

# SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA ULUSLARARASI AKADEMİK ÇALIŞMALAR VE TEORİK BİLGİLER-IX

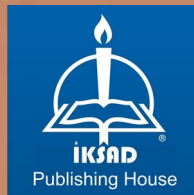
## EDİTÖRLER

**Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN**

**Doç. Dr. Ahmet UYAR**

**Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN**

**Dr. Öğr. Üyesi Muazzez YEŞİLYURT**



# SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA ULUSLARARASI AKADEMİK ÇALIŞMALAR VE TEORİK BİLGİLER-IX

## EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Ahmet UYAR Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN

Dr. Öğr. Üyesi Muazzez YEŞİLYURT

## YAZARLAR

Prof. Dr. Ahmet TOPAL

Prof. Dr. Mehmet Zeki YILDIRIM

Prof. Dr. Meltem SOYLU

Prof. Dr. Ümit KEBAPÇI

Doç. Dr. Bülent BÜLBÜL

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Yakup ASLAN

Dr. Öğr. Üyesi Nigar ABBAK

Dr. Mustafa Yiğit NİZAM

Arş. Gör. Eda ERKMEN

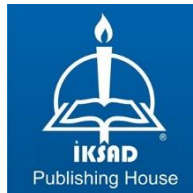
Öğr. Gör. Dr. Hamiyet ECİROĞLU SARBAN

Öğr. Gör. Emine AYDIN BAYAT

Öğr. Gör. Zeynep Nur KARAKUŞ

Sabahattin Kahraman ÇAMURLU

Semra ÖZDEMİR



Copyright © 2024 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 Publicator: 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 – 2024©

**ISBN: 978-625-378-071-5**

Cover Design: İbrahim KAYA

December / 2024

Ankara / Türkiye

Size = 16x24 cm

Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluğu da yazarlara aittir.

# İÇİNDEKİLER

## ÖNSÖZ

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN, Doç. Dr. Ahmet UYAR, Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN, Dr. Öğr. Üyesi Muazzez YEŞİLYURT.....1

## BÖLÜM 1

### DENİZ HIYARI TÜREVLİ BİLEŞİKLERİN OBEZİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

Prof. Dr. Ahmet TOPAL.....3

## BÖLÜM 2

### BAŞIBOŞ KÖPEKLERİN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİLERİ

Prof. Dr. Ümit KEBAPÇI.....15

## BÖLÜM 3

### DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE BİLHARZİYA VE SALYANGOZ VEKTÖRLERİ

Prof. Dr. Ümit KEBAPÇI  
Prof. Dr. Mehmet Zeki YILDIRIM.....23

## BÖLÜM 4

### ÖNEMLİ FLAVONOL; FİSETİN

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN  
Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN.....39

## BÖLÜM 5

### YAŞLANMA ve ALZHEİMER ÜZERİNE PATOFİZYOLOJİSİ

Dr. Öğr. Üyesi Nigar ABBAK.....53

## **BÖLÜM 6**

### **EEG ve OLAYA İLİŞKİN POTANSİYELLER**

Dr. Öğr. Üyesi Nigar ABBAK.....71

## **BÖLÜM 7**

### **AYGIR SPERMASININ DONDURULABİLİRLİĞİNİN ARTIRILMASI**

Dr. Mustafa Yiğit NİZAM  
Doç. Dr. Bülent BÜLBÜL.....89

## **BÖLÜM 8**

### **YAŞLANMA, TELOMER UZUNLUĞU VE BESLENME**

Arş. Gör. Eda ERKMEN  
Prof. Dr. Meltem SOYLU.....101

## **BÖLÜM 9**

### **PROSTAT KANSERİNİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ**

Öğr. Gör. Dr. Hamiyet ECİROĞLU SARBAN.....121

## **BÖLÜM 10**

### **HAMİLELİKTE ANEMİ**

Öğr. Gör. Emine AYDIN BAYAT.....145

## **BÖLÜM 11**

### **ULTRA İŞLENMİŞ GIDALAR VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ**

Öğr. Gör. Zeynep Nur KARAKUŞ.....161

## **BÖLÜM 12**

### **BİR FONKSİYONEL GIDA OLAN SPİRİLUNA'NIN BESİN DEĞERLERİ VE SAĞLIĞA FAYDALARI**

Öğr. Gör. Zeynep Nur KARAKUŞ.....177

## **BÖLÜM 13**

### ***CHAETOMIUM ERRATICUM* DEKSTRANAZ ENZİMİNİN ÇOK DUVARLI KARBOKSİLE KARBON NANO TÜPLER ÜZERİNE İMMOBİLİZASYONU**

Sabahattin Kahraman ÇAMURLU

Doç. Dr. Yakup ASLAN.....191

## **BÖLÜM 14**

### ***CHAETOMIUM ERRATICUM* DEKSTRANAZ ENZİMİNİN ÇOK DUVARLI AMİNO KARBON NANO TÜPLER İLE İMMOBİLİZASYONU**

Semra ÖZDEMİR

Doç. Dr. Yakup ASLAN.....227



## ÖNSÖZ

"Sağlık Bilimleri Alanında Uluslararası Akademik Çalışmalar ve Teorik Bilgiler IX" isimli kitabın birbirinden farklı bölümler içeren ve alanındaki uzman araştırmacılar tarafından yazılmıştır. Farklı alanındaki çalışmalarını irdeleyerek bu alandaki araştırmalara yeni bir ufuk kazandıracaktır. Kitabın hazırlanmasında emeği geçen tüm araştırmacılara ve ayrıca eserin basılmasında ve yayınlanmasında katkıları olan İKSAD yayınevine teşekkür ederiz. Yer alan bölüm yazılarıyla ilgili tüm hukuki sorumluluğun yazarlara ait olduğunu ifade ederek, 14 bölümden oluşan bu kitabın yeni fikirlerin doğmasına ve gelecekte araştırmacılara ve akademisyenlere yeni bir bakış açısı kazandırarak; bilim dünyasına ilham vermesini temenni ederiz.

*Aralık 2024*

### EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Ahmet UYAR

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

Dr. Öğr. Üyesi Muazzez YEŞİLYURT





## BÖLÜM 1

### DENİZ HIYARI TÜREVLİ BİLEŞİKLERİN OBEZİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

Prof. Dr. Ahmet TOPAL<sup>1</sup>

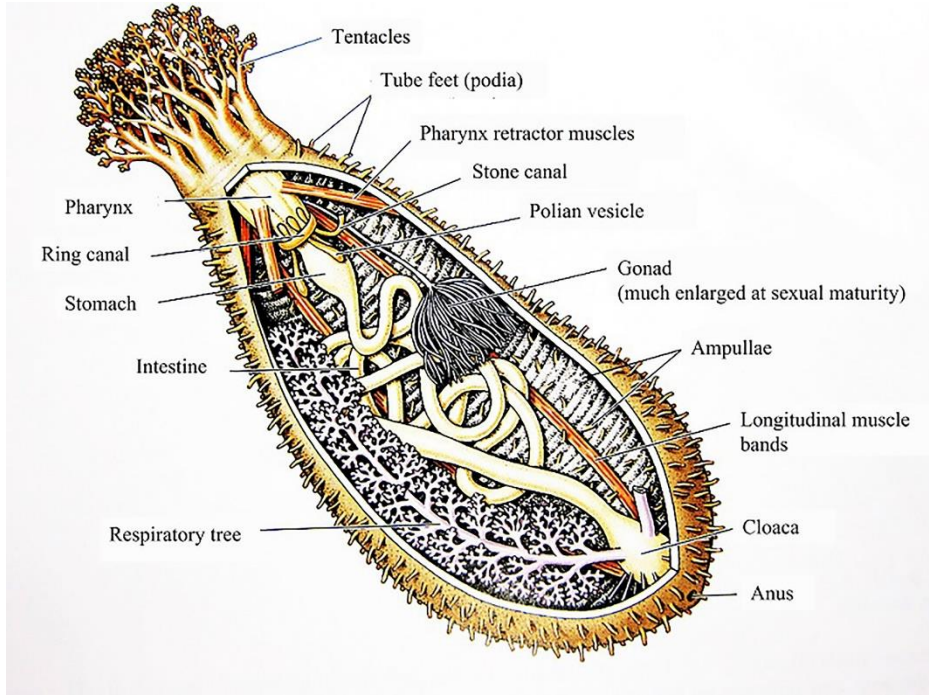
DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566486>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Erzurum, Türkiye.  
ahmet.topal@atauni.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-7484-2599

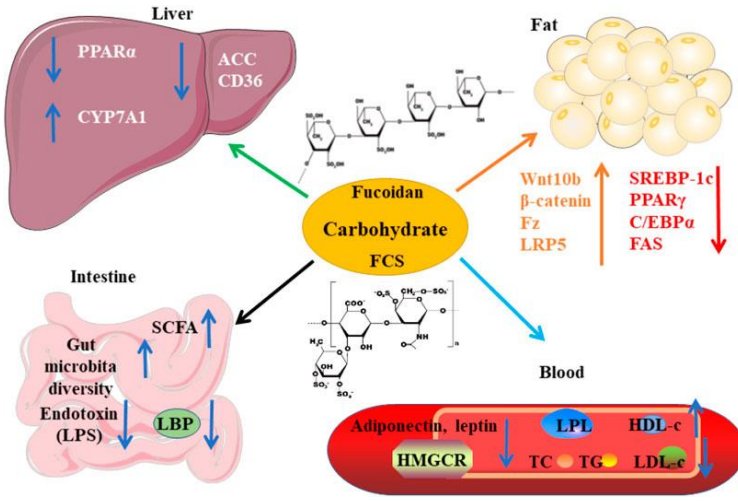


## GİRİŞ

Obezite, kardiyovasküler ve diğer kronik hastalıkların gelişimi için en önemli risk faktörlerinden biridir (Kovesdy ve ark., 2017). Son 30 yılda 70'den fazla ülkede obezitenin artmakta olduğu bildirilmiş ve obeziteyi tedavi etmek için ilaçlar kullanılsa da, bunların çoğunun yan etkilere neden olduğu bulunmuştur. İlaçlara karşı direncin hızla gelişmesi, ilaçların toksisitesi ve yan etkileri, doğal ürünlerden oluşan yeni anti obezite ilaçlarına olan talebi artırmıştır. Dolayısıyla, son zamanlarda doğal bileşikler düşük yan etkileri nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Pek çok önemli doğal bileşik içeren deniz hıyarının obezite üzerine olumlu etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir (Guo ve ark., 2016; Meng ve ark., 2018; Gangadaran ve ark., 2017; Zhu ve ark., 2018; Hu ve ark., 2019; Han ve ark., 2019; Wen ve ark., 2022)(Şekil 1 ve Şekil 2).

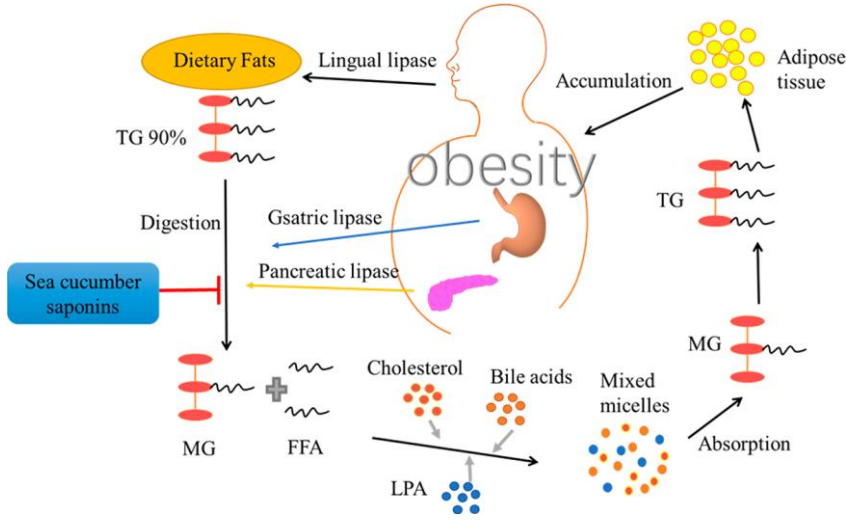


Şekil 1: Deniz hıyarının anatomik yapısı (Liang ve ark., 2022).



**Şekil 2:** Deniz hıyarlarından elde edilen bazı bileşiklerin etki mekanizmaları (Lin ve ark., 2022).

Deniz hıyarı, dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) gibi yağ asitleri içeren zengin bir n-3 PUFA kaynağıdır. n-3 PUFA'ların yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde vücut ağırlığını azalttığı bulunmuştur (Liu ve ark., 2014). Deniz hıyarında bulunan önemli bileşiklerden saponin, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde glikoliz ve yağ asidi beta-oksidasyon yollarını hızlandırmış ve karaciğer dokularında SIRT1 sinyal yollarını etkileyerek lipid sentezini inhibe etmiştir. Böylece, saponin'in obezite ile ilgili metabolik hastalıklarda gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (Meng ve ark., 2018)(Şekil 3).



**Şekil 3:** Deniz hıyarı saponinlerinin yağ sindirimi ve yağ birikiminin neden olduğu obezite üzerindeki olası altta yatan mekanizması (Zhao ve ark., 2018)

Diyetle alınan saponin'in sıçanlarda alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığında kolesterol ve trigliserit seviyelerinde azalmaya neden olduğu da gösterilmiştir. Burada, saponinin lipid üzerindeki etkisinin PPAR alfa aktivasyonu yoluyla beta-oksidasyonun artmasıyla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (Hu ve ark., 2010). Benzer şekilde, Wen ve arkadaşları (2014) saponinin karnitin palmitoil transferaz (CPT), PPAR $\alpha$  ve SREBP-1c dahil olmak üzere lipid metabolizmasından sorumlu genleri uyarabildiğini bildirmiştir (Wen ve ark., 2014). Bir başka çalışmada, saponinin LXR- $\beta$  gen ekspresyonunu artırarak ve pankreatik lipaz enzimini inhibe ederek anti-obezite etkisi gösterdiği ve yüksek yağlı diyetle beslenen C57BL/6 fare modelinde kolesterol 7- $\alpha$  hidroksilaz (CYP7A1) ve LXR- $\beta$  gen ekspresyonlarında artışa neden olarak hepatik trigliserit ve total kolesterolü, vücut ağırlığını ve serum trigliserit düzeyini azalttığı belirtilmiştir (Guo ve ark., 2016). Yüksek yağlı diyetle beslenen C57BL/6 hayvan modelinde, deniz hıyarı yağ dokusunda adiponektin mRNA ekspresyonu seviyelerinde artışa neden olarak anti obezite etkisi yaratmış, insülin seviyelerinde iyileşme, vücut ve yağ ağırlığı, toplam kolesterol ve triasilgliserol seviyelerinde azalma sağlamıştır (Gangadaran ve ark., 2017). Farklı çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Deniz hıyarı ile beslenen hayvanlarda, adiponektinin mRNA ekspresyon seviyelerinde artışa ve serum glikoz seviyelerinde düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark., 2014; Liu ve ark., 2015). Deniz hıyarı metanol ekstresi 3T3-L1 hücrelerinde insülin direncini ve yağ

birikimini engellemiştir (Vaidya ve Cheema, 2014). Deniz hıyarı ile beslenen sıçanlarda, lipogenez ile ilişkili karaciğer X reseptörü (LXR), 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA redüktaz (HMGCR) ve sterol düzenleyici element bağlayıcı transkripsiyon faktörü (SREBP) genlerinin ekspresyonu yoluyla serum trigliserit seviyeleri azalmıştır (Olivera-Castillo ve ark., 2013).

Deniz hıyarından izole edilen seramidler ve glukozilseramidler, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda glukoneogenezin baskılanması, glikojen sentezinin uyarılması ve IRS/PI3K/AKT sinyal yolları yoluyla insülin direncinde iyileşmelere yol açmıştır (Yang ve ark., 2021). Deniz hıyarında bulunan fukoidan, LRP5, Wnt10b, Fz  $\beta$ -Katenin dahil olmak üzere Wnt/ $\beta$ -katenin yolunu modüle ederek ve SREBP-1c, C/EBP $\alpha$  ve PPAR $\gamma$  ekspresyonunu azaltarak anti-adipojenik aktivite göstermiştir (Xu ve ark., 2014). Deniz hıyarından elde edilen eikosapentaenoik asitle zenginleştirilmiş fosfolipidler, FSP27 ekspresyonunu azaltarak lipid birikimini ve düşük hepatik trigliserid seviyelerini inhibe ederek anti-obezite etkileri göstermiştir (Zhang ve ark., 2020). Deniz hıyarından elde edilen uzun zincirli bazlar (LCB'ler) yüksek kalorili beslenmeyle obezite oluşturulan farelerde hepatik ve serum ROS düzeylerini, tümör nekroz faktörünü, interlökin (IL)-1 $\beta$ , interlökin-6, c-reaktif protein ve makrofaj inflamatuvar protein 1'i azalttığı gösterilmiştir (Hu ve ark., 2017). Ek olarak, deniz hıyarı yağ kütlelerini ve yağ hücresi boyutlarını azaltarak ve GPR proteinlerinin SCFA aracılı aktivasyonunu ve LPS'ye bağlı TLR4 / CD14 sinyalini inhibe ederek obeziteyi kontrol edebildikleri rapor edilmiştir. Ayrıca, uzun zincirli bazlar fekal ve serum lipopolisakkarit konsantrasyonlarını ve buna bağlı TLR4 yolunu inhibe etmiştir. Böylece, uzun zincirli bazlar obezite ile ilişkili bakterileri azaltarak bağırsak mikrobiyotasını iyileştirebildiği ve obezite kontrolü için gıda katkı maddesi olarak geliştirilebileceği bildirilmiştir (Hu ve ark., 2019). Cucumaria frondosa'dan izole edilen uzun zincirli bazlar, ACC ve AMPK fosforilasyonunu artırarak 3T3-L1 pre-adipositlerinde adipogenezini inhibe eder. Ayrıca, C-myc, cyclin D1, C/EBPs, WNT/ $\beta$ -catenin ve PPAR $\gamma$  transkripsiyonel faktörlerini inhibe ederler. Bu sonuçlar, uzun zincirli bazların WNT/ $\beta$ -katenin sinyalizasyonunun aktivasyonu yoluyla adipogenezini inhibe ettiğini ve AMPK yolağının aktivasyonu yoluyla lipid metabolizmasını düzenlediğini göstermektedir (Tian ve ark., 2016). Deniz hıyarı bileşiklerinin obezite üzerine etkilerini gösteren mekanizma Tablo 1'de gösterilmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1:** Deniz hıyarından elde edilen bileşiklerin obezite üzerine etkileri

Bileşik	Hayvan Modeli	Hedef Genler	Sonuç	Kaynak
Saponin	Sıçanlarda orotik asit ile indüklenen alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı	CPT1, CPT2 and ACOX1	Genlerin ekspresyonunu artırır	Guo ve ark., 2018
Saponin ve EPA-PL kombinasyonu	Yüksek yağlı diyetle beslenen erkek C57BL/6J fareler	MCP1, TNF- $\alpha$ ve IL-6	Genlerin seviyesini düşürür	Han ve ark., 2019
Uzun zincirli bazlar	Yüksek yağlı diyetle beslenen fareler	TLR4/CD14, GPR41 and GPR43	Genlerin ekspresyonunu artırır	Hu ve ark., 2019
Ekinosid A	Erkek ICR fareleri	SREBP1c, FAS	Genlerin ekspresyonunu azaltır.	Li ve ark., 2017
Fukozillenmiş kondroitin sülfat	Yüksek yağlı diyetle beslenen C57BL/6 fareleri	PPAR $\gamma$ , leptin, aP2, ve F4/80	PPAR $\gamma$ mRNA ekspresyonunu artırır ve leptin, aP2 ve F4/80 mRNA ekspresyonunu azaltır.	Li ve ark., 2018
Fukodian	Yüksek yağlı diyetle beslenen fareler	Wnt10b, $\beta$ -catenin, Fz and LRP5, SREBP-1c, PPAR $\gamma$ ve C/EBP $\alpha$	Wnt10b, $\beta$ -catenin, Fz ve LRP5 mRNA ekspresyonlarını artırır ve SREBP-1c, PPAR $\gamma$ ve C/EBP $\alpha$ mRNA ekspresyonlarını azaltır.	Xu ve ark., 2014
Serebrositler	İn vitro	$\beta$ -catenin, CCND1, c-myc	$\beta$ -catenin ekspresyonunu artırır ve $\beta$ -catenin'in iki hedef geni olan CCND1 ve c-myc ekspresyonunu artırır.	Xu ve ark., 2015



Fukosile kondroitin sülfatların sıçanlarda diyetle indüklenen obezite modelinde serum LDL, TC ve TG seviyelerinde düşüşe ve HDL seviyelerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2012). Bu mekanizmaların lipit sentezini azalttığı, lipit lipidolizini teşvik ettiği ve lipit metabolizmasıyla ilgili gen ifadelerini normalleştirdiği bildirilmiştir. Böylece, depolimerize türev fukosile kondroitin sülfatlar yağ dokularında aP2, leptin ve F4/80 mRNA gen ekspresyonlarını azaltırken, PPAR $\gamma$  gen ekspresyonlarını artırmıştır (Li ve ark., 2018). Deniz hıyarında bulunan sülfatlı polisakkarit, 8 hafta boyunca yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde karaciğer ve yağ hipertrofini, serum lipid ve enflamatuvar sitokin seviyelerini, vücut ağırlığını ve insülin direncini azalttığı ve böylece, bağırsak metabolitlerini iyileştirerek diyet kaynaklı obeziteyi önleyebildiği rapor edilmiştir (Zhu ve ark., 2018). Deniz hıyarında bulunan serebrosid hepatik lipojenik enzimleri ve glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PDH), malik enzim (ME), yağ asidi sentaz (FAS) gibi enzimlerin gen ekspresyonlarını azaltmaktadır (Zhang ve ark., 2012). Serebrositler, C/EBP $\alpha$  ve PPAR $\gamma$  ekspresyonunu azaltmış ve 3T3-L1 hücrelerinin lipid birikimini inhibe etmiştir. Ayrıca, WNT/ $\beta$ -katenin yolunun aktivasyonunu teşvik etmişlerdir. Böylece, serebrositler WNT/ $\beta$ -katenin yolunun aktivasyonunu artırarak anti-adipojenik aktivite göstermektedirler.

## Sonuç

Birçok deniz hıyarı türü farmasötik ve beslenme amaçlı kullanılmaktadır. Bu türler genel olarak birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilir. Deniz hıyarının anti-obezite etkileri araştırmacıların dikkatini çekmiş ve birçok makalede gösterilmiştir. Deniz hıyarı bileşikleri obeziteye karşı önleyici etkiler göstererek fonksiyonel ilaçların geliştirilmesinde büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Bu bileşikler, metabolizma ile ilgili genleri etkileyerek obezitenin tedavisi hakkında yeni aydınlatıcı bilgiler sağlayabilir.

## KAYNAKLAR

- Al, Marzouqi, N., Iratni, R., Nemmar, A., Arafat, K., Ahmed Al Sultan, M., Yasin, J., Collin, P., Mester, J., Adrian, T.E., & Attoub, S. (2011). Frondoside A inhibits human breast cancer cell survival, migration, invasion and the growth of breast tumor xenografts. *Eur J Pharmacol.* 668(1-2), 25-34.
- Al Shemaili, J., Mensah-Brown, E., Parekh, K., Thomas, S.A., Attoub, S., Hellman, B., Nyberg, F., Adem, A., Collin, P., & Adrian, T.E (2014). Frondoside A enhances the antiproliferative effects of gemcitabine in pancreatic cancer. *Eur J Cancer* 50(7), 1391-8.
- Althuniba, O.Y., Hashim, R.B., Taher, M., Daud, J.M., Ikeda, M.A., & Zali, B.I. (2009). In vitro antioxidant and antiproliferative activities of three Malaysian sea cucumber species. *Eur J Sci Res.* 37, 376-387.
- Gangadaran, S., & Cheema, S.K. (2017). A high fat diet enriched with sea cucumber gut powder provides cardio-protective and anti-obesity effects in C57BL/6 mice. *Food Res Int* 99(Pt 1), 799-806.
- Guo, L., Gao, Z., Zhang, L., Guo, F., Chen, Y., Li, Y., & Huang, C. (2016). Saponin-enriched sea cucumber extracts exhibit an antiobesity effect through inhibition of pancreatic lipase activity and upregulation of LXR- $\beta$  signaling. *Pharm Biol* 54,1312-1325.
- Guo, Y., Han, X., Che, H., Li, Z., Dong, P., Xue, C., Zhang, T., & Wang, Y. (2018). Synergistic effect of eicosapentaenoic acid-enriched phospholipids and sea cucumber saponin on orotic acid-induced non-alcoholic fatty liver disease in rats. *R Soc Open Sci* 11; 5(7), 172182 .
- Han, X.Q., Zhang, L.Y., Ding, L., Shi, H.H., Xue, C.H., Zhang, T.T., & Wang, Y.M. (2019). Synergistic effect of sea cucumber saponins and EPA-enriched phospholipids on insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice. *Food Funct* 10, 3955-3964
- Hu, S., Xu, Y., Gao, X., Li, S., Jiang, W., Liu, Y., Su, L., & Yang, H. (2019). Long-chain bases from sea cucumber alleviate obesity by modulating gut microbiota. *Mar Drugs* 17, 455.

- Hu, S., Wang, J., Wang, J., Xue, C., & Wang, Y. (2017). Long-chain bases from sea cucumber mitigate endoplasmic reticulum stress and inflammation in obesity mice. *J Food Drug Anal* 25(3), 628-636.
- Kovesdy, C.P., Furth, S.L., & Zoccali, C. (2017). World Kidney Day Steering Committee. Obesity and kidney disease: Hidden consequences of the epidemic. *J Ren Care* 43(1), 3-10.
- Liang, Q., Ahmed, F., Zhang, M., Niki, S., Franco, C.M.M. , Feng, Q., & Zhang, W. (2022). In Vivo and Clinical Studies of Sea Cucumber-Derived Bioactives for Human Health and Nutrition From 2012-2021. *Front. Mar. Sci.* <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.917857>.
- Li, S., Li, J., Mao, G., Hu, Y., Ye, X., Tian, D., Linhardt, R.J., & Chen, S. (2018). Fucosylated chondroitin sulfate oligosaccharides from *Isostichopus badiionotus* regulates lipid disorder in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *Carbohydrate Polymers* 1;201, 634-642.
- Li, S., Li, J., Zhi, Z., Hu, Y., Ge, J., Ye, X., Tian, D., Linhardt, R.J., & Chen, S. (2017). 4-O-Sulfation in sea cucumber fucodians contribute to reversing dyslipidaemia caused by HFD. *Int J Biol Macromol* 99, 96-104.
- Lin, P., Shen, N., Yin, F., & Guo, S.D. (2022). Sea cucumber-derived compounds for treatment of dyslipidemia: A review. *Front Pharmacol.* 14;13, 1000315. doi: 10.3389/fphar.2022.1000315.
- Liu, X., Cui, J., Li, Z., Xu, J., Wang, J., Xue, C., & Wang, Y. (2014). Comparative study of DHA-enriched phospholipids and EPA enriched phospholipid on metabolic disorders in diet induced obese C57BL/6J mice. *European Journal of Lipid Science* 116, 255-265.
- Liu, X., Xu, J., Xue, Y., Gao, Z., Li, Z., Leng, K., Wang, J., Xue, C., & Wang, Y. (2015). Sea cucumber cerebroside and long-chain bases from *Acaudina molpadioides* protect against high fat diet-induced metabolic disorders in mice. *Food Funct* 6(11), 3428-36.
- Liu, X., Sun, Z., Zhang, M., Meng, X., Xia, X., Yuan, W., Xue, F., & Liu, C. (2012). Antioxidant and antihyperlipidemic activities of

polysaccharides from sea cucumber *Apostichopus japonicas*. *Carbohydrate Polymers* 90, 1664-1670.

- Meng, J., Hu, X., Zhang, T., Dong, P., Li, Z., Xue, C., Chang, Y., & Wang, Y. (2018). Saponin from sea cucumber exhibited more significant effects than ginsenoside on ameliorating high fat diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Medchemcomm* 9, 725-734.
- Olivera-Castillo, L., Davalos, A., Grant, G., Valadez-Gonzalez, N., Montero, J., Barrera-Perez, H.A., Chim-Chi, Y., Olvera-Novoa, M.A., Ceja-Moreno, V., Acereto-Escoffie, P., Rubio-Piña, J., & Rodriguez-Canul, R. (2013). Diets containing sea cucumber (*Isostichopus badionotus*) meals are hypocholesterolemic in young rats. *PLoS One* 8, e79446.
- Tian, Y., Hu, S., Xu, H., Wang, J., Xue, C., & Wang, Y. (2016). Long-chain bases from *Cucumaria frondosa* inhibit adipogenesis and regulate lipid metabolism in 3T3-L1 adipocytes. *Food Sci Biotechnol* 25, 1753-1760.
- Vaidya, H., & Cheema, S.K. (2014). Sea cucumber and blue mussel: new sources of phospholipid enriched omega-3 fatty acids with a potential role in 3T3-L1 adipocyte metabolism. *Food Funct* 5(12), 3287-95.
- Yang, J.Y., Zhang, T.T., Dong, Z., Shi, H.H., Xu, J., Mao, X.Z., Wang, Y.M., & Xue, C.H. (2021). Dietary supplementation with exogenous sea-cucumber-derived ceramides and glucosylceramides alleviates insulin resistance in high-fructose-diet-fed rats by upregulating the IRS/PI3K/Akt signaling pathway. *J Agric Food Chem* 69, 9178-9187.
- Zhang, L., Ding, L., Shi, H., Wang, C., Xue, C., Zhang, T., & Wang, Y. (2020). Eicosapentaenoic acid-enriched phospholipids suppressed lipid accumulation by specific inhibition of lipid droplet-associated protein FSP27 in mice. *J Sci Food Agric* 30;100(5), 2244-2251.
- Zhang, B., Xue, C., Hu, X., Xu, J., Li, Z., Wang, J., Yanagita, T., Xue, Y., & Wang, Y. (2012). Dietary sea cucumber cerebroside alleviates orotic acid-induced excess hepatic adipogenesis in rats. *Lipids Health Dis* 8, 11:48.

- Zhao, Y., Xue, C., Zhang, T., & Wang, Y. (2018). Saponins from Sea Cucumber and Their Biological Activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66 28, 7222-7237.
- Zhu, Z., Zhu, B., Sun, Y., Ai, C., Wang, L., Wen, C., Yang, J., Song, S., & Liu, X. (2018). Sulfated Polysaccharide from Sea Cucumber and its Depolymerized Derivative Prevent Obesity in Association with Modification of Gut Microbiota in High-Fat Diet-Fed Mice. *Mol Nutr Food Res* 62(23), e1800446.
- Wang, Y., Wang, J., Yanagita, R.C., Liu, C., Hu, X., Dong, P., Xue, C., & Xue, Y. (2014). Effects of two sulfated triterpene saponins echinoside A and holothurin A on the inhibition of dietary fat absorption and obesity reduction. *Biosci Biotechnol Biochem* 78(1), 139-46.
- Wen, M., Cui, J., Xu, J., Xue, Y., Wang, J., Xue, C., & Wang, Y. (2014). Effects of dietary sea cucumber saponin on the gene expression rhythm involved in circadian clock and lipid metabolism in mice during nighttime-feeding. *J Physiol Biochem* 70: 801-808.
- Xu, H., Wang, J., Chang, Y., Xu, J., Wang, Y., Long, T., & Xue, C. (2014). Fucoïdan from the sea cucumber *Acaudina molpadioides* exhibits anti-adipogenic activity by modulating the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and down-regulating the SREBP-1c expression. *Food Funct* 5, 1547-1555.
- Xu, H., Wang, F., Wang, J., Xu, J., Wang, Y., & Xue, C. (2015). The WNT/ $\beta$ -catenin pathway is involved in the anti-adipogenic activity of cerebrosides from the sea cucumber *Cucumaria frondosa*. *Food Funct* 6(7), 2396-2404.

## BÖLÜM 2

### BAŞIBOŞ KÖPEKLERİN İNSAN SAĞLIĞINA ETKİLERİ

Prof. Dr. Ümit KEBAPÇI<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566500>

---

<sup>1</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 15100, Burdur, Türkiye, kebacpi@gmail.com, ORCID ID 0000-0003-4991-3356



## GİRİŞ

Köpekler ilk evcilleştirilen hayvanlar olarak kabul edilmektedir. Sosyal yaşama, aile kavramı, zeka, diyet tercihi gibi konularda insanla yakınlığı oldukça fazla olan köpekler hakkında, aynı zamanda biyolojileri ve birlikte yaşamanın getirdiği sağlık ile ilgili birçok bağlantıdan bahsedilebilir.

İnsanın tarihi gelişimi ve yeryüzüne yayılarak egemen hale geldiği süreçte köpek te insanı takip etmiş ve bütün kıtalara yayılmış, dünyanın en kalabalık etçil memelisi haline gelmiştir (Vanak ve Gompper, 2009).

Başiboş köpekler, muhtemelen evcilleştirme sürecinin başından beri var olagelmiş olup, bir nevi insan yaban ikileminin bir yansıması gibidirler. Yani bir yandan insanın doğayla çatışan, mücadele halindeki dünyasının bir parçası iken diğer yandan kendi köklerinden gelen özgür tabiatlarını sergileyebilmektedirler.

Günümüz dünyasında insan sayısının ve şehirleşmenin artması her geçen gün doğal alanlara ayrılan parçaların küçülmesine, insanlar ve insanla uyumlaşmış diğer canlıların temasının artmasına neden olmaktadır. Bu değişimin insan/doğa arayüzünde yer alan başiboş köpekler üzerine yansımalarının olduğu muhakkaktır.

Çalışmada, gelecek için daha yaşanılır bir çevrenin inşasına ışık tutabilmek adına, köpeklerin ve bilhassa başiboş köpeklerin çevre ve insan sağlığına etkileri mevcut durum dikkate alınarak özetlenmeye çalışılmıştır.

### 1. Başiboş Köpek Terimi

Sokak köpeği, başiboş köpek, sahipsiz köpek gibi ifadeler sıklıkla birbirlerinin yerine günlük dilde kullanılmaktadır. Sahipli köpeklerin de başiboş dolaşabildikleri, diğer yandan dünya genelinde sahipsiz köpeklerin çoğunlukla sürekli olarak beslenildikleri ve ev olarak benimsedikleri yerlerin var olması yani bir tür sahipliğin söz konusu olması nedeniyle bu tabirler aslında eş anlamlı değildirler. Sağlık açısından kontrolsüzlük ve veteriner hizmetinden mahrum olma orta noktalarının daha önemli olması gerçeğinden hareketle bu çalışmada zamanlarının önemli bir kısmında serbest bırakılan, hareketlerinde sınırlandırılmayan köpekler kastedilerek başiboş köpek tabiri kullanılmıştır.



## 2. Köpeklerden Bulaşan Hastalıklar

### 2.1. Kuduz

Ülkemizde viral bir hastalık olan kuduzun insana geçmesinde baş amil olan köpeklerin başıboş hareketine izin verilmesi, diğer kuduz kaynakları ile temas yüzdesini artırması bakımından önemlidir (Wandeler ve ark., 2013). Köpeklerin sosyal doğası, ısırma ve yalama aracılığı ile kuduz ve benzeri hastalıkların yayılmasını kolaylaştırmaktadır. Dünya'nın endemik kuduz bölgelerinden Sahraaltı Afrika'ya hastalık Avrupalıların getirdiği evcil köpekler aracılığı ile ulaşmış olup, evcil köpeklerin bölgede genellikle başıboş bırakılması nedeniyle insan-köpek-vahşi yaşam zinciri bir türlü kırılmamaktadır. Bu nedenle bölgede kuduz özellikle yakın türler olmak üzere yabani etçillerin soyunu tehdit edici bir faktör haline gelmiştir.

### 2.2. Bakteriyel Zoonozlar

Köpek ısırılmalarından kaynaklı hastane başvurularının önemli bir kısmı ölümcül olmayan yaralanmalar neticesindedir. Bu başvurularda enfeksiyon bulgularına rastlanılmaktadır. Genellikle polimikrobiyal olan bu tür enfeksiyonlarda, bazı durumlarda köpeklerin ağız florası içerisinde *Pasteurella* gibi sağlık açısından önemli bakterilere rastlanılabilmektedir (Chomel ve Arzt, 2013).

### 2.3. Protist Zoonozlar

*Leishmania*, *Trypanosoma* ve *Giardia* gibi ciddi hastalık etkeni protistler yanında zoonotik potansiyeli daha düşük olan çeşitli protistler genelde köpeklerde belirti vermediğinden insana temasla bulaşma riski taşımaktadırlar (Snowden ve Budke, 2013).

### 2.4. Digenetik Zoonozlar

Köpekler *Schistosoma japonicum* başta olmak üzere çeşitli bilharziya etkeni *Schistosoma* türleri yanında *Heterobilharzia americana* adı verilen serkaryal dermatit etkeni şistozom türü için rezervuar kabul edilmektedir. Bu aile dışında Echinostomatidae, Opisthorchidae, Paragonimidae, Heterophyidae ve Fasciolidae ailelerinin dahi olduğu 12 ayrı aileye ait patojen Digeneta türleri insan ve köpekleri son konakçı olarak kullanabilmektedir (Gabrielli, 2013). Bu parazit türlerinin kimileri özellikle Asya ülkelerinde

insanlarda salgınlara sebebiyet verebilmekte olduğundan önem taşımaktadırlar.

### 2.5. Yassı Solucan Zoonozları

Akdeniz çevresi ülkelerde kuduz ile mücadelede tarihi süreç içerisinde önemli mesafeler alınmış olmasına karşın, köpek tenyası (*Echinococcus granulosus*) tarafından meydana getirilen zoonoz olan ekinokokoz halen yüksek prevalanslara sahip olduğundan en önemli köpek kaynaklı zoonoz olarak nitelendirilebilir. Son konakçısı köpek olan bu hastalıkta koyun gibi bazı evcil hayvanlar ara konakçı konumundadır, insan da nadiren ara konakçı olabilmektedir. Hastalığın köpeklere bir zararı olmamasına karşın ara konakçıda parazit kaynaklı hidatik kist adı verilen oluşumlar hayati risk meydana getirebilecek etkiler gösterebilir. Bölgemizde sokak köpekleri (sahipsiz ve kısıtlanmayan köpekler) ve serbest dolaşan sahipli köpekler, yani başıboş köpekler, bu hastalığın en önemli kaynağı durumundadır. Bunda iklimin payı olduğu kadar kültürün de etkisi bulunmaktadır. Köpekten ara konakçılara fekal yolla bulaş sözkonusu olduğundan köpek dışkısı ve köpekle temas ile ara konakçılara parazit yumurtaları geçmektedir, ayrıca ortak kullanılan veya açık su kaynakları da yumurtaların hayatta kalmasına ve taşınmasına imkan sağlamaktadır, başıboş köpeklere leş, mezbahane artığı vs. verilmesi ile döngü tamamlanabilmektedir (Mapherson ve Torgerson, 2013).

### 2.6. Yuvarlak Solucan Zoonozları

Köpeklerden insanlara bulaşan yuvarlak solucan veya nematod kaynaklı zoonozlarda da bir önceki grup hastalıkta olduğu gibi çoğu zaman insan tesadüfi veya paratenik konakçı durumundadır. Bulaşma köpek kaynaklı yumurtaların insana geçmesi ile olur. Nadir görülmelerine karşın bu hastalıkların da ciddi sağlık sorunları meydana getirebilmektedir. Bu tip hastalıklara sebep olan parazitlerin en önemlisi olan *Toxocara canis* yumurtaları enfekte köpeğin bağırsağından dış ortama bırakılır, eğer zor şartlarda uzun süre hayatta kalabilen bu yumurtalar insana bulaşırsa bağırsakta açılarak larvaları meydana getirirler, bu larvalar çoğunluklu bir belirti vermemekle beraber göz veya viseral organlara göç ettiklerinde buralarda çeşitli granuloma oluşumlarına neden olabilmektedir. Bu oluşumlar eozinofili, menenjit, zatürre, hepatomegali, körlük gibi tablolar meydana getirebilmektedir. Köpeklerin rezervuar konumunda olduğu kancalı kurtlar (*Ancylostoma* spp.) insan sağlığı için önemli diğer bir nematod cinsi olup,

bağırsak parazitleridirler. İleri vakalarda bağırsak yapısını tahrip ettiklerinden bu parazitlerin enfeksiyonları ölümcül olabilmektedir (Morgan, 2013).

## **2.7. Ektoparazitik Zoonozlar**

Bu grupta çeşitli akar ve pire türlerinin etkeni olduğu zoonozlar (köpek uyuzu gibi) yer almaktadır. Bu tip zoonozlarda konakçı özelleşmesi yüksek olmakla birlikte, temasın fazla olduğu ortamlarda insana bulaşma olasılığı bulunabilmektedir (Halliwell, 2013).

## **3. Bulaşıcı Hastalık Dışı Sağlık Riskleri**

### **3.1. Köpek Saldırıları**

Çoğunlukla kurbanlar çocuklar olmaktadır, ısırılmalar genellikle baş bölgeinden olmaktadır.

Isırma olaylarından yaralı hayvanlara yardım veya kavga eden köpekleri ayırmaya çalışanlar da etkilenebilmektedir. Bu durumda el bölgesinden ısırılma görülür.

### **3.2. Kamu Sağlığı Bakımından Tehditler**

#### **3.2.1. İdrar ve Dışkı**

Kamu alanlarında sıklıkla karşılaşılan bir manzara olan köpek dışkıları olası zoonotik riskler nedeniyle sakınca arz etmektedir. Ayrıca yağmur ve diğer etkenlerin etkisiyle bozulan dışkı vb. atıklar su sistemlerine karışarak mikrobiyal kirliliğe neden olabilmektedir.

#### **3.2.2. Trafik Kazaları**

Şehir ortamında ve şehir çevrelerinde karşıdan karşıya geçen köpeklerin yol açabildiği kazalar, sürücüler ve köpeklerin sağlığı bakımından riskler taşımaktadır.

#### **3.2.3. Çöplerin dağıtılması**

Çöplükler başıboş köpeklerin sosyalleşmesi ve beslenmelerinde sık uğraklardan bir tanesini oluşturmaktadır. Çöp poşetlerinin besin arayışı içinde açılması ve dağıtılması çevre kirliliği bakımından risk ihtiva etmektedir.

### 3.2.4. Gürültü

Mevsime bağlı olarak değişen aktiviteye ve köpek sayısına bağlı olarak yer yer bir sorun olabilen gürültü yine çevre sağlığı ile ilgili bir diğer bir unsurdur.

## 4. Sonuç

Köpekler insanla uzun bir ortak geçmişe sahip olduklarından, sağlık dahil olmak üzere çoğu alanda kesişme görülmesi doğaldır. Köpeklerin varlığı, modern dünyada serbest veya kısıtlı ayrımı olmaksızın, kantitatif olarak insan popülasyonu ile orantılı ifade edilir olmuştur. Dolayısıyla insan sayısındaki artış, şehirleşmenin artması köpeklerin sayıca artması ile birlikte sağlık bakımından risklerin artmasını da getirmektedir. Buna çözüm olarak olası sağlık problemlerini ve risklerini öngörerek, akılcı ve insancıl şekilde bu riskleri en aza indirerek problemleri çözüme kavuşturmak gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Chomel, B. B., & J. J. Arzt (2013). Dogs and Bacterial Zoonoses. 67-92, In: Macpherson, C. N. L., Meslin, F.-X. & Wandeler, A. I. Dogs, Zoonoses and Public Health (2nd Edition), Cabi Publishing.
- Gabrielli, A. F. (2013). Dogs and Trematode Zoonoses. 109-126, In: Macpherson, C. N. L., Meslin, F.-X. & Wandeler, A. I. Dogs, Zoonoses and Public Health (2nd Edition), Cabi Publishing.
- Halliwell, R. E. W. (2013). Dogs and Ectoparasitic Zoonoses. 162-176, In: Macpherson, C. N. L., Meslin, F.-X. & Wandeler, A. I. Dogs, Zoonoses and Public Health (2nd Edition), Cabi Publishing.
- Macpherson, C. N. L. & P. R. Torgerson (2013). Dogs and Cestode Zoonoses. 127-152, In: Macpherson, C. N. L., Meslin, F.-X. & Wandeler, A. I. Dogs, Zoonoses and Public Health (2nd Edition), Cabi Publishing.
- Morgan, E. R. (2013). Dogs and Nematode Zoonoses. 153-161, In: Macpherson, C. N. L., Meslin, F.-X. & Wandeler, A. I. Dogs, Zoonoses and Public Health (2nd Edition), Cabi Publishing.
- Snowden, K. F. & C. M. Budke (2013). Dogs and Protozoan Zoonoses. 93-108, In: Macpherson, C. N. L., Meslin, F.-X. & Wandeler, A. I. Dogs, Zoonoses and Public Health (2nd Edition), Cabi Publishing.
- Vanak, A. T., & Gompper, M. E. (2009). Dogs *Canis familiaris* as carnivores: their role and function in intraguild competition. *Mammal Review*, 39(4), 265–283. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2009.00148.x>
- Wandeler, A. I., Bingham, J., & and F.-X. Meslin (2013). Dogs and Rabies. 43-66, In: Macpherson, C. N. L., Meslin, F.-X. & Wandeler, A. I. Dogs, Zoonoses and Public Health (2nd Edition), Cabi Publishing.

## BÖLÜM 3

### DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE BİLHARZİYA VE SALYANGOZ VEKTÖRLERİ

Prof. Dr. Ümit KEBAPÇI<sup>1</sup>  
Prof. Dr. Mehmet Zeki YILDIRIM<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566508>

<sup>1</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 15100, Burdur, Türkiye, [kebapci@gmail.com](mailto:kebapci@gmail.com), ORCID ID 0000-0003-4991-3356

<sup>1</sup> Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bucak Sağlık Yüksekokulu, Bucak, Burdur, Türkiye, [mzekiyildirim@gmail.com](mailto:mzekiyildirim@gmail.com), Orcid ID: 0000-0003-0281-2232



## GİRİŞ

*Schistosoma* cinsine ait bazı digenetik parazit türler insanda bilharziya veya şistozomiyaz adı verilen paraziter hastalığın etkenidirler, sıtmadan sonra en yaygın ikinci zoonoz olarak dünya genelinde tropikal ve subtropikal kuşak içerisinde milyonlarca insanı etkileyen bir hastalıktır.

*Schistosoma* türleri farklı memeli türlerinde karın zarı veya idrar kesesinin venöz damarları ve kılcallarında parazittirler.

Türler arasında gen alışverişi ve melezleşme görülebilmektedir (Webster ve ark., 2005, 2006; Huyse ve ark., 2009)

Dünya genelinde 75 civarı ülkede bilharziya hastalığı endemiktir (Chitsulo ve ark., 2000). Türkiye dahil olmak üzere geri kalan diğer ülkelerde nadir tropik hastalıklar kategorisindedir. Ancak *Schistosoma haematobium* salgını Avrupa'da 1965 yılından beri ilk kez 2015 yılında Korsika adasında ortaya çıkmıştır (Boissier ve ark., 2016).

Nadir tropik hastalıklar içerisinde en öldürücü hastalık olan bilharziya (Thétiot-Laurent ve ark., 2013), her yıl 200000 kadar ölümden sorumludur.

Alman patolog Theodor Bilharz ilk kez 1851 yılında bir otopsi esnasında *Schistosoma haematobium* türüne ait yumurtaları tanımlamıştır (Niemann ve ark., 2010).

Schistosomatidae üyeleri diğer bir kan paraziti ailesi olan Spirorchiidae gibi ara konakçı olarak çeşitli tatlı su salyangozlarını ve nadiren de deniz salyangozlarını kullanırlar. Bir cins dışında aile üyelerinin son konakları sıcakkanlı omurgalılardır (kuşlar ve memeliler), bu cinslerden yedisi kuşları ve insanlarda hastalık yapan *Schistosoma* dahil diğer cinsleri memelileri de enfekte etmektedirler.

Bilharziya genellikle ilk başta asemptomatiktir. Hastalığın gelişiminde 3 aşama sözkonusudur: Akut fazda genellikle ilk iki gün içerisinde deride alerjik lekeler belirir (serkaryal dermatit), parazitin üreme olgunluğuna erişmeden önceki zaman aralığında parazit antiijenlerinin meydana getirdiği diğer bir takım sistemik reaksiyonlar görülür (Doherty ve ark., 1996), yumurtlamanın başlamasıyla birlikte görülen hastalığın kronik etkileri parazitin türüne, juvenil parazitin göç ettiği organa ve yumurtaların



embolisiyle gelişen granülomatöz tepkilere göre değişmektedir (Gryseels ve ark., 2006; Niemann ve ark., 2010).

Parazit 37 yıl kadar hasta içerisinde varlığını sürdürebilmektedir (Chabasse ve ark., 1985).

Hastalığın tanısında idrar (*Schistosoma haematobium*) veya dışkıda (*S. mansoni* ve diğer türler) yumurtaların tespiti veya kanda antikor testinden yararlanılır (Colley ve ark., 2014).

Daha çok gelişmemiş ülkelerde yaygın olan hastalık için hassas gruplar arasında kontamine sularla ilişkili olan insanlar, en yaygın olarak ta sularla oynayan çocuklar ve temizlik gibi işler için bu tip suları kullanan kadınlar yer alır. Ayrıca pirinç tarımı yapan çiftçiler, balıkçılar gibi suyla teması fazla olan kişilerde risk grupları içerisinde yer alırlar.

Son dönemde hastalığın artmasında barajlar ve konvansiyonel sulama yapılarının genişletilmesinin rolü büyüktür (Abdel Azim ve Gismann, 1956).

## 1. İnsanda Bilharziya Etkeni Olan *Schistosoma* Türleri

Tıbbi açıdan önemli olan *Schistosoma* cinsi dört önemli tür grubuna ayrılır: *S. mansoni* tür grubu (*S. mansoni*, *S. rodhaini*, *S. hippopotami* ve *S. edwardiense*), *S. haematobium* tür grubu (*S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. bovis*, *S. mattheei*, *S. curassoni*, *S. margrehowiei* ve *S. leiperi*), *S. japonicum* tür grubu (*S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. sinensium*, *S. malayensis* ve *S. ovuncatum*), ve *S. indicum* tür grubu (*S. indicum*, *S. nazale*, *S. spindale* ve *S. incognitum*) (Wongpim ve ark., 2023). Söz konusu tür grupları arasında melezleşme görülebilmektedir (Depaquit ve ark., 2019).

*Schistosoma* cinsinin Afrika ve Asya'da bulunan bazı türlerinin son son konakçısı veya son konakçılarından biri insandır (Tablo 1).

Afrika kökenli yaygın türlerden *S. haematobium* Akdeniz çevresindeki ülkelerde ve Güneybatı Asya'da bulunmaktadır, II. Dünya Savaşı sırasında Hindistan'a ulaşmıştır. İnsanlar, bazen babunlar veya diğer maymunlarda bilharziya etkenidir. Afrika'da yaygın olan *S. mansoni* sonradan taşındığı Güney Amerika'nın kuzeyi ve Karayipler'e yayılmıştır. Son konakçılar arasında insanlar başta olmak üzere babunlar, kemirgenler ve rakunlar yer alır. Afrika'ya özgü diğer bir tür olan *S. intercalatum* türünün bilinen son konakçısı insandır, ancak deneme ortamların diğer hayvan türlerine de

bulaşabildiği tespit edilmiştir. Yakın zamanda tanımlanmış bir tür olan *S. guineensis*, Batı Afrika'ya özgü olup insanları enfekte etmektedir (Standley ve ark. 2012).

Doğu Asya ve Filipinler'de yaygın *S. japonicum* türünün son konakçıları insan, kedi, köpek, keçi, at, domuz, sıçan ve manda gibi memelilerdir (Liang ve ark., 2022). Bu tür ile akraba olan *S. mekongi* hem üst hem de alt mezenterik damarları etkilemektedir. Daha uzun gelişim süresi gösterdikleri son konakçıları insanlar ve köpeklerdir (Loker, 1983).

Afrika kökenli olan olan cinsin türleşme öyküsünde konakçı değişimi önemli yer tutmaktadır. Güneydoğu Asya'da cinse ait soy hatlarının Pliyosen'den itibaren var olduğu düşünülmektedir (Attwood ve ark., 2008).

*Schistosoma haematobium*, *S. mansoni* ve *S. japonicum* cinsin en yaygın ve etkili üç türüdür. Bu üç türün de morfolojileri ve anatomileri benzerdir. Erkek yassı ve daha tıknaz vücutlu, dişi ise daha ince ve daha uzun olup boyutları 1-2 cm arasındadır, dişi erkeğin ventralinde bir kanalın içinde ve kıvrılmış bir pozisyondadır. Erkek oral ve ventral çekmenlere sahiptir, dişi daha düz bir yapıda olup silindirik vücut planı yuvarlak solucanı andırır.



**Şekil 1:** Bir *Schistosoma* türünde erkek ve dişi bireyler (<https://www.wikipedia.org>).

### 1.1. *Schistosoma haematobium*

Yumurta 110-170 x 40-70 µm boyutlarındadır (Olveda ve ark., 2013), yumurta diken terminaldir.

Mesanenin vesiküler ve pelvik venöz pleksusuna (bazen rektal venüller) yerleşir.

Parazit ürogenital bilharziya etkenidir. Jüvenil *S. haematobium* bireyleri mesane ve üreterlerin etrafındaki damarlara göç ederek burada ürerler (Santos ve ark., 2021). Dişiler günde 3000'e kadar yumurta üretebilir, damarlardan mesaneye göç eden yumurtaların yaklaşık yarısı çevre dokularda (üreter ve genital sistem dokuları) sıkışıp enflamasyona, polip oluşumların ve mesanede ülserlere neden olabilir (Santos ve ark. 2021). Mesane ülserleri enfeksiyondan 10 ila 12 hafta sonra idrarda kan görülmesine yol açabilir (Gryseels ve ark., 2006), ilerleyen süreçte fibroz ile idrar yolu ve böbrek sorunları oluşabilir, oluşan lezyonlar mesane kanserlerine, idrar yolu ve böbrek iltihaplarına, kadında kısırlığa varabilen neticeler doğurur (Gray ve ark., 2011).

Böbrek bozukluklarına bağlı ölümler (bütün ölümlerin  $\frac{3}{4}$  kısmı) nedeniyle en ölümcül *Schistosoma* türü kabul edilir.

### 1.2. *Schistosoma mansoni*

Yumurta 114-180 x 45-70  $\mu$  m boyutlarındadır (Olveda ve ark., 2013), yumurta dikenini lateraldedir (Şekil 2).

Alt mezenterik damarlara yerleşir (ancak aynı zamanda üst mezenterik damarlarda da yaşayabilir).



Şekil 2: *Schistosoma mansoni* yumurtası (<https://www.wikipedia.org>).

Diğer Afrika türleriyle olduğu gibi *S. haematobium* türüyle de melezleşebilmektedir (Depaquit ve ark., 2019).

İnsanı en çok etkileyen ikinci türdür, toplamda parazitin yol açtığı hastalıktan dünya çapında 83.3 milyon insanı etkilemektedir (Crompton, 1999).

Jüvenil *S. mansoni* parazitleri gastrointestinal sistem ve karaciğerin damarlarına göç eder (Ross ve ark., 2002), bu nedenle bu tür bağırsak ve karaciğer-dalاک bilharziyası etkenidir. Diğer türde olduğu gibi yumurtaların mezenterik venüllerden bağırsak lümenine göçleri sırasında çevre dokularda tıkanması granülatöz reaksiyon adı verilen bir bağışıklık tepkisine neden olur (Elbaz ve Esmat, 2013), bunun neticesinde kanlı ishal ve ilerleyen zamanda kilo kaybı ve kolon daralması gibi tablolar meydana gelir (Gray ve ark., 2011). Kolonda oluşan lezyonların Afrika'da HIV hassasiyetini artırıcı etkileri bildirilmektedir (Yegorov ve ark., 2019).

Yumurtalar nadiren karaciğer-dalاک bölgesindeki damar yollarında hapsolür ve portal hipertansiyon nedeniyle karaciğer ve dalakta büyüme, karında sıvı birikimi, yemek borusu ve bağırsakta şişlikler ve yırtılmalar neticesindeki kanamalı lezyonlar oluşabilir (Elbaz ve Esmat, 2013).

Portal hipertansiyon nedeniyle bazen yumurta ve parazitler pulmoner sisteme göçüne ve bu kısımdaki damarlarda oluşan inflamasyon ve fibroz sonucunda akciğer ve kalpte işlev bozukluğu sorunları meydana gelir (Schwartz, 2002).

Yumurtaların embolisi omurilik iltihabı (Ferrari, 1999), erişkinlerin nadir durumlarda merkezi sinir sistemine göçü neticesinde beyin veya beyincikte oluşabilen granülatöz oluşumlar felç gibi çeşitli bozukluklara neden olabilmektedir (Pittella, 1997).

**Tablo 1:** İnsanda bilharziya etkenş olan *Schistosoma* türleri (Olveda ve ark., 2013).

Tür adı	Ara konakçı	Endemik Bölge
<i>Schistosoma guineensis</i>	<i>Bulinus forskalii</i>	Batı Afrika
<i>Schistosoma intercalatum</i>	<i>Bulinus</i> spp.	Orta Afrika
<b><i>Schistosoma haematobium</i></b>	<i>Bulinus</i> spp.	Güneybatı Avrupa, Afrika, Orta Doğu, <b>Türkiye</b> , Hindistan
<i>Schistosoma japonicum</i>	<i>Oncomelania</i> spp.	Çin, Güneydoğu Asya, Filipinler
<b><i>Schistosoma mansoni</i></b>	<i>Biomphalaria</i> spp.	Arap yarımadası, Afrika, Güney Amerika, Karayipler
<i>Schistosoma mekongi</i>	<i>Neotricula aperta</i>	Kamboçya ve Laos

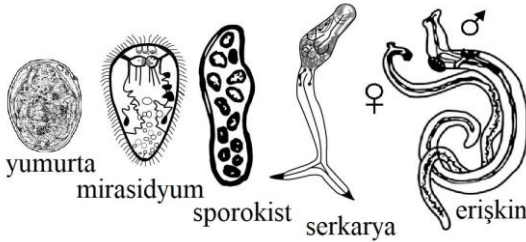
### 1.3. *Schistosoma japonicum*

Yumurta 70-100 x 55-64 µm boyutlarında olup (Olveda ve ark., 2013), yumurta dikenini körelmiştir (Şekil 3).

Üst mezenterik damarlara yerleşir (ancak aynı zamanda alt mezenterik damarlarda da yaşayabilir)

Konakçının vücuduna giren olgunlaşmamış parazitler akut evrede Katayama ateşi olarak bilinen bir rahatsızlığa neden olmaktadır. Genellikle yabancı (immün olmayan) ziyaretçilerde görülen Katayama ateşinde birkaç ay içerisinde kendiliğinden kaybolan ateş, ürtiker, kuru öksürük ve eozinofili gibi sorunlar meydana gelir (Doherty ve ark., 1996). Bulaşma yolu genellikle yüzme veya rafting gibi su sporlarıdır.

*S. mansoni* türünde olduğu gibi enfeksiyon sonrasında gastrointestinal sistem ve karaciğerin damarlarına göç ettikleri için, kronik fazda bağırsak ve karaciğer-dalak bilharziyası etkenidirler. Serebral granümatöz enfeksiyonu bu türde bir önceki türden daha sık meydana gelir.



Şekil 3: *Schistosoma japonicum* türünde yaşam evreleri (<https://www.wikipedia.org>).

## 2. *Schistosoma* Türlerinde Yaşam Döngüsü

Diğer digenetik ailelerden farklı olarak dioik (ayrı eşeyli) olmakla birlikte, aileye ait türlerin erkekleri dişilerinden oldukça büyük olup, hayat boyu dişileri ginekoforik kanal adı verilen ventral açıklığın içerisinde taşırlar. Erkek son konakçının kanıyla (alyuvarlar) beslenirken, besinin bir kısmını da dişiye aktarır. Erkek ayrıca dişinin üreme olgunluğuna erişmesini uyarır.

Birleşme sonrası dişinin bıraktığı yumurtalar türlere göre idrar veya bağırsaklardan atılır. Daha sonra yumurta suya ulaştığında yumurtadan oval şekilli ve silli serbest yüzen larva mirasidyum ortaya çıkar. Bu larva bir süre

yüzerek türe özgü tatlı su salyangozu konakçısına doğru yüzer. Larva ara konakçının derisini proteolitik aktivite ile delerek vücut içerisinde sporokiste dönüşür, sporokist partenogenetik olarak yavru sporokistler üretir, bunlar ise aynı şekilde eşeysiz bölünmelerle serbest yüzen çatal kuyruklu furkoserkarya larvalarını meydana getirir. *Schistosoma* türlerinde redia aşaması görülmez.

Ara konakçıyı terk eden serkarya larvaları kuyruklarını kullanarak yüzer ve su yüzeyine ulaşırlar. Bu larvalar değişik molekül ipuçlarını izleyerek ana konakçı olan memeli türü veya türlerinden birini bulurlar, eğer 48 saat içerisinde enfeksiyon gerçekleşemezse larva ölür. Deri veya oral yolla konakçının vücuduna giren larva kuyruğunu kaybeder, solucanımsı larvalar önce akciğere ve kalbe daha sonra karaciğere portal damarlar yoluyla ulaşırlar ve bu organda olgunlaşarak erkek-dişi çiftlerini oluştururlar, sonrasında türe göre mesane venöz pleksusu (*S. haematobium*) veya mezenterik veya pelvik venlere (diğer türler) yerleşip yumurtlamaya başlarlar. Yumurtalar portal damarlar ile karaciğere oradan da bağırsaklara veya mesaneye ve idrar kanalına geçerler. Bu esnada yumurtaların proteolitik enzimleri damardan bağırsak lümeni veya mesaneye geçmelerini kolaylaştırırken, atılamayan yumurtalarda granülatöz bağırsıklık tepkilerine neden olurlar.

İnsanlar banyo yaparken, oynarken, yüzerken, yıkanırken, balık tutarken veya kontamine sularda yürürken parazitinin larvalarıyla karşılaşılırlar.

### 3. *Schistosoma* türlerinde ara konakçılar

İnsanda şistozomiyaz etkeni türler birbirlerine yaşam döngüsü, genetik ve morfolojik benzerlikleri rağmen allopatrik yayılış gösterebilmekte ve doğadaki ara konakçı salyangoz türleri bakımından ayrışmaktadırlar (Tablo 1). Dolayısıyla vektör salyangozların teşhisleri ve biyolojilerinin anlaşılması hastalığın mücadelesinde önemli yere sahiptir.

*Schistosoma* türlerinde Planorbidae ve Lymnaeidae üyeleri en önemli ara konakçılardır (Brant ve Loker, 2009; Wongpim ve ark., 2023). İnsanda bilharziya etkeni türlerin ülkemiz ve çevresindeki türlerinde ise Planorbidae veya bazen Bulinidae ailelerinde sınıflandırılan *Bulinus* türleri ve Planorbidae ailesinden *Biomphalaria* türleri ara konakçıdır.

Planorbidae ailesi üyeleri genellikle disk şeklinde yassı ve apertürleri sola dönük (sinistral) kabuklara sahiptirler. Kalabalık Hygrophila grubu içerisinde en fazla türe sahip olan kozmopolit ailenin üyeleri çoğunlukla

durgun su sistemlerinde yayılış göstermekte olup, evcil hayvanlar ve insanlarda görülen çeşitli zoonotik hastalıkların vektörlerini de içerirler.

*Bulinus* cinsi Afrika ve Orta Doğu yayılışlı, *Biomphalaria* cinsi ayrıca Güney Amerika'da yayılış göstermektedir. Her iki cinsin üyeleri de sıcak iklimlere uymuşlardır. Belirgin istilacılık özelliği göstermemekle birlikte bazı türleri insan eliyle götürüldükleri uzak coğrafyalarda yayılma özelliği göstermişlerdir (Habib ve ark., 2018). *Schistosoma mansoni* türü köle ticareti ile götürüldüğü Güney Amerika'da yerli *Biomphalaria* türlerine uyum sağlayarak hastalığın burada yayılmasına yol açmıştır.

Pomatiopsidae ailesine ait *Oncomelania* cinsinden tatlı su salyangozları Doğu Asya'da yayılış gösteren *S. japonicum* için önemli bir ara konaktır. Diğer bir aile üyesi olan *Neotricula aperta* Güneydoğu Asya'ya özgü *Schistosoma mekongi* türünün bilinen yegane son konakçısıdır. Güneydoğu Asya'ya özgü *S. malayensis* türünün salyangoz konakçıları aynı aileden olan *Robertsia* türleridir (Attwood ve ark., 2005), bu tür insanlarda tespit edilmiş olmakla birlikte hastalığa dair bir belirtiye rastlanmamıştır.

### 3.1. *Biomphalaria* Türleri

Amerika kökenli olduğu düşünülen *Biomphalaria* cinsinin Afrika'da adaptif yayılımı söz konusudur. Geçmişte *Biomphalaria ehrenbergi* adı altında Türkiye faunasına dahil edilen *Biomphalaria* kaydı (Bilgin, 1980), esasen Afrika'ya özgü bir *Gyraulus* türünün (*G. ehrenbergi*) hatalı tanımlamasından ibarettir. Ülkemizde yayılış olmayan cinsin doğal dağılımı Asya'da Arap yarımadası (*Biomphalaria arabica* türü) ile sınırlıdır (Magzoub ve Kasim, 1980). Son zamanlarda Güney Amerika kökenli *B. straminea* türü Çin'de yayılmaya başlamıştır (Habib ve ark., 2018).

*Biomphalaria* türleri *S. mansoni* türünün ara konakçılarıdır.

Bu türler tipik planorbid morfolojisine sahip olduklarından cinsi benzerlerinden, cinse ait türleri birbirlerinden ayırt etmek için detaylı anatomik ve konkolojik incelemelere ihtiyaç bulunmaktadır.

### 3.2. *Bulinus* Türleri

Fosilleri Güneydoğu Avrupa'dan da bilinmesine karşın günümüzde cinsin yayılış Afrika ve Güneybatı Asya ile sınırlıdır. Bir türleri, *Bulinus*

*truncatus*, Güneybatı Avrupa ve Mesopotamya boyunca Türkiye'nin güneydoğusuna dek yayılmıştır.

