

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**^{99m}Tc İLE İŞARETLİ BLEOMYCİN VE BLEOMYCİN-GLUKURONİD'İN
RADYOFARMASÖTİK POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Feray KOÇAN

Anabilim Dalı : Fizikokimya

Programı : Kimya

MANİSA 2010

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**^{99m}Tc İLE İŞARETLİ BLEOMYCİN VE BLEOMYCİN-GLUKURONİD'İN
RADYOFARMASÖTİK POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Feray KOÇAN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 10-12-2009

Tezin Savunulduğu Tarih : 15-01-2010

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Uğur AVCIBAŞI

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Perihan ÜNAK

: Yrd. Doç. Dr. Ümran HIÇSÖNMEZ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SEMBOL LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
ÇİZELGE LİSTESİ.....	X
KISALTMALAR LİSTESİ.....	XI
TEŞEKKÜR.....	XII
TÜRKÇE ÖZET.....	XIII
ABSTRACT.....	XV
1.0. GİRİŞ.....	1
2.0. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Radyofarmasötikler.....	7
2.1.1. Radyonüklid seçimi.....	7
2.1.2. Farmasötik.....	8
2.1.2.1. Farmasötik seçimi.....	8
2.2. Peptid hormonları.....	8
2.3. Glukuronid bileşikleri, oluşumu ve önemi.....	9
2.4. Deglukuronidasyon ve önemi.....	10
2.5. Teknesyum (^{99m} Tc) kimyası.....	11

İÇİNDEKİLER (Devam)

2.5.1.	Teknesyum elementi.....	11
2.5.2.	Metastabil-Teknesyum izomerik çekirdeği (^{99m} Tc).....	12
2.5.3.	^{99m} Tc kimyası.....	13
2.5.4.	⁹⁹ Mo / ^{99m} Tc jeneratörü.....	14
2.5.5.	^{99m} Tc radyofarmasötikleri.....	15
2.5.5.1.	^{99m} Tc 'un indirgenmesi.....	15
2.5.5.2.	Askorbik asit metodu.....	16
2.5.5.3.	Fe (II) metodu.....	16
2.5.5.4.	Fe (III) ve askorbik asit metodu	16
2.5.5.5.	Sn (II) metodu.....	16
2.6.	İşaretleme teknikleri.....	16
2.6.1.	Doğrudan (Direkt) işaretleme tekniği.....	17
2.6.2.	Ara kompleks üzerinden işaretleme tekniği.....	18
2.6.3.	Dolaylı (İndirekt) işaretleme tekniği.....	18
2.7.	^{99m} Tc işaretli bileşiklerin kalite kontrolü.....	19
2.7.1.	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC).....	19
2.7.2.	İnce tabaka kromatografisi.....	20
2.7.3.	Stabilite.....	21
2.7.4.	Partisyon katsayısı (Lipofilite)	22
2.7.5.	Görüntüleme ve sintigrafi.....	22

İÇİNDEKİLER (Devam)

2.7.5.1.	Dinamik sintigrafi.....	23
2.7.5.2.	Statik sintigrafi.....	23
2.7.5.3.	Tüm vücut sintigrafisi.....	24
2.7.5.4.	Tomografik sintigrafi.....	24
2.7.6.	Aktivite.....	25
2.7.6.1	Spesifik aktivite.....	27
2.7.7.	Biyodağılım	27
3.0.	MATERYAL VE METOD.....	28
3.1.	Kullanılan kimyasallar ve cihazlar.....	28
3.1.1.	Kullanılan kimyasallar.....	28
3.1.2.	Kullanılan cihazlar.....	29
3.2.	BLMG'in enzimatik yöntemle sentezi.....	29
3.3.	Kullanılan çözeltiler.....	29
3.3.1.	Kalay klorür çözeltisi.....	29
3.3.2.	BLM çözeltisinin hazırlanması.....	29
3.4.	İşaretleme çalışmaları.....	29
3.4.1.	^{99m} Tc-BLM kompleksine ait işaretleme çalışması.....	29
3.4.2.	^{99m} Tc-BLMG kompleksine ait işaretleme çalışması.....	30
3.5.	Kromatografi.....	30
3.5.1.	HPLC çalışması.....	30

İÇİNDEKİLER (Devam)

3.6.	Kalite kontrol çalışmaları.....	30
3.6.1.	TLRC çalışmaları.....	30
3.7.	Lipofilite çalışmaları.....	31
3.8.	İnsan kan serumundaki stabilite çalışmaları.....	31
3.9.	Erkek albino wistar sıçanlar üzerindeki yapılan biyodağılım çalışmaları.....	31
3.9.1.	^{99m} Tc-BLM'ye ait biyodağılım çalışmaları.....	31
3.9.2.	^{99m} Tc-BLMG'ye ait biyodağılım çalışmaları.....	32
3.10.	Erkek Albino tavşanlar üzerinde sintigrafi çalışmaları.....	32
3.11.	İstatistiksel analizler.....	33
4.0.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1.	İnaktif bileşenler (BLM ve BLMG) için kullanılan kromatografik yöntem ve sonuçları.....	34
4.1.1.	BLM ve BLMG'e ait HPLC sonuçları.....	34
4.2.	^{99m} Tc ile işaretli bileşiklerin kalite kontrol çalışmaları.....	35
4.2.1.	TLRC sonuçları.....	35
4.3.	n-Oktanol / Su oranı (Lipofilite) sonuçları.....	39
4.4.	Serumda stabilite sonuçları.....	40
4.5.	^{99m} Tc-BLM ve ^{99m} Tc-BLMG'e ait biyodağılım sonuçları.....	41
4.6.	^{99m} Tc-BLM ve ^{99m} Tc-BLMG bileşiklerine ait sintigrafi sonuçları.....	53
4.7.	İstatistiksel analiz sonuçları.....	60
5.0	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
	KAYNAK DİZİNİ.....	65
	ÖZGEÇMİŞ.....	71

SEMBOL LİSTESİ

N	: Azot
Ar	: Argon
β	: Beta
dk	: Dakika
Fe	: Demir-56
^2H	: Hidrojen-2
γ	: Gama
Sn	: Kalay
keV	: Kilo elektron volt
S	: Kükürt
μL	: Mikrolitre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
mV	: Milivolt
$^{99\text{m}}\text{Tc}^{4+}$: İndirgenmiş teknesyum iyonu
MeV	: Milyon elektron volt
^{99}Mo	: Molibden-99
nm	: Nanometre
n	: Nötron
O	: Oksijen
p	: p orbitali

SEMBOL LİSTESİ (DEVAM)

$^{99m}\text{TcO}_4^-$: Perteknatat iyonu
$_{44}\text{Ru}$: Rutenyum
s	: s orbitali
cm	: Santimetre
sn	: Saniye
$^{99m}\text{Tc}^{7+}$: Serbest teknesyum iyonu
^{99}Tc	: Teknesyum-99
^{99m}Tc	: Teknesyum-99m
^{238}U	: Uranyum-238
$t_{1/2}$: Yarılanma süresi
Zr	: Zirkonyum
Bq	: Bekörel
Ci	: Küri
mCi	: Miliküri
μCi	: Mikroküri
nCi	: Nanoküri
pCi	: Pikoküri
KBq	: Kilobekörel
MBq	: Megabekörel
GBq	: Gıgabekörel

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1. BLM A2 ve BLM B2 izomerlerinin kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2.2. Karaciğerdeki glukuronidasyon mekanizmasının şematik gösterimi.....	10
Şekil 2.3. ⁹⁹ Mo'un ⁹⁹ Tc'a bozunması.....	13
Şekil 2.4. ⁹⁹ Mo / ^{99m} Tc jeneratörü.....	15
Şekil 2.5. Temel bir HPLC sistemi.....	19
Şekil 2.6. İnce tabaka kromatografisi.....	20
Şekil 3.1. TLRC çalışmalarında kullanılan TLC scanner cihazı (Bioscan 2000).....	30
Şekil 4.1. BLMG'e ait HPLC kromatogramı	34
Şekil 4.2. BLMG'e ait HPLC kromatogramı.....	34
Şekil 4.3. ^{99m} Tc-BLMG'in TLRC 2 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı.....	37
Şekil 4.4. ^{99m} Tc ⁴⁺ 'ün TLRC 2 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı.....	37
Şekil 4.5. Na ^{99m} TcO ₄ 'ün TLRC 2 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı.....	37
Şekil 4.6. ^{99m} Tc-BLM'nin TLRC 1 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı.....	38
Şekil 4.7. ^{99m} Tc ⁴⁺ 'ün TLRC 1 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı.....	38
Şekil 4.8. ^{99m} Tc ⁷⁺ 'ün TLRC 1 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı....	38
Şekil 4.9. ^{99m} Tc-BLM'nin insan kan serumundaki stabilitesi.....	40
Şekil 4.10. ^{99m} Tc-BLMG'in insan kan serumundaki stabilitesi.....	41
Şekil 4.11. ^{99m} Tc-BLM bileşiğinin Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımı.....	42

ŞEKİL LİSTESİ (DEVAM)

	Sayfa
Şekil 4.12. ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin seçilmiş bazı organlarda hedef organ/kan oranları.....	43
Şekil 4.13. ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin seçilmiş bazı organlarda hedef organ/kas oranları.....	43
Şekil 4.14. ^{99m}Tc -BLM işaretli bileşiğinin karaciğer dokusundaki %ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı.....	44
Şekil 4.15. ^{99m}Tc -BLM işaretli bileşiğinin omurilik dokusundaki %ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı.....	45
Şekil 4.16. ^{99m}Tc -BLM işaretli bileşiğinin dalak dokusundaki %ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı.....	46
Şekil 4.17. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımı.....	48
Şekil 4.18. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin seçilmiş bazı organlarda hedef organ/kan oranları..	48
Şekil 4.19. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin seçilmiş bazı organlarda hedef organ/kas oranları..	49
Şekil 4.20. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin böbrek dokusundaki %ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı.....	49
Şekil 4.21. ^{99m}Tc -BLMG işaretli bileşiğinin omurilik dokusundaki %ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı.....	50
Şekil 4.22. ^{99m}Tc -BLMG işaretli bileşiğinin kalınbarsak dokusundaki %ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı.....	51
Şekil 4.23. Tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilen ^{99m}Tc -BLM bileşiğine ait ait 30 dk'lık dinamik sintigramlar.....	56
Şekil 4.24. Tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilen ^{99m}Tc -BLM bileşiğine ait ait 30 dk'lık statik sintigramlar.....	57
Şekil 4.25. Tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilen ^{99m}Tc -BLMG bileşiğine ait dinamik sintigramlar.....	58
Şekil 4.26. Tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilen ^{99m}Tc -BLMG bileşiğine ait statik sintigramlar.....	59

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Nükleer tıpta görüntüleme amaçlı kullanılan ^{99m}Tc radyo- işaretli bileşikleri.....	14
Çizelge 4.1. HPLC yönteminde uygulanan kromatografik koşullar.....	34
Çizelge 4.2. Kalite kontrol çalışmalarında kullanılan TLRC banyoları	35
Çizelge 4.3. ^{99m}Tc -BLM ve radyoaktif bileşenlerine ait R_f değerleri.....	35
Çizelge 4.4. ^{99m}Tc -BLMG ve radyoaktif bileşenlerine ait R_f değerleri.....	36
Çizelge 4.5. İnaktif ve işaretli bileşiklerin teorik ve deneysel LOGP değerleri...	39
Çizelge 4.6. ^{99m}Tc -BLM'nin insan kan serumundaki stabilite sonuçları.....	40
Çizelge 4.7. ^{99m}Tc -BLMG'in insan kan serumundaki stabilite sonuçları.....	41
Çizelge 4.8. ^{99m}Tc -BLM işaretli bileşiğinin sıçanlara enjeksiyonundan sonra geçen 30.,120. ve 240.dk sonunda sıçandan alınan farklı organlara ait % ID/g (organ) değerleri.....	42
Çizelge 4.9. ^{99m}Tc -BLMG işaretli bileşiğinin sıçanlara enjeksiyonundan sonra geçen 30.,120. ve 240. dk sonunda sıçandan alınan farklı organlara ait % ID/g (organ) değerleri.....	47
Çizelge 4.10. Varyans analizi sonucuna göre ^{99m}Tc -BLM için bazı organlara ilişkin P değerleri ve korelasyon katsayısı (R) değerleri.....	61
Çizelge 4.11. Varyans analizi sonucuna göre ^{99m}Tc -BLMG için bazı organlara ilişkin P değerleri ve korelasyon katsayısı (R) değerleri.....	61
Çizelge 4.12. Varyans analizi sonucuna göre ^{99m}Tc -BLM için bazı organlara ilişkin P değerleri.....	61
Çizelge 4.13. Varyans analizi sonucuna göre ^{99m}Tc -BLMG için bazı organlara ilişkin P değerleri.....	62

KISALTMALAR LİSTESİ

BLM	: Bleomycin
BLMG	: Bleomycin-glukuronid
^{99m} Tc-BLM	: Metastabil ^{99m} Tc çekirdeği ile işaretli bleomycin
^{99m} Tc-BLMG	: ^{99m} Tc-Metastabil teknesyum çekirdeği ile işaretli bleomycin-glukuronid
UDPGA	: Üridin difosfat glukuronik asit
UDPGT	: Üridin difosfat glukuronil transferaz
DDT	: Dithiothreitol - [1,1-(2,2,-trikloroetan-1,1-diol)bis(4-klorobenzen)]
DNA	: Deoksi ribo nükleik asit
G	: Glukuronid
R _f	: Başlangıçtan uzaklık
R _t	: Alıkonma zamanı
TLRC	: İnce tabaka radyokromatografisi
HPLC	: Yüksek performans sıvı kromatografisi
% ID/g	: Gram doku başına enjekte edilen dozun yüzdesi
PYPER	: [N-(2,6-diizopropilfenil)-N-(4-piridil)-perilen-3,4,9,10-tetrakarboksilikdiimid]
SYNKAVIT	: [2-metil-1,4-naftakinol-bis(disodyumfosfat)]
BFCA	: Bifonksiyonel şelatlayıcı ajan
BBB	: Kan beyin bariyeri
EC	: Elektron yakalaması
GH	: Glukoheptonat
GHG	: Glukoheptonat glukuronid
^{99m} Tc-GH	: Metastabil teknesyum çekirdeği ile işaretli glukoheptonat
^{99m} Tc-GHG	: Metastabil teknesyum çekirdeği ile işaretli glukoheptonat glukuronid
CCK-8	: Ksilostokinon (cholecystokinin)
^{99m} Tc-GH-CCK	: Metastabil teknesyum çekirdeği ile işaretli glukoheptonat ksilostokinon
DTPA	: Dietilentriamintetraasetik asit

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca tecrübesini, birikimini ve desteğini benden esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Uğur AVCIBAŞI'na, çalışmamın her aşamasında fikirleri ve emeğiyle yanımda olan Sayın Doç. Dr. Fazilet Zümrüt BİBER MÜFTÜLER'e, Nükleer Bilimler Enstitüsü'nün sıcak atmosferinde kapılarını açarak, bana çalışma olanağı sağlayan Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK'a, mesleki anlamda kendisinden çok şey öğrendiğim Arş. Gör. Çiğdem ACAR İÇHEDEF'e, biyodağılım çalışmalarımda emeğiyle yanımda olan Öğr. Gör. Dr. Emin İlker MEDİNE'ye, sintigrafi çalışmalarımda misafirperverliği ve hoşgörüsüyle laboratuvar ortamında bana çalışma olanağı sağlayan C. B. Ü. Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda görevli Sayın Yrd. Doç. Dr. Gül GÜMÜŞER'e, C. B. Ü.'de yürüttüğüm çalışmalarım sırasında $^{99m}\text{TcO}_4$ temin edilmesinde ve sintigrafi çalışmalarımındaki yardımları nedeniyle Yüksek Lisans Öğrencisi Gökçen TOPAL'a ve Doktora Öğrencisi Yasemin PARLAK'a, bu çalışmaların yapılabilmesi için maddi destek veren C. B. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna (FBE 2008-017 nolu proje), Yüksek Lisans arkadaşım Hasan DEMİROĞLU'na ve gerek maddi gerekse manevi anlamda her zaman güvenlerini ve desteğini omzumda hissettiğim, beni bugünlere getiren çok sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Feray KOÇAN

ÖZET

^{99m}Tc İLE İŞARETLİ BLEOMYCİN VE BLEOMYCİN-GLUKURONİD'İN RADYOFARMASÖTİK POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ

KOÇAN, Feray

Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Uğur AVCIBAŞI

Bleomycin (BLM) 1962 yılında Japon bilim adamı Dr. Hamao UMEZAWA tarafından *Streptomyces verticillus* kültür ortamından izole edilen bir glikopeptid antibiyotiktir. Sitotoksik ve anti-kanserojen özelliklerinden dolayı, BLM DNA'da tek ya da çift sarmal yapıda kırılmalara sebep olur. Klinik olarak kullanılan BLM A2 (~60%), B2 (~30%) ve DM (~5%) olmak üzere üç farklı izomere sahiptir. BLM'nin ¹³¹I, ⁶⁷Ga, ¹¹¹In ve ^{99m}Tc gibi metallerle kompleksler oluşturduğu bilinmektedir. Bunlardan bazıları radyoiz deneylerinde ve devamında klinik görüntüleme çalışmalarında görüldüğü gibi tümörde birikim özelliği gösterirler. Buna ilaveten, kullanılan izotopların hedefe yönelik tedavide, yararlı olabileceği umulmaktadır. BLM akciğer kanseri, lenfoma, karsinoma, testis, baş-boyun kanseri ve diğer tümörlerin tedavisinde bir anti-tümör ajanı olarak kullanılmaktadır.

Optimal enerjili gama ışını emisyonu, uygun yarı ömrü 6 saat ve ⁹⁹Mo/ ^{99m}Tc jeneratör sisteminden rahat sağlanması nedeniyle, ^{99m}Tc tanınal nükleer tıpta dış görüntülemeye en çok tercih edilen radyonükliddir. Bunun yanında, Tc uygun ilaçlara bağlanarak kullanılır. ^{99m}Tc'in uygun görüntüleme özellikleri nedeniyle, BLM gibi sitotoksik ilaçlar ^{99m}Tc ile birleşirse, kanser görüntülemeye iyi bir radyofarmasötik elde edilir.

Bu çalışmanın amacı, BLM ve BLM'nin bir glukuronid türevi olan BLMG'yi ^{99m}Tc ile işaretlemek ve yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC), ince tabaka radyokromatografisi (TLRC) gibi radyokimyasal metotlar, biyodağılım ve görüntüleme çalışmalarıyla, bu radyoışaretili bileşiklerin radyofarmasötik potansiyelini incelemektir.

İlk olarak, BLMG mikrozomal preparasyon ile, UDP-glukuronik asit ve sıçan karaciğerinden izole edilen UDP-glukuroniltransferaz enzimi kullanılarak enzimatik olarak sentezlenmiştir. BLMG HPLC metodu kullanılarak saflaştırıldıktan sonra BLM ve BLMG ^{99m}Tc ile işaretlenmiştir. Kalite kontrol çalışmaları TLRC tekniği kullanılarak yapılmıştır. Daha sonra,

radyoişaretli bileşikler için en uygun çözelti veya çözelti sistemleri saptanmıştır. BLMG için en uygun çözelti deterjanlı çözelti, BLM için ise asit-sitrat-dekstroz çözeltisi olarak belirlenmiştir. Son olarak, ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG çözeltileri hazırlanmış ve radyoişaretleme verimleri her ikisi için %99'dan büyük olarak bulunmuştur.

İkinci olarak, stabilite çalışmaları yapılmıştır. Komplekslerin stabiliteleri insan kan serumu kullanılarak belirlenmiştir. Stabilite çalışmaları sonunda, radyoişaretli bileşiklerin ikisinin de 3 saat süresince kan serumunda kararlı kaldığı tespit edilmiştir.

Üçüncü olarak, oda sıcaklığında hidrofobik parametre olarak kullanılan n-oktanol/su oranı olan partiyon katsayısı "LogP" ölçülmüştür. Bu ölçümler neticesinde BLM ve BLMG'in deneysel olarak bulunan LogP değerleriyle teorik değerleri arasında fizikokimyasal olarak anlamlı korelasyonlar saptanmıştır.

Çalışmanın son aşamasında, sintigrafi ve biyodağılım çalışmaları sıçan ve tavşan gibi deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hedef organların her birinin radyoaktivitesi Cd(Te) kuyu tipi gama sayacı kullanılarak gram doku başına düşen aktivite olarak (% ID/g) ölçülmüştür. BLM'ye ilişkin en yüksek tutulum karaciğer, dalak ve omuilikde BLMG'e ilişkin en yüksek tutulum ise akciğer, karaciğer, böbrek, kalın barsak ve omurilikde gerçekleşmiştir. Bütün bunlara ilave olarak, biyodağılım çalışmalarının tüm deneysel verileri SPSS 13 istatistiksel yazılım programı ile değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: ^{99m}Tc , BLM, BLMG, ^{99m}Tc -BLM, ^{99m}Tc -BLMG, Radyoişaretleme, Sintigrafi, Glukuronidasyon, Biyodağılım.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF RADIOPHARMACEUTICAL POTENTIAL OF BLEOMYCIN AND BLEOMYCIN-GLUCURONIDE LABELED WITH ^{99m}Tc

KOÇAN, Feray

Master Thesis, Institute of Science and Technology

Supervisor : Doç. Dr. Uğur AVCIBAŞI

Bleomycin (BLM) is a series of glycopeptide in antibiotics isolated from the culture media of *Streptomyces verticillus* by Dr. Hamao UMEZAWA who was a japan scientist in 1962. Due to the cytotoxic and anti-carcinogen properties, BLM causes single- or double-strand breaks in DNA. The BLM used clinically has three distinct isomers A2 (~60%), B2 (~30%) and DM (~5%). BLM is known to form complexes with a range of metal as ^{131}I , ^{67}Ga , ^{111}In and ^{99m}Tc . Some of which have been showed to exhibit tumor-localizing properties as demonstrated by radiotracer experiments and subsequently by clinical imaging studies. Furthermore, it has been proposed that may be useful for targeted therapy using isotopes. BLM is used as an anti-tumor agent in the treatment of lung cancer, lymphoma, carcinoma, testicle, head, neck and other tumors.

Due to the emission of optimal energy of gamma ray (140 keV), a suitable half-life (6h) and availability from $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator systems, ^{99m}Tc is the most desirable radionuclide for external imaging in diagnostic nuclear medicine. Besides, it is used in combination with appropriate drugs. Due to appropriate imaging properties of ^{99m}Tc , if cytotoxic drugs as BLM combines with ^{99m}Tc , a good cancer imaging radiopharmaceutical is obtained.

The aim of the current study is to label BLM and Bleomycin-glukuronid (BLMG) that is a glucuronide derivate of BLM with ^{99m}Tc and to investigate the radiopharmaceutical potential of these radiolabeled compounds using radiochemical methods like high performance liquid chromatography (HPLC), thin layer radiochromatography (TLRC); via biodistribution studies and imaging.

First of all, BLMG was enzymatically synthesized using microsomal preparations, UDP-glucuronic acid and UDP-glucuronyltransferase enzyme isolated from rat liver. BLMG was purified using HPLC method. Then, both BLM and BLMG were labeled with ^{99m}Tc . The quality control studies were carried out using TLRC technique. The most appropriate solution or solution systems were determined for radiolabeled compounds. The appropriate solution for BLM was acid-citrate-dextrose (ACD) whereas the other solution for BLMG was solution with

detergent. At the end of this, ^{99m}Tc -BLM and ^{99m}Tc -BLMG were prepared and their radiolabeling yield was found higher than >99%.

Secondly, the stability was carried out. The stability of the complexes was investigated in the presence of human serum. At the end of the stability studies, the radiolabeled compounds were maintained stable at 37°C up to 3h of incubation.

Thirdly, the n-octanol/water partition coefficient, LogP, which is used as hydrophobic parameter was measured at the room temperature. Physicochemically meaningful correlations were determined between found values and predicted values of BLM and BLMG.

Finally, the imaging and biodistribution studies were performed on laboratory animals as male Albino Wistar rats and rabbits, respectively. The radioactivities of each target organs were calculated as an activity per gram tissue (% ID/g) using a Cd(Te) counter. The highest accumulation in coordination with BLM was observed in the liver, the bladder and the spinal cord. On the other hand, the highest accumulation in coordination with BLMG was observed in the lung, the liver, the kidney, the large intestine and spinal cord. Besides, the whole experimental data of biodistribution studies were evaluated SPSS 13 statistical software program.

Keywords: ^{99m}Tc , BLM, BLMG, ^{99m}Tc -BLM, ^{99m}Tc -BLMG, Radiolabeling, Glucuronidation, Scintigraphy, Biodistribution.

1. GİRİŞ

Kanser önemi giderek artan bir sağlık ve yaşam sorunu durumundadır. Ölüm nedeni olarak, kalp ve damar hastalıklarının hemen ardından gelmektedir. Batı toplumlarında her yıl 250-350 kişiden biri kansere yakalanmaktadır. 60 yaşın üzerindeki gruplarda ise kanser sıklığı artmakta ve her 300 kişide 4-5 kişi civarına yükselmektedir. Kesin istatistikler bulunmama ile birlikte ülkemizdeki kanser vakalarının bunun yarısı kadar olduğu tahmin edilmektedir.

Yurdumuzda en sık görülen kanserler erkeklerde akciğer, prostat, kalın barsak, rektum, mide ve pankreas; kadınlarda meme, akciğer, kalın barsak, rektum, serviks, over, mide ve pankreas kanserleri olarak sıralanmaktadır. Deri kanseri sıklığı her iki cinsten de yüksek olmakla birlikte, habis melanom dışındaki deri kanserleri tedaviye iyi cevap verdiklerinden ölüm oranı çok düşüktür.

Kanser, bazı etkilerle değişime uğramış hücrelerin, gerek yerel gerekse uzak noktalarda kontrolsüz olarak çoğalıp büyümelerinden kaynaklanan habis hastalıklar grubudur. Normalde hücreler belirli bir kontrol altında, ihtiyaca göre bölünerek çoğalırlar. Hücreler bir taraftan programlı ölüm ya da "apoptoz" denen olay ile yok olurken, diğer taraftan da büyüme faktörlerinin etkisiyle çoğalır. Büyüme faktörleri normalde DNA'daki çeşitli genlerin etkisiyle oluşan proteinlerdir. Bu genler mutasyona (değişime) uğrayarak hücrelerin aşırı büyümesine sebep olurlarsa, o zaman kanser oluşur ve bu genlere de "onkogen" denir.

