

TÜRKİYE VE DÜNYADA TIBBİ FARMAKOLOJİ

Editör: Prof.Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU

yaz
yayınları

Türkiye ve Dünyada Tıbbi Farmakoloji

Editör

Prof.Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU

yaz
yayınları

2025

Türkiye ve Dünyada Tıbbi Farmakoloji

Editör: Prof.Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-8678-81-9

Aralık 2025 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

İÇİNDEKİLER

Klinik İlaç Araştırmalarında Kullanılan Deneysel Tasarımlar.....	1
<i>Şeyma ÖNCÜ</i>	
Opioid Reseptör Farmakolojisi: Biased Agonizm, Tolerans Gelişimi ve G-Protein Sinyalizasyonunun Klinik Yansımaları.....	18
<i>Azad MAMMADOV</i>	
İnhale Kortikosteroidlerin Koah'ta Pnömoni Riskiyle İlişkisi: Bir Fayda-Zarar Analizi	46
<i>Azad MAMMADOV</i>	
Yara İyileşmesinin Sessiz Taşıyıcıları: Diyabetik Ayakta Eksozomların Biyolojik Rolü.....	64
<i>Özge ÖZTÜRK ÇİMENTEPE, Metin YILDIRIM</i>	

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

KLİNİK İLAÇ ARAŞTIRMALARINDA KULLANILAN DENEYSEL TASARIMLAR

Şeyma ÖNCÜ¹

1. GİRİŞ

Klinik Araştırma, bir veya birden fazla araştırma ürününün klinik, farmakolojik veya diğer farmakodinamik etkilerini ortaya çıkarmak ya da doğrulamak, advers olay veya reaksiyonlarını tanımlamak, emilim, dağılım, metabolizma ve atılımını tespit etmek, güvenliliğini ve etkililiğini araştırmak amacıyla gönüllüler üzerinde yürütülen çalışmalardır (Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu [TİTCK], 2024). Bu araştırmalarda hedef, üstün olma (superiority), eşdeğer olma (equivalence) ve daha kötü olmama (non-inferiority) olabilir (Lesaffre, 2008). İlaç ruhsatı alınabilmesi için bu araştırmalarda etkili ve güvenli olduğu gösterilmelidir.

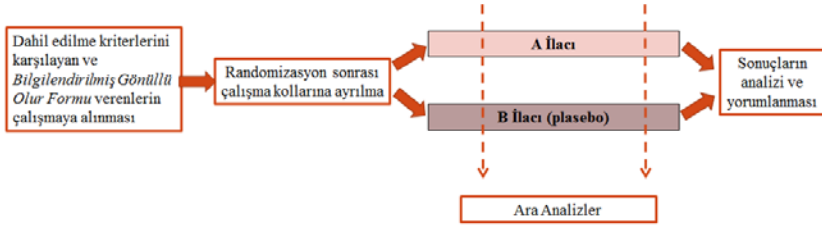
Bir araştırma planlanırken hipotez, gönüllü popülasyonu ve sayısı, deney ve kontrol grupları, birincil ve ikincil sonlanım noktaları, randomizasyon, maskeleme ve kullanılacak deneysel tasarım önceden belirlenmelidir. Klinik araştırmalarda tercih edilen deneysel tasarım; kullanılan müdahale (ilaç, cihaz, ameliyat, davranışsal müdahale vb.) ve hangi endikasyonda kullanılacağına, gönüllülerin sayısına, uygulanabilir olmasına ve maddi olanaklara bağlıdır. Klinik ilaç araştırmalarında en sık Paralel Tasarım ve Çapraz-Geçişli Tasarım kullanılmaktadır. Özel durumlarda faktöryel, çok kollu paralel grup (multi-arm parallel), geri çekilme (withdrawal / randomized-withdrawal),

¹ Doçent Doktor, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, ORCID: 0000-0003-2468-2416.

küme (cluster-randomized) tasarımlar da kullanılmaktadır (Kim, 2023). Bu bölümde deneysel tasarımlara, nasıl uygulandığı, avantaj ve dezavantajları, nasıl yorumlanabileceği ile ilgili bilgilere değinilecektir. Ayrıca yeni geliştirilen ve kullanılan uyarlanabilir (adaptif) tasarımlara da bölümün sonunda yer verilecektir.

2. PARALEL TASARIM

Paralel Tasarım en sık kullanılan çalışma tasarımıdır. Faz II ve Faz III ilaç çalışmaları için paralel tasarım ‘altın standart’ tır (Braga ve ark., 2025). Bu tasarımda, hastalar bir veya daha fazla çalışma koluna randomize edilir ve her çalışma koluna farklı bir ilaç (veya plasebo) uygulanır (Nair, 2019). Gruplar ikiden fazla olabilir. Hastalar randomizasyondan sonra genellikle sabit bir dozda, çalışmanın tüm süresi boyunca atanan tedavi grubunda kalır. En basit şekli iki gruplu paralel tasarımdır (Şekil 1).

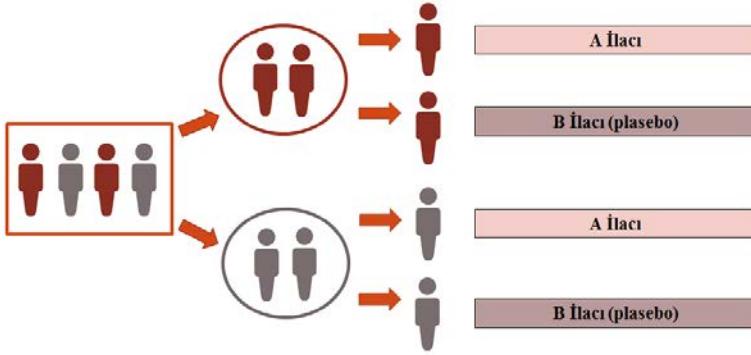


Şekil 1. Paralel Tasarım

Paralel tasarımların uygulanması diğer tasarımlara göre daha basittir. Bu nedenle sonuçların analizi ve yorumlanması daha kolaydır. Hastalar eşit olmayan şekilde tedavi gruplarına ayrılabilir ancak testin tedavi grupları arasındaki farkı tespit etme gücü, tedavi grupları eşit sayıda hastaya sahip olduğunda en yüksektir. Tabakalandırma daha kolay uygulanabilir. Karıştırıcı faktörler (örn. ortak değişkenler, zaman içinde tekrarlanan ölçümler, protokol ihlalleri, çalışmadan ayrılma vb) varlığında

analiz ve yorumlama da karmaşık olabilmektedir (International Conference on Harmonisation [ICH], 2019). Çalışmada tüm koşullar aynı olduğundan, çalışma süresi daha kısadır ve ziyaretler daha azdır. Bunun yanısıra büyük örneklem sayısına ihtiyaç duyulması paralel tasarımların dezavantajıdır (Krogh ve ark., 2019).

Paralel tasarımın bir alt grubu olan **eşleştirilmiş çiftler** tasarımında, her hasta benzer demografik ve klinik özelliklere sahip başka bir hastayla eşleştirilir (Kianifard & İslam, 2010). Eşleşen bir çift belirlendikten sonra, tedaviler çiftteki hastalara rastgele dağıtılır. Bu tasarım teknik olarak blok boyutu 2 olan rastgele bir blok tasarımıdır. Bu tasarımın amacı gruplar arası değişkenliğin en aza indirilmesidir. Daha az sayıda gönüllü çalışmaya alınabilir. Aynı hasta kullanılarak eşleştirme yapılabilir. Genellikle kanser gibi ilerleyici hastalıklarda daha faydalıdır (Şekil 2).



Şekil 2. Paralel Tasarım (eşleştirilmiş çiftler)

3. ÇAPRAZ GEÇİŞLİ TASARIM

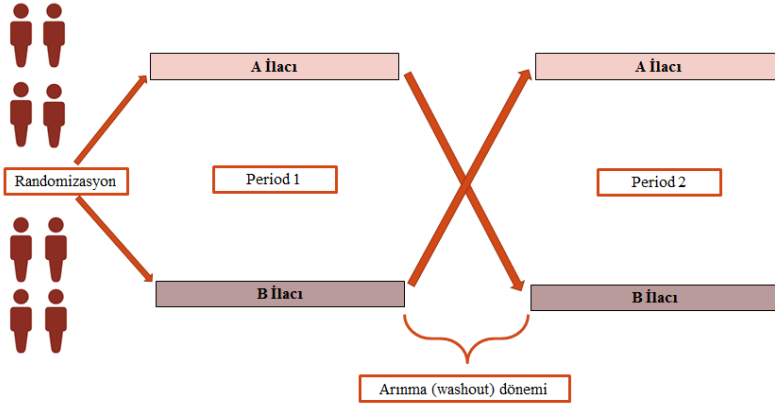
Çapraz geçişli tasarım, her gönüllünün birden fazla tedavi almasıyla karakterize bir tasarım türüdür. Gönüllüler başlangıçta iki veya daha fazla tedavi grubundan birine randomize olarak dahil edilir. En basit örneği 2x2 çapraz geçişli tasarımıdır (Şekil

3). Sadece iki tedavi (A ilacı ve B ilacı) için iki olası dizi (AB ve BA) vardır. Bu dönemde herhangi bir tedavi uygulanmaz. Birinci periyotta A ilacını alan grup, ikinci periyotta B ilacını almaya başlar. Diğer gruptakiler de birinci periyotta B ilacını aldıktan sonra ikinci periyotta A ilacını almaya başlar. Çalışma periyodları arasında ‘arınma dönemi (washout)’ bulunur. Bu dönem ilacın yarılanma ömrü ile ilişkili olarak belirlenir. Bu süre yeterince uzun olmalıdır. İlk periyotta alınan tedavi ikinci periyodu etkilememelidir. Hastanın sağlık durumu her tedavi periyodunun başında aynı olmalıdır. Bu nedenle kalıcı etkilere ve uzun yarılanma ömrüne sahip ilaçlar için bu tasarım uygun olmayabilir. Bağışıklık sistemi kalıcı olarak etkileneceği için aşı çalışmaları için bu tasarım uygun olmayabilir (Nair, 2019).

Biyoeşdeğerlik çalışmalarında tek doz, 2x2 çapraz geçişli tasarım yaygın olarak uygulanmaktadır. Aynı etkin maddeyi aynı dozda içeren iki farklı ilacın biyoyararlanımlarını karşılaştırmak suretiyle yapılan çalışmalardır. Biyoeşdeğerlik çalışmaları sağlıklı gönüllülerde yapılmaktadır (Van Peer, 2010). Bununla birlikte astım, artrit, hipertansiyon, diyabetes mellitus gibi kronik hastalıkların klinik araştırmalarında sıklıkla tercih edilmektedir.

Çapraz geçişli tasarımda her bir gönüllü kendisinin kontrolü olarak test edilmektedir. İki kollu paralel tasarımla aynı istatistiksel gücü elde etmek için örneklem büyüklüğünün yarısı yeterlidir. Böylece çalışma maliyeti de en aza indirgenmiş olur (Ofori-Asenso & Agyeman, 2015). Ancak gönüllülerden bir veya birkaçı çalışmadan ayrıldığında analiz ve sonuçları yorumlamak çok daha zor ve karmaşıktır.

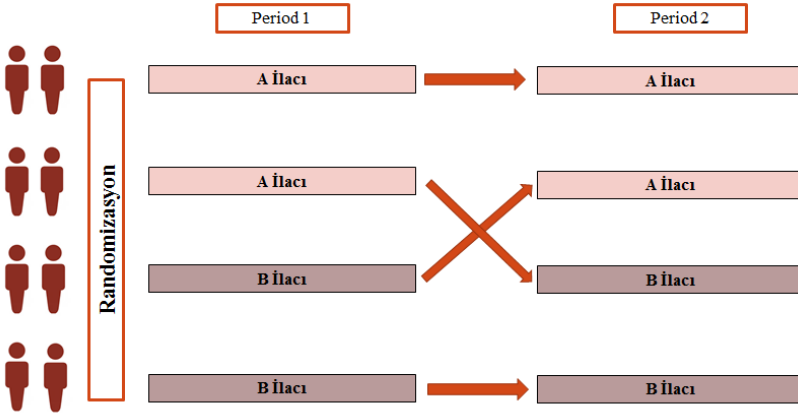
Standart 2x2 çapraz geçişli tasarım sınırlamalarından biri, her bir gönüllü aynı tedaviyi yalnızca bir kez aldığından, özne-içi değişkenlik hakkında bilgi vermemesidir. Özne içi değişkenliğin değerlendirilmesi amacıyla, alternatif çapraz geçişli tasarımlar geliştirilmiştir.



Şekil 3. Çapraz Geçişli Tasarım

3.1. Balaam Tasarımı

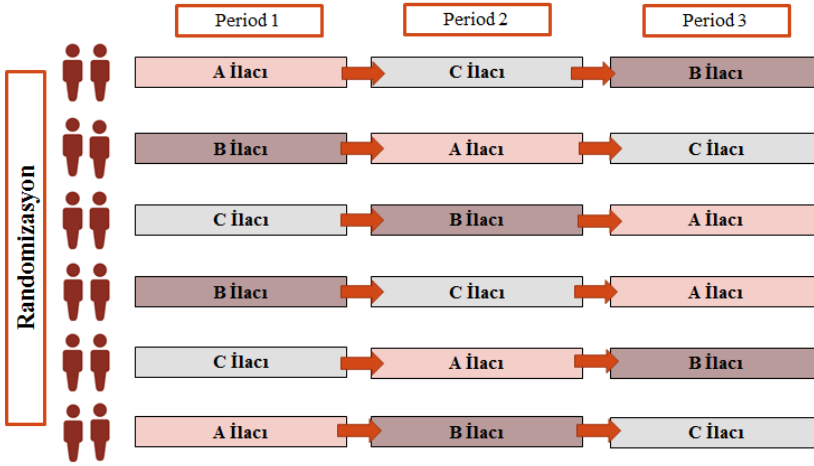
Bu tasarımda klasik AB ve BA tasarımına AA ve BB eklenmiştir (Şekil 4). Çapraz geçişli tasarım ve paralel tasarımın bir kombinasyonudur (Safarkhani & Moerbeek, 2017). İki kollu çapraz geçişli tasarım dört kol olarak düzenlendiği için her kolda bulunan gönüllü sayısı yarıya düşer.



Şekil 4. Balaam Tasarımı

3.2. Williams Tasarımı

Üç ilaç veya tedavinin karşılaştırıldığı üç periyodlu tasarımıdır (ABC, ACB, BAC, BCA, CAB ve CBA) (Şekil 5). Latin kare tasarımının özel bir çeşididir. Dört veya daha fazla tedavi için de kullanılabilir. Her kolda test edilen ilaç veya tedavi yalnızca bir kez uygulanır. Tekrarı olmaz. Dengeli bir tasarım oluşturmak esastır (Wang ve ark., 2009).

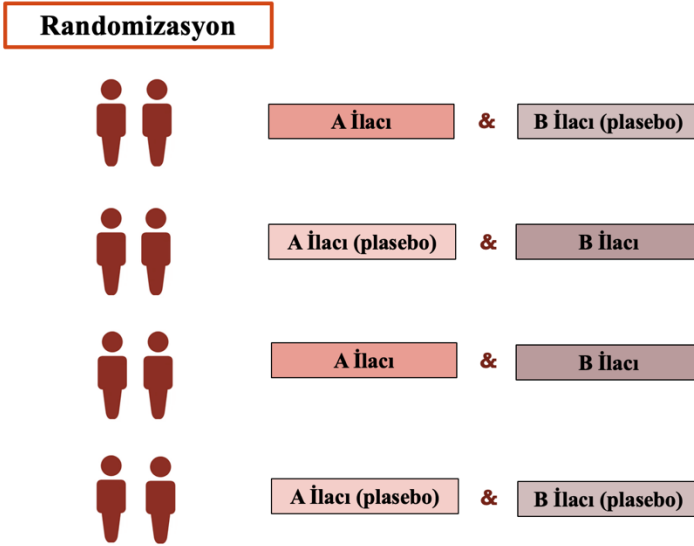


Şekil 5. Williams Tasarımı

4. FAKTÖRİYEL TASARIM

Faktöriyel tasarım, iki veya daha fazla tedavinin ve tedavilerin farklı kombinasyonlarının aynı anda değerlendirilmesine olanak sağlar (Kim, 2024). En basit şekli 2×2 faktöriyel tasarımıdır ve dört grup oluşturulur (A, B, AB, X). Bu tasarım hastalıkların tedavisinde birlikte kullanımlarından yararlanmak amacıyla çoğunlukla iki ilacın etkileşimini incelemek için kullanılmaktadır (Şekil 6). Araştırmacılar hem her bir ilacın bağımsız etkilerini; hem de ilaçların birlikte uygulanması halinde ortaya çıkabilecek etkileşimleri test edebilir (Watkins & Newbold, 2020).

Faktöriyel tasarım, ayrı ayrı yapılacak iki (ya da daha fazla) çalışmaya kıyasla hem zaman hem kaynak hem hasta sayısı açısından daha ekonomik olabilir. Özellikle psikoterapi, davranışsal müdahale veya kombine tedavilerde kullanılır. Dezavantajlarından biri ilaçlar arasında sinerji ya da antagonizm varsa, çalışmanın sonuçları yanıltıcı olabilir. Bir diğer dezavantajı ise çok faktörlü veya yüksek dereceli faktöriyel yapılar hem planlama, hem analiz hem de yorumlama açısından karmaşık olabilir (White ve ark., 2023). Bu tasarımda her kombinasyona yeterli sayıda katılımcı atanmasını sağlayacak şekilde uygun bir örneklem ve analiz planı ile güçlü bir protokolün önceden hazırlanması gereklidir. Ayrıca, son yıllarda klasik faktöriyel yaklaşımlara alternatif olarak FAST design (Factorial Adaptive Multi-Arm Multi-Stage) önerilmektedir (Beall ve ark., 2024).



Şekil 6. Faktöriyel Tasarım

5. UYARLANABİLİR (ADAPTİF) TASARIMLAR

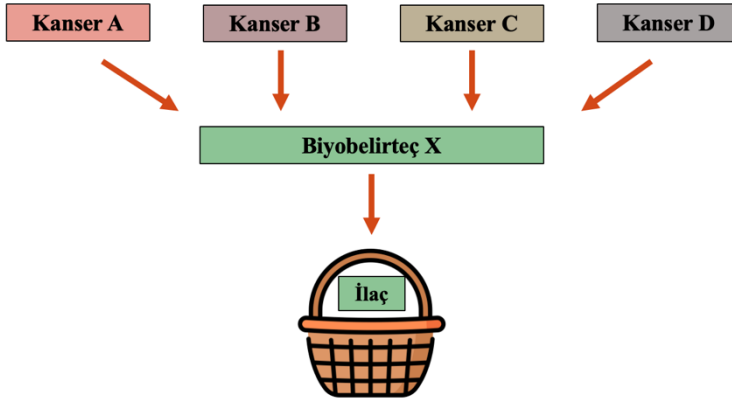
Geleneksel tasarıma sahip klinik araştırmalarda; örneklem büyüklüğü, analiz planı, tedavi kolları ve randomizasyon oranı gibi tüm parametreler çalışma öncesinde belirlenir. Ancak bu tasarımlar plan aşamasındaki belirsizlikler, beklenen etki büyüklüğü, yanıt oranları, güvenlik elde edilme süresi gibi etkenler belli değilse, çalışmanın verimliliğini, süresini ve kaynak kullanımını olumsuz etkileyebilir (Kairalla ve ark., 2012). Uyarlanabilir (adaptif) tasarımlar ise bu belirsizlikleri azaltmaya, kaynakları daha verimli kullanmaya ve klinik araştırmanın esnekliğini artırmaya olanak tanır. Uyarlanabilir (adaptif) tasarımların planlanması, ön analiz, protokol hazırlığı, etik ve düzenleyici onay, istatistiksel analiz planı gibi konularda uzmanlık ve özen gereklidir. Bu bölümde en sık kullanılan adaptif tasarımlardan Basket, Umbrella ve Seamless Tasarım'lara yer verilecektir.

5.1. Basket Tasarım (Sepet Deneme)

Basket Tasarım'ın yaklaşımı, tek bir tedavinin ya da hedefe yönelik ilacın, klasik olarak tümör tipi yerine bir biyobelirteç (örneğin belli bir genetik mutasyon) ya da moleküler özellik temel alınarak birden çok hastalık ya da tümör tipi üzerinde eş zamanlı değerlendirilmesini sağlar (Kasım ve ark., 2023). Biyobelirteç temelli, “kişiselleştirilmiş tıp” yaklaşımını destekler (Hobbs ve ark., 2022). Tedavi, tümörün köken organından ziyade moleküler yapısına göre seçilir. Özellikle nadir hasta profiline sahip kanserlerin tedavi potansiyeli test edilerek, daha verimli ve hızlı ilaç geliştirme için ortam sağlar. Bu sayede birden çok tümör türü için ayrı ayrı çalışma yürütmeye gerek kalmaz.

Çoğu basket çalışma, özellikle erken faz çalışmalarıdır, bu da karşılaştırmalı etkinlik/safety değerlendirmesini sınırlandırabilir. Örneklem sayıları bazı alt gruplarda çok küçük olabilir. Bu durum

hem istatistiksel gücü düşürür hem de bulguların güvenilirliğini azaltır. Özellikle nadir tümör tiplerinde bu sorun daha belirgindir. Ayrıca biyolojik heterojenlik, küçük örneklem sayısı, kontrol grubu eksikliği ve istatistiksel karmaşıklık gibi sınırlılıkları nedeniyle, sonuçların dikkatli yorumlanması gerekir (Strzebonska & Waligora, 2019).