*Bulinus* türleri diğer aile üyelerinin tersine diskoidal şekilli olmayıp sinistral oval şekillidir, kabuğun ilk sarmalları basık veya yüksek konimsi şekilli olabilmektedir. Cinsin çok sayıda türünden üçü Afrika dışında yayılış göstermektedir. Bu türlerdem en yaygını ülkemizde de varlığı tespit edilmiş olan *B. truncatus* türüdür.

Ülkemizde de yayılış gösteren *B. truncatus* türü ilk bakışta kozmopolit istilacı *Physella acuta* türünü andırmakla birlikte hemoglobinin nedeniyle kırmızıya bakan vücut pigmentasyonu ve omuzlu kabuk kapısı ile ondan ayrılır. Ayrıca *B. truncatus* türünde aile özelliği olarak yalancı solungaç, diğer türde ise yine bir aile karakteri olarak parmaklı manto uzantıları ayırıcı karakterlerdir.

*B. truncatus* türü urogenital şistozomiyaz etkeni olan *S. haematobium* türünün başlıca vektörüdür. *Schistosoma intercalatum* türü çeşitli *Bulinus* türlerinde gelişebilmektedir. Sınırlı bir dağılıma sahip olan *Schistosoma guineensis* türünün ara konakçısı *Bulinus forskalii* türüdür.

### 3.2. *Oncomelania* Türleri

*Oncomelania* cinsi *S. japonicum* türü ile birlikte diğer bazı tıbbi öneme sahip Digenea türleri için de ara konakçıdırlar.

## 5. Tartışma ve Sonuç

Bilharziya için en önemli kontrol yöntemleri temiz suya erişimin sağlanması, kontamine suların drenajının kontrolü ve salyangoz vektörlerle mücadeledir.

Güney Amerika kökenli *Biomphalaria straminea* türünün Hong Kong ve Çin'de istilacı özellik göstermesi (Attwood ve ark. 2014), insan şistozomiyazı veya bilharziya ile diğer zoonotik hastalıkların yayılması konusunda bir ikaz niteliğindedir. İklim değişikliği ve artan ticaret trafiğinin neticesinde bu tür yabancı tür istilalarının gelecekte artması olasıdır.



## KAYNAKLAR

- Abdel Azim, M., & Gismann, A. (1956). Bilharziasis survey in south-western Asia: covering Iraq, Israel, Jordan, Lebanon, Sa'udi Arabia, and Syria: 1950-51. *Bulletin of the World Health Organization*, 14, 403-456.
- Attwood, S. W., Huo, G.-N., & Qiu, J. (2014). Update on the distribution and phylogenetics of Biomphalaria (Gastropoda: Planorbidae) populations in Guangdong Province, China. *Acta Tropica*, 141, 258-270. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.04.032>
- Attwood, S. W., Fatih, F. A., & Upatham, E. S. (2008). DNA-sequence variation among *Schistosoma mekongi* populations and related taxa; Phylogeography and the current distribution of Asian schistosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2(3), e200. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000200>
- Attwood, S. W., Lokman, H. S., Ong, K. Y. (2005). *Robertsia silvicola*, a new species of triculine snail (Caenogastropoda: Pomatiopsidae) from peninsular Malaysia, intermediate host of *Schistosoma malayensis* (Trematoda: Digenea). *Journal of Molluscan Studies*, 71(4) 379-391. doi:10.1093/mollus/eyi040. ISSN 1464-3766.
- Bilgin, H. (1980). Systematics and distribution of Mollusca species that collected from some important fresh waters in West Anatolia. *Dicle Üniv. Tıp Fak. Dergisi*, 8(2), 1-64.
- Boissier, J., Grech-Angelini, S., Webster, B. L., Allienne, J., Huyse, T., Mas-Coma, S., Toulza, E., Barré-Cardi, H., Rollinson, D., Kincaid-Smith, J., Oleaga, A., Galinier, R., Foata, J., Rognon, A., Berry, A., Mouahid, G., Henneron, R., Moné, H., Noel, H., & Mitta, G. (2016). Outbreak of urogenital schistosomiasis in Corsica (France): an epidemiological case study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(8), 971-979. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(16\)00175-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(16)00175-4)
- Chabasse, D., Bertrand, G., Leroux, J. P., Gauthey, N., & Hocquet, P. (1985). Bilharziose à *Schistosoma mansoni* évolutive découverte 37 ans après l'infestation [Developmental bilharziasis caused by *Schistosoma mansoni* discovered 37 years after infestation]. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique et de ses filiales*, 78(5), 643-647.

- Chitsulo, L., Engels, D., Montresor, A., & Savioli, L. (2000). The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Tropica*, 77(1), 41–51. [https://doi.org/10.1016/s0001-706x\(00\)00122-4](https://doi.org/10.1016/s0001-706x(00)00122-4)
- Colley, D. G., Bustinduy, A. L., Secor, W. E., & King, C. H. (2014). Human schistosomiasis. *Lancet* (London, England), 383(9936), 2253–2264. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61949-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61949-2)
- Crompton, D. W. (1999). How much human helminthiasis is there in the world? *The Journal of Parasitology*, 85(3), 397–403. doi:10.2307/3285768
- Depaquit, J., Akhoundi, M., Haouchine, D., Mantelet, S., & Izri, A. (2019). No limit in interspecific hybridization in schistosomes: observation from a case report. *Parasite*, 26, 10. <https://doi.org/10.1051/parasite/2019010>
- Doherty, J. F., Moody, A.H., Wright, S. G. (1996). Katayama fever: an acute manifestation of schistosomiasis. *BMJ*, 313, 1071–1072.
- Elbaz, T., & Esmat, G. (2013). Hepatic and intestinal schistosomiasis: review. *Journal of Advanced Research*, 4(5), 445–452. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2012.12.001>
- Ferrari, T. C. A. (1999). Spinal cord schistosomiasis. 78, 176–90.
- Gray, D. J., Ross, A. G., Li, Y., & McManus, D. P. (2011). Diagnosis and management of schistosomiasis. *BMJ*, 342(may17 1), d2651. <https://doi.org/10.1136/bmj.d2651>
- Gryseels, B., Polman, K., Clerinx, J., & Kestens, L. (2006). Human schistosomiasis. *The Lancet*, 368(9541), 1106–1118. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(06\)69440-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(06)69440-3)
- Habib, M. R., Lv, S., Guo, Y., Gu, W., Standley, C. J., Caldeira, R. L., & Zhou, X. (2018). Morphological and molecular characterization of invasive *Biomphalaria straminea* in southern China. *Infectious Diseases of Poverty*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40249-018-0505-5>
- Huyse, T., Webster, B. L., Geldof, S., Stothard, J. R., Diaw, O. T., Polman, K., & Rollinson, D. (2009). Bidirectional Introgressive Hybridization

- between a Cattle and Human Schistosome Species. *PLoS Pathogens*, 5(9), e1000571. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000571>
- Liang, S., Ponpetch, K., Zhou, Y., Guo, J., Erko, B., Stothard, J. R., Murad, M. H., Zhou, X., Satrija, F., Webster, J. P., Remais, J. V., Utzinger, J., & Garba, A. (2022). Diagnosis of *Schistosoma* infection in non-human animal hosts: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16(5), e0010389. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010389>
- Loker, E. S. (1983). A comparative study of the life-histories of mammalian schistosomes. *Parasitology*, 87(2), 343–369. doi:10.1017/S0031182000052689
- Magzoub, M., & Kasim, A. A. (1980). Schistosomiasis in Saudi Arabia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 74(5), 511–513. <https://doi.org/10.1080/00034983.1980.11687377>
- Niemann, T., Marti, H., Duhnsen, S.H, & G. Bongartz (2010). Pulmonary schistosomiasis - imaging features. *Journal of radiology case reports*, 4(9), 37–43. <https://doi.org/10.3941/jrcr.v4i9.48>
- Olveda, D. U., Li, Y., Olveda, R. M., Lam, A. K., Chau, T. N. P., Harn, D. A., Williams, G. M., Gray, D. J. & A. G. P. Ross (2013). Bilharzia: Pathology, Diagnosis, management and control. *Tropical Medicine & Surgery*, 01(04). <https://doi.org/10.4172/2329-9088.1000135>
- Pittella, J. E. H. (1997). Neuroschistosomiasis. *Brain Pathology*, 7, 649–662.
- Ross, A. G., Bartley, P. B., Sleight, A. C., Olds, G. R., Li, Y., Williams, G. M., & McManus, D. P. (2002). Schistosomiasis. *New England Journal of Medicine*, 346(16), 1212–1220. <https://doi.org/10.1056/nejmra012396>
- Santos, L. L., Santos, J., Gouveia, M. J., Bernardo, C., Lopes, C., Rinaldi, G., Brindley, P. J., & Da Costa, J. M. C. (2021). Urogenital Schistosomiasis—History, Pathogenesis, and Bladder Cancer. *Journal of Clinical Medicine*, 10(2), 205. <https://doi.org/10.3390/jcm10020205>
- Schwartz, E. (2002). Pulmonary schistosomiasis. *Clinics in Chest Medicine*, 23(2), 433–443. doi:10.1016/s0272-5231(01)00013-2

- Standley, C., Mugisha, L., Dobson, A., & Stothard, J. (2012). Zoonotic schistosomiasis in non-human primates: past, present and future activities at the human–wildlife interface in Africa. *Journal of Helminthology*, 86(2), 131–140. <https://doi.org/10.1017/s0022149x12000028>
- Thétiot-Laurent, S. A., Boissier, J., Robert, A., & Meunier, B. (2013). Schistosomiasis chemotherapy. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(31), 7936–7956. <https://doi.org/10.1002/anie.201208390>
- Webster, B., Southgate, V., & Littlewood, D. (2006). A revision of the interrelationships of *Schistosoma* including the recently described *Schistosoma guineensis*. *International Journal for Parasitology*, 36(8), 947–955. doi:10.1016/j.ijpara.2006.03.005
- Webster, B. L., Tchuem Tchuenté, L. A., Jourdane, J., & Southgate, V. R. (2005). The interaction of *Schistosoma haematobium* and *S. guineensis* in Cameroon. *Journal of Helminthology*, 79(3), 193–197. doi:10.1079/JOH2005306
- Wongpim, T., Komsuwan, J., Janmanee, C., Thongchot, P., Limsampan, S., Wichianarat, N., Chaowatut, W., Suwanrat, S., Dechruksa, W., Veeravechsukij, N., Glaubrecht, M., & Krailas, D. (2023a). Freshwater pulmonate snails and their potential role as trematode intermediate host in a cercarial dermatitis outbreak in Southern Thailand. *Evolutionary Systematics*, 7(2), 293–315. <https://doi.org/10.3897/evolsyst.7.107847>
- Yegorov, S., Joag, V., Galiwango, R. M., Good, S. V., Okech, B., & Kaul, R. (2019). Impact of endemic infections on HIV susceptibility in Sub-Saharan Africa. *Tropical Diseases Travel Medicine and Vaccines*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40794-019-0097-5>



## BÖLÜM 4

### ÖNEMLİ FLAVONOL; FİSETİN

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

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566520>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD, Siirt, Türkiye, mahireakkoyun@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-5150-5402

<sup>2</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji ABD, Siirt, Türkiye, turanakkoyun@otmail.com, ORCID 2: 0000-0002-4547-8003



## GİRİŞ

Hipokrat tarafından 2000 yılı aşkın bir süre önce ifade edilmiş olan “Gıdanız ilacınız, ilacınız gıdanız olsun” sözü doğal gıda ürünlerinin sağlığa faydaları eski çağlardan beri dikkate alınmıştır (Rasouli ve ark., 2017). Bitkiler yüzyıllardır çeşitli hastalıkları tedavi etme başta olmak üzere farklı amaçlarla kullanılmıştır (Can ve Velioğlu, 2018). Günümüzde de pek çok kronik hastalığın tedavisinde bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin kullanımı oldukça popüler hale gelmiştir. Son zamanlarda kronik hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların artış eğiliminde olması nedeni ile gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere birçok ülke ilaç üretiminde doğal kaynaklara yönelmektedir. Bu sebeple bitkilerin biyoaktivite çalışmaları ve araştırmaları hızlı bir ivme göstererek artmaktadır. Bu çalışmaların sonuçlarına bakıldığında bitki kaynaklı bu doğal bileşiklerin; kalp damar hastalıkları, diyabet, kanser, metabolik ve dejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere birçok hastalıkta iyileştirme yada koruma potansiyeli olabileceği ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmalarda fenolik antioksidanların oksidatif strese bağlı olarak oluşan hücre kayıplarını engellediği rapor edilmiştir (Schoeter ve ark., 2000; Youim ve Joseph, 2001; Parihar ve Hemnani, 2003). Bitkilerdeki fenoliklerinin antioksidan etkileri genel olarak redoks özelliklerine bağlı olarak ortaya çıkar. Bu nedenle indirgeyici ajanlar, metal şelasyonu yapıcılar , tekli oksijen önleyiciler ve hidrojen vericiler şeklinde etki gösterirler (Deveci ve ark., 2016). Araştırmalar, polifenollerin kardiyovasküler hastalık, osteoporoz, nörojeneratif hastalık, kanser ve diyabetin tedavisindeki rolünü ortaya koymaktadır (Abbas ve ark., 2017). Fisetin (3,3',4',7-tetrahidroksiflavon), özellikle çilek, yaban mersini, elma, üzüm, hurma, kivi ve salatalık yenilebilir bitkilerde yoğun olarak bulunan hidrofobik bir polifenolik bir bileşiktir(Antika ve ark., 2021). Tarihsel olarak bakıldığında polifenoller, bitkilerde oldukça önemli rolleri olan ikincil metabolitler veya fitokimyasallar sınıfının bir parçasını oluşturdukları için çoğunlukla ilgi çeken bileşenler olmuşlardır (Williamson, 2017). Polifenoller, yalnızca bitkiler tarafından sentezlenen, oksidatif ve inflamatuvar stresi modüle etmek, makro besin sindirimini değiştirmek ve bağırsak mikrobiyotası üzerinde prebiyotik benzeri etkiler uygulamak için biyoaktiviteleri bildirilen fenolik maddelerle ilgili kimyasal özelliklere sahip doğal bileşiklerdir (Rasouli ve ark., 2017; Bertelli ve ark., 2021). Polifenollerdeki temel monomer fenolik halkadır ve bunlar genellikle fenolik asitler ve fenolik alkoller olarak incelenirler. Bu yapıya sahip bilinen 8000'den fazla sayıda fenolik asitler gibi basit



fenoliklerden; tanenler gibi karmaşık bileşiklere kadar en yaygın bulunan ikincil bitki metaboliti mevcuttur. Bu bileşenler ultraviyole (UV), patojenler ve diğer avcılara karşı bitki savunmasına katılırlar. Böylece tüm bitki organlarındaki varlıkları onları insan beslenmesinin hayati bir bileşeni haline getirir (Alara ve ark., 2021).

Polifenoller beş farklı grup altında incelenirler Bu gruplar flavanoidler, stilbenler, fenolik asitler, liganlar ve tanenler şeklinde sınıflandırılabilir (Atak ve Uslu 2018). Diyet polifenollerinin yaklaşık olarak %60 kadarını flavonoidler, %30'unu ise fenolik asitler oluşturmaktadır. Polifenol içeriği yüksek olan besinler arasında meyveler, sebzeler, yeşil çay ve tam tahıllar sayılabilir (Alkan ve Rakıcıoğlu, 2020).

**1. Flavonoidler:** Genel olarak flavon türevleri ve C6-C3-C6(difenilpropan) formunda, iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden meydana gelirler. Bunlar: flavonlar, flavanonlar, flavonoller, izoflavonlar, antosiyanidinler, şakonlar ve kateşinler olarak 7 alt gruba ayrılırlar.

**2. Stilbenler:** Bu gruptaki bileşenler bitkilerde oldukça yaygın olarak bulunan bir polifenol grubu olarak bilinirler. En tanınan üyesi resveratrol(3,5,4'-trihidroksistilben)'dur. Genel olarak bakıldığında stilbenler patojenlere veya çeşitli stres koşullarına bağlı enfeksiyonlara tepki olarak bitkiler tarafından sentezlenen bileşiklerdir. Başta üzüm, çilek ve yer fıstığı olmak üzere 70'ten fazla bitki türünde tespit edilmiştir (Demir ve Akpınar, 2020).

**3. Liganlar:** İki fenilpropan biriminin oksidatif dimerizasyonu sonucunda meydana gelirler. Kanser tedavisinde, farmakolojik ve diğer çeşitli alanlarda potansiyel uygulanabilirlikleri sebebi ile bu bileşenlere ve onların sentetik türevlerine yönelik ilgi, her geçen gün giderek artmaktadır (Demir ve Akpınar, 2020).

**4. Fenolik asitler:** Hidroksisanimik ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere iki grupta incelenirler. C6-C1 fenilmetan yapısında olan hidroksibenzoik asitler, bitkisel gıdalarda genellikle az oranlarda bulunurlar. Hidroksibenzoik asit grubundaki fenolik asitlere örnek olarak salisilik asit, gallik asit, m- hidroksibenzoik asit, vanilik asitler verilebilir. Hidroksisanimik asitler fenilpropan C6-C3 yapısında olan, fenilpropan halkasına bağlanan OH

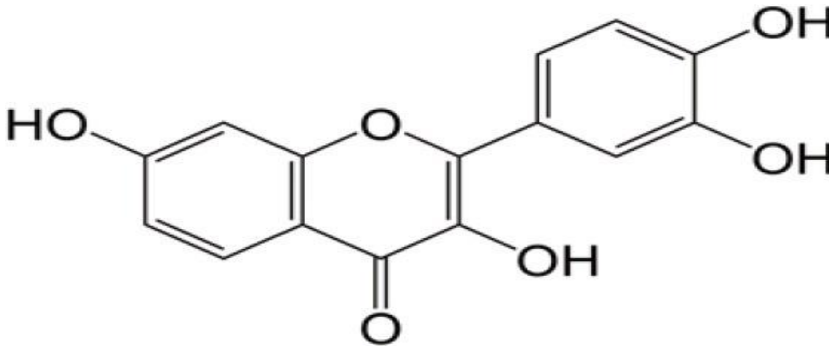
grubunun konumu ve yapısına göre farklılık gösterirler (Çağlar ve Demirci 2017).

**5. Tanenler:** Bitkilerin hemen hemen hepsinde bulunabilen ve yüksek oranda suda çözünebilir bileşenlerdir. Bitkisel tanenler genel olarak serbest fenolik gruplarla, çeşitli oranlarda kondenzasyon ve polimerizasyon meydana getiren bileşiklerden oluşmuştur.. Yüksek molekül ağırlığına sahip bileşikler gerçek tanenler olarak bilinirler. Tanenler, hidroliz olabilen ve kondense olabilen şekilde iki farklı formda incelenirler. Hidroliz olabilen tanenler seyreltik mineral asitlerin ya da bazı enzimlerin olduğu ortamda fenol karboksilik asit türevlerine parçalanabilen tanenlerdir. Kondanse tanenler ise polifenolik yapıdan oluşan flavanoidler, olarak tanımlanırlar (Karaoğlu ve ark., 2017)

Fisetin, diğer bitki polifenollerinin bolluğu ile farklı antioksidan özellikleri paylaşan bir flavonoldür. Flavonoller, flavanoidler grubuna dahil bileşenler olarak tanınırlar. Flavonoidler, çoğunlukla farklı meyve ve sebzelerde bulunan, polifenolik sınıfa ait ikincil metabolitlerdir. Düşük toksisiteyi nedeniyle flavonoid bileşiklerin biyolojik sistemlerde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir ve çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalarda geniş yelpazede sağlığı destekleyen bir yaklaşım sergilemişlerdir (Imrann ve ark., 2021). Flavonoller, temel olarak değerlendirildiklerinde flavon molekülünün üçüncü pozisyonda bağlı bir hidroksil molekülünden meydana gelirler. Sebze ve meyvelerde yaygın olarak bulunan flavonollere kamferol, kuersetin, izoramnetin ve mirisetin örnek olarak verilebilir. Flavonoller, en aktif bileşikler içeren ve en geniş biyolojik aktiviteye sahip grup olarak değerlendirilirler. Yapılan çalışmalarda flavonollerin, başta antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-aterojenik ve anti-karsinojenik olmak üzere pek çok biyolojik aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Muhrisoğlu 2017).

Geleneksel olarak 2-(3,4-dihidroksifenil)-3,7-dihidroksi-4H-1-benzopiran-4-on;3,3',4',7-tetrahidroksiflavon; veya 5-deoksikuersetin, şekilde tarif edilen flavonol fisetin şimdiye kadar birçok bitkinin ikincil bir metaboliti olarak tanımlanmış olup, bunların yeşil kısımlarında, meyvelerinde, ayrıca ağaç kabuklarında ve sert ağaçlarda meydana gelmektedir. Fonksiyonel makromoleküllerin strese karşı korunması açısından oldukça ilgi çekici spesifik bir biyolojik aktivite sergiler. Ayrıca anti-inflamatuvar, kemopreventif, kemoterapötik ve son zamanlarda senoterapötik ajan olarak da potansiyel gösterdiği bildirilmiştir (Gryniewicz ve Demchuk, 2019). Fisetin ilk olarak

1833 yılında Venedik sumağından (*Rhus cotinus* L.) izole edilmiştir (Antika ve Dewi, 2021). Fisetin, iki aromatik halka içeren di-fenilpropan yapısına sahiptir. Molekül formülü  $C_{15}H_{10}O_6$  olup molekül kütlesi 286.239 g/mol'dür. Yoğunluğu 1,688 g/mL olan fisetin, 330 °C'de erir, bu da onun kristal yapısını gösterir. En yüksek fisetin miktarının çilekte olduğu bunu elma ve hurmanın takip ettiği belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2023). Fisetinin aktif bir bileşeni, moleküler yapıda mevcut olan serbest hidroksil grupları (C-3, C-3', C-4', C-7) ve bir karbonil grubu (C-4) ile serbest radikalleri temizler. Fisetinin B ve C halkası, A halkasına kıyasla daha yüksek temizleme aktivitesine sahiptir. Fisetinin orto-dihidroksi bölgesi, elektron delokalizasyonuna katılan elektron donörüdür. Fisetinin 3- ve 5-hidroksil grupları serbest radikalleri temizler, reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı savunma yapar ve düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu engeller. Fisetin, lizozomal enzimlerin, siklooksijenaz enzimlerinin ve araşidonik asitlerin salınımını engelleyen etkili bir anti-inflamatuar ajan da olarak kullanılmıştır (Sundarraaj ve ark., 2018).



**Şekil 1:** Fisetinin yapısı (Antika ve Dewi, 2021).

Fisetinin hücre kültüründe ve ilgili hayvan modellerinde güçlü anti-inflamatuar, antioksidan, anti-tümörojenik, anti-invaziv, anti-anjiyogenik, anti-diyabetik, nöroprotektif ve kardiyoprotektif etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Pal ve ark., 2016). Fisetinin uyarılmış insan mast hücrelerinde (HMC-1) inflammatuar reaksiyonu modüle edip etmediğinin incelendiği bir çalışmada fisetinin mast hücre aktivasyonunun aşağı regülasyonu yoluyla inflammatuar hastalıkların tedavisi için potansiyel bir ilaç olduğuna dair yeni bir öneri ortaya koymuştur (Park ve ark., 2007). Fisetinin, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2'-azino-bis(3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu) (ABTS) serbest radikallerini temizleyerek antioksidan

aktivitesi gösterdiği bildirmiştir (Wang ve ark., 2016). Fisetinin DPPH ve ABTS radikal temizleme performansı sentetik bir antioksidan olan BHA ile karşılaştırılmış BHT den daha yüksek aktivite sergilediği belirlenmiştir. ORAC ve PSC analizlerinde fisetin ayrıca güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Yine aynı çalışmada fisetinin a-glukozidaz inhibitör aktivitesinin olduğu rapor edilmiştir (Yue ve ark., 2018). Fisetinin antiradikal aktivitesi de yapılan bir başka çalışma ile tanımlanmıştır (Jimenez ve ark., 1998). Yapılan deneysel çalışmalarda fisetinin anti-osteoporotik aktivite gösterdiği ancak yalnızca birkaç çalışma sonucu hücresel yaşlanmayı modüle etme kapasitesini açıklamıştır (Antika ve Dewi, 2021). Bir çalışmada kullanılan on farklı flavonoid türü içerisinde en güçlü senolitik aktiviteye sahip olan bileşenin fisetin olduğu belirlenmiştir. Progeroid (prematur/erken yaşlanma sendromları) ve yaşlı farelerin fisetin ile akut veya aralıklı tedavisi ile senolitik mekanizmasıyla tutarlı olarak birçok dokudaki yaşlanma belirteçlerinin azaldığı belirlenmiştir. Fisetinin, fare ve insan yağ dokusundaki bir hücre alt kümesinde yaşlanmayı yavaşlattığı belirlenmiştir. İlerleyen dönemlerinde yabani tip farelere fisetin verilmesi, doku homeostazisini yeniden sağlamış yaşa bağlı patolojiyi azaltmış ve ortalama ve maksimum yaşam süresinin uzadığı ortaya konulmuştur (Yousefzadeh ve ark., 2018). Yapılan farklı bir çalışmada diyabetik sıçanlarda fisetin tedavisinin hiperglisemiyi, hiperlipidemi ve kalp fonksiyonu belirteçlerini hafiflettiği ve miyokarddaki histolojik değişiklikleri en az indirdiği belirlenmiş, fisetinin diyabetik sıçanların kalbinde oksidatif stresi baskıladığı inflamasyonu ve apoptozu önlediği ve antioksidan savunmayı güçlendirdiği ortaya konulmuştur (Althunibat ve ark., 2019). Yine çilekte ve hurmada mevcut olduğu bulunan fisetinin STZ ile indüklenen deneysel diyabetik sıçanlara oral yoldan uygulanmasının normoglisemiyi önemli ölçüde iyileştirdiğini bildirilmiştir. Ayrıca fisetin tedavisinin kan şekeri, glikosile edilmiş hemoglobin (HbA1c), NF-kB p65 ünitesi (pankreaasta) ve IL-1 $\beta$  (plazma), serum nitrik oksit (NO) düzeylerinde plazma insülininde artışla birlikte önemli bir düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Tedavi ayrıca fisetinin antioksidan potansiyelini gösteren diyabetik sıçanların plazmasının yanı sıra pankreastaki antioksidan durumunu da iyileştirmiştir (Prasath ve ark., 2013). Çeşitli çalışmalar, endoplazmik retikulum ve mitokondriyal stresi indüklemek, kanser hücrelerinde otofajiyi ve apoptozu teşvik etmek, hücre büyümesini ve proliferasyonunu düzenlemek dahil olmak üzere fisetinin farklı kanser hücresi türlerine karşı anti-kanser rollerini ortaya çıkarmıştır (Cox ve ark., 2011; Li ve ark., 2018). Fisetinin uyarılmış insan mast hücrelerinde (HMC-1) inflamatuvar

reaksiyonu modüle edip etmediğinin incelendiği bir çalışmada fisetinin mast hücre aktivasyonunun aşağı regülasyonu yoluyla inflamatuvar hastalıkların tedavisi için potansiyel bir ilaç olduğuna dair yeni bir öneri ortaya konulmuştur (Park ve ark., 2007). Dünya genelinde kanser önemli bir halk sağlığı problemi ve önemli bir ölüm nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Karsinogenezi engelleme potansiyeline sahip biyoaktif moleküllerin tanımlanması bilim camiasında büyük ilgi görmektedir. Birçok meyve ve sebze bulunan flavonoid fisetinin(3,3',4',7-tetrahidroksiflavon), klinik öncesi çalışmalarda, hücre döngüsünü değiştirerek, apoptozu, anjiyogenezi, istilayı ve metastazı indükleyerek herhangi bir neden olmadan kanser büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Lall ve ark., 2016) Farklı bir çalışmada doğal flavonoid olan fisetinin antitümör aktivitesi gösterdiği ortaya konulmuştur (Ragelle ve ark., 2012) Fisetinin, hücre büyümesini baskılamak, programlanmış hücre ölümünü tetiklemek, yeni kan damarlarının oluşumunu azaltmak, oksidatif strese karşı koruma ve hücre göçünü engellemek gibi bir dizi biyolojik etki belirtilmiştir. Ayrıca fisetin kemoterapinin etkinliğini artırma yeteneğine de sahip olduğu rapor edilmiştir (Zhou ve ark., 2023). Fisetinin böbrek kanseri hücrelerindeki rolünü incelemek için yapılan bir çalışmada. sonuçlar, fisetin tedavisinin doza bağlı bir şekilde G1 alt popülasyonunu tetiklediğini doğrulamış Sonuç olarak bu bulgu, kanser hücrelerinin normal hücrelere kıyasla fisetin tedavisine oldukça duyarlı olduğunu göstermiştir. Yine prostat kanseri, erkeklerde kansere bağlı ölümlerin ikinci önemli nedenidir. Çok sayıda çalışma, prostat kanseri büyümesinin ve ilerlemesinin, ligand bağımlı bir transkripsiyon faktörünün yanı sıra bir nükleer reseptör ailesi üyesi olan androjen reseptörü (AR) tarafından yönlendirildiğini bildirmektedir. Bu kanser türünde fisetin, antianjiyojenik HMM-HA'nın bolluğunu artıran güçlü, toksik olmayan ve güçlü bir hyaluronik asit (HA) sentez inhibitörüdür ve bu kanserin tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Rahmani ve ark., 2022). Kuersetin ve fisetinin kullanıldığı bir çalışmada her ikisinde kanser hücresi proliferasyonunu, migrasyonunu ve koloni oluşumunu sinerjistik olarak inhibe ettiğini ve matriks metaloproteinaz sinyalleme ve apoptotik yolların, inhibitör aktiviteden göreceli olarak sorumlu olduğunu göstermişlerdir (Hosseini ve ark., 2023). Sunulan farklı bir çalışmada fisetin tedavisinin, mikroglial hücre göçünü ve ROS (reaktif oksijen türleri) üretimini inhibe ettiği, fisetin ile tedavi ayrıca mikroglial hücrelerde LPS artı IFN-y kaynaklı nitrik oksit (NO) üretimini ve indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu etkili bir şekilde inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca fisetinin gram-pozitif bakteri hücre

duvarının ana bileşeni olan peptidoglikanın uyarılmasıyla iNOS ve NO ekspresyonlarını da azalttığı ortaya konmuştur. Özellikle fisetinin farelerde in vivo inflamasyonla ilişkili mikrogial aktivasyonu ve koordinasyon eksikliğini önemli ölçüde hafiflettiği belirlenmiştir. Bu bulgular fisetinin inflamasyonla ilişkili nörodejeneratif hastalıklara yönelik tedavilerin geliştirilmesinde aday bir ajan olabileceği görüşünü ortaya koymuştur (Chuang ve ark., 2014). Farklı bir çalışma sonuçları değerlendirildiğinde fisetinin anti-bakteriyel ve anti-fungal etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (Lodyga-Chruscinska ve ark., 2018)

Sonuç olarak; Fisetin, diğer bitki polifenollerinin bir çoğuyla belirgin antioksidan özellikler gösteren önemli bir flavonoldür. Fisetinin anti-oksidan, anti-inflamatuar, kemopreventif, anti-bakteriyel, anti-fungal, anti-diyabetik, kemoterapötik, senoterapötik ajan vb. özellikleri nedeniyle özellikle sağlık alanında kullanımının yaygınlaşabilmesi için fisetin ile ilgili yapılan çalışmaların genişletilmesi gerekmektedir. Ayrıca bu önemli flavonol türünün farmasötik kullanıma uygunluğunun da değerlendirilmesi ileride yapılacak olan çalışmalara ışık tutacaktır.

## KAYNAKLAR

- Abbas, M., Saeed, F., Anjum, F. M., Afzaal, M., Tufail, T., Bashir, M. S., & Suleria, H. A. R. (2017). Natural polyphenols: An overview. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1689-1699.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.
- Alkan, Ş. B., & Rakıcıoğlu, N. (2020). Demans ve Polifenoller. *Sağlık ve Toplum*, 30(3), 11-20.
- Althunibat, O. Y., Al Hroob, A. M., Abukhalil, M. H., Germoush, M. O., Bin-Jumah, M., & Mahmoud, A. M. (2019). Fisetin ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in diabetic cardiomyopathy. *Life Sciences*, 221, 83-92.
- Antika, L. D., & Dewi, R. M. (2021). Pharmacological aspects of fisetin. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 11(1), 1-9.
- Atak, E., & ScUslu, M. E. (2018). Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları Ve Analiz Yöntemleri. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 3(27), 39-48.
- Bertelli, A., Biagi, M., Corsini, M., Bainsi, G., Cappellucci, G., & Miraldi, E. (2021). Polyphenols: From theory to practice. *Foods*, 10(11), 2595.
- Can, Veliöğlü, S. D. (2018). Bitki çaylarında mikrobiyal kalite ve mikotoksin varlığı. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 11(3), 362-380.
- Chuang, J. Y., Chang, P. C., Shen, Y. C., Lin, C., Tsai, C. F., Chen, J. H., & Lu, D. Y. (2014). Regulatory effects of fisetin on microglial activation. *Molecules*, 19(7), 8820-8839.
- Cox, TR., & Erler, JT. (2011). Remodeling and homeostasis of the extracellular matrix: Implication for fibrotic diseases and cancer. *Disease Models & Mechanisms*, 4, 165-178

- Çağlar, M., & Demirci, M. (2017). Üzüm sü meyvelerde bulunan fenolik bileşikler ve beslenmedeki önemi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(11), 18-26.
- Demir, T., & Akpınar, Ö. (2020). Bitkilerde bulunan fitokimyasalların biyolojik aktiviteleri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(8), 1734-1746.
- Deveci, H. A., Nur, G., Ali Kırpık, M., Harmankaya, A., & Yıldız, Y. (2016). Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 26-32.
- Gryniewicz, G., & Demchuk, O. M. (2019). New perspectives for fisetin. *Frontiers in Chemistry*, 7, 697.
- Hosseini, S. S., Ebrahimi, S. O., Haji Ghasem Kashani, M., & Reisi, S. (2023). Study of quercetin and fisetin synergistic effect on breast cancer and potentially involved signaling pathways. *Cell Biology International*, 47(1), 98-109.
- Imran, M., Saeed, F., Gilani, S. A., Shariati, M. A., Imran, A., Afzaal, M., & Anjum, F. M. (2021). Fisetin: An anticancer perspective. *Food Science & Nutrition*, 9(1), 3-16.
- Jiménez, M., Escribano-Cebrián, J., & García-Carmona, F. (1998). Oxidation of the flavonol fisetin by polyphenol oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1425(3), 534-542.
- Karaogul, E., Altuntaş, E., & Alma, M. H. (2017). Tanenlerin quercus türlerinde sınıflandırılması ve kantitatif analizi. *Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 2(3), 17-24.
- Kumar, R. M., Kumar, H., Bhatt, T., Jain, R., Panchal, K., Chaurasiya, A., & Jain, V. (2023). Fisetin in cancer: attributes, developmental aspects, and nanotherapeutics. *Pharmaceuticals*, 16(2), 196.
- Lall, R. K., Adhami, V. M., & Mukhtar, H. (2016). Dietary flavonoid fisetin for cancer prevention and treatment. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(6), 1396-1405.



- Li, J., Gong, X., Jiang, R., Lin, D., Zhou, T., & Zhang, T. (2018). Fisetin inhibited growth and metastasis of triple-negative breast cancer by reversing epithelial-to-mesenchymal transition via PTEN/Akt/GSK3 $\beta$  signal pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 722.
- Łodyga-Chruscińska, E., Pilo, M., Zucca, A., Garribba, E., Klewicka, E., Rowińska-Żyrek, M., & Cheshchevik, V. T. (2018). Physicochemical, antioxidant, DNA cleaving properties and antimicrobial activity of fisetin-copper chelates. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 180, 101-118.
- Muhsiroğlu, Ö. (2017). Flavonoller, Kardiyovasküler/Serebrovasküler Hastalıklar ve Kanser. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 45(2), 178-184.
- Pal, H. C., Pearlman, R. L., & Afaq, F. (2016). Fisetin and its role in chronic diseases. *Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases*, 213-244.
- Parihar, M. S., & Hemnani, T. (2003). Phenolic antioxidants attenuate hippocampal neuronal cell damage against kainic acid induced excitotoxicity. *Journal of Biosciences*, 28, 121-128.
- Park, H. H., Lee, S., Oh, J. M., Lee, M. S., Yoon, K. H., Park, B. H., & Kim, S. H. (2007). Anti-inflammatory activity of fisetin in human mast cells (HMC-1). *Pharmacological Research*, 55(1), 31-37.
- Prasath, G. S., Sundaram, C. S., & Subramanian, S. P. (2013). Fisetin averts oxidative stress in pancreatic tissues of streptozotocin-induced diabetic rats. *Endocrine*, 44, 359-368.
- Ragelle, H., Crauste-Manciet, S., Seguin, J., Brossard, D., Scherman, D., Arnaud, P., & Chabot, G. G. (2012). Nanoemulsion formulation of fisetin improves bioavailability and antitumour activity in mice. *International Journal of Pharmaceutics*, 427(2), 452-459.
- Rahmani, A. H., Almatroudi, A., Allemailem, K. S., Khan, A. A., & Almatroodi, S. A. (2022). The potential role of fisetin, a flavonoid in cancer prevention and treatment. *Molecules*, 27(24), 9009.

- Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup2), 1700-1741.
- Schroeter, H., Williams, R. J., Matin, R., Iversen, L., & Rice-Evans, C. A. (2000). Phenolic antioxidants attenuate neuronal cell death following uptake of oxidized low-density lipoprotein. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(12), 1222-1233.
- Sundarraj, K., Raghunath, A., & Perumal, E. (2018). A review on the chemotherapeutic potential of fisetin: In vitro evidences. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 928-940.
- Wang, T., Lin, H., Tu, Q., Liu, J., & Li, X. (2016). Fisetin protects DNA against oxidative damage and its possible mechanism. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 6(2), 267.
- Williamson, G. (2017). The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition Bulletin*, 42(3), 226-235.
- Youdim, K. A., Joseph, J. A. (2001). A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: a multiplicity of effects. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(6), 583-594.
- Yousefzadeh, M. J., Zhu, Y. I., McGowan, S. J., Angelini, L., Fuhrmann-Stroissnigg, H., Xu, M., & Niedernhofer, L. J. (2018). Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan. *EBioMedicine*, 36, 18-28.
- Yue, Y., Chen, Y., Geng, S., Liang, G., Liu, B. (2018). Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of fisetin. *Natural Product Communications*, 13(11), 1934578X1801301119.
- Zhou, C., Huang, Y., Nie, S., Zhou, S., Gao, X., Chen, G. (2023). Biological effects and mechanisms of fisetin in cancer: a promising anti-cancer agent. *European Journal of Medical Research*, 28(1), 297.



## BÖLÜM 5

### YAŞLANMA ve ALZHEİMER ÜZERİNE PATOFİZYOLOJİSİ

Dr. Öğr. Üyesi Nigar ABBAK<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566526>

<sup>1</sup> Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Fizyoloji ABD, KARS, Türkiye. [nigar.tasdemiroglu@kafkas.edu.tr](mailto:nigar.tasdemiroglu@kafkas.edu.tr), Orcid ID: 0009-0008-8015-1541.



## GİRİŞ

Organizmada ilerleyen yaşla ortaya çıkan yapısal ve işlevsel gerilemelerin toplamı, fizyolojik kapasitelerin azalmasıdır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), yaşlanmayı “çevresel faktörlere uyum sağlayabilme yeteneğinin azalması” olarak tanımlamaktadır.

Biyolojik yaşlanmaya etki eden faktörler kişinin kendi ailevi yatkınlıkları ve aileden gelen genetik intrinsek faktörler olabilirken; ekstrinsek faktörler kişinin kendinin maruz kaldığı etkenler şeklinde gruplandırılabilir.

İntrinsek:

- Genetik

Ekstrinsek:

- Yaşam şekli; beslenme, egzersiz, stres, ...
- Çevresel faktörler; sıcaklık, travma, kirlilik, enfeksiyon, kaza, güneş ışınları, toksinler, ...

Organizmanın yaşlanması demek genel olarak;

- Hücre, doku, organ düzeyinde fonksiyonların azalması, bozulması, adaptasyon yeteneğinde azalma
- İç ve dış stres uyaranlarla başa çıkma yeteneğinin azalması
- Homeostazisin bozulması
- Hastalık ve ölüm

### 1. Neden yaşıyoruz?

Özellikle canlıdaki oksidatif stres ve diğer faktörlere bağlı hasarın oluşması ve hücrelerin hasar onarılmasında yetersiz kalmaları en önemli nedenler arasındadır. Ayrıca yaşlanmayı sağlayan tek bir mekanizma olmayıp multifaktöryel bir durumdur. Hücrelerdeki bozulan mekanizmaların uzun süre onarılamamasının temel mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir. Yaşlanmada etkili olan nedenler türe göre değişirken ayrıca kişinin genetik faktörleri ve maruz kaldığı çevresel faktörler yaşlanma sürecini hızlandırmakta ve yavaşlatabilmektedir (Kirkwood ve Austad, 2000).

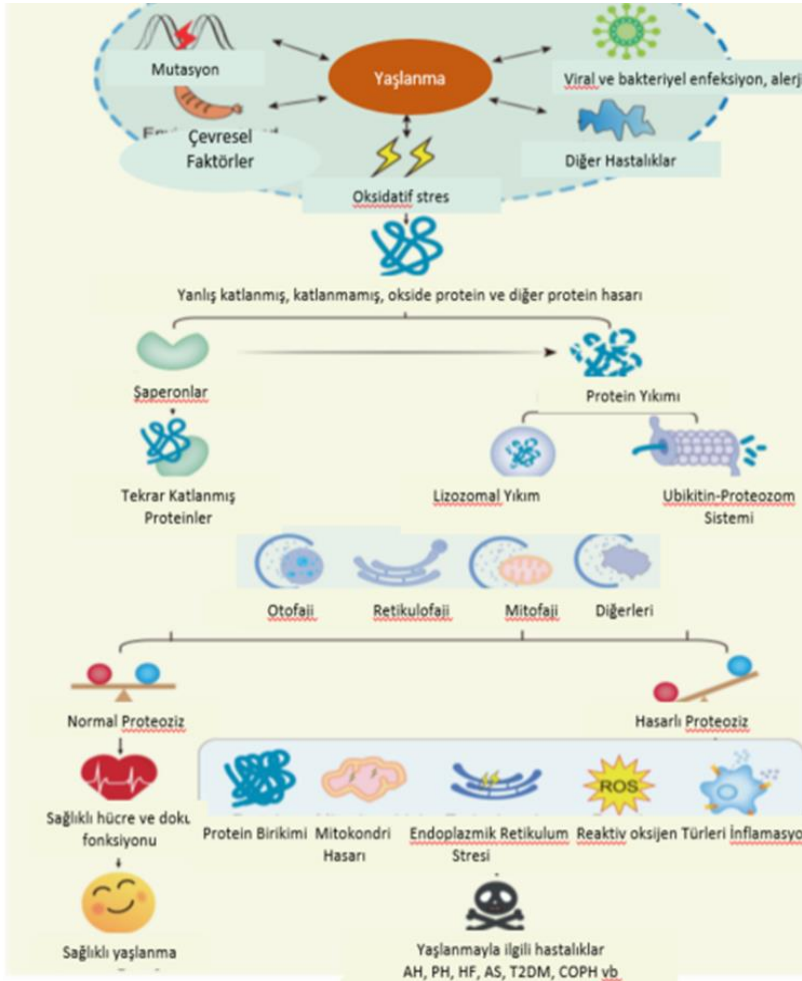
Yaşlanmayla bağlı hasarlanan mekanizmaların nedenlerini, bu süreç içerisinde gelişen hastalıkların ilişkilerini ve yaşlılık fizyolojisini inceleyen bilim dalına “gerontoloji (yaşlılık bilimi)” denmektedir. Yaşlı hastalara bakan bilim dalı ise “geriatri” olarak tanımlanmaktadır (Elsawy ve Higgins, 2011).

### **1.1. Yaşlanmayla İlişkili Hastalıklar**

Günümüzdeki bulgular, yaşlanmayla ilişkili hastalıkların ortak nedenlerinin olduğunu savunmaktadır. Yaşlanmaya bağlı gelişen hastalıkların ortak ayırt edici özelliklerinin olduğu iddia edilmektedir. Farklı organ ve sistemlerdeki çeşitli yaşlanmayla ilişkili hastalıkların kendi moleküler ayırt edici özelliklerinin bir kombinasyonu olarak ortaya çıktığı da kabul edilmektedir. Ancak mitokondriyal disfonksiyon, kusurlu otofaji, proteostaz kaybı, hücrel yaşlanmanın indüklenmesi ve hücreler arası iletişimin değişmesi çeşitli yaşlanmayla ilişkili hastalıkların ortak nedenleridir (Niccoli ve Partridge, 2012). Ancak yine de yaşlanmayı tetikleyen moleküler mekanizmaları ayrıntılı olarak açıklamak zorlu bir iştir. İnsan ömrü, doku ve organ onarımı ve rejeneratif potansiyelin azalmasıyla yakından ilişkilidir. Özellikle moleküler, hücrel ve sistematik düzeylerde, genetik, epigenetik ve çevresel düzenleyici faktörler, yaşlanmayı teşvik etmek için birlikte çalışan karmaşık moleküler mekanizmalar aracılığıyla strese yanıt olarak organizmanın fizyolojik rezervinde bir azalmaya neden olmaktadır (Meng ve ark., 2022; Mossad ve ark., 2022).

Yaşlanma ile insanlarda birçok kronik rahatsızlık arasında gerektiği kadar ilgi çektiği bir bağ olduğu düşünülürken ileri yaşlarda yaygın olarak görülen hastalıkların ortak olduğu öne sürülmektedir (Guo ve ark., 2022). Özellikle Alzheimer hastalığı (AH) (Knopman ve ark., 2021) ve Parkinson hastalığı (Hoehn ve Yahr, 1967) yaşa bağlı beyinde en çok görülen iki patofizyolojik süreç olarak kabul edilmektedir.

Özellikle yaşlanmayla beraber birçok faktöre bağlı olarak katlanamamış, yanlış katlanan proteinlerin sayısının artışı veya hatalı protein hasarı artışı görülmektedir. Protein katlanmasındaki hataların düzeltilmemesi, protein sentezi ve yıkımı arasındaki denge kaybı çok sayıda hücrel hasara bağlı gelişen hastalıklara neden olmaktadır (Şekil 1).



**Şekil 1:** Yaşlanmayla ilişkili hastalıklarda proteostaz için moleküler mekanizmalar. Yaşlanma, genetik mutasyonlar, çevresel faktörler, yaşam tarzı ve çeşitli diğer stresler; katlanmamış, yanlış katlanmış ve oksitlenmiş proteinlerin miktarında artışlara neden olur ve bu hatalı proteinler UPS'nin ve lizozomal proteolizin (seçici olmayan otofaji ve mitofaji ve retikülofaji gibi seçici otofaji dahil) aktivasyonuna yol açar. Şaperonlar katlanmamış proteinlerin yeniden katlanmasına yardımcı olmakla beraber otofagozomların ve ubikitin-proteazomların oluşumuna yardımcı olur. Dengeli proteostaz sağlıklı yaşlanmaya ve uzun bir ömrün önemli süreçlerindedir. Bozulmuş proteostaz, protein agregasyonunu, hücrel organellerin fonksiyon kaybını, artan ROS üretimini ve kronik inflamasyonu tetikler bu da birçok yaşlanmayla ilişkili hastalığın gelişmesine yol açar. (AH: Alzheimer hastalığı; PH: Parkinson hastalığı; HF: Kalp Hasarı; AS: Ateroskleroz; T2DM: Tip2 Diyabet Hastalığı; KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı) (Guo ve ark., 2022).



## 1.2. Yaşlanma ve Sinir Sistemi

Yaşlanmayla beraber sinir sisteminde ciddi bir nöron kaybı ve buna eşlik eden kortikal atrofi de görülmektedir. Yaşlanma ile görülen nöron kaybına rağmen kan akımı normal olduğu sürece beyin fonksiyonlarında önemli bir azalma olmayabilir. Özellikle yaşa bağlı demans gelişmektedir. Beyinde hipokampüsün tutulumuna bağlı olarak da sonraki sürecinde öğrenme ve bellek de zorlanmaktadır. Kişide yeni bilgileri öğrenme ve akılda tutma zorlaşırken yakın bellek bozulmaktadır. Özellikle yaşlanmayla beraber Alzheimer ve Parkinson en yaygın görülen sinir sistemiyle ilgili hastalıklardır (Tran ve Reddy, 2020).

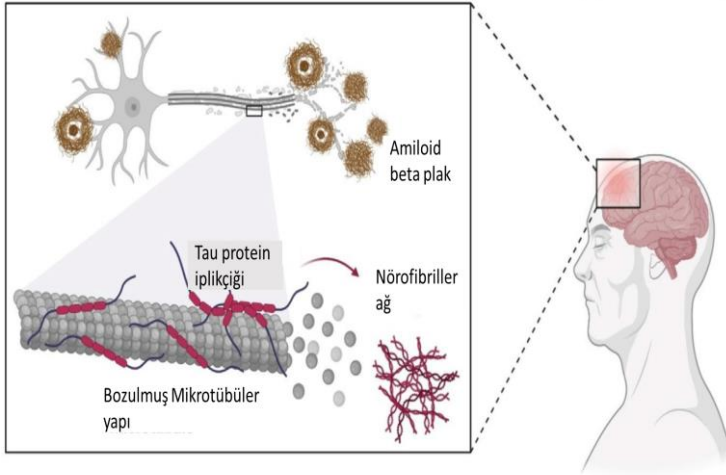
## 2. Alzheimer Hastalığı ve Patofizyolojisi

AH'nin de içinde bulunduğu nörodejeneratif hastalıkların çoğu yaşlanan dünyamızda ciddi bir sağlık problemi olarak görülmektedir. AH demansla beraber seyreden dünya genelinde en yaygın görülen nörodejeneratif hastalıktır. Demans, özellikle ileri yaşlardaki kişilerde görülen beyin hücrelerinin (nöron ve glial hücrelerin) dejenerasyona uğramasıyla ortaya çıkan bir hastalıktır (M. Prince ve ark., 2016). Demans kısaca, bellek, öğrenme, anlama, düşünme, oryantasyon, muhakeme ve dil gibi fonksiyonların bozulması ile karakterize santral sinir sisteminin ilerleyici tipte nörodejeneratif bir hastalığıdır (McKhann ve ark., 2011).

Dünyada en yaygın görülen ölüm nedenleri sıralamasında AH. 7'nci sırada yer alırken, dünyada 1 trilyon doların üzerinde maliyete yol açtığı belirtilmektedir. AH dünya genelinde en yaygın görülen demans tipi olmasına rağmen henüz tam olarak patofizyolojisi bilinmemektedir (Ješko ve ark., 2019). AH multifaktöryel temellere dayanmakla beraber hastalığın temel mekanizmaları aydınlatılması olası terapötik ajanların olasılığını arttırmaktadır. AH gibi diğer nörodejeneratif hastalıkların çoğunda tedavi, hastalığı durduraktan daha çok ilerlemesini yavaşlatmak amacıyla uygulanmaktadır.

AH patofizyolojisinde ekstraselüler alanda A $\beta$  proteinlerinin (senil plakların) birikimi ve mikrotübüller yapıda bulunan tau proteinlerinin fosforilasyonu (nörofibriler ağlar) yanlış katlanarak kümelenmesinin nörodejeneratif hasarı başlatan olaylar olduğu düşünülmektedir (Şekil 2) (Spire-Jones ve Hyman, 2014). Bu yanlış katlanan proteinlerin özellikle beyindeki hipokampüste birikimi AH'nin etiyojisine sebep olmakta genel

olarak uzak belleği etkilemekte, görsel-uzaysal yetenekleri azaltmaktadır (Townley ve ark., 2020). Tam olarak bu proteinlerdeki genetik bozulmanın nedenleri bilinmese de sonuç olarak oksidatif stres, serbest radikaller, nöroinflamasyon ajanların da artış ve nörotoksinlerde artış görülmektedir.

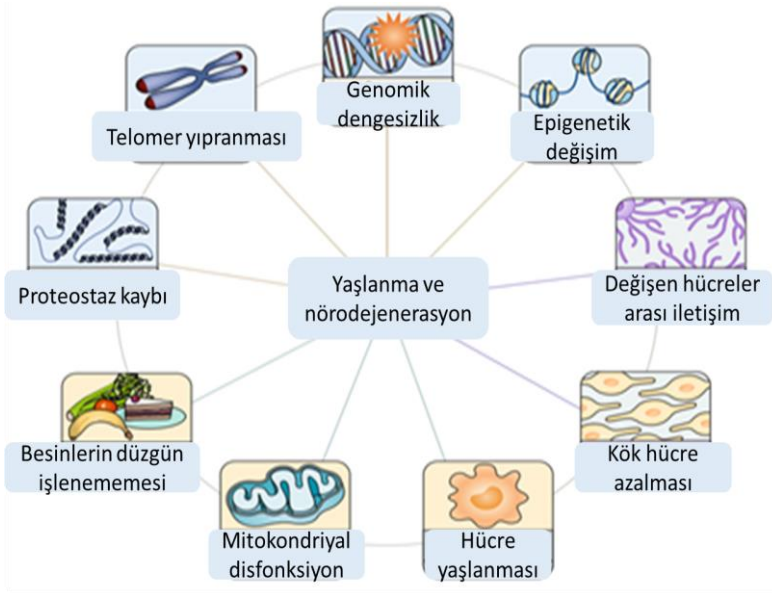


Şekil 2: AH beyinde patofizyolojik yapılar (Subramanian ve ark., 2022).

AH, çoğunlukla sporadik risk faktörlerine bağlı olarak daha çok 65 yaş ve üzerinde ortaya çıkmaktadır (Petersen ve ark., 2018). Ailevi tip kalıtılan AH erken dönemde ortaya çıkmakta olup %2'den daha az bir orana sahiptir. AH'da genetik yatkınlığı olan aileler moleküler çalışmalarla tespit edilebilirken koruyucu tedavi veya uygun tedaviye daha önce başlanabilmektedir (Haass ve ark., 2012; Jonsson ve ark., 2012). Ancak sporadik gelişen AH en yaygın görülenidir ve en önemli risk faktörü yaş ve yaşlanmanın getirdikleridir (Şekil 9). AH mültifaktöryel bir hastalık olması yanı sıra yaşlanmayla beraber serbest radikallerin, nörotoksinler, amiloid plakların artışı, nörotransmitter miktarında azalış ve bunlara bağlı olarak hücresel değişimlere kontrolsüz hücre ölümleriyle cevap verilmektedir (Nixon ve Yang, 2012).

Aβ birikimi 65 yaşındaki kişilerin yaklaşık %20'sinde ve 85 yaşındaki kişilerin yaklaşık %60'ında beyin Aβ düzeyi yüksek olabilmektedir ve ark., 2019). Dünyada 2050 yılına kadar 150 milyondan fazla insanın demanstan etkileneceğini ve AH'nin ilk sırada yer alacağını tahmin edilmektedir (Martin

Prince ve ark., 2015). Hastalığın temel mekanizmalarının belirlenmesi olası kullanılabilir tedavi ajanlarının sayısını ve başarı oranını yükseltecektir.



**Şekil 3:** Yaşlanmanın ayırt edici dokuz özelliği ve nörodejenerasyon - genomik dengesizlik, telomer yıpranması, epigenetik değişiklikler, mitokondriyal disfonksiyon, besinlerin düzgün işlenememesi, proteostaz kaybı, hücre yaşlanması, kök hücre azalması ve değişen hücreler arası iletişimle beraber çok sayıda nörodejeneratif hastalık (AH, PH, ALS, HD) riski artmaktadır (Hou ve ark. 2019).

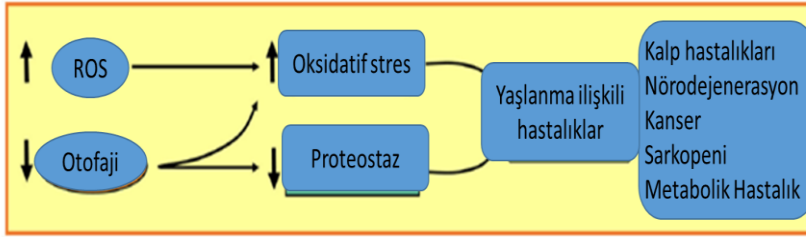
Otofaji, AH tedavi ve mücadelesinde yeni bir yaklaşım olup hastalığın temelini oluşturan protein birikiminin azalmasına sebep olmaktadır (Monaco ve Fraldi, 2020; Tran ve ark., 2020). AH’de otofajik alt yollara inebilen, otofaji ve nöron hücrelerinin yaşamasını destekleyen ilaç araştırmalarına gerek duyulmaktadır.

### 3. OTOFAJİ ve YAŞLANMA

Yaşlanma, tüm canlı organizmalarda meydana gelen doğal bir olay olup zamanla hasara ve hücre işleyişinin bozulmasına neden olmaktadır (Şekil 10) (Nakamura ve ark., 2018; Vellai ve ark., 2009). Yaşlanma, yaşlı bireylerde nörodejeneratif, kalp ve metabolik hastalıkların yanı sıra kanser gibi çeşitli

bozuklukların gelişimini teşvik edebilecek çeşitli özellikleri içermektedir (Thanan ve ark., 2014).

Yaşla birlikte otofajik aktivitenin azaldığı bilinmektedir (Hwang, ve ark., 2007). Böylece hücre içerisinde hasar görmüş makromoleküller ve organeller birikmektedir. Otofajik süreçteki başarısızlık, nörodejenerasyon, kanser vb hastalıkların yaşlanmayla ilişkilendirilmesine sebep olmaktadır (Barbosa ve ark., 2018). Otofajinin hücre aktivitesi üzerine olan etkisinin kötüye gitmesi yaşlanmanın ayırt edici özelliklerinden biri olduğu iddia edilmektedir. Bu yüzden yaşla beraber otofajik aktivitenin normal sürdürülmesinin ömrün uzamasına da katkıda bulunduğu savunulmaktadır. Otofajinin yaşlanmada nasıl bir rol oynadığını anlamak yaşlanma karşıtı biyokimyasal ve farmakolojik yaklaşımların geliştirilmesi açısından önemli olduğu kabul edilmektedir (Kocak ve ark., 2022)



Şekil 4: Yaşlanmanın oksidatif stres ve otofaji üzerine etkileri (Barbosa ve ark., 2018).

Yaşlanmanın otofaji ve redoks üzerindeki etkisine bağlı ortaya çıkan hastalıklar (Barbosa ve ark., 2018). Son 50 yılda özellikle yaşlanmayla ilgili çok sayıda araştırma bulunmaktadır ve bu durdurulamaz süreci açıklamaya çalışmaktadır. Yaşlanmayla ilgili çok sayıda teori bulunmaktadır. Bunlardan en popüler olanı, biyomoleküllerin oksidatif hasarıyla oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimi ve bunun sonucunda hücre işleyişinin azaldığını varsayan serbest radikaller (veya oksidatif stres) yaşlanma teorisidir (Lipsky ve King, 2015). Önemli sayıda kanıt bu teoriyi desteklemektedir, hücreler yaşlandıkça ROS seviyelerindeki artış yanında antioksidan sistemlerdeki azalışa bağlı olarak hastalık riski giderek artmaktadır (Bokov ve ark., 2004; Finkel ve Holbrook, 2000). Özellikle yaşa bağlı otofaji ve redoks homeostazının bozulmasının hastalıklarla olan ilişkisi çok sayıda hayvan (maya, nematod, sinek ve memeliler) çalışmasında gösterilmiştir (Markaki ve ark., 2017).

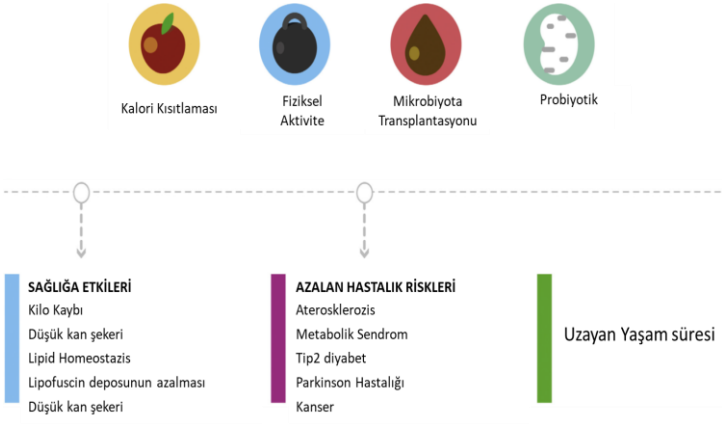
Yapılan bir çalışmada Atg5 gen ekspresyonu artan farelerde yabancı tip farelerle karşılaştırıldığında otofaji sürecinde ve yaşlanma karşıtı olaylarda artış tespit edilmiştir. Farelerdeki yaşam süresi uzamıştır ve otofajinin uzun bir ömre olan katkısı gösterilmiştir (Pyo ve ark., 2013). Yapılan başka bir çalışmada yaşlı farelere şaperon aracılı otofaji için lizozomal reseptörün ekspresyonu artırılarak transgenik fare modeli ile çalışılmıştır. Sonuçlar, bu reseptörün güçlendirilmesinin hücresel ve organ seviyelerinde yaşlanma özelliklerini önleyebileceğini ortaya koymuştur (Zhang ve Cuervo, 2008). Ek olarak, Atg5'i aşırı ifade eden farelerde, yaşa bağlı obeziteye ve artan insülin duyarlılığına karşı bir direnç ve bu yaşlı bireylerde metabolizmanın daha düzenli olduğu gösterilmiştir (Pyo ve ark., 2013). Bahsedilen çalışmalara rağmen, birkaç çalışma ise tek bir otofajik bileşenin regülasyonunun ömrü uzatabileceğini gösterememiştir (Liang ve ark., 2003). BECLIN1 düzeyleri yüksek olan yaşlı insanların otofajilerindeki artışın uzun bir yaşamı belirlediği vurgulanmaktadır (Emanuele ve ark., 2014). Atg genlerinin nakavt edilmesinin farelerde ölümcül olduğu gösterilmiştir (Rubinsztein ve ark., 2011). Otofaji ayrıca kanserde tümörün ilerlemesi ve devamlılığını baskılamasının yanında tümör oluşumunda da önemli bir role sahiptir (Jiang, Overholtzer, ve Thompson, 2015; Taji ve ark., 2017). Yaşla beraber kaslarda (Taji ve ark., 2017), kalpte (Yan ve Finkel, 2017) ve diğer birkaç dokuda otofagozomlar, UPS (Hohn ve ark., 2017) bir şekilde azaldığı gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada yaşlanmış dermal insan fibroblastlarındaki proteazom alt birimlerinin ekspresyonunun artışı, yaşlanmış fenotipi iyileştirdiği ve ubikuitine proteinlerinin arttığı gösterilmiştir (Hwang ve ark., 2007). Aynı şekilde, düşük proteazomal aktiviteye sahip transgenik farelerde, oksitlenmiş ve ubikitinlenmiş proteinler birikerek yaşlanma fenotipi ve yaşa bağlı metabolik hastalıklar hızlandığında başka bir çalışmada tespit edilmiştir (Tomaru ve ark., 2012). Proteazom aktivitesinin inhibisyonu, hücre proliferasyonunu bozmakta ve yaşam süresini kısaltmaktadır (Torres ve ark., 2006).

Otofaji, homeostatik bir süreç olarak hücre fizyolojisinin korunmasında ve sonuçta ortaya çıkabilecek iç veya dış hasarların önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Yaşlanma Şekil 3'te gösterildiği gibi yaşlanma sürecindeki dokuz kritik moleküler mekanizma özellikle yaşlanmanın potansiyel biyobelirteçleridir. Yaşlanmayla beraber sürecin getirdiği bu temel patofizyolojik durumlar, NH hastalıkların görülme sıklığını arttırmaktadır. Yaşlılıkla beraber özellikle otofaji yollarını aktivitesinde ve

protein homeostazisindeki dengenin yıkım yönünde kayması NH'nın en yaygın olarak görüldüğü AH sürecini hızlandırmaktadır. Yaşlanma sürecinin kendisi birçok risk faktörünü beraberinde getirmekle beraber bu süreç içerisinde yapılabileceklerin süreci yönetmek adına faydalı olabilmektedir. Hem yaşam stilineki değişiklikler hem de süreç boyunca yapılabilecek takviyeler sağlıklı bir yaşlanmayı beraberinde getirebilmektedir.

### **3.1 Yaşlanma Sürecinde Yapılabilecekler ve İlgili Hastalıklara Uygulanabilecek Olası Tedaviler**

Yaşlanma, strese direnme yeteneğinde kademeli bir azalmaya yol açan ve çeşitli hastalıklara katkıda bulunan birçok faktörün artışına neden olan kaçınılmaz bir süreçtir. Yaşlanmayla ilişkili hastalıklar olmadan sağlıklı uzun bir ömür, eski zamanlardan beri insanlar tarafından takip edilmiştir. Yaşlanmayla ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavisi umut verici ancak zordur. Yaşlanmanın birçok ortak mekanizması olduğu düşünülse de yaşlanmayla ilişkili hastalıkların gelişiminde farklılıklar da vardır. Kalori kısıtlaması (KK), beslenme, egzersiz ve bağırsak mikrobiyotası nakli gibi yaşlanmayla ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için ilaç dışı tedavi yöntemleri ilgi çekmektedir. Bunun yanı sıra yaşlanma mekanizmalarını ve yaşlanmayla ilişkili hastalıkların semptomlarını hedefleyen ilaç tedavileri de günümüzde ilgi görmektedir (Şekil 5). Yaşlanmayla ilişkili hastalıklara müdahale ve tedavi yöntemleri laboratuvar ve klinik çalışmalarla desteklenmektedir. Şekil 5'teki kalori kısıtlaması veya fiziksel aktivite gibi yöntemler farmakolojik müdahaleler olmayıp özellikle antiinflamatuvar ve antioksidan etkiyle yaşlanma kalitesini yükseltebilmektedir (Guo ve ark., 2022). Günümüzde olası farmakolojik müdahaleler de yaşlanmanın temel mekanizmasında rol oynayan moleküler düzeyi düzenleyerek yaşlanma kalitesini yükseltmeye katkı sunmaktadır.