Genler DNA'da bulunduğundan hayatın merkezi maddesi olarak kabul edilmektedir. Genler, çocuğa anne veya babadan siyah ya da sarı saç veya mavi göz gibi özelliklerin ya da *talasemi (Akdeniz anemisi)* gibi hastalıkların geçmesine sebep olan kalıtım birimleridir. DNA uzun bir teyp şeridi gibidir, bilgisayardaki programları taşıyıcı şeritlere benzetilebilir ve deoksiribonükleik asit dediğimiz hücre çekirdeği asidinin baş harflerinden oluşan bir kısaltmadır. DNA hücrelerde kromozomlar şeklinde bulunur. Vücudumuza nasıl büyüyeceğini bildiren, hatta davranışlarımızı belirleyen biyolojik bir programlar dizinidir. DNA, vücudunda milyarlarca hücre vardır ve her hücredeki DNA o hücrenin kontrol merkezidir. İnsanda 23 tane çift kromozom vardır. Bunlar çekirdekte çiftler halinde bulunur. Yalnız son çifttekiler cinsiyet kromozomu olarak farklıdır; kadında XX ve erkekte XY olarak bulunur. Kanser genleri ya da onkogenler 70'li yılların sonlarına doğru bulunmaya başlanmış ve günümüze kadar aktif bir şekilde geniş çaptaki araştırmaların konusunu oluşturarak, kanserin daha iyi anlaşılmasına, tanı ve tedavisinin geliştirilmesine hizmet etmişlerdir. Onkogenleri oluşturan mutasyonlar, karsinojen maddelerin, virüslerin ve X-ışınlarının etkisiyle meydana gelir. Kanser bir organda oluşuktan sonra, uzak doku ve organlara da metastaz dediğimiz yerleşimler yapar ve genel olarak hastalar metastazlar nedeniyle kaybedilir. Metastaz hızlı ilerleyen kanserlerde erken, daha ılımlı kanserlerde ise geç oluşur. Metastaz oluşumu kanser hücrelerinin bazı organlara kolay yerleşmelerini sağlayan özelliklerine bağlı olarak oluşmaktadır. Örneğin, kolon kanserleri karaciğere, prostat kanserleri kemiğe metastaz yapmayı tercih etmektedir. Burada, kanserli dokuda kan akımı, damar

hücrelerinin aktivasyonu gibi faktörler rol oynamaktadır. Onkogenlerin yanında anti-onkogenler de çok önemlidir. Onkogenler kansere sebep olurken, anti-onkogenler kanseri önleyen genlerdir. Anti-onkogenlere “*tümörü baskılayan genler*” de denilmektedir. Bunlar doğal hallerinde iken, yani mutasyona uğramamış hallerinde iken hücre bölünmesini ve çoğalmasını frenleyen, durduran genlerdir. Örnek olarak retinoblastoma genini ve P53 genini gösterebiliriz. Bugün için kanser tedavisinde uygulanmakta olan üç genel yöntem vardır (Fass, L., 2008). Bunlar sırasıyla,

1- Cerrahi müdahale ile kanserli dokunun alınması,

2- Radyoterapi, yani nükleer radyasyon (lar) kullanılarak kanserli dokuların dıştan tahrip edilmesi,

- Eksternal (Harici) Radyoterapi
- İnternal (Dahili) Radyoterapi

3- İlaçla tedavi, yani kemoterapi yöntemleridir.

Ancak bu yöntemlerden hiçbiri yukarıda da belirtildiği gibi kanser tedavisi için kesin bir çözüm değildir. Dolayısıyla kanser türlerini başarıyla tedavi edebilecek yeni yöntem ya da yöntemlerin bulunması gerekmektedir. Bu amaçla yürütülen çalışmalar, genel nitelikleri açısından;

1- Kanser yapıcı etkenleri tespit edip ortadan kaldırmak,

2- Kanser oluşum aşamasında farkına varmak; erken teşhis etmek,

3- Oluşan kanser hücrelerinin fazla yayılmadan ve normal doku hücrelerine önemli bir zarar vermeden imha edilmesi olarak üç grup altında toplanabilir.

Bu bağlamda spesifik olarak tümöre yönelik, tümör hücrelerini öldürerek normal dokuya pek zarar vermeyen ajanlar bulunarak kanser araştırmalarında çok önemli gelişmelerin sağlanabileceği düşünülmektedir (<http://www.cancercare.on.ca>).

Günümüzde, farklı disiplinlerden gelen bilim adamları kanserin kemoterapi ile tedavisi için yeni anti-kanser ilaçları dizayn etmeye yoğunlaşmışlardır. Etkili bir anti-kanser ilacı normal hücrelerle etkileşimsiz seçimli olarak hedef kanser hücrelerine yönelebilen ilaçtır. Böylece, hedef tümör hücreleri ilacın sitotoksik etkisi ile seçimli olarak zarara uğratılabilmektedir. Eğer bu ilaç yüksek radyotoksisiteli uygun bir radyonüklid ile işaretlenebilirse hem ilacın sitotoksitesi hem de radyonüklid'in radyotoksitesi kanserin çok daha etkin bir şekilde içten tahrip edilmesine neden olacaktır. Diğer taraftan, bazı araştırmacılara göre, birtakım kanser hücreleri normal hücrelere göre daha yüksek enzim konsantrasyonlarına sahiptir. Örneğin, tümörlerin %85'inde (hematolojik tümörler) yüksek telomeraz aktivesi belirlenmiştir. Ökaryotik lineer uçlarında yer alan ve tekrarlayan DNA dizileri ile özel proteinlerden oluşan telomerler, kromozom uçlarını yıkıma karşı korurlar. Telomer boyu, telomer proteinleri ve telomeraz enzim kompleksi tarafından kontrol edilir (Liu, T., 2007). Bilindiği gibi karsinogenezis'in (kanserin oluşması) nedeni kontrolsüz hücre bölünmesidir (<http://www.cancercare.on.ca>).

Bu bölünmenin gerçekleşebilmesi için telomer boyunun belirli bir uzunlukta olması gerekir. Bu nedenle telomeraz aktivitesinin kanser teşhisinde ve tedavisinde önemli bir göstergelere olabileceği düşünülmektedir. Bu enzim G-kuadrupleks ajanı olarak bilinen bazı bileşikler tarafından inhibe edilir. İnhibisyon G-kuadrupleks ajanlarının DNA'nın sekonder yapısı içerisinde yer alan 4 guanin bazının arasına bağlanmalarıyla gerçekleşir. Bu nedenle, farklı anti-tümör stratejileri için telomeraz'ın oldukça önemli bir enzim olduğu düşünülmektedir (Liu, T., 2007). Son yıllarda Bleomycin'in (Şekil 1) G-kuadrupleks ajan olduğuna yönelik bazı çalışmalar yayınlanmıştır (Würthner et al., 2001; İçli et al., 1996). Bu durum BLM'nin DNA ile seçici olarak etkileşmesiyle ortaya çıkmıştır.

Normal bir hücre ile kanser hücresi arasındaki biyokimyasal farklılıklar nedeniyle seçici olarak bazı kimyasal bileşikler, kanser hücrelerinde birikir. Seçimli olarak kimyasal bileşiklerin kanser hücreleriyle birleşmesi, kanser araştırma uygulamalarında çok iyi bir potansiyel oluşturmaktadır. 1960'lı yıllarda kansere karşı ilaç olarak 2-metil-1,4-naftokinol-bis(disodyum fosfat)'la çalışılmıştır. Bu bileşik literatürde "SYNKAVIT" olarak bilinen K₃ vitaminin difosfat türevidir (Ünak et al., 1993). Birçok araştırmacı tarafından synkavit'in seçimli olarak bazı özel kanser hücrelerinde biriktiği gözlenmiştir (Harrison, 1970).

Synkavit'in kanser hücresinde seçimli olarak birikmesini Dendy (1970), Morley ve Dendy (1973) tümörlü hücredeki alkalın fosfataz aktivitesi ile açıklamışlardır (Dendy et al., 1970; Morley et al., 1973).

Bu yazarlara göre, bu enzim synkavit'i hücre zarında defosforize etmekte ve bu şekilde K₃ kısmı hücre içine girmektedir. Benzer olarak literatürde birçok insan ve hayvan tümörünün birçok değişik yüksek enzim aktivitesi gösterdiği açıklanmıştır (Sioane et al., 1986; Chatterjee et al., 1987).

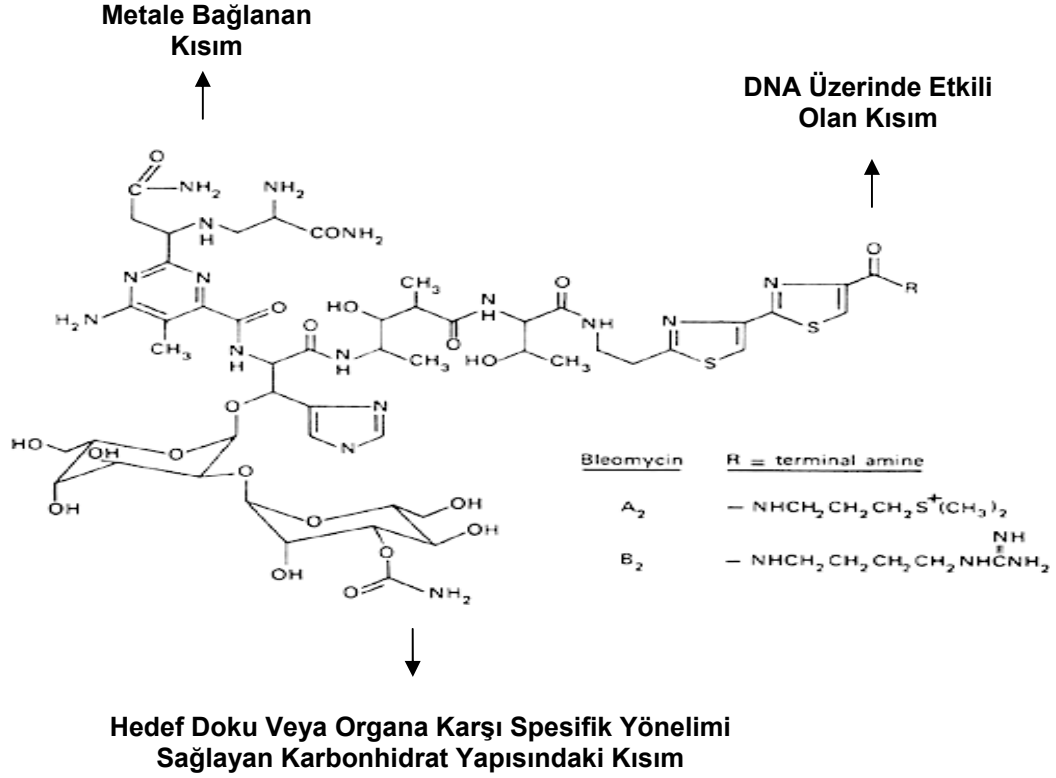
Bazı tümör hücrelerindeki bu enzimlerin yüksek aktivitesi bu tümör hücrelerin kanserojen karakteri ile ilgili olabileceği için, bu yönde birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birçoğu β -glukuronidaz ve telomeraz üzerinde yoğunlaşmıştır. Eğer glukuronid toksik bir bileşikle birleşirse, tümörün yüksek β -glukuronidaz aktivitesinden dolayı bu glukuronid deglukuronidasyona uğrar. Dolayısıyla glukuronid'in toksik kısmı yani aglikon hücrenin içerisine girer ve bu aglikonun toksisitesi de kanser hücresinin tahribatına neden olur. Bu toksik kısım normal doku hücrelerine çok az girer. Bunun nedeni, bazı kanser hücrelerinin normal hücrelere göre daha yüksek β -glukuronidaz aktivitesi göstermesidir (Henle et al., 1988). Bu β -glukuronidaz aktivitesinden yola çıkılarak bazı toksik maddeler seçici olarak kanser hücrelerine sokulabilmiştir. Bu sebepten dolayı β -glukuronidaz aktivitesi yüksek bazı kanser hücrelerinde değişik glukuronid türevi bileşiklerin anti-kanser özellik gösteren bir ilaç olarak kullanılabilme imkânları vardır. Glukuronid'ler canlılarda üretilen önemli metabolitlerden biri olup birçok doku hücresinin endoplazmik retikulumu içinde bulunmalarına rağmen, genellikle karaciğer mikrozomal enzimlerce üretilirler. Glukuronidlerin sentezi için biyolojik, kimyasal ve enzimatik yöntemler

mevcuttur. Karaciğer mikrozomal preparatları kullanılarak enzimatik olarak birçok glukuronidasyon çalışması yapılmıştır (Biber, 2004; Avcıbaşı, 2004).

1974 yılında O-glukuronid bileşikleriyle ilgili olarak, 8-hidroksikinolil-glukuronid'in kemoterapide uygulanılabileceğine ilişkin bir rapor yayınlanmıştır. Bu rapora göre *spindle shaped sarcoma* tümörü bulunan bir tavşana 8-hidroksikinolil-glukuronid verilmiş ve hidroksikinolin kısmının tümörlü hücrede etrafını saran kas hücrelerinden üç kat fazla biriktiği gözlenmiştir. Bir başka çalışmada Avcıbaşı ve arkadaşları iyod-131 ile işaretli ftaleinlerin ve glukuronidlerinin metabolik davranışlarının karşılaştırılmasını incelemiş ve sonuç olarak radyoyodla işaretli ftalein-glukuronidlerin hedeflenmiş radyonüklid tedavisinde (targetted radionuclide therapy) kullanılabileceği sonucuna varmışlardır (Avcıbaşı et al., 2008).

Yapılan açıklamalardan anlaşılacağı gibi glukuronid türevi bileşikler kanser kemoterapi uygulamalarında büyük bir öneme sahiptir. Fakat bugüne kadar incelenen bileşikler içinde toksisitesi farklı kanser hücrelerini tahrip edecek kadar yüksek bir bileşiğe rastlanmamıştır. Bu sebepten dolayı, araştırmacılar aglikon kısmının toksisitesini arttırmak için yeni aglikonlar aramışlar veya bu aglikonların daha sitotoksik türevini yapmaya çalışmışlardır. Fakat bütün bunlar sınırlı bir toksisite vermiştir. Bu nedenle, bu konuda yapılan çalışmalar büyük önem taşımaktadır.

BLM ilk olarak 1962 yılında, Japon bilim adamı Dr. Hamao Umezawa ve arkadaşları tarafından *Streptomyces verticillus*'ün bir fermantasyon ürünü olarak keşfedilmiş önemli bir anti-tümör ajanıdır (Isi et al., 2004). Anti-kanserojen ajan olarak kullanıldığında başlıca A2 (%65), B2 (%30) kemoteropik formlarında bulunmaktadır (Brooks et al., 1999) (Şekil 1.1). BLM başlıca lenfosit kanseri olmak üzere yassı epitel karsinomları, testis kanseri ve taban siğilleri gibi birçok hastalık çeşidinde tedavi potansiyeline sahip olup, sitotoksik etkisiyle DNA üzerinde kırılmalara sebep olmaktadır (Liang et al., 2002). BLM DNA'ya bağlanarak pürün ve pirimidin bazlarının ayrılmasına sebep olmaktadır, bunun yanında DNA sentezini inhibe ederek, az bir derecede de RNA ve protein sentezinin inhibüsyonuna neden olmaktadır (Isi et al., 2004).



Şekil 1.1. BLM A2 ve BLM B2'nin kimyasal yapısı (Liang et al., 2002)

Kemoterapötik ajanlar sınıfında yer alan BLM'nin kanser hastalığı üzerindeki başlıca hedefleri arasında şunlar sayılabilir:

- Kanser yol açtığı belirtileri gidermek,
- Kanseri kontrol etmek,
- Kanseri tedavi etmek (<http://www.wikipedia.org/wiki/kemoterapi>).

BLM üç foksiyonel kısım içermektedir;

- Metal ile kompleks oluşturan kısım,
- Tümörlü bölgeye spesifik olarak yönelen kısım,
- DNA yarılmasından sorumlu aktif kısım (Liang et al., 2002).

BLM'nin Fe²⁺ veya Co²⁺ gibi redoks-aktif metallerin ve oksijenin varlığında karbonhidrat kısmı okside olmaktadır. Oksidasyon sonucunda metal 3+ oksidasyon basamağına yükseltgenmektedir. Yükseltgenme sonucunda açığa çıkan bir elektron serbest radikale dönüşmektedir. Serbest radikal ilacın toksik kısmını oluşturur ki; bu kısım DNA üzerinde etki göstererek DNA'daki fosfodiester bağlarını bozarak kırılmalara neden olmaktadır (Liang et al.,

2002). Bu etki radyasyona benzer bir etki oluşturmaktadır. Hibrid hücre kullanılarak yapılan bir çalışmada gama radyasyon ve BLM dozunun artırılmasına paralel ortamda yaşayan hücre sayısında azalma olduğu gözlenmiştir (Isi et al., 2004).

DNA yaşayan canlılarda, radyasyon ile zarara uğrar. İyonlaştırıcı radyasyonun hücre içine geçişi, çok karmaşık direkt ve indirekt olaylar zincirini başlatabilir. Bu olaylar sırasıyla fiziksel, kimyasal, fizikokimyasal ve biyolojik devrelerdir. Hücre radyasyona maruz kalacak olursa, radyasyon DNA'nın her iki şeridinin karşılıklı noktalarında meydana gelecek ve hücre bunu düzeltemeyecektir. Çoğalma yeteneğini kaybeden hücre ise zamanla ölecektir. Bu noktada biyoaktif ilaç radyasyon kaynağı olarak ^{99m}Tc , ^{131}I , ^{111}In , ^{67}Ga ve ^{57}Co gibi bir radyonüklid ile işaretlenecek olursa yukarıda bahsedildiği gibi radyonüklid'in radyotoksitesi sayesinde hücre DNA'sı daha çok hasar görecek ve bu da kanserli hücrelerin yok olma sürecini hızlandıracaktır (Krohn, 1977).

BLM metallerle kompleks oluşturarak, klinik görüntüleme çalışmalarında tümöre karşı duyarlı bir tutulum göstermektedir (Brooks et al., 1999). Nükleer tıpta ^{99m}Tc ile işaretli BLM'nin anti-kanserojen özelliğinden yararlanarak hem kanser hastalıklarının tedavisi üzerinde hem de radyofarmasötik potansiyeli üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Böylelikle, peptidler hedef-odaklı kemoterapide kullanılacak olan radyofarmasötiklerin geliştirilmesinde ümit vadeden bileşikler haline getirilmektedir.

Yukarıda verilen bilgilerin ışığında yapılan bu çalışmanın amacı, farklı kanser türlerinin tedavisinde kullanılan BLM'nin ve aynı bileşiğin bir glukuronid türeviden olan ve enzimatik olarak sentezlenen BLMG'in ^{99m}Tc ile işaretlenmesi ve bu işaretli bileşiklerin deney hayvanları üzerinde yapılacak olan biyodağılım ve sintigrafi çalışmaları ile desteklenerek, radyofarmasötik potansiyellerinin incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Radyofarmasötikler

Nükleer tıpta hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılan ve seçilmiş organ veya bölgelerde spesifik olarak tutulan radyoaktif ajanlara “**Radyofarmasötik**” adı verilmektedir (Tamgaç, F., Erselcan, T., 2001). Nükleer tıpta kullanılan radyofarmasötiklerin %95’i tanı, %5’i tedavi amaçlıdır. Bir radyofarmasötik radyonüklid ve farmasötik olmak üzere iki bileşenden meydana gelmektedir. Bir radyofarmasötüğün tasarımında, öncelikle dikkat edilmesi gereken nokta, radyofarmasötüğün seçilecek organın fizyolojisine uygun olması gerektiğidir. Daha sonra uygun bir radyonüklid, seçilen farmasötiğe bağlanır ki; bu işleme işaretleme denilmektedir. İdeal bir radyofarmasötüğün hastanın mümkün olan en düşük radyasyon dozunu alabileceği şekilde tasarlanması gerekmektedir. Genellikle eser miktarda kullanıldıkları için farmakolojik etkileri yoktur. Bu sebeple tanı amacıyla kullanılacak radyofarmasötüğün bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bir radyofarmasötik;

- Kolay bulunabilmeli,
- Kısa etkin yarı ömrü olmalı,
- Parçacık radyasyonu yaymamalı,
- Yüksek lokalizasyon oranına sahip olmalı,
- Metabolik uygunluk sağlamalı,
- Hazırlanması ve kullanılması sırasında kimyasal olarak kararlı olmalıdır (Enginar, 2002; Acar, 2005).

2.1.1. Radyonüklid seçimi

Tanı amacıyla kullanılan bir radyofarmasötikte bulunan radyonüklidin, hastaya mümkün olan en az radyasyon dozunu verecek, sayım cihazlarında iyi bir verim ve ayrımı sağlayacak biyoaktif bileşeni oluşturan maddeyle, kolaylıkla ve biyolojik davranışını değiştirmeyecek şekilde bağlanabilecek özelliklerde olması istenmektedir (Acar, 2005).

Tanı amacıyla kullanılan bir radyonüklid’in yarı ömrü, hastanın mümkün olan en düşük radyasyon dozunu alabilecek ve aynı zamanda teşhis amacıyla sintigrafi alınmasına izin verebilecek kadar uzun olmalıdır. Radyonüklid alfa (α) ve beta (β) gibi parçacık karakterli radyasyonlar yayınlamamalı ve yayınlanan radyasyonlar monokromatik olmalıdır. Çok yüksek enerjili veya vücutta absorblanacak kadar küçük enerjili gama radyasyonu hastaya verilen radyasyon dozunun artmasına ve vücut dışında izlenme veriminin azalmasına sebep olacaktır. Radyonüklidin bozunma ürünü, toksik olmayan ve kararlı bir element olmalıdır. Teşhis amacıyla kullanılacak radyonüklidin özellikleri ise şöyle olmalıdır:

- Radyonüklid’in fiziksel yarı ömrü yaklaşık olarak 6-200 saat arasında olmalıdır. Bu süre görüntülemedeki H/O (Hedef doku/Hedef olmayan doku) oranının en yüksek değere ulaştığı süreden daha fazla olmalıdır.

- γ (gama) enerji aralığı yaklaşık olarak 100–300 keV arasında olmalı ve bu enerji sintigrafi cihazı tarafından ayırt edilmelidir. Bu aralık nükleer tıp açısından tarama yapmaya uygundur.
- Radyonüklid bozunması sırasında yüksek enerjili monokromatik gama ışını vermelidir. İyi bir görüntü sağlanabilmesi için foton yoğunluğunun yüksek olması istenir. Radyonüklid bir parçacık radyasyonu veya düşük enerjili parçacık radyasyonu yaymamalıdır. Aksi takdirde hasta önemli ölçüde ve gereksiz radyasyon dozuna maruz kalacaktır.
- Radyonüklid'in bozunma ürünü kararlı olmalıdır. Bozunma ürünü sadece ilave doz vermeyip ayrıca görüntüde de karışıklığa neden olabilmektedir.
- Spesifik aktivitesi yüksek olan radyonüklidlerden elde edilen görüntünün kalitesi daima yüksek olmaktadır. Bu nedenle radyofarmasötik hazırlanırken radyonüklidler taşıyıcısız formda kullanılırlar.
- Radyofarmasötiğin kimyasal kararlılığı yüksek olmalıdır. Kimyasal kararlılık radyonüklidin bağlandığı ligand ve farmakokinetik değişkenlerine bağlıdır.
- Kimyasal kararlılık değeri tam olarak H/O dış görüntü vasıtasıyla belirlenebilir.
- Radyonüklid kolayca elde edilemeli ve fiyatı da uygun olmalıdır (Enginar, H., 2002).

2.1.2. Farmasötik

2.1.2.1. Farmasötik seçimi

Yapısında taşıdığı izleyici radyonüklidi vücudun içinde bilgi alınması istenen organ, doku veya bölgeye götüren etken maddeye "**Farmasötik**" denmektedir. Farmasötiğin (biyoaktif bileşenin), vücuttaki biyolojik davranışı yapılması istenilen incelemeye uygun olmalı, vücudun belirli bir organ, doku veya bölgesinde lokalize olmalıdır.

Tanı için gerekli zamanı sağladıktan sonra vücuttan hemen atılmalıdır. Böylece taşınan radyoaktivitenin tamamı istenilen yere götürülerek, inceleme tamamlandıktan sonra, vücutta daha fazla kalması önlenmektedir.

2.2. Peptid hormonları

Glikopeptid'ler peptid hormonları sınıfına dahildir. Glikopeptid'ler terminal amin grubuna veya molekülü oluşturan bazı amino asitlerdeki serbest amin (ornitin, lizin), amit (asparajin), hidroksil (serin) v.b. gruplara, mono ya da oligosakkaritlerin bağlanmasıyla oluşmaktadır. N-glikozit yapısında olabilirler. Bunun yanında O-glikozit karbonhidrat zinciri en fazla 8-10 adet monosakkarit içermektedir. Glikopeptid antibiyotikler antibiyotik ilaçların bir sınıfıdır. Önemli glikopeptid antibiyotikler vancomycin, teicoplanin, televanin, ramoplanin, decaplanin ve bleomycin'dir (<http://www.wikipedia.org/wiki/kemoterapi>). Bu antibiyotikler *Penicillium*,

Cephalosporium Streptomyces, *Micromonospora* ve *Bacillus* türleri gibi mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve diğer mikroorganizmaların üremesini önleyen veya onları öldüren maddelerdir.

Kemoterapik madde, çok küçük miktardaki mikroorganizmalar üzerinde zarar verici etkileri fazla, buna karşılık organizma üzerindeki etkileri çok az olan ya da hiç bulunmayan, enfeksiyonik hastalıkların sağaltımı amacı ile kullanılan kimyasal maddelerdir. Bu etkiye *seçici toksik etki* denmektedir.

2.3. Glukuronid bileşikleri, oluşumu ve önemi

Her yıl insanlar, topraktan, sudan, soludukları havadan yani atmosferden ve aldıkları gıdalardan binlerce kimyasal toksik ve zehirleyici maddelerin etkisi altında kalmaktadır. Bu zehirleyici maddeler insan metabolizmasında, beden direnç sisteminin azalması veya yok olması, hormonal dengesizlik, fonksiyon bozuklukları, sinir sistemi bozuklukları veya direnç kaybı, fizyolojik dengesizlikler ve hatta geriye dönüşü olmayan hastalıklar (kanser) gibi çok çeşitli ve farklı belirtilerle kendilerini göstermektedir.

Beden doğal olarak kendisine zararlı olan toksik özellikteki maddeleri karaciğer, böbrek, idrar, dışkı, ter ve solunum yoluyla deriden atarak temizleyip, kendisini arındırmaktadır. Ancak özellikle İkinci Dünya Savaşı sonrası endüstrinin giderek yoğunlaşmasıyla beraber gelen petrokimyasal devrim, toksinlerin, insan metabolizmasından atılma sürecini yavaşlatmış ve bunlar hem atılıp hem de vücutta birikir hale gelmiştir.

Organizmanın kendisine yaramayan ve bozucu etkileri olan bu zehirli maddelerden arınmasına "*Detoksifikasyon*" denmektedir. Detoksifikasyon; özel diyetlerle vücudu arındırma, belirli sürelerde doktor kontrolünde su, sebze suyu ve meyve suyu rejimleri, vücudu toksinlerden arıtan ve temizlenmesine yardımcı olan bazı vitamin, amino asit, bitki çayları, bitki rejimleri, şelasyon tedavileri, homeopatik tedaviler, yosun banyoları, sauna, hamam, kaplıca, hipertermik seanslar (terleme), kolon temizleme (Kolon hidroterapi) ve ozon uygulamaları gibi çok çeşitli yöntemlerle sağlanabilmektedir.

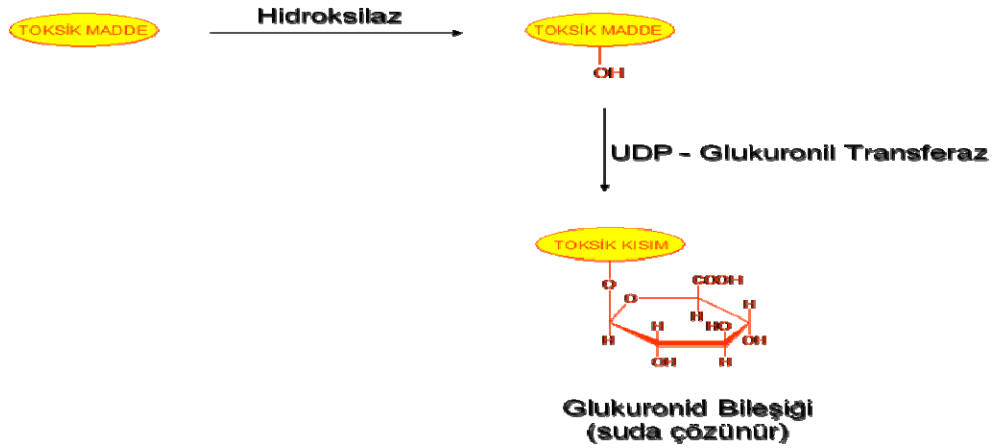
Diğer taraftan glukuronidasyon (glukuronidleşme) mekanizması toksik materyallerin suda çözülebilir glukuronid konjugatlarıyla meydana gelen ana detoksifikasyon mekanizması olarakta bilinmektedir (Ünak et al., 1997). Glukuronidler canlılarda üretilen önemli metabolitlerden biri olup, birçok doku hücrelerinin endoplazmik retikulumu içinde bulunmalarına rağmen, genellikle karaciğer mikrozomal enzimlerce üretilmektedir. Glukuronidlerin renal yolla hızlı bir şekilde atılması bunların klinik kullanımı açısından temel bir problem oluşturmaktadır (Biber et al., 2004).

