TÜRKİYE CUMHURİYETİ'NİN YÜZÜNCÜ YILI

Biyoloji Bilimlerinde Yeni Güncel Konular II

Editör
Ali Bilgili

BRIDGE

BİDGE Yayınları

Biyoloji Bilimlerinde Yeni Güncel Konular II

Editör: Prof. Dr. Ali Bilgili

ISBN: 978-625-372-400-9

1. Baskı
Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL
Yayınlama Tarihi: 25.12.2024
BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374
Yayın hakları © BİDGE Yayınları
www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com
Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.
Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya / Ankara

Önsöz

Su tüm canlıların hayatta kalabilmesi için vazgeçilmez bir unsurdur. Sucul ekosistemlerdeki antropojenk kirliliğin değerlendirilmesi gerekir. Bu kitapta antropojenik kökenli sucul kirlilik öğeleri arasında yer alan ağır metal, azot, kalıcı organik kirleticiler, plastik ve mikroplastik, farmasötik, endokrin bozucular, pestisitler, akuakültür aktiviteleri, gürültü, fizikokimyasal etkiler, kentleşme ve endüstrileşme sonucu oluşan kirlilikler ele alındı. Bu kirlilik çeşitlerinin doğrudan ve dolaylı yollarla olan etki biçimleri ile kirliliğin olası kaynaklarına değinildi. Bu faktörlere karşı bilinç oluşturucu bilgiler verilerek kirliliğe yönelik çeşitli çözüm önerileri ele alındı.

(Salvia spp.) Türlerinden (Salvia virgate Jacq.) (Türkiye'deki yerel adı "yılancık" veya "fatmanaotu") türünün uçucu yağ kompozisyonunu araştırmak amacıyla 2015-2019 yılında Balıkesir, Çanakkale, Kütahya bölgelerinde kurulmuş olan üretim birimlerinden alınan bitki örneklerinde uçucu yağ bileşenlerinin analizleri yapılarak *Salvia* türlerinde elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimleri yetiştikleri bölgenin coğrafik özellikleriyle ilişkili olarak büyük değişkenlikler sergilediğine yönelik kapsamlı bilgiler verildi.

Gıda Boyası Brillant Blue’nin Toksik Etkileri kapsamında Brilliant Blue FCF'nin yüksek dozlarda genotoksik ve sitotoksik etkilere sahip olabileceği ve bazı bireylerde alerjik reaksiyonlara yol açabileceği vurgulandı. Özellikle, bu boya insan hücrelerinde mikronükleus oluşumu ve kromozomal anormalliklere neden olabilirken, bitki hücrelerinde de genetik hasar oluşturabileceği tespit edildiği bilgisine yer verilerek yüksek dozlarda kullanımı durumunda potansiyel sağlık riskleri taşıyabileceğine değinildi.

Belirtilen nedenlerden dolayı bu kitapta aynı zamanda çevresel izlenebilirliğin sağlanması ve boyanın çevredeki potansiyel etkilerinin izlenmesi gerektiğine yönelik bilgiler derlendi.

Ayrıca bu kitapta Muğla ilinde zerkonid akarlar (Acari: Zerconidae) üzerine gerçekleştirilen sistematik çalışmalara değinildi. Özellikle literatürde zerkonid akarların Muğla'dan bildirilmiş bazı kayıtları olsa da mevcut tür çeşitliliğini objektif bir biçimde ortaya çıkarılabilmesi için 29 aylık süre boyunca il genelinin tamamından 1785 farklı biyolojik materyal toplanarak analizler gerçekleştirilmesi sonucunda oldukça kapsamlı bilgilere yer verildi.

Editör

Prof. Dr. Ali BİLGİLİ

İçindekiler

Önsöz 3

Rumen Mikrobiyal Ekosistemi 7

Altuğ KARAMAN 7

Mehmet Sait EKİNCİ 7

Bülent KAR 7

Mikrofungusların Hücre Dışı Enzim Üretimlerinin Kalitatif Olarak Değerlendirilmesi 29

Gülçin ÖZCAN ATEŞ 29

2020-2024 Yılları Arası Kütahya İli Biyolojik Çeşitlilik İzleme ve Koruma Çalışmaları 56

Leyla ORMAN 56

Nüket Akanıl BİNGÖL 56

Betül AKIN 56

Ece Gökçe Çakır DİNDAR 56

Antibiyotikler ve Beta-Laktamaz Direnci: Makrolidler, Kinolonlar, Sülfonamidler ve Trimetoprimin Rolü 82

Muhsin AYDIN 82

Birgül YELİMLİBAĞ 82

Pestisit Kirliliği ve DNA Hasarı 160

Özge TEMİZ 160

Kök Hücreler ve Kullanım Alanları 167

Özlem Sultan ASLANTÜRK 167

Nurgül İrem ERDOĞAN 167

Öznur ERGEN AKÇİN 193

Şükran ÖZTÜRK 193

Melike Merve ÖZTÜRK 193
Zeynep Melek BARUTÇU 193
Nörogörüntülemede Yeni Ufuklar 206
Ebru YALÇIN ÜLGER 206
Füsun (AK) SONAT 206

BÖLÜM I

Rumen Mikrobiyal Ekosistemi

Altuğ KARAMAN
Mehmet Sait EKİNCİ
Bülent KAR

Rumen mikroorganizmaları ağırlıklı olarak bakterilerden (ml başına 10^{10}-10^{11}) funguslardan (ml başına 10^{3}-10^{6}) ve protozoalardan (ml başına 10^{4}-10^{6}) oluşmaktadır (Hespell ve ark., 1997; Orpin ve Joblin, 1997). Rumen mikrobiyal ekosistemi ile ilgili çalışmalar rumen bakterilerinin 83% kültürlendiğini ortaya koymuştur (Seshadri ve ark., 2018). Rumen içindeki kültüre alınmamış bireysel türlerin sayısının yüzlerce ile binlerce arasında olduğu, çoğunluğunun Gram-Pozitif Firmicutes veya Gram-Negatif Bacteroidetes olarak karakterize edildiği düşünülmektedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalar, mevcut kültürlenmiş ve tamamen karakterize edilmiş rumen mikroorganizmalarının, rumen

mikrobiyotasının başlıca ve metabolik açıdan önemli bileşenlerini tam olarak temsil etmediğini göstermiştir (Attwood ve ark., 2008).

Rumendeki en çeşitli grup bakterilerdir fakat rumen toplam biyokütlesinin yaklaşık 50% silli protozoalardan oluşmuştur (Solomon ve ark., 2022). Rumen içeriğinde bulunan entodinium (69,6 %) ve epidinium (31,4%) iki baskın protozoa cinsi olarak ortaya çıkmaktadır (Shin ve ark., 2004). Protozoa düşük oksijen toleransı olan bakterilere yarar sağlayarak rumen oksijenini temizlemeye destek olmaktadır (Zhu, 2016).

Rumen içerisindeki bakterilerin çoğu farklı enzimatik aktiviteler yoluyla lignoselülozik besleme maddelerinin parçalanmasında aktif rol alan zorunlu anaeroblardır. Enzimatik aktivitelerine bağlı olarak bakteriler; fibrolitik, amilolitik, proteolitik, lipolitik, üreolitik ve tanniyolitik bakteriler gibi farklı gruplara ayrılmaktadırlar (Patra ve Yu, 2014).

Rumen mikroorganizmalarından arkealar ise CH4 ve ATP üretmek için protozoa, mantar ve bakterilerin heksoz katabolizmasından elde edilen H2 ve CO2'yi kullanır (Ferry ve Kastead, 2007). Euryarchaeota, arkeanın en baskın filumudur ve rumen metanojenleride bu filumun içerisinde sınıflandırılmıştır (Janssen ve Kirs 2008). Şu ana kadar çok az metanojen türü rumenden izole edilmiştir, ancak gelecekte daha fazla türün tanımlanması beklenmektedir.

Ruminantların gastrointestinal sisteminde bulunan anaerobik funguslar Neocallimastigomycota filumuna, Neocallimastigomycetes sınıfının Neocallimastigales takımına aittir (Hibbett ve ark., 2007). Farklı karbon kaynaklarına sahip seçici zenginleştirme kültürü ile sığırlarda anaerobik fungus popülasyonunun çeşitliliği, % 61.3'lük bir genel sıklığa sahip olan çok merkezli fungusların (*Anaeromyces* ve *Orpinomyces*), kolonilerin ve monocentrik fungusların çoğunluğunu oluşturduğu ortaya konmuştur (% 27,1 *Neocallimastix* ve % 14.8 *Piromyces*) (Griffith ve ark., 2009). Farklı karbon kaynaklarına sahip seçici zenginleştirme kültürü ile, sığırlarda anaerobik fungus popülasyonunun çeşitliliği, % 61.3'lük genel bir sıklığa sahip olan polisentrik fungusların, kolonilerin çoğunluğunu oluşturduğu ve monosentrik fungusların daha az baskın olduğu ortaya konmuştur (Griffith, Ozkose ve ark., 2009).

Rumen mikroorganizmaları

Rumen'de, konak ile bakteriler, protozoa, funguslar, arkea ve bakteriyofajlardan oluşan çeşitli mikrobiyal popülasyon arasında karmaşık bir ekolojik sistem bulunmaktadır. Yeni doğmuş bir ruminant sindirim sistemlerinde bir dizi olay meydana gelir. İlk aşama, doğumdan sonra sıvı bir fazda bakterilerin çoğalmasıyla başlar, daha sonra sindirim sisteminde bakterilerin kolonizasyon fazı, ardından fungus ve protozoanın akışkan içinde oluşturulması

ile devam eder (Cheng ve ark., 1991). Ayrıca, olgun ruminant hayvanlarda normal mikrobiyal aktiviteler için kompleks farklı türlü grupların oluşturulması gerekmektedir (Stewart ve ark., 1988). Rumen mikroorganizmaları, rumendeki yem parçacıklarına saldıran ve parçalayan çalışma birimlerinin bir kombinasyonu olarak görülebilir. Bununla birlikte, net bir cümle ile rumen mikroorganizmaları bakteri, fungus, protozoa ve archaea'dan oluşmaktadır.

Rumen bakterileri

Rumen içindeki yoğun bakteri popülasyonunun gelişimi; sabit bir besleme kaynağı ve fermentasyon son ürünlerinin ve kalıntılarının sürekli olarak uzaklaştırılması yoluyla nispeten sabit koşulların muhafaza edilmesiyle sağlanır (Hungate, 1966). Rumen bakterileri, normal rumende toplam mikrobiyal biyokütlenin yarısını oluşturur ve bu nedenle, genel metabolizmaya daha fazla katkıda bulunurlar (Leedle ve Hespell, 1984). Mikrobiyal topluluğun çok yönlü fiziksel yapısıyla birlikte rumen bakterilerinin metabolik çeşitliliği, ruminant hayvanların geniş bir yelpazede yem tüketmesini sağlar (Leedle ve ark., 1984). Ancak, ruminant için beslenme şekli yüksek lifli bir yem diyetinden yüksek nişasta konsantreli diyete geçerse, bakteri popülasyonu ve türlerinde değişiklikler ortaya çıkar (Grubb ve Dehority, 1975). Bakteri türlerinde değişiklik: yem alımı, beslenme

sıklığındaki değişikliklerden ve beslenme sonrası örnekleme zamanından kaynaklandığı bilinmektedir (Hungate, 1966).

Rumen bakterilerin büyük çoğunluğu Gram negatiftir. Ancak rasyonda kullanılan yüksek enerjili besinler gram pozitif bakteri sayısında artışa neden olmaktadır. Bakterilerin çoğunluğu zorunlu anaerobdur. Bazıları oksijene karşı aşırı hassasiyet gösterir ve oksijene maruz kaldıklarında ölürler. Bazı rumen bakterileri, çok düşük redoks potansiyeline (yüksek bir anaerobiyoz derecesine işaret eder) ihtiyaç duyar ve -350 mV'dan daha düşük bir redoks potansiyelidir. Rumen bakterilerinin gelişimi için optimum pH değeri 6.0 ile 6.9 arasında Optimum sıcaklık ise 39ºC'dir. Bakteriler, metabolizmayı olumsuz etkilemeksizin, oldukça yüksek oranda organik asitleri tolere edebilirler (Kamra, 2005).

Rumen bakterileri son yıllarda yoğun çalışmaların konusunu oluşturmuştur. Farklı ruminant hayvanlarda çeşitli bakteri soylarının izolasyonu ve karakterizasyonu ile bağlantılı çok sayıda çalışma yapılmıştır (Stewart ve ark., 1997). Rumende yaşayan bakteriler, çevresel yaşam alanlarına bağlı olarak dört gruba ayrılmıştır: birinci grup, rumende sıvı faz ile ilişkili serbest yaşayan bakteriler; ikinci grup, yem partikülleri ile ilişkili bakteriler; üçüncü grup, rumen epiteli ile ilişkili bakteriler; ve dördüncü grup bakteriler ise, protozoa yüzeyine yapışmış olanlardır (McAllister ve ark., 1994). Bu gruplar içinde dikkat çeken nokta ise yem parçacıklarıyla ilişkili mikrobiyal

popülasyonların, ruminal endoglukanaz ve ksilanaz aktivitesinin % 88-91'inden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (Williams ve Strachan, 1984; Minato ve ark., 1993). Özellikle bu açıdan bakteri rolleri önemlidir çünkü yem parçacıklarıyla ilişkili bakteri popülasyonları, sayısal olarak baskındır ve toplam mikrobiyal popülasyonun % 75'ini oluşturur (Minato ve ark., 1993). Bu sonuç, lifle ilişkili bakteri popülasyonlarının ruminal lif sindiriminde önemli olduğunu açıkça göstermektedir. Bağlanma, fibrolitik bakterilerin, rumendeki bitki lifinin sindirimini başlatması için önemli bir adım olduğundan, birçok araştırma, yem parçacıklarına bakteriyel bağlanmanın nasıl oluştuğunu anlatmaktadır (Koike, 2009).

Rumen bakterileri arasında bulunan, *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens, Prevotella ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens, Eubacterium ruminantium* ve *Eubacterium cellulosolvens, Clostridium cellobioparum*, *Clostridium longisporum*, *Clostridium lochheadii* bakterileri başlıca fibrolitik bakteri türleri olarak kabul edilmektedir (Stewart ve ark., 1997; Kamra, 2005). *Ruminococcus amyloplilus*, *Provella ruminicola, Butyrivibrio fibrosolvens* ve *Streptococcus bovis* gibi bakteriler amilolitik aktiviteye sahiptir (Patterson, 1992). Ayrıca *Butyrivibrio fibrisolvens* ve *Anaerovibrio lipolytica* bakterilerinin lipidleri hidrolize ettikleri bilinmektedir (Patterson, 1992). Asetojenik bakteriler *Eubacterium limosum* ve *Acetitomaculum*

ruminis olarak bilinmektedir (Kamra,2005). Asit kullanan bakteriler *Megasphaera elsdenii, Wollinella succinogenes, Veillonella gazogenes, Oxalobacter formigenes, Desulphovibrio desulphuricans, Desulphatomaculum ruminis, Succiniclasticum ruminis* olarak bildirilmiştir. Şekeri ise *Succinivibrio dextrinosolvens, Succinivibrio amylolytica, Selenomonas ruminantium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus Casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus Helveticus, Bifidobacterium globosum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium Thermophilum iken Treponema saccharophilum* ve *Lachnospira multiparus* bakteriler kullanmaktadır (Kamra,2005).

Rumen fungusları

Tüm anaerobik funguslar Neocallimastigomycota filumunda bulunmaktadır. Bu funguslar özellikle otoburların sindirim sisteminde, yemlerin tüketiminde temel koloni olduğundan dolayı önemli rol oynadığı bilinmektedir. (Liggenstoffer AS ve ark., 2010). Anaerobik fungusların diğer funguslardan çeşitli ayırıcı özellikleri karakterize edilmiştir. Bu karakterizasyon mitokondriyum, sitokromlar ve diğer biyokimyasal özelliklerin Oksidatif fosforilasyon yolunun bulunmaması gibi zorunlu anaerobik fizyolojilerinden kaynaklanır (Van der Giezen M 2009). Diğer ökaryotların aksine anaerobik funguslardaki enerji üretimi

hidrojenozomlar aracılığıyla gerçekleşir (Yazdıç ve ark., 2021). Bu süreç malat dekarboksilaz yoluyla asetat, CO_2 ve H_2 nin kullanılmasıyla ATP üretilmesidir. Neocallimastigales, fizyolojik süreçlerinin herhangi biri için moleküler oksijen gerektirmeyen ve oksijenin varlığı toksik olan funguslardır. Anaerobik funguslar, selülozomlara sahip olan tek funguslardır.

Anaerobik fungusların rumende gerçek rolü hala tam anlamıyla çözülememiş bir konudur ancak tanımlanan enzim aralıkları ile kanıtlandığı üzere Glikoliz Hidrolaz'lara ilişkin bilgilerimiz artmaktadır. Bununla birlikte, anaerobik fungusların bitki dokusunu kolonize ettiği ve diğer mikroorganizmalar tarafından parçalanmayan lignin dokuları bozduğu görülmektedir (Lowe ve ark., 1987). Fungusların büyüme ve bozunma oranlarının bakterilerinkinden çok daha yavaş olduğu ve kalıcılıklarının sınırlı olduğu doğrulanmıştır, çünkü büyüme oranları rumen seyreltme oranından çok daha düşük olduğu belirtilmiştir. Funguslar, bitki dokusundaki lignini % 34'üne kadar sindirebilmektedir (McSweeney ve ark 1994), filamentli büyümesinin bir sonucu olarak bitki dokusuna nüfuz eden çok etkili enzimlere sahiptirler ve ekzo-etkili selülaz aktivite ile bilinen tek rumen organizmalarıdır (Forsberg, 1997). Fungusların önemi, rumen bakterileri ile oluşan sinerji ile daha da desteklenmektedir (Dehority ve Tirabasso, 2001).

Anaerobik fungusların tipik morfolojisi ve fizyolojisi taksonomik belirsizliğe neden olmaktadır. Protozoa, Phycomycetes ve Chytridiomycetes (Barr, 1988) olarak yanlış sınıflandırmadan sonra, anaerobik funguslar sonunda Neocallimastigomycota'da farklı bir filuma yerleştirilmiştir (Hibbett 2007). Bu filum içerisinde şu ana kadar tanımlanmış olan yirmi cins bulunmaktadır. Monosentrik rizoidal cinsler *Neocallimastix, Piromyces, Ontomyces, Buwchfawromyces, Feramyces, Liebetanzomyces, Ghazallomyces, Aklioshbomyces, Agriosmyces, Capellomyces, Joblinomyces, Khoyollomyces, Tahromyces, Aestipascumyces, Paucimyces, polisentrik rizoidal cinsler Anaeromyces, Orpinomyces, Pecoramyces* ve iki küresel cins sırasıyla monosentrik *Caecomyces* ve polysentrik *Cyllamyces*'tir (Dagar ve ark., 2015). Cinsler thallus morfolojisine, substrat ve zoospor morfolojisinin içindeki rhizoidal filamentlere veya küresel holdfastların oluşumuna dayanarak tanımlanır. Tek kamçılı ve çok kamçılı zoosporlar arasında bir ayrım yapılır. Tek kamçılılarda sahip olunan 7-20 arası arka kamçılar ikili sıralara yerleştirilmiştir. Çok kamçılı zoosporların oluşumu *Orpinomyces* spp. ve *Neocallimastix* spp. ye özgü özelliktir, bu iki cins Neocallimastigomycota içinde ayrı bir dallanma oluşturur (Koetschan ve ark., 2014). Laboratuvarlar arası karşılaştırmalardaki ve uygulanabilir birçok tipteki kültürlerin kaybedilmesinin neden olduğu belirsizlikler, DNA barkodlama ve kültür alışverişi yöntemleri kullanılarak çözülebilir (Griffith ve ark., 2010).

Çevresel nükleik asit sekanslarının kültürden bağımsız analizi, Yabani ve yerli otoburların sindirim sisteminde daha önce şüphelenilenden çok daha fazla fungus çeşitliliğinin bulunduğunun en önemli göstergesidir. Son çalışmalardan elde edilen verilere dayanarak, bugüne kadar tanımlanmamış cinslerin bulunabileceği anlaşılmaktadır (Liggenstoffer AS ve ark., 2010).

Rumen protozoaları

Rumen protozoaları evcil hayvanlarda on dokuzuncu yüzyıl başlarında saptanmış olup (Gruby, 1843) 1920'den sonra araştırmacılar, rumendeki protozoonların tanımlanması, morfolojisi ve biyokimyasal işlevleri konusunda daha fazla çalışmışlardır. Rumen siliyat protozoalar morfolojik özelliklerine bağlı olarak holotrich ve entodiniomorphid protozoa olmak üzere iki gruba ayrılmıştır (Hungate, 1966). Bu sınıflandırmanın alternatifi; çözünür şeker kullananlar, nişasta sindiricileri ve lignoselüloz hidrolizleyicileri olarak da sınıflandırılabilir. Holotrich protozoa, farklı hayvanların rumeninde 15 farklı cins tarafından temsil edilmektedir. Bu cinsler arasında Isotricha, Dasytricha, Buetschlia ve Charonina bulunmaktadır; evcil ve yabani ruminantlar ve (Eloff ve Van Hoven.,1980) deve ve su aygırı gibi ruminant olmayan bazı hayvanlar da çok sayıda holotrich protozoa barındırmaktadırlar (Thurston ve Grain., 1971). Holotrich protozoa'nın enzimatik profili, nişasta, pektin ve çözünür şekerlerin enerji kaynağı olarak

kullanılması için yeterince büyük miktarlarda amilaz, invertaz, pektin esteraz ve poligalakturonaz bulunduğunu gösterir (Williams, 1979). Selüloz ve hemiselüloz yıkımından sorumlu enzimler holotrich protozoa'da da bildirilmiştir, ancak seviyeler entodiniomorfid protozoadaki proteinlere kıyasla çok düşüktür (Williams ve ark., 1985).

Rumen protozoanları 10^5 - 10^6 ml^{-1} populasyon yoğunluğuna sahiptir. Büyük çoğunluğunu silli protozoanlar oluşturmakla beraber kamçılı protozoanlar da mevcuttur. Rumendeki protozoa grubunun çoğunluğu silli olarak belirtilmiştir. Bu silliler zorunlu anaerobdurlar ve patojen değildirler. Sağlıklı hayvanda sillilerin miktarı 10^5-10^6 ml^{-1}'dir (Williams, 1986), bununla beraber flagellat türler 10^3-10^4 ml^{-1}'dir. Silliler rumende 3 takım altında toplanmaktadır: Prostomatida, Trichostomatida ve Entodiniomorphida. Entodiniomorph'a bağlı silliler rumen sillilerin çoğunluğunu oluşturduklarından hem sayı hem de görülme sıklığı yüksektir (Ogimoto ve Imai, 1981). Silli protozoalar pek çok substrat çeşidini parçalayabilir ve fermente edebilirler. Bitkilere ait temel içerikler olan selüloz, hemiselüloz, pektin, nişasta, çözünebilir şekerler ve lipidleri kullanabildikleri gibi aynı zamanda proteolitik aktivite gösterirler. Bütün protozoalar büyük miktarlarda nişasta benzeri polisakkaritleri depolayabilirler ve dış ortamdaki enerji kaynakları tükendiği zaman kullanabilirler. Protozoaların rumen mikrobiyal populasyonunun bir parçası olması ve fermentasyona katkı

sağlamasına rağmen (Chesson ve Forsberg, 1997) bu mikroorganizmaların ruminant hayvanlar beslenmesine ve verim performanslarına olan katkıları tartışmalıdır. Çünkü protozoaların defaunasyonu genellikle hayvanı olumsuz yönde etkilememektedir (Santra ve ark., 2007). Fizyolojik ve besinsel araştırmalara göre silliler iyi dengelenmiş amino asitleri ile bakterilere göre daha önemli bir azot kaynağı olarak konak hayvanın beslenmesinde önemli rol oynamaktadır. Silliler uygun koşullar altında mikrobiyal azotun %40'ını, toplam fermentasyon ürünlerinin ise %60'ını oluşturmaktadır.

Rumen arkeaları

Rumenin arkea grubu ökaryotlardan ve bakterilerden genetik, biyokimyasal ve yapısal özellikleri bakımından ayrılmaktadır (Eckburg ve ark., 2003). Bu metanojenler dört takıma (filuma) aittir: *Methanobacteriales* (M), *Methanomicrobiales* (H), *Methanosarcinales* (H), *Methanomassiliicoccales* (T). Rumen metanojen topluluğunda çoğunlukla *Methanobacteriales* üyeleri bulunmakta, özellikle *Methanobrevibacter* ve *Methanosphaera* cinsleri ve *Methanomassiliicoccales* üyeleri, *Methanomicrobium* ve *Methanosarcina* cinslerinden ise küçük katkılar bulunmaktadır (Henderson ve ark., 2015). *Methanobrevibacter gottschalkii, Methanobrevibacter ruminantium, Methanosphaera* sp. ve iki *Methanomassiliicoccaceae* (önceden rumen kümesi C veya RCC

olarak gruplandırılmıştı) toplam rumen metanojen rRNA gen dizilerinin yaklaşık %90'ını oluşturmakta, *Methanobrevibacter* toplam dizilerin %74'ünü kapsamakta ve kalan %16'lık kısım *Methanosphaera* sp. ve *Methanomassiliicoccaceae*'ye ait olmaktadır (Henderson ve ark., 2015). Ancak bu bolluk değerleri dinamiktir ve ana metanojen temsilcileri oldukça muhafazakar olsada konakçılara ve diyetlere göre değişir (Henderson ve ark., 2015).

Şimdiye kadar ruminant hayvanların rumenlerinden bu arkea takımları içerisinde yer alan metanojenlere ait 5 cinse bağlı 15 farklı tür (*Methanobrevibacter smithii, Methanobrevibacter gottschalkii, Methanobrevibacter millerae, Methanobrevibacter thaurei, Methanobrevibacter ruminantium, Methanobrevibacter olleyae, Methanobrevibacter boviskoreani, Methanobrevibacter woesei, Methanobrevibacter wolinii, Methanosphaera stadtmanae, Methanomicrobium mobile, Methanosarcina barkeri, Methanosarcina thermophila, Methanobacterium bryantii ve Methanobacterium formicicum*) izole edilmiştir (Khairunisa ve ark., 2023).

Metanojenler rumende sayısal olarak önemli miktarlarda (10^7 – 10^9 hücre/ml) bulunurlar ve sayıları hayvanın besinine özellikle de besinin fibril içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Metanojenler rumende fermentasyon sırasında açığa çıkan moleküler hidrojenin uzaklaştırılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu işlem rumen

fermentasyonunu devamlı kılmaktadır. Fakat metan, ruminantlar tarafından kullanılabilen bir enerji kaynağı olmadığından hayvan tarafından kullanılacak enerjide büyük kayıplara neden olmaktadır (Kamra, 2005). Metan üretimi mikrobiyal proteini arttırsa da ruminant tarafından kullanılabilen substrat düzeyini düşürmektedir (Hungate, 1975). Metanojenler, metan oluşturan arkealar, bazı fermentasyon mikropları tarafından oluşturulan hidrojeni metabolize ederek metan oluşturanlar arasında yer alır. Bu fermentasyon sırasında üretilen metan, küresel antropojenik sera gazı emisyonlarına katkıda bulunur ve hayvan için %2-12'lik bir yem enerjisi kaybını temsil eder. Rumen mikrobiyal topluluklarındaki farklılıklar, metan oluşumundaki ve yemin hayvansal ürünlere dönüştürülmesindeki farklılıkların temelini oluşturur.

Diğer rumen mikroorganizmaları

Rumendeki ana grupların dışında rumen ekosistemini oluşturan diğer mikroorganizmaların başında bakteriyofajlar gelmektedir. Bakteriyofajlar bakterilerin virüsleridir ve rumende çok sayıda bulunurlar. Rumende bulunan farklı bakteriler için spesifiktirler. Ayrıca, bakteriyofajlar bakterileri parçalayabildikleri için bakteriler açısından zorunlu patojenler olarak da düşünülebilir. Bu fajlar, rumende bakterilerin kütle devrinin farklı beslenme çizelgelerindeki hayvanlar için o kadar faydalı olmadığı düşünülse de, bakteri

hücrelerini parçalayarak, bakteri proteini kolaylıkla bir amino asit kaynağı olarak hayvanlara açık hale getirilir.

Sonuç

Rumen mikrobiyal ekosistemi, ruminantların beslenmelerinde çok önemli bir rol oynar. Bu ekosistemdeki karmaşık etkileşimleri anlamak, sindirim verimliliğini, besin kullanımını ve genel hayvan sağlığını iyileştirmek için stratejiler geliştirme açısından çok önemlidir. Devam eden araştırma ve teknolojik gelişmeler, ruminant beslenmesi ve üretiminin daha da iyileştirilmesini sağlayacak olan rumen işlevi hakkındaki bilgilerimizi her geçen gün artırmaktadır.

Kaynaklar

Attwood, G. T., Kelly, W. J., Altermann, E. H., and Leahy, S. C. (2008). Analysis of the Methanobrevibacter Ruminantium Draft Genome: Understanding Methanogen. Australian Journal of Experimental Agriculture, 48(2), 83-88.

Barr, D.J.(1988). How Modern Systematics Relates to the Rumen Fungi. BioSystems, 21(34), 351-356.

Cheng, K. J., Forsberg, C. W., Minato, H., and Costerton, J. W. (1991). Microbial Ecology And Physiology of Feed Degradation Within the Rumen. In Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants (pp. 595-624).

Chesson,A., and Forsberg,C.W.(1997). Polysaccharide Degradation by Rumen Microorganisms. In The rumen microbial ecosystem (pp. 329-381). Springer, Dordrecht.

Dagar, S. S., Kumar, S., Griffith, G. W., Edwards, J. E., Callaghan, T. M., Singh, R., ... and Puniya, A. K. (2015). A new anaerobic fungus (Oontomyces anksri gen. nov., sp. nov.) from the digestive tract of the Indian camel (Camelus dromedarius). Fungal biology, 119(8), 731-737.

Dehority, B. A., and Tirabasso, P. A. (2001). Effect of Feeding Frequency on Bacterial and Fungal Concentrations, pH, and other Parameters in the Rumen. Journal of animal science, 79(11), 2908-2912.

Eckburg, P.B., Lepp, P.W., ve Relman, D.A. (2003). Archaea ve their potential role in human disease. Infection ve İmmunity,

71(2), 591-596.

Eloff, A. K., and Van Hoven, W.(1980). Intestinal Protozoa of the African Elephant Loxodonta Africana (Blumenbach). African Zoology, 15(2), 83-90.

Ferry, J. G., and Kastead, K. A.(2007). Methanogenesis. In Archaea (pp. 288-314). American Society of Microbiology.

Forsberg, C. W., Beveridge, T. J., and Hellstrom, A.(1981). Cellulase and Xylanase Release mportance in the Rumen Environment. Applied and environmental microbiology, 42(5), 886-896.

Griffith, G. W., Baker, S., Fliegerova, K., Liggenstoffer, A., Van Der Giezen, M., Voigt, K., & Beakes, G. (2010). Anaerobic fungi: neocallimastigomycota. IMA fungus, 1, 181-185.

Griffith, G. W., Ozkose, E., Theodorou, M. K., and Davies, D. R.(2009). Diversity of Anaerobic Fungal Populations in Cattle Revealed by Selective Enrichment Culture Using Different Carbon Sources. Fungal Ecology, 2(2), 87-97.

Grubb, J. A., & Dehority, B. A. (1975). Effects of an abrupt change in ration from all roughage to high concentrate upon rumen microbial numbers in sheep. Applied Microbiology, 30(3), 404-412.

Gruby, D. (1843). Recherches sur des animalcules se development en grand nombre dans l'estomac et dans les intestins, pendant la digestion des animaux herbivores et carnivores. Comptes Rendus, 17, 1304-1308.

Henderson, G., Cox, F., Ganesh, S., Jonker, A., Young, W., & Janssen, P. H. (2015). Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. Scientific reports, 5(1), 14567.

Hespell RB, Aiken DE, Dehority BA.(1997). Bacteria, Fungi, and Protozoa in the Rumen. In: Mackie RI, White BA (eds), Gastrointestinal Microbiology, pp. 59 141. Chapman Hall, New York.

Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., and Lumbsch, H. T.(2007). A Higher-Level Phylogenetic Classification of the Fungi. Mycological research, 111(5), 509-547.

Hungate, R. E.(1966). The rumen and its microbes Academic Press New York and London.

Hungate, R. E.(1975). The Rumen Microbial Ecosystem. Annual Review of Ecology and Systematics, 6(1), 39-66.

Janssen, P. H., and Kirs, M.(2008). Structure of the Archaeal Community of the Rumen. Applied and Environmental Microbiology, 74(12), 3619-3625.

Kamra, D.N. 2005. Rumen Microbial Ecosystem. Current Science, 89 (1): 124-135.

Khairunisa, B. H., Heryakusuma, C., Ike, K., Mukhopadhyay, B., & Susanti, D. (2023). Evolving understanding of rumen methanogen ecophysiology. Frontiers in Microbiology, 14, 1296008.

Koetschan, C., Kittelmann, S., Lu, J., Al-Halbouni, D., & Jarvis, G. N. (2014). Internal Transcribed Spacer 1 Secondary Structure Analysis Reveals a Common.

Koike, S., & Kobayashi, Y. (2009). Fibrolytic rumen bacteria: their ecology and functions. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 22(1), 131-138.

Leedle, J. A., Bryant, M. P., and Hespell, R. B.(1982). Diurnal Variations in Bacterial Numbers and Fluid Parameters in Ruminal Contents of Animals Fed Low-Or High-Forage Diets. Applied and environmental microbiology, 44(2), 402-412.

Liggenstoffer, A. S., Youssef, N. H., Couger, M. B., and Elshahed, M. S.(2010). Phylogenetic Diversity and Community Structure of Anaerobic Gut Fungi (Phylum in Ruminant and Non-Ruminant Neocallimastigomycota) Herbivores. The ISME journal, 4(10), 1225.

Lowe, S. E., Griffith, G. G., Milne, A., Theodorou, M. K., and Trinci, A. P.(1987). The Life Cycle and Growth of an Anaerobic Rumen Kinetics Fungus. Microbiology, 133(7), 1815-1827.

McAllister, T. A., Bae, H. D., Jones, G. A., and Cheng, K. J.(1994). Microbial Attachment and Feed Digestion in the Rumen. Journal of Animal Science, 72(11), 3004-3018.

McSweeney, C. S., Dulieu, A., Katayama, Y., and Lowry, J. B.(1994). Solubilization Of Lignin by the Ruminal Anaerobic Fungus Neocallimastix Patriciarum. Applied and environmental microbiology, 60(8), 2985-2989.

Minato, H.(1993). Attachment of Microorganisms to Solid Substrate in the Rumen. Genetics, Biochemistry and Ecology of Lignocellulose Degradation.

Ogimoto, K., and Imai, S.(1981). Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Societies Press.

Orpin, C. G., and Joblin, K. N.(1997). The Rumen Anaerobic Fungi. In The Rumen Microbial Ecosystem (pp. 140-195). Springer, Dordrecht.

Patra, A. K., and Yu, Z.(2014). Effects of Vanillin, Quillaja Saponin, And Essential Oils on in Vitro Fermentation and Protein-Degrading Microorganisms of the Rumen. Applied Microbiology and Biotechnology, 98(2), 897-905.

Patterson JA.,(1992). Rumen Microbiology. Editor-in- Chief Lederberg, J. Encyclopedia of Microbiology. Academic press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. New York, 3, 623- 542.

Santra, A., Karim, S. A., & Chaturvedi, O. H. (2007). Rumen enzyme profile and fermentation characteristics in sheep as affected by treatment with sodium lauryl sulfate as defaunating agent and presence of ciliate protozoa. Small Ruminant Research, 67(2-3), 126-137.

Seshadri, R., Leahy, S. C., Attwood, G. T., Teh, K. H., Lambie, S. C., Cookson, A. L., and Paez-Espino, D.(2018). Cultivation and Sequencing of Rumen Microbiome Members From the Hungate1000 Collection. Nature Biotechnology, 36(4), 359.

Shin, E. C., Cho, K. M., Lim, W. J., Hong, S. Y., An, C. L., Kim, E. J., and Kim, H.(2004). Phylogenetic Analysis of Protozoa in

the Rumen Contents of Cow Based on the 18S Rdna Sequences. Journal of Applied Microbiology, 97(2), 378-383.

Solomon, R., Wein, T., Levy, B., Eshed, S., Dror, R., Reiss, V., ... & Jami, E. (2022). Protozoa populations are ecosystem engineers that shape prokaryotic community structure and function of the rumen microbial ecosystem. The ISME Journal, 16(4), 1187-1197.

Stewart, C. S., Flint, H. J., and Bryant, M. P.(1997). The rumen bacteria. The Rumen Microbial Ecosystem (pp. 10-72). Springer, Dordrecht.

Stewart, C. S., Fonty, G., & Gouet, P. (1988). The establishment of rumen microbial communities. Animal Feed Science and Technology, 21(2-4), 69-97.

Thurston, J. P. and Grain, J.(1971). Holotrich Ciliates From the Stomach of Hippopotamus Amphibius, With Descriptions of Two New Genera and four New Species. J. Protozool., , 18, 131141.

Van Der Giezen, M.(2009). Hydrogenosomes and Mitosomes: Conservation and Evolution of Functions 1. Journal of Eukaryotic Microbiology, 56(3), 221-231.

Williams, A. G. (1986). Rumen holotrich ciliate protozoa. Microbiological reviews, 50(1), 25-49.

Williams, A. G.(1979). The Selectivity of Carbohydrate Assimilation by the Anaerobic Rumen Ciliate Dasytricha Ruminantium. Journal of Applied Bacteriology, 47(3), 511-520.

Williams, A. G., and Coleman, G. S.(1985). Hemicellulose-degrading Enzymes in Rumen Ciliate Protozoa. Current Microbiology, 12(2), 85-90.

Yazdıç, F. C., Yazdıç, F., Kar, B., Özköse, E., & Ekinci, M. S. (2021). Anaerobik funguslarda hidrojenozomlar: Hidrojen üreten organeller. Mantar Dergisi, 12(2), 190-208.

Zhu, Z., and Noel, P. S. J (2016). Dynamics of Rumen Bacterial and Archaeal Communities in Dairy Cows over Different Lactation Cycle Stages. Section For Immunology and Microbiology, Aarhus University.

BÖLÜM II

Mikrofungusların Hücre Dışı Enzim Üretimlerinin Kalitatif Olarak Değerlendirilmesi

Gülçin ÖZCAN ATEŞ[1]

Giriş

Canlı yaşamındaki önemli biyolojik süreçlerde ve biyokimyasal yaşamın temelinde görev alan enzimler biyolojik katalizörlerdir. Dolayısıyla canlı yaşamı için enzimlere ihtiyaç vardır. Enzimler canlı organizmada doğal olarak üretilebildiği gibi yapay olarak da üretilebilmektedir. Protein yapıda olmaları nedeniyle de substrat özgüllüğüne sahiptirler. Çok farklı kimyasal reaksiyonları gerçekleştirmeleri sebebiyle en etkili doğal substrat dönüştürücüleridir (Adnan, Zafar & Anwar, 2024). Hücrelerin yakın çevrelerine salgılanan hücre dışı (esktrasellüler) enzimler ise hücrenin bulunduğu ortamlardan etkilenir ve mikroorganizmadaki metabolik faaliyetleri sonucunda oluşurlar (Krishan & ark., 2018).

[1] Dr. Öğr. Üyesi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Çanakkale/Türkiye, Orcid: 0000-0002-8467-2378, gulcinozcan87@gmail.com

Doğada en bol bulunan enzimler ise amilazlar, kitinazlar, lipazlardır ve selülazlardır (Adnan, Zafar & Anwar, 2024).

Enzimler, bitki, hayvan ve mikroorganizmalardan elde edilebilir. Özellikle mikroorganizmalar kültür ortamında kolay ve hızlı üretilebilmeleri, biyokimyasal süreçlerindeki çeşitlilik, genetik manipülasyon kolaylığı (daha fazla üretim, ekstrem koşullara direnç sağlanması vb) gibi faktörlerden dolayı enzim üretiminde kullanılmaktadır (Adnan, Zafar & Anwar, 2024). Mikroorganizmalardan mikrofunguslar ise hem karasal hem de sucul ortamlar ile ekstrem habitatlar da dahil olmak üzere hemen hemen tüm ekosistemlerde bulunabilen, filogenetik ve işlevsellik açısından farklılıklar gösteren mikroorganizmalardır (Grossart & ark., 2019; İrdem & ark., 2023). Mikrofunguslar özellikle karasal ekosistemlerde hem doğrudan hem de dolaylı olarak karbon ve besin döngülerinde rol oynayan organizmalar olup, ekosistemlerim temel işlevsel düzenleyicileridir ve besin zinciri dinamiklerinde önemli roller oynarlar (İrdem & ark., 2023; Manici & ark., 2024). Endüstriyel düzeyde parçalayıcı enzimlerin elde edilmesinde funguslardan yararlanılmaktadır (Manici & ark., 2024). Endüstriyel ölçekte enzimlerin birincil uygulama alanları ise tekstil, gıda ve sağlık sektörüdür. Enzimler biyoremediasyon, tekstil, ilaç, teşhis, deri üretimi, genetik mühendisliği ve sağlık endüstrileri gibi geniş bir yelpazede katma değeri yüksek endüstrilerde kullanılmaktadır (Adnan, Zafar & Anwar, 2024).

Amilaz Aktivitesi

Amilaz enzimi, mikroorganizmalar başta olmak üzere, bitkiler ve hayvanlar gibi farklı kaynaklardan elde edilebilirler. Mikroorganizmalarda amilaz enzimi hücre dışı sindirimi gerçekleştirmek için hücrenin dışına salgılanan bir enzimdir. Özellikle toprakta bulunan mikroorganizmalardan hücre dışına salınan amilaz enzimi topraktaki bitki atıklarında bulunan nişastanın

parçalanması sağlar. Dolayısıyla hemen her ortamda bulunabilen mikrofunguslar, nişastanın endüstriyel süreçlerde maltoz veya glikoza parçalanması için uygun amilaz enzim üretici kaynaklardır (Verma & Verma, 2018).

Amilaz enzimi kuru temizlemede kullanılan leke çıkarıcılar dahil olmak üzere deterjanlar, tekstil, gıda sektörü (fırıncılık, ekmek yapımı, glikoz ve fruktoz şurupları, tatlandırıcılar, meyve suları, alkollü içecekler vb.), biyoetanol gibi birçok farklı alan kullanılır ve endüstriyel olarak kullanılan enzimlerden %25'ini oluşturur (Verma & Verma, 2018). Bu nedenle mikrofungusların amilaz enzimi üretimi ile ilgili literatürde çalışmalar bulunmakta olup (Sunitha & ark., 2012; Krishnan & ark., 2022), kalitatif olarak amilaz enzimi üretimlerinin değerlendirilmesinde kullanılan bazı besiyerleri ve yöntemleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Amilaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri, inokülasyon hacmi, inkübasyon süresi ve sonuçların değerlendirilmesi

Besiyeri içeriği	**İnokülasyon miktarı**	**İnkübasyon süresi**	**Değerlendirme**	**Referans**
%0,2 nişasta (Soluble Starch) içeren Difco Nutrient Agar (pH: 6.0)	Oda sıcaklığında geliştirilen küf kolonilerin çapı 5-10 mm olunca sporları damıtılmış su ile toplanarak plaka başına yaklaşık 20 spor (yaklaşık 0,25 ml)	Oda sıcaklığı 3-5 gün	İnkübasyon sonra petrilere iyot çözeltisi eklenir ve koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Hankin & Anagnostakis, (1975)
%1 nişasta (Soluble Starch) içeren Minimal Medium ($NaNO_3$ 5 g/L, KH_2PO_4 0,5 g/L,	10^8 spor/mL içeren spor çözeltilerine Whatman No. 1 filtre kağıdından	25°C 7 gün	İnkübasyon sonrası petrilere Lugol çözeltisi (%1 iodine ve %2 potassium iodide) eklenir ve koloni	Fernandes & ark., (2012)

$MgSO_4$ 0,5 g/L) sterilize edilir ve sterilizasyon sonrası 20 mL/L tuz solüsyonu (KCl 26 g/L, $MgSO_4$ 26 g/L, KH_2PO_4 76 g/L) ve 0,4 mL/L iz element solüsyonu (Na_2B4O_7 0,04 g/L, $CuSO_4$ 0,4 g/L, $FeSO_4$ 0,01 g/L, $MgSO_4$ 0,8 g/L, $ZnSO_4$ 0,8 g/L) eklenir.	hazırlanan 5 mm çaplı steril diskler batırılarak kurutulur ve besiyerinin merkezine bırakılır.		etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	
%0,2 nişasta (Soluble Starch) içeren Glucose Yeast Extract Peptone Agar (Glucose 1 g/L, Yeast Extract 0,1 g/L, Peptone 0,5 g/L, Agar 16 g/L) pH: 6.0	PDA besiyerinde 6-7 gün geliştirilen taze kültürden 5 mm çaplı miselyum diski	Oda sıcaklığı 3-7 gün	İnkübasyon sonrası petrilere Lugol çözeltisi (1% iodine ve 2% potassium iodide) eklenir ve koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Sunitha,Devi, & Srinivas (2013)
Starch Agar (Himedia)	-	30°C 3 gün	İnkübasyon sonra petrilere iyot çözeltisi eklenir ve koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Mytili & ark., (2014)
%0,4 w/v nişasta (Soluble Starch) içeren R2A agar (Casein Acid Hydrolysate 0,5 g/L, Yeast Extract 0,5 g/L, Proteose Peptone 0,5 g/L, Dextrose 0,5 g/L, Soluble Starch 0,5 g/L, Dipotassium	PDA besiyerinde geliştirilen taze kültürden 6 mm çaplı miselyum diski	4°C 10 gün	İnkübasyon sonrası petrilere Lugol çözeltisi eklenir ve koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Krishan & ark., (2016)

Phosphate 0,3 g/L, Magnesium Sulfate 0,024 g/L, Sodium Pyruvate 0,3 g/L, Agar 15 g/L)				
Starch Agar Medium (Starch 20 g/L, Peptone 5 g/L, Beef extract 3 g/L, Agar 15 g/L)	Taze kültürden 4 mm çaplı miselyum diski	25ºC 3-4 gün	İnkübasyon sonra petrilere iyot çözeltisi eklenir 30 sn sonra fazla olan çözelti dökülür ve koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Verma & Verma (2018)
%0,2 nişasta (Soluble Starch) Minimal Agar	-	40ºC 5-10 gün	İnkübasyon sonrası petrilere Lugol çözeltisi eklenir ve koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Dendouga & Belhamra (2022)
Soluble Starch 20 g/L, Yeast Extract 1 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, $MgSO_4.7H_2O$ 1 g/L, Agar 20 g/L) (pH: 6.0)	Taze kültürden tek nokta ekimi	7 gün	İnkübasyon sonrası petrilere Lugol çözeltisi (%0,1 iodine ve %1 potassium iodide) eklenir ve koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	İrdem & ark., (2023)

Proteaz Aktivitesi

Proteazlar (peptidazlar veya proteolitik enzimler) doğada yaygın olarak bulunan peptit bağlarının hidrolizini katalize eden hidrolitik enzimlerdir. Proteinlerin katabolizması, proteinlerin membran boyunca taşınması gibi çok sayıda fizyolojik ve patolojik

süreçte önemli bir role sahiptirler. Hücre dışı proteazlar ise amino asitlerin yanı sıra küçük peptitler biçiminde proteinlerin hidrolizini sağlarlar ve azot metabolik süreçlerinde oldukça önemli rol oynarlar (Lechuga & ark., 2016; Maitig, Alhoot & Tiwari, 2018).