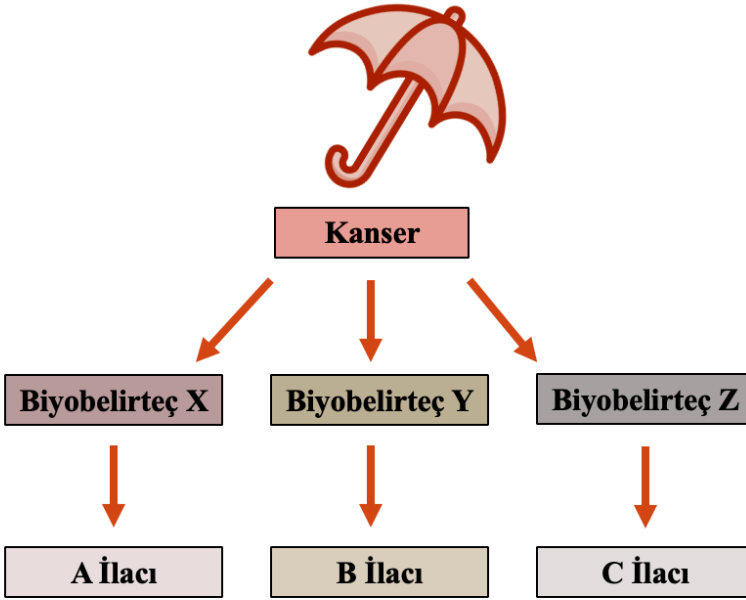


Şekil 7. Basket Tasarım

5.2. Umbrella Tasarım (Şemsiye Deneme)

Umbrella Tasarım , aynı hastalık veya tümör tipi içindeki farklı biyobelirteç temelli alt grupları hedefleyerek, her alt gruba uygun farklı tedavi ajanlarını aynı protokol altında değerlendirmeyi amaçlayan yaklaşımdır (Mittmann ve ark., 2022). Bu sayede, tek bir hastalık kapsamında ama farklı alt tiplere yönelik tedaviler, ayrı ayrı çalışmalarda değerlendirilmek yerine eş zamanlı olarak test edilebilir. Bu durum hem kaynak ve zaman verimliliği sağlar. Ancak, umbrella tasarımlarının önemli dezavantajları vardır. Alt gruplara göre randomizasyon, istatistiksel metodoloji, örneklem büyüklüğü hesaplama, hata kontrolü ve hangi analiz yönteminin kullanılacağı yeterince net olmayabilir (Ouma ve ark., 2022). Özellikle nadir biyobelirteç alt

gruplarında yeterli hasta sayısı toplamak zor olabilir. Bu durum da istatistiksel gücü düşürebilir ya da alt gruplardan birinin yeterince temsil edilmemesine neden olabilir. Tedavi standardı zaman içinde değişirse, örneğin yeni bir ilaç onaylanırsa umbrella çalışmasının çalışma kollarında tedavi güncellenmesi gerekebilir. Bu gibi durumlar analiz ve tedavilerin kıyaslanması sürecinde karmaşıklık yaratır (Greenstreet ve ark., 2025).



Şekil 8. Umbrella Tasarım

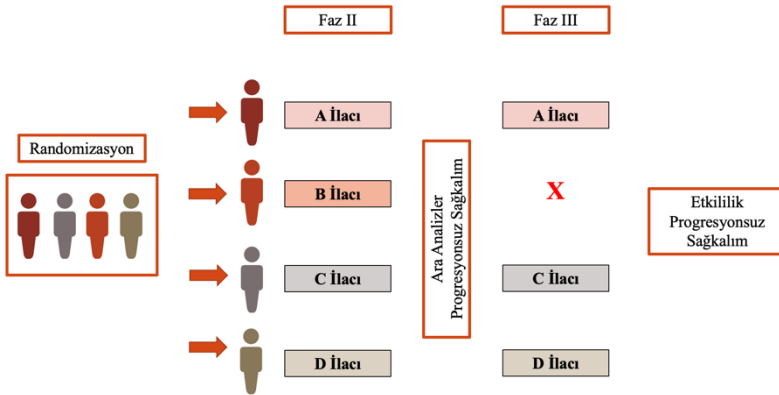
5.3. Seamless Faz Çalışmaları

Geleneksel klinik ilaç araştırmaları sürecinde ilaç önce faz I, faz II, sonra faz III şeklinde ardışık ayrı çalışmalar ile ilerler. Ancak “seamless” tasarımda, bu fazlar tek bir çalışma içinde birleştirilir (Hobbs ve ark., 2019). Bu tasarımda, faz II kısmında elde edilen veriler (güvenlik, doz vb.) faz III kısmına aktarılabilir (Teng ve ark., 2020). Bu bağlamda “seamless faz çalışması”, klinik araştırmalarda zaman, kaynak ve hasta sayısı verimliliğini

artırmayı amaçlayan adaptif ve birleşik faz tasarımlarını ifade eder.

Çalışma fazları arasındaki bekleme süresi ortadan kalktığı için yeni tedavi daha çabuk değerlendirilip, onay için değerlendirilir (Fountzilaz ve ark., 2022). Aynı ayrı faz çalışmaları yapmak yerine tek bir çalışmayla doğrulama yapılabildiğinden toplam hasta sayısı ve maliyet azalır. Ara analizler sayesinde “bu ilacın / dozun fayda sağlaması olası değil” kararı erken verilebilir. Böylece gereksiz kaynak ve hasta yükü önlenir (Yang ve ark., 2024).

Seamless çalışmalarında fazlar birleştirildiğinden, faz III planını önceden hazırlamak gerekir. Özellikle faz II verileri yetersizse erken dönemde faz III’e geçiş riskli olabilir. Bu çalışmalarda Faz I ya da erken fazda güvenlik verileri henüz tam oturmadan geniş hasta gruplarına ulaşılması, advers olayların tanımlanması, izleme ve raporlama süreçlerinde etik sorunlar doğurabilir (D’Amico ve ark., 2020). Özellikle erken faz (faz I/II) Seamless çalışmalarında, sonuç raporlama oranları düşebilmektedir. Bu nedenlerle, adaptif/seamless çalışmalarda başarı için çok daha dikkatli ön planlama, güçlü istatistiksel analiz planı ve güvenilir izleme-denetleme altyapısı gerekir (Maca ve ark., 2014).



Şekil 9. Seamless Faz Çalışmaları

6. SONUÇ

Klinik araştırmalar, ilaç ve diğeri tedavi yöntemlerinin güvenilirlik ve etkinliğini bilimsel olarak değerlendirmek amacıyla yürütölen, dikkat ve zaman gerektiren çalışmalardır. Bu süreçte uygun tasarım seçimi, yeterli örneklem büyüklüğü, randomizasyon, maskeleyme ve sonlanım noktalarının belirlenmesi, elde edilecek verilerin güvenilirliğini doğrudan etkilemektedir. Paralel ve çapraz geçişli tasarımlar, klasik klinik araştırmalarda en çok kullanılan yöntemlerdir. Paralel tasarımlar basit uygulama ve kolay analiz avantajı sunarken, büyük örneklem gereksinimi dezavantaj oluşturur. Çapraz geçişli tasarımlar ise her gönüllüyü kendi kontrolü olarak kullanabilme avantajıyla daha küçük örneklemle yüksek istatistiksel güç sağlamaktadır. Ancak uzun yarılanma ömrüne sahip ilaçlar için sınırlı uygulanabilir. Faktöriyel tasarımlar ise birden fazla tedaviyi ve kombinasyonlarını aynı anda değerlendirerek zaman ve kaynak tasarrufu sağlarken, ilaç-ilaç etkileşimleri açısından karmaşıklık yaratabilir.

Son yıllarda uyarlanabilir (adaptif) tasarımlar, klinik araştırmalara zaman ve verimlilik kazandırmıştır. Basket ve umbrella tasarımları, biyobelirteç temelli kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarını destekleyerek nadir hasta profillerinde etkililik ve güvenilirlik değerlendirmesini mümkün kılar. Ancak bu tasarımlar sınırlı örneklem sayısı ve istatistiksel karmaşıklık gibi zorluklar taşır. Seamless faz çalışmaları ise farklı fazları tek bir çalışmada birleştirerek zaman, maliyet ve hasta sayısı açısından avantaj sağlar. Ancak erken faz verileri yetersizse riskli olabilir ve güvenilirlik, izleme ve raporlama süreçlerinde dikkat gerektirir.

Genel olarak, klinik araştırma tasarımı seçimi, çalışmanın amacı, tedavi özellikleri, hasta popölasyonu ve kaynaklarla doğrudan ilişkilidir. Geleneksel ve adaptif tasarımlar kendi avantaj ve sınırlılıkları ile birbirini tamamlayabilir.

Araştırmaların güvenilir olması, geçerli ve etik olarak yürütülebilmesi için titiz planlama, güçlü istatistiksel analiz ve etkin izleme-denetleme sistemleri gerektirir. Bu nedenle klinik araştırmalarda tasarım seçiminde bilimsel titizlik ve stratejik karar verme, araştırmanın başarısı için kritik öneme sahiptir.

KAYNAKÇA

- Beall, J., Elm, J., Semler, M. W., et al. (2024). Design considerations for factorial adaptive multi-arm multi-stage (FAST) clinical trials. *Trials*, 25, 608.
- Braga, L. H., Farrokhyar, F., Dönmez, M. İ., Nelson, C. P., Haid, B., Herbst, K., ... Ching, C. (2025). Randomized controlled trials - The what, when, how and why. *Journal of Pediatric Urology*, 21(2), 397–404.
- D'Amico, F., Danese, S., & Peyrin-Biroulet, L. (2020). Adaptive designs: Lessons for inflammatory bowel disease trials. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 2350.
- Fountzilas, E., Tsimberidou, A. M., Vo, H. H., et al. (2022). Clinical trial design in the era of precision medicine. *Genome Medicine*, 14, 101.
- Greenstreet, P., Jaki, T., Bedding, A., & Mozgunov, P. (2025). Design of platform trials with a change in the control treatment arm. *Biometrics*, 81(2), uja073.
- Hobbs, B. P., Barata, P. C., Kanjanapan, Y., Paller, C. J., Perlmutter, J., Pond, G. R., ... Yap, T. A. (2019). Seamless designs: Current practice and considerations for early-phase drug development in oncology. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 111(2), 118–128.
- Hobbs, B. P., Pestana, R. C., Zabor, E. C., Kaizer, A. M., & Hong, D. S. (2022). Basket trials: Review of current practice and innovations for future trials. *Journal of Clinical Oncology*, 40(30), 3520–3528.
- International Conference on Harmonisation. (2019). ICH E9 (R1): Addendum on estimands and sensitivity analysis in clinical trials to the guideline on statistical principles for clinical trials. ICH.

- Kairalla, J. A., Coffey, C. S., Thomann, M. A., et al. (2012). Adaptive trial designs: A review of barriers and opportunities. *Trials*, 13, 145.
- Kasim, A., Bean, N., Hendriksen, S. J., Chen, T. T., Zhou, H., Psioda, M. A. (2023). Basket trials in oncology: A systematic review of practices and methods, comparative analysis of innovative methods, and an appraisal of a missed opportunity. *Frontiers in Oncology*, 13, 1266286.
- Kianifard, F., & Islam, M. Z. (2010). A guide to the design and analysis of small clinical studies. *Pharmaceutical Statistics*, 10, 363–368.
- Kim, S. (2024). Overview of clinical study designs. *Clinical and Experimental Emergency Medicine*, 11(1), 33–42.
- Krogh, H. B., Storebø, O. J., Faltinsen, E., Todorovac, A., Ydedahl-Jensen, E., Magnusson, F. L., ... Simonsen, E. (2019). Methodological advantages and disadvantages of parallel and crossover randomised clinical trials on methylphenidate for attention deficit hyperactivity disorder: A systematic review and meta-analyses. *BMJ Open*, 9(3), e026478.
- Lesaffre, E. (2008). Superiority, equivalence, and non-inferiority trials. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*, 66(2), 150–154.
- Maca, J., Dragalin, V., & Gallo, P. (2014). Adaptive clinical trials: Overview of phase III designs and challenges. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*, 48(1), 31–40.
- Mittmann, N., Chan, K. K. W., Cheung, M., et al. (2022). Platform, Basket, and Umbrella Trial Designs: Stakeholder Perspectives of Novel Therapeutics:

- Discussion Paper. Ottawa, ON: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2(7).
- Nair, B. (2019). Clinical trial designs. *Indian Dermatology Online Journal*, 10(2), 193–201.
- Ofori-Asenso, R., & Agyeman, A. A. (2015). Understanding cross over and parallel group studies in drug research. *Precision Medicine*, 2, e1046.
- Ouma, L. O., Wason, J. M. S., Zheng, H., Wilson, N., & Grayling, M. (2022). Design and analysis of umbrella trials: Where do we stand? *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, 9, 1037439.
- Safarkhani, M., & Moerbeek, M. (2017). A comparison of within-subjects and between-subjects designs in studies with discrete-time survival outcomes. *Open Journal of Statistics*, 7(7), 305–322.
- Strzebonska, K., & Waligora, M. (2019). Umbrella and basket trials in oncology: Ethical challenges. *BMC Medical Ethics*, 20(1), 58.
- Teng, Z., Tian, Y., Liu, Y., & Liu, G. (2020). Seamless phase 2/3 oncology trial design with flexible sample size determination. *Statistics in Medicine*, 39(18), 2373–2386.
- Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu [TİTCK]. (2024). İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu (İKU).
- Van Peer, A. (2010). Variability and impact on design of bioequivalence studies. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 106(3), 146–153.
- Wang, B. S., Wang, X. J., & Gong, L. K. (2009). The construction of a Williams design and randomization in cross-over clinical trials using SAS. *Journal of Statistical Software*, 29, 1–10.

- Watkins, E. R., & Newbold, A. (2020). Factorial designs help to understand how psychological therapy works. *Frontiers in Psychiatry*, 11, 429.
- White, I. R., Szubert, A. J., Choodari-Oskooei, B., Walker, A. S., & Parmar, M. K. (2024). When should factorial designs be used for late-phase randomised controlled trials? *Clinical Trials*, 21(2), 162–170.
- Yang, J., Li, G., Yang, D., et al. (2024). Seamless phase 2/3 design for trials with multiple co-primary endpoints using Bayesian predictive power. *BMC Medical Research Methodology*, 24, 12.

OPIOİD RESEPTÖR FARMAKOLOJİSİ: BIASED AGONİZM, TOLERANS GELİŞİMİ VE G-PROTEİN SİNYALİZASYONUNUN KLİNİK YANSIMALARI

Azad MAMMADOV¹

1. GİRİŞ

Ağrı, insanlığın en eski ve en temel deneyimlerinden birini oluşturmaktadır. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IASP) tarafından 2020 yılında güncellenen tanıma göre ağrı, "gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili veya böyle bir hasara benzer şekilde tanımlanan, hoş gitmeyen duyuşsal ve emosyonel bir deneyim" olarak kabul edilmektedir. Tarih boyunca ağrının giderilmesi amacıyla pek çok doğal ve sentetik madde kullanılmış olup bunların arasında afyon haşhaşından (*Papaver somniferum*) elde edilen opioidler özel bir yere sahiptir. Afyon kullanımının tarihi, Sümerler'e kadar (M.Ö. 3400) uzanmakta olup bu madde "neşe bitkisi" olarak adlandırılmıştır. Morfin, 1804 yılında Alman eczacı Friedrich Sertürner tarafından afyondan izole edilmiş ve modern analjezik tedavinin temelini oluşturmuştur. İsmi, Yunan mitolojisindeki rüya tanrısı Morpheus'tan gelmektedir.

Günümüzde opioidler, şiddetli akut ve kronik ağrının tedavisinde en etkili ilaç grubu olarak kabul edilmektedir (Pasternak ve Pan, 2013). Özellikle postoperatif ağrı, travma, kanser ağrısı ve bazı kronik ağrılı durumlarda opioidler tedavinin temel taşı oluşturmaktadır. Bununla birlikte, opioidlerin klinik

¹ Dr. Öğr. Üyesi., Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Kars/Türkiye, ORCID: 0000-0002-2416-5745.

kullanımı, solunum depresyonu, gastrointestinal motilite inhibisyonu (konstipasyon), sedasyon, öfori, fiziksel bağımlılık ve tolerans gelişimi gibi istenmeyen etkilerle gölgelenmektedir. Bu yan etkiler, hastaların yaşam kalitesini düşürmekte ve tedavi uyumunu olumsuz etkilemektedir.

Özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde "opioid krizi" olarak adlandırılan ve yılda on binlerce ölüme neden olan salgın, güvenli ve etkili analjezik ilaç geliştirmenin aciliyetini bir kez daha gözler önüne sermiştir (Volkow ve Blanco, 2021). Centers for Disease Control and Prevention (CDC) verilerine göre, 1999-2021 yılları arasında ABD'de opioid kaynaklı ölümler 500.000'i aşmıştır. Bu durum, opioidlerin analjezik etkilerini korurken yan etkilerini minimize eden yeni ilaç geliştirme stratejilerinin önemini vurgulamaktadır.

Son on yılda yapısal biyoloji ve moleküler farmakoloji alanlarındaki çığır açıcı ilerlemeler, opioid reseptörlerinin üç boyutlu yapısının atomik düzeyde aydınlatılmasını sağlamıştır. Manglik ve arkadaşlarının 2012 yılında Nature dergisinde yayımladıkları çalışma, μ -opioid reseptörünün (MOR) kristal yapısını ilk kez ortaya koymuş ve yapı-temelli ilaç tasarımı için kritik bilgiler sunmuştur (Manglik ve ark., 2012). Bu yapısal veriler, reseptör-ligand etkileşimlerinin moleküler düzeyde anlaşılmasına ve yeni nesil opioid analjeziklerin rasyonel tasarımına zemin hazırlamıştır.

Opioid reseptörleri, G-proteini bağlı reseptörler (GPCR) ailesinin üyeleridir ve ligand bağlanmasını takiben birden fazla hücre içi sinyal yolağını aktive edebilmektedir. Klasik görüşe göre opioidlerin terapötik ve advers etkileri aynı sinyal yolları üzerinden gerçekleşmekteydi. Ancak β -arrestin 2 nakavt fare modelleriyle yapılan çalışmalar, bu paradigmayı temelden değiştirmiştir. Raehal ve arkadaşları 2005 yılında yayımladıkları öncü çalışmada, β -arrestin 2 geni silinmiş farelerde morfinin

artmış ve uzamış analjezi sağladığını, buna karşın solunum depresyonu ve konstipasyon gibi yan etkilerin belirgin şekilde azaldığını göstermişlerdir (Raehal ve ark., 2005). Bu bulgular, G-protein ve β -arrestin yollarının farklı fizyolojik sonuçlarla ilişkili olduğunu düşündürmüştü ve "biased agonizm" kavramının doğmasına yol açmıştır.

Biased agonizm (veya fonksiyonel seçicilik), aynı reseptöre bağlanan farklı ligandların, farklı hücre içi sinyal yollarını seçici olarak aktive edebileceği ilkesine dayanmaktadır. Bu kavram, terapötik etkiyi korurken yan etkileri minimize eden yeni ilaçların geliştirilmesi açısından çığır açıcı bir yaklaşım sunmuştur. Bu doğrultuda geliştirilen oliceridine (TRV130), 2020 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilk G-protein yanlı μ -opioid agonisti olmuştur. Bu bölümde, opioid reseptörlerinin yapısı ve sınıflandırılması, G-protein bağlı sinyal iletim mekanizmaları, biased agonizm kavramı, tolerans gelişiminin moleküler temelleri ve bu bulguların klinik uygulamalardaki yansımaları kapsamlı bir şekilde ele alınacaktır.

2. OPIOID RESEPTÖRLERİNİN YAPISI VE SINIFLANDIRILMASI

2.1. Opioid Reseptör Tipleri

Opioid reseptörleri, yedi transmembran domenli G-proteini bağlı reseptörler (GPCR) ailesinin Sınıf A (rodopsine benzer) grubuna dahildir. Bu reseptör ailesi, insan genomunda 800'den fazla üyeye sahip olup en büyük membran reseptör ailesini oluşturmaktadır. Günümüzde dört farklı opioid reseptör tipi tanımlanmıştır: μ (mu, MOR), δ (delta, DOR), κ (kappa, KOR) ve nociceptin/orphanin FQ reseptörü (NOP). Bu reseptörler, merkezi ve periferik sinir sisteminde yaygın olarak eksprese edilmekte ve endojen opioid peptitler (enkefalinler,

endorfinler, dinorfinler ve nociceptin) tarafından fizyolojik koşullarda aktive edilmektedir (Kieffer ve Evans, 2009).

Opioid reseptörlerinin klonlanması 1990'lı yılların başında gerçekleştirilmiştir. DOR ilk klonlanan opioid reseptörü olup 1992 yılında araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır. Bunu takiben MOR ve KOR klonlanmıştır. NOP reseptörü ise 1994 yılında keşfedilmiş olmakla birlikte, yapısal benzerliğine rağmen klasik opioidlere bağlanmaması nedeniyle "yetim reseptör" olarak adlandırılmıştır.