**Şekil 5:** Bazı yöntemlerle yaşam kalitesinin arttığını şematik gösterimi (Vaiserman ve ark., 2017).

## KAYNAKLAR

- Barbosa, M. C., Grosso, R. A., & Fader, C. M. (2018). Hallmarks of Aging: An Autophagic Perspective. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 790. doi:10.3389/fendo.2018.00790
- Bokov, A., Chaudhuri, A., & Richardson, A. (2004). The role of oxidative damage and stress in aging. *Mech Ageing Dev*, 125(10-11), 811-826. doi:10.1016/j.mad.2004.07.009
- Elsawy, B., & Higgins, K. E. (2011). The geriatric assessment. *Am Fam Physician*, 83(1), 48-56.
- Emanuele, E., Minoretti, P., Sanchis-Gomar, F., Pareja-Galeano, H., Yilmaz, Y., Garatachea, N., & Lucia, A. (2014). Can enhanced autophagy be associated with human longevity? Serum levels of the autophagy biomarker beclin-1 are increased in healthy centenarians. *Rejuvenation Research*, 17(6), 518-524.
- Finkel, T., & Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239-247. doi:10.1038/35041687
- Guo, J., Huang, X., Dou, L., Yan, M., Shen, T., Tang, W., & Li, J. (2022). Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduct Target Ther*, 7(1), 391. doi:10.1038/s41392-022-01251-0
- Haass, C., Kaether, C., Thinakaran, G., & Sisodia, S. (2012). Trafficking and proteolytic processing of APP. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2(5), a006270. doi:10.1101/cshperspect.a006270
- Hoehn, M. M., & Yahr, M. D. (1967). Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology*, 17(5), 427-442. doi:10.1212/wnl.17.5.427
- Hohn, A., Weber, D., Jung, T., Ott, C., Hugo, M., Kochlik, B., . . . Castro, J. P. (2017). Happily (n)ever after: Aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence. *Redox Biol*, 11, 482-501. doi:10.1016/j.redox.2016.12.001



- Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S. G., Croteau, D. L., & Bohr, V. A. (2019). Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology*, *15*(10), 565-581.
- Hwang, J. S., Hwang, J. S., Chang, I., & Kim, S. (2007). Age-associated decrease in proteasome content and activities in human dermal fibroblasts: restoration of normal level of proteasome subunits reduces aging markers in fibroblasts from elderly persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *62*(5), 490-499. doi:10.1093/gerona/62.5.490
- Jack, C. R., Jr., Thorneau, T. M., Weigand, S. D., Wiste, H. J., Knopman, D. S., Vemuri, P., . . . Petersen, R. C. (2019). Prevalence of Biologically vs Clinically Defined Alzheimer Spectrum Entities Using the National Institute on Aging-Alzheimer's Association Research Framework. *JAMA Neurol*, *76*(10), 1174-1183. doi:10.1001/jamaneurol.2019.1971
- Jęsko, H., Wencel, P. L., Lukiw, W. J., & Strosznajder, R. P. (2019). Modulatory effects of fingolimod (FTY720) on the expression of sphingolipid metabolism-related genes in an animal model of Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology*, *56*, 174-185.
- Jiang, X., Overholtzer, M., & Thompson, C. B. (2015). Autophagy in cellular metabolism and cancer. *J Clin Invest*, *125*(1), 47-54. doi:10.1172/JCI73942
- Jonsson, T., Atwal, J. K., Steinberg, S., Snaedal, J., Jonsson, P. V., Bjornsson, S., . . . Stefansson, K. (2012). A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature*, *488*(7409), 96-99. doi:10.1038/nature11283
- Kirkwood, T. B., & Austad, S. N. (2000). Why do we age? *Nature*, *408*(6809), 233-238. doi:10.1038/35041682
- Knopman, D. S., Amieva, H., Petersen, R. C., Chetelat, G., Holtzman, D. M., Hyman, B. T., . . . Jones, D. T. (2021). Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Primers*, *7*(1), 33. doi:10.1038/s41572-021-00269-y
- Kocak, M., Ezazi Erdi, S., Jorba, G., Maestro, I., Farres, J., Kirkin, V., . . . Pless, O. (2022). Targeting autophagy in disease: established and new

- strategies. *Autophagy*, 18(3), 473-495.  
doi:10.1080/15548627.2021.1936359
- Liang, H., Masoro, E. J., Nelson, J. F., Strong, R., McMahan, C. A., & Richardson, A. (2003). Genetic mouse models of extended lifespan. *Exp Gerontol*, 38(11-12), 1353-1364.  
doi:10.1016/j.exger.2003.10.019
- Lipsky, M. S., & King, M. (2015). Biological theories of aging. *Dis Mon*, 61(11), 460-466. doi:10.1016/j.disamonth.2015.09.005
- Markaki, M., Metaxakis, A., & Tavernarakis, N. (2017). The role of autophagy in aging: molecular mechanisms. In *Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging* (pp. 123-138): Elsevier.
- McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack Jr, C. R., Kawas, C. H., . . . Mayeux, R. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia*, 7(3), 263-269.
- Meng, J., Lv, Z., Wang, Y., & Chen, C. (2022). Identification of the redox-stress signaling threshold (RST): Increased RST helps to delay aging in *C. elegans*. *Free Radic Biol Med*, 178, 54-58.  
doi:10.1016/j.freeradbiomed.2021.11.018
- Monaco, A., & Fraldi, A. (2020). Protein Aggregation and Dysfunction of Autophagy-Lysosomal Pathway: A Vicious Cycle in Lysosomal Storage Diseases. *Front Mol Neurosci*, 13, 37.  
doi:10.3389/fnmol.2020.00037
- Mossad, O., Batut, B., Yilmaz, B., Dokalis, N., Mezo, C., Nent, E., . . . & Blank, T. (2022). Gut microbiota drives age-related oxidative stress and mitochondrial damage in microglia via the metabolite N(6)-carboxymethyllysine. *Nat Neurosci*, 25(3), 295-305.  
doi:10.1038/s41593-022-01027-3
- Nakamura, S., & Yoshimori, T. (2018). Autophagy and longevity. *Molecules and cells*, 41(1), 65-72.

- Niccoli, T., & Partridge, L. (2012). Ageing as a risk factor for disease. *Curr Biol*, 22(17), R741-752. doi:10.1016/j.cub.2012.07.024
- Nixon, R. A., & Yang, D. S. (2012). Autophagy and neuronal cell death in neurological disorders. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 4(10). doi:10.1101/cshperspect.a008839
- Petersen, R. C., Lopez, O., Armstrong, M. J., Getchius, T. S., Ganguli, M., Gloss, D., . . . Day, G. S. (2018). Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 90(3), 126-135.
- Prince, M., Ali, G. C., Guerchet, M., Prina, A. M., Albanese, E., & Wu, Y. T. (2016). Recent global trends in the prevalence and incidence of dementia, and survival with dementia. *Alzheimers Res Ther*, 8(1), 23. doi:10.1186/s13195-016-0188-8
- Prince, M., Wimo, A., Guerchet, M., Ali, G.-C., Wu, Y.-T., & Prina, M. (2015). *World Alzheimer Report 2015. The Global Impact of Dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends*. Alzheimer's Disease International,
- Pyo, J. O., Yoo, S. M., Ahn, H. H., Nah, J., Hong, S. H., Kam, T. I., . . . Jung, Y. K. (2013). Overexpression of Atg5 in mice activates autophagy and extends lifespan. *Nat Commun*, 4, 2300. doi:10.1038/ncomms3300
- Rubinsztein, D. C., Marino, G., & Kroemer, G. (2011). Autophagy and aging. *Cell*, 146(5), 682-695. doi:10.1016/j.cell.2011.07.030
- Spires-Jones, T. L., & Hyman, B. T. (2014). The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease. *Neuron*, 82(4), 756-771. doi:10.1016/j.neuron.2014.05.004
- Taji, F., Kouchesfahani, H. M., Sheikholeslami, F., Romani, B., Baesi, K., Vahabpour, R., . . . Abdoli, A. (2017). Autophagy induction reduces telomerase activity in HeLa cells. *Mech Ageing Dev*, 163, 40-45. doi:10.1016/j.mad.2016.12.011
- Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., . . . Murata, M. (2014). Oxidative stress and its significant roles in

- neurodegenerative diseases and cancer. *Int J Mol Sci*, 16(1), 193-217. doi:10.3390/ijms16010193
- Tomaru, U., Takahashi, S., Ishizu, A., Miyatake, Y., Gohda, A., Suzuki, S., . . . Kasahara, M. (2012). Decreased proteasomal activity causes age-related phenotypes and promotes the development of metabolic abnormalities. *Am J Pathol*, 180(3), 963-972. doi:10.1016/j.ajpath.2011.11.012
- Torres, C., Lewis, L., & Cristofalo, V. J. (2006). Proteasome inhibitors shorten replicative life span and induce a senescent-like phenotype of human fibroblasts. *J Cell Physiol*, 207(3), 845-853. doi:10.1002/jcp.20630
- Townley, R. A., Graff-Radford, J., Mantyh, W. G., Botha, H., Polsinelli, A. J., Przybelski, S. A., . . . Jones, D. T. (2020). Progressive dysexecutive syndrome due to Alzheimer's disease: a description of 55 cases and comparison to other phenotypes. *Brain Commun*, 2(1), fcaa068. doi:10.1093/braincomms/fcaa068
- Tran, M., & Reddy, P. H. (2020). Defective Autophagy and Mitophagy in Aging and Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*, 14, 612757. doi:10.3389/fnins.2020.612757
- Vaiserman, A. M., Koliada, A. K., & Marotta, F. (2017). Gut microbiota: A player in aging and a target for anti-aging intervention. *Ageing Res Rev*, 35, 36-45. doi:10.1016/j.arr.2017.01.001
- Vellai, T., Takács-Vellai, K., Sass, M., & Klionsky, D. J. (2009). The regulation of aging: does autophagy underlie longevity? *Trends in cell biology*, 19(10), 487-494.
- Yan, Y., & Finkel, T. (2017). Autophagy as a regulator of cardiovascular redox homeostasis. *Free Radical Biology and Medicine*, 109, 108-113.
- Zhang, C., & Cuervo, A. M. (2008). Restoration of chaperone-mediated autophagy in aging liver improves cellular maintenance and hepatic function. *Nat Med*, 14(9), 959-965. doi:10.1038/nm.1851



## BÖLÜM 6

### EEG ve OLAYA İLİŞKİN POTANSİYELLER

Dr. Öğr. Üyesi Nigar ABBAK<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566556>

<sup>1</sup> Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Fizyoloji ABD, KARS, Türkiye. [nigar.tasdemiroglu@kafkas.edu.tr](mailto:nigar.tasdemiroglu@kafkas.edu.tr), Orcid ID: 0009-0008-8015-1541.



## GİRİŞ

Elektroensefalogram (EEG), kafa yüzeyine yerleştirilen belli sayıda kanal içeren elektrod kepleri veya direk elektrodlar aracılığı ile korteksteki çok sayıda sinir hücresinin postsinaptik potansiyellerin kaydedilmesine dayanmaktadır (Basar ve Gonder, 1975). Bu yöntemde beynin uyku, uyanıklık dinlenme durumuna göre verilen göreve göre alınan EEG çıktısı değişebilmektedir. Bu sebeple EEG, beyindeki yapısal özellikler veya sıkıntılar hakkında değil daha çok beynin fonksiyonel durumu hakkında bilgi vermektedir.

Uyarılmış potansiyeller (*Evoked Potentials*); görsel, işitsel vb. duyuşsal uyarıların verilmesi sonucu kortikal sinir hücrelerinde ortaya çıkan elektriksel potansiyel değişimleridir. Uyarılmış potansiyeller, beyindeki işlev durumuna bağılı olarak değişen potansiyeller olup etiyolojiye özgü değildir. (Emerson, 1998). Ancak klinikte ek bilgi olarak kullanılması yararlı olabileceğı düşünölmektedir. Uyarılmış potansiyellerin kaydedilmesi hem zaman bakımından bilgisayarda hızlı ayarlanabilmesi hem de cihaz bakımından çok pahalı olmaması daha uygulanabilir kılmaktadır (Jorge ve ark., 2014). Ayrıca bilinçli olarak kontrol edilemediğı için bize objektif bilgi sağlamaktadır (Olsson ve Phelps, 2007). "Olaya İlişkin Potansiyel" (*Event Related Potentials- OİP*) karmaşık ve güröltü EEG dalgalarını daha doğrusal bir hale getirerek yüksek dereceli istatistiksel değeri vermektedir (Vaughan Jr, 1969). OİP, belli uyarınlara bağılı farklı beyin bölgeleri arasındaki etkileşimleri anlamamızda veya öngörüde bulunmamızda yardımcı olmaktadır.

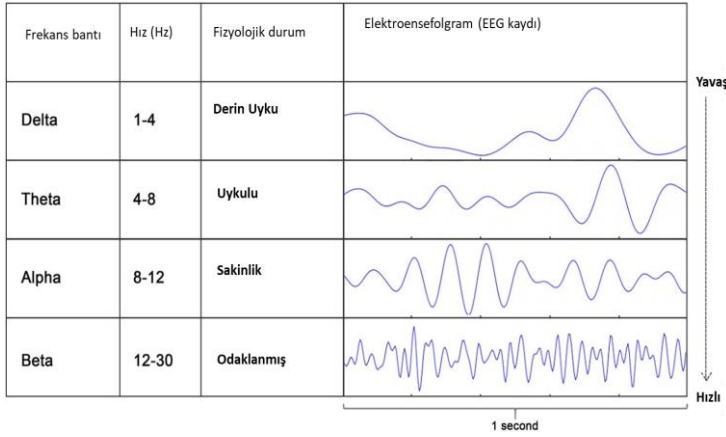
Olaya ilişkin potansiyeller, tekrar eden belirli bir uyarana bağılı bilişsel tepkileri ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Sur ve Sinha, 2009). Bir olayla alakalı oluşun beyin potansiyelleri olmasından dolayı da "Olaya İlişkin Potansiyel" terimi kullanılmaktadır (Vaughan Jr, 1969). OİP deneylerinde *odd-ball paradigması* kullanılarak kişiye standart uyarınlara arasında rastgele değişen daha az sayıda hedef uyarın verilirken bu uyarınlara ilgili bir görev yapması veya sorulara cevap vermesi istenebilir (Ebmeier ve ark, 1995). Odd-ball paradigmasında genellikle oluşun dalgalarındaki genlik ( $\mu V$ : mikrovolt) ve gecikme (ms: milisaniye) değeri değerlendirilmektedir (Johnson, 1995). Genlik, ortalama başlangıç çizgisi ile belirli bir zaman aralığındaki en büyük tepe arasındaki farkı belirlerken, gecikme, uyarın başlangıcı ile en büyük tepe arasındaki süreyi tanımlamaktadır. OİP bilinç ve bilinçaltı seviyelerinde



sunulan farklı uyaranların beyinde işlenmesiyle ilgili önemli bilgiler sağlamaktadır (Bernat ve ark., 2001).

## 1. EEG

EEG, çok sayıda kortikal sinir hücresinin spontan elektriksel aktivitesindeki post sinaptik potansiyellerin dalgalar şeklinde kafatası yüzeyinden kaydedilmesidir (Basar ve ark., 1975). EEG dalgalarının amplitüd ve frekansı belirli bilgisayar yazılımları sayesinde ölçülebilmektedir. EEG dalgalarının amplitüdü (büyüklüğü)  $\mu\text{V}$  cinsinden ölçülürken frekansları Hertz (Hz) olarak değerlendirilmektedir. EEG'de oluşan dalgalar, frekanslarına (1 saniye içinde meydana gelen dalgaların sayısı) göre sınıflandırılmaktadır. Nöronların uyarılma hızı EEG kaydındaki dalgaların frekansı olarak yorumlanmaktadır. EEG'deki beş ana dalga frekansları düşükten en yükseğe doğru sıralarsak eğer; delta, teta, alfa, beta ve gama olarak frekanslarına göre sınıflandırılmaktadır (Nidal ve Malik, 2014). Ancak EEG kaydında beyinden alınan elektriksel aktiviteye bağlı elektrik akımı çok küçüktür. İlgili beyin bölgelerindeki ilgili elektriksel potansiyel değişimini ölçebilmek için bir amplifikatöre mutlaka ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla amplifikatörler kullanılmaktadır. Bir EEG çıktısı tipik olarak frekans bantlarına ve morfolojisine göre incelenmektedir. Yapılan çalışmalar, en yavaş ritimlerin inaktif beyin bölgelerinde olması ve en hızlı ritimlerin ise beynin bilgiyi işlediği beyin alanlarında olması güçlü bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Böyle bir bağlamda, derin uykunun yüksek genlikli ve düşük frekanslı salınımlarla, uyanıklığın ise düşük genlikli ve yüksek frekanslı salınımlarla karakterize edildiği gözlenmektedir (Saia ve ark., 2023).



**Şekil 1:** EEG bantları yavaştan hızlıya doğru ve zihinsel durumla olan fizyolojik ilişkisi (Saia ve ark., 2023)

Delta ( $\delta$ ) Dalgaları: 3,5 Hz'in altı frekanslara inen beyin dalgalarıdır. Erişkinlerde ve her yaştaki çocuk grubunda uykunun derin uyku kısmında gözlenir. Ancak erişkinlerde uyanırken görülmesi patolojiktir (Hammond, 2007). Teta ( $\theta$ ) Dalgaları: Bu dalgalar; 3,5–7,5 Hz frekansındadır ve "yavaş" aktivite dalgalarıdır. 13 yaşına kadar çocuklarda ve uykuda normaldir, ancak uyanık yetişkinlerde anormaldir (Zhang ve ark., 2005). Alfa ( $\alpha$ ) Dalgaları: 7,5 ile 12,5 Hz arasında bir frekansa sahip bant dalgalarıdır. Gözleri kapalı ve gevşek durumda iken özellikle kafanın her iki arka tarafında çıkması normaldir. herhangi bir mekanizmaya (düşünme, hesaplama) konsantre olurken kaybolmaktadır (Niedermeyer, 2011). Beta ( $\beta$ ) Dalgaları: 12,5 ile 30,0 Hz arasında bir frekansa sahip banttır. Her iki tarafta en çok frontalde belirgin olabilmektedir. Uyanık, endişeli veya gözleri açık olan kişilerde baskın ritimdir.

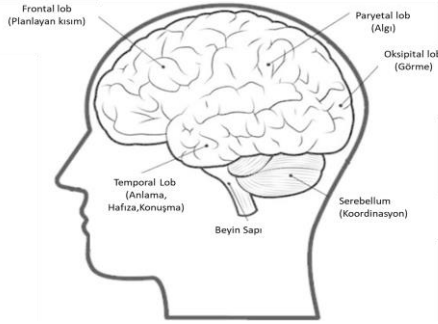
Belirli beyin bölgelerinin çeşitli davranış, düşünce veya görev sırasında değişen elektriksel aktivitesi o bölgenin ilgili durum sırasında bir rol oynayıp oynamadığı hakkında bize bilgi verebilmektedir. Ayrıca temelde kullanılan cihazlar genelde düşük maliyetli olarak kabul edilmektedir. EEG, beyin görüntülemeyi sağlayan bir teknik olan MRI (manyetik rezonans görüntüleme) yöntemine göre zamansal çözünürlüğü daha fazla olup uzaysal çözünürlüğü düşüktür. Ancak zihinsel işlevleri ve bu işlevlerin nöral temellerini araştırmada en fazla kullanılan tekniklerdendir. EEG, sadece hafif bir kafa bandı/kulaklık takmayı gerektirmektedir. EEG kepleri günümüzde az maliyetli olup ekstrakraniyal EEG kaydı almamızı sağlamaktadır. Kişiye

verilen bir görev sırasında veya bilgisayar oyunu oynatırken bile kolayca kayıt almamızı sağlayan (Emotiv EPOC®, Imec's wireless EEG headset, NeuroFocus MyndTM, Neurokeeper's headset, NeuroSky Mindwave®) taşınabilir ve çok da pahalı olmayan EEG başlıkları kullanılmaktadır (de Lissave ark.2015). Bu durum özellikle daha yaygın kullanılan ekstrakraniyal teknikler için geçerliken, daha fazla maliyetli ve hassasiyet gerektiren intrakraniyal teknikler çok küçük elektrodlarla tek bir nöronun elektriksel aktivitesi kayıt edilebileceği gibi klinikte hastalıkların yorumlanmasında daha fazla hassasiyet sağlamaktadır ( Nidal ve Malik, 2014; Bayrak ve ark., 2019). Ekstrakraniyal EEG'lerde ıslak EEG kullanımına dikkat edilmeli bir iletken jel kafa derisiyle elektrodların arasına sürülmelidir. Böylece elektrotlar ve kafa derisi arasındaki bağlantının kullanılabilirliği garanti altına alınır (Liu ve ark., 2022). Direnci en aza indirmek için, pratik uygulamalarda sıklıkla Faraday kafesinde deney yapılmalıdır (Liu ve ark., 2022).

### 1.1. Beyin Bölgeleri ve EEG kaydı

Beyin bölgeleri belli durumlar için özelleşmişlerdir. Bu sebeple uyaran çeşidine göre belli beyin bölgelerinin diğer bölgelere kıyasla elektriksel cevabının farklı olduğu bilinmektedir. İlgili bölgelerin amplitüd, frekans gibi parametrelerinin değiştiği görülmektedir. Örneğin; yüz uyarını ile ilgili elektrofizyolojik kayıtlarda özellikle oksipitotemporal elektrotlarda negatif yönde büyük amplitüdü OİP bileşeni ortaya çıkmıştır (Bentin ve ark. 1996). N170 olarak adlandırılan bu OİP değeri yüz içeren uyaranlardan sonraki 140 ile 200ms arasında yüz olmayan uyaranlara göre büyük genlikle oluşan OİP bileşeni olarak kabul edilmektedir (Itier ve Taylor, 2002; Jemel ve ark., 2003; Joyce ve Rossion, 2005). Özellikle bu uyaranların elektriksel kayıtlarında beyinde yüz işleme alanı olarak bilinen füsiform yüz alanı (*füsiform face area- FFA*)'nın bulunduğu (Kanwisher ve ark., 1997) sağ lateral oksipital yüz alanı (*okspital face area-OFA*) (Gauthier ve Logothetis, 2000) ve süperiyor temporal sulkus (Hoffman ve ark., 2000) beyin bölgelerinin etkisi olduğu bilinmektedir. Beynimizin en büyük alanı, frontal, temporal, parietal ve oksipital loblardan oluşan kortekstir ve farklı uyaranlara karşı farklı beyin bölgeleri EEG kaydını daha güçlü etkilemektedir. Frontal lob bilinçli düşünceyle (yönetici işlevler) ilgilidir; temporal lob hafıza, anlama ve dil, yüz ve sahne tanıma gibi karmaşık uyaranların işlenmesiyle ilgilidir; parietal lob farklı duylardan gelen duysal bilgi entegrasyonu ve nesnelerin manipülasyonu (algı) ilgilidir; oksipital lob ise görmeyle ilgilidir. Ek

olarak, beynin arkasında, oksipital ve temporal lobların altında bulunan serebellum, motor becerilerle ilgili koordinasyonu ve hareketi yönetir (Saia ve ark., 2023). Beyin bölgelerinin daha çok aktif olduğu uyarıcılar sırasında alınan EEG kaydında aktif olmayan bölgelere göre elektriksel potansiyellerin farklı olması dikkat çekicidir.



Şekil 2: Beyin bölgeleri ve işlevleri (Saia ve ark., 2023)

Elektrotlar, Şekil 3'te gösterilen *uluslararası 10-20 sistemine* göre kafa derisine yerleştirilmektedir çalışılmaktadır. Bu, elektrotların konumu ile alttaki serebral korteks alanı arasındaki ilişki araştırmacıya bir kılavuz görevi görmektedir. Her konum, lobu ifade eden bir harf ve yarı küre konumunu ifade eden bir sayı ile belirtilmektedir. Daha ayrıntılı bakacak olursak C, F, P, O ve T harfleri merkezi, frontal, parietal, oksipital ve temporal lobları belirtir. Elektrotla ilgili merkez lobu tanımlama ve potansiyeli hakkında yorum getirmek için kullanılmaktadır. Benzer şekilde, çift sayılar sağ yarı küreyi, tek sayılar ise sol yarı küreyi belirtmektedir (Alarcao ve Fonseca, 2017).



Şekil 3: Modern taşınabilir EEG kepi (*waveguard™ EEG cap*) ve EEG amplifikatörü (*ANT Neuro*) (Biasiucci ve ark., 2019)

## 2. Beyin Aktivitesi ve OİP

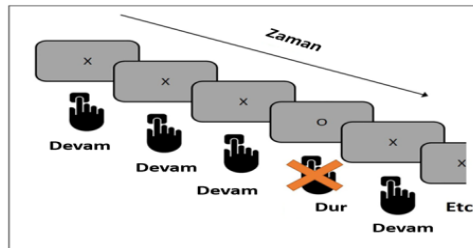
EEG bantlarının frekans ve amplitüdüleri beyin bölgeleri hakkında bize bilgi verse de her şeyin cevabını vermemektedir. Beynin duyduğu, gördüğü uyarılar sırasındaki aktivitesi daha çok OİP'ler ile araştırılmaktadır (Nidal ve ark., 2014). OİP araştırılırken belirli uyarılar sıklıkla tekrarlanarak verilir ve bilgisayara kaydedilen EEG sinyal parçaları araştırılır (Srinivasan ve ark., 2006). Bu yöntemi kullanmak için, katılımcı, bilgisayarda özel olarak tasarlanmış bir senaryoyu bilgisayar ekranından dinlerken veya izlerken EEG kaydedilmektedir (Biasucci ve ark., 2019). Bu sırada verilen uyarıların süresi, tekrar sayıları farklı olabilir. OİP'lerin incelenmesinde bilgisayarda özel olarak tasarlanmış uyarılar kişide dürtü, duygusal değişim, düşünme veya motor bir aktiviteye neden olmalıdır (Cichocki ve ark., 2007). OİP'ler kelimelerin (Chapman ve ark., 1980), yüzlerin (Kayser ve ark., 1997) ve resimlerin (Johnston ve ark., 1986; Yee ve ark., 1987) vb. uyarıların bilinç veya bilinçaltı düzeyinde sunulmasına karşı duyarlıdır. Daha çok bilinç düzeyinde verilen uyarılara karşı araştırmalar fazla iken bilinçaltı düzeyde verilen uyarılara karşı oluşan OİP'lerle ilgili daha az sayıda çalışma bulunmaktadır.

OİP'lerin oluşmasında uyarıların pek çok kez tekrarlanması gerekmektedir. Böylece nöronların senkronize bir şekilde aktif olması küçük ve geçici potansiyel değişimlerine sebep olmaktadır (Rees ve ark., 2002). Beyin hiç bir zaman sessiz kalmaz ancak uyarıya bağımlı olarak ortaya çıkan ve bilişsel işlevleri yansıtan potansiyeller belirginleşir (Basar ve ark., 1975). Belirli bir kortikal alanın verilen uyarıya olan ilişkisini anlamada ilgili uyarıya beraber oluşan elektriksel potansiyellerin ortalaması, genliği ve topografik dağılımı gibi parametreler kullanılmaktadır. Ancak pratikte iş bu kadar basit değildir (Srinivasan ve ark., 2006). Hem incelemek istenen OİP değerinin ortaya çıkması hem de analizde dalgaların oldukça net görülmesi önemlidir. Örneğin beyindeki yüz tanıma alanıyla ilişkili EEG kayıtlarının incelenmesinde temporal lobdan alınan dalgaların daha öncelikli incelenmesi yorum getirmeye yardımcı olacaktır. OİP'lerin sınıflandırılması, uyarıdan sonra oluşan dalgaların ortalaması (grand average) negatif yöne veya pozitif yöne doğru polarite oluşturmasına ve uyarıdan sonra ortaya çıkış zamanına (latans) (Jorge ve ark., 2014) dayanmaktadır. OİP'lerin uyarıdan sonraki ortaya çıkış polaritesini ifade eden harfi alırken harfin hemen yanına ortalama

çıkış zamanı milisaniye cinsinden eklenir (Örn. P300, N200 vb.) (Pfurtscheller ve ark., 1977).

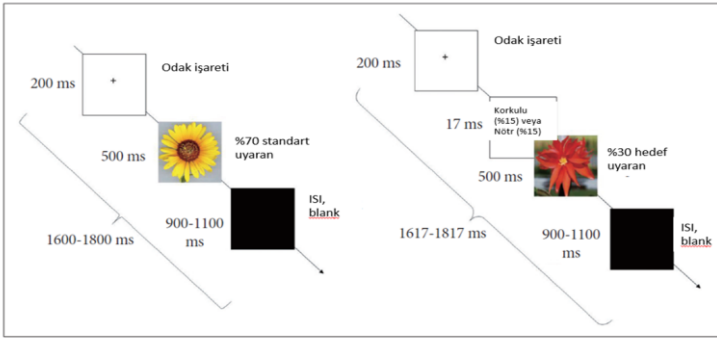
## 2.1. OİP ve İlişkili Uyarılar

EEG kaydında OİP'lerinin incelenmesi için kullanılan sık sunulan bir seri uyarı içine nispeten daha az sayıda uyarının yerleştirilmesine "oddball" (aykırı uyarı) paradigması denmektedir. Aykırı uyarı paradigması, deneyde sık kullanılan uyarılar yani standart uyarılar arasında rastgele değişen ve daha az sayıda hedef uyarılar olmasıdır. Ayrıca bu az sayıdaki uyarılarla ilgili de bir görev verilebilir (Ebmeier ve ark., 1995). Örneğin; "Go/No-Go task" yaygın olarak OİP'lerin incelenmesi sırasında kullanılan bir tekniktir (Şekil 4). Bu teknik genellikle, EEG kepi takılı olan kişiye tercihen Faraday odasında bilgisayar karşısında uygulanmaktadır. Ekranda belirli aralıklarla ve sıklıkta "X" ve "O" harfi gösterilmektedir. Kişiye ekranda daha sık beliren "X" harfini gördüğünde elinin altındaki farenin düğmesine basması istenirken; ekranda daha az belirecek olan "O" harfini gördüğünde herhangi bir düğmeye basmaması istenmektedir. Katılımcıların "O" durumunda düğmeye basma dürtülerini kontrol etmeleri gerekmektedir. Deney süresi bittiğinde, araştırmacılar ekranda X'ler ve O'ların sunumları sırasında kaydedilen EEG bandındaki araştırmak istedikleri OİP değerini inceleyebilmektedir. Araştırmacılar burada kullanılan "O"ları hedef uyarı olarak kullanarak bununla ilişkili OİP'lerin incelenmesini tercih etmektedir. Çünkü bu, katılımcının düğmeye basma dürtüsünü kontrol etmesi gereken zamandır (van Atteveldt ve ark., 2020). Araştırmacı, incelemek istediği dalga potansiyelini uyarıdan belli bir süre sonra ortaya çıkan dalgaların ortalamalarını alıp diğer kanallardaki potansiyel değişimlerine göre yorum getirebilir.



**Şekil 4:** Ekranda X ve O harfleri kişi bilinçli algılayabileceği süre boyunca belirlemektedir. Katılımcılardan X gördüklerinde düğmeye basmaları istenirken O gördüklerinde ise düğmeye basmaması istenmektedir (van Atteveldt ve ark., 2020).

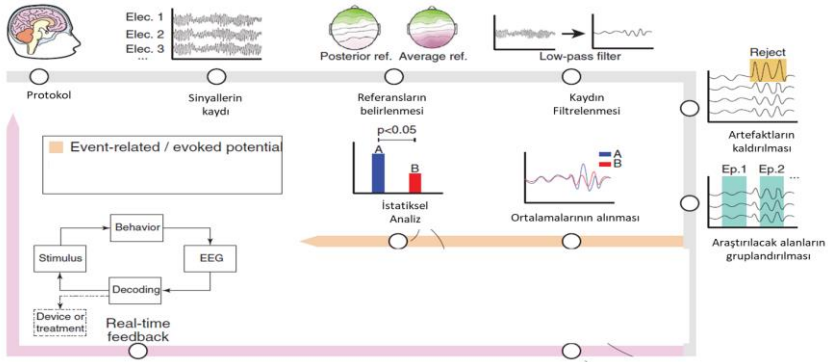
OİP'lerin oluşması için kullanılan uyarılar her zaman kişinin bilincine ulaşabilecek şekilde ayarlanmamış olabilir. Uyarılar bilinçli olarak algılayamayacağımız kadar hızlı veya saklanarak deneye sunulabilir. Bu tip uyarılara “*subliminal*” uyarı denmektedir (Yun ve ark., 2011; Balconi ve Ferrari, 2012). Bu tip deneylerde de yine standart uyarılar ve hedef uyarılar verilmektedir. Hedef uyarılar arasına “*oddball*” paradigması düşünülerek “aykırı uyarılar” konabilir (Kim ve ark., 2013). Bu uyarı daha az sayıda verilirken bir uyarının içine ya da iki uyarı arasına çok hızlı geçecek şekilde saklanabilir. Subliminal uyarılarla ilgili yapılan deneylerin sayısı daha az olmakla beraber, şekil 5'te subliminal uyarılarla hazırlanan bir deney özetlenmiştir (Kim ve ark., 2013). Subliminal uyarılarla yapılan deneylerde, durum biraz daha farklıdır. Standart uyarı ve hedef uyarı bilinç düzeyine çıkabilecek sürede ekranda tutulurken asıl beyindeki elektriksel potansiyel değişimini araştıracağı subliminal uyarı bilinç düzeyine ulaşamayacak şekilde verilmektedir (Pegna ve ark., 2011; Yun ve ark., 2011; Kim ve ark., 2013). Subliminal mesajlar genellikle bu paradigmaya dayanarak sunulmaktadır. Subliminal mesaj çok hızlı olacak şekilde iki uyarı arasına saklanmış olabilir. Deneyde sunulan birbirini devam eden herhangi iki görüntü arasında geçen süreye ise ISI (interstimulus interval) denmektedir. ISI süresi boyunca deneye siyah bir ekran sunulmaktadır (Lipka, ve ark., 2014; Lipp ve ark., 2014).



**Şekil 6:** 200 ms'lik kişinin ekrana odaklanmasını sağlayan işaretten sonra standart sarı çiçekler (%70) veya hedef kırmızı çiçekler (%30) 500 ms boyunca rastgele sunulmaktadır. Tehdit ile ilgili uyarılar (%15) veya nötr uyarılar (%15) 17 ms olacak şekilde sunulur ve bir görevle ilişkili olan hedef kırmızı çiçekler tarafından maskelenmektedir (Kim ve ark., 2013).

### 3. ÖİP Verilerinin İncelenmesi

EEG'den alınan ham veriler işlenirken bir dizi ön uygulama yapılmaktadır. Bunlardan bazıları *notch filter*, *band-pass filter* ve *eye blink artifacts removal* gibi farklı uygulamalar ile elektrik kaydını bozabilecek durumlar filtrelenir ve en aza indirilerek kaydın daha iyi incelenmesi sağlanır (Snodgrass ve ark.,1980; Saia ve ark., 2023). Bu yüzden deneye başlamadan bazı uyarılar yapılması gerekmektedir. Deney sırasında ekrana gelecek uyarılara (görüntü, ses vb.) odaklanması gerektiği, çok göz kırpmaması ve boyun kaslarını oynatmamasını istemek kaydın daha optimum olmasını sağlayabilmektedir.



**Şekil 5:** EEG işleme ve analiz adımlarından bazıları akış sırasına uygun olarak sunulmaktadır. Diyagramın gri kısmı; tüm analizler sırasında ortaktır ve genellikle kayıt incelemeden bilgisayar ortamında ayarlanan 'ön işlem' olarak adlandırılmaktadır. Her kanal için ayarlanan voltaj aralığındaki sinyaller EEG kaydına katılırken diğer sinyaller potansiyel değişimleri etkileyebileceğinden otomatik olarak kayda alınmaz. Alınan sinyallerden gürültüyü hariç tutmak için belli frekans ve voltaj aralığının altında veya üstündekiler hariç tutulur. Örneğin, sinyallerde kas aktivitesinden kaynaklı elektriksel olaylar var ise bu sayede incelenerek çıkarılmaktadır. İncelenmek istenen farklı ÖİP verilerinin ortalaması alınır ve gruplandırılır. İlgili uyarana bağlı oluşan ÖİP verileri gruplar arasında istatistiksel karşılaştırılmaktadır (Biasiucci ve ark., 2019).

EEG günümüzde beyindeki patolojik süreçlerin değerlendirilmesinde kullanılabildiği gibi beynin işlevselliğini anlamada da yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle bilişsel nörobilim araştırmalarında EEG



kayıtlarından OİP'ler çalışılmaktadır. OİP belli bir uyarandan hemen sonra oluşabileceği gibi bilgi işleme kısmına geçilen sürede de alınabilir (Sur ve Sinha, 2009). OİP beyinde farklı uyaran gruplarına karşı (görsel, işitsel, diğer duysal uyaran vb.) beyindeki duysal, motor ve bilişsel işlevleri yorumlayabilmemiz adına bize pencere açmaktadır (Farwell ve Donchin, 1991) . OİP'ler hemodinamik esaslara dayanan beyin görüntüme yöntemlerine göre (Pozitron emisyon tomografisi (PET) ve fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRG)) üstünlüğü, zamansal çözünürlüğünün iyi olması ve daha az maliyetli olmasıdır. Günümüz nörobilim çalışanları OİP'leri kullanarak uyaran tiplerini, süresini, şiddetini veya frekansının değiştirerek verilen nöron cevabına saniyeler içinde ulaşabilmektedir. OİP'ler, bilişsel bozukluk olan veya potansiyeli olan insanlarda tanı almalarını kolaylaştırmada yardımcı bir parametre olarak düşünülmektedir (Leutgeb ve ark., 2009; Wei ve ark., 2010). Bu yüzden OİP, nörobilim araştırmalarında, bilişsel sinir bilim alanında ve nöropsikiyatri alanında umut vaat eden bir yöntem olarak kabul edilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Alarcao, S. M., & Fonseca, M. J. (2017). Emotions recognition using EEG signals: A survey. *IEEE transactions on affective computing*, 10(3), 374-393.
- Balconi, M., & Ferrari, C. (2012). Subliminal and supraliminal processing of facial expression of emotions: brain oscillation in the left/right frontal area. *Brain Sci*, 2(2), 85-100. doi:10.3390/brainsci2020085
- Basar, E., Gonder, A., Ozesmi, C., & Urgan, P. (1975). Dynamics of brain rhythmic and evoked potentials. III. Studies in the auditory pathway, reticular formation, and hippocampus during sleep. *Biol Cybern*, 20(3-4), 161-169. doi:10.1007/BF00342636
- Bayrak, Ş., Yücel, E., & Takçi, H. (2019). *Classification of extracranial and intracranial EEG signals by using finite impulse response filter through ensemble learning*. Paper presented at the 2019 27th Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU).
- Bentin, S., Allison, T., Puce, A., Perez, E., & McCarthy, G. (1996). Electrophysiological Studies of Face Perception in Humans. *J Cogn Neurosci*, 8(6), 551-565. doi:10.1162/jocn.1996.8.6.551
- Bernat, E., Shevrin, H., & Snodgrass, M. (2001). Subliminal visual oddball stimuli evoke a P300 component. *Clin Neurophysiol*, 112(1), 159-171. doi:10.1016/s1388-2457(00)00445-4
- Biasiucci, A., Franceschiello, B., & Murray, M. M. (2019). Electroencephalography. *Curr Biol*, 29(3), R80-R85. doi:10.1016/j.cub.2018.11.052
- Chapman, R. M., McCrary, J. W., Chapman, J. A., & Martin, J. K. (1980). Behavioral and neural analyses of connotative meaning: word classes and rating scales. *Brain Lang*, 11(2), 319-339. doi:10.1016/0093-934x(80)90131-5
- Cichocki, A., & Sanei, S. (2007). EEG/MEG signal processing. *Comput Intell Neurosci*, 2007, 97026. doi:10.1155/2007/97026

- de Lissa, P., Sörensen, S., Badcock, N., Thie, J., & McArthur, G. J. J. o. n. m. (2015). Measuring the face-sensitive N170 with a gaming EEG system: A validation study. *253*, 47-54.
- Ebmeier, K. P., Steele, J. D., MacKenzie, D. M., O'Carroll, R. E., Kydd, R. R., Glabus, M. F., . . . Goodwin, G. M. (1995). Cognitive brain potentials and regional cerebral blood flow equivalents during two- and three-sound auditory "oddball tasks". *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, *95*(6), 434-443. doi:10.1016/0013-4694(95)00173-5
- Emerson, R. G. J. J. o. c. n. (1998). Evoked potentials in clinical trials for multiple sclerosis. *15*(2), 109-116.
- Farwell, L. A., & Donchin, E. (1991). The truth will out: interrogative polygraphy ("lie detection") with event-related brain potentials. *Psychophysiology*, *28*(5), 531-547. doi:10.1111/j.1469-8986.1991.tb01990.x
- Gauthier, I., & Logothetis, N. K. (2000). Is face recognition not so unique after all? *Cogn Neuropsychol*, *17*(1), 125-142. doi:10.1080/026432900380535
- Hammond, D. C. J. J. o. n. (2007). What is neurofeedback? , *10*(4), 25-36. *Journal of neurotherapy*, *10*(4), 25-36.
- Hoffman, E. A., & Haxby, J. V. (2000). Distinct representations of eye gaze and identity in the distributed human neural system for face perception. *Nat Neurosci*, *3*(1), 80-84. doi:10.1038/71152
- Itier, R. J., & Taylor, M. J. (2002). Inversion and contrast polarity reversal affect both encoding and recognition processes of unfamiliar faces: a repetition study using ERPs. *Neuroimage*, *15*(2), 353-372. doi:10.1006/nimg.2001.0982
- Jemel, B., Pisani, M., Calabria, M., Crommelinck, M., & Bruyer, R. (2003). Is the N170 for faces cognitively penetrable? Evidence from repetition priming of Mooney faces of familiar and unfamiliar persons. *Brain Res Cogn Brain Res*, *17*(2), 431-446. doi:10.1016/s0926-6410(03)00145-9

- Johnson, R., Jr. (1995). On the neural generators of the P300: evidence from temporal lobectomy patients. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl*, 44, 110-129.
- Johnston, V. S., Miller, D. R., & Burleson, M. H. (1986). Multiple P3s to emotional stimuli and their theoretical significance. *Psychophysiology*, 23(6), 684-694. doi:10.1111/j.1469-8986.1986.tb00694.x
- Jorge, J., van der Zwaag, W., & Figueiredo, P. (2014). EEG-fMRI integration for the study of human brain function. *Neuroimage*, 102 Pt 1, 24-34. doi:10.1016/j.neuroimage.2013.05.114
- Joyce, C., & Rossion, B. (2005). The face-sensitive N170 and VPP components manifest the same brain processes: the effect of reference electrode site. *Clin Neurophysiol*, 116(11), 2613-2631. doi:10.1016/j.clinph.2005.07.005
- Kanwisher, N., McDermott, J., & Chun, M. M. (1997). The fusiform face area: a module in human extrastriate cortex specialized for face perception. *J Neurosci*, 17(11), 4302-4311. doi:10.1523/JNEUROSCI.17-11-04302.1997
- Kayser, J., Tenke, C., Nordby, H., Hammerborg, D., Hugdahl, K., & Erdmann, G. (1997). Event-related potential (ERP) asymmetries to emotional stimuli in a visual half-field paradigm. *Psychophysiology*, 34(4), 414-426. doi:10.1111/j.1469-8986.1997.tb02385.x
- Kim, E. Y., Lee, S. H., Park, G., Kim, S., Kim, I., Chae, J. H., & Kim, H. T. (2013). Gender difference in event related potentials to masked emotional stimuli in the oddball task. *Psychiatry Investig*, 10(2), 164-172. doi:10.4306/pi.2013.10.2.164
- Leutgeb, V., Schafer, A., & Schienle, A. (2009). An event-related potential study on exposure therapy for patients suffering from spider phobia. *Biol Psychol*, 82(3), 293-300. doi:10.1016/j.biopsycho.2009.09.003

- Lipka, J., Hoffmann, M., Miltner, W. H., & Straube, T. (2014). Effects of cognitive-behavioral therapy on brain responses to subliminal and supraliminal threat and their functional significance in specific phobia. *Biol Psychiatry*, 76(11), 869-877. doi:10.1016/j.biopsych.2013.11.008
- Lipp, O. V., Kempnich, C., Jee, S. H., & Arnold, D. H. (2014). Fear conditioning to subliminal fear relevant and non fear relevant stimuli. *PLoS One*, 9(9), e99332. doi:10.1371/journal.pone.0099332
- Liu, K., Cao, J., Yang, Y., Yap, W. S., Tan, R., & Wang, Z. (2022). Special issue on neural computing and applications 2021. *Neural Comput Appl*, 34(19), 16169-16171. doi:10.1007/s00521-022-07732-1
- Nidal, K., & Malik, A. S. (2014). *EEG/ERP analysis: methods and applications*: Crc Press.
- Niedermeyer, E. (2011). *Niedermeyer's electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*, Lippincott Williams & Wilkins.
- Olsson, A., & Phelps, E. A. (2007). Social learning of fear. *Nat Neurosci*, 10(9), 1095-1102. doi:10.1038/nn1968
- Pegna, A. J., Darque, A., Berrut, C., & Khateb, A. (2011). Early ERP Modulation for Task-Irrelevant Subliminal Faces. *Front Psychol*, 2, 88. doi:10.3389/fpsyg.2011.00088
- Pfurtscheller, G., & Aranibar, A. (1977). Event-related cortical desynchronization detected by power measurements of scalp EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 42(6), 817-826. doi:10.1016/0013-4694(77)90235-8
- Rees, G., Kreiman, G., & Koch, C. (2002). Neural correlates of consciousness in humans. *Nat Rev Neurosci*, 3(4), 261-270. doi:10.1038/nrn783
- Saia, R., Carta, S., Fenu, G., Pompianu, L. J. N. C., & Applications. (2023). Influencing brain waves by evoked potentials as biometric approach: taking stock of the last six years of research. 35(16), 11625-11651.

- Snodgrass, J. G., & Vanderwart, M. (1980). A standardized set of 260 pictures: norms for name agreement, image agreement, familiarity, and visual complexity. *J Exp Psychol Hum Learn*, 6(2), 174-215. doi:10.1037//0278-7393.6.2.174
- Srinivasan, R., Bibi, F. A., & Nunez, P. L. (2006). Steady-state visual evoked potentials: distributed local sources and wave-like dynamics are sensitive to flicker frequency. *Brain Topogr*, 18(3), 167-187. doi:10.1007/s10548-006-0267-4
- Sur, S., & Sinha, V. K. (2009). Event-related potential: An overview. *Ind Psychiatry J*, 18(1), 70-73. doi:10.4103/0972-6748.57865
- van Atteveldt, N., Janssen, T. W., & Davidesco, I. J. F. Y. M. (2020). Measuring brain waves in the classroom. 8, 96.
- Vaughan Jr, H. G. (1969). *The relationship of brain activity to scalp recordings of event-related potentials*. Paper presented at the National Aeronautics and Space Administration and the American Institute for Biological Sciences Conference, Sep, 1968, San Francisco, CA, US; This document presents the proceedings of a conference sponsored by the National Aeronautics and Space Administration and the American Institute for Biological Sciences. The conference was held in San Francisco in September 1968 to discuss current problems in the study of average evoked potential.
- Wei, D., Qiu, J., Tu, S., Tian, F., Su, Y., & Luo, Y. (2010). Earthquake experience interference effects in a modified Stroop task: an ERP study. *Neurosci Lett*, 474(3), 121-125. doi:10.1016/j.neulet.2010.03.005
- Yee, C. M., & Miller, G. A. (1987). Affective valence and information processing. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl*, 40, 300-307.
- Yun, X., Li, W., Qiu, J., Jou, J., Wei, D., Tu, S., & Zhang, Q. (2011). Neural mechanisms of subliminal priming for traumatic episodic memory: an ERP study. *Neurosci Lett*, 498(1), 10-14. doi:10.1016/j.neulet.2011.04.040

Zhang, L., He, W., Miao, X., & Yang, J. (2005). Dynamic EEG Analysis via the Variability of Band Relative Intensity Ratio: A Time-Frequency Method. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2005, 2664-2667. doi:10.1109/IEMBS.2005.1617018

## BÖLÜM 7

### AYGIR SPERMASININ DONDURULABİLİRLİĞİNİN ARTIRILMASI

Dr. Mustafa Yiğit NİZAM<sup>1</sup>

Doç. Dr. Bülent BÜLBÜL<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566572>

<sup>1</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İzmir, Türkiye, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD, mustafayigit.nizam@deu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-0830-1644

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İzmir, Türkiye, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD, bulent.bulbul@deu.edu.tr, Orcid ID:0000-0002-7130-8796





## GİRİŞ

Ayır spermalarının dondurulması, genetik materyalin uzun süreli saklanması, hastalık yayılımının azaltılmasını ve uzak mesafelere erişimi kolaylaştırır. İslah amacıyla seçilen aygırlar pedigri ve atletik performanslarına göre belirlenirken, fertilizasyon yetenekleri genellikle ikincil planda kalır. Fertilité yeteneği düşük olan aygırlar, veteriner hekimlerin yoğun müdahaleleriyle bu durumun etkilerini tolere edebilir (Colenbrander ve ark., 2003). Fertilizasyonu artırmada kullanılan reproduktif tekniklerden biri olan suni tohumlama, başarı için yeterli sayıda canlı ve fertilizasyon bölgesine ulaşabilme yeteneğine sahip spermatozoanın bulunmasını gerektirir (Morrell ve ark., 2010).

Ayır spermalarının dondurulmasında spermatozoayı zararlı etkilere korumak amacıyla gliserol (Aurich ve ark., 1996), farklı kriyoprotektanlar ve ticari olarak temin edilebilen, spermatozoanın yaşam süresini uzatan maddeler (Dell'aqua ve ark., 2001) geliştirilmiştir. Dondurmanın zararlı etkilerini en aza indirmek için yeni yaklaşımlar bulunmaktadır. Bu yenilikler yalnızca gebelik oranlarını artırmakla kalmamış, aynı zamanda donmaya karşı düşük toleransa sahip ayır spermatozoasının dondurulabilmesine katkı sağlayarak, farklı at ırklarının spermalarının kullanımına olumlu katkı sunmuştur (Alvarenga ve ark., 2016).

Bu bölümde, ayır spermalarını dondurma sırasında oluşabilecek zararlı etkilere korumaya yönelik geliştirilen yöntemler ve dolayısıyla donmuş sperma kalitesi ile fertilizasyon yeteneğini artırmaya yönelik yeni stratejilerin gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

### 1. AYGIR SPERMASININ SEÇİMİ

Sperma seleksiyonunun amacı, spermatozoanın mekanik ve fizikokimyasal değişikliklerden etkilenmeden, doğal ejakülate kıyasla daha yüksek niteliksel ve niceliksel özellikler kazanmasını sağlamaktır (Engel ve ark., 2001). Sperma seçimi için santrifüj ve filtrasyon gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu işlemlerden önce, ayğırdan sperma almak gerekir. Alınmadan önce, penis ve özellikle üretral çukur, smegma ve mikroorganizmaların uzaklaştırılması amacıyla ılık su ile iyice yıkanmalıdır. Ayğırdan sperma almak için fantom veya kızgın bir dişi kullanılır (Şekil 1). Fantom, sperma alacak kişi ve ayır için en güvenli yöntem olup, suni vajina ile kolayca sperma elde edilmesini sağlar. Suni vajina, yaklaşık 50 °C

sıcaklıkta su ile doldurulmalı ve doğal, steril kayganlaştırıcı sürülerek kayganlaştırılmalıdır. Kayganlaştırıcıların spermaya zarar verebileceği asla unutulmamalıdır. Ayrıca, kas-iskelet sistemi sorunları olan aygırlar için "yerde sperma alımı" tekniği kullanılabilir; ancak bu, uygulayıcı için tehlikeli bir yöntemdir (Alvarenga ve ark., 2016).



**Şekil 1:** Aygırdan sperma almak için kızgın dişi kullanımı (Fotoğraf yazarlara aittir).

## 2. SPERMAYA SULANDIRICI EKLENMESİ

Sperma alındıktan sonra, filtre edilerek jelöz kısmı ejakülattan ayrılır ve ardından spermaya yağsız süt/kazein bazlı sulandırıcı 1:1 oranında eklenir. Eğer sperma çok yoğunsa, 2:1 oranında sulandırılabilir. Sulandırıcı, soğuk şokunu önlemek için 37 °C'de spermaya eklenmeli ve motilite, ölü-canlı oranı, konsantrasyon gibi parametreler gözden geçirilmelidir. Bu işlemlerden sonra, seminal plazma ile spermatozoa santrifüj ile ayrılarak, istenen konsantrasyonda hazırlanan kriyoprotektan içeren sulandırıcı ile karıştırılır. Son olarak, hazırlanan sperma payetlere doldurularak dondurma protokollerine tabi tutulur (Alvarenga ve ark., 2016).

### 3. SPERMANIN YOĞUNLAŞTIRILMASI

Seminal plazma, çoğunlukla erkek eklenti bezleri tarafından üretilir ve spermanın taşınması ile kapasitasyon sürecinde rol oynar (Aurich ve ark., 1996). Aygır spermasında, dondurma işleminden önce seminal plazmanın uzaklaştırılması gerekmektedir ve bu amaçla santrifüj ve filtrasyon yöntemleri uygulanmaktadır (Alvarenga ve ark., 2012; Alvarenga ve ark., 2016).

#### 3.1. Santrifüj Yöntemi

Aygır ejakülatını yoğunlaştırmak için en yaygın kullanılan yöntem santrifüj yöntemidir (Alvarenga ve ark., 2016). Standart bir santrifüj işleminde, sulandırılmış sperma 50 ml'lik konik tüplere konarak santrifüj makinesine yerleştirilir. Yüksek döndürme hızları spermatozoaya zarar verebileceğinden, sperma kalitesi için ideal dönme hızı olarak 600g devirde 10 dakika belirlenmiştir (Dell'aqua ve ark., 2001). Santrifüj sonrası süpernatant, tek kullanımlık kateter veya iğneli bir şırınga ile uzaklaştırılır ve tüpte kalan spermatozoa uygun kriyoprotektan içeren sulandırıcı ile karıştırılır (Alvarenga ve ark., 2016).

Santrifüj yöntemiyle yapılan aygır sperması seçiminde bazı olumsuz etkiler tespit edilmiştir (Sieme ve ark., 2003; Alvarenga ve ark., 2016; Aurich, 2008). Hasarlı ve anormal spermatozoa, yüksek miktarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretir ve bu, dondurma-çözdürme sürecinde fertilité sorunlarına yol açar (Ball ve ark., 2001). Santrifüjün bu zararlı etkilerini azaltmak amacıyla seminal plazmayı uzaklaştırarak spermatozoayı daha yoğun hale getiren filtreler geliştirilmiştir (Alvarenga ve ark., 2010). Filtrasyon tekniklerinin santrifüje göre plazma zarına daha az zarar verdiği belirlenmiştir (Alvarenga ve ark., 2012).

Santrifüj işlemine karşı hassasiyet gösteren spermalar için tamponlu santrifüj tekniği uygulanabilir (Alvarenga ve ark., 2016). Bu teknikte, santrifüj tüpünün alt kısmına tampon çözelti eklenerek yüksek hızda dönme sırasında spermanın en az hasarla kurtulması sağlanır (Loomis, 2006). Ticari tampon çözeltiler arasında Eqcellsire (IMV, Lisieux, Fransa), Cushion Fluid (Minitube) ve Red Cushion (Botupharma) bulunur.

Tamponlu santrifüjde, sperma 1:1 oranında yağsız süt bazlı sulandırıcı ile seyreltilir ve 50 ml konik tüpe konur. Tüpün alt kısmına 1 veya 5 ml tampon çözelti kateter veya şırınga yardımıyla yerleştirilir ve 1000g devirde

20 dk santrifüj edilir (Bliss ve ark., 2012). İşlem sonrası süpernatant dikkatle aspire edilerek uzaklaştırılır, ardından tampon çözelti aspire edilir ve kalan spermatozoa sulandırıcı ile karıştırılır (Alvarenga ve ark., 2016).

Kalitesi düşük spermalar için başka bir santrifüj yöntemi olarak ticari ürünlerin kullanıldığı sperma seleksiyon teknikleri mevcuttur. Örneğin, Equipure kullanıldığında çözdürme sonrası dört sperma payeti 2 ml Equipure solüsyonuna yerleştirilip 300g devirde 20 dakika santrifüj edilir. Bu işlem, süpernatant ve spermatozoayı ayırarak motilite ve fertilitite oranlarını artırır (Alvarenga ve ark., 2005).

### **3.2. Filtrasyon Yöntemi**

Spermayı yoğunlaştırmak için santrifüj yöntemine alternatif olarak filtrasyon yöntemi kullanılabilir. Bu teknikte sentetik hidrofilik membran filtreler, spermatozoanın geçişini engellerken seminal plazmayı geçirir (Alvarenga ve ark., 2012). Sperma 1:1 oranında yağsız süt bazlı sulandırıcı ile seyreltilir ve filtre üzerine konur. Hafifçe petri kabı yüzeyine temas ettirilerek yavaş hareketlerle filtrasyon sağlanır. Membran gözenekleri, yalnızca seminal plazmanın geçmesine olanak tanır; filtrasyon sonunda spermatozoa membran yüzeyinde kalır. Elde edilen spermatozoa, kriyoprotektan içeren sulandırıcı ile karıştırılarak dondurma işlemine hazır hale getirilir. Filtrasyon 5-10 dakika sürebilir ve aynı filtre, aynı ejakülat için 10 defaya kadar kullanılabilir (Alvarenga ve ark., 2016).

## **4. AYGIR SPERMASININ DONDURULMASINDA KRİYOPROTEKTAN KULLANIMI**

Aygır spermasının dondurulması sırasında kullanılan en yaygın kriyoprotektan madde gliseroldür. Ancak gliserol, diğer hayvan türlerinde elde edilen başarılı sonuçları aygırlarda aynı şekilde sağlayamamıştır (Guay ve ark., 1981). Gliserol, dünya çapında birçok hayvan türünde kullanılmasına rağmen, spermatozoa üzerinde toksik etkiye sahiptir (Fahy, 1986) ve ayrıca kısraklarda kontraseptif etkisi olduğu bilinmektedir. Ayrıca gliserol, aygır sperma sulandırıcılarına eklendiğinde taze, soğutulmuş veya dondurulmuş sperma fertilitite oranlarını düşürmektedir (Pace ve Sullivan, 1975; Bedford ve ark., 1995). Gliserol kullanımı, dondurma sürecinde ısı değişimleri nedeniyle spermatozoaya zarar verir ve fertilitite oranlarını olumsuz etkiler (Pace ve Sullivan, 1975; Demick ve ark., 1976).

Ayır popülasyonunun yaklaşık %30-40'ında gliserol ile yapılan dondurma-çözdürme sonrası motilite ve fertilitite değerlerinde düşüş görülmektedir (Alveranga ve ark., 2003). Gliserolün hücre zarından geçişi diğer kriyoprotektanlara göre daha yavaş olduğundan toksik etkisinin ozmotik strese bağlı olduğu düşünülmektedir (Gilmore ve ark., 1995). Bu olumsuzluklar, gliserole alternatif kriyoprotektan maddelerin araştırılmasına yol açmıştır.

Ashwood-Smith (1987) kriyoprotektanları alkoller ve amidler olarak iki gruba ayırmıştır. İdeal bir kriyoprotektan maddenin düşük molekül ağırlığına ve minimum toksik etkiye sahip olması gerektiğini bildirmiştir. Amid grubu, gliserolden daha düşük molekül ağırlığına sahiptir ve hücrelerde daha az ozmotik hasara yol açacağı düşünülmüştür.

Medeiros (2003)'un yaptığı çalışmada, düşük dayanıklılığa sahip bir Mangalarga aygırı sperması dondurulup çözdürüldükten sonra 30 kısrağın tohumlanmış, gliserol ile yapılan kriyoprezervasyonda %18, dimetilformamid ile ise %48 motilite elde edilmiştir. Gliserol kullanılarak dondurulmuş spermadan hiçbir kısrağın gebe kalmazken, dimetilformamid kullanıldığında 6 kısrağın gebelik sağlanmıştır (%40). Bu sonuçlar, gliserolün dimetilformamidde göre daha düşük kriyoprotektan etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir. Moffet ve ark. (2003) da çalışmalarında benzer sonuçlar elde etmiştir.

Bir başka çalışmada ise farklı amidler (dimetilformamid, metilformamid, dimetilasetamid) gliserol ile kıyaslanmıştır. Çalışmada gliserol ile yapılan kriyoprezervasyona dayanıklılığı iyi ve kötü olan 27 farklı ırktan aygır kullanılmıştır. Gliserol kullanılarak yapılan dondurmalarda, "kötü" olarak sınıflandırılan aygır spermasında amidlerin kriyoprotektan özelliklerinin daha üstün olduğu tespit edilmiştir. Çözdürme sonrası motilite değerlendirmelerinde tüm amidler, gliserole kıyasla daha iyi sonuçlar vermiştir. Dimetilasetamid, diğer amidler arasında en düşük kriyoprezervatif etkiye sahip olmuş ve bu durum dietilasetamidin yüksek molekül ağırlığına bağlanmıştır (Alvarenga ve ark., 2005).

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, kriyoprezervasyona dayanıklılığı düşük olan aygırlarda, amid grubu kriyoprotektan maddelerin kullanımının yanı sıra farklı filtrasyon

ve santrifüj yöntemlerinin uygulanmasının, sperma kalitesini artırarak başarılı suni tohumlama ve fertilizasyon sağlayacağı düşünölmekedir.

## KAYNAKLAR

- Alvarenga, M. A., Leao, K. M., Papa, F. O., Landim-Alvarenga, F. C., Medeiros, A. S. L., & Gomes, G. M. (2004). The use of alternative cryoprotectors for freezing stallion semen. *Havemeyer Found Monograph Series*, 12, 74-76.
- Alvarenga, M. A., Papa, F. O., Landim-Alvarenga, F. C., & Medeiros, A. S. L. (2005). Amides as cryoprotectants for freezing stallion semen: a review. *Animal reproduction science*, 89(1-4), 105-113.
- Alvarenga, M. A., Melo, C. M., Magalhães, L. C. O., & Papa, F. O. (2010). A new method to concentrate equine sperm. *Animal Reproduction Science*, 186-187.
- Alvarenga, M. A., Papa, F. O., Carmo, M. T., Kievitsbosch, T., Chaves, M. M. B. C., & Neto, C. R. (2012). Methods of concentrating stallion semen. *Journal of equine veterinary science*, 32(8), 424-429.
- Alvarenga, M. A., Papa, F. O., & Neto, C. R. (2016). Advances in stallion semen cryopreservation. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 32(3), 521-530.
- Ashwood-Smith, M.J. (1987). Mechanisms of cryoprotectant action. In: Bowler K, Fuller BJ, editors, *Temperature and Animal Cells*. Cambridge: Biologists Ltd. p. 395-406.
- Aurich, J. E., Kuhne, A., & Hoppe, H. (1996). Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation. *Theriogenology*, 46, 791-797.
- Aurich, C. (2008). Recent advances in cooled-semen technology. *Anim. Reprod. Sci.*, 107, 268-275.
- Ball, B. A., Vo, A. T., & Baumber, J. (2001). Generation of reactive oxygen species by equine spermatozoa. *Am. J. Vet. Res*, 62, 508-515.
- Bedford, S. J., Jasko, D. J., Graham, J. K., Amann, R. P., Squires, E. L., & Pickett, B. W. (1995). Effect of seminal extenders containing egg yolk



- and glycerol on motion characteristics and fertility of stallion spermatozoa. *Theriogenology*, 43(5), 955-967.
- Bliss, S. B., Voge, J. L., & Hayden, S.S. (2012). The impact of cushioned centrifugation protocols on semen quality of stallions. *Theriogenology*, 77, 1232-1239.
- Colenbrander, B., Gadella, B. M., & Stout, T. A. E. (2003). The predictive value of semen analysis in the evaluation of stallion fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 38(4), 305-311.
- Dell'Aqua, J. A., Papa, F. O., Alvarenga, M. A., & Zahn, F. S. (2001). Effect of centrifugation and packing system on sperm parameters of equine frozen semen. *Anim Reprod Sci*, 68, 324-325.
- Demick, D. S., Voss, J. L., & Pickett, B. W. (1976). Effect of cooling, storage, glycerolization and spermatozoal numbers on equine fertility. *Journal of Animal Science*, 43(3), 633-637.
- Engel, S., Weber, H., Petzoldt, R., Seidl, B., Wiehe, W., & Sperl, J. (2001). An improved method of sperm selection by glass wool filtration. *Andrologia*, 33(4), 223-230.
- Fahy, G. M. (1986). The relevance of cryoprotectant toxicity to cryobiology. *Cryobiology*, 23, 1-13.
- Gilmore, J. A., McGann, L. E., Liu, J., Gao, D. Y., Peter, A. T., Kleinhaus, F. W., & Critser, J. K. (1995). Effect of cryoprotectant solutes on water permeability of human spermatozoa. *Biology of reproduction*, 53(5), 985-995.
- Guay, P., Rondeau, M., & Boucher, S. (1981). Effect of glycerol on motility, viability, extracellular aspartate aminotransferase release and fertility of stallion semen before and after freezing. *Equine veterinary journal*, 13(3), 177-182.
- Loomis, P. R. (2006). Advanced methods for handling and preparation of stallion semen. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 22(3), 663-676.

- Medeiros, A .S. L. (2003). Cryopreservation of stallion sperm utilizing different amides. Master Thesis, University of Sao Paulo State-UNESP, Botucatu, 123 pp.
- Moffet, P. D., Bruemmer, J. E., Card, C., & Squires, E. L. (2003). Comparison of dimethyl formamide and glycerol for cryopreservation of equine spermatozoa. *Proceedings Society for Theriogenology Annual Conference*, p. 42.
- Morrell, J. M., Rodriguez-Martinez, H., & Johannisson, A. (2010). Single layer centrifugation of stallion spermatozoa consistently selects the most robust spermatozoa from the rest of the ejaculate in a large sample size. *Equine Vet. J.*, 42, 579-585.
- Pace, M. M., & Sullivan, J. J. (1975). Effect of timing of insemination, numbers of spermatozoa and extender components on the pregnancy rate in mares inseminated with frozen stallion semen. *J. Reprod. Fertil.*, 23, 115-121.
- Sieme, H., Martinsson, G., Rauterberg, H., Walter, K., Aurich, C., & Petzoldt, R. (2003). Application of techniques for sperm selection in fresh and frozen-thawed stallion semen. *Reprod. Domest. Anim.*, 38, 134-140.