Proteazlar protein bazlı tekstil lekelerini giderme kapasiteleri nedeniyle deterjanlarda, deri endüstrisinde, ilaç endüstrisi ve biyoremediasyon, atık artımı gibi farlı uygulamalarda kullanılırlar. Bununla birlikte gıda sektöründe bira üretimi, peynir üretimi gibi farklı gıda üretim süreçlerinde kullanılmaktadır (Lechuga & ark., 2016; Maitig, Alhoot & Tiwari, 2018). Bu nedenle mikrofungusların proteaz enzimi üretimleri literatürde farklı çalışmalarda kalitatif değerlendirilmiş olup, bazı çalışmalarda kullanılan besiyerleri ve yöntemleri ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Proteaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri, inokülasyon hacmi, inkübasyon süresi ve sonuçların değerlendirilmesi

Besiyeri içeriği	**İnokülasyon miktarı**	**İnkübasyon süresi**	**Değerlendirme**	**Referans**
%0,4 gelatin içeren Difco Nutrient Agar (pH: 6.0) (Besiyeri hazırlanırken su ile %8'lik gelatin hazırlanarak ayrı olarak sterilize edilir ve sonra Nutrient Agar besiyerinin her 100 mL için 5 mL bu çözeltiden eklenir)	Oda sıcaklığında geliştirilen küf kolonilerin çapı 5-10 mm olunca sporları damıtılmış su ile toplanarak plaka başına yaklaşık 20 spor (yaklaşık 0,25 ml)	Oda sıcaklığı 3-5 gün	İnkübasyon sonrası gelatinin bozunmasına bağlı olarak koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif olarak değerlendirilir Ek olarak inkübasyon sonrası petrilere sulu doymuş amonyum sülfat ($(NH_4)_2SO_4$) çözeltisiyle eklenir kolonilerin etrafındaki	Hankin & Anagnostakis, (1975)

			şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	
%1 ve %4 gelatin içeren Minimal Medium ($NaNO_3$ 5 g/L, KH_2PO_4 0,5 g/L, $MgSO_4$ 0,5 g/L) sterilize edilir ve sterilizasyon sonrası 20 mL/L tuz solüsyonu (KCl 26 g/L, $MgSO_4$ 26 g/L, KH_2PO_4 76 g/L) ve 0,4 mL/L iz element solüsyonu (Na_2B4O_7 0,04 g/L, $CuSO_4$ 0,4 g/L, $FeSO_4$ 0,01 g/L, $MgSO_4$ 0,8 g/L, $ZnSO_4$ 0,8 g/L) eklenir.	10^8 spor/mL içeren spor çözeltilerine Whatman No. 1 filtre kağıdından hazırlanan 5 mm çaplı steril diskler batırılarak kurutulur ve besiyerinin merkezine bırakılır.	25°C 7 gün	İnkübasyon sonrası petrilere doymuş amonyum sülfat ($(NH_4)_2SO_4$) eklenir ve koloni etrafındak şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Fernandes & ark., (2012)
%0,4 gelatin içeren Glucose Yeast Extract Peptone Agar (GYP) Su ile %8 gelatin solüsyonu hazırlanarak ayrı olarak steril edilir. Daha sonra steril GYP agar besiyerinin her 100 mL için 5 mL %8 gelatin solüsyonundan eklenir. (pH: 6.0)	PDA besiyerinde 6-7 gün geliştirilen taze kültürden 5 mm çaplı miselyum diski	Oda sıcaklığı 3-7 gün	İnkübasyon sonrası gelatinin bozunmasına bağlı olarak koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif olarak değerlendirilir. Bununla birlikte petrilere doymuş sulu amonyum sülfatla eklenerek besiyerinin opak hale gelmesi sağlanır ve koloni etrafındaki şeffaf zon daha	Sunitha & ark., (2013)

			net gözlemlenebilir.	
Skim Milk Agar	-	30°C 3 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Mytili & ark., (2014)
Casein Hydrolysis Agar (KH_2PO_4 1 g/L, KCl 0,5 g/L, $MgSO_4.7H_2O$ 0,2 g/L, $CaCl_2.2H_2O$ 0,1 g/L, Powdered Skim Milk %15'lik 25 mL, Glikoz 10 g/L, Agar 12 g/L) (pH: 5.4) (121°C'de 10 dk sterilize edilir) (3,75 g yağsız süt tozu (Powdered Skim Milk) 25 ml damıtılmış suya eklenerek besiyerine eklenmeden önce kremsi bir dokuda homojen hale getirildikten sonra besiyerine eklenir.)	1 cm çapında steril kağıt diskler petrilerin ortasına yerleştirilir ve üzerine 1 x 10^6 konidia/mL hazırlanan solüsyondan 2 µL kağıt diske eklenir.	Oda sıcaklığı 6 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Lechuga, Zapata & Niño (2016)
25 g yağsız süt tozu 250 mL distile su ile iyice karıştırılır ve %2,5 agar süspansiyonu ile ayrı ayrı 121°C'de 15 dakika steril edilir. Sonra yağsız süt tozu ve agar çözeltileri yaklaşık 50°C sıcaklıkta karıştırılır. Bakteriyel üremeyi engellemek için besiyeri ortamına 1 mg/1000 ml ampisilin eklenir.	-	Oda sıcaklığı (27°C) 4 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Maitig, Alhoot & Tiwari, (2018)

%1 yağsız süt tozu içeren Minimal Agar	-	40ºC 5-10 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Dendouga & Belhamra, (2022)
Casein Hydrolysis Agar (KH_2PO_4 1 g/L, KCl 0,5 g/L, $MgSO_4.7H_2O$ 0,4 g/L, $CaCl_2.2H_2O$ 0,1 g/L, Powdered Skim Milk %15'lik 25 mL, Glikoz 10 g/L, Agar 12 g/L)	5 mm çaplı miselyum diski	25°C 10 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Gebremariam, Chekol & Assefa, (2022)
K_2HPO_4 1 g/L, $MgSO_4.7H_2O$ 0,5 g/L, KCl 0,5 g/L, Agar 16 g/L (121°C'de 15 dk sterilize edilir ve sterilizasyon işlemi sonrasında %3 steril süt eklenir.)	Taze kültürden tek nokta ekimi	25°C 7 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	İrdem & ark., (2023)

Lipaz Aktivitesi

Lipazlar, yağların gliserol ve serbest yağ asitlerini hidroliz eden yağ asitlerinin alkoliz, hidroliz, esterifikasyon ve transesterifikasyon gibi çeşitli reaksiyonlarını katalize eden hidrolizlar ailesine ait enzimlerdir. Lipazlar, yağ-su arayüzünde optimum enzimatik aktiviteye sahiptir ve su içermeyen ortamda ester bağlarını hidrolize etme yeteneğine de sahiptirler (Ülker & Karaoğlu, 2012; Chinaglia & ark., 2014; Lechuga & ark., 2016). Bakteri, maya ve mikrofungus gibi mikroorganizmalar ile bitki ve hayvanlardan lipaz enzimi izole edilmiştir (Ülker & Karaoğlu, 2012; Lechuga & ark., 2016). Fakat biyoteknolojik alanda kullanılan lipazların büyük bir kısmı mikroorganizmalardan elde edilmiştir

(Ülker & Karaoğlu, 2012; Chinaglia & ark., 2014). Bununla birlikte hücre dışı üretimleri ve katalitik potansiyelleri nedeniyle özellikle mikrofunguslar lipaz enzimi üretiminde kullanılmaktadır (Ülker & Karaoğlu, 2012). Lipazlar deri, deterjanlar, ince kimyasallar, gıda, süt ürünleri, kozmetik, ilaç, kağıt ve tekstil gibi farklı endüstriyel süreçlerde biyolojik olarak parçalanabilir polimer sentezinde kullanıldığı gibi biyodizel üretimde de kullanılmaktadırlar (Ülker & Karaoğlu, 2012; Lechuga & ark., 2016). Bu nedenle önemli biyokatalizör olan lipaz enzim aktivitesinin kalitatif belirlenmesi ile ilgili literatürdeki bazı yöntemler Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Lipaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri, inokülasyon hacmi, inkübasyon süresi ve sonuçların değerlendirilmesi

Besiyeri içeriği	**İnokülasyon miktarı**	**İnkübasyon süresi**	**Değerlendirme**	**Referans**
Peptone Agar medium (Difco pepton 10 g/L, NaCl 5 g/L, $CaC1_2.2H_20$ 0,1 g/L, Agar 20 g/L) (pH: 6.0) besiyeri ve Tween 20 ayrı ayrı 15 dk 121°C'de otoklavlanır ve besiyeri içerisine aseptik olarak %1 oranında eklenir.	Oda sıcaklığında geliştirilen küf kolonilerin çapı 5-10 mm olunca sporları damıtılmış su ile toplanarak plaka başına yaklaşık 20 spor (yaklaşık 0,25 ml)	Oda sıcaklığı 3-5 gün	Bir koloni tarafından lipaz enzimlerin oluşumu, ya enzim tarafından serbest bırakılan laurik asidin kalsiyum tuzunun kristallerinin oluşumu nedeniyle görünür bir çökelti olarak, ya da yağ asidi tuzunun tamamen parçalanması nedeniyle koloninin etrafında böyle bir çökeltinin	Hankin & Anagnostakis, (1975)

			temizlenmesi olarak tespit edilir.	
Peptone 5 g/L, Yeast Extract 3 g/L, Agar 15 g/L besiyeri 15 dk 121°C'de otoklavlanır ve 60 °C'ye soğutulduktan sonra içerisine filtre ile sterilize edilmiş tributyrin uygun konsantrasyonda besiyerine eklenir ve karışım 5 dakika boyunca karıştırılarak emülsifiye edildi. Homojenizasyondan işleminden hemen sonra, 7 mL besiyeri dikey test tüplerine eklenir.	30 °C'de 7 gün boyunca Malt Extrat Agar besiyerinde geliştirilen taze kültürden 12 mm çaplı miselyum diski	30 °C 24 saat aralıkla ölçüm	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Ülker & Karaoğlu, (2012)
Peptone Agar medium (Peptone 10 g/L, NaCl 5 g/L, $CaCl_2.H_2O$ 0,1 g/L, Agar 16 g/L) (pH: 6.0) besiyeri ve Tween 20 ayrı ayrı 15 dk 121°C'de otoklavlanır ve besiyeri içerisine aseptik olarak %1 oranında eklenir.	PDA besiyerinde 6-7 gün geliştirilen taze kültürden 5 mm çaplı miselyum	Oda sıcaklığında 3-7 gün	Laurik asitin kalsiyum tuzlarının oluşumu sonucu koloni etrafında görülen çökelti lipaz aktivitesinin pozitif olduğunu gösterir.	Sunitha & ark., (2013)
%1 v/v'lik Tributyrin + %0,1 Tween 80 ve %0,5 v/v'lik zeytinyağı + %0,05 Tween 80 içeren bazal besiyeri	1 x 10^6 konidia/mL	25°C 7 -14 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Chinaglia & ark., (2014)
%1 Tributyrin içeren Potato Dekstroz Agar	-	30°C 3 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon	Mytili & ark., (2014)

			pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	
NaH_2PO_4 1,2 g/L, $MgSO_4.7H_2O$ 0,3 g/L, KH_2PO_4 2 g/L, $CaCl_2$ 0,25 g/L, NaCl 0,03 g/L, Agar 20 g/L, $(NH_4)_2SO_4$ 10 g/L, zeytinyağı 20 mL/L	5 mm çaplı miselyum diski	25°C 10 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Gebremariam, Chekol & Assefa, (2022)
% 0,01 $CaCl_2$ içeren %1 Tween 20 içeren Minimal Agar	-	40ºC 5-10 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Dendouga & Belhamra, (2022)
Peptone 5 g/L, Yeast Extract 3 g/L, Agar 20 g/L (pH: 6.0) besiyeri 15 dk 121°C'de otoklavlanır ve sonra %1 Tributyrin eklenir güzelce karıştırılır ve petrilere dökülür.	Taze kültürden tek nokta ekimi	25°C 7 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	İrdem & ark., (2023)

Selülaz Aktivitesi

Selüloz β1–4' bağlı glikoz birimlerinden oluşan bitki hücre duvarının temel bileşeni olup, en bol bulunan ve uzun polimer yapıda bir polisakkarittir. Selülozun yanında bitki hücre duvarında hemiselüloz ve ligninde bulunur. Dünyadaki selüloz biyokütlesinin yaklaşık $1,5x10^{12}$ ton olduğu, kuru biyokütlesinin ise $1,85\text{-}2,4\ x10^{12}$ ton olduğu tahmin edilmektedir (El-Said & ark., 2014; de Melo & ark., 2018). Bu nedenle neredeyse tükenmeyen bir polisakkarit kaynağı olan selülozun parçalanması kullanılabilir hale gelmesi biyoteknolojik açıdan oldukça önemlidir. Lignoselülozun şekerlere parçalanması kimyasal veya enzimatik ya da ikisinin kombinasyonu

ile yapılabilir. Lignoselülozun enzimle parçalanmasında selülaz, lakkaz ve lipaz enzimleri birlikte rol oynar. Lipaz lignoselülozun parçalanması sırasında katalizör işlevinde olup, parçalanması sırasında oluşan asitleri ve reçineyi parçalar (de Melo & ark., 2018). Endüstriyel proseslerde kullanımları göz önüne alındığında selülaz, toplam dünya enzim miktarının %20'sini oluşturur. Bu nedenle literatürde selülaz enziminin belirlenmesi ile ilgili farklı çalışmalar olup, bazı çalışmalara ait bilgiler Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Selülaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri, inokülasyon hacmi, inkübasyon süresi ve sonuçların değerlendirilmesi

Besiyeri içeriği	**İnokülasyon miktarı**	**İnkübasyon süresi**	**Değerlendirme**	**Referans**
%0,01 ve %0,4 carboxymethylcellulose içeren R2A Agar (Casein Acid Hydrolysate 0,5 g/L, Yeast Extract 0,5 g/L, Proteose Peptone 0,5 g/L, Dextrose 0,5 g/L, Soluble Starch 0,5 g/L, Dipotassium Phosphate 0,3 g/L, Magnesium Sulfate 0,024 g/L, Sodium Pyruvate 0,3 g/L, Agar 15 g/L)	PDA besiyerinde geliştirilen taze kültürden 6 mm çaplı miselyum diski	4°C 10 gün	İnkübasyon sonrası petrilere koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Krishan & ark., (2016)
%1 carboxymethylcellulose içeren Minimal Medium (NaNO3 5 g/L, KH2PO4 0,5 g/L, MgSO4 0,5 g/L) sterilize edilir ve sterilizasyon sonrası 20 mL/L tuz solüsyonu (KCl 26 g/L, MgSO4 26 g/L, KH2PO4 76 g/L) ve 0,4 mL/L iz element solüsyonu (Na2B4O7 0,04 g/L, CuSO4 0,4 g/L, FeSO4 0,01 g/L, MgSO4 0,8 g/L, ZnSO4 0,8 g/L) eklenir.	10^8 spor/mL içeren spor çözeltilerine Whatman No. 1 filtre kağıdından hazırlanan 5 mm çaplı steril diskler batırılarak kurutulur ve besiyerinin merkezine bırakılır.	25°C 7 gün	İnkübasyon sonrası petrilere Kongo red çözeltisinden eklenir 15 dk bekletilir ve sonra boya 4 M NaCl ile uzaklaştırılır ve koloni etrafındaki zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Fernandes & ark., (2012)

%0,5 carboxymethylcellulose içeren Glucose Yeast Extract Peptone Agar	PDA besiyerinde 6-7 gün geliştirilen taze kültürden 5 mm çaplı miselyum	Oda sıcaklığı 3-5 gün	İnkübasyon sonrası petrilere %0,2 sulu Kongo red çözeltisinden eklenir 15 dk bekletilir ve sonra boya 1 M NaCl ile uzaklaştırılır ve koloni etrafındaki zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Sunitha & ark., (2013)
%0,5 carboxymethylcellulose içeren Czapek-Dox Agar	-	30°C 3 gün	İnkübasyon sonrası petrilere Kongo red çözeltisinden eklenir 15 dk bekletilir ve sonra boya 1 M NaCl ile uzaklaştırılır ve koloni etrafındaki zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Mytili & ark., (2014)
%1 carboxymethylcellulose içeren Minimal Agar	-	40ºC 5-10 gün	İnkübasyon sonrası petrilere Kongo red çözeltisinden eklenir ve koloni etrafındaki zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir	Dendouga & Belhamra, (2022)
%1 carboxymethylcellulose içeren Czapek-Dox Agar (pH: 5.0)	Taze kültürden tek nokta ekimi	27°C 7 gün	İnkübasyon sonrası petrilere %1'lik Kongo red çözeltisinden eklenir 15 dk	İrdem & ark., (2023)

			bekletilir ve sonra boya 1 M NaCl ile uzaklaştırılır ve koloni etrafındaki zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	

Lakkaz Aktivitesi

Lakkazlar, polifenol oksidaz ailesine ait p -difenol:dioksijen oksidoredüktaz, askorbik asit oksidaz ve seruloplazmin gibi enzimleri de içeren çoklu bakır oksidazlardır (Mayer & Staples, 2002). Mikroorganizmalar, bitkiler ve böceklerde bulunur. Hem fenolik hem de fenolik olmayan maddeleri oksitleme yeteneğine sahiptir. Aromatik aminler ve yağ aminleri, polifenoller gibi çeşitli aromatik substratlar ile kovalent reaksiyona girerek tek elektron oksidasyonu ile oksitleyerek katalize eden çapraz bağlanmayı başlatan spesifik enzimlerdir (Khatami & ark., 2022; Sani & ark., 2024). Lakkaz enzimi sahip olduğu işlevsel ve yapısal özellikleri nedeniyle atık sudan detoksifikasyon, biyoremediasyon, ağaç işleme endüstrileri, kağıt hamurunun ağartılması, tekstil endüstrisinde boyama, gıda endüstrilerinde biyoteknolojik kullanımlar, nanobiyoteknoloji, fenolik ve amin substratlarından organik madde üretimi, biyorafinasyon, ve biyoyakıtlar gibi çok çeşitli kimyasal prosesleri ve endüstriyel süreçlerde kullanılmaktadır (Khatami & ark., 2022; Sani & ark., 2024).

Lakkaz enzimi özellikle mikrofunguslardan elde edilse de endüstriyel süreçlerin de üretimle ilgili hala sorunlar bulunmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar en uygun mikroorganizma arayışına devam etmekte (Khatami & ark., 2022) olup, literatürde lakkaz enziminin kalitatif olarak belirlenmesinde kullanılan bazı yöntemler Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Lakkaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri, inokülasyon hacmi, inkübasyon süresi ve sonuçların değerlendirilmesi

Besiyeri içeriği	İnokülasyon miktarı	İnkübasyon süresi	Değerlendirme	Referans
0.25 g/L 2,2′-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) içeren Malt Extract Agar (90 mm, 25 mL/plaka)	MEA besiyerinde geliştirilen taze kültürden 7 mm çaplı miselyum	25°C 14 gün	Koloni etrafındaki yeşil halka pozitif reaksiyonu gösterir	Badrian & ark., (2010)
0,05 g/L 1-napthol içeren Glucose Yeast Extract Peptone Agar medium (pH: 6.0)	PDA besiyerinde 6-7 gün geliştirilen taze kültürden 5 mm çaplı miselyum	Oda sıcaklığı 3-7 gün	Koloni geliştikçe renksiz ortam, lakkaz tarafından 1-naftolün oksidasyonu nedeniyle maviye döner	Sunitha & ark., (2013)

Pektinaz Aktivitesi

Pektin α (1−4) bağlı d -galakturonik asit kalıntılarından oluşan yüksek molekül ağırlıklı asidik heteropolisakkaritler olup yüksek bitkilerin orta lamel ve birincil hücre duvarının önemli bir bileşenidir. Homogalakturonan (HG), rhamnogalakturonan I (RGI) ve rhamnogalakturonan II (RGII) olmak üzere 3 pektik polisakkarit grubu bulunur ve az ya da çok hepsi d -galakturonik asit içerir (KC & ark., 2020). Hücrenin sertliğini ve yapısını sağlayan pektin sebze ve meyve dokularının depolanması, büyümesi ve gelişmesinde önemlidir. Hücre duvarı dışında pektin büyüme faktörlerinde ve enzimlerde, duvar gözenekliliğinde, hücre- hücre yapışmasında, hücre genişlemesinde iyonların bağlanmasında, morfogenezde, savunmada, sinyallemede, polen tüpünün büyümesinde, tohum hidrasyonunda, yaprak dökülmesinde gibi süreçlerde de önemli rol oynar. (Shrestha,Rahman & Qin, 2021). Pektin kimyasal ya da enzimatik yollarla parçalanabilir. Meyvelerin olgunlaşması sırasında

pektinaz enzimiyle pektinin parçalanmasına bağlı olarak ise meyve de yumuşama görülebilir.

Pektinaz enzimi özellikle gıda endüstrisinde meyve suyu üretim hatlarında kullanılmaktadır. Pektinin pektinaz enzimi ile parçalanması sonucu pektin bakımından zengin meyve suyunun vizkozitesini azaltıp, meyve suyunun akışı artar ve presleme süresi azalır. Ayrıca pektinaz işlemi berraklaştırma amacıyla şarap üretiminde, turunçgil kabuklarını çıkarılması ve yağ çıkarma gibi farklı süreçlerde de kullanılmaktadır (Heerd & ark., 2012). Gıda endüstriyel süreçleri de göz önüne alındığında pektinaz enziminin belirlenmesi oldukça önemli olup, pektinaz enziminin kalitatif olarak değerlendirilmesi ile ilgili yapılan çalışmalar Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Pektinaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri, inokülasyon hacmi, inkübasyon süresi ve sonuçların değerlendirilmesi

Besiyeri içeriği	İnokülasyon miktarı	İnkübasyon süresi	Değerlendirme	Referans
500 mL mineral tuz çözeltisi, 1 yeast extract, 15 g agar, 5 g pektin (turunçgil veya elma) ve 500 ml damıtılmış su (pH: 7.0)	Oda sıcaklığında geliştirilen küf kolonilerin çapı 5-10 mm olunca sporları damıtılmış su ile toplanarak plaka başına yaklaşık 20 spor (yaklaşık 0,25 ml)	Oda sıcaklığı 3-5 gün	İnkübasyon sonrası petrilere %1'lik heksadesil trimetilammonyum bromür sulu çözeltisi eklenir ve koloni etrafındaki berrak bir zon pozitif aktiviteyi gösterir	Hankin & Anagnostakis, (1975)
Pectin Agar medium (Pectin 5 g/L, Yeast Extract 1g/L, Agar 15g/L) (pH: 5.0)	PDA besiyerinde 6-7 gün geliştirilen taze kültürden 5 mm çaplı miselyum	Oda sıcaklığı 3-7 gün	İnkübasyon sonrası petrilere %1'lik heksadesil trimetilammonyum bromür sulu çözeltisi eklenir ve koloni etrafındaki berrak bir zon pozitif aktiviteyi gösterir	Sunitha & ark., (2013)
%1,5 pektin içeren Czapek-Dox Agar	-	30°C 3 gün	İnkübasyon sonrası petrilere heksadesil trimetilammonyum bromür sulu çözeltisi eklenir ve koloni etrafındaki berrak bir zon pozitif aktiviteyi gösterir	Mytili & ark., (2014)

Kitinaz Aktivitesi

Fungusların hücre duvarlarında ve omurgasızların dış iskeletlerinde bulunan kitin önemli bir yapısal polimerdir (Yang & ark., 2007). Kitinaz enzimi ise kitinin yapısındaki N-asetil-D-glukozamin birimleri arasındaki β-1,4 glikozidik bağlarını kırarak oligomerlere ve monomerlere dönüştüren glikozil hidrolaz ailesine ait enzimlerdir (Adnan, Zafar & Anwar, 2024). Bakteriler, funguslar, bitkiler kitinaz enzimi üreticileri olup, daha az miktarda virüsler, aktinomisetler, böcekler de kitinaz enzimi üretmektedirler. Kitinaz enzimi üretimi canlılara patojen etkenlere karşı savunma, morfogenez, sindirim, hücre farklılaşması gibi farklı amaçlara sağlar. Biyoteknolojik açıdan ise kitin atıklarından kitin hidrolizasyonu yoluyla tek hücre proteinlerin üretilmesi amacıyla faydalanılmaktadır (Lechuga & ark., 2016; Adnan, Zafar & Anwar, 2024) Bununla birlikte kitinaz enzimi kirlilik yönetimi ve biyoremediasyon açısından da oldukça önemlidir (Adnan, Zafar & Anwar, 2024). Kitinaz enziminin endüstriyel süreçte üretiminde bazı büyük problemler vardır. Kitinin kimyasal yapısı çok karışıktır ve suda çözünmezken üretimi çok maliyetlidir. Bununla birlikte endüstriyel süreçlerdeki görevleri dikkate alındığında her geçen gün bu enzime olan gereksinim artmaktadır. Bu nedenle kitinaz enzimi üretimiyle ilgili mikrofunguslardan kalitatif olarak değerlendirilmesinde kullanılan bazı yöntemler Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Kitinaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan besiyerleri, inokülasyon hacmi, inkübasyon süresi ve sonuçların değerlendirilmesi

Besiyeri içeriği	**İnokülasyon miktarı**	**İnkübasyon süresi**	**Değerlendirme**	**Referans**
Bromocresol purple agar (colloidal chitin 4,5 g/L, $MgSO_4.7H_2O$ 0,3 g/L, $(NH_4)SO_4$ 3 g/L, KH_2PO_4 2 g/L, monohydrate citric acid 1 g/L, agar 15 g/L, Bromocresol Purple 0,15 g/L, Tween 80 200 µL (pH: 4.7)	1 cm çapında steril kağıt diskler petrilerin ortasına yerleştirilir ve üzerine 1 x 10^6 konidia/mL hazırlanan solüsyondan 2 µL kağıt diske eklenir.	Oda sıcaklığı 6 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Lechuga, Zapata & Niño (2016)
%0,3 kitin içeren Minimal agar	-	40ºC 5-10 gün	İnkübasyon sonrası koloni etrafında boyanmayan şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Dendouga & Belhamra (2022)
Chitin-agar medium ($(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, KCl 0,5 g/L, NaCl 5 g/L, $MgSO_4$ 0,5 g/L, $FeSO_4$ 0,01 g/L, agar–agar 20 g/L, colloidal chitin 5 g/L)	5 mm çaplı miselyum diski	25°C 10 gün	İnkübasyon sonra petrilerde koloni etrafındaki şeffaf zon pozitif sonuç olarak değerlendirilir.	Gebremariam, Chekol & Assefa, (2022)

Sonuç

Çalışmalardan da görüldüğü gibi mikrofunguslarda enzim aktivitelerinin kalitatif değerlendirilmesinde farklı yöntemler ve besiyerleri kullanılmıştır. Mikroorganizmaların enzim üretimleri ile ilgili olarak mikroorganizmanın izole edildiği ortam, yaşam koşulları gibi birçok faktör göz önüne alındığında enzim üretimlerinin kalitatif olarak değerlendirilmesinde standart bir yöntem bulmak zordur. Çünkü her mikroorganizmanın optimum gelişme istekleri farlılık göstermektedir. Tüm bunlara ek olarak günümüz endüstriyel süreçleri, iklim değişikliği ve artan çevresel kirlilikler dikkate alındığında daha güvenli ve düşük maliyetli üretilebilecek, farklı ekstrem çevre koşullarında da aktif olabilecek enzimlerin belirlenmesi çok önemlidir. Mikroorganizmaların keşfedilmeyi bekleyen dünyasında hem biyoçeşitliliğin belirlenmesi hem de bu mikroorganizmaların insan yaşamına yapacağı katkıların belirlenmesi eklenecek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Kaynakça

Adnan, M., Zafar, M., & Anwar, Z. (2024). Screening of Chitinolytic Microfungi and Optimization of Parameters for Hyperproduction of Chitinase Through Solid-State Fermentation Technique. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(4), 1840-1862. https://doi.org/10.1007/s12010-023-04663-y

Baldrian, P., Voříšková, J., Dobiášová, P., Merhautová, V., Lisá, L., & Valášková, V. (2011). Production of extracellular enzymes and degradation of biopolymers by saprotrophic microfungi from the upper layers of forest soil. *Plant and Soil*, 338, 111-125. https://doi.org/10.1007/s11104-010-0324-3

Chinaglia, S., Chiarelli, L. R., Maggi, M., Rodolfi, M., Valentini, G., & Picco, A. M. (2014). Biochemistry of lipolytic enzymes secreted by Penicillium solitum and Cladosporium cladosporioides. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 78(2), 245-254. https://doi.org/10.1080/09168451.2014.882752

de Melo, M., V Araujo, A. C., N Chogi, M. A., & S Duarte, I. C. (2018). Cellulolytic and lipolytic fungi isolated from soil and leaf litter samples from the Cerrado (Brazilian Savanna). *Revista de Biología Tropical*, 66(1), 237-245. http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v66i1.27768

Dendouga, W., & Belhamra, M. (2022). Screening of halotolerant microfungi isolated from hypersaline soils of Algerian Sahara for production of hydrolytic enzymes. *Journal of Biological Research-Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale*, 95(1). https://doi.org/10.4081/jbr.2022.10167

El-Said, A. H. M., Saleem, A., Maghraby, T. A., & Hussein, M. A. (2014). Cellulase activity of some phytopathogenic fungi isolated from diseased leaves of broad bean. *Archives of Phytopathology And Plant Protection*, 47(17), 2078-2094. https://doi.org/10.1080/03235408.2013.868698

Fernandes, E. G., Valério, H. M., Feltrin, T., & Sand, S. T. V. D. (2012). Variability in the production of extracellular enzymes by entomopathogenic fungi grown on different substrates. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 827-833. https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000200049

Gebremariam, A., Chekol, Y., & Assefa, F. (2022). Extracellular enzyme activity of entomopathogenic fungi, Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae and their pathogenicity potential as a bio-control agent against whitefly pests, Bemisia tabaci and Trialeurodes vaporariorum (Hemiptera: Aleyrodidae). *BMC research notes*, 15(1), 117. https://doi.org/10.1186/s13104-022-06004-4

Grossart, H. P., Van den Wyngaert, S., Kagami, M., Wurzbacher, C., Cunliffe, M., & Rojas-Jimenez, K. (2019). Fungi in aquatic ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 17(6), 339-354. https://doi.org/10.1038/s41579-019-0175-8

Hankin, L., & Anagnostakis, S. L. (1975). The use of solid media for detection of enzyme production by fungi. *Mycologia*, 67(3), 597-607. https://doi.org/10.2307/3758395

Heerd, D., Yegin, S., Tari, C., & Fernandez-Lahore, M. (2012). Pectinase enzyme-complex production by Aspergillus spp. in solid-state fermentation: a comparative study. *Food and*

Bioproducts Processing, *90*(2), 102-110. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.08.003

İrdem, E., İlhan, S., Özbiçen, E., Kyzy, L. U., Tunca, G., Ocak, E., Zorluer, N. C., Çiğdem, U, Ayva Söğüt, F., Demirel, R. (2023). Screenıng Of Mıcrofungı Isolated From Acıgöl, Türkiye For Hydrolytıc Enzymes, Bıoactıve Metabolıtes And Sılver Nanopartıcle Productıon. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 24(1): 51-62. https://doi.org/10.23902/trkjnat.1190972

KC, S., Upadhyaya, J., Joshi, D. R., Lekhak, B., Kumar Chaudhary, D., Raj Pant, B., ... & Raghavan, V. (2020). Production, characterization, and industrial application of pectinase enzyme isolated from fungal strains. *Fermentation*, 6(2), 59. https://doi.org/10.3390/fermentation6020059

Khatami, S. H., Vakili, O., Movahedpour, A., Ghesmati, Z., Ghasemi, H., & Taheri-Anganeh, M. (2022). Laccase: Various types and applications. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 69(6), 2658-2672. https://doi.org/10.1002/bab.2313

Krishnan, A., Alias, Z., Convey, P., González-Aravena, M., Smykla, J., Rizman-Idid, M., & Alias, S. A. (2022). Temperature and pH profiling of extracellular amylase from Antarctic and Arctic soil microfungi. *Fermentation*, 8(11), 601. https://doi.org/10.3390/fermentation8110601

Krishnan, A., Convey, P., Gonzalez, M., Smykla, J., & Alias, S. A. (2018). Effects of temperature on extracellular hydrolase enzymes from soil microfungi. *Polar Biology*, 41, 537-551. https://doi.org/10.1007/s00300-017-2215-z

Krishnan, A., Convey, P., Gonzalez-Rocha, G., & Alias, S. A. (2016). Production of extracellular hydrolase enzymes by fungi from King George Island. *Polar Biology*, 39, 65-76. https://doi.org/10.1007/s00300-014-1606-7

Lechuga, E. G. O., Zapata, I. Q., & Niño, K. A. (2016). Detection of extracellular enzymatic activity in microorganisms isolated from waste vegetable oil contaminated soil using plate methodologies. *African Journal of Biotechnology*, 15(11), 408-416. https://doi.org/10.5897/AJB2015.14991

Maitig, A. M. A., Alhoot, M. A., & Tiwari, K. (2018). Isolation and screening of extracellular protease enzyme from fungal isolates of soil. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 12(4). https://microbiologyjournal.org/isolation-and-screening-of-extracellular-protease-enzyme-from-fungal-isolates-of-soil/

Manici, L. M., Caputo, F., De Sabata, D., & Fornasier, F. (2024). The enzyme patterns of Ascomycota and Basidiomycota fungi reveal their different functions in soil. *Applied Soil Ecology*, 196, 105323. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105323

Mayer, A. M., & Staples, R. C. (2002). Laccase: new functions for an old enzyme. *Phytochemistry*, 60(6), 551-565. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00171-1

Mythili, A., Singh, Y. R. B., Priya, R., Hassan, A. S., Manikandan, P., Panneerselvam, K., ... & Shobana, C. S. (2014). In vitro and comparative study on the extracellular enzyme activity of molds isolated from keratomycosis and soil. *International Journal of Ophthalmology*, 7(5), 778. https://doi.org/10.3980/j.issn.2222-3959.2014.05.07

Sani, M. A., Priyadarshi, R., Zhang, W., Khezerlou, A., & Rhim, J. W. (2024). Innovative application of laccase enzyme in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 104623. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104623

Shrestha, S., Rahman, M. S., & Qin, W. (2021). New insights in pectinase production development and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, 9069-9087. https://doi.org/10.1007/s00253-021-11705-0

Sunitha, V. H., Devi, D. N., & Srinivas, C. (2013). Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural* Sciences, 9(1), 01-09. https://doi.org/10.5829/idosi.wjas.2013.9.1.72148

Sunitha, V. H., Ramesha, A., Savitha, J., & Srinivas, C. (2012). Amylase production by endophytic fungi Cylindrocephalumsp. isolated from medicinal plant Alpinia calcarata (Haw.) Roscoe. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(3), 1213. https://doi.org/10.1590/S1517-838220120003000049

Ülker, S., & Karaoğlu, Ş. A. (2012). Purification and characterization of an extracellular lipase from Mucor hiemalis f. corticola isolated from soil. *Journal of bioscience and bioengineering*, 114(4), 385-390. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.04.023

Verma, P., & Verma, R. K. (2018). Qualitative estimation of amylase enzyme activity of fungal species isolated from iron ore mined overburden soil. *Tropical Plant Research*, 5(3), 396-404. https://doi.org/10.22271/tpr.2018.v5.i3.049

Yang, J., Tian, B., Liang, L., & Zhang, K. Q. (2007). Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 75, 21-31. https://doi.org/10.1007/s00253-007-0881-4

BÖLÜM III

2020-2024 Yılları Arası Kütahya İli Biyolojik Çeşitlilik İzleme ve Koruma Çalışmaları

Leyla ORMAN[1]
Nüket Akanıl BİNGÖL[2]
Betül AKIN[3]
Ece Gökçe Çakır DİNDAR[4]

Giriş

Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinin kesişim noktasında yer alan ülkemiz zengin bir floristik yapıya sahip olup yaklaşık 10.460 tür, 2.066 alt tür, 888 varyete ve 287 melez takson yayılış göstermektedir. Taksonlardan yaklaşık %32'si endemik olup sayısı 4.319'dur (Özhatay & ark., 2022). Endemizmin

[1] Mühendis, Tarım Orman Bakanlığı, DKMP Genel Müdürlüğü, Kütahya Şube Müdürlüğü, Kütahya/Türkiye, Orcid: 0009-0006-5131-0801, leyla.orman@tarimorman.gov.tr
[2] Dr. Öğr. Üyesi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kütahya/Türkiye, Orcid: 0000-0003-2797-3729, nuket.abingol@dpu.edu.tr
[3] Doç. Dr., Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kütahya/Türkiye, Orcid: No:0000-0002-2325-7496, betul.akin@dpu.edu.tr
[4] Dr. Öğr. Üyesi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kütahya/Türkiye, Orcid: 0000-0002-9402-4091

ülkemizde bu kadar yüksek olmasının nedenlerinin başında, iklimsel çeşitlilik, topoğrafik çeşitlilik, jeolojik ve jeomorfolojik çeşitlilik, farklı sucul ortam çeşitliliği, 0-5.000 metreler arasında değişen yükseklik farklılıkları, 3 farklı bitki coğrafyası bölgesinin birleştiği yerde olması, Anadolu diyagonali sınır kabul edilirse, doğusu ve batısı arasında ekolojik farklılıklar bulunması gelmektedir (Erik & Tanrıkahya, 2004; Kaya & Aksakal, 2005).

Kütahya ili 38˚70′ ve 39˚80′ kuzey enlemleri ile 29˚00′ ve 30˚30′ doğu boylamları arasında İç Batı Anadolu Bölümü'nde bulunmaktadır (Tel, 2012; Güner & ark., 2012). Kütahya ili Türkiye topraklarının yaklaşık %1,5'ini kaplamakta olup, İran-Turan ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinin geçiş noktasında yer almaktadır. Gümüş dağı ve Yellice dağlarında *Fagus orientalis* Lipsky ve *Corylus avellana* L. varlığı Avrupa-Sibirya fitocoğrafik bölgeye yakınlığını ifade etmektedir (Tel, 2012). Kütahya il sınırları içerisinde organik topraklar, alüvyal topraklar, hidromorfik alüvyal topraklar, kolüvyal topraklar, kireçsi kahverengi orman toprakları, yüksek dağ çayır toprakları, kahverengi orman toprakları, kırmızımsı kestane rengi toprakları, redzinalar, kahverengi topraklar ve kırmızı kahverengi topraklar olmak üzere çok sayıda büyük toprak grubu bulunmaktadır (Doğa Koruma ve Milli Parklar, 2017). Ayrıca Kütahya'da 930 m (Kütahya Ovası)'den 2.312 m yüksekliğe (Murat Dağı ve Eğrigöz Dağları) kadar değişen yükseklik farklılıkları da mevcuttur (Anonim, 2014).

Ülkemizin bu olağanüstü zengin biyolojik çeşitliliğinin gelecek nesillere aktarılmasını sağlamak, biyolojik çeşitliliğin tür, habitat ve ekosistem düzeyinde etkin korunması ve sürdürülebilir kullanımının sağlanması amacıyla günümüzde gerek küresel ölçekte gerekse ulusal ölçekte pek çok çalışmalar yapılmıştır (Duman & ark., 2024; Akalın, Gürdal & Olcay, 2020). Bu bağlamda; Ülkemiz bu alanda çok sayıda girişim ve anlaşmaya imza atarak ve süreçlere katılarak biyolojik çeşitliliğin küresel ölçekte korunmasına yönelik çalışmalara destek vermiştir. Bunlardan birisi de 1992'de imzalanmış, 29 Ağustos 1996 tarih ve 4177 sayılı Kanun ile onaylanmış ve 12 Mayıs 1997 yılında ülkemizde yürürlüğe girmiş

olan Türkiye Biyolojik Çeşitlilik Sözleşmesi'dir. Bu sözleşmenin temel hedefleri; biyolojik çeşitliliğin korunması, biyolojik kaynakların sürdürülebilir kullanımı, genetik kaynakların kullanımından kaynaklanan faydaların adil ve hakkaniyete uygun paylaşım ilkelerinin gerçekleştirilmesidir. Bu sözleşme ile küresel, bölgesel ve yerel düzeyde koruma hedeflerinin gerçekleştirilmesi, biyolojik çeşitlilik unsurlarının gidişatının ortaya konulması, bu gidişatın takibi ve sürdürülebilirliğini sağlayacak tedbirlerin alınması ile etkin ve sürekli izleme faaliyetleri gerçekleştirilecektir (T.C. Resmi Gazete, 1996).

Bu doğrultuda 2013 yılında Türkiye genelinde Doğa Koruma ve Milli Parklar (DKMP) Genel Müdürlüğü tarafından 81 il için Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projeleri başlatılmış ve 2020 yılında bu projeler tamamlanmıştır (DKMP Genel Müdürlüğü, 2024). Kütahya ilinde de 2015-2017 yılları arasında Mülga Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'ne bağlı V. Bölge Müdürlüğü Kütahya Şube Müdürlüğü ile birlikte, Kütahya ilinin Karasal (orman, bozkır, alpin-subalpin, maki, pseudomaki, kumul, su kenarı, tarım, yerleşim vd.) ve iç su (Akarsu, göl vd.) ekosistemlerinin Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzlemesi işi yapılmıştır. Çalışma 03.11.2017 tarihinde tamamlanmış olup Kütahya ilinde 672'si literatür kaydı olmak üzere toplam 1.861 tür ve türaltı seviyesinde takson tespit edilmiş olup bunların 284'ünün endemik olduğu tespit edilmiştir. Kütahya ili Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzlemesi çalışması sonunda, damarlı bitkilere ait 6 takson için tür/popülasyon düzeyinde izleme çalışması uzmanlar tarafından önerilmiştir. Bu taksonlar; *Verbascum coronopifolium* (Boiss. & Balansa) Kuntze, *V. urobracteum* Hub.-Mor., *Scabiosa hololeuca* Bornm., *Alchemilla bursensis* B. Pawl., *Stachys cretica* L. subsp. *kutahyensis* Akçiçek, *Gentiana lutea* L.'dır (Doğa Koruma ve Milli Parklar, 2017).

Bu çalışmamızda Kütahya ilinde yayılış gösteren ve Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi sonucunda izlenmesine karar verilen 6 taksonun, bilimsel ismi, Türkçe ismi,

IUCN tehlike kategorisi, genel özellikleri ve izleme sonuçlarına yer verilmiştir.

1. Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi Sonucunda İzlenen Taksonlar ve İzleme Yöntemleri

Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi sonuçlandıktan sonra, DKMP Kütahya Şube Müdürlüğü tarafından izleme çalışmalarına 01.01.2018 tarihinden itibaren başlanmıştır. İlk adım olarak, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü 5. Bölge/Kütahya Şube Müdürlüğü ile Kütahya Dumlupınar Üniversitesi arasında 01.02.2019 tarihinde bir izleme protokolü imzalanmış ve bu protokole istinaden, Biyoloji bölümü öğretim üyeleri tarafından izleme çalışmalarına başlanmıştır.

İzleme çalışmaları Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün (2023) yayınlamış olduğu Tür İzleme Kılavuzu kapsamında yapılmıştır. Taksonlar ile ilgili detaylı literatür taraması yapılarak, bitkinin genel görünümü, kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyvelerinin morfolojik özellikleri tespit edilmiştir (Davis, 1972; Davis, 1978; Davis 1988; Akçiçek, 2010). Arazi çalışmaları, taksonların çiçeklenme ve tohuma kalkma zamanları dikkate alınarak yıl içinde planlanmıştır.

Taksonların Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi sonuç raporunda yer alan ve GPS koordinatları verilen alanlarda gözlemleri yapılmış, lokaliteleri teyit edilmiş ve örnekler toplanarak türün doğruluğu ilgili kaynaklar kullanılarak tespit edilmiştir (Davis, 1972; Davis, 1978; Davis 1988; Akçiçek, 2010). Gerekli görüldüğü durumlarda arazi çalışmaları sırasında yerel halk ile görüşmeler de yapılmıştır. Taksonların popülasyon yoğunluğunun belirlenmesinde doğrudan sayım yöntemi kullanılmış ve belirlenen alanlarda bulunan bireyler sayılarak not alınmıştır (Çiçek & Çapar, 2023).

1.1. *Verbascum* L. cinsi

Scrophulariaceae (Sıracaotugiller) familyasına ait olan *Verbascum* cinsi, dünyada 366 takson ile temsil edilmekte olup, ülkemizde bu cinse ait 256 tür bulunmaktadır. Bu türlerden 201'i Türkiye için

endemiktir. Ülkemizde *Verbascum* cinsi İran-Turan fitocoğrafik bölgesi içinde yer alan Batı, Güney ve İç Anadolu bölgelerinde yayılış göstermektedir. Kütahya ilinin içinde yer aldığı Ege bölgesi İç Batı Anadolu bölümünde bu cinse ait 23 takson bulunmaktadır (Çeçen, 2024; Kolata & Küçük, 2024; Duman, Uzunhisarcıklı & Özbek, 2021). Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi kapsamında Kütahya ilinde bu cinse ait *Verbascum coronopifolium* (Boiss. & Balansa) Kuntze ve *V. urobracteum* Hub.-Mor. türleri izlenmektedir.

Verbascum coronopifolium (Boiss. & Balansa) Kuntze

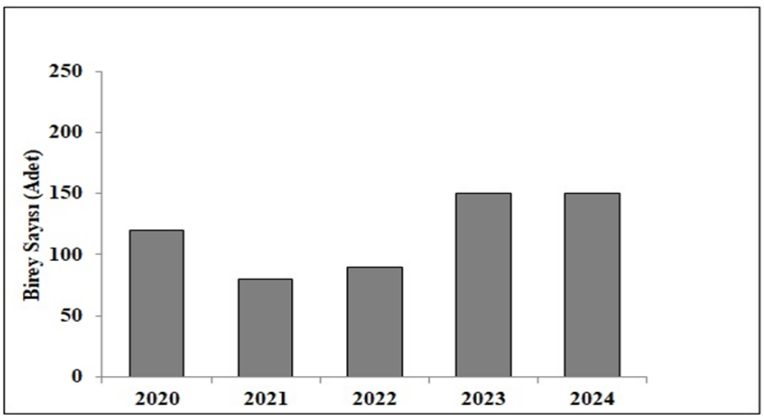
Türkçe adı	: Çoban sığırkuyruğu (Güner & ark., 2012)
Element	: İran-Turan (Güner & ark., 2012)
Endemiklik durumu	: Endemik (Güner & ark., 2012)
IUCN Tehlike Kategorisi	: CR (Ekim & ark., 2000)

V. coronopifolium çok yıllık otsu bir bitki olup kayalık, dağlık alanlarda 1.200 – 2.100 m yükseklikte yetişmektedir. 30-55 cm'ye kadar boylanabilen bitkinin taban yaprakları 3-6 x 0,3-0,5 cm ebatlarında, kaşıksı-şeritsi olup çentikli-dişli kenarlıdır. Gövde yaprakları taban yapraklarına benzer olup daha küçüktür. Çiçek durumu gevşek ve 20-50 çiçeklidir (Davis, 1978; Güner & ark., 2014). Haziran- Temmuz aylarında çiçeklenen bitki, ülkemizde Balıkesir, Çanakkale ve Kütahya'da yayılış göstermektedir. *V. coronopifolium* Kütahya ilinde Murat Dağı Kesik Söğüt Mevkii subalpin zonda yetişen endemik taksondur (Karavelioğullari & Aytaç 2008; Şekil 1).

Şekil 1: Verbascum coronopifolium

(Fotoğraf: Leyla ORMAN)

2020 yılından itibaren her yıl Mayıs-Temmuz ayları içerisinde yapılan izleme çalışmalarında sahada 2020 yılında 120 adet birey gözlenmişken, en yüksek birey sayısı 150 adet birey ile 2023 yılında gözlemlenmiştir. 2024 yılında ise birey sayısında değişiklik görülmemiştir (Grafik 1). Türün birey sayıları çok az ve yayılış alanları ise çok dardır. İlgi tür ile ilgili 1 adet tez çalışılması yürütülmektedir.



Grafik 1: Verbascum coronopifolium'un

yıllara göre birey sayısı

Verbascum urobracteum Hub.-Mor.

Türkçe adı	: Yol sığırkuyruğu (Güner & ark., 2012)
Elementi	: İran-Turan (Güner & ark., 2012)
Endemiklik durumu	: Endemik (Güner & ark., 2012)
IUCN Tehlike Kategorisi	: EN (Ekim & ark., 2000)

V. urobracteum iki yıllık otsu bir bitki olup, habitat olarak yol kenarlarını tercih etmektedir. 60-70 cm'ye kadar boylanabilen, yatık grimsi beyaz kaba tüylü, üstte kalıcı, altta hemen tüysüzcedir. Gövde birkaç kısa dallıdır. Bitkinin taban yaprakları 6-14 x 2,5-5 cm ebatlarında, tersyumurtamsı-geniş mızraksı olup yaprak kenarları kütdişçikliden dümdüze kadar değişir. Yaprak uçları sivri-kısa sipsivri; tabanı ise kamamsıdır. Gövde yaprakları taban yapraklarına benzer olup üst yapraklar yumurtamsı-mızraksı; uç kısmı sipsivridir. Çiçek durumu silindirik, altta dallanmış, 4-7 çiçekten oluşan kalabalık kümelenmiş haldedir. Haziran ayında çiçeklenen bitki, Eskişehir de yayılış göstermektedir (Davis, 1978; Güner & ark., 2014). *V. urobracteum* Eskişehir-Kütahya karayolunda güneybatı yönü 39. km üzerinde bulunan endemik bir taksondur (Tel, 2012).

2020 yılından itibaren her yıl Mayıs-Temmuz ayları içerisinde Kütahya merkez ilçesi Sobran köyünde izlemeye gidilmiştir. Yapılan Kütahya İli'nin Karasal ve İç Su Ekosistemleri Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme İşi Sonuç Raporu (2017) sonucunda, Kütahya-Eskişehir karayolu, Sobran köyü civarında alanda 6 birey tespit edilmiştir. Ancak 2020-2024 yılları arasında yapılan izleme çalışmalarında sahada verilen lokalitede tür gözlenmemiştir.

1.2. *Scabiosa* L. cinsi

Caprifoliaceae (Hanımeligiller) familyasına ait olan *Scabiosa* cinsi, dünyada 72 tür ile temsil edilmekte olup, ülkemizde bu cinse ait 39 tür ve tür altı seviyesinde takson bulunmaktadır. Bu taksonlardan 12'si Türkiye için endemiktir (Bizim Bitkiler, 2024a). Ulusal

Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi kapsamında Kütahya ilinde bu cinse ait *Scabiosa hololeuca* Bornm. türü izlenmektedir.

Scabiosa hololeuca Bornm.

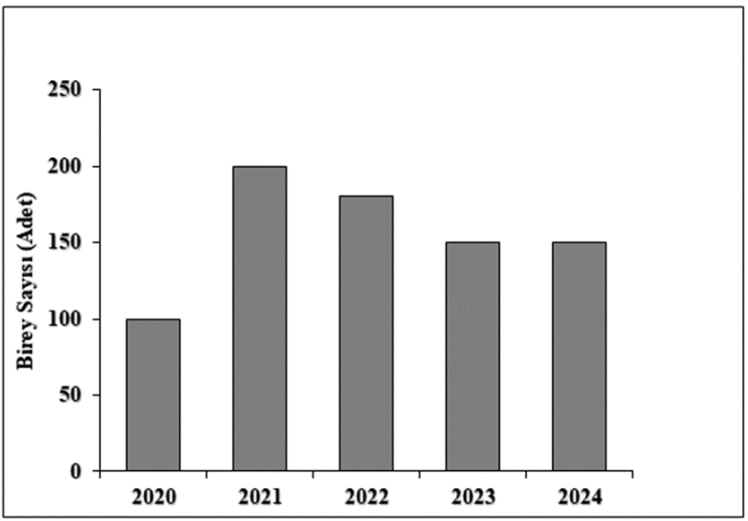
Türkçe adı	: Yastık uyuzotu (Güner & ark., 2012)
Elementi	: İran-Turan (Güner & ark., 2012)
Endemiklik durumu	: Endemik (Güner & ark., 2012)
IUCN Tehlike Kategorisi	: EN (Ekim & ark., 2000)

S. hololeuca çok yıllık yarı çalımsı bir bitki olup 880 m yükseklikte yetişmektedir (TUBİVES, 2024). Ülkemizde 5-20 cm kadar boylanabilen bitkinin bütün yaprakları şeritsi ve yaprak kenarları dümdüzdür. Kapitulum 1,5-2 cm çapındadır ve çiçekler sarı renklidir (Davis, 1972; Güner & ark., 2014). Mayıs-Haziran aylarında çiçeklenen bitki, ülkemizde Kütahya ve Eskişehir illerinde yayılış göstermektedir (TUBİVES, 2024). *S. hololeuca* Kütahya ili, Tavşanlı ilçesi, Akçaşehir köyü, Budağan dağı eteklerinde marnlı topraklarda yetişen endemik bir türdür (Doğa Koruma ve Milli Parklar, 2017; Şekil 2).

Şekil 2. Scabiosa hololeuca

(Fotoğraf: Leyla ORMAN)

2020 yılında yapılan izleme çalışmalarında, bölgede 100 birey tespit edilmişken, 2021 yılında 200, 2022 yılında 180, 2023 yılında 150 ve 2024 yılında 150 birey tespit edilmiştir (Grafik 2).



Grafik 2: Scabiosa hololeuca yıllara göre birey sayısı

1.3. *Alchemilla* L. cinsi

Rosaceae (Gülgiller) familyasına ait olan *Alchemilla* cinsi holoartrik bölgede yayılış göstermekte olup dünyada 753 tür ile temsil edilmektedir (Catalogue of life, 2024). Türkiye florasında ise 50 tür ile temsil edilen bu cinsin tür sayısı, son yıllarda sürdürülen geniş kapsamlı çalışmalar ile 78'e ulaşmıştır. Bu türlerden 36'sı Türkiye için endemiktir (Bizim Bitkiler, 2024b). Bunların birçoğu özellikle Türkiye'nin Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde yayılış göstermektedir (Catalogue of life, 2024; Hayırlıoğlu & ark., 2009). Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi kapsamında bu cinse ait *Alchemilla bursensis* B. Pawl. türü izlenmektedir.

Alchemilla bursensis B. Pawl.