Glukuronidler monosakkaritlerin asetal bileşikleridir ve glukuronik asitin asetal hidroksilinin bir başka maddenin alkol grubu ile tepkimeye girmesiyle oluşan bileşiklerdir. Glukuronidleşme reaksiyonunda, glukuronik asit fenol, karboksilik asit, alkol ve aromatik asit gibi uygun birer sübstütient taşıyan substrata glikosidik bağı ile bağlanmaktadır. Böylelikle oluşan

Glukuronid bileşikleri reaksiyon sırasında glikosidik bağına katılan sübstütientin hetero atomuna göre farklı isimler almaktadır. Eğer;

- Substrat glikosidik bağına oksijen atomu üzerinden bağlanmışsa -OH; O-glukuronid,
- Substrat glikosidik bağına kükürt atomu üzerinden bağlanmışsa -S; S- glukuronid,
- Substrat glikosidik bağına azot atomu üzerinden bağlanmışsa -NH; N-glukuronid,
- Substrat glikosidik bağına karbon atomu üzerinden bağlanmışsa -C; C-glukuronid adını almaktadır (Ünak et al., 1996).

Glukuronid reaksiyonunda Üridin-5-difosfo-glukuronik asit (UDPGA) kofaktör olarak kullanılmakta olup, reaksiyon karaciğerdeki endoplazmik retikulumda sentezlenen UDP-glukuronosil transferaz enzimi tarafından katalize edilmektedir.



Şekil 2.2. Karaciğerdeki glukuronidasyon mekanizmasının şematik gösterimi (Avcıbaşı, U., 2004)

1949'da yapılan bir çalışmada, bir DNA alkilleyici ajanı olarak anilin-mustard bileşiğinin glukuronidi olan anilin-mustard-O-glukuronidin kanser tedavisinde kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (Ünak et al, 2002).

2.4. Deglukuronidasyon ve önemi

O-glukuronid ve N-glukuronid gibi glukuronid bileşikleri β -glukuronidaz enzimi tarafından deglukuronidasyona uğramaktadır (Ünak, 2004). Kanser tedavisinde, bu enzim ile ilgili olarak glukuronid bileşiklerinin özellikle toksik konjugatları giderek artan bir ilgiye sahiptir (Ünak et al., 2005; Avcıbaşı et al., 2008).

Glukuronid bileşiklerinin β -glukuronidaz enzimi ile deglukuronidasyonu sonucunda ortaya çıkan sitotoksik bileşimindeki aglikon kısım kanser hücreleri ile seçimli olarak etkileşmektedir (Ünak et al., 2002). Bunun yanında glukuronidleri hücre zarında hidrolize eden β -glukuronidaz enzimi kist ve tümör dokularında spesifik tutulum gösterir, dolayısıyla söz konusu enzim anti-

kanserojen ajanların glukuronid pro-druglarının tümör spesifik biyoaktivasyonunu artırmada önemli bir paya sahiptir (Biber et al., 2006).

Hidroliz enzimleri (Hidroksilaz) sınıfına giren en önemli enzimlerden biri olan β -glukuronidaz enzimi, glukuronid türevi bileşiklerin deglukuronidasyonunda çok önemli bir paya sahiptir. Bunun yanında, bu enzim metabolizmadaki toksik materyallerin detoksifikasyonu üzerinde de efektif bir role sahiptir (Ünak et al., 2005).

De-glukuronidasyon, β -glukuronid bağının enzim tarafından kopartılmasıyla meydana gelmektedir. Böylece, glukuronid bileşiğine bağlı olan grup (aglikon) yapıdan ayrılmış olur. Bu enzimler ilaçların, endüstriyel kimyasalların, karsinojenlerin, besin katkı maddelerinin, peptisitlerin ve insan yapımı substratların konjugasyonlarını sağlayarak organizmayı birçok toksik maddenin oluşturduğu zararlı etkilerden koruyabilme özelliklerine sahiptir.

Literatür çalışmaları özellikle spesifik kanser türleri başta olmak üzere, metabolizmada bu enzim seviyesinde meydana gelen değişikliklerin bazı rahatsızlıkları tetiklediğini rapor etmiştir (Ünak, 2005).

1974'te Bicker tarafından yapılan bir çalışmada 8-hidroksi-kinolin-glukuronid bileşiğinin β -glukuronidaz enzimi ile de-glukuronidasyonu sonucunda bileşiğin anti-tümör aktif 8-hidroksi-kinolin kısmının kanser hücrelerinde, etrafındaki kas hücrelerine oranla 3 kat daha fazla tutulum gösterdiğini rapor etmiştir (Ünak et al., 2003; Ünak et al., 2002; Ünak et al., 2005; Avcıbaşı et al., 2008). Henle'nin yaptığı başka bir çalışmada aynı bileşiğin β -glukuronidaz enzimi ile de-glukuronidasyonu sonucunda, bileşiğin sitotoksik 8-hidroksi-kinolin kısmının RIF tümör hücrelerinde, normal doku hücrelerine göre 7 kat daha fazla β -glukuronidaz aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir (Ünak et al., 2002; Ünak et al., 2005; Avcıbaşı et al., 2008).

Glukuronid prodrug'larının ^{125}I , ^{31}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ve ^{14}C gibi belirli bir radyotoksisiteye sahip olan radyonüklidlerle işaretlenmesi sonucunda, ileriye dönük olarak umut vadeden görüntüleme ajanları elde edilecektir.

Avcıbaşı ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada uygun dalga boylu bir ışıkla aktive olarak hücre ve dokular üzerinde serbest radikaller ve singlet oksijen gibi moleküler türlerle toksik etki oluşturan ve tümörler üzerinde yüksek fotodinamik etki gösteren bir perilen diimid türevi olan PYPER ^{131}I ile işaretlenmiş ve elde edilen ^{131}I -PYPER bileşiğinin gelecekte efektif bir anti-kanserojen ilaç olarak, kullanılabileceği rapor edilmiştir (Avcıbaşı et al., 2006).

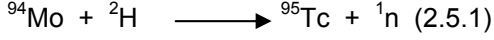
2.5. Teknesyum (^{99}Tc) kimyası

2.5.1. Teknesyum elementi

Yıllarca periyodik tabloda, Molibden (^{99}Mo) ve Rutenyum (^{102}Ru) arasında bir boşluk bulunmaktaydı. Başlangıçta birçok araştırmacı bu kayıp elementi kolayca bulacaklarını ümit ediyorlardı. Mendeleev periyodik tabloyu dizayn ederken o güne kadar henüz keşfedilmemiş elementler için bazı boşluklar bırakmış, grup özelliklerine göre bu boşlukları isimlendirmişti.

Tc'un bulunduğu boşluğa ilk elementin manganez olmasından da esinlenerek *eka (1)-manganez* adını vermişti.

1937'de yılında Peter ve Segre Molibdeni siklotronda hızlandırılmış 5 MeV enerjili dötronlarla bombardıman ederek nükleer bozunmalara karşı kararsız olan ve doğada bulunmayan 43 atom numaralı Tc'u keşfettiler (Tunç, 1996) ve keşfettikleri bu elemente Yunanca suni anlamına gelen "*tecnetos*" ismine ithafen *teknesyum* adını verdiler.



Keşfinden itibaren Tc hakkında pek çok araştırma yapıldı. 1962'de P. K. Kuroda ve B. T. Kenna tarafından ${}^{238}\text{U}$ 'ün kendiliğinden fisyon ürünü olarak iz miktarlarda Afrika Peşblendinde keşfedildi ve Uranyumdan izole edildi.

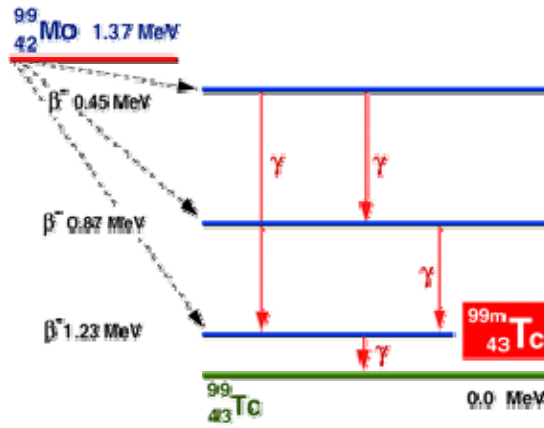
Tc elementi S, M ve N tipi yıldızların spektrumlarında bulunmaktadır. Yıldızlı maddelerdeki varlığı, yıldızlarda bulunan ağır elementlerin üretimine ilişkin yeni teorilerin doğmasına yol açmıştır (<http://en.wikipedia.org/wiki/Technetium>, <http://www.lenntech.com/Periodic-chart-elements/Tc-en.htm>).

Tc 43 atom numarasına sahip olan bir geçiş elementi olup, VIIB grubunda bulunmaktadır ve gümüş gri renklidir. 2160°C 'de erir, hekzagonal yapıda kristallenir. Stabil haldeki Tc elementi $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^{10} 4p^6 5s^1 4d^6$ elektronik konfigürasyonuna sahiptir. Kimyasal reaksiyonlarında ya s alt kabuğundan 1 elektron ya da d alt kabuğundan 6 elektron kaybetmektedir. Bununla ilgili olarak, Tc kimyasal reaksiyonlarında farklı oksidasyon basamaklarına sahiptir. Bunlar -1'den +7'ye kadar değişen değerlerdedir. En kararlı oksidasyon düzeyleri +4 ve +7 halindedir. Geçiş elementi olduğu için şelat yapısındaki iyon ve moleküllerle metal kompleksleri oluşturmaktadır. Radyofarmasötiklerin hazırlanmasında Tc'un bu özelliğinden yararlanılmaktadır. Tc'un tüm izotopları β -bozunması veya EC (elektron yakalaması) yaparak bozunmaktadır. Doğada bulunan Tc'un izotopları uranyum çekirdeğinin kendiliğinden fisyon ürünleri olarak oluşmaktadır (Tunç et al., 1996). Tc'un bilinen izotoplarının yarı ömürleri $0,86 \text{ s}$ - $2,6 \times 10^6$ yıl; kütle numaraları 90-110 arasında değişmektedir (Kekilli, 2001).

2.5.2. Metastabil-Teknesyum izomerik çekirdeği (${}^{99m}\text{Tc}$)

Nükleer tıpta özellikle tanısal alanda geniş bir çeşitliliğe sahip olan ${}^{99m}\text{Tc}$, ${}^{99}\text{Tc}$ 'ün metastabil (ara kararlı) fazdaki bir izotopudur. Bu metastabil halin yarı-ömrü 6,02 saattir. Temel haldeki Tc'un elektronik enerji düzeyi uyarıldığı zaman, uyarılmış enerji düzeyi kararlılığını korumak için temel enerjili haline geri dönmek isteyecektir. Ancak uyarılmış düzeyin ömrü saniye mertebesine göre, saat metresinde oldukça uzundur. Uzun ömürlü bu uyarılmış düzeye "*metastabil (ara kararlı) faz*" denmektedir. Metastabil düzeyde bulunan çekirdek bu süre zarfında farklı karakteristikler kazanmaktadır. Artık temel enerjili haline dönse bile, temel enerjili durumdaki Tc'dan farklı bir forma sahip olacaktır. Bu noktadan sonra, kütle ve atom numarası

aynı olmasına rağmen, nükleer özellikleri birbirinden farklı olan çekirdekler oluşacaktır. Oluşan bu çekirdeklere “*izomer çekirdekler*” denmektedir. İzomer çekirdeklerden normal enerji düzeyinde bulunanlar yalnızca kütle numaralarıyla yazılırken, uyarılmış enerji düzeyinde bulunanlar ise, kütle numaralarının yanına “*metastabil*” yani “*ara kararlı*” anlamına gelen, m harfi ilave edilerek gösterilmektedir. Metastabil enerji düzeyinde bulunan izomer bir çekirdeğin, bu enerji düzeyindeki nükleon, ya da nükleonlarının belirli bir yaşam süresi sonunda normal enerji düzeyine inmesiyle 0.1405 MeV (140.5 keV) değerinde bir γ -ışını salınmaktadır. Bu olaya “ *^{99m}Tc 'un bozunması*” da denmektedir (Ünak, 2007).



Şekil 2.3. ^{99}Mo 'un ^{99}Tc 'a bozunması (<http://www.monrol.com.tr>)

2.5.3. ^{99m}Tc kimyası

Son yıllarda, Tc'un koordinasyon ve organometalik kimyasına karşı giderek artan bir ilgi söz konusudur. Bu durum d-geçiş elementlerinin biyomedikal alandaki önemini yansıtan bir durumdur. ^{99m}Tc çekirdeği nükleer tıpta, tanı ve görüntüleme amacıyla en çok tercih edilen radyonüklid'dir. Buna sebep olan faktörler arasında;

- Ucuz olması,
- Kolay erişilebilir olması,
- 6 saatlik yarı ömre ($t_{1/2}$) sahip olması,
- 140 keV enerjili tek γ -ışınması salması gibi özellikler sayılabilmektedir (Arano, 2002).

^{99m}Tc tanısal radyofarmasötiklerde, metal özellikleri sayesinde radyoaktiviteyi vücut içinde tespit edilen spesifik bölgeye götüren taşıyıcı kısma bağlanmaktadır. Böylelikle elde edilen radyofarmasötiklerin yeni türevlerinin dizayn edilmesi, edinilen temel amaçlar arasındadır (Giglio et al., 2008).

Çizelge 2.1. Nükleer tıpta görüntüleme amaçlı kullanılan ^{99m}Tc -radyoişaretli bileşikleri (Kekilli, 2001)

^{99m}Tc -Radyoişaretli Bileşik	^{99m}Tc - türevi	Görüntüleme Yeri
		^{99m}Tc -fosfonatlar
	^{99m}Tc -pentatatlar (DTPA)	Böbrek (Renal kan akımı)
	^{99m}Tc -sülfür kolloid	KC-Dalac
	^{99m}Tc -makroagregat albumin	Akciğer perfüzyon
	^{99m}Tc -albumin kolloid	Kemik iliği
	^{99m}Tc -iminodiasetik asitler	Hepatobiliyer

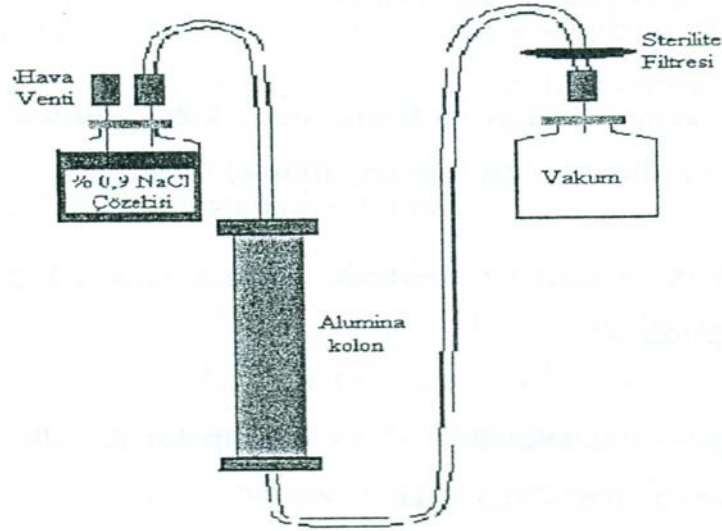
Bugün, nükleer tıpta görüntüleme amacıyla kullanılan radyofarmasötiklerin çoğunluğu ^{99m}Tc ile işaretlenen peptid ve aminoasit yapısındaki bileşiklerdir. ^{99m}Tc vücut içine enjekte edilen radyofarmasötiğin, vücut içindeki biyolojik davranışını izlemeye önemli bir izci olarak davranmaktadır.

Ünak ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, penisilamin-disülfid ve sistein gibi aminoasitlerin ^{99m}Tc ile işaretlenmesiyle edinilen radyofarmasötiklerin karaciğer, böbrek ve safra kesesi gibi organların tanısal görüntülenmesinde uygun bir ajan olarak kullanılabilmesi rapor edilmektedir (Ünak et al., 1997). Bunun yanında, ^{99m}Tc ile işaretli reseptör-spesifik karakterli Exorphin C ve birçok radyopeptid formu nükleer tıpta, başta kanser tedavi ve terapi araştırmaları olmak üzere, insan tümörlerinin görüntülenmesinde alternatif bir yaklaşım getirmektedir (Ertay et al., 2004).

2.5.4. ^{99}Mo / ^{99m}Tc jeneratörü

^{99m}Tc ticari olarak ^{99}Mo / ^{99m}Tc jeneratöründen elde edilmektedir. ^{99}Mo / ^{99m}Tc jeneratörü ilk kez 1957 yılında Brookhaven Ulusal Laboratuvarında geliştirilmiş ve taşıyıcısız olarak ^{99}Mo 'un alümina (Al_2O_3) kolonuna adsorbe edilmesiyle üretilmiştir (Enginar, 2002).

^{99}Mo kolon üzerinde β^- bozunması ile ^{99m}Tc çekirdeğine dönüşmektedir. Ürün çekirdek olarak ^{99m}Tc ; $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (perteknatat) formunda oluşurken, kolondaki ana çekirdek ^{99}Mo ise $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ (molibdat) halinde bulunmaktadır. ^{99}Mo , $^{99}\text{MoO}_4^{2-}$ formunda +6 oksidasyon düzeyinde iken, ^{99m}Tc perteknatat formunda ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) +7 oksidasyon düzeyine sahiptir. +6 oksidasyon düzeyindeki Mo alümina kolona sağlam tutunurken, +7 oksidasyon düzeyindeki ^{99m}Tc ise kolona daha zayıf tutunmaktadır. Alümina kolon %0,9 NaCl (serum fizyolojik) solüsyonu ile yıkandığı zaman, kolon üzerinde sırasıyla molibdat ve perteknatat olmak üzere iki tane sodyum tuzu oluşmaktadır ($\text{Na}_2^{99}\text{MoO}_4$ ve $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$). Bu noktadan sonra, iki sodyum tuzu arasında yarışmalı bir adsorpsiyon başlar, ancak molibdat tuzu kolon üzerinde daha sağlam tutunduğu için $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ kolondan kolayca ayrılırken, $\text{Na}_2^{99}\text{MoO}_4$ ise kolonda kalmaktadır (<http://en.wikipedia.org>).



Şekil 2.4. $^{99}\text{Mo} / ^{99\text{m}}\text{Tc}$ jeneratörü (Enginar, H., 2002)

2.5.5. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ radyofarmasötikleri

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ başlıca kemik, böbrek, miyokardial ve akciğer olmak üzere nükleer tıp alanında yaklaşık 20 milyon tanısal görüntüleme işleminde aktif olarak kullanılmaktadır. Günümüze değin, hedef organ ve organ sistemlerinin görüntülenmesi amacıyla pek çok radyofarmasötik dizayn edilmekte olup, halen buna yönelik yeni yaklaşımlar geliştirilmektedir. Bilinen metotların genelinde, aynı veya birbirine yakın şelatlaştırıcılar ve geçiş metallerinin aynı oksidasyon basamakları kullanılmaktadır. Bu durum ise metal-biyomolekül konjugatlarının spesifik özellikleri üzerinde kısıtlayıcı bir etki oluşturmaktadır. Teknesyum ile yapılan işaretleme metotlarında;

- Metal iyonlarının uygun bir indirgen ajan ile indirgenmesi (metal daha düşük ve stabil oksidasyon basamağına indirgenir),
- İndirgenen metalin ligand sistemleri ile koordinasyon kurması,
- Tasarlanan radyofarmasötiklerin biyolojik dağılımının saptanması ortak aşamalar arasında bulunmaktadır (Abram et al., 2006).

2.5.5.1. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'un indirgenmesi

Jeneratörden elde edilen $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ iyonu çok kararsızdır ve bu haliyle direkt olarak hiçbir bileşikle bağlanamaz. Biyolojik olarak aktif bir biyomolekülün $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretlenmesi için önce 7^+ den 3^+ , 4^+ veya 5^+ 'e indirgenmesi gerekmektedir. Bu konuda pek çok metot mevcuttur. Buna yönelik tepkimeler genellikle basit tepkime kaplarında $20-80^\circ\text{C}$ aralığında, $\text{pH}=5-7$ arasında olmakla birlikte, reaksiyonun gerçekleşme süresi $20-120$ dk arasında değişmektedir. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'in

yarılanma süresinin ($t_{1/2}=6,02$ saat) kısa olmasından dolayı, reaksiyonunda kısa sürede gerçekleşmesi istenmektedir (Enginar et al., 2002).

2.5.5.2. Askorbik asit metodu

İlk defa albümin işaretlemede kullanılmıştır. Askorbat'ın, asidik ortamda Tc'u indirgediği gibi albümin molekülü üzerinde değişiklikler yaparak daha fazla bağlama merkezi hazırlayıp kimyasal bağı kuvvetlendirdiği ileri sürülmüştür. Ancak günümüzde tek başına kullanılmamaktadır.

2.5.5.3. Fe (II) metodu

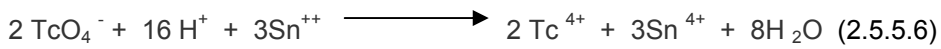
Albümin işaretlemede kullanılmıştır. Bu yöntemde Fe 2+'den 3+'e oksitlenirken Tc 7+ değerinden daha düşük oksidasyon basamaklarına indirgenmektedir. Perteknatat-albümin ve Fe (II) içeren çözeltinin pH'ı 5'e ayarlanmaktadır.

2.5.5.4. Fe (III) ve askorbik asit metodu

Fe(III) klorür ve askorbik asitli ortamda, albümini işaretleme için kullanılan bu metotta askorbik asit Fe'i 3+ oksidasyon basamağından 2+'ye indirgerken, Fe²⁺ ise Tc'u indirgemektedir. Daha sonra, indirgenmiş Tc albümine bağlanmaktadır. İşaretleme verimi, pH, albümin miktarı, demir ve askorbik asit konsantrasyonlarına bağlı olarak değişmektedir.

2.5.5.5. Sn (II) metodu

^{99m}Tc ile işaretli radyofarmasötiklerin hazırlanmasında en sık kullanılan indirgen ajan, Sn(II) klorürdür. ^{99m}Tc'un, Sn(II) ile indirgenmesine ilişkin kimyasal reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Jeneratörden sağılan Na^{99m}TcO₄ solüsyonunda çok küçük miktarda ^{99m}Tc (~10⁻⁹ M) bulunması nedeniyle, ^{99m}Tc'u indirgemek için çok az miktarda Sn²⁺'e ihtiyaç duyulmaktadır.

Yukarıda belirtilen indirgenler dışında, indirgen olarak sodyum borhidrat, sodyum bisülfid, hidrazin, formamidin sülfirik asit, hidroksilamin, hipofosforus asit ve sodyum ditiyonatın yanında metalik çinko, molibden (III), tungsten (III) ve antimon (III) tuzları kullanılmaktadır (Tunç, 1996).

2.6. İşaretleme teknikleri

Günümüzde bilim adamları teşhis veya tedavi amacı ile kullanılan radyofarmasötiklerin dizaynında peptid ve proteinleri hedef olarak almış ve bunlara yönelik klinik çalışmalarda yoğunlaşmışlardır. Peptidlerin işaretleme için çoğunluğu protein işaretleme metodlarından

adapte edilen sayısız yaklaşım bulunmaktadır. Bunları iki ana kategoride, üç farklı sınıfta gruplandırmak mümkündür:

- Doğrudan (Direkt) işaretleme yaklaşımı,
- Ara Kompleks üzerinden işaretleme yaklaşımı,
- Dolaylı (İndirekt) işaretleme yaklaşımı.

Son iki işaretleme yaklaşımı aynı temele dayandığı için bunları aynı kategoride (Dolaylı işaretleme) değerlendirmek mümkündür.

2.6.1. Doğrudan (Direkt) işaretleme tekniği

Direkt işaretleme tekniği biyoaktif moleküllerin ligand atomları ile işaretlenmesi olarak tanımlanmaktadır. Tc'un periyodik tablodaki yeri göz önüne alındığında; tiyol, tiyoeter ve alifatik ya da aromatik aminlerin özel bağlanma bölgelerine sahip olduğu bilinmektedir. Sülfür donörleri genel olarak, çeşitli oksidasyon düzeylerinde yüksek termodinamik kararlılığa sahiptir. Öte yandan, diğer gruplarla sağlanan termodinamik kararlılık zayıf ve biyolojik koşullar altında metal merkezi kararlı kılmak için yeterli değildir (Abram et al., 2003).

Doğrudan (direkt) işaretleme tekniği peptidlerin işaretlenmesinde başarılı olarak kullanılmaktadır (Acar, 2005). Bu sayede proteinlerin sülfid bağlarıyla ^{99m}Tc arasında yüksek kararlılığa sahip olan bağlar oluşmaktadır. Bunun yanında, indirgen ajanların varlığında, peptidteki disülfid (S-S) bağları serbest tiol (S-H) gruplarına dönüşerek, peptid ^{99m}Tc ile işaretlenmektedir. Reaksiyonlarda protein formundaki bileşiklerin disülfid bağlarını indirgemek için, dithiothreitol (DTT) kullanılmaktadır. Ancak DTT'nin pH=7'nin altında etkin olamaması bileşiğin kullanımı açısından sınırlayıcı bir etken oluşturmaktadır (<http://en.wikipedia.org/wiki/dithiothreitol>). Bu nedenle, genellikle etkin çalışma pH'ı 7 ve 7'nin üzerinde olan peptid yapısındaki bileşiklerin reaksiyonlarında, DTT kullanılmaktadır. $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 'ta bulunan +7 değerlikli ^{99m}Tc 'dan kararlı bir ^{99m}Tc -peptid kompleksi oluşturabilmek için Tc'un daha düşük bir değerliğe indirgenmesi gerekmektedir (Acar, 2005). Yönteme ilişkin mekanizma büyük ölçüde disülfid bağları üzerinden yürüdüğü için, ancak peptid bağlarının bolca bulunduğu protein ve fragmanlarına uygulanabilmektedir (Abram et al., 2003). Çünkü birçok küçük peptid disülfid bağına sahip değildir. Bazı durumlarda disülfid bağı varsa da protein ve fragmanlarının biyolojik özelliklerinin stabilliği açısından bu bağı indirgemek riskli olabilir. Doğrudan işaretleme tekniği, peptid bazlı spesifik radyofarmasötiklerin geliştirilmesinde tercih edilen en pratik yaklaşımdır (Taner, 2001).

