Demirbaş, A. (2005). Removal of heavy metal ions from aqueous solutionsvia adsorption onto modified lignin from pulping wastes, *Energy Sources* 27, 1167–1177, doi:<http://dx.doi.org/10.1080/00908310490479583>.



- Charpentier, T.V.J., Neville, A., Lanigan, J.L., Barker, R., Smith, M.J., Richardson, T. (2016). Preparation of Magnetic Carboxymethylchitosan Nanoparticles for Adsorption of Heavy Metal Ions, *ACS Omega* 1, 77–83, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.6b00035>.
- Daochalermwong, A., Chanka, N., Songsrirote, K., Dittanet, P., Niamnuy, C., Seubsai, A. (2020). Removal of heavy metal ions using modified celluloses prepared from pineapple leaf Fiber, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5 5285–5296, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.9b04326>.
- De Castro Alves, L., Yáñez-Vilar, S., Piñeiro-Redondo, Y., Rivas, J. (2019). Novel magnetic nanostructured beads for cadmium(II) removal, *Nanomaterials* 9 356, doi: <http://dx.doi.org/10.3390/nano9030356>.
- De Rossia, A., Riguetob, C.V.T., Dettmerb, A., Collaa, L.M., Piccin, J.S. (2020). Synthesis, characterization, and application of *Saccharomyces cerevisiae*/alginate composites beads for adsorption of heavy metals. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8, 104009. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104009>
- Ebrahimi, F., Sadeghizadeh, A., Neysan, F., Heydari, M. (2019). Fabrication of nanofibers using sodium alginate and Poly(Vinyl alcohol) for the removal of Cd<sup>2+</sup> ions from aqueous solutions: adsorption mechanism, kinetics and thermodynamics, *Heliyon* 5, 02941, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02941>.
- Engwa, G. A., Ferdinand, P. U., FNwalo, . N., Unachukwu, M. N. (2019). Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans, in: *Poisoning in the Modern World - New Tricks for an Old Dog?* IntechOpen, doi: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.82511>.
- Falarz, L.J., Deyholos, M.K., Chen, G. (2018). Plant carbohydrates and production of renewable biofuel from starch, sugar, and cellulose, *Plant Bioproducts*, Springer, New York, pp. 87–107, doi: [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-8616-3\\_6](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-8616-3_6).
- Fan, H., Ma, X., Zhou, S., Huang, J., Liu, Y., Liu Y. (2019). Highly efficient removal of heavy metal ions by carboxymethyl cellulose-

- immobilized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles prepared via high-gravity technology, *Carbohydrate Polymers*, 213, 39–49, doi :<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.067>.
- Feng, K., Wen, G. (2017). Adsorbed Pb<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> ions in water by cross-linked starchxanthate, *International Journal of Polymer Science*, 2017 doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2017/6470306>.
- Ge, H., Hua, T., Chen, X. (2016). Selective adsorption of lead on grafted and crosslinkedchitosan nanoparticles prepared by using Pb<sup>2+</sup> as template, *J. Hazard. Mater.* 308 225–232, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.01.042>.
- Ge, Y., Li, Z., Kong, Y., Song, Q., Wang, K. (2014). Heavy metal ions retention by bi-functionalized lignin: Synthesis, applications, and adsorption mechanisms *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 20, 4429–4436
- Godiya, C.B., Cheng, X., Li, D., Chen, Z., Lu, X. (2019). Carboxymethyl cellulose/polyacrylamide composite hydrogel for cascaded treatment/reuse of heavymetal ions in wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 364,28–38, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.09.076>
- Huang, L., Yuan, S., Lv, L., Tan, G., Liang, B., Pehkonen, S.O. (2013) Poly(methacrylicacid)-grafted chitosan microspheres via surface-initiated ATRP for enhancedremoval of Cd(II) ions from aqueous solution, *Journal of Colloid and Interface Science*, 405, 171–182, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2013.05.007>.
- Igberase, E., Osifo, P., Ofomaja, A. (2017). The adsorption of Pb, Zn, Cu, Ni, and Cd bymodified ligand in a single component aqueous solution: equilibrium,kinetic, thermodynamic, and desorption studies, *International Journal of Analytical Chemistry*, doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2017/6150209>.
- Isawi, H. (2020). Using Zeolite/Polyvinyl alcohol/sodium alginate nanocompositebeads for removal of some heavy metals from wastewater,

- Arabian Journal of Chemistry, 135691–5716, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.04.009>.
- Jin, C., Zhang, X., Xin, J., Liu, G., Wu, G., Kong, Z., Zhang, J. (2017). Clickable synthesis of 1,2,4-Triazole modified lignin-based adsorbent for the selective removal of Cd(II), ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 5, 4086–4093, doi:<http://dx.doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b00072>.
- Joly, N., Martin P. (2020). Interaction of Metal Ions with Mono-and Polysaccharides for Wastewater Treatment: a Review Valorization of banana pseudo-stem sub-components in the formulation of biopolymer-based materials Viewproject, Natural Products Chemistry & Research, 8, 373, doi:<http://dx.doi.org/10.35248/2329-6836.20.8.373>.
- Kong, C., Zhao, X., Li, Y., Yang, S., Chen, Y.M., Yang, Z. (2020). Ion-induced synthesis of alginate fibroid hydrogel for heavy metal ions removal, Frontiers in Chemistry, (7), 905, doi: <http://dx.doi.org/10.3389/FCHEM.2019.00905>.
- Kour, J., Homagai, P.L., Cagnin, M., Masi, A., Pokhrel, M.R., Ghimire, K.N. (2013). Adsorption of Cd (II), Cu (II), and Zn (II) from aqueous solution onto nitrogen-functionalized desmostachya bipinnata, Journal of Chemistry, doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2013/649142>.
- Lalchhingpuii, D., Lalmunsiam, T., Lee, S.M. (2017). Chitosan templated synthesis of mesoporous silica and its application in the treatment of aqueous solutions contaminated with cadmium(II) and lead(II), Chemical Engineering Journal, (328), 434–444, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.053>.
- Leung, W.C., Wong, M.F., Chua, H., Lo, W., Yu, P.H., Leung, C.K. (2000). Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater, Water Science & Technology, (41), 233–240, doi: <http://dx.doi.org/10.2166/wst.2000.0277>.

- Li, Z., Chen, J., Ge, Y. (2017). Removal of lead ion and oil droplet from aqueous solution by lignin-grafted carbon nanotubes, *Chemical Engineering Journal*, 308 809–817, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.126>.
- Li, Z., Ge, Y., Wan, L. (2015). Fabrication of a green porous lignin-based sphere for the removal of lead ions from aqueous media, *Journal of Hazardous Materials*, (285), 77–83, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.11.033>.
- Li, Z., Kong, Y., Ge, Y. (2015). Synthesis of porous lignin xanthate resin for Pb<sup>2+</sup> removal from aqueous solution, *Chemical Engineering Journal*, 270, 229–234, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.01.123>.
- Li, C., Ma, H., Venkateswaran, S., Hsiao, B.S. (2020). Highly efficient and sustainable carboxylated cellulose filters for removal of cationic dyes/heavy metals ions. *Chemical Engineering Journal*, 389, 123458. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123458>
- Liu, D., Zhu, Y., Li, Z., Tian, D., Chen, L., Chen, P. (2013). Chitin nanofibrils for rapid and efficient removal of metal ions from water system, *Carbohydr. Polym.* 98, 483–489, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.06.015>.
- Lora, J.H., Glasser, W.G. (2002). Recent industrial applications of lignin: a sustainable alternative to nonrenewable materials. *Journal of Polymers and the Environment*, (10) 39–48, doi:<http://dx.doi.org/10.1023/A:1021070006895>.
- Nair, V., Panigrahy, A., Vinu, R. (2014). Development of novel chitosan-lignin composites for adsorption of dyes and metal ions from wastewater, *Chemical Engineering Journal*, (254), 491–502, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.05.045>.
- Ogata, F., Nagahashi, E., Miki, H., Saenjum, C., Nakamura, T., Kawasaki, N. (2020). Assessment of Cd(II) adsorption capability and mechanism from aqueous phase using virgin and calcined lignin, *Heliyon* 6 e04298, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04298>.
- Papageorgiou, S.K., Katsaros, F.K., Kouvelos, E.P., Nolan, J.W., Le Deit, H., Kanellopoulos, N.K. (2006). Heavy metal sorption by calcium alginate

- beads from *Laminaria digitata*. *Journal of Hazardous Materials*, 137, 1765–1772, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.05.017>.
- Peternele, W.S., Winkler-Hechenleitner, A.A., Gómez Pineda, E.A. (1999). Adsorption of Cd(II) and Pb(II) onto functionalized formic lignin from sugar cane bagasse. *Bioresource Technology*, (68), 95–100, doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00083-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00083-2).
- Qiao, L., Li, S., Li, Y., Liu, Y., Du, K. (2020). Fabrication of superporous cellulose beads via enhanced inner cross-linked linkages for high efficient adsorption of heavy metal ions. *Journal of Cleaner Production*, 253, 120017. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120017>
- Rahaman, H., Islam, A., Islam, M., Rahman, A., Alam, S.M.N. (2021). Current Research in Green and Sustainable Chemistry, 4, 100119. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100119>
- Reddy, D. H. K., Lee, S. M. (2013). Application of magnetic chitosan composites for the removal of toxic metal and dyes from aqueous solutions. *Advances in Colloid and Interface Science*, (201–202), 68–93.
- Sajid, M., Nazal, M. K., Baig, N., and Osman, A. M. (2018). Removal of heavy metals and organic pollutants from water using dendritic polymers based adsorbents: a critical review. *Separation and Purification Technology*, (191), 400–423.
- Salehi, E., Daraei, P., Shamsabadi, A.A. (2016). A review on chitosan-based adsorptive membranes. *Carbohydrate Polymers*, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.033>.
- Samiey, B., Cheng, C.-H., Wu, J. (2014). Organic-inorganic hybrid polymers as adsorbents for removal of heavy metal ions from solutions: a review. *Materials (Basel)*, (7), 673–726, doi:<http://dx.doi.org/10.3390/ma7020673>.
- Sangeetha, K., Vidhya, G., Vasugi, G., Girija, G.V.E.K. (2018). Lead and cadmium removal from single and binary metal ion solution by novel hydroxyapatite/alginate/gelatin nanocomposites. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, (6), 1118–1126, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2018.01.018>.

- Sargin, I., Arslan, G. (2015). Chitosan/sporopollenin microcapsules: preparation, characterisation and application in heavy metal removal. *International Journal of Biological Macromolecules*, (75), 230–238, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.039>.
- Syedmohammadi, J., Motavassel, M., Maddahi, M.H., Nikmanesh, S. (2016). Application of nanochitosan and chitosan particles for adsorption of Zn(II) ions pollutant from aqueous solution to protect environment. *Modeling Earth Systems and Environment*, (2), 1–12, doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s40808-016-0219-2>.
- Shahbazi, A., Marnani, N.N., Salahshoor, Z. (2019). Synergistic and antagonistic effects in simultaneous adsorption of Pb(II) and Cd(II) from aqueous solutions onto chitosan functionalized EDTA-silane/mGO. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 8 (22), 101398, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101398>.
- Shi, T., Xie, Z., Zhu, Z., Shi, W., Liu, Y., Liu, M. (2022). Highly efficient and selective adsorption of heavy metal ions by hydrazide-modified sodium alginate. *Carbohydrate Polymers*, (276), 118797. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118797>
- Sibaja, B., Culbertson, E., Marshall, P., Boy, R., Broughton, R.M., Solano, A.A., Esquivel, M., Parker, J., La Fuente, L.D., Auad, M.L. (2015). Preparation of alginate-chitosan fibers with potential biomedical applications, *Carbohydrate Polymers*, (134), 598–608, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.076>.
- Thirumavalavan, M., Lai, Y.L., Lin, L.C., Lee, J.F. (2010), Cellulose-based native and surface modified fruit peels for the adsorption of heavy metal ions from aqueous solution: Langmuir adsorption isotherms, *Journal of Chemical & Engineering Data*, (55), 1186–1192, doi: <http://dx.doi.org/10.1021/je900585t>.
- Vakili, M., Rafatullah, M., Salamatinia, B., Abdullah, A. Z., Ibrahim, M. H., Tan, K. B., et al. (2014). Application of chitosan and its derivatives as adsorbents

- for dye removal from water and wastewater: A review. *Carbohydrate Polymers*, (113), 115–130.
- Wang, Q., Zheng, C., Zhang, J., He, F., Yao, Y., Zhang, T.C., He, C. (2020). Insights into the adsorption of Pb(II) over trimercapto-s-triazine trisodium salt-modified lignin in a wide pH range. *Chemical Engineering Journal Advances*, 100002, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ceja.2020.100002>.
- Wang, X., Li, X., Peng, L., Han, S., Hao, C., Jiang, C., Wang, H., Fan, X. (2021). Effective removal of heavy metals from water using porous lignin-based adsorbents. *Chemosphere*, (279), 130504 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130504>
- Wei, W., Kim S., Song, M.H., Bediako, J.K., Yun, Y.S. (2015) Carboxymethyl cellulose fiber as a fast binding and biodegradable adsorbent of heavy metals. *Journal of Taiwan Institute Chemical Engineering*, (57), 104–110, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2015.05.019>.
- Wu, Q., Ren, M., Zhang, X., Li, C., Li, T., Yang, Z., Chen, Z., Wang, L. (2021) Comparison of Cd(II) adsorption properties onto cellulose, hemicellulose and lignin extracted from rice bran. *LWT, Food Science and Technology*, (144), 11230. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111230>.
- Xiao, D., Ding, W., Zhang, J., Ge, Y., Wu, Z., Li, Z. (2019). Fabrication of a versatile lignin-based nano-trap for heavy metal ion capture and bacterial inhibition. *Chemical Engineering Journal*, (358), 310–320, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2018.10.037>.
- Yang, R., Su, Y., Aubrecht, K.B., Wang, X., Ma, H., Grubbs, R.B., Hsiao, B.S., Chu, B. (2015). Thiol-functionalized chitin nanofibers for As (III) adsorption, *Polymer (Guildf)*. (60), 9–17, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2015.01.025>.
- Yang, S., Fu, S., Liu, H., Zhou, Y., Li, X. (2011). Hydrogel beads based on carboxymethylcellulose for removal heavy metal ions, *Journal of Applied Polymer Science*, (119), 1204–1210, doi: <http://dx.doi.org/10.1002/app.32822>.

- Yeol, H., Jong C., Bae, H., Hasegawa, Y. et.al. (2020) Thiol-functionalized cellulose nanofiber membranes for the effective adsorption of heavy metal ions in water. *Carbohydrate Polymers*, (234), 115881 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115881>
- Yu, B., Xu, J., Liu, J.H., Yang, S.T., Luo, J., Zhou, Q., Wan, J., Liao, R., Wang, H., Liu, Y. (2013) Adsorption behavior of copper ions on graphene oxide-chitosan aerogel. *Journal of Environment Chemical Engineering*, (1), 1044–1050, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2013.08.017>.
- Zhan, W., Xu, C., Qian, G., Huang, G., Tang, X., Lin, B. (2018). Adsorption of Cu(ii), Zn(ii), and Pb(ii) from aqueous single and binary metal solutions by regenerated cellulose and sodium alginate chemically modified with polyethyleneimine. *RSC Advances Journal*, (8), 18723–18733, doi: <http://dx.doi.org/10.1039/c8ra02055h>.
- Zhang, L., Zeng, Y., Cheng, Z. (2016). Removal of heavy metal ions using chitosan and modified chitosan: A review. *Journal of Molecular Liquids*, (214), 175–191.
- Zhang, Y., Nie, S., Wang, X., Zhang, W., Lagerquist L., Qin, M., Willför, S., Xu, C., Fatehi, P. (2019). Ultrafast adsorption of heavy metal ions onto functionalized lignin-based hybrid magnetic nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, (372), 82–91.
- Zhao, B., Jiang H., Lin, Z., Xu, S., Xie, J., Zhang, A. (2019). Preparation of acrylamide/acrylic acid cellulose hydrogels for the adsorption of heavy metal ions. *Carbohydrate Polymers*, (224), 115022. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115022>





## **BÖLÜM 4**

### **HYALURONİK ASİT: HÜCRESEL SENTEZDEN TIBBİ VE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALARA**

Dr. Öğr. Üyesi Nazlı Pınar ARSLAN<sup>1</sup>, Öğr. Gör. Meryem DOYMUŞ<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup>Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikleri Bölümü, Bingöl, Türkiye, e-mail: nparslan55@hotmail.com

<sup>2</sup> Atatürk Üniversitesi, Hınıs Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikleri Bölümü, Erzurum, Türkiye, e-mail: meryem.doymus@atauni.edu.tr



## GİRİŞ

Polisakkaritler omurgalılar, bitkiler, bakteriler, mantarlar ve algler tarafından sentezlenen makromoleküllerdir. Bu makromoleküllerin bazıları günümüzde gıda, kozmetik, ilaç ve biyomedikal endüstrilerinde yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Polisakkaritler yapılarındaki şeker monomerlerine göre heteropolisakkaritler ve homopolisakkaritler olarak ikiye ayrılmaktadır.

Hyaluronik asit (HA), omurgalılar ve bazı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen D-glukuronik asit ve N-asetilglukozamin monomerlerinden meydana gelen suda çözünür bir heteropolisakkarittir. HA'nın ticari üretimi, hayvan bazlı ekstraksiyon veya mikrobiyal üretim üzerine kuruludur. Bununla birlikte, HA'nın ticari üretimi mikrobiyal yolla özellikle de *Streptococcus zooepidemicus* isimli bakteri türü ile gerçekleştirilmektedir.

HA, insanlarda fibroblast hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Tüm vücut sıvılarının ve dokularının bir bileşenidir. HA, insanlar dahil tüm omurgalılarda hücre dışı matrislerin temel bir bileşenidir. HA, deride doku hidrasyonunun sürdürülmesi, kıkırdakta su ve iyon içeriğinin düzenlenmesi, sinyal iletimi, matriks organizasyonu, hücre çoğalmasının indüksiyonu, hücre göçü, anjiyogenez, kondrojenez, embriyogenez, morfogenez ve metastaz gibi birçok biyolojik süreçte görev almaktadır.

HA'nın viskoelastisitesi ve hidrofiliği yüksek, immünojenitesi ise düşüktür. HA'nın biyolojik aktivitesi moleküler ağırlığına bağlı olup

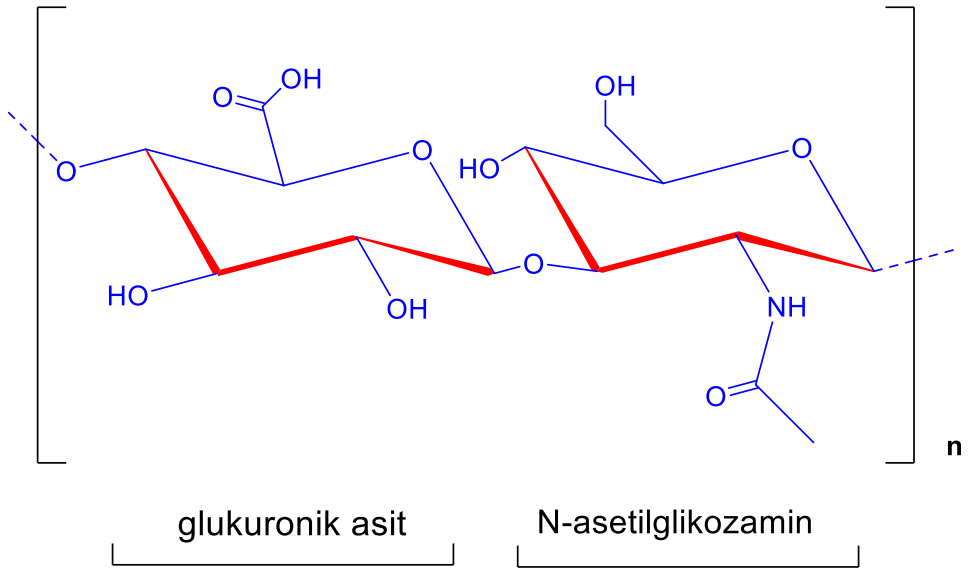
farklı molekül ağırlıklara sahip formları bulunmaktadır. Ayrıca, hücrelerde HA'nın spesifik olarak bağlanabileceği reseptörler de yer almaktadır. Bu özellikleri nedeniyle HA günümüzde kanser, osteoartrit, oftalmik cerrahi, plastik cerrahi, yara iyileşmesi, ilaç ve gen taşınımı, deri ve doku mühendisliği ve kozmetik gibi biyomedikal alanlarda geniş bir şekilde kullanılmaktadır.

## **1. HYALURONİK ASİDİN YAPISI VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

Polisakkaritler çok sayıda monosakkaritin glikozid bağı ile bağlanması sonucu oluşan makromoleküllerdir. Polisakkaritler monomerlerine göre heteropolisakkarit ve homopolisakkarit olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Tek tipte monosakkaritlerin tekrarlayan birimlerinden oluşanlarına homopolisakkaritler, yapılarında birden fazla tipte monosakkarit bulunduran ve oligosakkaritlerin tekrarı şeklinde devam edenlerine ise heteropolisakkarit ismi verilmektedir (De Vuyst ve ark., 2001; Vasiliu ve ark., 2016).

Hyaluronan ya da hyaluronat olarak da bilinen hyaluronik asit (HA), D-glukuronik asit ve N-asetilglukozaminin aralarında beta-1,3 ve beta-1,4 glikozid bağları yapmasıyla meydana getirmiş olduğu, yüksek moleküler kütleli heteropolisakkarit yapısındaki doğrusal bir polimerdir (Kakehi ve ark., 2003; Chong ve ark., 2005) (Şekil 1). HA molekülünde aminoşeker D-glukuronik asite  $\beta(1\rightarrow4)$  glikozit bağı ile bağlanırken, glukuronik asit amino şeker  $\beta(1\rightarrow3)$  glikozit bağı ile bağlanır. İzole edildiği biyolojik kaynağa ve izolasyon metoduna göre HA'nın moleküler ağırlığı  $10^5$ - $10^7$  Da arasında değişmekte ve

disakkaritlerin tekrarı da 25000 veya daha yüksek sayılara ulaşmaktadır (Tsepilov and Beloded, 2015). Diğer glikozaminoglikanların (kondroitin sülfat, keratan sülfat ve heparan sülfat) aksine, HA molekülünde sülfat grupları ve kovalent bağlı peptitler bulunmamaktadır. Ayrıca, diğer glikozaminoglikanlar ile karşılaştırıldığında HA'nın moleküler ağırlığı daha yüksektir (Puré and Assoian, 2009; Tsepilov and Beloded, 2015).



Şekil 1. Hyaluronik Asitin Kimyasal Yapısı

HA'nın yapısında hidroksil grupları, karboksil grupları ve asetamido grupları dahil olmak üzere birçok hidrofilik grup bulunmaktadır. Bu gruplar hücre içinde hidrojen bağları oluşturabilmekte ve moleküle hidrofiliklik ve iyi çözünürlük sağlamaktadır. HA'daki aksenal hidrojen atomları (C-H) hidrofobik etki alanı oluşturmakta, bu da HA'ya nanoparçacıkların veya misellerin bağlanabilmesi için avantaj olan amfifilik özellik kazandırmaktadır. HA'daki karboksil grupları 3-

4 civarında bir pKa göstermekte ve fizyolojik durumda ayrışabilmektedir. Bu nedenle HA, negatif yüklü polisakkaritlerden biri olarak kabul edilmektedir ve bu sayede, ilaç yükleme veya nanopartikül üretimi için kullanılabilir (Luo ve ark., 2019).

HA'nın solüsyonları aşırı derecede kaygan ve hidrofilik özelliğe sahiptir. %1'lik HA çözeltisi jöle kıvamında olup basınç altında kolayca hareket edebilmekte ve küçük çaplı bir iğne ile uygulanabilmektedir. Bu yüzden, HA “yalancı plastik” malzeme olarak da adlandırılmaktadır (Necas ve ark., 2008). HA, yüksek oranda hidrofilik olması dolayısı ile suyu emebilir ve katı hacmini 1000 kata kadar genişletebilir. Ayrıca büyük bir hidrodinamik hacme sahip çok viskoz ve elastik bir jel oluşturur (Laurent and Fraser 1992; Dosio ve ark., 2016). Molekül ağırlığı arttıkça viskozite ve viskoelastisite giderek artar. Yüksek molekül ağırlığı nedeniyle fiziko-kimyasal özellikleri, HA'nın doku hidrasyonunu ve ozmotik dengeyi modüle etmesine izin vererek hidratlı ve stabil bir hücre dışı matris oluşturur (Fallacara ve ark., 2018).

## **2. HYALURONİK ASİDİN OMURGALILARDA SENTEZİ VE GÖREVLERİ**

HA, tüm omurgalılarda ve bazı mikroorganizmalarda bulunmaktadır. HA, ilk olarak Karl Meyer ve John Palmer tarafından 1934 yılında sığır gözlerinin vitröz salgısında keşfedilmiştir. HA'nın bitkilerde ve böceklerde ise varlığı tespit edilememiştir (Meyer and Palmer, 1934; Kogan ve ark., 2007; Boeriu ve ark., 2013; Sze ve ark., 2016).

İnsanlarda fibroblast hücreleri tarafından üretilen HA, tüm vücut sıvılarının ve dokularının bir bileşenidir. HA, hücre içinde ve hücre yüzeyinde mevcut olmasına rağmen, baskın olarak hücre dışı matris içinde konumlanmıştır. HA omurgalılarda sodyum hyalüronat gibi tuz formlarında bulunmaktadır. HA, tüm omurgalılarda, çoğu dokudaki hücre dışı matrislerin temel bir bileşeni olarak bulunmaktadır (Balazs ve ark., 1986; Fakhari and Berkland, 2013). HA omurgalıların özellikle göbek kordonunda, eklemler arasındaki sinoviyal sıvıda, deride ve gözün vitröz sıvısında yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. HA, omurgalılarda ayrıca üreme sistemi, iskelet dokuları, kalp kapakçıkları, akciğer, aort ve prostat gibi vücudun tüm dokularında bulunur (Papakonstantinou ve ark., 2012; Fouladi-Nashta ve ark., 2017). 70 kg'lık bir insanın vücudunda yaklaşık 15 g HA bulunduğu tahmin edilmektedir. İnsan derisi, vücuttaki HA' nın %50'den fazlasını içermektedir. Bütün hayvan dokuları arasında ise, en fazla HA'nın (7.5 mg/g) horoz ibiğinde yer aldığı belirtilmektedir (Boeriu ve ark., 2013).

HA, hücre zarlarının iç yüzeyine tutulan hyaluronan sentaz adı verilen enzimler ile sentezlenir. Memelilerde HAS1, HAS2 ve HAS3 olmak üzere üç tip hyaluronan sentaz bulunmaktadır. İnsanda HAS1, HAS2 ve HAS3 genleri 19, 8 ve 16. kromozomlarda yer alır. HAS1, HAS2 ve HAS3 sırasıyla 578, 552 ve 553 amino asit içerir (Boeriu ve ark., 2013; Tsepilov and Beloded, 2015). Bu enzimler, substratlar olarak aktive edilmiş nükleotid şekerleri, üridin-5'-difosfat-D-glukuronik asit ve üridin-5 'difosfat-N-asetil-D-glukozamini kullanarak D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozaminin transglikolizasyonuna aracılık



etmektedir (Weigel ve ark., 1997; Itano ve ark., 1999; Dosio ve ark., 2016).