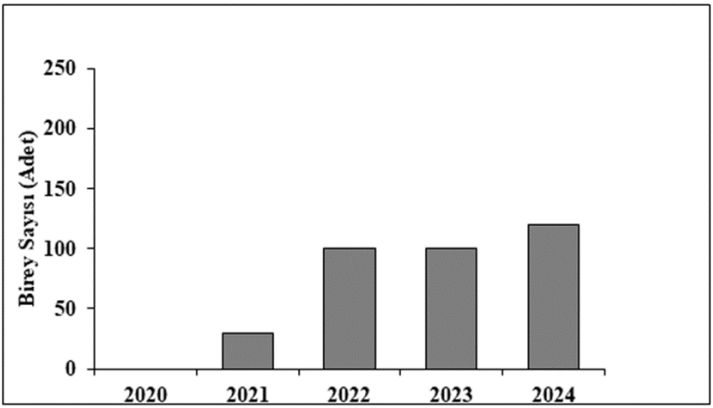
Türkçe adı	: Bursa pençesi (Güner & ark., 2012)
Elementi	: Avrupa-Sibirya (Güner & ark., 2012)
Endemiklik durumu	: Endemik (Güner & ark., 2012)
IUCN Tehlike Kategorisi	: NT (IUCN, 2014)

A. bursensis çok yıllık otsu bir bitki olup kayın altındaki bataklıklarda 1.200-1.400 m yükseklikte yetişmektedir. Mumlu-yeşil renkli ve uzunluğu boyunca yoğun yayık tüylü olan gövde 40-50 cm. boyundadır. Yapraklar böbreksi, geniş açılı, ebatları 9,5 x 11,5 cm'ye kadar olan genellikle 11 loblu bazen daha az loblu olup loblar yaysı, kısmen dairesel ya da az üçgensidir. Yaprak üst yüzeyleri tamamen tüysüz, alt yüzeyleri ise yoğun tüylüdür. Gövde yaprakları oldukça büyüktür. Çiçek durumu dar, çiçek kümesi küçük, sık, çiçek sapları tüysüzdür. Çiçekler 4-4,5 mm genişlikte ve hipantiyum dağınık yayık tüylüdür. Çanak yaprak ve ekçanak lopları tüysüz; uç kısımları sivridir. Çanak yapraklar yumurtamsı- üçgensi olup ekçanaktan çoğu zaman biraz kısadır (Davis, 1972; Hayırlıoğlu-Ayaz, 1997; Güner & ark., 2014). Haziran-temmuz aylarında çiçeklenmektedir. Tür Türkiye'nin kuzeybatısındaki iki alanda dağılım göstermektedir: Bursa; İnegöl ve Domaniç arasındaki Tahtaköprü ormanı, 1.400 m (Kargıoğlu, 2003) ve Afyon; Sincanlı, Yürükmezarı köyü, Merdivenkaya dere kıyısı, 1.400 m (Kargıoğlu, 2003). *Fagus orientalis* Lipsky (kayın) altındaki bataklıklarda yayılış gösteren *A. bursensis* lokal endemik bir türdür (Hayırlıoğlu-Ayaz, 1997; Şekil 3).

Şekil 3. Alchemilla bursensis

(Fotoğraf: Betül AKIN)

2020 yılından itibaren her yıl Mayıs-Temmuz ayları içerisinde Domaniç ilçesi Kocayayla-Domaniç-İnegöl yapılan izleme çalışmalarında sahada 2021 yılında 30 birey tespit edilmişken, 2022 ve 2023 yıllarında bu sayı 100 bireye çıkmıştır. En yüksek birey sayısı 120 adet birey ile 2024 yılında gözlemlenmiştir (Grafik 3). *A. bursensis* türümüzün neslinin korunması kapsamında tür devamlılığının sağlanması amacıyla Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü bünyesinde 1 adet Yüksek Lisans tez çalışması devam etmektedir.



Grafik 3: Alchemilla bursensis yıllara göre birey sayısı

1.4. *Stachys* L. cinsi

Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasına ait olan *Stachys* cinsi Akdeniz'in ve Güneybatı Asya'nın ılıman bölgelerinde ve Kuzey-Güney Amerika ile Güney Afrika'da dağılım göstermiş olup, tür sayısı bakımından iki merkezi vardır. Lamiaceae familyasının en büyük ve kozmopolit cinslerinden biri olan *Stachys* cinsi dünyada 370 tür ile temsil edilmektedir. Cinse ait türlerin büyük bir kısmı başta kireçtaşı kayalıkları olmak üzere kayalık alanlarda yayılış göstermektir (Vundac, 2006; Akçiçek, Fırat & Güner, 2016). Yapılan son çalışmalara göre 123 tür ve tür altı seviyesinde takson ile temsil edilen bu cinsin 67'si Türkiye için endemiktir. *Stachys* cinsi Türkiye'de % 53,3 endemizm oranına sahiptir (Akçiçek & Güner, 2022). Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi kapsamında lokal endemik olan *S. cretica* L. subsp. *kutahyensis* Akçiçek tür düzeyinde izlenmektedir.

Stachys cretica L. subsp. *kutahyensis* Akçiçek

Türkçe adı : Yeni deliçay (Güner ve ark., 2012)

Endemiklik durumu : Endemik (Güner ve ark., 2012)

IUCN Tehlike Kategorisi : EN (Akçiçek, 2010)

Çok yıllık ve otsu bir bitki olan *S. cretica* subsp. *kutahyensis* Batı Anadolu'da Kütahya ve Balıkesir illerinde (Tavşanlı-Harmancık-Dursunbey) dar yayılış gösteren lokal endemik bir alt tür olup, 235-870 m yükseklikte yetişmektedir. *S. cretica* subsp. *kutahyensis* ilk olarak Akçiçek tarafından 2010 yılında *Stachys* cinsinin *Eriostomum* seksiyonundan Türkiye için yeni bir alt tür olarak bilim dünyasına tanıtılmıştır (Akçiçek, 2010).

S. cretica subsp. *kutahyensis* alt türü tabanda verimsiz rozet yaprakları olan, tabandan çok gövdeye sahip bir bitkidir. Çiçekli gövdeler dik veya yükselici, 85-145 cm, basit veya nadiren yukarıda dallanmış, salgısız, kısa havlı tüyleri vardır. Taban yaprakları daralan dikdörtgensi-kaşıksı şeklinde, 30-40 (-60) × 4-8 (-12) mm ebatlarında; kenarları belirsiz bir şekilde kütdişçikli; uç kısmı küt ya da hafif sivri; tabanı daralan veya nadiren hafif yuvarlak, yaprak sapı ise 2-5 cm'dir. Gövde yaprakları 3-5 çift, sapsız veya saplı (en fazla 5 cm), daralan dikdörtgensi-kaşıksı'dan, dikdörtgensi-mızraksı'ya kadar değişen şeklindedir. Yaprakların üst yüzeyi buruşuk, yeşil, seyrek yatık-kaba tüylü ve alt yüzeyi ise yoğun yatık gri- kaba tüylüdür. Bitkide her dairede 10-35 adet çiçek bulunmaktadır. (Baytop, 1998; Akçiçek, 2010; Güner & ark., 2014). Çiçeklenme ve meyvelenme zamanları Haziran ve Ağustos aylarıdır. Yetiştiği habitat; *Pinus nigra* J.F. Arnold orman açıklıkları ve taşlık alanlardır (Akçiçek, 2010; Şekil 4).

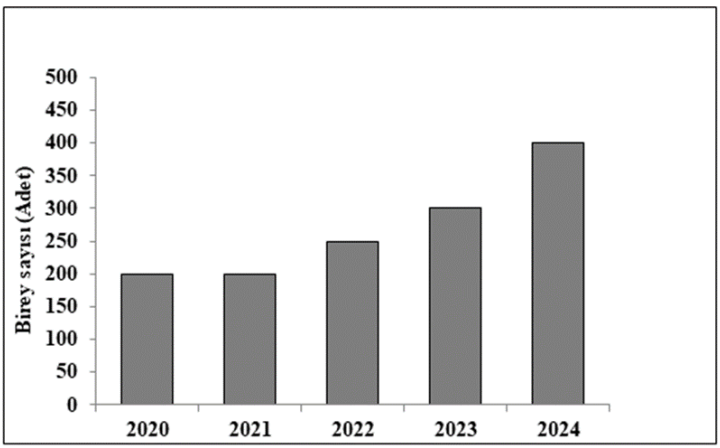
Şekil 4. Stachys cretica subsp. kutahyensis

(Fotoğraf: Ece Gökçe ÇAKIR DİNDAR)

Kütahya ili, Tavşanlı ilçesi, Nusretler Köyü sınırlarında dar bir alanda yayılış gösteren lokal endemik bir alt tür olan olan *S. cretica* subsp. *kutahyensis* 2020 yılından itibaren her yıl Mayıs-Ağustos ayları içerisinde izleme çalışmaları kapsamında takibi yapılmıştır. Alt türe ait 2020 ve 2021 yılı izleme-gözlem çalışmalarında; Tavşanlı ilçesi Nusretler köyü girişinde alt türe ait 200 birey sayılmıştır. 2022 yılında 250 birey, 2023 yılında ise 300 birey tespit edilmiştir. En yüksek birey sayısı 400 adet birey ile 2024 yılında gözlemlenmiştir (Grafik 4).

Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi kapsamında, 2021 yılı vejetasyon döneminin sonunda toplanan tohumlar, türümüzün neslinin korunması kapsamında tür devamlılığının sağlanması amacıyla Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü bünyesinde yürütülen Yüksek Lisans tez çalışması kapsamında Biyoloji laboratuvarında i*n vitro* şartlarda çoğaltılmış ve

taksonun doğal ortamlarına dikim işlemleri tarafımızca gerçekleştirilmiştir. Doğal habitatına dikilen *S. cretica* subsp. *kutahyensis* alt türünün hayatta kalma oranı % 92 olarak tespit edilmiştir (Akın & ark., 2024). Taksonun yaşam alanı özellikle yol genişletme çalışmaları ve aşırı otlatma ile ormansızlaşma sebebiyle insan etkisinin tehdidi altında olduğu belirlenmiştir. Balıkesir-Kütahya arasında ve Nusretler Köyü girişinde yapılan karayolu çalışmaları tür için en önemli tehdit oluşturduğu tespit edilmiş ve Karayolları Bölge Müdürlüğü ile yapılan görüşmeler sonucu tür üzerinde ki tehdit kaldırılmıştır. Türün yayılış gösterdiği sahaya Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi kapsamında bilgilendirme tabelası dikilmiş ve alanın bir kısmı tel örgü ile çevrilmiştir (Şekil 5).



Grafik 4: Stachys cretica subsp. kutahyensis yıllara göre birey sayısı

Şekil 5. Stachys cretica subsp. kutahyensis bilgilendirme tabelası (Fotoğraf:Leyla ORMAN)

1.5. *Gentiana* L. cinsi

Gentianaceae (Gentiyangiller) familyasına ait *Gentiana* cinsi dünyada yaklaşık 362 tür barındırmaktadır (Ho & Pringle, 2001; Shabir, 2018; Doğan & ark., 2019). Ülkemizde ise bu cinse ait 14 tür ve tür altı seviyesinde takson yayılış göstermekte olup bunlardan 1'i endemiktir (Güner & ark. 2012). *Gentiana* cinsi ülkemizde Batı, Kuzeybatı, Kuzey, Kuzeydoğu, Doğu, Güneydoğu ve Güney bölgelerinde yayılış gösterir (Davis 1978; Davis 1988; Güner & ark., 2012). Kütahya ilinin yer aldığı Ege bölgesi İç Batı Anadolu

Bölümü'nde bu cinse ait sadece 1 takson yayılış göstermektedir (Erken & Kaleci, 2011). Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi kapsamında bu cinse ait *Gentiana lutea* L. taksonu izlenmektedir.

Gentiana lutea L.

Türkçe adı : Sarı afat (Güner & ark., 2012)

Elementi : Avrupa-Sibirya (Güner & ark., 2012)

Endemiklik durumu : Endemik değil (Güner & ark., 2012)

IUCN Tehlike Kategorisi : LC (IUCN, 2011)

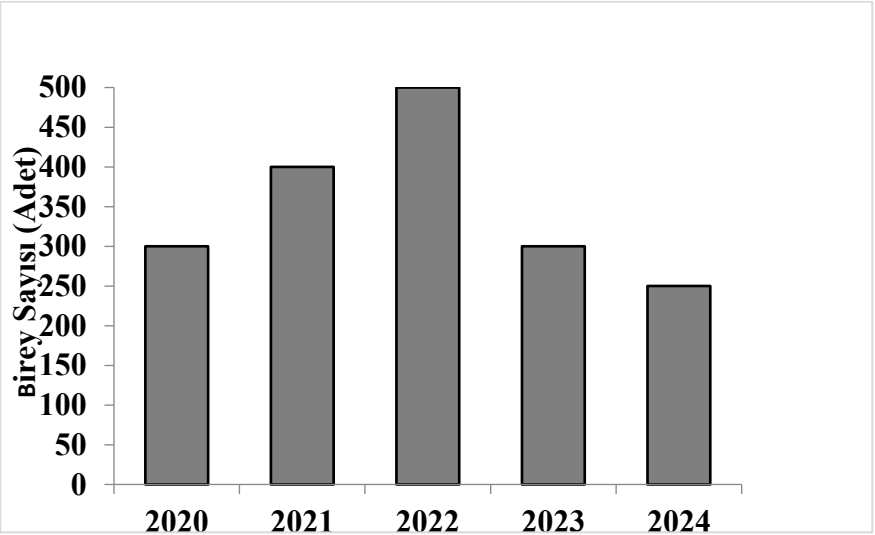
G. lutea çok yıllık otsu bir bitki olup yaşamak için otsu tepeleri tercih ederler. 120 cm'e kadar boylanabilen bir bitkidir. 6-10 düğümaralı, çok sayıda, basit gövdeli bitkilerdir. Yapraklar 40 x 25 cm ebatlarına kadar ulaşabilen, mızraksıdan geniş yumurtamsıya kadar değişen, 5-7 belirgin damarlı, mumlu görünüme sahip ve kısa saplıdır. Çiçekler; üst yaprak koltuklarında çok sayıda, yoğun kafa şeklindedir. Çanak 10-15 mm uzunluğunda ve 1/3'ne kadar bölünmüştür. Taç sarı renkli, 20-30 mm uzunluğunda; lobları şeritsi; ikincil loblar küçük veya yoktur. Haziran ve Ağustos ayları arasında çiçeklenir (Davis 1978; Davis 1988; Güner & ark., 2014). Türkiye'de bu takson Ayancık, Zindan, Handere Dağı (Sinop); Ödemiş, Bozdağ (İzmir); Bozdağ, Birgi'nin kuzeyi (İzmir); Uludağ (Bursa); Bozüyük Kömürsu Dağı (Bilecik)'nda bulunduğu literatürlerde yer almaktadır (Davis, 1978; Davis, 1988). Flora of Turkey and East Aegean Islands'da kaydı bulunmayan ancak sonraki yıllarda yapılan çalışmalar ile Kütahya ilinin Darıtepe Yangın Kulesi ve çevresi, Üçtepeler Yangın Kulesi ve çevresi, Domuzkertiği Mevkii, Acısu-Çiçekli Yayla Mevkii (Domaniç), Gümüş Dağı-Radar Mevkii (Merkez), Domaniç İşletme Müdürlüğü sınırlarında Karagöz Alanı Mevki'nde tespit edilmiştir (Akan & ark., 1999; Doğan & ark, 2019; Şekil 6). Her ne kadar endemik olmasada *G. lutea* tıbbi öneme sahip

olması ve ihracatının yasak olmasından dolayı önemli izlenmesi gereken bir taksondur (Doğan & ark., 2019)

Şekil 6. Gentiana lutea

(Fotoğraf: Ece Gökçe ÇAKIR DİNDAR)

Bu çalışmada bitkinin izleme çalışmaları Kütahya Merkez ilçesi Radar mevkiinde yapılmıştır. 2020 yılı izleme-gözlem çalışmalarında tür Kütahya Merkez ilçesi Radar mevkiinde tespit edilmiştir. Covid-19 salgını nedeniyle arazi çalışmaları geç başlamış, bu yılda tür arazide kuruma döneminde tespit edilmiş ve 300 birey sayılmıştır. 2021 yılında, bölgede 400, 2022 yılında 500, 2023 yılında 300 ve 2024 yılında 250 tür tespit edilmiştir (Grafik 5).



Grafik 5. Gentiana lutea yıllara göre birey sayısı

Ayrıca tür için izleme çalışmaları öncesinde 2019 yılında DKMP Kütahya Şube Müdürlüğü tarafından başlatılan türün eylem planı, Doğan ve ark. (2019) tarafından hazırlanan "Kütahya İli Sarı Afat (*Gentiana lutea* L.) Tür Eylem Planı Hazırlama İşi Nihai Raporu" ile tamamlanmıştır. Bunu takiben, DKMP Kütahya Şube Müdürlüğü'nün ev sahipliğinde "*Gentiana lutea* L. (Sarı Afat) Türünün Taslak Tür Eylem Planı Çalıştayı" başlıklı çalıştay düzenlemiştir. Halen türün tanıtımına yönelik eğitim çalışmaları devam etmekte olup, tür için afiş ve broşür çalışmaları yapılarak farkındalık oluşturulmuştur. DKMP Kütahya Şube Müdürlüğü tarafından 2013 yılından itibaren Millî Eğitim Bakanlığına bağlı okullarda 5, 6 ve 7. sınıflara yönelik Kütahya'nın endemik bitkileri ve biyoçeşitliliği hakkında eğitim seminerleri düzenli olarak verilmektedir.

Sonuç

Çalışmamızda Kütahya ilinde yayılış gösteren ve Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Envanter ve İzleme Projesi sonucunda izlenmesine karar

verilen 6 taksonun izleme sonuçlarına yer verilmiştir. Bu türlerin korunması, ekosistemlerin dengesi ve ülkemiz biyoçeşitliliğinin sürdürülmesi açısından hayati öneme sahiptir. Biyoçeşitliliğin korunması ise özellikle insan faaliyetlerinin etkisi sonucu tehdit altına giren türler için daha da önem arz etmektedir. Çalışmamız kapsamında, izlediğimiz türlerden *V. coronopifolium*'a ait tohumlar toplanmış ve Kütahya Dumlupınar Üniversitesi bünyesinde *in vitro* şartlarda çoğaltma çalışmalarına başlanmıştır. İzleme çalışmalarımızın dördüncü yılın sonunda tehdit durumu kalkmış ya da olumsuz sonuçlarla karşılaşması söz konusu olmayan *Alchemilla bursensis* ve arazi çalışmasında tarafımızca tespit edilemeyen *Verbascum urobracteum* türleri izleme çalışmalarından çıkarılmıştır. Özellikle yol genişletme çalışmaları ve aşırı otlatma sebebiyle insan etkisinin tehdidi altında olan *S. cretica* subsp. *kutahyensis* alt türünün ise, *in vitro* ortamda çoğaltımı ve araziye aktarımı başarılı bir şeklide gerçekleştirilmiş olup, ilgili alt türün tıbbi kullanımları ile ilgili çalışmalarımız devam etmektedir. Kütahya ili, Tavşanlı ilçesinde marnlı topraklarda yetişen diğer endemik bir türümüz olan *S. hololeuca* ise düşük birey sayısına sahip olup, lokal olarak çok sınırlı bir alanda yayılış göstermektedir. Bu türle ilgili izleme ve türün devamlılığını sağlamak için gerekli çalışmalara devam edilmektedir.

KAYNAKLAR

Akalın, E., Gürdal, B. & Olcay, B. (2020). General overview on the conservation of medicinal plants in Turkey. *Turk J Biod, 3* (2), 86-94. https://doi.org/10.38059/biodiversity.726745

Akan, H., Temel, M. & Tatlı, A. 1999. Kütahya'da nadir yayılış gösteren *Gentiana lutea* spp. *sypmhandra* (Murb.) Hayek üzerinde taksonomik, morfolojik ve ekolojik bir araştırma. *I. Uluslararası Doğal Çevreyi Koruma ve Ehrami Karaçam Sempozyumu*, 23-25 Eylül 1999, Kütahya, Türkiye, (s. 269-279).

Akçiçek, E. (2010). A new subspecies of *Stachys cretica* (section *Eriostomum*, Lamiaceae) from Turkey. *Turkish Journal of Botany, 34*, 131-136.

Akçicek, E., Fırat, M. & Güner, Ö. (2016). *Stachys hakkariensis* (Lamiaceae) A new species from eastern Anatolia (Turkey) belonging to Stachys sect. *Olisia Phytotaxa, 257* (2), 167-173.

Akçiçek, E. & Güner, Ö. (2022). A new subspecies of *Stachys cretica* (Lamiaceae) from western Turkey. *Phytotaxa, 539* (3), 257-264.

Akın, B., Bingöl, N.A. & Bulman, G.C. (2024). A first approach for the micropropagation of threatened endemic subspecies of *Stachys cretica* subsp. *kutahyensis*. *Biologia, 79*, 1653.

Anonim (2014). Kütahya il çevre durum raporu. T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, T.C. Kütahya Valiliği, Çevre ve Şehircilik İl Müdürlüğü.

Baytop, A. (1998). İngilizce-Türkçe Botanik Kılavuzu. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları No. 4058 Eczacılık Fakültesi No. 70, İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi.

Bizim Bitkiler (2024a). *Scabiosa*. (12.12.2024 tarihinde https://bizimbitkiler.org.tr/v2/hiyerarsi.php?c=Scabiosa adresinden ulaşılmıştır).

Bizim Bitkiler (2024b). *Alchemilla*. (12.12.2024 tarihinde https://bizimbitkiler.org.tr/v2/hiyerarsi.php?c=Alchemilla adresinden ulaşılmıştır).

Catalogue of life Checklist. (2024). *Alchemilla bursensis Pawl*. (12.12.2024 tarihinde https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/BHH3 adresinden ulaşılmıştır).

Çeçen, Ö. (2024). Verbascum akarkoeyense sp. nov. (Scrophularıaceae) a new species from central Anatolia, Türkiye. *Pak. J. Bot., 56* (5), 1-9.

Çiçek, E. & Çapar, B.O. (2023). Ulusal İzlemeye Konu Türler için Tür İzleme Kılavuzu-Damarlı Bitkiler, Balıklar, Çiftyaşarlar, Sürüngenler, Kuşlar, Memeliler. Cappadocia Academy Publishing, Nevşehir, 87 s.

Davis, P. H. (1972). *Flora of Turkey and East Aegean Islands Vol.4.* Edinburgh: Edinburgh University Press.

Davis, P. H. (1978). *Flora of Turkey and East Aegean Islands Vol.6.* Edinburgh: Edinburgh University Press.

Davis, P. H. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol.10.* Edinburgh: University Press, Edinburgh.

DKMP Genel Müdürlüğü (2024). *Nuh'un gemisi ulusal biyolojik çeşitlilik veritabanı*. (13.12.2024 tarihinde https://nuhungemisi2.tarimorman.gov.tr/Library/TurkiyeBiyocesitlilik adresinden ulaşılmıştır).

Doğa Koruma ve Milli Parklar (2017). Kütahya ili'nin karasal ve iç su ekosistemleri biyolojik çeşitlilik envanter ve izleme işi sonuç raporu. Ak-Tel Mühendislik Eğt. Turz. Gıda. San. Tic. Ltd. Şti. Ankara

Doğan, M., Özbek, M. U., Çakır-Dindar, E. G. & Güngöroğlu, C. (2019) Kütahya ili sarı afat (Gentiana lutea L.) Tür eylem planı. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü, V. Bölge Müdürlüğü, Kütahya Şube Müdürlüğü, Kütahya.

Duman, H., Uzunhisarcıklı, M. E. & Özbek, F. (2021). A new natural hybrid of Verbascum L. (Scrophulariacae) from Turkey. *Gazi University Journal of Science, 34* (4), 937-946.

Duman, H., Doğan, M., Atlı, Ö. & Celep, F. (2024) Ex Situ and in situ conservation approaches in species-rich anatolian steppe ecosystem: A case study from Ankara, Türkiye. *Ecologies, 5*, 664-678. https://doi.org/10.3390/ ecologies5040039.

Ekim, T., Koyuncu, M. & Vural, M. (2000). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler)* (1 Baskı). Ankara: Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayını.

Erik, S. & Tarıkahya, B. (2004). Türkiye florasi üzerine. *Kebikeç*, *17*, 139-163.

Erken, S. & Kaleci, N. (2011). Farklı ekim zamanı ve uygulamaların censiyan (Gentiana lutea subsp. symphyandra) tohumlarının çıkış gücü üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi, 28* (1), 37-46.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, M. T. (2012) *Türkiye bitkileri listesi (damarlı bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını.

Güner, A., Karabacak, E., Çıngay, B., Eker, İ., Güneş, F., Keskin, M., Körüklü, T. & Öztekin, M. (2014). Bitki terimleri. Adil Güner & Tuna Ekim (Eds.), *Resimli Türkiye Florası Cilt 1* içinde (s. 445-527). İstanbul: Ali Nihat Gökyiğit Vakfı, Flora Araştırmaları Derneği ve Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları.

Hayırlıoğlu-Ayaz, S. (1997). Doğu karadeniz bölgesinde yayılış gösteren Alchemilla L. türlerinin morfolojik ve sitotaksonomik yönden incelenmesi. KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Trabzon.

Hayirlioglu-Ayaz S. & Inceer H. (2009). Three new Alchemilla L.(Rosaceae) records from Turkey. *Pak J Bot., 41*, 2093-96.

Ho, T. N. & Pringle J. S. (2001). A Worldwide monograph of *Gentiana*. Beijing: Science Press.

IUCN (2011). *Red list: The IUCN Red List of Threatened Species*. (4.12.2024 tarihinde https://www.iucnredlist.org/species/162067/5546174 adresinden ulaşılmıştır).

IUCN (2014). *Red list: The IUCN Red List of Threatened Species*. (4.12.2024 tarihinde https://www.iucnredlist.org/species/19619998/19621316#bibliography adresinden ulaşılmıştır).

Kolata, F. E. & Küçük, S. (2024). Three endemic Verbascum L. (Scrophulariaceae) species's stem and leaf anatomy. *Biological Diversity and Conservation, 17* (2), 138-147.

Özhatay, F. N., Kültür, Ş. & Gürdal, B. (2022). Check-list of additional taxa to the supplement of flora of Turkey X. *Istanbul Journal of Pharmacy*, *52* (2), 226-249.

Karavelioğullari, F. A. & Aytaç, Z. (2008). Revision of the genus Verbascum L. (Group A) in Turkey. *Botany Research Journal, 1* (1), 9-32.

Kargıoğlu, M. (2003). The flora of Ahırdağı (Afyonkarahisar) and its environs. *Turkish Journal of Botany*, *27* (5), Article 3.

Kaya, Y. & Aksakal, Ö. (2005). Endemik bitkilerin dünya ve Türkiye'deki dağılımı. *Erzincan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi, 7* (1), 85-99.

Shabir, M., Agnihotri, P., Krishan, J. & Husain, T. (2018). *Gentiana pringlei* (Gentianaceae) – A new species from cold deserts of Ladakh Himalaya, India. *Taiwania, 43* (4), 356-359.

T.C. Resmi Gazete (1996). 27 Aralık 1996, Sayı 22860, Sayfa 3-75.

Tel, A. Z. (2012). Bazı endemik bitkilerin Kütahya'daki (Türkiye) yayılış alanları ve yeni IUCN tehlike kategorilerine göre yeniden değerlendirilmesi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 13* (1), 88-108.

TUBİVES (2024). *Scabiosa hololeuca BORNM*. (12.12.2024 tarihinde http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=4640 adresinden ulaşılmıştır).

Vundac, V. B., Pfeifhofer, H. W., Brantner, A. H., Males, Z., & Plazibat, M. (2006). Essential oils of seven Stachys taxa from Croatia. *Biochemical Systematics and Ecology, 34* (12), 875-881.

BÖLÜM IV

Antibiyotikler ve Beta-Laktamaz Direnci: Makrolidler, Kinolonlar, Sülfonamidler ve Trimetoprimin Rolü

Muhsin AYDIN[1]
Birgül YELİMLİBAĞ[2]

Giriş

Beta-laktamlara dirençli bakteriyel suşların ortaya çıkışı, Türkiye'de ve Dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Bu direnç genellikle beta-laktamaz enzimlerinin üretimi ile ilişkilidir ve çoklu ilaç direnci ile bağlantılı olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) üreticilerinin yaygınlığındaki endişe verici artış dikkat çekmektedir. Beta-laktamaz genleri ve diğer antibiyotik direnç genleri, sıklıkla hareketli genetik elemanlar üzerinde bulunmakta ve bu durum, direncin yayılımını daha da

[1] Prof. Dr., Adıyaman Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adıyaman/Türkiye, Orcid: 0000-0002-1204-1163, m.aydin@adiyaman.edu.tr

[2] Yüksek Biyolog, Adıyaman Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Adıyaman/Türkiye, Orcid: 0000-0002-4627-4547, birgul44444@gmail.com

artırmaktadır. Ayrıca, Gram-negatif organizmalar, özellikle *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında beta-laktamaz üretimi son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Özellikle, Türkiye'den bildirilen çalışmalar, toplum kaynaklı *Escherichia coli* enfeksiyonlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin yüksek bir yaygınlık gösterdiğini ve bunun, direnç sıklığındaki artışa katkıda bulunduğunu ve klinik tedavi yaklaşımlarını potansiyel olarak etkileyebileceğini ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra, Türkiye'de esas olarak OXA tipi beta-laktamazlar aracılığıyla karbapenemaz üretiminin görülmesi, bu izolatların sergilediği çoklu direnç nedeniyle sınırlı tedavi seçeneklerine yol açmıştır. Türkiye'deki beta-laktamaz direnç genlerinin prevalansını ve mekanizmalarını anlamak, etkili antimikrobiyal yönetim ve enfeksiyon kontrol stratejilerinin yönlendirilmesi için kritik öneme sahiptir.

Son yıllarda beta-laktamlara dirençli bakteriyel suşların ortaya çıkışı, mikrobiyoloji alanında önemli bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Bu direncin temel mekanizması, beta-laktamaz enzimlerinin üretimi ile ilişkilidir. Beta-laktamazlar, beta-laktam antibiyotikleri etkisiz hale getirerek bakteriyel enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır. Özellikle Genişletilmiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (ESBL) üreticilerinin yaygınlığı, çoklu ilaç direnci ile güçlü bir şekilde ilişkili olmaları nedeniyle endişe vericidir (Yelimlibağ & Aydin, 2023). Bunun yanı sıra, beta-laktamazları kodlayan genler ve diğer antibiyotik direnç genleri, sıklıkla plazmitler ve transpozonlar gibi hareketli genetik elemanlar üzerinde bulunur. Bu genlerin taşınabilir yapısı, antibiyotik direnci ile mücadelede önemli bir zorluk teşkil etmektedir.

Beta-laktamazların, özellikle *Enterobacteriaceae* gibi Gram-negatif organizmalar arasında artan yaygınlığı, mevcut antimikrobiyal tedavilerin etkinliği konusunda ciddi kaygılara yol açmıştır. Kommensal *Enterobacteriaceae* arasında direnç düzeyinin araştırılması, antimikrobiyal direnç prevalansının genel bir göstergesi olarak önemli bir rol oynamaktadır. Dirençli Gram-negatif bakterilere karşı yeni beta-laktamaz inhibitörlerine dayalı antibiyotiklerin geliştirilmesi, direnç genlerine yönelik güncel moleküler sürveyans verilerine olan ilgiyi artırmıştır. Bu yeni antibiyotikler, ESBL ve karbapenemaz üreticilerinin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etme potansiyeline sahip olsa da tüm beta-laktamaz türlerine karşı etkili olmadıkları unutulmamalıdır. Bu durum, antibiyotik direnç mekanizmalarının karmaşıklığını ve uyum yeteneğini vurgulamaktadır.

Beta-laktamaz direnç genleri, bakterilerde antibiyotik direncinin gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. Türkiye'de bu genlerin prevalansı ve yayılımı, önemli bir araştırma alanıdır. Türkiye'den bildirilen çeşitli çalışmalar, beta-laktamlara dirençli bakteriyel suşların ortaya çıktığını ve bu direncin temel mekanizmasının beta-laktamaz enzimlerinin üretimi olduğunu göstermektedir (Bhutani vd., 2015). Bu enzimler, beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktam halkasını hidrolize ederek onları etkisiz hale getirebilmektedir. Bu sorunu ele almak amacıyla Türkiye'deki araştırmacılar, beta-laktamaz direnç genlerinin prevalansını ve mekanizmalarını tespit etmeye yönelik çalışmalar yürütmüşlerdir. Bu çalışmaların amacı, tedavi seçeneklerini iyileştirmek ve beta-laktamaz direnç genlerine sahip bakterilerin neden olduğu çoklu ilaç dirençli enfeksiyonlarla ilişkili morbidite ve mortaliteyi azaltmaktır.

Yapılan bir çalışmada, *Enterobacteriaceae*'de genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazları kodlayan genleri taşıyan plazmitlerin, aynı zamanda kinolon ve aminoglikozid direnç genleri gibi diğer antibiyotik sınıflarına ait direnç genlerini de barındırdığını ortaya koymuştur (Li vd., 2015). Bu bulgular, beta-laktamaz direncinin genetik mekanizmalarının anlaşılmasının ve diğer antibiyotiklere karşı birlikte direnç geliştirme potansiyelinin önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, Türkiye'de beta-laktamaz direnç genlerinin tespiti, bakteri suşlarında hem beta-laktamaz genlerini hem de plazmit aracılı AmpC beta-laktamaz genlerini tespit etmeye olanak tanıyan multipleks PCR yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Kantele & Lääveri, 2022). Bu çalışmalar, Türkiye'deki beta-laktamaz direnç genlerinin prevalansı ve dağılımı hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Aynı zamanda, bu genlerin transpozonlar ve plazmitler gibi hareketli genetik elemanlar aracılığıyla nasıl kazanıldığını ve yayıldığını anlamamıza katkıda bulunmaktadır (Ozgumus, Tosun, Aydin, & Kilic, 2008).

Bu direnç genlerinin ve bulaşım yollarının incelenmesi, Dünyadaki ve Türkiye'deki araştırmacıların çoklu ilaç dirençli bakterilerin yayılımını azaltmak ve hastalar için tedavi seçeneklerini geliştirmek için stratejiler geliştirmelerine olanak sağlayacaktır. Sonuç olarak, Türkiye'de yürütülen araştırmalar, bakteriyel suşlarda beta-laktamaz direnç genlerinin prevalansı ve yayılımı hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Bu çalışmalar, bu genlerin edinim ve bulaşma mekanizmalarına ışık tutarak çoklu ilaç dirençli enfeksiyonlarla mücadele etmek ve tedavi seçeneklerini iyileştirmek için beta-laktamaz direncini anlamanın önemini vurgulamaktadır.

Türkiye'de, beta-laktamaz direnç genlerinin yaygınlığı ve bu genlere bağlı direnç mekanizmalarını belirlemek amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar, çoklu ilaç dirençli enfeksiyonların neden olduğu morbidite ve mortalite oranlarını azaltmak ve tedavi seçeneklerini iyileştirmek için önemlidir. İran, Kaşhan'daki Beheşti Hastanesi'nde çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* suşlarını inceleyen bir çalışmada, beta-laktamaz üreten suşların yüksek prevalansı tespit edilmiş ve bu suşlarda yaygın olan genler tanımlanmıştır (Josheghani, Moniri, Firoozeh, Sehat, & Dasteh Goli, 2015). Çalışmanın sonuçları, penisilinler, monobaktamlar ve üçüncü nesil sefalosporinlere karşı direnç gösteren çoklu ilaç dirençli *A. baumannii* suşlarının hastanede yaygın olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, karbapenemlere karşı direnç sağlayan serin ve metallo-beta-laktamazların varlığı saptanmış, bu durum tedavi seçeneklerini daha da sınırlamıştır. Bu bulgular, Türkiye'de beta-laktamaz direnci ile mücadele etmek için etkili stratejilere duyulan acil ihtiyacı vurgulamaktadır.

Türkiye'de yapılan önceki çalışmalar, beta-laktamlara dirençli bakteri suşları arasında *blaZ* geninin yüksek prevalansa sahip olduğunu bildirmiştir. *blaZ* geni, penisilinleri hidrolize etmekten sorumludur ve beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin önemli bir mekanizması olarak kabul edilmektedir (Talaat vd., 2023). Bunun yanı sıra, *mecA* geni tarafından kodlanan düşük afiniteli penisilin bağlayan protein varlığı gibi diğer beta-laktam direnci mekanizmaları da Türkiye'de tanımlanmıştır. Bu mekanizma, metisilin/oksasilin direncine yol açmaktadır. Ayrıca, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) üreten suşların ortaya çıkışı da gözlemlenmiştir. Bu suşlar, penisilinler, monobaktamlar ve üçüncü

nesil sefalosporinleri hidrolize edebilmekte ve tedavi seçeneklerini önemli ölçüde kısıtlayarak bu suşlarla enfekte hastalarda tedavi başarısızlığı riskini artırmaktadır.

Türkiye'de beta-laktamaz direnç genlerinin yaygınlığı, tedavi seçenekleri ve hasta sonuçları açısından ciddi bir zorluk oluşturmaktadır. Bu nedenle, beta-laktamaz direncinin prevalansını ve mekanizmalarını daha iyi anlamak için daha fazla çalışma ve izleme programlarına ihtiyaç vardır.

Türkiye'deki beta-laktamaz direnci, halk sağlığı üzerinde önemli etkiler yaratmaktadır. Beta-laktamlara dirençli bakteriyel suşlar arasında *blaZ* ve *mecA* gibi direnç genlerinin yüksek prevalansı, mevcut tedavi seçeneklerinin etkinliğini sınırlamakta ve enfekte hastalarda tedavi başarısızlığı riskini artırmaktadır (Bhutani vd., 2015). Bu durum, yalnızca uzamış hastalık sürelerine ve artan morbidite ve mortalite oranlarına yol açmakla kalmaz, aynı zamanda toplum içinde antibiyotik direncinin yayılmasına da katkıda bulunur.

Türkiye'de genişlemiş spektrumlu beta-laktamazları kodlayan genleri taşıyan plazmitlerin varlığı, yalnızca beta-laktamlara değil, aynı zamanda diğer antibiyotik sınıflarına karşı da direnç sağladığından büyük bir endişe kaynağıdır. Bu durum, tedavi seçeneklerini daha da sınırlandırmaktadır. Genel olarak, Türkiye'de gözlemlenen beta-laktamaz direnç genleri, tedavi seçeneklerini sınırlamakta, tedavi başarısızlığı riskini artırmakta ve toplum içinde antibiyotik direncinin yayılmasına katkıda bulunmaktadır.

Türkiye'de beta-laktamaz direncine katkıda bulunan çeşitli mekanizmalar arasında, yapısal beta-laktamaz genlerinin aşırı eksprese edilmesi, beta-laktamaz genlerinin çoklu kopyalarının

bulunması ve dış direnç determinantlarının edinilmesi yer almaktadır (Moradigaravand, Martin, Peacock, & Parkhill, 2017). Özellikle *Enterobacteriaceae* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında bu mekanizmalar sıkça gözlemlenmektedir. Ayrıca, karbapenemlere direnç sağlayan serin ve metallo-beta-laktamazların ortaya çıkışı, kritik bir endişe kaynağıdır.

Bu zorluklarla başa çıkmak için katı enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması, antibiyotiklerin akılcı kullanımının teşvik edilmesi ve beta-laktamaz direnç genlerinin yaygınlığını ve dağılımını izlemek için araştırma ve izleme programlarına yatırım yapılması gerekmektedir.

Beta-laktamaz direnci, Türkiye'de ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak dikkat çekmekte ve kapsamlı araştırma çabalarını gerektirmektedir. Beta-laktamaz direnç genlerinin yaygınlığı, moleküler özellikleri ve bulaşım yollarını anlamak, antibiyotik seçimi ve etkili mücadele stratejilerinin geliştirilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Küresel ölçekte beta-laktamaz direncindeki artış göz önüne alındığında, Türkiye'nin ESBL'ler (genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar), AmpC beta-laktamazlar ve karbapenemaz beta-laktamazlar gibi direnç mekanizmalarının farklı türlerini izlemesi ve analiz etmesi gerekmektedir (Bala, Singh, Gupta, & Rakshit, 2020).

Türkiye, beta-laktamaz direnciyle mücadelede çok yönlü yaklaşımlar geliştirmiştir. Bu çerçevede kapsamlı gözetim ve izleme programları başlatılmıştır. Bu programlar, beta-laktamaz genlerinin farklı bölgelerdeki yaygınlığını ve bulaşımını sistematik olarak

izlemeyi amaçlamaktadır. Toplanan veriler, antibiyotik kullanımı ve tedavi stratejilerine dair bilinçli kararlar alınmasını sağlamaktadır.

Beta-laktamaz direnç genleri üzerine moleküler düzeyde yapılan araştırmalar da bu mücadelede önemli bir yer tutmaktadır. Araştırmacılar, bu genlerin moleküler mekanizmalarını ve genetik profillerini inceleyerek direnç oluşumunu ve yayılımını derinlemesine anlamayı hedeflemektedir. Bu çalışmalar, hedefe yönelik tedavi müdahalelerinin geliştirilmesi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması açısından hayati öneme sahiptir.

Türkiye'de yapılan çalışmalar, beta-laktamaz üreten suşların neden olduğu enfeksiyonların tedavi sonuçları üzerindeki etkisini vurgulamaktadır. Bu enfeksiyonlarla ilişkili klinik sonuçların anlaşılması, antibiyotik tedavisinin daha iyi yönetilmesine olanak tanımaktadır. Ayrıca, yenilikçi teşhis yöntemlerinin geliştirilmesi için moleküler teknikler ve fenotipik testler gibi hızlı ve hassas tanı yöntemleri araştırılmaktadır.

Beta-laktamaz direnciyle mücadelede iş birliği ve bilgi paylaşımı da büyük önem taşımaktadır. Türkiye, bu kapsamda disiplinler arası iş birlikleri ve güçlü bilgi alışverişini teşvik ederek, dirençle mücadelede kapsamlı çözümler geliştirmeyi hedeflemektedir. Beta-laktamaz direnciyle ilgili araştırmalar ilerledikçe, çeşitli öncelik alanları öne çıkmaktadır. Bu kapsamda, antibiyotik direnci mekanizmalarının moleküler temellerini ve farklı direnç belirteçleri arasındaki etkileşimleri anlamak büyük önem taşımaktadır (Tsalik, Bonomo, & Fowler, 2018). Türkiye'nin farklı bölgelerinde direnç genlerinin genetik çeşitliliği ve evrimi incelenmeli, bu sayede adaptasyon stratejileri daha iyi

anlaşılmalıdır. Yeni nesil teşhis yaklaşımlarının keşfi ve uygulanması, hızlı ve doğru tanı süreçlerini mümkün kılacaktır. Ayrıca, direnç genlerinin genetik özelliklerinin sürekli olarak izlenmesi, ortaya çıkan direnç eğilimlerini öngörmek ve uygun tedavi protokollerini hızla adapte etmek için kritik önemdedir. Son olarak, hayvancılık sektöründeki antibiyotik kullanımı ve gıda zinciri yoluyla direnç genlerinin insanlara bulaşma potansiyeli, Türkiye'deki beta-laktamaz direnciyle ilgili bir başka önemli konudur. Bu bağlamda hem klinik hem de tarımsal alanlarda direnç yayılımını önlemek için kapsamlı gözetim ve antibiyotik kullanımının dikkatlice yönetilmesi gerekmektedir.

1. Antibiyotikler ve Antimikrobiyal Direnç

1.1. Antibiyotikler

Korunmuş en eski tıbbi eser olarak nitelendirilen M.Ö.1550 tarihli Eber papirüsünde küflü ekmek ve şifalı toprak ilaç listesi içinde yer almaktadır (Hutchings, Truman, & Wilkinson, 2019). 2000 yıl öncesinde küflü ekmek lapalarının Çin, Sırbistan, Yunanistan, Roma ve Mısır’da açık yaraları tedavi etmede kullanımı; küflerin yararlarına ilişkin konunun çeşitli referanslarla belirtildiği 1940’larda yayınlanan John Parkinson'un Theatrum Botanicum isimli kitabıyla birlikte yıllarca devam etmesini sağlamıştır (Gould, 2016). Bitki temelli antimikrobiyal ajanların kullanımı ile ilgili gözdeki arpacık etkeni *Staphylococcus aureus* üyesi Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)’ların öldürülmesi için 10. yy.’a ait Bald's Leechbook isimli el yazması metinde Anglo-Sakson tarifinin başarılı olduğu yer almaktadır (Harrison vd., 2015). Modern antimikrobiyal kemoterapi çağının başlaması; tam olarak antibiyotik olarak değerlendirilemeyen

arsenik bazlı bir kimyasal olan Salvarsan'ın 1909 yılında Paul Ehrlich tarafından frengi hastalık etkeni Treponema pallidum üzerine çalışmaları ile bulunmasıyla başlamış ve 1910 yılında klinik olarak kullanılmıştır (Gould, 2016). Yalnız ürünün çözünme ile ilgili sorunları nedeniyle geliştirilerek neo-salvarsan adıyla 1912 yılında kullanılmaya başlanmıştır (James, 2011). Paul Ehrlich'in sistematik tarama yaklaşımını takip eden ve ilaç endüstrisi için antibiyotik arayışındaki Bayer kimyagerlerince (Josef Klarer ve Fritz Mietzsch) sentezi yapılan ve antibakteriyel aktivite tespiti için testleri Gerhard Domagk tarafından yapılan Sülfonamid'lerin bir öncülü olan Prontosil'in keşfedilmesine neden olmuştur. 1899'da Emmerich ve Löw tarafından hastanede klinik amaçlı kullanılan ilk antibiyotik olarak ifade edilecek Pyocyanase sonrasında klinik amaçlı olarak etkili ve geniş spektrumlu etkiye sahip ilk antimikrobiyaller Sülfonamidlerdir (Aminov, 2010). Ancak 1928'de Alexander Fleming tarafından keşfedilen saflaştırılması Norman Heatley, Howard Florey, Ernst Chain ve Oxford'daki meslektaşları tarafından yapılarak 1945'de ilaç olarak klinik çalışmalarda kullanılır haline getirilmesi ile bugünde kullanımı devam eden Sülfonamidlerin yerini almıştır (Hutchings vd., 2019).

Sentetik ilaçların etki gücüne rağmen klinik alanda kullanılması sonucu meydana gelen yan etkileri nedeni ile anti enfektif etki göstermeyen doğal mikrobiyal ajanların (NPs) arayışına gidilmiştir. Kimyasal içeriği ve etki gücü bakımından NPs'ler antibiyotik içeriği bakımından zengin olup NP kaynaklı antibiyotiklerin %64'lük büyük kısmı filamentli aktinomisetlerden sağlanırken geri kalan %36'sı ise diğer bakteri grubu ve mantarlardan sağlanır (Hutchings vd., 2019).

Antibiyotiklerin hastalıkların tedavisine yönelik kullanımı sonrasında 1958 yıllarında ilk defa Penisiline yönelik antimikrobiyal direnç gözlendi ve buna yönelik 1959 yılında penisiline dirençli Beta (β)-laktam antibiyotik olan metisilin geliştirildi. Spektrum aralığı fazla olan antibiyotiklerin gelişimine paralel olarak dirençli bakterilerin artması araştırıcıları bu duruma yönelik yeni antibiyotik bulma arayışına itmiştir (Gould, 2016). Ancak antibiyotik direncinin artışı, yalnızca metisilin gibi sınırlı çözümlerle kontrol altına alınabilecek bir durum olmaktan çıkmıştır. Özellikle spektrum genişliği yüksek olan antibiyotiklerin kullanımına bağlı olarak, dirençli bakterilerin sayısında gözle görülür bir artış yaşanmıştır. Bu durum, araştırıcıları ve farmakologları yeni antibiyotik bulma ve geliştirme yoluna itmiştir. Direnç mekanizmalarının çeşitliliği ve hızla gelişen bakteriyel adaptasyon süreçleri, mevcut tedavi yöntemlerini yetersiz hale getirmiştir.

Bu bağlamda, antibiyotik direncinin çözümü için multidisipliner bir yaklaşım benimsenmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Direnç mekanizmalarını anlamak ve yeni terapötik ajanları keşfetmek adına moleküler biyoloji, genetik mühendislik ve yapısal biyokimya gibi alanlarda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Ayrıca, antibiyotik kullanımının doğru yönetimi ve yaygın bilinçlendirme kampanyaları da direnç gelişimini azaltmak adına etkili bir yol olarak öne çıkmaktadır (Caioni vd., 2024).

Sonuç olarak, antibiyotik direncinin hızla artışı, sadece yeni ilaç geliştirme çabalarını değil, aynı zamanda küresel sağlık politikalarının yeniden şekillendirilmesini ve daha etkin bir kullanım stratejisinin benimsenmesini gerektiriyor. Araştırıcılar, direncin kökenini inceleyerek etkili çözümler üretmeye devam ederken,

toplumda bilinçlendirme ve sağlık hizmeti politikalarının güçlü bir direncin kontrolü adına hayati bir rol oynadığı anlaşılmaktadır.

1.2. Antibiyotik sınıfları

Antibiyotik; insan ve hayvan enfeksiyonlarında tedavi amaçlı yaygın kullanılan antimikrobiyal ilaçlar olup (Q. Yang vd., 2021) antibiyotikler yaşama karşı anlamındaki "antibiyoz" kelimesinden türetilmiştir (Etebu & Arikekpar, 2016).

Bakterilerin çoğalmasını engelleme veya bakterileri öldürmede kullanılan doğal, yarı sentetik ya da sentetik kökenli kimyasallar diye ifade edilen antibiyotikler (Q. Yang vd., 2021), güncel tanımlama ile tamamen veya kısmen sentetik yolla üretilen antimikrobiyalleri içeren bileşikler diye adlandırılabilir. Penisilin'in tesadüfi keşfiyle başlayan 1889'da Vuillemin tarafından antibiosis denilen ve daha sonra Waksman'ın tanımı ile antibiyotik diye adlandırılan bu bileşikler üzerine yoğunlaşan çalışmalar keşfedilen antibiyotik sayısını artırmıştır. Listeye eklenen antibiyotiklerin belirli gruplar altında sınıflandırılmasında genellikle kimyasal yapıları, etki mekanizmaları ve spektrum genişliği dikkate alınır. Antimikrobiyaller güçlerini bakterinin yaşamsal ya da büyümeyle ilgili işlevlerini inhibe ederek gösterirler. Bu inhibisyonlar; nükleik asit sentezi, protein sentezi, hücre duvarı sentezi üzerinde gerçekleşebildiği gibi hücre membran fonksiyonlarının bozulması yoluyla da olabilir (Calderón & Perdue Sabundayo, 2007).