## BÖLÜM 8

### YAŞLANMA, TELOMER UZUNLUĞU VE BESLENME

Arş. Gör. Eda ERKMEN<sup>1</sup>

Prof. Dr. Meltem SOYLU<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566582>

<sup>1</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Antalya, Türkiye. eda.erkmen@alanya.edu.tr, Orcid ID: 0009-0005-4851-9818

<sup>2</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü Antalya, Türkiye. meltem.soylu@alanya.edu.tr, Orcid ID:0000-0001-6968-8729



## GİRİŞ

Yaşlanma, tüm canlıların yaşadığı, zamanla meydana gelen ve hücre ölümleriyle sonuçlanan fizyolojik işlevlerin zayıflamasıdır. Bunun temelinde yer alan biyolojik yaşlanma ise, doku ve hücrelerde rejeneratif kapasitenin azalması, hücrenin büyüme ve bölünme yeteneğinin kaybolması, hücreler arası iletişimin bozulması ve mitokondriyal homeostazın kaybolması gibi yapısal ve işlevsel anormalliklerle sonuçlanan moleküler ve hücrel hasarların birikmesi ile karakterize edilmektedir (Carmona ve Michan, 2016).

Yaşlanmanın temelleri konusunda bir çok teori ileri sürülmekle beraber epigenetik değişiklikler, DNA hasarı, telomer kısalması ve mitokondriyal işlev bozukluğu bugün üzerinde en çok durulan mekanizmalardandır. Bu mekanizmalar hücrelerin geri döndürülemez şekilde büyümelerinin durması süreci olarak tanımlanan ve yaşlanmaya bağlı olarak gelişen hastalıkların başlıca nedeni olarak gösterilen senesensi tetikleyebilmektedir (Lulkiewicz ve ark., 2020). Senesensin birincil rolü potansiyel malign hücre dönüşümünü önleyen hasarlı hücrelerin proliferasyonunun sınırlanması olmakla beraber senesens, kromatinlerin yeniden şekillenmesine, metabolik değişikliklere, otofajinin artmasına ve çok sayıda proinflamatuvar faktörün salınmasına da neden olmaktadır. Bu fenomenin önlenebilmesi veya yavaşlatılabilmesi için hem yaşlanmayı hem de senesensi spesifik belirteçler kullanarak izleyebilmek oldukça önemlidir. Bu kapsamda telomer uzunluğu oldukça sık kullanılan bir belirteç olarak karşımıza çıkmaktadır (Bernadotte ve ark., 2016). Yaşlanma ve telomer uzunluğu ilişkisini 110.266 yetişkin kadın ve erkekten oluşan GERA kohortu ile yapılan çalışma doğrulamaktadır (Lapham ve ark., 2015).

Telomerlerin fazla kısalması hücrelerin büyüme ve bölünme yeteneklerinin kaybolmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu durum telomer sendromları olarak adlandırılan yaşlanma, erken ölüm ve bir dizi hastalıkla ilişkilidir. Saçların erken grileşmesi, aplastik anemi, siroz, osteoporoz ve epitel kanserler telomer sendromu sonucu gelişen başlıca sağlık sonuçlarıdır (Armanios ve Blackburn, 2012). Yapılan çalışmalar; kardiyovasküler hastalıklar (Gebreab ve ark., 2017), tip 2 diyabet (Tamura ve ark., 2016) ve obezite (Mundstock ve ark., 2015) gibi yaşa bağlı hastalıkları olan bireylerin, genellikle kronolojik yaşlarından bağımsız olarak telomer uzunluklarının daha kısa olduğunu göstermiştir.

## 1.TELOMER VE TELOMERAZ KAVRAMLARI

Telomerler ökaryotik kromozomların sonunda bulunan, kromozomal stabiliteyi destekleyen, genomun bütünlüğünü koruyan ve genomik DNA hasarının önlenmesinde rol alan DNA-protein başlıklarıdır. Memeli canlılarda telomerler shelterin (telozom) adı verilen bir protein kompleksi tarafından bağlanan TTAGGG nükleotid birim diziliminin tandem tekrarından oluşmaktadır (Paul, 2011). Telomer tekrarları telomeraz olarak bilinen bir hücrel ters transkriptaz (TERT) tarafından oluşturulmaktadır. Tek hücreli ökaryotlarda sınırsız miktarda telomeraz bulunmakta ve telomerleri sabit uzunlukta tutmaktadır. Ancak çok hücreli ökaryotların çoğunda sınırlı miktarda telomeraz bulunmakta ve normal DNA polimerazların kromozomların uçlarını kopyalayamaması nedeniyle hücre bölünmesine bağlı olarak telomerler kısalmaktadır (Harley ve ark., 1990). Shelterin kompleksi; telomerik tekrar bağlayıcı faktör 1 (TRF1), telomerik tekrar bağlayıcı faktör 2 (TRF2), TRF1 ile etkileşen nükleer protein 2 (TIN2), represör ve aktivatör protein 1 (RAP1), telomerlerin korunması 1 (POT1) ve TIN2 ile etkileşen protein 1 (TPP1) olmak üzere altı proteinden oluşmaktadır (Nalobin ve ark., 2020). Shelterin kompleksinin DNA'ya hasar veren proteinler ve nükleazların DNA telomer uçlarını tanımasını önleme, hücre döngüsünü düzenleme, hücre canlılığının korunmasını sağlama görevleri vardır. Telomer uzunluğunun telomeraz ve shelterin ile düzenlenmesi hücrel yaşamın belirlenmesinde kritik öneme sahiptir.

Telomeraz; enzimatik olarak aktif bir protein bileşeni, telomeraz ters transkriptaz (TERT) ve RNA şablonundan (Terc) oluşan, DNA replikasyonu sırasında kromozomların uçlarında yer alan telomerleri koruyan ve özellikle telomerlerin uzamasını sağlamakla görevli olan bir ribonükleoprotein polimerazdır (Ludlow ve Roth, 2011). Telomeraz enzimi; telomer sentezinde görevli olması, telomer yapılarının korunması ve uzun süre canlı kalabilmesinde rol alması nedeniyle oldukça önemlidir (Babizhayev ve ark., 2015).

## 2.TELOMER UZUNLUĞU

Telomerler her hücre bölünmesinde kısalma eğilimindedir ve somatik hücre her bölündüğünde telomerik DNA'nın bir kısmı kopyalanamamakta ve mitoz bölünme sonucu telomerler doğal olarak kısalmaktadır (Blackburn, 2005). Bu durum "uç replikasyon sorunu" olarak adlandırılmaktadır (Shay ve Wright, 2005). Hücrelerdeki telomerlerin uzunluğu zamanla hücrelerin

bölünme yeteneklerini koruyamayacak ve normal işlevlerini yerine getiremeyecek kadar kısalmaktadır. Bu da yaşlanmanın ve insan sağlığında yaşlanmaya bağlı gelişen sorunların başlıca nedenlerinden biri olan hücresel yaşlanmayla sonuçlanmaktadır (Calcinotto ve ark., 2019).

Telomer uzunluğunda normal yaşlanmanın dışında stres (Epel ve ark., 2015) ve enfeksiyon (Ilmonen ve ark., 2008) sonucunda da kısalma meydana gelmektedir. Enfeksiyon ve hastalık durumunda inflamasyon ve buna eşlik eden hücre çoğalması, hücre bölünmelerinde artış nedeniyle telomerik tekrarların kaybına neden olmaktadır. İnflamatuar belirteç olan plazma C reaktif protein (CRP) konsantrasyonunun telomer uzunluğu ile negatif ilişkili olduğu bilinmektedir (Aviv ve ark., 2006). İnflamasyon nedeniyle telomer uzunluğunda meydana gelen kısalmanın antiinflamatuvar ilaç kullanılmasıyla azaltıldığı bulunmuştur (Mirabello ve ark., 2009). İnflamasyon, oksidatif strese neden olmaktadır ve kronik düşük seviyeli oksidatif stres DNA'da tek iplikçik kırılmalarına ve oksidatif baz modifikasyonlarına neden olabilmektedir. Guanin bazından zengin telomerik diziler oksidasyona bağlı gelişen hasara karşı daha hassas olduğundan telomerik DNA'daki hasar, kodlama bölgelerine göre daha az onarılmakta ve bu nedenle telomerler uzunluğunda kısalma meydana gelmektedir. Kritik derecede kısa telomerler, epigenetik işaretlerini kaybetmekte ve rekombinasyonlara daha yatkın hale gelmektedirler (von Zglinicki ve ark., 2000). Telomer disfonksiyonu ise yaşa bağlı gelişen bir dizi hastalıkla ilişkilendirilmektedir (Gebreab ve ark., 2017; Tamura ve ark., 2016; Mundstock ve ark., 2015).

### **3.TELOMER UZUNLUĞU VE BESLENME**

Beslenme tüm yaşam döngüsünde olduğu gibi yaşlanma sürecinde de önemli bir faktördür. Yaşlanma mekanizmalarından biri olan telomer uzunluğu oksidatif stres ve kronik inflamasyondan yakından etkilenir (Houben ve ark., 2008). Beslenme oksidatif stres ve inflamasyon üzerindeki önemli etkilerinden dolayı telomer uzunluğunu etkilediği bilinmektedir. Aşağıda bu mekanizmalarda etkili olan diyetset etmenler ele alınmıştır.

#### **3.1. Vitaminler**

Antioksidan özellik gösteren vitamin ve mineral gibi çeşitli besin öğeleri inflamasyon ve oksidatif stresi düzenleyici etkileri nedeniyle telomer uzunluğunun belirleyicileri arasında görülmektedir. Toplam 586 kadın üzerinde yürütülen bir çalışmada çeşitli vitaminleri içeren besin takviyesi



kullanımı ile telomer uzunluğu arasında pozitif ilişkili olduğu bulunmuşsa olmasına rağmen bu ilişki tek bir vitamene atfedilememiştir (Xu ve ark., 2009). Doksan gün boyunca 18 yaşından büyük yetişkinlere multivitamin takviyesinin verildiği pilot bir çalışmada telomerlerin boylarının uzaması ile multivitamin takviyesi arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (Bruno ve ark., 2017). Normal hücresel yaşlanma görülen yenidoğan fibroblast hücre kültürü ile yapılan bir başka çalışmada ise multivitamin içeren besin desteğinin oksidatif stres kaynaklı telomer kısalma oranını büyük ölçüde azalttığı bulunmuştur. Bu etkinin temelde C ve E vitaminlerinin antioksidan özelliklerinden kaynaklandığı düşünülse de multivitamin karışımının DNA onarımı için gerekli olan NAD öncüsü niasin içermesinin, antioksidan savunmada yer alan genlerin transkripsiyonunda görevli olan nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2'yi (Nrf2) aktive eden kurkumin, resveratrol, kuarsetin ve lipoik asit içermesinin de bu sonuçta etkili olduğu düşünülmektedir (Levy ve ark., 2024).

### 3.2. C ve E Vitamini

C ve E vitaminlerinin antioksidan özellik gösterdikleri bilinmektedir. Hücre kültürleri üzerinde yapılan çalışmalarda; kültür ortamına fizyolojik konsantrasyonlarda C ve E vitaminlerinin eklenmesiyle reaktif oksijen türlerinin azalması sonucu telomerlerin yaşlanmaya bağlı olarak kısalması ve telomeraz aktivitesindeki azalmanın yavaşlatılabileceği ve hücre yaşam süresinin uzatılabileceği bulunmuştur (Furumoto ve ark., 1998; Tanaka ve ark., 2007). Ortalama yaşları 66 yıl olan bireylerle yapılan çalışmada plazmada yüksek lutein, zeaksantin ve C vitamini konsantrasyonlarının telomer uzunluğu ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Sen ve ark., 2014). Myers ve ark. 18-44 yaş aralığındaki gebe kadınlarla gerçekleştirdikleri çalışmada annenin C vitamini alımı ile fetal telomer uzunluğu arasında pozitif bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Bu sonucun intrauterin yeniden programlama yoluyla yetişkin başlangıçlı hastalık ve ölümlerin anlaşılması ve önlenmesi için bir yöntem olabileceği düşünülmektedir (Myers ve ark., 2021). Corina ve ark. (2019) ise günlük alması gerekenden daha az E vitamini alan bireylerin lökosit telomer uzunluğunun (LTL) yeterli E vitamini alanlara göre daha kısa olduğu bulunmuştur. E vitamininin ana kaynağı zeytinyağı olmakla beraber sebzeler ve balıklar da iyi kaynaklardır. Bu doğrultuda günde 30 ml'den fazla zeytinyağı tüketenlerin LTL'sinin daha az tüketenlere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Corina ve ark., 2019).

### 3.3. D Vitamini

D vitamininin biyolojik aktif formu olan 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> immünosupresif özelliklere sahiptir ve bu nedenle plazma D vitamini konsantrasyonu ile telomer uzunluğuyla ters ilişkili olan CRP arasında negatif korelasyon vardır. Ayrıca D vitamini, inflamasyon aracılığıyla olan interlökin-2 ve interferon gamma ekspresyonunu azaltmaktadır. Tüm bu antiinflamatuvar özellikleri sayesinde telomer uzunluğunun kısalmasını önleyici etki gösterebilmektedir (Paul, 2011). Richards ve ark. yüksek serum D vitamini konsantrasyonlarının daha uzun LTL ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Richards ve ark., 2007). Liu ve ark. (2013) D vitamininin CRP ile negatif korelasyon gösterdiğini, sistematik inflamasyonu azalttığını bulmuşlardır. Doku hasarından kaynaklanan artan hücre çoğalması ve inflamasyonun telomer kısalmasını hızlandırdığı ve D vitamininin hem antiinflamatuvar özellik göstermesi hem de hücre çoğalmasını azaltmasından dolayı LTL ile D vitamininin pozitif korelasyon gösterdiği sonucuna varılmıştır.

### 3.4. B<sub>12</sub> Vitamini

DNA sentezi ve epigenetik metilasyon reaksiyonları için B<sub>12</sub> vitamini gerekmektedir. Telomer uzunluğu epigenetik olarak DNA metilasyonu ile düzenlenmektedir. Dolayısıyla DNA metilasyonunu modüle edebilen her şey telomer uzunluğu üzerinde de etkili olmaktadır (Crider ve ark., 2012). B<sub>12</sub> vitamini eksikliğine bağlı olarak artan reaktif oksijen türleri (ROS) tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarmaktadır. Telomerler, ROS tarafından indüklenen oksidatif strese karşı oldukça hassastır ve yüksek ROS, telomerlerin guanin bakımından zengin tekrarlarına saldırarak onu 8-okso-7,8-dihidro-2'-deoksiganine (8-oksoG) dönüştürmektedir. 8-oxoG en yaygın görülen DNA lezyonlarından biridir. 8-oxoG, telomerlerde replikasyon stresini tetikleyerek telomer kısalmasına neden olmaktadır (Fouquerel ve ark., 2019). Praveen ve ark. (2020) plazma folat ve B<sub>12</sub> vitamini konsantrasyonunun telomer uzunluğu ve mitokondriyal DNA kopya sayısındaki azalmayı önleyerek yaşlanmayı geciktirebileceğini bulmuşlardır. Bir başka çalışmada ise B<sub>12</sub> vitamini eksikliği riski taşıyan bir popülasyonda bebeklik döneminde bir yıl boyunca günlük B<sub>12</sub> vitamini sağlanmasının LTL'yi etkilemediği bulunmuştur (Ulak ve ark., 2024). B<sub>12</sub> vitamini ve telomer uzunluğunun ilişkisinin kesin olarak belirlenmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

### 3.5. Folat

Folat, DNA bütünlüğünün korunması ve DNA metilasyonunun gerçekleştirilmesinde önemli rol oynaması nedeniyle telomer uzunluğu ile ilişkilendirilmektedir. Metilen-tetrahidrofolat (THF), DNA sentezi öncüleri olan pürin ve pirimidin timidilat sentezi için kullanılmaktadır. Ayrıca homosisteinin (Hcy) DNA ve histonlar da dahil olmak üzere biyolojik metilasyon reaksiyonları için evrensel metil donörü olan S-adenozilmetyonininin (SAM) öncüsü olan metiyonine metilasyonu için metil grupları sağlamaktadır. Folat, timidilat sentezi için öncüler sağladığından düşük serum folat konsantrasyonları DNA'da timidin yerine urasilin birleşmesine neden olarak urasil bazlarının eksizyon onarım enzimleri tarafından uzaklaştırılmasıyla DNA'da iplikçik kırıklarının oluşmasıyla sonuçlanmaktadır (Paul, 2011).

Telomerik dizideki timidin, folat eksikliği durumunda urasil bazıyla yer değiştirerek telomerik DNA hasarına yol açabilmektedir. Dolayısıyla diyetle düşük folat alımı DNA hasarına bağlı olarak telomerlerde kısalma ile sonuçlanabilmektedir (Paul ve ark., 2009). Erken gebelikten doğuma kadar takip edilen 119 kadınla yapılan çalışmada erken gebelik döneminde annenin toplam folat konsantrasyonunun yenidoğanın kordon kanı telomer uzunluğu ile anlamlı ve pozitif yönde ilişkili olduğu bulunmuş, mevcut bulgunun hastalıklara karşı birincil korumaya yönelik olası klinik müdahaleler için potansiyel olarak değiştirilebilir bir faktöre işaret ettiği düşünülmüştür (Entringer ve ark., 2015). Paul ve ark. (2015) ise yüksek plazma folat konsantrasyonunun daha kısa lökosit telomer uzunluğu ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Diğer çalışmaların aksini gösteren bu çalışmanın sonucu; DNA ve telomerlerin bütünlüğünü korumak için diyetle yeterli düzeyde folat alınması gerekse de katılımcıların multivitamin ve zenginleştirilmiş besinler aracılığıyla yüksek folik asit almalarıyla yüksek folat konsantrasyonlarının oluştuğu, bunun da telomer bütünlüğünü korumada folatın rolüne müdahale etmiş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Telomer uzunluğunu etkileyen folat konsantrasyonları üzerine ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

### 3.6. Demir

Demir, proteinlerin sistein kalıntılarına bağlanabilen ve hidroksil serbest radikallerinin oluşumuna neden olabilen bir prooksidandır. Aynı zamanda sağlıklı bireylerin demir takviyesi kullanmalarının dışıyla serbest radikal atılmasında artışa yol açtığı bulunmuştur (Searle ve Tomasi, 1982).

Yapılan çalışmalar demir takviyesi kullanımının demirin serbest radikal üretme kapasitesine ve bunun sonucunda ortaya çıkan oksidatif strese bağlı olarak kişilerin telomer uzunluklarında azalma ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Xu ve ark., 2009; Aviv, 2009). Bunun aksine demir takviyesine kıyasla multivitamin preparatları veya diyet yoluyla alınan demirin telomer uzunluğuyla negatif ilişki göstermediği bulunmuştur (Xu ve ark., 2009).

### 3.7. Çinko

Çinko, DNA hasar bölgelerinde DNA onarımında görev alan poli(ADP-riboz) polimerazın aktivasyonu için gereklidir. Aynı zamanda DNA polimerazlar, RNA polimerazlar ve ters transkriptazlar çinko bağımlı enzimler arasında yer almaktadır (Paul, 2011). Çinko eksikliği hem oksidatif stres artışına hem de DNA bütünlüğünün bozulmasına yol açabilmektedir. Sağlıklı erkeklerde marjinal çinko tükenmesi ve yenilenmesi protokolü kullanarak oksidatif stres yanıtlarını ve DNA bütünlüğünü inceleyen araştırmada diyetle çinko alımındaki değişikliklerin DNA tek iplikçik kırılmalarını etkilediği, çinkonun insanlarda DNA bütünlüğünün korunması için kritik bir faktör olduğu bulunmuştur (Song ve ark., 2009). Diyetle yetersiz çinko alımının oksidatif hasarla ilişkili olduğu, çinko takviyesinin oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltabildiği bilinmektedir. Çinkonun; telomeraz aktivitesini, NA bütünlüğünü, oksidatif stresi ve enfeksiyona yatkınlığı etkileyerek telomer uzunluğunu etkilediği düşünülmektedir (Paul, 2011). ABD’de 45 yaş ve üzeri 3793 katılımcı ile gerçekleştirilen araştırmada en belirgin ilişki kadın, obez ve enerji alımı düşük olan bireylerde olmak üzere diyetle yüksek düzeyde çinko alımı ve telomer uzunluğu pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Shi ve ark., 2022). Diğer yandan 599 gönüllü katılımcıyla gerçekleştirilen kesitsel çalışmada diyetle çinko alımının LTL ile ters ilişkili olduğu bulunmuştur. Diğer çalışmaların aksini gösteren bu bulgu; diyetle yüksek düzeyde çinko alımının inflamasyonu teşvik ederek LTL üzerinde faydalı olmayabileceğini düşündürmüştür (Xing ve ark., 2023). Bu nedenle telomer uzunluğu ve diyetle çinko alım düzeyi arasındaki ilişki üzerine ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

### 3.8. Magnezyum

Magnezyum, DNA sentezi, RNA ekspresyonu, hücresel uyarılabilirlik, ATP'ye bağımlı biyokimyasal reaksiyonlar ve hücresel sağlık süresi gibi metabolik süreçlerle ilişkili olduğu için telomer uzunluğu ile pozitif korelasyon gösterebileceği düşünülmektedir. ABD’de 45 yaş ve üzeri

yetişkinlerle yapılan çalışmada diyetle magnezyum alımı ve telomer uzunluğu arasında pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur (Hu ve ark., 2022). Dhillon ve ark. ortalama yaşları 54 olan yetişkinlerde düşük magnezyum seviyelerinin telomer yıpranmasını hızlandırdığı; yetersiz uyku, düşük folat, B12 vitamini ve yüksek homosisteinin magnezyum eksikliği ile etkileşimlerinin hücrel DNA hasarını daha da kötüleştirerek yaşlanmayı hızlandırabileceğini bulmuşlardır (Dhillon ve ark., 2023). Diğer yandan diyetle magnezyum alımının inflamasyon gelişimini tetikleyerek LTL kısalması üzerinde olumsuz etkileri olabileceği bulunmuştur (Yu ve ark., 2020). Telomer uzunluğu ve magnezyum ilişkisinin anlaşılabilmesi için ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

### 3.9. Farklı Diyet Modelleri

Diyet, telomer hasarı ile sonuçlanabilen inflamasyon ve oksidatif stres gibi durumları etkilediğinden telomer uzunluğu üzerinde de etkilerinin olması kaçınılmazdır. Birçok besin ögesinin, besinin ve diyet modellerinin telomer uzunluğu üzerinde farklı etkileri vardır. Lee ve ark. kurubaklagiller, meyveler, süt ürünleri, yağlı tohumlar ve deniz yosunundan zengin beslenme modelinin LTL ile pozitif korelasyon gösterdiğini, kırmızı et, işlenmiş et ürünleri, tatlandırılmış gazlı içeceklerden zengin Batı tipi beslenme modelinin ise LTL ile negatif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır (Lee ve ark., 2015). Karimi ve ark. 25-40 yaşlarında sağlıklı erkeklerle gerçekleştirdikleri çalışmada meyve, sebze, tam tahıllar ve beyaz et (balık) tüketiminin artırıldığı sağlıklı bir diyetle uyumun telomer uzunluğu ile pozitif yönde, Batı tipi diyet modelinin telomer uzunluğu ile negatif yönde ilişkili olduğunu bulmuşken (Karimi ve ark., 2018); Gong ve ark. sebze içeriği yüksek diyetle uyum sağlamanın CRP düzeylerinin azalmasıyla kadınlarda telomerlerin daha uzun olmasına yol açtığını bulmuşlardır (Gong ve ark., 2018).

Akdeniz diyeti (MD), bazı kronik hastalıklar için düşük morbidite ve mortalite ile ilişkisi nedeniyle dünyadaki en sağlıklı diyet modellerinden biri olarak gösterilmektedir. Bu diyetin lipoprotein seviyeleri, endotel vazodilatasyonu, insülin direnci, antioksidan kapasitesi, akut miyokard enfarktüsü insidansı ve küresel kardiyovasküler mortalite gibi kardiyovasküler hastalık risk faktörleri üzerinde faydaları kanıtlanmıştır. Akdeniz diyetinin oksidatif stres ve inflamasyonu azaltıcı etkisi nedeniyle telomer uzunluğu ile pozitif korelasyon göstereceği düşünülmektedir. Yaşlıların Akdeniz diyetine uyumları ve telomer uzunluğunun incelendiği araştırmada Akdeniz diyetine yüksek uyum göstermenin daha yavaş hücrel yaşlanma ve telomer uzunluğu

ile pozitif ilişkili olduğu bulunmuştur (Boccardi ve ark., 2013). Marin ve ark. 65 yaş ve üzerindeki katılımcılarla gerçekleştirdikleri çalışmada Akdeniz diyetine uyumun hücre içi oksidatif stresin azaltılması, telomer uzunluğunun korunması ve hücre yaşlanmasına karşı koruyucu etki gösterdiğini bulmuşlardır (Marin ve ark., 2012). Sağlıklı kadınlarla gerçekleştirilen bir diğer çalışmada Akdeniz diyetine uyumun daha uzun telomerle ilişkili olduğunun bulunması önceki çalışmaları destekler niteliktedir (Crous-Bou ve ark., 2014).

Diyet kalitesi, bir diyetin bulaşıcı olmayan hastalık riskini azaltma derecesi olarak tanımlanmakta ve popülasyonların beslenme davranışlarını incelemek için kullanılmaktadır. Telomer uzunluğunun beslenme ile ilişkisini araştıran çalışmalarda da sıklıkla diyet kalitesi incelenmiştir. Leung ve ark. 20-65 yaş aralığındaki sağlıklı bireylerin diyetlerini farklı diyet kalite indeksleri ile değerlendirmiş ve HEI-2010, AHEI-2010, MedDiet ve DASH puanlarının her birinin kadınlarda LTL ile pozitif ilişkili olduğunu, bu diyet kalite endekslerindeki her 1-SD puan artışının yaklaşık olarak 3,2-3,9 ek yaşlanma yılına eşdeğer olduğunu bulmuşlardır. Mevcut çalışma; meyve, sebze, tam tahıl ürünleri, süt ürünleri ve bitki bazlı proteinler açısından zengin kırmızı etler, işlenmiş etler, sodyum ve ilave şekerler açısından fakir bir diyetin, özellikle kadınlar arasında sağlıklı hücre yaşlanmayla ilişkili olduğunu göstermiştir (Leung ve ark., 2018). Abdominal obezitesi olan 7-16 yaş arasındaki pediatrik grupla yapılan çalışmada müdahale grubu Akdeniz diyeti uygularken kontrol grubu yalnızca standart pediatrik önerilere göre beslenmiş ve bu iki grubun diyet kalite indeksleri ve telomer uzunlukları incelenmiştir. Sonuç olarak abdominal obezitesi olan çocuklarda diyet kalite indeksi puanı ve telomer uzunluğu arasında pozitif yönde ilişki olduğu saptanmıştır (Ojeda-Rodríguez ve ark., 2020a). Yaşlılarla yapılan diyet kalite indeksi ve telomer uzunluğunun incelendiği çalışmalarda da önceki çalışmaları doğrular nitelikte diyet kalite indeksi puanları ve telomer uzunluğu arasında pozitif korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Ojeda-Rodríguez ve ark., 2020b; Chan ve ark., 2020).

İnflamasyon, telomerlerin kısalmasının değiştirilebilir etkenlerinden olduğu için telomer uzunluğu ve beslenme ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda diyet inflamatuvar indeksi sıklıkla kullanılmaktadır. Shivappa ve ark. CRP değerleri ile karşılaştırarak doğruladıkları diyet inflamatuvar indeksi puanları ile LTL arasında ters bir ilişki olduğunu bulmuş, diyetle ilişkili inflamasyonun LTL'yi belirlediği hipotezini doğrulamışlardır (Shivappa ve ark., 2017).

Yüksek kardiyovasküler risk taşıyan katılımcılarla 5 yıl boyunca kesitsel ve uzunlamasına analizler yapılan çalışmada anti-inflamatuar diyetle uyumun telomer kısalmasını yavaşlatarak yaşlanma ve sağlık üzerinde yararlı bir etkisi olduğu bulunmuş ve diyetin proinflamatuar veya anti-inflamatuar mekanizmalar aracılığıyla telomer uzunluğunun bir belirleyicisi olarak önemli bir rol oynayabileceği gösterilmiştir (Garcia-Calzon ve ark., 2015). Diyet inflammatuar indeksi ve biyolojik yaşlanma arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmada ise daha yüksek diyet inflammatuar indeksi puanının daha kısa telomer uzunluğu ve daha hızlı yaşlanma ile sonuçlandığı bulunmuştur (Xie ve ark., 2023).

#### 4.SONUÇ

Telomer uzunluğu, biyolojik yaşlanma belirteci olarak kabul görmektedir. Telomer kısalması kanser, tip 2 diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalıklar ve yaşlanma ile ilişkilendirilmektedir. Telomer uzunluğu genetik faktörlere bağlı olup yaş alma ile kısalmakta olsa da telomer uzunluğunu etkileyen değiştirilebilir faktörler üzerinde etki yaratılarak telomerlerde meydana gelen kısalma yavaşlatılabilmekte ve hücrel yaşlanma geciktirilebilmektedir. Telomer kısalmasını etkileyen değiştirilebilir başlıca faktörler arasında oksidatif stres ve inflamasyon yer almaktadır. Araştırmalarda beslenmenin bu değiştirilebilir faktörler üzerinde etki göstererek telomer uzunluğunun korunmasında önemli rol oynayabileceği bulunmuştur. Temel olarak telomer uzunluğunun korunabilmesi için diyetle makro ve mikro besin öğeleri yeterli düzeyde alınmalı, diyetle antioksidan ve antiinflammatuar özellik gösteren meyve, sebze, balık gibi besinler yer almalı, Akdeniz diyeti gibi sağlıklı beslenme modelleri benimsenmelidir.

## KAYNAKLAR

- Armanios, M., & Blackburn, E. H. (2012). The telomere syndromes. *Nature Reviews Genetics*, 13(10), 693-704.
- Aviv, A., Valdes, A., Gardner, J. P., Swaminathan, R., Kimura, M., & Spector, T. D. (2006). Menopause modifies the association of leukocyte telomere length with insulin resistance and inflammation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(2), 635-640.
- Aviv, A. (2009). Leukocyte telomere length: the telomere tale continues2. *The American journal of clinical nutrition*, 89(6), 1721-1722.
- Babizhayev, M. A., Vishnyakova, K. S., & Yegorov, Y. E. (2015). Hormone-brain-aging relationships, broadly reactive with imidazole-containing dipeptides: targeting of telomere attrition as an aging biomarker and dynamic telomerase activity flirting. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 26(2), 115-140.
- Bernadotte, A., Mikhelson, V. M., & Spivak, I. M. (2016). Markers of cellular senescence. Telomere shortening as a marker of cellular senescence. *Aging (Albany NY)*, 8(1), 3.
- Blackburn, E. H. (2005). Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. *FEBS letters*, 579(4), 859-862.
- Boccardi, V., Esposito, A., Rizzo, M. R., Marfella, R., Barbieri, M., & Paolisso, G. (2013). Mediterranean diet, telomere maintenance and health status among elderly. *PloS one*, 8(4), e62781.
- Bruno, E. J., Simpson, G. D., & Martin, R. L. (2017). Extending telomere length with a multivitamin: A pilot study. *J Health Educ Res Dev*, 5(238), 2.
- Calcinotto, A., Kohli, J., Zagato, E., Pellegrini, L., Demaria, M., & Alimonti, A. (2019). Cellular senescence: aging, cancer, and injury. *Physiological reviews*, 99(2), 1047-1078.
- Carmona, J. J., & Michan, S. (2016). Biology of healthy aging and longevity. *Revista de investigacion clinica*, 68(1), 7-16.



- Chan, R., Leung, J., Tang, N., & Woo, J. (2020). Dietary patterns and telomere length in community-dwelling Chinese older men and women: a cross-sectional analysis. *European Journal of Nutrition*, 59, 3303-3311.
- Corina, A., Rangel-Zúñiga, O. A., Jiménez-Lucena, R., Alcalá-Díaz, J. F., Quintana-Navarro, G., Yubero-Serrano, E. M., ... & Pérez-Martínez, P. (2019). Low intake of vitamin E accelerates cellular aging in patients with established cardiovascular disease: the CORDIOPREV study. *The Journals of Gerontology: Series A*, 74(6), 770-777.
- Crider, K. S., Yang, T. P., Berry, R. J., & Bailey, L. B. (2012). Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Advances in nutrition*, 3(1), 21-38.
- Crous-Bou, M., Fung, T. T., Prescott, J., Julin, B., Du, M., Sun, Q., ... & De Vivo, I. (2014). Mediterranean diet and telomere length in Nurses' Health Study: population based cohort study. *Bmj*, 349.
- Dhillon, V. S., Deo, P., Thomas, P., & Fenech, M. (2023). Low Magnesium in conjunction with high homocysteine and less sleep accelerates telomere attrition in healthy elderly Australian. *International journal of molecular sciences*, 24(2), 982.
- Entringer, S., Epel, E. S., Lin, J., Blackburn, E. H., Buss, C., Shahbaba, B., ... & Wadhwa, P. D. (2015). Maternal folate concentration in early pregnancy and newborn telomere length. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 66(4), 202-208.
- Epel, E. S., Blackburn, E. H., Lin, J., Dhabhar, F. S., Adler, N. E., Morrow, J. D., & Cawthon, R. M. (2004). Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(49), 17312-17315.
- Fouquerel, E., Barnes, R. P., Uttam, S., Watkins, S. C., Bruchez, M. P., & Opresko, P. L. (2019). Targeted and persistent 8-oxoguanine base damage at telomeres promotes telomere loss and crisis. *Molecular cell*, 75(1), 117-130.
- Furumoto, K., Inoue, E., Nagao, N., Hiyama, E., & Miwa, N. (1998). Age-dependent telomere shortening is slowed down by enrichment of

- intracellular vitamin C via suppression of oxidative stress. *Life sciences*, 63(11), 935-948.
- Garcia-Calzon, S., Zalba, G., Ruiz-Canela, M., Shivappa, N., Hebert, J. R., Martínez, J. A., ... & Marti, A. (2015). Dietary inflammatory index and telomere length in subjects with a high cardiovascular disease risk from the PREDIMED-NAVARRA study: cross-sectional and longitudinal analyses over 5 y. *The American journal of clinical nutrition*, 102(4), 897-904.
- Gebreab, S. Y., Manna, Z. G., Khan, R. J., Riestra, P., Xu, R., & Davis, S. K. (2017). Less than ideal cardiovascular health is associated with shorter leukocyte telomere length: the National Health and Nutrition Examination Surveys, 1999–2002. *Journal of the American Heart Association*, 6(2), e004105.
- Gong, Y., Tian, G., Xue, H., Zhang, X., Zhao, Y., & Cheng, G. (2018). Higher adherence to the ‘vegetable-rich’ dietary pattern is related to longer telomere length in women. *Clinical Nutrition*, 37(4), 1232-1237.
- Harley, C. B., Futcher, A. B., & Greider, C. W. (1990). Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*, 345(6274), 458-460.
- Houben, J. M., Moonen, H. J., van Schooten, F. J., & Hageman, G. J. (2008). Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress?. *Free radical biology and medicine*, 44(3), 235-246.
- Hu, L., Bai, Y., Hu, G., Zhang, Y., Han, X., & Li, J. (2022). Association of dietary magnesium intake with leukocyte telomere length in United States middle-aged and elderly adults. *Frontiers in nutrition*, 9, 840804.
- Ilmonen, P., Kotrschal, A., & Penn, D. J. (2008). Telomere attrition due to infection. *PloS one*, 3(5), e2143.
- Karimi, B., Nabizadeh, R., Yunesian, M., Mehdipour, P., Rastkari, N., & Aghaie, A. (2018). Foods, dietary patterns and occupational class and leukocyte telomere length in the male population. *American Journal of Men's Health*, 12(2), 479-492.
- Lapham, K., Kvale, M. N., Lin, J., Connell, S., Croen, L. A., Dispensa, B. P., ... & Blackburn, E. H. (2015). Automated assay of telomere length measurement and informatics for 100,000 subjects in the genetic

- epidemiology research on adult health and aging (GERA) cohort. *Genetics*, 200(4), 1061-1072.
- Lee, J. Y., Jun, N. R., Yoon, D., Shin, C., & Baik, I. (2015). Association between dietary patterns in the remote past and telomere length. *European journal of clinical nutrition*, 69(9), 1048-1052.
- Leung, C. W., Fung, T. T., McEvoy, C. T., Lin, J., & Epel, E. S. (2018). Diet quality indices and leukocyte telomere length among healthy US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2002. *American journal of epidemiology*, 187(10), 2192-2201.
- Levy, M. A., Tian, J., Gandelman, M., Cheng, H., Tsapekos, M., Crego, S. R., ... & Sinnott, R. (2024). A multivitamin mixture protects against oxidative stress-mediated telomere shortening. *Journal of Dietary Supplements*, 21(1), 53-70.
- Liu, J. J., Prescott, J., Giovannucci, E., Hankinson, S. E., Rosner, B., Han, J., & De Vivo, I. (2013). Plasma vitamin D biomarkers and leukocyte telomere length. *American journal of epidemiology*, 177(12), 1411-1417.
- Ludlow, A. T., & Roth, S. M. (2011). Physical activity and telomere biology: exploring the link with aging-related disease prevention. *Journal of aging research*, 2011(1), 790378.
- Lulkiewicz, M., Bajsert, J., Kopczynski, P., Barczak, W., & Rubis, B. (2020). Telomere length: how the length makes a difference. *Molecular Biology Reports*, 47, 7181-7188.
- Marin, C., Delgado-Lista, J., Ramirez, R., Carracedo, J., Caballero, J., Perez-Martinez, P., ... & Lopez-Miranda, J. (2012). Mediterranean diet reduces senescence-associated stress in endothelial cells. *Age*, 34, 1309-1316.
- Mirabello, L., Huang, W. Y., Wong, J. Y., Chatterjee, N., Reding, D., David Crawford, E., ... & Savage, S. A. (2009). The association between leukocyte telomere length and cigarette smoking, dietary and physical variables, and risk of prostate cancer. *Aging cell*, 8(4), 405-413.
- Mundstock, E., Sarria, E. E., Zatti, H., Mattos Louzada, F., Kich Grun, L., Herbert Jones, M., ... & Mattiello, R. (2015). Effect of obesity on

- telomere length: systematic review and meta-analysis. *Obesity*, 23(11), 2165-2174.
- Myers, K. O., Ibrahimou, B., Yusuf, K. K., Mauck, D. E., & Salihu, H. M. (2021). The effect of maternal vitamin C intake on fetal telomere length. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 34(7), 1143-1148.
- Nalobin, D., Alipkina, S., Gaidamaka, A., Glukhov, A., & Khuchua, Z. (2020). Telomeres and telomerase in heart ontogenesis, aging and regeneration. *Cells*, 9(2), 503.
- Ojeda-Rodríguez, A., Morell-Azanza, L., Zalba, G., Zazpe, I., Azcona-Sanjulian, M. C., & Marti, A. (2020). Associations of telomere length with two dietary quality indices after a lifestyle intervention in children with abdominal obesity: a randomized controlled trial. *Pediatric Obesity*, 15(11), e12661.
- Ojeda-Rodríguez, A., Zazpe, I., Alonso-Pedrero, L., Zalba, G., Guillen-Grima, F., Martinez-Gonzalez, M. A., & Marti, A. (2020). Association between diet quality indexes and the risk of short telomeres in an elderly population of the SUN project. *Clinical nutrition*, 39(8), 2487-2494.
- Paul, L., Cattaneo, M., D'Angelo, A., Sampietro, F., Fermo, I., Razzari, C., ... & Selhub, J. (2009). Telomere length in peripheral blood mononuclear cells is associated with folate status in men. *The Journal of nutrition*, 139(7), 1273-1278.
- Paul, L. (2011). Diet, nutrition and telomere length. *The Journal of nutritional biochemistry*, 22(10), 895-901.
- Paul, L., Jacques, P. F., Aviv, A., Vasan, R. S., D'Agostino, R. B., Levy, D., & Selhub, J. (2015). High plasma folate is negatively associated with leukocyte telomere length in Framingham Offspring cohort. *European journal of nutrition*, 54, 235-241.
- Praveen, G., Shalini, T., Sivaprasad, M., & Reddy, G. B. (2020). Relative telomere length and mitochondrial DNA copy number variation with age: association with plasma folate and vitamin B12. *Mitochondrion*, 51, 79-87.

- Richards, J. B., Valdes, A. M., Gardner, J. P., Paximadas, D., Kimura, M., Nessa, A., ... & Aviv, A. (2007). Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *The American journal of clinical nutrition*, 86(5), 1420-1425.
- Searle, A. J., & Tomasi, A. (1982). Hydroxyl free radical production in iron-cysteine solutions and protection by zinc. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 17(2), 161-166.
- Sen, A., Marsche, G., Freudenberger, P., Schallert, M., Toeglhofer, A. M., Nagl, C., ... & Schmidt, H. (2014). Association between higher plasma lutein, zeaxanthin, and vitamin C concentrations and longer telomere length: results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 62(2), 222-229.
- Shay, J. W., & Wright, W. E. (2005). Senescence and immortalization: role of telomeres and telomerase. *Carcinogenesis*, 26(5), 867-874.
- Shi, H., Li, X., Yu, H., Shi, W., Lin, Y., & Zhou, Y. (2022). Potential effect of dietary zinc intake on telomere length: A cross-sectional study of US adults. *Frontiers in nutrition*, 9, 993425.
- Shivappa, N., Wirth, M. D., Hurley, T. G., & Hébert, J. R. (2017). Association between the dietary inflammatory index (DII) and Telomere length and C-Reactive protein from the national health and nutrition examination Survey-1999–2002. *Molecular nutrition & food research*, 61(4), 1600630.
- Song, Y., Chung, C. S., Bruno, R. S., Traber, M. G., Brown, K. H., King, J. C., & Ho, E. (2009). Dietary zinc restriction and repletion affects DNA integrity in healthy men. *The American journal of clinical nutrition*, 90(2), 321-328.
- Tamura, Y., Takubo, K., Aida, J., Araki, A., & Ito, H. (2016). Telomere attrition and diabetes mellitus. *Geriatrics & gerontology international*, 16, 66-74.
- Tanaka, Y., Moritoh, Y., & Miwa, N. (2007). Age-dependent telomere-shortening is repressed by phosphorylated  $\alpha$ -tocopherol together with cellular longevity and intracellular oxidative-stress

- reduction in human brain microvascular endotheliocytes. *Journal of cellular biochemistry*, 102(3), 689-703.
- Ulak, M., Kvestad, I., Chandyo, R. K., Schwinger, C., Basnet, S., Shrestha, M., ... & Strand, T. A. (2024). The effect of vitamin b12 supplementation on leukocyte telomere length in mildly stunted nepalese children: a secondary outcome of a randomized controlled trial. *The Journal of Nutrition*, 154(8), 2543-2550.
- von Zglinicki, T., Pilger, R., & Sitte, N. (2000). Accumulation of single-strand breaks is the major cause of telomere shortening in human fibroblasts. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(1), 64-74.
- Yu, J., Liu, H., He, S., Li, P., Ma, C., Ma, M., ... & Li, Y. (2020). Dietary magnesium intake and leukocyte telomere attrition in adults: the regulatory role of serum tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Mediators of Inflammation*, 2020(1), 7610436.
- Xie, R., Ning, Z., Xiao, M., Li, L., Liu, M., & Zhang, Y. (2023). Dietary inflammatory potential and biological aging among US adults: a population-based study. *Aging clinical and experimental research*, 35(6), 1273-1281.
- Xing, B., Yu, J., Liu, Y., He, S., Chen, X., Li, Z., ... & Li, Y. (2023). High dietary zinc intake is associated with shorter leukocyte telomere length, mediated by tumor necrosis factor- $\alpha$ : a study of China adults. *The Journal of nutrition, health and aging*, 27(10), 904-910.
- Xu, Q., Parks, C. G., DeRoo, L. A., Cawthon, R. M., Sandler, D. P., & Chen, H. (2009). Multivitamin use and telomere length in women. *The American journal of clinical nutrition*, 89(6), 1857-1863.



## BÖLÜM 9

### PROSTAT KANSERİNİN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

Öğr. Gör. Dr. Hamiyet ECİROĞLU SARBAN<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566588>

<sup>1</sup>Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve teknikler Bölümü, Antalya, Türkiye. hamiyet.eciroglu@alanya.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-3555-3946





## GİRİŞ

Prostat kanseri, erkeklerde en sık görülen kanserlerden biri ve kansere bağlı ölümlerin ikinci nedenidir. Hastalık çeşitli genetik, çevresel ve hormonal faktörlerin etkisi ile ortaya çıkar, bunun yanı sıra gelişiminde çok faktörlü, karmaşık bir süreç gözlenmektedir (Vanacore ve ark., 2017; Siegel ve ark., 2019). Prostat kanserinden etkilenen hastalar, lokalize veya ileri bir hastalıkla başvururlar ve hastalık sıklıkla ileri yaşlarda tespit edilebilmektedir. (Sekhoacha ve ark., 2022).

Diğer kanser türlerinde olduğu gibi prostat kanseri de çeşitli genetik ve epigenetik mekanizmaların etkisi ile ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır. Son çalışmalar prostat kanserinin farklı moleküler alt tiplerinin tanımlanmasına da olanak sağlamıştır. Prostat kanseri patogeneğinde DNA hasarı, androjen hormon bozuklukları, inflamasyon, telomeraz aktivitesi, inflamasyon gibi bir dizi biyolojik sürecin etkili olduğu bilinmektedir. Epidemiyolojik çalışmalara göre, prostat kanseri vakalarının önemli bir kısmı genetik geçişli olmasının yanı sıra kanserle ilişkili moleküler yolların çoğunda sporadik mutasyonlar dikkati çekmektedir (Sekhoacha ve ark., 2022; Rebbeck, 2017). Prostat kanseri hücrelerinde zamanla, onkogenler, tümör süpressör genler ya da çeşitli mekanizmlar ile ilişkili genlerde somatik nokta mutasyonları, gen delesyonları ve insersiyonları, amplifikasyonlar, kromozomal yeniden düzenlemeler ve DNA metilasyon değişiklikler meydana gelir (Murray, 2021).

Hastalığın mevcut tanı yöntemleri arasında dijital rektal muayene (DRE), serum prostat spesifik antijen (PSA) seviyesinin belirlenmesi ve transrektal ultrasonografi (TRUS) eşliğinde gerçekleştirilen prostat biyopsilerinin patolojik incelemeleri yer almaktadır (Boehm ve ark., 2023; Van Poppel ve ark., 2022). İyi huylu prostat hiperplazisi (BPH) ile prostat kanserini ayırt etmek için, serum PSA seviyesinin 4-10 ng/ml ve üzerinde olması önerilmektedir (Vanacore ve ark., 2017; Siegel ve ark., 2019; Abramovic ve ark., 2020). Ancak, PSA düzeyi çoğu zaman güvenilir sonuçlar sağlamaz; çok sayıda hastanın gereksiz yere biyopsi yapılmasına ya da bazı hastaların gözden kaçırılmasına neden olabilir. Dolayısı ile daha spesifik, duyarlı, güvenilir ve kolay test edilen biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır (Abramovic ve ark., 2020; Boehm ve ark., 2023).

Bu bölümde, hastalığın patogenezi, moleküler temelleri ve mevcut tanı yöntemleri hakkında genel bir bakış sunulmaya çalışılacaktır.

### **1. Prostat Kanseri'nin Epidemiyolojisi**

Erkeklerde en yaygın solid tümör tipi prostat kanseridir. Hastalık, genetik, epigenetik, hormonal ve çevresel faktörlerin bir araya gelmesiyle oluşan karmaşık ve heterojenik bir yapıya sahiptir. Risk faktörleri arasında ailesel yatkınlık, genetik faktörler, etnik köken, yaş, beslenme alışkanlıkları, obezite ve diğer çevresel faktörler bulunur. Risk faktörlerindeki farklılık nedeni ile ülkeler arasında prostat kanseri epidemiyolojisi açısından farklılıklar gözlemlenmektedir (Rawla, 2019; Sekhoacha ve ark., 2022). İlginç bir şekilde, prostat kanseri Afrika kökenli erkeklerde en yüksek insidansa sahiptir, bunu Avrupalı ve Asyalı erkekler takip eder (Boehm ve ark., 2023). Buna rağmen eldeki verilere göre Afrika ve Asya'nın insidans oranları gelişmiş ülkelerdekinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıklar, çevresel faktörlerin de prostat kanserinin etiyolojisinde önemli bir rol oynadığını ve insidanslardaki farklılıkların yetersiz teşhis, tarama yöntemlerindeki farklılıklar ve sağlık hizmetlerine erişimdeki eşitsizliklerden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir (Rawla, 2019).

Prostat kanseri, prostat bezinin epitel hücrelerinden kaynaklanan hormona bağlı bir malignitedir. Genellikle yavaş ilerler, erken evrelerinde asemptomatik kalır (Rawla, 2019). Hastalık sıklıkla semptomların ortaya çıktığı ileri yaş bireylerde tespit edilir. Alt üriner sistem semptomları, görünür hematüri veya erektil disfonksiyon gösteren 50 yaş üstü erkeklerde prostat kanserinden şüphelenilir (Merriel ve ark., 2018). Bu hastalarda prostat hipertrofisinden de kaynaklanabilecek idrara çıkma zorluğu, sık idrara çıkma, noktüri, daha ileri evrelerde idrar retansiyonu gibi alt üriner sistem semptomlarının yanı sıra ve yaygın kemik ağrıları mevcuttur. Hastaların %80'inde ilk metastaz alanı kemikler olup, en sık metastaz yaptığı yerler kostalar, vertebra ve pelvis kemikleridir (Rawla, 2019). Prostat kanseri klinik olarak oldukça heterojen bir hastalıktır; aslında birçok hastada ilerleme ve metastazla agresif bir hastalık görülürken diğer hastalarda ilerleme eğilimi düşük yavaş bir hastalık görülmektedir (Vietri ve ark., 2021).

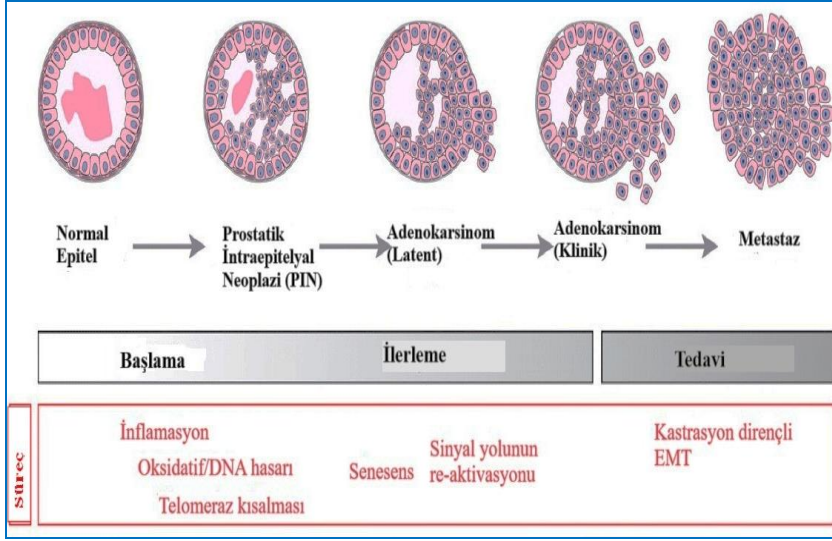
Alt üriner sistem semptomları BPH ve prostatit gibi prostati etkileyen iyi huylu durumlarda da görülen semptomlardır, bu nedenle hastalığın tanı koyma süreçleri klinik muayenenin yanı sıra radyolojik görüntüleme,

biyokimyasal parametreler ve patolojik değerlendirmeler ile desteklenmektedir (Merriel ve ark., 2018; Parker ve ark., 2020).

## 2. Prostat Kanserinin Patogenezi

Prostat, anatomik olarak retroperitoneal boşlukta bulunan, üretra ve mesane boynu ile fiziksel olarak ilişkili olan, erkeklere özgü hormona duyarlı bir bezdir. Normal prostat bezi salgı hücreleri, bazal hücreler ve nöroendokrin hücreler olmak üzere üç tip hücreden oluşur. Histolojik olarak prostat, bol miktarda fibromusküler stromanın tek tek bezleri ayırdığı, düşük kübik epitel hücrelerinden oluşan bir bazal tabakaya sahip bir glandüler dokudur. Prostat üç ana patoloji formundan etkilenir: inflamasyon (veya prostatit), iyi huylu prostat hiperplazisi (BPH) ve kötü huylu prostat kanseri. Prostatit, bakteriyel enfeksiyona gelişir ve genellikle granülatöz bir lezyondur. BPH genellikle yaşlı erkeklerde (>50 yaş) görülür ve periüretal bölgede ayrı nodüller olarak görülen prostat epitel ve stromal hücrelerinin hiperplazisinden kaynaklanır. Prostatit ve BPH malign tablo sergilemez. Kötü huylu prostat kanseri ise sinsi şekilde ilerleyen epitelin kötü huylu tümörünü içerir ve karsinom olarak sınıflandırılır (Coleman, 2018; Murray, 2021).

Prostat kanserlerinin yaklaşık %90-95'i periferik prostat bezinden kaynaklanan asiner adenokarsinomlardır. Histolojik olarak, lüminal hiperproliferasyon, bazal tabakanın kaybı, bazal membranın parçalanması, bağışıklık hücresi infiltrasyonu ve stromal reaktivite ile karakterizedir (Murray, 2021; Packer ve Maitland, 2016). Prostatın kötü huylu dönüşümü, prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) olarak başlayan, ardından lokalize prostat kanseri ve daha sonra lokal invazyonla ileri prostat adenokarsinomu ve metastatik prostat kanseri ile sonuçlanan çok adımlı bir süreci takip eder (Şekil 1) (Wang ve ark., 2018). PIN olarak adlandırılan histopatolojik değişiklikler, mevcut kanıtlara göre prostat kanserinin en olası öncüleridir. PIN lezyonları, daha ileri kanserlerde olduğu gibi multifokaldir ve çeşitli kromozomal anormalliklere sahiptir (Konishi ve ark., 2005). Tüm PIN'ler adenokarsinomaya dönüşme de, yaşam boyunca ilerleyen somatik genomik değişiklikler yoluyla PIN çoğunlukla metastaz yapabilen lokal bir prostat tümörüne dönüşmektedir (Gandhi ve ark., 2017). Adenokarsinomun saldırganlığı, histolojideki farklılaşma derecesine yansır. Histolojik olarak bu tümörler, Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği (ISUP) tarafından son olarak 2014 yılında değiştirilen Gleason Puanı derecelendirme sistemi kullanılarak derecelendirilir (Murray, 2021).



**Şekil 1:** Prostat Kanserinin gelişim evreleri (Sekhoacha ve ark., 2022).

Prostat kanserinin gelişiminde çeşitli hücrel bozukluklar, hormonal değişiklikler, genetik mutasyonlar, sinyal iletim mekanizmalarının düzensizlikleri, inflamasyon, oksidatif stres, telomerin kısalması gibi bir dizi biyolojik faktör bulunmaktadır. Bunların her biri genomik instabiliteye neden olur ve prostat kanserinin kötü prognozuyla ilişkilidir (Packer ve Maitland, 2016; Sekhoacha ve ark., 2022).

Androjenler prostat fizyolojisinde kritik bir rol oynar. Testis Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron ve periferik dokularda 5- $\alpha$  redüktaz tarafından testosterondan üretilen dihidrotestosterondur (DHT) erkeklerdeki iki ana androjenlerdir (Michaud ve ark., 2015). Prostat kanseri patogenezi ve ilerlemesinde androjenlerin rolünü destekleyen birçok veri bulunmasına rağmen, bunun tam tersi sonuçlar da mevcuttur. Bu tür çalışmalarda düşük serum androjen seviyelerine sahip hastalarda prostat kanseri tekrarlaması ve ileri patoloji riski daha yüksek olduğu öne sürülmektedir (Michaud ve ark., 2015; Murray, 2021). Çeşitli hormonlar (testosteron, 5-alfa redüktaz, seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG), östrojenler) ve çevresel faktörler (diyet, sigara vb.) arasındaki karmaşık etkileşimler nedeniyle hormonların prostat kanseri patogenezindeki rolü ve risk faktörlerinin kesin olarak belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Grozescu ve Popa, 2017).

Bazı hastalarda kimyasal veya cerrahi kastrasyon tedavisi uygulanmasına rağmen kastrasyona dirençli prostat kanseri (CRPC) görülür

ve gonadlar artık androjen sağlamasa bile tümör devam eder. Kastrasyon direncinin oluştuğu mekanizmalar, artan Androjen reseptörü (AR) ekspresyonu, gen amplifikasyonu, nokta mutasyonları, adrenal androjenlerin DHT'ye dönüşümünün artması ve AR splice varyantlarının üretimi dahil olmak üzere birçok farklı somatik değişiklik yoluyla gerçekleşir. AR, prostat bezinin normal fizyolojik işleyişi için merkezi bir moleküler sinyal yoludur ve prostat bezi lümeninin salgı epitel hücrelerinin sitoplazmasında bulunur. CRPC hastalarının yaklaşık %30'unda AR gen amplifikasyonu görülür. Bu, prostat tümör hücrelerinde yüksek AR protein seviyelerine neden olur ve düşük androjen seviyelerine duyarlılıklarını ve yanıt verme yeteneklerini artırır. Bunun yanı sıra CRPC hastalarının serumunda prostat epitel ve stromal hücrelerindeki reseptörleriyle birlikte çok sayıda büyüme hormonunun aşırı ekspresyonu ve hücre sakalımını destekleyen bir dizi genin ekspresyonunu desteklediğini göstermektedir. Bunun yanı sıra AR'nin yapısal aktivitesi, kanal epitelinin hücre çoğalmasına, büyümesine ve apoptoz kaybına neden olur ve bunun sonucunda prostat adenokarsinomu tümör oluşumu meydana gelir (Gandhi ve ark., 2017).

Kronik inflamasyon, hem prostat malignitesi hem de iyi huylu durumlarda olmak üzere, yetişkin prostatında sıklıkla mevcuttur (Porter ve ark., 2018). Son zamanlarda yapılan çalışmalar pre-neoplastik ve malign prostatlarda gözlemlenen kronik inflamasyonun, prostat karsinogenezisi ve ilerlemesinde itici güç olarak etkisinin olduğunu ileri sürmektedirler. Prostat inflamasyonunun sebebi olarak da mikrobiyal enfeksiyon (mikrobiyota kaynaklı), kimyasal tahriş, fiziksel travma, obezite ve diyet gibi faktörlerden etkilendiği düşünülmektedir. İnflamasyon yanıtı, DNA hasarı, hücre hasarı ve atrofiye ve ardından epitel proliferasyona neden olan serbest radikallerin ve sitokinlerin salınımını artırır. Buna bağlı olarak da oksidatif hasar ve yaşlanmaya bağlı bir dizi sinyal iletiminin ardından genomik olarak hasar görmüş epitel hücrelerinin sürekli çoğalması ve en sonunda invaziv adenokarsinom gelişimine yol açar (Konishi ve ark., 2005; de Bono ve ark., 2020).

Tümör mikroçevresi, tümör hücrelerini çevreleyen karmaşık bir ağ oluşturan immün sistem hücreleri (makrofajlar, NK hücreleri gibi), fibroblastlar, endotel hücreler gibi destekleyici hücrelerin ve hücre dışı matrisin (ECM) bileşenleri dahil geniş dizisini tanımlar. Bu hücreler, özellikle normal hücrelerden neoplastik kanser hücrelerine geçişlerinde patojenitelerinde rol oynayabilir (Murray, 2021). Tümör tarafından salınan bir

dizi parakrin sinyaller, komşu hücrelerdeki sinyallemeyi ve gen ifadesini aktive eder. Kanser hücreleri ile bu stromal kompartıman arasındaki etkileşimler, kanser hücrelerinin ektopik bölgelere invazyonu, anjiyogenezisi ve metastazı için tetikleyici rol alabilmektedir (Ganguly ve ark., 2014; Han ve ark., 2024).

Memeli kromozomlarının uçlarında bulunan telomer uzunluğundaki azalmalar genomik instabiliteye neden olur ve kromozomal yeniden düzenlemelere yol açabilir. Germ hattı telomeraz aktivitesinde bir değişiklik veya artışla birlikte prostat kanserinde de genellikle telomer kısalması görülür. Son zamanlarda yapılan bir çalışma, telomer uzunlukları arasında hücreler arası heterojenitesi artmış prostat kanseri hastalarının kötü prognoz olasılığının daha yüksek olduğu buldu. Kök hücreler de dahil olmak üzere normal prostat epitelinde telomeraz yoktur, ancak enzim seviyeleri hastalığın başlangıcı ve kastrasyona dirençli prostat kanserine ilerlemesi sırasında artar. Bunun yanı sıra Prostatın bazal kanser hücreleri telomeraz ifade etmezken; lüminal kanser epitelleri aktif telomeraz ifade eder, bu da kromozom uçlarının korunmasını ve hücrel sağkalımı sağlar (Packer ve Maitland, 2016).

### **3. Prostat Kanserinin Tanısı**

Prostat kanseri için tek ve spesifik bir test yoktur. Ancak hastalığın mevcut tanı yöntemleri arasında dijital rektal muayene (DRE), serum prostat spesifik antijen (PSA) seviyesinin belirlenmesi ve transrektal ultrasonografi (TRUS) eşliğinde gerçekleştirilen prostat biyopsilerinin patolojik incelemeleri yer almaktadır (Sekhoacha ve ark., 2022; Van Poppel ve ark., 2022; Boehm ve ark., 2023).

Parmakla rektal muayene tanı için bilinen en eski ve geleneksel yöntemdir. DRE, muayene edenin yüksek derecede şüphe duymasına ve prostatın boyutunu, kıvamını, nodülerliğini ve asimetrisini belirlemede deneyime dayanır (Cupp ve Oestreling, 1993; Sekhoacha ve ark., 2022). DRE'nin tek tarama aracı olarak kullanıldığı dönemlerde birçok hasta kanserin geç evresinde tespit edilebiliyor ya da hastalar tanı koyulmadığı için ölüyordu. Yapılan araştırmalara göre DRE'nin yanı sıra ve serum PSA testinin kullanılması ve anormal bulguları olan hastalarda yapılan ek testlerle (ultrasonografi ve biyopsi), DRE'nin tek başına yapılmasına göre prostat kanserini tespit etmede daha iyi bir yöntem sağladığıydı (Van Poppel ve ark., 2022). Yine de hala DRE sırasında düzensizlik veya nodülün palpasyonu, PSA

seviyesinden bağımsız olarak prostat biyopsisi için hala bir endikasyon olmaya devam etmektedir (Descotes, 2019).

Prostat spesifik antijen (PSA) testi, prostat kanseri taramasının temel taşlarından biridir. PSA, prostat bezinin epitel hücreleri tarafından salgılanan bir glikoproteindir. PSA prostat bezine özgüdür ve prostat kanserine özgü değildir; bu nedenle, prostat kanserini tespit etmede düşük bir özgüllüğe sahiptir. Birçok çalışmada prostat kanseri olmayan erkeklerin de yüksek PSA düzeylerine sahip olduğu bildirilmiştir (Sekhoacha ve ark., 2022). Yine de PSA seviyeleri 4 ng/mL'nin üzerindeki hastaların daha fazla teste ihtiyacı olduğunu gösterir. BPH ile prostat kanserini ayırt etmek için, serum PSA seviyesinin 4-10 ng/ml ve üzerinde olması önerilmektedir (Vanacore ve ark., 2017; Siegel ve ark., 2019; Abramovic ve ark., 2020). Ancak, PSA düzeyi çoğu zaman güvenilir sonuçlar sağlamadığından, çok sayıda hastanın gereksiz yere biyopsi yapılmasına ya da bazı hastaların gözden kaçırılmasına neden olabilir. Dolayısı ile daha spesifik, duyarlı, güvenilir ve kolay test edilen biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut uygulamalarda kanser varlığını doğrulamak için genellikle prostat dokusu biyopsisi yapılır ve patolojik değerlendirmeler sonucunda Gleason Skorlaması ile tanı koyulur (Abramovic ve ark., 2020; Boehm ve ark., 2023).

Biyopsi sırasında, prostat bezi genellikle manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve transrektal ultrason (TRUS) gibi cihazlarla yerleştirilir ve hedef dokudan ayrıntılı görüntü alınır (Sekhoacha ve ark., 2022). Ultrason kılavuzluğunda biyopsi, prostat biyopsileri için standart yöntemdir. Prostat kanseri tümörlerinin çoğu periferik bölgede yer alır ve en az 10 çekirdek biyopsisi ile transrektal, ultrason kılavuzluğunda bir yaklaşım kullanılarak biyopsi yapılır (Nguyen-Nielsen ve Borre, 2016). Biyopsi analizi, prostat kanseri teşhisinin en güvenilir yöntemlerinden biridir. Biyopsi doku örnekleri patoloji laboratuvarında incelenir ve analiz edilir (Sekhoacha ve ark., 2022).