Tablo 1. Opioid reseptör tipleri, endojen ligandları, başlıca fizyolojik etkileri ve klinik ilaç örnekleri (Kieffer ve Evans, 2009; Pasternak ve Pan, 2013) (Kaynak: Kieffer ve Evans, 2009; Pasternak ve Pan, 2013)

Reseptör Tipi	Endojen Ligand	Başlıca Etkiler	Klinik İlaç Örnekleri
μ (MOR)	β-Endorfin, Enkefalinler	Analjezi, öfori, solunum depresyonu, konstipasyon, miozis, fiziksel bağımlılık	Morfin, fentanil, oksikodon, metadon, tramadol
δ (DOR)	Enkefalinler	Analjezi, anksiyolitik etki, antidepresif etki, kardiyoproteksiyon	Deneysel aşamada (TAN-67, SNC80)
κ (KOR)	Dinorfinler	Analjezi, disfori, sedasyon, diürez, antipruritus	Pentazosin, butorfanol, nalbufin
NOP	Nociceptin/Orphanin FQ	Nosisepsiyonun modülasyonu, anksiyolitik etki, öğrenme-hafıza	Deneysel aşamada (cebranopadol)

μ-Opioid reseptörü, klinik kullanımdaki opioid analjeziklerin büyük çoğunluğunun birincil hedefini oluşturmaktadır. Morfin, fentanil, oksikodon, hidrokodon ve metadon gibi potent analjezikler etkilerini başlıca bu reseptör üzerinden göstermektedir. MOR'un üç farklı alt tipi (MOR1, MOR2 ve MOR3) alternatif splicing ile oluşmaktadır. Analjezi, öfori, solunum depresyonu, konstipasyon ve fiziksel bağımlılık gibi hem istenen hem de istenmeyen etkiler büyük ölçüde MOR aktivasyonu ile ilişkilidir (Williams ve ark., 2013).

δ -Opioid reseptörü, analjezik etkilerin yanı sıra anksiyolitik ve antidepresif özelliklere sahiptir. Enkefalinler, bu reseptörün doğal ligandlarıdır. DOR aktivasyonu, MOR'a kıyasla daha az solunum depresyonu ve konstipasyon ile ilişkilidir; bu nedenle DOR hedefli analjezikler potansiyel olarak daha güvenli olabilir. Ancak DOR agonistlerinin konvülsiyon riski, klinik gelişimlerini sınırlamıştır.

κ -Opioid reseptörü, dinorfinler tarafından aktive edilmekte ve analjezi sağlamasının yanı sıra disfori, sedasyon ve diürez gibi etkiler üretmektedir. KOR aktivasyonunun neden olduğu disfori, bu reseptör hedefli analjeziklerin suistimal potansiyelini azaltmaktadır. Ancak aynı etki, hasta uyumunu da olumsuz etkileyebilmektedir. Son yıllarda G-protein yanlı KOR agonistleri, disfori olmaksızın analjezi sağlama potansiyeli nedeniyle araştırma konusu olmaktadır.

2.2. M-opioid Reseptörünün Yapısal Özellikleri

μ -Opioid reseptörünün kristal yapısı, 2012 yılında Manglik ve arkadaşları tarafından 2.8 Å çözünürlükte belirlenmiştir. Bu çalışmada, fare MOR'unun irreversibl bir morfinan antagonisti (β -funaltreksamin) ile kompleks halindeki yapısı ortaya konmuştur (Manglik ve ark., 2012). Yapısal analizler, ligand bağlanma cebinin diğer GPCR'lere kıyasla daha geniş ve çözücüye açık olduğunu göstermiştir. Bu özellik, farklı kimyasal yapılara sahip ligandların reseptöre bağlanabilmesine olanak tanımaktadır ve opioidlerin yapısal çeşitliliğini açıklamaktadır.

Reseptör, tüm GPCR'lerde olduğu gibi yedi transmembran heliksinden (TM1-TM7), üç hücre dışı döngüden (EL1-EL3) ve üç hücre içi döngüden (IL1-IL3) oluşmaktadır. N-terminus hücre dışı bölgede, C-terminus ise hücre içi bölgede yer almaktadır. Ligand bağlanma cebi, transmembran helikleri tarafından oluşturulan hidrofobik bir kavite şeklindedir ve agonist

ile antagonistlerin bağlanması reseptörün konformasyonel değişikliklerine yol açmaktadır. Özellikle TM6'nın sitoplazmik ucundaki dışa doğru hareket, G-protein bağlanması ve aktivasyonu için kritik öneme sahiptir (Huang ve ark., 2015).

2015 yılında Huang ve arkadaşları, MOR'un agonist-bağlı aktif konformasyonunu yayımlamışlardır. Bu çalışma, reseptör aktivasyonunun moleküler mekanizmalarını ayrıntılı şekilde ortaya koymuştur. Aktif durumda, TM6'nın sitoplazmik ucu yaklaşık 10 Å dışarı doğru hareket etmekte ve bu hareket G-protein bağlanması için gerekli boşluğu oluşturmaktadır.

Kristal yapı çalışmaları ayrıca MOR'un dimer oluşturabildiğini göstermiştir. Reseptör, TM5 ve TM6 helikleri aracılığıyla iki katlı simetrik bir dimer şeklinde kristalize olmaktadır. Dimerizasyonun fizyolojik önemi henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, reseptör sinyalizasyonu, trafiği ve ilaç farmakodinamiği üzerinde etkileri olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, MOR'un DOR ve KOR ile heterodimer oluşturabildiği ve bu heterodimerlerin farklı farmakolojik özellikler sergilediği gösterilmiştir.

3. G-PROTEIN BAĞLI SİNYAL İLETİMİ

3.1. Hetertrimerik G-proteinleri

Opioid reseptörleri, ligand bağlanmasını takiben hücre içi hetertrimerik G-proteinleri ile etkileşime girerek sinyal iletimini başlatmaktadır. G-proteinleri, GTP-bağlayıcı proteinler olarak da adlandırılmakta olup hücre yüzeyindeki reseptörlerden gelen sinyallerin hücre içine iletilmesinde kritik görev üstlenmektedir. G-proteinleri, G α , G β ve G γ alt birimlerinden oluşmaktadır. G α alt birimi, guanin nükleotid bağlama kapasitesine sahip olup GTPaz aktivitesi taşımaktadır. G β ve G γ alt birimleri ise işlevsel olarak tek bir birim (G $\beta\gamma$ kompleksi) halinde hareket etmektedir.

Opioid reseptörleri başlıca inhibitör G-proteinleri olan Gi/o ailesinin üyeleri ile etkileşmektedir. Gai/o alt biriminin karakteristik özelliği, adenilat siklaz enzimini inhibe etmesidir. Bu inhibisyon, hücre içi siklik AMP (cAMP) düzeylerinin azalmasına ve buna bağlı olarak protein kinaz A (PKA) aktivitesinin baskılanmasına neden olmaktadır. PKA inhibisyonu, çeşitli substratların fosforilasyonunun azalmasına yol açarak nöronal eksitabilitiyi düşürmektedir (Williams ve ark., 2013).

Moleküler düzeyde sinyal iletimi şu şekilde gerçekleşmektedir: Opioid agonistinin reseptöre bağlanmasını takiben, reseptörde meydana gelen konformasyonel değişiklik G-protein ile etkileşimi mümkün kılmaktadır. İnaktif durumda, G α alt birimi GDP'ye bağlıdır ve G $\beta\gamma$ kompleksi ile birlikte bulunmaktadır. Reseptör aktivasyonu, G α alt biriminde GDP'nin GTP ile değişimini (nükleotid değişimi) tetiklemektedir. GTP-bağlı G α alt birimi, G $\beta\gamma$ kompleksinden ayrılarak her iki birim de bağımsız olarak efektör proteinleri düzenleyebilmektedir. Sinyal sonlandırması, G α alt biriminin intrinsik GTPaz aktivitesi ile GTP'nin GDP'ye hidrolizlenmesiyle gerçekleşmektedir.

G $\beta\gamma$ kompleksinin de önemli sinyal iletime katkıları bulunmaktadır. Bu kompleks, G-proteini ile aktive edilen içe doğru düzenleyici potasyum kanallarını (GIRK, Kir3 ailesi) doğrudan aktive ederek nöronal hiperpolarizasyona yol açmaktadır. Hiperpolarizasyon, aksiyon potansiyeli oluşumunu zorlaştırarak nöronal ateşleme hızını azaltmaktadır. Ayrıca, G $\beta\gamma$ kompleksi voltaj kapılı kalsiyum kanallarını (N-tipi ve P/Q-tipi) inhibe ederek presinaptik terminallerden nörotransmitter salınımını azaltmaktadır. Bu mekanizmalar, opioidlerin analjezik etkisinin moleküler temelini oluşturmaktadır.

3.2. Analjezik Etkinin Moleküler Temeli

Opioidlerin analjezik etkileri, ağrı iletim yollarının birden fazla düzeyinde gerçekleşen inhibisyonla sağlanmaktadır. Bu çok düzeyli etki, opioidlerin güçlü analjezik özelliğini açıklamaktadır. Spinal kord düzeyinde, dorsal boynuz nöronlarında eksprese edilen MOR'lar, hem presinaptik hem de postsinaptik mekanizmalarla ağrı iletimini modüle etmektedir.

Presinaptik düzeyde, nosiseptif afferent (C-lifleri ve Aδ-lifleri) terminallerinde bulunan MOR'ların aktivasyonu, voltaj kapılı kalsiyum kanallarının inhibisyonu aracılığıyla eksitatorik nörotransmitterlerin (glutamat, substans P, CGRP) salınımını azaltmaktadır. Bu inhibisyon, ağrı sinyalinin birincil afferent nörondan ikinci derece nörona iletimini zayıflatmaktadır. Postsinaptik düzeyde ise GIRK kanallarının aktivasyonu, projeksiyon nöronlarının hiperpolarizasyonuna yol açarak bu nöronların eksitasyonunu güçleştirmektedir.

Supraspinal düzeyde, opioidlerin analjezik etkisi ağırlıklı olarak desendan inhibitör yolların aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. Periaqueductal gri madde (PAG) ve rostral ventromedial medulla (RVM), bu sistemin kritik bileşenleridir (Ossipov ve ark., 2010). PAG'da bulunan MOR'ların aktivasyonu, GABAerjik inhibitör nöronları baskılayarak (disinhibisyon), RVM'deki analjezik nöronların aktivasyonuna yol açmaktadır. RVM'den spinal korda inen serotoninerjik ve noradrenerjik projeksiyon nöronları, dorsal boynuzdaki nosiseptif transmisyonu inhibe etmektedir.

Limbik sistem düzeyinde ise opioidler, ağrının emosyonel ve afektif komponentini modüle etmektedir. Anterior singulat korteks, insula ve amigdalada eksprese edilen opioid reseptörleri, ağrının hoşça gitmeyen algısını ve buna eşlik eden emosyonel yanıtı azaltmaktadır. Ayrıca, mezokortikolimbik dopamin

sisteminin aktivasyonu, opioidlerin öforik etkisini ve bağımlılık potansiyelini açıklamaktadır.

4. β -ARRESTİN YOLAĞININ ROLÜ VE "BIASED" AGONİZM KAVRAMI

4.1. B-arrestinlerin Fonksiyonları

Arrestinler, ilk olarak rodopsinin ışık adaptasyonunda keşfedilen, fosforile G-proteini bağlı reseptörlere (GPCR) bağlanarak reseptör sinyalizasyonunu düzenleyen sitozolik proteinlerdir. Memeli dokularında dört arrestin izoformu tanımlanmıştır: görsel arrestin (arrestin-1), rod arrestin (X-arrestin veya arrestin-4), β -arrestin 1 (arrestin-2) ve β -arrestin 2 (arrestin-3). Görsel arrestinler yalnızca retinada eksprese edilirken, β -arrestinler vücutta yaygın dağılım göstermektedir. Opioid reseptörlerinin düzenlenmesinde her iki β -arrestin izoformu da rol oynamakla birlikte, MOR sinyalizasyonunda β -arrestin 2 özellikle kritik öneme sahiptir (Bohn ve ark., 1999).

Klasik görüşe göre β -arrestinlerin birincil işlevi, G-protein sinyalizasyonunu sonlandırmak (desensitizasyon) ve reseptörlerin hücre yüzeyinden uzaklaştırılmasını (internalizasyon) sağlamaktır. Agonist bağlanmasını takiben MOR, C-terminusundaki serin ve treonin rezidülerinden G-protein bağlı reseptör kinazları (GRK'lar) tarafından fosforile edilmektedir. Fosforile reseptöre β -arrestin bağlanması, birkaç önemli sonuç doğurmaktadır: (1) G-protein bağlanmasının sterik olarak engellenmesi ve reseptör duyarsızlaşması, (2) klatrin aracılı endositoz ile reseptör internalizasyonu ve (3) β -arrestin aracılı sinyal iletimi.

Son yirmi yılda β -arrestinlerin yalnızca negatif düzenleyici olmadığı, aynı zamanda G-proteinlerinden bağımsız sinyal iletimi yolları başlatabilen iskele proteinleri olarak da

görev yaptığı anlaşılmıştır (Lefkowitz ve Shenoy, 2005). β -arrestinler, MAPK/ERK, JNK, p38 ve Akt gibi kinaz kaskadlarını aktive edebilmekte; ayrıca Src ailesinden tirozin kinazları ile etkileşime girebilmektedir. Bu β -arrestin aracılı sinyalizasyon, hücre büyümesi, farklılaşması ve hayatta kalması gibi süreçleri etkilemektedir.

4.2. B-arrestin 2 Nakavt Fare Modeli Ve Biased Agonizm Hipotezinin Doğuşu

Biased agonizm kavramının temelini oluşturan deneysel bulgular, β -arrestin 2 nakavt fare modelinden elde edilmiştir. Bohn ve arkadaşları 1999 yılında Science dergisinde yayımladıkları çalışmada, β -arrestin 2 geni silinmiş farelerde morfinin artmış ve uzamış analjezi sağladığını ilk kez göstermişlerdir (Bohn ve ark., 1999). Bu bulgular, β -arrestin 2'nin MOR aracılı analjezik sinyalizasyonun sonlandırılmasında kritik rol oynadığını düşündürmüştür.

Takip eden çalışmalarda Raehal ve arkadaşları 2005 yılında, β -arrestin 2 nakavt farelerde morfin uygulamasının sonuçlarını daha kapsamlı bir şekilde incelemişlerdir (Raehal ve ark., 2005). Bu çalışmada, β -arrestin 2 yokluğunda morfine bağlı solunum depresyonu ve akut konstipasyonun belirgin şekilde hafiflediği ve morfin toleransının çok az geliştiği gösterilmiştir. Özellikle dikkat çekici olan, solunum depresyonu olmaksızın güçlü analjezinin korunmasıydı - bu, opioid tedavisinin en tehlikeli yan etkisinin ortadan kalkması anlamına gelmekteydi.

**Tablo 2. β -Arrestin 2 nakavt farelerde morfin etkilerinin karşılaştırılması (Bohn ve ark., 1999; Raehal ve ark., 2005)
(Kaynak: Bohn ve ark., 1999; Raehal ve ark., 2005)**

Parametre	Yabani Tip Fare	β -Arrestin 2 KO Fare	Klinik Önemi
Analjezi süresi	Normal	Belirgin uzamış ($\uparrow\uparrow$)	Daha uzun etki süresi, daha az sık dozlama
Analjezi şiddeti	Normal	Artmış ($\uparrow$)	Daha düşük doz gereksinimi
Solunum depresyonu	Belirgin	Belirgin azalmış ($\downarrow\downarrow$)	Hayat kurtarıcı güvenlik artışı
Akut konstipasyon	Belirgin	Azalmış ($\downarrow\downarrow$)	Hasta tolerabilitesi artışı
Tolerans gelişimi	Hızlı	Yavaş/minimal ($\downarrow\downarrow$)	Uzun süreli etkililik korunumu

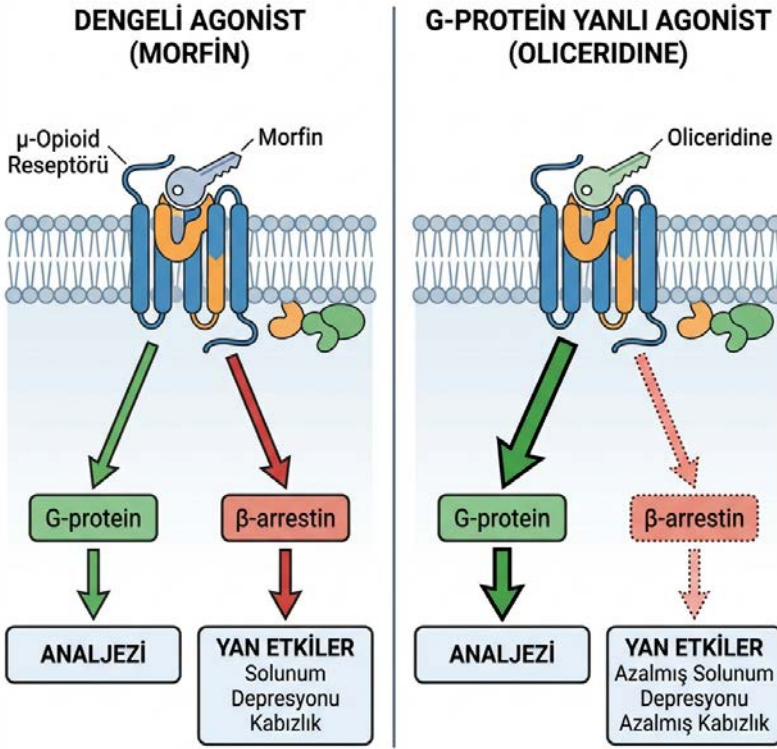
Bu bulgular, şu hipotezin formüle edilmesine yol açmıştır: G-protein sinyalizasyonu başlıca analjezik etkilerden sorumlu iken, β -arrestin yolağı solunum depresyonu, konstipasyon ve tolerans gibi istenmeyen etkilerle ilişkilidir. Bu hipotez, G-protein sinyalizasyonunu seçici olarak aktive eden (G-protein yanlı) ligandların, geleneksel opioidlere kıyasla daha güvenli analjezikler olabileceği önerisini gündeme getirmiştir.

4.3. Biased Agonizm Kavramı ve Teorik Temelleri

Biased agonizm (veya fonksiyonel seçicilik), aynı reseptöre bağlanan farklı ligandların, reseptörde farklı konformasyonel değişiklikler indükleyerek değişen sinyal çıktıları üretebileceği ilkesine dayanmaktadır (Kenakin ve Christopoulos, 2013). Bu kavram, klasik farmakolojideki "bir reseptör - bir etki" dogmasını temelden değiştirmiştir. Geleneksel modelde, bir agonistin etkisi intrinsik aktivitesi (efikasisi) ile belirlenmekteydi ve bu aktivitenin tüm sinyal yollarını orantılı şekilde etkilediği varsayılmaktaydı.

Günümüzde ise GPCR'lerin çoklu konformasyonel durumlar arasında dinamik bir denge halinde bulunduğu ve farklı ligandların bu dengeyi farklı yönlere kaydırarak değişen sinyal

çıktıları üretebildiği kabul edilmektedir. Bu "konformasyonel seçicilik" modeline göre, G-protein aktivasyonunu tercih eden konformasyonlar ile β -arrestin toplanmasını tercih eden konformasyonlar birbirinden farklıdır. Dolayısıyla, bir ligand G-protein yolağını güçlü şekilde aktive ederken β -arrestin yolağını zayıf aktive edebilir veya tam tersini yapabilir.



Şekil 1. Biased agonizm kavramının şematik gösterimi. Dengeli agonistler (örn. morfin) hem G-protein hem de β -arrestin yollarını aktive ederken, G-protein yanlı agonistler (örn. oliceridine) seçici olarak G-protein sinyalizasyonunu aktive ederek analjezi sağlamakta fakat yan etkilerden sorumlu tutulan β -arrestin yolağını minimal düzeyde aktive etmektedir. (Kaynak: Kenakin ve Christopoulos, 2013'ten uyarlanmıştır.)

MOR için biased agonizm, G-protein aktivasyonu ile β -arrestin toplanması arasındaki nispi etkililik farkı olarak ölçülmektedir. Bias faktörü, bir ligandın G-protein aktivasyonu/ β -arrestin toplanması oranının, referans bir agoniste (genellikle DAMGO veya morfin) kıyaslanmasıyla hesaplanmaktadır. Bias faktörü > 1 olan ligandlar G-protein yanlı, < 1 olanlar β -arrestin yanlı olarak kabul edilmektedir.

5. G-PROTEIN YANLI OPIOID AGONİSTLERİ: PREKLİNİK VE KLİNİK GELİŞTİRME

5.1. Oliceridine (trv130)

Biased agonizm hipotezinin klinik uygulamaya aktarılması amacıyla çeşitli G-protein yanlı opioid agonistleri geliştirilmiştir. Bunların arasında en ileri aşamaya ulaşan ve klinik onay alan molekül oliceridine (TRV130) olmuştur. Oliceridine, Trevena firması tarafından geliştirilen ve G-protein yanlı bir μ -opioid agonisti olarak karakterize edilen sentetik bir bileşiktir.

Preklinik çalışmalarda oliceridine, morfine kıyasla G-protein aktivasyonu (cAMP inhibisyonu ve GIRK kanal aktivasyonu ile ölçülen) üzerinde tam agonist aktivite gösterirken, β -arrestin 2 toplanmasını zayıf şekilde indüklemiştir. Hesaplanan bias faktörü, oliceridine'in morfine kıyasla yaklaşık 3-5 kat G-protein yanlı olduğunu göstermiştir. Hayvan modellerinde (fare ve rat), eşdeğer analjezik dozlarda oliceridine morfine kıyasla daha az solunum depresyonu ve gastrointestinal transit inhibisyonu göstermiştir (DeWire ve ark., 2013).