1.3. Antibiyotikler ve direnç mekanizmaları

1.3.1. Penisilin etki ve direnç mekanizmaları

Penisilinler 6-aminopenisilanikasit çekirdeğinden üretilen bir beş üyeli penam halkası, bir dört üyeli β-laktam halkası ve bir yan

zincirden oluşur. Penisilinler içindeki farklılık; aktivite spektrumu ve farmakokinetik özelliklerinde farklılıkların oluşumuna neden olan yan zincirdeki farklılıklardan kaynaklanır. β-laktam halkası ise antimikrobiyal faaliyetlerden sorumludur ve penisilloikasit oluşumu ile sonuçlanan her türlü bu halkadaki değişiklik antibakteriyel aktivitenin bozulmasına neden olur (Nathwani & Wood, 1993). Tüm Penisilinler bakterisidal etki göstererek bakterilerin ölümüne sebep olurlar. Bunu bakteri sitoplazmik membranında bulunan Penisilin bağlayıcı proteinler (PBP) olan endopeptidazlar, karboksipeptidazlar ya da transpeptidazlardan biri ya da birkaçına bağlanıp peptit çapraz zincirlerin oluşumunu engelleyerek ve anormal yapılı peptidoglikan gelişimi ile hücre duvara sentezi inhibisyonu ile başlatır. Otolitik enzimlerin (otolizinler ve mürein hidrolazlar) etkisiyle hücrenin öldürülmesiyle sonuçlanır. β-laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç geliştiren bakterilerde direnç üç farklı mekanizma ile gerçekleşir. Bunlar; bakterinin sentezlediği β-laktamaz enzimleri tarafından antibiyotiğin parçalanması, antibiyotiğin penetrasyonunun azaltılması ile PBP'lere ulaşımın engellenmesi veya antibiyotiğin bağlandığı PBP'lerin antibiyotiğe afinitesinin azalmasıdır (Calderón & Perdue Sabundayo, 2007). Bakterilerinin farklılığı onların seçtikleri direnç mekanizmalarının da çeşitlenmesine neden olmuştur. β-laktamlara karşı Gram negatif bakterilerde baskın görünen direnç mekanizması β-laktamaz üretimi iken Gram pozitif bakterilerde ise PBP'lerdeki modifikasyonlar olup farklılık nedeninin büyük olasılıkla hücre zarı farklılığı olduğu düşünülmektedir (Munita & Arias, 2016). β-laktamaz üretimi, geçirgenlik değişiklikleri, akış pompaları ile ekstrüzyon ve PBP değişiklikleri Gram negatif bakterilerde β-laktamlara karşı en yaygın

görülen direnç mekanizmasından en az görülene doğru sıralamasıdır [186]. Gram negatiflerde β-laktamların iç zarda yer alan porinlerden hareket ederek PBP'lere ulaşması dış zarın varlığı ile kontrol edilir ve β-laktamların bu kinetiği sırasında sentezlenen β-laktamazların yeterli seviyeye ulaşarak antibiyotiğin yok edilmesi ile sağlanır (Munita & Arias, 2016). Zarda görev alan dirençten sorumlu porinler arasında *Acinetobacter baumannii*'de OmpA, Omp33-36, CarO ve OprD porin kanalları ve *Enterobacteriaceae*'de ise OmpC/OmpF ve OmpK35/OmpK36 kanalları bu kontrolde görev alan gözeneklerdir (Beceiro, Tomás, & Bou, 2013). *E. coli*'lerde gözlenen OmpA, OmpC ve OmpF porinlerinden ekspresyonunda ozmolaritenin etkili olduğu OmpC ve OmpF'nin kaybı, genişletilmiş spektrumlu β-laktamaz (ESBL) ile ilişkili olup antimikrobiyal direnç gelişimini olumsuz etkiler. Ayrıca OmpC'nin kaybı bakterisidal etkiyi de azaltır (Y.-F. Liu vd., 2012). Akış pompaları Gram negatiflerde üçüncü sırada gözlenen direnç mekanizmaları olup hem içsel hem de kazanılmış dirençle antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oluşumunda görevlidirler. Bakteri üremesi ve kolonizasyonunda görev alan akış pompaları bakteriyal virülans etkenleridir (Beceiro vd., 2013). Bu pompalarda ilaç akışının yönlendirilmesinde bir proton gradyanı ve ATP hidrolizinden (ATP bağlayıcı kaset [ABC]) türetilen enerji görev alır. Proton gradyanı olarak görevli birimler ise direnç-nodülasyon-bölünmesi [RND], küçük çoklu ilaç direnci [SMR], çoklu ilaç ve toksik bileşik ekstrüzyonu [MATE] ve ana kolaylaştırıcı süper ailesi [MFS] taşıyıcılarıdır (Martinez vd., 2009). AcrAB-TolC akış pompası *Enterobacteriaceae* ve diğer Gram negatif bakteriler arasında gözlenmekte olup *E. coli*'ninde dahil olduğu bir grup klinik öneme sahip bakteri üzerinde (*K. pneumoniae*,

S. enterica serovar typhimurium, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis*, *Burkholderia pseudomallei*, *P. aeruginosa aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Brucella* spp., *Ralstonia solanacearum* ve *Erwinia* spp.) geniş çaplı araştırılarak β-laktamlar, tigesiklin ve diğer antimikrobiyallere karşı direnç oluşumunda ve bakteri virülansında etkili olduğu görülmüştür (Beceiro vd., 2013). Gram pozitiflerde zar yapısı farklılığı nedeni ile böyle bir bölümlendirme olmamasına rağmen *Staphylococcus*'larda penisilinaz senteziyle gözlenen direnç durumlardan biridir (Munita & Arias, 2016). Yalnız yaygın olan direnç mekanizması PBP'lerde gözlenen mutasyonlar ve/veya sayıca azalma veya ekspresyon değişiklikleri iken bunu takip eden β-laktamaz üretimi daha az gözlenir. Yaygın gözlenen PBP modifikasyonları arasında; *S. aureus*'ta *mecA* tarafından kodlanan PBP2, *Streptococcus pneumoniae*'de PBP2b-PBPX ve *A. baumannii*'de PBP7-8 verilebilir [186]. *S. aureus*'larda direnç mekanizmasında β-laktamazların görev alması, endojen PBP'lerin afinitesini azaltma ve β-laktamlardan etkilenmeyen ilave bir PBP eldesi yer alır. PBP2 dışında; düşük afinite özelliğine sahip PBP1 ve yüksek düzeyde ifade edilen nokta mutasyonu ile oluşan ekzojen orjinli PBP2a şeklindeki modifiye PBP'lere de rastlanır (Zapun, Contreras-Martel, & Vernet, 2008). PBP1a, PBP1b, PBP2a, PBP2b ve PBP2x olmak üzere 5'i yüksek moleküler ağırlıklı (hmw) PBP'ler ve 1 tanesi düşük moleküler ağırlıklı PBP3 olarak *S. pneumoniae* kaynaklı 6 PBP bulunmaktadır. Bu PBP'lerden klinik izolatlardan dirençli olanlarda PBP1a, PBP2b, PBP2x ve bazen PBP2a'nın değiştiği gözlenmiştir (Laible, Spratt, & Hakenbeck, 1991). *Neisseria gonorrhoeae* suşlarında 3 farklı molekül ağırlığında

PBP'ler (PBP1, PBP2 ve PBP3) bulunmakta olup klinik örneklerde Penisilin direncine bağlı olarak PBP1 ve PBP2'ye bağlanmanın azalması gözlenmiştir. PBP1'de gözlenen bağlanma azalmasının iki gen (Tem ve Pem) ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Dougherty, Koller, & Tomasz, 1980). Enterokoklarda β-laktamlara karşı intrinsik orta direncin antibiyotik kaynaklı inhibisyonu durumunda daha düşük afiniteli hmw'li PBP'ler göreve başlar. Bu PBP'nin kromozomal kaynaklı PBP5 olduğu penisiline yüksek direnç gösteren örneklerde bu PBP'nin ekspresyonu artarken, PBP5 ekspresyonunun olmadığı mutant suşta ise penisiline yüksek duyarlılık gözlenmiştir (Fontana, Grossato, Rossi, Cheng, & Satta, 1985). Enterokokların bazı suşlarında (*Enterococcus hirae*'nin bir suşunda) plazmid kaynaklı olup PBP3r diye adlandırılan PBP5'e ek düşük afiniteye sahip diğer bir transpeptidaz bulunmaktadır (Raze vd., 1998). Gram pozitiflerde β-laktamlarda yer alan β-laktam halkasının kırılması ile antibiyotik etkisiz hale getirilir. Bunu sağlayan β-laktamazların ilk tespitinin doğal antibiyotik olan Penisilin'in klinik amaçlı piyasada yerini almasından önce yapılmış olup bunlara duyarlılığı az olan antibiyotiklerin gelişimini yenilere dirençler izlemiştir (Ampisilin direnci gibi). Şu süreçte tespit edilen β-laktamaz sayısı yaklaşık 1000 civarında olup bu sayı her geçen gün artmaktadır. Elde edilen β-laktamazlardaki farklılık onların sınıflandırılması neden olmuş ve protein benzerliği (Ambler sınıflandırması) ya da biyokimyasala özelliklerine (Bush-Jacoby sınıflandırması) göre farklı sınıflandırmalar çeşitlenmiştir. β-laktamazları sınıflandıran her iki sınıflandırmada 4 grup dikkati çeker (sırayla A, B, C, D ve 1, 2, 2¥, 3). Direnç oluşumundan sorumlu olan Ambler A grubunda yer alan genler; Penisilinaz'lara

özgü TEM-1 ve SHV-1 genleri, Karbapenamazlara özgü KPC geni ve ESBL'lara özgü CTX-M ve TEM-3 genleridir. D grubunda yer alan genler; ESBL'lara özgü OXA-11 geni, Karbepenamazlara özgü OXA-23 ve OXA-48 genleridir. IMP, VIM ve NDM genleri ise C grubuna dahil karbepenamazları ifade ederken; AmpC ise B grubuna ait ESBL'ları ifade eder. β-laktamaz sentezini eksprese eden genler *bla* genleri olarak ifade edilen kromozom üzerinde bulunup MGE'ler vasıtası ile taşınan ya da integronlarda bulunarak direnç yayılımda görev alırlar (Munita & Arias, 2016).

1.3.2. Sefalosporin etki ve direnç mekanizmaları

1948 yılında bakteriyoloji profesörü Giuseppi Brotzu tarafından gözlem sonucu bulunan *Cephalosporium acremonium* diye sınıflandırılan güncel adıyla *Acremonium chrysogenum*'nin kültürü üzerinde 1953 yılında Howard Florey tarafından yapılan yoğun çalışmalar sonucu sefalosporin C isimli antimikrobiyalin keşfi gerçekleşmiştir (Bo, 2000).

β-laktam grubu antibiyotiklerin bir alt grubu olan Cephem grubu üyeleridir. Kimyasal yapı olarak Penam (Penisilinler), Penem (Karbapenemler) grubu antibiyotikler gibi β-laktam halkasına kaynamış kükürt içeren 6 üyeye sahip bir dihidrotiazin halkası içerir. Çekirdek gelişimi 7-aminosefalosporanik asit'ten (7-ACA) başlayan Sefalosporinlerde Penisilin grubundaki 6-aminopenisilanik asit yan zincirine benzer olan antibiyotiğin biyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin değişiminde görev alan iki yan zincir (R1 ve R2) bulunmaktadır. R1 yan zincirinde meydana gelen değişiklikler; β-laktamazlara karşı antibiyotiğin stabilitesini ile PBP'ler gibi ilaç hedeflerine afinitesini etkilemek yoluyla mikrobiyal aktiviteyi etkilemektedir. R2 yan zincirinde meydana gelen değişiklikler ise

antibiyotiğin yarılanma ömrünün uzatılması veya etki edeceği hedef bölgeye ulaşımının kolaylaştırılması gibi farmakolojik özellikleri etkilemektedir (*Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 2019).

Sefalosporinler'de Penisilinler gibi β-laktam halkası aracılığıyla PBP'lere bağlanarak bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek bakteri ölümüne sebep olan büyük çaplı bir bakterisidal grubu oluştururlar (Bui, Patel, & Preuss, 2024). Sefalosporinlere karşı bakteriler tarafından oluşturulan direnç mekanizmalarını 3 alt grupta toplayabiliriz. Bunlar; PBP modifikasyonu, β-laktamaz üretimi ve porinlerdeki denetim sonucu geçirimsizlik ya da antimikrobiyalin hedefe ulaşımının engellenmesidir. PBP'lerde antimikrobiyale afinite azalması ya da β-laktama duyarlılık göstermeyen yeni bir PBP edinilmesi yoluyla gerçekleşen PBP modifikasyonu hedef aracılı sefalosporin direncine neden olmaktadır. İkinci direnç mekanizmasını oluşturan β-laktamaz üretimi kromozomal ya da plazmid kaynaklı olabilmektedir. Kromozomal kaynaklı enzimler genellikle türe özgü özellikte iken plazmit kaynaklılar ise türler arası ya da daha geniş sınırlara ulaşma eğilimindedir. Üretilen enzimin konumu, enzimin aktivite kinetiği ve enzimin miktarı β-laktamaz aracılı direnç şiddetini belirlemektedir. Enzimin konumu; bakterinin Gram pozitif (hücre dışı ortam) veya Gram negatif (periplazmik boşluk) olmasına bağlı olarak değişerek β-laktamın kırılması için en uygun olacak şekilde belirlenmiştir. Üçüncü mekanizma olan geçirimsizlik Gram pozitif bakteriler için söz konusu değildir; çünkü PBP'ler dış zar üzerinde yer almaktadır. Enterobakterilerinde dahil olduğu Gram negatiflerde ise PBP'ler porinlerin içinde yer alarak korunurlar ve bu bakterilerde

porin sayısı ile sefalosporin direnci arasındaki pozitif ilişki dış zarın ilaç girişi için tek engel olabileceği düşüncesini oluşturmaktadır. Bu düşüncelere rağmen sefalosporinlere karşı gösterilen yüksek direnç durumunun birden fazla engelin birlikte etkisi ile olabileceğini yansıtmaktadır (Livermore, 1987).

Beş kuşak olarak gruplandırılan sefalosporinlerin gruplandırılması da keşif zamanları kadar etki ettikleri bakteri grubu (Gram pozitif ve Gram negatif) spektrumu da etkili olmuştur. Birinci Kuşak Sefalosporinler Gram Pozitif kokların çoğu ve bir grup Gram Negatif (*E. coli*, *Proteus mirabilis* ve *K. pneumoniae*) üzerinde; İkinci Kuşak *Haemophilus influenza*, *Moraxella catarrhalis* ve *Bacteroides* spp.'lar üzerinde etkilidir. Üçüncü kuşak Gram boyama, familya ve tür bakımından farklılık gösteren grup üzerinde (Gram negatif *Enterobacteriaceae*, *Neisseria* spp. ve *H. influenza*'larda fazla, Gram pozitiflerde az etkili); Dördüncü Kuşak bir önce keşfedilen kuşakla aynı kapsam yanında β-laktamazlar gibi antimikrobiyal dirençli Gram negatifler üzerinde; son kuşak ise MRSA'lar ve Penisiline dirençli pnemökoklar üzerinde etkilidir (Bui vd., 2024). Sefalosporinlerin dahil oldukları kuşaklara bağlı olarak onlara etki eden β-laktamazlar ve etki düzeyleri çeşitlilik göstermektedir. Örneğin bir ESBL enzimi 3. Kuşak Sefalosporinleri (ayrıca Penisilinleri, Monobaktamları) hidrolize etme yeteneğine sahipken 2. Kuşağa dahil Sefamisinler (ayrıca Karbapenemler) üzerinde orta düzeyde ya da sıfır etki göstermektedir. ESBL'lerin çoğu klavulanik asit veya tazobaktam inhibitörlerince inhibe edilirken, 3. Kuşak sefalosporinleri inhibe edemezler. Bunların inhibisyonunda Ambler sınıflandırmasında D sınıfı içinde yer alan OXA enzimleri görev alır ki bunlarda ESBL'ların bir alt grubuna

dâhildir. Plazmid kodlu bir ESBL olan CTX-M geninden ekspresyonu yapılan enzimler *K. pneumoniae*, *E. coli* ve diğer *Enterobacteriaceae*'lerde yaygın gözlenen transpozon gibi MGE aracığıyla plazmidlere kazandırılan sefalosporin direncinin büyük bir kısmından sorumlulardır. İnhibitör klavulanik asit veya tazobaktam tarafından Metallo-β-laktamazlar inhibe edilmezken aynı inhibitörler sefamisini başarılı şekilde hidrolize etme yeteneği gösterir. β-laktamazlar içinde C sınıfı üyeleri sefepim'de zayıf olmak üzere Penisilin ve Sefalosporinlere karşı bakteride direnç oluşumunda görevli enzimlerdir. Bu grup içinde en bilineni blaAmpC geni tarafından sentezlenen enzim olup kromozomal kaynaklı (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Providencia* sp., *Morganella morganii* ve *P. aeruginosa aeruginosa*'da) olduğu belirtilmiş olmakla birlikte bazı bakterilerde (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* spp. ve *Stenotrophomonas* spp.'de) plazmid kaynaklı olanlarına da rastlanmıştır. D sınıfı β-laktamazların sentezinden sorumlu çeşitli OXA varyantları bulunmaktadır. *P. aeruginosa*'da blaOXA genleri tarafından eksprese edilen OXA-11 gibi enzimler 3. Kuşak Sefalosporinleri parçalama yeteneğindeki enzimlerdir (Munita & Arias, 2016).

1.3.3. Karbapenemlerin etki ve direnç mekanizmaları

β-laktam sınıfı içinde yer alan geniş spektrumlu bir antibiyotik grubu olan karbapenemlerin ilk üyesi 1970 yılında piyasa çıkan kararsızlığı nedeni ile C-2 kısmına eklenen bir eklenti ile stabil haldeki İmipenem'e dönüştürülen Tienamisin'dir (Kahan vd., 1979; Kropp, Gerckens, Sundelof, & Kahan, 1985). 4 üyeli β-laktam halkası ve 5 üyeli Pirolin halkası olmak üzere birbirine kaynaşmış 2

halkalı bir çekirdeğe sahip β-laktam grubu antibiyotiklerdir. Bitişik bu iki halkalı çekirdeğin işlevselleşmesinde görevli iki yan zincire (C-2 tiyoeter ile C-6 hidroksietil) sahiptir (Ratcliffe vd., 1989). Karbapenemler; Gram negatif, Gram pozitif, aerob ve anaerob bakteriler üzerinde geniş bir antimikrobiyal etkiye sahip olup en popülerlerini imipenem ve meropenem oluşturur (Bassetti, Nicolini, Esposito, Righi, & Viscoli, 2009). Karbapenemler diğer β-laktam antibiyotikleri gibi bakteri hücre duvarı oluşumunu engelleyerek bakterilerin ölümüne neden olurlar. Gram negatif bakterilerde antibiyotiğin bakteriye etkisi önce porin adlı dış zar proteinlerinden (OMP) geçerek peptit bağlarının çapraz bağlanması ile hücre duvarı peptidoglikan yapısının oluşmasını katalizleyen enzimler olan PBP'lere bağlanırlar. Hücre duvarı oluşum sürecinde hücrede otoliz devam eder, PBP'lerin görev yapamaması sonucu peptidoglikan zayıflarken artan osmotik basınç nedeniyle hücre patlar (Papp-Wallace, Endimiani, Taracila, & Bonomo, 2011). Karbapenemlerin bağlanarak inhibe ettiği PBP'ler farklılık göstermektedir. Gram negatif bakterilerde öncelikle PBP2'ye güçlü bir bağlanım yanında PBP1a, PBP 3'e de bağlanma özelliği gösterirler (Bush & Bradford, 2016). Örneğin; *E. coli* ve *P. aeruginosa* için karbapenemlerin tamamı PBP2'ye öncelikle bağlanmanın yanında Biapenem her iki tür için PBP1'e (*E. coli*=PBP1a, *P. aeruginosa*=PBP1b) güçlü bir afiniteye sahiptir (Y. Yang, Bhachech, & Bush, 1995). Meropenem'lerin *E. coli*'ye etkisinde yüksek afinite gösterilen PBP'ler arasında PBP2 ve PBP3'ün yer alması diğer bir örnektir. Bu durum bakterilerde direnç gelişiminin önüne geçerek karbapenemlerin etki spektrumunun genişliğini göstermektedir (Sumita & Fukasawa, 1995). Karbepenemlerden imipenem pirolin

halkası içinde bir β-Hidrojen yapısına sahip olması onun insan dehidropeptidazı tarafından hidrolizi için stabilasyon oluşturmazken diğer karbapenemlerdeki bir β-CH3 grubu bulundurması (meropenem, ertapenem gibi karbapenemler) bu enzime karşı duyarlılığı azaltarak hidrolizasyonu yavaşlatır (Lohans vd., 2019).

Bakterilerde karbapenemlere karşı oluşturulan direnç mekanizmalarını; β-laktamaz üretimi, akış pompaları, porinler ve PBP'lerin ekspresyon ya da fonsiyonel değişimlerine neden olan mutasyonlar oluşturmaktadır. Bazı bakterilerde (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* gibi) bu direnç mekanizmalarının bir kombinasyonu bulunmakta olup oluşan karbapenem direnci bu bakterilerle mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Penisilin ve sefalosporinlerden daha geniş bir antimikrobiyal spektruma sahip olan Karbapenemlere karşı Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin geliştirdikleri direnç mekanizmaları farklılık göstermektedir. Gram pozitif koklarda PBP'lerde modifikasyon ya da karbapenem direçli yeni PBP'lerin eldesi yoluyla direnç sağlanırken; Gram negatif çubuklarda da PBP modifikasyonu ve PBP'lerin yerleştiği porinlerin kaybı direnç mekanizmaları yanında akış pompası ve β-laktamaz ekspresyonunun bulunması yer alır. Karbapenem dirençlerinden en yaygın gözlenen β-laktamazlardan yaygınlaşan oranlarda; KPC ve GES enzimleri gibi A sınıfı karbapenemazlar, VIM, IMP ve NDM β-laktamazlar gibi B sınıfı karbapenemazlar gözlenir. Ayrıca OXA-23, −24) /40, −48, −51, −55, −58 ve -143 gibi D sınıfı karbapenamazlar ile CMY-10 ve PDC β-laktamazlar gibi zayıf özelikte karbapenemazlardan C sınıfı β-laktamazlar da gözlenmektedir. Zayıf karbapenamazlara porin kaybının eklenmesi direnç gücü artmaktadır (Papp-Wallace vd.,

2011). Karbapenemlere karşı geliştirilen ikinci bir direnç mekanizması antibiyotiğin hedef PBP'ye transferinden sorumlu porinlerin ekspresyonundaki değişiklikler veya bu proteinlerin üretiminin durmasıdır. Porinlerin karbapenemler üzerindeki etkileri de spesifik olup olmamasına göre değişiklik gösterir. Örneğin *P. aeruginosa* izolatlarının imipenem direnci OprD porin inaktivasyonu kaynaklı iken, diğer iki karbapenem olan meropenem ve doripenem direncinde ise AmpC'nin ve dışa akış pompalarının (mexB ve mexY'nin) artan ekspresyonu durumunda doripenem direncinin meropenem'den daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Riera vd., 2011). *E. coli* suşlarının bazılarında imipeneme direnç gelişiminde OmpC ve OmpF porinlerinin ekspresyonunun eksikliği rol almaktadır (Oteo vd., 2008). Akış pompası üst ailelerinden biri olan RND ailesindeki AcrB akış pompası promorterleri ile karbapenem direnci arasında ilişki çoklu antimikrobiyal direnç durumlarında gözlenmektedir (Atzori vd., 2020). *P. aeruginosa*'da karbapenem direncinde; iki dışa akış porini (OprM ve OprJ), bir periferik sitoplazmik membran bağlayıcı (MexA, MexC veya MexX) ve bir sitoplazmik membran pompasının (MexB, MexD veya MexY) birleşmesi ile oluşan tamamlanan bir akış kompleksi rol alır (Ziha-Zarifi, Llanes, Köhler, Pechere, & Plesiat, 1999).

1.3.4. Monobaktamlar etki ve direnç mekanizmaları

Tek bir β-laktam halkası bulunduran Monobaktamların ilk örnekleri 1970'li yılların ortalarında Nocardia uniformis subsp. tsuyamanensis aktinomiset suşundan elde edilen Nocardicin A isimli monosiklik β-laktam'dır. Gram negatif bakteriler üzerinde orta düzeyde geniş bir spektruma sahip olan antibiyotiktir (Aoki, Sakai, Kohsaka, Konomi, & Hosoda, 1976). Antimikrobiyal aktiviteden

sorumlu yapının Monosiklik Nokardisinlerin keşfi ile kaynaşık halka sistemi olduğu düşüncesi yıkılmıştır. Doğal olarak bulunan monobaktamlarda β-laktam halkasının 3-alfa veya 3-β yan zincirinde bulunan asidik içerik (2-oksoazetidin-l-sülfonik asit) bulunmaktadır ve bu zincirdeki değişikliğin etki edilen mikroorganizmalarda çeşitliliğe sebep olmaktadır. Monosiklik β-laktamlarda karboksil grubu aktivasyonundan sorumlu yapı halkaya (halka nitrojenine) bağlanan sülfonik asit iken β-laktamaz stabilitesinde ise alfa metil grubunun 4. pozisyona eklenmesi etkilidir. Eklenen metil grubu antimikrobiyal aktiviteyi de artırır (Neu, 1986). Monobaktamlar üzerine yapılan çalışmalar sonucu ticareti yapılan ilk monobaktam olarak ticereti yapılan Aztreonam; *P. aeruginosa*'nında dahil olduğu aerob Gram negatif bakteriler üzerinde oldukça etkilidir. Aztreonam kromozomal kaynaklı β-laktamazları zayıf indükleyici özellikte iken R plazmitleri kaynaklı β-laktamazlara karşı direnç gücü yüksektir (Sykes & Bonner, 1985). Aztreonam antibiyotiği diğer β-laktam antibiyotikleri gibi PBP'lere bağlanıp hücre duvarı sentezi inhibisyonunu sağlayarak etki gösterir. Bu etki Gram negatif bakterilerde PBP-3'e bağlanarak gösterilirken Gram pozitiflerdeki PBP'lere afinite çok düşük olduğundan bağlanılmaz (Calderón & Perdue Sabundayo, 2007). Azreonam'ın Gram boyanma özelliğine bağlı olarak PBP afinite farklılığı gözlenmekte olup yüksek afiniteli PBP ile etkileşimi sonrasında diğer bir grup β-laktam antibiyotiğinde (sefalosporinler) olduğu gibi filamentasyon oluşumu ve hücre duvarı kırılımı gerçekleşir. Bunu lizis ve hücre ölümünün takip ettiği bakterisidal etki gözlenir. Bu etkinin inhibitör konsantrasyonu ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Sykes & Matthew, 1976). Bakterilerin β-laktam antibiyotiklerine

karşı etkili direnç mekanizmaları arasında ana rol sahibi β-laktamazlardır. Plazmid ya da kromozom kaynaklı β-laktamazların üretimi ile β-laktam grubu antibiyotiklerin inhibisyonu gerçekleşmekte olmasına rağmen plazmid kaynaklı β-laktamazlar rastgele bakteriler arasında (*Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*, *N. gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenza*e) transfer edilen genler (TEM gibi) nedeni ile tedavi süreci için önemli bir sorun teşkil eder. Kromozomal kaynaklı β-laktamazlar üreten gen transferi *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* ve *P. aeruginosa* türleri gibi bazı bakteri grupları ile sınırlılık göstermektedir (Sykes & Matthew, 1976). *E. coli*'ye karşı inhibisyon özelliğine sahip olan Azreonam antibiyotiğinin Gram negatifler tarafından üretilen β-laktamazların çoğunluğuna karşı stabilitesi yüksektir. Bu kuralı bozan enzimler arasında kromozomal ya da plazmid kaynaklı olanlar vardır. Azreonam üzerinde etkiye sahip olan enzimlerin kaynağı kadar etki düzeyleri de farklılık gösterir. *Klebsiella oxytoca*'nın bazı suşlarınca üretilen kromozomal kaynaklı Kl β-laktamaz (orta düzeyde)ile plazmid kaynaklı PSE-2 enzimleri (düşük düzeyde) bu farklılığı gösteren örneklerdir (Soriano & Ponte, 1984).

1.3.5. Glikopeptidler etki ve direnç mekanizmaları

Mevcut antimikrobiyallerin piyasada etkin rol alması sonucu *Staphylococcus*'larda bunlara karşı gerçekleşen artan direnç oluşumu 1950'li yıllarda antistafilokok özelliğe sahip alternatif antimikrobiyal ajanların arayış sürecini tetiklemiştir. 1957 yılında bunun için Eli Lily ve Şirketi tarafından geniş çaplı stafilokoklar üzerinde etki düzeyi fazla ve onlara karşı özgüllüğü yüksek antimikrobiyal arayışı başlamıştır. Çalışmada kimyager olarak görev alan Dr. E.C. Kornfeld'e Bornea'dan gelen orman toprağı

örneklerinde yaptığı inceleme sonucu *Streptomyces orientalis* isimli bir organizmanın varlığını tespit etmiştir. Bunun fermente ürününden başta Staphylokoklar olmak üzere birçok Gram pozitif bakteri üzerinde yüksek düzeyde bakterisidal etki gösteren 05856 kodlu bir bileşik izole etmiştir (Griffith, 1981). Eli Lilly bilim insanları %70'e yakın oranda safsızlığın gözlendiği ve bunun rengine yansıdığı bu bileşiğe "Mississippi çamuru" adını vermiş ve sonraları vanquish kelimesinden türetilen bir terim olan "vankomisin" olarak etiketlenerek 1958 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından klinik kullanım amaçlı hızlıca onay almıştır. Buna rağmen toksik etkisi az olan yarı sentetik Penisilinlerin piyasada yer alması klinik kullanımını geciktirmiş ve bu yarı sentetik ürünlere de direncin gözlenmesi Vankomisin'in kullanım oranında artışı sağlamıştır (Moellering, 2006). Gram negatiflere karşı aktivite göstermeyen Vankomisin duyarlı tüm Gram pozitifler üzerinde bakterisidal etki gösterir. Enterokoklar üzerinde bakteriyostatik aktiviteye sahip olan Vankomisin'in bu bakteri grubunda bakterisidal etkinlik göstermesi için bir aminoglikozid ile kombinasyon oluşturması gerekmektedir. Vankomisin anaerob Gram pozitif bakteriler üzerinde de etkiye sahiptir (Rubinstein & Keynan, 2014). 1970'li yıllarda yapılan çalışmalar Vankomisin ile yapısal ilişkili diğer glikopeptidlerden Teikomisin antibiyotiklerinin izolasyonunu sağlamıştır. Bu grubun üyesi olan Teikoplanin 1984 yılında klinik kullanım izni almış ve 1988 yılında ise Almanya'da ruhsatlanmış ve yoğun bakım ünitelerinde en fazla kullanılan antimikrobiyal ajan olmuştur. Bu hızlı yükselişin altında Vankomisin'e olan serum yarılanma ömür uzunluğu, yan etki azlığı ve uygulanma işlemlerinin kolaylığı üstünlükleri yatmaktadır

(Trautmann, Wiedeck, Ruhnke, Oethinger, & Marre, 1994). Teikoplaninden sonraki klinik çalışmalar ile lipoglikopeptit ajanlardan ikinci nesil üyeleri dalbavancin (BI-387) ve oritavancin (LY-3333328) ve üçüncü nesil telavansin (TD-6424) elde edilmiştir (Zhanel vd., 2010).

Glikopeptid grubu antibiyotikler bakterilerde hücre duvarı oluşumunu β-laktamlardan farklı bir yolla inhibisyona uğratarak bakteriler üzerinde bakterisidal etki göstermektedir. Vankomisin bu etkiyi peptidoglikan öncülleri olan mürein monomerlerine bağlanıp onların hücre zarına geçmesi sağlar ve bu monomerlerin glikopeptidana eklenmesindeki transglikosilasyon ve transpeptitasyon basamaklarını bozarak gösterir (Rubinstein & Keynan, 2014). Teikoplanin'deki antimikrobiyal etki D-alanin D-alanine bağlanıp lipid II substratının sekestrasyonuna neden olarak bakteriyel peptidoglikan inhibisyonuna sebep olur (Beauregard, Williams, Gwynn, & Knowles, 1995). İkinci nesil üyelerinden dalbavancin'in etki mekanizması Teikoplanin ile aynı iken oritavancin etkisini güçlendiren ilave mekanizmalara sahiptir. Bunlara arasında D-alanin D-laktata bağlanıp hücre duvarı tutunumu öncesi dimer oluşumu ile lipid II ile etkileşimi sırasında ek stabilite oluşumunu sağlayıp hücre duvarına tutunumunu kolaylaştıran yan zincir varlığı (hidrofobik 4'-klorobifenilmetil yan zincir) yer alır (Allen, LeTourneau, Hobbs, & Thompson, 2002). Üçüncü nesil üyesi olan Telavansin Vankomisin gibi hücre duvarı öncüllerinde bağlanılan D-alanın D-alanin terminali içeren çekirdeğe sahiptir ve geç dönem peptidoglikan öncüllerine bağlanarak çapraz bağlanmaları önler (Karlowsky, Nichol, & Zhanel, 2015).

Glikopeptidlerin (vankomisin ve diğer lipoglikopeptidler) Gram negatiflere karşı antibakteriyel etki göstermemesinin altında Gram negatiflerin hücre duvarında mevcut dış zar varlığıdır. Gram pozitiflerde ise bu engelin yer almaması glikopeptidlerin mevcut hedefi olmalarını sağlar. Bu durum bakterilerde Glikopeptid grubu antibiyotiklerine yönelik direnç mekanizmalarının gelişmesini tetiklemiştir. Piyasaya sürülümünden itibaren 30 yıl sonra 1986 yılında yüksek düzeyli Vankomisin direncine Enterokoklarda rastlanmıştır (Leclercq, Derlot, Weber, Duval, & Courvalin, 1989). Enterokoklarda tespit edilen (*E. faecium*, *E. faecalis*, *E. gallinarum* ve diğerleri) taşınan transpozon ile plazmid kaynaklı Vankomisin direncinin diğer Gram pozitiflere (*S. aureus*, *Clostridium difficile* ve *Streptococcus bovis*) aktarılmıştır. HGT yoluyla olan bu taşınım Gram pozitiflerin neden olduğu önemli enfeksiyonlar için son çare olan Glikopeptidlere alternatiflerin bulunması gibi yeni bir sorunu meydana getirmiştir. Glikopeptid grubu antibiyotik direncine MGE'ların dışında bazı bakterilerde gözlenen kromozom kaynaklı intrensik direnç mekanizmaları da neden olur (Karlowsky vd., 2015). Vankomisin direncinin oluşumunda iki önemli mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan biri bir hidrojen bağı etkileşim kaybı sonucu Vankomisin'in bağlandığı öncüllerin değişimi ile 1000 kez daha az bağlanma afinitesi ile sonuçlanan karboksi-terminal d-alanin kalıntısının d-laktat ile değiştirilmesine neden olan enzimlerin mevcudiyetidir (Pootoolal, Neu, & Wright, 2002). İkincisi ise d-serin kaybına bağlı olarak sterik engelleme ile sonuçlanan bağlanma öncüllerine altı kat daha düşük afiniteye neden olan enzim varlığı kaynaklıdır. Vankomisin ve diğer glikopeptid grubu antimikrobiyallere direnç gelişimde plazmid ve kromozom kaynaklı

farklı moleküler direnç elemanları kaynaklı 6 farklı direnç mekanizması tespit edilmiştir. Bunların ekspresyonundan sorumlu genlerden VanA ve VanB, plazmid kaynaklı iken VanC, VanD, VanE ve VanG kromozomal kaynaklıdır. Bu direnç mekanizmalarının tümü hem Vankomisin hem de Teikoplanin etkisi üzerinde inhibisyon yaparken etki güçleri farklılık gösterir. Oritavancin üzerinde 3 direnç geni (*VanA*, *VanB* ve *VanC*) Telavancin üzerinde bir direnç geninin (*VanA*) etkili olduğu gözlenmiştir (Courvalin, 2006).

1.3.6. Lipopeptidlerin etki ve direnç mekanizması

Bir lipit kuyruğunun bağlandığı peptit çekirdeğine sahip olan çeşitli bileşiklerden oluşan antimikrobiyal bir sınıfı ifade ederler. Toprak bakterisi ya da mantarlarca üretilen bu bileşikler şu an klinik kullanıma sahip geniş bir terapötik ajan grubunu oluştururlar. Bunlar arasında; polimiksinler (polimiksin B ve kolistin), ekinokandinler (kaspofungin, mikafungin ve anidulafungin) ve daptomisin yer alır (W. R. Miller, Bayer, & Arias, 2016). İzole edilen ilk örneklerde linear yapılı olduğu düşünülen bu bileşiklerin siklik yapısı Daptomisin'in keşfinden sonra anlaşılmıştır (Baltz, Miao, & Wrigley, 2005).

Bakterilerde antibiyotiklere yönelik direnç gelişimi dirençli bu bakterileri antibiyotiklerden dirence bağlı daha hızlı etkisiz hale getirecek antibiyotik membran aktif molekül analogları üzerindeki ilgiyi artırmıştır (Konai, Adhikary, & Haldar, 2017). Bakteri membranını hedef alarak çoklu hücre zarı bozunumuna neden olan bu bileşiklere yönelik aktinomisetler üzerindeki (*Streptomyces canus*'da) ilk tespit 1950 yıllarda Amphomycin'in bulunması ile gerçekleşmiştir (Baltz vd., 2005). Bu antibiyotik sınıfı üzerine

yoğunlaşan bu çalışmalar 1959'da Kristallomisin, 1960'da Aspertosin, 1962'de Glumamisin, 1968'de Laspertomisin ve Tsushimycin yeni lipopeptidlerin bulunması ile devam etmiştir (W. R. Miller vd., 2016). 1980'li yıllarda Eli Lilly şirketindeki bilim insanları tarafından Ağrı Dağından getirilen topraktan izole edilen *Streptomyces* roseosporus'dan A21987C diye isimlendirilen lipopeptid grubu bir antibiyotik öncülü elde edilmiştir (Baltz vd., 2005). Bu öncül üzerine yapılan çalışmalar ile Gram pozitif bakterileri hedef alarak ciddi cilt enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmak üzere 2003 yılında ve dirençli özelliğe sahip bakterilerin (MRSA ile Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium*=VRE) neden olduğu hastalıkların tedavisi için 2006 yılında Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından kullanılması onaylanan Daptomisin'in ön saflarda yer almasını sağlamıştır (W. R. Miller vd., 2016).

Bakterilerde çoklu bozunum ile hücre ölümünü neden olan bu *antimikrobiyaller* öncelikle lipit kuyruğunu bakteri hücre membranına sokar. Bu işlemin gerçekleşmesi kalsiyum varlığına ihtiyaç duyulup gerçekleşen bu durumla hücreden iyon (potasyum gibi) pompalanır (Carpenter & Chambers, 2004). Daptomisin'in Gram pozitiflerde fosfatidilgliserol içeren stabil yapılı hücre membranının stabilizasyonunu lipit tabakasındaki hem vezikül füzyonu hem de flip flop gerçekleşmesini kalsiyum varlığında indükleyerek bozmaktadır (Jung, Rozek, Okon, & Hancock, 2004). Sonrasında öncelikli olarak DNA, RNA ve protein sentezindeki bozulmalar ile gerçekleşen yaygın etki hücre ölümü ile sonuçlanır. Gram pozitif bakterileri hedef alan Lipopeptidlerin Gram negatiflere etki edememesinin sebebi dış zarla temasın sağlanamamasından dolayıdır (Carpenter & Chambers, 2004).

Özellikle Vankomisin direnci durumunda öncelikli etken ajan olarak kullanılan Daptomisin direncinin altında yatan mekanizma tam netleşmemiş olup sürecin genetik temeli çeşitli, karmaşık ve mutasyonel faktörler nedeni ile çok-boyutluluk göstermektedir (T. T. Tran, Munita, & Arias, 2015). *S. aureus*'larda Daptomisin direncinde etkili mekanizma hücre yüzeyindeki pozitif yüklerin artması sonucu kalsiyum ve daptomisin kompleksinin yüzeyden itilmesi şeklindedir. Daptomisin direncinin bu bakterilerdeki dirençleri çeşitlilik göstermekte olup bu direncin gözlendiği örneklerde mprF geni ve yycFGHI operonundaki yycFG bileşenlerinde biriken tek nükleotid polimorfizmi gözlenmektedir. Bunlardan yyc operonu stres faktörlerine (ör; antimikrobiyaller gibi) karşı gösterilen genel tepkilerden, mprF operonu ise pozitif yükle yüklenmiş fosfolipit sentezi ve hücre membranının translokasyonundan sorumlu olarak direnç gelişimine destek olurlar. Bunun dışında gözlenen hücre membran geçirgenliğinde ve depolarizasyonunda direnç gözlenmesi ve hücre membranında daptomisin tutunma noktalarında azalmanın gerçekleşmesi gibi daptomisin direnç çeşitleri de gözlenmektedir (Bayer, Schneider, & Sahl, 2013). Hücre yüzeyinden Daptomisin'in itilmesine dayalı direnç Enterokokların (*E. faecium*'un bazı suşları) bazı suşlarında da gözlenmektedir. Enterokoklarda gözlenen diğer bir direnç mekanizması ise *E. faecalis* suşlarında gözlenen anyonik fosfolipit mikro-alanlarının septal düzlemden uzaklaştırılması şeklinde işlev görür. Bunun nedeni ise Daptomisin ve kalsiyum kompleksinin septal düzleme tutunarak etki göstermesinden dolayıdır (T. T. Tran vd., 2013).

1.3.7. Oksazolidinonlarin etki ve direnç mekanizması

1980'li yıllarda tespit edilmiş mevcut antibiyotik skalasının genişliği ve buna rağmen oluşan direnç mekanizmalarına müdahale ajanlarındaki yetersizlik, yeni antimikrobiyal ajan arayışını yönlendirse de doğal ürünlerden elde edilen ajanların temininde hücre tanılama yöntemindeki yetersizlikler ve yeni moleküler tanılamanın gerekliliğini gibi sorunları meydana getirmiştir (Ford, Zurenko, & Barbachyn, 2001). Ayrıca doğal ürünlerde gözlenen karmaşık yapı ve bunların modifiye antimikrobiyal ürünlerinin eldesinde zorluklar sentetik bazlı antimikrobiyallerin keşfine yol aralamıştır. Bunun sonucu ilk sentetik antibiyotik sınıfı olan oksazolidinonların ilk üyesi Linezolid'in keşfi gerçekleşmiştir. Tamamen sentetik olan bu antibiyotik komplike ve komplike olamayan Gram pozitif bakterilerce meydana getirilen cilt enfeksiyonlarında etkin bir ajan olması yanında hastane ve toplum kökenli dirençli Gram pozitif bakterilerin (MRSA gibi) neden olduğu enfeksiyonlarda FDA'dan 2008 yılında kullanım izni alan ilk oral antibiyotiktir (Leach, Brickner, Noe, & Miller, 2011).

Linezolid, diğer Oksazolidinonların tamamı gibi yapısında 2-oksazolidinon içeren ve bakterilerin 50S'lik ribozom alt birimine bağlanarak bakterilerin protein sentezini inhibe ederek etki gösteren bir antibiyotiktir. Ayrıca protein sentezinde 30S birimine bağlanma kanıtı bulunmadan inhibisyona sebep olarak bakteriler üzerinde etkili bu antibiyotik peptit uzama ve translokasyonu sonlandırma adımlarını etkilemeyerek etkiyi oluşturması nedeni ile diğer protein sentez inhibisyonuna neden olan antibiyotiklerden de farklı özellikler göstermektedir (J. L. Miller, 2000). Bu farklı etki mekanizması nedeni ile diğer antimikrobiyaller ile linezolidler

arasında çapraz bir direnç olasılığı yoktur. Oksazolidinonlar içinde bulunan Gram pozitif bakteri kaynaklı enfeksiyonlarda kullanılan mevcut antibiyotikler arasında Linezolid ve Tedizolid yer almaktadır. Bu antibiyotikler bakteriyel ribozomun 50S alt birimindeki A bölgesine bağlanarak protein sentezini inhibe ettiği bilinmektedir.

Streptokok türlerinin çoğu üzerinde bakterisidal, Stafilokok ve Enterokoklar üzerinde bakteriyostatik etki gösteren oksazolidinonlara (J. L. Miller, 2000), karşı direnç mekanizmaları çeşitlik göstermektedir. Bunlar arasında; 23S rRNA'nın kloramfenikal (*Cfr*) isimli bir metilaz tarafından metilasyonu, 23S rRNA'yı kodlayan gen mutasyonları ve L3/L4 grubu ribozomal protein değişiklikleri yer almaktadır. Bunlar arasında yer alan 23S rRNA mutasyonlarından V alanı mutasyonu olan G2576U mutasyonu linezolid direnci ile bağlantılıdır. Enterokoklarda birden fazla ifade edilen 23S rRNA gen mutasyonlarının sayısal fazlalığı ile direnç miktarı arasında ilişki (Marshall, Donskey, Hutton-Thomas, Salata, & Rice, 2002), en sık gözlenen bu direncin dışında L3/L4 protein grubundaki ikame değişiklikleri ya tek başına ya da diğer direnç belirteçleri ile birlikte kombinasyon halinde linezolid direnci teşekkülünde görev alırlar (Munita & Arias, 2016). Linezolid direncinin gelişiminde hedef bölgelerdeki değişim de etkili olmaktadır. Linezolid ve ribozom kompleksinde 23S rRNA A 2503 ilaç bağlama bölgesinde konumlanmaktadır. *cfr* tarafından kodlanan adenosinde modifikasyon oluşumu ile ermB tarafından kodlanan 23S rRNA A2058 bölgesinde dimetilasyon oluşumuna neden olan genler dirençten sorumlu kılınan ve *cfr* operonunda yer almaktadır. *cfr*, linezolid ile etki alanı örtüşen doğal antibiyotiklere karşı direnç

oluşumunda görev almakta olup her iki genin (*cfr* ve *ermB*) ekspresyonunun gerçekleşmesi büyük ribozom alt birimi hedefine sahip tüm antibiyotiklere direnç oluşumunda görevlidir. Linezolid direncinde görevli ermB'nin plazmid ve transpozon gibi MGE'lar ile olan ilişkileri nedeni ile diğer Gram pozitif bakterilere de aktarımı direnç seyrini büyütmektedir (Marshall vd., 2002). Staphilokoklarda L3/L4 proteinlerindeki değişimler en sık gözlenen direnç iken farklı türlerde (*S. aureus* ve *S. epidermidis*) *cfr* genleri varlığına bağlı oluşan dirence de rastlanmıştır. Enterokoklarda (*E. faecalis* ve *E. faecium*) en sık rastlanan linezolid direnci (LNZ-R) 23S rRNA gen mutasyonları iken bazı türlerde (*E. faecium*) L3/L4 ribozomal protein değişikliğine bağlı dirençte gözlenmiştir (Munita, Bayer, & Arias, 2015). Streptokoklarda LNZ-R az gözlenmekle birlikte bazı türlerde (*Streptococcus suis*) *cfr* geni varlıklı bir direnç gözlenmiştir (Wang vd., 2013).

1.3.8. Aminoglikozidlerin etki ve direnç mekanizmaları

Aminoglikozidler, doğal ve yarı sentetik antibiyotiklere sahip aktinomisetlerden elde edilen antimikrobiyal grubu ifade eder. İlk üyesi Streptomisin, 1944 yılında Selman Waksman'ın araştırma grubunda bulanan yüksek lisans öğrencisi Albert Schatz'ın Rutgers Tarım Okulu toprağından izole ettiği *Streptomyces griseus*'den elde edilmiştir (Woodruff, 2014). Streptomisin'in klinik kullanıma başlaması ile yeni aminoglikozidlerin keşfine yönelik hızlanan çalışmalar; *Streptomyces* spp.'den 1949'da Neomisin (*Streptomyces fradiae*), 1957'de Kanamisin (*Streptomyces kanamyceticus*), 1967'de Tobramisin (*Streptomyces tenebrarius*), 1960'larda Paromomisin (*Streptomyces krestomuceticus*), *Micromonospora* spp.'den 1963'de Gentamisin (*Micromonospora purpurea*),

Sisomisin (*Micromonospora inositola*) isimli doğal antibiyotik olan aminoglikozidlerin bulunması ile devam etmiştir. Elde edilen doğal antibiyotiklerden Sisomisin'den 1967 yılında elde edilen Netilmisin, Kanamisin'den 1972 yılında Amikasin isimli yarı sentetik antibiyotikler kullanılmaya başlanmıştır. Klinik kullanımda kemoterapötik ajan olarak yerini alan Aminoglikozidlerin rolü; toksik gücü daha az olan Sefalosporinler, Florokinolonlar ve Karbepenemlere 1980'li yıllarda aktarılmıştır (Krause, Serio, Kane, & Connolly, 2016). Aminoglikozidlerinin kullanımına bağlı bakterilerde direnç gelişimi sonucu bu grubun gençleştirilmiş sınıfını ifade ederek mevcut direnç mekanizmalarından kaçan yeni aminoglikozidler üretilmiştir. Bunlar arasında Arbekasin ve Plazomisin gibi yeni aminoglikozidler yer alır. Plazomisin, *Enterobacteriaceae* için en yaygın direnç mekanizması olan aminoglikozid değiştirici enzimler (AME) ile geleneksel 1981'de FDA tarafından onaylanarak kullanıma giren Amikasin ve Gentamisin, Tobramisin gibi eski aminoglikozidlerde *Enterobacteriaceae* için en yaygın direnç mekanizması olan aminoglikozid değiştirici enzimlerin etkisinden kurtulmak için yapısal modifikasyonları içeren değişikliklere sahip olur şekilde Sisomisin'den üretilmiştir (Aggen vd., 2010; Serio, Keepers, Andrews, & Krause, 2018).

Aminoglikozidler, hem Gram pozitifler hem de Gram negatif bakteriler üzerinde konsantrasyona ve çeşidine bağlı geniş spektrumlu bakterisidal etkiye sahiptir (Landman vd., 2010). *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinden bazıları (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *Providencia* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp. ve *Serratia* spp.)

üzerinde güçlü antimikrobiyal etkiye, bazı üyeleri (*P. aeruginosa*, *Yersinia pestis*) üzerinde daha düşük etkiye sahiptir. Ayrıca *Francisellaceae* ailesi üyelerinden *Francisella tularensis* üzerinde de etkili olan aminoglikozidler *Moraxellaceae* ailesi üylerinden *Acinetobacter* spp. üzerinde düşük etkiye sahiptir. Ayrıca MRSA ve orta düzeyde VRSA izolatları gibi Gram pozitif bakteriler (Serio vd., 2018) ile *Mycobacterium* spp.'den bazılarına (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. fortuitum*, *M. chelonae* ve *M. avium*) karşı güçlü aktivite gösterirler (Krause vd., 2016). Aminoglikozidlerin gençleştirilmiş sınıf üyeleri (Plazomisin gibi) aminoglikozid dirençli, karbapenemaz dirençli ve ESBL dirençli *Enterobacteriaceae* grubu MDR'ne sahip bakteriler üzerinde etki düzeyinin yüksek olduğu in vitro çalışmalar ile anlaşılmıştır (Connolly, Riddle, Cebrik, Armstrong, & Miller, 2018).

Aminoglikozidler bakterilerin protein sentezini inhibe ederek onlar üzerinde etkilerini gösterirler. Ribozomun küçük alt birimi olan 30S biriminin 16S rRNA A bölgesine yüksek afinite ile bağlanma özelliği gösterirler. Antibiyotiğin çeşidine göre bağlanılan A bölgesinde değişikliğe rağmen etkileri ile bölgenin konformasyonu bozulur. Ribozomun yanlış okumayı düzeltme yeteneğinin elimine edilmesi ile sonuçlanan süreç mRNA'daki bilgi yanlış okunmasını tetikler (Ramirez & Tolmasky, 2010). Bazı grup üyeleri ise ya protein sentezinin başlamasını bloke ederek ya da uzamasını engelleyerek etki gösterir. Aminoglikozidlerin etkisi ile yanlış ürünlerin sentezine neden olarak oluşan ürünler stoplazmik membrana ya da diğer hücre kısımlarına ulaşarak oralarda zarara sebep olur. Bu zararın başlangıcını aminoglikozidlerin bakteri membranındaki negatif yüklü moleküllere bağlanarak (Gram-

pozitiflerde = fosfolipidleri ve teikoik asitler, Gram-negatiflerde = fosfolipidleri ve LPS gibi) lipit tabakasının çapraz konumlanması ile stabilizasyonundan sorumlu magnezyum iyonlarının yer değişimine neden olması ile dış zarın bozunması ile olur. Geçirgenliği artan zar sitoplazmada inhibe edilmiş protein sentezi ya da bozuk sentezlenen proteinler zar ve diğer hücre kısımlarında meydana getirdiği hasar ile aminoglikozid geçirgenliğini artırarak hücreyi ölüme götürür (Krause vd., 2016).

Aminoglikozidlere karşı bakterilerin oluşturduğu direnç mekanizmaları farklılıklar göstermektedir. Bunlar arasında; AME'lerin etkinliği, hedef bölge modifikasyonları (bir kromozom ya da enzim mutasyonu kaynaklı) ve akış pompaları yer alır. Antibiyotiğin çeşidine uygun direnç mekanizmaları farklılaşabildiği gibi bazı izolatlar birkaç çeşidi birlikte bulundurarak direnç göstermektedir.