Direkt metotlar radyoişaretleme çalışmalarında kolaylık sağlayan ve aynı zamanda verimli olan yöntemlerdir. Ancak yöntemde, reaktiflerin kullanım sırası, kullanılan miktarları ve pH çok önemli parametrelerdir. Söz konusu parametreler elde edilen radyoişaretli bileşiğin işaretleme verimi ve kararlılığı üzerinde efektif bir etkiye sahiptir. Ancak direkt işaretleme yönteminin başarısız olduğu durumlarda bulunmaktadır. 2001 yılında Du ve arkadaşları

tarafından yapılan bir çalışmada, 14 aminoasitli bir peptid hormonu olan somatostatin ^{99m}Tc ile doğrudan işaretlenmiş ve peptiddeki disülfid (S-S) bağlarının serbest tiol (S-H) gruplarına çevrilmesiyle işaretleme yapılmıştır. Bununla birlikte, bozulan reseptör afinitesi ve peptidin çok kısa olan yarı ömründen dolayı ($t_{1/2} < 3$ dk) reseptörce zengin dokularda spesifik bir tutulum gözlenememiştir. Aynı çalışmada doğal bir hormon olan, somatostatinin analogu olan octreotide'de ^{99m}Tc ile işaretlenmiş ancak disülfid bağlarının zor indirgenmesinden dolayı direkt işaretleme yönteminin başarısız olduğu rapor edilmiştir (Du et al., 2001).

Başka bir başka çalışmada Octreotide hormonunun ^{99m}Tc ile doğrudan işaretlenmesi sırasında kullanılan çeşitli indirgen ajan miktarlarının işaretleme verimi üzerindeki etkisi araştırılmış ve bunun sonucunda en yüksek işaretleme veriminin elde edildiği optimum indirgen miktarının altındaki veya üstündeki durumlarda istenilen verimin elde edilemediği rapor edilmiştir (Gandomkar et al., 2003).

2.6.2. Ara kompleks üzerinden işaretleme tekniği

Peptidlerin ve proteinlerin ^{99m}Tc ile işaretlenmesinde, bifonksiyonel şelatlaştırıcı ajanların kullanımı (BFŞA) günümüzde giderek artan bir ilgiye sahiptir. BFŞA'lar metal radyoizotop veya biyohedefe bağlanarak, fonksiyonel gruba sıkı bir şekilde koordine olmayı sağlayan şelatlaştırıcı ajanlardır. İdeal bir BFŞA yüksek verimde inert ve kararlı bir kompleks oluşturmalıdır. Fakat şimdiye kadar, bu kriterleri üzerinde toplayan ideal bir BFŞA dizayn edilememiştir (Gal et al., 2006). BFŞA yaklaşımında genel olarak, radyonüklid bifonksiyonel şelatlaştırıcı ajana (BFŞA) bağlanmaktadır ve daha sonra peptid bu komplekse eklenmektedir. BFŞA ile ^{99m}Tc arasında meydana gelen koordinasyon sonucunda şelatlaştırıcı ajan peptide kolayca bağlanmaktadır. Tekniğin uygulanması birkaç basamaktan oluşup, uzun zaman almaktadır. Bu yöntem, araştırma amaçlı olup, mecbur kalındığında uygulanan bir yöntemdir (Acar, 2005).

Aromatik halka taşıyan Ph-XN₂S-tipi (X=O,N ve S) semi-rigid bifonksiyonel şelatlaştırıcı ajanla yapılan bir işaretleme çalışmasında, BFŞA'nın ^{99m}Tc ile yüksek bir verimle işaretlendiği ve *in vitro* koşullarda ^{99m}Tc-BFŞA kompleksinin stabil kaldığı rapor edilmiştir (Gal et al., 2006).

2.6.3. Dolaylı (indirekt) işaretleme tekniği

Ligandın moleküler yapısı ^{99m}Tc ile işaretlenmeye uygun olmadığı zaman, dolaylı (indirekt) işaretleme yöntemi kullanılmaktadır. Bu durumda biyolojik olarak aktif moleküle radyonüklidin bağlanmasını sağlayan glukohexonat, glukonat, DTPA (diethylenetriaminpentaasetik asit), pirofosfat, tartarat gibi ^{99m}Tc'e kısmen kolay bağlanan fonksiyonel gruplara ihtiyaç duyulmaktadır. Dolaylı işaretleme yaklaşımında BFŞA BFŞA-peptid (protein) konjugatı oluşturmak için bir bağlayıcı aracılığı ile C-terminale veya N-terminale bağlanmaktadır. Bu yöntem doğrudan işaretleme yöntemiyle ara kompleks yaklaşımının birleştirilmesi ilkesine dayanmaktadır (Taner, 2001).

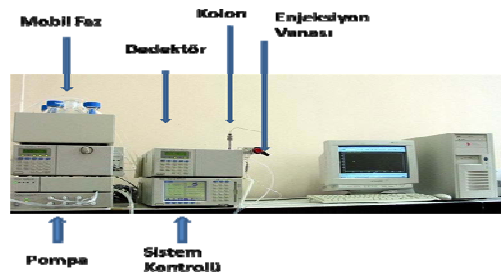
CCK-8 (kolesistokinin) DTPA (dietilentriamintetraasetik asit) ve GH (glukoheptonat) gibi BFŞA'lar kullanılarak, ^{99m}Tc ile yapılan bir işaretleme çalışmasında ^{99m}Tc -GH-CCK-8 ve ^{99m}Tc -DTPA-CCK-8 analogları %99'dan büyük bir verimle elde edilmiştir. Sonuç olarak, derişimleri konsantrasyonları ve afiniteleri ile birbirinden farklı olan CCK-8'in analoglarından CCK-B'nin beyin ile ilgili rahatsızlıklarda, teşhis ve tedavi amacıyla kullanılabilceği rapor edilmiştir (Ertay et al., 2001).

2.7. ^{99m}Tc işaretli bileşiklerin kalite kontrolü

^{99m}Tc kitteki ligand adı verilen ve bir organ sisteminde lokalize olmak üzere geliştirilmiş substrat molekülüne tutunmaktadır. Radyofarmasötigin teşhis ve tedavi amacıyla kullanılabilmesi için ^{99m}Tc ile işaretli bileşiğe ait işaretlenme veriminin (\geq %95) çok yüksek olması, ürün içinde bulunabilecek serbest ^{99m}Tc 'in çok düşük oranlarda kalmış olması ve işaretlemenin bir diğer yan ürünü olan indirgenmiş ^{99m}Tc 'inde, ortamda minimal düzeyde bulunması gerekmektedir. Hem serbest, hem de indirgenmiş ^{99m}Tc , görüntülerde yanlış tanıya neden olabilecek ya da değerlendirmeyi güçleştirecek safsızlıklar oluşturabilmektedir. Bu nedenle, hazırlanan radyofarmasötiklerin her birinin hastalarda kullanılmadan önce radyokimyasal saflık yönünden test edilmesi gerekmektedir. ^{99m}Tc radyofarmasötiklerinin kalite kontrolü için TLRC ve HPLC gibi kalite kontrol yöntemleri geliştirilmiştir.

2.7.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

Sıvı fazda çözünebilen kimyasal bir karışımın kolay ve hızlı bir şekilde bileşenlerine ayrıldığı, duyarlı kromatografik analiz yöntemine Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) denmektedir.



Şekil 2.5. Temel bir HPLC sistemi (Demir, İ., 2009)

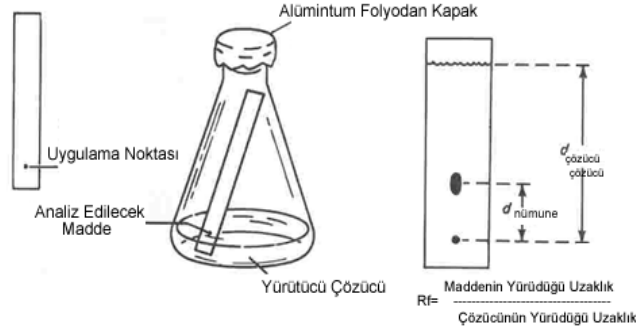
Klasik bir HPLC sistemi Şekil 2.5.'de gösterilmektedir. Bu sistemin en önemli bölümü ayırmanın gerçekleştiği kolondur. Kromatografik analiz süreci çözücüde çözülmüş olan örneğin sisteme enjekte edilmesi ile başlar. Hareketli (sürekli) faz ile birlikte kolona pompalanan örnek, kolon içinde bileşenlerine ayrılmaya başlar. Örnekteki her bileşenin gönderdiği sinyal dedektör

tarafından kaydedilir. Dedektör tarafından kaydedilen ve bilgisayara aktarılan sinyallerin tamamına “*kromatogram*” adı verilir. Günümüzde HPLC, bileşenlerine ayırma, saflaştırma, tanımlama ve derişim tayini gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., 2007).

2.7.2. İnce tabaka kromatografisi

Kromatografi, bir karışımda bulunan bileşenlerin birbirinden ayrılmasını sağlayan ve bu sayede nitel ve nicel analizlerin yapıldığı yöntemlerin genel adıdır. İnce tabaka kromatografisinde çalışma düzeneği *sabit* ve *hareketli faz olmak üzere* iki temel bileşenden oluşmaktadır.

Hareketli fazda bulunan bileşenler, sabit faza ait dolgu maddesiyle etkileşerek, sabit fazda bir miktar tutulurlar. Bu tutulma, örnekteki farklı bileşenler için farklı miktarlarda olmaktadır. Böylelikle bileşenler sabit fazın sonlarına doğru, farklı hızlarda ilerledikleri için, birbirinden ayrılmış durumda sabit fazı farklı zamanlarda terk ederler. Bu şekilde sabit fazdan çıkan bileşenlerin derişimleri uygun bir biçimde ölçülür ve zaman veya hareketli fazın kullanılan hacmine karşı “*kromatogram*” denilen grafikler elde edilir. İnce tabaka kromatografisinde, cam, alüminyum gibi maddelerden yapılmış levhalar üzerine silikajel, alüminyum oksit gibi malzemelerin ince bir katman halinde yayılmasıyla hazırlanmış tabakalar sabit faz olarak kullanılır (Kılıç et al., 2007).



Şekil 2.6. İnce Tabaka Kromatografisi (Demir, 2009)

İnce tabaka kromatografisinde uygulanan örneğin miktarı, çapı ve şekli önemlidir. Uygulanan çözelti nokta şeklinde ve yeterince küçük olmalıdır. Çözelti aşırı derişik ya da nokta çok geniş olursa, örnekteki bileşenler iyi bir şekilde ayrılamaz. Uygulanan örnek kuruduktan sonra yürütme kabına yerleştirilir (Şekil 2.4). İyi bir kromatografik çözümlenme için ayırma kabının içi, çözücü buharı ile dolana kadar beklenmelidir. Çözücünün taşıyıcılık gücü ne kadar fazlaysa adsorblanan maddeler bir o kadar hızlı hareket eder. Yürüme hızı maddenin, katı fazın ve

çözücünün polaritesine bağlıdır. Polar maddeler, çözücü/adsorban madde ikilisinden daha polar olan ile daha sıkı bir etkileşim içine girerler. Çözücü birkaç cm kadar ilerledikten sonra, plaka yürütme kabından alınır. Çözücünün ulaştığı seviye kurşun kalemle hafifçe işaretlenir ve çözücünün buharlaşması sağlanır. Eğer renksiz maddelerle çalışılıyorsa, plaka UV lambasının altına yerleştirildiğinde noktalar belirgin hale gelir. Gereken ölçümlerin yapılmasıyla R_f (alınkonma değeri) değerleri hesaplanır ve maddelerin ayrımı yapılır. Şekil 2.4'de görüldüğü gibi, maddenin sürüklendiği noktanın başlangıç noktasına uzaklığının toplam yürütme mesafesine oranına R_f değeri denir.

2.7.3. Stabilité

Radyokimyasal saflık, radyonüklidin bağlı olduğu bileşiğin radyoaktivitesinin toplam radyoaktiviteye oranı olarak tanımlanmaktadır. Ortamda istenilen bileşimin dışında oluşan radyoaktif bileşikler veya bağlanmamış olarak bulunan radyonüklidler “**Radyokimyasal Safsızlık**” olarak nitelendirilmektedir. Radyokimyasal safsızlıklar radyonüklidin üretimi sırasında, biyoaktif bileşenin sentezi sırasında (reaksiyonun tamamlanmamış olması, yan reaksiyonlar vermesi, çözücü veya safsızlıklarla oluşturduğu reaksiyonlar ve koruyucu grupların tam olarak ortamdan uzaklaştırılmaması) ve saflaştırmanın tam olarak yapılamamasından kaynaklanmaktadır (Vera-Ruiz et al., 1990). Hazırlandığı sırada kimyasal yönden saf olan bir radyofarmasötik dış etkenlere ve zamana bağlı olarak, radyonüklidin bağlı olduğu molekülden ayrılarak veya radyasyonla bozunarak ve bunlar yanında pH ve sıcaklık gibi nedenlerle safsızlıklarını yitirmektedirler. Bu olay radyofarmasötiğin kararlılığı ile ilgili bir durumdur. Bu noktada ortaya çıkan radyokimyasal safsızlıklar, hedef organ veya bölgenin dışındaki yerlere lokalize olarak gereksiz yere verilen bir radyasyon dozuna ve sintigrafik incelemede olası yanılgılara neden olmaktadır (Enginar, H., 2002).

Radyonüklide ait radyoaktivitenin, toplam radyoaktiviteye oranına “**Radyonüklid Saflık**” denmektedir (Özker, 1979, Vera-Ruiz et al., 1990). Radyonüklid safsızlık, istem dışı gelişen bazı nükleer reaksiyonlar veya maddenin içindeki kimyasal safsızlıklar sebebiyle oluşan nükleer reaksiyonlar sonucunda oluşmaktadır. Bunun yanında radyonüklidin üretimi sırasında meydana gelen radyoizotopik kontaminasyonlarda söz konusu safsızlıklara neden olmaktadır (Enginar, H., 2002).

Fizikokimyasal açıdan bakıldığında, ortamdaki pH değişimleri radyofarmasötiklerin radyokimyasal saflığını ve fizyolojik davranışlarını önemli ölçüde etkilemektedir. Örneğin, ^{99m}Tc -DTPA kompleksinde, ^{99m}Tc 'in molekülden kararlı olarak kalabilmesi için pH'ın 4 düzeyinde korunması gerekmektedir. Diğer taraftan ^{99m}Tc -sülfür kolloidinin pH=6'nın üzerindeki pH değerlerinde parçalandığı ve ^{99m}Tc ' un molekülden ayrıldığı, buna bağlı olarak radyokimyasal saflığın bozulduğu rapor edilmiştir (Enginar, H., 2002). ^{99m}Tc - BLM ve ^{99m}Tc -BLMG ile yapılan

işaretleme çalışmalarında ise ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin pH= 5 ve ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin pH=7 değerinde radyokimyasal saflığını koruduğu gözlenmiştir.

Dolaşım sistemi yoluyla vücut içinde dolaşan radyofarmasötiklerin izotonik bir çözelti olmaları istenmektedir. Osmometre ile ölçülen osmotik basıncın, fizyolojik seruma eşit veya mümkün olduğu kadar yakın olması gerekmektedir.

Yukarıda bahsedilen Radyokimyasal Saflık, Radyonüklid Saflık ve Fizikokimyasal Saflık bileşenlerinin bileşkesi olarak tasarlanan bir radyofarmasötüğün biyolojik bir ortamda süregelen çalışmalar boyunca bozunmadan kendi kimyasal yapısını korumasına “**Stabilite (Kararlılık)**” denmektedir. Nükleer tıp açısından, ideal bir radyofarmasötüğün hazırlanması ve kullanılması sırasında kimyasal kararlılığını koruması gerekmektedir ve kimyasal kararlılık radyonüklidin bağlandığı ligand ve farmakokinetik değişkenlerine bağımlılık göstermektedir.

2.7.4. Partisyon katsayısı (Lipofilite)

Lipofilite, bir bileşiğin sulu ortamla biyolojik membranlar arasındaki farklı dağılımı sonucunda ortaya çıkan önemli bir parametredir. Aynı zamanda bir maddenin yağda çözünme eğiliminin ölçüsüdür ve genellikle oktanol–tampon ikili çözgen sistemiyle ölçülen bir değerdir (Gulyaeva et al., 2003). Bileşiğin çözgen sisteminde bulunan farklı çözgenler arasında, farklı çözünmesi sonucunda; üst fazdaki bileşimin alt fazdaki bileşime oranından bir P (partisyon katsayısı) dağılma katsayısı elde edilir. Genel olarak bu dağılma katsayısı lipid/su oranına eşittir. Dağılma katsayısının logaritmasının alınmasıyla ile biraz önce bahsedildiği gibi, lipofilite adı verilen parametre elde edilmiş olur. Bu katsayı ne kadar büyükse maddenin lipid membrandan absorpsiyonu o kadar fazla olur. Ve işaretli bileşiğin hücre içerisinden geçerek tümörlü hücrelere nüfuz etmesi o denli kolaylaşır. Lipofilite kimyasal bileşiklerin yağ, petrol, lipid, hekzan, toluen ve oktanol gibi apolar çözgenlerde çözünme yeteneğini göstermektedir (Demir, 2009). Lipofilite değeri, özellikle yapı itibarıyla peptid hormonuna dayanan ilaçların dizaynında, ilaçların kan-beyin bariyerinden geçme eğilimini gösteren bir parametredir (Witt et al., 2001). Son yıllarda, beyinde lokalize olan ve kan-beyin bariyerinden geçebilen beyin görüntüleme amaçlı ^{99m}Tc radyofarmasötiklerinin dizaynı üzerinde birçok çalışma mevcuttur (Ertay et al., 2001).

2.7.5. Görüntüleme ve sintigrafi

İki ya da üç boyutlu bir cismin gerçeğine en uygun yansımalarının elde edilmesi işlemine “**Görüntüleme**” adı verilmektedir.

Nükleer tıpta görüntüleme amacıyla radyofarmasötiklerden yararlanılmaktadır. Radyofarmasötikler seçilmiş organ veya bölgelerde spesifik olarak tutulum gösteren radyoaktif ajanlar olduğundan, bu yönüyle incelenecek organın dedektörler vasıtasıyla tetkine ve görüntüsünün alınmasına imkan vermektedir. Radyofarmasötiklerin yapısında bulunan radyonüklidin incelenecek organ veya dokudaki dağılımını görüntü şeklinde saptama yöntemine

“Radyonüklid (Radyoizotop) Görüntüleme (RG)” adı verilmektedir. Ancak radyofarmasötik formunda vücuda verilebilen radyonüklidin organizmadaki dağılımının görüntülenmesi ile anatomik bilgiler, bu dağılımın zamana göre değişikliklerinin saptanması ile de fizyolojik bilgiler elde edilmektedir. Gerek anatomik gerekse fizyolojik bilgiler radyonüklidden yayınlanan nükleer radyasyon nedeniyle parlamalar halinde ışığa çevrilerek dedekte edilmektedir. Görüntüler sintilasyon dedektörleri tarafından alındığı için yöntemine “Sintigrafi” denilmektedir (<http://vimedts.ktu.edu.tr/nukleertip>).

Nükleer tıpta kullanılan sintigrafi çekim protokolleri şu başlıklar altında toplanmaktadır (Tamgaç, F., Erselcan, T., 2001).

2.7.5.1. Dinamik sintigrafi

Radyoaktif bir maddenin zaman içinde vücutta gösterdiği değişiklikleri saptayarak, hedef organın fonksiyonel durumu (alınma, birikim, konsantrasyon ve atılım şekli) hakkında bilgi veren görüntüleme şekline **“Dinamik sintigrafi”** adı verilmektedir.

- **Görüntünün elde edilmesi**
 - Radyofarmasötüğün organizmada geçirdiği aşamalar zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilir.
 - Birbirini takip eden zaman aralıkları içinde tetkik edilen özelliklerine bağlı olarak, 0.1 sn ile dk’lar arasında değişen sürelerde görüntüler elde edilir.
- **İlgi alanı (Region of interest, ROI) saptanması**
 - İlgilenilen bölgenin sınırları kullanıcı tarafından elle çizilerek veya bilgisayar yardımı ile otomatik olarak belirlenebilir.
- **Zaman-aktivite grafiğinin çizilmesi**
 - X koordinatına zaman, Y koordinatına ise dinamik serideki bir ilgi alanından elde edilen aktivite sayımları konarak çizilen grafiğe zaman-aktivite grafiği, elde edilen eğriye ise zaman-aktivite eğrisi elde edilir.

2.7.5.2. Statik sintigrafi

Belirli bir zaman aralığında alınan sayımların üst üste konulmasıyla görüntü elde edilmesine “Statik sintigrafi” denmektedir. Özellikle radyofarmasötüğün vücutta görece daha statik (zaman-aktivite eğrisinin plato dönemlerinde) olduğu durumlarda tercih edilmektedir (Kekilli, E., 2001). Statik sintigrafi alınırken;

- Belirli bir zaman aralığında hastadan alınan bilgiler seçilen matrikse kaydedilir.
- Çekim öncesi belirlenen süre zarfında alınan sayımlar üst üste konularak görüntü elde edilir.

2.7.5.3. Tüm vücut sintigrafisi

Dedektör veya dedektörlerin vücudun uzun eksenini boyunca hareket ederek, bu bölgelerden geçerken aktivite sayımlarını alması prensibine dayanmaktadır. Tüm vücut taramalarında hastanın başından ayakucuna kadar radyonüklidi tararlar veya hasta yatağı kamera altında hareket ettirilir. Kamera hareket ettikçe katot ışın tüpündeki görüntü de senkronize bir şekilde hareket edeceğinden tüm vücut görüntüsü bir tek film üzerine kaydedilmektedir. Tüm vücut sintigrafisi, özellikle kemikteki metastaz aranmasında sıklıkla başvurulan bir sintigrafi yöntemidir.

2.7.5.4. Tomografik sintigrafi

a-) **SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography = Tek Foton Emisyon Bilgisayarlı Tomografisi)**

- Hastaya verilen radyofarmasötüğün yaydığı ışınların gama kamera ile bir çok açıdan kayıt edilmesi ve bunlardan yararlanılarak tomografik kesit görüntülerinin oluşturulması yöntemine “**SPECT**” denmektedir (Tamgaç, F., Erselcan, T., 2001).
- Hasta sabit olarak SPECT masası üzerinde yatarken, 360 derece dönebilme özelliğine sahip olan bir gama kamera hastanın çevresinde 180°C veya 360°C derece dönüp, bu arada belli açılarda durarak iki boyutlu planar görüntüleri bilgisayara kayder. Zıt yönde duran iki kamera veya üç başlı kamera sistemleri de SPECT kaydı için kullanılır. Elde edilen planar görüntüler X-ışınları tomografisine benzer bir teknikle bilgisayar aracılığıyla üç boyutlu kesitler haline getirilir.

Görüntülerin hastadan kaydedilmesi için çeşitli yöntemler ve parametreler kullanılmaktadır. Görüntüyü yüksek kalitede elde etmek için uygun parametrelerin seçilmesi gerekmektedir. Çekimler uzun sürdüğünden ve hastanın uzun süre hareketsiz yatması zor olduğundan, mümkün olan en kısa zamanda ve en uygun rezülosyonda çekim yapılmalıdır. Ne kadar çok görüntü ne kadar dar açıda alınırsa o kadar iyidir. Elde edilen görüntülerin çeşitli bilgisayar işlemlerinden geçirilerek üç boyutlu kesitler haline getirilmesine “**Rekonstrüksiyon**” adı verilmektedir.

Hastanın boyu y eksenini olarak alındığında y eksenini kesen kesitlere transvers, x eksenini kesen kesitlere sajjital, z eksenini kesen kesitlere koronal (frontal) kesitler adı verilmektedir (Görpe, A., 1992).

b-) **PET (Positron Emission Tomography = Pozitron Emisyon Tomografisi)**

Pozitif beta (β^+) ışınması yapan radyofarmasötiklerden yayınlanan pozitronların yok olmaları sırasında verdikleri 511 keV'lik iki gama fotonunun karşılıklı iki dedektör ile eş zamanlı olarak tetkiki prensibine dayanan görüntüleme şekline “**PET (Positron Emission Tomography = Pozitron Emisyon Tomografisi)**” adı verilmektedir (Tamgaç, F., Erselcan, T., 2001). En

çok kullanılan radyonüklidler ^{18}F , ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N , ^{82}Ru ve ^{68}Ga ' dur. Vücutta bulunan su, CO, CO₂, O₂, aminoasit, glukoz ve yağ asitleri gibi yapı taşı molekülleri bu radyonüklidlerle işaretlenmektedir. Böylece in vivo olarak gerek normal fonksiyonların gerekse hastalıkların altında yatan biyokimyasal ve biyolojik süreçlerin araştırılması ve açığa çıkarılması PET ile sağlanmaktadır. PET görüntüleme sisteminde siklotronda üretilen radyonüklidler kullanılmaktadır. Bu radyonüklidler çok kısa yarı-ömürlü ve siklotron üretiminin yapıldığı yerin hastaya çok yakın olması gerektiğinden, üretilen maddenin çok kısa bir zamanda bozunması ve kameranın oldukça pahalı olması sistemin maliyetini yükseltmektedir.

Pozitron yayan tomografinin, SPECT'ten en önemli farkı kullanılan radyofarmasötikler ve bunları algılayabilen dedektörlerin tasarımıdır. PET'in SPECT'e göre üstünlükleri şöyle sıralanmaktadır:

- Kullanılan radyofarmasötiklerin vücut kimyası hakkında bilgi vermesi,
- Radyonüklidlerin çok kısa yarı-ömürlü olması nedeniyle bir hastada bir defada birden fazla enjeksiyon ile çok sayıda çekim yapılabilmesi,
- Daha iyi bir uzaysal ve renksel rezolüsyon sağlaması,
- Görüntüde daha yüksek bir kalite sağlaması,
- Alınan daha etkin ve yeterli sayımlar sonucunda sayım istatistiğinin çok daha doğru olması.

Klinikte PET radyonüklidleri ile beyin, tümör ve miyokard reseptörleri, metabolik ajanlar, çeşitli ilaçlar, proteinler ve antikolar işaretlenebilmektedir. Onkolojideki kullanımı ise henüz sınırlıdır. Çünkü tüm vücut tarayıcı PET kameralar dünyada sınırlı sayıda bulunmaktadır. Bununla birlikte kolorektal kanserler, meme, over, akciğer, beyin, prostat, lenfatik, karaciğer, kemik kanserlerinde ve Hodgkin hastalığında tümörün perfüzyonunun, metabolizmasının incelenmesinde, evrelendirme ve tedavinin değerlendirilmesindeki yeri hakkında yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Görpe, A., 1992).

2.7.6. Aktivite

Bir maddenin taşıdığı radyoaktivite miktarı aktiflik birimleri ile ifade edilmektedir. Aktiflik birimleri ise radyoaktif maddenin miktarı ve aktifliği ile ilişkilendirilmektedir. Radyoaktif bir maddenin birim zamanda bozulan tanecik sayısına o maddenin "**Aktifliği**" ya da "**Radyoaktif Bozunma Hızı**" denmektedir. Aktiflik birimleri olarak Curie(Ci) ve Becquerel (Bq) büyüklükleri kullanılmaktadır.

- **Curie (Ci)** : Radyoaktivitenin keşfedilme yıllarında tonlarca Uranyum filizinden miligram mertebesindeki Radium elementini ayırmayı başaran ve radyoaktif maddelerle ilgili olarak son derece önemli çalışmalar yapan Fransız Bayan Curie ve eşi Bay Curie'nin isimlerine atfen verilen bu isim, kısaca (Ci) olarak gösterilmekte ve

Türkçede “Kür” olarak telafuz edilmektedir. 1 s içinde 3.7×10^{10} tane atomu bozunan radyoaktif bir maddenin radyoaktivitesine “1 Ci” denmektedir. 1 g ^{226}Ra ’un sahip olduğu radyoaktivite miktarı 3.7×10^{10} ‘dur. Bu ise yarı-ömrü 1602 yıl olan ^{226}Ra ’un 1 gramı içinde 1 s’de 3.7×10^{10} tane atom bozunduğu anlamına gelmektedir. Ci oldukça büyük bir radyoaktivite birimi olduğu için, Ci’nin alt katları kullanılmaktadır.