Klinik geliştirme sürecinde oliceridine, kapsamlı bir Faz 1, Faz 2 ve Faz 3 çalışma programından geçmiştir. Faz 2 çalışmasında, bunionektomi (halluks valgus cerrahisi) sonrası orta-şiddetli akut ağrılı 195 hasta randomize edilmiştir. Hastalar

oliceridine'in farklı dozlarını (0.5, 1, 2 veya 3 mg her 3 saatte), plasebo veya morfin (4 mg her 4 saatte) almışlardır. Sonuçlar, oliceridine 2 ve 3 mg dozlarının morfine kıyasla daha hızlı analjezi başlangıcı sağladığını (<5 dakika) ve 48 saatlik sürede morfine non-inferior ağrı kontrolü sağladığını göstermiştir (Viscusi ve ark., 2016).

Faz 3 programı, APOLLO-1 ve APOLLO-2 olmak üzere iki pivotal çalışmadan oluşmaktadır. APOLLO-1 çalışmasında, bunionektomi sonrası 389 hasta randomize edilmiştir. Oliceridine 0.35 mg ve 0.5 mg bolus dozları ile hasta kontrollü analjezi (PCA) şeklinde uygulama değerlendirilmiştir. Çalışma, oliceridine'in plaseboya üstün ve morfine non-inferior analjezi sağladığını göstermiştir (Viscusi ve ark., 2019). APOLLO-2 çalışmasında ise abdominoplasti sonrası 401 hasta değerlendirilmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir (Singla ve ark., 2019).

Tablo 3. Oliceridine klinik çalışmalarının özeti (NRS: Numeric Rating Scale; SPID: Sum of Pain Intensity Difference) (Kaynak: Viscusi ve ark., 2016; Viscusi ve ark., 2019; Singla ve ark., 2019)

Çalışma	Faz	Cerrahi Model	Hasta Sayısı	Birincil Sonlanım	Sonuç
Viscusi ve ark., 2016	Faz 2	Bunionektomi	n=195	48 saat NRS değişimi	Morfine non-inferior; daha hızlı başlangıç
APOLLO-1, 2019	Faz 3	Bunionektomi	n=389	48 saat SPID	Plaseboya üstün; morfine non-inferior
APOLLO-2, 2019	Faz 3	Abdominoplasti	n=401	48 saat SPID	Plaseboya üstün; morfine non-inferior
ATHENA, 2019	Faz 3	Çeşitli	n=768	Açık etiketli güvenlik	Kabul edilebilir güvenlik profili

Güvenlilik açısından, oliceridine alan hastalarda bulantı, kusma ve solunum depresyonu gibi yan etkilerin morfine kıyasla daha düşük oranda gözlemlendiği bildirilmiştir. Özellikle, oksijenasyon bozukluğu ve hipoksi atakları oliceridine grubunda

daha az sıklıkla görülmüştür. Ancak, klinik çalışmalarda gözlemlenen fark, preklinik çalışmalarda öne sürülen kadar dramatik olmamıştır.

Oliceridine, 2020 yılında FDA tarafından hastane ortamında orta-şiddetli akut ağrının intravenöz tedavisi için onaylanmıştır. İlaç, Olinvyk ticari adıyla piyasaya sunulmuştur. Ancak onay sürecinde QT uzaması ile ilgili endişeler nedeniyle ilk başvuru 2018 yılında reddedilmiş, ek güvenlik verileri sunulduktan sonra onay verilmiştir. Onay sadece intravenöz formülasyon için geçerli olup oral formu bulunmamaktadır ve kullanım süresi 48 saat ile sınırlandırılmıştır.

5.2. Pzm21 ve Yapı-temelli İlaç Tasarımı

PZM21, yapı temelli ilaç tasarımı yaklaşımının başarılı bir örneği olarak keşfedilen bir G-protein yanlı μ -opioid agonistidir. Manglik ve arkadaşları 2016 yılında Nature dergisinde yayımladıkları çalışmada, MOR kristal yapısı kullanılarak yaklaşık 3 milyon molekülün hesaplamalı tarama (docking) yöntemiyle değerlendirildiğini bildirmişlerdir. Bu taramada, bilinen opioidlerle yapısal benzerliği olmayan yeni kimyasal iskeleler keşfedilmiştir (Manglik ve ark., 2016).

Keşfedilen hit bileşiklerden biri optimize edilerek PZM21 elde edilmiştir. Bu bileşik, in vitro çalışmalarda G-protein aktivasyonunda potent ve seçici ($\mu > \kappa > \delta$), β -arrestin toplanmasını minimal düzeyde indükleyen bir agonist olarak karakterize edilmiştir. Fare modellerinde PZM21, morfine eşdeğer analjezi sağlamış; solunum depresyonu ve konstipasyon daha az görülmüştür. Ayrıca, PZM21'in dopamin sistemini etkilememesi, bağımlılık potansiyelinin düşük olabileceğini düşündürmüştür.

Ancak, PZM21 ile ilgili sonraki bağımsız çalışmalar karışık sonuçlar üretmiştir. Bazı araştırmacılar, PZM21'in analjezik etkisinin morfinden belirgin şekilde farklı olmadığını

veya yan etki profilinin beklenen kadar olumlu olmadığını bildirmişlerdir. Bu tutarsızlıklar, biased agonizm hipotezinin karmaşıklığını ve laboratuvarlar arası farklılıkların önemini ortaya koymuştur.

5.3. Biased Agonizm Hipotezine Yönelik Eleştiriler ve Tartışmalar

Son yıllarda yapılan araştırmalar, başlangıçtaki G-protein vs. β -arrestin paradigmasının beklenen kadar basit olmadığını ortaya koymuştur. Önemli bir gelişme, 2020 yılında birden fazla bağımsız laboratuvarlardan gelen çalışmalarla gerçekleşmiştir. Kliewer ve arkadaşları, farklı genetik arka planlara sahip β -arrestin 2 nakavt fare soyları kullandıklarında, orijinal çalışmalardaki sonuçları tam olarak tekrarlayamadıklarını bildirmişlerdir (Kliewer ve ark., 2020). Bu farelerde morfin kaynaklı solunum depresyonunun β -arrestin 2 yokluğunda azalmadığı gösterilmiştir.

Bu tutarsızlıklar için birkaç olası açıklama önerilmiştir: (1) genetik arka plan farklılıkları - orijinal çalışmalarda kullanılan fare soyunun özgün özellikleri, (2) kompensatuar mekanizmaların aktivasyonu - β -arrestin 2 yokluğunda β -arrestin 1'in upregülasyonu, (3) biased agonistlerin düşük intrinsik etkinliğinin (parsiyel agonizm) yan etki profilini belirlemesi - yani gözlenen farkın bias'tan değil düşük efikasite'den kaynaklanması, ve (4) in vitro ile in vivo koşullar arasındaki farklılıklar.

Özellikle parsiyel agonizm hipotezi dikkat çekmektedir. Gillis ve arkadaşları 2020 yılında yayımladıkları kapsamlı çalışmada, birçok "G-protein yanlı agonist"in aslında hem G-protein hem de β -arrestin yolları için düşük intrinsik efikasiteye (parsiyel agonist özelliğine) sahip olduğunu göstermişlerdir (Gillis ve ark., 2020). Bu durumda, gözlenen olumlu yan etki profili, sinyal yolağı seçiciliğinden (bias) ziyade düşük maksimal

etkiden kaynaklanabilir. Parsiyel agonistler, tavan etkiye ulaşmadan önce yan etki eşiklerine ulaşamayabilir.

Bu tartışmalara rağmen, oliceridine'in klinik çalışmalarda gözlemlenen güvenilirlik profili, mekanizmadan bağımsız olarak, ilacın klinik faydasını desteklemektedir. Biased agonizm kavramı, GPCR farmakolojisinde önemli bir paradigma değişikliği yaratmış olup araştırmalar devam etmektedir.

6. TOLERANS GELİŞİMİNİN MOLEKÜLER MEKANİZMALARI

6.1. Tanım, Sınıflandırma ve Klinik Önemi

Opioid toleransı, tekrarlanan veya sürekli opioid uygulamasını takiben aynı etkiyi elde etmek için gerekli dozun artması veya aynı dozun azalmış etki üretmesi olarak tanımlanmaktadır. Tolerans, opioid tedavisinin önemli bir klinik sorunu olup, hastaların giderek artan dozlara ihtiyaç duymasına yol açmakta ve bu durum yan etki riskini artırmaktadır (Christie, 2008).

Tolerans, gelişme mekanizmalarına göre farmakokinetik ve farmakodinamik tolerans olarak sınıflandırılabilir. Farmakokinetik tolerans, metabolizmanın hızlanması nedeniyle ilacın plazma düzeylerinin azalmasından kaynaklanır. Farmakodinamik tolerans ise reseptör düzeyinde ve post-reseptör düzeyde meydana gelen adaptasyonlardan kaynaklanır ve opioid toleransının ana komponentidir. Ayrıca, tolerans gelişme hızına göre akut (dakikalar-saatler içinde gelişen) ve kronik (günler-haftalar içinde gelişen) olarak da ayrılabilir.

Klinik açıdan önemli bir nokta, toleransın tüm opioid etkilerine eşit hızda gelişmemesidir. Analjezik etkiye, öforiye ve solunum depresyonuna karşı tolerans nispeten hızlı gelişebilmekte; konstipasyon ve miyozise tolerans gelişimi ise

sınırlı kalmaktadır. Bu diferansiyel tolerans paterni, uzun süreli opioid tedavisi alan hastalarda konstipasyonun kronik bir sorun olarak kalmasını açıklamaktadır.

6.2. Reseptör Düzeyinde Mekanizmalar

Tolerans gelişiminde birden fazla moleküler mekanizma rol oynamaktadır ve bu mekanizmalar birbiriyle etkileşim halindedir. Reseptör fosforilasyonu, tolerans sürecinin başlangıç noktasını oluşturmaktadır. MOR, agonist bağlanmasını takiben C-terminusundaki ve hücre içi döngülerindeki serin ve treonin rezidülerinden fosforile edilmektedir. Bu fosforilasyondan GRK'lar (özellikle GRK2 ve GRK3) ve ikincil mesajcı kinazlar (PKC, PKA, CaMKII) sorumludur (Schulz ve ark., 2004).

Fare MOR'unda Ser375 fosforilasyonu, morfin dahil birçok agonist için karakterize edilmiştir ve β -arrestin bağlanması için kritik öneme sahiptir. İlginç biçimde, farklı agonistler farklı fosforilasyon paternleri indüklemektedir - bu durum "fosforilasyon barkod" hipotezi olarak adlandırılmaktadır. Fosforilasyon, β -arrestin bağlanması ve reseptör duyarsızlaşması için ön koşul oluşturmaktadır.

Fosforile MOR'a β -arrestin bağlanması, G-protein ile etkileşimi sterik olarak engelleyerek reseptörü fonksiyonel olarak inaktive etmektedir (homologo desensitizasyon). Bu süreç, kısa süreli (dakikalar-saatler içinde) gelişen akut toleransa katkıda bulunmaktadır. β -arrestin bağlanmasını takiben MOR, klatrin kaplı çukurcuklara toplanarak (AP-2 adaptör kompleksi aracılığıyla) endositoz yoluyla hücre içine alınmaktadır.

İnternalize reseptörlerin kaderi, tolerans gelişimini önemli ölçüde etkileyen bir faktördür. İnternalize reseptörler, endozomal kompartmanlarda spesifik fosfatazlar (PP2A gibi) tarafından defosforile edilip plazma membranına geri dönüştürülebilir (resensitizasyon) veya lizozomlara yönlendirilerek yıkılabilir (down-regülasyon). Resensitizasyon, fonksiyonel reseptörlerin

restorasyonunu sağlarken, down-regülasyon kalıcı reseptör kaybına yol açmaktadır.

İlginç ve paradoksal biçimde, morfin MOR internalizasyonunu zayıf şekilde indüklerken, DAMGO ve metadon gibi agonistler potent internalizasyon uyarıcılarıdır. Klasik beklentinin aksine, düşük internalizasyon kapasitesi daha fazla tolerans gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (Whistler ve ark., 1999). Bu durumun olası açıklaması şudur: morfin, reseptörü fosforile edip duyarsızlaştırır ancak internalizasyonu zayıf tetikler, dolayısıyla duyarsızlaşmış fakat internalize olmayan reseptörler hücre yüzeyinde birikir ve resensitizasyon olamaz.

Tablo 4. Opioid toleransının moleküler mekanizmaları (Christie, 2008; Williams ve ark., 2013) (Kaynak: Christie, 2008; Williams ve ark., 2013)

Mekanizma	Düzy	Açıklama	Klinik Sonuç
Reseptör fosforilasyonu	Moleküler	GRK, PKC, PKA aracılı serin/treonin fosforilasyonu	β -arrestin bağlanması için hazırlık
β -Arrestin bağlanması	Moleküler	G-protein ayrışması, sinyal sonlandırması	Akut desensitizasyon
Reseptör internalizasyonu	Hücrese	Klatrin/AP-2 aracılı endositoz	Resensitizasyon veya degradasyon
Adenilat siklaz upregülasyonu	Hücrese	AC süperindüksiyonu, cAMP üretim kapasitesinde artış	Yoksunluk belirtilerinin temeli
NMDA reseptör sensitivizasyonu	Sistemik	Glutamaterjik sistemde plastik değişiklikler	Hiperaljezi, tolerans
Glial aktivasyon	Sistemik	Mikroglia/astrocit aktivasyonu, proinflamatuvar sitokin salınımı	Nöroinflamasyon, toleransa katkı

7. KLİNİK YANSIMALAR VE GELECEK PERSPEKTİFLERİ

7.1. Güncel Klinik Uygulama ve Oliceridine Deneyimi

Oliceridine'nin FDA onayı, biased agonizm kavramının klinik pratiğe aktarılması açısından önemli bir kilometre taşı

olmuştur ve GPCR farmakolojisinde translasyonel başarının önemli bir örneğini temsil etmektedir. İlacın onaylanması, yirmi yılı aşkın temel araştırmanın klinik bir ürüne dönüşmesini simgelemektedir. Ancak, oliceridine'in pratik kullanımı ve etkisi henüz sınırlıdır. İlaç sadece intravenöz formülasyonda mevcuttur, kullanım süresi 48 saat ile sınırlandırılmıştır ve sadece hastane ortamında uygulanabilmektedir. Bu kısıtlamalar, ilacın geniş çaplı etki potansiyelini sınırlamaktadır.

Klinik çalışmalardan elde edilen güvenlik verileri, oliceridine'in morfine kıyasla daha olumlu bir solunum ve gastrointestinal yan etki profili sunduğunu göstermektedir. Ancak, bu farkın klinik önemi ve gerçek dünya koşullarındaki boyutu henüz tam olarak belirlenmemiştir. Oliceridine'nin piyasaya sürülmesinden bu yana toplanan post-marketing verileri, ilacın güvenlik profilinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Klinik deneyimler arttıkça, G-protein yanlı agonistlerin geleneksel opioidlere göre avantajları ve hangi hasta popülasyonlarında daha yararlı olabileceği netleşecektir.

7.2. Araştırma Yönelimleri ve Geliştirilmekte Olan Stratejiler

Opioid farmakolojisinde güncel araştırma eğilimleri, biased agonizm ötesinde birçok yenilikçi stratejiye odaklanmaktadır. Bu stratejilerin amacı, opioidlerin güçlü analjezik etkisinden faydalanırken yan etkilerini ve bağımlılık potansiyelini minimize etmektir.

Periferik selektif opioidler: Kan-beyin bariyerini geçemeyen opioid agonistleri, periferik nosiseptörler üzerindeki MOR'ları aktive ederek merkezi yan etkiler (sedasyon, öfori, solunum depresyonu, bağımlılık) olmaksızın periferik analjezi sağlama potansiyeli taşımaktadır. Loperamid, bu konseptin başarılı bir örneğidir; periferik MOR aktivasyonu ile antidiyareik etki gösterirken merkezi sinir sistemine geçiş minimal

düzeydedir. Ancak, kronik ağrının önemli bir bölümü santral sensitivizasyon içerdiğinden, sadece periferik opioidlerin yeterliliği sorgulanabilir.

Kappa-opioid reseptör hedefleme: KOR agonistleri, MOR agonistlerinden farklı bir farmakolojik profil sunmaktadır. KOR aktivasyonu analjezi sağlamakla birlikte, öfori yerine disfori indüklemekte ve bu durum suistimal potansiyelini azaltmaktadır. Ancak disforik etkiler hasta uyumunu da olumsuz etkileyebilmektedir. G-protein yanlı KOR agonistleri, disfori olmaksızın analjezi sağlama potansiyeli nedeniyle aktif araştırma konusudur. Ayrıca, KOR antagonistleri depresyon ve bağımlılık tedavisinde araştırılmaktadır.

Allosterik modölatörler: Opioid reseptörlerinin allosterik bölgelerini hedefleyen moleküller, geleneksel ortosterik agonistlere alternatif yaklaşımlar sunmaktadır. Pozitif allosterik modölatörler (PAM'lar), endojen opioidlerin (enkefalinler, endorfinler) etkisini güçlendirerek daha fizyolojik bir analjezi profili sağlayabilir. Bu strateji, reseptör aktivasyonunun temporal ve spatial düzenlemesini koruyarak eksestif aktivasyondan kaynaklanabilecek yan etkileri sınırlayabilir.

Bivalent ve multiffonksiyonel ligandlar: MOR ve DOR heterodimerleri veya MOR-nociceptin reseptör heteromerleri gibi opioid reseptör komplekslerini hedefleyen bivalent ligandlar, özel farmakolojik profiller sunabilir. Bazı çalışmalar, MOR-DOR bivalent ligandlarının tolerans gelişiminin azaldığı ve analjezik etkinin korunduğu bir profil sergilediğini göstermiştir. Ayrıca, opioid+non-opioid (örneğin opioid+alfa-2 adrenerjik agonist) kombinasyonlarını tek bir molekülde birleştiren multiffonksiyonel ligandlar araştırılmaktadır.

7.3. Kişiselleştirilmiş Tıp ve Farmakogenomik Yaklaşımlar

Farmakogenomik çalışmalar, opioid yanıtındaki bireysel farklılıkların genetik temellerini aydınlatmaktadır ve kişiselleştirilmiş opioid tedavisine doğru önemli adımlar atmaktadır. Opioid farmakolojisini etkileyen genetik varyasyonlar, farmakokinetik (metabolizma) ve farmakodinamik (reseptör fonksiyonu) düzeylerde etkili olmaktadır.

OPRM1 geni (MOR'u kodlayan), en yoğun çalışılan opioid farmakogenomik hedeflerinden biridir. OPRM1 A118G polimorfizmi (Asn40Asp), Kuzey Avrupa popülasyonlarında %10-15, Asya popülasyonlarında %40-50 oranında görülmektedir. Bu varyant, MOR'un β -endorfine bağlanma afinitesini ve reseptör ekspresyonunu etkileyebilmektedir. Klinik olarak, G alleli taşıyıcılarının morfine yanıtlarının azalmış olduğu ve postoperatif analjezi için daha yüksek dozlara ihtiyaç duyabilecekleri bildirilmiştir; ancak bu bulguların tutarlılığı tartışmalıdır.

CYP2D6 polimorfizmleri, kodein ve tramadol gibi ön ilaçların (prodrug) metabolik aktivasyonunu belirlemektedir. Kodein, CYP2D6 tarafından morfine dönüştürülmektedir. "Zayıf metabolizör" (poor metabolizer) fenotipine sahip bireyler (%5-10, Kafkas popülasyonu) kodeinden yeterli analjezi elde edemezken, "ultra hızlı metabolizör" (ultra-rapid metabolizer) bireyler (%1-2, genel popülasyon; %10-30 bazı Afrika ve Orta Doğu popülasyonlarında) toksik morfin düzeylerine ulaşabilir. Bu nedenle, FDA kodein ve tramadol için CYP2D6 genotipleme ile ilgili güçlü uyarılar yayımlamıştır.

Gelecekte, genetik profillere dayalı ilaç ve doz seçimi, opioid tedavisinin bireyselleştirilmesine katkı sağlayabilir. Bununla birlikte, opioid yanıtının poligenik doğası ve çevresel faktörlerin etkisi, farmakogenomik rehberliğin karmaşıklığını

artırmaktadır. Klinik karar destek sistemlerine entegre edilmiş farmakogenomik algoritmaları, bu alanda ileriye dönük umut vaat etmektedir.

8. SONUÇ

Opioid farmakolojisi, son on yılda yapısal biyoloji, moleküler farmakoloji ve translasyonel araştırma alanlarındaki çığır açan ilerlemelerle önemli dönüşümler geçirmiştir. Bu gelişmeler, binlerce yıldır kullanılan bir ilaç grubunun etki mekanizmalarının moleküler düzeyde anlaşılmasını sağlamış ve daha güvenli analjezik geliştirme çabalarına yeni bir yön vermiştir.

μ -Opioid reseptörünün kristal yapısının 2012 yılında aydınlatılması, yapı-temelli ilaç tasarımının önünü açmıştır. G-protein ve β -arrestin sinyal yolaklarının karakterizasyonu ve biased agonizm kavramının ortaya çıkışı, tek bir reseptörün farklı downstream yolakları farklı derecelerde aktive edebilen ligandlar tarafından modüle edilebileceğini göstermiştir. β -arrestin 2 nakavt fare modellerinden elde edilen veriler, analjezik etkilerin G-protein, yan etkilerin ise β -arrestin yolağı ile ilişkili olduğu hipotezini öne sürmüştür.