HA, ekstrasellular matraste, hücre yüzeyinde, sitoplazmada ve çekirdekte yaygın olarak dağılmış olan, hyaladherinler adı verilen proteinlere bağlanmaktadır. HA'yı hücre yüzeyine bağlayanlar, HA reseptörleri olarak bilinmektedir. Bu reseptörler arasında en belirgin olanı, birçok izoformda olabilen CD44 isimli transmembran glikoproteinidir. CD44, kırmızı kan hücreleri hariç hemen hemen tüm hücrelerde bulunur ve hücre yapışmasını, göçünü, lenfosit aktivasyonunu, hedef aramasını ve kanser metastazını düzenler (Boeriu ve ark., 2013). CD44 ile HA etkileşimi çeşitli hücresel işlevlerle (hem fizyolojik hem de patolojik süreçler) ilgili olarak derinlemesine incelenmiştir. Özellikle, normal fizyolojide CD44, hücresel yapışma süreçlerinde (kümelenme ve yer değiştirme), enflamatuar yanıtlarda ve onarım sistemlerinde rol oynar. Tersine, CD44 reseptörü, tümör invazyonu ve metastazında rol oynayan insan kanseriyle de ilişkilidir (Sironen ve ark., 2011). HA'nın bağlanabildiği diğer önemli reseptör HA aracılı hareketlilik (RHAMM) reseptörüdür. Son zamanlarda CD168 olarak da adlandırılan, RHAMM endotel hücrelerinin yanı sıra insan pulmoner arterleri ve solunum yollarındaki düz kas hücrelerinde HA reseptörü olarak işlev görmektedir. Bu reseptör, hücre göçüne ve çoğalmasına aracılık eder. RHAMM, çoğu normal dokuda zayıf bir şekilde eksprese edilirken, insan tümörlerinde ekspresyonu artar (Boeriu ve ark., 2013; Dosio ve ark., 2016). Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) bağışıklık sisteminin bakteri ve virüsleri algılamasını sağlayan

moleküllerdir. Düşük moleküler ağırlığa sahip olan HA'nın TLR reseptörlerine (özellikle de TLR2 ve TLR4) bağlanarak çeşitli hücrelerde proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimine yol açan sinyal yollarını aktive ettiği bilinmektedir (Scheibner ve ark., 2006; Litwiniuk ve ark., 2016). Stabilin 2 olarak da bilinen hyaluronan endositoz reseptörü (HARE), HA'nın yanı sıra diğer glikozaminoglikanların sistemik dolaşımdan temizlenmesinde görev alır. Lenfatik damar endotel reseptörü 1 (LYVE-1) lenfatik endotel hücrelerinde, karaciğer sinüzoidal endotel hücrelerinde ve lenf nodlarının retiküler hücrelerinde bulunur. LYVE-1 HA'nın dokudan lenflere emilmesini sağlayarak doku hidrasyon seviyesini düzenlenmesine yardım eder (Litwiniuk ve ark., 2016).

HA, insanlar dahil omurgalılarda, deride doku hidrasyonunun sürdürülmesi, kıkırdakta su ve iyon içeriğinin düzenlenmesi, ekstrasellular matrikste sinyal iletimi, matriks organizasyonu, hücre çoğalmasının indüksiyonu, hücre göçü, anjiyogenez, kondrojenez, embriyogenez, morfogenez ve metastaz süreçlerinde rol oynamaktadır (Kogan ve ark., 2007; Kogan ve ark., 2008; Necas ve ark., 2008; Patil ve ark., 2011). HA'nın biyolojik aktivitesini etkileyen en önemli faktör onun moleküler ağırlığıdır. Örneğin, moleküler ağırlığı  $<1$  MDa olan HA veya daha küçük oligosakkarit fraksiyonlarının, inflamasyonu, anjiyogenezi, proliferasyonu, hücre göçünü arttırdığı ve antiapoptotik özellik taşıdığı; büyük moleküler ağırlıklı HA'nın ise hücre dışı matris yapısının devamlılığını sağladığı ve antianjiyogenez ve immunsupresif (bağışıklık sistemini baskılayıcı)

özelliğe sahip olduğu bildirilmektedir (Papakonstantinou ve ark., 2012; Tsepilov and Beloded, 2015).

### **3. HYALURONİK ASİDİN MİKROORGANİZMALAR İLE TİCARİ ÜRETİMİ**

HA' nın ticari üretimi, hayvan bazlı ekstraksiyon veya mikrobiyal üretim üzerine kuruludur. Bu yöntemlerin her ikisi de uygulanmaktadır ve bu yöntemlerle moleküler ağırlıkları 10 kDa'nın üzerinde olan HA ürünlerinin üretildiği kanıtlanmıştır (Liu ve ark., 2011). HA geleneksel olarak horoz ibiği gibi çeşitli hayvansal dokulardan ekstrakte edilmiştir. Horoz ibiğinden elde edilen HA'nın tavuk ürünlerine karşı alerjisi olan insanlarda kullanımı son derece sakıncalı görülmektedir (Kogan ve ark., 2007). Ayrıca, horoz ibiği gibi hayvansal dokulardan HA izolasyonunun viral kontaminasyon riskinin de yüksek olduğu belirtilmektedir. Günümüzde, hayvansal bazlı dokular yoluyla HA üretimi, öğütme prosedürü, asit ve organik çözücülerin kullanımının birkaç tekrarı nedeniyle, maliyet ve güvenlik açısından hayvan ekstraksiyonunda her zaman pratik değildir ve çeşitli mekanik sorunlara yol açmaktadır (Widner ve ark., 2005). Diğer bir sorun, hayvan dokularından elde edilen HA'nın, hiyaluronidazın HA'ya özgü bağlayıcı hücrel proteinlerine bağlı kalabilmesidir (Fraser ve ark., 1997). Bu durum, hiyalüronidazın, bir immün yanıtı engelleme riskini tetikleyebileceğinden, istenmeyen bir durum olarak kabul edilmektedir. Son olarak, prosedür pahalıdır ve hayvan ekstraksiyonundan HA'nın saflaştırılmasına kadar olan süreçler, uzun zaman işçilik ve gelişmiş tesis gerektirmektedir (Putri ve ark., 2020).

Bu yüzden araştırmacılar ve endüstriler daha düşük üretim maliyeti ve yüksek saflaştırma verimi sağlayan mikrobiyal fermentasyonu tercih etmektedir (Liu ve ark., 2009). Ayrıca, kültür şartlarının ve ürün veriminin kolaylıkla optimize edilebilmesi ve optimizasyonda genetik mühendisliğinin de kullanılabilir olması da mikrobiyal fermentasyonu daha avantajlı kılmaktadır (Armstrong ve ark., 1997; Gao ve ark., 2006; Pires ve ark., 2010).

HA, *Streptococcus zooepidemicus* başta olmak üzere *S. pyogenes*, *S. uberis*, *Pasteurella multocida* ve *Cryptococcus neoformans* gibi patojenik mikroorganizmalar tarafından da doğal olarak sentezlenmektedir. Bununla birlikte, günümüzde, HA'nın mikrobiyal yolla ticari üretimi esas olarak *Streptococcus* suşları özellikle de *S. zooepidemicus* bakterisi ile gerçekleştirilmektedir. *S. zooepidemicus* gram pozitif, fakültatif anaerop ve katalaz pozitif bakteridir (DeAngelis ve ark., 1993, 1998; Chong ve ark., 2005; Blank ve ark., 2008; Jong ve ark., 2007; Patil ve ark., 2011; Arslan and Aydoğan 2021).

Mikroorganizmalar tarafından sentezlenen polisakkaritler biyolojik fonksiyonlarına göre hücre içi depo polisakkaritleri, hücre yüzeyi ile bağlantılı kapsüler polisakkaritler ve hücre dışı polisakkaritler olmak üzere üç gruba ayrılabilir. Bakteriler tarafından sentezlenen levan, ksantan ve kurdlan hücre dışı polisakkaritlere; *S. zooepidemicus* tarafından sentezlenen HA ise kapsular polisakkaritlere örnek verilebilir (Schmid ve ark., 2015). HA bu bakterinin kapsülü olarak görev yapmakta olup, bakteriyi konak hücrenin immün sisteminden ve

lökositler tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinden korumakta ve bu sayede de bakterinin epitel tabakaları arasında yayılımına ve göç etmesine olanak tanımaktadır (Schiraldi ve ark., 2010).

*S. zooepidemicus*'un hem aerobik hem de anaerobik kültürü mümkündür, ancak aerobik olarak kültürü daha yüksek HA üretimi sağlamaktadır (Johns ve ark., 1994). Bazı çalışmalarda, genetiği değiştirilmiş *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium* sp. *Lactococcus lactis* and *Escherichia coli* gibi bakteriler ile de HA üretimi denenmiştir. Bununla birlikte, bu bakteriler ile çok düşük HA verimlerinin elde edildiği rapor edilmiştir (Widner ve ark., 2005; Mao and Chen 2007; Chien and Lee 2007; Yu and Stephanopoulos 2008).

#### **4. HYALURONİK ASİDİN TIBBİ VE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALARI**

HA, yüksek viskoelastisite ve hidrofiliklik, düşük immünojenite ve spesifik reseptörlere bağlanma gibi özellikleri nedeniyle kanser, osteoartrit, oftalmik cerrahi, plastik cerrahi, yara iyileşmesi, ilaç ve gen taşınımı, deri ve doku mühendisliği ve kozmetik gibi biyomedikal alanlarda geniş bir şekilde kullanılmaktadır (Peyron, 1993; Chong ve ark., 2005; Kogan ve ark., 2007; Patil ve ark., 2011; Boeriu ve ark., 2013).

##### **4.1. Dermatoloji ve Kozmetikte Kullanımı**

HA, dermatolojide geniş çapta araştırılmakta ve uygulanmaktadır. HA'nın dermal dolgu maddeleri ve kırışık önleyici maddelerinin doku yenilenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Hacimsel dolgu maddeleri

olarak kullanılan HA, yüzeysel çöküntüleri tedavi ederek cilt kalitesini iyileştirebilmektedir. HA bazlı dolgu maddeleri, düşük immünojenik potansiyelleri ve uzun süreli etkileri nedeniyle tercih edilmektedir (Huynh and Priefer, 2020). Shu ve ark., (2004), cerrahi implantasyona ihtiyaç duymadan enjekte edilebilen ve fibroblastlarla gelişmiş sitouyumluluk gösteren yeni HA bazlı hidrojelleri tanımlamıştır. Bu, doku rejenerasyonu için bu tür hidrojellerin potansiyel kullanımını göstermiştir. Bu tür HA jelleri, kozmetik düzeltmeleri sürdürmede kollajen bazlı ürünlerden daha etkilidir (Narins ve ark., 2003). Örneğin, Restylane, bu tür HA bazlı enjekte edilebilir materyaller arasında öne çıkmaktadır (Kanchwala ve ark., 2005). Kollajen bazlı dolgu maddelerinin aksine, HA son derece elastiktir ve yüz kırışıklıkları, çökük yara izleri, ses teli büyütme, gırtlak ve gırtlak rekonstrüksiyonu veya sfinkter kas desteği gibi enjekte edildiği boşlukların gerektirdiği esnekliği sağlamaktadır (Kogan ve ark., 2007).

HA, deri hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır (How ve ark., 2020). Atopik dermatit (AD) veya ekzema, bebekleri ve çocukları etkileyen en yaygın kronik inflamatuvar deri hastalığıdır (Siegfried and Hebert, 2015). Deride kızarıklık ve kaşıntı ile kendini göstermektedir. Terminal epitel farklılaşmasındaki kusur, immün düzensizlik, cilt mikrobiyomunun değişimi ve stratum corneum bariyerinin fonksiyonunun bozulması (hücre içi lipid bileşiminin değişiminden dolayı) AD'nin sebepleri arasındadır (How ve ark., 2020). Bariyer fonksiyonunun bozulması deride dehidrasyona; sitokin, kemokin ve interlökin salınımı ise iltihaplanmaya neden olmaktadır (Damiani ve

ark., 2019). Hastalığın tedavisinde nemlendiriciler, antibakteriyal ilaçlar ve topikal immunosupresanlar (kalsinörin inhibitörleri) kullanılmaktadır (Sathishkumar and Moss, 2016). Nemlendiriciler, lipid çift tabakasının suyu tutma ve dağıtma yeteneğini geri kazandırır. Bu nedenle nemlendiriciler AD yönetiminde önemli bir rol oynamaktadır (Giam ve ark., 2016). Örneğin, HA bazlı ilaç dağıtım sistemleri AD tedavisi içinde kullanılmakta ve bu sistemler ile takrolimus, bethametazon valerat ve gallik asit gibi immunosupresantlar taşınabilmektedir (Zhuo ve ark., 2018; Pandey ve ark., 2019).

Sedef hastalığı hem doğal hem de kazanılmış bağışıklığın aktivasyonu ile ortaya çıkan epidermal proliferasyon ve anormal farklılaşma ile karakterize edilen kronik inflamatuvar otoimmün bir deri hastalığıdır (Rendon ve Schäkel, 2019). Araştırmalar, aktive edilmiş Th1 ve Th17 T hücrelerinin (CD4+ T hücreleri), CD8+ T hücrelerinin yanı sıra IL-17, IL-23, TNF-a ve IL-27 gibi artan sitokin seviyelerinin sedef hastalığı immünopatogenezinde ilişkili olduğunu göstermiştir (Luger and Loser, 2018). Topikal uygulama, sedef hastalığının tedavisinde önemli yaklaşımlardan biridir. İlaçlar, sedef hastalığının inflamatuvar semptomlarını inhibe etmek için doğrudan etkilenen cilt lezyonlarına uygulanır. Topikal olarak uygulanan ilaçlar daha uzun etki süresi sağlamasına rağmen, stratum corneum deri yoluyla absorbe edilen ilaç miktarını sınırlar ve bu da zayıf klinik etkinliğe neden olur. Bu nedenle, derinin stratum corneum bariyerini aşarak sedef hastalığının tedavisinde etkinlik gösterebilecek olan yeni perkutan uygulama sistemleri hayati önem taşımaktadır (How ve ark., 2020). HA'nın

spesifik olarak bağlanabildiği CD44 reseptörleri sedef hastalığı durumunda deride aşırı eksprese edilmektedir (Zhang ve ark., 2019). HA ve CD44 arasındaki etkileşim göz önüne alınarak, lezyon bölgesinde ilacın terapötik etkisini arttırmak için ilaçlar HA bazlı nano ilaç taşınım sistemlerine (etozomlar, kriyojeller ve mikroigne) yüklenmektedir (Taetz ve ark., 2009). HA, CD44'e bağlanarak ve muko-yapışkan özellik göstererek ilacı hedef bölgede tutar. Örneğin, orta veya şiddetli sedef hastalığında kullanılan metotreksat, takrolimus ve kortikosteroid gibi ilaçlar HA bazlı sistemler ile topikal olarak deriye uygulanabilir (How ve ark., 2020).

#### **4.2. Yara İyileşmesinde Kullanımı**

HA, yara iyileştirmesi için de kullanılmaktadır. Yara iyileşme süreci; hemostaz fazı, inflamatuvar faz, proliferasyon fazı ve olgunlaşma fazı olmak üzere 4 ana fazdan oluşmaktadır (Gonzalez ve ark., 2016). Yapılan araştırmalarda, yara oluşuktan kısa bir süre sonra yara bölgesinde HA varlığının arttığı ve HA'nın yara iyileşme sürecinin her aşamasında görev aldığı tespit edilmiştir (Dovedytis ve ark., 2020). Yara iyileşmesinin erken evrelerinde HA, büyük moleküler boyutu nedeniyle geçici bir yapı olarak görev yapmaktadır. Eşsiz yapısı sayesinde, besinlerin ve atık ürünlerin yaralanma bölgesinden difüzyonunu kolaylaştırır. Ancak daha da önemlisi yara iyileşme sürecinde HA'nın keratinositlerle etkileşim yapmasıdır. Keratinositler, epidermis tabakasını keratin üreten ve sıkı bağlantılar oluşturan hücreleridir. HA, bu hücre tiplerinin çoğalmasını ve göçünü doğrudan



etkileyerek yara iyileşmesinede katkı yapmaktadır. (Voigt and Driver, 2012).

Yara iyileşmesi sırasında, HA yara bölgesindeki hücre reseptörleri (CD44 ve RHAMM) ile etkileşmektedir. Yara iyileşme sürecinde HA ile ilişkili birçok önemli fonksiyon CD44 reseptöründen kaynaklanır. CD44, fibroblastların çevre dokulardan yaranın olduğu bölgeye hareketinden sorumludur. RHAMM hücre yüzeyinde veya hücre içinde, sitoplazmada veya çekirdekte bulunabilir (Cui ve ark., 2019). Hücre içi olarak, RHAMM, hücre iskeleti proteinleri ile birlikte, tümü hücre hareketi uyaran birkaç protein kinazı aktive eder. Bu sistemler doku onarımı ve inflamasyon süreçleri için gereklidir. RHAMM ayrıca fibroblastların yüzeyinde yüksek oranda eksprese edilir ve in vivo olarak fibroblast proliferasyonunu doğrudan uyarır (Dovedytis ve ark., 2020). CD44 ve hücre yüzeyi RHAMM arasında da bir etkileşim mevcuttur. Hücre yüzeyi RHAMM, sinyal iletimini, hücre hareketini ve yara iyileşmesini düzenlemede CD44 ile etkileşime girebilir (Leng ve ark., 2019). RHAMM'nin, CD44'ün hücre yüzeyine translokasyonunda, HA ve CD44 reseptörü tarafından aktive edilen yolakları tetiklemede faydalı olan önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır (Song ve ark., 2019).

### **4.3. Ortopedide Kullanımı**

Sinoviyal sıvıda bulunan yüksek moleküler ağırlıklı HA, eklemlerin hareketli kısımları için gerekli olan yağlamayı sağlamakta, hareketli kemikler arasındaki sürtünmeyi azaltmakta ve eklemlerin aşınma ve yıpranmasına karşı koruma sağlamaktadır. İnflamatuvar hastalıklar

(osteoartrit, romatoid artrit) sırasında, HA'daki bozulma (muhtemelen oksijen radikallerinin etkisine bağlı olarak) sinovyal sıvının viskozitesinin ve kayganlaştırıcı etkisinin azalmasına neden olur. Bu durumda, eklem hareketinin bozulmasına ve ağrıya yol açar (Őoltés ve ark., 2006). Őöyle ki, HA'nın moleküler ağırlığı, sağlıklı eklemlerde yaklaşık 7 MDa iken, sağlıksız eklemlerde yaklaşık 4.8 MDa'dır (Sudha and Rose, 2014).

Osteoartrit, 70 yaşındakilerin yaklaşık %70'ini etkileyen diartrodial eklemlerin dejeneratif ve güçten düşürücü bir hastalığıdır. Artiküler kıkırdağın ilerleyici hasarı ile ilişkili olup ağrıya yol açmaktadır, bu da hareket kaybı ve hastalar için sürekli sağlık bakımı gereksinimi ile sonuçlanmaktadır (Chen ve ark., 2012). HA'nın en başarılı tıbbi uygulamalarından biri, osteoartrit tedavisi için sodyum hiyalüronat kullanılmasıdır. Genzyme tarafından üretilen ve şimdiye kadarki ilk tek enjeksiyonlu HA viskoz takviye ürünü Synvisc-One, 2009 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış ve o zamandan beri osteoartrit için ağrıyı hafifleten rahatlığı ve etkinliği nedeniyle çok popölerlik kazanmıştır. Bu büyük atılımın ardından dünyanın diğer bölgelerinde kullanımı kolay HA bazlı ürünlere olan talep artmıştır (Sze ve ark., 2016).

#### **4.4. Deri ve Kemik Doku Mühendisliği'nde Kullanımı**

HA, deri ve kemik kayıplarının tedavisine yönelik olarak doku mühendisliği alanında da kullanılmaktadır. HA, biyolojik olarak parçalanabilirliği, biyoyumluluğu, immünojenik olmaması ve trombojenik olmaması nedeniyle doku mühendisliği için çok uygun

bir biyolojik materyal olarak kabul edilmektedir (Xing ve ark., 2020). Çapı 4 cm'den fazla olan deri kayıplarında, deri grefti (deri nakli) olmaksızın etkili tedavi başarısı elde edilememektedir. Diğer bir olumsuz nokta ise, deri nakli için donörlerinin her zaman mevcut olmamasıdır. Bu nedenle, deri nakillerine ihtiyaç duyan hastalar için alternatif çözümlerin geliştirmesi amacıyla doku mühendisliğine yönelim artmaktadır (Dovedytis ve ark., 2020). Yapılan bir çalışmada (Monteiro ve ark., 2015), poli-l-lisin filmleri bir HA iskelesine püskürtülerek montaj tekniği ile çok katmanlı bir film yapı oluşturulmuş ve bu film yapının deri kaybının tedavi edilmesinde etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada, bu film tabakadaki keratinositlerin gözenekli yapı iskelelerine tutunarak orada çoğaldığı, fakat gözenekli dermal tabakayı istila etmedikleri ve böylece bu iskelede fibroblast hücreleri için yer bıraktıkları tespit edilmiştir. Kısacası, çalışmanın ekibi poli-l-lisin ve HA ile hazırlanan çok katmanlı film tabakanın hücre yapışmasını teşvik ederek epidermal bariyer fonksiyonlarının yenilenmesine katkı yaptığını ortaya çıkarmıştır.

Büyük kemik defektlerinin tedavisinde kemik transplantasyonu en yaygın yöntem olarak kullanılsa da, bu yöntemde immünolojik rejeksiyon ve enfeksiyon gibi birçok sorun ortaya çıkmaktadır (Xing ve ark., 2020; Zhai ve ark., 2020). Doku mühendisliği yöntemleriyle üretilen malzemeler, kemik defektlerinin tedavisinde umut verici alternatifler olarak görülmektedir. Kemik yerine kullanılabilecek bu implantlar hazırlanırken ise; HA, aljinat, kollajen, jelatin ve kitosan gibi doğal polimerler, doku mühendisliği teknikleri ile kemik yapı iskelelerini oluşturmak için kullanılmaktadır (Xing ve ark., 2020).

Örneğin, HA ve türevleri dondurarak kurutma, elektrospinning ve 3D baskı gibi çeşitli doku mühendisliği teknikleriyle gözenekli yapı iskelelerine, nanoliflere, filmlere, nanoparçacıklara ve mikrokürelere dönüştürülebilmekte ve bu malzemelerde kemik doku rejenerasyonu için kullanılabilir (Zhao ve ark., 2019; Song ve ark., 2019). Örneğin, Singh ve ark., (2014) dondurarak kurutma tekniği ile jelatin, hyaluronik asit ve aljinattan polimerik yapı iskeleleri hazırlamış ve bu yapıların kemik rejenerasyonu üzerindeki etkisini test etmiştir. Çalışmada, hazırlanan yapıların büyüme faktörü olmadan bile hücre proliferasyonunu arttırdığı ve osteojenik farklılaşmayı indüklediği ortaya çıkarılmıştır. Başka bir çalışmada (Hu ve ark., 2017), dondurarak kurutma teknolojisi ile HA, kondroitin sülfat, kitosan ve nano hidroksiapatit üçlüsünden hazırlanan hibrit yapının osteoblastların proliferasyonunu ve farklılaşmasını arttırdığı gösterilmiştir. Kemik rejenerasyonu artırmak amacıyla, HA bazlı bu malzemelere osteogenez ile ilişkili hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını indükleyecek olan çeşitli büyüme faktörleri de (kemik morfogenetik proteinleri fibroblast büyüme faktörleri, vasküler endotelial büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, hepatosit büyüme faktörü vb) tek veya çoklu kombinasyon halinde eklenebilmektedir (Xing ve ark., 2020). Örneğin, HA-kollojen (Chung ve ark., 2013) ve HA-kitosan (Nath ve ark., 2015) kompleksleri ile kemik morfogenetik proteini-2 (BMP-2)' nin taşınabileceği ve bu sayede kemik rejenerasyonunun arttırılabileceği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada (Holloway ve ark., 2015), HA kompleksi ile taşınan iki farklı büyüme faktörünün (BMP-2 ve stromal hücre kaynaklı faktör-

1α) kemik rejenerasyonu üzerine etkisi araştırılmış ve bu faktörlerin sinerjik olarak kemik oluşumunu arttırdığı ortaya çıkarılmıştır. Literatürde, sadece büyüme faktörlerinin değil aynı zamanda kemik rejenerasyonunu artıran ilaçların da HA kompleksleri ile taşınabileceği bildirilmektedir (Xing ve ark., 2020). Simvastatin (SIM), insan adipoz kaynaklı stromal hücrelerinin osteoblastik farklılaşmasını indükleyen ve kemik hücrelerinde kemik morfojenik proteinlerini arttıran çok önemli bir ilaçtır (Mundy ve ark., 1999; Zhou ve ark., 2010). Yapılan bir çalışmada (Bae ve ark., 2011), SIM yüklenmiş HA hidrojellerinin in vivo ve in vitro'da osteogenezi arttırdığı rapor edilmiştir. Dahası başka çalışmalarda (Abourehab 2019; Schmidt ve ark., 2019), HA bazlı biyomateryallerin risedronat ve deksametazon gibi çeşitli anti-osteoporoz ilaçları da taşıyarak kemik rejenerasyonunu arttırabileceği gösterilmiştir.

#### **4.5. Beyin Hasarı Tedavisinde Kullanımı**

Anjiyogenez, vasküler endotel hücrelerinin (EC'ler) aktivasyon, göç ve proliferasyon mekanizmaları ile daha önce var olan olan damarlardan yeni kan damarlarını oluşturduğu biyolojik bir süreçtir (Carmeliet, 2000). Sağlıklı vücutta anjiyogenezin düzenlenmesi, anjiyogenez uyarıcı faktörlerin ve anjiyogenez inhibitörlerinin hassas dengesiyle gerçekleşir. Anjiyogenez canlı vücudu için çok gerekli bir süreç olsa da, aşırı veya eksik anjiyogenez çok çeşitli patolojik durumların gelişmesine neden olabilir. Anjiyogenezin terapötik uyarımı veya baskılanması, bu hastalıkları ortadan kaldırmanın anahtarı olabilir (Pardue ve ark., 2008). Travmatik beyin hasarı

doğrudan damar hasarına neden olarak beyin hücrelerine kan tedarigini engellemekte ve bu yüzden nörol hücre ölümü ve işlev bozukluğuna yol açmaktadır. Anjiyogenez ise, beyin gelişimi ve onarımı için önemlidir. Anjiyogenez sayesinde, yeni oluşan kan damarları sadece beyin dokularına oksijen ve besin sağlamakla kalmaz, aynı zamanda nörogenez ve yeniden nöronal şekillenmeye de katkıda bulunur (Bramlett ve Dietrich, 2004; Mancuso ve ark., 2008; Xiong ve ark., 2010). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada (Lu ve ark., 2019), travmatik beyin hasarının tedavi edilmesinde HA'nın kullanılabilirliği test edilmiştir. Çalışmanın ekibi vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'nin biyolojik aktivitesini taklit eden bir peptidi, HA hidrojellerine immobilize etmiş ve daha sonra da hazırladıkları peptit-HA hidrojel kompleksini yaralı sıçan beyindeki lezyon boşluklarına uygulamıştır. Çalışmanın sonunda, HA hidrojel-peptit kompleksinin yaralanan bölgelerde glial skar oluşumunu engellediği, endoglin/CD105 ekspresyonunu arttırdığı, kan damarlarının oluşumunu teşvik ettiği ve anjiyogenezi desteklediği görülmüştür. Sonuç olarak da, çalışmanın ekibi; HA hidrojel-peptit kompleksinin beyin kusurlarını onarma potansiyeline sahip olduğunu belirtmiştir.

#### **4.6. Kanser Tedavisinde Kullanımı**

Insan hücrelerindeki reseptörlere spesifik bağlanma potansiyelinden dolayı, HA kanser tedavisine yönelik ilaç taşıyıcı nanosistemlerin (ilaç konjuge polimerik HA, misel, polimerzom, hidrojel, HA ile yüzey modifikasyonu yapılmış inorganik nanopartiküller) hazırlanmasında

kullanılmaktadır (Esposito ve ark., 2005; Chen ve ark., 2014; Cai ve ark., 2017; Lu ve ark., 2019). Yapısında HA bulduran bu sistemler kullanarak paclitaxel, doxorubicin ve irinotecan gibi antikanser özelliğe sahip hidrofobik kemoterapik ilaçlar kanser hücrelerine spesifik olarak yönlendirilebilmektedir (Cai ve ark., 2017).