AME'ler, aminoglikozidlerdeki 2-deoksistreptamin çekirdeği ya da şeker kısımlarındaki amino ya da hidroksil gruplarında modifikasyonun gerçekleşmesini katalize eden enzimlerdir. Aminoglikozidlerde inhibisyonun gerçekleşmesi modifiye edilecek kısımlarda asetilleme, fosforilleme ya da adenilatlama işlemlerini gerçekleştiren AME'lerin 3 farklı grubu tarafından olur. Asetiltransferazlar (AAC'ler), Nükleotidiltransferazlar (ANT'ler) veya Fosfotransferazlar (APH'ler) gruplarından oluşurlar. AME direnç mekanizmalarını kodlayan genler; İntegronlar, gen kasetleri, transpozonlar ya da integratif birimler üzerinde konjugatif elementler yoluyla doğal olarak taşınarak ve transdüksiyonlar veya transformasyonlar ile taşınımı mevcut antibiyotiklerden farklı substratlar üzerinde etki eden mutajenik kombinasyonlar tüm

bakterilere MGE ile taşınarak direnç sorununu büyütmüştür (Ramirez & Tolmasky, 2010). AME'lerin faaliyeti sonucu meydana gelen modifiye aminoglikozidler hedef bölgeye duydukları düşük afinite sebebi ile antibakteriyel olarak gücü zayıflamış hale gelir (Llano-Sotelo, Azucena, Kotra, Mobashery, & Chow, 2002). Aminoglikozidlere direnç oluşumda ikinci ana grubu hedef bölge modifikasyonları oluşturur. Bu modifikasyonlar 16S rRNA'nın A bölgesindeki nükleotidlere S-adenosil-L-metioninin (SAM) metil grubunun eklenmesinden sorumlu 16S rRNA metiltransferaz (16S-RMTase) enzimleri ile gerçekleştirilir. Burada görevli iki grup 16S-RMTase (N7-G1405 16S-RMTazlar ve N1-A1408 16S-RMTazlar) tespit edilmiştir. 16S-RMTazların kodlanmasından sorumlu genler ekzojenik olup genellikle transpozonlar gibi MGE aracılığıyla kazanılır ve plazmitlerde ve kromozomlar üzerinde de varlıkları tespit edilmiştir. Yatay transferle kazanılan direnç genlerinin varlığı dünyada birçok ülkede (30 ülke ve bölge) elde edilen izolatlarda rastlanmıştır. Bu direnç genlerini taşıyan bazı bakteri gruplarında (Salmonella spp.) diğer direnç mekanizmalarının (NDM-1 metallo-β-laktamaz ve CTX-M tipi ESBL direnç mekanizması) kombinasyon halinde bulundurulması tehlikenin boyutunu artırmaktadır (Wachino & Arakawa, 2012). Üçüncü direnç mekanizması olan akış pompaları bazı bakterilerde gözlenen içsel direnç özelliğine sahip aminoglikozidlerin dışarı akışını sağlayan sistemler olarak görev alırlar. RND ailesine dahil olan birçok üyenin aminoglikozidlerin dışa akışında görev aldıkları tespit edilmiştir. Bunlar arasında *P. aeruginosa*'da aminoglikozidlere karşı içsel direnç MexXY akış pompaları ile sağlanır (Aires, Köhler, Nikaido, & Plésiat, 1999). *E. coli* için RND ailesi üyesi içinde yer alan bir

taşıyıcı olan AcrD'nin aminoglikozid direncinde görev aldığı bu proteini kodlayan gen silinmesinin aminoglikozid miktarını artırdığı belirlenmiştir (Rosenberg, Ma, & Nikaido, 2000). β-laktamlar, aminoglikozidler, makrolidler ve polimiksinlere doğal dirence sahip olan *Burkholderia pseudomallei* türlerinde hem aminoglikozid hemde makrolidlere karşı çoklu akış sistemi olarak AmrAB-OprA akış pompası görev alır (Moore, DeShazer, Reckseidler, Weissman, & Woods, 1999). *A. baumannii* RND proteininin sentezinden sorumlu adeB geni aminoglikozid direncinde görev alırken florokinolonlar, tetrasiklinler, kloramfenikol, eritromisin, trimetoprim ve etidyum bromüre karşı duyarlılıkta görev alır (Magnet, Courvalin, & Lambert, 2001).

1.3.9. Tetrasiklinlerin etki ve direnç mekanizmaları

Tetrasiklinler etki spektrumu geniş olan bir antibiyotik grubudur. Birçok Gram negatif ve Gram pozitif anaerob ve aerob bakteriler, hücre duvarı mevcudiyeti olmayan mikoplazmalar, *Rickettsia*, *Chlamydia*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Mycobacterium* ile *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* ve *Plasmodium falciparum* gibi patojen protozoonlar bu antibiyotiğin etkilediği grup üyeleridir. Etki alanının genişliği nedeni ile "geniş spektrumlu" antibiyotik olarak ifade bulan ilk gruptur (Roberts, 1996). Benjamin *M. duggar* isimli mikologun bir aktinomiset olan *Streptomyces aureofaciens*'ten 1948 yılında ilk tetrasiklin olan Klortetrasiklin'i keşfiyle başlayan bu antibiyotik ailesinin serüveni 1950'de *Streptomyces aureofaciens*'ten Oksitetrasiklin'in keşfi ile devam etmiştir. Tetrasiklin'in bağımsız eldesi ise 1953 yılındaki laboratuvar çalışmaları sonucu (Lederle Laboratuvarlarında klortetrasiklinin ve Pfizer Laboratuvarlarında oksitetrasiklinden) olmuştur. Yapılan

çalışmalar ile yarı sentetik Tetrasiklinlerin üretimi gerçekleştirilmeye başlanmış ve Doksisiklin'in 1967'de (Oksisiklin'den), Minosiklin 1972'de piyasaya sürülmüştür (Rusu & Buta, 2021). Erken dönemde üretilen tetrasiklinlerin parenteral uygulamalarla kullanılmasının sağlanması ve oral yolla absorbsiyonlarının yükseltilmesi için suda çözünürlüğü yüksek yarı sentetik tetrasiklinlerin (Rolitetrasiklin ve Lymesiklin) üretilmesine geçilmiştir. En son keşfedilen yarı sentetik tetrasiklinler Glisilsiklinler olarak adlandırılan 9-glisilamido ikamesine sahip antibiyotiklerdir. Tetrasiklinleri geçirdikleri sürece göre 3 grup altında ele almak mümkündür. Bunlar; 1948 ila 1963 yılları arasında üretilen birinci nesil, 1965 ila 1972 yılları arasında üretilen ikinci nesil ve üçüncü nesil (glisilsiklin) tetrasiklinler olarak adlandırılabilir (Chopra & Roberts, 2001).

Tetrasiklinler bakteri ribozomunda 30S alt birime geri dönüşümlü bağlanarak protein sentezini inhibe eder, bağlanma geri dönüşümlü olduğundan bakteriyostatik etki gösterir. Aminoaçil-tRNA'nın ribozom 30S alt birimindeki alıcı siteye bağlanmasını enzim kaynaklı engeller. Böylece protein uzaması ve sentezi inhibe olur, bakterinin büyümesini engeller (Moffa & Brook, 2015). Gram negatiflerde tetrasiklinin magnezyum gibi pozitif yüklü bir katyon ile birleşmesi sonucu oluşan kompleks OmpF ve OmpC porin kanalları aracılığıyla dış membranı geçmektedir. Oluşmuş kompleks Donnan potansiyeli nedeni ile çekildiğinde zayıf lipofilik yüksüz olan tetrasiklinlerin periplazmik boşlukta birikimi ile sonuçlanır ve buradan lipit tabakasından hücre içine nüfuz eder. Gram pozitiflerde ise kompleksin benzer bir mekanizma ile membrandan geçtiği geçişte pH'a dayalı enerji harcanarak aktif bir taşıma

gerçekleşmektedir (Chopra & Roberts, 2001). Ayrıca Tetrasiklinlerden bazılarının (minosiklin gibi) memeli hücre yüzeyine bağlanmalarını sağlayan bakteri pilusların (*E. coli*'deki K88 gibi) üretiminde sorumlu proteinlerin sentezini inhibe ederek bakteri üzerinde bakteriyostatik etki gösterir (Chopra & Hacker, 1986). Tekrasiklinlerin bazı protozoalarda mitokondri ve apikoplastlarındaki ribozomlarada etki ettiği gözlenmiştir. Hem ve primidin sentezinden sorumlu bir dizi enzimi barındıran mitokondrideki ve tip II yağ asidi sentezinde yer alan enzimleri, hem biyosentez yollarını barındıran apikoplastlarda tetrasiklinler (Doksisiklin gibi) nedeni ile meydana gelen bozulmuş organellerin yeni oluşan merozoitlere aktarıldığı tespit edilmiştir (Dahl vd., 2006).

Tetrasiklinlerin kullanım spektrumlarının genişliği ve maliyetlerinin düşüklüğü nedeni ile yaygın kullanımı sonucu tetrasiklinlere karşı tespit edilen ilk direnç oluşumu 1953 yılında *Shigella dysenteriae* izole edilmiştir (Roberts, 1996). İlerleyen yıllarda artan sayıdaki tür ve cinste direnç tespit edilmiştir. Direncin transpozon ya da plazmit gibi MGE'ler aracılığıyla yatay transferinin sonucu 1970'lerde *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Bacteroides* türlerinde gözlenen direnç, 1980'lerde Gram pozitiflerden *N. gonorrhoeae*'de artan bir oranda rastlanmıştır. Yatay yolla aktarılan birçok bakteride tespit edilen genler arasında, tetrasiklinlere karşı dirençten sorumlu 33 farklı tet geni ile oksitetrasiklinler dirençten sorumlu otr genleri yer alır (Chopra & Roberts, 2001). Mikroorganizmalarda gerçekleşen direnç mekanizmaları tetrasiklinin aktivitesi üzerinde etkili olmayıp ribozomun korunması temeline dayalıdır. Bu işlevde görevli direnç

mekanizmaları; hücre içindeki tetrasiklin direncinin azaltılmasına yönelik çalışan MGE'lar aracığıyla aktarılan genlerle proteinleri kodlanan akış pompaları ile tetrasiklinlerin ribozoma bağlanmasını önleyerek kendi ribozomla etkileşime geçen ribozom koruma proteinlerinin (RPP) üretilmesidir. Klinik ortamlarda görülme sıklığı yüksek olan bu mekanizmalar dışında ilaç geçirgenliğini azaltma, antibiyotik hedeflerinde mutasyonlar ve enzimlerin bozunumu şeklindeki direnç mekanizmaları da vardır (Thaker, Spanogiannopoulos, & Wright, 2010). Bakterilerde dış zara ait kromozomal mutasyonlar nedeni ile yaygın gözlenen dirençte hücre içine penetrasyon azaltılmaktadır. Genellikle bir mikroorganizmada bir tetrasiklin direnci gözlendiğinde bu direnç antibiyotiğin tüm sınıfını kapsamaktadır (Calderón & Perdue Sabundayo, 2007). Bazı Tetrasiklinlerde (tigesiklin gibi) ise bu genelleme geçerlilik göstermez. Bu antibiyotiklerde ribozomu koruyan her iki direnç mekanizmasından da etkilenmeyerek pek çok patojene karşı etkinliğini devam ettirir. Tetrasiklinlerden tigesiklin'e karşı dirençte kromozomal kaynaklı akış pompası ekspresyonunun artırılması etkili olabilir (Bal, 2021).

Klinik ortamlarda baskın gözlenen dirençlerden biri olan Akış pompaları ile ribozomun korunması hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerde gözlenen etkinliği erken dönem tetrasiklinlerini kapsayan (minosiklin ve doksisiklin'lerde etkisiz olan) bir direnç mekanizmasıdır (Thaker vd., 2010). Tetrasiklinlerin hücre dışa aktarılmasından sorumlu genler tarafından kodlanan proteinler MFS grubu olan bütünleyici zar taşıyıcılarının ana kolaylaştırıcı süper ailesinin üyeleridir. Enerji kullanılarak gerçekleşen bu akışta görevli 26 farklı akış sınıfının 18 tanesi tetrasiklin akışında görevlidir

(Chopra & Roberts, 2001). İkinci yaygın gözlenen klinik ortam kaynaklı direnç mekanizması RPP'lerin üretimidir ve Gram pozitif Gram negatif bakterilerde 3 grup altında 11 farklı RPP türü (Grup-1: *tet*(M), *tet*(O), *tet*(S), *tet*(W), *tet*(32) ve *tet*(36), Grup-2: *tetB*(P), *otr*(A) ve *tet*. Grup-3: *tet*(Q) ve *tet*(T)) dirence rastlanmıştır (Thaker vd., 2010). Bu dirençte akış pompaları gibi tüm tetrasiklinler üzerinde etkili değildir. Birinci ve ikinci nesle etkili olan RPP'ler üçüncü nesil tetrasiklinler olan glisilsiklinlere etki göstermezler. Üçüncü nesil içinde yer alan Tigesiklin bakteri tarafından *tet*(M) aracılığıyla kodlanan RPP'lere karşı güçlü bir antibakteriyel etki gösterir (Rasmussen, Gluzman, & Tally, 1994). Bazı antibiyotik grupları (β-laktamlar ve aminoglikozidler gibi) için yaygın gözlenen bir direnç mekanizması olan ilaç inaktivasyonu tetrasiklinlerde üç tet geni (*tet*(X), *tet*(34) ve *tet*(37))ile ilişkili olup daha az gözlenir. Bu dirence yönelik ilk tetrasiklin etkisizleştiricisinin tanımlaması 1989 yılında *Bacteroides fragilis* türünde keşfedilen *tet*(X) ile olmuştur. Yapılan çalışmalar *tet*(X)'in tetrasiklinin C-11'a bölgesine bir hidroksil grubu bağlanmasını sağlayarak antibiyotiğin inaktivasyonundan sorumlu, ortamda siyah renkli bir polimer oluşumuna neden olan flavine bağımlı bir monooksijenaz olduğunu göstermiştir. *Tet*(X) in aktivitesi tetrasiklinlerin her üç kuşağı içinde (tigesiklin'ler dâhil) etkinlik gösterir. Ayrıca *tet*(X) tigesiklini NADPH'ı kullanarak (magnezyum varlığında) 11a-hidroksitigesikline dönüştürerek ribozoma tutunmasını zayıflatır (Thaker vd., 2010). Bakteriler tarafından az ifade bulan diğer bir direnç mekanizması ilaç geçirgenliğinin azalması ve hedef mutasyonları olarak gruplanırlar. Tetrasiklinlerin Gram negatif bakterileriyle penetrasyonu için öncelikle LPS membrandan

magnezyum-tetrasiklin yaparak geçmesi ve sonrasında hücre membranından porinler aracılığıyla taşınımı ile gerçekleşir. Çoklu antibiyotik direncine sahip olan *E. coli*'lerde marA lokusunun aşırı ifade edilmesi ile dışa akış pompaları (AcrAB) indüklenirken, porin ekspresyonun (*OmpF*) yavaşladığı gözlenebilir ve tetrasiklinlerin hücrede birikimi azalabilir (Cohen, McMurry, & Levy, 1988). Hedef mutasyonuna dayalı tetrasiklin direncine yönelik incelenen tetrasiklin dirençli *H. pylori*'nin izolatlarında bu direncin sorumluluğunun 926, 927 ve 928 pozisyonlarındaki nükleotidlerin yer değiştirmesi kaynaklı olabileceği ve bunların direnç etki düzeyinde kümülatif bir sorun oluşturabileceği düşünülmektedir (Moffa & Brook, 2015).

1.3.10. Makrolidlerin etki ve direnç mekanizmaları

Makrolidler, makrosiklik bir lakton halkasına aminoşeker ya da deoksişeker kalıntısının eklenmesi ile oluşan antibiyotik grubudur. İnsanlarda gözlenen enfeksiyonlarda protein inhibisyonundan sorumlu geniş bir gruptur (Dinos, 2017). 1950 yılında W. Lindenbein ve I. Olfermann tarafından bir *Streptomyces* sp. suşundan (suş 326) izole edilen acı tadı nedeniyle Pikromisin adı verilen antibiyotik ilk makrolid üyesidir (Brockmann & Henkel, 1951). Makrolidlere ismini veren makrosiklik lakton halkasının üye sayısındaki farklılık makrolidlerin gruplandırılmasında görev almıştır ve makrolidler 12, 14, 15, 16 üyeli makrolidler diye gruplandırılmışlardır. Bunlardan ilk nesli 12, 14, 16 üyeli doğal antibiyotikler oluşturken, ikinci nesil birinci neslin üyesi olan Eritromisinin modifikasyonu sonucu meydana gelen 14, 15 üyeli yarı sentetik antibiyotiklerden oluşur. Metimisin 12, Eritromisin 14 üyelikli antibiyotiklerin en bilinen üyeleridir. Azitromisin 15

üyelikli bir antibiyotikken, karbomisin, niddamisin ve tilosin 16 üyeliklidir. *Streptomyces* sp. tarafından neredeyse tüm makrolidler üretilirken, *Micromonospora* cinsine ait türler tarafından bazı makrolidlerin (14 ve 16 üyeli) üretildiği yapılan izolasyon çalışmaları ile elde edilmiştir (Dinos, 2017). Birinci nesil makrolidlerin farmakokinetik özellikleri ve sindirim sistemindeki asiditenin yüksek olduğu noktalardaki (ör; mide) stabilitesini koruyamama gibi özellikleri nedeni ile ikinci nesil makrolidlerin üretimini teşvik etmiştir (Omura, Morimoto, Nagate, Adachi, & Kohno, 1992). Üretilen ikinci nesil antibiyotikler birinci nesillerin eksikliklerine karşı (farmakokinetikte gelişmişlik, düşük asiditede kararlılık gibi) üstün olsa da kendilerine karşı gelişen dirence karşı etki güçleri düşüktür. Artan makrolid direncinin yönlendirmesi ile oluşan araştırmalar; ikinci nesil makrolidlerde lakton halkasında bulunan L -kladinozun yerini 3-keto grubunu alması ile oluşan üçüncü nesil makrolidlerin sahip olduğu keto grubu nedeni ile ketolidler diye adlandırılan grup üyelerinin oluşturulması ile sonuçlanmıştır. Telitromisin, 2004 yılında klinik kullanıma onay alan yarı sentetik eritromisin türevi klaritromisin (2. Nesil makrolid) kaynaklı tek üçüncü nesil makroliddir (Katz & Ashley, 2005).

Protein sentezi inhibitörü olan makrolidler bu görevlerini ribozom 50S birimindeki 23S alt birimine ya da çeşitli proteinlerle yaptığı spesifik bağlanmalar ile gerçekleştirir. Peptit zincirinin uzamasını engelleyerek inhibisyonu sağlayan makrolidlerden geniş hacme sahip olanlar iki amino asitlik peptitlerin blokasyonunda görev alırken, küçük hacimli makrolidler ise daha büyük (6 ya da 8 amino asitlik) kesilmiş peptidlerin oluşumunu sağlayarak etki gösterir (Tenson, Lovmar, & Ehrenberg, 2003). 16 üyeli makrolidler

üzerlerinde yer alan 5-disakkarit 23S ribozomal birimi peptidil transferaz merkez tüneline yedekleyerek doğrudan peptid bağı oluşumunu engeller (Poulsen, Kofoed, & Vester, 2000). Ayrıca ribozomal alt birimlerinde yeni 50S alt ünitelerin üretimini r-protein ve rRNA bileşimlerinde görevli öncü moleküllere bağlanarak engeller (Champney, 2003).

Makrolidlerin kullanılması sonucu bakterilerde gözlenen direnç; plazmid, transpozon ve genomik adalarda bulunan direnç genlerinin tür ve suşlar arasında yatay transferi ile yayılım gösterir. Gram negatiflerde makrolid direnci dört mekanizma ile tanımlanır. Bunlar; hedef bölge modifikasyonu, ATP bağlayıcı kaset ailesi proteinleri (ABC-F) vasıtasıyla ribozom koruması, MFS taşıyıcıları tarafından gerçekleştirilen aktif akış ve enzimatik inaktivasyondur (Feßler, Wang, Wu, & Schwarz, 2018). Makrolidler, genellikle 50S ribozomunun 23S rRNA bölgesinin V bölgesinde yer alan iki nükleotide (A2058 ve A2059) bağlanır ve II bölgesinde yer alan bir nükleotide (A752) ise nadiren bağlanır. Linkozamidler ve streptograminler B antibiyotikleri ile aynı hedef bölgelerine bağlanan makrolidlerin hedef bölgeleri, *erm* genleri tarafından kodlanan metilaz (adenil-N-metiltransferaz) enzimleri vasıtasıyla adeninin metilasyonunu (N-metil adenin veya N, N-dimetil adenin şekillerinde) sağlar ve transkripsiyon sonrası modifikasyon grubunda yer alan modifikasyonu oluşturur (Liu & Douthwaite, 2002). İkinci direnç mekanizması; dört tipi bulunan (A, B, C, D) Msr proteinleri tarafından ribozomdan antibiyotiğin uzaklaştırılması ile ribozomun korunmasını sağlar. Bu işlemi gerçekleştiren ATP bağlayıcı ailesi üyesi proteinler bir akış pompası mekanizması gibi çalıştığı düşünülmektedir. Ana kolaylaştırıcı süper ailesi olan Mef'e

ait pompalar bir antiporter gibi görev alarak makrolidlerin bir proton karşılığında dışa aktarılmasından sorumludur. Gram pozitiflerde de gözlenen bu akış pompaları, *mef*(A) ve *mef*(E) iki ana alt sınıfa ayırılır ve %80'den daha fazla AA dizilim homolojisine sahip olup 14 ve 15 üyeli makrolidlere dirençte görev alırken 16 üyelilere karşı etkisizdir. Dördüncü mekanizma olan enzimlerce makrolidlerin inaktive edilmesi düşük insidansa sahiptir. Bir grup gen (empC, ereA ve ereB) tarafından katalizlenen esterazlar vasıtasıyla gerçekleşen hidrolitik inaktivasyon 14 ve 15 üyeli makrolidlere güçlü direnç oluşumunu sağlarken, 16 üyeli makrolidlere karşı etkisizdir (Fyfe, Grossman, Kerstein, & Sutcliffe, 2016). Sahip olduğu lipoprotein yapılı dış zar nedeniyle Gram negatiflerin makrolidlere karşı mevcut fizikokimyasal özelliklerden dolayı içsel bir dirence sahiptir. Bu engeli aşan makrolidler için Mef akış pompaları ikinci direnç mekanizmasını oluşturur (Myers & Clark, 2021).

1.3.11. Kinolonlarin etki ve direnç mekanizmaları

Aktivitesi 3. pozisyonda sahip olduğu karboksilik asit grubu ve 4. pozisyondaki karbonile gereklilik gösteren bisiklik çekirdek yapısına sahip sentetik antibiyotik grubudur. Bisiklik çekirdeğin 1 ve 7 ve/veya 8 konumundan bağlı ikamaleri kinolon spektrumunun belirlenmesinde görev alır. İkamelere göre piperazinil-, pirolidinil- ve piperidinil- diye üç kategoriye ayrılırlar. Piperazinil- grubu kinolonlar 1 ve 7 konumunda, 1 ve 7 ve 8 konumunda yan zincirlere sahipken; pirolidinil- ve piperidinil- grubu kinolonlarda her üç konumda yan zincirler bulundurmaktadır (Hu vd., 2003). Genel olarak 3-amino-piperidinil tipi yan zincirler, 3-amino-pirolidinil yan zicirlerine sahip olanlarla eşdeğer olan Gram negatif ve Gram pozitiflere karşı dengeli bir etki gösterirken (Ito, Otsuki, & Nishino,

1992), piperazinil tipi kinolonlar Gram negatifler üzerinde daha geniş Gram pozitiflerde daha dar kapsamlı etki spektrumuna sahiplerdir (Domagala vd., 1993). Kaynağı farklı olan (hastane ve toplum kaynaklı) ciddi hastalıkların tedavisinde geleneksel ajanların başarı göstermemesi ya da bunlara karşı gözlenen dirençlerde önerilen antibiyotik sınıfıdır (Fàbrega, Madurga, Giralt, & Vila, 2009). Kinolonların ilk üyeleri üzerine yapılan farmakokinetik profili, antimikrobiyal aktivite ve moleküler yapılarını güçlendirmeye yönelik çalışmalar kinolonların sınıflandırılmasına neden olan florlanmış yeni nesil kinolonların üretilmesine yol açmıştır. Kinolon molekülünün C6 pozisyonunda meydana gelen florlama ile florokinolon ismiyle anılan ikinci nesil kinonların süreci başlamıştır. Bu süreci başlatan ilk florokinon norfloksasin 1978 yılında üretilmiş olup üzerinde yapılan çalışmalar ile 1986 yılında klinik kullanıma sunulmuştur. İkinci nesil kinolonların Gram pozitifler ve anaeroblara karşı düşük aktiviterini güçlendirmek üzere yapılan çalışmalar Gram pozitifler üzerinde daha güçlü bakterisidal etkiye sahip üçüncü nesil florokinolonların (levofloksasin, gatifloksasin ve moksifloksasin gibi) gelişmesi ile devam etmiştir. Gram pozitifler üzerinde aktivitenin daha iyileştirildiği ve anaeroblar üzerinde etki gücüne sahip Gemifloksasin gibi dördüncü nesil florokinonların keşfini getirmiştir (Fàbrega vd., 2009).

Kinolonlar etki gücü mikobakteri, anaerob bakteriler, Gram pozitif ve Gram negatifler gibi geniş bir alana sahip olup bu etkiyi; bakteri nükleik asit replikasyonunda görevli topoizomeraz IV ve DNA giraz gibi enzimleri bozarak bakteriyal nükleik asit sentezini inhibe ederek gerçekleştirir (Pham, Ziora, & Blaskovich, 2019).

Çoğu Gram negatif bakteride dirence yönelik ana hedef olan DNA giraz enzimi Topoizomeraz enzimlerin tip II grubuna dahil olup, DNA replikasyonu sırasında oluşan pozitif sarmal bükülmeleri ortadan kaldırma görevine sahiptir. Aynı gruba dahil olan çoğu Gram pozitif bakteriler için ana hedef olan topoizomeraz IV ise DNA'nın yavru hücrelere ayrılması için DNA sarmalını bozma görevini üstlenir. *M. tuberculosis*, *T. pallidum*, *H. pylori* gibi bazı bakteri gruplarında eksik olan topoizomeraz IV'ün görevini DNA giraz üstlenir (Pham vd., 2019).

Bakterilerde gözlenen kinolon direnci kromozomal ya da plazmit kaynaklı mutasyonlar nedeni ile meydana gelir. Kromozomal mutasyonlar kinolonların hedefi olan proteinlerin A ve B alt birimlerini kodlayan gen (topoizomeraz IV için *gyrA* ve *gyrB*, DNA giraz için *parC* ve *parE*) mutasyonları ya da ilaç birikimini azaltan atımı artırıp alımı azaltan mutasyonlardır. Plazmit kaynaklı mutasyonlar ise plazmit kaynaklı direnç genlerinde gözlenir. Plazmit kaynaklı bu direnç; qnr geni tarafından kodlanan bir pentapeptidi kinolonun DNA giraz ve topoizomeraz IV üzerindeki etkisini bloke etme, *aac(6')-Ib-cr* geni tarafından kodlanan asetilaz ile piperazin halkasındaki amino grubunun değiştirilmesi ve qepA geni tarafından kodlanan hücre içi antibiyotik direncini azaltan akış pompası tarafından sağlanır. Plazmit aracılı bu direnç mekanizmalarının sağladığı direnç düşük olmasına rağmen kromozomal kaynaklı ek kinolon direnç mekanizmalarının seçiminin arka planının oluşumunda görev alırlar (Fàbrega vd., 2009).

Kromozomal kaynaklı kinolon direnci için Enterobakterilerdeki düşük seviyedeki direnç gyrA geninde mutasyon olması ile yüksek direnç ise birden fazla mutasyonun

olması ile sağlanır. Bu grup üyesi *E. coli*'de kinolon direnç oluşumu *gyrA* genindeki mutasyon ile olup *gyrB* genindeki mutasyon düşük seviyeli dirence katkı da görev almaktadır (Nakamura, Nakamura, Kojima, & Yoshida, 1989). *Enterobacteriaceae*'lerde kinolonların ekstrüde edilmesinde sorumlu ana akış pompası için AcrAB/TolC aşırı ekspresyonunun rolünün önemli olduğu gözlenmiştir (Baucheron vd., 2004). *E. coli*'de florokinolon direncinde görevli AcrAB akış pompasının silindiği bir mutantta AcrEF akış pompasının görevi üstlendiği anlaşılmıştır (Jellen-Ritter & Kern, 2001). Dış zar proteinlerinin regülasyonundaki aşağı yönlü eğim *E. coli* (OmpF ve OmpC) ve *K. pneumoniae*'de (OmpK35 ve OmpK36) florokinonların zardan geçişini azaltmaktadır (Hernández-Allés vd., 2000). Gram negatiflerden *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'de, *gyrA* genindeki tek mutasyonun gerçekleşmesi önemli bir florokinolon direnci gelişiminde önemlidir. Tek mutasyonun bu etkiyi oluşturması; bazı akış pompalarının ifadesini bulması, zardan düşük sevideki geçirme ve yapısal ekspresyonlar ya da her iki durumdaki etkileşimlerin antimikrobiyallare karşı içsel direnç kaynaklı olması nedeniyledir (Fàbrega vd., 2009). Topoizomeraz IV'den yoksun olan *Campylobacter* spp. için yüksek seviyeli moksifloksasine direncin gelişimi, siprofloksasine yüksek dirençte olduğu gibi *gyrA* genindeki tek mutasyonla değil çift mutasyonla sağlanmaktadır (Ruiz, Moreno, Jimenez de Anta, & Vila, 2005). Gram pozitif bakterilerdeki florokinolon dirençleri hedef alınan enzime göre türler arasında farklılık gösterir. Örneğin *S. aureus*'da bu direnç Topoizomeraz IV'ü hedef alırken (Sierra, Marco, Ruiz, Jiménez de Anta, & Vila, 2002). *Streptococcus pneumoniae*'de ise her iki enzim (DNA giraz ve Topoizomeraz) ilk hedefleri oluşturur (Pan & Fisher, 1999).

Gram pozitif bakterilerde gözlenen kinolon direncinde görevli akış pompalarında esas görevi MFS süper ailesi üstlense de Gram negatiflerde daha belirgin gözlenen MATE ailesine sahip olan örneklere rastlanmıştır (Poole, 2000).

Plazmid aracılı dirençler arasında *qnr* geni *E. coli*'de kinolon direncinin tamamlanmasında görev alır ve bakteri DNA girazını siprofloksasine karşı koruyarak bunu yapar (Tran & Jacoby, 2002). Aynı gen Topoizomeraz IV'ün *Enterobacteriaceae*'larda flokinon direncine karşı korumaktadır (Fàbrega vd., 2009). Bir diğer plazmid kaynaklı direnç mekanizması, hidrofilik kinolonlar olan norfloksasin ve siprofloksasine karşı dirençten sorumlu *qepA* geni tarafından kodlanan bir akış pompasıdır ve MFS ailesi üyeleri ile benzer homolojiye sahiplerdir (Yamane, Wachino, Suzuki, & Arakawa, 2008).

1.3.12. Sülfonamid ve trimetoprim etki ve direnç mekanizmaları

Sülfonamidler ve trimetoprinler sentetik bazlı antibiyotik grubu olup insanlar ve hayvanlar üzerinde uzun yıllar boyunca etkili ve ucuz olma gibi üstünlükleri nedeniyle kullanılmışlardır (Sköld, 2001). Endüstriyel bir boya olan sülfakrisoidinin antimikrobiyal özellikte olduğunun 1930'lu yıllarda keşfi ile bu antibiyotik ailesinin ilk üyesine yönelik çalışmalar başlamıştır. Boyanın antimikrobiyal etki göstermesine neden olan metaboliti sülfonilamidin (para-aminobenzensülfonamid) aktif bir bileşik olduğu bulunmuştur (Smith & Powell, 2000). Bu bulgunun eldesi, Prontosil rubrum ismiyle anılan sülfonilamid öncülünün Gerhard Domagk tarafından *Streptococcus pyogenes* ile enfekte edilmiş fareler üzerinde denenerek farelerde peritonit gelişimini engellemeye yönelik 1932

yılındaki çalışmalar (Domagk, 1935) ve Trefouel ve meslektaşlarının 1935 yılında Prontosil'in azo bağını kırması ile oluşan yan ürünlerinin antimikrobiyal aktivitesinin testi ile olmuştur (Calderón & Sabundayo, 2007). Prontosil'den daha az toksik ve genişlemiş antimikrobiyal aktiviteye sahip sülfonamidler üzerinde yapılan çalışmalar ile atılımı, çözünürlüğü ve absorbsiyonu farklı türlerinin eldesi ile sonuçlansa da bunlar paraaminobenzoik asidin (PABA) yapısal analoglarıdır (Smith & Powell, 2000). Üretilen farklı modifikasyonlara rağmen hepsi tetrahidropteroik aside bağlanan PABA yerini alarak mikrobiyal folik asit sentezini inhibe eder ve bakteriyostatik etki ile bakteri bölünmesini engeller. Diaminopirimidinler grubu üyesi olan (2,4-diaminopirimidin) Trimetoprinler dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe etme özelliği ile folik asit ve bakteri pirimidin sentezi üzerinde etkiye sahiptir. Trimidinlerin sentezi antimikrobiyal ajan arayışında olan 1950 ve 1960'larda bu alanda çalışmalar yürüten Hitchings ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. 1961 yılında gerçekleşen bu sentezden sonra Trimetoprinlerin kullanımına 1962 yılında İngiltere'de geçilmiştir (Singh, Dar, Das, & Haque, 2020). Üretilen bu antimikrobiyal grup linozolidler hariç olmak üzere eski antibiyotiklerin çapraz dirence karşı modifiye formları olmayan son yeni antimikrobiyal gruptur (Sköld, 2001). Trimetoprim'ler 1968 yılında Bushby ve Hitchings tarafından sülfonamidlerdeki aktiviteyi güçlendirmek için trimetoprim ile kombinasyonu tanıtılıp ilerleyen 10 yıllık süreçte birçok bulaşıcı hastalık için kemoterapötik ajan olarak bu kombinasyonun kullanımı gerçekleşmiştir. Toplum kökenli ve hastane kökenli Streptokoklar, Stafilokoklar, *Enterobacteriaceae*, *Neisseria* spp. ve *P. aeruginosa* spp. suşlarında

giderek artan oranda gözlenen Sülfonamid direnci yanında bunların çapraz dirençlerine de rastlanmaktadır. Sülfonamide karşı mikroorganizmaların geliştirdiği direnç mekanizmaları arasında *E. coli* mutant suşunda gözlenen dihidropteroat sentetaz'daki değişiklik yer almaktadır (Swedberg, Castensson, & Sköld, 1979). Ayrıca *N. gonorrhoeae* ve *S. aureus* suşlarında PABA ekspresyonundaki artışa bağlı direnç bulunmuştur. Farklı bakterilerde gözlenen sülfonamid direnç gelişimleri plazmit kaynaklı (*Enterobacteriaceae* türlerinde) oldugu gibi hem plazmid hem de kromozol kaynaklı (*Neisseria* spp.) da olabilmektedir. Dirençten sorumlu genler sul genleridir (Wang vd., 2014). Trimetoprim direncininde plazmit ve kromozomal kaynaklı örneklerine rastlanmış olup dirençte; dihidrofolat redüktazda aşırı üretim veya modifiye formlarının devreye girmesi (*Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*, *H. influenza*e, *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus* ve *Campylobacter* spp.), hücre geçirgenliğin azalması, ilaç bağlanma afinitelerindeki kayıp görev almaktadır.

Sonuç

Bu kitap bölümünde, makrolidlerin, kinolonların, sülfonamidlerin ve trimetoprimin etki ve direnç mekanizmeleri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Makrolidler, protein sentezini inhibe eden geniş spektrumlu antibiyotik grubu olup, doğal ve yarı sentetik formları bulunmaktadır. Ancak, direnç mekanizmaları nedeniyle etkisi azalmaktadır. Özellikle plazmid ve transpozon transferiyle direnç genlerinin yayılımı, Gram (-) ve Gram (+) bakterilerde direnç mekanizmalarını ortaya çıkarmaktadır. Bu direnç mekanizmaları, hedef bölge modifikasyonu, akış pompaları ve enzimatik inaktivasyon gibi faktörleri içermektedir.

Kinolonların ise geniş bir antibakteriyel etki alanı vardır ve nükleik asit replikasyonuna müdahale ederek etkisini gösterir. Kinolon direnci, plazmit veya kromozomal mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkar ve bu direnç mekanizmaları, *gyrA* ve *gyrB* genleri gibi hedef proteinlerdeki değişiklikleri veya akış pompalarının aşırı ekspresyonunu içerir. Ayrıca, dış zar proteinlerinin regülasyonundaki değişiklikler, antibiyotiklerin hücre içine geçişini etkileyerek direncin gelişimini kolaylaştırmaktadır.

Sülfonamidler ve trimetoprim ise sentetik bazlı antibiyotik grupları olup, folik asit sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etkilerini gösterirler. Ancak, direnç mekanizmaları oldukça çeşitlidir. Sülfonamid direnci, dihidropteroat sentetazdaki değişiklikler veya PABA ekspresyonundaki artışa bağlı olarak gelişirken, trimetoprim direnci ise plazmit veya kromozomal kaynaklı olarak ortaya çıkar. Direncin nedeni, genellikle dihidrofolat redüktazın modifikasyonu veya aşırı üretimi ile ilişkilidir.

Sonuç olarak, adı geçen antibiyotik gruplarının etkinliği, direnç mekanizmalarının kompleks yapısına bağlı olarak sınırlanmaktadır. Direncin yayılımı, gen transferi, akış pompası mekanizmaları ve hedef proteinlerdeki mutasyonlarla doğrudan ilişkilidir. Bu durum, antibiyotik kullanımında direnç gelişimini kontrol etmek için yeni stratejiler geliştirilmesini ve antibiyotiklerin farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin iyileştirilmesini gerektirmektedir. Gelişen direnç mekanizmalarına karşı etkili çözümler, araştırma ve endüstriyel çalışmaların odak noktası olmalıdır. Beta-laktamaz direnç genlerinin Türkiye dahil tüm Dünyadaki artan yaygınlığı, sürekli araştırma ve önleme stratejileri gerektiren önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu sorunla başa çıkmak

için gözetim programları, moleküler mekanizmaların anlaşılması ve bulaşım yollarının tanımlanması önceliklendirilmelidir. Gelişmiş moleküler tekniklerin ve yenilikçi tanı yöntemlerinin kullanımı, hızlı teşhis ve tedavi stratejilerinin uygulanmasını kolaylaştıracaktır. Ayrıca, gelişmiş ülkelerde olduğu gibi Türkiye'nin proaktif yaklaşımı, beta-laktamaz direncinin getirdiği zorlukların üstesinden gelmek ve antibiyotik tedavi stratejilerinin etkinliğini artırmak açısından umut vaat etmektedir.

Kaynakça

Aggen, J. B., Armstrong, E. S., Goldblum, A. A., Dozzo, P., Linsell, M. S., Gliedt, M. J., … Moser, H. E. (2010). Synthesis and Spectrum of the Neoglycoside ACHN-490. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *54*(11), 4636-4642. doi: 10.1128/AAC.00572-10

Aires, J. R., Köhler, T., Nikaido, H., & Plésiat, P. (1999). Involvement of an active efflux system in the natural resistance of Pseudomonas aeruginosa to aminoglycosides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *43*(11), 2624-2628. doi: 10.1128/AAC.43.11.2624

Allen, N. E., LeTourneau, D. L., Hobbs, J. N., & Thompson, R. C. (2002). Hexapeptide derivatives of glycopeptide antibiotics: Tools for mechanism of action studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *46*(8), 2344-2348. doi: 10.1128/AAC.46.8.2344-2348.2002

Aminov, R. I. (2010). A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, *1*, 134. doi: 10.3389/fmicb.2010.00134

Aoki, H., Sakai, H., Kohsaka, M., Konomi, T., & Hosoda, J. (1976). Nocardicin A, a new monocyclic beta-lactam antibiotic. I. Discovery, isolation and characterization. *The Journal of Antibiotics*, *29*(5), 492-500. doi: 10.7164/antibiotics.29.492

Atzori, A., Malloci, G., Cardamone, F., Bosin, A., Vargiu, A. V., & Ruggerone, P. (2020). Molecular Interactions of Carbapenem Antibiotics with the Multidrug Efflux Transporter AcrB of

Escherichia coli. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(3), 860. doi: 10.3390/ijms21030860

Bal, T. (2021). TETRACYCLINES. İçinde *Principles of Antimicrobial Chemotherapy* (1. bs, ss. 116-119). Ankara: Nobel Tıp.

Bala, R., Singh, V. A., Gupta, N., & Rakshit, P. (2020). Prevalence, multidrug-resistance and risk factors for AmpC β-lactamases producing Escherichia coli from hospitalized patients. *Journal of Infection in Developing Countries*, *14*(12), 1466-1469. doi: 10.3855/jidc.13483

Baltz, R. H., Miao, V., & Wrigley, S. K. (2005). Natural products to drugs: Daptomycin and related lipopeptide antibiotics. *Natural Product Reports*, *22*(6), 717-741. doi: 10.1039/b416648p

Bassetti, M., Nicolini, L., Esposito, S., Righi, E., & Viscoli, C. (2009). Current status of newer carbapenems. *Current Medicinal Chemistry*, *16*(5), 564-575. doi: 10.2174/092986709787458498

Baucheron, S., Tyler, S., Boyd, D., Mulvey, M. R., Chaslus-Dancla, E., & Cloeckaert, A. (2004). AcrAB-TolC directs efflux-mediated multidrug resistance in Salmonella enterica serovar typhimurium DT104. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *48*(10), 3729-3735. doi: 10.1128/AAC.48.10.3729-3735.2004

Bayer, A. S., Schneider, T., & Sahl, H.-G. (2013). Mechanisms of daptomycin resistance in Staphylococcus aureus: Role of the cell membrane and cell wall. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1277*(1), 139-158. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06819.x

Beauregard, D. A., Williams, D. H., Gwynn, M. N., & Knowles, D. J. (1995). Dimerization and membrane anchors in extracellular targeting of vancomycin group antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *39*(3), 781-785. doi: 10.1128/AAC.39.3.781

Beceiro, A., Tomás, M., & Bou, G. (2013). Antimicrobial Resistance and Virulence: A Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? *Clinical Microbiology Reviews*, *26*(2), 185-230. doi: 10.1128/CMR.00059-12

Bhutani, N., Muraleedharan, C., Talreja, D., Rana, S. W., Walia, S., Kumar, A., & Walia, S. K. (2015). Occurrence of Multidrug Resistant Extended Spectrum Beta-Lactamase-Producing Bacteria on Iceberg Lettuce Retailed for Human Consumption. *BioMed Research International*, *2015*, 547547. doi: 10.1155/2015/547547

Bo, G. (2000). Giuseppe Brotzu and the discovery of cephalosporins. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *6 Suppl 3*, 6-9. doi: 10.1111/j.1469-0691.2000.tb02032.x

Brockmann, H., & Henkel, W. (1951). Pikromycin, ein bitter schmeckendes Antibioticum aus Actinomyceten (Antibiotica aus Actinomyceten, VI. Mitteil. *Chemische Berichte*, *84*(3), 284-288. doi: 10.1002/cber.19510840306

Bui, T., Patel, P., & Preuss, C. V. (2024). Cephalosporins. Içinde *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Geliş tarihi gönderen http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551517/

Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β-Lactams and β-Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *6*(8), a025247. doi: 10.1101/cshperspect.a025247

Caioni, G., Reyes, C. P., Laurenti, D., Chiaradia, C., Dainese, E., Mattioli, R., … Francioso, A. (2024). Biochemistry and Future Perspectives of Antibiotic Resistance: An Eye on Active Natural Products. *Antibiotics*, *13*(11), 1071. doi: 10.3390/antibiotics13111071

Calderón, C., & Perdue Sabundayo, B. (2007, Mayıs 22). *Antimicrobial Classifications: Drugs for Bugs* (R. Schwalbe, L. Steele-Moore, & A. Goodwin, Ed.). CRC Press. doi: 10.1201/9781420014495.ch2

Carpenter, C. F., & Chambers, H. F. (2004). Daptomycin: Another novel agent for treating infections due to drug-resistant gram-positive pathogens. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *38*(7), 994-1000. doi: 10.1086/383472

Champney, W. S. (2003). Bacterial ribosomal subunit assembly is an antibiotic target. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *3*(9), 929-947. doi: 10.2174/1568026033452186

Chopra, I., & Hacker, K. (1986). Inhibition of K88-mediated adhesion of Escherichia coli to mammalian receptors by antibiotics that affect bacterial protein synthesis. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *18*(4), 441-451. doi: 10.1093/jac/18.4.441

Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, *65*(2), 232-260 ; second page, table of contents. doi: 10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001

Cohen, S. P., McMurry, L. M., & Levy, S. B. (1988). marA locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple-antibiotic-resistant (Mar) mutants of Escherichia coli. *Journal of Bacteriology*, *170*(12), 5416-5422. doi: 10.1128/jb.170.12.5416-5422.1988

Connolly, L. E., Riddle, V., Cebrik, D., Armstrong, E. S., & Miller, L. G. (2018). A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Phase 2 Study of the Efficacy and Safety of Plazomicin Compared with Levofloxacin in the Treatment of Complicated Urinary Tract Infection and Acute Pyelonephritis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *62*(4), e01989-17. doi: 10.1128/AAC.01989-17

Courvalin, P. (2006). Vancomycin resistance in gram-positive cocci. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *42 Suppl 1*, S25-34. doi: 10.1086/491711

Dahl, E. L., Shock, J. L., Shenai, B. R., Gut, J., DeRisi, J. L., & Rosenthal, P. J. (2006). Tetracyclines specifically target the apicoplast of the malaria parasite Plasmodium falciparum. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *50*(9), 3124-3131. doi: 10.1128/AAC.00394-06

Dinos, G. P. (2017). The macrolide antibiotic renaissance. *British Journal of Pharmacology*, *174*(18), 2967-2983. doi: 10.1111/bph.13936

Domagala, J. M., Hagen, S. E., Joannides, T., Kiely, J. S., Laborde, E., Schroeder, M. C., … Vanderroest, S. (1993). Quinolone antibacterials containing the new 7-[3-(1-aminoethyl)-1-pyrrolidinyl] side chain: The effects of the 1-aminoethyl moiety and its stereochemical configurations on potency and in vivo efficacy. *Journal of Medicinal Chemistry*, *36*(7), 871-882. doi: 10.1021/jm00059a012

Domagk, G. (1935). Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift*, *61*(07), 250-253. doi: 10.1055/s-0028-1129486

Dougherty, T. J., Koller, A. E., & Tomasz, A. (1980). Penicillin-binding proteins of penicillin-susceptible and intrinsically resistant Neisseria gonorrhoeae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *18*(5), 730-737. doi: 10.1128/AAC.18.5.730

Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). *Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives*. *4*, 90-101. Geliş tarihi gönderen https://www.semanticscholar.org/paper/Antibiotics-%3A-Classification-and-mechanisms-of-with-Etebu-Arikekpar/b780290edda6a5ebb9f30ff583d414d94252d225

Fàbrega, A., Madurga, S., Giralt, E., & Vila, J. (2009). Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microbial biotechnology*, *2*(1), 40-61. doi: 10.1111/j.1751-7915.2008.00063.x

Feßler, A. T., Wang, Y., Wu, C., & Schwarz, S. (2018). Mobile macrolide resistance genes in staphylococci. *Plasmid*, *99*, 2-10. doi: 10.1016/j.plasmid.2018.05.001

Fontana, R., Grossato, A., Rossi, L., Cheng, Y. R., & Satta, G. (1985). Transition from resistance to hypersusceptibility to beta-lactam antibiotics associated with loss of a low-affinity penicillin-binding protein in a Streptococcus faecium mutant highly resistant to penicillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *28*(5), 678-683. doi: 10.1128/AAC.28.5.678

Ford, C. W., Zurenko, G. E., & Barbachyn, M. R. (2001). The discovery of linezolid, the first oxazolidinone antibacterial agent. *Current Drug Targets. Infectious Disorders*, *1*(2), 181-199. doi: 10.2174/1568005014606099

Fyfe, C., Grossman, T. H., Kerstein, K., & Sutcliffe, J. (2016). Resistance to Macrolide Antibiotics in Public Health Pathogens. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *6*(10), a025395. doi: 10.1101/cshperspect.a025395

Gould, K. (2016). Antibiotics: From prehistory to the present day. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *71*(3), 572-575. doi: 10.1093/jac/dkv484

Griffith, R. S. (1981). Introduction to vancomycin. *Reviews of Infectious Diseases*, *3 suppl*, S200-204.

Harrison, F., Roberts, A. E. L., Gabrilska, R., Rumbaugh, K. P., Lee, C., & Diggle, S. P. (2015). A 1,000-Year-Old Antimicrobial Remedy with Antistaphylococcal Activity. *mBio*, *6*(4), e01129. doi: 10.1128/mBio.01129-15

Hernández-Allés, S., Conejo, M. d, Pascual, A., Tomás, J. M., Benedí, V. J., & Martínez-Martínez, L. (2000). Relationship between outer membrane alterations and susceptibility to antimicrobial agents in isogenic strains of Klebsiella pneumoniae. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *46*(2), 273-277. doi: 10.1093/jac/46.2.273

Hu, X. E., Kim, N. K., Gray, J. L., Almstead, J.-I. K., Seibel, W. L., & Ledoussal, B. (2003). Discovery of (3S)-amino-(4R)-ethylpiperidinyl quinolones as potent antibacterial agents with a broad spectrum of activity and activity against resistant pathogens. *Journal of Medicinal Chemistry*, *46*(17), 3655-3661. doi: 10.1021/jm030272n

Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: Past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, *51*, 72-80. doi: 10.1016/j.mib.2019.10.008

Ito, T., Otsuki, M., & Nishino, T. (1992). In vitro antibacterial activity of Q-35, a new fluoroquinolone. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *36*(8), 1708. doi: 10.1128/aac.36.8.1708

James, R. (2011). 13—Infection prevention and control and the role of medical textiles. İçinde V. T. Bartels (Ed.), *Handbook of Medical Textiles* (ss. 297-315). Woodhead Publishing. doi: 10.1533/9780857093691.3.297

Jellen-Ritter, A. S., & Kern, W. V. (2001). Enhanced expression of the multidrug efflux pumps AcrAB and AcrEF associated with insertion element transposition in Escherichia coli mutants Selected with a fluoroquinolone. *Antimicrobial Agents and*

Chemotherapy, *45*(5), 1467-1472. doi: 10.1128/AAC.45.5.1467-1472.2001

Josheghani, S. B., Moniri, R., Firoozeh, F., Sehat, M., & Dasteh Goli, Y. (2015). Susceptibility Pattern and Distribution of Oxacillinases and bla PER-1 Genes among Multidrug Resistant Acinetobacter baumannii in a Teaching Hospital in Iran. *Journal of Pathogens*, *2015*, 957259. doi: 10.1155/2015/957259

Jung, D., Rozek, A., Okon, M., & Hancock, R. E. W. (2004). Structural transitions as determinants of the action of the calcium-dependent antibiotic daptomycin. *Chemistry & Biology*, *11*(7), 949-957. doi: 10.1016/j.chembiol.2004.04.020

Kahan, J. S., Kahan, F. M., Goegelman, R., Currie, S. A., Jackson, M., Stapley, E. O., … Birnbaum, J. (1979). Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic. I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. *The Journal of Antibiotics*, *32*(1), 1-12. doi: 10.7164/antibiotics.32.1

Kantele, A., & Lääveri, T. (2022). Extended-spectrum beta-lactamase-producing strains among diarrhoeagenic Escherichia coli-prospective traveller study with literature review. *Journal of Travel Medicine*, *29*(1), taab042. doi: 10.1093/jtm/taab042

Karlowsky, J. A., Nichol, K., & Zhanel, G. G. (2015). Telavancin: Mechanisms of action, in vitro activity, and mechanisms of resistance. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *61 Suppl 2*, S58-68. doi: 10.1093/cid/civ534

Katz, L., & Ashley, G. W. (2005). Translation and protein synthesis: Macrolides. *Chemical Reviews*, *105*(2), 499-528. doi: 10.1021/cr030107f

Konai, M. M., Adhikary, U., & Haldar, J. (2017). Design and Solution-Phase Synthesis of Membrane-Targeting Lipopeptides with Selective Antibacterial Activity. *Chemistry (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, *23*(52), 12853-12860. doi: 10.1002/chem.201702227

Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., & Connolly, L. E. (2016). Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *6*(6), a027029. doi: 10.1101/cshperspect.a027029

Kropp, H., Gerckens, L., Sundelof, J. G., & Kahan, F. M. (1985). Antibacterial activity of imipenem: The first thienamycin antibiotic. *Reviews of Infectious Diseases*, *7 Suppl 3*, S389-410. doi: 10.1093/clinids/7.supplement_3.s389

Laible, G., Spratt, B. G., & Hakenbeck, R. (1991). Interspecies recombinational events during the evolution of altered PBP 2x genes in penicillin-resistant clinical isolates of Streptococcus pneumoniae. *Molecular Microbiology*, *5*(8), 1993-2002. doi: 10.1111/j.1365-2958.1991.tb00821.x

Landman, D., Babu, E., Shah, N., Kelly, P., Bäcker, M., Bratu, S., & Quale, J. (2010). Activity of a novel aminoglycoside, ACHN-490, against clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae from New York City. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *65*(10), 2123-2127. doi: 10.1093/jac/dkq278

Leach, K. L., Brickner, S. J., Noe, M. C., & Miller, P. F. (2011). Linezolid, the first oxazolidinone antibacterial agent. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1222*, 49-54. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.05962.x

Leclercq, R., Derlot, E., Weber, M., Duval, J., & Courvalin, P. (1989). Transferable vancomycin and teicoplanin resistance in Enterococcus faecium. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *33*(1), 10-15.