Bu hipotez doğrultusunda geliştirilen oliceridine'in 2020 yılında FDA onayı alması, konseptin klinik uygulamaya aktarılabilirliğini göstermiş olmakla birlikte, sonraki çalışmalar biased agonizm hipotezinin başlangıçta öngörülenden daha karmaşık olduğunu ortaya koymuştur. β -arrestin sinyalizasyonunun yan etkilerdeki rolü, parsiyel agonizm ile biased agonizm arasındaki ilişki ve in vitro-in vivo korelasyonlar hala aktif tartışma ve araştırma konularıdır.

Tolerans gelişimi, opioid tedavisinin kronik kullanımını sınırlayan önemli bir faktör olmaya devam etmektedir. Reseptör

fosforilasyonu, internalizasyonu ve hücresel adaptasyonlar dahil olmak üzere birden fazla mekanizma tolerans gelişimine katkıda bulunmaktadır. İlginç biçimde, morfinin düşük internalizasyon kapasitesinin paradoksal olarak daha fazla tolerans ile ilişkili olduğu bulgusu, reseptör trafiğinin tolerans gelişimindeki rolünü anlamak için önemli ipuçları sunmaktadır.

Opioid krizi göz önüne alındığında, güvenli ve etkili analjezi sağlayan yeni ilaçların geliştirilmesi acil bir tıbbi ihtiyaç olmaya devam etmektedir. Biased agonizm, periferik selektif opioidler, allosterik modülatörler, bivalent ligandlar ve kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımları, bu hedefe ulaşmak için umut vaat eden stratejiler arasındadır. Temel bilim araştırmalarının klinik uygulamaya translasyonu, multidisipliner işbirliği, titiz preklinik ve klinik değerlendirme ve yaratıcı ilaç tasarım yaklaşımları ile mümkün olacaktır. Günümüz opioid farmakolojisi, hem tarihi mirası hem de gelecek potansiyeli ile tıbbi farmakolojinin en heyecan verici alanlarından birini oluşturmaktadır.

KAYNAKÇA

- Bohn, L. M., Lefkowitz, R. J., Gainetdinov, R. R., Peppel, K., Caron, M. G., & Lin, F. T. (1999). Enhanced morphine analgesia in mice lacking beta-arrestin 2. *Science*, 286(5449), 2495-2498.
- Christie, M. J. (2008). Cellular neuroadaptations to chronic opioids: tolerance, withdrawal and addiction. *British Journal of Pharmacology*, 154(2), 384-396.
- DeWire, S. M., Yamashita, D. S., Rominger, D. H., Liu, G., Cowan, C. L., Graczyk, T. M., Chen, X. T., Pitis, P. M., Gotchev, D., Yuan, C., Koblish, M., Lark, M. W., & Violin, J. D. (2013). A G protein-biased ligand at the μ -opioid receptor is potently analgesic with reduced gastrointestinal and respiratory dysfunction compared with morphine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 344(3), 708-717.
- Gillis, A., Gondin, A. B., Kliewer, A., Sanber, J., Marsh, L., Brust, T., Sanchez, J., Kennedy, S., Lammert, W., Christopoulos, A., Bhattacharya, A., Schulz, S., Christie, M. J., & Bhargava, A. (2020). Low intrinsic efficacy for G protein activation can explain the improved side effect profiles of new opioid agonists. *Science Signaling*, 13(625), eaaz3140.
- Huang, W., Manglik, A., Venkatakrishnan, A. J., Laeremans, T., Feinberg, E. N., Sanborn, A. L., Kato, H. E., Livingston, K. E., Thorsen, T. S., Ber, G. A., Esteban, L. Q., Hubbell, W. L., Weis, W. I., Kobilka, B. K., & Pan, A. C. (2015). Structural insights into μ -opioid receptor activation. *Nature*, 524(7565), 315-321.

- Kenakin, T., & Christopoulos, A. (2013). Signalling bias in new drug discovery: detection, quantification and therapeutic impact. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(3), 205-216.
- Kieffer, B. L., & Evans, C. J. (2009). Opioid receptors: from binding sites to visible molecules in vivo. *Neuropharmacology*, 56(Suppl 1), 205-212.
- Kliwer, A., Gillis, A., Hill, R., Schmidel, F., Bailey, C., Kelly, E., Henderson, G., Christie, M. J., & Schulz, S. (2020). Morphine-induced respiratory depression is independent of β -arrestin2 signalling. *British Journal of Pharmacology*, 177(13), 2923-2931.
- Lefkowitz, R. J., & Shenoy, S. K. (2005). Transduction of receptor signals by beta-arrestins. *Science*, 308(5721), 512-517.
- Manglik, A., Kruse, A. C., Kobilka, T. S., Thian, F. S., Mathiesen, J. M., Sunahara, R. K., Pardo, L., Weis, W. I., Kobilka, B. K., & Granier, S. (2012). Crystal structure of the μ -opioid receptor bound to a morphinan antagonist. *Nature*, 485(7398), 321-326.
- Manglik, A., Lin, H., Arber, D. K., McCorvy, J. D., Dengler, D., Corder, G., Levit, A., Ber, G. A., Hubbell, W. L., Schoichet, B. K., Bhattacharya, A., & Bhargava, A. (2016). Structure-based discovery of opioid analgesics with reduced side effects. *Nature*, 537(7619), 185-190.
- Ossipov, M. H., Dussor, G. O., & Porreca, F. (2010). Central modulation of pain. *Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3779-3787.
- Pasternak, G. W., & Pan, Y. X. (2013). Mu opioids and their receptors: evolution of a concept. *Pharmacological Reviews*, 65(4), 1257-1317.

- Raehal, K. M., Walker, J. K., & Bohn, L. M. (2005). Morphine side effects in beta-arrestin 2 knockout mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 314(3), 1195-1201.
- Schulz, S., Mayer, D., Pfeiffer, M., Stumm, R., Koch, T., & Höllt, V. (2004). Morphine induces terminal μ -opioid receptor desensitization by sustained phosphorylation of serine-375. *EMBO Journal*, 23(16), 3282-3289.
- Singla, N. K., Skobieranda, F., Soergel, D. G., Salamone, S. J., Cook, E., Burt, D. A., Shaikh, A., & Brennan, M. J. (2019). APOLLO-2: A randomized, placebo and active-controlled phase III study investigating oliceridine (TRV130), a G protein-biased ligand at the μ -opioid receptor, for management of moderate to severe acute pain following abdominoplasty. *Pain Practice*, 19(7), 715-731.
- Viscusi, E. R., Webster, L., Kuss, M., Daniels, S., Bolognese, J. A., Zuckerman, S., Soergel, D. G., & Skobieranda, F. (2016). A randomized, phase 2 study investigating TRV130, a biased ligand of the μ -opioid receptor, for the intravenous treatment of acute pain. *Pain*, 157(1), 264-272.
- Viscusi, E. R., Skobieranda, F., Soergel, D. G., Cook, E., Burt, D. A., & Singla, N. (2019). APOLLO-1: a randomized placebo and active-controlled phase III study investigating oliceridine (TRV130), a G protein-biased ligand at the μ -opioid receptor, for management of moderate-to-severe acute pain following bunionectomy. *Journal of Pain Research*, 12, 927-943.
- Volkow, N. D., & Blanco, C. (2021). The changing opioid crisis: development, challenges and opportunities. *Molecular Psychiatry*, 26(1), 218-233.

- Whistler, J. L., Chuang, H. H., Chu, P., Jan, L. Y., & von Zastrow, M. (1999). Functional dissociation of mu opioid receptor signaling and endocytosis: implications for the biology of opiate tolerance and addiction. *Neuron*, 23(4), 737-746.
- Williams, J. T., Ingram, S. L., Henderson, G., Christie, M. J., Bhargava, H. N., & Bhargava, A. (2013). Regulation of μ -opioid receptors: desensitization, phosphorylation, internalization, and tolerance. *Pharmacological Reviews*, 65(1), 223-254.

İNHALE KORTİKOSTEROİDLERİN KOAH'TA PNÖMONİ RİSKİYLE İLİŞKİSİ: BİR FAYDA- ZARAR ANALİZİ

Azad MAMMADOV¹

1. GİRİŞ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kalıcı solunum semptomları ve hava akımı kısıtlaması ile karakterize, genellikle zararlı partiküllere veya gazlara maruziyetten kaynaklanan kronik inflamatuvar bir akciğer hastalığıdır (GOLD, 2024). Dünya genelinde 300 milyonun üzerinde bireyi etkileyen KOAH, küresel ölüm nedenlerinin üçüncüsü konumundadır ve önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (Adeloye ve ark., 2022). Hastalığın yönetiminde farmakolojik tedaviler merkezi bir rol oynamakta olup, inhale kortikosteroidler (İKS) bu tedavi yaklaşımlarının temel bileşenlerinden birini oluşturmaktadır.

İKS'ler, anti-inflamatuvar etkileri sayesinde KOAH alevlenmelerini azaltmak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle sık alevlenme öyküsü olan, periferik kan eozinofil sayısı yüksek ve astım-KOAH örtüşme sendromu (AKÖS) bulunan hastalarda İKS tedavisi kılavuzlarca önerilmektedir (GOLD, 2024; Wedzicha ve ark., 2017). Ancak son iki dekada biriken kanıtlar, İKS kullanımının KOAH hastalarında pnömoni riskini anlamlı düzeyde artırdığını ortaya koymuştur (Calverley ve ark., 2007; Crim ve ark., 2009; Singh ve ark., 2009).

¹ Dr. Öğr. Üyesi., Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Kars/Türkiye, ORCID: 0000-0002-2416-5745.

2007 yılında yayımlanan TORCH (Towards a Revolution in COPD Health) çalışması, İKS'nin pnömoni riskini artırdığını gösteren ilk büyük ölçekli randomize kontrollü çalışma olmuştur (Calverley ve ark., 2007). Bu çalışmadan bu yana, çok sayıda gözlemsel çalışma, randomize kontrollü çalışma ve meta-analiz bu bulguyu desteklemiştir. Pnömoni, KOAH hastalarında önemli morbidite ve mortalite nedeni olduğundan, İKS'nin fayda-zarar dengesinin dikkatli biçimde değerlendirilmesi gerekmektedir.

Bu kitap bölümünde, İKS'lerin KOAH'ta pnömoni riskiyle ilişkisi kapsamlı biçimde ele alınacaktır. Bölümde sırasıyla İKS'lerin KOAH'taki etki mekanizmaları ve endikasyonları, pnömoni riskini artıran mekanizmalar, klinik çalışma verileri, farklı İKS molekülleri arasındaki farklar, risk faktörleri, klinik karar verme stratejileri ve güncel kılavuz önerileri tartışılacaktır.

2. KOAH'TA İNHALE KORTİKOSTEROİDLERİN KULLANIMI

2.1. İKS'lerin Etki Mekanizmaları

Kortikosteroidler, güçlü anti-inflamatuvar etkilere sahip moleküllerdir ve hücre içi glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler. İnhalasyon formları, sistemik yan etkileri minimize ederken akciğerlerde lokal anti-inflamatuvar etki sağlamak amacıyla geliştirilmiştir (Barnes, 2010). İKS'ler, birçok inflamatuvar gen'in transkripsiyonunu baskılayarak ve anti-inflamatuvar proteinlerin sentezini artırarak etki gösterirler.

KOAH'ta inflamasyon ağırlıklı olarak nötrofil hakimiyetindedir ve bu durum, astımdaki eozinofil baskın inflamasyondan farklıdır. Kortikosteroidler nötrofilik inflamasyonu eozinofil baskın inflamasyona kıyasla daha az etkili biçimde baskılamaktadır (Barnes, 2013). Bu nedenle, İKS'lerin

KOAH'taki etkinliği astıma kıyasla daha sınırlıdır ve tüm KOAH hastalarına rutin İKS önerilmemektedir.

2.2. KOAH'ta İKS Endikasyonları

Güncel GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) kılavuzlarına göre, İKS eklenmesi řu durumlarda değerdendirilmelidir (GOLD, 2024):

- Uzun etkili bronkodilatör (LABA/LAMA) tedavisine rağmen alevlenme yaşayan hastalar
- Periferik kan eozinofil sayısı ≥ 300 hücre/ μ L olan hastalar
- Astım-KOAH örtüşme sendromu bulunan hastalar
- Yılda iki veya daha fazla orta-şiddetli alevlenme ya da bir veya daha fazla hastaneye yatış gerektiren alevlenme öyküsü olan hastalar

Eozinofil sayısı <100 hücre/ μ L olan hastalarda İKS yanıtının düşük olması beklenmekte ve bu hastalarda İKS kullanımından kaçınılması önerilmektedir.

2.3. İKS İçeren Kombinasyon Tedavileri

Klinik pratikte İKS genellikle tek başına değil, uzun etkili beta-2 agonistler (LABA) ve/veya uzun etkili muskarinik antagonistler (LAMA) ile kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Günümüzde yaygın kullanılan kombinasyonlar şunlardır:

- İKS/LABA ikili kombinasyonları (örn. flutikazon propionat/salmeterol, budesonid/formoterol)
- İKS/LABA/LAMA üçlü kombinasyonları (örn. flutikazon furoat/umeklidinyum/vilanterol, beklometazon dipropionat/formoterol/glikopironyum)

Üçlü kombinasyon tedavileri, ikili bronkodilatör tedaviye kıyasla alevlenmeleri daha etkin azaltmakta, ancak pnömoni riski de artmaktadır (Lipson ve ark., 2018; Papi ve ark., 2018).

3. İKS KULLANIMI VE PNÖMONİ RİSKİ: KLİNİK KANITLAR

3.1. Randomize Kontrollü Çalışmalar

TORCH çalışması, İKS'nin pnömoni riskini artırdığını gösteren ilk büyük ölçekli çalışma olmuştur. Bu çalışmada, 6112 KOAH hastası flutikazon propionat, salmeterol, flutikazon propionat/salmeterol kombinasyonu veya plasebo gruplarına randomize edilmiştir. Üç yıllık takip sonunda, flutikazon propionat içeren gruplarda pnömoni insidansı plasebo grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (%19,6'ya karşı %12,3; $p<0,001$) (Calverley ve ark., 2007).

INSPIRE çalışmasında, flutikazon propionat/salmeterol kombinasyonu tiotropyum ile karşılaştırılmış ve flutikazon grubunda pnömoni oranı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (%8'e karşı %4; $p<0,01$) (Wedzicha ve ark., 2008). TRISTAN çalışmasında da benzer bulgular elde edilmiştir (Calverley ve ark., 2003).

IMPACT (Informing the Pathway of COPD Treatment) çalışması, 10.355 KOAH hastasını içeren büyük ölçekli bir çalışma olup, flutikazon furoat/umeklidinyum/vilanterol üçlü tedavisini ikili tedavilerle karşılaştırmıştır. Bu çalışmada, İKS içeren rejimlerde pnömoni insidansı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Lipson ve ark., 2018). Benzer şekilde, ETHOS çalışmasında da budesonid içeren üçlü kombinasyonlarda pnömoni oranları bronkodilatör ikili tedaviye kıyasla daha yüksek saptanmıştır (Rabe ve ark., 2020).

3.2. Meta-Analizler

Singh ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan kapsamlı meta-analiz, 18 randomize kontrollü çalışmayı (toplam 16.996 hasta) değerlendirmiş ve İKS kullanımının pnömoni riskini %60 oranında artırdığını göstermiştir (RR 1,60; %95 GA 1,33-1,92). Pnömoni için tedavi etmek için gereken zarar sayısı (NNH) 60 olarak hesaplanmıştır.

Kew ve Seniukovich (2014) tarafından yapılan Cochrane sistematik derlemesi, 43 çalışmayı (toplam 30.000'den fazla hasta) içermiş ve İKS kullanımının ciddi pnömoni riskini anlamlı düzeyde artırdığını doğrulamıştır (OR 1,78; %95 GA 1,50-2,12). Bu derlemede, flutikazon propionat ve budesonid arasındaki olası farklar da araştırılmıştır.

Yang ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan güncel bir ağ meta-analizi, farklı İKS moleküllerinin pnömoni risklerini karşılaştırmıştır. Bu analizde, flutikazon propionat ve flutikazon furoatın budesonidle kıyaslandığında daha yüksek pnömoni riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir.

3.3. Gözlemsel Çalışmalar

Randomize kontrollü çalışmalara ek olarak, büyük ölçekli gözlemsel çalışmalar da İKS-pnömoni ilişkisini desteklemektedir. Ernst ve arkadaşları (2007), 175.906 KOAH hastasını içeren kohort çalışmasında, İKS kullanımının pnömoni nedeniyle hastaneye yatış riskini %70 artırdığını bildirmiştir (RR 1,70; %95 GA 1,63-1,77). Risk, yüksek dozlarda daha belirgin artmaktadır.

Janson ve arkadaşları (2013), İsveç ve İngiltere verilerini içeren geniş kapsamlı bir çalışmada, flutikazon propionatın budesonidle kıyaslandığında daha yüksek pnömoni riskiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, eşdeğer dozlarda

flutikazon kullanan hastalarda pnömoni riski budesonid kullananlara kıyasla yaklaşık 1,75 kat daha yüksek bulunmuştur.

4. PNÖMONİ RİSKİNİ ETKİLEYEN MEKANİZMALAR

4.1. Lokal İmmün Baskılanma

İKS'ler, akciğerlerde lokal immün yanıtı baskılayarak bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlığı artırabilmektedir. Kortikosteroidler, alveolar makrofajların fagositoz kapasitesini azaltmakta, sitokin üretimini baskılamakta ve anti-bakteriyel savunma mekanizmalarını zayıflatmaktadır (Ek ve ark., 1999). Bu etki, özellikle KOAH hastalarında zaten bozulmuş olan mukosiliyer klerens ve immün fonksiyonların daha da kötüleşmesine yol açabilmektedir.

In vitro çalışmalar, flutikazon propionatın budesonidle kıyaslandığında makrofaj fonksiyonlarını daha belirgin biçimde baskıladığını göstermiştir (Ek ve ark., 1999). Bu farmakodinamik fark, moleküller arasındaki pnömoni risk farklılıklarını kısmen açıklayabilmektedir.

4.2. Farmakokinetik Özellikler

İKS molekülleri farmakokinetik özellikleri açısından önemli farklılıklar göstermektedir. Flutikazon propionat, yüksek lipofilitesi nedeniyle akciğer dokusunda uzun süre kalır ve sistemik dolaşıma geçişi düşüktür. Bu özellik, lokal anti-inflamatuvar etkinliği artırırken, aynı zamanda lokal immün baskılanmanın süresini de uzatmaktadır (Daley-Yates, 2015).

Budesonid ise daha düşük lipofiliteye sahip olup, akciğer dokusundan daha hızlı temizlenmektedir. Budesonidin reversible yağ asidi esterifikasyonu özelliği, etki süresini uzatırken immün baskılanma süresini sınırlandırabilmektedir. Bu

farmakokinetik farklılıklar, moleküller arasındaki güvenlik profilindeki farklılıklara katkıda bulunabilmektedir.

4.3. Doz-Yanıt İlişkisi

Pnömoni riski, İKS dozuyla pozitif korelasyon göstermektedir. Ernst ve arkadaşlarının (2007) çalışmasında, düşük doz İKS kullanan hastalarda pnömoni riski orta düzeyde artarken, yüksek doz kullananlarda risk belirgin biçimde daha yüksek bulunmuştur. Bu doz-yanıt ilişkisi, İKS'nin lokal immün baskılayıcı etkisinin doza bağımlı olduğunu düşündürmektedir.

GOLD kılavuzları, pnömoni riskini minimize etmek için mümkün olan en düşük etkili İKS dozunun kullanılmasını önermektedir (GOLD, 2024).

5. İKS MOLEKÜLLERİ ARASINDAKİ FARKLAR

5.1. Flutikazon Propionat

Flutikazon propionat, KOAH çalışmalarında en sık araştırılan İKS molekülüdür ve pnömoni riskiyle en güçlü ilişki bu molekül için gösterilmiştir. TORCH, INSPIRE ve SUMMIT çalışmalarında flutikazon propionat içeren gruplarda tutarlı biçimde yüksek pnömoni oranları bildirilmiştir.

Flutikazon propionatın yüksek glukokortikoid reseptör bağlanma afinitesi, yüksek lipofilitesi ve uzun doku retansiyon süresi, hem etkinliğine hem de pnömoni riskine katkıda bulunmaktadır (Daley-Yates, 2015).

5.2. Flutikazon Furoat

Flutikazon furoat, flutikazon propionatın geliştirilmiş bir formu olup, günde tek doz uygulanabilmektedir. IMPACT çalışmasında flutikazon furoat içeren üçlü kombinasyonun

etkinliği gösterilmiş, ancak pnömoni oranları İKS-free rejimlere kıyasla yüksek bulunmuştur (Lipson ve ark., 2018).

5.3. Budesonid

Budesonid, flutikazon moleküllerine kıyasla daha düşük pnömoni riskiyle ilişkilendirilmektedir. Janson ve arkadaşlarının (2013) çalışmasında, eşdeğer dozlarda budesonid kullanan hastalarda pnömoni riski flutikazon kullananlara kıyasla anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

ETHOS çalışmasında budesonid içeren üçlü kombinasyonlar değerlendirilmiş ve bronkodilatör ikili tedaviye kıyasla daha yüksek pnömoni oranları saptanmış olsa da, bu artış flutikazon çalışmalarındaki kadar belirgin değildir (Rabe ve ark., 2020). Budesonidin daha kısa akciğer retansiyon süresi ve reversible yağ asidi konjugasyonu, görece daha iyi güvenlik profiliyle ilişkili olabilir.