- 1 mCi (miliküri) : 10^{-3} Ci
- 1 μCi (mikroküri) : 10^{-6} Ci
- 1 nCi (nanoküri) : 10^{-9} Ci
- 1 pCi (pikoküri) : 10^{-12} Ci

➤ **Becquerel (Bq)** :. Radyoaktivitenin kâşiflerinden Fransız fizikçi, Antoine Henri Becquerel’in (15 Aralık 1852 - 25 Ağustos 1908) radyoaktivite çalışmalarına olan katkılarından dolayı kendi ismine atfen kullanılan bir radyoaktivite birimi olan Becquerel (Bq), Curie (Ci) ‘ye göre daha küçük bir radyoaktivite birimi olduğu için, günümüzde SI (Standart International) birim sisteminde tercihen kullanılan bir büyüklüktür. Türkçe’de “Bekörel” olarak telaffuz edilmektedir. 1 s’lik bir süre içerisinde 1 adet bozunma yapan radyoaktif bir maddenin radyoaktivitesine “1 Bq” denmektedir. Ci’ye göre 3.7×10^{10} kez daha küçük bir büyüklük olduğundan dolayı genellikle Bq ‘in üst katları kullanılmaktadır.

- 1 KBq (kilobekörel) : 10^3 Bq
- 1 MBq (megabekörel) : 10^6 Bq
- 1 GBq (gigabekörel) : 10^9 Bq

Bekörel ve Küri büyüklükleri arasındaki çevrim faktörleri aşağıdaki gibi ifade edilmektedir (Ünak, T., 2007).

- 1 Ci = 3.7×10^{10} Bq
- 1 mCi = 3.7×10^7 Bq
- 1 μCi = 3.7×10^4 Bq
- 1 nCi = 370 Bq
- 1 pCi = 0.37 Bq
- 1 Bq = 2.7×10^{-11} Ci
- 1 KBq = 2.7×10^{-8} Ci
- 1 MBq = 2.7×10^{-5} Ci
- 1 GBq = 2.7×10^{-2} Ci

2.7.6.1. Spesifik aktivite

Radyoaktif bir maddenin birim hacim ya da birim kütle başına düşen aktivitesine o maddenin “**Spesifik aktivitesi**” denmektedir. Spesifik aktivite mCi/g ya da mCi/mL birimleri ile veya mBq/g ya da mBq/mL birimleri gösterilmektedir (Cantez, S., Görpe, A., 1992).

Spesifik aktivitenin düşük olması durumunda, ortamdaki radyoaktif olmayan atom miktarı fazla olacağı için, sözkonusu atomlar işaretleme sırasında radyoaktif atomlarla yarışmaya girerek işaretleme veriminin düşmesine neden olurlar. Diğer taraftan spesifik aktivitenin yüksek olması radyoliz ve istenmeyen kirliliklerin oluşmasına yol açar (Tamgaç, F., Erselcan, T., 2001).

2.7.7. Biyodağılım

Yeni geliştirilen bir radyofarmasötiğin biyolojik davranışının deney hayvanları kullanılarak incelenmesine “**Biyodağılım**” denmektedir. Radyofarmasötiğin organlardaki lokalizasyonu, deney hayvanları üzerinde otoradyografi veya diseksiyon yoluyla zamana bağlı olarak birikime ve boşaltım performansına (clearance) göre değerlendirilmektedir. Böylelikle radyofarmasötiğin, incelenmesi istenen organ veya bölgeye giden oranı bulunmaktadır. İdeal bir radyofarmasötiğin tümör dokusundaki konsantrasyonu (tümör tutulum oranı) yüksek olmalıdır (Tamgaç, F., Erselcan, T., 2001). Hedef organ veya bölge ile civarındaki dokular arasındaki lokalizasyon ne kadar farklı olursa sintigrafideki ayırım o ölçüde iyi olmaktadır (Silva et al., 2001; Enginar, H., 2002). Hedef organ veya bölge ile civar dokulardaki lokalizasyon sırasında fark yoksa veya bu fark küçükse, incelenmesi istenen hedef sintigrafik olarak ayırt edilemeyecektir. Bundan dolayı, biyodağılım çalışmalarının değerlendirilmesinde öncelikle olası hedef organlar belirlenerek, olası hedef organların referans organlara olan oranları irdelenmektedir. Söz konusu oran ne kadar büyükse tasarlanan radyofarmasötiğin o organa olan spesifikliği de o denli artacaktır.

Radyofarmasötiklerin deney hayvanlarındaki dağılımı ve biyolojik davranışlarından yararlanarak, vücudun belirli bir organ veya bölgeleri için biyolojik yarı-ömürler tayin edilmektedir. Radyofarmasötiğin biyolojik davranışı ve radyonüklidin fiziksel özelliklerinden faydalanarak vücudun bütününe ve kritik organlara verilen radyasyon dozu belirlenmektedir (Enginar, H., 2002).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan kimyasallar ve cihazlar

3.1.1. Kullanılan kimyasallar

- Bleomycin sülfat (Blenoxane) (Merck),
- Sodyum perteknatat ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) (Monrol A.Ş.),
- Sodyum klorür dihidrat ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck),
- Asetonitril (Merck),
- Aseton (CH_3OCH_3) (Merck),
- Amonyum asetat (NaCH_3COO) (Merck),
- Kloroform (CHCl_3) (Merck),
- Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Merck),
- Metanol (CH_3OH) (Merck),
- n-oktanol (Merck),
- pH = 7 tamponu (Merck),
- Sitrat tamponu (pH = 6,6) (Merck),
- Sitrik asit monohidrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Merck),
- Metil Etil Keton (MEK) ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$) (Merck),
- Dipotasyum hidrojenfosfat (K_2HPO_4) (Merck),
- Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck),
- Serum fizyolojik (SF) (% 0,9 NaCl çözeltisi),
- Amonyum hidroksit ($\text{NH}_4 \text{OH}$) (Merck),
- n – bütanol ($\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$) (Merck),
- Asetik asit (CH_3COOH) (Merck),
- İzopropil alkol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$) (Merck),
- Glukoheptonat ($\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NaO}_8 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) (Merck),
- Sodyum hidroksit çözeltisi (Katı-NaOH) (Merck),
- Hidroklorik asit çözeltisi (%97'lik HCl) (Merck),
- Amonyak çözeltisi (%98'lik NH_3) (Merck),
- ITLC-SG (Merck-5554),
- ITLC-SG (Merck-5565),
- Deterjanlı çözelti,
- Deiyonize su (H_2O),
- Sodyum hipoklorit çözeltisi (NaOCl) (Merck),
- UDPGA enzimi (Üridin Difosfat Glukoronik Asit),
- Asit- Sitrat-Dekstroz Çözeltisi (ACD) (Eczacıbaşı/Baxter).

3.1.2. Kullanılan cihazlar

RAD-501 Cd (Te) tek kanallı sayım sistemi (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı ve C. B. Ü. Nükleer Tıp Anabilim Dalı), HPLC Shimadzu (LC-10 Atpv kuarterner pompalı, SPD-10AV UV dedektörlü, FRC-10A fraksiyonlama kolektörü) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı), TLC scanner cihazı (Bioscan 2000) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamaları Anabilim Dalı), santrifüj cihazı (Hettich Rotina 38R Soğutmalı Santrifüj) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı), Sirkülasyonlu su banyosu (Nüve-BM 30), Etüv (Nüve – FN 400), pH-metre (Merck).

3.2. BLMG'in enzimatik yöntemle sentezi

6 mM CaCl_2 , 10mM UDPGA ve 1mM DTT içeren 50 mM Tris-tamponunun (pH = 8) 5 mL'sine, protein değeri saptanmış olan mikrozomal enzimden 119 μL (1.5 mg protein) ilave edilmiş ve bu karışım 10 dk 37°C 'de su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. 10 dk'nın sonunda karışıma 500 μL (0.5 mg) BLM ilave edilmiş ve tepkime aynı sıcaklıkta 18 saat inkübe edilmiştir. Bu işlemden sonra tepkime karışımına 300 μL asetonitril ilave edilmiş ve karışım 5200 rpm de 10 dk boyunca santrifüjlenmiştir (Biber et al., 2004; Avcıbaşı et al., 2008). Bu sürenin sonunda supernatant içinde sentezlenmiş olan BLMG'in (500 $\mu\text{g}/5.7$ mL) tepkime verimi HPLC cihazında pik alanlarının oranı göz önüne alınarak hesaplanmıştır.

3.3. Kullanılan çözeltiler

3.3.1. Kalay klorür çözeltisi

0,0011 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartıldıktan sonra hacmi suyla 1 mL (1000 μL) 'ye tamamlanmıştır. Böylece 0.0011mg/1 mL SnCl_2 çözeltisi hazırlanmıştır.

3.3.2. BLM çözeltisinin hazırlanması

1.0 mg BLM, 1 mL (1000 μL)' lik bir ependorf'a konularak, 1.0 mg/1 mL' lik sulu BLM stok çözeltisi hazırlanmıştır.

3.4. İşaretleme çalışmaları

3.4.1. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BLM kompleksine ait işaretleme çalışması

40 μL (10 μg) BLM çözeltisine 50 μL (50 μg) SnCl_2 çözeltisi eklenmiş ve karışım 0,1 M NH_3 ile pH=6'ya ayarlanmıştır. Ardından karışımdan 5 dk süreyle Ar gazı geçirilmiş ve bu sürenin sonunda karışıma 30 μL (1.8 mCi/ $6,7 \times 10^7$ Bq) $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ ilave edilerek karışımdan 2 dk daha Ar gazı geçirilmiştir. Karışım yaklaşık 30 dk boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda 67 MBq/30 μL $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -BLM kompleksi hazırlanmıştır.

3.4.2. ^{99m}Tc-BLMG kompleksine ait işaretleme çalışması

290 µL (50 µg) BLMG çözeltisine 50 µL (50 µg) SnCl₂ çözeltisi eklenmiş ve karışım 0,1M HCl ile pH=7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra karışımdan 5 dk süreyle Ar gazı geçirilmiş ve bu sürenin sonunda karışıma 120 µL (2.0 mCi/ 7,4x10⁷ Bq) ^{99m}TcO₄⁻ ilave edilerek, karışımdan 2 dk daha Ar gazı geçirilmiştir. Karışım 30 dk boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda 74 MBq/120 µL' lik ^{99m}Tc-BLMG işaretli bileşiği elde edilmiştir.

3.5. Kromatografi

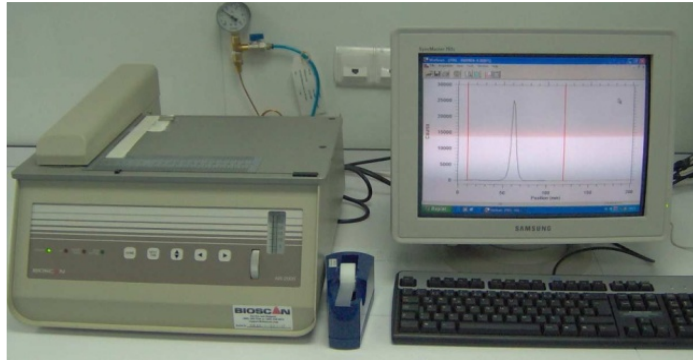
3.5.1. HPLC çalışması

HPLC çalışmalarında düşük basınçlı LC-10 Atvp dörtlü pompa ve (SPD-10AV) UV dedektörüne sahip olan Shimadzu marka HPLC cihazı kullanılmıştır. Çalışmada inaktif BLM ve BLMG için sağlanan optimum kromatografik koşullar ve bunlara ilişkin elde edilen kromatogramlar 4. bölümde ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.6. Kalite kontrol çalışmaları

3.6.1. TLRC çalışması

TLRC çalışmalarında 1.5x10 cm'lik parçalara ayrılmış silika kaplı TLC tabakaları (Merck 5554) kullanılmıştır. Tabakaların tabanından 0.5 cm yukarısına işaretli çözeltiler kapiler yardımıyla damlatılmış ve damlatılan örnekler tabaka üzerinde kuruduktan sonra ağzı kapalı olan TLC tanklarına (Sigma) uygulama noktası değmeyecek şekilde konulmuştur. Çözgen, tabaka üzerinde tepe noktasının yaklaşık 1-2 cm aşağısına kadar yürüdüktan sonra TLC tabakaları tank içinden çıkarılıp oda sıcaklığında kurutulmuş ve kontaminasyonu önlemek için üzeri izolobantla kaplanmış (Biber et al., 2008; Ertay et al., 2001) ve sayımlar Şekil 3.1'de gösterilen TLC scanner kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. TLRC çalışmalarında kullanılan TLC Scanner cihazı (Bioscan 2000)

Radyoaktif maddenin taşındığı mesafe çözücünün ilerlediği mesafeye bölünerek R_f değerleri tespit edilmiş ve **Sayım (cps)-kat edilen mesafe** değerleri grafiğe geçirilerek TLRC kromatogramları elde edilmiştir. Bağlanma verimleri pik alanının sayımı toplam sayıma bölünerek hesaplanmıştır. Kalite kontrol çalışmalarında işaretli bileşiklerin bağlanma verimleri (n=5) ölçülmüştür. Kalite kontrol çalışmalarında BLM ve BLMG'e ait bağlanma verimleri sırasıyla ACD (Asit-Sitrat-Dekstroz) ve deterjanlı banyo sistemleri kullanılarak ölçülmüştür. Bu ölçümlere ait sonuçlar 4.bölümdeki Sonuçlar kısmında ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.7. Lipofilite çalışmaları

Bu çalışmada ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG örneklerinin lipofilite değerleri deneysel olarak tayin edilmiştir. Bunun için işaretli bileşiğin 100 μL 'si, içerisinde 300 μL n-oktanol ve 300 μL pH= 7 tampon çözeltileri bulunan karışıma ilave edilmiş ve karışım 15 dk oda sıcaklığında vortekslelendikten sonra, 2500 rpm de 30 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında alt faz (su) ve üst faz (oktanol) ayrılarak aktiviteleri Cd(Te) dedektörlü RAD501 tek kanallı sayım sisteminde sayılmış ve $\frac{\text{Cd(Te)}}{\text{Bileşik}}$ oranı ile logP değerleri hesaplanmıştır. Aynı işlemler üçer kez tekrarlanmış ve elde edilen deneysel ve teorik sonuçlar Çizelge 6'da verilmiştir.

3.8. İnsan kan serumundaki stabilite çalışmaları

İşaretli bileşiklerin (^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG) insan kan serumundaki kararlılıkları aşağıdaki gibi ölçülmüştür; sırasıyla 60 μL (5 μg), 33.5 MBq (~905 μCi) ^{99m}Tc -BLM; 230 μL (25 μg) ve 25 MBq (675 μCi) ^{99m}Tc -BLMG çözeltileri 1 μL insan kan serumuna ilave edilmiş ve bu karışımlar 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Sırası ile her bir örnekten 0., 30., 60., 180. ve 1440 dk'larda 0.05 mL'lik örnekler alınarak, TLRC yöntemi ile bağlanma verimleri hesaplanmıştır. Her bir işaretli bileşiğin stabilite çalışmaları üçer kez tekrarlanmış olup, buna ilişkin sonuçlar sırasıyla Çizelge 7 ve Çizelge 8'de verilmiştir.

3.9. Erkek Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmaları

3.9.1. ^{99m}Tc -BLM'ye ait biyodağılım çalışmaları

^{99m}Tc -BLM'nin biyodağılım çalışmalarında 9 tane erkek Albino Wistar sıçan kullanılmıştır. Biyodağılım çalışmalarından önce, BLM'nin ^{99m}Tc ile işaretlenmesine ilişkin en yüksek bağlanma veriminin elde edildiği işaretleme çalışması yapılmıştır. Bunun için; 25 μL (25 μg) BLM çözeltilisi, 25 μL (25 μg) $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltilisiyle karıştırılmıştır. Karışımın pH'ı 5'e ayarlanmış ve karışımdan 5 dk süreyle Ar gazı geçirilmiştir. Bu sürenin sonunda karışıma 660 μL (10 mCi/3,7 $\times 10^8$ Bq) $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ilave edilerek, karışımdan 2 dk daha Ar gazı geçirilmiştir.

Daha sonra karışım oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda 370 MBq/660 µL ^{99m}Tc ile işaretli 710 µL (25 µg) ^{99m}Tc-BLM çözeltisi elde edilmiştir. Her sıçana kuyruk veninden olmak üzere 0.1 mL (4µg) ^{99m}Tc-BLM enjekte edilmiştir.

Enjeksiyon öncesinde ve sonrasında 10'dan 18'e kadar numaralandırılmış olan enjektör aktiviteleri, RAD 501 tek-kanallı Cd (Te) dedektörüyle sayılmıştır. Sıçanlar 30., 120. ve 240.dk'lar sonunda, yoğun eter ortamında sakrifiye edilerek çıkarılan organlar, önceden daraları alınan küçük kaplar içine konulmuştur. Önce her bir organa ait tartım değeri, daha sonra aktivite değerleri Cd (Te) dedektörü ile iki kez sayılmış ve her bir organ için gram başına düşen %doz değerleri (% D/ g) hesaplanmıştır. Her bir zaman noktası için 3'er adet hayvan kullanılmıştır. Bu veriler kullanılarak Excel programında zamana karşı biyodağılım grafikleri elde edilmiştir.

3.9.2. ^{99m}Tc-BLMG'e ait biyodağılım çalışmaları

^{99m}Tc-BLMG'in biyodağılım çalışmalarında 9 tane erkek Albino Wistar sıçan kullanılmıştır. Biyodağılım çalışmalarından önce, BLMG' nin ^{99m}Tc ile işaretlenmesine ilişkin en yüksek bağlanma verimli radyokompleksin elde edilmesine ilişkin deneyler yapılmıştır. Bunun için, 570 µL (50 µg) BLMG çözeltisi, 50 µL (50 µg) SnCl₂.2H₂O çözeltisiyle karıştırılmıştır. Karışımın pH'ı HCl ile 7'ye ayarlanmış ve karışımdan 5 dk süreyle Ar gazı geçirilmiştir. Bu sürenin sonunda karışıma 660 µL (10 mCi / 3,7×10⁸ Bq) ^{99m}TcO₄⁻ ilave edilerek, karışımdan 2 dk daha Ar gazı geçirilmiştir. Daha sonra karışım oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda 370 MBq/660 µL ^{99m}Tc ile işaretli 760 µL (50 µg) ^{99m}Tc-BLMG kompleksi elde edilmiştir. Her sıçana kuyruk veninden (6.6 µg) 0.1 mL ^{99m}Tc-BLMG enjekte edilmiştir. Bu aşamadan sonra 3.9 kısmında anlatılan işlemler yapılarak zamana karşı biyodağılım grafikleri elde edilmiştir.

3.10. Erkek Albino tavşanlar üzerinde yapılan sintigrafi çalışmaları

^{99m}Tc ile işaretlenerek elde edilen ^{99m}Tc-BLM ve ^{99m}Tc-BLMG bileşiklerinin terapik dozunun tüm vücut içindeki lokalizasyonunu gözlemleyebilmek için, sintigrafi çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalar C. B. Ü. Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda GE Infinia çift başlı gama kamera (Hacarmal, Tirat, Israel) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

^{99m}Tc-BLM ve ^{99m}Tc-BLMG bileşikleri tavşanlara enjekte edilmeden önce, ketamin-ksilazin (Asikoglu et al., 2009) anestezi karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan bu karışım tavşanlara enjekte edilip hayvanlar uyutulduktan sonra, işaretli bileşikler ortalama ağırlığı 2,5-3 kg arasında değişen ve bir tutucu üzerine sırt üstü bağlı olarak yerleştirilen iki adet erkek Albino tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilerek, işaretli bileşiklere ait sintigrafiler belirli süreler sonunda alınmıştır. İlk sintigrafi 30. dk'da hem statik hem de dinamik olarak alınmış, diğer sintigrafiler ise 120. ve 240. dk'dan sonra sadece statik olarak alınmıştır. Dinamik görüntüler 60 s'lik 30'ar tane halinde, statik görüntüler ise 650 count'luk sayımlar sonunda elde

edilmiştir. Sintigrafik çalışmalardan elde edilen görüntüler ve bunlara ilişkin tartışmalar 4. bölümde yer almaktadır.

3.11. İstatistiksel analizler

Biyodağılım sonucu elde edilen verilerin, istatistiksel Varyans analizleri ve Pearson korelasyonu, SPSS 13 yazılım programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Hedef organların gram başına düşen aktivite değerleri hesaplandıktan sonra, ^{99m}Tc ile işaretli $^{99m}\text{Tc-Blm}$ ve $^{99m}\text{Tc-Blmg}$ bileşikleriyle hedef organlar arasındaki ilişkileri Pearson Korelasyonu uygulanarak %95'lik güven aralığında değerlendirilmiştir. Buna ilişkin sonuçlar 4. bölümde verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

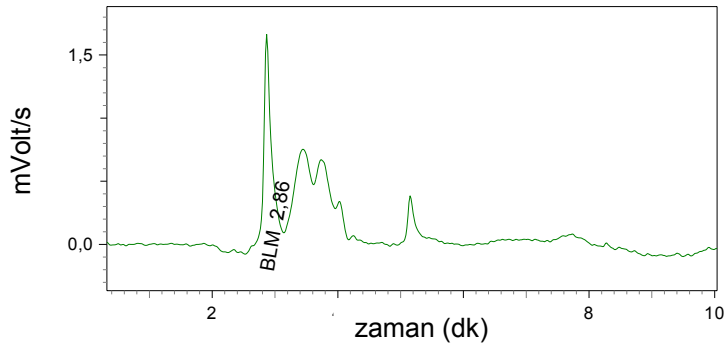
4.1. İnaktif bileşenler (BLM ve BLMG) için kullanılan kromatografik yöntem ve sonuçları

4.1.1. BLM ve BLMG'e ait HPLC sonuçları

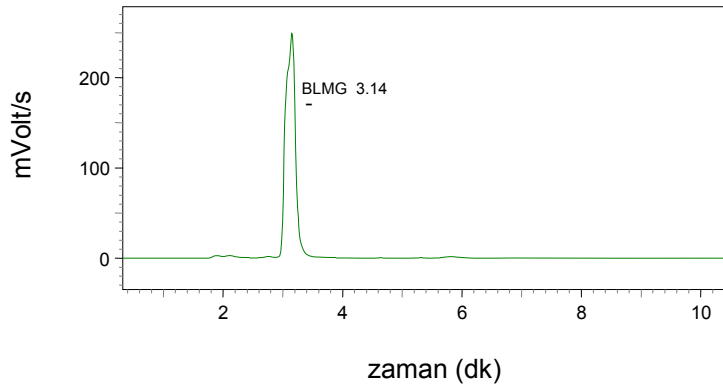
BLM ve BLMG kullanılarak yapılan HPLC çalışmalarında kullanılan kromatografik koşullar ve elde edilen kromatogramlar sırasıyla Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. HPLC yönteminde uygulanan kromatografik koşullar

Kolon	EC 250/ 4,6 NUCLEODUR 100 – 5 C18 (250 ×4,6 mm I.D.) Analitik Kolon (Macherey-Nagel)
Akış hızı	1 mL / dk
Dalga boyu	260 nm
Mobil faz	25 °C
Sıcaklık	%100 Amonyum asetat tamponu (10mM)



Şekil 4.1. BLM'e ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.2. BLMG'e ait HPLC kromatogramı

Yapılan HPLC çalışmalarından elde edilen kromatogramların tümü 260 nm'de UV dedektörü kullanılarak elde edilmiştir. BLM ve BLMG'e ait alıkonma süreleri (R_t) sırasıyla 2.66 dk ve 3.14 dk olarak belirlenmiştir. R_t sürelerinin birbirinden farklı olması, BLMG'in enzimatik olarak başarıyla sentezlendiğini desteklemektedir.

4.2. ^{99m}Tc ile işaretli bileşiklerin kalite kontrol çalışmaları

4.2.1. TLRC sonuçları

TLRC çalışmalarında kullanılan banyolar Çizelge 4.2'de verilmektedir. İşaretli bileşiklere (^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG) ve radyoaktif bileşenlere [$^{99m}\text{Tc}^{+7}$ ve indirgenmiş-Tc ($^{99m}\text{Tc}^{+4}$)] ait R_f değerleri ve radyokromatogramlar ise sırasıyla Çizelge 4.2, 4.3, 4.4 ve Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.2. Kalite kontrol çalışmalarında kullanılan TLRC banyoları

TLRC-1	Asit-Sitrat-Dekstroz (ACD) (%100)
TLRC-2	Deterjanlı Banyo (DT) (%100)
TLRC-3	Etanol (%100)
TLRC-4	Aseton (%100)
TLRC-5	Kloroform (%100)

Çizelge 4.3. ^{99m}Tc -BLM ve radyoaktif bileşenlerine ait R_f değerleri

Banyo	TLC Türü	R_f		
		^{99m}Tc -BLM	$^{99m}\text{Tc}^{4+}$	$^{99m}\text{Tc}^{7+}$
TLRC-1	Silikajel	0,026	0,924	0,919
TLRC-2	Silikajel	0,027	0,027	0,725
TLRC-3	Silikajel	0,024	0,024	0,838
TLRC-4	Silikajel	0,014	0,014	0,953
TLRC-5	Silikajel	0,027	0,027	0,049

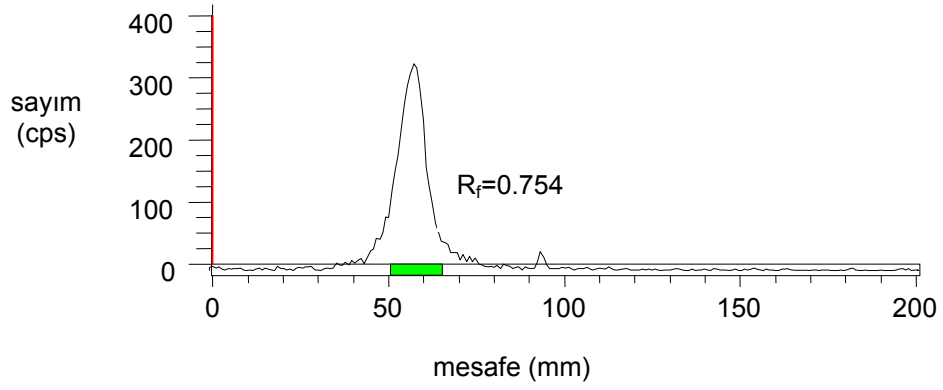
Çizelge 4.4. ^{99m}Tc -BLMG ve radyoaktif bileşenlerine ait R_f değerleri

Banyo Çözeltilisi	TLRC Türü	R_f		
		^{99m}Tc -BLMG	$^{99m}\text{Tc}^{4+}$	$^{99m}\text{Tc}^{7+}$
TLRC-1	Selüloz	0,942	0,942	0,720
TLRC-2	Selüloz	0,754	0,027	0,720
TLRC-3	Selüloz	0,837	0,837	0,823
TLRC-4	Selüloz	0,968	0,968	0,987
TLRC-5	Selüloz	0,024	0,024	0,047

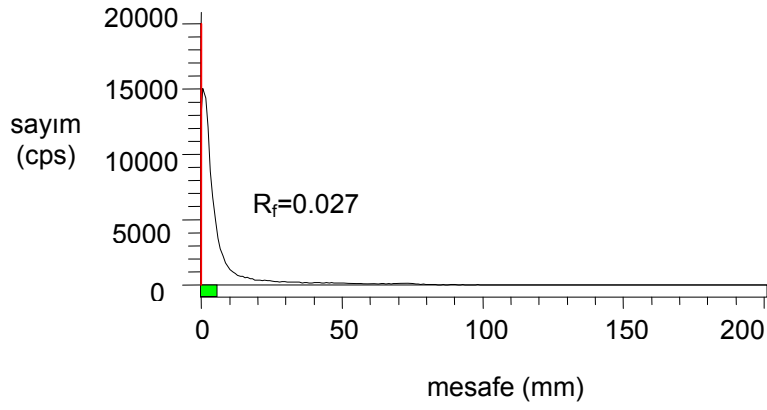
Çizelge 4.3 de verilen R_f değerleri incelendiğinde TLRC-2, TLRC-3, TLRC-4 ve TLRC-5 banyolarında ^{99m}Tc -BLM ve $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ e ait R_f değerlerinin birbirleriyle çakıştıkları ve bu banyoların ^{99m}Tc -BLM'nin kullanıldığı radyokromatografik çalışmalar için uygun olmadığına karar verilmiştir. TLRC-1 banyosunda ise işaretli bileşiklerin ve radyoaktif bileşenlerin R_f değerlerinin birbirinden farklı olduğu görülmüş ve böylece ayırma çalışmalarında bu banyo sisteminin kullanılması uygun görülmüştür.