Prostat kanserinin kesin tanısı, özellikle Gleason skoru, histolojik tiplendirme ve lokasyona ilişkin ayrıntılarla histopatoloji ile yapılır. Gleason skoru şu anda klinik sonuç ve tedavi yanıtı için en güçlü prognostik faktördür. Skorlama sistemi Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği (ISUP) tarafından son olarak 2014 yılında değiştirilen Gleason Puanı derecelendirme sistemi kullanılarak derecelendirilir (Nguyen-Nielsen ve Borre, 2016; Murray, 2021). Amerikan Kanser Ortak Komitesi metodolojisine göre, prostat kanseri evrelemesi için T (tümör boyutu), N (lenf nodu invazyonu) ve M (metastaz



varlığı veya yokluğu) sınıflandırmaları yapılır. Tümör derecesi ve PSA ile birlikte kullanılan TNM evrelemesi, prostat kanseri için kabul görmüş bir uygulama standardı olarak kabul edilir ve tedaviye karar vermede yol gösterici olarak kullanılmaktadır (Buyyounouski ve ark., 2017). Gleason skorlama sistemi, birincil ve ikincil kanser modellerini 1'den 5'e kadar puanlar ve Gleason skoru iki modelin toplamıdır (örneğin, 3 + 3 = 6) (Buyyounouski ve ark., 2017). Bu, prostat kanserinin histolojik bulgularını prognostik davranışla, yani radikal prostatektomiye izleyen 5 yıllık biyokimyasal tekrarlama (BCR) riskiyle sınıflandırır. Gleason skorlamasını beş grupta sınıflandırarak daha basit ve anlaşılır bir model sunmuştur: Grade Grup 1: Gleason skoru  $\leq 6$ ; Grade Grup 2: Gleason skoru 3+4=7; Grade Grup 3: Gleason skoru 4+3=7; Grade Grup 4: Gleason skoru 8; Grade Grup 5: Gleason skoru 9-10. Gleason Skorlaması, prostat kanseri tanısı ve tedavi planlamasında vazgeçilmez bir araçtır. Bununla birlikte, doğru sonuçlar için deneyimli bir patolog tarafından yapılması önemlidir (Murray, 2021).

#### 4. Prostat Kanserinin Genetiği

Diğer kanser türlerinde olduğu gibi prostat kanseri de çeşitli genetik ve epigenetik mekanizmaların etkisi ile ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır. Mevcut epidemiyolojik çalışmalara göre, prostat kanseri vakalarının önemli bir kısmı genetik geçişlidir. Bunun yanı sıra hastalığın başlamasından invazyonuna kadar olan tüm süreçlerde rol oynayan moleküler yolların çoğunluğu sporadiktir (Rebbeck, 2017; Sekhoacha ve ark., 2022). Prostat kanseri hücrelerinde zamanla, onkogenler, tümör süpressör genler ya da çeşitli mekanizmlar ile ilişkili genlerde somatik nokta mutasyonları, gen delesyonları ve insersiyonları, amplifikasyonlar, kromozomal yeniden düzenlemeler ve DNA metilasyon değişiklikler ve mutasyonlar meydana gelir (Gandhi ve ark., 2017). Bu değişiklikler prostat kanserinin gelişimi, ilerlemesi ve androjenden bağımsız fenotiplerin ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (Sekhoacha ve ark., 2022).

Genom çapında ilişki çalışmaları (GWAS) ile prostat kanseri ile ilişkili olan tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA), çeşitli genlerin varyantları ve aday genler tanımlanmıştır (Vietri ve ark., 2021). DNA hasarı ve onarımı, kanserojen metabolizması, inflamasyon, steroid hormon metabolizması ve diğer birçok genle ilgili aday gen ilişkisi çalışmalarında raporlanmış ve dünya çapında popülasyonlarda doğrulanmıştır. Büyük gen panelleri veya GWAS kullanılarak tanımlanan aday genlerin

örnekleri arasında AR26, kallekrein genleri (prostata özgü antijen kodlayan gen, KLK3), telomerle ilgili genler (TERT ve TET), karsinojen metabolizması (UGT1A8 ve CYP21A2 34), DNA onarım mekanizması (ATM, TERT, MYC), inflamatuvar yanıt (CXCR2, TNF ve LILRA3), mikroRNA'lar veya matris metaloproteinaz genleri içeren lokuslar yer almaktadır (Rebbeck, 2017).

#### **4.1. Kalıtsal Prostat Kanseri**

Mevcut epidemiyolojik çalışmalara göre, prostat kanseri vakalarının önemli bir kısmı genetik geçişlidir. Monozigotik ve dizigotik ikizler üzerinde yapılan çalışmalar prostat kanserinin diğer kanser türlerine göre daha güçlü kalıtsal bir bileşen taşıdığını göstermektedir. Buna göre prostat kanseri teşhisi konan erkeklerin ailesinde prostat kanseri öyküsü olmayan erkeklere kıyasla kanser geliştirme riski %50'dir (Sekhoacha ve ark., 2022). Ayrıca 60 yaşın altında prostat kanseri teşhisi konan birinci derece akrabası olan erkeklerde prostat kanseri riski dört kat daha fazladır (Gandhi ve ark., 2017). Hastalığın genel insidans oranına benzer şekilde, kalıtsal prostat kanseri insidansı da Afrika kökenli Amerikalı erkeklerde Avrupa ve Asyalı erkeklere oranla iki ila üç kat daha fazladır. Benzer şekilde, genetik etiyojoloji popülasyon çeşitliliğine göre farklılık gösterir (Heidegger ve ark., 2019; Vietri ve ark., 2021).

Kalıtsal prostat kanseri, otozomal dominant kalıtımla oluşan ve erken başlangıçla karakterize edilen gen mutasyonlarından kaynaklanmaktadır. Genellikle tümör baskılayıcı genlerde ve proto-onkogenlerde kalıtsal mutasyonlar vardır. Kalıtsal kalıtım riski büyük gen panelleri veya GWAS kullanılarak, genlerdeki polimorfizimlerle de belirlenir (Gandhi ve ark., 2017; Vietri ve ark., 2021). Tablo 1'de prostat kanseri duyarlılığı için en çok çalışılan kalıtsal mutasyonları yer almaktadır.

**Tablo 1:** Kalıtsal prostat kanseri ile ilişkili genler ve mutasyonları (Gandhi ve ark., 2017).

Gen	Konum	Mutasyonlar
AR	Xq11	Polimorfik poliglutammat (CAG) tekrarları
RNASEL (HPC1)	1q24	Nokta mutasyonları: Met1Ile, Glu265X, Arg462Gln
MTHFR	1p36	C677T ve A1298C
SRD5A2	2p23	Nokta mutasyonları: Val89Leu, Ala49Thr
MSR1	8p22	Nokta mutasyonları: Arg293X, Pro36Ala, Ser41Tyr, Val113Ala, Asp174Tyr, Gly369Ser, His441Arg
KYP17	10s24	Promotör bölgesinde nokta mutasyonu
BRCA1	17s21	Delesyon
BRCA2	13s13	Delesyon, promotör hipermetilasyonu, protein kesilmesi
ELAC2	17s11	Nokta mutasyonları: Arg781His, Ser217Leu, Ala541Thr
		Baz eklenmesi: kodon 157'den sonra erken sonlanma

Steroid-5- $\alpha$ -redüktaz tip II (SRD5 $\alpha$ 2), prostatta testosteronu prostat hücreleri içinde DHT'ye dönüştüren 5- $\alpha$  redüktaz enziminin baskın izoformunu kodlar. Ala49Thr, SRD5 $\alpha$ 2'nin içsel aktivitesini artıran kalıtsal bir polimorfik aleldir ve prostat kanseri için daha yüksek risk ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Gandhi ve ark., 2017).

BRCA1 ve BRCA2 tümör baskılayıcı genlerinin mutasyonları, meme kanserinin yanı sıra ailesel prostat kanseri vakalarında da görülmektedir. BRCA1, DNA hasar tepkisi ve onarımı, transkripsiyonel düzenleme ve kromatin modellemesi dahil olmak üzere çeşitli hücresel kontrol sistemlerinde önemli bir oyuncudur. Genç başlangıçlı hastaların yüzde bir ila ikisinde germ hattı BRCA2 mutasyonu vardır. BRCA2 mutasyonları prostat kanserini miras alma riskini 5-7 kat artırırken BRCA1 mutasyonları 3-8 kat artırır. Ayrıca ailede BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları ile ilişkili meme kanseri olan vakalarda prostat kanseri riskinin yüksek olduğu düşünülmektedir (Gandhi ve ark., 2017; Grozescu ve Popa, 2017).

## 4.2. Onkogenler

Prostat kanseri hastalarının tanısında birçok sporadik mutasyonlar rol oynar ve hastalığın başlaması, ilerlemesi ya da kötü prognozunda büyük oranda etkileri bulunmaktadır. Bu süreçte, hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalmasına ve metastaz yapmasına neden olan onkogenlerin aktivasyonu önemli bir rol oynar. Onkogenler, normal hücre büyümesini ve proliferasyonunu düzenleyen proto-onkogenlerin mutasyona uğraması veya aşırı ekspresyonu ile ortaya çıkar. Prostat kanserinde çeşitli onkogenler, tümör gelişimi ve ilerlemesinde anahtar mekanizmaları etkileyerek hastalığın patogenezine katkıda bulunur (Garcia Perdomo ve ark., 2018).

Prostat kanserindeki en erken genetik değişikliklerden biri ERG onkogeninin aşırı ekspresyonudur. Prostat epitelleri normalde ERG ifade etmez ancak, prostat kanserinde en tutarlı şekilde aşırı ifade edilen onkogenlerden biridir. Bu durum, normal prostat bezlerinin epitelinde ifade edilen ve androjen tarafından düzenlenen transmembran proteaz serin-2 (TMPRSS2)'nin promotörüyle gen füzyonu oluşturması sonucu ortaya çıkmaktadır. Prostat kanserinde, ERG'nin yüksek ekspresyonu aynı zamanda ileri tümör evresi, yüksek Gleason skoru, metastaz ve daha kısa sağ kalım süreleri ile ilişkilidir (Gandhi ve ark., 2017). TMPRSS2-ERG füzyonu tümör popülasyonunun %40-50'sinde mevcuttur ve şaşırtıcı bir şekilde normal prostatta veya iyi huylu hiperplazi koşullarında meydana geldiği görülmemiştir (Han ve ark., 2024).

MYC geni hücre döngüsü ilerlemesindeki rolü nedeniyle iyi karakterize edilmiş dönüştürücü özelliklere sahip bir transkripsiyon faktörünü kodlar. (Packer ve Maitland, 2016). c-MYC, iyi bilinen bir onkogendir ve MYCN ve MYCL aile üyeleri ile birlikte prostat kanserinde tümör oluşumunu yönlendirmede önemlidir. Prostat kanseri tümörlerinde MYC aşırı ekspresyonu sıklıkla görülmektedir. Ayrıca MYCL amplifikasyonu yakın zamanda Gleason 7 hasta biyopsilerinde, premalign lezyonlarda tespit edilmiştir. Bir başka mekanizmada ise prostat kanserinde MYC aşırı ekspresyonu gösteren hücrelerin tümör baskılayıcı gen fonksiyonunu baskıladığı gösterilmiştir. MYC aşırı ekspresyonu, rekabetçi bir şekilde MYC aktivitesini baskılayan prostat spesifik homeobox NKX3.1 transkripsiyon faktörünün fonksiyon kaybına neden olmaktadır (Rebello ve ark., 2017).

Prostat karsinogenezinde rol oynadığı öne sürülen sinyal yollarından biri de mitogenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yoludur. MAPK

kaskadları, birbirini fosforilasyon yoluyla aktive ederek seri olarak hareket eden üç protein kinazdan oluşur: hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK), c-Jun NH2 terminal kinaz (JNK)/stresle aktive olan protein kinaz ve stresle aktive olan protein kinaz 2 (SAPK2, p38) MAPK. ERK yolu tipik olarak büyümeyle ilgili sinyaller tarafından uyarılır ve esas olarak büyüme, farklılaşma, çoğalma ve gelişmeyle ilgilidir. p38 MAPK ve JNK, büyüme faktörleri, proinflatuar (TNF  $\alpha$  , IL-6 veya IL-1) veya antiinflatuar (EGF, TGF-  $\beta$  ) sitokinler ve hücrel stres tarafından aktive edilir ve bunların aktivasyonu apoptozisin yanı sıra onkojenik dönüşüm, inflamasyon, gelişme ve farklılaşmada da rol oynar. ERK sinyal yolu tümör gelişiminin çeşitli adımlarında rol oynar. Aslında, Raf-MEK-ERK yolunun bazı bileşenleri katı tümörlerde (prostat veya meme kanseri gibi) ve hematolojik malignitelerde aktive olur. PC3 hücrelerinde p38 MAPK'nın TGF-  $\beta$  aracılı MMP-2/-9 aktivasyonu ve prostat kanserinde hücre invazyonu için gerekli olduğunu gösterilmiştir (Rodríguez-Berriguete ve ark., 2012).

Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K), protein kinaz B (PKB/AKT) ve memeli rapamisin hedefi (mTOR) yolunun onkojenik sinyal yolağının aktivasyonu, prostat kanserinde tümör oluşumunu, hastalık ilerlemesini ve terapötik direncin gelişmesine neden olan ve hastalığa sık görülen bir olaydır. PIK3CA geni (PI3K'nin katalitik alt birimi) ve AKT1 gibi genlerin mutasyonları, hücrel büyüme, metabolizma ve hayatta kalmayı teşvik ederek tümör progresyonuna katkıda bulunur. Bu yolun aktivasyonu, özellikle PTEN geninin kaybı ile ilişkilidir ve hastalığın ilerlemesine yol açabilir. PI3K-AKT-mTOR sinyallemesi prostat kanseri hastalarının yüksek bir oranında yükselir ve PI3K-AKT-mTOR yolu inhibitörleri hormon duyarlı prostat kanseri ve CRPC'ye karşı terapötik ajanlar olarak araştırılmaktadır (Shorning ve ark., 2020; Pungsrinont ve ark., 2021).

### 4.3. Tümör Süpressör genler

Çoğu kanser gibi, prostat tümörlerinin başlangıcı tümör baskılayıcı genlerde fonksiyon kaybı mutasyonu ile ilişkilidir. Prostat kanserinde tümör baskılayıcı genlerin kalıtsal delesyonları ve tümörün gelişimi boyunca oluşan somatik delesyonlar görülmektedir. Ayrıca tümör baskılayıcı genlerin deaktivasyonu, genin bulunduğu kromozomal segmentin delesyonu, genin doğrudan delesyonu, promotör hipermetilasyonu nedeniyle ifade kaybı ve nokta mutasyonları nedeniyle meydana gelir (Gandhi ve ark., 2017).

Genomun koruyucusu olarak da tanımlayabileceğimiz p53 geni, nükleer transkripsiyon faktörünü kodlayan bir tümör baskılayıcı genidir. Özellikle G1/S ve G2/M kontrol noktalarında hücre döngüsü düzenleyicisi olarak görev yapar. Hüresel stres, DNA hasarı ya da bir mutasyon oluşması durumunda p53 proteini hücre döngüsünü durdurur, DNA onarımını, metabolik adaptasyonu veya BAX veya PUMA gibi pro-apoptotik genlerin veya PML veya CDKN1A gibi pro-senesans genlerinin yukarı düzenlenmesini destekler. Metastatik tümörlerin çoğunda p53 delesyonlarının olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde; tanıda metastatik yayılımı olan prostat kanseri ve kötü huylu primer prostat kanserinde, CRPC’de TP53 mutasyonlarının yüksek oranda olduğu gösterilmiştir (Gandhi ve ark., 2017; Teroerde ve ark., 2021).

PTEN, fosfataz ve tensin homologu, bir lipid ve protein fosfataz enzimi kodlayan bir tümör baskılayıcı genidir. Hücre döngüsünü, hücre çoğalmasını ve apoptozu düzenler. Ayrıca, hücrelerdeki PI3K/AKT/mTOR yolunu inhibe ederek düzenler. Bu nedenle PTEN kaybı, PI3K-AKT-mTOR yolunda artışa neden olur ve normal AR düzenlemesini bozar, bunun sonucunda hücre çoğalması, AR ekspresyonu artar ve apoptoz azalır(Murray, 2021). Çalışmalar, PTEN'in bazı prostat kanseri hastalarında azalmış aktivite ile kusurlu olduğunu ve tümör içindeki bazı bölgelerin tamamen PTEN'den yoksun olduğunu bulmuştur. PTEN kaybı veya işlev kaybı mutasyonları, prostat kanseri vakalarının %30-50'sinde gözlemlenir ve özellikle ileri evre prostat kanserleri veya CRPC ile ilişkilidir. PTEN kaybı, hücrelerin apoptozu karşı direnç kazanmasına, anjiyogenez artışına ve metastatik özelliklerin gelişmesine yol açar (Gandhi ve ark., 2017). Ayrıca PTEN ekspresyonu Gleason Skoru ile ters orantılıdır ve bu nedenle agresif prostat kanseri ile önemli ölçüde ilişkilidir (Gleason >7, P = 0,0004), yüksek dereceli tümörlerin %20'sine kadarı PTEN ekspresyonu açısından negatiftir (Turnham ve ark., 2020; Murray, 2021).

NKX3.1, prostat kanserlerinin %85'ine kadarında heterozigot olarak delesyona uğrar ve PIN'de downregüledir. Protein, prostat epitel gelişimini düzenleyen bir homeobox transkripsiyon faktörüdür (Packer ve Maitland, 2016).

Siklin-bağımlı kinaz inhibitörü 1B (CDKN1B), siklin-bağımlı kinaz 4'ün (CDK4) bir inhibitörü olan p27'yi kodlayan bir tümör baskılayıcı genidir. p27, hücreleri G1'de tutan bir hücre döngüsü inhibitörüdür. PTEN ile birlikte hücre döngüsü ilerlemesini ve çoğalmasını düzenler. PTEN, p27'yi artırmak,

hücre döngüsünü inhibe etmek, hücreyi G1'de tutmak ve çoğalmayı önlemek için PI3K/AKT'yi inhibe edecektir. PTEN kaybı, p27 seviyelerinin etkisini azaltacaktır. Ayrıca prostat kanserinde CDKN1B'in MYC onkogenini inhibe ettiği bildirilmiştir. Çalışmalar, hastalarda CDKN1B ekspresyonunun kaybına yol açan 12p12-13'ün somatik kaybını göstermiştir. Bu, ileri evrelerdeki hastaların daha büyük bir yüzdesinde, en büyük yüzde ise uzak metastatik tümörlerde görülmektedir. CDKN1B kaybı, çok kötü prognozla ilişkilidir (Gandhi ve ark., 2017; Jin ve ark., 2024).

#### 4.4. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP)

Tek nükleotid polimorfizmi (SNP), tüm genomdaki (veya ortak bir dizideki) tek bir nükleotidin – A, T, C veya G – aynı türün üyeleri arasında veya aynı bireyin homolog kromozomları arasında farklı olduğu bir DNA dizisinin varyasyonudur. GWAS çalışmaları ile prostat kanseri geliştirme duyarlılığına katkıda bulunan 100'den fazla varyant tanımlandı. Prostat kanseri riski taşıyan varyantların çoğu, bilinen genlerin dışında, bazıları kodlamayan bölgelerde ve diğerleri daha bağımsız moleküler sinyallere bölgelerinde yer almaktadır. Bir ekzonun açık okuma çerçevesi içinde yer alan bazı SNP'ler, mRNA stabilitesini veya proteinlerin translasyonunun verimliliğini ve ayrıca translasyon proteinlerinin aktivitesindeki veya yapısındaki modülasyonları değiştirebilir. Bu nedenle, erken prostat kanseri teşhisi için farklı SNP'lerin prostat kanserinin ilerlemesindeki rolünü biyobelirteç olarak tanımlama ve araştırma ihtiyacı derinden gereklidir (Grozescu ve Popa, 2017; Allemailem ve ark., 2021).

#### 4.5. Epigenetik mekanizmalar

Kansere yol açan sinyal yollarındaki bozukluklar, gen dizisini değiştiren mutasyonlar ile sınırlı değildir. DNA dizisinde bir değişiklik olmaksızın gen ifadesindeki kalıtsal değişiklikler olarak tanımlanan epigenetik mekanizmaların kanserleşme sürecinde belirgin etkileri vardır. Bu epigenetik değişiklikler, DNA metilasyonu, asetilasyon ve histon modifikasyonu ile kromatin yeniden şekillenmesine yol açan spesifik enzimler tarafından gerçekleştirilir. Epigenetik değişiklikler çeşitli tümör oluşum yollarının kritik itici güçleridir ve onkogenlerde fonksiyon kazanımına veya tümör baskılayıcı genlerde fonksiyon kaybına yol açarak tümörlerin gelişimini ve ilerlemesini teşvik eder ve tedaviye yanıtı etkiler (Sugiura ve ark., 2021; Han ve ark., 2024)

DNA metilasyonu, CpG dinükleotidlerindeki sitozin kalıntılarının C5 pozisyonuna bir metil grubunun eklenmesini ifade eder. Genom çapında CpG adalarının hipo-metilasyonu ve hiper-metilasyonu kanser başlangıcı ve ilerlemesi ile bağlantılıdır. DNA hipo-metilasyonu genomik instabiliteye ve çeşitli onkogenlerin aktivasyonuna yol açarken, DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) tarafından gerçekleştirilen CpG adalarındaki tümör baskılayıcı promotörlerin hiper-metilasyonu tümör oluşumuna ve metastaza yol açar. DNMT'lerin yukarı regüle edilmiş ekspresyonu, kötü prognozlu agresif bir fenotip ile ilişkilidir ve prostat kanseri de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerde görülmüştür (Han ve ark., 2024).

Prostat kanserinde çeşitli çalışmalarda tümör baskılayıcı genler CDKN2A/p16'nin, RASSF1A, APC ve RARβ'nin hipermetilasyonu; apoptozun içsel yollarındaki DCR1 , DCR2 ve XIAP-XAF1 ve dışsal yoldaki TMS1 genlerinin promotör hipermetilasyonu gösterilmiştir. Diğer kanserlerde olduğu gibi, prostat kanserinde de genomik hipometilasyon tespit edilmiştir. Ancak, DNA hipometilasyonu prostat kanserinde tümör oluşumunun erken evresinden ziyade metastaz gibi geç evrede daha sık görülür (Sugiura ve ark., 2021). Prostat kanserinde çalışılmış hipermetile ve hipometile genler Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2:** Prostat kanserinde hipermetile ve hipometile genler (Sugiura ve ark., 2021)

Gen	Metilasyon	İşlevi
<i>Gsp1</i> ve <i>MGMT</i>	Hiper-metilasyon	DNA tamiri
<i>CDKN2</i> ve <i>RASSF1</i>	Hiper-metilasyon	Hücre döngüsü
<i>APC</i> ve <i>RARβ</i>	Hiper-metilasyon	Büyümenin inhibisyonu
<i>DCR1</i> , <i>DCR2</i> , <i>XAF1</i> ve <i>TMS1</i>	Hiper-metilasyon	Apoptoz
<i>CDH1</i> ve <i>CD44</i>	Hiper-metilasyon	Hücre adhezyonu
<i>PLAU</i>	Hipo-metilasyon	Proteoliz, fibrinoliz
<i>HPSE</i>	Hipo-metilasyon	Hücrel iletişim, gen transkripsiyonu, otofaji
<i>CYP1B1</i>	Hipo-metilasyon	Oksidasyon

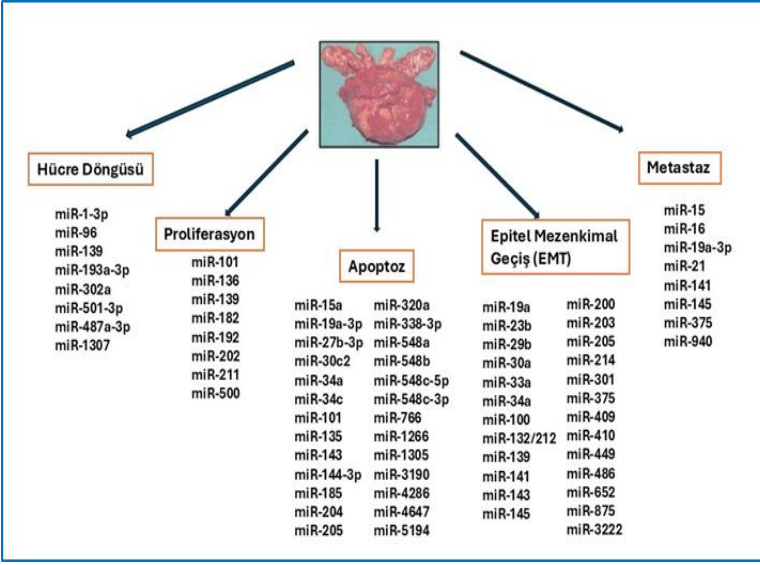


MikroRNA'lar (miRNA'lar), genellikle 22 nükleotid uzunluğunda olan ve hem gen ekspresyonunu hem de translasyon sonrası modifikasyonları düzenlemede kritik bir rol oynayan kodlamayan RNA'lardır. İnsan genomu, mRNA'nın (3' UTR) spesifik bölgelerine bağlanarak çeşitli yollarda etki gösteren ve böylece çok sayıda genin ekspresyonunu düzenleyen ve sonuç olarak çeşitli sinyal yolları arasında geniş kapsamlı bir etkiye sahip olan çok sayıda miRNA (>1000) kodlar. Hücre çoğalması, sağkalım, metastaz, yaşlanma, apoptoz dahil olmak üzere çeşitli onkogenleri veya tümör baskılayıcıları olarak hareket eder ve kanserin ilerlemesinin yanı sıra prognozunun kritik itici güçleri olarak rol alırlar (Han ve ark., 2024). Ayrıca miRNA'lar spesifik moleküler özellikleri nedeni ile biyobelirteç olarak aday gösterilmesi açısından çeşitli avantajlara sahiptir. İlk olarak, miRNA'lar, hücre-hücre iletişimini aracılık eden sinyal molekülleri olarak ekstraselüler sıvılara salgılandıkları için formalinle sabitlenmiş dokularda kanda ve diğer vücut sıvılarında tespit edilmek üzere dikkat çekici derecede kararlı ve spesifiktir. Ek olarak, miRNA'nın ifade düzeyleri ve düzenlenmesi farklı kanser türleri arasında ve farklı evrelere ve moleküler alt tiplere sahip bireysel tümörler arasında farklılık gösterir. Bu nedenle, spesifik miRNA profilleri kötü huylu dokuyu normal dokudan ayırt etmek ve agresif alt tipleri doğru bir şekilde tanımak için kullanılabilir (Oh-Hohenhorst ve Lange, 2021).

Yukarıda değinilen birçok genetik mekanizmanın yanı sıra prostat kanserinin başlatılması, ilerlemesi ve tedavi başarısızlığında miRNA'lar da önemli roller oynadığı belirlenmiştir. Etkilerini kanser kök hücrelerinin (CSC'ler) indüksiyonunu, farklılaşma, hücre döngüsünün sürdürülmesi, apoptoz, invazyon, anjiyogenez ve metastazdan kaçınma gibi hücresel olaylar ile ilişkili genler üzerinden sürdürmektedirler (Şekil 2). Ayrıca, miRNA'lar AR yolu, p53 yolu, PTEN/PI3K/AKT yolu ve Wnt/ $\beta$ -katenin yolu gibi prostat kanserini etkileyen ana moleküler yolları düzenler (Doghish ve ark., 2022).

Prostat kanserinin etiyolojisine etki eden çeşitli miRNA'lar tanımlanmıştır. Örneğin, kanserde aşırı eksprese edilen en yaygın oncomiR'lerden biri miR-21'in prostat kanserinde arttığını ve bunların, p27Kip1 baskılanmasını hedefleyerek S-faz kinaz ilişkili protein 2 (Skp2), siklin A ve siklin D1'i artırarak G1'de hücre döngüsü ilerlemesine yol açabileceğini göstermiştir (Vanacore ve ark., 2017). Ya da, miRNA-302a'nın AKT'nin 3'-UTR'sine doğrudan bağlanabileceği ve AKT-GSK3 $\beta$ -siklin D1 ve AKT-p27Kip1 yollarını değiştirebileceği ve böylece prostat kanseri hücre çoğalmasını in vitro ve in vivo baskılayabileceği gösterilmiştir. MiR-101

bir tümör baskılayıcıdır ve kanserde aşağı düzenlenir. Kanser hücrelerindeki inflamatuvar reaksiyon sırasında COX-2 gibi bazı onkogenlerin ekspresyonunu bloke edebilir. miR-144-3p'nin aşırı ifadesi CRPC hücre hatlarında hücre çoğalmasını inhibe ederken, in vivo miR-144-3p tümör büyümesini baskıladığı gösterildi (Cochetti ve ark., 2020).



Şekil 2: Prostat kanserinde yer alan miRNA'ların özeti(Cochetti ve ark., 2020).

miRNA'ların hem kan, idrar gibi vücut sıvılarında hem de prostat dokusunda tespit edilebilmesi prostat kanserinde potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilmesi açısından umut vadetmektedir. Ancak henüz bu alanda yapılacak çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü mevcut verilere göre çeşitli çalışma grupları tarafından yapılan araştırmalarda farklı miRNA'ların prostat kanserinde düzensiz olduğu gösterildi. miR-21, miR-30c, miR-125b, miR-141, miR-143, miR-145, mir148a, miR182, miR200c, mir205, miR221, miR-222, miR375 bunlardan bazılarıdır. miRNA'lar, özellikle biyosıvılarda prostat kanseri için potansiyel olarak spesifik, hassas ve güvenilir biyobelirteçler sunar. miRNA'ları incelemesi ve analiz yönteminde tutarlı ve tekrarlanabilir gelişmeler bu alanda yol katedilmesine yardımcı olacaktır (Vanacore ve ark., 2017; Cochetti et al., 2020).

## KAYNAKLAR

- Abramovic, I., Ulamec, M., Bojanac Katusic, A., Bulic-Jakus, F., Jezek, D., & Sincic, N. (2020). MiRNA in prostate cancer: Challenges toward translation. *In Epigenomics*, 12(6), 543–558. <https://doi.org/10.2217/epi-2019-0275>
- Allemailem, K. S., Almatroudi, A., Alrumaihi, F., Almansour, N. M., Aldakheel, F. M., Rather, R. A., Afroze, D., & Rah, B. (2021). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in prostate cancer: its implications in diagnostics and therapeutics. *American Journal of Translational Research*, 13(4), 3868. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8129253/>
- Boehm, B. E., York, M. E., Petrovics, G., Kohaar, I., & Chesnut, G. T. (2023). Biomarkers of Aggressive Prostate Cancer at Diagnosis. *In International Journal of Molecular Sciences*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/ijms24032185>
- Buyyounouski, M. K., Choyke, P. L., McKenney, J. K., Sartor, O., Sandler, H. M., Amin, M. B., ... & Lin, D. W. (2017). Prostate cancer—major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: a cancer journal for clinicians*, 67(3), 245-253.
- Cochetti, G., de Vermandois, J. A. R., Maulà, V., Giulietti, M., Cecati, M., Del Zingaro, M., ... & Mearini, E. (2020, July). Role of miRNAs in prostate cancer: Do we really know everything?. In *Urologic oncology: seminars and original investigations* (Vol. 38, No. 7, pp. 623-635). Elsevier.
- Coleman, W. B. (2018). Molecular pathogenesis of prostate cancer. In *Molecular pathology* (pp. 555-568). Academic Press.
- Cupp, M. R., & Oestreling, J. E. (1993). Prostate-Specific Antigen, Digital Rectal Examination, and Transrectal Ultrasonography: Their Roles in Diagnosing Early Prostate Cancer. *Mayo Clinic Proceedings*, 68(3), 297–306.

- de Bono, J. S., Guo, C., Gurel, B., De Marzo, A. M., Sfanos, K. S., Mani, R. S., ... & Alimonti, A. (2020). Prostate carcinogenesis: inflammatory storms. *Nature Reviews Cancer*, 20(8), 455-469.
- Descotes, J. L. (2019). Diagnosis of prostate cancer. *Asian journal of urology*, 6(2), 129-136.
- Doghish, A. S., Ismail, A., El-Mahdy, H. A., Elkady, M. A., Elrebehy, M. A., & Sallam, A. A. M. (2022). A review of the biological role of miRNAs in prostate cancer suppression and progression. *International journal of biological macromolecules*, 197, 141-156.
- Gandhi, J., Afridi, A., Vatsia, S., Joshi, G., Joshi, G., Kaplan, S. A., ... & Khan, S. A. (2018). The molecular biology of prostate cancer: current understanding and clinical implications. *Prostate cancer and prostatic diseases*, 21(1), 22-36.
- Ganguly, S. S., Li, X., & Miranti, C. K. (2014). The host microenvironment influences prostate cancer invasion, systemic spread, bone colonization, and osteoblastic metastasis. *Frontiers in oncology*, 4, 364.
- Perdomo, H. A. G., Zapata-Copete, J. A., & Sanchez, A. (2018). Molecular alterations associated with prostate cancer. *Central European Journal of Urology*, 71(2), 168.
- Grozescu, T., & Popa, F. (2017). Prostate cancer between prognosis and adequate/proper therapy. *Journal of medicine and life*, 10(1), 5.
- Han, S., Baligar, P., Tandon, C., Nayyar, J., & Tandon, S. (2024). Molecular heterogeneity in prostate cancer and the role of targeted therapy. *Life Sciences*, 336, 122270. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2023.122270>
- Heidegger, I., Tsaour, I., Borgmann, H., Surcel, C., Kretschmer, A., Mathieu, R., ... & Ploussard, G. (2019). Hereditary prostate cancer—Priming for genetic testing?. *Cancer treatment reviews*, 81, 101927.
- Jin, W., Xu, Z., Song, Y., & Chen, F. (2024). Extrachromosomal circular DNA promotes prostate cancer progression through the FAM84B/CDKN1B/MYC/WWP1 axis. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 29(1), 103.

- Konishi, N., Shimada, K., Ishida, E., & Nakamura, M. (2005). Molecular pathology of prostate cancer. *Pathology international*, 55(9), 531-539.
- Merriell, S. W., Funston, G., & Hamilton, W. (2018). Prostate cancer in primary care. *Advances in therapy*, 35(9), 1285-1294.
- Michaud, J. E., Billups, K. L., & Partin, A. W. (2015). Testosterone and prostate cancer: An evidence-based review of pathogenesis and oncologic risk. *Therapeutic Advances in Urology*, 7(6), 378–387.
- Murray, T. B. (2021). The pathogenesis of prostate cancer. *Exon Publications*, 29-41.
- Nguyen-Nielsen, M., & Borre, M. (2016, November). Diagnostic and therapeutic strategies for prostate cancer. In *Seminars in nuclear medicine* (Vol. 46, No. 6, pp. 484-490). WB Saunders.
- Oh-Hohenhorst, S. J., & Lange, T. (2021). Role of metastasis-related microRNAs in prostate cancer progression and treatment. *Cancers*, 13(17), 4492.
- Packer, J. R., & Maitland, N. J. (2016). The molecular and cellular origin of human prostate cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1863(6), 1238–1260.
- Parker, C., Castro, E., Fizazi, K., Heidenreich, A., Ost, P., Procopio, G., ... & Gillissen, S. (2020). Prostate cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 31(9), 1119-1134.
- Porter, C. M., Shrestha, E., Peiffer, L. B., & Sfanos, K. S. (2018). The microbiome in prostate inflammation and prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 21(3), 345–354.
- Pungsrinont, T., Kallenbach, J., & Baniahmad, A. (2021). Role of PI3K-AKT-mTOR Pathway as a Pro-Survival Signaling and Resistance-Mediating Mechanism to Therapy of Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11088. h
- Rawla, P. (2019). Epidemiology of prostate cancer. *World Journal of Oncology*, 10(2), 63–89.

- Rebbeck, T. R. (2017). Prostate cancer genetics: Variation by race, ethnicity, and geography. *Seminars in Radiation Oncology*, 27(1), 3–10.
- Rebello, R. J., Pearson, R. B., Hannan, R. D., & Furic, L. (2017). Therapeutic approaches targeting MYC-driven prostate cancer. *Genes*, 8(2), 71.
- Rodríguez-Berriguete, G., Fraile, B., Martínez-Onsurbe, P., Olmedilla, G., Paniagua, R., & Royuela, M. (2012). MAP kinases and prostate cancer. *Journal of signal transduction*, 2012(1), 169170.
- Sekhoacha, M., Riet, K., Motloun, P., Gumenku, L., Adegoke, A., & Mashele, S. (2022). Prostate cancer review: Genetics, diagnosis, treatment options, and alternative approaches. *In Molecules*, 27(17).
- Shorning, B. Y., Dass, M. S., Smalley, M. J., & Pearson, H. B. (2020). The PI3K-AKT-mTOR Pathway and Prostate Cancer: At the Crossroads of AR, MAPK, and WNT Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 4507.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2019). Cancer statistics, 2019. *CA: a cancer journal for clinicians*, 69(1), 7-34.
- Sugiura, M., Sato, H., Kanesaka, M., Imamura, Y., Sakamoto, S., Ichikawa, T., & Kaneda, A. (2021). Epigenetic modifications in prostate cancer. *International Journal of Urology*, 28(2), 140–149.
- Turnham, D. J., Bullock, N., Dass, M. S., Staffurth, J. N., & Pearson, H. B. (2020). The PTEN Conundrum: How to target PTEN-Deficient prostate cancer. *Cells*, 9(11), 2342.
- Van Poppel, H., Albrecht, T., Basu, P., Hogenhout, R., Collen, S., & Roobol, M. (2022). Serum PSA-based early detection of prostate cancer in Europe and globally: past, present and future. *Nature Reviews Urology*, 19(9), 562-572.
- Vanacore, D., Boccellino, M., Rossetti, S., Cavaliere, C., D'Aniello, C., Di Franco, R., ... & Facchini, G. (2017). Micromnas in prostate cancer: an overview. *Oncotarget*, 8(30), 50240.
- Vietri, M. T., D'elia, G., Caliendo, G., Resse, M., Casamassimi, A., Passariello, L., ... & Molinari, A. M. (2021). Hereditary prostate

cancer: genes related, target therapy and prevention. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3753.

Wang, G., Zhao, D., Spring, D. J., & Depinho, R. A. (2018). Genetics and biology of prostate cancer. *Genes and Development*, 32, 1105–1140.

## **BÖLÜM 10**

### **HAMİLELİKTE ANEMİ**

Öğr. Gör. Emine AYDIN BAYAT<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566633>

<sup>1</sup>Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Sağlık Bakım Hizmetleri Bölümü, Bingöl, Türkiye, [ebayat@bingol.edu.tr](mailto:ebayat@bingol.edu.tr), [Orcid ID: 0000-0002-3364-6540](https://orcid.org/0000-0002-3364-6540)





## GİRİŞ

Anemi, beslenme bozuklukları ile fizyolojik sebeplere bağlı gelişebilen durumlardan biri olup, kandaki hemoglobin düzeyi ve eritrositlerin normal değerlerin altında olması biçiminde tanımlanmaktadır (Banhidy ve ark., 2011). Hemoglobinin, hematokritin düzeyleri yaşa ve cinsiyete göre farklılık sergilediğinden referans aralıkları saptanırken bu parametreler göz önüne alınmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, bu parametreleri dikkate alarak aneminin tanısını koydurabilecek kriterler belirtmiştir. Bu doğrultuda hemoglobinin düzeyinin yetişkin erkeklerde 13 gr/dl, yetişkin kadınlarda 12 gr/dl, gebe kadınlarda 11 gr/dl altında olması anemi kabul edilmektedir. DSÖ verileri doğrultusunda dünya çapında, bilhassa gelişmekte olan ülkelerde sık gözlenen beslenmeye bağlı yetersizlik sebebiyle meydana gelen anemiden en fazla etkilenen kesim içinde hamileler bulunmaktadır (Batkın, 2011; World Health Organization, 2017). USAID (United States Agency for International Development) 2011 verileri doğrultusunda gelişmekte olan ülkelerde 500 milyon kadının anemili, her 10 hamile kadının dördünün, hamilelik bulunmayan her 10 kadından üçünün aneminin tanısını aldığını belirtmiştir (United States Agency for International, 2011). DSÖ kaynaklarına göre, dünyadanın nüfusunun yaklaşık olarak %30'u, dünyadaki hamilelerinse yarısından fazlasının anemili olduğu düşünülmektedir. Dünya çapında anemi sıklığının, hamile kadınlarda %42, hamile olmayan kadınlarda da %30 olduğu belirtilmektedir (Galloway ve ark., 2002; McLean ve ark., 2007; Küçük ve ark., 2011). Ülkemizdeyse DSÖ 2008 verileri doğrultusunda hamilelerin %40,2'sinde anemi olup, bu değer bölgesel değişebildiği %50-74'e yükselebildiği belirtilmektedir (8- 10). Kadınlarda üreme çağında anemi meydana gelmesine yol açan hususlar arasında menstrual kan kayıpları, erken yaşlarda ve ileri yaşlarda hamilelik öyküsü, çoğul doğumlar, 2 hamilelik arasında 2 seneden az süre olması, hamilelikte besin maddeleri gereksinimin artması, bilgi düzeyi yetersizliği, emzirme, yetersiz, dengesiz beslenme, istenmeyen hamilelikler yer almaktadır. Uygunsuz koşullarda hamileliği sonlandırma, bakteriyel, viral, paraziter hastalıkların bulunması, demirin emilimini önleyen gıdaların alınması (pika, mayasız ekmek alımı, fazla çay, kahve tüketimi), vitaminlerin, minerallerin alınım yetersizliğiyle emilim bozukluğu gibi sebepler neticesinde anemi meydana gelmektedir. Hamilelerdeki anemilerde %90 demir eksikliği anemisi birinci sırada bulunmaktadır (T.C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Ulusal Gıda ve Beslenme Stratejisi Çalışma Grubu Raporu, 2003; Tunç Yaman ve ark.,

2012). Demir eksikliği anemisi, bedene alınan demirin hemoglobinin yapımında yetersizliği biçiminde de tanımlanabilmektedir (Durhan, 2007). Demir eksikliği anemisi, gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerin ciddi, engellenebilir sağlık problemlerinden biridir. Ülkedeki demir eksikliği anemisi görülme durumu ülkenin sosyoekonomik yapısıyla, kültürel ve gelişmişliğiyle ilgilidir. Demir eksikliği anemi sıklığı yaşa, cinsiyete, coğrafi bölgeye, kültürel alışkanlıklara ve sosyoekonomik duruma bağlı olarak farklılık sergiler (Erduran, 2010). Türkiye’de hamilelerde demir eksikliği anemisi saptanması, tedavisi doğum öncesi bakım hizmetleri kapsamında aile sağlığı merkezlerinin görevlerindedir. Doğum öncesi bakımda etkin işlevlere sahip ebe/hemşireler bu hizmeti verebilen sağlık çalışanlarıdır. Demir eksikliği anemisinin gelişmesini önlemek ya da anemi meydana gelmeden demir eksikliği tespit edilen olguların kısa süre içinde saptanıp tedavi edilebilmesi amacıyla demir eksikliğine yönelik durum tespiti yapılması ve toplumdaki yaygınlığının saptanması gerekmektedir. Bu doğrultuda ebe, hemşirelerin fazlaca rol üstlenmeleri gerekmektedir (Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması, 2009).

## HAMİLELİKTE ANEMİ

Hamilelikte anemi, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) tarafından 1989 senesinde birinci ve üçüncü trimester hamilelikte Hb düzeyinin 11 g/dl’nin veya hematokrit düzeyinin %33’ün altında olması, ikinci trimesterdeyse Hb düzeyinin 10.5 g/dl’nin ya da hematokrit düzeyinin %32’nin altında olması şeklinde ifade edilmektedir (CDC, 1989). Dünya Sağlık Örgütü’ne (WHO) göre ise gebelikte anemi, her üç trimesterde de Hb düzeyinin 11 g/dl altında olması şeklinde ifade edilmektedir (World Health Organization, 2001). Hamilelikte anemi, dünyadaki en mühim sağlık sorunlarından biri olup, hamilelik sonuçlarını olumsuz olarak etkilediği belirtilmektedir (CDC, 1989). Ülkemizde de yüksek sıklığı bulunmaktadır (Davas ve ark., 2008). Hamilelikte hemoglobin (Hb) konsantrasyonunun 11 g/dl’den düşük olması “anemi” olarak tanımlanmakta olup, dünya çapında 50 milyondan fazla hamileyi etkilemektedir (Goonewardene ve ark., 2012). Gebelikte çok yaygın gözlenen anemi, anne ve bebek sağlığı bakımından mühim bir halk sağlığı problemidir. Hamilelikte gözlenen anemi erken doğum, intrauterin gelişme geriliği, düşük doğum ağırlığı, eklampsi, preeklampsi komplikasyonlarıyla ilgilidir. Hamilelikte anemiye sebep olan etmenler arasında nütrisyonel demir eksikliği sıklıkla gözlenmektedir (Levy

ve ark., 2005). Hamilelikte artan demir ihtiyacının besinlerle giderilememesi, kan kaybının olması, parazitler ve sindirim sistemindeki bozukluklar sebebiyle günlük beslenmedeki demirin emilememesi, emilimi zorlaştıran etkenlerin bulunması gibi faktörlere bağlı hamilelerde demir eksikliği anemisinin sık olduğu bildirilmektedir (Gebelerde demir destek programı uygulaması genelgesi, 2007). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'ne göre hamilelerde anemi yaygınlığı gelişmekte olan ülkelerde %56, gelişmiş ülkelerde %18, Türkiye'de %40,2 saptanmıştır (WHO/CDC, 2008).

Hamilelikte annenin bedeni, plasental kan akımının sağlanması, fetüs büyümesinin sağlanması amacıyla çeşitli adaptasyon mekanizmaları oluşturur. Adaptasyonlardan biri kalbin debisinin yaklaşık %50 oranında artışını sağlamak için serum plazma hacminde, eritrosit yapısında artış yapılmasıdır. Bu demir ihtiyacını artıran bir durum olup, dilüsyonel anemiye yol açmaktadır. Anemi %90 demir eksikliği nedeniyle meydana gelmektedir. Hamilelik periyodunda demir haricindeki tüm mineral ile vitamin ihtiyacı dengeli beslenmeyle karşılanabilirken; demir dışarıdan takviye olarak alınması gereken bir mineraldir (Coşkun Özdemir, 2009; Çağlayan ve ark., 2014). Artmış demir gereksinimi beslenme ile replasman tedavileriyle yeterince sağlanamazsa meydana gelebilecek anemi maternal ve fetal sağlığa olumsuz yönde etki etmektedir (Sak, 2009; Çağlayan ve ark., 2014). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre hemoglobin düzeyinin 11 mg/dl ve aşağısındaki hamileler anemili olarak değerlendirilmektedir. Hamilelik süreci içinde, hematokrit düzeyindeyse belirgin düşme tespit edilmektedir. Türkiye'de kullanılan Doğum Öncesi Bakım Yönetim Rehberi'nde her hamileye minimum 4 defa izlem yapılması zorunluluğu yer almaktadır. Birinci izlemin ilk 14 haftada, ikinci izlemin 18-24. haftalarda, üçüncü izlemin 28-32. haftalarda, dördüncü izlemin 36-38 haftalarda yapılmalıdır. Her izleminde hamilenin hemoglobin değeri incelenerek uygun tedavi planları yapılmalıdır (T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2014). Sistemli hamilelik izlemleri yapılan 1. basamak sağlık birimlerinde, demir eksikliği anemisi sebebi olabilecek risk faktörlerinin belirlenip, aneminin saptanması, tedavisinin de yapılması önemlidir. Ülkemizde bu problemin çözümüyle ilişkili 01 Kasım 2005 tarihinden itibaren hamilelere Demir Destek Programı Uygulaması Genelgesi yayınlanmış olup, uygulamaya koyulmuştur. Hamileliğin dördüncü ayının başından (ikinci trimesterden) itibaren gebelik sürecinde 6 ayı, doğum sonrası 3 ayı kapsayacak şekilde toplam 9 ay süre ile, elementer demir içeren uygun demir preparatları kullanılarak tüm hamilelerde demir eksikliği nedenli anemi engellenmelidir (Küçükceran ve ark., 2018).

Gelişmekte olan ülkelerdeki hamilelerin %30-70'inde demir eksikliği anemisi gözlenirken, gelişmiş ülkelerdeyse bu değer hamilelerin %20'sinden az gözlenmektedir (Dündar ve ark., 2010).

Hamilelerin anemileriyle iki seneden daha sıklıkta gebe kalmaları durumunun arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Kadın bedeninin normal fizyolojik yapısına geri dönebilmesi için 2 gebeliğin arasındaki sürenin en az iki yıl olması tavsiye edilmektedir (Hatcher ve ark., 1990; Smith ve ark., 2002). Yapılan çalışmalardan birinde bu tavsiyeyi destekler nitelikte iki yıldan daha az sıklıkta doğum yapmış kadınlarda anemi değerleri daha yüksek tespit edilmiştir (Küçükceran ve ark., 2018).

Anemiler edinsel, kalıtsal olacak biçimde 2 grupta incelenebilir. Edinsel anemiler içinde yetmezliğe bağlı anemiler (demir, folat, vitamin B12), kanamaya bağlı anemiler, kronik hastalığa bağlı anemiler, kazanılmış hemolitik anemiler, aplastik anemiler sıralanabilir. Kalıtsal anemiler içinde bilhassa bölgemizde mühim bir halk sağlığı sorunu teşkil eden talasemiler, orak hücreli anemiler, hemoglobinopatiler ile kalıtsal hemolitik anemiler (herediter sferositoz gibi) yer almaktadır. Oluşum mekanizmaları doğrultusunda anemiler üretim azlığına bağlı, yıkım fazlalığına bağlı, hemorajik anemiler şeklinde üç sınıfa bölünebiliriz. Anemiler eritrosit büyüklükleri (MCV düzeyleri) doğrultusunda mikrositer, normositer, makrositer anemiler olacak şekilde üç sınıfa bölünebilir. DEA erken dönemlerinde normositer anemiye yol açarken süregelen bir durum aldığında mikrositik anemiye yol açar (Scholl, 2005). Diğer yetmezliğe bağlı anemilerden folat, B12 vitaminine bağlı oluşan anemilerse makrositer bir yapı göstermektedirler, bu anemilerin periferik yayma bulgularının tanısallığı önemli bir önemi büyüktür (ACOG, 2008).

Hamilelikte anemi küresel halk sağlığı sorunlarından biridir. Sorunun görülme yaygınlığı gelişmiş olan ülkelerde %18 iken, gelişmekte olan ülkelerde ise %35-75 olup, önemli farklılık bulunmaktadır. Dünyadaki hamilelikte anemi sıklığının %42, minimum oranın %6 ile Kuzey Amerika'da, maksimum oranınsa %75 ile Gambia'da olduğu belirtilmektedir (World Health Organization, 2008). Ülkemizde 586 hamile kadını değerlendiren bir çalışmada anemi sıklığı %74.1 şeklinde tespit edilmiştir. Aneminin gözlenme yaygınlığında hamilelik boyunca artış (birinci trimesterde %1.8, ikinci trimesterde %8, üçüncü trimesterde ise %27) gözlenmiştir (Scholl, 2005).

Aşikâr anemi meydana gelmeden evvel demirin depoları azalmaktadır. Aneminin oluşmasıysa son aşamadır. Bu sebeple demir eksikliğinin, demir

eksikliği anemisine oranla daha yüksek olduğu, bilhassa artan hamilelik sayısı ile artış gösterdiği belirtilmiştir (Tunç ve ark., 2012). Kadınların, hamilelik süresince demir ihtiyacının yaklaşık 1000 mg olduğu belirtilmiştir. Demirin 300 mg'ı fetüs, 200 mg'ı doğum sonrası kanama kaybı, 500 mg'ı ise eritrosit üretimindeki artma için gerekli olduğu ifade edilmektedir (Bothwell, 2000).

Hamilelikte aneminin anlaşılmasında fizyolojik, hematolojik değişiklikler hatırlanmalıdır. Hamilelikte en ciddi fizyolojik, hematolojik değişim kan volümü artışıdır (%30-50 sıklıkta). Artışın nedeni temel olarak plazma volümü artışıdır. Hamileliğin 6- 12. haftalarında plazma volümü artışı başlamaktadır (%10-15), hamilelik süresince bu artma sürmektedir. Plazmanın volümündeki artış geç ikinci trimester, erken 3. trimesterde pik yapmaktadır. 3. trimesterin sonlarına gelindiğinde bu artmanın azaldığı ifade edilebilir. Eritrositin kitlesindeki artışa plazmanın volüm artışına uyum sağlayamaz. Demir desteği sağlanan kadınlarda %20-30, demir desteği olmayan hamilelerdeyse %10-20'lik artış söz konusudur. Neticede hemodilüsyonel anemi gelişmekte olur, bu hamileliğin fizyolojik anemisi şeklinde işlenir. Hamilelik sonuçları bakımından hemodilüsyonun meydana gelmesinin gerekli büyük öneme sahiptir. Bilhassa gebeliğin indüklediği hipertansif hastalıklar ve intrauterin gelişme geriliğinde olduğu üzere yeterli plazma volümünün artmadığı koşullarda olumsuz gebelik sonuçları sıkça gözlenmektedir (Koller, 1982).

Hemoglobinopati hamilerin gebelik sonuçlarını, demir eksikliği anemisi sonuçlarından ayrı tutmakta ve bu anemileri çok farklı düşünmekte yararlıdır. Orak hücreli anemili hamilenin izlemi mutlaka üçüncü basamakta yapılmalı, multidisipliner bir yaklaşım sergilenmelidir. Orak hücreli anemik hamileri kapsayan çalışmaların birinde serebral venöz trombozu riskinde 4.9, derin ven trombozu riskinde 2.5, pulmoner emboli riskinde 1.7, asemptomatik bakteriyüri riskinde 6.8, pnömoni riskinde 9.8, sepsis riskinde 6.8 kat artış bildirilmektedir (Singla ve ark., 1996).

Demir eksikliği anemili gebeden dünyaya gelen bebeğin, doğduğunda anemili olmasa da süt çocukluğu evresinde anemili durum yaşama riski artmaktadır (Lozoff ve ark., 2006). Maternal anemi uzun evre sonuçlarında fiziksel, mental gelişim geriliğini, dikkat eksikliğini, enfeksiyonlara dirençte azalmayı, bilişsel işlevler ile öğrenmede geriliği, kalıcı nörofizyolojik problemleri bile sayabiliriz (Lukowski ve ark., 2010).

Gebe doğuma girdiğinde Hb düzeyinin 10 g/dl üstünde olması gerekmektedir. Hb düzeyi 7 g/dl aşağısında olan hamile birinin postpartum

kanamaya, kardiyak yetmezliğe ya da sepsise bağlı kaybedilmesi olasılığı yükselmiştir. Hamilenin böyle olduğu izlemlerinde, hamilenin eylemlerde sol yan pozisyonda tutulması, peripartum profilaktik antibiyotik uygulanması, yeterli analjezinin sağlanması, aralıklı oksijen alması, uzamış ikinci fazdan kaçınılması, üçüncü faz aktif yönetilmeli, yenidoğanın demir depoları bakımından kordon geç klempenmeli ve hasta mutlaka kanama, diğer komplikasyonlar bakımından yakinen izlenmelidir (van Rheenen ve Brabin, 2004; Rohilla ve ark., 2010). Doğum sürecinde basit lakin mühim bu uygulamaların yapılmasının, anne ve infant kısa ve uzun periyod neticeleri bakımından epeyce mühimdir. Hemen doğumdan sonra Hb seviyesi 8 g/dl aşağısındaysa kan transfüzyonunun yapılması düşünülebilmektedir. Kan transfüzyonu için eşik sınır değeri popülasyonda Hb düzeyinin 6 g/dl aşağısında olması iken, bu sınır hamilelerde 7 g/dl kabul edilmektedir (Milman, 2011). Postpartum anemi, postpartumun 1. haftasının bitiminde Hb düzeyinin 11 g/dl, sekizinci haftasının bitimindeyse 12 g/dl aşağısında olması şeklinde tanımlanabilir. Hamilelikte demir desteği alanlarda postpartum aneminin görülme sıklığı %14, almayanlarda da %24 saptanmıştır (Metz ve ark., 1995).

Hamilelikte meydana gelen maternal anemi maternal obezite riskinde artışa yol açmaktadır. Ayrıca hamilelikte oluşan maternal aneminin doğum sonrası altıncı ayda yenidoğanda anemi riskini artırdığı bildirilmiştir (Yin ve ark., 2020). Gelişmekte olan ülkelerde de hamilelik sırasında anemi problemi erken yaşta doğurma ile çok sayıda doğum yapma ile alakalıdır. Parite sayısı fazla olan kadınlarda maternal anemi sıklığının fazla olduğu belirlenmiştir (Sharma ve ark., 2020).

Aneminin engellenmesi, erken teşhis edilmesi anemi bakımının en ideal uygulamasıdır. Doğumdan evvelki tedavi mühim olmasına rağmen bazı kadınlar yüksek oranlarda demir eksikliği anemisiyle doğumunu gerçekleştirmektedirler. Bundan ötürü doğum öncesindeki hemoglobinin konsantrasyonunun öncelikle optimum edilmesi için çaba sarf edilmelidir. Hamilelikte meydana gelen anemi, planlanan doğum biçimini etkilemeyip, kararlar obstetrik endikasyonlar doğrultusunda verilmelidir (Pavord ve ark., 2020).

Çalışmalarda prematüre ve terminde doğan, yenidoğanın doğumdan sonra umbilikal kordunun klempenmesi minimum 30-60 saniyelik gecikmeyle gerçekleştirildiğinde yenidoğandaki aneminin gelişiminin ciddi düzeyde azaldığı bildirilmektedir (Andersson ve ark., 2014). Çalışmalar doğum sonrasındaki evrede annelerin demir içeriği zengin besinler tüketmesi,

ilk altı ay anne sütüyle beslenilmesi neticesinde yenidoğanda anemi engellenebileceği belirtilmektedir (Baker ve Greer, 2010; Strawn ve ark., 2017). Demirin depoları için demirin takviyesinin minimum 3 ay süresince verilmesi gerekmektedir, hemoglobinin düzeyi normale geldikten sonra dahi minimum 1 ay süresince sürdürülmelidir. Demir sülfat, genelde günde 2 ile 3 defalık dozlarla uygulanan maliyeti düşük, tesirli tedavilerden biridir. Demirin oral tedavisi hematolojik endekslerde düzeltme sağlar fakat gastrointestinal yan etkilere sık sık yol açar. Demirin oral alımının yan etkileri arasında kabızlık, iştah azalması bulantı yer almaktadır. Oral demire karşı hastanın toleransının olmaması, gastrektomi, aklorhidri, çölyak hastalığı gibi malabsorbsiyon sebeplerinin olması, intravenöz demirin preparatlarının alınmasını gerektirebilir (Long ve Koyfman, 2018). Çay ve kahve demirin emiliminin engellenmesine yol açmaktadır. Hamilelikte yemekle beraber ya da hemen yemeklerden sonra çay, kahve tüketiminin hamilelikte anemi gelişimini yükseltmektedir (Berhe ve ark., 2019). Besinlerde çeşitlilik ve gıda kalitesini artırma aneminin riskinde azalma sağlamaktadır. Hamilelerin bu sebeple besinleri düzenlenip, beslenme eğitimi verilerek doğru, sağlıklı besin tercihi desteği sağlanmalıdır (Ayensu ve ark., 2020). Emilimin artması amacıyla demirin takviyeleri yiyeceksiz uygulanmalıdır. Gastrik pH düşüklüğü demirin emilmesini kolaylaştırıcı rol oynar. Tedavinin hızlı cevabı genelde iki hafta içinde görülmektedir. Hemoglobinin düzeyindeki yükselmeye bu belirir (Long ve Koyfman, (2018).

Hamilelikte aneminin oluşmasını engellemek amacıyla hamile olmadan evvel ya da hamileliğin ilk sürecinde demir eksikliğine tanı konması, doğumdan önce ve doğumdan sonraki süreçte maternal, fetal mortaliteyi, anneyle yenidoğan morbiditesini ve hospitalizasyonun oranlarını azaltmaktadır (Bencaiova ve Breyman, 2014).

## SONUÇ

Ülkemizde hamilelerde sıkça görülen ve önemli halk sağlığı problemlerinden biri olan aneminin ana ve çocuk sağlığına olumsuz etkileri düşünüldüğünde, hamilelerde aneminin belirlenmesi ve engelleyici tedbirlerin alınması çok mühimdir. Anemi hamilelik periyodu boyunca meydana gelebilen ciddi halk sağlığı problemlerinden biridir. Hamilelikte hemoglobinin konsantrasyonlarının belirli aralıklarla izlenmesi önemlidir. Hamilelikte maternal, fetal sağlıkla ilgili değerlendirmelerin yapılması, gerekli iyileştirmelerin vakit kaybedilmeden yapılması önem arz etmektedir. Halk



sağlığını korumada yükseltmede birinci basamakta sunulan sağlık hizmetleri büyük öneme sahiptir. Hamilelikten evvel anemi varsa erkenden belirlenip tedavi edilmesi hamilelikte meydana gelebilecek yüksek anemi riskini engelleyecektir. Hamilelere ve hamilelik planlayan kadınlara anemiye yönelik eğitimler sağlık eğitimi yoluyla aktarılmalıdır. Hamilelere her izlemlerinde beslenmeyle ilgili danışmanlık desteği sağlanmalıdır. Hamilelere demir preparatları kullanımının hamilelikte gerekliliği ve önemi açıklanmalıdır. Aneminin engellenmesinde kullanılabilen yöntemlerin belirlenip uygulanması, kadınların farkındalık düzeylerinin artırılması, anemi tedavisinde dikkatli olunması gereken hususların değerlendirilmesi gerekmektedir. Anne, çocuk sağlığını korumak ve iyileştirmek amacıyla doğurganlık periyodundaki kadınlarda aneminin azaltılması için kapsamlı stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- ACoO, G. (2008). ACOG practice bulletin No. 95: anemia in pregnancy. *Obstet Gynecol.* <https://doi.org/10.1097/aog.0b013e3181809c0d>.
- Andersson, O., Domellöf, M., Andersson, D., & Westas, L. (2014). Effect of delayed vs early umbilical cord clamping on iron status and neurodevelopment at age 12 months: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatrics*, *168*(6), 547-554.
- Ayensu, J., Reginald, A., & Lutterodt, H. (2020). Prevalence of anaemia and low intake of dietary nutrients in pregnant women living in rural and urban areas in the Ashanti region of Ghana. *PLoS One*, *15*(1), e0226026
- Baker, D. R., & Greer, R. F. (2010). Diagnosis and Prevention of Iron Deficiency and Iron-Deficiency Anemia in Infants and Young Children (0 –3 Years of Age). *American Academy of Pediatrics*, *126*(5), 1040-1050.
- Banhidy, F., Acs, N., Puho, E. H., & Czeizel, A. E. (2011). Iron deficiency anemia: pregnancy outcomes with or without iron supplementation. *Nutrition*, *27*(1), 65-72.
- Batkın, D. (2011). Gebe kadınlara verilen beslenme eğitiminin aneminin önlenmesine etkisi, T.C. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Sivas, 2011.
- Bencaiova, G., & Breyman, C. (2014). Mild anemia and pregnancy outcome in a Swiss collective. *Journal of Pregnancy*, *14*, 1-8.
- Berhe, K., Fseha, B., Gebremariam., & Teame, H. (2019). Risk factors of anemia among pregnant women attending antenatal care in health facilities of Eastern Zone of Tigray, Ethiopia, case-control study, 2017/18. *The Pan African Medical Journal*, *34*, 121
- Centers for Disease Control (CDC. (1989). CDC criteria for anemia in children and childbearing-aged women. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, *38*(22), 400-404.

- Coşkun, A., Özdemir, Ö. (2009). Gebelikte vitamin-mineral kullanımı ve beslenmenin irdelenmesi. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi*, 6(3),155-170.
- Çağlayan, E. K., Kara, M., Karaçavuş, S., Erdoğan, Y., & Üstün, Y. E. (2014). Orta Anadolu'da yaşayan gebelerdeki demir-vitamin kullanımı ve bunu etkileyen faktörler. *Journal of Turkish Society of Obstetrics&Gynecology*, 11(2).
- Davas, I., Marangoz, D., Varolan, A., Akyol, A., & Baksu, B. (2008). Gebelikte değişik seviyelerdeki anemilerde demir alımının maternal, doğum ve perinatal sonuçlara etkileri. *J Turk Soc Obstet Gynecol*, 5, 174-81.
- Durhan, B. (2007). *Demir eksikliği anemisi tanısı konulan hastalarda pika görülme sıklığı ve pikanın anemi semptomları ile ilişkisi* (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Dündar, Ö., Çiftpınar, T., Tütüncü, L., Ergür, A. R., Atay, M. V., Müngen, E., & Yergök, Y. Z. (2010). İkinci trimester maternal hemoglobin seviyesinin doğum ağırlığı ve haftasına etkisi. *Balkan Medical Journal*, 2010(3), 156-160.
- Erduran, E. (2010). Türkiye'de demir eksikliği anemisi ve güncel yaklaşım. *Türk Hematoloji Derneği*, 75-77.
- Galloway, R., Dusch, E., Elder, L., Achadi, E., Grajeda, R., Hurtado, E., ... & Stephen, C. (2002). Women's perceptions of iron deficiency and anemia prevention and control in eight developing countries. *Social science & medicine*, 55(4), 529-544.
- Gebelerde demir destek programı uygulaması genelgesi 2007/6. Sayı: B100AÇS0120000 /010.06.01.122. T.C. Sağlık Bakanlığı.
- Goonewardene, M., Shehata, M., & Hamad, A. (2012). Anaemia in pregnancy. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 26(1), 3-24.
- Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması 2008. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, Sağlık Bakanlığı Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü, Ankara, 2009.