Li, S., Zhu, Z. C., Wang, L., Zhou, Y. F., Tang, Y. J., & Miao, Z. M. (2015). Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in spring waters. *Letters in Applied Microbiology*, *61*(6), 544-548. doi: 10.1111/lam.12489

Liu, M., & Douthwaite, S. (2002). Activity of the ketolide telithromycin is refractory to Erm monomethylation of bacterial rRNA. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *46*(6), 1629-1633. doi: 10.1128/AAC.46.6.1629-1633.2002

Liu, Y.-F., Yan, J.-J., Lei, H.-Y., Teng, C.-H., Wang, M.-C., Tseng, C.-C., & Wu, J.-J. (2012). Loss of outer membrane protein C in Escherichia coli contributes to both antibiotic resistance and escaping antibody-dependent bactericidal activity. *Infection and Immunity*, *80*(5), 1815-1822. doi: 10.1128/IAI.06395-11

Livermore, D. M. (1987). Mechanisms of resistance to cephalosporin antibiotics. *Drugs*, *34 Suppl 2*, 64-88. doi: 10.2165/00003495-198700342-00007

Llano-Sotelo, B., Azucena, E. F., Kotra, L. P., Mobashery, S., & Chow, C. S. (2002). Aminoglycosides modified by resistance enzymes display diminished binding to the bacterial ribosomal aminoacyl-tRNA site. *Chemistry & Biology*, *9*(4), 455-463. doi: 10.1016/s1074-5521(02)00125-4

Lohans, C. T., Freeman, E. I., Groesen, E. van, Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Spencer, J., … Schofield, C. J. (2019). Mechanistic Insights into β-Lactamase-Catalysed Carbapenem Degradation Through Product Characterisation. *Scientific Reports*, *9*(1), 13608. doi: 10.1038/s41598-019-49264-0

Magnet, S., Courvalin, P., & Lambert, T. (2001). Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in Acinetobacter baumannii strain BM4454. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *45*(12), 3375-3380. doi: 10.1128/AAC.45.12.3375-3380.2001

Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. (2019). Geliş tarihi gönderen https://shop.elsevier.com/books/mandell-douglas-and-bennetts-principles-and-practice-of-infectious-diseases/bennett/978-0-323-48255-4

Marshall, S. H., Donskey, C. J., Hutton-Thomas, R., Salata, R. A., & Rice, L. B. (2002). Gene dosage and linezolid resistance in Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *46*(10), 3334-3336. doi: 10.1128/AAC.46.10.3334-3336.2002

Martinez, J. L., Sánchez, M. B., Martínez-Solano, L., Hernandez, A., Garmendia, L., Fajardo, A., & Alvarez-Ortega, C.

(2009). Functional role of bacterial multidrug efflux pumps in microbial natural ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*, *33*(2), 430-449. doi: 10.1111/j.1574-6976.2008.00157.x

Miller, J. L. (2000). Linezolid approval brings new treatment option for resistant bacteria. *American Journal of Health-System Pharmacy*, *57*(11), 1018-1018. doi: 10.1093/ajhp/57.11.1018

Miller, W. R., Bayer, A. S., & Arias, C. A. (2016). Mechanism of Action and Resistance to Daptomycin in Staphylococcus aureus and Enterococci. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *6*(11), a026997. doi: 10.1101/cshperspect.a026997

Moellering, R. C. (2006). Vancomycin: A 50-year reassessment. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *42 Suppl 1*, S3-4. doi: 10.1086/491708

Moffa, M., & Brook, I. (2015). *Tetracyclines, Glycylcyclines, and Chloramphenicol*. 322-338.e6. doi: 10.1016/B978-1-4557-4801-3.00026-6

Moore, R. A., DeShazer, D., Reckseidler, S., Weissman, A., & Woods, D. E. (1999). Efflux-mediated aminoglycoside and macrolide resistance in Burkholderia pseudomallei. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *43*(3), 465-470. doi: 10.1128/AAC.43.3.465

Moradigaravand, D., Martin, V., Peacock, S. J., & Parkhill, J. (2017). Population structure of multidrug resistant Klebsiella oxytoca within hospitals across the UK and Ireland identifies sharing

of virulence and resistance genes with K. pneumoniae. *Genome Biology and Evolution*, *9*(3), 574-587. doi: 10.1093/gbe/evx019

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, *4*(2). doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015

Munita, J. M., Bayer, A. S., & Arias, C. A. (2015). Evolving resistance among Gram-positive pathogens. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *61 Suppl 2*(Suppl 2), S48-57. doi: 10.1093/cid/civ523

Myers, A. G., & Clark, R. B. (2021). Discovery of Macrolide Antibiotics Effective against Multi-Drug Resistant Gram-Negative Pathogens. *Accounts of Chemical Research*, *54*(7), 1635-1645. doi: 10.1021/acs.accounts.1c00020

Nakamura, S., Nakamura, M., Kojima, T., & Yoshida, H. (1989). gyrA and gyrB mutations in quinolone-resistant strains of Escherichia coli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *33*(2), 254-255.

Nathwani, D., & Wood, M. J. (1993). Penicillins. A current review of their clinical pharmacology and therapeutic use. *Drugs*, *45*(6), 866-894. doi: 10.2165/00003495-199345060-00002

Neu, H. C. (1986). beta-Lactam antibiotics: Structural relationships affecting in vitro activity and pharmacologic properties. *Reviews of Infectious Diseases*, *8 Suppl 3*, S237-259. doi: 10.1093/clinids/8.supplement_3.s237

Omura, S., Morimoto, S., Nagate, T., Adachi, T., & Kohno, Y. (1992). [Research and development of clarithromycin]. *Yakugaku*

Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, *112*(9), 593-614. doi: 10.1248/yakushi1947.112.9_593

Oteo, J., Delgado-Iribarren, A., Vega, D., Bautista, V., Rodríguez, M. C., Velasco, M., … Campos, J. (2008). Emergence of imipenem resistance in clinical Escherichia coli during therapy. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *32*(6), 534-537. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.06.012

Ozgumus, O. B., Tosun, I., Aydin, F., & Kilic, A. O. (2008). Horizontol dissemination of TEM- and SHV-typr beta-lactamase genes-carrying resistance plasmids amongst clonical isolates of Enterobacteriaceae. *Brazilian Journal of Microbiology: [Publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, *39*(4), 636-643. doi: 10.1590/S1517-83822008000400007

Pan, X. S., & Fisher, L. M. (1999). Streptococcus pneumoniae DNA gyrase and topoisomerase IV: Overexpression, purification, and differential inhibition by fluoroquinolones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *43*(5), 1129-1136. doi: 10.1128/AAC.43.5.1129

Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: Past, Present, and Future ▿. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *55*(11), 4943-4960. doi: 10.1128/AAC.00296-11

Pham, T. D. M., Ziora, Z. M., & Blaskovich, M. A. T. (2019). Quinolone antibiotics. *MedChemComm*, *10*(10), 1719-1739. doi: 10.1039/C9MD00120D

Poole, K. (2000). Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-positive bacteria and the mycobacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *44*(10), 2595-2599. doi: 10.1128/AAC.44.10.2595-2599.2000

Pootoolal, J., Neu, J., & Wright, G. D. (2002). Glycopeptide Antibiotic Resistance. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *42*(Volume 42, 2002), 381-408. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.42.091601.142813

Poulsen, S. M., Kofoed, C., & Vester, B. (2000). Inhibition of the ribosomal peptidyl transferase reaction by the mycarose moiety of the antibiotics carbomycin, spiramycin and tylosin. *Journal of Molecular Biology*, *304*(3), 471-481. doi: 10.1006/jmbi.2000.4229

Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, *13*(6), 151-171. doi: 10.1016/j.drup.2010.08.003

Rasmussen, B. A., Gluzman, Y., & Tally, F. P. (1994). Inhibition of protein synthesis occurring on tetracycline-resistant, TetM-protected ribosomes by a novel class of tetracyclines, the glycylcyclines. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *38*(7), 1658-1660. doi: 10.1128/AAC.38.7.1658

Ratcliffe, R. W., Wildonger, K. J., Di Michele, L., Douglas, A. W., Hajdu, R., Goegelman, R. T., … Hirshfield, J. (1989). Studies on the structures of imipenem, dehydropeptidase I-hydrolyzed imipenem, and related analogs. *The Journal of Organic Chemistry*, *54*(3), 653-660. doi: 10.1021/jo00264a028

Raze, D., Dardenne, O., Hallut, S., Martinez-Bueno, M., Coyette, J., & Ghuysen, J.-M. (1998). The Gene Encoding the Low-Affinity Penicillin-Binding Protein 3r in Enterococcus hirae S185R Is Borne on a Plasmid Carrying Other Antibiotic Resistance Determinants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *42*(3), 534-539.

Riera, E., Cabot, G., Mulet, X., García-Castillo, M., del Campo, R., Juan, C., … Oliver, A. (2011). Pseudomonas aeruginosa carbapenem resistance mechanisms in Spain: Impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *66*(9), 2022-2027. doi: 10.1093/jac/dkr232

Roberts, M. C. (1996). Tetracycline resistance determinants: Mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiology Reviews*, *19*(1), 1-24. doi: 10.1111/j.1574-6976.1996.tb00251.x

Rosenberg, E. Y., Ma, D., & Nikaido, H. (2000). AcrD of Escherichia coli is an aminoglycoside efflux pump. *Journal of Bacteriology*, *182*(6), 1754-1756. doi: 10.1128/JB.182.6.1754-1756.2000

Rubinstein, E., & Keynan, Y. (2014). Vancomycin revisited—60 years later. *Frontiers in Public Health*, *2*, 217. doi: 10.3389/fpubh.2014.00217

Ruiz, J., Moreno, A., Jimenez de Anta, M. T., & Vila, J. (2005). A double mutation in the gyrA gene is necessary to produce high levels of resistance to moxifloxacin in Campylobacter spp.

Clinical isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *25*(6), 542-545. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2004.10.016

Rusu, A., & Buta, E. L. (2021). The Development of Third-Generation Tetracycline Antibiotics and New Perspectives. *Pharmaceutics*, *13*(12), 2085. doi: 10.3390/pharmaceutics13122085

Serio, A. W., Keepers, T., Andrews, L., & Krause, K. M. (2018). Aminoglycoside Revival: Review of a Historically Important Class of Antimicrobials Undergoing Rejuvenation. *EcoSal Plus*, *8*(1). doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0002-2018

Sierra, J. M., Marco, F., Ruiz, J., Jiménez de Anta, M. T., & Vila, J. (2002). Correlation between the activity of different fluoroquinolones and the presence of mechanisms of quinolone resistance in epidemiologically related and unrelated strains of methicillin-susceptible and -resistant Staphylococcus aureus. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *8*(12), 781-790. doi: 10.1046/j.1469-0691.2002.00400.x

Singh, T., Dar, S. A., Das, S., & Haque, S. (2020). Chapter 10—Importance of efflux pumps in subjugating antibiotic resistance. İçinde P. Kesharwani, S. Chopra, & A. Dasgupta (Ed.), *Drug Discovery Targeting Drug-Resistant Bacteria* (ss. 273-299). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-818480-6.00010-2

Sköld, O. (2001). Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Veterinary Research*, *32*(3-4), 261-273. doi: 10.1051/vetres:2001123

Smith, C. L., & Powell, K. R. (2000). Review of the sulfonamides and trimethoprim. *Pediatrics in Review*, *21*(11), 368-371.

Soriano, F., & Ponte, M. C. (1984). Comparative activities of aztreonam and cefotaxime against Escherichia coli and Bacteroides spp. In pure and mixed cultures. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *26*(1), 39-41. doi: 10.1128/AAC.26.1.39

Sumita, Y., & Fukasawa, M. (1995). Potent activity of meropenem against Escherichia coli arising from its simultaneous binding to penicillin-binding proteins 2 and 3. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *36*(1), 53-64. doi: 10.1093/jac/36.1.53

Swedberg, G., Castensson, S., & Sköld, O. (1979). Characterization of mutationally altered dihydropteroate synthase and its ability to form a sulfonamide-containing dihydrofolate analog. *Journal of Bacteriology*, *137*(1), 129-136. doi: 10.1128/jb.137.1.129-136.1979

Sykes, R. B., & Bonner, D. P. (1985). Discovery and development of the monobactams. *Reviews of Infectious Diseases*, *7 Suppl 4*, S579-593. doi: 10.1093/clinids/7.supplement_4.s579

Sykes, R. B., & Matthew, M. (1976). The beta-lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to beta-lactam antibiotics. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *2*(2), 115-157. doi: 10.1093/jac/2.2.115

Talaat, H., El Beskawy, M., Atwa, S., Eissa, M., Mahmmod, Y., Elkady, M. A., & El-Diasty, M. M. (2023). Prevalence and Antibiogram of Staphylococcus aureus in Clinical and Subclinical

Mastitis in Holstein Dairy Cows in Egypt. *Zagazig Veterinary Journal*, *51*(1), 59-75. doi: 10.21608/zvjz.2023.162367.1191

Tenson, T., Lovmar, M., & Ehrenberg, M. (2003). The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome. *Journal of Molecular Biology*, *330*(5), 1005-1014. doi: 10.1016/s0022-2836(03)00662-4

Thaker, M., Spanogiannopoulos, P., & Wright, G. D. (2010). The tetracycline resistome. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *67*(3), 419-431. doi: 10.1007/s00018-009-0172-6

Tran, J. H., & Jacoby, G. A. (2002). Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(8), 5638-5642. doi: 10.1073/pnas.082092899

Tran, T. T., Munita, J. M., & Arias, C. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: Daptomycin resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1354*, 32-53. doi: 10.1111/nyas.12948

Tran, T. T., Panesso, D., Mishra, N. N., Mileykovskaya, E., Guan, Z., Munita, J. M., … Arias, C. A. (2013). Daptomycin-resistant Enterococcus faecalis diverts the antibiotic molecule from the division septum and remodels cell membrane phospholipids. *mBio*, *4*(4), e00281-13. doi: 10.1128/mBio.00281-13

Trautmann, M., Wiedeck, H., Ruhnke, M., Oethinger, M., & Marre, R. (1994). Teicoplanin: 10 years of clinical experience. *Infection*, *22*(6), 430-436. doi: 10.1007/BF01715507

Tsalik, E. L., Bonomo, R. A., & Fowler, V. G. (2018). New Molecular Diagnostic Approaches to Bacterial Infections and Antibacterial Resistance. *Annual Review of Medicine*, *69*, 379-394. doi: 10.1146/annurev-med-052716-030320

Wachino, J., & Arakawa, Y. (2012). Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: An update. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, *15*(3), 133-148. doi: 10.1016/j.drup.2012.05.001

Wang, N., Yang, X., Jiao, S., Zhang, J., Ye, B., & Gao, S. (2014). Sulfonamide-resistant bacteria and their resistance genes in soils fertilized with manures from Jiangsu Province, Southeastern China. *PloS One*, *9*(11), e112626. doi: 10.1371/journal.pone.0112626

Wang, Y., Li, D., Song, L., Liu, Y., He, T., Liu, H., … Shen, J. (2013). First Report of the Multiresistance Gene cfr in Streptococcus suis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *57*(8), 4061-4063. doi: 10.1128/AAC.00713-13

Woodruff, H. B. (2014). Selman A. Waksman, Winner of the 1952 Nobel Prize for Physiology or Medicine. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(1), 2-8. doi: 10.1128/AEM.01143-13

Yamane, K., Wachino, J., Suzuki, S., & Arakawa, Y. (2008). Plasmid-Mediated qepA Gene among Escherichia coli Clinical Isolates from Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *52*(4), 1564-1566. doi: 10.1128/AAC.01137-07

Yang, Q., Gao, Y., Ke, J., Show, P. L., Ge, Y., Liu, Y., … Chen, J. (2021). Antibiotics: An overview on the environmental occurrence, toxicity, degradation, and removal methods. *Bioengineered*, *12*(1), 7376-7416. doi: 10.1080/21655979.2021.1974657

Yang, Y., Bhachech, N., & Bush, K. (1995). Biochemical comparison of imipenem, meropenem and biapenem: Permeability, binding to penicillin-binding proteins, and stability to hydrolysis by beta-lactamases. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *35*(1), 75-84. doi: 10.1093/jac/35.1.75

Yelimlibağ, B., & Aydin, M. (2023). Characterization of Multiple Resistance Genes of Escherichia coli Strains Isolated from Food and Clinical Samples. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, *69*(7), 118-126. doi: 10.14715/cmb/2023.69.7.19

Zapun, A., Contreras-Martel, C., & Vernet, T. (2008). Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, *32*(2), 361-385. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00095.x

Zhanel, G. G., Calic, D., Schweizer, F., Zelenitsky, S., Adam, H., Lagacé-Wiens, P. R. S., … Karlowsky, J. A. (2010). New lipoglycopeptides: A comparative review of dalbavancin, oritavancin and telavancin. *Drugs*, *70*(7), 859-886. doi: 10.2165/11534440-000000000-00000

Ziha-Zarifi, I., Llanes, C., Köhler, T., Pechere, J. C., & Plesiat, P. (1999). In vivo emergence of multidrug-resistant mutants of Pseudomonas aeruginosa overexpressing the active efflux system

MexA-MexB-OprM. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *43*(2), 287-291. doi: 10.1128/AAC.43.2.287

BÖLÜM V

Pestisit Kirliliği ve DNA Hasarı

Özge TEMİZ[1]

Giriş

Pestisitler, ürünlerin verimliliğini artırmak, ürün zararlılarını ve hastalıklarını önlemek ve kontrol altına almak için çok geniş çeşitlilikte ve yaygın olarak kullanmaktadır (Risom ve ark., 2005; Rudzi ve ark., 2022).

Bununla birlikte, gıda depolama ve uzun ömürlü kalmasını sağlamak amaçlı ve evsel ilaçlama ile istenmeyen haşerelerin bertarafı gibi çevresel faaliyetler gibi çeşitli diğer süreçlerde de kullanılırlar. Dünyada insan ve hayvan tüketimi için üretilen mahsullerin üretiminin neredeyse üçte biri pestisit uygulamasıyla güvence altına alınmıştır (Samsidar ve ark., 2018; Ledda ve ark., 2021).

[1] Doç. Dr., Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü,
ORCID: 0000-0003-0668-5744

Pestisitlerin çeşitli ürünlere uygulamaları tarımsal verimi artırmanın ve zararlıların kontrolünün evrensel olarak kabul görmüş yolu olmaya devam etmekte ve insanların bu pestisitlerin uygulamasıyla üertilen ürünleri tüketmesi, mesleki kullanımı veya çevre kirliliği sonucunda her gün sürekli olarak karşılaştığı doğal ya da sentetik üretilen kimyasallardır (Sánchez-Alarcón ve ark., 2021; Akash ve ark., 2022).

Pestisit uygulamaları, insan tüketimi için üretilen bitkilerin zararlılardan korumak için en etkili yol olarak günümüzde kullanımı giderek artarak kullanılmakta ve bu da zararlıların ortadan kaldırılmasıyla daha fazla ürün eldesi sağlanarak verimliliğin ve ürün miktarının artmasına önemli katkı sağlamaktadır. Ancak bu kimyasal maddeler, tarımsal üretimi etkileyen zararlılar ve hastalığa sebebi patojenlerin bertaraf edilmesinde kullanımı için dizayn edilen toksik madde olarak tasarlanmıştır (Bolognesi, 2003; Bull ve ark., 2006). Bu yüzden pestisitler canlılar ve ekosistem üzerinde potansiyel kimyasal mutajenler olarak görülmektedir. Deneysel araştırmaların sonuçlarına göre çeşitli tarımsal kimyasal bileşenlerin genotoksik ve mutajenik özelliklere sahip olduğunu ortaya konmuştur (Grover ve ark., 2003; Nascimento ve ark., 2022).

DNA materyaline sahip olan prokaryot veya ökaryot hücreler, ekzojen ve endojen etkenlerin maruziyeti sonucu DNA'sında hasar oluşur. Hasarın oluşturduğu DNA üzerinde bulunan birçok lezyon bölgeleri tespit edilerek ve hasarın düzeltilmesi için karmaşık bir sinyal yolak ağı ile hasarın boyutu, türüde belirlenerek tamir süreci başlatılır (Zhou & Elledge, 2000; Lin ve ark., 2022).

DNA hasarının iki önemli kaynağı olan ekzojen kaynaklar bakteri virüsler, X ışınları, toksinler vb. gibi ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi endojen kaynakları oluşturur. Normal hücrelerde oluşan DNA hasarı canlı sağlığı için önemlidir ve DNA onarımındaki çeşitli mekanizmaları ile farklı bölgelerde meydana gelen hasarı ve hataları

düzeltir (Trasviña-Arenas ve ark., 2021).

Bu oluşan hücre biyokimyasal döngüsü tamir mekanizması ve onarım yollarının aktivasyonu veya tamir edilemez durumda apoptotik programların sinyallerinin verilmesiyle sonuçlanır (Rakitsky ve ark., 2000; Bian ve ark., 2019). DNA hasar tepkisi, bir dizi adımla yürütülen karmaşık ama düzenli ilerleyen kimyasal bir süreçtir. Oluşan DNA lezyonları, lezyonların kendisi ya da DNA hasarının kontrol mekanizları ile kromatin değişikliklerini tanıyan sensör proteinleri ile belirlenir (Roos & Kaina, 2013; Srinivas ve ark., 2019).

Sonuç

Birçok çalışmada, pestisitlerin kromozomal bozukluklara, kardeş kromatit değişimlerine, mikronükleus sıklığına, DNA zincir kırık oluşumuna ve epigenetik modifikasyon oluşumuna sebep olduğu raporlanmıştır (Garaj-Vrhovac & Zeljezic, 2000; Ojha ve ark., 2013; Hernández ve ark., 2013; Kaur & Kaur, 2018).

Pestisit maruziyetinin toksik etkileri genetik materyal replikasyonunun ve transkripsiyonunun engellenmesi sonucunda DNA lezyonları oluşumuna neden olur. Bu lezyonlar hücrede tamir edilmez ya da düzeltilmezse, hücre veya organizmanın canlılığını tehdit eden büyük sonuçlara neden olabilecek genetik aktarımlara veya sapmalarına sebep olur. DNA onarımı, hücre içerisinde biyokimyasal yolaklar sayesinde hasarın düzeltmesi ve DNA replikasyon hatalarını düzeltilmesinde önemli bir rol oynar. Organizmalar bu tür DNA hasarlarını onarma yeteneğine sahiptir; fakat bu düzeltilme DNA onarımının düzeyi doza, zamana ve hasar verici etken devamlılığına ve türüne bağlıdır (Doğanlar ve ark., 2018; Teodoro ve ark., 2019; Prathiksha ve ark., 2023).

Kaynaklar

Akash, S., Sivaprakash, B., Rajamohan, N., Pandiyan, C. M., & Vo, D. V. N. (2022). Pesticide pollutants in the environment–A critical review on remediation techniques, mechanism and toxicological impact. *Chemosphere*, *301*, 134754.

Bian, K., Lenz, S. A., Tang, Q., Chen, F., Qi, R., Jost, M., ... & Li, D. (2019). DNA repair enzymes ALKBH2, ALKBH3, and AlkB oxidize 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine, 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine in vitro. Nucleic acids research, 47(11), 5522-5529.

Bolognesi, C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, *543*(3), 251-272.

Bull, S., Fletcher, K., Boobis, A. R., & Battershill, J. M. (2006). Evidence for genotoxicity of pesticides in pesticide applicators: a review. *Mutagenesis*, *21*(2), 93-103.

Doğanlar, Z. B., Doğanlar, O., Tozkir, H., Gökalp, F. D., Doğan, A., Yamaç, F., ... & Aktaş, Ü. E. (2018). Nonoccupational exposure of agricultural area residents to pesticides: pesticide accumulation and evaluation of genotoxicity. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *75*, 530-544.

Garaj-Vrhovac, V., & Zeljezic, D. (2000). Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay: pesticide genotoxicity revealed by comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *469*(2), 279-285.

Grover, P., Danadevi, K., Mahboob, M., Rozati, R., Banu, B. S., & Rahman, M. F. (2003). Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the Comet assay. *Mutagenesis*, *18*(2), 201-205.

Hernández, A. F., Lacasaña, M., Gil, F., Rodríguez-Barranco, M., Pla, A., & López-Guarnido, O. (2013). Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene–environment interaction perspective. *Toxicology*, *307*, 95-102.

Kaur, K., & Kaur, R. (2018). Occupational pesticide exposure, impaired DNA repair, and diseases. Indian journal of occupational and environmental medicine, 22(2), 74-81.

Ledda, C., Cannizzaro, E., Cinà, D., Filetti, V., Vitale, E., Paravizzini, G., ... & Rapisarda, V. (2021). Oxidative stress and DNA damage in agricultural workers after exposure to pesticides. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, *16*, 1-7.

Lin, L., Zhang, Y., Wei, Q., Lin, H., Li, X., Yu, M. E., ... & Xue, D. (2022). Structure and function encoding of a bidirectional activatable synergetic DNA machine for speeded and ultrasensitive determination of microRNAs. Talanta, 238, 123037.

Nascimento, F. D. A., Silva, D. D. M. E., Pedroso, T. M. A., Ramos, J. S. A., & Parise, M. R. (2022). Farmers exposed to pesticides have almost five times more DNA damage: a meta-analysis study. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(1), 805-816.

Nonga, H. E., Mdegela, R. H., Lie, E., Sandvik, M., & Skaare, J. J. (2011). Assessment of farming practices and uses of agrochemicals in Lake Manyara basin, Tanzania.

Ojha, A., Yaduvanshi, S. K., Pant, S. C., Lomash, V., & Srivastava, N. (2013). Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate pesticides individually and in mixture, in rat tissues. *Environmental toxicology*, *28*(10), 543-552.

Prathiksha, J., Narasimhamurthy, R. K., Dsouza, H. S., & Mumbrekar, K. D. (2023). Organophosphate pesticide-induced toxicity through DNA damage and DNA repair mechanisms. *Molecular Biology Reports*, *50*(6), 5465-5479.

Rakitsky, V. N., Koblyakov, V. A., & Turusov, V. S. (2000). Nongenotoxic (epigenetic) carcinogens: pesticides as an example. A critical review. *Teratogenesis, carcinogenesis, and mutagenesis*, *20*(4), 229-240.

Risom, L., Møller, P., & Loft, S. (2005). Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, *592*(1-2), 119-137.

Roos, W. P., & Kaina, B. (2013). DNA damage-induced cell death: from specific DNA lesions to the DNA damage response and apoptosis. Cancer letters, 332(2), 237-248.

Rudzi, S. K., Ho, Y. B., Sing Tan, E. S., Jalaludin, J., & Ismail, P. (2022). Pesticides Exposure and Biomarkers of DNA

damage: A Review. Malaysian Journal of Medicine & Health Sciences, 18.

Samsidar, A., Siddiquee, S., & Shaarani, S. M. (2018). A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. Trends in Food Science & Technology, 71, 188-201.

Sánchez-Alarcón, J., Milić, M., Kašuba, V., Tenorio-Arvide, M. G., Montiel-González, J. M. R., Bonassi, S., & Valencia-Quintana, R. (2021). A systematic review of studies on genotoxicity and related biomarkers in populations exposed to pesticides in Mexico. *Toxics*, *9*(11), 272.

Srinivas, U. S., Tan, B. W., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox biology*, *25*, 101084.

Teodoro, M., Briguglio, G., Fenga, C., & Costa, C. (2019). Genetic polymorphisms as determinants of pesticide toxicity: Recent advances. *Toxicology reports*, *6*, 564-570.

Trasviña-Arenas, C. H., Demir, M., Lin, W. J., & David, S. S. (2021). Structure, function and evolution of the Helix-hairpin-Helix DNA glycosylase superfamily: Piecing together the evolutionary puzzle of DNA base damage repair mechanisms. DNA repair, 108, 103231.

Zhou, B. B. S., & Elledge, S. J. (2000). The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. Nature, 408(6811), 433-439.

BÖLÜM VI

Kök Hücreler ve Kullanım Alanları

Özlem Sultan ASLANTÜRK
Nurgül İrem ERDOĞAN

Kök Hücrelerin Özellikleri

İnsan vücudunda bulunan tüm doku ve organlar hücrelerden meydana gelir. Bu hücrelerin bazıları kendini yenileme ve farklı hücrelere dönüşebilme özelliğine sahiptir. Bu hücreler kök hücreler olarak adlandırılır.

Bir hücrenin kök hücre olarak tanımlanabilmesi için aşağıdaki özelliklere sahip olması gereklidir:

1.Kök hücreler, telomeraz enzim aktivitelerinin yüksek olması ve telomerlerinin uzunluğu sayesinde sınırsız bölünme ve kendini yenileme yeteneğine sahiptir. Bu özellikleri, kök hücre havuzunun ömür boyunca sabit kalmasını sağlar.

2. Farklılaşmış (özelleşmiş) bir hücre değillerdir. Yani henüz belirli bir göreve veya işleve yönlendirilmemişlerdir.

3. Özelleşmiş bir hücreye kaynaklık yapabilir, onlara dönüşebilirler. Birçok hücre tipine farklılaşabilirler. Çoğalma ve farklılaşma

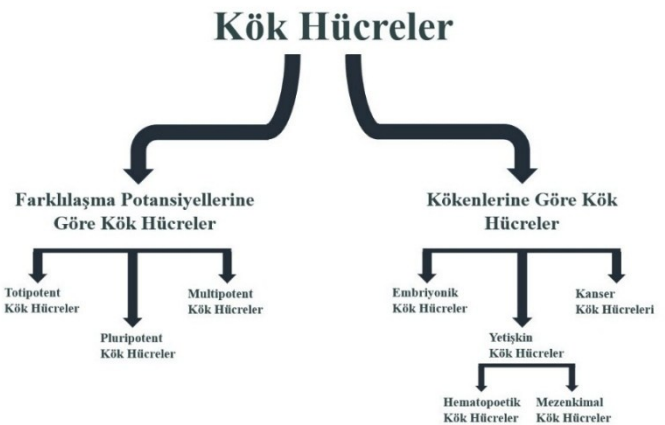
süreçleri farklı zamanlarda gerçekleşir; önce çoğalma, sonra farklılaşma meydana gelir. Farklılaşma sürecinde hücreler geçici veya kalıcı olarak G_0 fazına geçebilir. Farklılaşmayı etkileyen faktörler ortadan kalktığında, hücreler tekrar çoğalma döngüsüne (G_1 fazı) geçebilirler.

4. Hasar gören bir alıcıya aktarıldığında, alıcıdaki hasarlı dokuyu onarmak için kullanılabilirler. Kök hücreler alıcıya aktarıldıklarında, kaynak dokuda bulundukları gibi işlevlerini sürdürebilir ve hasarlı dokuyu onarmak için uygun hücreleri üretebilirler. Bu süreç, hasarlı dokunun iyileşmesinde ve işlevselliğini geri kazanmasında yardımcı olur.

5. Kök hücreler, *in vivo* doku hasarı oluşmasa bile, doğal rejenerasyon süreçlerine katkı sunabilirler. Örnek olarak, kemik iliğindeki mevcut kök hücreler kemik dokusunun sürekli yenilenmesine katkıda bulunarak hücrelerin yaşlanması veya hasar görmesi durumunda bu hücreleri yenileyebilir ve dokunun sağlığının korunmasını sağlar (Bilici, 2022; Yediel Aras, 2023).

Kök Hücrelerin Sınıflandırılması

Kök hücreler farklılaşma potansiyellerine ve kökenlerine göre sınıflandırılmaktadır (Şekil 1'de).



Şekil 1: Kök hücreler iki şekilde sınıflandırılabilirler.

Farklılaşma Potansiyellerine Göre Kök Hücreler

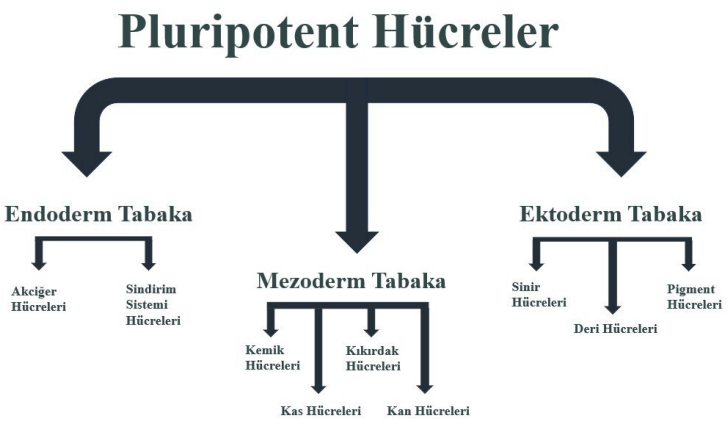
Kök hücreler farklılaşma yeteneklerine göre; totipotent kök hücreler, pluripotent kök hücreler ve multipotent kök hücreler olmak üzere 3 şekilde sınıflandırılırlar.

Totipotent Hücreler

Totipotent kök hücreler, vücutta bulunan tüm hücrelere farklılaşabilme yeteneğine sahiplerdir. Tam bir birey oluşturabilecek kapasiteleri bulunan, farklılaşma yetenekleri sınırsız olan kök hücre tipleridir. Totipotent kök hücre çeşidi olarak bilinen tek kök hücre, döllenmiş yumurta hücresi olarak da bilinen zigottur. Gelişimin dördüncü gününe kadar oluşan blastomerler, tam bir canlıyı oluşturabilecek kapasiteye sahip şekilde herhangi bir özelleşmiş hücreye farklılaşabilirler. Döllenmiş bir yumurta tek bir hücredir ve bu tek hücreden bir insanın tüm vücut sistemlerindeki tüm hücreler meydana gelir (Ateş, 2016; Kaya & Tutun, 2021).

Pluripotent Hücreler

Tüm doku ve organları meydana getiren üç tabaka olan ektoderm, endoderm ve mezoderm tabakalarına farklılaşabilen kök hücre tipleridir (Şekil 2'de). Döllenme sonrasında 5. günden itibaren embriyo farklılaşarak, blastosist aşamasına geçer ve pluripotent hücreler bu aşamada endoderm ve ektoderm tabakasını oluştururlar. Ektoderm tabakadan deri ve sinir sistemi gelişir. Endoderm tabakadan akciğer ve sindirim sistemi, mezoderm tabakadan ise kemik, kas, kıkırdak ve kan gibi yapılar gelişir. Totipotent hücrelere göre farklılaşma kapasitesi daha sınırlı olan bu kök hücre tipi, 200 farklı tipteki hücreye farklılaşma yeteneğine sahiptir fakat yeni bir birey oluşturamazlar. Pluripotent hücrelere "Embriyonik kök hücreler" de denilmektedir (Bulut & Belge, 2020; Çerçi & Erdost, 2020).

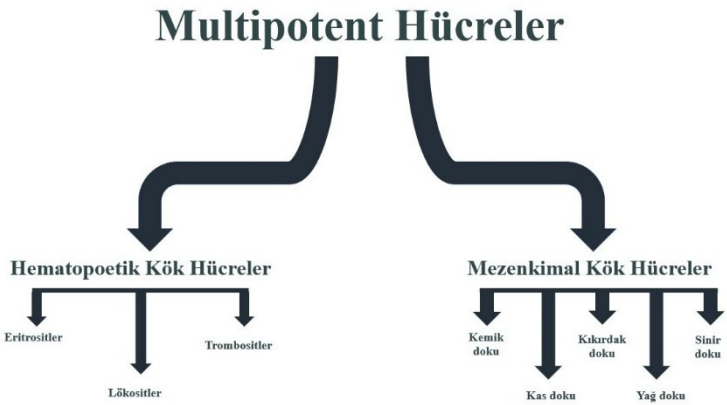


Şekil 2: Pluripotent kök hücreler

Multipotent Kök Hücreler

Bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri pluripotentlere göre daha sınırlıdır. Tek bir germ tabakasından köken alarak farklılaşan hücrelerdir. Hematopoetik ve Mezenkimal kök hücreler olarak ayrılırlar (Şekil 3'de). Yapılan çalışmalarda multipotent kök hücrelerin ektodermden nöronal dokuya dönüşebildiği görülmüştür. Başka bir örnek de kordon kanından elde edilen hücrelerin uygun uyaranlarla kas hücreleri veya nöronlara dönüşebilmesidir (Yediel Aras, 2023; Bulut & Belge, 2020).

Multipotent kök hücreler, yetişkin kök hücreleri olarak bilinirler. En önemli görevleri arasında gelişim, doku onarımı ve savunma mekanizmaları görülür (Kaya & Tutun, 2021).



Şekil 3: Multipotent kök hücreler

Bunlara ek olarak; belirli bir doku tipine ait iki veya daha fazla hücreye farklılaşabilen, farklılaşma yetenekleri oldukça sınır olan oligopotent kök hücreler ve yalnızca belirli bir hücre hattı oluşturabilen, tek tip hücrelere farklılaşabilen unipotent kök hücreler de vardır. Bu iki tip kök hücre organ bütünlüğünün ve fonksiyonlarının devamının sağlanmasında görev alırlar; karaciğer, beyin gibi organlarda ölen hücrelerin yerlerine geçerler (Ateş, 2016; Ören, 2019; Charitos & ark., 2021).

Kökenlerine Göre Kök Hücreler

Embriyonik Kök Hücreler

Embriyonik kök hücreler (EKH), zigot gelişim döneminde, blastosist aşamasına gelmiş embriyolardan elde edilirler. Bu hücreler pluripotent hürelerdir. Plasenta hariç olarak ektoderm, mezoderm ve endoderm tabakalarından köken alan çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilir. Embriyonik kök hücrelerin tüm hücrelere farklılaşabilmeleri henüz sadece fare hücrelerinde tam olarak gösterilebilmiştir (Ateş, 2016; Yediel Aras, 2023).

Yetişkin (Embriyonik Olmayan) Kök Hücreler

Hematopoetik kök hücreler ve mezenkimal (stromal) kök hücreler, yetişkin (embriyonik olmayan) kök hücre tipleridir. Yetişkin kök hücrelerin asıl görevi, bulundukları dokuyu tamir etmek, doku bütünlüğünü ve sağlığını korumaktır (Ateş, 2016).

Yetişkin kök hücreler, kadavradan, fetal kök hücrelerden, plasentadan, göbek kordon kanından, yağ dokusundan ve kemik iliğinden elde edilebilmektedir (Çerçi & Erdost, 2019).

Hematopoetik Kök Hücreler

Hematopoetik kök hücreler (HKH) kan hücrelerine (eritrosit, lenfosit, lökosit ve trombosit) farklılaşabilen kök hücrelerdir. Hematopoetik kök hücrelerin özel hücrelere farklılaşmasına hematopoez denir. Hematopoetik hücrelerin kaynağı, kemik iliği hücreleridir. Hematopoetik kök hücre açısından zengin önemli bir kaynak da göbek kordon kanıdır. Kordon kanı içerisinde bol miktarda kök hücrenin yanı sıra eritrosit, lenfosit, lökosit ve trombosit kan hücreleri bulunmaktadır. Kordon kanı kök hücrelerinin diğer bir özelliği ise daha uzun telomer bölgelerine sahip olmalarıdır. Bu özellikleri sayesinde, daha yüksek çoğalma kapasitesine sahiplerdir (Çerçi & Erdost, 2019; Yediel Aras, 2023; Demirbağ, 2023).

Mezenkimal (Stromal) Kök Hücre

Mezenkimal kök hücreler (MKH'ler), memeli kemik iliğinden izole edilebilen ve kültürde çoğaltılabilen, çeşitli mezodermal fenotipler ve dokular oluşturabilen bir hücre sınıfını temsil etmektedir. Bu hücreler, kemik, kıkırdak, kas, sinir ve yağ dokusuna farklılaşabilmektedir.

Rejeneratif tıpta, MKH'ler, kültür ortamında yüksek stabiliteye sahip olmaları, daha yüksek hücre yaşayabilirliği ve kolay elde edilebilir olmaları gibi faydaları nedeniyle en yaygın kullanılan kök hücrelerdir. Kolayca toplanabilir, ayrılabilir, kültürlenebilir, çoğaltılabilir ve saflaştırılabilirler. MKH'ler, birçok pasajlama ve

çoğalma sonrasında bile kök hücre özelliklerini koruyabilmektelerdir (Caplan, 2017; Oryan & ark., 2017; Xie & ark., 2020).

Kanser Kök Hücreleri

Kanser biyolojisi bağlamında, kök hücrelerle kanser hücreleri arasındaki ilişki çeşitlerinden biri tümörlerin kanser kök hücrelerini (KaKH) içermesidir. Kanser kök hücreleri, öncelikle küçük bir alt küme olarak ortaya çıkar ancak geniş çapta çoğalma yeteneğine sahiptir. Yani KaKH'lar, tümörün başlangıcından sorumlu olan hücrelerdir (Güneş, 2022).

KaKH'ler ve kanser hücreleri arasında belirgin bir özellik farkı olmasa da KaKH'lerinin çoğalırken sadece KaKH'ye farklılaşabildiği bilinmektedir. Normal kök hücreler doku bütünlüğünü ve sağlığını koruma amaçlarını taşırken, KaKH'ler doku düzenlerini bozmaya meyilli olarak bilinmektedir. Kendilerine özgü olarak, normal kök hücreler gibi özdeş yavru kök hücre üretme yeteneklerine sahiplerdir. Ayrıca, farklılaşırken başka kanser hücre soylarına dönüşerek bu şekilde çoğalma yetenekleri de bulunmaktadır (Güneş, 2022).

Normal kök hücrelerin DNA'sında meydana gelen hasarlar ve mikro-çevresel faktörlerin kombinasyonlarıyla kanser kök hücreleri oluşmaktadır (Sapmaz Erçakallı & Polat, 2022).

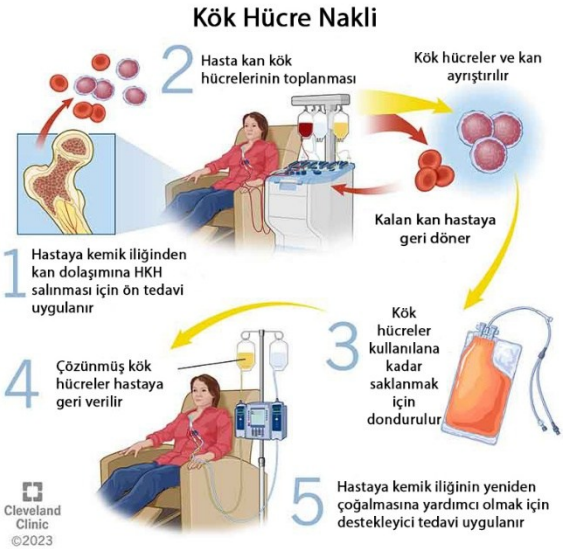
Kök Hücrelerin Kullanım Alanları

Kök hücreler, vücudumuzun temel yapı taşlarıdır ve birçok farklı hücre tipine dönüşebilme yetenekleri nedeniyle çeşitli tıbbi uygulamalarda önemli bir potansiyele sahiplerdir.

1-Kanser Tedavisi

a-Hematopoetik Kök Hücre Nakilleri

Kök hücre terapisinde, klinik kullanımda en çok hematopoetik kök hücreler tercih edilmektedir. HKH'ler, kemik iliğinden (Kİ) (Şekil 4'te), periferik kandan (MPK) ve kordon kanından (KK) elde edilmektedir. Lösemi, lenfoma gibi hematolojik kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (Okşak & Kuruca, 2021).



Şekil 4: Kök hücre nakli aşamaları

Kaynak: https://my.clevelandclinic.org/health/treatments/22567-stem-cell-transplants (erişim tarihi: 27.05.2024)

b- Kanser Kök Hücrelerine Yönlendirilmiş Tedaviler

Yapılan tedaviler asıl olarak tümör kitlesinin tamamını hedef almasına rağmen, bazen tümör hücreleriyle birlikte sağlıklı hücreleri de öldürmektedir. Oysaki hücre döngüsünün G0/G1 fazında sessiz halde bekleyen ve içerdikleri anti-apoptotik proteinler sayesinde tedavi yöntemlerine dirençli KaKH yok edilemediği için kanser

yeniden ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple, tedavide asıl hedeflenmesi gereken hücre KaKH'dir. KaKH'lerini hedef alan bazı tedavi yaklaşımlarına DNA'nın onarımı, ışın tedavisine (radyasyon) direncin kırılması, mikroRNA'nın hedeflenmesi örnek verilebilir (İnetaş Yengin & ark., 2023).

2- Doku Onarımı ve Rejenerasyon

Yara Onarımı

Sağlıklı deri bütünlüğü, vücudun sağlıklı işleyişinde kritik bir rol oynar. Kronik yaraların tedavisine yönelik mevcut terapötik müdahalelerin etkinliği sınırlıdır, bu nedenle daha etkili çözümler aranmaktadır. Araştırmalar, kök hücre temelli tedavilerin yara iyileşmesini hızlandırma ve deri yenilenmesini sağlama potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle, yüksek proliferatif kapasiteye, uzun vadeli kendini yenileme yeteneğine ve farklılaşma potansiyeline sahip olan multipotent yetişkin kök hücreler, deri yenilenmesi ve yara iyileşmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Hayta & Güner, 2020).

3- Doku Mühendisliği ve Organ Nakilleri

Organ nakli için immünsüpresif (bağışıklık baskılayıcı) ilaçlar gereklidir. İlaçların toksik olması farklı yöntemlerin aranmasına neden olmuştur. Bazı deneysel hayvan modelleri; hematopoetik kök hücre nakli sonucunda oluşan kimerikliğin organ reddini önlediğini ve immünsüpresif ilaç kullanımına gerek kalmadan başarılı olunabileceğini göstermiştir.

Örneğin yapılan bir çalışmada hematopoetik kök hücreler ve vücutta immünolojik yanıt uyarmayan TCR'ler ile modüle edilmiş biyomühendisliğin hazırladığı hücresel ürün (FCRx), nakil kolaylaştırıcı hücrelerle (FC) birlikte alıcıya verilir. Hematopoetik kök hücreler nakledilince donör lenfohematopoetik hücreleri alıcıya yerleşir ve alıcıda yeni kan hücreleri oluşur (Ün & Erbaş, 2018).

Polikistik böbrek hastalığı nedeniyle son dönem böbrek hastalığı gelişen 43 yaşındaki bir erkek hastaya, HLA uyumlu canlı bir

donörden böbrek ve FCRx nakli gerçekleştirilmiştir. Nakilden bir ay sonra %95 donör kimerikliği görülmüştür. Altıncı aya kadarki süreçte ise kimerizmin %63 ile %100 arasında dalgalandığı görülmüştür. Bağışıklık baskılanması kesildikten sonra donör kimerikliği %100'de kalmıştır. Bu olgu hematopoetik kök hücre naklinin ilk başarısı olarak görülmektedir (Leventhal & ark., 2012).

4- Veteriner Hekimlikte Kullanımı

Özellikle yara iyileşmeleri, kalp hastalıkları durumlarında, diyabet hastalıklarında, eklem ve kıkırdak hasarlarında, nörolojik sistem hastalıklarında, gözde meydana gelen hastalıklarda, tümör tedavisinde, ligament, ortopedik hasarlar, deri lezyonları ve eklem hastalıkları gibi birçok tedavi alanında kök hücreler kullanılmaktadır (Bulut & Belge, 2020).

Kök Hücrelerin Potansiyel Kullanım Alanları

1-Nörolojik Hastalıkların Araştırılması ve Tedavisi

Parkinson, Alzheimer, Huntington gibi merkezi sinir sistemi hastalıkları hastanın yaşamını doğrudan tehdit ettiği gibi, duyu kaybı, motor fonksiyon kaybı ve hafıza kaybına neden olabilen tedavisi zor durumlardır. Bu gibi durumlar üzerinde yapılan çalışmalar, kök hücrelerin sinir sistemi onarımındaki potansiyelini ortaya koymaktadır.

Tıbbi tedaviler genellikle hastalığın ilerlemesini yavaşlatmaya yöneliktir, ancak kaybedilen fonksiyonları veya dokuları tam olarak yenileyemezler. Yakın zamanda yapılan araştırmalar, sinir sistemi hastalıklarında kök hücrelerden nöral hücrelerin nakledilmesinin, bu bölgelerdeki hücrelerin veya ortamın yenilenmesini sağlayabilecek bir tedavi yöntemi olabileceğini göstermektedir. Kök hücreler, beyin mikroçevresinde nöral hücrelere farklılaşabilme yeteneğine sahiptir ve nörotrofik faktörler (nöronların sağlığı, büyümesi ve işlevlerinin düzenlenmesi için gereken proteinler) aracılığıyla nöroplastisiteyi (beynin öğrenme, hatırlama ve unutma yetenekleri) ve nörogenezi (nöronların üretilme süreci) yeniden sağlayabilirler (Kuruş & ark., 2022; Zhang & ark., 2020).

Tedavideki strateji, nörodejeneratif aşamalarında kaybolan nöronları yenileriyle değiştirmek için kök hücreleri kullanmaktır. MKH'lerin bilişsel işlevi iyileştirdiği ve hücre ölümünü inhibe ettiği gösterilmiştir (Odabaşı & Küçükkılınç, 2021).

2- Diş Hekimliğinde Kullanımı

Diş pulpası, süt dişi, oral mukoza ve periost doku mezenkimal kök hücreler için değerli kaynaklardır. Buralarda bulunan kök hücreler diş dokularının onarımı, implant başarısı, çürüklerin tedavisi ve çene kemik yapısının korunması gibi alanlarda önemli bir rol oynayabilmektelerdir (Mahmutoğlu & ark., 2022; Topsakal & Korkmaz 2019).

3- Gen Tedavisi

Genetik olarak değiştirilmiş kök hücrelerin kullanımı, kalıtsal hastalıkların düzeltilmesinde bir yaklaşım olarak araştırılmaktadır. Örnek olarak;

Kalıtsal körlüğün en önemli nedenlerinden birisi Retinitis pigmentosa (RP)'dır. RP'de kon ve retina pigment epiteli (RPE) hücre hasarı görülür. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda EKH'leri kullanarak fotoreseptör hücreleri üretilmeye çalışılmıştır. Bu hücrelerin kullanımı ile apoptozise giden hücrenin yerine yeni ve fonksiyonel olarak aktif olan hücrelerin transplante edilmesi amaçlanmıştır (Öner & Kahraman 2021).