Çizelge 4.4'te verilen R_f değerleri dikkate alındığında TLRC-1, TLRC-3, TLRC-4 ve TLRC-5 banyolarında ^{99m}Tc -BLMG ve $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ e ait R_f değerlerinin birbirleriyle çakıştıkları görülmektedir. Bundan dolayı bu banyolarda işaretli bileşik ve radyoaktif bileşen adına piksel bir ayırım sağlanamadığı söylenebilir. Bunlara ait pikler üst üste çakıştığı için bu banyoların ^{99m}Tc -BLMG'in radyokromatografik çalışmalarında kullanılmalarının uygun olmadığına karar verilmiştir. TLRC-2 banyosunda ise, ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin yürüdüğü halde $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ ün yürümediği tespit edilmiş ve aynı zamanda ^{99m}Tc -BLMG'in %100 bağlanma verimli bir pike sahip olduğu görülmüştür. Hem işaretli bileşik ile bileşenler arasındaki piksel ayırımın çok iyi sağlanması hem de bağlanma veriminin %100'e yakın bir değerle elde edilmesi uygun olabilecek banyo adına aranan bir durumdur. Tüm bu şartlar TLRC-2 banyosunda sağlandığı için, TLRC-2 banyosu ^{99m}Tc -BLMG adına en uygun banyo sistemi olarak belirlenmiş ve bundan sonra ^{99m}Tc -BLMG kullanılarak yapılacak olan tüm TLRC çalışmalarında bu banyonun kullanılmasına karar verilmiştir.

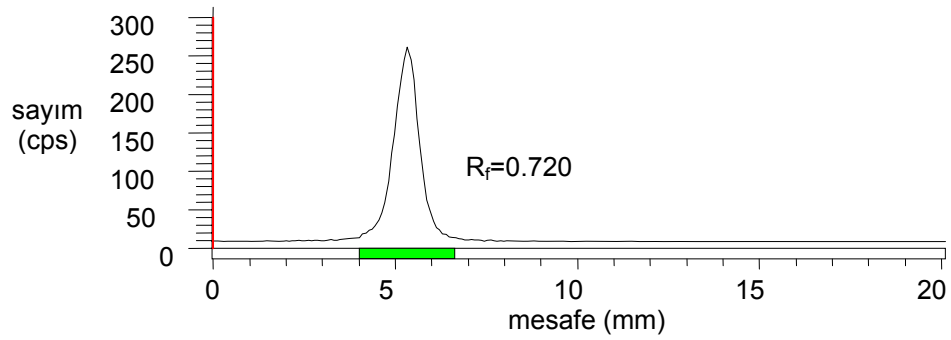
TLRC kromatogramlarından yararlanarak işaretli bileşiğe ilişkin pikin toplam alanına karşı gelen sayımların, toplam sayıma bölünmesiyle işaretli bileşiğin bağlanma verimi hesaplanmıştır. Bağlanma verimi 7 deneyin (n=7) ortalaması alınarak ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG için sırasıyla %99±0.2 ve %99±0.8 olarak bulunmuştur.



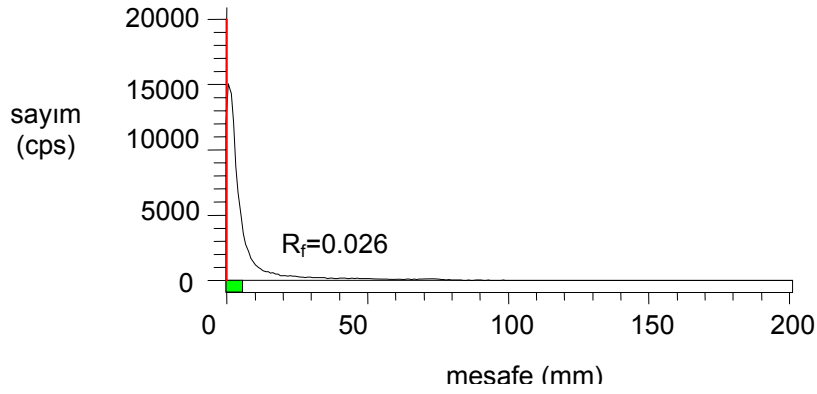
Şekil 4.3. ^{99m}Tc -BLMG'in TLRC-2 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı



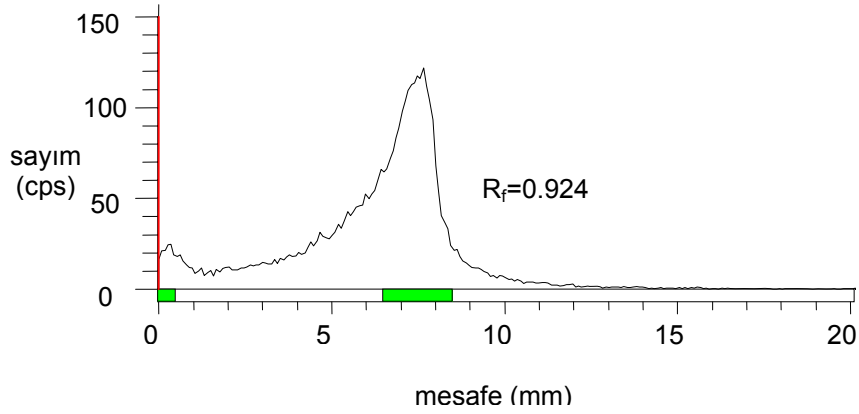
Şekil 4.4. ind. $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ 'ün TLRC-2 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı



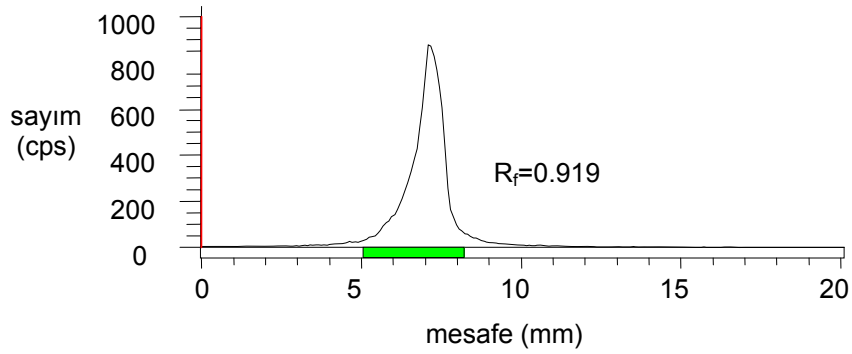
Şekil 4.5. $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ 'ün TLRC-2 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı



Şekil 4.6. $^{99m}\text{Tc-BLM}$ 'nin TLRC-1 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı



Şekil 4.7. ind. $^{99m}\text{Tc}^{4+}$ 'ün TLRC-1 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı



Şekil 4.8. $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ 'in TLRC-1 banyosu kullanılarak elde edilen radyokromatogramı

4.3. n-Oktnol / Su Oranı (Lipofilite) sonuçları

^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'in deneysel LogP değerleri sırasıyla $-0,73\pm 0,23$ ve $0,42\pm 0,30$ ($n=3$) olarak hesaplanmıştır. BLM'nin teorik lipofilite değeri ise ALOGPS programı kullanılarak $-0,52$ olarak verilmiştir (<http://www.drugbank.com>). Teorik olarak, yüksüz bileşiklerin LogP değerleri hesaplandığı için yüklü formdaki ^{99m}Tc -BLMG'e ait lipofilite değeri ilgili program tarafından hesaplanamamıştır (Biber et al., 2008).

Çizelge 4.5'te ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'e ait deneysel ve teorik lipofilite değerleri verilmiştir. Bu değerler incelendiğinde, ^{99m}Tc -BLM'nin deneysel olarak bulunan lipofilite değerinin BLM için bulunan lipofilite değerine göre, standart sapma sınırları içerisinde yaklaşık olarak eşit olduğu görülmektedir. BLM'nin ^{99m}Tc ile konjugasyonu sonucunda oluşan ^{99m}Tc -BLM radyokompleksinin lipofilite değerinin, BLM bileşiğinin lipofilite değerinden daha küçük olduğu bulunmuştur. Öte yandan, ^{99m}Tc -BLMG'e ait deneysel lipofilite değerinin gerek BLM gerekse ^{99m}Tc -BLM'inkinden oldukça farklı olduğu saptanmıştır. İşaretleme ürünlerinden biri olan ^{99m}Tc -BLM'nin lipofilite değeri, ^{99m}Tc -BLMG'e göre daha küçük olduğu için, ^{99m}Tc -BLM radyokompleksi kan-beyin bariyerinden geçemezken, ^{99m}Tc -BLMG'in kan-beyin bariyerinden geçebileceği söylenebilir. Büyük lipofilite değerlerine sahip bileşiklerin kan-beyin bariyerini aşabilecekleri rapor edilmektedir (Gulyaeva et al., 2003).

Ünak ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ^{99m}Tc -GHA'nın (^{99m}Tc ile işaretli glukohptonat) lipofilitesini ^{99m}Tc -GHG'kinden (^{99m}Tc ile işaretli glukohptonat guanin) daha büyük olarak bulmuşlar ve bu durumu ^{99m}Tc 'un GHA'nın yapısındaki OH- grupları ile olan konjugasyonu ile açıklamışlardır (Ertay et al., 2007). Üzerinde çalıştığımız BLMG radyobileşiği, glukuronik asit yapısında çok sayıda OH- grubu taşımaktadır. Bu noktadan yola çıkarak, ^{99m}Tc -BLMG kompleksinde, OH- grupları ile ^{99m}Tc arasındaki konjugasyon nedeniyle lipofilitenin artmış olabileceği düşünülmektedir. Bu bilgilerin ışığında, ^{99m}Tc -BLMG'in beyin tümörlerinin tedavisi için uygun bir radyofarmasötik olarak kullanılabilirliği söylenebilir.

Çizelge 4.5. İnaktif ve işaretli bileşiklerin teorik ve deneysel LOGP değerleri

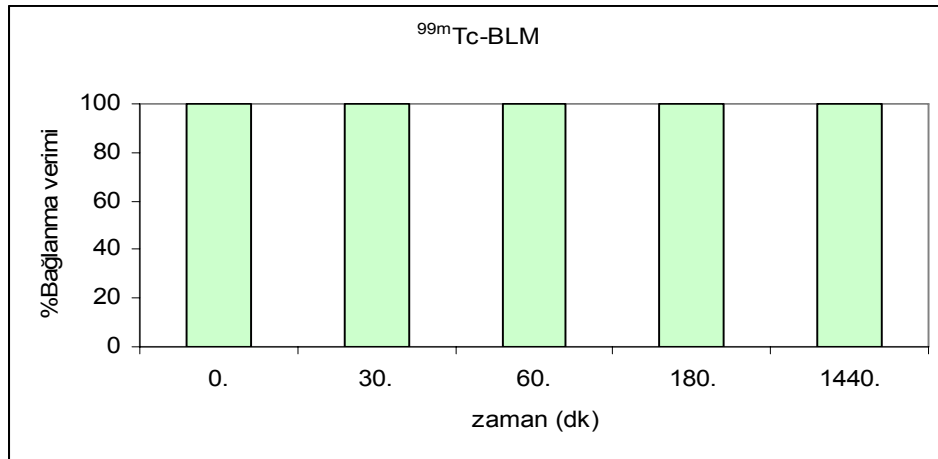
Bileşik	Teorik LOGP	Deneysel LOGP
BLM	-0,52	-
^{99m}Tc -BLM	-	$-0,73\pm 0,23$
BLMG	-	-
^{99m}Tc -BLMG	-	$0,42\pm 0,30$

4.4. Serumda stabilite sonuçları

^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'in % **Bağlanma verimi-zaman** değişimine ait grafikleri sırasıyla Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de, bu çalışmalara ait tablo değerleri ise sırasıyla Çizelge 4.6 ve 4.7'de verilmiştir. ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'in 37°C 'de insan kan serumundaki stabilitelerinin incelenmesinde, ACD çözeltisi kullanılarak yapılan ince tabaka kromatografisi sonuçlarına göre ^{99m}Tc -BLM'nin incelenen tüm zaman noktalarındaki (0., 30., 60., 180. ve 1440.dk) kararlılıkları sırasıyla %100, %100, %100, %100 ve %100 olarak bulunmuştur. Öte yandan, ^{99m}Tc -BLMG'in ise aynı zaman noktalarındaki kararlılıkları sırasıyla; %100, %98.9, %97.9, %96.9 ve %69.2 olarak belirlenmiştir. Bu bulguların ışığında, ^{99m}Tc -BLM'nin 24 boyunca kararlılığını koruduğu ve ayrışmadan kalabildiği, ^{99m}Tc -BLMG'in ise 0. ve 180.dk'lar arasında kararlılığını yüksek oranda koruduğu ancak 3.saatten sonra bozunmaya başladığı belirlenmiştir. 24 saat sonunda ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin yaklaşık olarak %30.8'inin bozunduğu görülmüştür. Sonuç olarak, her iki bileşiğin insan kan serumunda yüksek oranda kararlı kaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.6. ^{99m}Tc -BLM'nin insan kan serumundaki stabilite sonuçları

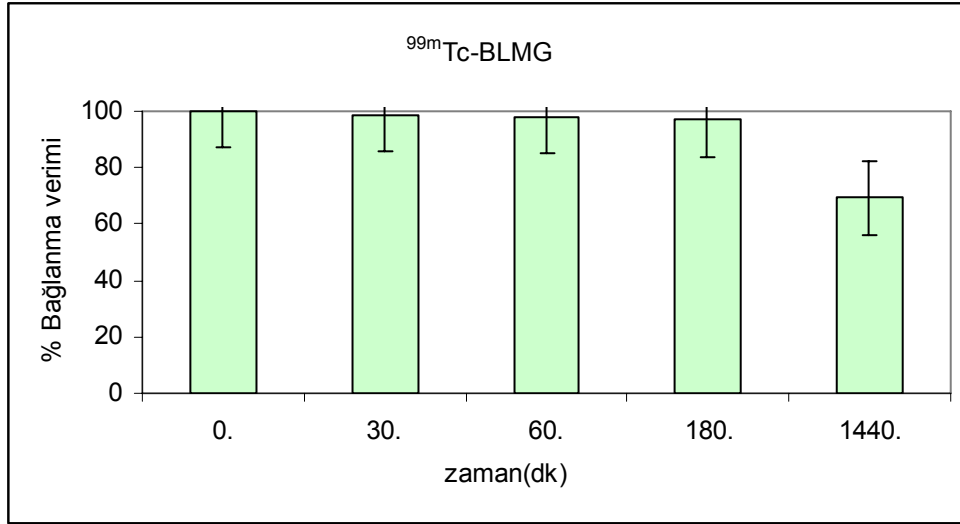
Banyo Çözeltisi	% Bağlanma Verimi	Süre (dk)
Asit-Sitrat-Dekstroz (ACD)	100	0
	100	30
	100	60
	100	180
	100	1440



Şekil 4.9. ^{99m}Tc -BLM'nin insan kan serumundaki stabilitesi

Çizelge 4.7. ^{99m}Tc -BLMG'in insan kan serumundaki stabilite sonuçları

Banyo Çözültüsü	% Bağlanma Verimi	Süre (dk)
Deterjanlı Banyo	100	0
	98.9	30
	97.9	60
	96.9	180
	69.2	1440

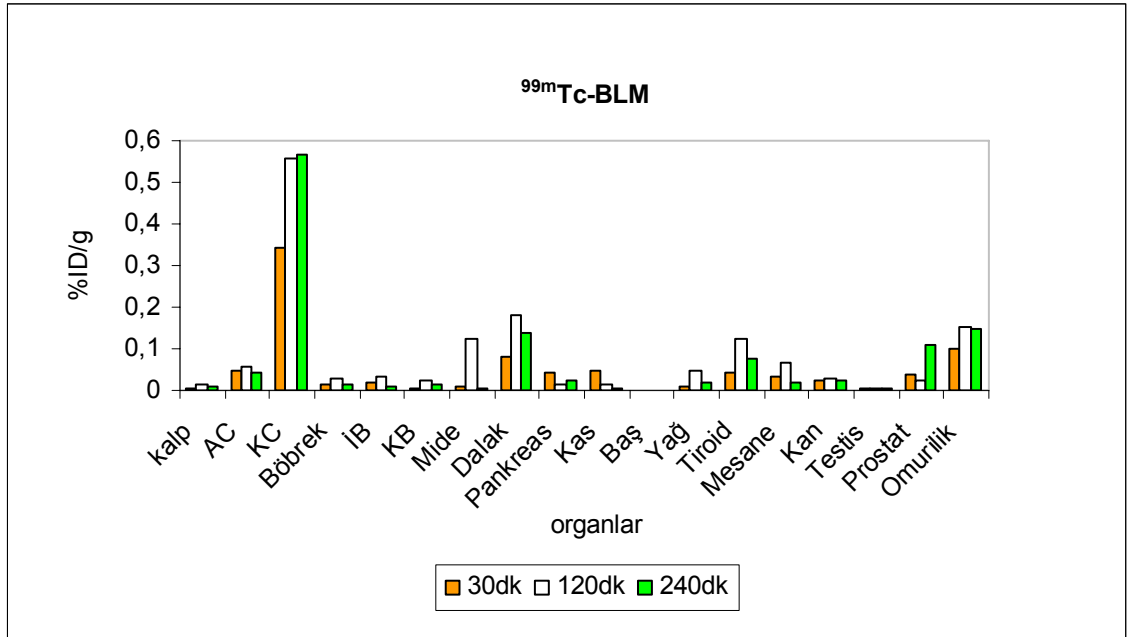
Şekil 4.10. ^{99m}Tc -BLMG'in insan kan serumundaki stabilitesi

4.5. ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'e ait biyodağılım sonuçları

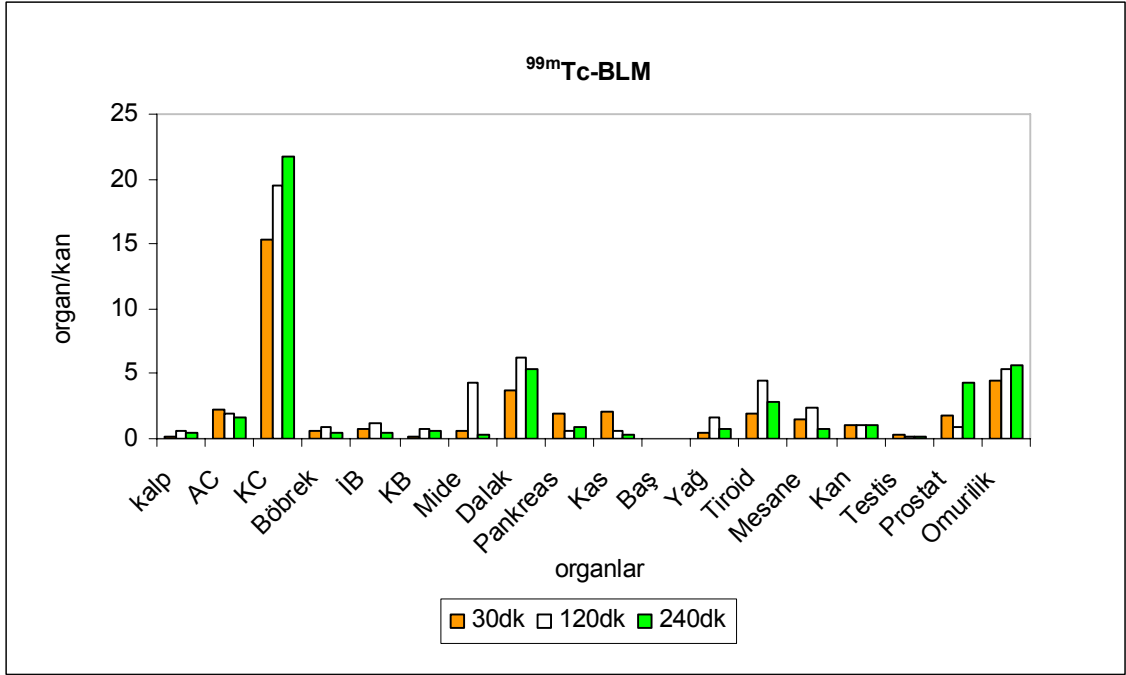
^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'e ait biyodağılım çalışmalarında ağırlıkları 300-450 g arasında değişen Albino Wistar cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Biyodağılım çalışmaları işaretli bileşiklerin enjeksiyonunu takip eden 30., 120. ve 240. dk'lar için değerlendirilmiştir. Her bir zaman noktası için 3'er adet sıçan kullanılmış ve hedef organlardaki biyodağılım sonuçları bu üç ölçümün (n=3) ortalaması olarak alınmıştır. ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'e ait biyodağılım sonuçları Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9'da ve zamana karşı alınan gram doku başına aktivite değerleri (%D / g) ise sırasıyla Şekil 4.9 ve 4.15 de verilmiştir.

Çizelge 4.8. ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin sıçanlara enjeksiyonundan sonra geçen 30., 120. ve 240. dk sonunda sıçandan alınan farklı organlara ait % ID/g (organ) değerleri

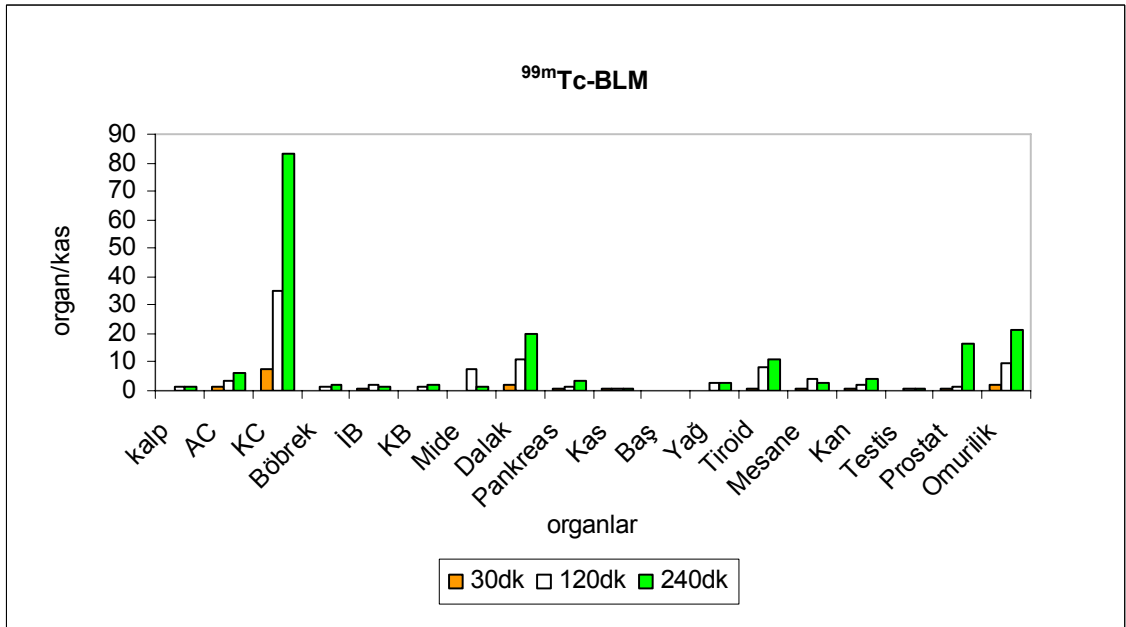
Organlar	% ID/g (Organ) 30. dk	% ID/g (Organ) 120. dk	% ID/g (Organ) 240. dk
Kalp	0.10±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
Akciğer	0.05±0.01	0.06±0.01	0.04±0.02
Karaciğer	0.54±0.34	0.58±0.43	0.60±0.57
Böbrek	0.02±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01
İnce barsak	0.02±0.01	0.04±0.01	0.02±0.01
Kalın barsak	0.02±0.01	0.02±0.01	0.03±0.02
Mide	0.02±0.01	0.14±0.12	0.04±0.01
Dalak	0.08±0.01	0.17±0.11	0.16±0.13
Pankreas	0.04±0.02	0.02±0.01	0.03±0.02
Kas	0.04±0.03	0.02±0.01	0.02±0.01
Baş	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01
Yağ	0.02±0.01	0.05±0.02	0.02±0.01
Tiroid	0.04±0.03	0.13±0.11	0.08±0.06
Mesane	0.03±0.02	0.10±0.02	0.03±0.01
Kan	0.02±0.01	0.03±0.01	0.03±0.02
Testis	0.03±0.01	0.02±0.01	0.03±0.02
Prostat	0.04±0.03	0.03±0.01	0.13±0.11
Omurilik	0.09±0.05	0.15±0.10	0.19±0.14



Şekil 4.11. ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımı

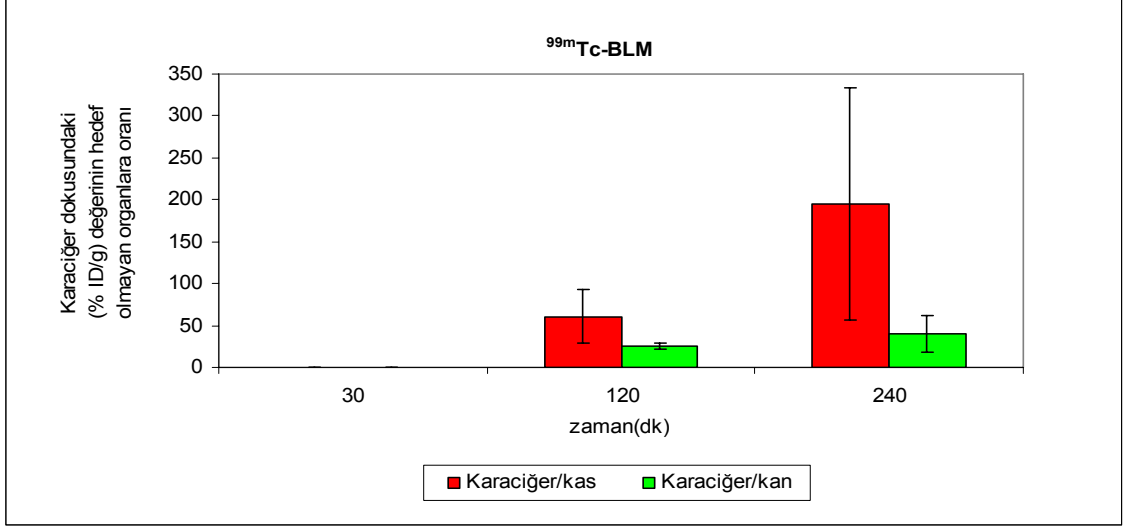


Şekil 4.12. $^{99m}\text{Tc-BLM}$ bileşiğinin seçilmiş bazı organlarda hedef organ/kan oranları



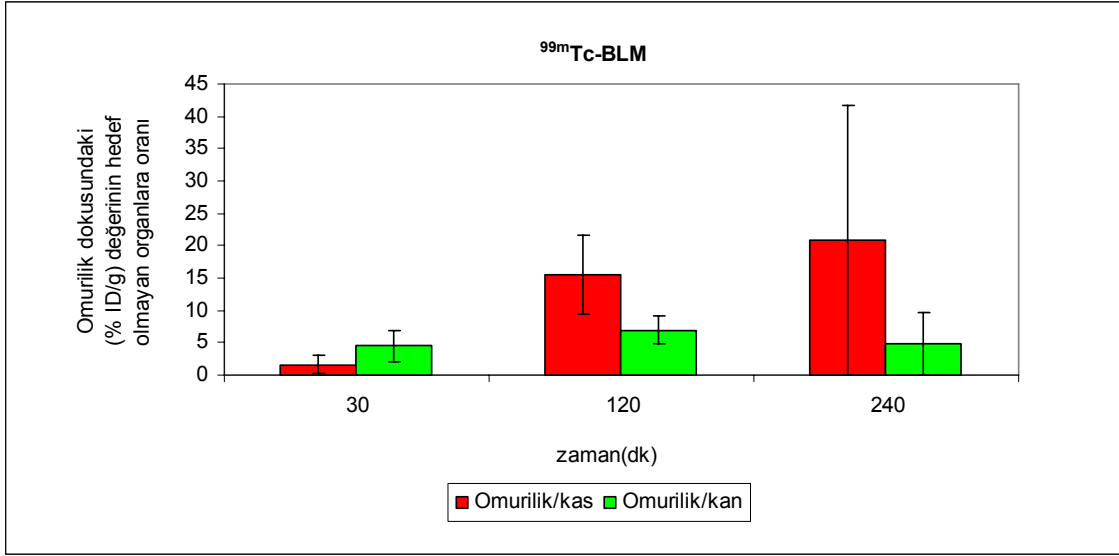
Şekil 4.13. $^{99m}\text{Tc-BLM}$ bileşiğinin seçilmiş bazı organlarda hedef organ/kas oranları

^{99m}Tc -BLM bileşiğinin sıçanlar üzerindeki biyodağılım çalışmaları değerlendirildiğinde karaciğer, dalak ve omurilik hedef organlar olarak görülmektedir. İşaretli bileşiğe ait biyodağılım çalışmaları sonucunda 30.,120. ve 240.dakikalarda elde edilen % ID/g (organ) verilerine göre söz konusu organlara ait aktiviteler sırasıyla (0.54 ± 0.34 , 0.58 ± 0.43 , 0.60 ± 0.57), (0.08 ± 0.01 , 0.17 ± 0.11 , 0.16 ± 0.13) ve (0.09 ± 0.05 , 0.15 ± 0.10 , 0.19 ± 0.14)'dür.