HA, uygulandığında böbrek ve tümör hücrelerinde yaygın olarak bulunan CD44 reseptörüne bağlanarak endositoz ile hücre içine alınabilmektedir. CD44 reseptörleri tümör hücrelerinde (özellikle de ovaryum, meme, kolon ve skuamöz karsinom) aşırı eksprese edilmektedir. Tümör hücreleri ayrıca HA'nın bağlanabileceği LYVE-1 ve RHAMM reseptörlerini de içermektedir. HA, tümör hücreleri etrafında toplanmakta ve CD44'e bağlanarak endositoz ile hücreye alınmaktadır (Cai ve ark., 2017; Huang ve Huang 2018; Dovedytis ve ark., 2020). İlaç konjuge edilen HA sistemleri doğrudan kanserli hücrelerdeki CD44 gibi reseptörleri hedef almaktadır. HA, CD44 reseptörü aracılı-endositoz ile kanser hücresine alındıktan sonra hücrelerde bulunan hyaluronidaz enzimi ile hidrolize olmakta ve daha küçük moleküler ağırlıklı fraksiyonlara ayrılmaktadır. HA, kanserli hücre içerisinde parçalandığı için, parçalanma sonrasında taşıdığı kemoterapik ilacı spesifik olarak kanserli hücreye salmaktadır (Zhang ve ark., 2016; Dosio ve ark., 2016).

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların sitotoksik olduğu ve hastalarda hedef dışı istenmeyen hücre ölümüne neden olduğu bilinmektedir. Bu yüzden, CD44 reseptörünü hedef alabilen ve spesifik olarak hedef hücrelere yönlendirilebilen HA'nın kanser ilaçlarının olumsuz

etkilerini de ortadan kaldıracabileceği belirtilmektedir (Oh ve ark., 2010). İmmünoterapi, kanser gibi hastalıklarla savaşmak için kişinin bağışıklık sistemini yönlendirmeyi esas alan tedavidir. İmmün kontrol noktası inhibitörleri (ICI'ler), kimerik antijen reseptör T hücresi (CAR-T) ve antikorlar en umut verici immünoterapi stratejileridir (Murciano-Goroff ve ark., 2020). Literatürde, HA ile hazırlanan taşıyıcı sistemlere (konjuge sistemler, miseller, polimerzomlar veya hidrojeller) immünoterapide kullanılan moleküllerin de yüklenebileceği ve bu sistemlerin serbest formdaki moleküllere oranla T ve B hücrelerinin aktivitesini daha fazla arttırdığı ve dolayısıyla kanser tedavisinde daha iyi sonuçlar sağladığı rapor edilmiştir (Xu ve ark., 2014; Lee ve ark., 2015; Ueda ve ark., 2016; Shin ve ark., 2017; Kim ve ark., 2018).

Gen transfeksiyonu, kalıtsal bozuklukların yanı sıra kanser, kistik fibroz, AIDS ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi hastalıkların tedavisi için de umut verici bir strateji olarak görülmektedir. Gen tedavisinin başarısı, esas olarak, belirli bir terapötik genin sağlıklı hücrelere etkili bir şekilde transferine bağlıdır (Wang ve ark., 2017; Qin ve ark., 2018). Gen transferlerinde ise viral ya da viral olmayan vektörler kullanılmaktadır. Retrovirüsler, adenovirüsler veya adeno-ilişkili virüslere dayalı olarak hazırlanan viral vektörlerin yüksek transfeksiyon etkinliğine sahip olduğu gösterilmiş olsa da, bu vektörlerin istenmeyen immünojenik reaksiyonlara, sitotoksisiteye neden oldukları ve yüksek maliyet oluşturdukları da belirtilmektedir. Bu yan etkilerin üstesinden gelmek içinse, genlerin hedef hücrelere iletilmesinde lipozom, niozom, katı lipid nanoparçacıkları ve polimer



gibi viral olmayan vektörler de test edilmektedir (Qin ve ark., 2018; Bulcha ve ark., 2021; Guo ve ark., 2021). Bununla birlikte, viral vektörlerle karşılaştırıldığında, viral olmayan gen vektörlerinin in vivo transfeksiyon verimliliklerinin daha düşük olduğu açıklanmaktadır. Bu nedenle, toksisite ve transfeksiyon engellerinin üstesinden gelebilecek viral olmayan yeni gen vektörlerinin keşfine ihtiyaç duyulmaktadır (Wang ve ark., 2017). Bu amaçla yürütülen çalışmalarda, HA ile modifiye edilmiş viral olmayan vektörlerin kanser tedavisinde gen transfeksiyonu amacıyla kullanılabilmesi gösterilmiştir (Ganesh ve ark., 2013). Örneğin, bazı çalışmalarda HA bazlı vektörler ile siRNA'lar taşınarak kanserleşmeyi arttıran hedef genlerin susturulması amaçlanmıştır (Lee ve ark., 2007; Jiang ve ark., 2008; Ganesh ve ark., 2013; Lee ve ark., 2014). siRNA hücreye girmeden önce kolayca bozunabilmektedir. Vektörlerde kullanılan HA ise siRNA'yı kapsülleyerek hücreye girdikten sonra parçalanmakta ve siRNA'yı serbest bırakmaktadır. Serbest kalan siRNA ise istenmeyen proteinleri kodlayacak olan mRNA'ları parçalamaktadır (Jang ve ark., 2014; Huang ve Huang, 2018). Başka bir çalışmada, HA ve poliamidoamin ile konjuge bir vektör sistemi hazırlanmış ve bu sistem daha sonra CD44 reseptörünü taşıyan kanser hücrelerine pCMV-Luc raportör geninin transfeksiyonu için kullanılmıştır (Urbiola ve ark., 2014).

#### 4.7. Göz Hastalıklarının Tedavisinde Kullanımı

Göz kuruluğu; rahatsızlık, görme bozukluğu ve gözyaşı film stabilitesi semptomlarıyla kendini gösteren gözyaşı ve oküler yüzey hastalığıdır. İnsanların %5 ila %34'ü kızarıklık, yanma, batma, yabancı cisim hissi, kaşıntı ve fotofobi gibi semptomları olan kuru gözden etkilenmektedir. Günümüzde bu hastalık için en popüler tedavi polivinil alkol, povidon, hidrokisipropil guar, selüloz türevleri ve HA'dan oluşan yapay gözyaşlarının kullanılmasıdır. Bunların toplu olarak gözyaşı filmi stabilitesini arttırdığı, yüzey stresini azalttığı, kontrast duyarlılığını ve optik yüzey kalitesini iyileştirdiği gösterilmiştir. HA, göz kırpma ve oküler hareketler sırasında sürtünmeyi azaltan oküler yüzeyi yağlayabilen viskoelastik özellikler göstermektedir. Böylece HA'nın su tutma ve kayganlaştırıcı özellikleri doğrudan kuru göz için uygulanmaktadır (Aragona ve ark., 2002; Fezza 2018, Huynh ve Prierer, 2020).

Bu hastalığın tedavisinde kullanılmasının yanı sıra, göz ameliyatları veya darbelere bağlı olarak göz korneasındaki oluşan HA kayıpları sonrasında da HA göze enjekte edilebilmekte ve gözün bu şekilde korunması sağlanmaktadır. Lens uygulamaları sonrasında göz sıvısındaki akışkanlığı sağlamak için de yine lens sıvılarına HA eklenebilmektedir (Kogan ve ark., 2007). Healon adı verilen ilk patentli HA ürünü, horoz ibiğinden elde edilmiştir (Balazs, 1979). Bu ürün, göz ameliyatı sırasında vitröz vücut sıvısının kaybını tamamlamak ve iyileştirmek için hareket eden bir viskoelastik madde olarak kullanımının ardından hemen başarı elde etmiştir (Sze ve ark.,

2016). Diğer taraftan, nisin (bir antimikrobiyal peptit) ve HA ile hazırlanan kompleksin yaralarda, kontakt lensler, kontakt lensler için temizleme solüsyonları ve kozmetik formülasyonları gibi çeşitli uygulamalarda bakteri kontaminasyonunu önlemek için kullanılabilceği rapor edilmiştir (Glinel ve ark., 2012). Gen tedavisi, retinal kusurlar ve kireçlenme gibi hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (Qin ve ark., 2018; Zhou ve ark., 2018). Retinal kusurların giderilmesine yönelik olarak yürütölen bir çalışmada (Qin ve ark., 2018), HA ile modifiye edilmiş katyonik niozom (HA-C-niozomlar) kompleksinin CD44 reseptörü taşıyan retina pigment epiteli hücrelerine gen transfeksiyonunda kullanılabilirliği test edilmiştir. Çalışmanın ekibi HA-C-niozomların farelerde spesifik olarak retina tabakasını hedeflediğini ve HA yüklü grubun, HA içermeyen gruptan 6-6.5 kat daha yüksek gen transfeksiyonu başarısı sağladığını rapor etmiştir.

#### **4.8. Görüntöleme Tekniklerinde HA Kullanımı**

Manyetik rezonans görüntöleme (MRI), vücuttaki organların ve yapıların ayrıntılı görüntülerini üretmek için büyük bir mıknatısın, radyo frekanslarının ve bir bilgisayarın kullanıldığı güçlü bir teşhis tekniğidir. Bu teknik, derin doku penetrasyonu ve milimetrenin altında çözünürlükle mükemmel yumuşak doku kontrastı sağlamakta olup iyonlaştırıcı radyasyona ihtiyaç duymamaktadır. MRI günümüzde kanser, Alzheimer, kardiyovasköler rahatsızlıklar, enfeksiyonlar, kas ve kıkırdak hasarları gibi çok çeşitli hastalıkların teşhisinde başarıyla

kullanılmaktadır (Killiany ve ark., 2000; Caravan, 2009; Rimola ve ark., 2011; Salvatore ve ark., 2015).

MRI tekniğinde, lokalize oldukları dokunun yakın çevresindeki su protonlarının gevşeme oranlarını olumlu yönde etkileyerek görüntülerindeki kontrastı arttırabilen gadolinyum-dietilentriamin pentaasetat (Gd-DTPA) gibi paramanyetik Gd bazlı kontrast ajanlar kullanılmaktadır. Ancak, Gd bazlı kontrast ajanlar hem düşük doku özgüllüğü sergilemekte hem de ciddi nefrotoksositeye ve ağır alerjik reaksiyonlara neden olmaktadır (Caravan, 2009; Russo ve ark., 2016). Yapılan çalışmalarda, HA ile konjuge edilmiş Gd bazlı kontrast ajanların, HA içermeyenlere oranla daha yüksek doku özgüllüğü ve daha az toksisiteye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (Caravan 2009; Russo ve ark., 2016; Lu ve ark., 2020; Hwang ve ark., 2021). Örneğin, yapılan bir çalışmada (Lu ve ark., 2020), HA ile modifiye edilen Gd-DTPA kompoziti (Gd-DTPA-HA) hazırlanmış ve ardından bu kompozit soğukta dondurma yöntemiyle nanopartikül (NP) formuna dönüştürülmüştür. Hazırlanan final materyali (Gd-DTPA-HA NPs) daha sonra da MR görüntülemesinde (eklem kıkırdağı yaralanmasının tespiti için) kontrast ajan olarak test edilmiştir. Çalışmanın ekibi,  $T_1$  ağırlıklı sekanslarda Gd-DTPA-HA NP' lerin, nanopartikül formunda olmayan kompozit (Gd-DTPA-HA) ve HA içermeyen klinik kontrast maddeye (Gd-DTPA) oranla daha yüksek relaksivite değerine ( $r_1$  değerleri sırasıyla  $12.51 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ,  $8.37 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$  ve  $3.88 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) sahip olduğunu belirtmiştir. Çalışmada ayrıca, HA'nın kıkırdağa olan yüksek afinitesi nedeniyle, in vivo eklem içi enjeksiyonundan sonra Gd-DTPA-HA NP' lerin kıkırdağın daha derin yüzeylerine nüfuz

ettiği, kıkırdak ve lezyon görüntülerinin kalitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Dahası, Gd-DTPA-HA NP' lerin böbrek ve karaciğer tarafından metabolize edildiği, idrarla vücuttan atıldığı ve kanda veya ana organlarda olumsuz etki yapmadığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada (Wu ve ark., 2020), tümörlerin ile MR görüntülenmesi için HA ile modifiye edilmiş gadolinyum oksit nanoparçacıkları (HA-Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'ler) hazırlanmış ve bu NP'ler kontrast madde olarak kullanılmıştır. Çalışmada, HA-Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'lerin düşük sitotoksosite ve yüksek biyouyumluluğa sahip oldukları, HA'ya spesifik reseptör (CD44) sayesinde endositoz ile kanser hücrelerinin sitoplazmasına kolayca girebildikleri, T<sub>1</sub> ağırlıklı sekanslarda yüksek relaksivite ( $r1$  6.0 mM<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) gösterdikleri tespit edilmiş ve bu bulgulara bağlı olarak da hazırlanan HA-Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> NP'lerinin tümör teşhisi ve radyoterapisinde büyük potansiyele sahip olabileceği belirtilmiştir.

MRI tekniğinde gadolinyum'un yanı sıra süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıkları da (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'ler) kontrast ajanlar olarak kullanılmaktadır. Gadolinyum bazlı kontrast ajanlar T<sub>1</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP' bazlı olanlar ise T<sub>2</sub> ağırlıklı sekanslarda görüntü almak için tercih edilmektedir. Hali hazırda klinikte gadolinyum bazlı kontrast ajanlar kullanılmaktadır. Bununla birlikte, daha yüksek manyetik sinyal yoğunluğu, daha uzun kontrast artışı ve daha düşük sitotoksosite göstermeleri nedeniyle Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP bazlı kontrast ajanlara artan bir ilgi söz konusudur (Zhang ve ark., 2016; Luo ve ark., 2019). Ancak, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin de makrofajlar tarafından yutulma ve retiküloendotelial sistemde toplanma gibi kendine özgü eksiklikleri bulunmaktadır. Bu durumun önüne geçmek içinde, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin HA

ve PEG gibi polimerler ile modifiye edilmesi umut vadeden bir strateji olarak görülmektedir (Chen ve ark., 2010; Li ve ark., 2014; Luo ve ark., 2019). Örneğin, Luo ve ark., (2019), tarafından yapılan bir çalışmada, HA ile modifiye edilen Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'ler (HA- Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP), yüzeyinde HA'nın bağlanabildiği CD44 reseptörlerini taşıyan pankreas kanser hücrelerini hedef almak için kullanılmıştır. Çalışmanın ekibi, HA-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin verimli T<sub>2</sub> ağırlıklı sekanslarda iyi kontrast oluşturduklarını ve 100 µg/mL'ye kadar konsantrasyonlarda hücre toksisitesine neden olmadıklarını belirtmiştir. Flow sitometrisi, konfokal mikroskopisi ve hücre MRG sonuçları ise, HA ile modifiye edilen grupların modifiye edilmeyen gruplara göre daha fazla hücresel alınımına sahip olduğunu göstermiştir.

## KAYNAKÇA

- Abourehab, M. A. S. (2019). Hyaluronic acid modified risedronate and teriparatide co-loaded nanocarriers for improved osteogenic differentiation of osteoblasts for the treatment of osteoporosis. *Current Pharmaceutical Design*, 25, 2975–88.
- Aragona, P., Papa, V., Micali, A., Santocono, M., Milazzo, G. (2002). Long term treatment with sodium hyaluronate-containing artificial tears reduces ocular surface damage in patients with dry eye. *British Journal of Ophthalmology*, 86(2), 181-184.
- Armstrong, D. C., Cooney, M. J., Johns, M. R. (1997). Growth and amino-acids requirements of hyaluronic-acid-producing *Streptococcus zooepidemicus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47, 309-312.
- Arslan, N. P., Aydogan, M. N. (2021). Evaluation of sheep wool protein hydrolysate and molasses as low-cost fermentation substrates for hyaluronic acid production by *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 925-935.
- Bae, M. S., Yang, D. H., Lee, J. B., Heo, D. N., Kwon, Y. D., Youn, I. C. et al. (2011). Photo-cured hyaluronic acid-based hydrogels containing simvastatin as a bone tissue regeneration scaffold. *Biomaterials*, 32(32), 8161-8171.
- Balazs, E. A. (1979). U.S. Patent No. 4,141,973. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Balazs, E. A., Laurent, T. C., Jeanloz, R. W. (1986). Nomenclature of hyaluronic acid. *Biochemical Journal*, 235(3), 903
- Balazs, E. A. (2009). Therapeutic use of hyaluronan. *Structural Chemistry*, 20(2), 341-349.
- Blank, L. M., Hugenholtz, P., Nielsen, L. K. (2008). Evolution of the hyaluronic acid synthesis (has) operon in *Streptococcus zooepidemicus* and other pathogenic streptococci. *Journal of Molecular Evolution*, 67(1), 13-22.

- Boeriu, C. G., Springer, J., Kooy, F. K., van den Broek, L. A., Eggink, G. (2013). Production methods for hyaluronan. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2013.
- Bramlett, H. M., Dietrich, W. D. (2004). Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 24(2), 133-150.
- Cai, Z. X., Zhang, H. B., Wei, Y., Gong, F. S. (2017). Hyaluronan-Inorganic Nanohybrid Materials for Biomedical Applications. *Biomacromolecules*, 18, 1677–1696
- Caravan, P. (2009). Protein-targeted gadolinium-based magnetic resonance imaging (MRI) contrast agents: design and mechanism of action. *Accounts of Chemical Research*, 42, 851-862.
- Carmeliet, P. (2000). Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature Medicine*, 6, 389-395.
- Chen, A. G. C. M., Gupte, C., Akhtar, K., Smith, P., Cobb, J. (2012). The global economic cost of osteoarthritis: how the UK compares. *Arthritis*, 2012.
- Chen, B., Miller, R. J., Dhal, P. K., 2014. Hyaluronic acid-based drug conjugates: State-of-the-art and perspectives. *J. Biomed. Nanotechnology*, 10, 4–16.
- Chen, Y. J., Tao, J., Xiong, F., Zhu, J. B., Gu, N., Geng, K. K. (2010). Characterization and in vitro cellular uptake of PEG coated iron oxide nanoparticles as MRI contrast agent. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65, 481-486.
- Chien, L. J., Lee, C. K. (2007). Hyaluronic acid production by recombinant *Lactococcus lactis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77, 339-346.
- Chong, B. F., Blank, L. M., McLaughlin, R., Nielsen, L. K. (2005). Microbial hyaluronic acid production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66, 341-351.
- Chung, E. J., Chien, K. B., Aguado, B.A., Shah, R. N. (2013). Osteogenic potential of BMP-2-releasing self-assembled membranes. *Tissue Engineering Part A*, 19, 2664–2673.



- Cui, Z., Liao, J., Cheong, N., Longoria, C., Cao, G., DeLisser, H. M., Savani, R. C. (2019). The Receptor for Hyaluronan-Mediated Motility (CD168) promotes inflammation and fibrosis after acute lung injury. *Matrix Biology*, 78, 255-271.
- Damiani, G., Eggenhöfner, R., Pigatto, P. D. M., Bragazzi, N. L. (2019). Nanotechnology meets atopic dermatitis: Current solutions, challenges and future prospects. Insights and implications from a systematic review of the literature. *Bioactive Materials*, 4, 380–386.
- DeAngelis, P. L., Papaconstantinou, J., Weigel, P. H. (1993). Isolation of a *Streptococcus pyogenes* gene locus that directs hyaluronan biosynthesis in acapsular mutants and in heterologous bacteria. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 14568-14571.
- DeAngelis, P. L., Jing, W., Drake, R. R., Achyuthan, A. M. (1998). Identification and molecular cloning of a unique hyaluronan synthase from *Pasteurella multocida*. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 8454-8458.
- De Vuyst, L., De Vin, F., Vaningelgem, F., Degeest, B. (2001). Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11, 687-707.
- Dosio, F., Arpicco, S., Stella, B., Fattal, E. (2016). Hyaluronic acid for anticancer drug and nucleic acid delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 97, 204-236.
- Dovedytis, M., Liu, Z. J., Bartlett, S. (2020). Hyaluronic acid and its biomedical applications: A review. *Engineered Regeneration*, 1, 102-113.
- Esposito, E., Menegatti, E., Cortesi, R. (2005). Hyaluronan-based microspheres as tools for drug delivery: a comparative study. *International Journal of Pharmaceutics*, 288, 35-49.
- Fakhari, A., Berklund, C. (2013). Applications and emerging trends of hyaluronic acid in tissue engineering, as a dermal filler and in osteoarthritis treatment. *Acta Biomaterialia*, 9, 7081-7092.
- Fallacara, A., Baldini, E., Manfredini, S., Vertuani, S. (2018). Hyaluronic acid in the third millennium. *Polymers*, 10, 701.

- Fezza, J. P. (2018). Cross-linked hyaluronic acid gel occlusive device for the treatment of dry eye syndrome. *Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ)*, 12, 2277.
- Fouladi-Nashta, A. A., Raheem, K. A., Marei, W. F. A., Ghafari, F., Hartshorne, G. (2017). Regulation and roles of the hyaluronan system in mammalian reproduction. *Reproduction*, 153(2).
- Fraser, J. R. E., Laurent, T. C., Laurent, U. B. G. (1997). Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of Internal Medicine*, 242, 27-33.
- Ganesh, S., Iyer, A. K., Morrissey, D. V., Amiji, M. M. (2013). Hyaluronic acid based self-assembling nanosystems for CD44 target mediated siRNA delivery to solid tumors. *Biomaterials*, 34, 3489–3502.
- Gao, H. J., Du, G. C., Chen, J. (2006). Analysis of metabolic fluxes for hyaluronic acid (HA) production by *Streptococcus zooepidemicus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(4), 399-408.
- Giam, Y. C., Hebert, A. A., Dizon, M. V., Van Bever, H., Tiongco-Recto, M., Kim, K.-H., et al. (2016). A review on the role of moisturizers for atopic dermatitis. *Asian Pacific Allergy*, 6, 120–128.
- Glinel, K., Thebault, P., Humblot, V., Pradier, C. M., Jouenne, T. (2012). Antibacterial surfaces developed from bio-inspired approaches. *Acta Biomaterialia*, 8, 1670-1684.
- Gonzalez, A. C. D. O., Costa, T. F., Andrade, Z. D. A., Medrado, A. R. A. P. (2016). Wound healing-A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91, 614-620.
- Guo, M., Meng, Y., Qin, X., Zhou, W. (2021). Dopamine-grafted hyaluronic acid coated hyperbranched poly ( $\beta$ -Amino Esters)/DNA nano-complexes for enhanced gene delivery and biosafety. *Crystals*, 11, 347.
- Holloway, J. L., Ma, H., Rai, R., Hankenson, K. D., Burdick, J. A. (2015). Synergistic Effects of SDF-1 $\alpha$  and BMP-2 Delivery from Proteolytically Degradable Hyaluronic Acid Hydrogels for Bone Repair. *Macromolecular Bioscience*, 15, 1218-1223.

- How, K. N., Yap, W. H., Lim, C. L. H., Goh, B. H., Lai, Z.W. (2020). Hyaluronic acid-mediated drug delivery system targeting for inflammatory skin diseases: A mini review. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 1105.
- Hu, Y., Chen, J., Fan, T., Zhang, Y., Zhao, Y., Shi, X., Zhang, Q. (2017). Biomimetic mineralized hierarchical hybrid scaffolds based on in situ synthesis of nano-hydroxyapatite/chitosan/chondroitin sulfate/hyaluronic acid for bone tissue engineering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 157, 93-100.
- Huang, G., Huang, H. (2018). Hyaluronic acid-based biopharmaceutical delivery and tumor-targeted drug delivery system. *Journal of Controlled Release*, 278, 122-126.
- Huynh, A., Priefer, R. (2020). Hyaluronic acid applications in ophthalmology, rheumatology, and dermatology. *Carbohydrate Research*, 489, 107950.
- Hwang, Y. J., Park, M., Park, M. K., Lee, J. H., Oh, S. H., Suh, M. W. (2021). High-Molecular-Weight Hyaluronic Acid Vehicle Can Deliver Gadolinium into the Cochlea at a Higher Concentration for a Longer Duration: A 9.4-T Magnetic Resonance Imaging Study. *Frontiers in Neurology*, 12.
- Itano, N., Sawai, T., Yoshida, M., Lenas, P., Yamada, Y., Imagawa, M. et al. (1999). Three isoforms of mammalian hyaluronan synthases have distinct enzymatic properties. *Journal of Biological Chemistry*, 274, 25085-25092.
- Jang, Y. L., Ku, S.H., Lee, S. J., Park, J. H., Kim, W. J., Kwon, I. C. et al. (2014). Hyaluronic acid-siRNA conjugate/reducible polyethylenimine complexes for targeted siRNA delivery. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14, 7388-7394.
- Jiang, G., Park, K., Kim, J., Kim, K. S., Oh, E. J., Kang, H. et al. (2008). Hyaluronic acid-polyethyleneimine conjugate for target specific intracellular delivery of siRNA. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 89, 635-642.
- Johns, M. R., Goh, L. T., Oeggerli, A. (1994). Effect of pH, agitation and aeration on hyaluronic acid production by *Streptococcus zooepidemicus*. *Biotechnology Letters*, 16, 507-512.

- Jong, A., Wu, C. H., Chen, H. M., Luo, F., Kwon-Chung, K. J., Chang, Y. C. et al. (2007). Identification and characterization of CPS1 as a hyaluronic acid synthase contributing to the pathogenesis of *Cryptococcus neoformans* infection. *Eukaryotic Cell*, 6, 1486-1496.
- Takechi, K., Kinoshita, M., Yasueda, S. I. (2003). Hyaluronic acid: separation and biological implications. *Journal of Chromatography B*, 797, 347-355.
- Kanchwala, S. K., Holloway, L., Bucky, L. P. (2005). Reliable soft tissue augmentation: a clinical comparison of injectable soft-tissue fillers for facial-volume augmentation. *Annals of Plastic Surgery*, 55, 30-35.
- Killiany, R. J., Gomez-Isla, T., Moss, M., Kikinis, R., Sandor, T., Jolesz, F. et al. (2000). Use of structural magnetic resonance imaging to predict who will get Alzheimer's disease. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 47, 430-439.
- Kim, J. H., Moon, M. J., Kim, D. Y., Heo, S. H., Jeong, Y. Y. (2018). Hyaluronic acid-based nanomaterials for cancer therapy. *Polymers*, 10, 1133.
- Kogan, G., Šoltés, L., Stern, R., & Gemeiner, P. (2007). Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnology Letters*, 29, 17-25.
- Kogan, G., Šoltés, L., Stern, R., Schiller, J., Mendichi, R. (2008). Hyaluronic acid: its function and degradation in in vivo systems. In *Studies in natural products chemistry* (Vol. 34, pp. 789-882). Elsevier.
- Laurent, T. C., Fraser, J. R. E. (1992). Hyaluronan 1. *The FASEB journal*, 6, 2397-2404.
- Lee, H., Mok, H., Lee, S., Oh, Y. K., & Park, T. G. (2007). Target-specific intracellular delivery of siRNA using degradable hyaluronic acid nanogels. *Journal of Controlled Release*, 119, 245-252.
- Lee, M. S., Lee, J. E., Byun, E., Kim, N. W., Lee, K., Lee, H., Sim, S. J., Lee, D. S., Jeong, J. H. (2014). Target-specific delivery of siRNA by stabilized calcium phosphate nanoparticles using dopa-hyaluronic acid conjugate. *Journal of Controlled Release*, 192, 122-130.