- Küçük, M., Yavaşoğlu, İ., Kadıköylü, G., & Bolamaan, Z. (2011). Gebelik ve hematoloji. *Nobel Medicus Journal*, 7(3).
- Küçükceran, H., Başer, D. A., Ağadayı, E., Alsancak, A. D., & Kahveci, R. (2018). Ankara ili Akyurt bölgesindeki gebelerde demir eksikliği anemisi prevalansı ve demir eksikliğine sebep olan faktörler. *Konuralp Medical Journal*, 10(1), 13-19.
- Levy, A., Fraser, D., Katz, M., Mazor, M., & Sheiner, E. (2005). Maternal anemia during pregnancy is an independent risk factor for low birthweight and preterm delivery. *European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology*, 122(2), 182-186.
- McLean, E., Egli, I., Cogswell, M., Benoist, B. D., & Wojdyla, D. (2007). Worldwide prevalence of anemia in preschool aged children, pregnant women and non-pregnant women of reproductive age. In *Nutritional anemia* (pp. 1-12). Sight and life Press.
- Sak, M. E., Özkul, Ö., Evsen, M. S., Sak, S., & Evliyaoglu, O. (2009). Gebelik anemisinin perinatal sonuçlara etkisi. *Dicle Tıp Dergisi*, 36(1), 39-42.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. Doğum Öncesi Bakım Yönetim Rehberi 2014.
- Hatcher, R. A., Kowal, D., Guest, F., & Trussel, J. (1990). Kontraseptif Yöntemler Uluslararası Basım: Dervişoğlu AA İnsan Kaynağını Geliştirme Vakfı Yayın no: 1. *Ankara, Demircioğlu Matbaacılık*, 139-165.
- Smith, K. B., Van Der Spuy, Z. M., Cheng, L., Elton, R., & Glasier, A. F. (2002). Is postpartum contraceptive advice given antenatally of value? ☆. *Contraception*, 65(3), 237-243.
- World Health Organization. (2001). Iron deficiency anaemia assessment prevention and control: a guide for programme managers. Geneva: World Health Organization; 132 (WHO/ NHD/01.3)
- World Health Organization. (2008). Worldwide prevalence of anaemia 1993 – 2005. WHO Global Database on Anaemia. Geneva: World Health Organization; (NLM: WH 155)

- Scholl, T. O. (2005). Iron status during pregnancy: setting the stage for mother and infant. *The American journal of clinical nutrition*, 81(5), 1218S-1222S.
- Tunç, S. Y., Görük, N. Y., Ceylan, B., & Tunç, N. (2012). The relationship between gestation and iron deficiency anemia in women applied to gynecologic outpatient clinic. *J Clin Exp Invest*, 3(1), 49-52.
- Bothwell, T. H. (2000). Iron requirements in pregnancy and strategies to meet them. *The American journal of clinical nutrition*, 72(1), 257S-264S.
- Koller, O. (1982). The clinical significance of hemodilution during pregnancy. *Obstetrical & gynecological survey*, 37(11), 649-652.
- Long, B., & Koyfman, A. (2018). Emergency Medicine Evaluation and Management of Anemia. *Emergency Medicine Clinics of North America*, 36(3), 609-630.
- Lozoff, B., Beard, J., Connor, J., Felt, B., Georgieff, M., & Schallert, T. (2006). Long-lasting neural and behavioral effects of iron deficiency in infancy. *Nutrition reviews*, 64(suppl\_2), S34-S43.
- Lukowski, A. F., Koss, M., Burden, M. J., Jonides, J., Nelson, C. A., Kaciroti, N., ... & Lozoff, B. (2010). Iron deficiency in infancy and neurocognitive functioning at 19 years: evidence of long-term deficits in executive function and recognition memory. *Nutritional neuroscience*, 13(2), 54-70.
- Metz, J., McGrath, K., Bennett, M., Hyland, K., & Bottiglieri, T. (1995). Biochemical indices of vitamin B12 nutrition in pregnant patients with subnormal serum vitamin B12 levels. *American journal of hematology*, 48(4), 251-255.
- Milman, N. (2011). Postpartum anemia I: definition, prevalence, causes, and consequences. *Annals of hematology*, 90, 1247-1253.
- Pavord, S., Daru, J., Prasannan, N., & Robinson, S. (2020). UK guidelines on the management of iron deficiency in pregnancy. *British Journal of Haematology*, 188(6), 819-830.

- Rohilla, M., Raveendran, A., Dhaliwal, L. K., & Chopra, S. (2010). Severe anaemia in pregnancy: a tertiary hospital experience from northern India. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 30(7), 694-696.
- Sharma, S., Kaur, P. S., & Lata, G. (2020). Anemia in Pregnancy is Still a Public Health Problem: A Single Center Study with Review of Literature. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*, 36(1), 129-134.
- Singla, P. N., Tyagi, M., Shankar, R., Dash, D., & Kumar, A. (1996). Fetal iron status in maternal anemia. *Acta Paediatrica*, 85(11), 1327-1330.
- Strawn, M. L., Zehner, E., Stahlhofer, M., & Lutter, C. (2017). New World Health Organization guidance helps protect breastfeeding as a human right. *Maternal & Child Nutrition*, 13(4), 1-3.
- T.C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Ulusal Gıda ve Beslenme Stratejisi Çalışma Grubu Raporu. 2003; s:43. DPT:2670.
- Tunç, S. Y., Görük, N. Y., Ceylan, B., & Tunç, N. (2012). Kadın doğum polikliniğine başvuran kadınlarda gebelik ve demir eksikliği anemisi ilişkisi. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 3(1), 49-52.
- WHO/CDC. (2008). Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. WHO Global Database on Anemia. Geneva: World Health Organization, 2008 ([http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf)).
- World Health Organization. (2017). Micronutrient deficiencies: Iron deficiency anemia. <http://www.who.int/nutrition/topics/ida/en/>. Erişim Mayıs 2017.
- Van Rhee, P., & Brabin, B. J. (2004). Late umbilical cord-clamping as an intervention for reducing iron deficiency anaemia in term infants in developing and industrialised countries: a systematic review. *Annals of tropical paediatrics*, 24(1), 3-16.
- Yin, S., Zhou, Y., Li, H., & Cheng, Z. (2020). Association of maternal BMI during early pregnancy with infant anemia: a large Chinese birth cohort. *Nutrition & Metabolism*, 19 (17), 32.



**BÖLÜM 11**  
**ULTRA İŞLENMİŞ GIDALAR VE SAĞLIK ÜZERİNE**  
**ETKİLERİ**

Öğr. Gör. Zeynep Nur KARAKUŞ<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566639>

<sup>1</sup>Uşak Üniversitesi, Eşme Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, Uşak, Türkiye, zeynep.karakus@usak.edu.tr, Orcid ID:0000-0002-0319-6454





## GİRİŞ

Kalp damar hastalıkları, tip 2 diyabet ve bazı kanserler gibi bulaşıcı olmayan hastalıklar, dünya genelindeki tüm ölümlerin yaklaşık %70'inden sorumludur. Bulaşıcı olmayan hastalıkların yaygınlığı, sağlık sonuçlarına yol açmakta ve küresel sağlık sistemleri için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Son yarım yüzyılda gıda işleme, gıda sistemlerinin endüstrileşmesi ve küreselleşmesi sonucunda büyük ölçüde değişim göstermiştir. Gıdaların işlenme derecesine göre farklı sınıflandırma şemaları geliştirilmiş ve bu durum, gıda işleme düzeylerinin tanımlanmasına yönelik farklı bakış açılarını yansıtmıştır. Örneğin, NOVA sınıflandırma sistemi, işlenmiş gıdaları “konserveleme, şişeleme veya alkolsüz fermantasyon gibi koruma yöntemleri kullanılarak, asgari düzeyde işlenmiş gıdalara ya da işlenmiş mutfak malzemelerine tuz, şeker veya diğer maddelerin eklenmesiyle elde edilen endüstriyel gıda ürünleri” (Monteiro ve ark., 2018) olarak tanımlarken, ultra işlenmiş gıdaları ise “bir dizi endüstriyel işlem sonucunda, çoğunlukla yalnızca endüstriyel kullanım için üretilen bileşen formülasyonları” olarak tanımlanmaktadır. Ultra-işlenmiş gıdalar kavramı, ilk kez 2009 yılında São Paulo Üniversitesi'nden araştırmacılar tarafından, obezite ve obeziteyle ilişkili kronik hastalıklar ile hazır gıda tüketimindeki küresel artışın paralel eğilimlerini gözlemlerken ortaya atılmıştır (Monteiro, 2009). Uluslararası Gıda Bilgi Konseyi (IFIC) Vakfı'nın önerdiği sınıflandırma sisteminde, aşırı işlenmiş gıdalar; “birleştirilmiş bileşen karışımları”, “tüketime hazır işlenmiş gıdalar” ve “hazırlanmış gıdalar/yemekler” olarak tanımlanmaktadır (Eicher-Miller ve ark., 2015).

Tipik ultra işleme yöntemleri arasında, kullanıma hazır, uzun raf ömrüne sahip ve lezzetli gıda ürünleri üretmek amacıyla hidrojenasyon, hidrolizasyon, ekstrüzyon, kalıplama ve kızartma gibi ön işlemler yer almaktadır (Monteiro ve ark., 2018).

Ultra işlenmiş gıdaların çoğu enerjisi yüksek sağlıklı gıda kaynakları olarak kabul edilmekte (Monteiro ve ark., 2018) ve bu gıdaların tüketiminin sağlık problemlerine sebep olduğu bilinmektedir (Pagliai ve ark., 2021). Bu çalışmada, ultra işlenmiş gıda tüketimi ile önemli sağlık sonuçları arasındaki ilişkiye dair çalışmalardan elde edilen mevcut kanıtlar gözden geçirilmekte ve bu gıdaları sağlık sonuçlarıyla ilişkilendiren potansiyel mekanizmalar ele alınmaktadır.

## 1. NOVA SINIFLANDIRILMASI

NOVA, gıdaları tabii oldukları endüstriyel işlemin doğasına, kapsamına ve amacına göre gruplandırmaktadır. NOVA'ya göre gıda işleme, gıdaların doğadan ayrılmasının ardından, tüketilmeden veya yemek ve öğün olarak hazırlanmadan önce uygulanan fiziksel, biyolojik ve kimyasal işlemleri kapsamaktadır. NOVA sınıflandırma sistemi, tüm yiyecekleri ve gıda ürünlerini dört gruba ayırmaktadır (Monteiro ve ark., 2018).

### 1.1. İşlenmemiş veya Minimal Düzeyde İşlenmiş Gıdalar

İşlenmemiş (veya doğal) gıdalar, bitkilerin (tohumlar, meyveler, yapraklar, saplar, kökler) ve hayvanların (kas, sakatat, yumurta, süt) yenilebilir kısımlarını, ayrıca mantarları, algleri ve suyu içermektedir. Süt ve yumurta gibi çiğ yenebilen hayvansal gıdalar da bu kategoriye dahildir. Minimal işlenmiş gıdalar ise, doğal yiyeceklerin saklanması, istenmeyen veya yenilmeyen parçaların uzaklaştırılması ve tüketime güvenli hale getirilmesi amacıyla uygulanan, kurutma, ezme, filtreleme, kaynatma, fermantasyon, pastörize etme, soğutma, dondurma ve öğütme gibi basit işlemleri kapsamaktadır (Monteiro ve ark., 2019).

### 1.2. İşlenmiş Mutfak Malzemeleri

Bunlar, presleme, rafine etme, öğütme ve kurutma gibi işlemlerle birinci grup gıdalardan veya doğadan elde edilen maddelerdir. İşlenmiş mutfak malzemeleri yapmak için kullanılan bazı yöntemler eski kökenli olsa da, günümüzde genellikle endüstriyel ürünler haline gelmiştir. Bu ürünler, ev, restoran ve kantin mutfaklarında taze hazırlanmış yemeklerin hazırlanması, tatlandırılması ve pişirilmesi için uygun dayanıklı malzemeler olarak tasarlanmıştır. Tipik olarak, ikinci gruptaki gıda maddeleri kendi başlarına yenmez ve genelde daha yüksek enerji yoğunluğuna ve daha düşük besin yoğunluğuna sahiptir (Monteiro ve ark., 2019).

Grup 2 gıdalar, nişastalar, unlar, yağlar, katı yağlar, tuz, şeker ve tatlandırıcılar gibi yaygın gıda endüstrisi ve mutfak malzemelerini, aynı zamanda yüksek fruktozlu mısır şurubu, laktoz ve süt ile soya proteinleri gibi endüstriyel malzemeleri içermektedir. Modern gıda sistemlerinde, grup 2 gıdaların çoğunun işlenmesi, gıda üreticileri ve doğrudan tüketicilere içerik satışı için tarım işletmeleri tarafından gerçekleştirilmektedir (Monteiro ve ark., 2009).

### 1.3. İşlenmiş Gıdalar

Bu grupta, doğrudan tüketim için işlenmiş gıdalar yer almaktadır. Genellikle bu gıdalar, doğadan elde edilen işlenmemiş gıdaların belirli işlemlerden geçerek değiştirilmesiyle üretilmektedir. Grup 3 gıdalar, işlenmiş mutfak malzemeleri ile birlikte, genellikle tuz, yağ, şeker gibi katkı maddeleri eklenerek hazırlanmaktadır. Bu işlemler, gıdanın lezzetini artırmak, raf ömrünü uzatmak ve tüketim için uygun hale getirmek amacıyla yapılmaktadır. Bu gıdalar arasında şarküteri ürünleri, hazır yemekler, konserve gıdalar ve dondurulmuş ürünler bulunmaktadır (Monteiro ve ark., 2018).

### 1.4. Ultra İşlenmiş Gıdalar

Bu grupta, genellikle hazır gıda ve atıştırmalık ürünleri yer almaktadır. Aşırı işlenmiş gıdalar, yoğun şekilde işlenmiş ve genellikle çeşitli kimyasal katkı maddeleri, koruyucular, tatlandırıcılar ve renk vericiler içeren ürünlerdir. Grup 4 gıdalar, çoğunlukla doğrudan tüketim için hazır hale getirilmiş olup, besin değerleri genellikle düşüktür. Bu ürünler arasında hazır yemekler, paketlenmiş atıştırmalıklar, gazlı içecekler, şekerli ve tuzlu gıdalar bulunmaktadır (Petrus ve ark., 2021). Bu gıdaların bileşenleri genellikle işlenmiş gıdalarda kullanılan şekerler, yağlar, katı yağlar ve tuz gibi maddeleri içermektedir. Ancak ultra işlenmiş ürünler, normalde mutfak hazırlıklarında kullanılmayan diğer enerji ve besin kaynaklarını da içermektedir. Bu kaynaklardan bazıları doğrudan gıdalardan elde edilir; örneğin kazein, laktoz, peynir altı suyu ve glüten. Bunların yanı sıra, bazı bileşenler daha fazla işlenmiş gıda maddeleri olarak ortaya çıkar; bu tür bileşenler arasında hidrojene veya interesterifikasyonlu yağlar, hidrolize proteinler, soya protein izolatu, maltodekstrin, invert şeker ve yüksek fruktozlu mısır şurubu yer almaktadır (Monteiro ve ark., 2018).

## 2. ULTRA İŞLENMİŞ GIDALARIN TÜKETİMİNDEKİ GÜNCEL EĞİMLER

Dünya genelinde ultra işlenmiş gıdaların tüketiminde kayda değer bir artış rapor edilmiştir. Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi (NHANES) verilerine göre, son yirmi yılda 2-19 yaş arası ABD'li gençler arasında ultra işlenmiş gıdalardan alınan kalori oranı %61.4'ten %67,0'a yükselmiştir. Bu artış, özellikle Hispanik olmayan Siyah gençler (%62.2'den %72.5'e) ve Meksika kökenli Amerikalı gençler (%55.8'den %63.5'e) arasında daha belirgindir (Wang ve ark., 2021). NHANES verilerine göre, ABD'li

yetişkinler arasında ultra işlenmiş gıdalardan elde edilen tahmini enerji oranı aynı dönem içinde %53.5'ten %57.0'a sürekli bir artış göstermektedir. Artış eğilimi tüm sosyodemografik gruplarda büyük ölçüde tutarlıdır (Juul ve ark., 2021). ABD dışında, ultra işlenmiş gıdaların diyet enerjisine katkısındaki artış eğilimi Güney Kore'de (%23.1'den %26.1'e, 2010-2018 yılları arasında, tüm yaş grupları ve sosyoekonomik kesimlerde benzer bir artış) ve Meksika'da (%10.5'ten %23.1'e, 1984-2016 yılları arasında) yapılan ulusal düzeyde temsili kesitsel anketlerde de gözlemlenmiştir. Kanada'da ise bu oran sürekli olarak yüksek seviyelerde kalmış olup, 2004-2015 yılları arasında %47.8'den %45.7'ye küçük bir düşüş göstermiştir (Polsky, Moubarac ve Garriguet 2020). İsveç'te yapılan ekolojik analizler, 1960 ile 2010 yılları arasında ultra işlenmiş gıda tüketiminin %142 oranında arttığını göstermektedir (Juul ve Hemmingsson 2015). Dünya genelinde, ultra işlenmiş gıda satışları Kuzey Amerika, Avrupa, Avustralya ve Latin Amerika'da en yüksek seviyelerde seyrederken, Orta Doğu, Asya ve Afrika'da hızla artmakta ve bu durum önemli bir halk sağlığı endişesi oluşturmaktadır (Baker ve ark., 2020).

### **3. ULTRA İŞLENMİŞ GIDALARIN TÜKETİMİ VE DİYET BESİN PROFİLİ**

Ultra işlenmiş gıdaların tüketimi ve diyet besin profili üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Anketler ve diğer birçok çalışmadan elde edilen kapsamlı nicel meta-analizler, ultra işlenmiş gıda tüketiminin genel diyet kalitesinin daha düşük olmasıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu tüketim, toplam yağ, doymuş yağlar ve trans yağlar ile birlikte (Ghebreyesus ve Frieden 2018; World Health Organization 2021), tuz ve serbest şekerlerin alımını artırırken, diyet lifi, protein, doymamış yağlar, mineraller (örneğin potasyum, çinko, demir ve magnezyum), vitaminler (örneğin A, C, D, E, B12 ve niasin) ve fitokimyasalların alımında bir azalma ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Martini ve ark., 2021, Marchese ve ark., 2022). Bebekler (da Rocha et al. 2021), çocuklar, hamile kadınlar ve yaşlılara yönelik ticari ultra işlenmiş gıdaların değerlendirildiği güncel çalışmalarda da benzer şekilde zayıf besin profilleri gözlemlenmiştir (Costa de Miranda ve ark., 2021 , da Rocha ve ark., 2021).

Ultra işlenmiş gıdaların büyük porsiyon boyutları da bir başka endişe kaynağı olmuştur (Young ve Nestle, 2021). Örneğin, yakın zamanda yapılan bir araştırma, ABD'de tek porsiyon olarak satılan bazı tipik ultra işlenmiş gıda ürünlerinin boyutlarının ilk piyasaya sürüldükleri zamana göre 2 ila 5 kat daha büyük olduğunu ortaya koymuştur (Young ve Nestle, 2021).

Ultra işlenmiş gıdaların genel olarak zayıf besin profili, bu gıdaların giderek daha yaygın hale gelmesiyle birlikte önemli bir endişe kaynağı olmuştur. Bu durum, daha sağlıklı bir besin profiline sahip olan daha az işlenmiş gıdaların tüketiminin azalmasıyla sonuçlanan besin yer değiştirmesine yol açmaktadır (Wang ve ark., 2021; Juul ve ark., 2021). Ultra işlenmiş gıdaların, işlenmemiş veya minimum işlenmiş gıdalarla izokalorik olarak değiştirilmesinin sağlık açısından yararları, yeni ortaya çıkan ileriye dönük araştırmalarla desteklenmektedir (Romero Ferreiro ve ark., 2021).

#### 4. ULTRA İŞLENMİŞ GIDALARIN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Bu bölümde aşırı işlenmiş gıdaların yoğun tüketiminin çeşitli olumsuz sağlık sonuçlarına, bulaşıcı olmayan hastalıklara, bozukluklara ve rahatsızlıklara yol açabileceğini ve bu nedenle küresel hastalık yükünü önemli ölçüde artırma potansiyeline sahip olduğunu gösterilmektedir. Ultra işlenmiş gıda tüketimi, kardiyovasküler hastalıklar, aşırı kilo, obezite, vücut kompozisyonu, yağ birikimi, diyabet, kanser ve bunlara bağlı ölüm oranları arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla giderek artan sayıda epidemiyolojik çalışmalar yapılmaktadır. Şekil 1’de metabolik sendromlu yüksek miktarda ultra işlenmiş gıda tüketen 5373 yetişkin hasta üzerinde yapılan çalışmanın sağlık sonuçları gösterilmektedir. Bu bölümde, bu konuların kapsamlı bir şekilde sunmak amacıyla, nüfus düzeyinde gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen mevcut kanıtları sistematik bir şekilde özetledik (Yin Zhang ve Edward, 2022).



**Şekil 1:** PREDIMED-Plus çalışmasına katılan katılımcılarda, başlangıçtan itibaren 6 ve 12 aylık takip süresince ultra işlenmiş gıda tüketimindeki değişiklikler ile kardiyometabolik risk faktörleri arasındaki ilişkilerin ana sonuçlarının grafiksel özeti (González-Palacios ve ark., 2023).

#### 4.1. Ultra İşlenmiş Gıdalar ve Obezite Riski

Aşırı kilo ve obezite, ultra işlenmiş gıdalarla ilişkili olarak en çok araştırılan kronik durumlar arasındadır. Öte yandan, obezite, ultra işlenmiş gıda alımı ile diğer sağlık sonuçları arasındaki ilişkilerde aracılık rolü oynayabilmektedir. Son zamanlarda yapılan bir meta-analiz, üç kohort çalışma ve dokuz kesitsel çalışmadan elde edilen verileri özetleyerek, ultra işlenmiş gıda tüketiminin artışının obezite, aşırı kilo ve abdominal obezite artmasıyla ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (Moradi ve ark., 2021).

İsveç'te 1980'den 2010'a kadar yapılan araştırmalar ve diyetteki ultra işlenmiş gıda oranının %142 yükseldiğini göstermektedir. Aşırı kilolu olma yaygınlığı erkeklerde %35'ten %56'ya, kadınlarda ise %26'dan %39'a çıkmıştır. Ayrıca, obezite oranı erkeklerde %4.5'ten %11'e, kadınlarda ise %5'ten %10'a artmıştır (Juul ve Hemmingsson, 2015).

Yapılmış bir prospektif analizde 110.260 Fransız yetişkinin katıldığı, ultra işlenmiş gıdaların tüketimi ile 10 yıllık takip sürecinde aşırı kilo ve obezite riskinin artışı arasında bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (Beslay ve ark., 2020). 9 Avrupa ülkesinden 348.748 katılımcının yer aldığı geniş bir prospektif kohort analizde, 5 yıllık ortalama takip süresi sonunda daha yüksek oranda aşırı işlenmiş gıda tüketiminin aşırı kilo ve obezite riskiyle pozitif bir ilişki içinde olduğu ortaya konmuştur (Cordova ve ark., 2021).

Yapılan araştırmalarda, yaşamın erken dönemlerinde aşırı işlenmiş gıdalara maruz kalmanın aşırı kilo ve obezite riskiyle olan ilişkisine özel bir dikkat çekmektedir. NHANES verilerinden 7-18 yaş aralığındaki 5.804 çocuk ve ergen üzerinde yapılan bir araştırmada, aşırı işlenmiş gıda tüketiminin azaltılmasının ABD'li çocuklar ve ergenler arasındaki obezite ve aşırı kilo oranlarını önemli ölçüde azaltabileceğini öne sürmektedir (Livingston ve ark., 2021). Brezilya'da, 11.827 yetişkini 3.8 yıl boyunca takip eden bir çalışmada; yüzde enerji alımına göre ultra işlenmiş gıdaların en yüksek dörtte birlik kısmındaki katılımcıların, en düşük beşte birlik kısmındaki katılımcılara göre 'yüksek kilo' geliştirme riski %27 ve 'bel çevresi artış' riski %33 daha fazla olduğu görülmüştür (Canhada ve ark., 2020).

#### 4.2. Ultra İşlenmiş Gıdalar ve Mortalite Oranı

Yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda ultra işlenmiş gıda tüketimi ile ölüm riski arasında pozitif bir ilişki olduğunu desteklemektedir. Fransa'da 44.551 orta yaşlı yetişkin üzerinde ortalama 7,1 yıllık takip süresiyle yapılan

büyük bir prospektif kohort çalışması, daha fazla ultra işlenmiş gıda tüketen bireyler arasında tüm nedenlere bağlı ölüm riskinin daha yüksek olduğunu gözlemlenmiştir (Schnabel ve ark., 2019). İspanya'da 19.899 birey üzerinde yapılan prospektif bir kohort çalışmasında, Rico-Campa ve diğerleri (2019), ultra işlenmiş gıda tüketiminin en yüksek dördte birlik dilimindeki katılımcıların (günlük porsiyona göre) her nedene bağlı ölüm riskinin %62 daha yüksek olduğunu bulmuştur. Her ek tüketim için ölüm riski %18 daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, kardiyovasküler hastalık (CVD) ve kanserle ilgili ölüm oranları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Rico-Campa ve diğerleri, 2019). İspanya'da yapılan ikinci bir prospektif kohort çalışmasında, Blanco-Rojo ve arkadaşları (2019), 11.898 kişiyi 7.7 medyan yıl boyunca takip etmiştir. Ultra işlenmiş gıdaların en yüksek tüketim dördte birlik dilimindeki katılımcıların (enerji yüzdesine göre) her nedene bağlı ölüm riskinin %44 daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca, ultra işlenmiş gıdaların daha az işlenmiş gıdalarla izokalorik ikamesinin, ölüm oranında bir azalma ile ilişkilendirildiği gözlemlenmiştir (Blanco-Rojo ve ark., 2019).

### **4.3. Ultra İşlenmiş Gıdalar ve Kardiyovasküler Hastalık Riski**

Ultra işlenmiş gıda tüketimi ile kardiyovasküler hastalık riski arasındaki ilişki, prospektif kohort çalışmalarında incelenmiştir. Srour ve arkadaşlarının 105.109 yetişkin üzerinde 5,2 yıllık süre boyunca gerçekleştirdikleri prospektif kohort çalışmasında, ultra işlenmiş gıdaları en yüksek oranda tüketenlerin kardiyovasküler hastalık insidansının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Srour ve ark., 2019).

ABD'li popülasyonlarda 13.548 yetişkin üzerinde yapılan ve ortalama 27 yıllık takip süresine dayanan bir başka büyük prospektif araştırmada, ultra işlenmiş gıda tüketiminde en yüksek çeyrekte yer alan katılımcıların, en düşük çeyretekilerle karşılaştırıldığında koroner arter hastalığı riskinin %19 daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Du ve ark., 2021).

Mevcut epidemiyolojik kanıtlar, ultra işlenmiş gıda tüketimini tahmini kalp yaşı (kalp krizi ve felç risk faktörlerine dayalı olarak hesaplanan ve kardiyovasküler hastalık riskini ifade eden bir ölçüt) ile kronolojik yaş arasındaki farkın artması ve daha yüksek subklinik koroner ateroskleroz riski ile ilişkilendirmiştir (Montero-Salazar ve ark., 2020)



#### 4.4. Ultra İşlenmiş Gıdalar ve Kanser Riski

Brezilya'da meme kanseri üzerine yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında, Quiroz ve arkadaşları (2018), meme kanseri teşhisi konmuş 59 kadın ve 59 sağlıklı kişiler üzerinde çalışma yapmıştır. Araştırma sonucunda, ultra işlenmiş gıdaların düzenli tüketiminin (>5 gün/hafta) meme kanserine yakalanma olasılığını 2,35 kat artırdığı tespit edilmiştir (Queiroz ve ark., 2018). Fiolet ve arkadaşlarının (2018) yaptığı çalışmada, ultra işlenmiş gıdaların tüketiminin daha yüksek kanser insidansı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Diyetteki ultra işlenmiş gıda oranındaki her %10'luk artışın, toplam kanser riskini %12, meme kanseri riskini ise %11 oranında artırdığı tespit edilmiştir (Fiolet ve ark., 2018).

#### 4.5. Ultra İşlenmiş Gıdalar ve Diyabet Riski

Fransa'da Srour ve arkadaşları, tip 1 veya tip 2 diyabet öyküsü olmayan 104.707 katılımcıyı ortalama 6 yıl boyunca takip etti. Araştırma sonucunda, diyetlerinde ultra işlenmiş gıdaların daha yüksek oranda tüketildiği katılımcıların tip 2 diyabet riskinin önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur (Srour ve ark., 2019). Diyetle ultra işlenmiş gıdaların %10'luk artışı, tip 2 diyabet riskinde %15'lik bir artışla ilişkilendirilmiştir. İngiltere Biyobankası'ndaki 21.730 katılımcının verilerine dayanarak yapılan başka bir büyük prospektif kohort çalışmasında, 5.4 yıllık ortalama takip süresince ultra işlenmiş gıda tüketimindeki her %10'luk artışın tip 2 diyabet riskini artırdığı gözlemlenmiştir (Levy ve ark., 2021).

### 5. SONUÇ

Kalp damar hastalıkları, tip 2 diyabet ve bazı kanserler gibi bulaşıcı olmayan hastalıklar, dünya genelindeki ölümlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Son yıllarda gıda işleme yöntemlerindeki değişiklikler, gıda sistemlerinin endüstrileşmesi ve küreselleşmesi bu hastalıkların yaygınlaşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu bağlamda, gıdaların işlenme derecesine göre sınıflandırılmaları, bu durumun neden olduğu sağlık etkilerini anlamak açısından önemlidir. Örneğin, NOVA sınıflandırma sistemi, gıdaları işlenme derecelerine göre dört gruba ayırarak, özellikle ultra işlenmiş gıdaların sağlıksız etkilerine dikkat çekmektedir.

Ultra işlenmiş gıdalar, birçok endüstriyel işlemde geçen, genellikle düşük besin değeri taşıyan ve yüksek miktarda şeker, yağ, tuz ve katkı maddeleri içeren ürünlerdir. Bu gıdalar, kolay tüketilebilir yapıları ve uzun raf

ömürleri nedeniyle popülerdir, ancak aynı zamanda obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar gibi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Yapılan araştırmalar, ultra işlenmiş gıdaların tüketiminin dünya genelinde arttığını ve özellikle gelişmiş ülkelerde bu artışın kayda değer seviyelerde olduğunu göstermektedir.

Ultra işlenmiş gıdalar, besin profili açısından zayıf olma eğilimindedir. Bu gıdaların tüketimi, doymuş yağlar, trans yağlar, serbest şekerler ve tuzun aşırı alımıyla ilişkilidir. Aynı zamanda lif, vitamin ve mineral alımında azalmaya yol açmaktadır. Beslenme kalitesini düşüren bu tür gıdaların tüketiminin artması, sağlıklı besinlere olan talebi azaltarak besin yer değiştirmesine neden olmaktadır.

Bu inceleme, ultra işlenmiş gıdaların tüketiminin obezite ve mortalite oranları üzerindeki etkilerini de ele almıştır. Obezite, ultra işlenmiş gıdaların en sık ilişkilendirildiği kronik sağlık sorunlarından biridir. Yapılan birçok çalışma, bu gıdaların tüketimi ile obezite arasında güçlü bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur.

Sonuç olarak, ultra işlenmiş gıdaların artan tüketimi, halk sağlığı üzerinde ciddi olumsuz etkiler yaratmakta ve bulaşıcı olmayan hastalıkların yükünü artırmaktadır. Bu durum, özellikle beslenme politikalarının yeniden gözden geçirilmesi ve toplum genelinde daha sağlıklı beslenme alışkanlıklarının teşvik edilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

## KAYNAKLAR

- Baker, P., Machado, P., Santos, T., Sievert, K., Backholer, K., Hadjikakou, M., ... & Lawrence, M. (2020). Ultra-processed foods and the nutrition transition: Global, regional and national trends, food systems transformations and political economy drivers. *Obesity Reviews*, 21(12), e13126.
- Beslay, M., Srouf, B., Méjean, C., Allès, B., Fiolet, T., Debras, C., ... & Touvier, M. (2020). Ultra-processed food intake in association with BMI change and risk of overweight and obesity: A prospective analysis of the French NutriNet-Santé cohort. *PLoS medicine*, 17(8), e1003256.
- Blanco-Rojo, R., Sandoval-Insausti, H., López-García, E., Graciani, A., Ordovás, J. M., Banegas, J. R., ... & Guallar-Castillón, P. (2019, November). Consumption of ultra-processed foods and mortality: a national prospective cohort in Spain. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 94, No. 11, pp. 2178-2188). Elsevier.
- Canhada, S. L., Luft, V. C., Giatti, L., Duncan, B. B., Chor, D., Maria de Jesus, M., ... & Schmidt, M. I. (2020). Ultra-processed foods, incident overweight and obesity, and longitudinal changes in weight and waist circumference: the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Public health nutrition*, 23(6), 1076-1086.
- Cordova, R., N. Kliemann, I. Huybrechts, F. Rauber, E. P. Vamos, R. B. Levy, K. H. Wagner, V. Viallon, C. Casagrande, G. Nicolas, et al. Consumption of ultra-processed foods associated with weight gain and obesity in adults: A multi-national cohort study. *Clinical Nutrition* 2021 40 (9):5079–88.
- da Rocha, K. F., de Araújo, C. R., de Moraes, I. L., Padrão, P., Moreira, P., & da S Ribeiro, K. D. (2021). Commercial foods for infants under the age of 36 months: an assessment of the availability and nutrient profile of ultra-processed foods. *Public health nutrition*, 24(11), 3179-3186.
- Eicher-Miller, H. A., Fulgoni III, V. L., & Keast, D. R. (2015). Processed food contributions to energy and nutrient intake differ among US children by race/ethnicity. *Nutrients*, 7(12), 10076-10088.

- Fiolet, T., Srour, B., Sellem, L., Kesse-Guyot, E., Allès, B., Méjean, C., ... & Touvier, M. (2018). Consumption of ultra-processed foods and cancer risk: results from NutriNet-Santé prospective cohort. *bmj*, 360.
- Ghebreyesus, T. A., & Frieden, T. R. (2018). REPLACE: a roadmap to make the world trans fat free by 2023. *The Lancet*, 391(10134), 1978-1980.
- González-Palacios, S., Oncina-Cánovas, A., García-De-La-Hera, M., Martínez-González, M. Á., Salas-Salvadó, J., Corella, D., ... & PREDIMED-PLUS Trial investigators. (2023). Increased ultra-processed food consumption is associated with worsening of cardiometabolic risk factors in adults with metabolic syndrome: Longitudinal analysis from a randomized trial. *Atherosclerosis*, 377, 12-23.
- Juul, F., & Hemmingsson, E. (2015). Trends in consumption of ultra-processed foods and obesity in Sweden between 1960 and 2010. *Public health nutrition*, 18(17), 3096-3107.
- Juul, F., Vaidean, G., Lin, Y., Deierlein, A. L., & Parekh, N. (2021). Ultra-processed foods and incident cardiovascular disease in the Framingham Offspring Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(12), 1520-1531.
- Livingston, A. S., Cudhea, F., Wang, L., Steele, E. M., Du, M., Wang, Y. C., ... & Zhang, F. F. (2021). Effect of reducing ultraprocessed food consumption on obesity among US children and adolescents aged 7–18 years: evidence from a simulation model. *BMJ nutrition, prevention & health*, 4(2), 397.
- Marchese, L., Livingstone, K. M., Woods, J. L., Wingrove, K., & Machado, P. (2022). Ultra-processed food consumption, socio-demographics and diet quality in Australian adults. *Public Health Nutrition*, 25(1), 94-104.
- Martini, D., Godos, J., Bonaccio, M., Vitaglione, P., & Grosso, G. (2021). Ultra-processed foods and nutritional dietary profile: a meta-analysis of nationally representative samples. *Nutrients*, 13(10), 3390.
- Miranda, R. C. D., Rauber, F., Moraes, M. M. D., Afonso, C., Santos, C., Rodrigues, S., & Levy, R. B. (2021). Consumption of ultra-processed

foods and non-communicable disease-related nutrient profile in Portuguese adults and elderly (2015-2016): the UPPER project..

- Monteiro, C. A. (2009). Nutrition and health. The issue is not food, nor nutrients, so much as processing. *Public health nutrition*, 12(5), 729-731.
- Monteiro, C. A., Cannon, G., Lawrence, M., Costa Louzada, M. D., & Pereira Machado, P. (2019). Ultra-processed foods, diet quality, and health using the NOVA classification system. Rome: FAO, 48.
- Monteiro, C. A., Cannon, G., Moubarac, J. C., Levy, R. B., Louzada, M. L. C., & Jaime, P. C. (2018). The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public health nutrition*, 21(1), 5-17.
- Monteiro, C. A., Levy, R. B., Claro, R. M., Castro, I. R. R. D., & Cannon, G. (2010). A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. *Cadernos de saude publica*, 26, 2039-2049.
- Moradi, S., Entezari, M. H., Mohammadi, H., Jayedi, A., Lazaridi, A. V., Kermani, M. A. H., & Miraghajani, M. (2022). Ultra-processed food consumption and adult obesity risk: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Critical reviews in food science and nutrition*, 63(2), 249-260.
- Pagliai, G., Dinu, M., Madarena, M. P., Bonaccio, M., Iacoviello, L., & Sofi, F. (2021). Consumption of ultra-processed foods and health status: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Nutrition*, 125(3), 308-318.
- Petrus, R. R., do Amaral Sobral, P. J., Tadini, C. C., & Gonçalves, C. B. (2021). The NOVA classification system: A critical perspective in food science. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 603-608.
- Polsky, J. Y., Moubarac, J. C., & Garriguet, D. (2020). Consumption of ultra-processed foods in Canada. *Health reports*, 31(11), 3-15.
- Queiroz, S. A., de Sousa, I. M., de Melo Silva, F. R., de Oliveira Lyra, C., & Fayh, P. T. (2018). Nutritional and environmental risk factors for breast cancer: a case-control study. *Scientia Medica*, 28(2), 2.

- Rico-Campà, A., Martínez-González, M. A., Alvarez-Alvarez, I., de Deus Mendonça, R., De La Fuente-Arrillaga, C., Gómez-Donoso, C., & Bes-Rastrollo, M. (2019). Association between consumption of ultra-processed foods and all cause mortality: SUN prospective cohort study. *bmj*, 365.
- Srour, B., Fezeu, L. K., Kesse-Guyot, E., Allès, B., Méjean, C., Andrianasolo, R. M., ... & Touvier, M. (2019). Ultra-processed food intake and risk of cardiovascular disease: prospective cohort study (NutriNet-Santé). *bmj*, 365.
- World Health Organization. (2023). Countdown to 2023: WHO report on global Trans-fat elimination 2022. World Health Organization.



## BÖLÜM 12

### BİR FONKSİYONEL GIDA OLAN SPİRİLUNA'NIN BESİN DEĞERLERİ VE SAĞLIĞA FAYDALARI

Öğr. Gör. Zeynep Nur KARAKUŞ<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566644>

<sup>1</sup>Uşak Üniversitesi, Eşme Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, Uşak, Türkiye, zeynep.karakus@usak.edu.tr, Orcid ID:0000-0002-0319-6454





## GİRİŞ

Spirulina, deniz suyundaki çözünmüş karbondioksiti kullanarak üreme yeteneğine sahip bir siyanobakteri türüdür (Ali ve Saleh, 2012). Oscillatoriaceae familyasına ait olan Spirulina, ince bir kılıf içine alınmış düz şekilli hücre zincirleriyle karakterizedir. Bu ipliksi siyanobakteriler, yüksek sıcaklıklar ve yüksek alkali koşullar altında güçlü güneş ışığında hızla büyüebilmektedir. Spirulina, sağlıklı gıda endüstrisinde protein ve vitamin takviyesi olarak önemli bir rol oynamaktadır. Hem tuzlu su hem de tatlı su ortamlarında yetişebilen Spirulina, kolayca hasat edilebilir ve işlenebilir. Ayrıca, çok yüksek düzeyde makro ve mikro besin içeriğine sahiptir (Costa ve ark., 2019). Spirulina farklı sistemlerde yetiştirilebilmektedir. Fotobiyoreaktörler ve kanallar, bunların en yaygın olanlarından bazılarıdır. Raceway sistemleri genellikle köşeleri yuvarlatılmış dikdörtgen şeklinde olup, büyük bir zemin alanına ihtiyaç duyarlar ve bol miktarda su gerektirirler. Ayrıca, hava koşullarına ve mevsimlere bağlıdırlar.

Spirulina, Avrupa Uzay Ajansı ve Ulusal Havacılık tarafından uzun süreli uzay seyahatleri sırasında gıda takviyesi olarak önerilmektedir. Bu önerinin ardından, Spirulina'nın değerli etkilerini belirlemek amacıyla çeşitli hayvan ve insan klinik deneyleri yapılmıştır. Spirulina, düşük maliyetli bir besin takviyesidir ve herhangi bir yan etkisi bulunmamaktadır. Ayrıca, Spirulina, %60-70 protein, %4 vitamin, esansiyel yağ asitleri ve antioksidanlar bakımından zengin olduğu için bir besin konsantresi olarak tüketilmektedir (Santos ve ark., 2016).

Spirulina, gerekli yağ asitleri olan linoleik asit ve linolenik asit gibi önemli besin maddelerinin, fikobiliproteinler olarak adlandırılan ve en önemlileri fikosiyanın ve allofikosiyanın olan bileşenlerin, en yüksek değerlerini içerir. Ayrıca, Spirulina, lösin (%10,9'u oluşturan toplam amino asitlerin), valin ve izölösün gibi amino asitlerin yanı sıra demir gibi minerallerin kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Yetersiz beslenen çocuklar ve yetişkinler Spirulina uygulamasına olumlu yanıt vermiştir. Tüm Spirulina türleri üzerinde yapılan toksikolojik araştırmalar, akut veya kronik dozlar sırasında ve sonrasında böbrek, karaciğer, üreme sistemi ve vücut fizyolojisi üzerinde herhangi bir toksik etki ortaya koymamıştır. Spirulina selüloz hücre duvarları içermez ve bu nedenle emilebilir hale gelmek için kimyasal veya fiziksel işlemlere ihtiyaç duymaz (Soni ve ark., 2017).

Bu çalışmanın amacı, Spirulina'nın besinsel özelliklere sahip bir gıda kaynağı olarak kullanımını gözlemlemek ve çeşitli alanlarda kullanım potansiyelini değerlendirmektir. Bu alanlar arasında immünolojik uygulamalar, anti-kanser etkileri, probiyotik özellikleri, nöroprotektif özellikleri, hipoglisemik ve hipolipidemik özellikleri, antinefrotoksisite, anti-genotoksisite, antiviral aktivite, anti-inflamatuar, anti-obezite ve anti-kanser etkileri bulunmaktadır.

## **1. SPİRİLUNA'DAN ELDE EDİLEN MİKROALGLERİN BİLEŞİMİ**

Özellikle Spirulina cinsinden mikroalgler, temel insan beslenmesi için gerekli olan karbonhidratlar, lipitler, proteinler, vitaminler ve mineraller gibi makro besinleri içeren bir besin bileşimine sahiptir (Tablo 1). Ayrıca, makro ve mikro besinlere Spirulina biyolojik aktivitelere sahip başka bileşiklere de sahiptir. Spirulina gibi siyanobakterilerdeki ana biyoaktif bileşikler doymamış yağ asitleri, amino asitler, karotenoidler ve fenolik bileşikler ile karakterize edilir (Şekil 1). Bu bileşikler antioksidan (Grover ve ark., 2021), antikanserojenik (Tajvidi ve ark., 2021) ve nöroprotektif fonksiyon (Haider ve ark., 2021) gibi farklı biyolojik aktivitelerden sorumludur.

### **1.1. Makronutrientler**

Lipid profili doymuş yağ asitleri (SFA), tekli doymamış (MUFA) ve çoklu doymamış (PUFA) yağ asitlerinden oluşmaktadır (Tablo 1). Bu nedenle, Spirulina yağ asitleri, özellikle çoklu doymamış yağ asitleri, lipid metabolizması bozuklukları vakaları için spesifik diyetlerde kullanılma potansiyeline sahiptir (Li ve ark., 2019). Spirulina'nın kimyasal bileşimi protein (%70-55), karbonhidratlar (%25-25), temel yağ asitleri (%18), vitaminler, mineraller ve karoten, klorofil A ve fikosiyanın gibi pigmentleri içermektedir. Ayrıca, Spirulina dokuz temel amino aside ve bu mikroalglerin proteinlerini oluşturan diğer amino asitlere sahiptir. Bu gıda matrisi, triptofan, treonin, lösin, lizin, metiyonin, fenilalanin, histidin ve valin gibi insan vücudu tarafından üretilmeyen tüm temel amino asitlere sahiptir. Bu nedenle Spirulina, düşük protein konsantrasyonlarına sahip gıdaları zenginleştirme potansiyeline sahip bir esansiyel ve esansiyel olmayan amino asit kaynağı olarak düşünülebilir (Bashir ve ark., 2016).

## 1.2. Mikronutrientler ve Biyoaktif Bileşikler

Fenolik bileşikler, en az bir hidroksil süstituentli bir benzen halkası içeren moleküllerdir. Bu tür bileşikler, çaylar, meyveler ve onların ürünleri, yenilebilir çiçekler ve algler gibi bitkisel kaynaklı ürünlerde bulunur. Fenolik bileşikler, bitkisel kökenli biyoaktif bileşiklerin ana örneklerindedir (Bortolini ve ark., 2021). Ayrıca, flavonoidler ve fenolik asitler Spirulina'da rapor edilen fenolik bileşiklerin ana sınıflarıdır.

Klorofil, karotenoidler ve fikosiyanın gibi diğer biyoaktif bileşikler, bu tür alglerin renklenmesine katkıda bulunur. Karotenoidler, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan yağda çözünen bileşiklerdir ve genellikle sarıdan turuncuya kadar değişen renklere sahiptirler. Bu bileşikler, ışığa maruz kalmanın neden olduğu hasarı azaltmada rol oynarlar. Karotenoidlerin gıdalardaki uygulamaları, renklendirme ve tatlandırma işlevlerine sahip katkı maddelerinden A vitamini takviyesine kadar geniş bir yelpazeye sahiptir (Park ve ark., 2018).

$\beta$ -karoten, canthaxanthin, astaxanthin, lutein ve zeaxanthin Spirulina'da bulunan ana karotenoidlerdir (Tablo 1).

**Tablo 1:** Spirulina Tozunda Bulunan Vitaminler ve Mineraller (Michael ve ark., 2019).

Mineral	mg 100g <sup>-1</sup>	Vitamin	mg 100 g <sup>-1</sup>
Kalsiyum	700	Provitamin A	2.330.000 IU kg <sup>-1</sup>
Bakır	1.2	$\beta$ -karoten	140
Demir	100	Vitamin E	100 a-tokoferol
Magnezyum	400	Tiamin (B1)	3.5
Manganez	5	Riboflavin (B2)	4
Fosfor	800	Niasin (B3)	14
Potasyum	1400	Vitamin B6	0.8
Sodyum	900	Vitamin B12	0.32
Çinko	3	Folik asit	0.01
		Vitamin K	2.2

Fikosiyanin, mavi alglerde bulunan, pH 5 - 8'de stabil olan mavi renkli, suda çözünebilen bir fikobiliproteindir (Park ve ark., 2018). Phycoerythrin (kırmızı) ve allophycocyanin (mavi) gibi diğer önemli fikobiliproteinler *Spirulina* cinsinden mikroalglerde bulunmaktadır (Rodrigues ve ark., 2018). Bu biyoaktif maddeler, gıda endüstrisinde boya olarak kullanılabilir çünkü mavi renklendiricilerin doğal kaynakları oldukça sınırlıdır (Tavanandi ve ark., 2020). Klorofiller, *Spirulina* alglerinde bol miktarda bulunan diğer biyoaktif bileşiklerdir. Bu fitokimyasal, mikroalglerin yeşil renginden sorumludur ve fotosentez sürecinde temel işlevlere sahiptir (Martins ve ark., 2021). Ancak klorofil, gıda uygulamaları için istenmeyen bir renge sahip olabilir, bu nedenle gıdalar için tercih edilmeyebilir.



Şekil 1: *Spirulina*'nın Biyoaktif Bileşikleri (Bortolini ve ark., 2021).

## 2. GIDA UYGULAMALARINDA SPİRİLUNA'NIN KULLANIMI

*Spirulina*, yüksek kalitede konsantre gıda hazırlamak için uygun bir besindir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), *Spirulina*'yı 21. yüzyıl için mükemmel bir gıda ve besin takviyesi olarak kabul etmektedir. *Spirulina*, balık, karides ve kümes hayvanları yemlerinde tamamlayıcı bir besin maddesi olarak ve su yemlerinde protein vitamin takviyesi olarak kullanılmaktadır (Rosario ve ark., 2015). *Spirulina*, çeşitli besin maddeleri ve

vitaminler içermektedir. Tüm temel amino asitleri, beta-karoten, gamalinolenik asit, B vitaminleri, eser elementler vb. içermektedir (Santos ve ark., 2016). Sütten %180 daha fazla kalsiyum, ıspanaktan %5100 daha fazla demir ve havuçtan %3100 daha fazla beta-karoten içermektedir. Ayrıca, serbest radikalleri ve ağır metalleri nötralize etme ve oksidatif etki üzerinde çok sayıda etkiye sahiptir (Wu ve ark., 2016).

### **2.1. Spirulina ile Zenginleştirilmiş Kurabiye Üretimi**

Spirulina, taşınabilirliği ve uzun raf ömrü sayesinde zenginleştirilebilecek ve karıştırılabilecek ürünler arasında özellikle kurabiyeler için uygun bir seçenektir. Donato ve ark., 2019'da besin zenginleştirme amacıyla %0.5, 10 ve 15 oranlarında *Spirulina platensis* ile karıştırılmış kurabiyeler geliştirmiştir. *Spirulina platensis* oranının artması, sadece rafine buğday unu ile yapılan kurabiyelerde protein yüzdesinde bir artışa neden olmuştur. %15 *Spirulina platensis* içeren kurabiyeler, mineral ve protein yüzdeleri açısından öne çıkarken, lipidler, mineraller ve maksimum enerji değeri açısından standart kurabiyelerle benzerlik göstermektedir (Donato ve ark., 2019).

### **2.2. Spirulina'nın Yumuşak Peynir ve Dondurmada Kullanımı**

Agustini ve diğerleri (2016), ürüne eklenebilecek ve duyuşal ve fiziksel özelliklere göre uygun olan maksimum *Spirulina platensis* konsantrasyonunu belirlemişlerdir. Yapılan çalışma, yumuşak peynir ve dondurma için sırasıyla %1 ve %1.2 *Spirulina platensis* ilavesinin en uygun konsantrasyon olduğunu göstermiştir. *Spirulina platensis* ilavesinin,  $\beta$ -karoten, su, yağ, protein, karbonhidrat, tekstür (yumuşak peynir) ve duyuşal (dondurma) özelliklerini önemli ölçüde etkilediği görülmüştür (Winarni Agustini ve ark., 2016).

### **2.3. Hindistan Cevizi Kremalı Spirulina Bisküvi Formülasyonu**

Setyaningsih ve diğerleri (2019), *Spirulina* bisküvisinin raf ömrünü değerlendirmiş ve bu bisküvinin kimyasal bileşimini ticari bisküvilerle karşılaştırmışlardır. Duyuşal teste göre, Hindistan cevizi kremalı *Spirulina* bisküvisi ticari bisküvilerden daha yüksek protein içeriğine sahipken, daha düşük lipid içeriğine sahiptir. Ayrıca, oda sıcaklığında depolanan *Spirulina*

bisküvisinin raf ömrü 2-4 ay olarak değerlendirilmiştir (Setyaningsih ark., 2019).

### 3. SPIRULİNA'NIN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİNİN FARMAKOLOJİK ETKİLERİ

Algler besin bileşenleri bakımından zengin kaynaklar olup lipidler, proteinler, karbonhidratlar, pigmentler, vitaminler ve mineraller gibi çeşitli besin maddelerini içermektedir. Bu özellikleri sayesinde, algler kurabiye, tatlı, atıştırmalık, makarna ve alkolsüz içecekler gibi çeşitli gıda ürünlerinde kullanılabilecekleri gibi, kapsül, toz veya tablet formunda diyet takviyeleri olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca, gıda uygulamalarıyla sınırlı kalmayıp, bu alglerin probiyotik etkileri, antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antikanser, antiinflamatuvar ve antidiyabetik gibi çeşitli sağlık faydaları da bulunmaktadır. Bu özellikler, algleri tıbbi, kimyasal, kozmetik ve farmasötik alanlarda ürün geliştirmek için bir katkı maddesi olarak önemli kılmaktadır (Kusmayadi ve ark. 2021).

#### 3.1. Prebiyotik Etki

*Spirulina platensis*'in prebiyotik etkisi, tüketiminin bağırsak mikroflorasının büyümesini teşvik edebildiği oligosakkaritler açısından zengin bileşiminden kaynaklanmaktadır. (Cai ve ark., 2022a). Bu probiyotik aktivite, moleküler ağırlık, monosakkaritler, stereokimya arasındaki bağ türü ve fonksiyonel gıdalardaki oligosakkaritlerin polimerizasyon derecesi gibi farklı yapısal özelliklerle ilgilidir (Cai ve ark., 2022a).

#### 3.2. Bağışıklık Sistemine Etkisi ve Antitümör Aktivite

Mikroalg türevleri bağışıklık sistemini ve antitümör aktiviteyi geliştirme potansiyeline sahiptir. Tümör nekroz sentezi, fagositoz ve interlökin üretiminin indüklenmesi yoluyla bağışıklık yanıtındaki artış, *S. platensis* polisakkaritlerinde bulunan çok çeşitli sülfat grupları, sülfat esterleri ve amin kalıntılarından kaynaklanmaktadır (Cai ve ark., 2022b). *S. platensis*'in antioksidan aktivitesi de akciğer kanseri hücrelerine karşı aktivite ile ilişkilidir. Mikroalg ekstresi, A549 akciğer kanseri hücre hattının hücre döngüsünü etkileyerek reaktif oksijen türlerinin üretimini ve hücre zarı lipid peroksidasyonunu artırmaktadır. Kanser hücresi tedavileri için potansiyeli, esas olarak normal hücreleri korurken kanser hücreleri üzerindeki önemli inhibitör etkileri bulunmaktadır (Tajvidi ve ark., 2021).

### 3.3. Nöroprotektif Etki

İnflamatuar belirteçlerin inhibe edici etkileri, özellikle şizofreniye karşı koruyucu ve tedavi edici bir önlem olarak nöroprotektif faaliyetlere katkıda bulunmaktadır.

*Spirulina maxima*, sıçanlarda striatum (telensefonun bir parçası, bir gangliyon çekirdeği) bölgesinde 6-hidroksidopamin (6-OHDA) kaynaklı toksisiteye karşı nöroprotektif etkiler sergilemiş ve dopamin mitokondriyal aktivitesinin korunması ile gelişmiş lokomotor aktivite ile birlikte striatumda reaktif oksijen türleri (ROS), nitrik oksit ve lipid peroksidasyon seviyelerini azalttığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, *Spirulina platensis* ile beslenen sıçanlar, arka ekstremitelerin lokomotor fonksiyonunu geliştirmede ve omuriliğin morfolojik hasarını azaltmada bazı olumlu etkilere sahip olmuştur (Sinha, Patro, & Patro, 2018).

### 3.4. Antiinflamatuvar Etki

Selenyum ile zenginleştirilmiş *Spirulina* spp., antiinflamatuvar potansiyeli arttırmaktadır. Jiang ve diğerleri (2022) tarafından yapılan çalışmada, *S. platensis* selenyumunun (Se-SP) lipopolisakkaritlerin neden olduğu inflamasyonun azaltılmasındaki etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, Se-SP'nin antiinflamatuvar etkisinin, sitokin seviyelerinde belirgin bir düşüşle kanıtlandığı görülmüştür (%74 interlökin-6, %40.45 interlökin-1 $\beta$  ve %42.28 tümör nekroz faktörü- $\alpha$ ). Ayrıca, antioksidan özelliği sayesinde, nitrik oksit (%64.84) ve malondialdehit içeriğini (%69.07) azaltarak ve süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin seviyelerini artırarak hücreleri oksidatif hasara karşı koruduğu gözlemlenmiştir (Jiang ve ark., 2022).

### 3.5. Hipoglisemik ve Hipolipidemik Etki

*Spirulina* spp., özellikle diyabet tedavisinde faydalı bir adjuvan tedavi olarak kabul edilmektedir. *S. platensis*'in hipoglisemik özelliği, plazma glikoz seviyelerini düşüren aktiviteyi artıran kromun varlığıyla ilişkilidir. Bu özellik, insülin reseptörlerine bağlanan peptitlere bağlanmasıyla ilişkilendirilmiştir (Ekeku ve ark., 2021).

*Spiulina maxima* tüketimi aşırı kilolu ve dislipidemik erkeklerde hipolipidemik etkiyi artırarak toplam kolesterolü, trigliseritleri, vücut yağını ve vücut kitle indeksini azaltmaktadır (Herna'ndez-Lepe ve ark., 2019).



Benzer şekilde, tip 2 diyabet, metabolik sendrom, aşırı kilo veya obezite olan bireylerin lipit profilini iyileştirmektedir (Bohórquez-Medina ve ark., 2021).

#### 4.SONUÇ

Sonuç olarak, Spirulina'nın besinsel ve biyoaktif bileşenleri, sağlık açısından birçok fayda sunabilecek potansiyele sahiptir. İçerdiği zengin protein, vitamin ve mineral içeriği, Spirulina'yı sağlıklı bir gıda kaynağı ve besin takviyesi olarak değerli kılmaktadır. Ayrıca, antioksidan, anti-inflamatuar, anti-kanser, nöroprotektif, hipoglisemik ve hipolipidemik özellikleri, Spirulina'nın çeşitli sağlık koşullarının yönetiminde ve korunmasında kullanım potansiyelini artırmaktadır. Gıda endüstrisinde, Spirulina'nın farklı ürünlerle zenginleştirilmesi ve formülasyonunda kullanılması, gıdaların besin değerini artırabilir ve fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Örneğin, kurabiye, dondurma, peynir gibi çeşitli gıda ürünlerinde Spirulina'nın kullanımı, ürünlerin besin içeriğini artırabilir ve sağlık faydaları sağlayabilir.

Farmakolojik açıdan, Spirulina'nın çeşitli sağlık koşullarının yönetiminde potansiyel bir rol oynayabileceği gösterilmiştir. Antioksidan, anti-inflamatuar ve antitümör aktiviteleri, sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunabileceğini işaret etmektedir. Ayrıca, bağışıklık sistemini güçlendirme, nöroprotektif etkiler ve kan şekeri ve lipid seviyelerini düzenleme gibi özellikleri, Spirulina'nın sağlık üzerinde geniş bir etki spektrumuna sahip olabileceğini göstermektedir. Spirulina'nın besinsel, fonksiyonel ve farmakolojik özellikleri, sağlık açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Bu mikroalg, hem gıda endüstrisinde hem de sağlık sektöründe çeşitli kullanım alanları bulabilir ve insan sağlığına olumlu katkılarda bulunabilir. Ancak, daha fazla araştırma ve klinik çalışma gereklidir, bu da Spirulina'nın sağlık faydalarını daha iyi anlamamıza ve potansiyelini tam olarak değerlendirmemize yardımcı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Ali, S. K., & Saleh, A. M. (2012). Spirulina-an overview. *International journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences*, 4(3), 9-15.
- Bohórquez-Medina, S. L., Bohórquez-Medina, A. L., Benites Zapata, V. A., Ignacio- Cconchoy, F. L., Toro-Huamanchumo, C. J., Bendezu-Quispe, G., ... Hernandez, A. V. (2021). Impact of spirulina supplementation on obesity-related metabolic disorders: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *NFS Journal*, 25, 21–30.
- Bortolini, D. G., Haminiuk, C. W. I., Pedro, A. C., Fernandes, I. de A. A., & Maciel, G. M. (2021). Processing, chemical signature and food industry applications of *Camellia sinensis* teas: An overview. *Food Chemistry: X*, 12, 100160.
- Cai, B., Yi, X., Han, Q., Pan, J., Chen, H., Sun, H., & Wan, P. (2022a). Structural characterization of oligosaccharide from *Spirulina platensis* and its effect on the faecal microbiota in vitro. *Food Science and Human Wellness*, 11(1), 109–118.
- Cai, B., Zhao, X., Luo, L., Wan, P., Chen, H., & Pan, J. (2022b). Structural characterization, and in vitro immunostimulatory and antitumor activity of an acid polysaccharide from *Spirulina platensis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 196(164), 46–53.
- Costa, J. A. V., Freitas, B. C. B., Rosa, G. M., Moraes, L., Morais, M. G., & Mitchell, B. G. (2019). Operational and economic aspects of Spirulina-based biorefinery. *Bioresource Technology*, 292, 121946.
- Donato, N. R., Queiroz, A. J. D. M., Feitosa de Figueirêdo, R. M., Feitosa, R. M., Moreira, I. D. S., & Lima, J. F. de. (2019). Production of Cookies Enriched With *Spirulina platensis* Biomass. *Journal of Agricultural Studies*, 7(2), 323.
- Ekeuku, S. O., Chong, P. N., Chan, H. K., Mohamed, N., Froemming, G. R., & Okechukwu, P. N. (2022). Spirulina supplementation improves bone structural strength and stiffness in streptozocin-induced diabetic

- rats. *Journal of traditional and complementary medicine*, 12(3), 225-234.
- Grover, P., Bhatnagar, A., Kumari, N., Narayan Bhatt, A., Kumar Nishad, D., & Purkayastha, J. (2021). C-Phycocyanin-a novel protein from *Spirulina platensis*- In vivo toxicity, antioxidant and immunomodulatory studies. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1853–1859.
- Haider, S., Shahzad, S., Batool, Z., Sadir, S., Liaquat, L., Tabassum, S., & Perveen, T. (2021). *Spirulina platensis* reduces the schizophrenic-like symptoms in rat model by restoring altered APO-E and RTN-4 protein expression in prefrontal cortex. *Life Sciences*, 277, Article 119417.
- Hernández-Lepe, M. A., Wall-Medrano, A., López-Díaz, J. A., Juárez-Oropeza, M. A., Luqueño-Bocardo, O. I., Hernández-Torres, R. P., & Ramos-Jiménez, A. (2019). Hypolipidemic Effect of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* Supplementation and a Systematic Physical Exercise Program in Overweight and Obese Men: A Double- Blind, Randomized, and Crossover Controlled Trial. *Marine Drugs*, 17(270), 1–13.
- Jiang, P., Meng, J., Zhang, L., Huang, L., Wei, L., Bai, Y., ... Li, S. (2022). Purification and anti-inflammatory effect of selenium-containing protein fraction from selenium- enriched *Spirulina platensis*. *Food Bioscience*, 45, Article 101469.
- Kusmayadi, A., Leong, Y. K., Yen, H. W., Huang, C. Y., & Chang, J. S. (2021). Microalgae as sustainable food and feed sources for animals and humans – Biotechnological and environmental aspects. *Chemosphere*, 271, Article 129800.
- Li, T.-T., Tong, A.-J., Liu, Y.-Y., Huang, Z.-R., Wan, X.-Z., Pan, Y.-Y., ... Zhao, C. (2019). Polyunsaturated fatty acids from microalgae *Spirulina platensis* modulates lipid metabolism disorders and gut microbiota in high-fat diet rats. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110558.

- Martins, M., Albuquerque, C. M., Pereira, C. F., Coutinho, J. A. P., Neves, M. G. P. M. S., Pinto, D. C. G. A., ... Ventura, S. P. M. (2021). Recovery of Chlorophyll a Derivative from *Spirulina maxima*: Its Purification and Photosensitizing Potential. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 9(4), 1772–1780.
- Michael, A., Kyewalyanga, M. S., & Lugomela, C. V. (2019). Biomass and nutritive value of *Spirulina* (*Arthrospira fusiformis*) cultivated in a cost-effective medium. *Annals of Microbiology*, 69,13, 1387–1395.
- Park, W. S., Kim, H. J., Li, M., Lim, D. H., Kim, J., Kwak, S. S., ... Ahn, M. J. (2018). Two classes of pigments, carotenoids and c-phycoyanin, in spirulina powder and their antioxidant activities. *Molecules*, 23(8), 1–11.
- Rodrigues, R. D. P., de Castro, F. C., de Santiago-Aguiar, R. S., & Rocha, M. V. P. (2018). Ultrasound-assisted extraction of phycobiliproteins from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* using protic ionic liquids as solvent. *Algal Research*, 31, 454–462.
- Rosario, J. C., & Josephine, R. M. (2015). Mineral profile of edible algae *Spirulina platensis*. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 4(1), 478–483.
- Santos, T. D., Freitas, B. C. B. de, Moreira, J. B., Zanfonato, K., & Costa, J. A. V. (2016). Development of powdered food with the addition of *Spirulina* for food supplementation of the elderly population. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 216–220.
- Sinha, S., Patro, N., & Patro, I. K. (2018). Maternal Protein Malnutrition: Current and Future Perspectives of *Spirulina* Supplementation in Neuroprotection. *Frontiers in Neuroscience*, 12.
- Tajvidi, E., Nahavandizadeh, N., Pournaderi, M., Pourrashid, A. Z., Bossaghzadeh, F., & Khoshnood, Z. (2021). Study the antioxidant effects of blue-green algae *Spirulina* extract on ROS and MDA production in human lung cancer cells. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 28, Article 101139.
- Tavanandi, H. A., & Raghavarao, K. S. M. S. (2020). Ultrasound-assisted enzymatic extraction of natural food colorant C-Phycocyanin from

dry biomass of *Arthrospira platensis*. *LWT - Food Science and Technology*, 118, Article 108802.

Winarni Agustini, T., Farid Ma'ruf, W., Widayat, W., Suzery, M., Hadiyanto, H., & Benjakul, S. (2016). Application of *Spirulina platensis* on Ice Cream and Soft Cheese with Respect to Their Nutritional and Sensory Perspectives. *Jurnal Teknologi*, 78(4-2).

Wu, H.-L., Wang, G.-H., Xiang, W.-Z., Li, T., & He, H. (2016). Stability and Antioxidant Activity of Food-Grade Phycocyanin Isolated from *Spirulina platensis*. *International Journal of Food Properties*, 19(10), 2349-2362.

## BÖLÜM 13

# **CHAETOMIUM ERRATICUM DEKSTRANAZ ENZİMİNİN ÇOK DUVARLI KARBOKSİLE KARBON NANO TÜPLER ÜZERİNE İMMOBİLİZASYONU**

Sabahattin Kahraman ÇAMURLU<sup>1</sup>

Doç. Dr. Yakup ASLAN<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566660>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye, kcamurlu@gmail.com, Orcid ID: 0000-0002-2547-2720

<sup>2</sup>Siirt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Siirt, Türkiye. dr\_yakup@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-9668-9559,

\*Bu kitap bölümü 1. yazarın '*Chaetomium erraticum* Dekstranaz Enziminin Karboksillenmiş Çok Duvarlı Karbon Nano Tüpler Üzerine Adsorpsiyon Yöntemi ile İmmobilizasyonu' başlıklı yüksek lisans tez eserinin bir kısmından özetlenmiştir.



## GİRİŞ

İmmobilize enzimler gıda endüstrisinde, gıda biyoteknolojisinde, kimya endüstrisi ve ilaç endüstrilerinde sıklıkla kullanılmaktadır. İlk defa 1953 yılında yayınlanan immobilize enzimlerin o günden günümüze giderek önemi artmış ve enerji tüketimini azaltmaya yönelik arayışın devam etmesi immobilize enzimlerin endüstriyel uygulamalarda kullanımını yaygınlaştırmıştır.