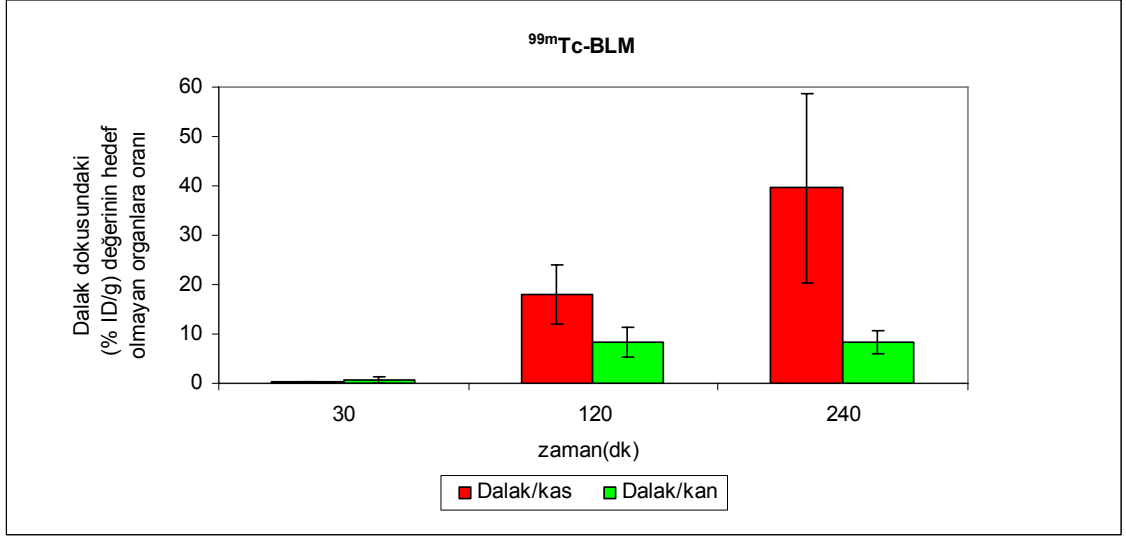
Şekil 4.14. ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin karaciğer dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan(kan ve kas) organlara oranı

Şekil 4.14 ^{99m}Tc -BLM işaretli bileşiğinin karaciğer/kas ve karaciğer/kan oranlarını göstermektedir. Bu şekil incelendiğinde, 30., 120. ve 240. dk'lardaki karaciğer/kas oranları sırasıyla sırasıyla 0, 60 ve 200'dür. 120. dk'daki aktivite oranı 30.dk'ya göre 60 kat artarken, 240. dk'da ise bu oran 120. dk'ya göre 3.3 kat artmıştır. Karaciğer/kas oranı 240. dk'da en yüksek değerine ulaşmıştır. Karaciğer/kan oranlarına ait aktivite oranlarına bakıldığında ise, 30., 120. ve 240.dk'lardaki değerleri sırasıyla 0, 20 ve 40'tır. 240. dk'da gerek karaciğer/kas gerekse karaciğer/kan oranlarının, karaciğer dokularında en yüksek değere ulaştığı görülmektedir. Radyokompleks enjeksiyondan sonraki 2. saatte hedef organda birikmeye başlamış ve 4. saatte en yüksek aktiveye ulaşmıştır. Böylelikle, ^{99m}Tc -BLM ancak 4. saatte karaciğerin görüntülenmesine izin vermektedir. BLM'nin biyolojik yarı ömrünün 2 saat olmasına rağmen karaciğerde uzun vadede göstermiş olduğu yüksek tutulum dokulardaki metalloproteinlerin birikiminden kaynaklanabilmektedir (Jalilian, 2003). Karaciğer/kan oranlarına bakıldığında kompleksin kandan temizlenme hızının 2 ila 4 saat arasında neredeyse sabit olduğu görülmektedir. Bu nedenle işaretli bileşiğin karaciğerin sintigrafisinde kullanılması durumunda, metabolizmanın maruz kalacağı radyasyon süresi uzayarak, hastalarda fazla doz yüklemesine sebep olacaktır.



Şekil 4.15. ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin omurilik dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı

Şekil 4.15 hedef organ olarak düşünülen omuriliğe ait kas ve kan oranları göstermektedir. Hedef organa ait 30., 120. ve 240.dk'daki omurilik/kas oranları sırasıyla 2, 15 ve 29 iken omurilik/kan oranları ise sırasıyla 5, 9 ve 7 olarak ölçülmüştür. 120. dk'da omurilik/kas ve omurilik/kan oranları 30. dk'ya göre sırasıyla 7.5 ve 1.8 kat artarken, 240. dk'da omurilik/kas oranı 120. dk'ya göre 1.9, omurilik/kan oranı ise 0.7 kat azalmıştır. Kompleksin dokulardaki tutulumu 30. dk'dan itibaren enjeksiyondan sonraki 4 saat içinde sürekli artan bir ivme göstermiştir. Öte yandan, omurilik/kan oranları ilk andan başlayarak 240. dk'ya kadar neredeyse sabit bir klirens değerine sahiptir. Kompleksin hedef organdaki tutulumu 240. dk'da en yüksek değerine ulaşmıştır. Bunun sonucunda, ^{99m}Tc -BLM ancak enjeksiyondan sonraki 4. saatte omuriliğin görüntülenmesine ve kaliteli bir görüntü alınmasına izin verecektir.



Şekil 4.16. ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin dalak dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı

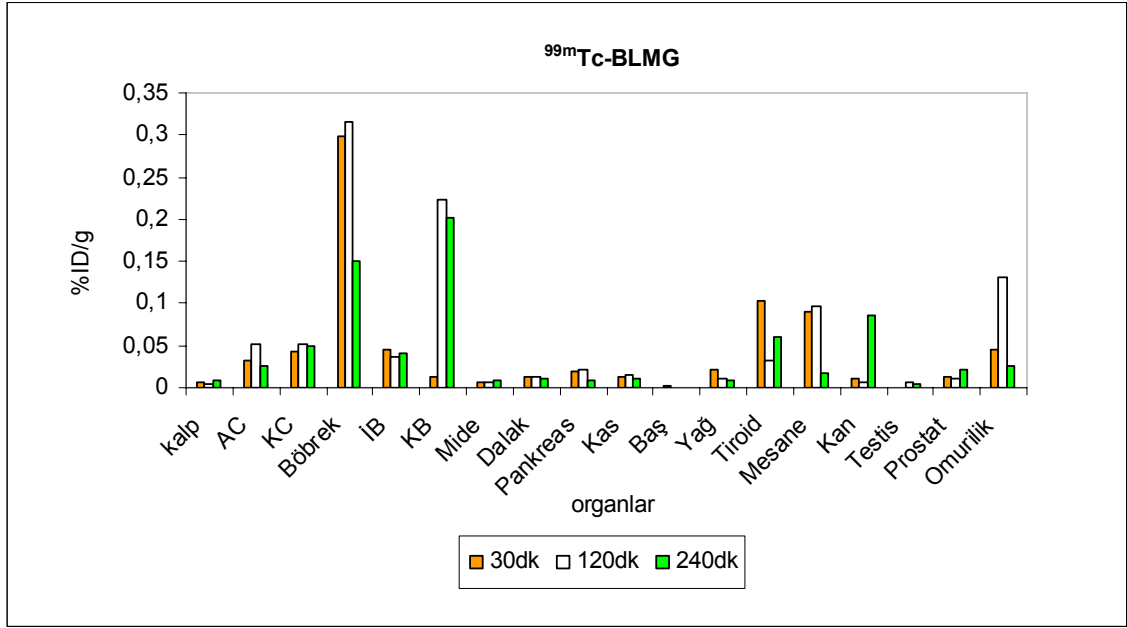
Şekil 4.16 ^{99m}Tc -BLM bileşiğinin bir diğer hedef organı olarak görülen dalağa ait kas ve kan oranlarını göstermektedir. Şekildeki grafikten dalak/kas oranları incelendiğinde, bu oranların 30., 120. ve 240. dk'larda sırasıyla 0, 18 ve 40 değerlerini aldığı görülmektedir. Söz konusu oranlar 120. dk'da 30. dk'ya göre 18 kat artarken, 240. dk'da 120. dk'ya oranla 2.2 kat artmaktadır. Dalak/kan oranlarında ise 120. dk'da 30. dk'ya göre 8 katlık bir artış meydana gelirken, 240. dk'da 120. dk'ya oranla 1.3'lük bir azalma söz konusudur. Ve ^{99m}Tc -BLM bileşiği 4. saatte dalağın görüntülenmesine izin verecektir.

Hedef olarak gösterilen organlara ilişkin şekiller incelendiğinde, her üç durumda da işaretli bileşiğin enjeksiyonundan sonraki zaman noktalarında hedef organ/kas oranlarında sürekli bir artış meydana gelirken, hedef organ/kan oranlarında bileşiğin klirensinin zamanla aynı kaldığı görülmektedir. Ancak burada her üç organ için ortak olan nokta, organlardaki tutulumun zamanla artmasıdır. Hedef organların kas oranları kan oranlarına oranlandığında, karaciğer, dalak ve omurilik için bu oranlar sırasıyla 5, 4.2 ve 5'tir. Hedef organ/hedef olmayan organ radyoaktivite oranı tutulumda selektivite sağlayan bir indikatör olarak kullanılmaktadır. Kaliteli bir görüntü elde etmek için, hedef organ/hedef olmayan organ oranı arasında belirgin bir farklılık olması gerekmektedir (Silva et al., 2001). Hedef olarak gösterilen üç organ için de bu şart sağlanmaktadır. Yani ^{99m}Tc -BLM'nin her bir organa enjeksiyonu sonrasında, yüksek kalitede görüntü alınabilmektedir. Tutulumun organlarda geç sağlanması, ilacın enjeksiyonu sırasında hastaları yüksek doza maruz bırakacağı için, işaretli bileşiğin spesifik olduğu düşünülen organ omurilik, dalak ve karaciğer şeklinde sıralanabilir. İlaça ilişkin en yüksek spesifikite omuriliğe aittir.

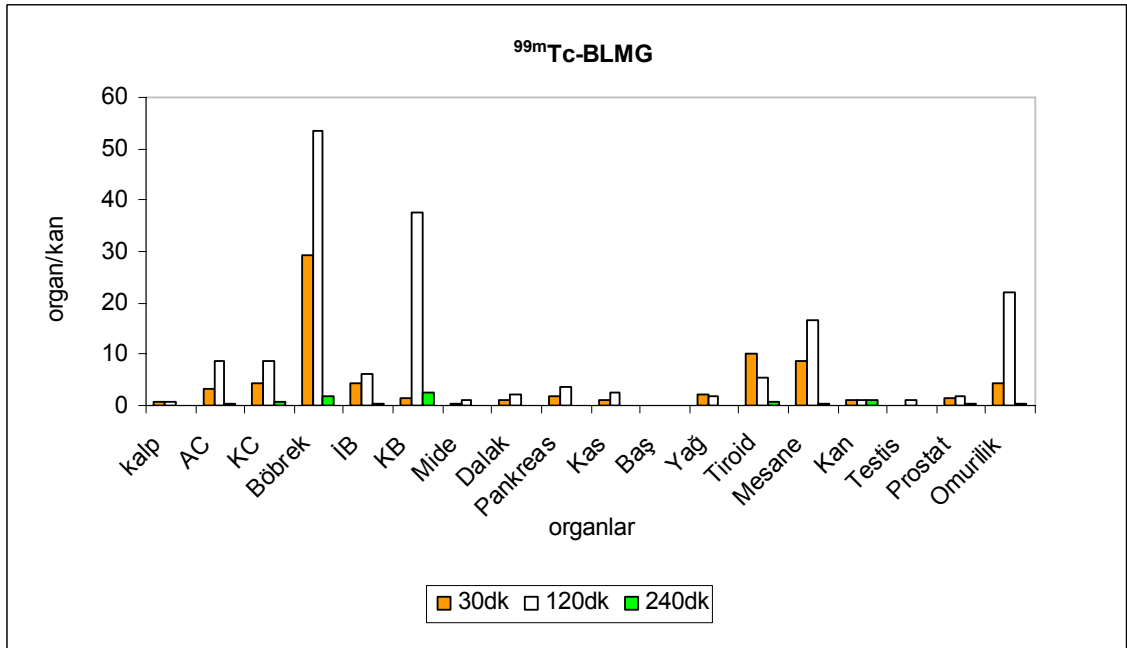
Karaciğerde görülen yüksek tutulum nedeniyle bileşiğin hepatobiliar olarak atılabileceği söylenebilir. Çok sayıdaki literatür çalışmasında BLM'nin başlıca böbrek, deri ve akciğer yoluyla atıldığı rapor edilmektedir. Beklentinin aksine gelişen bu sonuçta çalışmanın ilgi çekici bir yanını oluşturmaktadır. Yukarıda bahsedilen grafik ve tablolardan elde edilen bulguların ışığında, ^{99m}Tc -BLM'nin olası hedef organlarda zamanla artan ve geç gelen tutulumu söz konusudur. BLM'nin enjeksiyondan sonraki ilk 45 dk ile 2.5 saat arasında konsantrasyon piki vermesi açısından bu durum beklenen bir sonuçtur (<http://www.cancercare.on>).

Çizelge 4.9. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin sıçanlara enjeksiyonundan sonra geçen 30., 120. ve 240. dk sonunda sıçandan alınan farklı organlara ait % ID/g (organ) değerleri

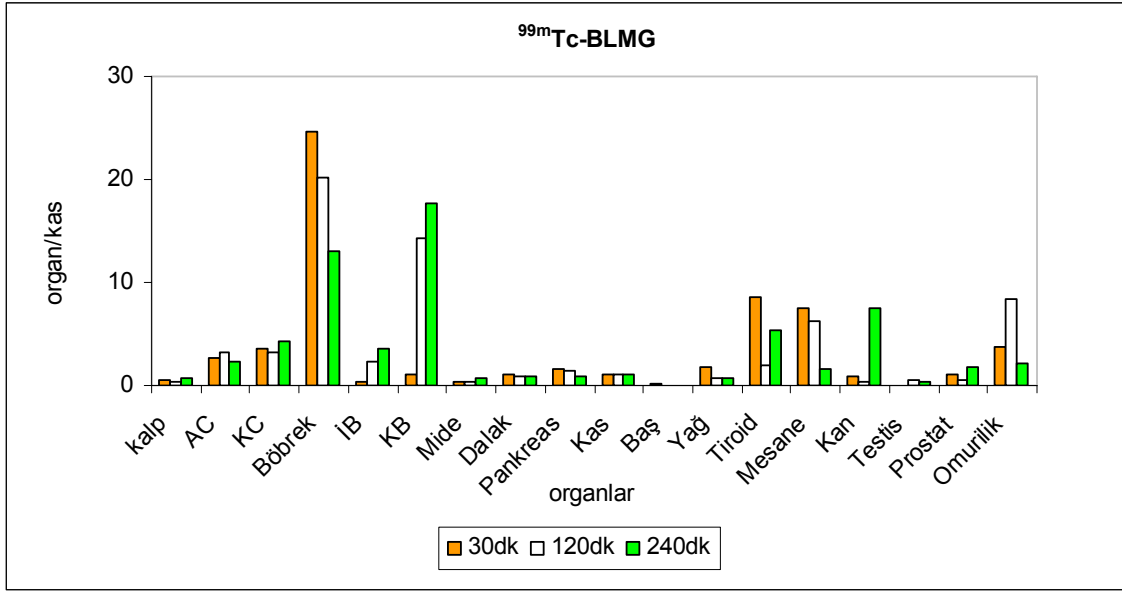
Organlar	% ID/g (Organ) 30. dk	% ID/g (Organ) 120. dk	% ID/g (Organ) 240. dk
Kalp	0.07±0.01	0.06±0.01	0.07±0.05
Akciğer	0.03±0.02	0.06±0.01	0.03±0.02
Karaciğer	0.04±0.03	0.08±0.03	0.06±0.04
Böbrek	0.30±0.04	0.24±0.03	0.15±0.02
İnce barsak	0.04±0.02	0.03±0.01	0.04±0.03
Kalın barsak	0.02±0.01	0.28±0.01	0.30±0.05
Mide	0.05±0.02	0.06±0.02	0.08±0.03
Dalak	0.03±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01
Pankreas	0.04±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01
Kas	0.02±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01
Baş	0.03±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01
Yağ	0.02±0.01	0.03±0.02	0.04±0.01
Tiroid	0.02±0.01	0.03±0.02	0.06±0.03
Mesane	0.09±0.03	0.13±0.02	0.02±0.01
Kan	0.04±0.02	0.03±0.01	0.10±0.09
Testis	0.02±0.01	0.03±0.01	0.04±0.02
Prostat	0.03±0.02	0.02±0.01	0.05±0.02
Omurilik	0.04±0.01	0.19±0.04	0.03±0.01



Şekil 4.17. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin Albino Wistar sıçanlardaki biyodağılımı

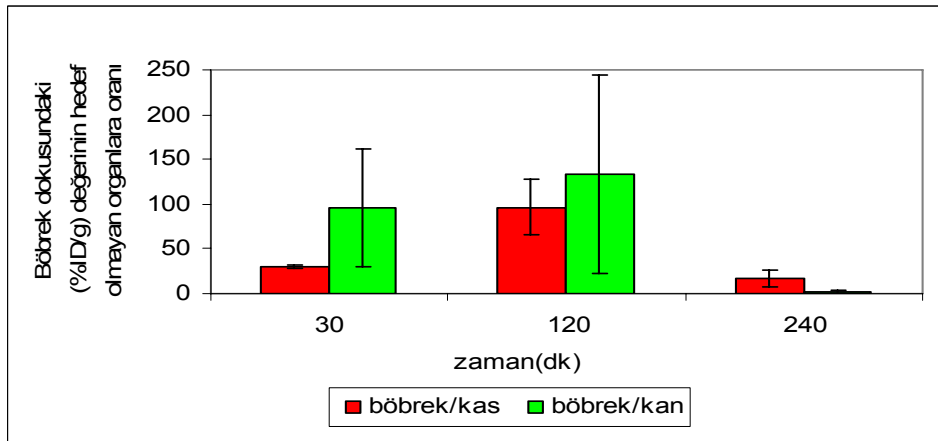


Şekil 4.18. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin seçilmiş bazı organlarda hedef organ/kan oranları



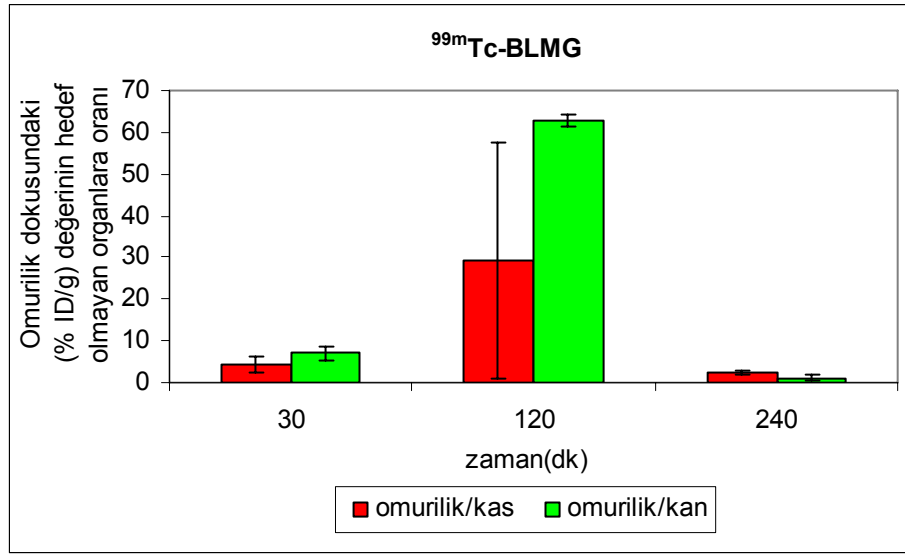
Şekil 4.19. ^{99m}Tc-BLMG bileşiğinin seçilmiş bazı organlarda hedef organ/kas oranları

^{99m}Tc-BLMG kompleksinin sıçanlar üzerindeki biyodağılım çalışmalarından elde edilen grafik ve şekiller değerlendirildiğinde; böbrek, kalınbarsak ve omurilik hedef organ olarak görülmektedir. İşaretili bileşiğe ait biyodağılım çalışmaları sonucunda 30.,120. ve 240. dk'da elde edilen % ID/g (organ) verilerine göre söz konusu organlara ait aktiviteler sırasıyla; (0.30±0.04, 0.24±0.03, 0.15±0.02), (0.02±0.01, 0.28±0.01, 0.30±0.05) ve (0.09±0.05, 0.15±0.10, 0.19±0.14) olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.20. ^{99m}Tc-BLMG bileşiğinin böbrek dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı

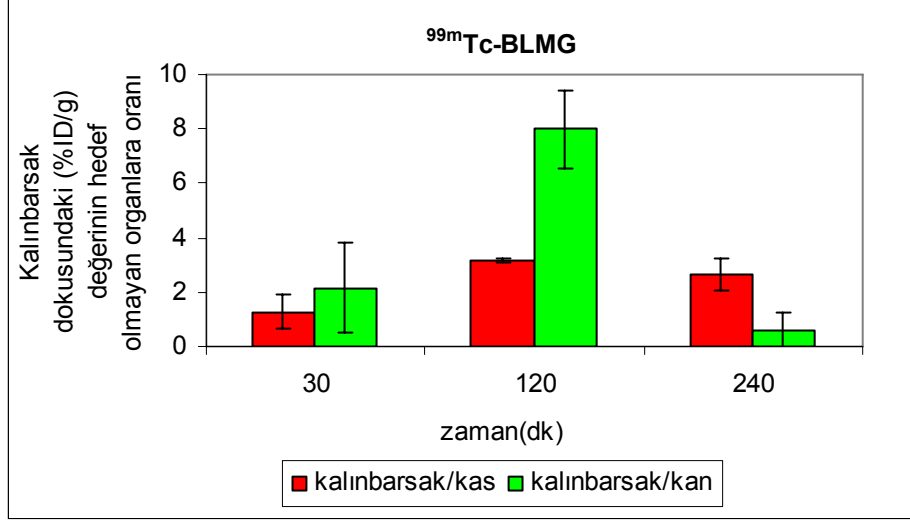
Şekil 4.20 ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin hedef organlarından biri olan böbreklerin kas ve kan oranlarını göstermektedir. Şekildeki böbrek/kas oranları incelendiğinde, bu oranların 30.,120.ve 240. dk'lar için sırasıyla 30, 100 ve 20 olduğu görülmektedir. Söz konusu oranlar 30. dk'da 30 iken, aynı oran 120. dk'da 3 kat artmış ancak 240. dk'da 120.dk'ya göre 5 kat azalmıştır. Böbrek dokularında en yüksek oranın sağlandığı 120. dk'dan sonra söz konusu orandaki hızlı düşüş göze çarpmaktadır. Benzer şekilde, böbrek/kan oranları incelendiğinde, bu oranın 30., 120. ve 240. dk'daki değerleri sırasıyla 100, 135 ve 5 olarak ölçülmüştür. 120. dk'da bu oran 30. dk'ya göre yaklaşık olarak 1.35 kat artarken, 240. dk'da ise 120. dk'ya göre 27 katlık bir azalma gözlenmiştir. Böbrek/kas oranlarında enjeksiyondan sonraki 30. ve 120. dk'larda bir artış söz konusuysen, 240. dk'da bu artış negatif yöne doğru kaymıştır. Ve iki zaman noktası arasında küçük bir artış söz konusudur. Böbrek/kan oranlarında 30. dk'dan 120. dk'ya kadar meydana gelen hızlı aktivite artışı ve ardından gelen hızlı düşüş bileşiğin 120. dk'dan sonra kan akımı içinde parçalanmaya başladığını, 240.dk'da ise minimum değerini aldığını ve buna ilaveten, kompleksin kandan atılım hızının yüksek olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 4.21. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin omurilik dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı

Şekil 4.21 ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin hedef organlarından bir diğeri olarak düşünülen omuriliğe ait kas ve kan oranlarını göstermektedir. Omurilik/kas oranlarının 30., 120. ve 240. dk'lardaki değerleri sırasıyla 4, 30 ve 3'tür. 120. dk'da bu oran 30. dk'ya göre 7.5 kat artıp, 240. dk'da ise 30.dk'ya göre 10 kat azalmıştır. Aynı zaman noktalarında böbrek/kan oranları sırasıyla 7, 61 ve 2'dir. 120. dk' da 30. dk'ya göre 8.7 katlık bir artış söz konusuysen 240. dk'da 120.

dk'ya oranla 30.5 katlık bir azalma gözlenmiştir. Hem omurilik/kas hem de omurilik/kan oranları 120. dk'da en yüksek değerine ulaşmıştır. Buna bağlı olarak, bileşiğin enjeksiyondan sonraki 2. saate kadar böbreğin görüntülenmesine izin vereceği söylenebilir. Hedef organ/hedef olmayan organ oranının yüksek olması ve tutulumun yüksek olması nedeniyle omuriliğin ^{99m}Tc -BLMG bileşiği için hedef organ olacağı düşünülebilir.