Hemoglobinopatiler dünyada en yaygın görülen tek gen hastalıklarıdır. B-Talasemi (Akdeniz anemisi) ve Orak hücreli anemide bilinen tek küratif tedavi "allojenik kök hücre nakli"dir. 2000'li yıllarda bu hastalıklarla ilgili gen tedavileri için önemli adımlar atılmıştır. Son on yıl içerisinde klinik çalışmalar başlatılmıştır özellikle ticari olarak ulaşılabilir bir hâle getirilmeye çalışılmaktadır (Bilici & Karakaş, 2020; Bişgin, 2019.).

Bu örnekler, kök hücrelerin gen tedavisi alanında sağladığı potansiyelin sadece bir kısmını temsil etmektedir ve gen tedavisinin

geniş bir yelpazede kalıtsal hastalıkların tedavisinde umut vadeden bir yöntem olduğunu göstermektedir.

4- Kalp ve Damar Hastalıkları Tedavisi

Kardiyovasküler sistemdeki kök hücreler, kalp krizinde hasar alan bölgeleri onarmak için umut vadeden bir tedavi yaklaşımı sunmaktadır. Özellikle, MKH'ler, iltihaplanmayı azaltarak miyokard hücrelerinin apoptoz direncini artırabilir, anjiyogenez çevresinde farklılaşmayı teşvik edebilir ve fibrozisi inhibe ederek kalp dokusunu koruyabilir. Ancak, klinik öncesi çalışmalar, iskemik miyokardda (kalbin içindeki miyokard dokusunun oksijen ve besinlerinin yeterince gitmediği bir durum) düşük göç oranları ve düşük sağkalım oranları gibi zorluklarla karşılaşmaktadır. Bu nedenle, kök hücre temeline dayanan terapiler, kalp hastalığının tedavisinde yenilikçi bir potansiyele sahip olsa da daha fazla araştırma ve geliştirme gerekmektedir (Rikhtegar & ark., 2019; Guo & ark., 2020).

5- Yaşlanma Karşıtı Araştırmalar

Yaşlanma, birçok hastalık için en büyük risk faktörlerinden biridir ve kök hücrelerin intravenöz veya lokal uygulanması, yaşlanmayı yavaşlatma ve hücre yenilenmesini teşvik etme potansiyeline sahiptir. Kök hücrelerin yaşlanmayı yavaşlatma ve dokuları yenileme potansiyeli, cilt yaşlanmasıyla mücadelede de önemli bir rol oynamaktadır (Çiğiloğlu & ark., 2021; Godic, 2019; Oram, 2021; Juan & ark., 2023).

Yaşlanma karşıtı uygulamalar, yaşlanma sürecini geciktirmeyi ve yaşam kalitesini artırmayı amaçlar. Kök hücre tedavileri ve immün modülasyon, yaşlanma karşıtı stratejiler arasında giderek daha fazla ilgi çekmektedir ve gelecekte yaşam süresini uzatma potansiyeline sahip olabilir (Çiğiloğlu & ark., 2021; Godic, 2019; Oram, 2021; Juan & ark., 2023).

6- Endokrinoloji

Diyabet, kan glukoz seviyelerindeki dengesizlik ve metabolizma bozukluklarıyla karakterize bir hastalıktır. Tip-1 diyabette otoimmün yanıt nedeniyle pankreas beta hücrelerinde yetersizlik görülürken, Tip-2 diyabette ise insülin salınımında eksiklik söz konusudur. Pankreas beta hücreleri, insülin salınımıyla doğrudan ilişkilidir ve diyabet tedavisinde önemli rol oynar. Multipotent kök hücrelerin, pankreas hücrelerine farklılaşarak kan glukoz seviyelerini düzenlemede potansiyel bir rolü olduğu düşünülmektedir. Kemik iliği kök hücre tedavisi, diyabetik ayak yaralarının iyileşmesini sağlamanın yanı sıra diyabetik komplikasyonların ilerlemesini kontrol altına alabilir ve semptomları azaltabilir (Gündoğdu, 2023).

7- Atopik Hastalıkların Tedavisi

Atopik hastalıklar, genetik ve çevresel faktörlerin etkilediği, alerjenlere karşı immün yanıtların geliştiği hastalıklardır. Bu hastalıklar arasında atopik dermatit, alerjik astım, alerjik konjonktivit, alerjik rinit ve besin alerjisi bulunur. Dermatolojik hastalıklarda Th2 hücrelerinin rolü önemlidir. Son yıllarda, hücresel tedavilerin atopik hastalıklarda önemi artmaktadır. Mezenkimal kök hücreler, çeşitli inflamatuar hastalıkların tedavisinde umut verici bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Bu hücrelerin rejeneratif özelliklerinin yanında B ve T lenfosit cevaplarını baskılama yetenekleri bulunmaktadır. Mezenkimal kök hücreler, dermatolojide umut vadeden bir tedavi seçeneği olabilir (Akkoç & Genç, 2021).

Kök Hücre ve Etik

Yetişkin Kök Hücreler ve Etik

Kök hücrelerin elde ediliş yöntemleri ve yapıları nedeniyle, kök hücrelerin alınması ve kullanılması konusunda önemli etik tartışmalar yaşanmaktadır.

Yetişkin kök hücrelerin elde edilmesi üzerine yapılan tartışmalarda farklı görüşler ortaya çıkmaktadır. Birinci görüşe göre, yetişkinlerden alınan kök hücreler "insan deneyi" kapsamına girer ve

bu durum suç olarak değerlendirilmelidir. İkinci görüşe göre ise bu konu, "insan deneyi" kapsamıyla ilgili değildir. Kemik iliği mezenkimal kök hücreleri ile ilgili olarak, hücre izolasyonu sürecinde donörün yaşayacağı acı ve risklere ilişkin sorular ortaya çıkmaktadır (Charitos, 2021; İçel & Hepvar, 2022).

Diğer bir tartışma konusu ise embriyonik kök hücrelerle ilgilidir. Bir taraftan ciddi hastalıkların tedavisi için yeterli ve yenilikçi tedavilerin geliştirilmesi araştırmaları vazgeçilmezdir. Diğer bir taraftan ise embriyoların kullanımından ve dolayısıyla bu araştırmanın sınırlarından ve koşullarından kaynaklanan ahlaki sorular ortaya çıkmaktadır (Charitos, 2021).

Türkiye'de Sağlık Bakanlığı, 19 Eylül 2005 tarihli ve 17972 sayılı genelge ile embriyonik kök hücre araştırmalarını, bakanlık içindeki yasal çalışmalar ve düzenlemeler yapmak amacıyla durdurmuştur. 2005 yılının sonlarında alınan bu kararla birlikte embriyo kaynaklı kök hücre çalışmalarına ara verilmiş, ancak embriyonik olmayan kök hücre araştırmalarına herhangi bir engel getirilmemiştir. Çünkü embriyonik olmayan kök hücrelerin tedavisi, aktif olarak lösemi hastalarının tedavisinde kullanılmaktaydı. Fakat Türkiye'de embriyonik olmayan kök hücre tedavisinin suiistimal edildiği öne sürülen vakaların ortaya çıkması ve henüz deneysel aşamada olan işlemlerin omurilik ve beyin felçli hastalara kesin tedavi yöntemi olarak sunulmasıyla birlikte, konu hukuki olarak etik yönleriyle yeniden tartışılmaya başlanmıştır. Bu genelgeyi takip eden süreçte, 01 Mayıs 2006 tarihli "Kök Hücre Çalışmaları" isimli genelge ile Klinik Amaçlı Embriyonik Olmayan Kök Hücre Çalışmaları Kılavuzu oluşturulmuştur. Bu tarihten sonra yapılacak araştırma, çalışma ve tedavilerin bu kılavuza göre yapılması şart koşulmuştur (Büken, 2021).

Embriyonik Kök Hücreler ve Etik

Embriyo, blastosist evresine geldiğinde dış tabaka hücreleri ve iç hücre kütlesi bulunur. Dış tabakada bulunan hücreler bölünerek plasenta ve amniyon sıvısını, iç hücre kütlesi ise fetüsü oluşturacak olan hücrelerdir. Yani embriyonik kök hücreler, rahme

yerleştirildiğinde embriyodan bebeğin gelişeceği iç hücre kütlesinden hücreler alınması ile elde edilmektedir. Bunun için *in vitro* olarak kısırlık tedavisinde, tüp bebek tedavisinde kullanılmak amacıyla döllenmiş fakat rahme yerleştirilmemiş fazlalık embriyolar kullanılmaktadır (İçel & Hepvar, 2022).

Avrupa'da bu konuda hukuki çerçeve, Türkiye'nin de taraf olduğu 1997 tarihli Avrupa Konseyi Oviedo Biyotıp Sözleşmesi ve 2006 tarihli Avrupa Konseyi'nin İnsan Kökenli Biyolojik Maddeler Hakkında 4 numaralı Tavsiye Kararı ile belirlenmiştir. Bu Sözleşme'nin 22. Maddesi (*İnsan vücudundan alınmış parçalar üzerinde tasarruf; bir müdahale sırasında insan vücudunun herhangi bir parçası alındığında, çıkarılan parça, yalnızca uygun bilgi verme ve muvafakat alma usullerine uyulduğu takdirde, çıkarılma amacından başka bir amaç için saklanabilir ve kullanılabilir*) katılımcılardan alınan biyolojik örneğin araştırmada belirtilen amaçlardan farklı biçimde kullanılabilmesi ve saklanabilmesi için katılımcıların özgür iradeleriyle verdikleri aydınlatılmış onamlarının alınmasını şart koşmaktadır. Fakat Oviedo Biyotıp Sözleşmesi'nde bazı detaylar ülkelerin içişlerince düzenlenmek üzere bırakılmıştır (Büken, 2021, Türkiye Büyük Millet Meclisi [TBMM], 2003).

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) ile elde edilmiş ve yedek olarak saklanmakta olan bu "artık embriyonlar" embriyonik kök hücrelerin eldesinde kullanılan kaynaklardan biridir. "Üremeye Yardımcı Tedavi Uygulamaları (ÜYTU) ve Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezleri Hakkında Yönetmelik (ÜYTMHY)" 18. Maddesinde *"Kendilerine ÜYTE uygulanacak eşlerden alınan yumurta ve spermler ile bunlardan elde edilen embriyoların bu Yönetmelikle belirlenen esaslar dışında her ne maksatla olursa olsun bulundurulması, kullanılması, nakledilmesi ve satılması yasaktır."* hükmü yer almaktadır. Bu sebeple, embriyonik kök hücre araştırmalarının henüz Türkiye'de yapılamayacağı söylenebilmektedir (Büken, 2021, Resmi Gazete, 2010).

Yine ÜYTMHY 20. Maddesinde, *"Adaylardan fazla embriyo elde edilmesi durumunda eşlerden her ikisinin rızası alınarak embriyolar dondurulmak suretiyle saklanır. Saklama süresinin bir yılı aşması halinde her yıl embriyonun saklanması için çiftler mutlaka başvuruda bulunarak taleplerinin devam ettiğini ifade eden imzalı dilekçe vermelidir. Eşlerin birlikte talebi, eşlerden birinin ölümü veya boşanmanın hükmen sabit olması halinde ya da belirlenen süre son bulduğunda saklanan embriyolar müdürlükte kurulacak komisyon tarafından tutanak altına alınarak imha edilir. Bakanlıkça elektronik kayıt sistemi oluşturulması halinde merkezde saklanan embriyolara ilişkin bilgiler bu sisteme kaydedilir."* hükmü yer almaktadır. Burada da embriyoların kullanımının üremeye yardımcı tedaviler ile sınırlı olması ve saklanan embriyoların imha edilmesi gerektiği görülmektedir. Bu açıdan da yine artan embriyoların da araştırmalarda kullanılamayacağı sonucuna varılabilmektedir (Resmi Gazete, 2014; Zeybek Ünsal, 2021).

Özet olarak ülkelerin, kök hücre çalışmalarına yönelik mevcut hukuki düzenlemeleri üç farklı biçimdedir. Bunlar;

1. Bilimsel araştırmalar amaçlarıyla *in vitro* ortamda embriyo oluşturulmasına izin verilmesi,
2. Bilimsel araştırmalar amaçlarıyla *in vitro* ortamda embriyo oluşturulmasına izin verilmemesi fakat ÜYTE'lerden "artan embriyo"ların kullanılmasına koşullu olarak izin verilmesi,
3. Her ne koşulda olursa olsun, embriyoların tedavi amaçları dışında kullanılmasına izin verilmemesi,

şeklindedir (İçel & Hepvar, 2022).

Türkiye'de Kök Hücre Bağışı ve Kök Hücre Bankaları

TÜRKÖK, gönüllü bağışçılara ait doku grubu antijeni bilgilerinin depolandığı Kemik İliği Bankasının (KİB) oluşturulması ve kök hücre nakli ile ilgilenen merkezler arasında koordinasyonun sağlanması amacı ile kurulmuştur. Türk Kızılay'ın, Bölge Kan Merkezlerinde kurduğu 16 Kök Hücre Bağış Merkezi bulunmaktadır.

Türk Kızılay'ına göre gönüllü kök hücre bağışçısı olmak için öncelikle adaylar değerlendirmeye alınmaktalardır.

TÜRKÖK, hasta ve bağışçının gizliliğini saklamayı ve korumayı yasalar gereği taahhüt eder. Bağışçıya hastayla ilgili sadece hastanın yaş grubu, cinsiyeti ve hastalığı hakkında bilgi verilirken; hastaya sadece bağışçının yaş ve cinsiyeti hakkında bilgi verilir.

Bağışçı olmak isteyenler için şartlar Kızılay'da şu şekilde sıralanmıştır:

1. 18-50 yaş aralığında olmalıdır.
2. Sağlıklı bir birey olmalıdır (Hepatit B, Hepatit C ve Sifilis hastalığı geçirmemiş, kronik hastalığı bulunmayan, kanser, HIV tanısı almamış kişiler).

Başvuru, Eşleşme ve Nakil Süreci

Başvuru sonrası bir bilgilendirme görüşmesi yapılır ve eğer kabul edilirse gönüllünün, Kök Hücre Bağışçı Adayı Bilgilendirme ve Onam Formunu doldurup imzalayarak bu bağışı resmi olarak onaylaması gerekmektedir. Ardından Türk Kızılay tarafından adayın kan grubunu, bulaşıcı enfeksiyon hastalıkları açısından testler (HIV, Hepatit B, Hepatit C ve Sifilis) ve doku tiplemesi çalışılabilmesi için kan örneği alınır. Bulaşıcı hastalıklar için sonucun negatif çıkması durumunda, doku tipi belirlenmesi adına numune TÜRKÖK Doku Tiplendirme Laboratuvarı'na gönderilir ve sonuçlar TÜRKÖK Kemik İliği Bilgi Bankası veri tabanına aktarılır. Bir hasta ile uyum tespit edilmesi durumunda Türk Kızılay yetkilisi adaya ulaşır ve hasta ile aday tekrar uyumluluk için test edilir. Uyumluluk doğrulandıktan sonra adaya tekrar kararı sorulur. Adayın sağlık durumunun uygunluğunun test edilmesi amacıyla ayrıntılı fiziksel muayene yapılır (Kızılay, 2020).

Kök Hücre Bankaları

Her ülke kendi gönüllü vericilerine ait HLA fenotip bilgisini uluslararası bir veri tabanına kaydeder. Dünya Kemik İliği Vericileri Birliği (WMDA), dünya çapında bir ağ oluşturarak, hastalara gönüllü vericilerden Hematopoetik Kök Hücre naklini organize eden

bir kuruluştur. WMDA, 55 ülkeden 137 HKH verici bankası ve 36 ülkeden 53 kordon kanı bankasından oluşmaktadır. Ortak veri tabanı, verici seçiminde yer alan diğer profesyonellerin tüm dünyadaki verici merkezlerini tarayabilmelerini sağlar (Savran Oğuz, 2021).

Türkiye'de kurulmuş olan ilk kemik iliği bankası, İstanbul Tıp Fakültesi Kemik İliği Bankası (KİBANK)'dır. 2010 yılında ise Ankara Üniversitesi bünyesinde ilk "Akraba Dışı Kordon Kanı Bankası" kurulmuştur. Burası ayrıca ülkemizde uluslararası akreditasyon sertifikası "FACT NetCord" sahibi tek yerdir. Ülkemizde tedavi amaçlı ürün üretebilen Genom ve Kök Hücre Merkezine sahip olan tek üniversite Erciyes Üniversitesi'dir (GENKÖK). Ülkemizde, ulusal ve uluslararası veri tabanında uygun verici taramalarını yapmak üzere 3 kemik iliği bankası hizmet vermektedir. Bunlar; KİBANK, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kemik İliği Bankası ve Sağlık Bakanlığı bünyesinde kurulmuş TÜRKÖK'tür. (Erciyes Üniversitesi [ERÜ], 2018; Savran Oğuz, 2021).

Ayrıca bunların dışında da Türkiye'de birçok özel kök hücre kuruluşları bulunmaktadır. Kordon kanı, kemik iliği, süt dişi gibi çeşitli kök hücre kaynakları buralarda belirli ücretler karşılığında depolanmaktadır.

Kök hücreler, tıp alanında devrim niteliğinde bir potansiyel sunmaktadır. Ancak bu alandaki ilerlemelerin daha fazla araştırma, klinik çalışma ve etik meselelere yönelik düzenlemelerle desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Akkoç, T. & Genç, D. (2021). Atopik Hastalıklarda Hücresel İmmünoterapi ve Mezenkimal Kök Hücre Uygulamaları. Gamze Bağcı (Ed.), *Türkiye Klinikleri Tıbbi Genetik–Özel Konular*, *(s.* 69-74). Ankara: Türkiye Klinikleri

Ateş, U. (2016). Let's familiarize ourselves with the stem cell. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Transplantation Journal*, *1*(1), 19-28. https://doi.org/10.5606/fng.transplantasyon.2016.004

Avcı, M. (2022). Kök Hücre; Tanımı ve Genel Özellikleri, Kullanım Alanları, Tarihi, Yüzey Belirteçleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, *31*(2), 87-93. https://doi.org/10.17827/aktd.1063647

Bilici, M. & Karakaş, Z. (2020). Talasemide gen tedavisi. Bülent Antmen (Ed.), *Türkiye Klinikleri Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi – Özel Konular (*s. 87-97). Ankara: Türkiye Klinikleri.

Bişgin, A., Şaşmaz, H. İ. & Karagün, B. Ş. (2019). Orak Hücre Anemisi ve Gen Tedavileri. Hakan Özdoğdu (Ed.), *Türkiye Klinikleri Hematoloji – Özel Konular*, (s.72-78). Ankara: Türkiye Klinikleri.

Bulut, O. & Belge, A. (2020). Kök Hücreler ve Veteriner Hekimlikte Kullanım Alanları. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *9*(1), 86-89. https://doi.org/10.31196/huvfd.673075

Caplan, A. I. (2017). Mesenchymal Stem Cells: Time to Changethe Name! *Stem Cells Translational Medicine*, *6*(6), 1445-1451. https://doi.org/10.1002/sctm.17-0051

Charitos, I. A., Ballini, A., Cantore, S., Boccellino, M., Di Domenico, M., Borsani, E., Nocini, R., Di Cosola, M., Santacroce, L. & Bottalico, L. (2021). Stem Cells: A Historical Review about Biological, Religious, and Ethical Issues. *Stem Cells International*, *2021*, 9978837. https://doi.org/10.1155/2021/9978837

Çerçi, E. & Erdost, H. (2019). Kök Hücre. *Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Dergisi*, 14(2), 221-228. https://doi.org/10.17094/ataunivbd.483253

Çerçi, E. & Erdost, H. (2020). Mezenkimal Kök Hücrelerin Tanımlanması ve Proliferasyon Özellikleri. *Journal of Research in Veterinary Medicine*, *39*(2), 106-114. https://doi.org/10.30782/jrvm.659950

Çiğiloğlu, A., Soylu, G. & Öztürk, Z. A. (2021). Anti-Aging, Kök Hücre ve İmmünomodülasyon. Zeynel Abidin Öztürk (Ed.), *Türkiye Klinikleri Geriatri –Özel Konular*, *(s.* 34-39). Ankara: Türkiye Klinikleri.

Cleveland Clinic (2023). Stem Cell Transplant (Bone Marrow Transplant). (27/05/2024 tarihinde https://my.clevelandclinic.org/health/treatments/22567-stem-cell-transplants adresinden ulaşılmıştır.)

Demirbağ, B. (2023). *Sağlık & Bilim 2023: Kök Hücre ve Rejeneratif Tıp-I*. İstanbul: EfeAkademi Yayınları

Tıp Fakültesi Hastaneleri. (2018). *Erü Hastanelerinin İlkleri ve Kök Hücre Tedavisi Konuşuldu*. T.C. Erciyes Üniversitesi. https://hastaneler.erciyes.edu.tr/tr/haber-detay/eru-hastanelerinin-

ilkleri-ve-kok-hucre-tedavisi-konusuldu/e61003f5-1059-4292-bc40-2f8e25455813?newstypeid=4

Godic, A. (2019). The role of stem cells in anti-aging medicine. *Clinics in Dermatology*, *37*(4), 320-325. https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.04.011

Guo, Y., Yu, Y., Hu, S., Chen, Y. & Shen, Z. (2020). Thetherapeutic potential of mesenchymal stem cells for cardiovascular diseases. *Cell Death&Disease*, *11*(5), 1-10. https://doi.org/10.1038/s41419-020-2542-9

Gündoğdu, H. (2023). Kök Hücrelerin Hastalıklardaki Rolü ve Klinik Uygulama Örnekleri. Ebru Karadağ Sarı & Sevda Eliş Yıldız (Ed.), *Kök Hücreler ve Uygulama Alanları* (s. 165-171). İstanbul: EfeAkademi Yayınları

Güneş, M. (2022). *H460 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Hücrelerinden Kanser Kök Hücre İzolasyonu ve Karakterizasyonu.* [Yüksek Lisans Tezi, İstinye Üniversitesi]. YÖK Ulusal Tez Merkezi. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/TezGoster?key=fS4sqEZr79C_n60Rk6MjFYb5MzDsJtLG4wxXqC-zZYAw8yj-mrUfu4I1Ij7IjvGz

Ören, H. (2019). Kök Hücreler. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, *33*(3), 271-280.https://doi.org/10.5505/deutfd.2019.35693

Hayta, S. B. & Güner, R. Y. (2020). Sikatris Tedavisinde/Yara İyileşmesinde Kök Hücre. Gamze Serarslan (Ed.), *Türkiye Klinikleri*

Kozmetik Dermatoloji – Özel Konular, (s. 59-65). Ankara: Türkiye Klinikleri

İçel, K. & Hepvar, M. (2022). Tıp Ceza Hukuku Bağlamında Kök Hücre Çalışmaları ve Sorunları. *İstanbul Ticaret Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, *21*(44), 678-694. https://doi.org/10.46928/iticusbe.1149132

İnetaş Yengin, G., Geyik, Ö. G., Bağriyanık, H. A., Yüce, Z. & Öktem, G. (2023). İnsan diş pulpası kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin meme kanseri kök hücreleri üzerine etkisi. *Ege Tıp Dergisi*, *62*(3), 396-405. https://doi.org/10.19161/etd.1360783

Juan, X., Yalin, G., Yutong, Y., Fan, W. & Zhongshan, L. (2023). Application of stem cells to skin anti-aging. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, *27*(6), 948. https://doi.org/10.12307/2023.239

Kan Hizmetleri. (2023). *Kök Hücre Bağışı.* Türk Kızılay. https://www.kanver.org/sayfa/kan-hizmetleri/kok-hucre-bagisi/53

Kaya, M. M. & Tutun, H. (2021). KÖK HÜCRE ÜRETİMİ, İZOLASYONU VE TEDAVİDE KULLANIMI. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, *12*(2), 55-78. https://doi.org/10.38137/vftd.969798

Kuruş, M., Ergin, K. & Çetinkaya, R. (2022). Pluripotent Kök Hücrelerden Sinir Hücrelerine Farklılaştırma Yöntemleri. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi,* *29*(4), 691-696. https://doi.org/10.17343/sdutfd.1103596

Leventhal, J., Abecassis, M., Miller, J., Gallon, L., Ravindra, K., Tollerud, D. J., King, B., Elliott, M. J., Herzig, G., Herzig, R. &

Ildstad, S. T. (2012). Chimerism and Tolerance without GVHD or engraftment syndrome in HLA-mismatched combined kidney and hematopoietic stem cell transplantation1. *Science translational medicine*, *4*(124), 124ra28. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003509.

Mahmutoğlu, S., Mendi, A. & Yılmaz, D. (2022). Diş Hekimliğinde Oromaksillofasiyal Bölgeden Alınabilen Mezenkimal Kök Hücreler. *ADO Klinik Bilimler Dergisi*, *11*(2), 184-192. https://doi.org/10.54617/adoklinikbilimler.996609

Odabaşı, M. D. & Tüylü Küçükkılınç, T. (2021). Current approaches in Alzheimer's disease treatment. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy, 42,* 266-280.https://doi.org/10.52794/hujpharm.955421

Okşak, N. & Kuruca, D. S. (2021). HEMATOPOETİK KÖK HÜCRE İZOLASYONUNDA GÜNCEL YÖNTEMLER. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*,*84(3),* 415-24. https://doi.org/10.26650/IUITFD.2020.0058

Oram, Y. (2021). Yaşlanma Karşıtı Kök Hücre Kullanımı. Zeynel Abidin Öztürk (Ed.), *Türkiye Klinikleri Kozmetik Dermatoloji – Özel Konular.* Türkiye Klinikleri, (s. 52-58). Ankara: Türkiye Klinikleri

Oryan, A., Kamali, A., Moshiri, A. & Baghaban Eslaminejad, M. (2017). Role of Mesenchymal Stem Cells in Bone Regenerative Medicine: What Is the Evidence? *Cells Tissues Organs*, *204*(2), 59-83. https://doi.org/10.1159/000469704

Öner, A. & Kahraman, N. S. (2021). Retinitis Pigmentosada Retina Transplantasyonu, Kök Hücre ve Gen Tedavisi: Güncel Retina Dergisi. *Güncel Retina Dergisi*, *5*(2), 131-139.

Resmi Gazete. (2010). Üremeye Yardımcı Tedavi Uygulamaları ve Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezleri Hakkında Yönetmelik. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/03/20100306-10.htm

Resmi Gazete. (2014). Üremeye Yardımcı Tedavi Uygulamaları ve Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezleri Hakkında Yönetmelik. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2014/09/20140930-4.htm

Rikhtegar, R., Pezeshkian, M., Dolati, S., Safaie, N., AfrasiabiRad, A., Mahdipour, M., Nouri, M., Jodati, A. R. & Yousefi, M. (2019). Stemcells as therapyforheartdisease: iPSCs, ESCs, CSCs, and skeletal myoblasts. *Biomedicine&Pharmacotherapy*, *109*, 304-313. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.065

Sapmaz Erçakallı, T. & Polat, S. (2022). Kanser Kök Hücrelerine Güncel Yaklaşım. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, *31*(2), 111-121. https://doi.org/10.17827/aktd.1088310

Savran Oğuz, F. (2021). Akraba Dışı Kök Hücre Vericisi Araştırmasında Kemik İliği ve Kondon Kanı Bankacılığının Önemi. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, *84*(2). https://doi.org/10.26650/IUITFD.2020.0014

Türkiye Büyük Millet Meclisi. (2003). Biyoloji ve Tıbbın Uygulanması Bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin

Korunması Sözleşmesi: İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin Onaylanmasının Uygun Bulunduğuna Dair Kanun. https://www5.tbmm.gov.tr/kanunlar/k5013.html

Topsakal, K. G. & Korkmaz, Y. N. (2019). KÖK HÜCRELER VE DİŞ HEKİMLİĞİ: LİTERATÜR DERLEMESİ. *Selcuk Dental Journal*, *6*(1), 73-81. https://doi.org/10.15311/selcukdentj.305565

Ün, M.veErbaş, O. (2018). İmmün süpresif ilaçlar olmadan organ nakli mümkün mü? *Demiroglu Bilim University Florence Nightingale Transplantation Journal*, *3*(1-2), 17-20. https://doi.org/10.5606/fng.transplantasyon.2018.005

Xie, Q., Liu, R., Jiang, J., Peng, J., Yang, C., Zhang, W., Wang, S. & Song, J. (2020). What is theimpact of human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on clinical treatment? *Stem Cell Research &Therapy*, *11*(1), 519. https://doi.org/10.1186/s13287-020-02011-z

Yediel Aras, Ş. (2023). Kök Hücrelerin Özellikleri ve Sınıflandırılması. Ebru Karadağ Sarı & Sevda Eliş Yıldız (Ed.), *Kök Hücreler ve Uygulama Alanları* (s. 7-22). İstanbul: EfeAkademi Yayınları

Tıp Tarihi ve Etik Ana Bilim Dalı. Örnek Büken, N. (2021). *İnsan Biyolojik Materyalinin Araştırma Amaçlı Olarak Kullanılması.* Hacettepe Üniversitesi.https://deontoloji.hacettepe.edu.tr/egitim/biyoetikegitimmateryalleri.php

Tıp Tarihi ve Etik Ana Bilim Dalı. Örnek Büken, N. (2021). *Embriyonik Kök Hücre Eldesi ve Embriyonik Kök Hücre*

Araştırmaları Konusunda Ülkemizde Durum. Hacettepe Üniversitesi.https://deontoloji.hacettepe.edu.tr/egitim/biyoetikegitimmateryalleri.php

Tıp Tarihi ve Etik Ana Bilim Dalı. Zeybek Ünsal, Ç. & Örnek Büken, N. (2021). *Araştırmalarda embriyonik ve indüklenmiş pluripotent kök hücrelerin kullanılması ile ilgili yasal durum nedir?*. Hacettepe Üniversitesi.https://deontoloji.hacettepe.edu.tr/egitim/biyoetikegitimmateryalleri.php

Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M. & Rybak, Z. (2019). Stem cells: Past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy*, *10*, 68. https://doi.org/10.1186/s13287-019-1165-5

Zhang, F.-Q., Jiang, J.-L., Zhang, J.-T., Niu, H., Fu, X.-Q. & Zeng, L.-L. (2020). Current status and future prospects of stem cell therapy in Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*, *15*(3), 437–438. https://doi.org/10.4103/1673-5374.265544

BÖLÜM VII

Salvia verticillata subsp *verticillata* Taksonunun Toprak Üstü Vejetatif Yapılarının Histoanatomik Özellikleri

Öznur ERGEN AKÇİN[1]
Şükran ÖZTÜRK[2]
Melike Merve ÖZTÜRK[3]
Zeynep Melek BARUTÇU[4]

Giriş

Salvia cinsi Lamiaceae familyasının en fazla tür içeren cinslerinin başında gelmektedir. Cins Dünya çapında yaklaşık 1000 türe sahiptir. Bu türler ağırlıklı olarak Avrupa, Akdeniz, Asya ve Amerika gibi ılıman bölgelerde bulunmaktadır. Yüksek çeşitliliğe

[1] Prof. Dr. Öznur ERGEN AKÇİN, Ordu Üniversitesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu/Türkiye, Orcid:0000-0002-6875-6045, oakcin@gmail.com
[2] Dr. Şükran ÖZTÜRK, Ordu Üniversitesi, Ulubey Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Ordu/Türkiye, Orcid:0000-0003-0596-0273, sukranguney0@hotmail.com
[3] Melike Merve ÖZTÜRK., Ordu Üniversitesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu/Türkiye, Orcid: 0009-0001-1265-9609, melikemerve60@gmail.com
[4] Zeynep Melek BARUTÇU, Ordu Üniversitesi, Fen-edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu/Türkiye, Orcid: 0009-0003-8137-2809, zeynepmelekbarutcu@gmail.com

sahip belirli bölgeler arasında Güneydoğu Asya, Güney Avrupa, Orta ve Güney Amerika yer almaktadır (Kamatou & ark.,2008; Topcu & ark., 2017; Gökbulut, 2023). Ülkemiz %53'lük önemli bir endemizm oranına sahip yaklaşık 100 *Salvia* türüne ev sahipliği yapmaktadır (Sunar & ark., 2020). *Salvia* cinsine ait türler Türkiye'de 'yabani adaçayı, kara ot, dadırak ve yılancık' gibi isimlerle bilinmektedir (Baytop, 1994).

Salvia cinsine ait türler dünya genelinde tıp, mutfak, kozmetik ve hayvan besleme gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Türlerde çeşitli fenolik bileşikler, flavonoidler, terpeniodler ve önemli esansiyel yağlar mevcuttur. Bu maddeler antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuvar ve antidiyabetik gibi birçok biyokimyasal özellik göstermektedir. Çin'de, *Salvia* türleri kardiyovasküler ve bağışıklık sistemi hastalıklarını tedavi etmek için kullanılmaktadır (Porres-Martínez & ark., 2017; Xu & ark., 2018; Aydin & ark., 2020; Assaggaf & ark., 2022). Omega-3 yağ asitlerinin en zengin botanik kaynağı olarak kabul edilen *Salvia hispanica* L. bir gıda ve yem bitkisi olarak kullanmaktadır (Jamshidi & ark., 2019).

Cinse ait bitkilerle yapılan anatomik çalışmalarda; kökte öz ışınlarının sayısı, gövde köşelerinde yer alan kollenkima dokusu, sklerankima halkası, iletim demetlerinin özellikleri, petiyolde iletim demetlerinin yapısı ve trake çapı, yaprakta ise mezofil yapısı gibi anatomik karakterlerin taksonomik değeri olduğu bilinmektedir. (Baran & Özdemir, 2006; Kahraman & ark., 2010; Özdemir & ark, 2016)

Bu çalışmada Doğu Karadeniz bölgesinden toplanan *S. verticillata* subsp *verticillata* L. alttürünün toprak üstü vejetatif yapıları olan gövde, petiyol ve yaprak anatomik özellikleri ele alınarak ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Bitki numuneleri 2021 yılında Giresun-Sivas illeri arasından ($40^0 14' 29'' N/38^0 58' 48'' E$) 1500 m rakımdan toplanmıştır. Örnekler

anatomik araştırma için %70'lik etil alkolde tespit edilmiştir Bitkinin vejetatif organlarından (gövde, petiyol ve yaprak) kesitler el yardımı ile alınmıştır. Kesitler 9/1 oranındaki fast green/ safranin karışımı ile boyanmıştır (Bozdağ & ark., 2015). Yaprak yüzeysel kesitlerinden stoma ebatları ölçülmüştür. Tüm anatomik ölçümler NIS Elements Imaging Software 3.00 SP5 programı kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular

Bitkinin gövdesi 4 köşelidir ve köşelerde belirgin şekilde çıkıntılar mevcuttur. Gövdenin en dışında çok sayıda örtü ve salgı tüylerinin oluştuğu tek katlı epidermis yer almaktadır. Köşelerde yaklaşık 10 katlı kollenkima tabakası bulunmaktadır. Bu tabaka köşeler arasında da tek sıra halinde devam etmektedir. Kollenkima tabakasının altında ortalama 35,91 ± 12,11µm çapındaki hücrelerden oluşan klorenkima tabakası yer almaktadır. İletim demetleri gövde yapısına uygun olarak dörtgen şeklinde bir diziliş göstermiştir. İletim demeti halkasının köşelerinde demetler daha büyük dizilmişlerdir. Büyük demetler üzerinde sklerankimatik tabaka sayısı artış göstermiştir. İletim demetleri kollateral tiptedir. Gövdenin öz bölgesi parankimatik hücrelerle doludur (Tablo 1, Şekil 1).

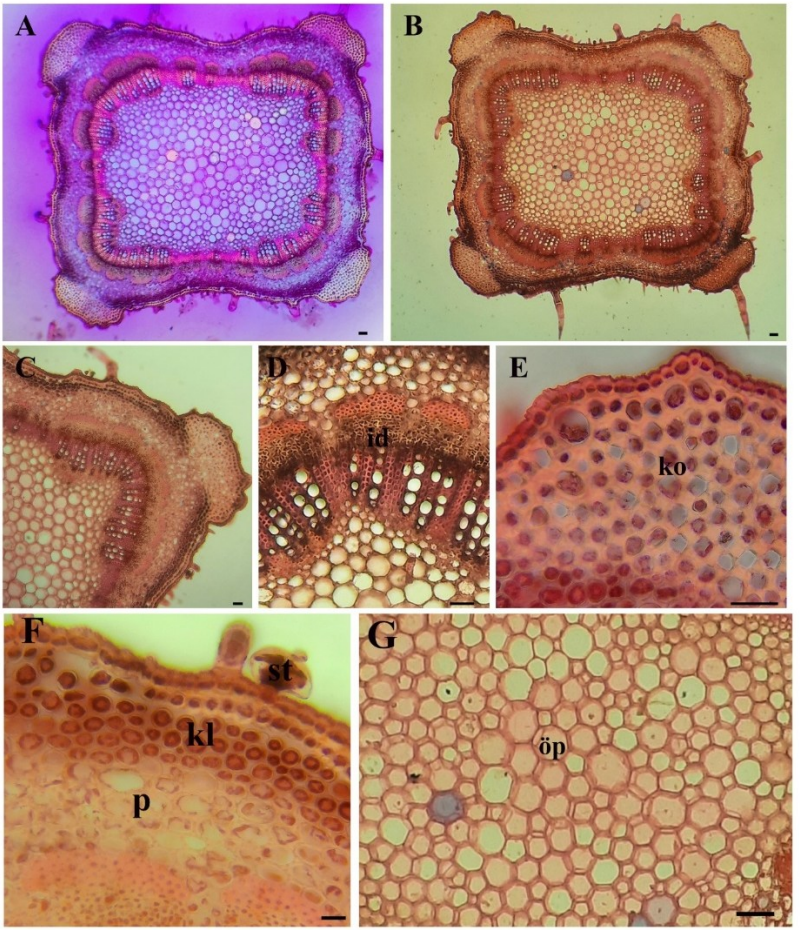
S. verticillata subsp *verticillata* alttürünün petiyol anatomisinde dışta çok sayıda örtü ve salgı tüyleri yer almaktadır. Epidermis tabakası tek katlı ve yuvarlağımsı hücrelerden oluşmaktadır. Epidermis tabakasının altında tek sıralı 22,32 ± 2,96 µm çapındaki hücrelerden oluşan kollenkima tabakası yer almaktadır. Petiyolün ortasında büyük bir orta damar, kenarlarda 3 çift küçük iletim demeti mevcuttur. Büyük iletim demetinde 4-5 sıralı kambiyum tabakası bulunmaktadır (Tablo 1, Şekil 2).

Bitkinin yaprakları bifaisyal tiptedir. Yaprağın her iki yüzeyinde bol miktarda salgı ve örtü tüyü yer almaktadır. Mezofil tabakasında 2 (3) sıralı palizat parankiması ve 3-4 sıralı sünger parankiması bulunmaktadır. Palizat parankiması hücreleri ortalama 20,06 ± 3,34 X 22,35 ± 5,67 µm ebatlarında, sünger parankiması hücreleri ise ortalama 32,31 ± 6,81 µm çapındadır. Yapraklarda

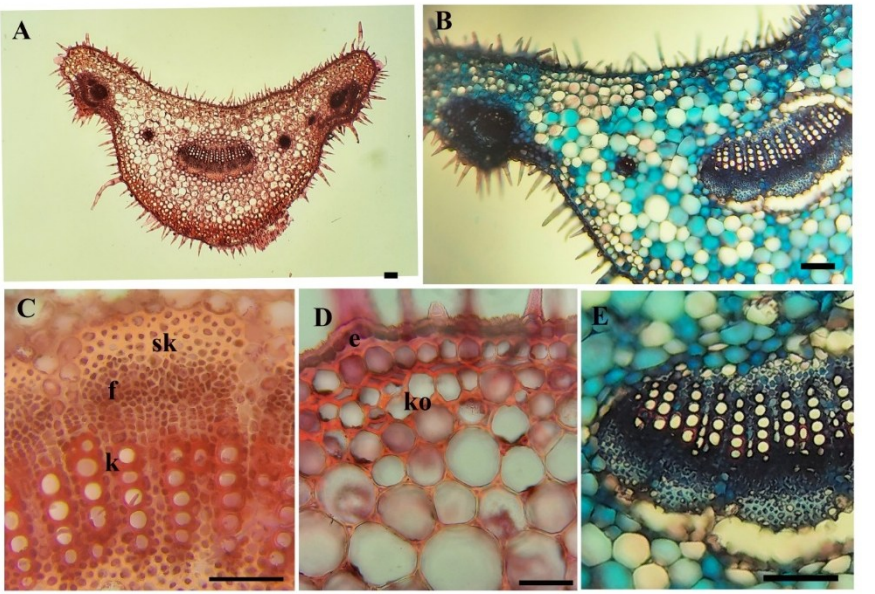
iletim demetleri kollateral tiptedir. Yapraklar stoma varlığına göre amfistomatik tiptedir. Yaprakların alt ve üst yüzeylerinde daha yoğun olarak diasitik stomalar bulunmakla beraber anomositik stomalarada rastlanmaktadır. Alt ve üst yüzeyde bulunan stomaların ebatları birbirine çok yakındır. Üst yüzeydeki stomalar 16.36 ± 1.92X 22.76 ± 2.31 µm, alt yüzeydeki stomalar ise 16.42±1.87X 22.27 ±1.43 µm büyüklüğündedirler (Tablo1, Şekil 3).

Tablo1. *Salvia verticillata subsp verticillata taksonun bazı anatomik karakterlerinin ölçümleri*

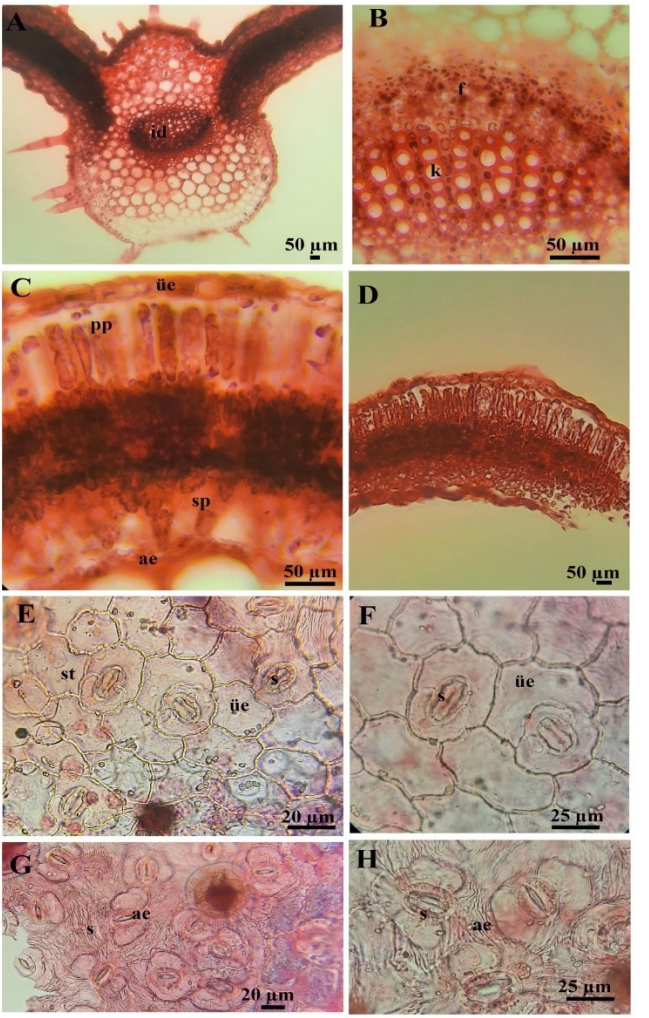
	Anatomik karakterler	**Ort. ±SH**	
		En / Çap (µm)	Boy (µm)
GÖVDE	Epidermis	14.86 ± 3.08	11.47 ± 2.28
	Kollenkima	21.53 ± 3.42	-
	Klorenkima	35.91 ± 12.11	-
	Ksilem	22.32 ± 3.76	-
	Sklerankima	12.71 ± 2.13	-
	Öz Parankima	85.22 ± 16.10	-
PETİYOL	Epidermis	9.79 ± 1.39	12.39 ± 1.82
	Kollenkima	22.32 ± 2.96	-
	Ksilem	15.04 ± 1.70	-
	Floem	8.21 ± 1.00	-
	Korteks Parankima	42.36 ± 13.03	-
YAPRAK	Üst Epidermis	12.77 ± 5.12	16.20 ± 5.79
	Palizat Parankima	20.06 ± 3.34	22.35 ± 5.67
	Sünger Parankima	32.31 ± 6.81	-
	Alt Epidermis	12.51 ± 3.02	20.72 ± 12.24
	Ksilem	12.09 ± 3.78	-
	Korteks Parankima	34.70 ± 9.04	-
	Kollenkima	24.22 ± 8.35	-
	Üst Stoma	16.36 ± 1.92	22.76 ± 2.31
	Alt Stoma	16.42 ± 1.87	22.27 ± 1.43



***Şekil 1**. Salvia verticillata subsp verticillata taksonunun gövde anatomisi. A-B. Gövde enine kesiti. C. Gövdenin köşelerindeki çok sıralı kollenkima hücreleri ve iletim demetleri. D. Kolleteral iletim demetleri ve üzerlerindeki sklerankima hücreleri. E. Kollenkima hücreleri. F. Klorenkima hücreleri ve tüy yapıları. G. Öz parankima hücreleri. e: epiderma, İd: iletim demeti, kl: klorenkima, ko; kollenkima, kp: korteks parankima, öp: öz parankima, öt: örtü tüyü, st: salgı tüyü, Bar: 50 µm.*



Şekil 2. *Salvia verticillata subsp verticillata taksonunun petiyol anatomisi. A-B. Gövde enine kesiti. C. Kolleteral iletim demeti. D. Kollenkima hücreleri. E. İletim demeti ve parankima hücreleri. e: epiderma, f: floem, k: ksilem, ko; kollenkima, kp: Korteks parankima, öp: Öz parankima, öt: Örtü tüyü, sk: sklerankima, st: salgı tüyü, Bar: 50 µm.*



Şekil 3. *Salvia verticillata subsp verticillata taksonunun yaprak anatomisi. A. Yaprak enine kesiti. B. Orta damar yapısı. C-D. Mezofil. E-F. Yaprak üst yüzey. G-H. Yaprak alt yüzey. üe: üst epiderma, ae: alt epiderma, f: floem, k: ksilem, ko; kollenkima, pp: palizat parankiması, sp: sünger parankiması, id: iletim demeti, : sklerankima, st: stoma.*

4. Tartışma

Salvia verticillata subsp *verticillata* alt türünün gövde, yaprak ve petiyol anatomileri ayrıntılı olarak incelenmiştir. *Salvi*a türleri Lamiaceae familyasının genel karakteristik özelliklerinin çoğunu göstermektedir. Metcalfe ve Chalk (1972) Lamiaceae familyasına ait türlerin gövdelerinin dörtgen şeklinde olduğunu ve köşelerde iyi gelişmiş kollenkima hücrelerinin bulunduğunu belirtmiştir. İncelediğimiz taksonda köşelerde 9-10 sıralı, köşeler arasında ise genellikle bir sıralı kollenkima hücreleri bulunmaktadır. *Salvia* cinsi ile yapılan birçok çalışmada da gövdelerin köşeli olduğu ve farklı tabaka sayısına sahip kollenkimatik hücrelerin bulunduğu bildirilmiştir. *S. bracteata* Banks & Sol. türünde 5-7, *S. suffruticosa* Mill. türünde 8-10, *S. chrysophylla* Staph. türünde 2-8 sıralı kollenkima hücreleri belirlenmiştir (Kahraman & ark., 2010; Kılıç & Mungan Kılıç, 2022). *S. verticillata* subsp. *verticillata* gövdesinde 3-4 sıralı klorenkima gözlenmiştir. Klorenkima varlığı *S. chrysophylla* türünde de gösterilmiştir (Kahraman & ark., 2010).

Çalışmamızda gövdede iletim demetlerinin üst kısmında belirgin sklerankimatik hücre grupları bulunmaktadır. Taksonun petiyolunda büyük bir orta damar, kenarlarda 3 çift küçük iletim demeti mevcuttur. Petiyollerin şekilleri ve iletim demeti tipleri ile sayılarının Lamiaceae familyasında taksonomik olarak önemli olduğu bildirilmiştir (Metcalfe & Chalk, 1972). *S. virgata* Jacq. türünde ortada büyük bir iletim demeti kenarlarda ise bir çift küçük iletim demeti olduğu gösterilmiştir. Büyük iletim demetinde kambiyum tabakası görülmektedir. (Akçin ve ark., 2011; Kılıç ve Mungan Kılıç, 2022). Kowalczuk & ark., (2014) inceledikleri *Salvia* türünün petiyolünde kambiyum tabakasının bulunduğunu belirtmişlerdir.

Salvia cinsinde yapraklar ekvifasiyal veya bifasiyal tipte olabilmektedir. *S. divinorum, S. suffruticosa, S. trichoclada* Benth., *S. chrysophylla*, *S. aucheri* subsp. *canescen*s, (Boiss. & Heldr.) Celep, Kahraman & Doğan, *Salvia verticillata* subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm., *S. nemorosa* L. subsp. *tesquicola* (Klokov

et Pobed.) türlerinde bifasiyal (Kahraman & ark., 2010; Bercu & ark., 2012; Kowalczuk & ark., 2014; Ekşi & Yılmaz, 2021; Kılıç & Mungan Kılıç, 2022). *S. macrochlamys* Boiss. & Kotschy türünde ekvifasiyal yaprak tipleri gözlemlenmiştir (Kahraman & ark., 2010). *S. verticillata* subsp *verticillata* taksonunda yaprak tipi bifasiyal olarak belirlenmiştir. Taksonda anomositik ve diasitik stomalara rastlanmıştır. Yaprakların hem üst hem de alt yüzeylerinde stoma bulunmaktadır, yapraklar amfistomatiktir. Cins ile yapılan çalışmalarda amfistomatik ve hipostomatik yapraklara rastlanılmıştır. *S. heldreichiana* Boiss. türü amfistomatik yapraklara ve diasitik stomalara sahiptir. *S. aucheri* subsp. *canascens* türlerinde yapraklar hipostomatik, stoma tipi ise diasitik olarak belirlenmiştir (Ekşi & Yılmaz, 2021). *S. divinorum* (Kowalczuk & ark., 2014), *S. macrochlamys* Boiss. & Kotschy (Kahraman & ark., 2010a), *S. ballsiana* (Rech.f.) Hedge (Kahraman ve ark., 2010b), *S. potentillifolia* Boiss. & Heldr. ex Benth (Gürdal & ark., 2019) türlerinde stomalar yaprakların her iki yüzeyinde bulunmaktadır. *S. viridis* L., *S. aethiopsis* L. ve *S. argentea* L. türlerinde diasitik stomalar bulunmaktadır (Polat & ark., 2010).

İncelenen taksonda yaprakların orta damar bölgesinde büyük bir iletim demeti bulunmaktadır. Demet kını çok belirgin değildir. *S. viridis* türünde demet kınının çok belirgin olduğu, *S. aethiopsis* ve *S. argentea* türlerinde ise demet kınının belirgin olmadığı belirtilmiştir (Polat & ark., 2010). *Salvia* türlerinde yaprak ve gövde yüzeylerinde çok sayıda salgı ve örtü tüylerine rastlanılmıştır (Kahraman & ark., 2010a; 2010b; Ekşi & Yılmaz, 2021). *S. verticillata* subsp *verticillata* taksonunda da gövde, petiyol ve yaprak yüzeyinde örtü ve salgı tüyleri bulunmaktadır.