- Lee, Y. H., Yoon, H. Y., Shin, J. M., Saravanakumar, G., Noh, K. H., Song, K. H., Jeon, J. H., Kim, D.W., Lee, K. M. et al. (2015). A polymeric conjugate foreignizing tumor cells for targeted immunotherapy in vivo. *Journal of Controlled Release*, 199, 98–105.
- Leng, Y., Abdullah, A., Wendt, M. K., Calve, S. (2019). Hyaluronic acid, CD44 and RHAMM regulate myoblast behavior during embryogenesis. *Matrix Biology*, 78, 236-254.
- Li, J., He, Y., Sun, W., Luo, Y., Cai, H., Pan, Y. et al. (2014). Hyaluronic acid-modified hydrothermally synthesized iron oxide nanoparticles for targeted tumor MR imaging. *Biomaterials*, 35, 3666-3677.
- Litwiniuk, M., Krejner, A., Speyrer, M. S., Gauto, A. R., Grzela, T. (2016). Hyaluronic acid in inflammation and tissue regeneration. *Wounds*, 28, 78-88.
- Liu, L., Du, G., Chen, J., Zhu, Y., Wang, M., Sun, J. (2009). Microbial production of low molecular weight hyaluronic acid by adding hydrogen peroxide and ascorbate in batch culture of *Streptococcus zooepidemicus*. *Bioresource Technology*, 100, 362-367.
- Liu, L., Liu, Y., Li, J., Du, G., Chen, J. (2011). Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. *Microbial Cell Factories*, 10, 1-9.
- Lu, J., Guan, F., Cui, F., Sun, X., Zhao, L., Wang, Y., Wang, X. (2019). Enhanced angiogenesis by the hyaluronic acid hydrogels immobilized with a VEGF mimetic peptide in a traumatic brain injury model in rats. *Regenerative Biomaterials*, 6, 325-334.
- Lu, R., Zhang, Y., Tao, H., Zhou, L., Li, H., Chen, T. et al. (2020). Gadolinium-hyaluronic acid nanoparticles as an efficient and safe magnetic resonance imaging contrast agent for articular cartilage injury detection. *Bioactive Materials*, 5, 758-767.
- Luger, T. A., Loser, K. (2018). Novel insights into the pathogenesis of psoriasis. *Clinical Immunology*, 186, 43–45.

- Luo, Y., Li, Y., Li, J., Fu, C., Yu, X., Wu, L. (2019). Hyaluronic acid-mediated multifunctional iron oxide-based MRI nanoprobes for dynamic monitoring of pancreatic cancer. *RSC advances*, 9, 10486-10493.
- Luo, Z. Dai, Y., Gao, H. (2019). Development and application of hyaluronic acid in tumor targeting drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 9, 1099-1112.
- Mancuso, M. R., Kuhnert, F., Kuo, C. J. (2008). Developmental angiogenesis of the central nervous system. *Lymphatic Research and Biology*, 6, 173-180.
- Mao, Z., Chen, R. R. (2007). Recombinant synthesis of hyaluronan by *Agrobacterium* sp. *Biotechnology Progress*, 23, 1038-1042.
- Meyer, K., Palmer, J. W. (1934). The polysaccharide of the vitreous humor. *Journal of Biological Chemistry*, 107, 629-634.
- Monteiro, I. P., Shukla, A., Marques, A. P., Reis, R. L., Hammond, P. T. (2015). Spray-assisted layer-by-layer assembly on hyaluronic acid scaffolds for skin tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 103, 330-340.
- Mundy, G., Garrett, R., Harris, S., Chan, J., Chen, D., Rossini, G. et al. (1999). Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*, 286, 1946-1949.
- Murciano-Goroff, Y. R., Warner, A. B., Wolchok, J. D. (2020). The future of cancer immunotherapy: microenvironment-targeting combinations. *Cell Research*, 30, 507-519.
- Narins, R. S., Brandt, F., Leyden, J., Lorenc, Z. P., Rubin, M., Smith, S. (2003). A randomized, double-blind, multicenter comparison of the efficacy and tolerability of Restylane versus Zyplast for the correction of nasolabial folds. *Dermatologic Surgery*, 29, 588-595.
- Nath, S. D., Abueva, C., Kim, B., Lee, B. T. (2015). Chitosan-hyaluronic acid polyelectrolyte complex scaffold crosslinked with genipin for immobilization and controlled release of BMP-2. *Carbohydrate Polymers*, 115, 160-169.
- Necas, J. B. L. B. P., Bartosikova, L., Brauner, P., Kolar, J. J. V. M. (2008). Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni Medicina*, 53, 397-411.

- Oh, E. J., Park, K., Kim, K. S., Kim, J., Yang, J. A., Kong, J. H. et al. (2010). Target specific and long-acting delivery of protein, peptide, and nucleotide therapeutics using hyaluronic acid derivatives. *Journal of Controlled Release*, 141, 2-12.
- Qin, Y., Tian, Y., Liu, Y., Li, D., Zhang, H., Yang, Y. et al. (2018). Hyaluronic acid-modified cationic niosomes for ocular gene delivery: improving transfection efficiency in retinal pigment epithelium. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 70, 1139-1151.
- Pandey, M., Choudhury, H., Gunasegaran, T. A. P., Nathan, S. S., Md, S., Gorain, B. et al. (2019). Hyaluronic acid-modified betamethasone encapsulated polymeric nanoparticles: fabrication, characterisation, in vitro release kinetics, and dermal targeting. *Drug Delivery and Translational Research*, 9, 520-533.
- Papakonstantinou, E., Roth, M., Karakiulakis, G. (2012). Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermato-endocrinology*, 4, 253-258.
- Pardue, E. L., Ibrahim, S., Ramamurthi, A. (2008). Role of hyaluronan in angiogenesis and its utility to angiogenic tissue engineering. *Organogenesis*, 4, 203-214.
- Patil, K. P., Patil, D. K., Chaudhari, B. L., Chincholkar, S. B. (2011). Production of hyaluronic acid from *Streptococcus zooepidemicus* MTCC 3523 and its wound healing activity. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111, 286-288.
- Peyron, J. G. (1993). A new approach to the treatment of osteoarthritis: viscosupplementation. *Osteoarthritis and Cartilage*, 1, 85-87.
- Pires, A. M., Macedo, A. C., Eguchi, S. Y., Santana, M. H. (2010). Microbial production of hyaluronic acid from agricultural resource derivatives. *Bioresource Technology*, 101, 6506-6509.
- Puré, E., Assoian, R. K. (2009). Rheostatic signaling by CD44 and hyaluronan. *Cellular Signalling*, 21, 651-655.

- Putri, R. R., Nugraha, T., Christy, S. (2020). Extraction of Hyaluronic acid from *Aloe barbadensis* (Aloe Vera). *Journal of Functional Food and Nutraceutical*, 1, 111-118.
- Rendon, A., Schäkel, K. (2019). Psoriasis pathogenesis and treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1475.
- Rimola, J., Ordás, I., Rodriguez, S., García-Bosch, O., Aceituno, M., Llach, J. et al. (2011). Magnetic resonance imaging for evaluation of Crohn's disease: validation of parameters of severity and quantitative index of activity. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17, 1759-1768.
- Russo, M., Bevilacqua, P., Netti, P. A., Torino, E. (2016). A Microfluidic Platform to design crosslinked Hyaluronic Acid Nanoparticles (cHANPs) for enhanced MRI. *Scientific reports*, 6, 1-10.
- Salvatore, C., Cerasa, A., Battista, P., Gilardi, M. C., Quattrone, A., Castiglioni, I. (2015). Magnetic resonance imaging biomarkers for the early diagnosis of Alzheimer's disease: a machine learning approach. *Frontiers in Neuroscience*, 9, 307.
- Sathishkumar, D., Moss, C. (2016). Topical therapy in atopic dermatitis in children. *Indian Journal of Dermatology*, 61, 656–661
- Scheibner, K., Lutz, M. A., Boodoo, S., Fenton, M. J., Powell, J. D., Horton, M. R. (2006). Hyaluronan fragments act as an endogenous danger signal by engaging TLR2. *Journal of Immunology*, 177, 1272-1281.
- Shin, J. M., Oh, S. J., Kwon, S., Deepagan, V. G., Lee, M., Song, S. H., Lee, H. J. et al. (2017). A PEGylated hyaluronic acid conjugate for targeted cancer immunotherapy. *Journal of Controlled Release*, 267, 181–190.
- Schiraldi, C., Cimini, D., De Rosa, M. (2010). Production of chondroitin sulfate and chondroitin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 1209-1220.
- Schmid, J., Sieber, V., Rehm, B. (2015). Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies. *Frontiers in Microbiology*, 6, 496.
- Schmidt, J. R., Vogel, S., Moeller, S., Kalkhof, S., Schubert, K., von Bergen, M. et al. (2019). Sulfated hyaluronic acid and dexamethasone possess a



- synergistic potential in the differentiation of osteoblasts from human bone marrow stromal cells. *Journal of Cell Biochemistry*, 120, 8706–8722.
- Shu, X. Z., Liu, Y., Palumbo, F. S., Luo, Y., Prestwich, G. D. (2004). In situ crosslinkable hyaluronan hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*, 25, 1339-1348.
- Siegfried, E. C., Hebert, A. A. (2015). Diagnosis of atopic dermatitis: mimics, overlaps, and complications. *Journal of Clinical Medicine*, 4, 884-917.
- Singh, D., Tripathi, A., Zo, S., Singh, D., Han, S. S. (2014). Synthesis of composite gelatin-hyaluronic acid-alginate porous scaffold and evaluation for in vitro stem cell growth and in vivo tissue integration. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 116, 502–509.
- Sironen, R. K., Tammi, M., Tammi, R., Auvinen, P. K., Anttila, M., Kosma, V. M. (2011). Hyaluronan in human malignancies. *Experimental Cell Research*, 317, 383-391.
- Šoltés, L., Mendichi, R., Kogan, G., Schiller, J., Stankovska, M., Arnhold, J. (2006). Degradative action of reactive oxygen species on hyaluronan. *Biomacromolecules*, 7, 659-668.
- Song, J. M., Im, J., Nho, R. S., Han, Y.H., Upadhyaya, P., Kassie, F. (2019). Hyaluronan-CD44/RHAMM interaction-dependent cell proliferation and survival in lung cancer cells. *Molecular Carcinogenesis*, 58, 321-333.
- Sudha, P. N., Rose, M. H. (2014). Beneficial effects of hyaluronic acid. *Advances in Food and Nutrition Research*, 72, 137-176.
- Sze, J. H., Brownlie, J. C., Love, C. A. (2016). Biotechnological production of hyaluronic acid: a mini review. *3 Biotech*, 67.
- Taetz, S., Bochot, A., Surace, C., Arpicco, S., Renoir, J. M., Schaefer, U. F. et al. (2009). Hyaluronic acid-modified DOTAP/DOPE liposomes for the targeted delivery of anti-telomerase siRNA to CD44-expressing lung cancer cells. *Oligonucleotides*, 19, 103–115.
- Tsepilov, R. N., Beloded, A.V. (2015). Hyaluronic acid—an “old” molecule with “new” functions: biosynthesis and depolymerization of hyaluronic acid in

- bacteria and vertebrate tissues including during carcinogenesis. *Biochemistry (Moscow)*, 80, 1093-1108.
- Ueda, K., Akiba, J., Ogasawara, S., Todoroki, K., Nakayama, M., Sumi, A. et al. (2016). Growth inhibitory effect of an injectable hyaluronic acid–tyramine hydrogels incorporating human natural interferon- $\alpha$  and sorafenib on renal cell carcinoma cells. *Acta Biomaterialia*, 29, 103-111.
- Urbiola, K., Sanmartín, C., Blanco-Fernández, L., Tros de Ilarduya, C. (2014). Efficient targeted gene delivery by a novel PAMAM/DNA dendriplex coated with hyaluronic acid. *Nanomedicine*, 9, 2787-2801.
- Vasiliu, S., Racovita, S., Lungu, M.A., Desbrieres, J., Popa, M. (2016). Microbial exopolysaccharides for biomedical applications. *Frontiers in Biomaterials: Unfolding the Biopolymer Landscape*, Eds. Pillay, V., Choonara, Y.E., Kumar, P., Bentham Science Publisher- Sharjah, UAE, 2, 180-238.
- Voigt, J., Driver, V. R. (2012). Hyaluronic acid derivatives and their healing effect on burns, epithelial surgical wounds, and chronic wounds: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Wound Repair and Regeneration*, 20, 317-331.
- Wang, H. J., Zhang, J., Liu, Y. H., Luo, T. Y., He, X., Yu, X. Q. (2017). Hyaluronic acid-based carbon dots for efficient gene delivery and cell imaging. *RSC advances*, 7, 15613-15624.
- Weigel, P. H., Hascall, V. C., Tammi, M. (1997). Hyaluronan synthases. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 13997-14000.
- Widner, B., Behr, R., Von Dollen, S., Tang, M., Heu, T., Sloma, A. et al. (2005). Hyaluronic acid production in *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 3747-3752.
- Wu, C., Cai, R., Zhao, T., Wu, L., Zhang, L., Jin, J. et al. (2020). Hyaluronic acid-functionalized gadolinium oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging-guided radiotherapy of tumors. *Nanoscale Research Letters*, 15, 1-12.
- Xing, F., Zhou, C., Hui, D., Du, C., Wu, L., Wang, L. et al. (2020). Hyaluronic acid as a bioactive component for bone tissue regeneration: Fabrication,

- modification, properties, and biological functions. *Nanotechnology Reviews*, 9, 1059-1079.
- Xiong, Y., Mahmood, A., Chopp, M. (2010). Angiogenesis, neurogenesis and brain recovery of function following injury. *Current Opinion in Investigational Drugs* (London, England: 2000), 11(3), 298.
- Xu, Z. H., Wang, Y. H., Zhang, L., Huang, L. (2014). Nanoparticle-delivered transforming growth factor-beta siRNA enhances vaccination against advanced melanoma by modifying tumor microenvironment. *ACS Nano*, 8, 3636–3645.
- Yu, H., Stephanopoulos, G. (2008). Metabolic engineering of *Escherichia coli* for biosynthesis of hyaluronic acid. *Metabolic Engineering*, 10, 24-32.
- Zhai, P., Peng, X., Li, B., Liu, Y., Sun, H., Li, X. (2020). The application of hyaluronic acid in bone regeneration. *International journal of Biological Macromolecules*, 151, 1224-1239.
- Zhang, C., Yan, Y., Zou, Q., Chen, J., Li, C. (2016). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for MR imaging of pancreatic cancer: Potential for early diagnosis through targeted strategies. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*, 12, 13-21.
- Zhang, Y., Xia, Q., Li, Y., He, Z., Li, Z., Guo, T. et al. (2019). CD44 assists the topical anti-psoriatic efficacy of curcumin-loaded hyaluronan-modified ethosomes: A new strategy for clustering drug in inflammatory skin. *Theranostics* 9, 48.
- Zhao, L., Pei, X., Jiang, L., Hu, C., Sun, J., Xing, F. et al. (2019). Bionic design and 3D printing of porous titanium alloy scaffolds for bone tissue repair. *Composites Part B: Engineering*, 162,154–161.
- Zhou, Y., Ni, Y., Liu, Y., Zeng, B., Xu, Y., Ge, W. (2010). The role of simvastatin in the osteogenesis of injectable tissue-engineered bone based on human adipose-derived stromal cells and platelet-rich plasma. *Biomaterials*, 31, 5325-5335.
- Zhou, P. H., Qiu, B., Deng, R. H., Li, H. J., Xu, X. F., Shang, X. F. (2018). Chondroprotective effects of hyaluronic acid-chitosan nanoparticles

containing plasmid DNA encoding cytokine response modifier A in a rat knee osteoarthritis model. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 47, 1207-1216.

Zhuo, F., Abourehab, M.A., Hussain, Z. (2018). Hyaluronic acid decorated tacrolimus-loaded nanoparticles: Efficient approach to maximize dermal targeting and anti-dermatitis efficacy. *Carbohydrate Polymers*, 197, 478-489.



**BÖLÜM 5**  
**SEKANSLAMA-YOLUYLA-GENOTİPLEME (GENOTYPING-  
BY-SEQUENCING, GBS) YÖNTEMİ İLE PAMUKTA  
KURAKLIĞA TOLERANSLILIK İLE İLİŞKİLİ KANTİTATİF  
ÖZELLİK LOKUSLARIN (QTL) BELİRLENMESİ**

Dr. Öğr. Üyesi Sadettin ÇELİK<sup>1\*</sup>

---

<sup>1\*</sup> Sorumlu yazar: Bingöl Üniversitesi, Genç Meslek Yüksekokulu, Ormanlık Bölümü, 12500, Bingöl-Genç, Türkiye, sadettincelik@bingol.edu.tr,



## GİRİŞ

Pamuk (*Gossypium Spp.*) sıcak iklim kuşağında öncelikli olarak lifi için yetiştirilen ve çok sayıda insanın doğrudan ve dolaylı olarak geçim kaynağı olan bir bitkidir. Bu bitkinin üretimini ve yetiştiriciliğini kısıtlayan, verim ve kalitesini düşüren 20 kadar stres faktörü bulunmaktadır (Pegg, 1984). *Gossypium Spp.* pamuk Cinsine ait yaklaşık 50 kadar tür bulunmaktadır. Bunlardan 5 tanesi allotetraploid ( $2n = 4x = 52$ ) (*G. Hirsutum* L., *G. Barbadosense* L., *G. arboreum* ve *G. herbaceum*) iken 45 tanesi de diploid ( $2n = 2x = 26$ ) olmaktadır (Hui fang, 2013; Percival ve Kohel, 1992; Wendel and Cronn, 2003). *G. Hirsutum* L. türü, aynı zamanda, Upland pamuk, Meksika pamuğu, kısa ve orta elyaf pamuğu olarak da bilinir ve %90'lık yetiştiricilik payı ile dünyada en fazla yetiştiriciliği yapılan pamuk türü olmaktadır (Chen ve ark., 2007). Yetiştiricilik yönünden ikinci sırada olan *G. Barbadosense* L. ise Ekstra uzun lif (ELS), Deniz-ada pamuğu, Mısır'lılar veya American Pima pamuğu gibi çeşitli adlarla anılmakta ve dünya pamuk üretimindeki katkısı %8 olmaktadır (Wang ve ark., 2008; Heitholt, 1999). *G. Arboreum* ve *G. Herbaceum* türleri de global pamuk üretiminin geri kalan %2'lik kısmını temsil etmektedirler (Hui fang, 2013).

Upland ve Deniz-ada pamuk türlerine ait çeşitler hastalığa dayanıklılık, lif kalitesi, verim ve çevre adaptasyonu gibi çeşitli özelliklere sahiptirler (Bolek ve ark., 2005). *G. hirsutum* L. türü yüksek verim ve geniş bir adaptasyon özelliği ile ön plana çıkarken,



*G. barbadense* L. ise lif kalitesi ve hastalığa dayanıklılık yönü ile dikkat çekmektedir (Wang ve ark., 2008).

Diğer bitkiler gibi pamuk bitkisi de topraktan su ( $6H_2O$ ) atmosferden karbondioksit ( $6CO_2$ ) ve güneşten de ışık alarak kloroplastlarda sahip olduğu klorofil pigmentleri (Yeşil renkli pigmentler) sayesinde Glikoz ( $C_6H_{12}O_6$ ) üreterek oksijen ( $6O_2$ ) ortaya çıkartmaktadır ( $6CO_2 + 6H_2O \Rightarrow$  (Güneş ışığı)  $C_6 H_{12}O_6 + 6O_2$ ). Bu olaya fotosentez denilmektedir (Wikipedia.org., 2021). Bitkilerin biyoması (Canlı ağırlığı), fotosentezde rol oynayan bileşiklerin uygun oranlarda varlığına bağlı olmaktadır. Suyun az olduğu, transpirasyon ve evaporasyon ile su kaybının fazla olduğu çöl gibi alanlarda, havada yeteri kadar ışık ve karbondioksit bulunsa dahi bitkilerin topraktan alacakları su yeteri kadar olamamaktadır. Bu durum Leibig'in *Minimum Yasası* yani *Fıçı modeli* ile açıklanabilmektedir (Brock ve Liebig., 2002). *Leibig*, bir çitası kısa olan içi su dolu bir fıçıdaki suyun yüksekliğinin en kısa çitanın belirlediğini ve dolayısıyla da fotosentezin hızını ve oluşan ürün miktarını da en kısa olan bileşenin belirlediğini ortaya koymuştur.

### **Kuraklık Stresinin Oluşmasının Nedenleri**

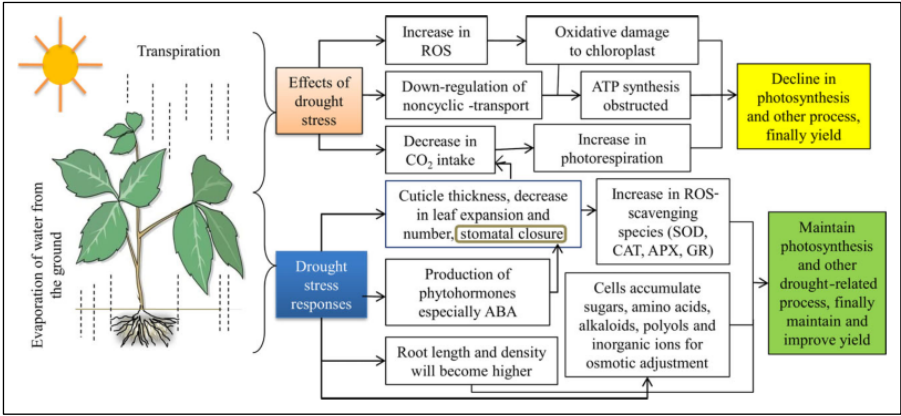
Pamuk bitkisi anavatanı Afrika kıtası olması dolayısıyla diğer tarla bitkilerine nazaran kuraklığa toleransı daha yüksek (Chen ve ark., 2007) olmasına rağmen aşırı susuzluk ve çok şiddetli sıcaklıklar (Li ve ark., 2009) pamuk bitkisini de olumsuz etkilemektedir. Özellikle Upland pamuğun çiçeklenme ve koza olum döneminde yaşanacak bir su sıkıntısı ciddi ürün kayıplarına neden olmaktadır (Hang ve Kang,

2001). Küresel ısınma sonucunda yağışların az yağması, evaporasyonla ve bitki yüzeylerinden transpirasyonla su kayıpları , rüzgar ve su erozyonu neticesinde bitkilerin kök bölgesindeki toprağın yok olması ve kök bölgesinin nemini kaybetmesi, sera etkisi ile sıcaklığın aşırı artışı, pamukta hem odun (Ksilem) hem soymuk (Floem) borusunu tıkayan *Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum* gibi toprak kökenli fungusun varlığı, bitkinin kök bölgesinde çözülmüş tuz iyonlarının ( $Na^+$ ) fazla olması neticesinde osmotik dengesinin bozulması ve su varlığında dahi bitkinin suyu alamaması, *Verticillium solgunluğuna* neden olan toprak kökenli bir diğer biyotik kuraklık musebbibi *Verticillium dahliae* Kleb. funsunun (Erdoğan, 2011; Çelik vd. 2019., Erdoğan ve ark., 2014; Göre ve ark., 2014; Çelik ve ark., 2017) toprakta bulunması neticesinde su, besin elementi ve fotosentez ürünlerini ileten Ksilem (Odun) borusunun tıkanması (Saranga ve ark., 2009) gibi nedenlerle önce bitkilerde dikliği sağlayan turgor basıncı düşer ve kuraklık semptomları fenotipte görülmeye başlar. İnsanların beslenme alışkanlığının büyük kısmının bitkisel kaynaklı olması ve bu bitkilerin ancak su varlığında yetişebildiği göz önünde bulundurulduğunda kuraklık ve onunla mücadele etmenin önemi daha iyi anlaşılmaktadır.

### **Kuraklığın Etkileri ve Pamuğun Kuraklık Stresine Karşı Geliştirdiği Mekanizmalar**

Şekil 1’de görüldüğü üzere kuraklık stresinin yan etkisi olarak pamuk bitkisinde birçok fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler görülmektedir. Kuraklık stresi bitki boyunu, toplam bitki ağırlığını,

yaprak alan indeksini, nod sayısını, lif kalitesini, kök gelişimini, koza büyüklüğünü, kütlü pamuk verimini, lif verimini (Loka ve ark., 2011; Wiggins ve ark., 2013), stoma iletkenliğini, net fotosentez oranını, fotosentez sonucunda üretilen ürün miktarını, transpirasyon oranını ve yapraklardaki su miktarını düşürdüğü görülmektedir (Kumar ve ark., 2001; Parida ve ark., 2007). Ayrıca yer yüzünden meydana gelen evaporasyon, yapraklardan oluşan transpirasyon (Deeba ve ark., 2012) ile meydana gelen su kayıpları neticesinde pamuk bitkisi stomalarını kapatır ve bunun sonucu olarak da stomalardan karbondioksit (CO<sub>2</sub>) alınamaz (Chaves ve ark., 2009) ve fotosentezin hızı düşer. Kuraklık nedeniyle osmotik dengesi bozulan pamuk bitkisi kuraklıkla başa çıkma amacıyla bünyesinde çeşitli organik ve inorganik maddeler biriktirmeye başlar (Fang and Xiong, 2015). Osmotik dengeyi yeniden tesis etmek için Osmokoruyucular (Osmolitler), şekerler (Trehaloz, fruktan), amino asitler (prolin, glisin), aminler ve poliaminler (poliamin, betainler), şeker alkolleri (mannitol, sorbitol, D-ononitol), ektoin, polioller, alkaloidler ve inorganik iyonlar gibi çeşitli bileşikler kullanılmaktadır (Fang ve ark., 2015; Singh ve ark., 2015). Bu bileşenler ve eriyikleri, kuraklık stresi altında yüksek konsantrasyonu iyonlu inorganik bileşiklerin ve oksitleyici zararlarından proteinleri ve membranları korumaktadırlar (Chen ve Murata, 2011). Bu gibi dış müdahalelerin pamuk bitkisinde kuraklığın olumsuz etkilerini düşürdüğü gözlenmiştir (Noreen ve ark., 2013).



**Şekil 1.** Pamuk Bitkisi Üzerinde Kuraklık Stresi Etkisi ve Kuraklık Stresine Karşı Gösterilen Reaksiyonlar (Abid Ullah ve ark., 2017)

Pamuk uzun süre su stresine maruz kaldığında fotosentetik yanıt olarak fotosentez hızını düşürme (Chastain ve ark., 2016), yapraklarını yuvarlama suretiyle güneşin etki alanını azaltarak transpirasyonu düşürme, stoma düzenlemesi (Stomaların kapanması) (Deeba ve ark., 2012; Li ve ark., 2012) ve daha derinlerde bulunan taban suyuna erişmek için kazık köklerini uzatma gibi yanıtlar vermektedir (Hejnák ve ark., 2016). Kuraklığı meydana getiren diğer etmen de bitkilerin kök bölgesinde çözülmüş tuz konsantrasyonlarının artması ve osmotik dengenin bozulması neticesinde pamuk bitkisi topraktaki suyu alamaz ve *fizyolojik kuraklık* denen bir olay gerçekleşmektedir.

Çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri dolayısıyla osmotik dengenin bozulması dolayısıyla bitkinin su alamaması (Boudsoq ve Lauriere, 2005), bitkinin kuraklıkla mücadele etkili olan gen ifadesini (Gen ekspresyonu) ile kuraklık stresine adaptasyonu sağlayacak Absisik Asidin (ABA) salgılanmasını sağlamaktadır (Yamaguchi-

Shinozaki ve Shinozaki, 2006). Aynı zamanda stomaları da koruyan absisik vasküler dokular aracılığıyla transformasyonu mümkün olmaktadır (Kuromori ve ark., 2010). Lv vd. (2007), Osmoprotektan glisin betain ile güçlendirilen transgenik pamuğun kuraklıktan daha az etkilendiğini, Osmoprotektan glisin betainin kuraklık stresi altında transgenik pamuğun fotosentez hızını arttığını, pamuğun bünyesinde daha fazla su depolayabildiğini, iyon sızıntısını ve membranların yağ bozulumunu düşürdüğünü göstermişlerdir. Divya vd. (2010), Hardal annexin geni, *AnnBj1*'in pamuğun kuraklığa karşı toleranslılığını arttıran sukroz ve prolin miktarını arttığını (Zhang ve ark., 2015), pamuğun diğer Annexin geni, *GhAnn1*'in da Superoksit dismutaz (SOD)'ların aktivitesini arttırmak suretiyle pamuk bitkisinin kuraklığa karşı toleranslılığını arttırdığını belirtmişlerdir.