5.4. Beklometazon Dipropionat

Beklometazon dipropionat, özellikle extrafine formülasyonu ile kullanılmaktadır. TRILOGY ve TRINITY çalışmalarında beklometazon dipropionat içeren tedaviler değerlendirilmiş ve pnömoni oranları plasebo veya bronkodilatör tedavilere kıyasla rakamsal olarak yüksek olmakla birlikte, istatistiksel anlamlılık flutikazon çalışmalarındaki kadar belirgin değildir (Singh ve ark., 2016; Vestbo ve ark., 2017).

6. PNÖMONİ İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ

6.1. Hasta ile İlişkili Faktörler

Yaş: İleri yaş, KOAH hastalarında pnömoni için bağımsız bir risk faktörüdür. İKS kullanan yaşlı hastalarda pnömoni riski daha belirgin artmaktadır (Crim ve ark., 2009).

Hastalık Şiddeti: FEV1 değeri düşük olan hastalarda pnömoni riski daha yüksektir. Şiddetli KOAH hastaları hem hastalıkları nedeniyle hem de tedavi gereksinimleri nedeniyle artmış riske sahiptir.

Önceki Pnömoni Öyküsü: Geçmişteki pnömoni öyküsü, gelecekteki pnömoni riski için güçlü bir prediktördür. Bu hastalarda İKS başlanırken dikkatli değerlendirme yapılmalıdır.

Düşük Vücut Kitle İndeksi: Malnütrisyonlu ve düşük VKİ'li hastalar immün fonksiyon bozukluğu nedeniyle enfeksiyonlara daha yatkındır.

Komorbidite: Diabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı ve kronik kalp yetmezliği gibi komorbiditeler pnömoni riskini artırmaktadır.

6.2. Tedavi ile İlişkili Faktörler

İKS Dozu: Yüksek doz İKS kullanımı, doz-bağımlı olarak pnömoni riskini artırmaktadır.

İKS Tipi: Yukarıda tartışıldığı gibi, flutikazon bazlı moleküller budesonidle kıyaslandığında daha yüksek riskle ilişkilidir.

Tedavi Süresi: Uzun süreli İKS kullanımı kümülatif risk artışıyla ilişkilidir.

Eşzamanlı Antibiyotik Kullanımı: Profilaktik makrolid kullanımı pnömoni riskini azaltabilmektedir.

7. KLİNİK KARAR VERME VE FAYDA-ZARAR DENGESİ

7.1. İKS'nin Potansiyel Faydaları

İKS tedavisinin KOAH'taki başlıca faydaları şunlardır:

- Alevlenme sıklığının azalması (özellikle eozinofil sayısı yüksek hastalarda)
- Semptomların iyileşmesi
- Yaşam kalitesinin artması
- FEV1 düşüş hızının azalması (bazı çalışmalarda)

IMPACT çalışmasında, üçlü tedavinin ikili bronkodilatör tedaviye kıyasla orta-şiddetli alevlenmeleri %15-25 oranında azalttığı gösterilmiştir (Lipson ve ark., 2018).

7.2. İKS'nin Potansiyel Zararları

Başlıca zararlar şunlardır:

- Pnömoni riskinde artış
- Kemik mineral yoğunluğunda azalma ve osteoporoz riski
- Oral kandida ve ses kısıklığı
- Deri incilmesi ve kolay morarma
- Kataract riski (uzun süreli kullanımda)
- Adrenal supresyon (yüksek dozlarda)

7.3. Fayda-Zarar Değerlendirmesi

İKS'nin fayda-zarar dengesini değerlendirirken bireysel hasta özellikleri dikkate alınmalıdır. Aşağıdaki faktörler İKS'den fayda görme olasılığını artırmaktadır:

- Yüksek kan eozinofil sayısı (≥ 300 hücre/ μL): Bu hastalarda İKS yanıtı belirgin şekilde daha iyidir ve pnömoni riskine rağmen net fayda sağlanabilmektedir.
- Sık alevlenme öyküsü: Yılda ≥ 2 orta-şiddetli alevlenme yaşayan hastalarda alevlenme önleminin faydası pnömoni riskini dengeleyebilir.
- Astım-KOAH örtüşme sendromu: Bu hastalarda İKS vazgeçilmez tedavi bileşenidir.

Aşağıdaki faktörler ise İKS'den kaçınılmasını düşündürmelidir:

- Düşük eozinofil sayısı (< 100 hücre/ μL): Bu hastalarda İKS yanıtı minimal olup risk faydasını aşmaktadır.
- Tekrarlayan pnömoni öyküsü
- Ciddi komorbidite varlığı
- Düşük vücut kitle indeksi

8. GÜNCEL KILAVUZ ÖNERİLERİ

8.1. GOLD 2024 Önerileri

GOLD 2024 kılavuzu, İKS kullanımını belirli hasta gruplarıyla sınırlandırmayı önermektedir:

- Eozinofil sayısı ≥ 300 hücre/ μL olan ve LABA/LAMA tedavisine rağmen alevlenme yaşayan hastalarda İKS eklenmesi düşünülmelidir.
- Eozinofil sayısı 100-300 hücre/ μL arasında olan hastalarda İKS eklenmesi değerlendirilebilir.
- Eozinofil sayısı < 100 hücre/ μL olan hastalarda İKS rutin olarak önerilmemektedir.

- Pnömoni veya diğer İKS ilişkili yan etki öyküsü olan hastalarda İKS dikkatli biçimde değerlendirilmelidir.
- Tekrarlayan pnömoni yaşayan hastalarda İKS'nin kesilmesi düşünülmelidir.

8.2. ERS/ATS Önerileri

Avrupa Solunum Derneği (ERS) ve Amerikan Toraks Derneği (ATS) ortak kılavuzları da benzer öneriler sunmaktadır. Kılavuzlarda, İKS kararının bireyselleştirilmesi ve pnömoni riski dahil potansiyel yan etkilerin hasta ile paylaşılarak ortak karar verme sürecinin işletilmesi vurgulanmaktadır (Wedzicha ve ark., 2017).

8.3. İKS'nin Kesilmesi

Güncel kılavuzlar, uygun hastalarda İKS'nin güvenli biçimde kesilebileceğini belirtmektedir. WISDOM (Withdrawal of Inhaled Steroids During Optimized Bronchodilator Management) çalışmasında, LABA/LAMA tedavisi altında İKS'nin kademeli olarak kesilmesinin alevlenme riskini anlamlı düzeyde artırmadığı gösterilmiştir (Magnussen ve ark., 2014). Ancak, yüksek eozinofil sayısı olan hastalarda İKS kesilmesi alevlenme riskini artırabilmektedir.

İKS'nin kesilmesi düşünülebilecek durumlar:

- Düşük eozinofil sayısı (<300 hücre/ μ L) ve stabil hastalık seyri
- Tekrarlayan pnömoni öyküsü
- İKS başlangıcında uygun endikasyon olmayan hastalar
- Diğer İKS ilişkili yan etki varlığı (oral kandidiyaz, ses değişikliği, vb.)

9. KLİNİSYENLER İÇİN PRATİK ÖNERİLER

9.1. İKS Başlama Kararı

İKS başlamadan önce aşağıdaki değerlendirmeler yapılmalıdır:

- Periferik kan eozinofil sayısının ölçülmesi
- Alevlenme öyküsünün detaylı sorgulanması
- Pnömoni ve diğer risk faktörlerinin değerlendirilmesi
- Hastanın tedavi tercihleri ve endişelerinin öğrenilmesi
- Potansiyel fayda ve risklerin hasta ile paylaşılması

9.2. İKS Molekülü ve Doz Seçimi

Pnömoni riskini minimize etmek için:

- Mümkün olduğunda düşük-orta doz İKS tercih edilmelidir
- Budesonid, flutikazona kıyasla daha düşük pnömoni riskiyle ilişkili olabilir
- Yanıt alındıktan sonra doz azaltılması düşünülmelidir

9.3. İzlem ve Takip

İKS kullanan KOAH hastalarında:

- Pnömoni semptomları açısından düzenli izlem yapılmalıdır
- Yıllık influenza ve pnömokok aşılı önerilmelidir
- Oral hijyen ve inhaler tekniği kontrol edilmelidir
- Düzenli aralıklarla İKS'nin devamına ilişkin yeniden değerlendirme yapılmalıdır

10. SONUÇ VE GELECEK PERSPEKTİFLER

İnhale kortikosteroidler, özellikle sık alevlenme yaşayan ve yüksek eozinofil sayısına sahip KOAH hastalarında alevlenmeleri azaltmada etkili bir tedavi seçeneğidir. Ancak, İKS kullanımının pnömoni riskini anlamlı düzeyde artırdığı artık kesin olarak kanıtlanmıştır. Bu risk, kullanılan İKS molekülüne, dozuna, tedavi süresine ve hastaya özgü faktörlere bağlı olarak değişmektedir.

Klinisyenler için anahtar mesaj, İKS'nin tüm KOAH hastalarına rutin olarak önerilmemesi gerektiğidir. İKS tedavisi, kan eozinofil sayısına dayalı fenotipleme ile bireyselleştirilmeli ve potansiyel fayda ile risk arasındaki denge dikkatli biçimde değerlendirilmelidir. Pnömoni riski yüksek hastalarda İKS dışı alevlenme önleme stratejileri (optimize bronkodilatör tedavi, profilaktik antibiyotikler, pulmoner rehabilitasyon) öncelikli olarak düşünülmelidir.

Gelecekte, pnömoni riskini minimize eden yeni İKS formülasyonlarının ve anti-inflamatuvar ajanların geliştirilmesi, KOAH tedavisinde önemli bir ilerleme sağlayabilecektir. Ayrıca, pnömoni riskini öngörebilecek biyobelirteçlerin tanımlanması, tedavi kararlarının daha da kişiselleştirilmesine olanak tanıyacaktır. Mevcut kanıtlar ışığında, İKS kullanımında "doğru hasta, doğru molekül, doğru doz" stratejisinin benimsenmesi, KOAH yönetiminde fayda-zarar dengesini optimize etmenin anahtarıdır.

KAYNAKÇA

- Adeloye, D., Song, P., Zhu, Y., Campbell, H., Sheikh, A., & Rudan, I. (2022). Global, regional, and national prevalence of, and risk factors for, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 2019: a systematic review and modelling analysis. *The Lancet Respiratory Medicine*, 10(5), 447-458.
- Barnes, P. J. (2010). Inhaled corticosteroids. *Pharmaceuticals*, 3(3), 514-540.
- Barnes, P. J. (2013). Corticosteroid resistance in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131(3), 636-645.
- Calverley, P. M., Anderson, J. A., Celli, B., Ferguson, G. T., Jenkins, C., Jones, P. W., ... & Vestbo, J. (2007). Salmeterol and fluticasone propionate and survival in chronic obstructive pulmonary disease. *New England Journal of Medicine*, 356(8), 775-789.
- Calverley, P., Pauwels, R., Vestbo, J., Jones, P., Pride, N., Gulsvik, A., ... & Anderson, J. (2003). Combined salmeterol and fluticasone in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *The Lancet*, 361(9356), 449-456.
- Crim, C., Calverley, P. M., Anderson, J. A., Celli, B., Ferguson, G. T., Jenkins, C., ... & Vestbo, J. (2009). Pneumonia risk in COPD patients receiving inhaled corticosteroids alone or in combination: TORCH study results. *European Respiratory Journal*, 34(3), 641-647.
- Daley-Yates, P. T. (2015). Inhaled corticosteroids: potency, dose equivalence and therapeutic index. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 80(3), 372-380.

- Ek, A., Larsson, K., Siljerud, S., & Palmberg, L. (1999). Fluticasone and budesonide inhibit cytokine release in human lung epithelial cells and alveolar macrophages. *Allergy*, 54(7), 691-699.
- Ernst, P., Gonzalez, A. V., Brassard, P., & Suissa, S. (2007). Inhaled corticosteroid use in chronic obstructive pulmonary disease and the risk of hospitalization for pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 176(2), 162-166.
- GOLD (2024). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: 2024 Report. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease.
- Janson, C., Larsson, K., Lisspers, K. H., Ställberg, B., Stratelis, G., Goike, H., ... & Johansson, G. (2013). Pneumonia and pneumonia related mortality in patients with COPD treated with fixed combinations of inhaled corticosteroid and long acting β 2 agonist: observational matched cohort study (PATHOS). *BMJ*, 346, f3306.
- Kew, K. M., & Seniukovich, A. (2014). Inhaled steroids and risk of pneumonia for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3), CD010115.
- Lipson, D. A., Barnhart, F., Brealey, N., Brooks, J., Criner, G. J., Day, N. C., ... & Martinez, F. J. (2018). Once-daily single-inhaler triple versus dual therapy in patients with COPD. *New England Journal of Medicine*, 378(18), 1671-1680.
- Magnussen, H., Disse, B., Rodriguez-Roisin, R., Kirsten, A., Watz, H., Tetzlaff, K., ... & Vogelmeier, C. (2014). Withdrawal of inhaled glucocorticoids and exacerbations

- of COPD. *New England Journal of Medicine*, 371(14), 1285-1294.
- Papi, A., Vestbo, J., Fabbri, L., Corradi, M., Pruber, H., Cohuet, G., ... & Singh, D. (2018). Extrafine inhaled triple therapy versus dual bronchodilator therapy in chronic obstructive pulmonary disease (TRIBUTE): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *The Lancet*, 391(10125), 1076-1084.
- Rabe, K. F., Martinez, F. J., Ferguson, G. T., Wang, C., Singh, D., Wedzicha, J. A., ... & Dorinsky, P. (2020). Triple inhaled therapy at two glucocorticoid doses in moderate-to-very-severe COPD. *New England Journal of Medicine*, 383(1), 35-48.
- Singh, D., Papi, A., Corradi, M., Pavlišová, I., Montagna, I., Francisco, C., ... & Fabbri, L. M. (2016). Single inhaler triple therapy versus inhaled corticosteroid plus long-acting β 2-agonist therapy for chronic obstructive pulmonary disease (TRILOGY): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *The Lancet*, 388(10048), 963-973.
- Singh, S., Amin, A. V., & Loke, Y. K. (2009). Long-term use of inhaled corticosteroids and the risk of pneumonia in chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis. *Archives of Internal Medicine*, 169(3), 219-229.
- Vestbo, J., Papi, A., Corradi, M., Blazhko, V., Montagna, I., Francisco, C., ... & Fabbri, L. M. (2017). Single inhaler extrafine triple therapy versus long-acting muscarinic antagonist therapy for chronic obstructive pulmonary disease (TRINITY): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *The Lancet*, 389(10082), 1919-1929.

- Wedzicha, J. A., Banerji, D., Chapman, K. R., Vestbo, J., Roche, N., Ayers, R. T., ... & Vogelmeier, C. F. (2016). Indacaterol–glycopyrronium versus salmeterol–fluticasone for COPD. *New England Journal of Medicine*, 374(23), 2222-2234.
- Wedzicha, J. A., Calverley, P. M., Seemungal, T. A., Hagan, G., Ansari, Z., & Stockley, R. A. (2008). The prevention of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations by salmeterol/fluticasone propionate or tiotropium bromide. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 177(1), 19-26.
- Wedzicha, J. A., Miravitlles, M., Hurst, J. R., Calverley, P. M., Albert, R. K., Anzueto, A., ... & Krishnan, J. A. (2017). Management of COPD exacerbations: a European Respiratory Society/American Thoracic Society guideline. *European Respiratory Journal*, 49(3), 1600791.
- Yang, M., Du, Y., Chen, H., Jiang, D., & Xu, Z. (2019). Inhaled corticosteroids and risk of pneumonia in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *International Immunopharmacology*, 77, 105950.

YARA İYİLEŞMESİNİN SESSİZ TAŞIYICILARI: DİYABETİK AYAKTA EKSOZOMLARIN BİYOLOJİK ROLÜ

Özge ÖZTÜRK ÇİMENTEPE^{1*}

Metin YILDIRIM²

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus, dünya genelinde yaygın olarak görülen ve ciddi morbidite ile ilişkili kronik bir metabolik hastalıktır. Uluslararası Diyabet Federasyonu'na (International Diabetes Federation, IDF) göre, dünya çapında yaklaşık 537 milyon kişi diyabetten etkilenmekte olup, hastalığın prevalansı her 11 kişiden 1'i etkileyecek düzeye ulaşmıştır (Sun et al., 2022). Diyabet, temel olarak insüline karşı gelişen hücresel direnç veya yetersiz insülin sekresyonu sonucu ortaya çıkmakta; bu durum kronik hiperglisemiye ve fizyolojik homeostazın bozulmasına yol açmaktadır. Diyabet türleri arasında en yaygın olan tip 2 diabetes mellitus, tüm diyabet vakalarının yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır (Y. Wang et al., 2023).

Diyabetik ayak ülserleri (Diabetic Foot Ulcers, DFU), diyabetin en ciddi ve yaşamı tehdit eden komplikasyonları arasında yer almaktadır. Küresel ölçekte diyabetik bireylerin yaklaşık %6,3'ünde DFU geliştiği bildirilmektedir (Armstrong, Boulton, & Bus, 2017). DFU varlığı, hastalarda hem morbidite hem de mortalite riskini belirgin biçimde artırmaktadır. DFU'lu

¹ Dr. Öğr. Üyesi Harran Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji, ORCID: 0000-0001-7319-3526.

² Doç. Dr., Harran Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Biyokimya, ORCID: 0000-0003-1346-312X.

bireylerde 5 yıllık ölüm riski, DFU gelişmeyen diyabetik hastalara kıyasla yaklaşık 2,5 kat daha yüksektir. Ayrıca, amputasyon gerektiren olgularda, amputasyon sonrası 5 yıllık morbidite ve mortalite oranlarının %70'in üzerine çıktığı rapor edilmiştir (Armstrong et al., 2017). DFU'nun patogenezi oldukça karmaşık olup, başlıca distal periferik nöropati ve periferik vasküler hastalık ile ilişkilidir. Bu patofizyolojik durumlar, alt ekstremitelerde duyu kaybına, doku perfüzyonunun azalmasına ve tekrarlayan mikrotravmaların fark edilmeden ilerlemesine neden olarak ülser oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Buna ek olarak, diyabetik ayak ülserlerinin yarısından fazlasına enfeksiyonların eşlik ettiği bildirilmektedir. Enfeksiyon varlığı, inflamatuvar sürecin uzamasına, doku hasarının derinleşmesine ve iyileşme sürecinin ciddi şekilde gecikmesine yol açarak tedavi sürecini daha karmaşık ve zor hale getirmektedir (Prompers et al., 2007).

Gecikmiş yara iyileşmesi, diyabetin en önemli ve klinik açıdan sorunlu komplikasyonlarından biri olarak kabul edilmektedir (Y. Wang et al., 2023). Diyabetik hastalarda yara iyileşmesinin bozulması; enfeksiyonlara karşı zayıflamış bağışıklık yanıtı, mikrovasküler ve makrovasküler dolaşım bozuklukları, periferik nöropati, protein sentezinde azalma, hücresel fonksiyon bozuklukları ve ateroskleroz gibi çok sayıda (S. Wu, Zhou, Li, & Jiang, 2024) patofizyolojik faktörün birleşik etkisi sonucunda gelişmektedir. Bu faktörler, inflamasyon, proliferasyon ve doku yeniden şekillenmesi aşamalarını içeren normal yara iyileşme sürecini ciddi biçimde sekteye uğratmaktadır.

Diyabetik yaraların tedavisinde güncel klinik yaklaşımlar; yara debridmanı, uygun pansuman uygulamaları, enfeksiyon kontrolü ile birlikte glisemik regülasyon, oksijen veya diğer gaz terapileri, negatif basınçlı yara tedavisi ve büyüme faktörü uygulamalarını kapsamaktadır (Everett & Mathioudakis, 2018;

Lim, Ng, & Thomas, 2017; Schaper et al., 2020). Ancak, bu geleneksel tedavi yöntemlerinin etkinliği sınırlı olup, uzun tedavi süreleri, yüksek maliyetler ve tam iyileşmenin sağlanamaması gibi önemli dezavantajlar içermektedir. Bu nedenle, diyabetik yara iyileşmesini hızlandıracak ve enfeksiyon riskini azaltacak yenilikçi ve etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yönelik araştırmalara duyulan ihtiyaç giderek artmaktadır. Son yıllarda, ekzosomların diyabetik yara iyileşmesinde uygulanması önemli ilgi görmüştür. Eksozomlar, inflamatuvar fazı kısaltmak, anjiyogenezi teşvik etmek, hücre göçünü ve proliferasyonunu artırmak, kolajen yeniden şekillenmesini düzenlemek ve skar oluşumunu engellemek dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla yara iyileşmesini etkili bir şekilde destekler (C.-Y. Chen et al., 2018). Bu bölüm, etki mekanizmaları, terapötik etkileri, klinik potansiyeli, geliştirme stratejileri ve gelişmiş biyomalzemelerle entegrasyon dahil olmak üzere diyabetik yara iyileşmesindeki eksozom biyolojisi hakkındaki mevcut anlayışı sistematik olarak özetleyerek bu kritik boşlukları doldurmayı amaçlamaktadır.