Sonuç olarak *S. verticillata* subsp *verticillata* taksonunun toprak üstü vejatatif organlarının anatomik yapısı ayrıntılı olarak incelenerek türün daha iyi tanınmasına katkı sağlanmıştır. Türün gövdede bulunan kollenkima hücrelerinin sayısının, sklerankima hücre gruplarının, petiyolde iletim demeti özelliklerinin diğer türlere göre farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir.

Kaynaklar

Akçin O. E., Özyurt, M. S. & Şenel, G. (2011). Petiole anatomy of some Lamiaceae taxa. *Pakistan Journal of Botany, 43*(3), 1437-1443

Assaggaf, H. M., Naceiri Mrabti, H., Rajab, B. S., Attar, A. A., Alyamani, R. A., Hamed, M. & Bouyahya, A. (2022). Chemical Analysis and Investigation of Biological Effects of *Salvia officinalis* Essential Oils at Three Phenological Stages. *Molecules*, *27*(16), 5157.

Aydın, M., Rencuzogullari, E., Büyükleyla, M. & Arslan, M. (2020). *Salvi*a: Phenotypic properties, compounds, medicinal utilization, genotoxic and adverse effects. J. R. R. Villalobos (Ed.), *Salvia: Chemistry and Effects*. (pp. 1-55).

Baran, P., Özdemir, C. (2006). The Morphological and Anatomical Characters of *Salvia napifolia* Jacq. in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 35 (1), 77-84.

Baytop, T. (1994). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fakültesi. DOI :10.26650/AB/AA8.2022.167

Bercu, R., Negrean, G. & Brosca, L. (2012). Leaf anatomical study of taxa *Salvia nemorosa* subsp. t*esquicola, Salvia nutans* and *Salvia ×dobrogensis* from Dobrudja. *Acta Botanica Hungarica*, 54 (3-4), 245-257. DOI : 10.1556/abot.54.2012.3-4.3

Bozdağ, B., Kocabaş, O., Akyol, Y. & Özdemir, C. (2016). Bitki Anatomisi Çalışmalarında El Kesitleri İçin Yeni Boyama

Yöntemi. *Marmara Pharmaceutcal Journal*, *20*(2), 184-190. DOI :10.12991/mpj.20162044231

Ekşi, G., Yılmaz, G. (2021). The Leaf and Stem Anatomy of Two Endemic *Salvia* (Section *Salvia*, Lamiaceae) from Turkey: *S. aucheri* subsp. *canascens* and *S. heldrichiana*. *Sakarya University Journal of Science SAUJS,* 6 (25), 1352-1365.

Gökbulut, A. (2023). Salvia *sp*. U. K. Çalışkan (Ed.), In: *Medicinal Plants of Turkey* (pp. 262-271). Ankara. DOI :10.1201/9781003146971-21.

Gürdal, B., Yeşil, Y., Akalın, E. & Tan, N. (2019). Anatomical features of *Salvia potentillifolia* Boiss. & Heldr. ex Benth. and *Salvia nydeggeri* Hub.-Mor. (Lamiaceae). *İstanbul Journal of Pharmacy*, 49 (3), 186–190.

Jamshidi, A., Amato, M., Ahmadi, A., Bochicchio, R. & Rossi, R. (2019). Chia (*Salvia hispanica* L.) as a novel forage and feed source: A review. *Italian Journal of Agronomy*, 14 (1), 1-18. DOI :10.4081/ija.2019.1297.

Kahraman, A., Celep, F. & Doğan, M. (2010a). Morphology, anatomy, palynology and nutlet micromorphology of *Salvia macrochlamys* (Labiatae) in Turkey. *Biologia*, (65), 219-227.

Kahraman, A., Celep, F., & Dogan, M. (2009). Morphology, anatomy and palynology of *Salvia indica* L.(Labiatae). *World Applied Sciences Journal*, 6 (2), 289-296.

Kahraman, A., Doğan, M., Celep, F., Akaydın, G. & Koyuncu, M. (2010b), Morphology, anatomy, palynology and nutlet micromorphology of the rediscovered Turkish endemic *Salvia*

ballsiana (Lamiaceae) and their taxonomic implications, *Nordic Journal of Botany*, 28 (1), 91–99.

Kamatou, G. P., Makunga, N. P., Ramogola, W.P.N. & Viljoen, A. M. (2008). South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. *Journal of Ethnopharmacology*. 119 (3), 664-672. DOI :10.1016/j.jep.2008.06.030.

Kılıç, M., Kılıç, F. M. (2021). Nutlet micromorphology of Mardin in Turkey *Salvia* L. (Lamiaceae) and its systematic implacations. *Nordic Journal of Botany,* 7 (39). DOI :10.1111/njb.03123

Kowalczuk, A. P., Raman, V., Galal, A. M., Khan, I. A., Siebert, D. J.& Zjawiony, J. K. (2014). Vegetative anatomy and micromorphology of *Salvia divinorum* (Lamiaceae) from Mexico, combined with chromatographic analysis of salvinorin A. *Journal of Natural Medicines,* (68), 63-73.

Metcalfe, C.R., Chalk, L. (1972). Anatomy of the Dicotyledons II. Clarendon Press, *Oxford*.

Özdemir, A., Özdemir, Ay & Yetisen, K. (2016). *Salvia* sp. Planta Daninha'nın İstatistiksel Karşılaştırmalı Petiol Anatomisi. *Planta Daninha Journal*, 34 (3), 465-474. DOI :10.1590/S0100-83582016340300007

Polat, R., Satıl, F. & Selvi, S. (2010). Anatomical and Ecological Investigations on Some *Salvia* L. (Lamiaceae) Species Growing Naturally in the Vicinity of Balıkesir. *Journal of Applied Biological Sciences*, 4 (2), 33-37.

Porres-Martínez, M., González-Burgos, E., Carretero, M. E. & Gómez-Serranillos, M. P. (2017). *Salvia* spp.: An Updated on Antioxidant Activity and Pharmacological Uses. *Salvia Biotechnology*, 151-177.

Sunar, S., Korkmaz, M., Sığmaz, B. & Ağar, G. (2020). Determination of the Genetic Relationships Among *Salvia* Species by RAPD and ISSR Analyses. *Turkish journal of pharmaceutical sciences*, *17*(5), 480-485. DOI :10.4274/tjps.galenos.2018.24572

Topcu, G., Yücer, R. & Şenol, H. (2017). Bioactive Constituents of Anatolian *Salvia* Species. *Salvia Biotechnology,* 31-132. DOI :10.1007/978-3-319-73900-7_2.

Xu, J., Wei, K., Zhang, G., Lei, L., Yang, D., Wang, W., ... & Li, M. (2018). Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of Chinese Salvia species: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, (*225*), 18-30. DOI : 10.1016/j.jep.2018.06.029

BÖLÜM VII

Nörogörüntülemede Yeni Ufuklar

Ebru YALÇIN ÜLGER[1]
Füsun (AK) SONAT[2]

Giriş

Küçük hayvanlarda uyanık koşullarda gerçekleştirilen fonksiyonel görüntüleme, sinirbilimde önemli bir paradigma değişikliğine işaret etmektedir. Beyin aktivitelerini doğal ortamlarında, anestezi gibi dış müdahaleler olmadan inceleyebilme olanağı, nörovasküler bağlantılar ve beyin işleyişi hakkında daha doğru ve güvenilir sonuçlar sunar. Anestezi, beyin üzerindeki metabolik süreçlere, sinirsel aktiviteye ve nörovasküler etkileşimlere doğrudan müdahale eder. Bu müdahaleler, beyin işlevselliğinin doğallığını bozarak araştırma bulgularının insanlar üzerindeki

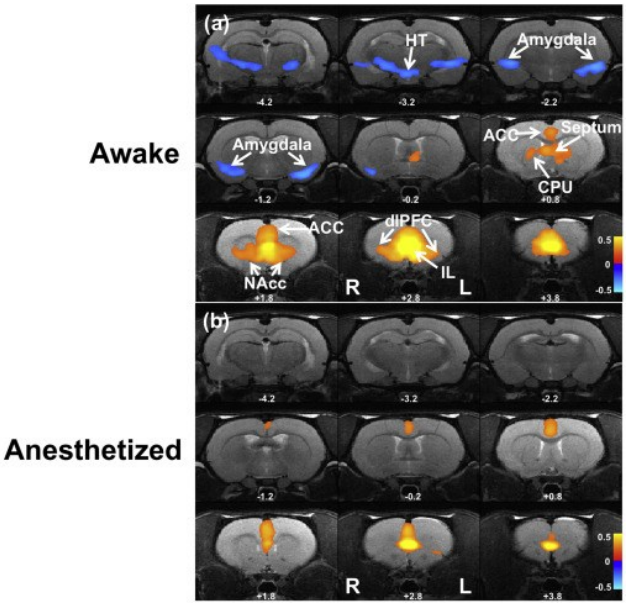
[1] Dr. Araş. Gör., Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa/Türkiye, Orchid: 0000-0003-1756-1288, ebruyalcin@uludag.edu.tr
[2] Dr. Öğretim Üyesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa/Türkiye, Orchid: 0000-0002-3308-0778, fusunak@uludag.edu.tr

geçerliliğini sınırlar. Anestezi altında beyin fonksiyonlarının baskılanması, özellikle nöral devrelerin aktivitelerinin doğru bir şekilde ölçülmesini engelleyerek yanıltıcı sonuçlar doğurabilir. Uyanık hayvanlarda yapılan görüntülemeler, bu sorunların üstesinden gelerek daha doğal koşullarda nöral işlevlerin ve nörovasküler bağlantıların incelenmesini sağlar. Baş sabitleme ve alışma protokolleri gibi prosedürler, hayvanların stres düzeylerini azaltarak daha güvenilir ve tekrarlanabilir veriler elde edilmesine katkıda bulunur. Bu da çalışmalardan elde edilen sonuçların genelleştirilebilirliğini artırır.

Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme teknikleri ve uygulamaları (Uyanık Hayvanlarda Nörogörüntülemenin Avantajları ve Zorlukları)

Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI), özellikle uyanık küçük hayvanlarda nörovasküler bağlantıları incelemek için sıkça kullanılan bir yöntemdir. Bu teknik, beyin bölgeleri arasındaki işlevsel bağlantıları incelemek için kan oksijen seviyesindeki değişikliklere (BOLD sinyali) dayanır. BOLD sinyalleri, nörovasküler bağlantıların karmaşık yapısını anlamamıza olanak sağlar. Ancak bu sinyallerin doğru bir şekilde yorumlanması için hayvanların uyanık olması kritik bir önem taşır. Anestezi altında elde edilen bulgular, nörovasküler bağlantıların doğal durumlarını tam anlamıyla yansıtmaz. Beynin metabolik dinamikleri anestezi altında farklı çalışır; nöronların ateşleme paternleri değişir ve kan akışına bağlı sinyaller bozulur. Bu bağlamda, uyanık hayvanlardan elde edilen BOLD yanıtları, daha güvenilir ve nörobiyolojik açıdan daha anlamlı sonuçlar sunar (Gao & ark., 2017).

Anestezi, beyin aktivitesinin genel bir baskılanmasına neden olur ve dinlenme halindeki fonksiyonel bağlantıyı (RSFC) önemli ölçüde zayıflatır (Şekil 1). Özellikle talamo-kortikal bağlantılar gibi temel sinir devrelerinin işlevleri anesteziden olumsuz etkilenir. Bu bağlantılar, bilişsel işlevler, duyusal işleme ve bilinç gibi karmaşık beyin aktiviteleri için kritik öneme sahiptir. Anestezi altında bu devrelerin işlevlerini doğru bir şekilde anlamak zorlaşır. Uyanık koşullarda yapılan çalışmalar ise bu bağlantıların doğal koşullarda nasıl çalıştığını anlamamıza olanak tanır. Bu sayede, beynin farklı bölgeleri arasındaki iletişimin daha doğru bir şekilde değerlendirilmesi mümkün olur. Anestezi aynı zamanda beyin damarlarının dinamiklerini değiştirerek nörovasküler bağlantının güvenilirliğini bozar. Beyindeki oksijen seviyelerindeki dalgalanmalar anestezi altında daha fazla olur ve bu da fonksiyonel görüntülemenin doğruluğunu etkiler (Gao & ark., 2017).



Şekil 1. Uyanık ve anestezi altındaki sıçanlarda infralimbik korteks (IL) dinlenme durumu fonksiyonel bağlantı haritaları. (a) Uyanık sıçanda IL RSFC haritası. (b) Anestezi altındaki sıçanda IL RSFC haritası (Gao vd., 2017).

Beyin yüzeyindeki damarların ve nöronal aktivitenin anestezi altındaki değişimi, beyin işlevlerini doğru bir şekilde ölçmeyi zorlaştırır. Anestezik maddeler, beyin ısısını düşürerek nöronların sinyal iletimini etkiler. Ayrıca, bu maddeler beyin dokusundaki hücre dışı boşluğun hacmini artırır, bu da sinir hücrelerinin uyarılabilirliğini düşürür ve sonuçların doğruluğunu etkiler. Anestezi altındaki hayvanlarla yapılan görüntüleme çalışmaları bu nedenle sınırlı kalırken, uyanık hayvanlarda yapılan çalışmalar daha doğru ve güvenilir sonuçlar sunar (Gao & ark., 2017).

Gelişen teknolojiler sayesinde, uyanık küçük hayvanlarda beyin devreleri ve nörovasküler bağlantılar çok daha ayrıntılı bir şekilde incelenebilmektedir. Bu gelişmeler, sinirbilimin özellikle nörovasküler bağlantılar ve bilişsel işlevlerle ilgili araştırmalarını yeni bir seviyeye taşımıştır. Uyanık hayvanlarda yapılan görüntüleme çalışmaları, anestezi altında yapılanlardan farklı olarak daha doğal ve gerçekçi sonuçlar ortaya koymaktadır. Bu bulgular, beyin işlevlerinin insanlar üzerindeki geçerliliğini artırarak klinik ve bilişsel sinirbilim alanlarına önemli katkılar sunmaktadır (Gao & ark., 2017).

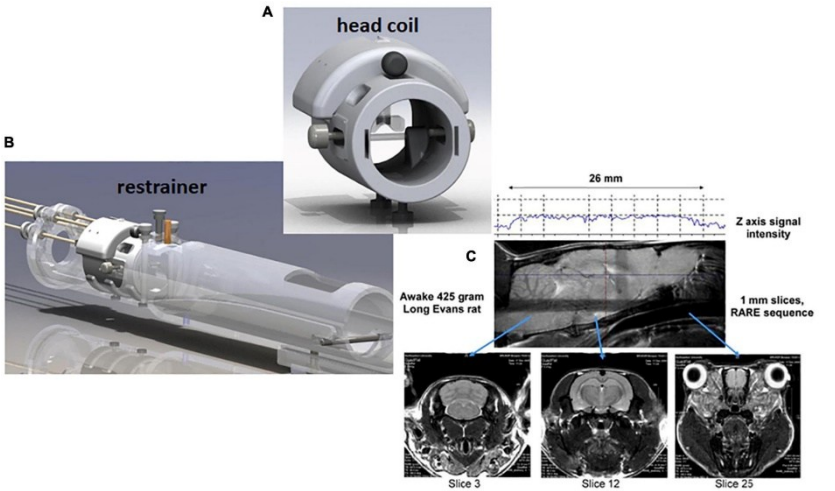
Son yıllarda özellikle bilişsel sinirbilim ve farmakoloji alanında yapılan çalışmalar, nöromodülatör sistemlerin beyin üzerindeki etkilerini anlamak için uyanık koşullarda yapılması gerektiğini ortaya koymuştur. Öğrenme, bellek ve motivasyon gibi bilişsel süreçlerin nöral temelini inceleyen araştırmalarda, anestezinin bu süreçler üzerindeki etkisi doğru bir şekilde değerlendirilememektedir. Ferenczi ve Behroozi'nin çalışmalarında uyanık hayvanlarda yapılan fonksiyonel görüntülemeler, beyin devrelerinin nasıl çalıştığını anlamamız açısından önemli bilgiler sunmuştur (Behroozi & ark., 2020; Ferenczi & ark., 2016). Ferenczi ve arkadaşlarının (2016) çalışmaları, medial prefrontal korteks (mPFC) ve striatum arasındaki etkileşimlerin ve dopamin ile ilişkili ödül süreçlerinin incelenmesinde önemli rol oynamıştır. Optogenetik ve fMRI tekniklerinin bir arada kullanıldığı bu tür deneyler, geniş çaplı beyin ağları arasındaki bağlantıları ve dinamik etkileşimleri açığa çıkarmaktadır. Bu çalışmalar, nörovasküler bağlantıların ve davranışların daha derinlemesine anlaşılmasına olanak sağlar.

Behroozi ve çalışma arkadaşları (2020), uyanık hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde, farmakolojik etkilerin ve bilişsel süreçlerin detaylı bir şekilde incelenebileceğini göstermiştir. Bu tür çalışmalarda kullanılan baş sabitleme ve hareket düzeltme tekniklerindeki yenilikler, uyanık hayvanlarda yapılan beyin görüntülemelerinin daha güvenilir hale gelmesine olanak sağlamıştır. Özellikle nörovasküler bağlantılar ve ilaç etkilerinin beyin üzerindeki izlenimlerinin incelenmesi için bu gelişmeler büyük önem taşımaktadır. Bu yenilikler sayesinde, uyanık hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen deneylerde, farmakolojik etkilere dair daha doğal ve güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. Bu da ilaçların nörobiyolojik etkilerini ve bu etkilerin davranışsal sonuçlarını incelemede önemli bir araç sağlamaktadır. Uyanık hayvan modelleri, öğrenme, bellek ve motivasyon gibi süreçlerin daha gerçekçi bir şekilde incelenmesini mümkün kılmaktadır.

Fonksiyonel görüntüleme teknikleri, beynin nöral aktivitelerini ya doğrudan ya da dolaylı yollardan ölçerek sinir bilimcilerin kullanımına sunulmaktadır. Özellikle fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRI), dolaylı ölçüm tekniklerinden biri olarak öne çıkar ve beyin aktivitelerinin hemodinamik yanıtlar üzerinden görüntülenmesini sağlar. Bu yöntem, beynin hangi bölgelerinde aktivitenin yoğunlaştığını belirlemek için altın standart olarak kabul edilir. Uyanık hayvanlarla yapılan fMRI çalışmaları, beynin doğal işleyişini anlamak ve farmakolojik etkilerin nörovasküler bağlantılar üzerindeki etkilerini daha doğru bir şekilde değerlendirmek açısından önemli bir teknik olarak öne çıkmaktadır.

Ferris'in (2022) yaptığı kapsamlı inceleme, uyanık hayvanlarda kullanılan fMRI tekniklerinin gereksinimlerine ve uygulama alanlarına dair derinlemesine bir bakış sunmaktadır. Ferris, farklı hayvan türleri (kemirgenler, primatlar, köpekler vb.) üzerinde yapılan fMRI çalışmalarını inceleyerek, fizyolojik farklılıkların araştırma sonuçlarını nasıl etkilediğini vurgulamaktadır. Uyanık koşullarda gerçekleştirilen fMRI çalışmaları, yalnızca nörolojik bozukluklar ve ilaç etkileriyle sınırlı kalmamış, aynı zamanda duyusal uyarıcılar ve sosyal davranışların incelenmesine de olanak tanımıştır. Ferris, özellikle farmakolojik fMRI (phMRI) tekniklerinin bağımlılık gibi süreçleri anlamada kritik bir rol oynadığını ve bu tür çalışmaların, beyin üzerinde ilaçların neden olduğu akut ve nöroadaptif değişiklikleri izleyerek önemli bulgular sunduğunu belirtmiştir. Bu süreçlerin uzun süreli izlenmesi, bağımlılık ve nöroplastisite gibi konuların daha derinlemesine anlaşılmasına katkı sağlar.

Uyanık hayvanlarda fMRI kullanımı, bağımlılık araştırmalarının ötesine geçerek nörodejeneratif hastalıklar, epilepsi, Parkinson hastalığı ve yaşlanma gibi bozuklukların incelenmesinde de yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Ferris, bu alanlarda ilerleyen teknolojilerin ve donanımların, fMRI verilerinin çözünürlüğünü artırarak daha güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağladığını vurgulamaktadır. Özellikle yeni restrain sistemleri, hayvanların görüntüleme sırasında hareket etmelerini minimize ederek veri kalitesini iyileştirmekte ve bu da araştırmalarda daha hassas sonuçlar elde edilmesini mümkün kılmaktadır (Ferris, 2022) (Şekil 2).

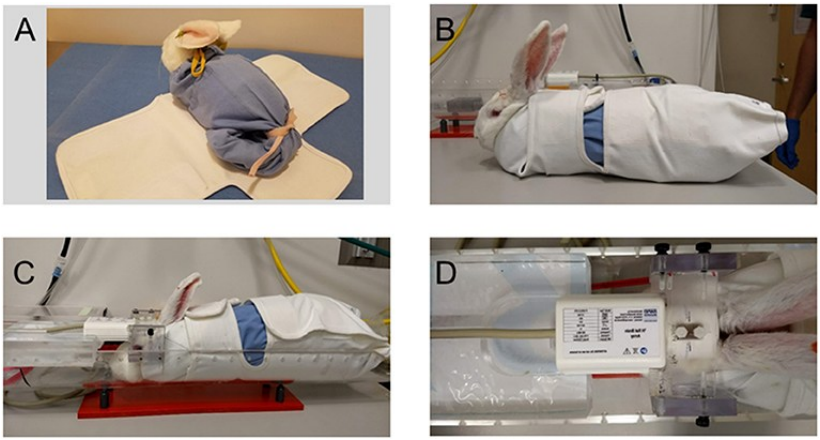


Şekil 2. Sıçan görüntüleme sistemi. Uyanık sıçan görüntüleme için bir radyofrekans bobini (A) ve kısıtlama sistemi (B) gösterilmektedir. Bobinin tasarımı, olfaktör bulbustan (dilim 25) serebelluma (dilim 3) (C) kadar tüm beynin görüntülenmesine olanak tanır (Ferris, 2022).

Farklı hayvan türlerinde fMRI çalışmaları

Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme, birçok hayvan modelinde başarıyla uygulanmış bir tekniktir. Bu modeller arasında fareler, sıçanlar, kediler, marmoset maymunları ve makaklar yer almaktadır. Her bir hayvan modeli, araştırmanın amacına ve ihtiyaçlarına göre farklı avantajlar sunar. Weiss ve ekibinin 2022'de yaptığı çalışma, tavşanların fMRI deneylerinde benzersiz avantajlar sunduğunu öne sürmüştür. Tavşanlar, diğer türlerle kıyaslandığında daha uzun süre hareketsiz kalabilme ve sakin doğaları sayesinde, hareket kaynaklı görüntüleme artefaktlarının en aza indirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Weiss ve arkadaşlarının çalışması, bu özelliklerin nörovasküler bağlantıların daha net ve doğru bir şekilde

incelenmesine olanak sağladığını ve tavşanların fMRI deneyleri için uygun bir model sunduğunu göstermektedir (Weiss & ark., 2022) (Şekil 3).



Şekil 3. Uyanık tavşanı fMRI seansları için sabitleme. (A) Tavşan başı, boynunda ve kuyruğunda bir büzme ipi bulunan yumuşak bir pamuklu keseye yerleştirilir. (B) Kanvas sargı, tavşanı yerinde tutmak için sıkıca etrafına sabitlenir. (C) Kanvas sargıdaki tavşan akrilik bir beşiğin içine yerleştirilir. (D) Başka bir akrilik parçası, üç kanallı faz dizili bobinin arka kenarını ve kablosunu kabul edecek şekilde işlenir (Weiss vd., 2022).

Tavşanlar üzerinde yapılan fMRI çalışmaları, beyin aktivitelerinin doğal koşullarda incelenmesi açısından önemli avantajlar sunmaktadır. Weiss ve Ferris gibi araştırmacıların bulguları, tavşanların hareketsiz kalabilme yetenekleri sayesinde, nörovasküler bağlantıların daha doğru bir şekilde değerlendirilmesine olanak tanıyan ideal bir model sunduğunu göstermektedir. Bu özellik, diğer türlerle kıyaslandığında tavşanların fMRI çalışmalarında daha az eğitim ve habituasyona

ihtiyaç duymasını sağlarken, aynı zamanda hareket artefaktlarını da ortadan kaldırarak daha yüksek veri kalitesi elde edilmesine katkıda bulunur.

Tavşanların fMRI çalışmalarındaki bir diğer önemli avantajı, nörodejeneratif hastalıkların incelenmesinde kullanılabilir olmalarıdır. Alzheimer hastalığı gibi bozuklukların hayvan modelleri üzerinde incelenmesi, tavşanların insanlardakine benzer amiloid beta protein sekanslarına sahip olması nedeniyle, bu hayvanları önemli bir araştırma aracı haline getirmiştir. Beyindeki nörovasküler değişikliklerin, Alzheimer ile ilişkili biyobelirteçlerin ve hastalık sürecinin daha iyi anlaşılması için tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalar, farmakolojik fMRI yöntemleriyle birleştiğinde bilimsel araştırmalara katkıda bulunur. Örneğin, Weiss ve ekibi tarafından yürütülen çalışmalarda, bıyık stimülasyonu gibi duyusal uyarıcılara beyin bölgelerinin verdiği tepkiler gözlemlenmiş, böylece beynin işlevsel bağlantılarının daha iyi anlaşılması sağlanmıştır.

Farmakolojik fMRI (phMRI) kullanımı, ilaçların beyindeki etkilerinin incelenmesinde kritik bir araç olarak karşımıza çıkar. Tavşanların bu tür çalışmalarda hareketsiz kalabilme yetenekleri ve farmakolojik yanıtları daha net gözlemlenebilmesi, bu modelleri nörobilim araştırmaları açısından önemli hale getirir. Özellikle bağımlılık, nörodejeneratif bozukluklar ve bilişsel işlevlerle ilgili yapılan çalışmalarda, tavşanların sağlam beyin korteksi ve güçlü kafatası yapısı, fMRI görüntülerinin hassas bir şekilde alınmasına olanak sağlar.

Bu tür araştırmalar, hem farmakolojik etkilerin hem de nörolojik bozuklukların daha ayrıntılı bir şekilde incelenmesine olanak tanımakta ve tavşanları nörobilimsel çalışmalar için ideal bir model olarak öne çıkarmaktadır. Weiss ve Ferris gibi araştırmacıların bu çalışmaları, tavşanların fMRI çalışmalarında sağladığı benzersiz avantajları vurgularken, uyanık hayvanlar üzerinde yapılan görüntülemelerin nörovasküler bağlantılar ve beyin işlevleri üzerinde daha güvenilir sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Nükleer görüntüleme teknikleri, fMRI'nin sunduğu fonksiyonel beyin görüntüleme kapasitesini tamamlayarak daha kapsamlı bir nörogörüntüleme yelpazesi sunar. Bu bağlamda Pozitron Emisyon Tomografisi (PET), beynin metabolik aktivitelerini, kan akışını ve nörotransmitter-reseptör etkileşimlerini izleme kabiliyeti ile öne çıkar. Küçük hayvan modelleri üzerinde yapılan preklinik çalışmalar, nörobilimsel araştırmalar açısından büyük bir öneme sahiptir. Özellikle uyanık ve serbestçe hareket eden hayvanların kullanılması, anestezi altındaki hayvanlara kıyasla daha doğal ve güvenilir sonuçlar sunmaktadır. Anestezinin beyin kimyasalları üzerindeki etkisi, özellikle nörotransmitter aktivitelerinde geçici değişikliklere yol açabileceği için yanıltıcı sonuçlar doğurabilir.

Miranda ve arkadaşlarının 2022'de geliştirdiği yeni bir PET görüntüleme yöntemi, bu sorunu çözmek üzere uyanık ve serbest hareket eden sıçanlarda nörotransmitter seviyelerindeki geçici değişiklikleri izlemek için kullanılmıştır (Miranda & ark., 2022). Bu yenilikçi lineer parametrik nörotransmitter PET (lp-ntPET) kinetik modeli, dopamin seviyelerindeki değişiklikleri hassas bir şekilde ölçmeyi sağlamıştır. Spatiotemporal kernel rekonstrüksiyonu ile veri

doğruluğu artırılarak, sıçanların hareketlerinden kaynaklanan hatalar minimuma indirilmiştir. Kernel rekonstrüksiyonunun, bağımsız kare rekonstrüksiyonuna kıyasla gürültü azaltmada başarılı olduğu ve nörotransmitter aktivasyonlarının daha net ve hassas bir şekilde tespit edilebildiği ortaya konmuştur. Bu teknik, nörotransmitter aktivitelerinin dinamik olarak izlenmesi açısından preklinik farmakolojik çalışmalarda önemli bir araç haline gelmiştir.

Bu tür teknikler, anestezi kullanılmayan deneylerin, nörotransmitterlerin uyanık durumdayken daha doğal bir şekilde izlenmesine olanak tanıyarak, davranışsal ve farmakolojik araştırmalar için yeni olanaklar sunduğunu göstermektedir. Ayrıca, uyanık hayvanlarda yapılan PET ve fMRI çalışmalarının, anestezi altındaki çalışmalara kıyasla beyin aktivitelerinin daha net gözlemlenebildiğini ve nörotransmitter salınımlarının daha hızlı gerçekleştiğini gösteren bulgular bulunmaktadır.

Ancak, uyanık fonksiyonel görüntüleme sırasında hareket artefaktları, veri doğruluğunu önemli ölçüde bozabilir. Bu nedenle, hayvanların baş ve vücutlarının kısıtlanması yaygın bir yöntemdir, ancak bu kısıtlamalar stres seviyesini artırarak deneylerin tekrarlanabilirliğini etkileyebilir. Russo ve arkadaşları (2021), hayvanları strese sokmadan bu hareket artefaktlarını azaltmak için kademeli bir alışma prosedürü geliştirmiştir (Russo & ark., 2021). Bu prosedür, hayvanların MRI taramalarına aşamalı olarak alıştırılmasını sağlayarak veri kalitesini artırmıştır.

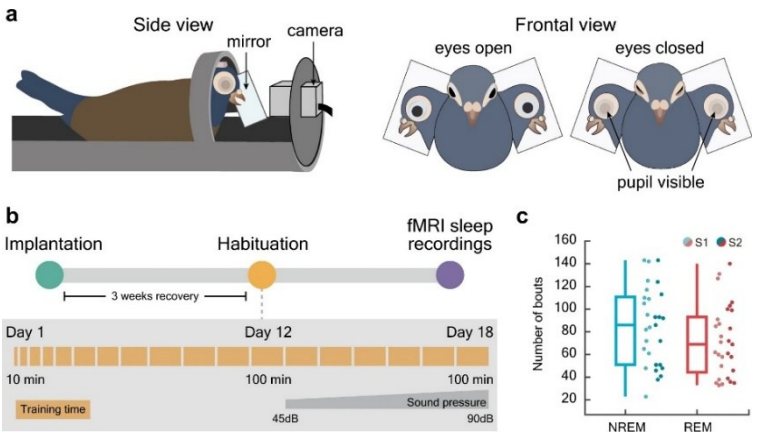
Stresin etkilerinin cinsiyetler arasında farklılık göstermesi, deney sonuçlarının yorumlanmasında dikkate alınması gereken önemli bir faktördür. Rincón-Cortés ve ekibi (2019), erkek ve dişi

kemirgenlerin strese karşı farklı tepkiler verdiğini ve bu farkların deney sonuçlarını etkileyebileceğini belirtmiştir (Rincón-Cortés & ark., 2019). Dişi hayvanların hipotalamo-pituiter-adrenal (HPA) ekseninde daha güçlü kortikosteron yanıtları verdiği, erkeklerin ise daha düşük tepkiler gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu farklılıklar, strese maruz kalan hayvanların fizyolojik parametrelerinde değişikliklere neden olabilir.

Lindhardt ve arkadaşları (2022), tekrarlanan MRI seanslarında cinsiyetler arasındaki bu farklılıkları incelemiş ve dişi kemirgenlerin kalp atış hızı, kortikosteron seviyeleri ve vücut ağırlığı gibi fizyolojik parametrelerde erkeklerden daha fazla stres belirtisi gösterdiğini bulmuştur (Lindhardt & ark., 2022). Bu farklılıkların göz ardı edilmesi, deney sonuçlarının hatalı yorumlanmasına ve cinsiyetler arası farkları yansıtmayan tasarımlarda yanıltıcı sonuçlara yol açabilir. Bu nedenle, cinsiyet farklarının deney tasarımında dikkate alınması, deney sonuçlarının doğruluğunu ve tekrarlanabilirliğini artırabilir.

Bu bulgular, hayvan deneylerinde alışma süreçlerinin cinsiyet farklılıklarına uygun olarak düzenlenmesi gerektiğini açıkça göstermektedir. Deney tasarımlarında stres mekanizmalarının cinsiyete bağlı olarak nasıl çalıştığının dikkate alınması, daha güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilmesini sağlayacaktır. Bu tür çalışmalar, insanlardaki stres temelli ruhsal bozuklukların biyolojik temellerini daha iyi anlamak açısından da önemli çıkarımlar sunabilir. Örneğin, depresyon ve anksiyete gibi ruhsal hastalıklarda cinsiyet bazlı farklılıkların biyolojik mekanizmaları üzerinde daha derinlemesine araştırmalar yapılmasına olanak sağlayabilir.

Uyanık hayvanlarda fonksiyonel görüntüleme, davranış ve beyin aktivitelerinin aynı anda ölçülmesi için eşsiz bir fırsat sunar. Ancak, bu ölçümlerin doğru ve güvenilir olabilmesi için hayvanların dikkat durumlarının izlenmesi önemlidir. Zeng ve ekibinin geliştirdiği fMRI-pupillometri platformu, hayvanların dikkat durumlarını ve bilişsel süreçlerini gerçek zamanlı olarak izlemeyi mümkün kılar. Bu yöntem, farklı uyku evrelerindeki beyin tepkilerinin yanı sıra uyanıklık durumunda hayvanların dikkat seviyelerini de ölçebilir. Pupilla boyutundaki değişiklikler, uyarılma ve bilişsel süreçlerle doğrudan ilişkili olduğu için, beyin durumları hakkında değerli veriler sunar (Ungurean & ark., 2023; Zeng & ark., 2022) (Şekil 4). Bu platformun en büyük avantajlarından biri, REM ve Non-REM gibi farklı uyku aşamalarında beyin tepkilerinin daha ayrıntılı incelenmesine olanak sağlamasıdır.



Şekil 4. (a) Deneysel kurulum. Başları sabitlenmiş güvercinler tarayıcı deliğinin merkezine yerleştirildi ve gözleri, göz bebekleri ve gagaları MR uyumlu bir kamera kullanılarak izlendi. Tek bir kamera kullanılarak her iki gözü de kapsayacak şekilde iki taraflı

iki ayna yerleştirildi. (b) Ana deneyi çalıştırmadan önce, güvercinler tarayıcı kurulumuna 18 günlük bir alışma sürecinden geçti. (c) Sonuçların tekrarlanabilirliğini test etmek için her güvercin için iki bağımsız oturum analiz edildi (Ungurean vd., 2023).

Küçük hayvanlarda yapılan in vivo fMRI, optik görüntüleme ve elektrofizyoloji ile desteklendiğinde, beyin aktivitelerinin sistem düzeyinde anlaşılmasına büyük katkı sağlar. Mikkelsen ve ekibinin geliştirdiği baş tutucu ve kraniyal pencere sistemi, optik görüntüleme tekniklerinin fMRI ile birlikte kullanılmasını sağlayfarak, hayvanlarda serebral hemodinamik incelemelerin yapılmasına olanak tanır. Lazer speckle kontrast görüntüleme, optik intrinsik sinyal görüntüleme ve iki-foton mikroskopisi gibi yöntemlerle desteklenen bu sistem, nörovasküler bağlantıları detaylı bir şekilde inceleyebilir. Böylece, fare modellerinde hem akut hem de uzun süreli deneylerde fonksiyonel beyin aktivitelerinin izlenmesi mümkün hale gelir. Bu tür tekniklerin, nörobilim araştırmalarında daha kapsamlı veriler elde edilmesini ve nörovasküler bağlantıların daha iyi anlaşılmasını sağladığı açıktır.

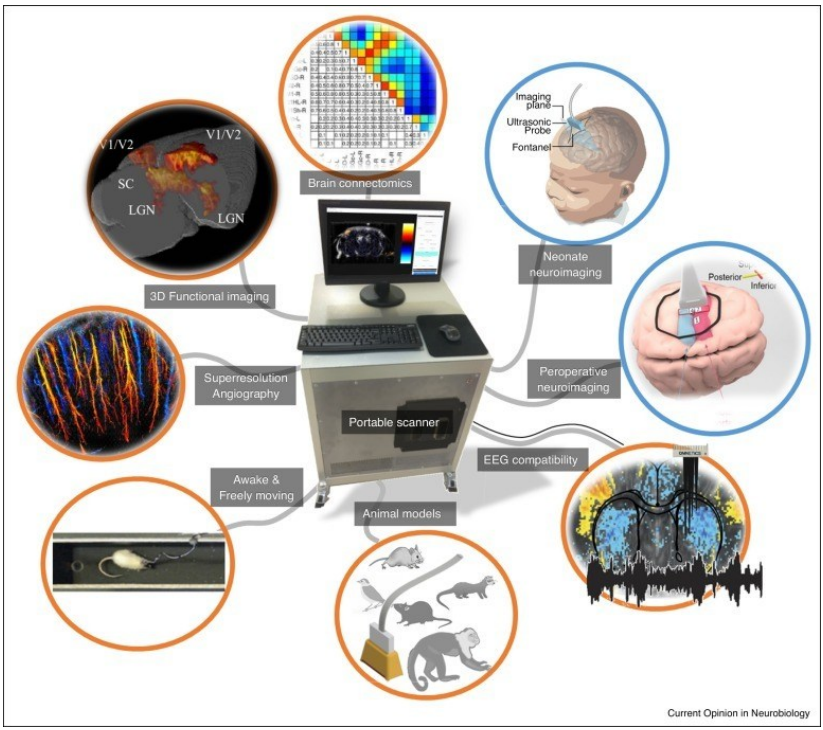
Yeni Teknolojilerin Nörogörüntülemedeki Rolü (MSOT, fUS gibi ileri teknolojilerin nörogörüntülemede sağladığı yenilikler ve katkılar)

Fonksiyonel ultrason nörogörüntüleme (fUS) ise, hızla gelişen ve yüksek çözünürlük sunan bir teknik olarak öne çıkmaktadır. fUS, hem yüksek zamansal hem de mekansal çözünürlüğü ile beyin aktivitelerini detaylı bir şekilde izleyebilir ve invazif olmayan bir yöntem olması, klinik ve preklinik araştırmalar için büyük avantaj sağlar. Kan akışındaki değişiklikleri izleyerek nörovasküler

aktiviteyi değerlendirme kapasitesine sahip bu teknoloji, epilepsi, felç ve diğer nörolojik bozuklukların araştırılmasında önemli bir potansiyel sunmaktadır. fUS'un, nörogörüntülemede yeni ufuklar açtığı ve klinik araştırmalarda giderek daha fazla kullanıldığı görülmektedir (Deffieux & ark., 2018) (Şekil 5).

Sonuç olarak, cinsiyet farklılıklarına duyarlı deney tasarımları, nörolojik bozuklukların biyolojik temellerini anlamak ve preklinik araştırmalardan elde edilen verilerin doğruluğunu artırmak için kritik öneme sahiptir. Ayrıca, gelişen teknolojiler ve görüntüleme yöntemleri sayesinde, beyin aktiviteleri ve davranışlar arasındaki ilişkiler daha derinlemesine incelenebilir. Bu da, hem hayvan modelleri hem de insan araştırmalarında nörovasküler ve nörolojik süreçlerin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına katkı sunacaktır.

Fonksiyonel ultrason nörogörüntüleme (fUS) ve multispektral optoakustik görüntüleme (MSOT) teknolojileri, beyin fonksiyonlarının ve biyolojik süreçlerin izlenmesinde yeni fırsatlar sunan iki yenilikçi yöntemdir. fUS'in nörogörüntülemedeki temel avantajları, yüksek çözünürlük, non-invaziv doğası ve taşınabilirliğidir. Bu özellikler, beyin fonksiyonlarının, kan akışındaki değişikliklere dayanarak son derece detaylı bir şekilde incelenmesini sağlar. Ayrıca, preklinik modellerde beyin aktivitelerinin izlenmesinde yaygın olarak kullanılmasının yanı sıra, epilepsi ve beyin tümörlerinin cerrahi çıkarımı gibi klinik uygulamalarda da büyük bir potansiyele sahiptir.



Şekil 5. Fonksiyonel ultrason (fUS) görüntülemenin başlıca uygulamaları ve özellikleri. fUS görüntüleme (i) klinik öncesi çalışmalar için çok çeşitli hayvan modelleri ile uyumluluk, (ii) uyanık ve serbestçe hareket eden hayvanları görüntüleme yeteneği, (iii) süper çözünürlüklü ultrason lokalizasyon mikroskopisi ile birleştirilme olanağı, (iv) 3B görüntülemeye olası uzantı, (v) beyin konnektomisi için fonksiyonel bağlantı haritalaması, (vi) insan yenidoğanlarında klinik nörogörüntülemeye dönüştürme veya (vii) beyin ameliyatı sırasında peroperatif nörogörüntüleme ve (viii) EEG-fUS kayıtları için EEG uyumluluğu sağlar (Deffieux vd., 2018).

Özellikle epilepsi araştırmalarında, nöbetlerin beyindeki yayılımını izlemek ve fonksiyonel alanların belirlenmesi için önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Neonatoloji ve pediatri alanlarında da non-invaziv olması nedeniyle bebeklerde beyin aktivitelerinin izlenmesinde faydalıdır. fUS'in gelecekteki gelişmeleri, 3D görüntüleme ve daha küçük taşınabilir cihazların entegrasyonuyla preklinik araştırmalarda daha geniş bir kullanım bulmasını sağlayabilir.

MSOT teknolojisi ise, optik ve akustik dalgaların kombinasyonu sayesinde, hem yüzeysel hem de derin dokuların yüksek çözünürlükle görüntülenmesini sağlar. Bu teknoloji, moleküler düzeyde biyolojik süreçleri görüntüleyebilme kapasitesiyle özellikle dikkat çeker. MSOT, kan oksijenasyonu, metabolik aktiviteler ve patolojik durumların non-invaziv bir şekilde incelenmesini sağlar. Taruttis ve Ntziachristos'un çalışmalarında gösterildiği gibi, MSOT beyin fonksiyonlarının gerçek zamanlı olarak izlenmesinde ve nörodejeneratif hastalıklar ile vasküler bozuklukların tespitinde etkili bir araç olarak öne çıkmaktadır (Taruttis & Ntziachristos, 2015).

Optoakustik görüntüleme teknolojisinin en önemli avantajı, optik dalgaların saçılma problemini aşarak daha derin dokuların incelenmesine olanak tanımasıdır. Bu özellik, optik görüntüleme yöntemlerinin sınırlamalarını aşmada önemli bir adım olup, MSOT'un nörogörüntüleme ve biyomedikal alanlardaki kullanım potansiyelini artırmaktadır. Hem fUS hem de MSOT, beynin yapısal ve işlevsel süreçlerinin daha iyi anlaşılması için güçlü araçlar sunmakta ve nörolojik hastalıkların teşhis ve tedavisinde yeni yollar açmaktadır.

Optoakustik görüntüleme sistemlerindeki son gelişmeler, lazer teknolojisi, algılama stratejileri ve ters görüntüleme tekniklerindeki ilerlemeler sayesinde büyük bir ivme kazanmıştır. Bu yenilikler, Multispektral Optoakustik Tomografi (MSOT) sistemlerinin hem iki hem de üç boyutlu görüntüleme yeteneklerini güçlendirmiştir. Yüksek çözünürlük sunan bu teknik, spektral farklılaşma yoluyla kan oksijenasyonu, metabolik aktiviteler ve diğer biyokimyasal süreçleri non-invazif bir şekilde izleme kapasitesine sahiptir. MSOT'un bu kabiliyetleri, nörogörüntülemenin yanı sıra kanser araştırmaları, kardiyovasküler hastalıkların izlenmesi ve beyin tümörleri gibi klinik uygulamalarda da etkili olmasını sağlamaktadır.

MSOT'un, özellikle nörodejeneratif hastalıklar ve vasküler bozukluklar gibi klinik durumların daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunan beyin fonksiyonlarını gerçek zamanlı ve yüksek çözünürlükte görüntüleme yeteneği dikkat çekicidir. Ayrıca, MSOT'un taşınabilir el cihazları ile klinik kullanıma uygun hale getirilmesi, bu teknolojiyi nörogörüntüleme gibi klinik uygulamalar için daha erişilebilir bir hale getirmektedir. Özellikle beyin tümörlerinin vasküler yapılarının detaylı bir şekilde izlenmesi ve fonksiyonel beyin haritalarının çıkarılması gibi alanlarda güçlü bir araç olarak kullanılma potansiyeline sahiptir.

Optoakustik teknolojisinin sunduğu yüksek çözünürlük ve derin doku penetrasyonu, özellikle nörogörüntülemede MSOT'u benzersiz kılan özelliklerdendir. Teknolojinin sürekli gelişmesiyle birlikte, biyokimyasal süreçlerin daha ayrıntılı bir şekilde analiz edilmesi ve yüksek kaliteli görüntüleme elde edilmesi, nörobilim araştırmalarında büyük adımlar atılmasını sağlamaktadır. MSOT'un gelecekte klinik uygulamalara daha fazla entegre edilmesi

beklenmektedir, bu da nörogörüntüleme alanında önemli yenilikler sağlayacaktır.

Fonksiyonel ultrason nörogörüntüleme (fUS) ile birlikte, MSOT nörobilimde önemli perspektifler sunmakta ve araştırmacılara beyin fonksiyonlarını anlamada yeni yollar açmaktadır. fUS'in yüksek zamansal ve mekansal çözünürlük sunması, nörovasküler aktiviteleri detaylı bir şekilde izlemeyi mümkün kılarken, non-invaziv yapısı klinik ve preklinik araştırmalarda geniş bir kullanım alanı sağlar. MSOT ve fUS gibi ileri teknolojiler, beyin fonksiyonlarını ve yapısal özellikleri anlamada büyük bir potansiyel taşıyarak, nörolojik bozuklukların daha iyi anlaşılmasına ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır.

Özellikle uyanık hayvanlarda fonksiyonel görüntüleme, preklinik araştırmalardan klinik fonksiyonel MRI'a geçiş için önemli bir potansiyele sahiptir. Uyanık hayvanlarda yapılan fMRI, anestezinin olumsuz etkilerini aşarak, doğal koşullarda beyin aktivitesinin daha doğru bir şekilde izlenmesini sağlar. Geleneksel anestezi altında yapılan fMRI çalışmalarının aksine, uyanık hayvanlarda beyin aktivitesi, gerçekçi görevler ve uyaran dizilerine yanıt olarak daha doğal paternlerle kaydedilmektedir. Hareket kaynaklı artefaktların en aza indirilmesi için tavşanlar, bu tür çalışmalarda hareketsiz kalma yetenekleriyle avantajlı bir model olarak öne çıkmaktadır. Bu sayede, anestezi gereksinimi azalırken, beyin fonksiyonlarının doğru bir haritasının çıkarılması mümkün olmaktadır.

Sonuç

Uyanık hayvanlarda yapılan fonksiyonel görüntüleme çalışmaları, nörovasküler bağlantıları ve nörolojik hastalıkların daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayarak klinik uygulamalara çeviriyi geliştirmektedir. Bu teknolojiler, bilişsel süreçlerin daha doğru bir şekilde incelenmesine de olanak tanımakta ve preklinik araştırmalarla klinik uygulamalar arasındaki köprüyü güçlendirmektedir.

Kaynaklar

Behroozi, M., Helluy, X., Ströckens, F., Gao, M., Pusch, R., Tabrik, S., Tegenthoff, M., Otto, T., Axmacher, N., Kumsta, R., Moser, D., Genc, E., & Güntürkün, O. (2020). Event-related functional MRI of awake behaving pigeons at 7T. *Nature Communications, 11*(1), 4715. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18437-1

Deffieux, T., Demene, C., Pernot, M., & Tanter, M. (2018). Functional ultrasound neuroimaging: A review of the preclinical and clinical state of the art. *Current Opinion in Neurobiology*, *50*, 128-135. https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.02.001

Ferenczi, E. A., Zalocusky, K. A., Liston, C., Grosenick, L., Warden, M. R., Amatya, D., Katovich, K., Mehta, H., Patenaude, B., Ramakrishnan, C., Kalanithi, P., Etkin, A., Knutson, B., Glover, G. H., & Deisseroth, K. (2016). Prefrontal cortical regulation of brainwide circuit dynamics and reward-related behavior. *Science (New York, N.Y.), 351*(6268), aac9698. https://doi.org/10.1126/science.aac9698

Ferris, C. F. (2022). Applications in Awake Animal Magnetic Resonance Imaging. *Frontiers in Neuroscience, 16*. https://doi.org/10.3389/fnins.2022.854377

Gao, Y.-R., Ma, Y., Zhang, Q., Winder, A. T., Liang, Z., Antinori, L., Drew, P. J., & Zhang, N. (2017). Time to wake up: Studying neurovascular coupling and brain-wide circuit function in the un-anesthetized animal. *NeuroImage, 153*, 382-398. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.11.069

Lindhardt, T. B., Gutiérrez-Jiménez, E., Liang, Z., & Hansen, B. (2022). Male and Female C57BL/6 Mice Respond Differently to Awake Magnetic Resonance Imaging Habituation. *Frontiers in Neuroscience, 16*. https://doi.org/10.3389/fnins.2022.853527

Miranda, A., Bertoglio, D., Stroobants, S., Staelens, S., & Verhaeghe, J. (2022). Spatiotemporal Kernel Reconstruction for Linear Parametric Neurotransmitter PET Kinetic Modeling in Motion Correction Brain PET of Awake Rats. *Frontiers in Neuroscience, 16*. https://doi.org/10.3389/fnins.2022.901091

Rincón-Cortés, M., Herman, J. P., Lupien, S., Maguire, J., & Shansky, R. M. (2019). Stress: Influence of sex, reproductive status and gender. *Neurobiology of Stress, 10*, 100155. https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100155

Russo, G., Helluy, X., Behroozi, M., & Manahan-Vaughan, D. (2021). Gradual Restraint Habituation for Awake Functional Magnetic Resonance Imaging Combined With a Sparse Imaging Paradigm Reduces Motion Artifacts and Stress Levels in Rodents. *Frontiers in Neuroscience, 15*. https://doi.org/10.3389/fnins.2021.805679

Taruttis, A., & Ntziachristos, V. (2015). Advances in real-time multispectral optoacoustic imaging and its applications. *Nature Photonics, 9*(4), 219-227. https://doi.org/10.1038/nphoton.2015.29

Ungurean, G., Behroozi, M., Böger, L., Helluy, X., Libourel, P.-A., Güntürkün, O., & Rattenborg, N. C. (2023). Wide-spread brain activation and reduced CSF flow during avian REM sleep. *Nature Communications, 14*(1), 3259. https://doi.org/10.1038/s41467-023-38669-1

Weiss, C., Bertolino, N., Procissi, D., & Disterhoft, J. F. (2022). Brain activity studied with magnetic resonance imaging in awake rabbits. *Frontiers in Neuroimaging, 1*. https://doi.org/10.3389/fnimg.2022.965529

Zeng, H., Jiang, Y., Beer-Hammer, S., & Yu, X. (2022). Awake Mouse fMRI and Pupillary Recordings in the Ultra-High Magnetic Field. *Frontiers in Neuroscience, 16*. https://doi.org/10.3389/fnins.2022.886709

BRIDGE