ABA ile uyarılan pamuk geni *GhCBF3* transgenik pamukta kuraklığa toranslığı arttırmanın yanında prolin, bağıl su ve klorofil içeriğini de arttırmaktadır (Ma ve ark., 2016). Jasmonik Asit (JA) da kuraklığa karşı hormonal düzenlemede görev almaktadır (Riemann ve ark., 2015). Kuraklık stresine dayanıklı bitkilerde oksidasyon koruyucu enzimler olarak bilinen Süperoksit Dismutazlar (SOD), Katalaz (CAT), Askorbat Peroksidaz (APX) ve Glutasyon Redüktaz (GR) gibi enzimlerin kuraklığa dirençte görev almaktadırlar (Goswami ve ark., 2013). CRISPR/Cas9 teknolojisi kullanılarak genomik düzenleme yoluyla kuraklığa karşı dayanıklı pamuk çeşitlerinin elde edilmesi de kuraklık stresi ile mücadele etkili yollardan biridir (Long ve ark.; 2018). Reaktif oksijen türleri ( $1O_2$ ,  $OH\cdot$ ,  $O\cdot_2^-$ ,  $H_2O_2$ , ROS)'nin aşırı üretilmesi pamuğun kuraklığa karşı savunma sistemini

güçlendirmektedir (Fang ve Xiong, 215). Mitojenle aktive edilen proteinkinaz (MAPK) stres sinyalizasyonunda yer almakta ve kuraklık stresinden sorumlu proteinleri aktive etmektedir (Kazuya ve ark., 2002). Mesajcı sitoplazmik kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) da MAPK gibi sinyalizasyonda görev almaktadır (Li ve ark., 2015). Yüksek dozdaki  $Ca^{+2}$ 'un varlığı ABA SnRK2 proteinleri ile interaksiyon kurup, kuraklık stresine karşı çeşitli mekanizmaların başlamasını sağlamaktadır (Danquah ve ark., 2014; Dong ve ark., 2015). Bitkilerin yukarıda belirtilen direnç mekanizmalarının yanında dört (4) büyük mekanizmaları daha bu lunmaktadır. Kuraklıktan kaçınma (Drought avoidance, DA), su kaybından kaçınma (Dehidrasyondan kaçınma), Kuraklıktan kurtulma (Drought escape; DE) ve kuraklık geri kazanımıdır (Turner ve ark., 2001; Lawlor, 2013). Ancak bunların arasında en etkili olanları DA ve DE olduğu gözlenmiştir (Yue ve ark., 2006).

## **1. MOLEKÜLER MARKÖRLER İLE GENOTİPLEME**

Genomda spesifik bir gen bölgesi veya o bölge ile ilişkili olan markörleri, bireyleri ve türleri belirleyebilen, Markör destekli seleksiyonda (MAS) seçim imkânı sunan, arzu edilen bir özellikten sorumlu olan gen/genleri belirleyebilen, nükleotit dizini olan genetik materyallere markör denilmektedir (Yorgancılar ve ark., 2015).

Moleküler markörlerin bitki genetiğinde, çeşit geliştirme ıslah programlarında, filogenetik analizlerde, genetik çeşitlilik, Linkage mapping (QTL mapping), İlişkilendirme haritalaması (Association Mapping), evrimsel genetik, segregasyon analizleri ve genetik teşhis

gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bitki genotiplemesinde kullanılmalarıyla hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı, verimi yüksek, kaliteli ürünler verebilen yeni bitki çeşidinin eldesi mümkün olabilmekte ve klasik ıslaha göre markörlerin kullanıldığı moleküler ıslah daha az profesyonellik gerektirmekte, iş gücünden ve maliyetten de tasarruf sağlamaktadır. Basit dizi tekrarı veya mikrosatelitler (Simple sequence repeat, SSR) (Salimath ve ark., 1995; Shukla ve ark., 2021; Litt ve Luty, 1986; Bardak ve bole, 2012), Tek nüleotit farklılığı (SNP) (Xu, 2010, Lander, 1996; Edwards ve ark., 2007) Kesilen Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphisms, RFLP) (Botstein ve ark., 1980; Bernatsky ve Tanksley, 1986), Rastgele çoğaltılan polimorfik DNA markörleri (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) (Williams ve ark., 1990; Vos ve ark., 1995), Çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphisms, AFLP), Dizisi etiketlenmiş sekanslar (Sequence Tag Sites, STS), Bölünerek çoğaltılmış polimorfik dizi (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence, CAPS) (Konieczny ve Ausubel, 1993), tek iplik tamamlama polimorfizmi (SSCP), Amplikon uzunluk polimorfizmi (ALP), Basit sekans tekrarlamaları arası polimorfizm (ISSR) ve İfade edilmiş dizi etiketleri (EST) gibi markörler ile genetik haritalama yapılarak kuraklığa toleranlık ile ilişkili DNA markörleri belirlenmeye çalışılmaktadır (Botstein ve ark., 1980; Meena ve ark., 2017; Boopathi ve ark., 2012; Gupta ve ark., 2001)

## **1.1. Yeni Nesil Sekanslama (Next Generation Sequencing, NGS)**

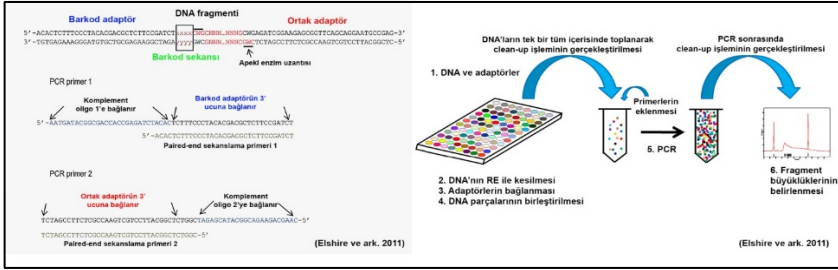
Yeni nesil sekanslama (Next Generation Sequencing, NGS) eş zamanda sekanslama ve görüntüleme yaparak analizin her defasında 100 milyondan-100 milyara kadar DNA bazları elde edebilen bir tekniktir (Shendure ve Ji, 2008). NGS teknolojisi ile bütün genomun sekansı çıkarabilmekte, daha önce geliştirilmiş sekansa dayalı olan genotipleme yapabilen Sanger Sekanslamadan çok daha üstün avantajlar sağlayabilmektedir. (Shendure ve Ji, 2008). Bu metodunun uygulama protokolü: Numunenin hazırlanması, kütüphanenin oluşturulması, klonal çoğaltmanın yapılması, sekanslama, görüntüleme ve okumanın yapılması (Masif paralel sekanslama), ham verilerin eldesi ve biyoinformatik analizlerdir (Toksoy, 2014).

## **1.2. Genotyping-By-Sequencing (GBS) Yöntemi ile Kuraklıkla İlişkili SNP Markörlerinin Belirlenmesi**

Son yıllarda DNA dizilerindeki farklılıktan yola çıkarak genotipleme yapmak büyük önem kazanmıştır. YNS teknolojilerinin bir uygulama alanı olan GBS tekniğinin pamukta moleküler ıslahta kullanılması büyük önem arz etmektedir (Elshire ve ark., 2011; Poland ve Rife, 2012). Bu analiz yöntemiyle milyonlarca SNP markörleri belirlenebilmekte (Beissinger ve ark., 2013), germplasm ve hibrid populasyonlarında fenotip-genotip arasındaki ilişki biyoinformatik analizlerde ortaya konulabilmekte ve dünyada biyotik ve abiyotik hastalık ve zararlılar arasında en fazla ürün kaybına neden kuraklığa



karşı toleranlık/dayanıklılık ile ilişkili moleküler markörler belirlenebilmektedir (Shukla ve ark., 2021).



Şekil 2. GBS Metodu Uygulaması (Elshire ve ark., 2011).

GBS ile SNP elde etme ve genetik haritalamanın yapılması genel itibarıyla, Genomik DNA'nın izole edilmesi, NanoDrop Spektrofotometre cihazında Nükeik asitlerin saflıklarının belirlenmesi, DNA *ApeKI* gibi Restriksiyon enzimlerle gDNA kesimi, kesilen DNA fragmentlerinin ucuna spesifik barkodlu P1 ve P2 adaptörlerin eklenmesi ve PCR'ların yapılması, DNA fragmentlerinin dizilenmesi, ham SNP verilerin eldesi, verilerin filtresi, populasyon yapısı, Linkage disequilibrium (LD) ve kinship'in hesaplanması, Fenotipik ile genotipik verilerin (SNP) birleştirilmesi Biyoinformatik analizler ve Kuraklıkla ilişkili QTL'lerin belirlenmesi gibi aşamalardan meydana gelmektedir (Elshire ve ark., 2011; He ve ark., 2014). Analiz için çok küçük DNA numunesi gerektirme, daha az PCR ve saflaştırma, düşük maliyet, her DNA fragmentinde çalışabilen etkili barkod sistemi ve kısa zamanda gerçekleşebilmesi gibi avantajlar onu cazip kılmaktadır (Davey ve ark., 2011).

### **1.3. Pamuk Populasyonlarında Kuraklık ile İlişkili Kantitatif Özellik Lokus (QTL)'Larının Belirlenmesi**

İlişkilendirme haritalaması pamuk germplasm populasyonlarında, farkı lokuslardaki allellerin rastgele olmayan ilişkisine dayananan (Linkage Disequilibrium) fenotip ile genotip arasındaki bağlantıyı kuran, fenotipteki bir özelliği kontrol eden gen/genlerin hangi kromozomların üzerinde olduklarını ve kaç cM (Santimorgan)'lık yer kapladıklarını haritalayan bir haritalama çeşididir (Vinod, 2011; Zhu ve ark., 2008). Association mapping, aynı zamanda QTL mapping (Linkage mapping) haritalama türünde yanlış markör-özellik eşleşmesi dezavantajını ortadan kaldırmak için ortaya çıkmıştır (Abdurakhmonov ve Abdukarimov, 2008; Soto-Cerda ve ark., 2012; Hoeschele, 2004; Kraakman ve ark., 2004). Her iki haritalama çeşidinde amaç çok gen tarafından kontrol edilen kompleks özellikler ile ilgili QTL belirlemedir. QTL mapping ile association mapping arasındaki tek fark populasyon türleridir. Association mapping melez olmayan populasyonları, ıslah çeşitleri gibi doğal populasyonlarda icra edilirken, QTL mapping Backcross (BC), F<sub>2</sub>, Double haploid (Stich ve Melchinger, 2010), Kendilenmiş saf hatlar (Recombinant inbred lines, RIL) gibi hibrit populasyonlarda icra edilmektedir (Jannink ve ark., 2010).

## 2. SONUÇ

Global ısınma ve iklim değışikliğinin bir sonucu olarak yağışların azalması, sıcaklığın artması neticesinde de terleme ve buharlaşma ile yer yüzeyinden meydana gelen su kayıpları insanların ve hayvanların birincil beslenme kaynağı olan bitkilerin su stresine girmesine neden olabilmektedir. Kuraklığa karşı yapay yağmur yağdırma teknikleri başta olmak üzere suyu depolama (Su hasadı), buharlaşmayı ve terlemeyi azaltma gibi yöntemler bulunmasına rağmen en etkili yöntemlerinden birisi de kuraklığa karşı tolerant/dayanıklı çeşit geliştirmektir. Pamuk bitkisi kuraklığa karşı toleransı yüksek bir bitki olmasına rağmen uzun süren kuraklık pamuğu da olumsuz etkilemektedir. Biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklı çeşit geliştirme ıslah çalışmaları klasik ve moleküler ıslah olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Ancak moleküler ıslah, zaman ve emekten tasarruf sağlaması, fazla profesyonellik gerektirmeyen, daha ucuz, güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar veren ve çevre şartlarından etkilenmeyen moleküler markörlerin kullanılması dolayısıyla daha fazla tercih edilmektedir. DNA bazlı markör teknolojisindeki hızlı gelişmeler, pamuk bitkisinin full genomu hakkında bilgi veren Tek nükleotit farklılığı (SNP) markörlerinin elde edildiği Sekanslama yoluyla genotipleme (GBS) teknolojisini ortaya çıkarmış ve bu analiz yöntemiyle elde edilen markörler, biyoinformatik programlarla işlenerek genotip ile fenotip arasındaki ilişkinin ortaya konulmasını sağlamıştır.

## KAYNAKÇA

- Abdurakhmonov, I., Abdulkarimov, A. (2008). application of association mapping to the understanding genetic diversity of plant germplasm resources. international Journal of Plant Genomics, vol. 2008, 1-18. Doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2008/574927>.
- Bardak, A., Çelik, S., Erdoğan, O., Ekinci, R., Dumlupinar, Z. (2021). Association mapping of verticillium wilt disease in a worldwide collection of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Plants, 10(2), 306.
- Beissinger, T. M., Hirsch, C. N., Sekhon, R. S., Foerster, J. M., Johnson, J. M., Muttoni, G., et al. (2013). Marker density and read depth for genotyping populations using genotyping-by-sequencing. Genetics 193, 1073–1081. doi: 10.1534/genetics.112.147710.
- Bernatsky, R., Tanksley, S.D. (1986). Methods for detection of low copy sequences in tomato on Southern blots. Plant Molecular Biology Reporter 4:37-41
- Bolek, Y., El-Zik, K. M., Pepper, A. E., Bell, A. A., Magill, C. W., Thaxton, P. M., & Reddy, O. U. K. (2005). Mapping of verticillium wilt resistance genes in cotton. Plant Science, 168(6), 1581-1590.
- Botstein D., White R. L., Skolnick M., Davis R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal Human Genetics, 32, 314–331.
- Boudsocq, M., Lauriere, C. (2005). Osmotic signaling in plants: multiple pathways mediated by emerging kinase families. Plant Physiology. 138, 1185–1194.
- Chastain, D. R., Snider, J. L., Choinski, J. S., Collins, G. D., Perry, C. D., Whitaker, J., Grey, T. L., Sorensen, R. B., van Iersel, M., Byrd, S. A. (2016). “Leaf ontogeny strongly influences photosynthetic tolerance to drought and high temperature in *Gossypium hirsutum*”. J. Plant Physiology. 199, 18–28.
- Chaves, M. M., Flexas, J., Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany, 103, 551–560.

- Chen, T. H. ve Murata, N. (2011). Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant, Cell Environment*, 34, 1–20.
- Chen, Z. J., Scheffler, B. E., Dennis, E., Triplett, B. A., Zhang, T. Z., Guo, W. Z., Chen, X. Y., Stelly, D. V., Rabinowica, P. D., Town, C. D. (2007). Toward sequencing cotton (*Gossypium*) genomes. *Plant Physiology*, 145:1303–1310. doi: 10.1104/pp.107.107672.
- Chen, Z. J., Scheffler, B. E., Dennis, E., Triplett, B. A., Zhang, T., Guo, W., Chen, X. et al. (2007). Toward sequencing cotton (*Gossypium*) genomes. *Plant Physiology*, 145, 1303–1310.
- Çelik, S., Bardak, A. ve Erdoğan, O. (2019). Screening of upland cotton genotypes (*Gossypium hirsutum* L.) against cotton verticillium (*Verticillium dahliae* Kleb.) Wilt. *Bangladesh Journal of Botany*, 48(4), 1185-1192.
- Çelik, S., Bardak, A., Erdoğan, O., Parlak, D., Uçar, R., Tekerek, H., Hayat, K. H. (2017). Determination of the response of some cotton varieties to cotton wilt disease caused by *Verticillium dahliae* Kleb.
- Danquah, A., de Zelicourt, A., Colcombet, J. ve Hirt, H. (2014). The role of ABA and MAPK signaling pathways in plant abiotic stress responses. *Biotechnology. Advances*, 32, 40–52.
- Davey, John W., Paul A. Hohenlohe, Paul D. Etter, Jason Q. Boone, Julian M. Catchen, and Mark L. Blaxter. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics* 12:7, 499-510.
- Deeba, F., Pandey, A. K., Ranjan, S., Mishra, A., Singh, R., Sharma, Y. K., Shirke, P. A. (2012). “Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress”. *Plant Physiology Biochemistry*, 53, 6–18.
- Dong, T., Park, Y. ve Hwang, I. (2014). Abscisic acid: Biosynthesis, inactivation, homeostasis and signalling. *Essay in Biochemistry*. 58, 29–48.
- Edwards, D., J. W. Forster, D. Chagne, J. Batley (2007). What is SNPs? In: N.C. Oraguzie, E.H.A. Rikkerink, S.E. Gardiner and H.N. de Silva (eds.), *Association Mapping in Plants*. Springer, Berlin, 41-52.

- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., et al. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* 6:e19379. doi: 10.1371/journal.pone.0019379.
- Erdoğan, O. (2011). Pamukta *Verticillium* Solgunluğu. *Türkiye'nin Bitkisel Üretim ve Hayvancılık Dergisi*, 31.
- Erdoğan, O., Benlioğlu, K. (2010). Biological control of *Verticillium* wilt on cotton by use of fluorescent *Pseudomonas* spp. under field conditions. *Biological Control*, 53 (1): 39-45.
- Erdoğan, O., Kurt, Ş., ve Göre, M.E. (2014). Pamukta *Verticillium* Solgunluk Hastalığı Etmeni *Verticillium dahliae* Kleb. ile Farklı İnokulasyon Metotları Üzerinde Çalışmalar. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(2): 188-193.
- Fang, Y. ve Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants". *Cellular Molecular Life Science*, 72:673–689. doi: 10.1007/s00018-014-1767-0.
- Gencer, O., Mert, M., Kurt, Ş. (2001). Reaction of some cotton breeding line and varieties to wilt disease and determination of their agricultural and technological properties. 4th Field Crops Congress of Turkey, Tekirdağ: 193-197
- Goswami, A., Banerjee, R., Raha, S. (2013). Drought resistance in rice seedlings conferred by seed priming: role of the anti-oxidant defense mechanisms". *Protoplasma* 250:1115–1129.
- Gupta, P. K., J. K. Roy, and M. Prasad. (2001). Single nucleotide polymorphisms: a new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. *Current Science* 80: 524-535.
- Han, H.L, Kang F. J. (2001). Experiment and study on effect of moisture coerce on cotton producing. *Trans. CSAE* 17: 37-40.
- Han, H.L., Kang, F. J. (2001). Experiment and study on effect of moisture coerce on cotton producing. *Trans. CSAE* 17:37-40

- He, J., Zhao, X., Laroche, A., Lu, Z. X., Liu, H., Li, Z. (2014). Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. *Frontiers in plant science*, 5, 484.
- Heitholt, J. J. (1999). Cotton: Factors Associated with Assimilation Capacity, Flower Production, Boll Set and Yield, In: *Crop Yield, Physiology and Processes*. DL Smith, C Hamel. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Hejnák, V., Tatar, Atasoy, G.D., Martinková, J., Çelen, A.E., Hnilička, F. ve Skalický, M. (2015). Growth and photosynthesis of upland and pima cotton: Response to drought and heat stress. *Plant Soil Environment*. 62, 507–514.
- Hoeschele, I. (2004). Mapping Quantitative Trait Loci in Outbred Pedigrees. *Handbook of Statistical Genetics*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd. doi:10.1002/0470022620.bbc17. ISBN 978-0470022627.
- Hui fang, b. S., m.S. (2013). Development Of Molecular Markers And Mapping Of Quantitative Trait Loci For Resistance To *Verticillium Wilt* Disease Using Two Inbred Line Populations In Tetraploid Cotton. (Doctor of Philosophy), New Mexico State University Las Cruces, New Mexico.
- Kazuya, Ichimura, M.G., Ichimura, K., Shinozaki, K., Tena, G., Sheen, J., Henry, Y., Champion, A., Kreis, M., Zhang, S. ve Hirt, H. (2002). Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: A new nomenclature. *Trends Plant Science* 7, 301–308.
- Konieczny, A., and Ausubel, F. M. (1993). A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant Journal*, 4, 403–410. doi: 10.1046/j.1365-313X.1993.04020403.x
- Kraakman, A. T., Niks, R. E., Van den Berg, P. M., Stam, P. V. Van Eeuwijk, F. A. (2004). Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*, 168(1), 435–446. doi:10.1534/genetics.104.026831.
- Kumar, B., Pandey, D.M., Goswami, C.L. and Jain, S. (2001) Effect of growth regulators on photosynthesis, transpiration and related parameters in water stressed cotton. *Biology Plantarum*, 44, 475–478.

- Kuromori, T., Miyaji, T., Yabuuchi, H., Shimizu, H., Sugimoto, E., Kamiya, A. ve Moriyama, Y. (2010). ABC transporter AtABCG25 is involved in abscisic acid transport and responses. *Proceedings of the National Academy Science of the USA*, 107, 2361–2366.
- Lawlor, D.W. (2013). “Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities”. *Journal of Experimental Botany*, 64:83–108.
- Li, D., Li, C., Sun, H., Liu, L. ve Zhang, Y. (2012). Photosynthetic and chlorophyll fluorescence regulation of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under drought conditions. *Plant Omics J.* 5, 432–437.
- Li, L., Yu, D., Zhao, F., Pang, C., Song, M., Wei, H., Fan, S. ve Yu, S. (2015). Genome-wide analysis of the calcium-dependent protein kinase gene family in *Gossypium raimondii*. *Journal Integrative Agriculture*, 14, 29–41.
- Li, Y., Ye, W., Wang, M., Yan, X. (2009). Climate change and drought: a risk assessment of crop-yield impacts. *Climate Research*, 39, 31–46.
- Litt, M., and Luty, J. A. (1986). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44, 397–401.
- Loka, D. M., Derrick, M., Oosterhuis, D. M. and Ritchie, G. L. (2011) Water-deficit stress in cotton. In *Stress Physiology in Cotton* (Oosterhuis, D.M., eds), pp. 37–72. Number Seven The Cotton Foundation Book Series. National Cotton Council of America.
- Lv, S., Yang, A., Zhang, K., Wang, L. ve Zhang, J. (2007). Increase of glycinebetaine synthesis improves drought tolerance in cotton. *Molecular Breeding*, 20, 233–248.
- Ma, L., Li, Y., Chen, Y. ve Li, X. (2016). Improved drought and salt tolerance of *Arabidopsis thaliana* by ectopic expression of a cotton (*Gossypium hirsutum*) CBF gene. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 124, 583–598.
- Manikanda Boopathi, N. (2012). *Genetic Mapping and Marker Assisted Selection: Basics, Practice and Benefits*. Springer Science & Business Media. pp. 60–. ISBN 978-81-322-0958-4.



- Meena, K. K., Sorty, A. M., Bitla, U. M., Choudhary, K., Gupta, P. & Pareek, A. (2017). Abiotic Stress Responses and Microbe-Mediated Mitigation in Plants: The Omics Strategies. *Frontiers in Plant Scientist*. 8:172. Doi: 10.3389/Fpls.2017.00172.
- Noreen, S., Athar, H. U. R., Ashraf, M. (2013). Interactive effects of watering regimes and exogenously applied osmoprotectants on earliness indices and leaf area index in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) *Crop. Pakistan Journal of Botany*, 45, 1873–1881.
- Parida, A. K., Dagaonkar, V. S., Phalak, M. S., Umalkar, G. ve Aurangabadkar, L. P. (2007). Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. *Plant Biotechnology Reports*, 1, 37–48.
- Pegg, G. F. (1984). The impact of verticillium diseases in agriculture. *Phytopathology Mediterranean*, 23: 176-192.
- Percival, A. E., Kohel, R. J. (1992). Cotton Distribution, Collection, and Evolution of *Gossypium*. *Advances in Agronomy*, 44: 226-255.
- Poland, J. A., Rife, T. W. (2012). Genotyping-by-sequencing for plant breeding and genetics. *Plant Genome* 5, 92–102. doi: 10.3835/plantgenome2012.05.0005.
- Riemann, M., Dhakarey, R., Hazman, M., Miro, B., Kohli, A. ve Nick, P. (2015). Exploring Jasmonates in the Hormonal Network of Drought and Salinity Responses". *Frontiers in Plant Science*, 6, 1077.
- Salimath, S. S., de Oliveira, A. C., Bennetzen, J., and Godwin, I. D. (1995). Assesment of genomic origin and genetic diversity in the genus *Eleusine* with DNA markers. *Genome* 38, 757–763. doi: 10.1139/g95-096
- Saranga, Y., Paterson, A.H. ve Levi, A. (2009). Bridging Classical and Molecular Genetics of Abiotic Stress Resistance in Cotton. *Genet. Genom. Cott.* 3, 337–352.
- Shendure, J., and Ji, H. (2008). Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology*. 26, 1135–1145. doi: 10.1038/nbt1486.
- Shukla, R. P, Tiwari, G.J., Joshi, B., Song-Beng, K., Tamta, S., Boopathi, N. .M, Jena, S.N. (2021). GBS-SNP and SSR based genetic mapping and QTL

- analysis for drought tolerance in upland cotton. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2021 Aug;27(8):1731-1745. doi: 10.1007/s12298-021-01041-y. Epub 2021 Aug 20. PMID: 34539113; PMCID: PMC8405779.
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P. ve Prasad, S. M. (2015). Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants a review. *Reviews in Environmental Science Biotechnology*, 14, 407–426.
- Soto-Cerda, B. J. Ve Cloutier, S. (2012). Association mapping in plant genomes. *Genetic Diversity in Plants*, 29-54.
- Turner, N. C., Wright, G. C. ve Siddique, K. (2001). Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments. *Advances in Agronomy*, 71:194–233.
- Ullah, A., Sun, H., Yang, X., Zhang, X. (2017). Drought coping strategies in cotton: increased crop per drop. *Plant Biotechnology Journal* 2017 Mar;15(3):271-284. doi: 10.1111/pbi.12688. PMID: 28055133; PMCID: PMC5316925.
- Vinod, K. (2011). Structured association mapping using STRUCTURE and TASSEL. *Advanced faculty training on Impact of genomics in crop improvement: Perceived and achieved*.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de, L. T., Hornes, M. et al. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 23, 4407–4414. doi: 10.1093/nar/23.21.4407.
- Wang, H. M., Lin, Z. X., Zhang, X. L., Chen, W., Guo, X. P., Nie, Y. C., & Li, Y. H. (2008). Mapping and quantitative trait loci analysis of Verticillium wilt resistance genes in cotton. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(2), 174-182.
- Wendel, J. F., & Cronn, R. C. (2003). Polyploidy and the evolutionary history of cotton. *Adv. Agron.* 78:139-186.
- Wiggins, M.S., Leib, B.G., Mueller, T.C., Main, C.L. (2013). Investigation of physiological growth, fiber quality, yield, and yield stability of upland cotton varieties in differing environments. *Journal of Cotton Science*, 17:140-148.
- Wikipedia. (2021). <https://tr.wikipedia.org/wiki/Fotosentez> (Erişim: 16.11.2021).
- William H. B., Liebig, J. V. (2002). *The Chemical Gatekeeper*. Cambridge University Press, 2002, page 21.

- Williams, J. G. K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.
- Xu, Y. (2010). *Molecular plant breeding*. CAB International.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. (2006). Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 781–803.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2), 1-12.
- Yu, J., Buckler, E. (2006). Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current Opinions in Biotechnology*, 17, No. 2, 155-160.
- Yue, B., Xue, W., Xiong, L., Yu, X., Luo, L., Cui, K., Jin, D., Xing, Y., Zhang, Q. (2006). Genetic basis of drought resistance at reproductive stage in rice: separation of drought tolerance from drought avoidance. *Genetics* 172:1213–1228.
- Zhang, F., Li, S., Yang, S., Wang, L. ve Guo, W. (2015). Overexpression of a cotton annexin gene, GhAnn1, enhances drought and salt stress tolerance in transgenic cotton. *Plant Molecular Biology*. 87, 47–67.
- Zhu, C., Gore, M., Buckler, E.S., Yu, J. (2008). Status and Prospects of Association Mapping in Plants. *The Plant Genome*, 1: 1.