2. EKZOZOMLAR

Eksozomlar, endositotik kökenli hücre dışı veziküller olup, yaklaşık 5 nm kalınlığında karakteristik bir lipid çift tabakaya ve 30–150 nm arasında değişen bir çapa sahiptir (P. Li, Kaslan, Lee, Yao, & Gao, 2017). Bu veziküller; nükleik asitler, amino asitler, lipidler, proteinler, metabolitler ile birlikte mRNA, mikroRNA (miRNA) ve uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA) gibi çok çeşitli biyomolekülleri taşıyabilmektedir (Kalluri & LeBleu, 2020). Fizyolojik veya patolojik koşullar altında neredeyse tüm hücre tipleri tarafından eksozom salgılandığı bilinmekte olup, farklı vücut sıvılarından izole edilen eksozomlar arasında belirgin morfolojik çeşitlilik gözlenmektedir (He,

Zheng, Luo, & Wang, 2018). Ayrıca, farklı hücre tiplerinden köken alan eksozomlar, özgün protein bileşimleri sayesinde farklı biyolojik etkiler ortaya koyabilmektedir.

Eksozomların izolasyonu için çeşitli yöntemler geliştirilmiş olup, başlıca ultra hızlı santrifüjleme, ultrafiltrasyon, immünoafinite yakalama ve yük nötralizasyonuna dayalı polimer çökelme tekniklerini kapsamaktadır. Her yöntemin kendine özgü avantajları ve sınırlamaları bulunmaktadır (D. Yang et al., 2020). Ultra hızlı santrifüjleme, nispeten iyi standardize edilmiş olması ve düşük maliyeti nedeniyle eksozom izolasyonunda “altın standart” yöntem olarak kabul edilmekle birlikte, düşük saflık ve zaman alıcı olması gibi dezavantajlara sahiptir (Momen-Heravi, 2017). Ultrafiltrasyon yöntemi, boyutsal homojenliği koruyarak hızlı izolasyon imkânı sunmasına rağmen genellikle daha düşük verimle sonuçlanmaktadır (Shu et al., 2020). İmmünoafinite yakalama teknikleri, yüksek özgüllük ve saflık avantajı sağlamakta; ancak yüksek maliyet ve sınırlı ölçeklenebilirlik gibi dezavantajlar taşımaktadır (Jiawei, Zhi, Kewei, & Xiaoping, 2022). Polimer bazlı çökelme yöntemleri ise kullanım kolaylığı ve yüksek verimlilik sunmasına karşın, ürün kalitesinde istikrarsızlık ve kontaminasyon riski gibi önemli sınırlamalara sahiptir.

2.1. Eksozomların Biyolojik Fonksiyonları

2.1.1. Diyabetik Yaralarda Eksozomların Anti-İnflamatuvar Rolü

Diyabetin tetiklediği kronik inflamasyon, yara iyileşme sürecinin bozulmasına katkıda bulunan en kritik patofizyolojik faktörlerden biridir. Artan ve uzamış inflamatuvar yanıt, diyabetik yaralarda inflamasyon fazının uzamasına, hücresel hasarın derinleşmesine ve doku rejenerasyonunun gecikmesine yol açmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, farklı kaynaklardan elde edilen eksozomların diyabetik yaraların inflamasyon fazında

iyileşmeyi destekleyici önemli biyolojik etkiler sergilediğini ortaya koymuştur (S. Li et al., 2024). Bu eksozomlar; mezenkimal kök hücreler, bağışıklık hücreleri, biyolojik sıvılar ve bitkisel kaynaklar dâhil olmak üzere çok çeşitli biyolojik sistemlerden elde edilebilmektedir. Özellikle insan göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinden (human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells, HucMSC-Exos) salgılanan eksozomların, N2 fenotipli nötrofillerin ekspresyonunu anlamlı düzeyde artırarak inflamasyon fazını kısalttığı ve eş zamanlı olarak anjiyojenik faktörlerin salınımını teşvik ettiği gösterilmiştir (Jiaman Yang et al., 2024). Bu mekanizma, diyabetik yaralarda inflamasyon ve proliferasyon fazları arasındaki geçişin hızlanmasına katkı sağlamaktadır. Benzer şekilde, yağ dokusundan elde edilen mezenkimal kök hücrelerden türetilen eksozomların (adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes, ADSC-Exos), insan göbek kordonu endotel hücreleri (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC'ler) üzerinde etkili olduğu ve SIRT3 ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir. SIRT3 artışı, süperoksit dismutaz 2 (SOD2) aktivitesinin yükselmesine ve buna bağlı olarak inflamatuvar sitokin düzeylerinin azalmasına yol açmaktadır. Bu etkinin, diyabetik bireylerde kronik inflamasyonun hafifletilmesinde önemli bir rol oynadığı vurgulanmaktadır (Yue Zhang et al., 2022).

Serumdan elde edilen ve miRNA-324-5p taşıyan eksozomların ise, karnitin palmitoiltransferaz 1A (CPT1A) geninin ekspresyonunu negatif yönde düzenleyerek inflamatuvar sitokin salınımını azalttığı ve diyabete bağlı inflamatuvar yanıtların baskılanmasına katkı sağladığı gösterilmiştir. Bu bulgular, eksozomların diyabetik yaralarda inflamatuvar mikroçevrenin modülasyonunda çok yönlü ve etkili bir rol üstlendiğini ortaya koymakta ve eksozom temelli tedavi stratejilerinin diyabetik yara iyileşmesi için umut vadeden

yaklaşımlar arasında yer aldığını göstermektedir (G. Wu et al., 2020).

2.1.2. Eksozomların Diyabetik Yaralarda Anjiyogenezi Destekleyici Rolü

Eksozomlar, diyabetik yara iyileşmesi sürecinde anjiyogenezin desteklenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Anjiyogenezdeki bozulma, diyabetik yaralarda doku perfüzyonunun azalmasına ve iyileşme sürecinin gecikmesine yol açan temel faktörlerden biridir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, farklı biyolojik kaynaklardan elde edilen eksozomların endotel hücre fonksiyonlarını düzenleyerek anjiyogenez sürecini belirgin şekilde desteklediğini ortaya koymuştur. Anjiyopoietin benzeri 6 (angiopoietin-like protein 6, ANGPTL6) yüklü serum kaynaklı eksozomların, ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz 1/2 (ERK1/2), c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve p38 mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal iletim kaskadlarını aktive edebildiği ve bu sayede endotel hücre işlevselliğinin yeniden kazanılmasını kolaylaştırdığı gösterilmiştir [15]. Buna ek olarak, serum eksozomları tarafından taşınan miRNA-16-2-3p'nin, asil-CoA dehidrogenaz orta zincir (ACADM) genini hedef alarak endotel hücre onarımını desteklediği rapor edilmiştir (Y. Liu et al., 2024).

Yağ dokusundan elde edilen mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozomların (adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes, ADSC-Exos) da anjiyogenez üzerinde güçlü etkiler sergilediği bildirilmektedir. Özellikle circ-Astn1 içeren ADSC-Exos'un, miR-138-5p ile sirtuin (SIRT) ailesi proteinleri arasındaki etkileşimi aracılık ederek endotel progenitör hücrelerinin (endothelial progenitor cells, EPC'ler) fonksiyonel kapasitesini geri kazandırdığı gösterilmiştir (Z. Wang et al., 2023).

2.1.3. Diyabetik Yara İyileşmesinde Hücresel Fonksiyonların Eksozomlar Yoluyla Düzenlenmesi

Eksozomlar; endotel hücreleri, fibroblastlar, keratinositler (HaCaT) ve makrofajlar dâhil olmak üzere cilt yara iyileşmesinde görev alan çeşitli hücre tiplerinin fonksiyonlarının yeniden kazanılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Önceki çalışmalar, 4T1 fare meme kanseri hücreleri tarafından salgılanan eksozomların miRNA-126a-3p içerdiğini ve bu miRNA'nın hücre göçü, proliferasyonu ve anjiyogenezi teşvik eden fosfatidilinozitol-3-kinaz/protein kinaz B (PI3K/Akt) sinyal yolunu aktive edebildiğini göstermiştir. Bu moleküler olaylar dizisi, özellikle kronik yara iyileşme sürecinin anlamlı şekilde hızlanmasına katkı sağlamaktadır (C. Zhang et al., 2024). Benzer şekilde, ağız skuamöz hücreli karsinom dokusundan izole edilen eksozomların da endotel hücreleri, keratinositler ve fibroblastların proliferasyonunu ve migrasyonunu teşvik ederek yara iyileşmesini desteklediği rapor edilmiştir (Xu et al., 2024).

Trombositten zengin plazmadan türetilen eksozomların (platelet-rich plasma exosomes, PRP-Exos), yüksek glikoz koşullarında reaktif oksijen türlerine (ROS) bağlı hücresel apoptozu önlediği ve bu etkinin, fibroblastlar gibi yara iyileşmesiyle ilişkili hücrelerin hayatta kalmasında kritik öneme sahip olan PDGF-BB/JAK2/STAT3/Bcl-2 sinyal yolunun aktivasyonu aracılığıyla gerçekleştiği gösterilmiştir. Ayrıca, yağ dokusundan elde edilen mezenkimal kök hücre eksozomları (ADSC-Exos) tarafından taşınan CircRps5'in, miRNA-124-3p'yi düzenleyerek makrofajların antiinflamatuvar M2 fenotipine polarizasyonunu teşvik ettiği; bu durumun da yara iyileşmesiyle ilişkili hücrelerin proliferasyonunu ve migrasyonunu daha da hızlandırdığı rapor edilmiştir (Yin & Shen, 2024).

2.1.4. Ekstraselüler Matrisin Eksozomlar Yoluyla Yeniden Düzenlenmesi

Ekstraselüler matriks (extracellular matrix, ECM); kolajen, elastin, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar gibi makromoleküllerden oluşan ve hücreleri çevreleyen karmaşık bir ağ yapısıdır. Diyabetik hastalarda ECM bileşenlerinin düzensiz ekspresyonu, yara iyileşme sürecinin bozulmasına yol açan önemli faktörlerden biridir. Bu nedenle, ECM ile ilişkili proteinlerin ekspresyonunun düzenlenmesi diyabetik yara iyileşmesini desteklemek açısından kritik öneme sahiptir. Son çalışmalar, HaCaT hücrelerinden türetilen eksozomlar tarafından taşınan metastazla ilişkili akciğer adenokarsinomu transkript 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) uzun kodlamayan RNA'sının, kolajen birikimini ve ECM yeniden şekillenmesini teşvik ederek cilt yara iyileşmesini desteklediğini göstermektedir (Kuang et al., 2023). Benzer şekilde, insan göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinden türetilen eksozomların (HucMSC-Exos) kolajen birikimini artırma kapasitesine sahip olduğu ve bu özelliğin doku onarımı ve rejenerasyonu açısından önemli bir terapötik potansiyel sunduğu bildirilmiştir (Teng et al., 2022). Yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerden elde edilen eksozomların, matris metalloproteinazlar (MMP1 ve MMP3) ile tip I ve tip III kolajen bakımından zengin olduğu; bu moleküllerin ekspresyonunun ciltte yeniden epitelizasyonu desteklediği gösterilmiştir (Zhao et al., 2021). Serumdan elde edilen eksozomların ise proliferasyon hücresel nükleer antijen (PCNA), Ki67, kolajen α zinciri ve fibronektin gibi ECM ile ilişkili proteinleri yüksek düzeyde eksprese ettiği; bu eksozomların fare embriyonik fibroblastlarının (NIH/3T3) migrasyonunu artırarak diyabetik fare modellerinde yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (L. Chen et al., 2021). Bu bulgular, doğal eksozomların kronik yara iyileşmesini çok yönlü olarak destekleyebildiğini ve diyabetle ilişkili

iyileşmeyen kronik yaraların tedavisinde yüksek klinik uygulama potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

2.2. Diyabetik Yara İyileşmesinde Ekzosomların Uygulamaları

Diyabetik yaraların iyileşme sürecindeki temel sorun, yara iyileşmesinin fizyolojik zamansal ekseninin bozulmasıdır. Hipoksi, bağışıklık hücresi fonksiyon bozukluğu, bakteriyel kolonizasyon ve biyofilm oluşumu gibi faktörler bu süreci daha da karmaşık hale getirmekte ve hâlen tam olarak çözilememiş klinik problemler arasında yer almaktadır (Chang & Nguyen, 2021). Bu nedenle, diyabetik yaralarda etkin tedavi stratejilerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Cilt yaralarının tedavisinde günümüzde başlıca dört ilaç verme sistemi kullanılmaktadır: püskürtme, lokal enjeksiyon, biyomalzemelerle birlikte uygulama ve sistemik tedavi (Dong, Wu, & Tian, 2023). Ekzosomların biyolojik işlevlerini en üst düzeye çıkarmanın yanı sıra, terapötik etkilerini sürdürülebilir ve hedefe yönelik biçimde destekleyecek gelişmiş iletim stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır (L. Liu & Liu, 2024).

Pansumanlar genellikle daha uygun bir yara iyileşme mikroçevresi sağlarken, iskeleler aktif biyomoleküller için taşıyıcı ve depolama platformu olarak işlev görmektedir. Bu yapılar; büyüme faktörlerinin, endojen hücrelerin ve biyoaktif ajanların fonksiyonlarını optimize ederek ilaçların veya inorganik bileşiklerin kontrollü taşınmasına olanak tanımakta ve biyomalzeme temelli yara iyileştirme yaklaşımlarına çok yönlülük kazandırmaktadır.

2.2.1. Ekzosomların Hidrojel ve Pansuman Tabanlı Taşıyıcı Sistemlerle Uygulanması

Ekzosomlar, diyabetik yaraların iyileşmesini destekleyen güçlü biyoaktif ajanlar olarak öne ekzosomlar, diyabetik yara iyileşmesini destekleyen güçlü biyoaktif veziküller olarak büyük

ilgi görmektedir. bununla birlikte, ekzosomların klinik uygulamalarında karşılaşılan en önemli zorluklardan biri, uygulandıktan sonra hızla dolaşımdan uzaklaştırılmaları ve yara dokusu boyunca son derece sınırlı bir penetrasyon göstermeleridir (Safari, Aghazadeh, Davaran, & Roshangar, 2022). Bu nedenle, ekzosomların terapötik etkinliğini artırmak amacıyla uygun uygulama yollarının tasarlanması ve optimize edilmesi gerekmektedir.

Hidrojeller, yara iyileşmesi sürecinde gaz değişimini kolaylaştırmaları, hayati besin maddelerini sağlamaları ve hücre göçü ile proliferasyonunu düzenlemeleri nedeniyle ideal ilaç taşıyıcı sistemler olarak öne çıkmaktadır (C. Wang et al., 2019). Ayrıca, ekzosomların lokal olarak tutulmasına ve kontrollü şekilde salınmasına olanak tanıyarak sinerjik bir iyileşme ortamı oluşturabilirler (Akbari et al., 2020). Wang ve arkadaşları tarafından geliştirilen F127/OHA-EPL bazlı FHE hidrojel, etkili antibakteriyel aktivite, pH-duyarlı ekzosom salımı ve hızlı kendi kendini iyileştirme gibi çoklu fonksiyonlar sergilemiştir. FHE@ekzosom hidrojel, HUVEC'lerin in vitro tüp oluşum kapasitesini önemli ölçüde artırmış ve diyabetik yaraların in vivo iyileşme verimliliğini iyileştirmiştir (C. Wang et al., 2019). Benzer şekilde, pH-duyarlı salım özelliğine sahip enjekte edilebilir termosensitif bir polisakkarit bazlı pansuman olan FEP@ekzosom sistemi, endotelial hücrelerin göç, proliferasyon ve tüp oluşum yeteneklerini desteklemiş; diyabetik fare modellerinde anjiyogenezi hızlandırarak yara iyileşmesini belirgin şekilde artırmıştır (M. Wang et al., 2019).

ADSC-ekzo@MMP-PEG hidrojel ve aljinat hidrojeline yüklenen ADSC-ekzosomların, in vivo diyabetik yara iyileşmesine anlamlı katkı sağladığı gösterilmiştir (Jiang et al., 2022). Hipoksi ile ön koşullandırılmış ADSC-ekzosomlarının metakrilat jelatin (GelMA) hidrojellerine gömülmesiyle elde edilen GelMA-HEXOS sistemleri, uygun gözeneklilik ve kontrollü

genişleme-bozunma özellikleri sergilemiş; circSnhg11 aracılığıyla diyabetik farelerde yara iyileşmesini hızlandırmıştır (Hu et al., 2023). Pluronic F-127 (PF-127) ile kombine edilen HUC-ekzosomlar, granülasyon dokusu rejenerasyonunu artırmış ve CD31, Ki67, TGF- β 1 ve VEGF ekspresyon düzeylerini yükselterek diyabetik sıçanlarda yara kapanmasını önemli ölçüde hızlandırmıştır (Jiayi Yang, Chen, Pan, Li, & Shen, 2020). Ayrıca, PVA/aljinat bazlı nanohidrojel (exo@H) içerisinde kapsüllenmiş HUC-ekzosomlar, HUVEC canlılığını artırmış ve diyabetik yara iyileşmesini kolaylaştırmıştır. Bu etkinin ERK1/2 sinyal yolu aracılığıyla VEGF düzeylerinin yükselmesiyle ilişkili olduğu doğrulanmıştır (Yiyao Zhang et al., 2021).

Daha gelişmiş uygulama stratejileri arasında mikroigne (MN) tabanlı sistemler de yer almaktadır. MSC-ekzosomlarını kapsülleyen ve ayarlanabilir PVA hidrojel iğne uçlarına sahip biyolojik olarak ilham alan adaptif yerleşik MN'ler, diyabetik sıçan modellerinde doku rejenerasyonunu etkili biçimde desteklemiştir (X. Zhang, Gan, Fan, Luo, & Zhao, 2023). VEGF kapsüllenmiş aktif polimorfonükleer nötrofil ekzosom taklitleri (aPMNEM'ler) ile ECM'nin birleştirilmesiyle oluşturulan VEGF-aPMNEM-ECM hidroجلي, diyabetik yaraların tedavisinde başarılı sonuçlar ortaya koymuştur (Yu et al., 2023).

2.2.2. Biyomalzeme Destekli Yenilikçi Tedavi Yaklaşımları

Son yıllarda, çift çapraz bağlı hidrojjeller ve biyomimetik nanofibröz iskeleler gibi yeni nesil biyomalzemeler, tek bileşenli sistemlerin sınırlamalarını aşmak amacıyla geliştirilmiştir. İpek proteini bazlı çift çapraz bağlı hidrojjeller (SP@MSC-Exos, SP@PRP ve SP@PRP-Exos), MMP-9 ekspresyonunun baskılanması yoluyla anjiyogenezi ve reepitelizasyonu artırmıştır (Bakadia et al., 2023). Bunun yanı sıra, hidrolitik olarak parçalanabilen hidrojjeller ve MSC/fibrin iskeleleri, hücrelerin

lokal kalıcılığını artırarak Akt/mTOR ve VEGF aracılı anjiyogenezi desteklemiştir (Martin et al., 2023). Genel olarak değerlendirildiğinde, biyomalzemelerle kombine edilen ekzosom temelli stratejiler, diyabetik yaraların tedavisinde umut verici ve çok yönlü bir yaklaşım sunmakta olup, klinik uygulamalara aktarılabilecek güçlü bir terapötik potansiyel taşımaktadır.

2.3. Diyabetik Yara Tedavisinde Ekzosomların Klinik Potansiyeli

Preklinik ve deneysel çalışmalar, ekzosomların diyabetik yara iyileşmesini desteklemede önemli bir terapötik potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, mevcut kanıtlar ekzosomların diyabetik hastalarda yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin halen sınırlı olduğunu ve klinik düzeyde etkinliklerinin net olarak tanımlanabilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Bu alandaki ilk insan çalışması, Jancy ve arkadaşları tarafından allojenik trombosit kaynaklı ekstraselüler veziküller (EV'ler) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ligand bazlı ekzosom afinitesi saflaştırma (LEAP) yöntemi ile üretilen trombosit kaynaklı EV'lerin (pEV'ler), potansiyel bir yara iyileştirme ajanı olarak insanlara güvenli bir şekilde enjekte edilebildiği gösterilmiştir (Johnson et al., 2023). Bu çalışma, ekzosom temelli tedavilerin klinik uygulanabilirliği açısından önemli bir dönüm noktası olmakla birlikte, diyabetik hastalarda etkinliğin değerlendirilmesi için ileri faz klinik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

ClinicalTrials.gov veritabanı incelendiğinde, diyabetik yara iyileşmesinde ekzosom bazlı yaklaşımların etkinliğini, güvenliğini ve uygulanabilirliğini değerlendirmeyi amaçlayan çok sayıda klinik çalışmanın yürütüldüğü veya planlandığı görülmektedir. Kronik cilt ülseri bulunan diyabetik hastaları kapsayan bir klinik çalışmada, mezenkimal kök hücre kaynaklı ekzosomlar ile beslenme eksikliği düzeltmesinin kombine etkileri

araştırılmaktadır (NCT05243368). Bu çalışma, kişiselleştirilmiş beslenme stratejilerinin ekzosom temelli rejeneratif yaklaşımlara katkısını değerlendirmeyi hedeflemektedir.