Dekstranazlar (EC3.2.1.11), dekstrandaki glukozlar arasında bulunan  $\alpha$ -1,6-bağlarını rastgele kopararak çeşitli boyutlarda izomaltooligosakkarit (IMO) oluşturur (Khalikova ve ark., 2005). IMO, şeker endüstrisi, ilaç üretimi ve diş hekimliği gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Şeker endüstrileri, şeker suyunda kalan dekstranı parçalamak için dekstranaz kullanır, bu da meyve suyunun çözünmesini azaltır ve sakkaroz verimini artırır (Brown ve ark., 1992; Salassi ve ark., 2004; Eggleston ve ark., 2009).

Dekstranazın aktivitesi pH'ya, sıcaklığa, dekstran konsantrasyonuna ve kullanılan dekstranazın kaynağına, derişimine ve aktivitesine bağlıdır. Dekstranaz aktivitesi için optimal pH aralığı 5,0-6,0'dır. Ayrıca bu aralıktaki daha düşük değerler tercih edilir. Ayrıca dekstranazın etkinliği ortamın sıcaklığına da bağlıdır.

Dekstranaz, yaklaşık 80 yıl önce *Cellvibrio fulva*'da keşfedilmiştir. Şu anda, bitkiler, filamentli mantarlar ve mayalar dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmaların dekstranaz üretebildiği bilinmektedir (Abdel ve ark.,1999; Erhardt ve ark., 2007; Bhatia ve ark., 2010). Bu organizmalar arasında *Bacillus* (Khalikova ve ark., 2003; Esawy ve ark., 2012; Zohra ve ark., 2015; Shahid ve ark., 2019), *Cytophaga* (Janson ve ark., 1975), *Paenibacillus* (Hild ve ark., 2007; Kim ve ark.,2012; Mizushima ve ark., 2019) ve *Streptococcus* (Pulkownik ve ark., 1977) bakteri türleri bulunmaktadır. Mantar türleri arasında *Paecilomyces lilacinus* (Bhatia ve ark., 2016) ve *Penicillium* (Mahmoud ve ark., 2014; Huang ve ark., 2019), *Hypocrea* (Wu ve ark., 2011), *Pochonia* (Sufiate ve ark., 2018), *Chaetomium* (Virgen ve ark., 2015), *Talaromyces* (Zhang ve ark., 2017) ve *Aspergillus* (Netsopa ve ark., 2019) türlerinin dekstranaz üretebilen verimli kaynaklar olduğu rapor edilmiştir. FDA tarafından fungal dekstranaz kullanımına ilişkin endişelerin dile getirilmesi, araştırmacıların alternatif veya yeni dekstranaz



kaynaklarını incelemeye yönlendirmiştir (Kim ve ark., 2010; Park ve ark., 2012).

Enzimler çapraz bağlanma, adsorpsiyon, hapsetme, enkapsülasyon ve kovalent bağlanma yöntemleri ile immobilize edilmektedir. Dekstranaz immobilizasyonu için en uygun yöntem tercih edilmelidir. Novick ve Rozzell'e (2005) göre kovalent bağlanma yöntemi enzim immobilizasyonu için en uygun yöntemlerdendir. Kovalent bağlanma yöntemi kullanılarak immobilize edilen enzimlerin en önemli avantajı, depolama stabilitesi ve kullanım kararlılığıdır. Enzim molekülleri güçlü bir şekilde taşıyıcıya bağlandığından sızıntı yapamaz. Ancak, adsorpsiyon yöntemi çok hızlı, ucuz, kolay ve yenilenebilir olma özelliklerinden dolayı enzim immobilizasyonunda çok sık tercih edilmektedir.

Karbon nanotüpler daha yüksek spesifik yüzey alanına sahip olduğu için enzimler daha büyük miktarlarda bağlanabilirler, NH<sub>2</sub> veya diğer gruplarla fonksiyonelleştirilerek karbon nanotüplerin yüzeylerini değiştirmeye imkân tanır (Wei ve ark., 2007). MWCNT-COOH ile enzim immobilizasyon çalışmalarında 5 kat ve hatta 12 kat aktivite artışı rapor edildiğinden, bu tez çalışmasında *Chaetomium erraticum* dekstranaz'ın (CED'in) MWCNT-COOH üzerine adsorpsiyon yöntemi ile immobilize ederek, literatürde yer alan çalışmalarındakilerden daha yüksek aktivite verimi elde etme ihtimali yüksektir. Dolayısıyla, bu çalışmada CED'in MWCNT-COOH üzerinde adsorpsiyon metoduyla immobilizasyonunun koşulları optimize edilerek, %100 bağlanma verimi ve literatürde yer alan çalışmalarındakilerden daha yüksek aktivite verimi elde etmeye çalışılacaktır. Bu tez çalışmasında elde edilecek olan ICED, dekstranın endüstriyel hidrolizinde ve dekstrandın IMO üretiminde kullanılabilme potansiyeline sahip olabilecektir.

## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

### 2.1. Enzimler

Enzimler protein yapısında moleküllerdir. Hücre içindeki biyokimyasal reaksiyonları katalize ederler. Bu enzimlerin önemli bir görevi olsa da tek görevi değildir. Enzimler gündelik ve ekonomik hayatta değişik görevlerle karşımıza çıkar (Wiseman, 1987). Enzimlerin protein yapısında olmaları onları spesifik hale getirir. Bundan dolayı tek bir maddeye etki ederler bazen de bu maddeye yakın bir kimyasal yapıya sahip olan başka bir maddeye etki

edebilirler. Bu maddeye ‘Substrat’, gerçekleşen reaksiyonlardan sonra oluşan maddeye ‘ürün’ veya ‘prodakt’ denir (Bingöl, 1977).

Gıda endüstrisinde enzimlerin iki önemli kullanım alanı mevcuttur. Bunlardan ilki enzimin son ürün olarak oluşan rennet peyniri gibi gıdalardır. Enzimlerin diğer görevleri ise renk, koku tat oluşumunu etkileyerek daha kaliteli bir ürün oluşumunu sağlamaktır (Fadıloğlu ve Erkmen, 2004).

Enzimler bitkisel ve hayvansal kaynaklı üretilebilse de endüstride kullanılan enzimlerin çoğu mikroorganizmalardan üretilen enzimlerdir. Bu enzimlerin avantaj sağlayan tarafları daha ucuz olmaları, diğerlerine göre stabil olmaları, enzimatik aktivitelerinin yüksek olmaları ve istenmeyen yan ürünler oluşturmamalarıdır. Bunlarla beraber mikroorganizmalardan daha fazla enzim üretilebilir (Wiseman, 1987).

Enzimlerin aktivitelerini etkileyen bazı faktörler vardır. Bunlar sıcaklık, pH, radyasyon, basınç ve nemdir (Fadıloğlu ve Erkmen, 2004). Sıcaklık enzimlerin katalitik özelliklerinde doğrudan etkilidir. Sıcaklık yükselince enzim aktivasyonu da artar ama yüksek sıcaklık derecelerinde üzerine çıkılınca enzim inaktivite olur. Yüksek sıcaklıklarda aktivite gösteren enzimler olsa da Gıda endüstrisinde yararlanılan enzimlerin birçoğu 45°C üzerinde inaktivite meydana gelir. Papain etin yumuşamasında kullanılan enzimim fungal ve mayalardan üretilen proteazlara göre ısıya daha direnç gösterir (Read ve Thorn, 1971).

Enzimin, substratın ve enzim substrat kompleksinin derişiminin farklı pH’larda iyonlaşma değişimleri değişmektedir. Bu sebepten dolayı enzimlerin farklı pH’larda farklı aktiviteleri olmaktadır. Genelde enzimlerin maksimum aktivite gösterdiği pH aralığı kısıtlıdır. Bir enzimin optimum aktivite gösterdiği pH değeri onu tanımlanması için yeterli değildir.

Önemli olan gıdanın doğal halindeki pH değerine uygun olan bir enzim kullanmaktır. Çünkü uygulamada gıdanın pH değerini değiştirmek zordur (Fadıloğlu ve Erkmen, 2004).

Radyasyon enzim aktivitesini etkileyen parametrelerden biridir. Tripsin, saymotripsin, lizozim ve ribonükleaz gibi enzimler ultraviyole ışınların etkisi sonucunda inaktivite olurlar (Fadıloğlu ve Erkmen, 2004).

Lipaz, polifenol oksidaz, lipoksigenaz, peroksidaz, fosfataz gibi enzimler yüksek hidrostatik basınç altına inaktivite olurlar. Zaman, sıcaklık, pH uygulanan basıncı etkileyen parametrelerdendir (Seyhelderm ve ark., 1996).

Nem miktarı gıdalardaki enzimatik reaksiyonların hızında ehemmiyetli bir tesiri vardır. Bunun sebebi ortamdaki çözücü türü ve konsantrasyonu doğrudan reaksiyon hızını etkilemesiyle açıklanabilir (Fadıloğlu ve Erkmen, 2004).

## 2.2. Dekstranazlar ve CED

Dekstranazlar, şeker üretiminin verimliliğini artırmak amacıyla şeker fabrikalarında dekstranın hidrolize edilmesi için kullanılan enzimlerdir (Eggleston ve Monge, 2005; Purushe ve ark., 2012). Ayrıca dekstrandan prebiyotik özellikler gösteren IMO üretiminde de kullanılmaktadırlar (Goffin ve ark., 2011; Gericke ve ark., 2016; Sugiura ve Ito, 1974; El-Tanash ve ark., 2011; Foukia ve ark., 2016; Koenig ve Day, 1989). Endüstriyel dekstranazlar çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir (Erhardt ve Jördening, 2007; Gibriel ark., 2014). Gıda endüstrisinde bu amaçlarla yaygın olarak kullanılan dekstranazlardan birisi de CED'dir (Erhardt ve Jördening, 2007; Gibriel ark., 2014).

## 2.3. Enzim İmmobilizasyonu

İzole enzimler deterjanlarda ilk kez 1914'te kullanılmış, protein yapıları 1926'da ispatlanmış ve 1960'larda büyük ölçekli mikrobiyal üretimleri başlamıştır. Endüstriyel enzim işi, gelişmiş üretim teknolojileri, tasarlanmış enzim özellikleri ve yeni uygulama alanları sayesinde istikrarlı bir şekilde büyümektedir (Leisola ve ark., 2001). Enzimler katalitik aktiviteleri bakımından kimyasal katalizörlere kıyasla, yüksek özellik gösterirler ve belirli koşullar altında bu aktiviteleri sadece etki ettiği substrat veya substrat grubu içindir. Bu imtiyazın sonucunda, aktivite sonunda son ürünlerin yayında istenmeyen bileşiklerin oluşma olasılığı azalmaktadır. Fakat, sanayide doğal formlarıyla enzim kullanmanın getirdiği bazı ciddi dezavantajlar vardır. Örnek olarak, aynı enzim örneği sadece bir defa kullanılabilir ve ürün tüketime sunulduğunda üründe kalması veya tekrar kullanılması için, üründen yüksek maliyetli metotlarla ayrılabilmesidir. Bir diğer olumsuz durum ise sıcaklık pH

ve değişimlerinin tekrar kullanım ve depolama şartlarına bağlı olarak ciddi aktivite kayıplarına yol açmasıdır.

Bu olumsuz durumların giderilmesi için ilk uygulama, suda çözünen stabilizatörler eklemek olmuştur. Enzimin stabilize edilmesi için metaller, yüzey aktif maddeler, proteinler, amino asitler polialkoller, şekerler ve polietilen glikoller eklenmiştir. Enzim ve çözücü arasındaki non-kovalent etkileşimler bu kararlılık halinin oluşmasının sebebidir (Drevon ve ark., 2002). Fakat bu işlemin enzimatik proseslerde bir avantajı yoktur.

Enzim immobilizasyonu bu sorunlar için bir diğer çözümdür. Immobilizasyonda, enzim aktivitesinin uzun süre korunması sağlanır. Bunun için enzimin suda çözünmeyen bir desteğe adsorpsiyonla, kovalent bağlanmayla veya matriks içinde tutularak hareket etmesi kısıtlanır. Immobilizasyonda hem organik hem de inorganik yapıda çok sayıda naturel ya da suni matriks kullanılmaktadır.

En sık kullanılan matrisler arasında epoksi grubu taşıyan matrisler, kalsiyum aljinat jeller ve kapsüller, aktif karbon ve karbon bazlı diğer materyaller gibi binlerce doğal veya sentetik yer almaktadır

İmmobilize enzimin serbest enzime göre farklı özellik göstermesi, immobilizasyon metodu ve matriksin yapısıyla ilgilidir. İmmobilize edilmiş enzimin optimal aktivite koşulları, Michaelis-Menten sabitleri ve produkt kompozisyonları çözünür enziminkinden farklılık gösterebilir.

İmmobilize enzimlerin kullanılmasının faydaları şöyle sıralanabilir:

- Basit yöntemlerle reaksiyon karışımından uzaklaştırılabilir,
- Ekstrem pH ve sıcaklıklarda karşı daha stabildir
- Sürekli proseslerin uygulanmasına olanak tanır,
- Tekrar tekrar kullanılabilir,
- Depolama koşullarında aylarca aktivitesini koruyabilir,
- Ürün maliyetlerini azaltır,
- Saflık derecesi daha yüksek ürünlerin elde edilmesini sağlar,
- Bazı malzemelerin seçici olarak sentezlenmesi mümkündür,
- Ürün inhibisyonu engellenebilir.

İlk immobilizasyon çalışmalarının başladığı tarih olarak 1960'lı yılların başları kabul edilebilir. Enzim immobilizasyonu ile ilgili binlerce yayınlanmış eser vardır. İmmobilize enzimin ilk endüstriyel uygulaması, immobilize

*Aspergillus oryzae* aminoasilaz kolonlarını geliştiren ve bunları sentetik rasemik D-, L-amino asitleri aktif enantiyomerlere dönüştürmek için kullanan Tosa ve arkadaşları (1966) tarafından Japonya'da gerçekleştirilmiştir.

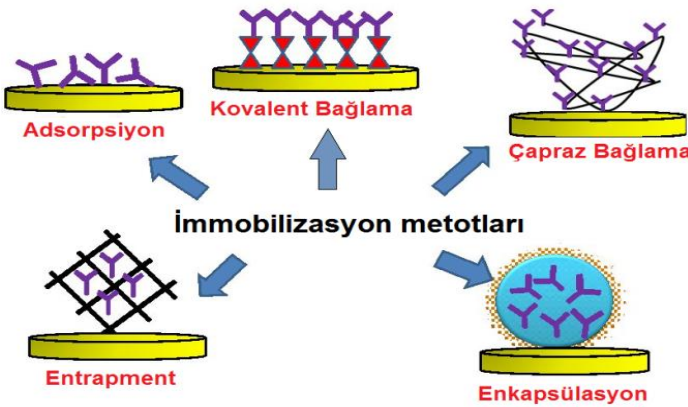
### 2.3.1. Enzim immobilizasyon yöntemleri

Enzim immobilizasyon yöntemleri enzim ile destek arasındaki bağlanma türüne göre yapılmıştır. Bu nedenle enzim immobilizasyon yöntemleri dört ana grupta incelenmektedir: bifonksiyonel reaktiflerle çapraz bağlama, adsorpsiyon, kovalent bağlama ve tuzaklama (polimerik bir jel veya jel kapsül içerisinde hapsetme) (Şekil 2.1).

#### 2.3.1.1. Adsorpsiyon:

Adsorpsiyon yönteminde enzim, en zayıf çekici kuvvetlere sahip inert bir matrise bağlanır. Adsorpsiyon, nispeten kolay ve ucuz bir immobilizasyon yöntemidir.

Adsorpsiyon, kovalent immobilizasyondan daha üstün bir CNT'ler üzerindeki enzim immobilizasyonu yaklaşımıdır çünkü immobilize edilmiş enzimin yapısal konformasyonunu korumaya ve katalitik aktivite kaybını önlemeye yardımcı olur (Nawaz vd., 2021). Doğrudan fiziksel adsorpsiyon, enzim ve nanotüp yüzeyi arasındaki  $\pi$ - $\pi$  etkileşimlerini ve hidrofobik etkileşimleri içeren en yaygın kovalent olmayan immobilizasyondur (Feng ve Ji, 2015).



Şekil 2.1. Enzim immobilizasyon metotları (Dutra, 2015)

### **2.3.1.2. Tuzaklama (Entrapment):**

Tuzaklama, bir polimer oluşturulurken bir enzimin polimer içinde hapsedilmesidir. Aljinik asit, bu yöntem için en sık kullanılan polimerlerden biridir.

### **2.3.1.3. Çapraz bağlanma:**

Bifonksiyonel çapraz bağlama reaktifleri kullanıldığında, sulu çözeltilerde çözünen enzimler, birbirlerine kovalent olarak bağlanarak suda çözünmez forma gelerek molekül kütleleri arttığı için santrifüjle ayrılabilirler (Chui ve Wan, 1997). Bu amaçla kullanılmakta olan çapraz-bağlama rejanlarından biri glutaraldahittir (Klibanov, 1983). Enzimlerin amino grupları glutaraldehitin aldehit gruplarıyla reaksiyona girerek enzim moleküllerini birbirine kovalent bağlarla bağlar. Çapraz bağlanma moleküllerin arasında olabildiği gibi molekül içinde de olabilir ve enzim çökeler. Çökelek Santrifüj ile çapraz kolayca ayrılabilir.

### **2.3.1.4. Kovalent bağlanma:**

Enzimlerin kovalent bağ ile immobilizasyonda, genellikle amino, hidro ksil, karboksil, imidazol veya sülfidril grupları içeren doğal ve suni katı destekler kullanılır (Katchalski-Katzir ve Kraemer, 2000). Immobilizasyon yüzeyinde reaktif gruplar taşıyan desteklere, uygun tampon çözeltideki enzimlerle etkileştirilerek gerçekleştirilir.

İmmobilizasyon matrisi olarak CNT'lerin avantajları şu şekilde sıralanabilir:

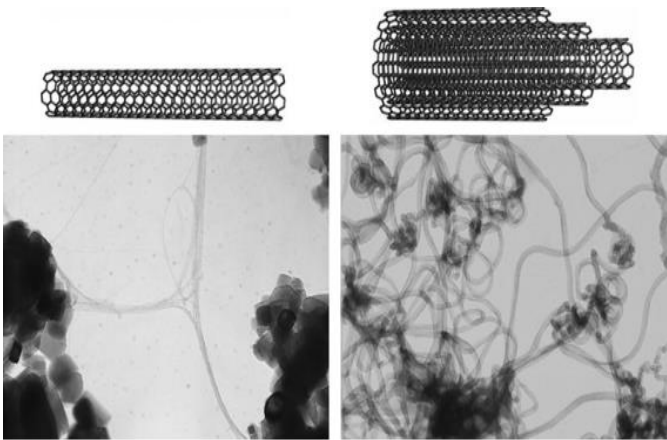
- Daha yüksek enzim bağlama kapasitesi,
- Makromoleküler substratlar veya ürünler için daha az difüzyon kısıtlaması,
- Geliştirilmiş termal stabilite ve arttırılmış aktivite,
- Yüksek yeniden kullanım ve daha uzun süre depolama kararlılığı,
- Yüksek mekanik kararlılık,
- Yenilenebilirlik

## 2.4. Enzim İmmobilizasyon Matrisi Olarak Karbon Nanotüpler

İlk rapor yayınlandığından beri, karbon nanotüpler (CNT'ler), enzim immobilizasyonu da dahil olmak üzere farklı alanlarda çalışan bilim adamlarının dikkatini çekti (Iijima ve Ichihashi, 1993). MWCNT'lerin diğer karbon nanomalzemelere göre mekanik ve yapısal üstünlükleri, onları enzim immobilizasyonu için en güçlü aday haline getirdi (Singh ve Chauhan, 2019). Şekil 2.2'de görüldüğü gibi, CNT'ler tek duvarlı (SWCNT'ler) çok duvarlı (MWCNT'ler) şeklinde gruplandırılmıştır (Compton ve ark., 2009; Garlet ve ark., 2014; Feng ve Ji, 2015).

SWCNT'lerin geniş yüzey alanı, enzim yükleme kapasitesi için daha avantajlıdır, ancak MWCNT'ler, yüksek dağılıma kabiliyetleri ve düşük maliyetleri nedeniyle tercih edilmektedir (Huang ve ark., 2002).

Enzimler, adsorpsiyon veya kovalent bağlama yöntemleri kullanılarak CNT'ler üzerinde immobilize edilmiştir. Aktivite için gerekli olan optimum enzim konformasyonları adsorpsiyonda korunabilir, ancak enzimlerin matriksten ayrılması üzerine dayanıklılığı ve aktivite kayıpları endüstriyel uygulamalar için hala endişe vericidir. Ancak, CNT proteinlere karşı yüksek doğal afiniteleri olduğundan enzim immobilizasyonu için çok uygun matrislerdir (Saifuddin ve ark., 2013).



Şekil 2.2. SWCNT (sol üst) ve MWCNT (üst sağ)'nin şematik gösterimleri ve tipik transmisyon elektron mikroyrafları (aşağıda) (Donaldson ve ark., 2006) (Oxford University Press'in izniyle).

### **2.4.1. Enzim immobilizasyonunda matriks olarak MWCNT-COOH**

Literatürde MWCNT-COOH'ler ile enzim immobilizasyonu hakkında çokça çalışma yayınlanmıştır. Adsorpsiyon, enzim ile matrisin uygun bir tampon çözeltide inkübe edilmesiyle gerçekleştirilir (Garlet vd., 2014). Kovalent immobilizasyonda (Şekil 2.3), öncelikle karboksil grupları çapraz bağlayıcı bifonksiyonel reaktifler ile aktive edilir. Daha sonra enzim molekülleri bu gruplar aracılığıyla matrise bağlanır (Jiang vd., 2004). MWCNT-COOH ile gerçekleştirilen enzim immobilizasyonu ile ilgili çalışmalar Tablo 2.2'de görülmektedir.

### **2.5. CED ile ilgili İmmobilizyon Çalışmaları**

Yaptığımız araştırmalar sanucunda CED'in immobilizasyonu üzerine çok az çalışma gözlemledik. Erhardt ve Jördening (2007) tarafından yapılan ilk çalışmada CED, adsorpsiyon ve kovalent bağlama yöntemleri ile çeşitli matrisler kullanılarak immobilize edilmiş ve en yüksek aktivite verimi (% 41) Eupergit C250L ile elde edilmiştir, ancak bu çalışmada kullanım ve depolama kararlılığı incelenmemiştir.

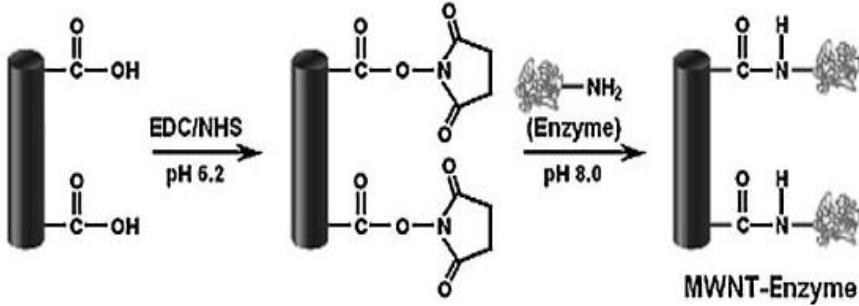
Yapılan ikinci çalışmada, CED Bashari ve ark. (2014) tarafından Ca-Aljinat içerisinde % 65 immobilizasyon ve % 70 aktivite verimi ile immobilize edilmiş, ancak immobilize enzim 6 kullanım sonunda aktivitesinin % 80'ini kaybetmiştir.

Yapılan son çalışmada, Aslan ve Ghafour (2021), CED'i karboksilli çok duvarlı karbon nanotüpler ile immobilizasyonunda % 100 bağlanma verimi ve % 114,13 aktivite verimi elde etmişler ve immobilize CED peş peşe 20 kullanma ve 30 gün süren depolama boyunca başlangıçtaki aktivitesini kaybetmemiştir.

MWCNT-COOH ile yapılan bazı çalışmalarda enzim immobilizasyonu, aktivitede 5 kat (Jamie ve ark., 2016) ve 12 kat (Zniszczoł ve ark., 2016) artışla sonuçlanmıştır. Dolayısıyla, sunulan bu çalışmanın amacı, CED'i 20-50 nm boyutundaki MWCNT-COOH üzerine adsorpsiyon yöntemini kullanarak yüzde yüz oranında enzim bağlama ve önceki çalışmalardan daha yüksek aktivite verimiyle immobilize ederek literatürdeki



çalışmalardan daha üstün özelliklere sahip bir immobilize biyokatalizör elde etmektedir.



Şekil 2.3: MWCNT-COOH ile enzim immobilizasyonu

Tablo 2.2. MWCNT-COOH'ın kullanıldığı immobilizasyon çalışmaları

Enzim	İmmobilizasyon Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)	Tekrar Kullanılabilirlik (%)	Depolama Kararlılığı (%)	Referans
<i>A. niger</i> Glucose oxidase	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Soo-Keun ve ark., 2005
<i>C. antarctica</i> lipase B	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	6 ay sonra % 55 aktivite	Pavlidis ve ark. 2010
Papain from Genview, USA	18.8	78.9	7 kullanım sonunda 61	Belirtilmemiş	Wang ve ark., 2011
<i>C. rugosa</i> lipase	52	48	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Rastian ve ark. 2013
<i>A.s niger</i> inulinase	90	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	5 hafta sonra 100	Garlet ve ark., 2014
<i>C.rugosa</i> lipase	86.7	492.5	7 kullanım sonunda 123,7	Belirtilmemiş	Rastian ve ark. 2014
fungus peroxidase	100	Belirtilmemiş	9 kullanım sonunda 0	40 gün sonra 34	Azevedo, 2014
$\alpha$ -Amylase ve glucoamylase	Belirtilmemiş	95.1	8 kullanım sonunda 95,1	Belirtilmemiş	Feng ve Ji, 2015
<i>C. rugosa</i> lipase	85.6	500	Belirtilmemiş	Belirtilmemiş	Jamie ve ark., 2016
<i>P. fluorescens</i> lipase	59	1200	8 kullanım sonunda 60	Belirtilmemiş	Zniszczoł ve ark. 2016

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyaller

UV-VIS Spektrometresi (VWR International GmbH, UV-6300PC, Austria), pH metre ve magnetik karıştırıcı (Isolab, Turkey), Saf su cihazı (MDM, Mini Pure 1, MDM-0170), hassas terazi (Mettler Toledo, ME 403), *Chaetomium erraticum* dekstranaz (Troy, VA, USA), karbon nanotüpler (Adnano Technologies Private Limited, India), % 10'luk dekstran 40 çözeltisi Bioflex firmasından (İstanbul Türkiye), Sığır Serum Albümini, natrium hidroksit, sodyum di hidrojen fosfat, hidroklorik asit, sodyum sülfid, fenol ve D-glikoz, Sigma-Aldrich'ten (Taufkirchen, Almanya). 3.5-dinitrosalisilik asit, Alfa Aesar'dan (Kandel, Almanya). Sodyum potasyum tartrat (Rochelle tuzu), VWR Prolabo Chemicals'dan (Leuven Belgium). Sodyum azid Merck Millipore'dan (Darmstadt, Almanya).

#### 3.2. Metotlar

Çalışmamızda kullandığımız yöntemleri iki ana başlık altında toplayabiliriz:

1. CED enziminin MWCNT-COOH üzerine adsorpsiyon yöntemi ile immobilizasyonu.

2. İmmobilize enzimin karakterizasyonu.

CED enziminin MWCNT-COOH üzerindeki bağlanma etkinliğini ve aktivite etkinliğini etkileyen parametreler sırasıyla değiştirilerek optimize edildi (tampon çözeltinin pH'sı, tampon çözeltinin derişimi, destek miktarı ve immobilizasyon reaksiyonunun süresi).

##### 3.2.1. İmmobilizasyon verimi

Enzim miktarları Bradford (1976) yöntemiyle hesaplandı. İmmobilizasyondan gerçekleşmeden önce ve immobilizasyon sonrasında çözeltilerdeki enzim varlığını hesaplamak için bu yöntem kullanıldı.

Ölçümü yapılacak çözeltilerin her birinden 50 µL örnek alındı. Daha sonra bu numunelere 1.5 ml Bradford Mavisi boyası eklendi. 45 dakika sonra UV spektrofotometrisinde 595 nm dalgaboyunda okuma yapıldı (Bradford, 1976). İmmobilizasyon verimi, immobilizasyonda kullanılan serbest enzim

miktarının, filtratta kalan ve matrikse yapışamayan enzim ile başlangıçtaki serbest enzim miktarı arasındaki farka bölünmesiyle hesaplandı (3.1).

$$\text{İmmobilizasyon verimi (\%)} = \frac{\text{İKSE (mg)} - \text{SSE (mg)}}{\text{İKSE (mg)}} \times 100 \quad (3.1)$$

İKSE: İmmobilizasyonda kullanılan serbest enzim

SSE: Süzüntüdeki serbest enzim

### 3.2.2. Aktivite verimi

pH'ları 5.0 ve 6.0 olan 25 mM sodyum fosfat tamponunda kütle/hacimce yüzde birlik dekstran çözeltileri hazırlandı.

200 µL serbest enzim (FCED) çözeltisi ve 71.80 mg immobilize enzim (ICED), 5'er mL dekstran çözeltileri (pH FCED için 5.0, ICED için 6.0) 55 °C sıcaklıkta 150 rpm çalkalama hızında 10 dakika süre ile reaksiyona sokuldu. Reaksiyon bitiminde reaksiyon karışımlarından 400'er µL'lik numuneler alınıp 3600 mL saf suyla seyreltildi. Hemen ardından kaynar suda enzimler denatüre edilerek reaksiyonlar durduruldu. Ardından DNS yöntemine göre UV spektrofotometresinde 575 nm dalga boyunda indirgen şeker tayini yapıldı (Miller, 1959).

1 IU aktivite, standart koşullar altında 5 mL % (w/v) 1'lik dekstran çözeltisinden bir dakikada 1 µmol D-Glukoz salan enzim miktarı (miligram cinsinden) şeklinde tanımlandı. Aktivite verimi ise Denklem 3.2 kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Aktivite Verimi} = \frac{\text{İmmobilize Enzimin Aktüel Aktivitesi (IU)}}{\text{Sıvı Enzimin Aktüel Aktivitesi (IU)}} \times 100 \quad (3.2)$$

### 3.2.3. İmmobilizasyon prosedürü

Adsorbsiyonla immobilizasyonu en verimli hale getirmek için bazı deneyler yapıldı. Bu deneyler sonunda immobilizasyonun optimum koşulları belirlendi. Adsorbsiyon ile immobilizasyon için en uygun karbon nanotüp miktarının 10 mg olduğu, tampon çözeltinin pH 6.0, molaritesinin 25 mM olduğu ve immobilizasyon süresinin 60 dakika olduğu tespit edilmiştir.

İmmobilizasyonlar serbest CED ile MWCNT-NH<sub>2</sub>'nin vida kapaklı tıpalı cam şişeler içerisindeki 5 mL sodyum fosfat tampon çözeltisi içerisinde orbital çalkalamalı ısıtmalı bir inkübatörde 25 °C'de 150 rpm çalkalama hızında inkübe edilerek gerçekleştirildi. İmmobilizasyon bittikten sonra vakum pompası altında 3'er defa 5 mL saf su ile yıkanıp nitroselüloz membran filtreden süzöldükten sonra immobilizasyon çözeltilerinde ve süzöntüler protein tayini, immobilize enzimler ise aktivite tayini için kullanıldı.

### 3.2.4. İmmobilizasyon koşullarının optimizasyonu

Optimum immobilizasyon koşullarını tayin edebilmek için immobilizasyon verimine etki eden bazı etkenlerin en uygun değerleri tespit edilmelidir. Bu etkenler matris için seçilen malzemenin miktarı, immobilizasyon sıcaklığı, tampon çözeltinin molaritesi ve pH değeri ile immobilizasyon süresidir. Optimum tampon pH değerinin belirlenmesi için pH 4'ten pH 7'ye kadar farklı pH'lardaki tampon çözeltilerde immobilizasyon yapıp protein ve aktivite tayini yapıldı. Tampon derişiminin optimizasyonu için 25 mM ile 100 mM arasındaki derişimlerde sodyum fosfat tamponu çözeltilerinde immobilizasyon yapıldıktan sonra protein ve aktivite tayini yapıldı. Optimum karbon nanotüp miktarını belirlemek için 10 mg'dan 50 mg'a kadar farklı miktarlarda MWCNT-COOH kullanılarak immobilizasyon yapıp protein ve aktivite tayini yapıldı. Optimum immobilizasyon süresi belirlenmesi için 10. dakikadan 60. dakikaya kadar, 10'ar dakikalık sürelerle immobilizasyon yapıp protein ve aktivite tayini yapıldı.

### 3.2.5. FCED ve ICED'in karakterizasyonu

Bir immobilizasyon çalışmasında enzimlerin aktivitesini etkileyen optimal pH, optimal sıcaklık, pH stabilitesi, termal stabilite, V<sub>max</sub> ve K<sub>m</sub> değerleri, kullanım kararlılığı ve depolama kararlılığı gibi faktörlerin belirlenerek serbest ve immobilize enzimin karşılaştırılması gereklidir. Bu faktörler sırası ile teker teker değiştirilerek FCED ve ICED karakterize edildi.

#### 3.2.5.1. Optimal pH

Belirli pH aralığındaki (3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 ve 8.0) 25 mM'lık sodyum fosfat tamponu çözeltileriyle hazırlanmış 5'er mL % (w/v) 1'lik dekstran çözeltileri 200'er µL FCED ile 55 °C'de ve 71.80 mg

ICED ile 50 °C'de 10 dk 150 rpm çalkalama hızı ile çalkalanan bir orbital çalkalayıcıda reaksiyona sokuldu. Reaksiyonlar sonunda oluşan glukozlar DNS metodu (Miller, 1959) ile tayin edilerek bağıl aktiviteler hesaplandı. Çizilen pH-Bağıl aktivite grafiğinden optimum pH'lar bulundu.

### 3.2.5.2. Optimal sıcaklık

Optimum pH'daki (FCED için 5.0, ICED için 6.0) olan 25 mM'lık sodyum fosfat tamponu çözeltileriyle hazırlanmış 5'er mL % (w/v) 1'lik dekstran çözeltileri 200'er µL FCED ile ve 71.80'er mg ICED ile 50 farklı sıcaklıklarda (30, 35, 40, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75 ve 80 °C) 10 dk 150 rpm çalkalama hızı ile çalkalanan bir orbital çalkalayıcıda reaksiyona sokuldu. Reaksiyonlar sonunda oluşan glukozlar DNS metodu (Miller, 1959) ile tayin edilerek bağıl aktiviteler hesaplandı. Çizilen Sıcaklık-Bağıl aktivite grafiğinden optimum sıcaklıklar bulundu.

### 3.2.5.3. pH stabilitesi

200'er µL FCED ve 71.80'er mg ıslak ICED belirli pH aralığındaki ((3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 ve 8.0) 2.5'er mL 25 mM sodyum fosfat tamponlarında 25 °C sıcaklıktaki orbital çalkalayıcı bir inkübatörde 150 rpm çalkalama hızında 10 dakika inkübe edildi. Sonra üzerlerine 25 mM sodyum fosfat tamponlarında hazırlanmış % (w/v) 1.7'lik dekstran çözeltisinden (pH FCED için 5.0, ICED için 6.0) 3'er mL eklendi. Hazırlanan çözeltiler FCED ile 55 °C'de, ICED ile 50°C 10 dakika boyunca 150 rpm çalkalama hızında reaksiyona sokuldu ve bağıl aktivite tayini yapıldı. Çizilen kalan aktivite-pH grafiğinden kararlı pH aralığı belirlendi.

### 3.2.5.4. Termal stabilite

200'er µL FCED ve 71.80'er mg ICED 2'er mL 25 mM sodyum fosfat tamponlarında (pH FCED için 5.0, ICED için 6.0) inkübe edildi. Sonra üzerlerine 25 mM sodyum fosfat tamponlarında hazırlanmış % (w/v) 1.7'lik dekstran çözeltisinden (pH FCED için 5.0, ICED için 6.0) 3'er mL eklendi. Hazırlanan çözeltiler FCED ile 55 °C'de, ICED ile 50 °C 10 dakika boyunca 150 rpm çalkalama hızında reaksiyona sokuldu ve aktivite tayini yapıldı. Çizilen kalan aktivite-sıcaklık grafiğinden kararlı sıcaklık aralığı belirlendi.

### 3.2.5.5. Kinetik sabitler

25 mM sodyum fosfat tampon çözeltileri (pH FCED için 5.0, ICED için 6.0) ile hazırlanan farklı derişimlerdeki (5, 10, 25, 50, 75, 100 g/L) 5'er mL dekstran çözeltileri 200'er µL FCED ile 55 °C'de 150 rpm çalkalama hızında 5 dakika süreyle, 71.80'er mg ICED ile ise 50 °C'de 150 rpm çalkalama hızında 5 dakika süreyle reaksiyona sokuldu. Reaksiyonların bitiminde indirgen şeker tayini yapılarak başlangıç aktiviteleri hesaplandı. Kinetik Sabitler, elde edilen sonuçlara göre oluşturulan Lineweaver-Burk grafiği kullanılarak elde edildi.

### 3.2.5.6. ICED'in tekrar kullanılabilirliği

Kalan aktiviteler, ICED ile peş peşe 20 defa standart koşullarda % (w/v) 1'lik dekstran çözeltileri ile reaksiyon gerçekleştirilerek tayin edildi. ICED her kullanımdan sonra üç kere 5'er mL sodyum tamponu çözeltisi ve 5'er mL saf su ile üç kere yıkandı. Kalan aktivite-kullanım sayısı grafiği çizilerek kullanma kararlılığı belirlendi.

### 3.2.5.7. ICED'in depolama stabilitesi

Yirmi gün süresince günâşırı, standart koşullar altında ICED'in kalan aktivitesi tayin edilerek kalan aktivite-gün grafiği çizildi. Her kullanımdan sonra üç kere 5'er mL sodyum tamponu çözeltisi ve 5'er mL saf su ile üç kere yıkandı. Bir sonraki kullanıma kadar 25 mM'lık 5 mL sodyum fosfat tamponunda (pH 6.0), +4 °C'deki buzdolabında muhafaza edildi.

### 3.2.6. İstatistiksel analiz

Elde edilen her veri üç paralel deneyin ortalamasıdır. Grafiklerin hazırlanması için kullanılan yazılım Origin Pro 8.0 adlı programdır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Protein Tayini

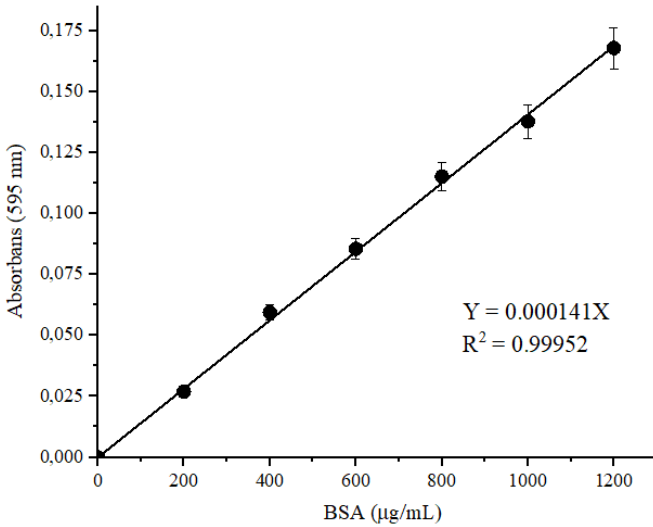
BSA standart grafiği, Bradford (1976) metoduyla elde edilen verilere göre çizilmiştir. Grafik Şekil 4.1'de gösterilmektedir. Grafiğin (Denklem 4.1) korelasyon katsayısı  $R^2 = 0.99952$ 'dir.

$$Y = 0,000141X \quad (4.1)$$

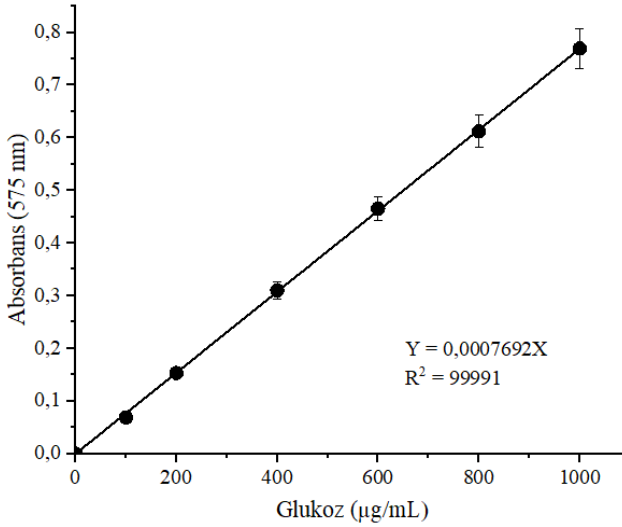
İmmobilizasyon çözeltileri ve süzüntülerdeki enzim derişimleri 4.1 eşitliği ile hesaplandı. Buna göre, 200 µL FCED çözeltilisindeki enzim miktarı 492.9 µg olarak bulundu. Bu sayı seyreltme katsayısı (5.2) ile çarpılıp 1000'e bölünerek de ticari sıvı enzim preparatındaki CED konsantrasyonu 2.56 mg/mL olarak hesaplandı.

#### 4.2. CED Aktivitesinin Belirlenmesi

200 µL serbest CED'in % (w/v) 1.0 dekstran çözeltilisi (pH 5.0) ile aktivite tayin koşullarında reaksiyonu sonucunda elde edilen indirgen şeker derişimi Şekil 4.2'den elde edilen Denklem 4.2 kullanılarak UV analiz örneğinde 609.6 µg/mL glukozu eşdeğer olarak bulundu ve seyreltme katsayısı (208) ile çarpılarak reaksiyon hacmindeki toplam indirgen şeker miktarı 126786.6 µg glukozu eşdeğer olarak hesaplandı. Glukozun mol kütlesi 180 g/mol olduğundan glukozun mol sayısı ise 74.4 µmol olarak hesaplandı. Spesifik FCED aktivitesinin de 4.3 eşitliğiyle 27.5 IU/mg.dk olduğu bulundu. 1 IU aktiviteye sahip FCED miktarının 1/27.5 oranından 0.036 mg olduğu bulundu.



Şekil 4.1: Standart BSA grafiği



Şekil 4.2. Standart glukoz grafiği

$$Y = 0.0007692X \quad (4.2)$$

$$\text{Aktivite (IU)} = \frac{\text{İndirgen Şeker } (\mu\text{mol})}{\text{Kullanılan Enzim (mg)} \times \text{Reaksiyon Süresi (dk)}} \quad (4.3)$$

### 4.3. CED Miktarının Optimizasyonu

200 µL'den daha yüksek miktarda CED kullanıldığında salınan indirgeyici şeker önemli ölçüde artmadı. Bu nedenle sonraki adımlarda 200 µL CED solüsyonları kullanıldı.

### 4.4. İmmobilizasyon Koşullarının Optimizasyonu

İmmobilizasyon verimliliğini etkileyen tampon çözeltinin pH ve derişimi, destek miktarı ve immobilizasyon süresi sırayla ayrı ayrı değiştirilmek suretiyle tayin edilerek optimum immobilizasyon koşulları belirlendi.



#### 4.4.1. İmmobilizasyon etkinliğinin tampon çözelti pH'sına bağlılığı

Tamponun pH değerinin immobilizasyon verimi üzerindeki etkisi Tablo 4.1'de verilmiştir. En yüksek immobilizasyon verimi (% 56.74) ve en yüksek aktivite verimi (% 86.70) CED'in optimum pH'sında (6.0) elde edilmiştir. Zaten iyi bilindiği üzere, immobilizasyonda genellikle maksimum aktivite verimine enzimin optimum pH değerinde ulaşılmaktadır (Katchalski-Katzir ve Kraemer, 2000). Bu sonuca göre sonraki aşamalarda immobilizasyon pH 6.0'da yapıldı.

**Tablo 4.1:** İmmobilizasyon etkinliğinin tampon çözelti pH'sına bağlılığı

Tampon Çözelti pH Değeri	Bağlanma Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)
4.0	56.74 ± 0.02	10.22 ± 0.05
5.0	53.09 ± 0.05	47.48 ± 0.04
6.0	49.54 ± 0.03	86.70 ± 0.03
7.0	47.00 ± 0.06	44.92 ± 0.05

#### 4.4.2. İmmobilizasyon etkinliğinin tampon çözelti derişimine bağlılığı

Tampon çözelti derişiminin immobilizasyon etkinliği üzerindeki etkisi Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi, immobilizasyon verimi artan derişimle artarken, aktivite verimi düşmektedir. Derişim 25 mM olduğunda immobilizasyon verimi % 49.54'ten % 60.82'ye yükselirken, aktivite verimi % 80.70'ten % 41.48'e inmiştir. Tuzların özellikleri ve derişimleri, genellikle enzimlerin immobilizasyonunda aktivite verimini etkileyebilir. Bunun sebebi, enzim moleküllerinin üç boyutlu yapılarının tuzlar tarafından değiştirilebilmesinden kaynaklanmaktadır (Smalla ve ark., 1988). Dolayısıyla, immobilizasyon için en uygun tampon derişiminin 25 mM olduğuna karar verilerek sonraki aşamalarda bu derişimde tampon çözelti kullanıldı.

#### 4.4.3. İmmobilizasyon etkinliğinin MWCNT-COOH miktarına bağlılığı

Tablo 4.3'te matriks miktarlarının aktivite ve immobilizasyon verimleri gösterilmiştir. Tabloya göre, en yüksek immobilizasyon verimi 50 mg matris

kullanımında görülmesine rağmen aktivite verimi (% 54.02) düşüktür. En uygun matriks miktarının % 86.70 aktive verimi elde edilen 10 mg olduğuna karar verilerek sonraki aşamalarda bu miktar kullanıldı.

#### 4.4.4. İmmobilizasyon etkinliğinin immobilizasyon süresine bağlılığı

Tablo 4.4'te görüldüğü gibi, en yüksek immobilizasyon verimi ve aktivite verimine 60 dakika süren immobilizasyon işlemine ulaşılmıştır. Çok iyi bilindiği gibi, bütün enzim moleküllerinin matrise bağlanması için yeterli zaman gerekmektedir.

İmmobilizasyon koşullarının optimizasyonu ile % 100 bağlanma verimi ve % 137.50 aktivite verimine ulaşıldı. CED'in immobilizasyonu, daha önce bazı araştırmacılar tarafından da çalışılmıştır. Literatürde yer alan daha önceki çalışmalarda elde edilen en yüksek aktivite verimi % 114.13'tür (Aslan ve Ghafour, 2021).

**Tablo 4.2:** İmmobilizasyon etkinliğinin tampon çözelti derişimine bağlılığı

Tampon Molaritesi (mM)	Bağlanma Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)
25	49.54 ± 0.03	86.70 ± 0.03
50	51.22 ± 0.04	82.64 ± 0.02
75	53.09 ± 0.03	59.12 ± 0.03
100	60.82 ± 0.05	41.48 ± 0.04

**Tablo 4.3:** İmmobilizasyon etkinliğinin MWCNT-COOH miktarına bağlılığı

c-MWCNT Kütlesi (mg)	Bağlanma Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)
10	49.54 ± 0.03	86.70 ± 0.03
20	60.29 ± 0.04	82.20 ± 0.02
30	64.75 ± 0.03	75.36 ± 0.04
40	68.49 ± 0.02	65.18 ± 0.05
50	74.68 ± 0.05	54.02 ± 0.04

**Tablo 4.4:** İmmobilizasyon etkinliğinin immobilizasyon süresine bağlılığı

İmmobilizasyon Süresi (Dakika)	Bağlanma Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)
10	49.54 ± 0.03	86.70 ± 0.03
20	70.94 ± 0.02	95.98 ± 0.05
40	74.00 ± 0.04	123.40 ± 0.04
60	100.00 ± 0.05	168.01 ± 0.03

Dolayısıyla, elde ettiğimiz verim, şimdiye kadar elde edilen en yüksek verimdir. MWCNT-COOH üzerine yüklü CED'in aktivite verimi (% 168.01) bentonit üzerine yüklü CED'in aktivite veriminden (% 41) daha yüksektir (Erhardt ve ark., 2007). Bashari ve ark.'nın (2014) çalışmasında CED'nin Ca-aljinat jelleri üzerinde immobilizasyonunda (% 90) bağlanma verimi ve (% 93) aktivite artışı elde etmiştir. MWCNT-COOH üzerinde immobilize edilen CED (% 100) immobilizasyon verimi ve (% 168.01) aktivite artışı elde edilmiştir. Bundan dolayı çalışmamızda elde ettiğimiz immobilizasyon verimi daha önce yapılan bu iki çalışmada elde edilen verimden daha yüksektir. Bu yüksek verim, proteinler için MWCNT-COOH'in doğal afinitesinin bir sonucu olabilir (Saifuddin ve ark., 2013).

#### 4.5. Serbest ve İmmobilize CED'in Karakterizasyonu

##### 4.5.1. Optimal pH

Şekil 4.3'e göre CED'nin optimal pH'sı immobilizasyon sonucu 5.0'dan 6.0'ya kaymıştır. Bu sonuç Bashari ve ark. (2014)'nin çalışmasıyla uyumludur. Benzer sonuçları ilgili literatürde görmek mümkündür. *Aspergillus oryzae*  $\beta$ -galaktozidazın optimum pH değeri, farklı membranlarla yapılan immobilizasyon işleminden önce 4.0 iken, bu değer immobilizasyon sonrasında 4.5-5.0 arasına kaymıştır (Zhang ve ark., 2017). ICED, 5.0 dışında test edilen pH değerlerinde FCED'den daha aktiftir.

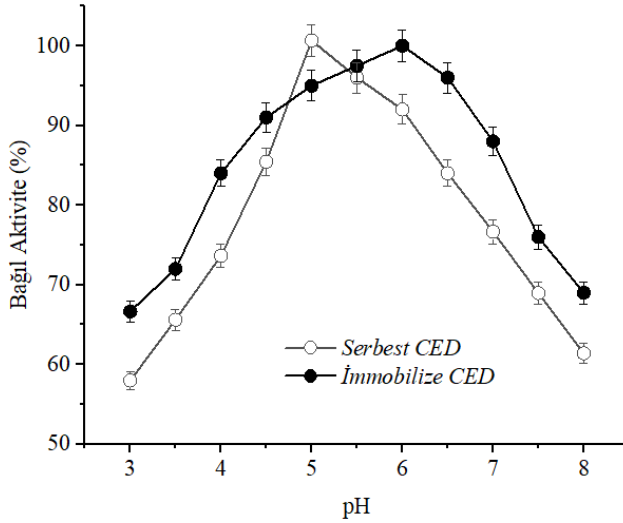
##### 4.5.2. Optimal sıcaklık

Sıcaklığın enzimin aktivitesine etkisi Şekil 4.4'te sunulan grafikte görülmektedir. Grafikte görüldüğü gibi, serbest enzim için 55 °C olan optimal sıcaklık immobilizasyon sonucu 50 °C'ye düşmüştür. Benzer sonuçlara

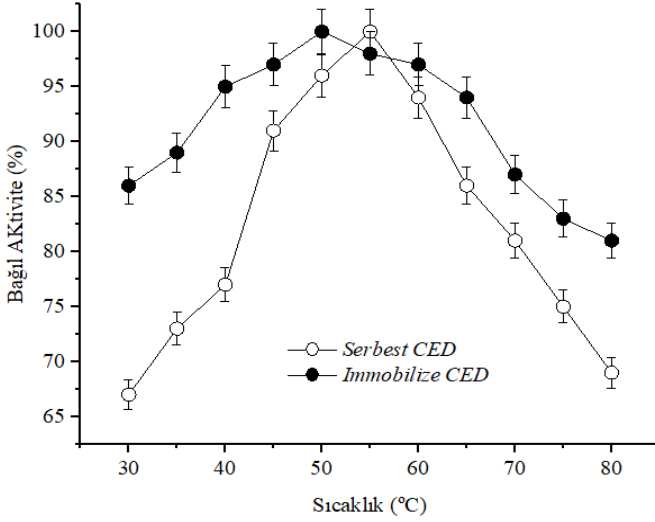
literatürde sıklıkla rastlanmaktadır. Optimal sıcaklığın düşmesi, endüstriyel üretimde enerji maliyetini azaltır (Cao, 2006; Guisan ve ark., 2013).

### 4.5.3. pH stabilitesi

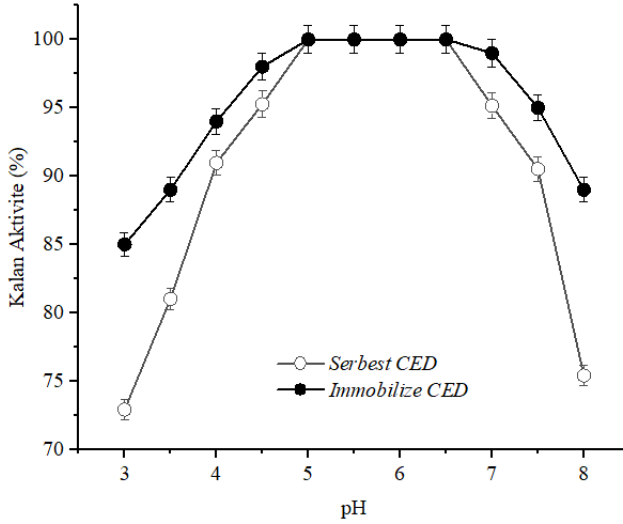
Şekil 4.5'te yer alan kalan aktivite-pH grafiğinde gösterildiği gibi, immobilize enzimin serbest her enzimden denenen bütün pH değerinde daha stabildir. İyi bilindiği üzere, immobilizasyon işlemi pH stabilitesini artırır (Cao, 2006; Guisan ve ark., 2013). Bu etki, enzim ile matris arasındaki bağlanma sonucu enzimin aktivitesinden sorumlu üç boyutlu yapının kuvvetlenmesinden kaynaklanmaktadır (Cabral ve ark., 1991; Cao, 2006; Guisan ve ark., 2013).



Şekil 4.3: pH değerinin serbest ve immobilize CED aktivitesine etkisi



Şekil 4.4: Sıcaklığın serbest ve immobilize CED aktivitesine etkisi



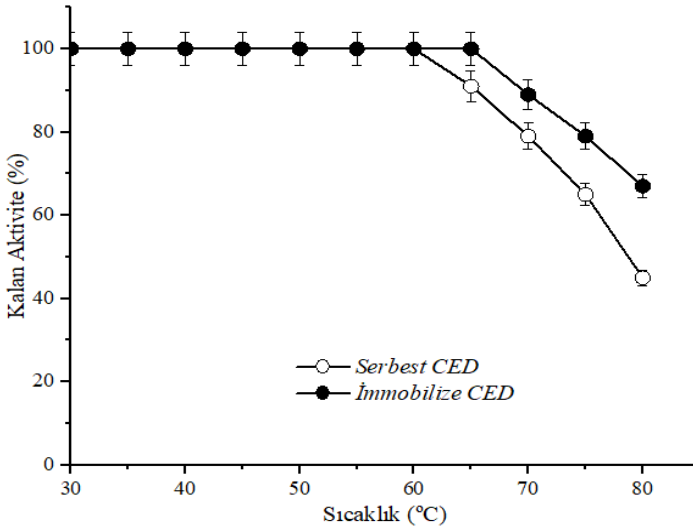
Şekil 4.5: Serbest ve immobilize CED'in pH stabilitesi

#### 4.5.4. Termal stabilite

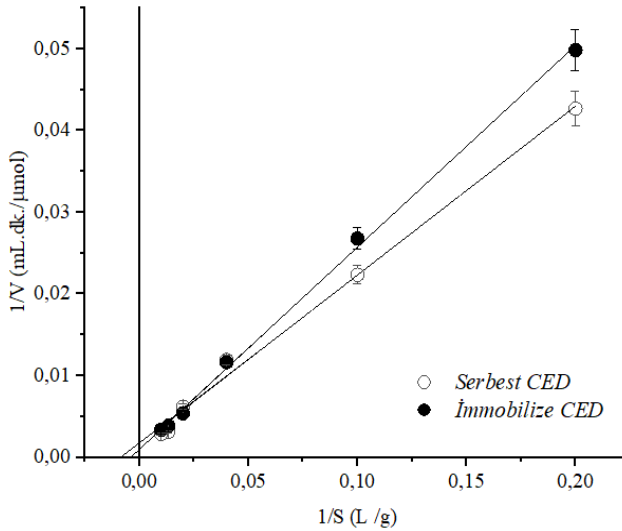
Şekil 4.6'da açıkça görüldüğü üzere, serbest enzim 65 °C'de aktivitesinin % 10'unu ve 80 °C'de % 60'ını kaybederken, immobilize enzim aynı sıcaklıklarda sırasıyla tamamını ve % 60'ını korumuştur. Bunun nedeni, immobilizasyon işleminin enzimin pH stabilitesini arttırdığı gibi termal stabilitesini de artırmasıdır (Cabral ve ark., 1991; Cao, 2006; Guisan ve ark., 2013).

#### 4.5.5. Kinetik sabitler

Serbest enzim ve immobilize enzimin kinetik sabitlerinin hesaplanması için Lineweaver-Burk grafiği kullanıldı. (Şekil 4.7).  $K_m$  değeri bir enzimin substratına olan ilgisini gösterir.



Şekil 4.6: Serbest ve immobilize CED termal stabilitesi

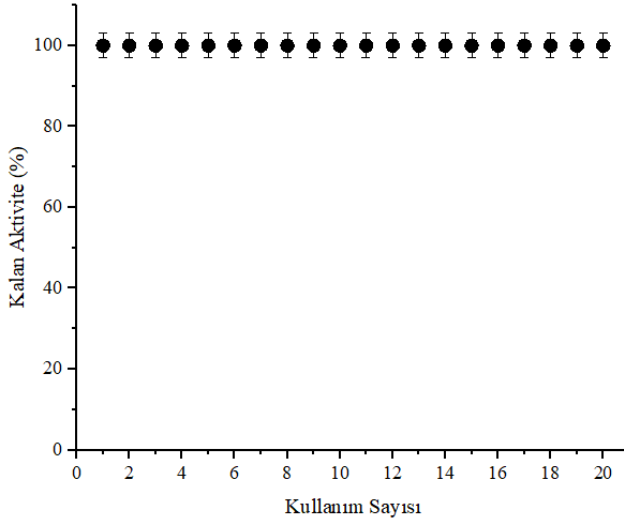


Şekil 4.7: Serbest ve immobilize CED'in Lineweaver Burk Grafiği

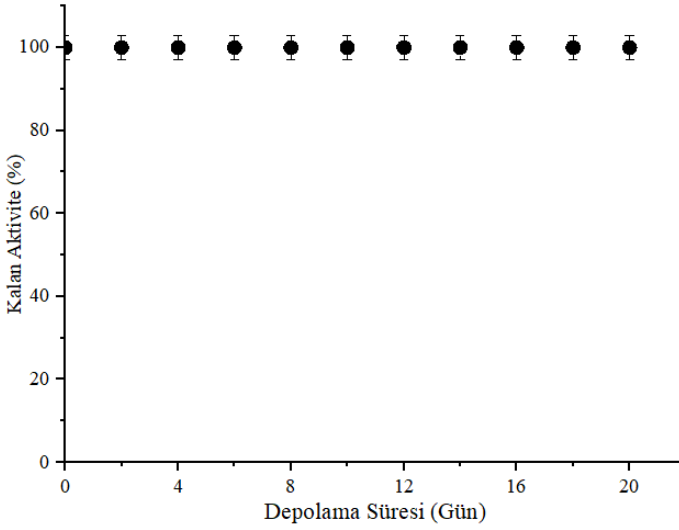
Afinite ve  $K_m$  ters orantılıdır.  $K_m$  değerinin düşmesi afinitenin yükselmesi demektir (Cao, 2006). Serbest enzimin  $K_m$  değeri 241.0 g/L ve  $V_{max}$  değeri 970.9  $\mu\text{mol} / \text{ml.dk}$  olarak hesaplanmıştır. İmmobilize enzimin  $K_m$  değeri 127.2 g/L ve  $V_{max}$  değeri 598.8  $\mu\text{mol} / \text{mL.dk}$  olarak hesaplanmıştır.

#### 4.5.6. ICED'in tekrar kullanılabilirliği ve depolama stabilitesi

Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da immobilize enzimin tekrar kullanılabilirliği ve depolama stabilitesi grafikleri sunulmuştur. Şekil 4.8'de görüleceği gibi 20 kez tekrarlanan kullanım sonunda immobilize enzimin aktivitesinde herhangi bir azalma olmamıştır. Şekil 4.9'da gösterildiği üzere ise, immobilize enzim 20 gün boyunca depolama koşullarında aktivitesini kaybetmemiştir.



Şekil 4.8: İmmobilize CED'in kullanım kararlılığı



**Şekil 4.9:** İmmobilize CED'in depolama kararlılığı

Bu sonuçlara göre bu tez çalışmasında elde edilen ICED'in yüksek bir tekrar kullanılabilirliğe ve depolama stabilitesine sahip olduğunu söyleyebiliriz.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Öncelikle immobilizasyon koşullarının optimizasyonu sonucunda % 100 immobilizasyon verimi ve % 168.01 aktivite verimi elde edilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen ICED'in sahip olduğu yüksek aktivite ile uzun süreli kullanım ve depolama kararlılığından dolayı endüstriyel uygulamalarda dekstranın parçalanması ve dekstrandın IMO üretimi için etkin olarak kullanılabilceği söylenebilir.

### 5.2. Öneriler

İlk olarak bu tezde elde edilen sonuçlar SCI indeksli dergilerde yayınlanabilir ve uluslararası kongrelerde sözlü bildiri olarak sunulabilir.

Bu tez çalışmasında geliştirilen CED'in MWCNT-COOH üzerinde immobilizasyonu için ulusal veya uluslararası patent enstitüsüne patent almak üzere başvurulabilir.



## TEŞEKKÜRLER

Yazarlar, bu çalışmada kullandıkları *Chaetomium erraticum* dekstranaz enzimini ücretsiz olarak göndermeleri için Bio-Cat (Troy, VA, USA) şirketine teşekkür ederler.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Naby, M. A., Ismail, A. M. S., Abdel-Fattah, A. M., & Abdel-Fattah, A. F. (1999). Preparation and some properties of immobilized *Penicillium funiculosum* 258 dextranase. *Process Biochemistry*, 34(4), 391-398.
- Aslan, Y., & Ghafour, B. I. (2021). Immobilization of *Chaetomium erraticum* dextranase (CED) by adsorption on carboxylated multi walled carbon nanotubes (c-MWCNT).
- Azevedo, R. A. M. (2014). *Immobilization of peroxidase on functionalized carbon nanotubes for synthesis of biocatalysts with high performance* (Master's thesis, Universidade do Porto (Portugal)).
- Bashari, M., Abbas, S., Xu, X., & Jin, Z. (2014). Combined of ultrasound irradiation with high hydrostatic pressure (US/HHP) as a new method to improve immobilization of dextranase onto alginate gel. *Ultrasonics sonochemistry*, 21(4), 1325-1334.
- Bhatia, S., Bhakri, G., Arora, M., Uppal, S. K., & Batta, S. K. (2010). Dextranase production from *Paecilomyces lilacinus* and its application for dextran removal from sugarcane juice. *Sugar Tech*, 12, 133-138.
- Bhatia, S., Bhakri, G., Arora, M., Batta, S. K., & Uppal, S. K. (2016). Kinetic and thermodynamic properties of partially purified dextranase from *Paecilomyces lilacinus* and its application in dextran removal from cane juice. *Sugar tech*, 18, 204-213.
- Bingöl, G. (1977), Vitaminler ve Enzimler, 46, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara, 41-44.
- Bradford, M. 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
- Brown, C.F., & Inkerman, P. A. (1992). Ham şekerin toplam dekstran içeriğinin kantitatif ölçümü için özel yöntem, *Tarım ve Gıda Kimyası Dergisi*, 40(2), 227-233.
- Cabral, J. M., & Kennedy, J. F. (1991). Covalent and coordination immobilization of proteins, *Bioprocess technology*, 14, 73-138.
- Cao, L. (2006). Introduction: immobilized enzymes: past, present and prospects, In: Cao, L. (ed.), *Carrier-bound immobilized enzymes*, Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH Co. KGaA.

- Chui, W. K., & Wan, L. S. C. (1997). Prolonged retention of cross-linked trypsin in calcium alginate microspheres. *Journal of Microencapsulation*, 14(1), 51-61.
- Compton, R. G., Wildgoose, G. G., & Wong, E. L. (2009). Carbon nanotube-based sensors and biosensors. *Biosensing Using Nanomaterials*, 1-38.
- Donaldson, K., Aitken, R., & Tran L. (2006). Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. *Toxicological Sciences*, 92, 15-22.
- Drevon, G. F., Danielmeier, K., Federspiel, W., Stolz, D. B., Wicks, D. A., Yu, P. C., & Russell, A. J. (2002). High-activity enzyme-polyurethane coatings. *Biotechnology and Bioengineering*, 79(7), 785-794.
- Rodriguez, B. A., Trindade, E. K., Cabral, D. G., Soares, E. C., Menezes, C. E., Ferreira, D. C., ... & Dutra, R. F. (2015). Nanomaterials for advancing the health immunosensor. *Biosensors-Micro and Nanoscale Applications*, 1, 347-373.
- Eggleston, G., & Monge, A. (2005). Optimization of sugarcane factory application of commercial dextranases. *Process Biochemistry*, 40(5), 1881-1894.
- Eggleston, G., Monge, A., Montes, B., & Stewart, D. (2009). Application of dextranases in sugarcane factory: Overcoming practical problems. *Sugar Tech*, 11, 135-141.
- El-Tanash, A. B., El-Baz, E., & Sherief, A. A. (2011). Properties of *Aspergillus subolivaceus* free and immobilized dextranase. *European Food Research and Technology*, 233, 735-742.
- Erhardt F., Stammen S., & Jördening J. H. (2008). Production, characterization and (co-) immobilization of dextranase from *Penicillium aculeatum*. *Biotechnology Letters*, 30, 1069-1073.
- Erhardt, F. A., & Jördening, H. J. (2007). Immobilization of dextranase from *Chaetomium erraticum*. *Journal of Biotechnology*, 131(4), 440-447.
- Esawy, M. A., Mansour, S. H., Ahmed, E. F., Hassanein, N. M., & El Enshasy, H. A. (2012). Characterization of extracellular dextranase from a novel halophilic *Bacillus subtilis* NRC-B233b a mutagenic honey isolate under solid state fermentation. *Journal of Chemistry*, 9(3), 1494-1510.
- Fadıloğlu, S., & Erkmen, O. (2004). Gıda sanayiinde enzimlerin önemi. *Gıda*, 29(5), 393-400.
- Feng, W., & Ji, P. (2011). Enzymes immobilized on carbon nanotubes. *Biotechnology advances*, 29(6), 889-895.