## **BÖLÜM 6**

### **ZEHİRDEN İLACA; AKREPLER**

Dr. Öğr. Üyesi Adile AKPINAR<sup>12</sup>

---

<sup>2</sup> Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
Gaziantep/Türkiye, aozdemir@gantep.edu.tr



## GİRİŞ

Akrepler, Eklembacaklılar (Arthropoda) şubesi içerisinde Keliserata (Chelicerata) alt şubesinde yer alan keliserli, zehirli omurgasız hayvanlardır. Dünyada 2641 akrep türü tanımlanmış (Rein, 2021) olup Türkiye’de ise 46 türün (Dupre, 2016) varlığı tespit edilmiştir. Akrepler, Antarktika ve Yeni Zelanda hariç, dünyadaki tüm büyük kıtalar ve büyük adalar üzerinde yer alan subtropik, tropik ve ılıman bölgelerde dağılış gösterirler. Akrep türlerinin tümü zehirlidir ancak az bir kısmı insanlar için öldürücü etkide zehre sahiptirler. Tanımlanmış akrep türleri içerisinde yalnızca 50 kadar türün zehirlerinin insanlar için toksik madde barındırdığı bilinmektedir (Possani ve ark.,2000).

Genellikle insanlar için ürkütücü görüntüye sahip olan akreplerin vücutları iki kısımdan oluşur. Bunlardan birinci kısma başlı-göğüs adı verilir ve dört çift bacak bu bölümden çıkar. Ayrıca genellikle tutunmada görevli olan ve insanlarda korkuya neden olan kıskaçta bu bölümden çıkar. Akrebin vücudunun ikinci kısmı yani abdomen veya karın olarak adlandıracağımız bölümdür. Buradan kuyruk bölgesi uzanır ve kuyruk uçta zehir iğnesine sahiptir (Şekil1.)



Şekil 1. *Androctonus crassicauda* Genel Görünüşü (Uysal, 2014)

İnsanları öldürücü etkiye sahip olma özellikleri kuyruk boğumlarının kalın olması ve makasın (kıskaç) ince olmasıyla belirlenir (Herms, 1956). Akrelerde temel zehirlilik durumu kıskaç yapısına bakılarak karar verilmektedir. Yaşayan tüm akrep türlerinin karnivor olduğu ve bazı canlıların da avı oldukları bilinmektedir. Hamam böceği, çekirge gibi böceklerin doğal düşmanıdırlar. Bu nedenle besin zincirinde önemli yerleri vardır. Akrelerin besin ihtiyacı azdır ve çok dayanıklıdırlar (Demirsoy, 1999). Akreler doğada sadece besin zincirinin düzenlenmesinde değil aynı zamanda tıbbi önemleri ile de her geçen gün dikkat çeken eklembacaklılardır.

Akreler tıbbi öneme sahip canlılardır. Akrep venomları kompleks bir karışımdan oluşmaktadır. Bu sıvı karışım; mukus, inorganik tuzlar, organik moleküller, pek çok enzim, nükleotidler, aminler ve

nörotoksik peptidler, birçok küçük proteinler içermektedir. Ayrıca serotonin ve enzim inhibitörleri de akrep toksininde bulunmaktadır (Bosmans ve Tytgat, 2007; Plessis ve ark., 2008). Akrep venomlarında yer alan proteinler pek çok biyolojik etkinlikte temel rolü oynayan bileşenlerdir. Akrep zehirleri doğrudan canlı bir materyal olarak değerlendirilirse biyolojik materyal veya biyo materyal olarak adlandırılabilir. Bu nedenle bu biyolojik materyal pek çok araştırma için önemli olan bir bileşime sahiptir. Akrep zehirlerinin miktarı ve içeriğinin aynı türe ait farklı yerlerde yaşayan popülasyonları arasında bile değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Bu farklılığın temel sebebinin toksin içeriğindeki proteinlerin farklı dizilimlerinden kaynaklanacağı bildirilmiştir (Çalışkan, 2002).

Akrep kendi toksinini hem avlanmak ve savunma amacıyla hem de besinlerinin dış sindiriminde kullanır. Savunma amacıyla avcılarına karşı kullanırken insanlara karşı da kullanabilmektedir. Bu anlamda akrep zehirinin etkinliği; akrep türüne, etkilediği bireyin yaşına, ağırlığına ve enjekte ettiği zehir miktarına bağlı olarak farklı zehirlenme durumlarını meydana getirebilir. Akrep sokmasında ilk semptomlar ağrıdır ve çocuklarda önemli derecelere varan ağrılar ölümlü sonuçlanabilmektedir (Balık, 2010). Akrep zehirlenmeleri ile oluşan semptomların benzerliği insan ve deney hayvanlarında yakındır. Genel olarak akrep zehirlenmelerinde akrep türü farklı olsa da zehirlenme semptomlar için farklılık göstermez (Balık, 2010).

Akreplerden sağım yöntemleri ile elde edilen zehirin şeffaf ve parlak bir yapıda olduğu ancak zamanla matlaştığı gözlenmiştir. Yapılan



çalışmalarda zehirin nörotoksik ve hemolitik (eritsositlerin yapısını bozan veya eriten hidrosiyamik ve karbamil içermesi) olduğu belirlenmiştir (Demirsoy,1999).

Akrep toksinlerinde yer alan nörotoksinlerin yanı sıra, çeşitli başka biyoaktif moleküllerde bulunabilir. Ayırma, karakterizasyon ve biyoteknolojik yaklaşımlardaki ilerlemeler, yalnızca akrep zehirlenmelerine karşı daha etkili tedavilerin geliştirilmesine değil, aynı zamanda ilginç terapötik özelliklere sahip birkaç akrep zehiri peptidinin keşfedilmesine de yol açmıştır. Bu nedenle, akrep zehiri yalnızca insan sağlığına tıbbi bir tehdit olmakla kalmaz, aynı zamanda mevcut ve ortaya çıkan hastalıklara karşı yeni tedavilerin geliştirilmesine öncülük edebilecek değerli bir biyoaktif molekül kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Ahmedi ve ark.,2020).

Günümüzde akrep venomları (zehirleri) iyon kanallarının (Na,K, gibi) yapısı üzerine araştırmalarında ve aktivasyon/inaktivasyonu çalışmalarında, protein ilaç tasarımı üzerine çalışmalarda, akrep zehirlenmesine karşı panzehir üretiminde, sitotoksik çalışmalarda ve biyopestisid üretimi, hücre siklusu ve sitotoksik araştırmalarda, kanser araştırmalarında (kolorektal kanser), çeşitli kanserli hücre hatlarında antitümör etkinlik araştırmalarında vs. kullanılmaktadır (Tan ve ark., 2006; Bosmans ve Tytgat, 2007, alışkan ve ark., 2009; Zargan ve ark.,2011; Al Asmari ve ark., 2016; Nafiei ve ark., 2020).

Her geçen gün gelişen ve ilerleyen teknoloji ile birlikte insanoğlu devayı doğal materyallerde aramaya başlamıştır. Bunun öncüllerinden

olan akrep zehirleri üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda hız kazanmış olup, özellikle dirençli mikroorganizmalar ile mücadele ve kanser çalışmaları bu araştırmalara öncülük etmektedir. Küresel bir sağlık sorunu olan mikroorganizmalara karşı biyolojik materyallerin kullanımı insanoğlu için umut verici olarak düşünülebilir.

## KAYNAKÇA

- Ahmadi, S., Knerr, J. M., Argemi, L., Bordon, K. C., Pucca, M. B., Cerni, F. A., & Laustsen, A. H. (2020). Scorpion venom: detriments and benefits. *Biomedicines*, 8(5), 118.
- Al-Asmari, A. K., Ullah, Z., Al Balowi, A., & Islam, M. (2017). In vitro determination of the efficacy of scorpion venoms as anti-cancer agents against colorectal cancer cells: a nano-liposomal delivery approach. *International journal of nanomedicine*, 12, 559.
- Balık, S. (2010). Güneydoğu Anadolu bölgesindeki bölgelerdeki çocuklarda akrep sokmalarının retrospektif incelenmesi. *Dicle Üniv. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı*, 55s.
- Bosmans, F. and Tytgat, J., 2007, Voltage-gated sodium channel modulation by scorpion  $\alpha$ -toxins, *Toxicon*, 49, 142-158.
- Çalışkan, F. (2002). *Androctonus crassicauda* türü akrep venomunun biyolojik etkinliğinin araştırılması üzerine ön çalışmalar. *Osmangazi Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 73s.
- Çalışkan, F., Sivas, H., Şahin Y. (2009). *Androctonus crassicauda* Ham Venomundan Bc3h1 Hücrelerine Sitotoksik Etkili Ac8, Ac9 Ve Ac10 Peptidlerinin Safılaştırılması. *Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi Anadolu University Journal Of Science and Technology*, 10(2), 515-524.
- Demirsoy, A., 1999. Yaşamın Temel Kuralları II/1 (Omurgasızlar = Invertebrata) Böcekler Dışında-, Meteksan, Beytepe, Ankara, 734-741.
- Dupre, G. (2016). Les scorpions de Turquie. *Arachnides*, 79: 1-39
- Hermes, W. 1956. Medical Entomology. *The Canadian Veterinary Journal, Canada*, s:593-601.
- Nafie, M. S., Daim, M. M. A., Ali, I. A., Nabil, Z. I., Tantawy, M. A., & Abdel-Rahman, M. A. (2020). Antitumor efficacy of the Egyptian Scorpion Venom *Androctonus Australis*: in vitro and in vivo study. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 81(1), 1-10.

- Plessis, L.H., Elgar, D. and Plessis, J.L., 2008, Southern African scorpion toxins: An overreview, *Toxicon*, 51, 1-9.
- Possani, L. D., Becerril, B., Tygat, J., Delepierre, M. (2001). High affinity scorpion toxins for studying potassium and sodium channels. *Ion Channel Localization Methods and Protocols*, 145-165.
- Rein, JO. <https://www.ntnu.no/ub/scorpion-files/> 2021.
- Tan, P.T.J., Ranganathan, S., and Brusica, V. 2006, Deduction of functional motifs in scorpion toxins, *Journal of Peptide Science*, 12, 420-427.
- Uysal, İ. (2014). Akrep Zehrinin Balık Üzerinde Median Lethal Doz (Ld50) Oranının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziantep Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü. 46s.
- Zargan, J., Sajad, M., Umar, S., Naime, M., Ali, S., & Khan, H. A. (2011). Scorpion (*Androctonus crassicauda*) venom limits growth of transformed cells (SH-SY5Y and MCF-7) by cytotoxicity and cell cycle arrest. *Experimental and molecular pathology*, 91(1), 447-454.



## BÖLÜM 7

### **BAKIR OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN *Clarias gariepinus*'DA METAL BİRİKİMİ VE KARACİĞER ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dr. Mustafa TUNÇSOY<sup>1</sup>, Dr. Servet DURAN<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Sorumlu yazar: Çukurova Üniveristesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana, Türkiye, mustafa\_tunçsoy@hotmail.com

<sup>2</sup> Çukurova Üniveristesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana, Türkiye, mustafa\_tunçsoy@hotmail.com



## GİRİŞ

Metal oksit nanopartikülleri, çeşitli ticari ürünlerde diğer nanopartiküllere kıyasla en fazla kullanılan nanopartiküllerdir ve potansiyel toksisiteleri bakımından çevre ve insan sağlığı açısından büyük tehdit oluşturmaktadır (Aschberger ve ark., 2011). Metal oksit nanopartiküllerinin artan kullanımı sonucu bu partiküller su ortamlarına ulaşmaktadır. Biyolojik membranlardan rahatlıkla geçebilen nanopartiküller organ, doku, hücre ve moleküler düzeyde olumsuz etkilere neden olabilmektedirler (Schrand ve ark., 2010). Nanopartiküllerin, su ortamları ve organizmalar üzerine olumsuz etkileri son yıllarda araştırmacıların çok fazla dikkatini çekmektedir (Blaise ve ark., 2008; Farre ve ark., 2009, Tunçsoy ve Duran, 2020; Tunçsoy, 2021; Tunçsoy ve Meşe, 2021).

Yüksek düzeyde termal ve elektriksel iletkenliği olması nedeniyle metal oksit nanopartikülleri arasında Cu NP en yaygın kullanılan nanopartiküllerdir. Cu NP makinelerde ısı transfer akışında (Chang ve ark., 2005), polimerler, plastikler ve gaz sensörlerinde (Li ve ark., 2007), ahşap koruma ve basım makinelerinin elektronik aksamalarında (Lee ve ark., 2008) ve mikroçip ve pillerin kaplamasında (Dhas ve ark., 1998) yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak antimikrobiyal özellikleri nedeniyle Cu NP bazı cilt bakım ürünlerinde ve tekstilde kullanılmaktadır (Cioffi ve ark., 2005; Ren ve ark., 2008).

Su organizmaları tarafından ağır metallerin vücuda alınımı, solungaçlar, su, besin ve tüm vücut yüzeyinden absorpsiyon yolları ile olmaktadır. Balıklarda solungaçlar doğrudan doğruya ortam ile



etkileşim halinde olduğundan başlıca alınım yolunu oluşturur. Solungaçlar aracılığı ile vücuda alınan ağır metaller dolaşım sistemi aracılığı ile doku ve organlara taşındığı gibi ağır metal etkisinde kan bileşenleri, endokrin sistem ile metabolik olaylarda değişimler ve sonuçta doku hasarı ile sonuçlanır (Heath, 1995).

Ağır metallerin organizmalardaki birikimi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna, hücre membran bütünlüğünün bozulmasına ve enzimlerin inhibisyonuna neden olmaktadır (Viarengo, 1985). Antioksidan enzimlerin işlevleri oksidatif zararları onarmak ve reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırarak organizmaları oksidatif stresten korumaktır. Antioksidan savunma bozulduğunda oksidatif stres, DNA hasarlarına ve enzimlerin işlevlerinin aksamasına neden olmaktadır (Doyotte ve ark., 1997).

Araştırmada materyal olarak kullanılan *Clarias gariepinus* akarsular ve drenaj kanalları gibi tatlı su kaynaklarında doğal olarak bulunmaktadır. 6.5 - 8.0 pH ve 8.0 – 35 ° C sıcaklık aralığında yaşayabilen potamodrom bir türdür. Ayrıca hoşgörü sınırlarının geniş olması, düşük oksijen ve yoğun stoklama koşullarında da gelişebilmesi, farklı besinleri değerlendirebilme yeteneğinde olması ve paraziter hastalıklara ve uygun olmayan ortam koşullarına karşı oldukça dirençli olmaları bu türün üretimini üretimini avantajlı kılan özelliklerdir.

## 1. MATERYAL VE METOD

Araştırmada materyal olarak kullanılan *C. gariepinus* Silifke/Mersin/Türkiye’de bulunan özel bir yetiştirme çiftliğinden alınarak deneylerin yürütüldüğü kontrollü ortam şartlarındaki Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ekotoksikoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Balıklar her biri 40x120x40 cm boyutlarında, içerisinde 120 L çeşme suyu bulunan stok akvaryumlar içerisinde 2 ay süreyle tutularak laboratuvar ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre sonunda deneyde kullanılan balıklar  $22.9 \pm 1.4$  cm boy ve  $86.9 \pm 4.12$  g ağırlığa ulaşmışlardır.

Adaptasyon ve deney süresince ortam sıcaklığı  $25 \pm 1$  °C sabit tutularak 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanmıştır. Akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve balıklar günde iki kez toplam biyomasın %2 si kadar hazır balık yemi (Pınar hazır balık yemi Pelet No:2, Türkiye) ile beslenmişlerdir.

Deneyde 40x120x40 cm boyutlarında toplam 3 tane cam akvaryum kullanılmış olup her birine 120 L dinlendirilmiş metal içermeyen çeşme suyu konulmuştur. Her bir akvaryuma 9 balık konulmuş, toplamda 27 balık kullanılmıştır. İlk 2 akvaryuma son derişimleri sırası ile 1 ve 5 mg Cu/L olacak şekilde 1000 ppm CuO NP çözeltisi eklenmiştir. Üçüncü akvaryuma ise metal içermeyen dinlenmiş çeşme suyu konulup kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Deney çözeltilerinin hazırlanmasında bakır oksit nanopartikülü (Sigma-Aldrich; CuO; partikül boyutu <50nm) kullanılmıştır. Deneyler

süresince ortam suyunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri; Sıcaklık (Akvaryum):  $23 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , Toplam alkalinite:  $315 \pm 0.5 \text{ mg CaCO}_3/\text{L}$  Çözünmüş oksijen:  $7.0 \pm 0.3 \text{ mg/L}$ , pH:  $8.2 \pm 0.3$  olarak belirlenmiştir.

Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüş olup toplam 27 balık kullanılmıştır. Deney süresince adsorbsiyon ve evaporasyon gibi nedenlerle metal çözeltilerinin derişimlerinde değişimler olabileceğinden deney çözeltileri her gün taze olarak hazırlanan stok çözeltilerinden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir.

Belirlenen sürelerin sonunda akvaryumların her birinden metal analizinde kullanılacak doku örneklemeleri yapmak üzere üç balık çıkarılmıştır. Daha sonra çeşme suyu ile iyice yıkanarak, kurutma kağıdı ile kurutulmuş ve solungaç, karaciğer ve kas dokuları disekte edilmiştir.

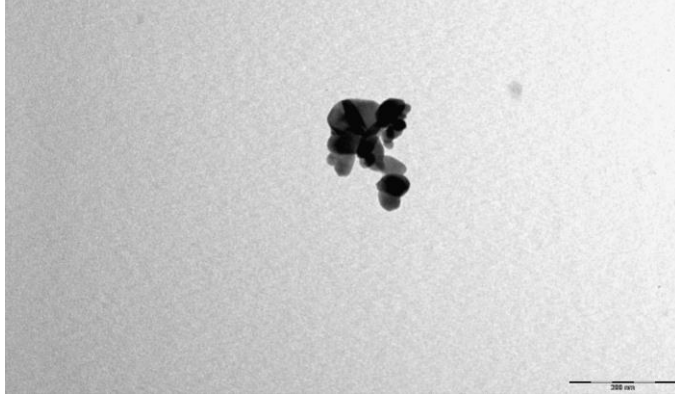
### **1.1. Bakır oksit nanopartikül karakterizasyonu**

Deneylerde partikül büyüklüğü 50 nm'den küçük olan bakır oksit nanopartikülü (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Karakterizasyon yöntemine dair detaylı bilgi Tunçsoy and Erdem, (2018) de verilmiş olup, Karakterizasyona ait sonuçlar aşağıdaki gibidir.

Partikül Boyut dağılımı:  $33.0 \pm 8.3 \text{ nm}$ ,

Hidrodinamik çap:  $586.6 \pm 89.4 \text{ nm}$  (Ultra Saf Su),  $812.8 \pm 98.8 \text{ nm}$  (Çeşme Suyu)

Zeta potansiyeli :  $-17.1 \pm 0.4 \text{ mV}$  (Ultra Saf Su),  $-18.5 \pm 2.1 \text{ mV}$  (Çeşme Suyu)



**Şekil 1.** CuO NP'nin TEM Görüntüsü

## **1.2. Doku birikimi**

Disekte edilen dokular metal analizleri için petri kaplarına yerleştirilmiş ve etüvde  $150^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat süreyle kurutulmaya bırakılmıştır. Sabit tartıma getirilen dokular 0.0001 duyarlılıktaki terazide (Sartorius CP-2248) kuru ağırlıkları alındıktan sonra deney tüplerine aktarılarak üzerlerine 2:1 oranında nitrik asit (Merck, %65, Ö.A. 1.40) ve perklorik asit (Merck, %60, Ö.A. 1.53) eklenerek çeker ocakta  $120^{\circ}\text{C}$ 'de 3 saat süreyle yakılmıştır (Muramoto, 1983). Yakım işlemi tamamlanan örnekler polietilen tüplere aktarılmış ve üzerleri ultra saf su ile 5 ml'ye tamamlanarak metal analizine hazır hale getirilmiştir. Dokulardaki metal birikimleri Perkin Elmer 7000 DV marka (Waltham, Massachusetts, USA) ICP-OES spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir.

## **1.3. Total protein tayini**

Bradford yöntemi, proteinlerde bulunan arjinin, triptofan, tirozin, histidin ve fenilalanin gibi aminoasit rezidülerinin, Coomassie brilliant

blue G-250 boyasına bağlanmasıyla mavi renkli kompleks oluşması esasına dayanır. Oluşan çözeltinin absorbanı 595 nm’de ölçülür (Bradford, 1976).

#### **1.4. Antioksidan enzim aktivite tayini**

Belirlenen süreler sonunda disekte edilen karaciğer dokuları yaş ağırlıkları alındıktan sonra içerisinde homojenizasyon tamponu bulunan tüplere aktarılarak +4°C’de homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrasında homojenatlar 500g’de 15 dk. +4°C’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda alınan süpernatant başka bir tüpe aktarılarak, 12000 g’ de +4 °C’de 45 dk. tekrar santrifüj edilmiştir. Doku homojenatlarının santrifüj edilmesi sonucunda elde edilen süpernatantlardan 100 µl Eppendorflara protein tayini için ayrılmıştır. Daha sonra süzme işlemine geçilmiş ve bu işlem için Sephadex® G-25 jel kolonları kullanılmıştır (Gonzalez-Reya ve ark, 2014). Süzülen örnekler enzim aktivitesi için eppendorf tüplere ayrılmıştır. Tüplere ayrılan örnekler, -80°C’de enzim aktivitelerinin tayin işlemlerine kadar Revco Ultima II marka derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Katalaz aktivitesi (CAT) bir dakika boyunca 240 nm absorbansta H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’ in parçalanmasıyla açığa çıkan azalan absorbanın ölçülmesidir. Birim zaman başına absorbanstaki değişimler katalaz aktivitesinin ölçümü olarak alınmıştır (Greenwald, 1985). Süperoksit dismutaz aktivitesi, ksantinoksidaz/hipoksantin sistemi tarafından sitokrom c’ nin azalmasının ölçülmesiyle tespit edilmektedir. 1 ünite SOD, sitokrom c azalışının %50’ sinin inhibe edilmesiyle biriken enzim miktarı ile tanımlanmaktadır (McCord ve

Fridovich, 1969). Total glutatyon peroksidaz (GPx) NADPH' ın 340 nm' de oksidasyonunu takiben glutatyon reduktaz, redükte glutatyon ve substrat olarak kümen hidroperoksit varlığında ölçülür (Lawrence ve Burk, 1976).

### **1.5. İstatistik**

Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS 21 Paket Programı kullanılarak Varyans Analizi ve Student-Newman Keul's Test (SNK) testleri uygulanarak yapılmıştır (Sokal ve Rhofl, 1995).

## **2. SONUÇ VE TARTIŞMA**

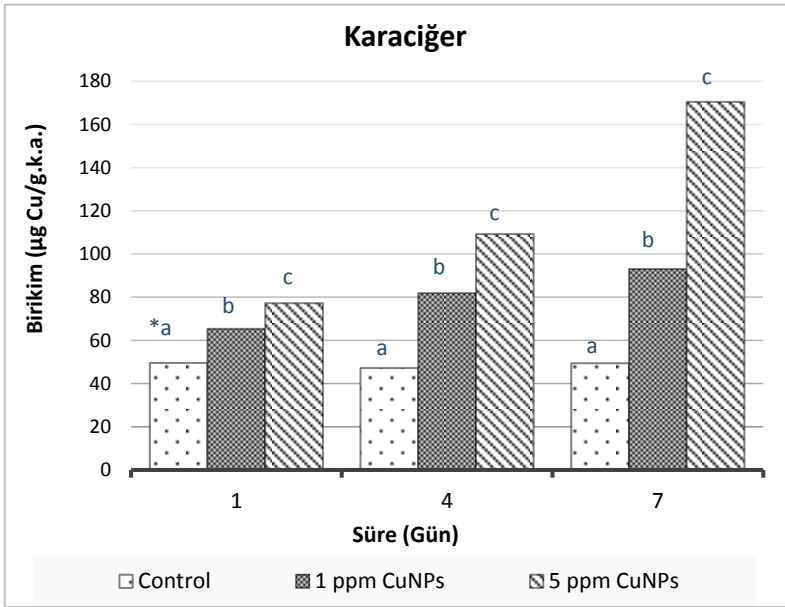
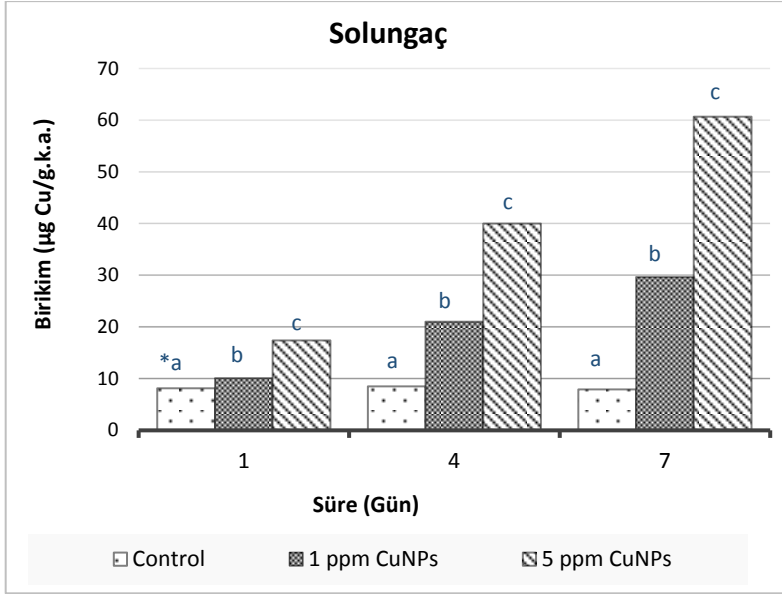
*C. gariepinus* ile yürütülen bu araştırmada da Cu NP etkisinde tüm süre ve derişimlerde mortalite gözlenmemiştir. Mortalite gözlenmemesi, derişimlerin belirlenen etki sürelerinde bu tür için letal olmaması, metalin toksik etkisinin taşıma kapasitesini aşmaması veya toksik etki sonucunda detoksifikasyon mekanizmalarının devreye girmesinden kaynaklanması ile açıklanabilir.