Kumamoto Üniversitesi'nde yürütülen erken faz 1 bir başka klinik çalışmada ise, otolog plazmadan elde edilen ekzosomların dirençli kutanöz ülserler üzerindeki etkileri araştırılmaktadır. Bu çalışma, yanıklar, bası yaraları, romatizmal hastalıklara bağlı ülserler, periferik arter hastalığı ve kronik venöz yetmezlik gibi farklı etiyolojilere sahip kronik yaraları kapsamaktadır (NCT02565264). Diyabetik ayak ülseri (DFU) olan hastalarda, topikal olarak uygulanan saflaştırılmış bir ekzosom ürünü olan PEP-TISSEEL'in etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmek amacıyla faz 2 randomize kontrollü bir klinik çalışma başlatılmıştır (NCT06319287). Bu çalışma, ekzosom bazlı ürünlerin ileri faz klinik değerlendirmeleri açısından dikkat çekici bir örnek teşkil etmektedir. Başka bir klinik çalışmada, yağ dokusu kaynaklı ekzosomların steril hidrojellerle kombine edilerek yara yüzeyine pansuman şeklinde uygulanması değerlendirilmiştir (NCT05475418). Bu yaklaşım, biyomalzeme destekli ekzosom uygulamalarının klinik alandaki potansiyelini ortaya koymaktadır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, mevcut klinik çalışmalar ekzosom temelli tedavilerin diyabetik yara iyileşmesinde güvenli ve uygulanabilir olabileceğine işaret etmektedir. Ancak, optimal ekzosom kaynağının belirlenmesi, dozlama stratejileri, uygulama yolları ve uzun dönem güvenlik profillerinin netleştirilmesi için daha geniş örneklemli ve ileri faz klinik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

2.4. Ekzosomların Klinik Kullanımında Sınırlamalar ve Çözüm Olasılıkları

2.4.1. Diyabetik Yaralarda Ekzosomların Kullanımına İlişkin Sınırlamalar

Diyabetik yara iyileşmesinde ekzosomların etkinliğini değerlendirmek amacıyla hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda kullanılmak üzere çeşitli yerleşik model sistemleri ve teknikler geliştirilmiştir. Ekzosomlar, diyabetik yara tedavisinde fare, sıçan, tavşan, domuz, *Drosophila melanogaster* ve yetişkin zebra balığı gibi farklı hayvan modellerinde test edilmiştir (Saeed & Martins-Green, 2023). Hayvan modelleri, insan klinik çalışmalarına öncül olacak önemli biyolojik içgörüler sağlamakla birlikte, bu modellerden elde edilen sonuçların insan deri fizyolojisiyle her zaman örtüşmediği bilinmektedir. Türler arası deri yapısındaki belirgin fizyolojik farklılıklar, ekzosomların biyolojik etkilerinin klinik çevirisini sınırlayan temel faktörlerden biridir. Mevcut hayvan modelleri arasında yalnızca domuz derisi, insan derisine yapısal ve fonksiyonel açıdan görece benzerlik göstermektedir (Saeed & Martins-Green, 2023). Bu nedenle, ekzosomların yara onarımı üzerindeki biyolojik etkilerinin domuz modellerinde doğrulanması önem arz etmektedir. Nitekim Kua ve arkadaşları, insan göbek kordonu epitel hücrelerinin (CLEC'ler) domuz yara modellerinde uygulanmasının, insan deri allogreftlerine (HSG'ler) kıyasla herhangi bir olumsuz etki oluşturmada daha hızlı yara iyileşmesini teşvik ettiğini bildirmiştir (Kua et al., 2022). Bununla birlikte, domuz modelleri dahi insan yara iyileşmesini tam olarak yansıtamamaktadır.

Fare modelleri, düşük maliyetleri ve kullanım kolaylıkları nedeniyle yara iyileşmesi araştırmalarında yaygın olarak tercih edilse de, insan diyabetik yara ortamının karmaşıklığını yeterince temsil edememektedir. İnsan doku örneklerinin sınırlı olduğu

durumlarda, proteomik, metabolomik ve genomik gibi yüksek verimli analiz teknolojilerinin kullanımı, yeni moleküler mekanizmaların ortaya konulması açısından alternatif bir yaklaşım sunmaktadır (Ren, Guo, Yang, & Wang, 2022). Buna karşın, hayvan modelleri ile insan klinik sonuçları arasındaki düşük uyum oranı, klinik açıdan anlamlı ekzosom çalışmalarının önündeki en önemli engellerden biri olarak varlığını sürdürmektedir. Bu nedenle, insan diyabetik yara iyileşmesini daha doğru yansıtan klinik öncesi modellere acil ihtiyaç bulunmaktadır.

Klinik düzeyde ise diyabetik yaraların karmaşıklığı; yaranın konumu, büyüklüğü, yara mikroçevresi ve hastaya özgü ek faktörlerden etkilenmektedir. Klinik çalışmalarda hasta uyumunun düşük olması, takip ziyaretlerinin kaçırılması ve öngörülemeyen klinik değişkenler, bazı çalışmaların erken sonlandırılmasına yol açabilmektedir. Ayrıca, farklı klinik çalışmalar arasında kullanılan metodolojiler, sonlanım noktaları ve takip sürelerindeki heterojenlik elde edilen sonuçların karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır (Joorabloo & Liu, 2023).

Bunun yanı sıra, mevcut klinik ve preklinik çalışmaların büyük bir kısmında ekzosomların güvenliğine ilişkin kapsamlı değerlendirmeler yapılmamıştır. Yara iyileşmesinde hücre dışı veziküller (EV'ler) üzerine gerçekleştirilen hayvan çalışmalarını kapsayan bir meta-analizde; cilt morfolojisi, böbrek ve karaciğer fonksiyonları, immün yanıtlar veya hücrel apoptoz gibi parametrelerde herhangi bir olumsuz etki bildirilmediği belirtilmiştir (Al-Masawa et al., 2022). Ancak diyabetik yaraların tedavisinde ekzosomların topikal veya sistemik kullanımına yönelik uzun dönem güvenlik verileri halen yetersizdir ve bu konu gelecekteki **klinik uygulamalarda özel bir dikkat gerektirmektedir.**

2.4.2. Klinik Uygulamadaki İkilemlere Yönelik Çözüm Yaklaşımları

Ekzosomlar, hücresiz tedavi ajanları olarak yara bakımı ve tanısal uygulamalarda sundukları avantajlar nedeniyle giderek artan bir ilgi görmektedir. Diyabetik yara iyileşmesinde ekzosomların terapötik etkilerini artırmaya yönelik yeni biyomühendislik stratejileri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (Joorabloo & Liu, 2023; L. Liu & Liu, 2024). Bu kapsamda, ekzosomların ana hücrelerinin genetik veya metabolik olarak modifiye edilmesi ya da terapötik moleküllerin doğrudan ekzosomlar içerisine yüklenmesi gibi yaklaşımlar ön plana çıkmaktadır.

Bu tür mühendislik temelli stratejiler, ekzosomların hedef dokuya özgüllüğünü, biyoyararlanımını ve terapötik etkinliğini artırma potansiyeline sahiptir. Dolayısıyla, standartlaştırılmış üretim protokolleri ve güvenlik değerlendirmeleri ile desteklenen biyomühendislik yaklaşımları, ekzosomların diyabetik yara tedavisinde klinik uygulamaya geçişini hızlandırabilecek önemli bir çözüm yolu olarak değerlendirilmektedir.

3. SONUÇ

Ekzosomlar, diyabetik yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu alanında umut vadeden biyolojik ajanlar olarak öne çıkmaktadır. Kendilerine özgü ve doğuştan gelen biyolojik özellikleri sayesinde yüksek biyouyumluluk, dolaşımda stabilite, dokuya etkili yerleşme ve düşük immünojenite sergilerler. Bu özellikler, ekzosomların immün yanıtı ve inflamasyonu modüle etmesine, hücre proliferasyonunu hızlandırmasına, anjiyogenezi uyarmasına ve kolajen yeniden şekillenmesini düzenlemesine olanak tanır. Özellikle hidrojeller ve gelişmiş yara pansumanları ile kombine edildiklerinde, diyabetik yara iyileşmesini destekleyici etkilerinin belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir.

Klinik uygulamalar açısından bakıldığında, ekzosomların sınırlı miktarda elde edilebilmesi, kalite kontrol süreçlerinin yetersizliği ve standartlaştırılmış potens testlerinin bulunmaması, bu biyolojik ajanların klinik kullanıma geçişini önemli ölçüde kısıtlamaktadır. Diyabetik yara tedavisinde ekzosomların terapötik etkinliği bugüne kadar yalnızca sınırlı sayıda klinik çalışmada değerlendirilmiş olup, bu alanda henüz ruhsatlandırılmış veya rutin kullanıma girmiş bir tedavi seçeneği mevcut değildir. Bu bağlamda, ekzosomların farklı terapötik uygulamalardaki potansiyelini ortaya koymak amacıyla, uygun sentez ve üretim yöntemlerinin belirlenmesine yönelik ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, ekzosomların biyolojik özelliklerini optimize etmeye, hedeflenebilirliğini artırmaya ve uygulama alanlarını genişletmeye yönelik mühendislik temelli modifikasyon stratejilerinin geliştirilmesi, gelecekteki klinik başarı açısından büyük önem taşımaktadır.

REFERANSLAR

- Akbari, A., Jabbari, N., Sharifi, R., Ahmadi, M., Vahhabi, A., Seyedzadeh, S. J., . . . Jabbari, E. (2020). Free and hydrogel encapsulated exosome-based therapies in regenerative medicine. *Life Sciences*, 249, 117447.
- Al-Masawa, M. E., Alshawsh, M. A., Ng, C. Y., Ng, A. M. H., Foo, J. B., Vijakumaran, U., . . . Law, J. X. (2022). Efficacy and safety of small extracellular vesicle interventions in wound healing and skin regeneration: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *Theranostics*, 12(15), 6455.
- Armstrong, D. G., Boulton, A. J., & Bus, S. A. (2017). Diabetic foot ulcers and their recurrence. *New England Journal of Medicine*, 376(24), 2367-2375.
- Bakadia, B. M., Ahmed, A. A. Q., Lamboni, L., Shi, Z., Mukole, B. M., Zheng, R., . . . Yang, G. (2023). Engineering homologous platelet-rich plasma, platelet-rich plasma-derived exosomes, and mesenchymal stem cell-derived exosomes-based dual-crosslinked hydrogels as bioactive diabetic wound dressings. *Bioactive Materials*, 28, 74-94.
- Chang, M., & Nguyen, T. T. (2021). Strategy for treatment of infected diabetic foot ulcers. *Accounts of chemical research*, 54(5), 1080-1093.
- Chen, C.-Y., Rao, S.-S., Ren, L., Hu, X.-K., Tan, Y.-J., Hu, Y., . . . Huang, J. (2018). Exosomal DMBT1 from human urine-derived stem cells facilitates diabetic wound repair by promoting angiogenesis. *Theranostics*, 8(6), 1607.
- Chen, L., Qin, L., Chen, C., Hu, Q., Wang, J., & Shen, J. (2021). Serum exosomes accelerate diabetic wound healing by promoting angiogenesis and ECM formation. *Cell Biology International*, 45(9), 1976-1985.

- Dong, J., Wu, B., & Tian, W. (2023). How to maximize the therapeutic effect of exosomes on skin wounds in diabetes mellitus: review and discussion. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1146991.
- Everett, E., & Mathioudakis, N. (2018). Update on management of diabetic foot ulcers. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1411(1), 153-165.
- He, C., Zheng, S., Luo, Y., & Wang, B. (2018). Exosome theranostics: biology and translational medicine. *Theranostics*, 8(1), 237.
- Hu, N., Cai, Z., Jiang, X., Wang, C., Tang, T., Xu, T., . . . Cui, W. (2023). Hypoxia-pretreated ADSC-derived exosome-embedded hydrogels promote angiogenesis and accelerate diabetic wound healing. *Acta biomaterialia*, 157, 175-186.
- Jiang, T., Liu, S., Wu, Z., Li, Q., Ren, S., Chen, J., . . . Yang, X. (2022). ADSC-exo@ MMP-PEG smart hydrogel promotes diabetic wound healing by optimizing cellular functions and relieving oxidative stress. *Materials Today Bio*, 16, 100365.
- Jiawei, S., Zhi, C., Kewei, T., & Xiaoping, L. (2022). Magnetic bead-based adsorption strategy for exosome isolation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 942077.
- Johnson, J., Law, S. Q., Shojaee, M., Hall, A. S., Bhuiyan, S., Lim, M. B., . . . Blyth, C. (2023). First-in-human clinical trial of allogeneic, platelet-derived extracellular vesicles as a potential therapeutic for delayed wound healing. *Journal of extracellular vesicles*, 12(7), 12332.

- Joorabloo, A., & Liu, T. (2023). Engineering exosome-based biomimetic nanovehicles for wound healing. *Journal of Controlled Release*, 356, 463-480.
- Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *science*, 367(6478), eaau6977.
- Kua, J. E. H., Siow, C. W., Lim, W. K., Masilamani, J., Tjin, M. S., Yeong, J., . . . Chua, A. W. C. (2022). Human umbilical cord lining-derived epithelial cells: a potential source of non-native epithelial cells that accelerate healing in a porcine cutaneous wound model. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 8918.
- Kuang, L., Zhang, C., Li, B., Deng, H., Chen, R., & Li, G. (2023). Human keratinocyte-derived exosomal MALAT1 promotes diabetic wound healing by upregulating MFGE8 via microRNA-1914-3p. *International Journal of Nanomedicine*, 949-970.
- Li, P., Kaslan, M., Lee, S. H., Yao, J., & Gao, Z. (2017). Progress in exosome isolation techniques. *Theranostics*, 7(3), 789.
- Li, S., Li, Y., Zhu, K., He, W., Guo, X., Wang, T., . . . Zhu, Z. (2024). Exosomes from mesenchymal stem cells: Potential applications in wound healing. *Life Sciences*, 357, 123066.
- Lim, J. Z. M., Ng, N. S. L., & Thomas, C. (2017). Prevention and treatment of diabetic foot ulcers. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 110(3), 104-109.
- Liu, L., & Liu, D. (2024). Bioengineered mesenchymal stem cell-derived exosomes: emerging strategies for diabetic wound healing. *Burns & Trauma*, 12, tkae030.
- Liu, Y., Zhong, C., Chen, S., Xue, Y., Wei, Z., Dong, L., & Kang, L. (2024). Circulating exosomal mir-16-2-3p is associated

- with coronary microvascular dysfunction in diabetes through regulating the fatty acid degradation of endothelial cells. *Cardiovascular Diabetology*, 23(1), 60.
- Martin, K. E., Hunckler, M. D., Chee, E., Caplin, J. D., Barber, G. F., Kalelkar, P. P., . . . García, A. J. (2023). Hydrolytic hydrogels tune mesenchymal stem cell persistence and immunomodulation for enhanced diabetic cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 301, 122256.
- Momen-Heravi, F. (2017). Isolation of extracellular vesicles by ultracentrifugation. In *Extracellular Vesicles: Methods and Protocols* (pp. 25-32): Springer.
- Prompers, L., Huijberts, M., Apelqvist, J., Jude, E., Piaggese, A., Bakker, K., . . . Mauricio, D. (2007). High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. *Diabetologia*, 50(1), 18-25.
- Ren, S., Guo, S., Yang, L., & Wang, C. (2022). Effect of composite biodegradable biomaterials on wound healing in diabetes. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 1060026.
- Saeed, S., & Martins-Green, M. (2023). Animal models for the study of acute cutaneous wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 31(1), 6-16.
- Safari, B., Aghazadeh, M., Davaran, S., & Roshangar, L. (2022). Exosome-loaded hydrogels: a new cell-free therapeutic approach for skin regeneration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 171, 50-59.
- Schaper, N. C., van Netten, J. J., Apelqvist, J., Bus, S. A., Hinchliffe, R. J., Lipsky, B. A., & Board, I. E. (2020). Practical guidelines on the prevention and management of

- diabetic foot disease (IWGDF 2019 update). *Diabetes/metabolism research and reviews*, 36, e3266.
- Shu, S. L., Yang, Y., Allen, C. L., Hurley, E., Tung, K. H., Minderman, H., . . . Ernstoff, M. S. (2020). Purity and yield of melanoma exosomes are dependent on isolation method. *Journal of extracellular vesicles*, 9(1), 1692401.
- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B., . . . Mbanya, J. C. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 183, 109119.
- Teng, L., Maqsood, M., Zhu, M., Zhou, Y., Kang, M., Zhou, J., & Chen, J. (2022). Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells accelerate diabetic wound healing via promoting M2 macrophage polarization, angiogenesis, and collagen deposition. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10421.
- Wang, C., Wang, M., Xu, T., Zhang, X., Lin, C., Gao, W., . . . Mao, C. (2019). Engineering bioactive self-healing antibacterial exosomes hydrogel for promoting chronic diabetic wound healing and complete skin regeneration. *Theranostics*, 9(1), 65.
- Wang, M., Wang, C., Chen, M., Xi, Y., Cheng, W., Mao, C., . . . Gao, W. (2019). Efficient angiogenesis-based diabetic wound healing/skin reconstruction through bioactive antibacterial adhesive ultraviolet shielding nanodressing with exosome release. *ACS nano*, 13(9), 10279-10293.
- Wang, Y., Jing, L., Lei, X., Ma, Z., Li, B., Shi, Y., . . . Hu, K. (2023). Umbilical cord mesenchymal stem cell-derived apoptotic extracellular vesicles ameliorate cutaneous

- wound healing in type 2 diabetic mice via macrophage pyroptosis inhibition. *Stem Cell Research & Therapy*, 14(1), 257.
- Wang, Z., Feng, C., Liu, H., Meng, T., Huang, W.-Q., Song, K.-X., & Wang, Y.-B. (2023). Exosomes from circ-Astn1-modified adipose-derived mesenchymal stem cells enhance wound healing through miR-138-5p/SIRT1/FOXO1 axis regulation. *World Journal of Stem Cells*, 15(5), 476.
- Wu, G., Zhang, J., Fan, G.-G., Zou, Z.-Y., Yin, Y.-L., & Li, G.-X. (2020). MiRNA-324-5p inhibits inflammatory response of diabetic vessels by targeting CPT1A. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 24(24).
- Wu, S., Zhou, Z., Li, Y., & Jiang, J. (2024). Advancements in diabetic foot ulcer research: Focus on mesenchymal stem cells and their exosomes. *Heliyon*, 10(17).
- Xu, H., Yang, H., Wang, Z., Tang, Q., Cao, X., Chen, C., . . . Rong, Y. (2024). Epidermal stem cell derived exosomes alleviate excessive autophagy induced endothelial cell apoptosis by delivering miR200b-3p to diabetic wounds. *Journal of Investigative Dermatology*, 144(5), 1134-1147. e1132.
- Yang, D., Zhang, W., Zhang, H., Zhang, F., Chen, L., Ma, L., . . . Zhao, Q. (2020). Progress, opportunity, and perspective on exosome isolation-efforts for efficient exosome-based theranostics. *Theranostics*, 10(8), 3684.
- Yang, J., Chen, Z., Pan, D., Li, H., & Shen, J. (2020). Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-derived exosomes combined pluronic F127 hydrogel promote chronic

- diabetic wound healing and complete skin regeneration. *International Journal of Nanomedicine*, 5911-5926.
- Yang, J., Xie, Y., Xia, Z., Ji, S., Yang, X., Yue, D., . . . Fan, Y. (2024). HucMSC-Exo Induced N2 polarization of neutrophils: implications for angiogenesis and tissue restoration in Wound Healing. *International Journal of Nanomedicine*, 3555-3575.
- Yin, D., & Shen, G. (2024). Exosomes from adipose-derived stem cells regulate macrophage polarization and accelerate diabetic wound healing via the circ-Rps5/miR-124-3p axis. *Immunity, Inflammation and Disease*, 12(6), e1274.
- Yu, Y., Jin, H., Li, L., Zhang, X., Zheng, C., Gao, X., . . . Sun, B. (2023). An injectable, activated neutrophil-derived exosome mimetics/extracellular matrix hybrid hydrogel with antibacterial activity and wound healing promotion effect for diabetic wound therapy. *Journal of nanobiotechnology*, 21(1), 308.
- Zhang, C., Xiao, W., Wang, H., Li, L., Yang, Y., Hao, Y., . . . Nan, W. (2024). Exosomes Derived from Mouse Breast Carcinoma Cells Facilitate Diabetic Wound Healing. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 21(4), 571-586.
- Zhang, X., Gan, J., Fan, L., Luo, Z., & Zhao, Y. (2023). Bioinspired adaptable indwelling microneedles for treatment of diabetic ulcers. *Advanced Materials*, 35(23), 2210903.
- Zhang, Y., Bai, X., Shen, K., Luo, L., Zhao, M., Xu, C., . . . Gao, X. (2022). Exosomes derived from adipose mesenchymal stem cells promote diabetic chronic wound healing through SIRT3/SOD2. *Cells*, 11(16), 2568.

- Zhang, Y., Zhang, P., Gao, X., Chang, L., Chen, Z., & Mei, X. (2021). Preparation of exosomes encapsulated nanohydrogel for accelerating wound healing of diabetic rats by promoting angiogenesis. *Materials Science and Engineering: C*, 120, 111671.
- Zhao, B., Zhang, X., Zhang, Y., Lu, Y., Zhang, W., Lu, S., . . . Zhang, J. (2021). Human exosomes accelerate cutaneous wound healing by promoting collagen synthesis in a diabetic mouse model. *Stem Cells and Development*, 30(18), 922-933.

TÜRKİYE VE DÜNYADA
TIBBİ FARMAKOLOJİ

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com