- Foukia, E. M., Karam, E. A., & Hassan, H. M. (2016). Dextranase. *Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences in Egypt*, 60014618.
- Garlet, T. B., Weber, C. T., Klaic, R., Foletto, E. L., Jahn, S. L., Mazutti, M. A., & Kuhn, R. C. (2014). Carbon nanotubes as supports for inulinase. *Immobilization. Molecules*, 19, 14615-14624.
- Gericke, B., Amiri, M., & Naim, H. Y. (2016). The multiple roles of sucrase-isomaltase in the intestinal physiology. *Molecular and cellular pediatrics*, 3, 1-6.
- Gibriell, A. Y., Amin, A. A., Yassien, N. M., El Banna, H. A., & Khaled, F. M. (2014). Immobilization techniques for *P. aculeatum* dextranase. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3, 1114-1134.
- Goffin, D., Delzenne, N., Blecker, C., Hanon, E., Deroanne, C., & Paquot, M. (2011). Will isomalto-oligosaccharides, a well-established functional food in Asia, break through the European and American market? The status of knowledge on these prebiotics. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(5), 394-409.
- Guisan, J. M. (2013). New opportunities for immobilization of enzymes. *Immobilization of Enzymes and Cells*, Third ed., Totowa, NJ, Humana, 1-15.
- Hild, E., Brumbley, S. M., O'Shea, M. G., Nevalainen, H., & Bergquist, P. L. (2007). A *Paenibacillus* sp. dextranase mutant pool with improved thermostability and activity. *Applied microbiology and biotechnology*, 75, 1071-1078.
- Huang, H., Hu, N., Zeng, Y., & Zhou, G. (2002). Electrochemistry and electrocatalysis with heme proteins in chitosan biopolymer films. *Analytical Biochemistry*, 308(1), 141-151.
- Huang, R., Zhong, L., Xie, F., Wei, L., Gan, L., Wang, X., & Liao, A. (2019). Purification, characterization and degradation performance of a novel dextranase from *Penicillium cyclopium* CICC-4022. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1360.
- Iijima, S., & Ichihashi, T. (1993). Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *nature*, 363(6430), 603-605.
- Jamie, A., Alshami, A. S., Maliabari, Z. O., Ali Ateih, M., & Al Hamouz, O. C. S. (2016). Immobilization and enhanced catalytic activity of lipase on modified MWCNT for oily wastewater treatment. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 35(5), 1441-1449.

- Janson, J. C. (1975). Studies on dextran-degrading enzymes. Isolation and identification of a dextranase-producing strain of *Cytophaga johnsonii* and studies on the formation of the surface-bound enzyme. *Microbiology*, 88(2), 205-208.
- Jiang, K., Schadler, L. S., Siegel, R. W., Zhang, X., Zhang, H., & Terrones, M. (2004). Protein immobilization on carbon nanotubes via a two-step process of diimide-activated amidation. *Journal of Materials Chemistry*, 14(1), 37-39.
- Katchalski-Katzir, E., & Kraemer, D. M. (2000). Eupergit C, a carrier for immobilization of enzymes of industrial potential. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 10, 157-176.
- Khalikova, E., Susi, P., & Korpela, T. (2005). Microbial Dextran-Hydrolyzing Enzymes: Fundamentals and Applications. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69, 306-325.
- Khalikova, E., Susi, P., Usanov N., & Korpela, T. (2003). Purification and properties of extracellular dextranase from a *Bacillus* sp. *Journal of Chromatography B*, 796(2), 315-326.
- Kim, Y.-M., & Kim, D. (2010). Thermotoga letae TMO'dan yeni termostabil dekstranazın karakterizasyonu. *Mikrobiyoloji Biyoteknoloji*, 85, 581-587.
- Kim, Y. M., Kiso, Y., Muraki, T., Kang, M. S., Nakai, H., Saburi, W., & Kimura, A. (2012). Sikloizomaltooligosakkarit oluşumunu katalize eden yeni dekstranaz ve katalitik amino asitlerin ve bunların fonksiyonlarının kimyasal kurtarma yaklaşımı kullanılarak tanımlanması *Biyolojik Kimya Dergisi*, 287(24), 19927-19935.
- Klibanov, A. M. (1983). Immobilized enzymes and cells as practical catalysts. *Science*, 219, 722-727.
- Koenig, D., & Day, D. (1989). The purification and characterization of a dextranase from *Lipomyces starkeyi*. *The FEBS Journal*, 183(1), 161-167.
- Leisola, M., Jokela, J., Finell, J., & Pastinen, O. (2001). Simultaneous catalysis and product separation by cross-linked enzyme crystals. *Biotechnology and Bioengineering*, 72, 501-505.
- Mahmoud, K. F., Gibriel, A. Y., Amin, A. A., Nessrien, M. N., Yassien N. M., & El Banna, H. A. (2014). Microbial production and characterization of dextranase. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(9), 1095-1113.

- Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428.
- Mizushima, D., Miyazaki, T., Shiwa, Y., Kimura, K., Suzuki, S., Fujita, N., ... & Funane, K. (2019). A novel intracellular dextranase derived from *Paenibacillus* sp. 598K with an ability to degrade cycloisomaltooligosaccharides. *Applied microbiology and biotechnology*, 103, 6581-6592.
- Nawaz, A.F., Zafar, S., Fatim, S.L., Shahzadi, K., Fatima, Z., & Siddique, I. (2021). Use of nanomaterials for the immobilization of industrially important enzymes. *Journal of Nanotechnology Research*, 4, 45-57.
- Netsopa, S., Niamsanit, S., Araki, T., Kongkeitkajorn, M. B., & Milintawisamai, N. (2019). Purification and characterization including dextran hydrolysis of dextranase from *Aspergillus allahabadii* X26. *Sugar Tech*, 21, 329-340.
- Novick, S.J. , & Rozzell, J. D. (2005). Enzimlerin kovalent bağlanma yoluyla immobilizasyonu. *Mikrobiyal Enzimler ve Biyotransformasyonlar*, 247-271.
- Park, T. S., Jeong, H. J., Ko, J. A., Ryu, Y. B., Park, S. J., Kim, D. M., ... & Lee, W. S. (2012). Biochemical characterization of thermophilic dextranase from a thermophilic bacterium, *Thermoanaerobacter pseudethanolicus*. *Journal of microbiology and biotechnology*, 22(5), 637-641.
- Pavlidis, I. V., Tsoufis, T., Enotiadis, A., Gournis, D., & Stamatis, H. (2010). Functionalized multi-wall carbon nanotubes for lipase immobilization. *Advanced Engineering Materials*, 12(5), B179-B183.
- Pulkownik, A., & Walker, G. J. (1977). Purification and substrate specificity of an endo-dextranase of *Streptococcus mutans* K1-R. *Carbohydrate Research*, 54(2), 237-251.
- Purushe, S., Prakash, D., Nawani, N. N., Dhakephalkar, P., & Kapadnis, B. (2012). Biocatalytic potential of an alkalophilic and thermophilic dextranase as a remedial measure for dextran removal during sugar manufacture. *Bioresource technology*, 115, 2-7
- Rastian, Z., Khodadadadi, A., Vahabzade, F., & Mortazavi, Y. (2013). Functionalization of multi-walled carbon nanotubes for lipase immobilization. *The Journal of MacroTrends in Technology and Innovation*, 1, 65-71.
- Rastian, Z., Khodadadi, A. A., Vahabzadeh, F., Bortolini, C., Dong, M., Mortazavi, Y., ... & Guo, Z. (2014). Facile surface functionalization of multiwalled carbon nanotubes by soft dielectric barrier discharge

- plasma: Generate compatible interface for lipase immobilization. *Biochemical engineering journal*, 90, 16-26.
- Read, G., & Thorn, J. A. (1971). Enzymes, in Wheat: Chemistry and technology. Eds. Y. Pomeranz, *American Association of Cereal Chemists*, Minnesota.
- Saifuddin, N., Raziah, A. Z., & Junizah, A. R. (2013). Carbon nanotubes: a review on structure and their interaction with proteins. *Journal of Chemistry*, 676815, 1-18.
- Salassi, M. E., Garcia, M., Breaux, J. B., & No, S. C. (2004). Impact of sugarcane delivery schedule on product value at raw sugar factories. *Journal of Agribusiness*, 22(1), 61-75.
- Seyderhelm, I., Boguslawski, S., Michaelis, G., & Knorr, D. (1996). Pressure induced inactivation of selected food enzymes. *Journal of Food Science*, 61(2), 308-310.
- Shahid, F., Aman, A., Pervez, S., & Ul Qader, S. A. (2019). Degradation of long chain polymer (Dextran) using thermostable dextranase from hydrothermal spring isolate (*Bacillus megaterium*). *Geomicrobiology Journal*, 36(8), 683-693.
- Singh, R. S. Chauhan K., & Kennedy, J.F. (2019). Fructose production from inulin using fungal inulinase immobilized on 3-aminopropyl-triethoxysilane functionalized multiwalled carbon nanotubes. *International journal of biological macromolecules*, 125, 41-52.
- Smalla, K., Turkova, J., Coupek, J., & Hermann, P. (1988). Influence of Salts on the Covalent Immobilization of Proteins to Modified Copolymers of 2-Hydroxyethyl Methacrylate with Ethylene Dimethacrylate. *Biotechnology and applied biochemistry*, 10(1), 21-31.
- Keun, J. S., Rae, C. Y., Moon, Y. J., Won, C. B., & Garp, R. K. (2005). Immobilization of glucose oxidase on multi-wall carbon nanotubes for biofuel cell applications. *Journal of microbiology and biotechnology*, 15(2), 234-238.
- SUGIURA, M., & Ito, A. (1974). Studies on dextranase. III. Action patterns of dextranase from *Penicillium funiculosum* on substrate and inhibition on hydrolysis reaction by substrate analogues. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 22(7), 1593-1599.
- Tosa, T., Mori, T., Fuse, N., & Chibata, I. (1966). Studies on continuous enzyme reactions. I. Screening of carriers for preparation of water-insoluble aminoacylase. *Enzymologia*, 31(4), 214-224.

- Virgen-Ortiz, J. J., Ibarra-Junquera, V., Escalante-Minakata, P., Ornelas-Paz, J. D. J., Osuna-Castro, J. A., & González-Potes, A. (2015). Kinetics and thermodynamic of the purified dextranase from *Chaetomium erraticum*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 122, 80-86.
- Wang, Q., Zhou, L., Jiang, Y., & Gao, J. (2011). Improved stability of the carbon nanotubes-enzyme bioconjugates by biomimetic silicification. *Enzyme and microbial technology*, 49(1), 11-16.
- Wei, W., Sethuraman, A., Jin, C., Monteiro-Riviere, N. A., & Narayan, R. J. (2007). Biological properties of carbon nanotubes. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7(4-5), 1284-1297.
- Wiseman, A. (1987). Handbook of Enzymes Biotechnology, Second Edition, Chapter 3. The Application of Enzymes in Industry p. *John Wiley & Sons, Chichester*, 274-373.
- Wu, D. T., Zhang, H. B., Huang, L. J., & Hu, X. Q. (2011). Purification and characterization of extracellular dextranase from a novel producer, *Hypocrea lixii* F1002, and its use in oligodextran production. *Process Biochemistry*, 46(10), 1942-1950.
- Zhang, Y. Q., Li, R. H., Zhang, H. B., Wu, M., & Hu, X. Q. (2017). Purification, characterization, and application of a thermostable dextranase from *Talaromyces pinophilus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 44(2), 317-327.
- Zniszczoł, A., Herman, A. P., Szymańska, K., Mrowiec-Białoń, J., Walczak, K. Z., Jarzębski, A., & Boncel, S. (2016). Covalently immobilized lipase on aminoalkyl-, carboxy- and hydroxy-multi-wall carbon nanotubes in the enantioselective synthesis of Solketal esters. *Enzyme and microbial technology*, 87, 61-69.
- Zohra, R. R., Aman, A., Ansari, A., Haider, M. S., & Qader, S. A. U. (2015). Purification, characterization and end product analysis of dextran degrading endodextranase from *Bacillus licheniformis* KIBGE-IB25. *International journal of biological macromolecules*, 78, 243-248.





## BÖLÜM 14

### **CHAETOMIUM ERRATICUM DEKTRANAZ ENZİMİNİN ÇOK DUVARLI AMİNO KARBON NANO TÜPLER İLE İMMOBİLİZASYONU**

Semra ÖZDEMİR<sup>1</sup>

Doç. Dr. Yakup ASLAN<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.14566741>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye, semra0130@gmail.com Orcid ID: 0000-0003-0623-9138

<sup>2</sup> Siirt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Siirt, Türkiye. dr\_yakup@siirt.edu.tr , Orcid ID: 0000-0001-9668-9559

\*Bu kitap bölümü 1. yazarın ‘**Chaetomium erraticum Dekstranaz Enziminin Amino Grubu İle Fonksiyonelleştirilmiş Çok Duvarlı Karbon Nano Tüpler Üzerine Adsorpsiyon Yöntemi ile İmmobilizasyonu**’ başlıklı yüksek lisans tez eserinin bir kısmından özetlenmiştir.



## GİRİŞ

Dekstranazlar (EC3.2.1.11), dekstranın  $\alpha$ -1,6-bağlarını rastgele hidrolize ederek çeşitli boyutlarda izomaltooligosakkaritler (IMO'ler) ortaya çıkarırlar (Khalikova ve ark., 2005). Glukoz oluşumu nadir bir durum; bunun yerine büyük dekstran bileşenleri, dekstranaz molekülleri ile artan temas nedeniyle daha küçük olanlardan daha kolay parçalanır. IMO'lar, şeker endüstrisi, ilaç üretimi ve diş hekimliği gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

İlk defa 1953 yılında yayınlanan immobilize enzimlerin önemi o günden günümüze giderek artmış ve enerji tüketimini azaltmaya yönelik arayışın devam etmesi immobilize enzimlerin endüstriyel uygulamalarda kullanımını yaygınlaştırmıştır. Hapsetme, çapraz bağlanma, kovalent bağlama ve adsorpsiyon gibi yöntemler ile enzimler immobilize edilmektedir. Adsorpsiyon, en basit ve uygun taşıyıcı kullanıldığı durumlarda ucuz bir immobilizasyon metodudur (Kasavi, 2006).

Karbon nanotüpler (CNT) daha yüksek spesifik yüzey alanına sahip olduğu için enzimler daha yüksek miktarlarda bağlanabilirler. MWCNT ile enzim immobilizasyon çalışmalarında serbest enzime göre çok yüksek aktivite artışı rapor edildiğinden, bu çalışmada CED'in MWCNT-NH<sub>2</sub> ile immobilizasyonunda, önceki çalışmalardakilerden daha yüksek aktivite verimi elde etme ihtimali vardır. Bu nedenle, bu çalışmada CED'nin MWCNT-NH<sub>2</sub> üzerinde adsorpsiyon koşulları optimize edilerek, yüzde yüz oranında bağlanma verimi ve önceki çalışmalardakilerden daha yüksek aktivite verimi elde edilmesi amaçlandı.

## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

### 2.1. Dekstranazlar

Dekstranaz (EC3.2.1.11) dekstran zincirindeki  $\alpha$ -1,6 glikozidik bağı hidrolize eder (Sankpal ve ark., 2001). Dekstranazlar, şeker üretiminin verimliliğini artırmak amacıyla şeker fabrikalarında dekstranın hidrolize edilmesi için kullanılan enzimlerdir (Eggleston ve ark., 2005; Purushe ve ark., 2012). Ayrıca dekstrandandan prebiyotik özellikler gösteren izomaltooligosakkaritlerin (IMO) üretiminde de kullanılmaktadırlar (Goffin ve ark., 2011; Gericke ve ark., 2016). Gıda endüstrisinde bu amaçlarla yaygın olarak kullanılan dekstranazlardan birisi de CED'dir (Erhardt ve Jördening, 2007; Gibriel ark., 2014).

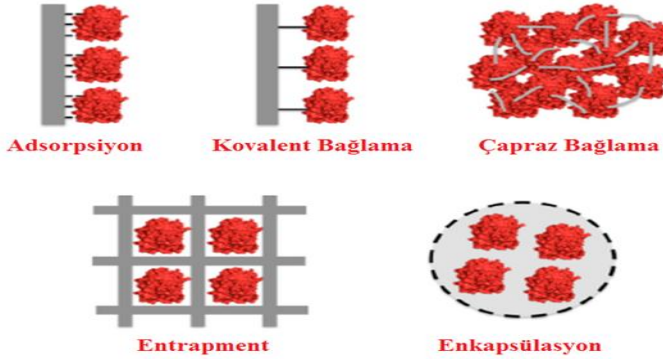
Enzimler yüzyıllardan beri gıda endüstrisinde kullanılmaktadırlar. Biyoteknolojideki gelişmeler sayesinde günümüzde ilaç ve kimya endüstrilerinde de geniş uygulama alanları bulmuşlardır.

Gıdaların işlenmesi ve analizi için enzimlerin immobilizasyonu büyük enzimlerin daha verimli kullanılmasını sağlar ve endüstriyel uygulamalarda büyük avantajlar sunar (Khan ve Alzohairy, 2010).

İmmobilize enzim kullanımının reaksiyon ortamından basit yöntemlerle ayrılabilme, uç pH'lara karşı daha artan stabilite, sürekli proseslerde kullanılabilme, yüzlerce kez tekrar kullanılabilirlik, uzun raf ömrü, ürün maliyetini düşürme, saf ürün eldesi, enantiyomerlerin seçici olarak sentezi ve ürün inhibisyonunu önleme gibi önemli avantajları vardır.

## 2.2. Enzim İmmobilizasyon Yöntemleri

Adsorbsiyon, entrapment, enkapsülasyon, çapraz bağlanma ve kovalent bağlama (Şekil 2.1) şeklinde dört temel immobilizasyon yöntemi bulunmakta olup, yöntem tercih edilirken kullanılacak olan enzim ve matrisin yapıları, uygulanacak işlemler dikkate alınarak en uygun metod seçilir. Kullanılan matrisin yapısına ve tercih edilen immobilizasyon metoduna bağlı olarak immobilize enzimler serbest enzimlere göre optimum aktivite koşulları ve ürün bileşimlerinde farklılıklar gösterebilirler.



Şekil 2.1. Enzim immobilizasyon yöntemleri

Adsorbsiyon metodu, zayıf çekim kuvvetleri ile enzim moleküllerinin bir matrise bağlanmasıdır. Adsorbsiyon oldukça basit ve ekonomik bir immobilizasyon yöntemidir. Enzimle matris arasında van der Waals bağları ve hidrojen bağları gibi zayıf bağlar oluşur ve böylece enzimler matristen

kolaylıkla ayrılabilirler. Adsorpsiyon, immobilize enzimin yapısal konformasyonunun korunması ve katalitik aktivite kaybının önlenmesine yardımcı olması nedeniyle kovalent immobilizasyondan daha üstün bir yaklaşımdır (Nawaz ve ark., 2021).

### **2.3. CED'in immobilizasyonu ile ilgili Önceki çalışmalar**

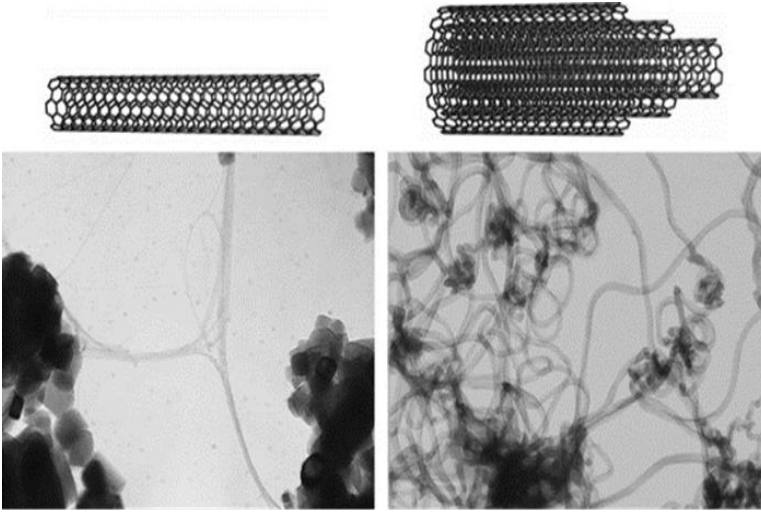
Yaptığımız araştırmada CED'in immobilizasyonu ile ilgili çok az sayıda çalışma olduğunu gözlemledik. Erhardt ve ark. (2007) tarafından yapılan ilk çalışmada, CED çeşitli matrisler kullanılarak adsorpsiyon ve kovalent bağlama yöntemleri ile immobilize edilmiş ve en yüksek aktivite verimi (% 41) Eupergit C250L ile elde edilmiş ancak bu çalışmada kullanım ve depolama kararlılığı çalışılmamıştır. Yapılan ikinci çalışmada, CED Bashari ve ark. (2014) tarafından Ca-Aljinat jelleri içerisinde % 65 immobilizasyon ve % 70 aktivite verimi ile immobilize edilmiş, ancak immobilize enzim 6 kullanım sonunda aktivitesinin % 80'ini kaybetmiştir. Yapılan son çalışmada, Aslan ve Ghafour (2021), CED'i karboksile çok duvarlı karbon nanotüper üzerine % 100 bağlanma ve % 114.15 aktivite verimi ile immobilize etmişler ve immobilize enzim tekrarlanan 20 kullanım ve 30 günlük depolama süresince başlangıç aktivitesini korumuştur.

### **2.4. Enzim İmmobilizasyon Matrisi Olarak Karbon Nanotüpler (CNT)**

İlk çalışmanın yayınlanmasından sonra, karbon CNT'ler, enzim immobilizasyonu ve diğer çok sayıda farklı alanlarda çalışan bilim adamlarının dikkatini çekmiştir (Iijima ve ark., 1993). MWCNT'lerin diğer karbon nanomalzemelere göre mekanik ve yapısal üstünlükleri, onları enzim immobilizasyonu için en güçlü aday haline getirmiştir (Singh ve ark., 2019). Şekil 2.2'de görüldüğü gibi, CNT'ler tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT'ler) ve çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT'ler) şeklinde iki gruba ayrılmıştır (Compton ve ark., 2009; Feng ve ark., 2011; Garlet ve ark., 2014;).

SWCNT'ler, dış çapı 0.7 nm ve tek atom kalınlığına sahip haddelenmiş tek grafen tabakası tüplerinden oluşmuşken, 15 nm dış çapındaki ve onlarca mikrometre boyundaki MWCNT'ler iç içe geçmiş birden fazla SWCNT'den oluşmuştur ve (Saifuddin ve ark., 2013). SWCNT'ler geniş yüzey alanları nedeniyle, daha yüksek enzim yükleme kapasitesi için tercih edilirken MWCNT'ler, düşük maliyetleri ve daha yüksek dağılıma katsayıları sebebiyle

tercih edilmektedirler (Huang ve ark., 2002). Enzimler, CNT'ler üzerine kovalent bağlama ve adsorpsiyon yöntemleriyle immobilize edilmiştir. Aktivite için gerekli olan optimum enzim konformasyonu adsorpsiyonda korunmaktadır, fakat enzim moleküllerinin matristen kolayca ayrılabilmesi nedeniyle aktivitenin zaman içerisinde azalması endüstrideki uygulamalarda önemli bir dezavantajdır. Ancak, CNT proteinlere karşı afiniteleri doğal olarak yüksek olduğu için adsorpsiyon yöntemi ile enzim immobilizasyonunda bile aktivite kaybı diğer matrislere göre çok azdır (Saifuddin ve ark., 2013).



**Şekil 2.2.** SWCNT (sol üst) ve MWCNT (üst sağ)'nin moleküler gösterimleri ve tipik transmisyon elektron mikrografları (aşağıda) (Donaldson ve ark., 2006) (Oxford University Press'in izniyle)

CNT'lerin enzim immobilizasyonunda daha yüksek enzim bağlama kapasitesi, makromoleküllü substratlar veya ürünler için daha az difüzyon kısıtlaması, yüksel ısıl stabilite ve artan aktivite, yüksek yeniden kullanılabilirlik ve daha uzun depolanabilirlik, yüksek mekanik stabilite ve yenilenebilirlik gibi avantajları vardır.

## **2.5. Çok Duvarlı Amino Karbon Nanotüpler ile Enzim Immobilizasyonu**

MWCNT-NH<sub>2</sub>'lerin enzim immobilizasyonunda kullanıldığı bir kaç çalışma bulunmaktadır (Tasviri ve ark., 2012; Verma ve ark., 2013; Rastian

ve ark., 2013; Mohiuddin ve ark., 2014; Zniszczoł ve ark., 2016; Singh ve ark., 2019).

C-MWCNT ile yapılmış enzim immobilizasyonu çalışmalarında aktivite verimi genellikle yüksek olmakla beraber, bazı çalışmalarda 5 kat (Jamie ve ark., 2016) ve 12 kat (Zniszczoł ve ark., 2016) artışı elde edilmiştir. Bu nedenle bu tez çalışmasında CED'nin MWCNT-NH<sub>2</sub> ile immobilizasyonunda adsorpsiyon koşulları optimize edilerek, önceki çalışmalardakilerden daha yüksek aktivite verimi elde edilmeye çalışılacaktır.

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyaller**

*Chaetomium erraticum* dekstranaz, Bio-Cat (Troy, VA, ABD) tarafından hediye olarak temin edilmiş. Karbon nanotüpler (Adnano Technologies Private Limited, India) firmasından, Dextran T70, Carl Roth GmbH-Co'dan, UV-VIS Spektrometresi (VWR International GmbH, UV-6300PC, Austria) firmasından, pH metre ve magnetik karıştırıcı (Isolab, Turkey) firmasından, Saf su cihazı (MDM, Mini Pure 1, MDM-0170) firmasından, hassas terazi (Mettler Toledo, ME 403) firmasından, Sığır Serum Albümini (BSA), sodyum hidroksit, sodyum dihidrojen fosfat, hidroklorik asit, sodyum sülfid, fenol ve D-glikoz, Sigma-Aldrich'ten (Taufkirchen, Almanya) 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS), Alfa Aesar'dan (Kandel, Almanya)'dan Sodyum potasyum tartrat (Rochelle tuzu), VWR Prolabo Chemicals'dan (Leuven Belgium). Sodyum azid Merck Millipore'dan (Darmstadt, Almanya) satın alınmıştır.

#### **3.2. Metotlar**

##### **3.2.1. Protein (enzim) tayini**

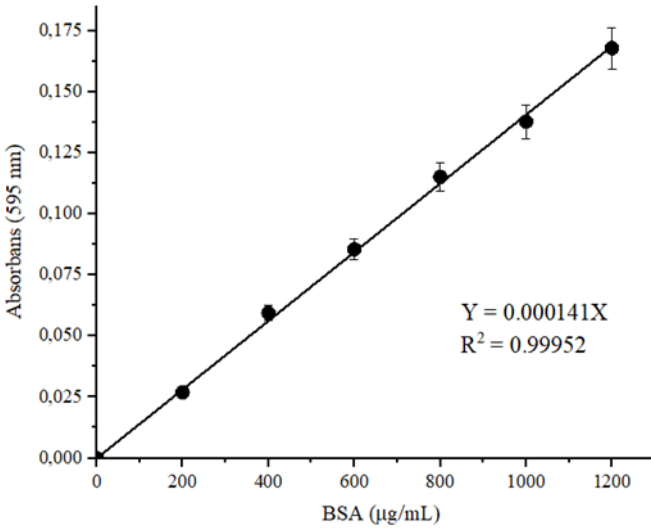
İmmobilizasyon öncesi ve sonrası immobilizasyon çözeltilerindeki ve immobilizasyon süzüntülerdeki enzim derişimleri UV-VIS Spektrometresi kullanılarak tayin edildi (Bradford, 1976). 595 nm dalga boyunda ölçülen absorbanslar kullanılarak oluşturulan standart grafiğine (Şekil 3.1) ait doğru deklemine (3.1) göre hesaplandı.

##### **3.2.2. Dekstranaz aktivitesinin tayini**

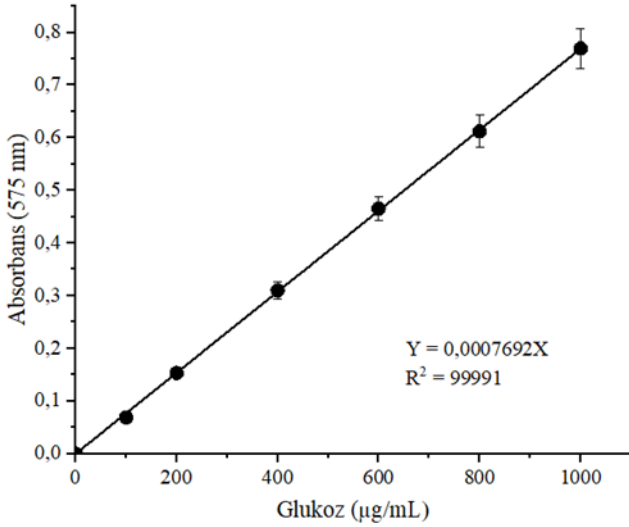
% (ağırlık/hacim) 1'lik 5 mL dekstran solüsyonları (pH 5.5) 200 µL serbest veya 96.7 mg immobilize enzim ile 55 °C'deki 150 rpm çalkalama hızı



ile çalkalanan orbital çalkalayıcı ısıtmalı inkübatörde 10 dakika süreyle reaksiyona sokuldu. Reaksiyon karışımlarından alınan 200'er µL numuneler 1800 µL distile suya ilave edilerek kaynar suda 10 dk tutularak numunelerdeki enzimler inaktive edildi. Daha sonra, oluşan indirgen şeker derişimleri, DNS metoduna göre (Miller, 1959) UV spektrofotometre ile 575 nm'de ölçülen absorbansları kullanılarak çizilen Şekil 3.2'deki D-Glukoz standart grafiğine ait doğru denklemi (3.2) ile hesaplandı. Bir IU CED aktivitesi, standart koşullarda, 5 mL % (w/v) 1'lik dekstran çözeltisinde 1 dakikada 1 µmol D- glukoz oluşturan enzim miktarı (mg) olarak tanımlandı. CED aktivitesi 3.3 eşitliğinden hesaplandı.



Şekil 3.1. BSA standart grafiği



Şekil 3.2. Glukoz standart grafiği

$$Y = 0.000141X \quad (3.1)$$

$$Y = 0.0007692X \quad (3.2)$$

$$\text{Aktivite } (\mu\text{mol/mg.dk}) = \frac{\text{İndirgen şeker } (\mu\text{mol})}{\text{Kullanılan enzim (mg)} \times \text{reaksiyon süresi (dk)}} \quad (3.3)$$

### 3.2.3. İmmobilizasyon verimi ve aktivite veriminin hesaplanması

İmmobilizasyon çözeltileri ve süzüntülerdeki enzim miktarları kullanılarak immobilizasyon bağlanma verimi ve immobilizasyon aktivite verimi Aslan ve Ömerosmanoğlu (2018)'nin metoduna göre sırasıyla denklem (3.4) ve denklem (3.5) kullanılarak hesaplandı.

$$\text{İmmobilizasyon Verimi (\%)} = \frac{\text{İmmobilizasyonda kullanılan enzim - Süzüntüdeki enzim}}{\text{İmmobilizasyonda kullanılan enzim}} \times 100 \quad (3.4)$$

$$\text{Aktivite Verimi (\%)} = \frac{\text{İmmobilize enzimin bağıl aktivitesi}}{\text{Serbest enzimin bağıl aktivitesi}} \times 100 \quad (3.5)$$

### 3.2.4. İmmobilizasyon koşullarının optimizasyonu

Kullanılan karbon nanotüp miktarı, pH ve immobilizasyon süresi ile immobilizasyon çözeltisinin derişimi, aktivitenin ve immobilizasyonun verimliliğini etkilemektedir (Katchalski ve ark., 2000). Optimize edilmiş immobilizasyon koşulları incelenerek bu parametrelerin etkisi belirlenebilir. İmmobilizasyon için optimum koşullar ayrı ayrı değiştirilerek etkileri tespit edildi.

### 3.2.5. FCED ve ICED'in karakterizasyonu

FCED ve ICED kinetik özellikler (optimal pH ve optimal sıcaklık, Michaelis-Menten sabitleri, pH stabilite, ısıl stabilite) ve ICED'in tekrar kullanılabilirliği ile depolama stabilitesi belirlenerek karakterize edildi.

#### 3.2.5.1. pH'nın aktiviteye etkisi

Bağlı aktiviteler, 200'er  $\mu\text{L}$  (27.5 IU) FCED ve 96.7 mg (37.8 IU) ICED'lerin 5'er mL 75 mM'lık farklı pH'lardaki (4.0-8.0) % 1 (w/v)'lik dekstran çözeltileri ile oda sıcaklığında 10 dakikalık reaksiyonları ile tayin edildi. Optimal pH aralığı, bağlı aktivite (%) - pH grafiğinden belirlendi.

#### 3.2.5.2. Sıcaklığın aktiviteye etkisi

27.5 IU FCED ve 37.8 IU ICED'lerin 5'er mL % (w/v) 1 'lik dekstran çözeltileri (pH FCED için 5.0 ICED için 5.5) ile farklı sıcaklıklarda (30--80 °C) 10 dakikalık reaksiyonları bitiminde tayin edildi. Bağlı aktivite (%) - sıcaklık (°C) grafiğinden sıcaklığın aktiviteye etkisi incelendi.

#### 3.2.5.3. pH'nın enzim stabilitesine etkisi

27.5 IU FCED ve 37.8 IU ICED'ler değişik pH'lardaki 2'şer mL 75 mM'lık sodyum fosfat tamponu çözeltilerinde, oda sıcaklığında (25 °C), 10 dakika bekletildikten sonra, üzerlerine 3 mL % (w/v) 1'lik dekstran çözeltileri (FCED için pH 5.0 ve ICED için pH 5.5) eklenerek 55 °C 'de 10 dakikalık reaksiyonla bağlı aktiviteler belirlendi ve FCED ve ICED'in stabil oldukları pH aralıkları bulundu.

#### 3.2.5.4. Sıcaklığın enzim stabilitesine etkisi

27.5 IU FCED 37.8 IU ICED'ler, optimum pH'larındaki 2 mL 75 mM'lık fosfat tamponu çözeltilerinde farklı sıcaklıklarda 10 dakika bekletildikten sonra, üzerlerine 3'er mL % (w/v) 1'lik dekstran çözeltileri

(FCED için pH 5.0 ve ICED için pH 5.5) eklenerek 55°C'de 10 dakikalık reaksiyonları bitiminde bağıl aktiviteleri belirlenerek, FCED ve ICED'in stabil oldukları sıcaklık (°C) aralıkları bulundu.

### **3.2.5.5. Michaelis-Menten sabitleri**

27.5 IU FCED 37.8 IU ICED'in başlangıç aktiviteleri, pH'sı FCED için 5.0 ve ICED için 5.5 olan farklı derişimlerdeki 5'er mL dekstran çözeltileri ile 10 dakikalık tepkimeleri sonrasında belirlendi. Michaelis-Menten sabitleri Lineweaver-Burk Grafiğinden hesaplandı.

### **3.2.6.6. ICED'in tekrar kullanılabilirliği**

ICED'in tekrar kullanılabilirliği, standart aktivite tayini koşullarında peş peşe 20 defa tayin edilen bağıl aktivitelerin kullanım sayısına karşı çizilen grafik ile belirlendi. ICED her kullanımdan sonra süzöldü ve vakum altında nitroselüloz membran filtre kullanılarak vakum altında üç kere 5 mL tampon çözelti ile ve üç kere de 5 mL ultra saf su ile yıkandı.

### **3.2.6.7. ICED'in depolanabilirliği**

ICED'in depolanabilirliği, 20 gün süresince gün aşırı, tanımlanmış aktivite tayin yöntemine göre belirlenen bağıl aktivitelerin depolama süresine karşı çizilen grafiğinden belirlendi. ICED, her kullanım sonunda vakum altında üç kere 5 mL tampon çözelti ile ve üç kere de 5 mL ultra saf su ile yıkanıp bir sonraki kullanıma kadar 25 mM'lık 5 mL sodyum fosfat tamponu çözeltisinde +4 °C 'deki buzdolabında muhafaza edildi.

### **3.2.7. İstatistiksel analiz**

Her değer, üç paralel çalışılarak elde edilen değerlerin ortalamasını temsil eder. Her grafik Origin Pro 8.0 yazılımı kullanılarak hazırlandı. Veriler Microsoft Windows Excel kullanılarak işlendi ve her veri üç değerlerin ortalaması olarak verildi.

## **. BULGULAR VE TARTIŞMA**

### **4.1. Protein tayini**

İmmobilizasyon çözeltilerindeki ve süzüntülerindeki enzim derişimleri standart BSA grafiğinden elde edilen doğru denkleminde hesaplandı. Buna göre, 200 µL FCED çözeltisindeki enzim miktarının 492.9 µg olarak bulundu.

1 mL sıvı haldeki ticari enzim preparatındaki CED konsantrasyonu 2.56 mg/mL olarak hesaplandı.

#### 4.2. CED aktivitesinin tayini

200 µL serbest CED'nin % (w/v) 1'lik dekstran çözeltisi (pH 5.0) ile aktivite tayin koşullarında reaksiyonu sonucunda analiz örneğinde elde edilen indirgen şeker derişimi Şekil 3.2'den elde edilen denklem kullanılarak 609.6 µg/mL glukoz eşdeğer olarak bulundu reaksiyon hacmindeki toplam indirgen şeker miktarı 126786.6 µg glukoz eşdeğer olarak hesaplandı. Glukozun mol kütlesi 180 g/mol olduğundan glukozun mol sayısı da 74.4 µmol olarak hesaplandı. FCED'in spesifik aktivitesi de 27.5 IU/mg.dk olarak hesaplandı. 1 IU aktiviteye sahip FCED miktarı da 1/27.5 oranından 0.036 mg olarak hesaplandı.

#### 4.3. İmmobilizasyon koşullarının optimizasyonu

İmmobilizasyon tamponunun derişimi ve pH'sı enzim-matris oranı immobilizasyon süresi immobilizasyon verimliliğini etkileyen parametrelerdir. Bu parametreler (tampon pH'ları 4.0' dan 7.0'a, tampon derişimi 25 mM'den 100 mM'ye; MWCNT-NH<sub>2</sub> miktarı 25 mg'dan 100 mg'a ve immobilizasyon süresi ise 10 dakikadan 60 dakikaya ) ayrı ayrı değiştirilerek optimize edildi.

##### 4.3.1. Tampon çözelti pH'sının immobilizasyon etkinliğine etkisi

Tamponun pH'sının immobilizasyon verimi üzerindeki etkisi Tablo 4.1'de gösterilmiştir. En yüksek immobilizasyon verimi (% 27.34) ve en yüksek aktivite verimi (42.62) pH 7'de elde edildi. Enzimin optimum pH'ında maksimum aktivite verimi elde edildiği bilinmektedir fakat bu durum bazen değişebilmektedir (Katchalski ve ark., 2000).

**Tablo 4.1.** İmmobilizasyon etkinliğinin tampon çözelti pH'sına bağlılığı

Tampon pH'sı	İmmobilizasyon Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)
4.0	17.98 ± 0.02	24.02 ± 0.05
5.0	19.42 ± 0.05	26.28 ± 0.04
6.0	21.01 ± 0.03	36.26 ± 0.03
7.0	27.34 ± 0.06	42.62 ± 0.05

### **4.3.2. İmmobilizasyon etkinliğinin tampon çözelti derişimine bağlılığı**

Tablo 4.2'ye göre 25 mM'lık tampon derişiminde % 27.34 immobilizasyon verimi alınırken 100 mM'lık tampon derişiminde % 34.68 immobilizasyon verimine ulaşılmıştır. 25 mM'da % 42.62 olan aktivite verimi 75 mM'da % 53.29'a kadar yükselirken 100 mM'da aktivite verimi % 50.01'e düşmüştür. Enzim immobilizasyonunda, genellikle tuzların derişimleri ve özellikleri, immobilizasyon ve aktivite verimini etkileyebilir. Bu durum, tuzların enzim moleküllerinin üç boyutlu yapılarını değiştirebilme kapasitesinden kaynaklanmaktadır (Smalla ve ark., 1988).

Proteinlerin çevresini saran tuz molekülleri, daha yüksek iyonik kuvvetle hidratlanarak proteinin dehidrasyonunu artırır. Bu etki, protein ve destek arasındaki hidrofobik etkileşimleri güçlendirir. Bu bağlamda, 75 mM tampon çözeltisinde en yüksek aktivite veriminin, MWCNT-NH<sub>2</sub> üzerine adsorbe edilen enzimin artmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

### **4.3.3. İmmobilizasyon etkinliğinin MWCNT-NH<sub>2</sub> miktarına bağlılığı**

MWCNT-NH<sub>2</sub> miktarının immobilizasyon verimi üzerindeki etkisi Tablo 4.3'te gösterilmiştir. 10 mg MWCNT-NH<sub>2</sub> kullanıldığında % 33 olan immobilizasyon verimi 20 mg'a çıkarıldığında % 67.63 olmuştur. MWCNT-NH<sub>2</sub> miktarları artıkça immobilizasyon veriminin de aktivite veriminin arttığı görüldü. Bilindiği üzere, bu artış, artan kütleyle bağlı olarak bağlama kapasitesinin artışından kaynaklanmaktadır.

### **4.3.4. İmmobilizasyon etkinliğinin immobilizasyon süresinine bağlılığı**

İmmobilizasyon süresinin immobilizasyon verimi üzerindeki etkisi Tablo 4.4'de gösterilmiştir. İmmobilizasyon süresi artıkça hem immobilizasyon veriminin hemde aktivite veriminin arttığı görüldü. İmmobilizasyon süresi 60 dakikaya çıkarıldığında immobilizasyon verimi % 100 ve aktivite verimi % 137.50 olmuştur.

**Tablo 4.2.** İmmobilizasyon etkinliğinin tampon çözelti derişimine bağılılığı

Tampon Derişimi (mM)	İmmobilizasyon Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)
25	27.34 ± 0.06	42.62 ± 0,05
50	28.63 ± 0.04	50.63 ± 0,02
75	33.00 ± 0.03	53.29 ± 0,03
100	34.68 ± 0.05	50.01 ± 0,04

**Tablo 4.3.** İmmobilizasyon etkinliğinin MWCNT-NH<sub>2</sub> miktarına bağılılığı

MWCNT-NH <sub>2</sub> Miktarı (mg)	İmmobilizasyon Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)
10	33.00 ± 0.03	53.29 ± 0.03
20	67.63 ± 0.04	62.08 ± 0.02
30	74.39 ± 0.03	84.25 ± 0.04
40	75.25 ± 0.02	88.54 ± 0.05

**Tablo 4.4.** İmmobilizasyon etkinliğinin immobilizasyon süresinine bağılılığı.

Süre (Dakika)	İmmobilizasyon Verimi (%)	Aktivite Verimi (%)
10	74.39 ± 0,03	84.25 ± 0.04
20	95.54 ± 0,02	10.82 ± 0.05
40	97.84 ± 0,04	12.37 ± 0.04
60	10.00 ± 0.05	13.50 ± 0.03

İmmobilizasyon koşulları optimize edildikten sonra % 100 immobilizasyon verimi ve % 137.5 aktivite verimi elde edildi. CED'in immobilizasyonu, daha önceki araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Bu çalışmalarda, farklı yöntemlerle ve farklı matrislerle CED'in immobilizasyon verimini, aktivite verimini değerlendirmiştir. MWCNT-NH<sub>2</sub> üzerine immobilize CED'in aktivite verimi (% 137,5) Erhardt ve ark.'nın (2007) bentonit üzerine immobilize ettiği CED'in aktivite veriminden (% 41) daha yüksek bulunmuştur. Bashari ve ark.'nın (2014) çalışmasında CED'nin Ca-aljinat jelleri üzerinde immobilizasyonunda (% 90) immobilizasyon verimi ve (% 93) aktivite verimi elde etmiştir. Çalışmamızda CED'in MWCNT-NH<sub>2</sub> üzerinde immobilizasyonunda % 100 immobilizasyon verimi ve % 137.5

aktivite verimi elde edildi. Bundan dolayı çalışmamızda elde ettiğimiz immobilizasyon verimi daha önce yapılan bu iki çalışmadan elde edilen verimden daha yüksektir. Bu yüksek verim, proteinler için MWCNT-NH<sub>2</sub>'in doğal afinitesinin bir sonucu olabilir (Saifuddin ve ark., 2012).

#### **4.4. Serbest ve immobilize CED'in karakterize edilmesi**

##### **4.4.1. pH'nın enzim aktivitesine etkisi**

Şekil 4.1'e göre CED'nin optimum pH'ı immobilizasyondan sonra 5.0'dan 5.0 -6.0 arasına kaydırıldı. ICED, 5.0 dışında test edilen pH değerlerinde FCED'den daha aktiftir. Bu sonuç Bashari ve ark.'nın çalışmasıyla uyumludur (2014). Benzer sonuçları literatürde görmek mümkündür. Örneğin, *Aspergillus oryzae* β-galaktozidazın optimum pH değeri, farklı membranlarla yapılan immobilizasyon işleminden önce 4.0 iken, bu değer immobilizasyon sonrasında 4.5-5.0 arasına kaymıştır (Zhang ve ark., 2017).

##### **4.4.2. Sıcaklığın enzim aktivitesine etkisi**

Şekil 4.2'de görüldüğü gibi immobilizasyondan sonrasında CED'nin optimum sıcaklığı değişmedi. Aslan ve ark. (2021), c-MWCNT üzerine immobilizasyondan sonra CED'in optimum sıcaklığı değişmemiştir.

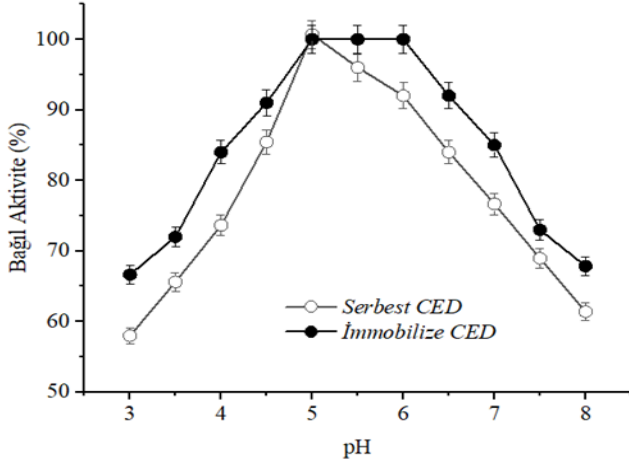
Ancak Bashari ve ark. (2014), CED'in Ca-Aljinat jelleri üzerine immobilizasyonundan sonra CED'nin optimum sıcaklığının 50 °C'den 60 °C'ye kaydığını ortaya koymuştur. Bu farklılık, muhtemelen iki farklı destek malzemesinin yapısal farklılıklarından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca, Şekil 4.2'de, ICED'in test edilen tüm sıcaklıklarda FCED'den daha aktif olduğu da görülmektedir. immobilizasyon işlemi enzimlerin termal stabilitesini arttırdığı için immobilize enzimlerin yüksek sıcaklıklarda serbest enzimlere göre daha yüksek aktivite sergilediği iyi bilinmektedir (Aslan ve ark., 2021).

##### **4.4.3 pH'nın enzim stabilitesine etkisi**

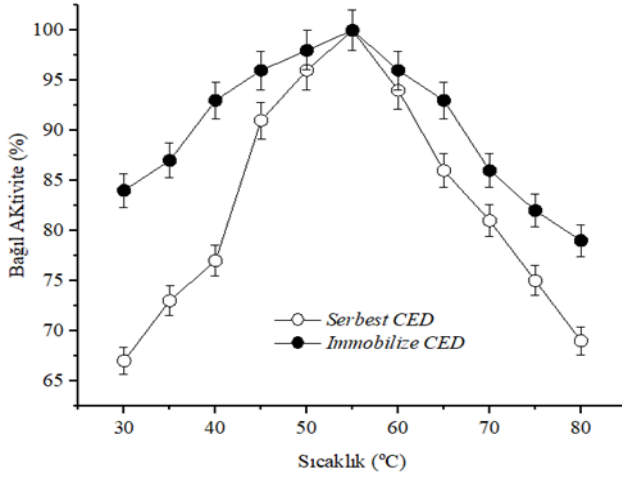
Şekil 4.3'te pH'ın CED stabilitesi üzerindeki etkisini göstermektedir. Buna göre ICED, test edilen tüm pH değerlerinde FCED'den daha stabildir. Bu sonuç anlaşılabilir, çünkü immobilizasyonun enzimin pH stabilitesini arttırdığı iyi bilinmektedir. Optimum pH aralığının dışındaki pH değerlerinde düşük stabilite, muhtemelen destek ve enzim arasındaki bağlanma kuvvetlerinin zayıf olması nedeniyle ortaya çıkabilir; bu durum, pH'daki



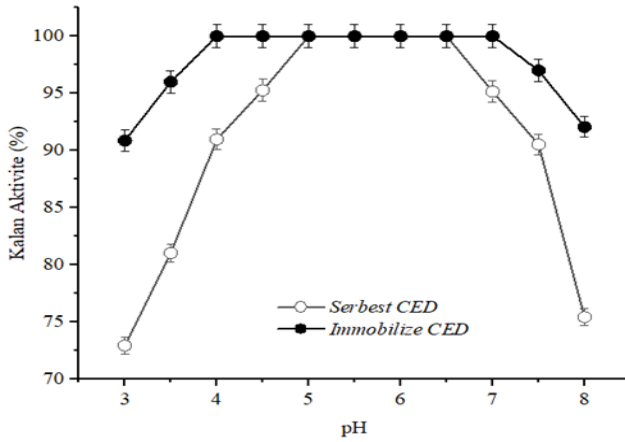
değişikliklerin bir sonucu olarak enzim moleküllerinin matristen ayrılmasından kaynaklanabilir (Cabral ve ark., 1991).



Şekil 4.10. pH'nın Serbest ve immobilize CED aktivitesine etkisi



Şekil 4.11. Sıcaklığın Serbest ve immobilize CED aktivitesine etkisi



Şekil 4.12. FCED ve ICED'in pH stabilitesi

#### 4.4.4. Sıcaklığın enzim stabilitesine etkisi

Şekil 4.4'te görüldüğü gibi, ICED yüksek sıcaklıklarda FCED'den daha stabildir. 65 °C'de FCED aktivitesinin yaklaşık % 4'ünü kaybederken, ICED aktivitesinde herhangi bir kayıp olmamıştır. 65 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda FCED hızla aktivitesini kaybetmektedir. FCED 80 °C'de aktivitesinin % 60'ını kaybederken, ICED aktivitesinin % 75'ini korumaktadır. İyi bilindiği üzere, immobilizasyon enzimi ısıya daha dirençli kılmaktadır (Tanksale ve ark., 2001).

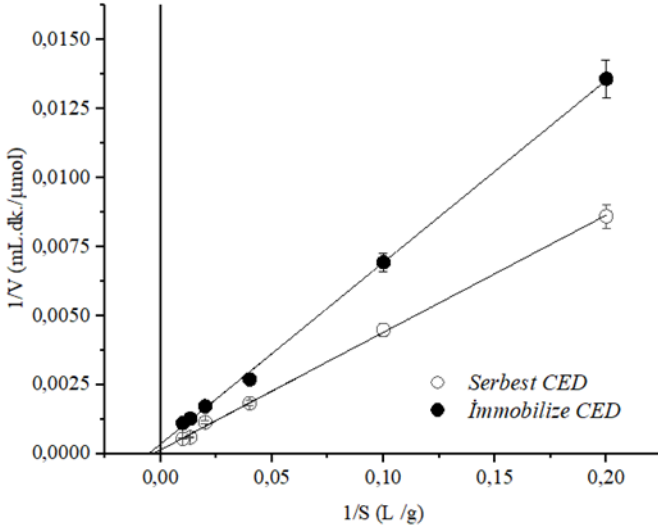
#### 4.4.5. Kinetik sabitler

FCED ve ICED için kinetik sabitleri de Lineweaver-Burk grafiği kullanılarak belirlendi (Şekil 4.5). Serbest ve immobilize enzimlerin  $K_m$  değerleri sırasıyla 325.7 g/L ve 211.9 g/L,  $V_{max}$  değerleri ise 6211.2  $\mu\text{mol}$  indirgen şeker/L.min ve 2785.5  $\mu\text{mol}$  indirgen şeker/L olarak belirlendi.  $K_m$  bir enzimin substratına olan afinitesini temsil eder. Afinitite ile  $K_m$  arasında negatif bir korelasyon vardır. Reaksiyonda  $K_m$  değeri arttıkça enzimin substratına afinitesi azalır,  $K_m$  değeri azaldıkça enzimin substratına afinitesi artar (Erkaya, 2021).

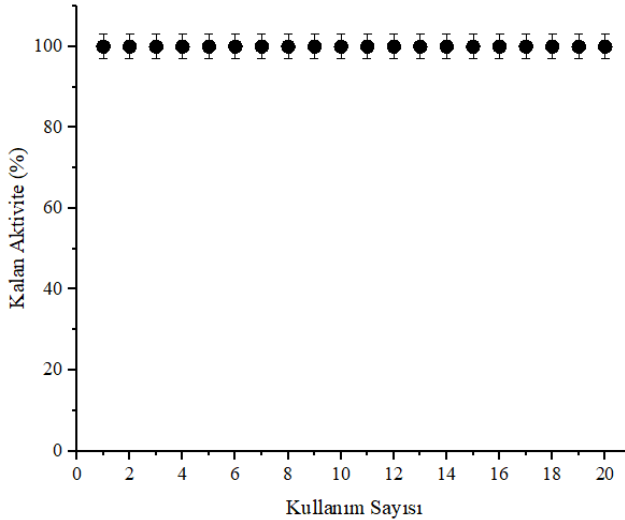
#### 4.5. İmmobilize CED'in Kullanım ve Depolama Kararlılığı

Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de gösterildiği gibi FCED mükemmel kullanım ve depolama stabilitesine sahiptir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Erhardt ve ark.'nın (2007) ve Bashari ve ark.'nın (2007) yapmış oldukları çalışmada elde edilen operasyonel ve depolama stabilitelerinden daha iyi olduğu görülmüştür.

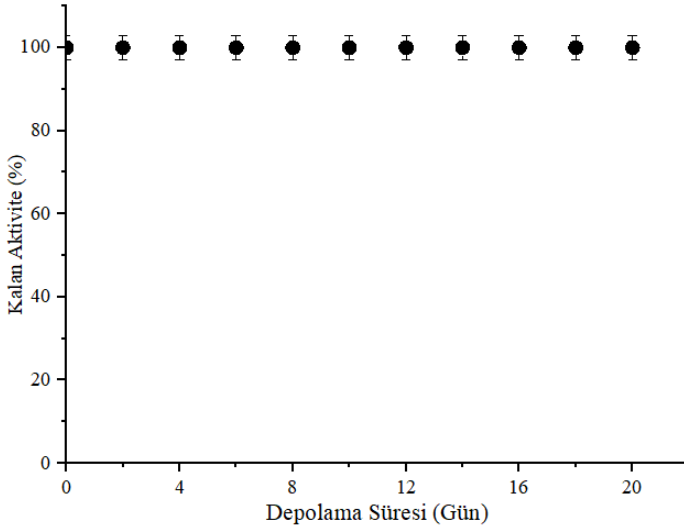
Tüm desteklerde immobilize edilen CED, altı geri dönüşümden sonra aktivitelerinin % 80'inden fazlasını kaybettiği görülmüştür (Bashari ve ark., 2014). Erhardt ve ark. (2007) tarafından Ca-Aljinat jelleri üzerine immobilize edilen CED'in çalışma ve depolama stabiliteleri belirlenmemiştir.



Şekil 4.13. Serbest ve immobilize CED'in Lineveaver Burk Grafiği



Şekil 4.14. İmmobilize CED'in kullanım kararlılığı



Şekil 4.7. İmmobilize CED'in depolama kararlılığı

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Önceikle immobilizasyon koşullarının optimizasyonu sonucunda % 100 immobilizasyon verimi ve % 137,5 aktivite verimi elde edilmiştir.

İmmobilize enzim, optimum koşullarda 20 kez tekrarlanan kullanım süresince ve 20 gün süreyle depolamanın ardından CED'in başlangıç aktivitesini herhangi bir azalma olmadan korumuştur.

Aktivite verimimiz (% 137.5) önceki çalışmalara ve Aslan ve Ghafour, (2021), tarafından yapılan son çalışmaya (% 114.15) göre daha yüksektir. İmmobilizasyonun CED'in pH ve termal stabilitesini iyileştirdiği görüldü. MWCNT-NH<sub>2</sub> üzerine immobilize edilen CED'in operasyonel ve depolama stabilitesi, literatürde bildirilen önceki sonuçlardan daha yüksek verimlere ulaşıldı.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen ICED'in önceki çalışmalarda elde edilen ICED'lerden daha iyi olduğu söylenebilir.

### 5.2. Öneriler

İlk olarak bu tezde elde edilen sonuçlar SCI indeksli dergilerde yayımlanabilir.

Bu tez çalışmasında geliştirilen CED'in MWCNT-NH<sub>2</sub> üzerinde immobilizasyonu için ulusal veya uluslararası patent enstitüsüne patent almak üzere başvurulabilir.

Son olarak, ICED gıda endüstrisinde etkin bir şekilde kullanılabilir. Dekstrandan İzomaltooligosakkarit üretiminde kullanılabilir.

### **TEŞEKKÜRLER**

Yazarlar, bu çalışmada kullandıkları *Chaetomium erraticum* dekstranaz enzimini ücretsiz olarak göndermeleri için Bio-Cat (Troy, VA, USA) şirketine teşekkür ederler.

## KAYNAKLAR

- Aslan, Y., & Ghafour, B. I. (2021). Immobilization of *Chaetomium erraticum* dextranase (CED) by adsorption on carboxylated multi walled carbon nanotubes (c-MWCNT).
- Aslan, Y., Ömerosmanoğlu, D., & Koç, E. Ö. (2018). Covalent immobilization of an alkaline protease from *Bacillus licheniformis*. *Turkish Journal of Biochemistry*, 43(6), 595-604.
- Bashari, M., Abbas, S., Xu, X., & Jin, Z. (2014). Combined of ultrasound irradiation with high hydrostatic pressure (US/HHP) as a new method to improve immobilization of dextranase onto alginate gel. *Ultrasonics sonochemistry*, 21(4), 1325-1334.
- Bradford, M. 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(1-2), 248-254.
- Cabral, J. M., & Kennedy, J. F. (1991). Covalent and coordination immobilization of proteins. *Bioprocess technology*, 14, 73-138.
- Compton, R. G., Wildgoose, G. G., & Wong, E. L. (2009). Carbon Nanotube-Based Sensors and Biosensors. *Biosensing Using Nanomaterials*, 1-37.
- Donaldson, K., Aitken, R., Tran, L., Stone, V., Duffin, R., Forrest, G., & Alexander, A. (2006). Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. *Toxicological sciences*, 92(1), 5-22.
- Eggleston, G., Monge, A., Montes, B., & Stewart, D. (2005). Factory trials to optimize the application of dextranase in raw sugar manufacture: Part II. *International sugar journal*, 1308, 757.
- Erhardt, F. A., & Jördening, H. J. (2007). Immobilization of dextranase from *Chaetomium erraticum*. *Journal of Biotechnology*, 131(4), 440-447.
- Erkaya, Ş. (2021). Enzim Kinetigi: Michaelis menten denklemi[online], Bioinforange, <<https://www.bioinforange.com/bioinforeviews/biyobilimler/biyokimya/enzim-kinetigi-michaelis-menten-denklemi/>>, [Ziyaret Tarihi: 23 Ocak 2024].
- Feng, W., & Ji, P. (2011). Enzymes immobilized on carbon nanotubes. *Biotechnology Advances*, 29(6), 889-895.

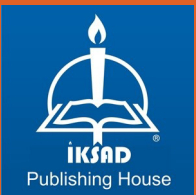
- Garlet, T. B., Weber, C. T., Klaić, R., Foletto, E. L., Jahn, S. L., Mazutti, M. A., & Kuhn, R. C. (2014). Carbon nanotubes as supports for inulinase immobilization. *Molecules*, *19*(9), 14615-14624.
- Gericke, B., Amiri, M., & Naim, H. Y. (2016). The multiple roles of sucrase-isomaltase in the intestinal physiology. *Molecular and cellular pediatrics*, *3*, 1-6.
- Gibriell, A. Y., Amin, A. A., Yassien, N. M., El Banna, H. A., & Khaled, F. M. (2014). Immobilization techniques for *P. aculeatum* dextranase. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *3*, 1114-1134.
- Goffin, D., Delzenne, N., Blecker, C., Hanon, E., Deroanne, C., & Paquot, M. (2011). Will isomalto-oligosaccharides, a well-established functional food in Asia, break through the European and American market? The status of knowledge on these prebiotics. *Critical reviews in food science and nutrition*, *51*(5), 394-409.
- Huang, H., Hu, N., Zeng, Y., & Zhou, G. (2002). Electrochemistry and electrocatalysis with heme proteins in chitosan biopolymer films. *Analytical Biochemistry*, *308*(1), 141-151.
- Iijima, S., & Ichihashi, T. (1993). Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *nature*, *363*(6430), 603-605.
- Jamie, A., Alshami, A. S., Maliabari, Z. O., Ali Ateih, M., & Al Hamouz, O. C. S. (2016). Immobilization and enhanced catalytic activity of lipase on modified MWCNT for oily wastewater treatment. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, *35*(5), 1441-1449.
- Kasavi, C. (2006). *Kovalent bağlanma ve fiziksel adsorpsiyon metotları ile proteaz enziminin immobilizasyonu* (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü). 14-16.
- Katchalski-Katzir, E., & Kraemer, D. M. (2000). Eupergit® C, a carrier for immobilization of enzymes of industrial potential. *Journal of molecular catalysis B: enzymatic*, *10*(1-3), 157-176.
- Khalikova, E., Susi, P., & Korpela, T. (2005). Microbial dextran-hydrolyzing enzymes: fundamentals and applications. *Microbiology and molecular biology reviews*, *69*(2), 306-325.
- Khan, A. A., & Alzohairy, M. A. (2010). Recent advances and applications of immobilized enzyme technologies: a review. *Res J Biol Sci*, *5*(8), 565-75.

- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
- Mohiuddin, M., Arbain, D., Shafiqul Islam, A. K. M., Rahman, M., Ahmad, M. S., & Ahmad, M. N. (2014). Covalent immobilization of  $\alpha$ -glucosidase enzyme onto amine functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Current Nanoscience*, 10(5), 730-735.
- Nawaz, A. F., Samra Zafar, S. L. F., Shahzadi, K., Fatima, Z., & Siddique, I. (2021). Use of nanomaterials for the immobilization of industrially important enzymes. *Journal of Nanotechnology Research*, 3(4), 45-57.
- Purushe, S., Prakash, D., Nawani, N. N., Dhakephalkar, P., & Kapadnis, B. (2012). Biocatalytic potential of an alkalophilic and thermophilic dextranase as a remedial measure for dextran removal during sugar manufacture. *Bioresource technology*, 115, 2-7.
- Rastian, Z., Khodadadadi, A., Vahabzade, F., & Mortazavi, Y. (2013). Functionalization of multi-walled carbon nanotubes for lipase immobilization. *The Journal of MacroTrends in Technology and Innovation*, 1, 65-71.
- Saifuddin, N., Raziah, A. Z., & Junizah, A. R. (2013). Carbon nanotubes: a review on structure and their interaction with proteins. *Journal of Chemistry*, 2013(1), 676815.
- Sankpal, N. V., Joshi, A. P., Sainkar, S. R., & Kulkarni, B. D. (2001). Production of dextran by *Rhizopus* sp. immobilized on porous cellulose support. *Process Biochemistry*, 37(4), 395-403.
- Singh, R. S., Chauhan, K., & Kennedy, J. F. (2019). Fructose production from inulin using fungal inulinase immobilized on 3-aminopropyl-triethoxysilane functionalized multiwalled carbon nanotubes. *International journal of biological macromolecules*, 125, 41-52.
- Smalla, K., Turkova, J., Coupek, J., & Hermann, P. (1988). Influence of Salts on the Covalent Immobilization of Proteins to Modified Copolymers of 2-Hydroxyethyl Methacrylate with Ethylene Dimethacrylate. *Biotechnology and applied biochemistry*, 10(1), 21-31.
- Tanksale, A., Chandra, P. M., Rao, M., & Deshpande, V. (2001). Immobilization of alkaline protease from *Conidiobolus macrosporus* for reuse and improved thermal stability. *Biotechnology Letters*, 23, 51-54.



- Tasviri, M., Ghourchian, H., Gholami, M. R., & Rafiee-Pour, H. A. (2012). Horseradish Peroxidase Immobilization on Amine Functionalized Carbon Nano Tubes: Direct Electrochemistry and Bioelectrocatalysis. *Progress in Reaction Kinetics and Mechanism*, 37(2), 161-172.
- Verma, M. L., Barrow, C. J., & Puri, M. (2013). Nanobiotechnology as a novel paradigm for enzyme immobilisation and stabilisation with potential applications in biodiesel production. *Applied microbiology and biotechnology*, 97, 23-39.
- Zhang, Y. Q., Li, R. H., Zhang, H. B., Wu, M., & Hu, X. Q. (2017). Purification, characterization, and application of a thermostable dextranase from *Talaromyces pinophilus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 44(2), 317-327.
- Zniszczoł, A., Herman, A. P., Szymańska, K., Mrowiec-Białoń, J., Walczak, K. Z., Jarzębski, A., & Boncel, S. (2016). Covalently immobilized lipase on aminoalkyl-, carboxy- and hydroxy-multi-wall carbon nanotubes in the enantioselective synthesis of Solketal esters. *Enzyme and microbial technology*, 87, 61-69.





**ISBN: 978-625-378-071-5**