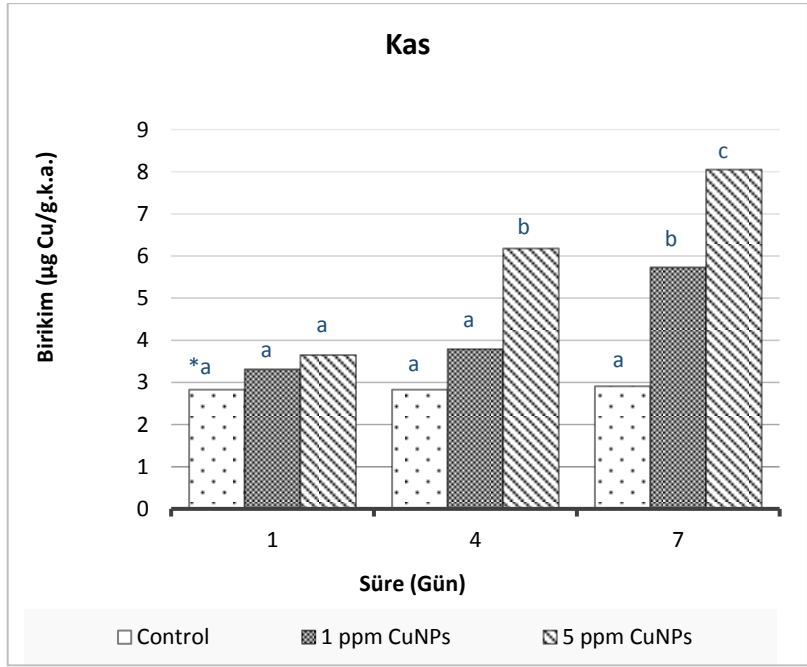
Balıklarda metal dağılımı dokuya bağlı olarak değişim göstermekle birlikte genel olarak metabolik bakımdan aktif dokularda daha fazla birikmektedir. Solungaçlar yapıları nedeniyle, oksijen, karbondioksit, elektrolitler, sudaki amonyak ve hidrojen iyonlarının kan ve su arasındaki hareketleri için çok geniş bir yüzey alanı sağlarlar. Bu nedenle, solungaçlar solunum gazları değişimi, ozmoregülasyon, asit-baz dengesi ve azotlu atıkların atılması gibi çok sayıda fonksiyona katılan organlar olması sebebiyle metal birikimi bakımından hedef organ olmakla birlikte aynı zamanda da önemli atılım yollarındandır

(Heath, 1995). *D. rerio*'da CuO nanopartikülünün ve bakır sülfatın 100 µg/L'lik derişiminin 48 saatlik süreyle etkisinde solungaç dokusundaki metal birikiminin her iki uygulamada da yüksek düzeyde olduğu belirtilmiştir (Griffitt ve ark., 2009). *O. mykiss*'de Cu NP'nin sırasıyla 20 ve 100 µg/L'lik derişimlerinin 10 günlük süreyle etkisinde solungaç dokusunda yüksek düzeyde biriktiği belirtilmiştir (Al-Bairuty ve ark., 2013). Balıklarda karaciğer, ağır metalleri bağlamada ve toksik etkilerinin giderilmesinde işlevi olan metallothionein ve glutasyon gibi metal bağlayıcı proteinlerin sentez yeri olmakla birlikte (Asagba ve ark., 2008), besin maddelerinin birbirine dönüşümü, başta glikojen olmak üzere birçok madde depolama, safra oluşumu, plazma proteinlerinin sentezlenmesi ve kolesterol sentezi gibi önemli işlevleri olan metabolik bakımdan aktif bir organdır (Heath, 1995). Johari ve ark. (2015) *O. mykiss*'de metal nanopartiküllerinin etkisinde en fazla birikimin sırasıyla karaciğer, solungaç ve barsakta olduğunu belirtmişlerdir. *O. mykiss*'de 30 günlük bakır etkisinde en yüksek Cu birikiminin karaciğerde olduğu belirlenmiştir (Hollis ve ark., 2001). *O. mossambicus*'da 5 ppm Cu NP etkisinde karaciğer dokusunda kontrole oranla bakır birikimde artış gösterdiği belirtilmiştir (Villarreal ve ark., 2014). *O. mykiss* ile yürütölen bir çalışmada Cu NP'nin 10 günlük süreyle karaciğer dokusunda bakır birikiminin artış gösterdiği belirtilmiştir (Shaw ve ark., 2012). Wang ve ark., (2015) *E. coioides*'de Cu NP'nin 20 ve 100 µg/L derişimlerinin 25 gün süreyle etkisinde karaciğerde doku hasarlarına neden olduğunu belirtmişlerdir. Kas dokusu metabolik aktivite bakımından aktif olmamasına karşı metalin besin zincirinde iletilmesi bakımından önem taşır. 5 ppm bakır

etkisinde 24, 48 ve 96 saat sürelerle tutulan *O. niloticus*'un dokularındaki en fazla metal birikimi karaciğerde en az birikim ise kasta olduğu belirtilmiştir (Tunçsoy ve Erdem, 2014). *C. gariepinus*'da 5 ppm Cu'nun 15 gün süreyle etkisinde en fazla birikim sırasıyla karaciğer, böbrek, solungaç, dalak ve kas şeklinde belirlenmiştir (Duran ve ark., 2015). Ateş ve ark., (2014) CuO NP'nin farklı derişimlerinin 7 günlük süreyle etkisinde *Cyprinodon variegatus*'da en fazla bakır birikiminin karaciğerde olduğunu belirtmiştir. Doku birikimi bakımından yapılan bu çalışmada Cu NP etkisinde solungaç ve karaciğer dokusunda tüm süreler ve tüm derişimlerde, kas dokusunda ise 4 günlük etki süresinde yüksek derişimde, 7 günlük etki süresinde ise tüm derişimlerde kontrole oranla bakır birikimi artış göstermiştir. Metal birikimi bakımından dokular arasında Karaciğer> Solungaç>Kas şeklinde bir ilişki saptanmıştır (Şekil 2; P<0.05). Bakır etkisi başlangıcında solungaçtaki birikim bu dokunun geniş bir yüzey alanı olması nedeniyle ortamla doğrudan etkileşim içerisinde olması ve metalin solungaçlarda mukusun glikoprotein bileşenlerine bağlanması ile açıklanabilir. Karaciğerdeki bakır birikiminin artması, bu dokunun metabolik bakımdan aktif bir doku olması, bakır için hedef doku olması ve metallerin detoksifikasyonundan sorumlu olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Metal dağılımındaki farklılık doku ve organların metabolik aktivitelerindeki ayırım ve metallerin detoksifikasyon için karaciğere, atılım için de böbreğe taşınması ile açıklanabilir.







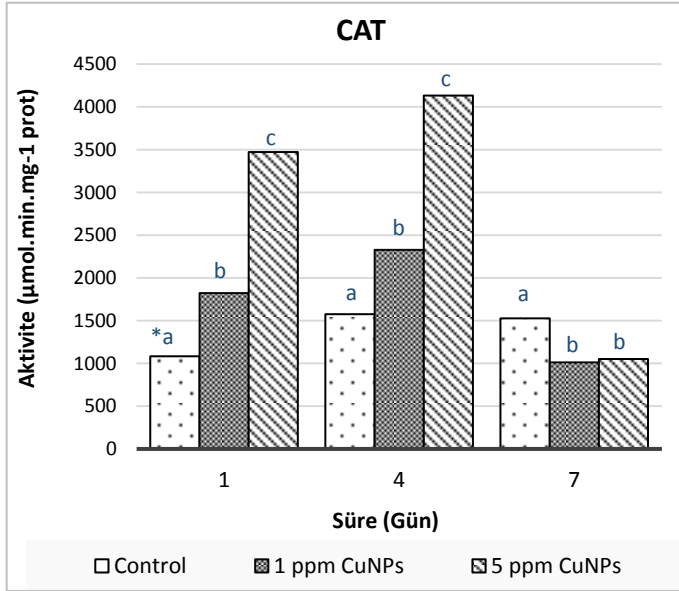
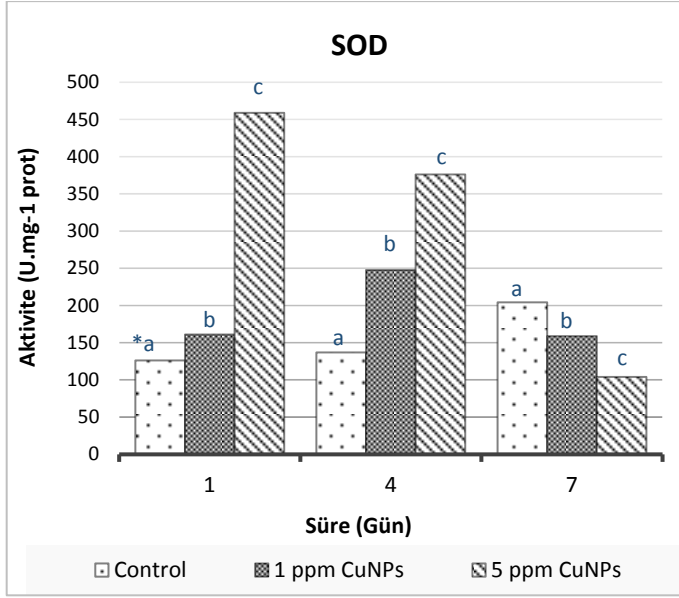
**Şekil 2.** Cu NP'nin 7 Günlük Etkisinde *C. gariepinus*'un Dokularındaki Bakır Birikimi.

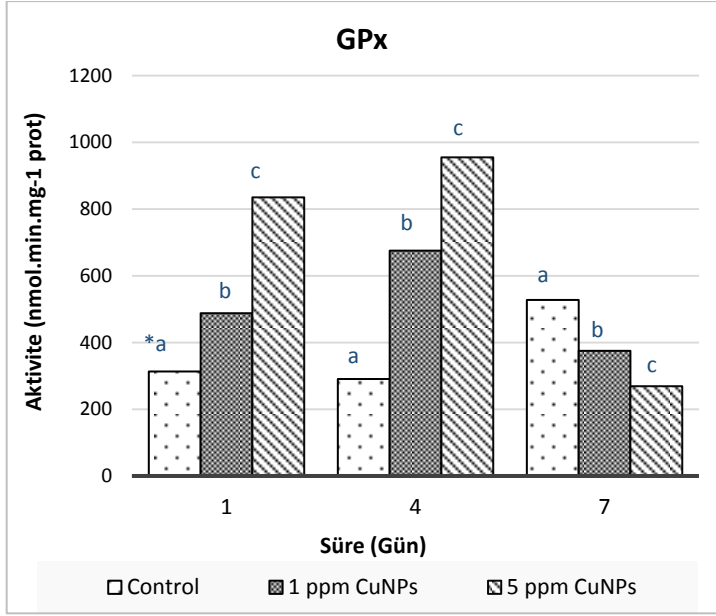
\*=SNK; a, b ve c ile gösterilen harfler derişimler arası göstermek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde istatistik ayırım vardır.

Antioksidan sistem yanıtları su organizmalarında metabolik değişimlerin ve kirleticilerin etkilerinin belirlenmesinde önemli bir belirteçtir (Sanchez ve ark., 2005). Ağır metaller de diğer tüm kirleticiler gibi ya direkt organizmalarda reaktif oksijen türlerini oluşturarak ya da antioksidan hücre savunmasını yok ederek oksidatif strese neden olmaktadır (Kong ve ark., 2013). Tüm organizmalarda metal ve metal oksit nanopartiküllerinden kaynaklı oksidatif stresin zararlı etkileri SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimler tarafından

etkisiz hale getirilir (Ma ve ark., 2010). Xiong ve ark., (2011) *D. rerio*'da metal oksit nanopartiküllerinin oksidatif stresi arttırdığını ve bu nanopartiküllerin metalin diğer formlarına oranla daha fazla oksidatif hasara yol açtığını belirtmişlerdir. Cu NP etkisinin reaktif oksijen türlerinin artışına ve oksidatif strese neden olduğu belirtilmiştir (Fahmy ve Cormier, 2009). *C. carpio*'nun 8 gün süre ile 0,1 ve 0,25 mg/L Cu'nun etkisinde karaciğer dokusunda CAT aktivitesinin artış gösterdiği belirtilmiştir (Dautremepuits ve ark., 2004). Baily ve ark., (1996) farklı kirleticilerin etkisi altında *O. niloticus*'da SOD aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir. *O. mossambicus*'da 5 ppm Cu NP etkisinde karaciğer dokusunda CAT aktivitesi artış gösterirken, SOD aktivitesinde herhangi bir değişim gözlenmediği belirtilmiştir (Villarreal ve ark., 2014). *Leporinus obtusidens*'in karaciğer dokusunda 20 ve 40 µg/l'lik Cu etkisinde CAT aktivitesinin artış gösterdiğini belirtilmiştir (Gioda ve ark., 2007). Abdel-Khalek ve ark., (2015) *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda SOD ve CAT aktivitesinde bakır nanopartiküllerinin etkisinde bu enzimlerin inhibe olduğu belirtilmiş, GPx aktivitesinde ise artış olduğunu bildirmiştir. Villarreal ve ark., (2014) *O. mossambicus* ile yürüttükleri bir çalışmada 5 ppm Cu NP etkisinde karaciğer dokusunda bakır birikimde artış gözlendiğini, yine karaciğer dokusunda metal etkisinde CAT aktivitesi artış gösterirken, SOD aktivitesinde herhangi bir değişim gözlenmediğini belirtmişlerdir. Basha ve Rani (2003), *O. mossambicus* ile yaptıkları bir çalışmada 5 ppm kadmiyumun karaciğerde SOD ve CAT aktivitesinde artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Dautremepuits ve ark. (2004), 0.1 ve 0.25

mg/L Cu'nun etkisine 8 gün süre ile bıraktıkları *C. carpio*'nun karaciğer dokusunda CAT aktivitesinde artış gösterdiğini belirtmişlerdir Hao ve ark., (2009) Ti NP'nin 10 mg/L'lik derişimlerinin 8 günlük süreyle etkisinde *C. carpio*'da solungaç, karaciğer ve beyin dokusundaki SOD ve CAT enzim aktivitesini incelemişler ve bu enzimlerin karaciğer dokusundaki aktivitesinin diğer dokulara oranla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte karaciğer dokusunda etki süresi sonunda SOD ve CAT aktiviteleri kontrole oranla artış gösterdiği ve süreye bağlı etkisinde ise başlangıçta hızla aktivitenin arttığını sürenin uzamasıyla da bu artışın durduğunu belirtmişlerdir. Preto ve ark., (2014) *Rhamdia quelen* ile yürüttükleri bir çalışmada bakırın 16 ve 29 µg/L'lik derişimlerinin 45 günlük süreyle etkisinde karaciğer dokusunda CAT aktivitesinin kontrole oranla her iki derişimde de azaldığını belirtmişlerdir. Antioksidan enzim aktiviteleri göz önünde bulundurulduğunda yapılan bu çalışmada, Cu NP etkisinde tüm süre ve derişimlerde SOD, CAT ve GPx aktivitesi başlangıçta kontrole oranla artış göstermiş, sürenin uzamasıyla bu enzimlerin aktivitesi kontrole oranla azalma göstermiştir (Şekil 3; P<0.05). Cu NP etkisinde enzim aktivitesindeki bu artışın metal etkisinde reaktif oksijen türlerinin artmasından kaynaklandığı, SOD aktivitesindeki artışın metal etkisinde oluşan süperoksit radikalının H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye, CAT ve GPx aktivitesindeki artışın ise artan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin oksijen ve suya katalizlenmesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.





**Şekil 3.** Cu NP'nin 7 Günlük Etkisinde *C. gariepinus*'un Karaciğer Dokusundaki Antioksidan Enzim Aktiviteleri.

\*=SNK; a, b ve c ile gösterilen harfler derişimler arası göstermek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $P < 0.05$  düzeyinde istatistik ayırım vardır.

Doğadaki makro ve mikro yapılar insan ve çevre sağlığını tehdit ettiği gibi nanopartiküllerin de tehdit unsuru olduğu açıktır. Yapılan bu çalışmada Cu NP etkisinde *C. gariepinus*'un dokularındaki bakır birikimi ve antioksidan enzim aktiviteleri incelenmiş ve bunun sonucunda Cu NP'nin doku birikimi ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri bağlamında toksik olduğu saptanmıştır.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Khalek, A.A., Kadry, M.A.M., Badran, S.R., Marie, M.S., (2015). Comparative toxicity of copper oxide bulk and nano particles in Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*: Biochemical and oxidative stress. International journal of basic and applied biology. (72), 43-57.
- Al-Bairuty, G.A., Shaw, B.J., Handy, R.D., Henry, T.B., (2013). Histopathological effects of waterborne copper nanoparticles and copper sulphate on the organs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquat. Toxicol., 126, 104-115.
- Asagba, S. A., Eriyamremu, G. E., Igberaese, M. E. (2008). Bioaccumulation of cadmium and its biochemical effect on selected tissues of the catfish (*Clarias gariepinus*). Fish Physiology and Biochemistry, (34), 61-69.
- Aschberger, K., Micheletti, C., Sokull-Kluttgen, B., Christensen, F.M., (2011). Analysis of Currently Available Data for Characterising the Risk of Engineered Nanomaterials to the Environment and Human Health Lessons Learned from Four Case Studies. Environment International, 37(6), 1143-1156.
- Ates, M., Dugo, M.A., Demir, V., Arslan, Z., Tchounwou, P.B., (2014). Effect of copper oxide nanoparticles to sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*) at different salinities. Digit. International Journal of Nanomaterials and Biostructures, 9 (1), 369-377.
- Bainy, A. C. D., Saito, E., Carvalho, P. S. M., Junqueira, V. B. C. (1996). Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. Aquatic Toxicology, 34, 151-162.
- Basha, P.S., Rani, A.U., (2003). Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). Ecotoxicology and Environmental Safety, 56, 218-221.
- Blaise, C., Gagne, F., Ferard, J.F., (2008). Ecotoxicity of Selected Nanomaterials to Aquatic Organisms. Environmental Toxicology, (23), 591-598.

- Bradford, M., (1976). A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein–Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, (72), 248-254.
- Chang, H., Jwo, C., Lo, C., Tsung, T., Kao, M., Lin, H., (2005). Rheology of CuO nanoparticle suspension prepared by ASNSS. *Reviews on Advanced Material Science*, 10:128-132.
- Cioffi, N., Ditaranto, N., Torsi, L., Picca, R.A., De Giglio, E., Sabbatini, L., Novello, L., Tantillo, G., Bleve–Zacheo, T., Zambonin, P.G. (2005). Synthesis, analytical characterization and bioactivity of Ag and Cu nanoparticles embedded in poly–vinyl–methyl–ketone films. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, (382), 1912-1918.
- Dautremepuits, C., Paris-Palacios, S., Betoulle, S. And Vernet, G. (2004). Modulation in Hepatic and Head Kidney Parameters of Carp (*Cyprinus carpio* L.) Induced by Copper and Chitosan. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, (137), 325-333.
- Dhas, N.A., Raj, C.P., Gedanken, A. (1998). Synthesis, characterization, and properties of metallic copper nanoparticles. *Chemical Materials*. (10), 1446-1452.
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babut, M., Vasseur, R. (1997). Antioxidant Enzymes, Glutathione and Lipid Peroxidation as Relevant Biomarkers of Experimental or Field Exposure in the Gills and the Digestive Gland of the Freshwater Bivalve *Unio tumidus*. *Aquatic Toxicology*, (39), 93-110.
- Duran, S., Tunçsoy, M., Yesilbudak, B., Ay, O., Cicik, B., & Erdem, C. (2015). Metal accumulation in various tissues of *Clarias gariepinus* exposed to copper, zinc, cadmium and lead singly and in mixture. *Fresenius Environmental Bulletin*, (24, 12C), 4738-4742.
- Fahmy, B., & Cormier, S. A. (2009). Copper oxide nanoparticles induce oxidative stress and cytotoxicity in airway epithelial cells. *Toxicology In Vitro*, (23), 1365-1371.



- Farre, M., Gajda-Schranz, K., Kantiani, L., Barcelo, D. (2009). Ecotoxicity and Analysis of Nanomaterials in the Aquatic Environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, (393), 81-95.
- Gioda, C.R., Lissner, L.A., Pretto, A., Rocha, J.B.T., Schetinger, M.R.C., Neto, J.R., Morsch, V.M., Loro, V.L. (2007). Exposure to sublethal concentrations of Zn (II) and Cu (II) changes biochemical parameters in *Leporinus obtusidens*. *Chemosphere* (69), 170-175.
- Greenwald, R.A., (1985). *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Griffitt, R.J., Hyndman K., Denslow, N.D., Barber D.S. (2009). Comparison of Molecular and Histological Changes in Zebrafish Gills Exposed to Metallic Nanoparticles. *Toxicological Sciences*, 107(2): 404-415.
- Hao, L., Chen, L., Hao, J., Zhong, N. (2013). Bioaccumulation and Sub-acute Toxicity of Zinc Oxide Nanoparticles in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*): A Comparative Study with Its Bulk Counterparts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, (91), 52-60.
- Heath, A.G., (1995). *Water Pollution and Fish Physiology*. CRC press, Florida, USA, 245 pp.
- Hollis, L., Hogstrand, C. And Wood, C. M. (2001). Tissue-Specific Cadmium Accumulation, Metallothionein Induction, and Tissue Zinc and Copper Levels During Chronic Sublethal Cd Exposure in Juvenil Rainbow Trout. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, (41), 468-474.
- Johari, S. A., Kalbassi, M. R., Yu, I. J., Lee, J. H. (2015). Chronic effect of waterborne silver nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histopathology and bioaccumulation. *Comparative Clinical Pathology*, 5, 995-1007.
- Kong, X., Jiang, H., Wang, S., Wu, X., Fei, W., Li, L., Nie, G., Li, X. (2013). Effects of Copper Exposure on The Hatching Status and Antioxidant Defense at Different Develop-Mental Stages of Embryos and Larvae of Goldfish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, (92), 1458-1464.

- Lawrence, R. A., Burk, R. F., (1976). Glutathione Peroxidase Activity in Selenium Deficient Rat Liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71(4), 952-958.
- Li, Y.; Liang, J.; Tao, Z.; Chen, J. (2007). CuO particles and plates: Synthesis and gas-sensor applications. *Materials Research Bulletin*, (43), 2380-2385.
- Ma, L. L., Liu, J., Li, N., Wang, J., Duan, Y.M., Yan, J. Y., Liu, H. T., Wang, H., & Hong, F. S. (2010). Oxidative stress in the brain of mice caused by translocated nanoparticulate TiO<sub>2</sub> delivered to the abdominal cavity. *Biomaterials*, (31), 99-105.
- Mccord, J. M., Fridovich, I, (1969). Superoxide Dismutase: an Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocytin). *Journal of Biological Chemistry*, 244 (22), 6049-6055.
- Muramoto, S. (1983). Elimination of Copper from Cu-Contaminated Fish by Long-Term Exposure to EDTA and freshwater *Journal of Environmental Science and Health*, 18A(3), 455-461.
- Pretto, A., Loro, V.L., Silva, V.M.M., Salbego, J., de Menezes, C.C., Souza, C.F., Gioda, C.R., Baldisserotto, B. (2014). Exposure to sublethal concentrations of copper changes biochemistry parameters in silver catfish, *Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 392-399
- Ren, G.; Hu, D.; Cheng, E.W.C.; Vargas-Reus, M.A.; Reip, P.; Allaker, R.P. (2008). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, (33), 587-590.
- Sanchez, W., Palluel, O., Meunier, L., Coquery, M., Porcher, J.M., Ait-Aissa, S. (2005). Copper Induced Oxidative Stress in Three-Spined Stickleback: Relationship with Hepatic Metal Levels. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, (19), 177-183.
- Schrand, A.M., Rahman, M.F., Hussain, S.M., Schlager, J.J., Smith, D.A., Syed, A.F. (2010). Metal-based Nanoparticles and Their Toxicity Assessment. *Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2(5), 544-568.

- Shaw, B.J., Al-Baurity, G., Handy, R.D., (2012). Effects of Waterborne Copper Nanoparticles and Copper Sulphate on Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Physiology and Accumulation. *Aquatic Toxicology*, 116-117, 90-101.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J., (1995). "Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research", 3<sup>rd</sup> edition. W.H. Freeman and Co., New York, 887s.
- Tunçsoy, M. (2021). Impacts of Titanium Dioxide Nanoparticles on Serum Parameters and Enzyme Activities of *Clarias gariepinus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 106(4): 629-636.
- Tunçsoy, M., Erdem, C. (2018). Copper Accumulation in Tissues of *Oreochromis niloticus* Exposed to Copper Oxide Nanoparticles and Copper Sulphate with Their Effect on Antioxidant Enzyme Activities in Liver. *Water Air Soil Pollution*, 229 (269), 1-10.
- Tunçsoy, M. & Duran, S. (2020). Acute Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles on Some Serum Parameters and Enzyme Activities of *Cyprinus carpio*. *J. Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(4):704-710
- Tunçsoy, M., Erdem, C. (2014). Accumulation of copper, zinc and cadmium in liver, gill and muscle tissues of *Oreochromis niloticus* exposed to these metals separately and in mixture. *Fresenius Environmental Bulletin*, 23(5), 1143-1149.
- Tuncsoy, B., Mese, Y. (2021). Influence of titanium dioxide nanoparticles on bioaccumulation, antioxidant defense and immune system of *Galleria mellonella* L.. *Environmental Science and Pollution Research*, (28), 38007-38015.
- Viarengo, A. 1985. Biochemical Effects of Trace Metals. *Marine Pollution Bulletin*, 16(4), 153-158.
- Villarreal, F.D., Das, G.K., Abid, A., Kennedy, M., Kultz, D. (2014). Sublethal Effects of CuO Nanoparticles on Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Are Modulated by Environmental Salinity. *Plos One*, 9(2), 1-15.

- Wang, T., Long, X., Cheng, Y., Liu, Z., Yan, S. (2015). A Comparison Effect of Copper Nanoparticles versus Copper Sulphate on Juvenile *Epinephelus coioides*: Growth Parameters, Digestive Enzymes, Body Composition, and Histology as Biomarkers. *International Journal of Genomics*, (215), 1-10.
- Xiong, D., Fang, T., Yu, L., Sima, X., Zhu, W. (2011). Effects of nano-scale TiO<sub>2</sub>, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: acute toxicity, oxidative stress and oxidative damage. *Science of the Total Environment*, (409), 1444–1452.



## **BÖLÜM 8**

### **ANTIOKSİDAN BİR VİTAMİN OLARAK ASKORBİK ASİT (C VİTAMİNİ)**

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN<sup>1</sup>,

Doç. Dr H. Turan AKKOYUN<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD, Siirt, Türkiye,  
mahireakkoyun@siirt.edu.tr

<sup>2</sup> Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Fizyoloji ABD, Siirt, Türkiye,  
turanakkoyun@siirt.edu.tr



## GİRİŞ

### 1.VİTAMİNLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Vitamin' ('vital amin' için) terimi, 1912'de, tiyamini pirinç kabuğundan izole eden ve beri beri eksikliğini önleyen şeyin bu bileşik olduğunu gösteren Casimir Funk tarafından tanımlanmıştır. Bu tanımlamanın ardından insan sağlığı için önemli olan tüm vitaminlerin tanımı ve merkezi metabolizmadaki rolleri belirlenmeye başlamıştır. Vitaminlerin birçoğunun yüksek oranda taze meyve ve sebzelerin tüketilmesi ile elde edilebileceği ve bu besinlerin vitaminler için zengin kaynakları olduğu kabul edilmiştir (Smith ve ark., 2007). Hipokrat'tan beri (460-377 M.Ö.) meyve ve sebze içeren besinlerle yapılan diyet ile sağlık arasında bir ilişki olduğu kaydedilmiştir. Meyve ve sebzeleri içeren bir diyetin vitaminler, mineraller ve diğer biyoaktif besinleri içerdiği uzun zamandır bilinmekte ve araştırılmaktadır (Soni ve ark., 2010). Vitaminler, insanlar tarafından sentezlenemeyen ve bu nedenle diyetle alınması gereken bileşiklerdir. Bu bileşikler oldukça karmaşık bir biyokimyaya sahiptirler. Aynı zamanda beslenme ve sağlık açısından bakıldığında oldukça önemlidirler (Asensi-Fabado ve Munne-Bosch, 2010). Vitaminler, insan vücudundaki birçok biyokimyasal fonksiyonda hayati bir rol oynar ve optimal sağlığı sürdürmek için gerekli bileşenlerdir. Vitaminler iki ana grup altında incelenirler. Bunlardan ilki; (Taguchi ve ark., 2014).



- Yağda çözünür (emildikten sonra yağda kolayca depolanır)
- İkincisi ise suda çözünür ( kolayca depolanmaz) vitaminlerdir.

Tüm vitaminlerin yeterli miktarda alınması önemli olsa da, suda çözünen vitaminlerin geçici doğası nedeniyle eksikliğin önlenmesi için düzenli olarak alınması gerekmektedir. Suda çözünen vitaminler arasında C Vitamini ve B Vitamin kompleksi (tiamin, riboflavin, niasin, pantotenik asit, piridoksin, biotin, folat ve kobalamin) bulunur (Lystad ve Sharma., 2020). Yağda çözünebilen vitaminler ise A, D, E ve K vitaminleri olarak incelenirler (Mamede ve ark., 2011). (Tablo1) Yağda çözünen vitaminler; (Özışık, 2016).

- Hayati önem taşıyan organik kökenli bileşenlerdir.
- Mikrobeyinler olarak nitelendirilirler.
- Hücre için vazgeçilmez bileşenlerdir. Hücrenin büyümesi olgunlaşması ve gelişmesinde önemli rol oynarlar.
- Depolanabilme özelliğine sahiptirler.
- Toksik etki gösterebilirler.
- Suda çözünen vitaminler;
- İnce bağırsaklar ve mideden emilimleri vardır.
- Kan vasıtasıyla karaciğere aktarılırlar.
- Depolanma özellikleri yoktur.
- Toksik etki göstermezler.

Vitaminler önemli antioksidan aktiviteye sahiptirler. Antioksidanlar, hücrede DNA sentezini inhibe eder, hücre çoğalmasını azaltıp, gen ekspresyonunu değiştirerek, hücre dönüşümünü inhibe eder ve

oksidatif strese karşı korurlar. Antioksidan özellikteki vitaminler (E vitamini, C vitamini ve  $\beta$  karoten), metabolizmada oksidatif hasarı sınırlandırır. Bazı kronik hastalıkların riskini düşürücü rol oynarlar. Antioksidan vitaminlerin kanser riskini azaltmada rol oynadığı, ayrıca yapılan çalışmalarda kalp-damar hastalıklarında, L-askorbik asit, tokoferol ve  $\beta$ -karoten miktarlarının azalan plazma konsantrasyonları ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir (Kahraman ve ark., 2018). Oksidatif strese karşı antioksidan savunma, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan reaksiyonlarla sağlanır. Serbest radikallerin başlama oranını azaltan veya yayılmasını önleyen C ve E vitaminleri ve vitamin öncülleri (örn. Karotenoidler), enzimatik olmayan kaydadeğer antioksidanlardır. Vitaminlerden E vitamini özellikle lipid peroksidasyonunun önlenmesinde önemliyken, C vitamini süperoksit ve hidroksil radikalleri ile etkili bir şekilde reaksiyona girer. C vitamini ayrıca yarı kararlı kromanoksil radikallerinin azaltılmasında ve E vitamini yenilenmesinde önemli bir rol oynar (Kitts, 1997).

**Tablo 1.** Suda Ve Yağda Çözünen Vitaminler (Lebas, 2000)

<b>Vitamin İsmi</b>	<b>Kimyasal molekül ismi</b>
A Vitamini	Retinol, retinal, retinoik asit
D Vitamini	Ergokalsiferol, kolekalsiferol
E Vitamini	Alfa tokoferol, beta tokoferol, gama tokoferol
K Vitamini	Filokinon, menakinon, menadion
B <sub>1</sub> Vitamini	Tiamin

B <sub>2</sub> Vitamini	Riboflavin
B <sub>3</sub> Vitamini	Nikotinik asit
B <sub>5</sub> Vitamini	Pantotenik asit
B <sub>6</sub> Vitamini	Pridoksin
B <sub>8</sub> Vitamin	Biotin
B <sub>9</sub> Vitamin	Folik asit
B <sub>12</sub> Vitamini	Siyanokobalamin, hidroksikobalamin
C Vitamini	Askorbik asit,

Vitaminlerin eksiklikleri metabolizmada oldukça önemlidir. Bazı durumlarda şiddetli ve hatta ölümcül olabilen hastalıklara neden olurlar (Lanska, 2010). Vücudun farklı vitamin depoları çok değişkenlik gösterir. B<sub>12</sub>, A ve D vitaminleri, çoğunlukla karaciğerde önemli miktarlarda depolanır eksiklik durumu gelişmeden önce aylarca D ve A vitaminleri ve bazı durumlarda B<sub>12</sub> vitamini yıllarca eksik kalabilir. Bununla birlikte, B<sub>3</sub> vitamini (yani, niasin ve niasinamid) önemli miktarlarda depolanmaz, bu nedenle depolar sadece birkaç hafta dayanabilir. C vitamini için, insanlarda kapsamlı C vitamini yoksunluğuna ilişkin deneysel çalışmalarda ilk iskorbüt semptomları, öncekine bağlı olarak bir aydan altı aya kadar geniş ölçüde değişmiştir. Vitamin eksiklikleri birincil ve ikincil olmak üzere ikiye ayrılır. Birincil eksiklik, insan/organizmanın gıdalardan yeterli vitamini almaması durumunda ortaya çıkar. İkincil eksiklik, aşırı alkol

tüketimi, sigara kullanımı veya vitaminlerin emilimini veya kullanımını engelleyen ilaçların kullanımı gibi yaşam tarzı faktörlerine bağlı olarak vitamin emilimini veya kullanımını sınırlayan veya önleyen altta yatan bir bozukluğun sonucu olabilir (Godswill ve ark., 2020). Örneğin eksikliklerinde iyi bilinen bozukluklardan birkaçı; körlük (A vitamini), beriberi (vitamin B1), pellagra (vitamin B3), anemi (B6 vitamini), iskorbüt (C vitamini) ve raşitizm (D vitamini) olarak bilinir (Asensi-Fabado ve Munne-Bosch, 2010). Ayrıca B<sub>12</sub> vitamini eksikliğinde pernisiyöz anemi, folat eksikliğine bağlı olarak nöral tüp defektlerinin ortaya çıktığı bildirilmiştir (Lanska, 2010).

## **2. C VİTAMİNİ (ASKORBİK ASİT)**

### **2.1.Yapısı ve genel özellikleri**

Kimyasal ismi “askorbik asit” olarak bilinen C vitamini; C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> kapalı formülüne sahip olan bileşiktir. Molekül ağırlığı 176g/mol’dür. Erime noktası 192°C’dir (Dizlek ve Gül., 2007). L-Askorbik asit bir altı karbonlu keto-lactone olarak bilinir (Luck ve ark., 1995). (Şekil 1.) C Vitamini (Vit. C) doğada doğal olarak oluşan antioksidanlardan bir tanesidir. C vitamini (askorbik asit) organik serbest radikallerle hızla reaksiyona girer ve bu bileşiklerin antioksidan özelliklerinin kısmen biyolojik aktivitelerinden sorumlu olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (Packer ve ark., 1979).



yolculukları yapanlarda hastalık daha sık ve şiddetli bir şekilde gözlenmiştir. 1593 yılına bakıldığında Hawsinks tarafından portakal ve limonun bu hastalığı tedavi edebildiğini ortaya çıkarılmıştır. 1740-1744 yıllarında skorbüt hastalığı hakkındaki detaylı ilk bilgiler ise Anson isimli araştırmacı tarafından belirtilmiştir (İmik ve Tuncer., 1997). Askorbik asit ile ilgili ilk bilimsel araştırmalara bakıldığında 1907 yılında Holst ve Frolich tarafından yapılan deneyler öne çıkmaktadır (Harris, 1962). 1912 yılında ise C. Funk adlı bir kimyacı skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün noksanlığı neticesinde oluştuğu ortaya çıkarmış ve bu maddeye “antiskorbutik vitamin” adını vermiştir. Bundan sonra 1920 yılına gelindiğinde Drummond antiskorbutik vitamin tanımı için “Vitamin C” adını kullanmıştır. 1918–1929 yılları arasında Zilva ve arkadaşları limondan askorbik asidi izole ederek, çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklerini saptamışlardır (Othmer,1955). C vitaminin kimyasal yapısı 1933 yılında Hawort ve arkadaşları tarafından aydınlatılmıştır. Aynı yıl Hawort Richest Reichstein tarafından C vitamininin sentezi gerçekleştirilmiş ve askorbik asit adı verilmiştir. C vitamini sentezi ve kortizonu buluşları üzerine 1950 yılında kendisine Nobel Tıp ödülü verilmiştir (Ersöz, 2002). C vitamini için besin kaynakları arasında; papaya, dolmalık biber, brokoli, brüksel lahanası, çilek, ananas, portakal, kivi, kavun, karnabahar, lahana, lahana, bokchoy, greyfurt, maydanoz, şalgam yeşillikleri, pancar yeşillikleri, hardal yeşillikleri, kara lahana, ahududu, İsviçre pazı, domates, limon ve misket limonu, ıspanak, kuşkonmaz, deniz sebzeleri, rezene, tatlı patates, kış kabağı, bezelye, yaban mersini, kızılıcık, karpuz, yeşil fasulye, yaz kabağı,

havuç, erik, sarımsak, fesleğen, dereotu, marul, patates, avokado, soğan, muz, elma, armut, pancar, pırasa, kayısı, kereviz, salatalık ve nane sayılabilir (Maqbool ve ark., 2017). İndirgenmiş askorbik asit formu, aktif, beyaz renkte, kokusuz, kristal yapılı bir bileşik olup, suda çözünebilir fakat yağda çözünemeyen bir özelliğe sahiptir. Askorbik asit kolay ve hızlı bir şekilde indirgenmiş formuna kıyasla biyolojik olarak daha az aktif olan dehidroaskorbik asite okside olabilmektedir (şekil 2.). Askorbik asit rahatlıkla tuz oluşturabilir. Askorbik asitin indirgenmiş formu, asit solusyonunda lakton halkasının korunmasına bağlı olarak çok stabildir. Alkalin solusyonunda hızlı bir şekilde hidroliz meydana gelir ve bu İvitamin aktivitesi ortadan kaybolur. C Vitamini özellikle bakır, demir ve diğer pek çok metalik katalist varlığında, ısıya karşı kararsızdır ve atmosferik oksidasyona karşı yatkılık gösterir (Ateş ve akıroğulları., 2010).

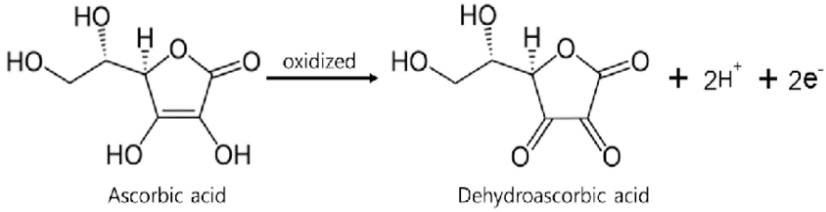
#### Askorbik Asit;

- \*\* Hem indirgen gücü olan hemde asidik özellik veren dienol grubu içerir.
- \*\* Benzen, eter ve petrol eteri ve kloroform gibi çözücülerde özünmez.
- \*\* Vitaminlerin içerisinde en dayanıksız vitamin olarak tanımlanır.
- \*\* Fe ve Cu gibi katalizör varlığına oldukça duyarlıdır.
- \*\* 4'den daha düşük pH değerleride oldukça dayanıklıdır.
- \*\* Oksijene karşı dayanıksızdır.
- \*\* Yükseltgenmiş ve indirgenmiş formlarda bulunabilir.

Askorbik asit veya L-askorbik asit, C vitamini için IUPAC-IUB Komisyonu tanımıdır (2-okso-l-teo-heksono-4-lakton-2, 3-enediol). Askorbik asit, neredeyse düzlemsel beş üyeli bir halkaya sahiptir; 4 ve 5 konumlarındaki iki şiral merkez, dört stereoizomeri belirler. Askorbik asidin oksitlenmiş formu olan dehidroaskorbik asit, bazı C vitamini aktivitesini korur ve hidratlı hemiketal veya dimer olarak bulunabilir (Johnston ve ark., 2007). Askorbik asit çeşitli izomerlere sahip doğal bir bileşiktir. L-AA(L-askorbik asit), D-AA(D- askorbik asit), D-izoAA = eritorbikasit (D- izo askorbik asit) en önemli izomerleri arasında yer alır. Fakat C vitamini genel olarak değerlendirildiğinde bu izomerler içerisinde ilk olarak L-AA düşünülür. Çünkü, sadece bu izomer oldukça önemli biyolojik aktiviteye sahiptir (Zudina ve ark., 2018). D-AA'nın ve D-izoAA biyolojik aktivite yönünden çok güçlü değildir. D izomerleri aktivite yönünden değerlendirildiğinde L izomer formlarına kıyasla daha düşük aktivite gösterirler. D izomerlerinin, L izomerlerinin % 10'u düzeyinde bir aktiviteye sahip olabileceği belirtilmiştir (Kırca ve Cemeroğlu, 2001). Askorbik asit kolaylıkla oksidasyona uğrayabilmektedir. Askorbik asidin kolaylıkla parçalanmasına sebep olan başlıca etmenler arasında oksijen, ısı ve ışık yer alır. Askorbik asit enzimatik olarak yıkıma uğrayabilir. Askorbik asit oksidaz (EC 1.10.3.3) öncelikli olmak üzere; lipoksigenaz enzimi, fenol oksidaz enzimi, sitokrom oksidaz enzimi ve peroksidaz enzimi askorbik asidin yıkımını katalize eden enzimler olarak tanımlanırlar. Bunların içerisinde askorbik asit oksidaz enzimi, askorbik asidi direkt okside ederken diğer enzimler oksidasyonu dolaylı olarak gerçekleştirirler.



Bu sebeple vitaminler içerisinde en az stabil olan C vitaminidir (Dizlek ve Gül, 2007).



Şekil 3. AA'nın Dehidroaskorbik Asite Dönüşümü (Kim ve Kim, 2016)

### 3. C VİTAMİNİ'NİN BİYOLOJİK FONKSİYONLARI VE ANTIOKSİDAN ÖZELLİĞİ

Biyolojik ortamların çoğunda (pK = 4.2) askorbat olarak bulunan L-Askorbik asit (C vitamini), hücre dışı, sıvılardaki en önemli antioksidan olarak kabul edilir, Antioksidan yapıdaki birçok hücrel aktivite, bu önemli vitamin için de bilinir. Askorbatın süperoksit, hidrojen peroksit, hipokloriti, hidroksil radikalini, peroksil radikallerini ve tekli oksijeni verimli bir şekilde temizlediği gösterilmiştir. İnsan plazma lipidleri ile yapılan çalışmalarda, askorbatın bir peroksil radikal başlatıcısı tarafından başlatılan lipid peroksidasyonunu önlemede çok daha etkili olduğu gösterilmiştir (Sies ve ark., 1992). Askorbik asit veya C vitamini, güçlü bir antioksidan ve serbest radikal süpürücü olarak popüler olarak kabul edilmesi, askorbik asidin bahsedilen serbest radikal süpürücü özellikleri için çok önemli olan, tamamen oksitlenmiş türler olan

dehidroaskorbatın doğasından kaynaklanır (Njus ve ark., 2020). Askorbik asit (C vitamini), birçok gıda sisteminde yaygın olarak kullanılan bir antioksidandır. Doğal formlarında askorbik asit (L-askorbik asit ve D-izoaskorbik asit ) hem bir indirgeme ajanı hem de bir oksijen tutucu olarak işlev görür. Ek olarak, oksijenle tek başına metal iyonlarına göre daha az reaktif olan metal askorbat kompleksleri oluşturan askorbik asidin metal ayırma aktivitesi antioksidan aktivite sağlar. Askorbik asidin oksijen temizleme aktivitesi, hem tekli oksijeni hem de bir süperoksit anyonunu yakalamada etkilidir, böylece bir askorbat serbest radikal üretir. Bu şekilde üretilen askorbat radikalleri ayrıca hidroperoksitler (radikal olmayan türler) ve askorbik asidin oksitlenmiş formu, yani dehidroaskorbik asit üretmek için peroksil radikalleriyle reaksiyona girer (Kitts 1997). Bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan C vitamini, Cu + -bağımlı monooksijenazlar ve Fe<sup>2+</sup> bağımlı dioksijenazlar tarafından katalize edilen reaksiyonlarda bir kofaktördür (Linster ve VanSchafttingen., 2007). Askorbik asitin etki mekanizması genel olarak aydınlatılmış olmaktan uzak olsada askorbik asitin çoğu tepkimeye doğrudan katılmadığı bunun yerine bir metal kofaktörü indirgenmiş halde tutmak için gerekli olduğu belirtilmiştir. C vitamini;(Murray ve ak., 2003;Ottoway, 1993).

- Kollajen sentezinde; polinin hidrosilasyonu için
- Tirozin yıkımında;
- Tirozinden adrenalin sentezinde
- Safra asit oluşumunda

- Demir metabolizmasında
- Serbest radikal zararına karşı
- Hidrojen/elektron transferinde
- Karnitin biyosentezinde
- Prostaglandin sentezinde; oldukça önemli fonksiyonlara sahiptir.

Dişlerin, kemiklerin ve kırıkdağların oluşumunda ve gelişiminde Askorbik asit, önemli görevlere sahiptir. Son yapılan çalışmalar incelendiğinde, askorbik asidin döl verimini üzerine olumlu etkilerinin olabileceği ortaya konulmuştur. Aynı zamanda kolesterolün başlıca katabolik ürünü olan safra asitlerine dönüşümünde askorbik aside gereksinim vardır. Demirin bağırsaktan emiliminde de etkindir. Ayrıca askorbik asit transferine bağılı demir iyonlarının serbest hale getirilmesi ve doku demirine çevrilmesinde görev olarak eritropoezi hızlandırır. Askorbik asitin immun sistem ve hastalıklar üzerine etkisinin olduğu raporlanmıştır (İmik ve Tuncer, 1997). Kollajen sentezi için en belirgin şekilde askorbik asit gereklidir; kusurlu kollajen sentezi, c vitamini eksikliğinden kaynaklanan askorbüt hastalığının ilk belirtisidir. Kollajen zincirlerinin çapraz bağlanmasında yer alan prokollajen-prolin dioksijenaz ve prokollajen-lizin dioksijenaz (prolil ve lisil hidroksilaz) enzimleri askorbik asit gerektirir. Askorbik asit, bu enzimler tarafından katalize edilen reaksiyonlara doğrudan katılmaz (Njus ve ark., 2020). C Vitamini'nin koroner kalp hastalığı, felç ve kanser gibi oldukça önemli hastalıkları önlemede rolünün olduğu belirtilmiştir (Granger ve Eck,

2018). Askorbik asit yapısal olarak bakıldığında nötr pH'ta tamamen ayrışacak kadar asidik bir hidroksil grubu içeren ender bileşiklerden bir tanesi olarak karşımıza çıkar. Bu önemli özellik askorbik asidin iki konjuge çift bağ içermesi ve protonuz monoanyonik form için bir rezonans formunun yazılabilmesi ile açıklanabilir. Rezonans formları, bir elektron kaybetmiş C vitamini formu için de yazılabilir. Bu da radikal semidehidroaskorbatı (SDA) diğer serbest radikallerin çoğundan çok daha kararlı ve dolayısıyla çok daha az reaktif hale getirir. Bu nedenle C vitamini, yüksek oranda oksitleyici türlerle tepkimeye girerek, onları çok daha az reaktif duruma getirmede görev alır ve böylelikle serbest radikal süpürücü rolü oynayabilir (Buettner, 1993; Linster ve VanSchafttingen., 2007). Askorbik asidin en önemli fonksiyonlarından bir tanesinde enfeksiyon hastalıklarına karşı organizmanın direncini yükseltici rolünün var olmasıdır. Bunun yanısıra boğmaca, difteri gibi başka bazı bakterilerin etkilerini engelleyici yada ortadan kaldıracı etkisi söz konusudur. Lökositlerdeki yüksek askorbat derişimi ve bunun enfeksiyon ve fagositoz esnasında hızlı olarak harcanması, C vitaminin fagositoz açısından da oldukça önemli olduğunu ve immün sistemde de etkili olduğunu göstermektedir (Kubat ve ark., 2013). Askorbik asitin; demir, kalsiyum, B vitaminleri içerisinde sınıflandırılan tiamin, riboflavin, folik asit, pantotenik asit, ayrıca yağda çözünebilen vitaminlerden A ve E vitaminleri gibi farklı bazı besin maddelerinin metabolizmada kullanılmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir. Askorbik asit alımının, bağırsaklarda asitliğı arttırarak, B<sub>12</sub> vitamininin emilimini azalttığı rapor edilmiştir. Ayrıca folik asidin, etkili formu olarak bilinen

tetrahidrofolik aside dönüşümünde askorbik asidin rolünün olduğu belirtilmiştir (Yavaşca, 2009).

#### **4.ASKORBİK ASİT EKSİKLİĞİ DURUMU**

Askorbik asit eksikliğinde sıklıkla karşımıza çıkan rahatsızlık skorbüttür. Bu rahatsızlık anormal kollajen sentezine bağlı olarak ortaya çıkar. Eklemlerde şişme diş eti kanamaları ve anemi ile seyreden bir hastalıktır. Anemi durumu demir emiliminin azalmasına bağlı olarak ortaya çıkar. Ağır travma stres ve sigara C vitamini düzeyinin azalmasına sebep olur (Gürdöl ve Ademoğlu, 2010). Otoimmün idiyopatik trombositopenik purpura, yeni doğan bebeklerde hipoksik-iskemik beyin hasarı, viral miyokarditler, kronik ve akut viral hepatit, askaris, gastrointestinal kanal ülseri, damar setliği, kornea yanması ve konjonktivit, grip, kanser, bronşiyal astım ve nitrit zehirlenmesi gibi çeşitli sağlık problemlerinin meydana çıkmasının engellenmesinde, ayrıca bu problemlerin tedavisinde L-askorbik asit kullanılmaktadır (Mutlu ve erbaş, 2020). Ökaryot hücre yapısına sahip olan canlılarda L-askorbik asit hidroksilasyon tepkimelerinde görev alan enzimlerin kofaktörü olarak oldukça önemli görevlere sahiptir. Bu sebeple eksiklik durumu hidroksilasyon tepkimelerini de etkiler. (Canali ve ark., 2014).

## KAYNAKLAR

- Asensi-Fabado, M.A., Munné-Bosch, S. (2010). Vitamins in plants: occurrence, biosynthesis and antioxidant function. *Trends in plant science*, 15(10), 582-592.
- Ateş, Mehmet, Çakıroğulları, G.Ç. (2010). Akuakültürde Vitamin-C Askorbik Asit Kullanımı Ve Önemi. *Ziraat Mühendisliği*, (355), 22-27.
- Buettner, G.R. (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate. *Archives of biochemistry and biophysics*, 300(2), 535-543.
- Canali, R., Natarelli, L., Leoni, G., Azzini, E., Comitato, R., Sancak, O., Virgili, F. (2014). Vitamin C supplementation modulates gene expression in peripheral blood mononuclear cells specifically upon an inflammatory stimulus: a pilot study in healthy subjects. *Genes & nutrition*, 9(3), 390.
- Dizlek, H., Gül, H. (2007). L-Askorbik Asit ve ekmeçilikteki işlevleri. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1), 26-34.
- Ersöz, N. (2002). Askorbik Asidin Metal iyonu Katalizli ve Çeşitli Ortamlarda Oksidasyon Kinetiğinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Godswill, A.G., Somtochukwu, I.V., Ikechukwu, A.O., Kate, E. C. (2020). Health benefits of micronutrients (vitamins and minerals) and their Associated Deficiency Diseases: a systematic review. *International Journal of Food Sciences*, 3(1), 1-32.
- Gürdöl, F., Ademoğlu, E. (2010). *Biyokimya*. İkinci baskı. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.
- Harris, L. J. (1962). Re-assessments of four topics which interested Hopkins-1. Ascorbic acid. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 156 (964), 295-299.
- İmik., Halit., Tuncer, Ş.D. (1997). Hayvan Beslemede Askorbik Asidin Önemi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 37(1), 109-129.

- Johnston, C.S., Steinberg, F.M., Rucker, R. B. (2007). Ascorbic acid. Handbook of vitamins, 4, 489-520.
- Kahraman, T., Berköz, M., Üstün, R., Türkdoğan, M.K. (2018). Karaciğer ve gastrointestinal sistem hastalıklarında ser um c vitamini, beta-karoten ve retinol düzeyleri. Van Sağlık Bilimleri Dergisi, 11(2), 6-10.
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 3 (5), 226-234.
- Kırca, A., Cemeroğlu, B. (2001). Askorbik Asidin Degradasyon Mekanizması. Gıda, 26 (4).
- Kim, Y., Kim, M. G. (2016). HPLC-UV method for the simultaneous determinations of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in human plasma. Translational and Clinical Pharmacology, 24 (1), 37-42.
- Kitts, D.D. (1997). An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins. Trends in Food Science & Technology, 8(6), 198-203.
- Kubat, A., Özaslan, M., Karaduman, A., Karagöz, I. D., Kılıç, İ. H. (2013). C vitamini bakımından zengin sebze ve meyvelerin beyaz kan hücreleri artışı üzerine etkilerinin araştırılması. AVKAE Dergisi, 3 (1), 31-37.
- Lanska, D. J. (2010). historical aspects of the major neurological vitamin deficiency disorders: the water-soluble B vitamins. Handbook of clinical neurology, 95, 445-476.
- Lebas, F. (2000). Vitamins in rabbit nutrition: Literature review and recommendations. World rabbit science, 8(4), 185-192.
- Linster, C. L., Van Schaftingen, E. (2007). Vitamin c. The FEBS Journal, 274(1), 1-22.
- Liu, P. Y., Jiang, N., Zhang, J., Wei, X., Lin, H. H., Yu, X. Q. (2006). The oxidative damage of plasmid DNA by ascorbic acid derivatives in vitro: the first research on the relationship between the structure of ascorbic acid and the oxidative damage of plasmid DNA. Chemistry & Biodiversity, 3(9), 958-966.

- Luck, M. R., Jeyaseelan, I., Scholes, R. A. (1995). Ascorbic acid and fertility. *Biology of Reproduction*, 52(2), 262-266.
- Lystad, J., Sharma, S. (2020). *Biochemistry, Water Soluble Vitamins*. StatPearls [Internet].
- Maqbool, M.A., Aslam, M., Akbar, W., Iqbal, Z. (2017). Biological importance of vitamins for human health: A review. *Journal of Agriculture and Basic Sciences*, 2(3), 50-58.
- Mamede, A.C., Tavares, S.D., Abrantes, A.M., Trindade, J., Maia, J.M., Botelho, M.F. (2011). The role of vitamins in cancer: a review. *Nutrition and Cancer*, 63(4), 479-494.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W., (2003). *Illustrated Biochemistry*.
- Mutlu, C., Erbaş, M. (2020). D-Glikozdan D-Sorbitol Ve L-Askorbik Asit Üretimi: Bu Bileşiklerin Özellikleri, Kullanım Alanları Ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Gıda*, 45(1), 92-102.
- Njus, D., Kelley, P.M., Tu, Y.J., Schlegel, H.B. (2020). Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*.
- Othmer, K.D.F., 1955, *Encyclopedia of Chemical Technology*, Edited by Raymond, E., Ing-New York, Vol.2, 151.
- Ottoway, P.B., 1993, *The Tecnology of Vitamins in Food*, Hardnolls Ltd.,Glasgow.
- Özışık, L., 2016. Vitaminler kime ne zaman ne kadar?. *İlaç ve Tedavi Kongresi* , 48.
- Packer, J.E., Slater, T., Willson, R.L. (1979). Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature*, 278(5706), 737-738.
- Sies, H., Stahl, W., Sundquist, A.R. (1992). Antioxidant functions of vitamins: Vitamins E and C, Beta-Carotene, and other carotenoids a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669(1), 7-20.
- Smith, A.G., Croft, M.T., Moulin, M., Webb, M.E. (2007). Plants need their vitamins too. *Current opinion in plant biology*, 10(3), 266-275.



- Soni, M.G., Thurmond, T.S., Miller III, E.R., Spriggs, T., Bendich, A., Omaye, S.T. (2010). Safety of vitamins and minerals: controversies and perspective. *Toxicological Sciences*, 118(2), 348-355.
- Telang, P.S. (2013). Vitamin C in dermatology. *Indian dermatology online journal*, 4(2), 143.
- Taguchi, K., Fukusaki, E., Bamba, T. (2014). Simultaneous analysis for water-and fat-soluble vitamins by a novel single chromatography technique unifying supercritical fluid chromatography and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1362, 270-277.
- Yavaaşca, A.T. (2009). Bakır(Iı)-Katalizli C Vitamini Oksidatif Bozunumunun Koruyucu Meyve Asitleri Varlığında Kinetik İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Zudina, I.V., Malinkina, O.N., Shipovskaya, A.B. (2018). Effect of ascorbic acid isomeric forms on antibacterial activity of its chitosan salts. *Microbiology*, 87(5), 732-737.



**ISBN: 978-625-8061-66-6**