Şekil 4.22. ^{99m}Tc -BLMG bileşiğinin kalınbarsak dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı

^{99m}Tc -BLMG bileşiği için hedef organ olarak düşünülen son organ kalınbarsaktır. Yukarıdaki şekil kalınbarsağa ait kas ve kan oranlarını göstermektedir. 30., 120. ve 240. dk'daki kalınbarsak/kas oranları sırasıyla 1.2, 3.2 ve 2.6'dır. 120. dk'daki aktivite değeri 30. dk'ya göre 2.6 kat artarken, aynı değer 240. dk'da 120. dk'ya göre 1.2 kat azalmıştır. Kalınbarsak/kan oranları ise sırasıyla 2.2, 8.0 ve 0.6'dır. Değerler irdelendiğinde, zamanla bir önceki zamana göre artma, daha sonra da bir sonraki zamana bağlı olarak azalma göze çarpmaktadır. Her iki oran içinde 120. dk'da en yüksek aktivite sağlanmaktadır.

Yukarıda bahsedilen üç hedef organa ilişkin şekiller incelendiğinde, enjeksiyondan sonraki 30. dk-120. dk arasındaki yüksek tutulum ve 240. dk'dan itibaren tutulumdaki hızlı düşüş, kompleksin 240. dk'da bozunmaya ve ^{99m}Tc 'un yapıdan ayrılmaya başladığına işaret etmektedir. Ne var ki; omurilikte sadece 120. dk'da gözlenen tek aktivite piki, ^{99m}Tc -BLMG radyokompleksinin 120.dk'da sintigrafı alınmasına izin verebileceği anlamına gelmekle birlikte, bileşiğin omuriliğe spesifik olabileceğini de düşündürmektedir.

^{99m}Tc -BLMG bileşiğine ait grafikler incelendiğinde, bu bileşiğin enjeksiyon sonrasında ilk 30-120 dk arasında önemli tutulum göstermesi ve ardından aktivitedeki hızlı düşüş, bileşiğin metabolizmadan daha hızlı atıldığını ifade etmektedir (Ertay et al., 2008).

BLM peptid formunda bir bileşiktir. İntravenöz olarak uygulanan peptidlerin metabolik sonlarını genellikle peptidazlara parçalanması oluşturur. Bu parçalanma kan akımı içinde veya karaciğer ve böbrek boşaltım organlarında oluşmaktadır (Ertay et al., 2008). Bu bağlamda, gerek ^{99m}Tc -BLM gerekse ^{99m}Tc -BLMG temelde aynı formun iki farklı konjugasyonudur. Ancak, BLM glukuronidleştirildiğinde hem fizyolojik hem de kimyasal değişikliğe uğramaktadır. Söz konusu bileşikler ^{99m}Tc radyonüklidi ile işaretlenerek, *in vivo* olarak değerlendirildiğinde farklı karakteristiklere sahip oldukları görülmektedir. Biyodağılım açısından bakıldığında, bu karakteristiklerin en önemlileri vücutta belirli bir organa olan spesifite, bileşiğin tutulumu, klirens süresi ve metabolizmadan atılım şeklidir. ^{99m}Tc ile işaretlenen BLM ve BLMG'in biyodağılım çalışmaları sonucunda oluşan komplekslerin (^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG) her birinin farklı organlara spesifik olduğu ve farklı farmokinetik özelliklere sahip olduğu saptanmıştır.

BLM'e bağlanan radyometalin, bileşiğin farmokinetik özellikleri üzerindeki etkilerini araştırmak için Grove ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; BLM ^{57}Co , ^{111}In ve ^{67}Ga ile ayrı ayrı işaretlenmiş ve bunun sonucunda elde edilen ^{57}Co -BLM, ^{111}In -BLM ve ^{67}Ga -BLM bileşikler arasında en yüksek tümör tutulumu ve klirensin ^{57}Co -BLM bileşiğine ait olduğu görülmüştür (Grove et al., 1973). Bu bağlamda, BLM ve BLMG bileşiklerinin ^{99m}Tc ile konjugasyonu sonucunda oluşan ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'in ^{99m}Tc 'un özelliklerine bağlı olarak farklı klirenslere sahip olduğu söylenebilmektedir.

Jajalilian ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, BLM'nin [^{65}Zn] ile işaretlenmesi sonucunda elde edilen ^{65}Zn -BLM radyokompleksi ile yapılan biyodağılım çalışması sonucunda, işaretli bileşik enjeksiyondan sonraki 24 ile 48 saat arasında karaciğer ve barsakta yüksek ancak geç gelen bir tutulum göstermiştir. Karaciğer yumuşak dokularında meydana gelen bu geç tutulumun muhtemelen dokulardaki metalloproteinlerin birikiminden kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Jalilian et al., 2004). ^{99m}Tc -BLM bileşiğinde ise enjeksiyondan sonraki 4. saatte yüksek tutulum ve aktivite gözlenmesi, bu düşünceyle paralellik taşımaktadır.

İntravenöz olarak KHJJ tümörü nakledilen Balb/C türü sıçanlarda ^{99m}Tc -BLM işaretli bileşiği kullanılarak yapılan biyodağılım çalışması sonucunda, böbreklerde yüksek oranda tutulum gözlenirken, karaciğer, kas ve beyinde ise düşük bir tutulum gözlenmiştir (Lin et al., 1973). ^{99m}Tc -BLM radyokompleksi kullanılarak yapılan biyodağılım çalışmasında ise, karaciğer, dalak ve omurilikte yüksek tutulum gözlenirken, böbrekte çok düşük bir aktivite gözlenmiştir. BLM'nin esasen renal yolla atıldığını ifade eden bu çalışmanın aksine, ^{99m}Tc -BLM hepatobiliyer bir atılım sergilemektedir. Buna ilaveten, değerlendirmeler sonucunda aynı zaman noktalarında

(30., 120. ve 240. dk) ^{99m}Tc -BLMG'in ^{99m}Tc -BLM'e kıyasla vücuttan daha hızlı atıldığını söylemek mümkündür.

İşaretli bileşiklerin enjeksiyonundan sonra sıçanlardan 30., 120. ve 240. dk'da kan örnekleri toplanmış ve bunlara ait radyoaktivite ölçümleri alınmıştır. Bu ölçümler sonucunda sırasıyla ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'in biyolojik yarı ömürleri 329 dk (~5.5 saat) ve 85 dk (~1.5 saat) olarak bulunmuştur. ^{99m}Tc -BLMG'in yarılanma süresinin daha kısa olması toksisitesinin ^{99m}Tc -BLM'ye göre daha düşük olmasına ve dolayısıyla ^{99m}Tc -BLM'e göre daha iyi bir kemoterapik ajan olarak kullanılmasına neden olabilmektedir. Bu bağlamda Crooke ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada herhangi bir radyoaktif elementle işaretleme yapılmadan tedavi maksadıyla direkt olarak hastalara verilen BLM'nin biyolojik yarı ömrünün 15 ile 60 dk aralığında olduğu saptanmıştır (Crooke et al, 1977). Başka bir çalışmada ise Jalilian ve arkadaşları yaptıkları ölçümler neticesinde ^{62}Zn -BLM'nin biyolojik yarı ömrünün (9 saat) görüntüleme için yeterli olduğu sonucuna varmışlardır (Jalilian et al, 2003). Ryyänen ise yaptığı çalışmayla ^{111}In -BLM bileşiğinin idrardaki biyolojik yarı ömrünü yaklaşık olarak 3.5 ± 0.6 saat olarak bulmuştur (Ryyänen, 2002). Yapılan bu çalışmada ^{99m}Tc -BLM için bulunan yarılanma süresinin yukarıda verilen yarılanma sürelerinden farklı çıkması beklenen bir sonuçtur. Çünkü incelenen tüm bileşikler kimyasal olarak farklı BLM türevleridir.

Shao ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; BLM ^{97}Ru , ^{67}Cu ve ^{57}Co gibi üç farklı radyonüklid ile işaretlenerek, tümör görüntülemedeki etkinlikleri kıyaslandığında $^{57}\text{Co} > ^{67}\text{Cu} > ^{97}\text{Ru}$ sıralaması elde edilmiş ve bunlar arasında ^{57}Co 'nin en yüksek kas ve kan oranlarına sahip olduğu ve aynı zamanda tümör lokalizasyonunun da maksimum olduğu rapor edilmiştir (Shao et al., 1986). Bu bulguların ışığında, yüksek kas ve kan oranları bileşiğin lokalizasyon gücünü artırarak, ona belirli bir organda spesifite kazanmasını sağlamaktadır. Gerek ^{99m}Tc -BLM'nin gerekse ^{99m}Tc -BLMG'in söz konusu zaman noktalarında, yüksek kas ve kan oranlarına sahip olmalarından yararlanarak; ^{99m}Tc -BLM'nin sırasıyla karaciğer, omurilik ve dalak, ^{99m}Tc -BLMG'in ise sırasıyla böbrek, kalınbarsak ve omurilik gibi organların görüntülenmesinde ve bunlara ilişkin hastalıkların tedavisinde uygun bir radyofarmasötik olacağı söylenebilir.

4.6. ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG bileşiklerine ait sintigrafi sonuçları

İşaretli ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG'in tavşanlara verilmesinin ardından, radyoişaretleli komplekslerin zamanla vücut içinde gösterdiği değişiklikleri saptayarak, hedef organların fonksiyonel durumlarının izlendiği ve tespit edildiği dinamik görüntülemenin yanında, belirli bir zaman içinde, hayvanın vücudundaki aktivitenin kaydedildiği statik görüntüler alınmaktadır (Erselcan et al., 2001).

970 μL (25 μg) 29.6 MBq (800 μCi) ^{99m}Tc -BLM ve 970 μL (25 μg) 31.5 MBq (851 μCi) ^{99m}Tc -BLMG iki ayrı erkek tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilmiş ve bu bileşiklerin belli

süreler (30., 120. ve 240. dk) sonundaki sintigrafileri alınmıştır. İlk sintigramlar enjeksiyonu takip eden 30. dk'nın sonunda hem statik hem de dinamik görüntü olarak, diğerleri ise sırasıyla 120. dk ve 240. dk sonunda sadece statik görüntü olarak alınmıştır. ^{99m}Tc -BLM ve ^{99m}Tc -BLMG bileşiklerine ait dinamik görüntülerde 60 s'lik 30 görüntü şeklinde alınmıştır. Şekil 4.20'de ^{99m}Tc -BLM'e, Şekil 4.22'de ise ^{99m}Tc -BLMG bileşiğine ait dinamik görüntüler verilmektedir. Her iki bileşiğin statik görüntüleri ise 30., 120. ve 240. dk'larda 650 kcount'luk sayımlar alınarak elde edilmiş ve sırasıyla Şekil 4.21 ve 4.23 de verilmiştir.

^{99m}Tc -BLM'e ait dinamik sintigramlar incelendiğinde abdominal ile göğüs bölgesinde ve 11. dk'dan itibaren de mesanede önemli ölçüde bir tutulumun olduğu gözlenmektedir. Dinamik görüntülere ait bir diğer sonuç ise böbreklerde ve bir miktar da barsaklarda yüksek tutulumun varlığıdır. Aynı bileşiğe ait statik görüntüler incelendiğinde 120. dk'dan itibaren yukarıda bahsedilen bölgelerdeki aktivitelerin giderek azaldığı fakat 240 dk'nın sonunda bu aktivitenin tamamen yok olmadığı görülmektedir. ^{99m}Tc -BLM için sintigrafi ve biyodağılım sonuçları birlikte değerlendirildiğinde bu bölgelerdeki tutulumların muhtemelen karaciğer, akciğer, mide ve dalaktan kaynaklanabileceği söylenebilir. BLM'nin akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir ilaç olduğu hatırlanırsa akciğerlerde meydana gelen tutulumun beklenen bir durum olduğu söylenebilir. Bunlara ilave olarak karaciğerdeki tutulumun fazla olması da muhtemelen BLM'nin glukuronidasyonundan kaynaklanmaktadır. Sintigrafi görüntülerinden tiroide herhangi bir tutulumun olmadığı görülmektedir. Bu, işaretli bileşiğe ait bağlanma veriminin yaklaşık %100 olduğu hatırlanırsa beklenen bir sonuçtur.

^{99m}Tc -BLMG'e ait dinamik sintigramlar incelendiğinde, karın ile göğüs bölgesindeki aktivitenin ^{99m}Tc -BLM'nin aynı bölgelerdeki aktivitesinden daha fazla olduğu görülmektedir. İki işaretli bileşik arasındaki dikkat çeken en önemli fark ise BLMG'in verildiği tavşanda kemik tutulumunun bir hayli fazla olmasıdır. ^{99m}Tc -BLMG'e ait sintigrafi ve biyodağılım sonuçları birlikte değerlendirildiğinde bu bölgelerdeki tutulumların muhtemelen karaciğer, akciğer, böbrek ve kalın barsak'tan kaynaklanabileceği söylenebilir. Glukuronidlerin mesanede de glukuronidasyona uğradıkları bilinmektedir (Avcıbaşı, 2008). Buradan hareketle ^{99m}Tc -BLMG'in 30., 120. ve 240. dk'lardaki statik sintigramlarda mesane tutulumunun büyük olasılıkla de glukuronidasyondan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Barsaklar önemli ölçüde β -glukuronidaz enzim aktivitesine sahiptir (Avcıbaşı, 2004). Peptidler barsaklar tarafından absorblanarak, karaciğere taşınır. Böylece, peptid geri emilerek glukuronid formundaki yapı tekrar hidrolize uğrar. Glukuronid bileşiklerinin enterohepatik geri-sirkülasyonu adı verilen bu davranışı, metabolizmaya önemli bir etki kurarak, ilacın vücuttaki yarı ömrünü uzatmaktadır. ^{99m}Tc -BLMG için kalın barsakta özellikle 120. dakikada önemli bir tutulumun olduğu görülmektedir. Glukuronid ve türevi bileşiklerinin karaciğer-kalınbarsak resirkülasyonu nedeniyle, ^{99m}Tc -BLMG'in kalın barsaktaki tutulumunun enterohepatik geri-sirkülasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Göze çarpan bir diğer husus işaretli BLMG'e ait statik ve dinamik görüntüler incelendiğinde tiroit yanında midede de her hangi bir tutulumun gözlenmemesidir. Bileşiğe ait bağlanma veriminin yaklaşık %100 olduğu hatırlanırsa bu beklenen bir durumdur. Bunu destekleyen bir diğer sonuçta midedeki tutulumdur. Bu organdaki 30., 120. ve 240. dk'lardaki tutulumlar sırasıyla 0.01 ± 0.02 ; 0.02 ± 0.01 ve 0.03 ± 0.01 'dir. Midedeki tutulumun düşük olması, işaretleme için çok yüksek bir verimle yapılması nedeniyle perteknatatın oluşmadığının ve radyokimyasal safsızlığın eser miktarda olduğunun bir göstergesidir (Durkan, 2008).



Patient Name: BLE TAVSAN

Patient Id: 1++1+

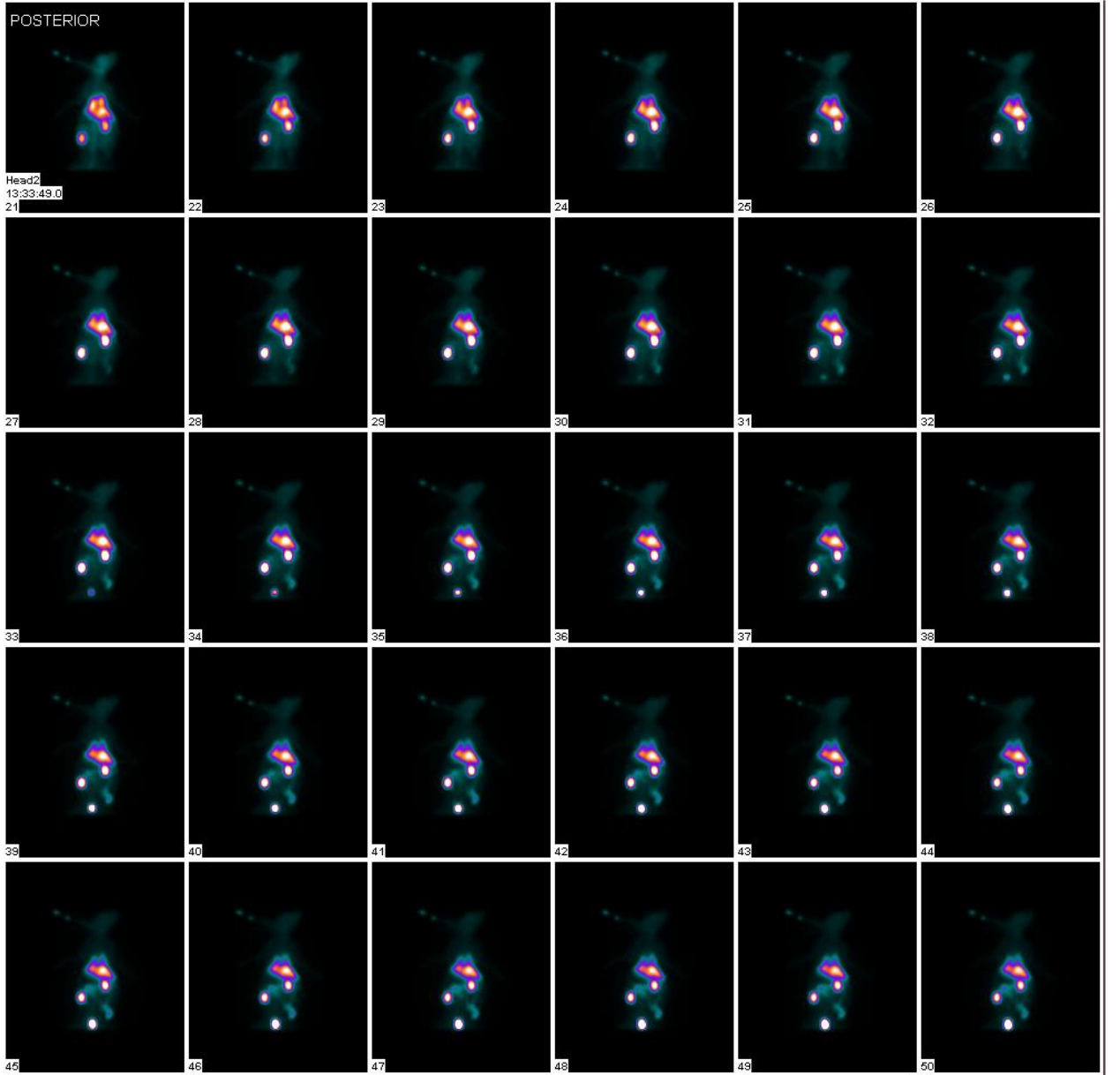
Institution Id: CELAL BAYAR UNIVERSITESI

CELAL BAYAR UN. TIP FAKULTESI
NUKLEER TIP A.B.D.

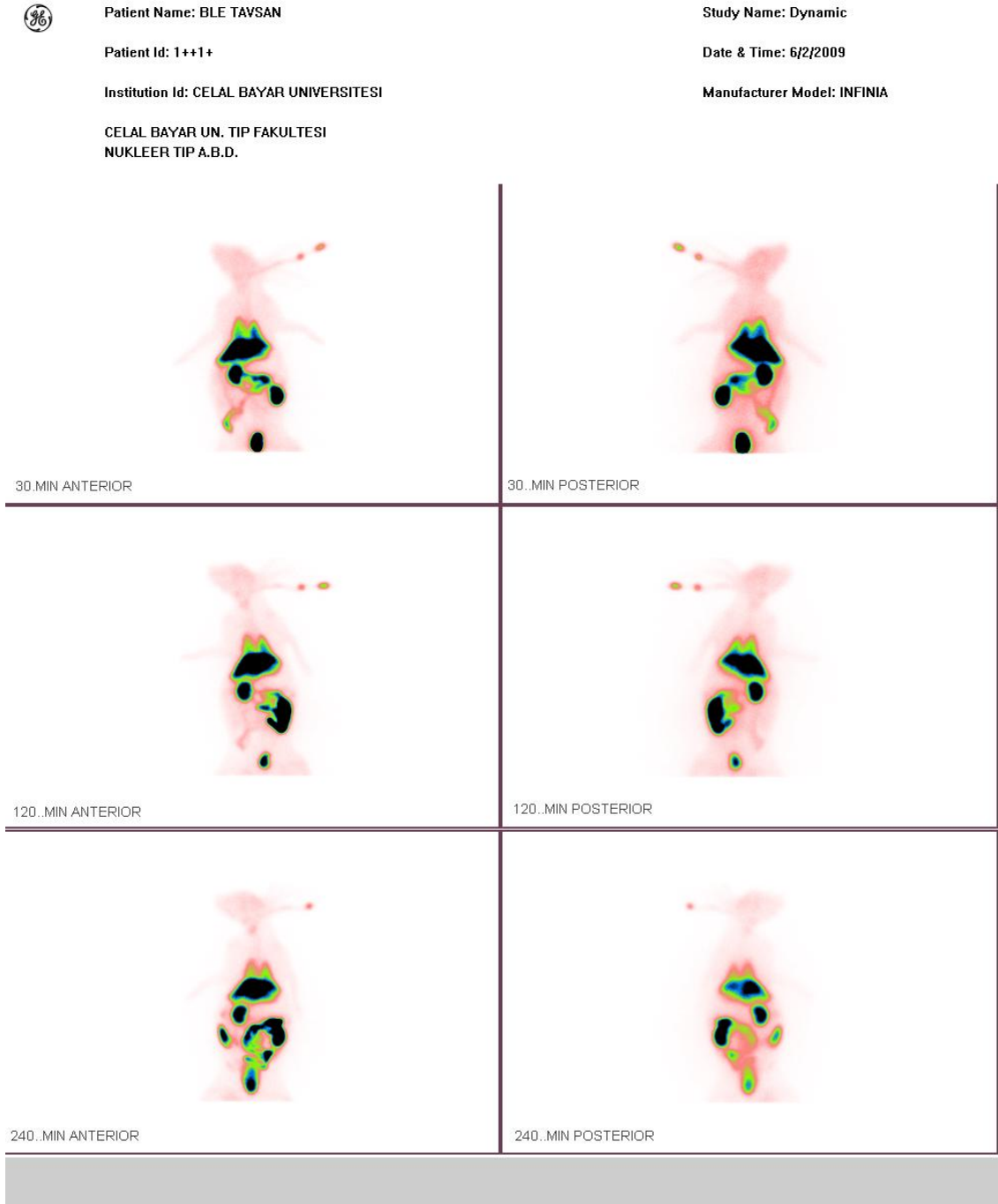
Study Name: Dynamic

Date & Time: 6/2/2009 13:33

Manufacturer Model: INFINIA



Şekil 4.23. Tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilen ^{99m}Tc -BLM bileşiğine ait 30 dk'lık dinamik sintigramlar



Şekil 4.24. Tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilen ^{99m}Tc -BLM bileşiğine ait 30 dk'lık statik sintigramlar



Patient Name: BLE TAVSAN

Patient Id: 2++5+

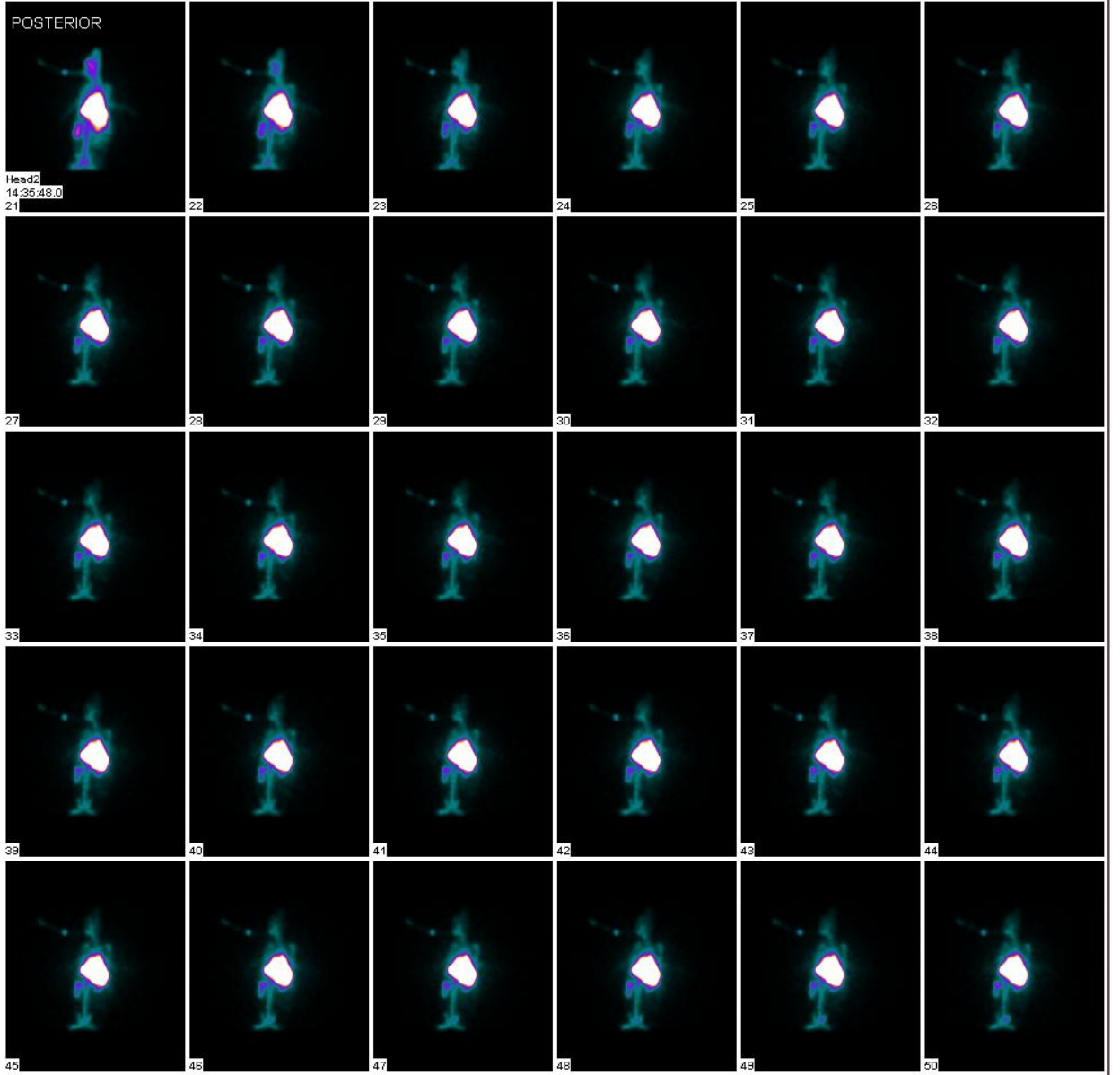
Institution Id: CELAL BAYAR UNIVERSITESI

CELAL BAYAR UN. TIP FAKULTESI
NUKLEER TIP A.B.D.

Study Name: Dynamic

Date & Time: 6/2/2009 14:35

Manufacturer Model: INFINIA



Şekil 4.25. Tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilen ^{99m}Tc -BLMG bileşiğine ait dinamik sintigramlar



Patient Name: BLE TAVSAN

Patient Id: 2++5+

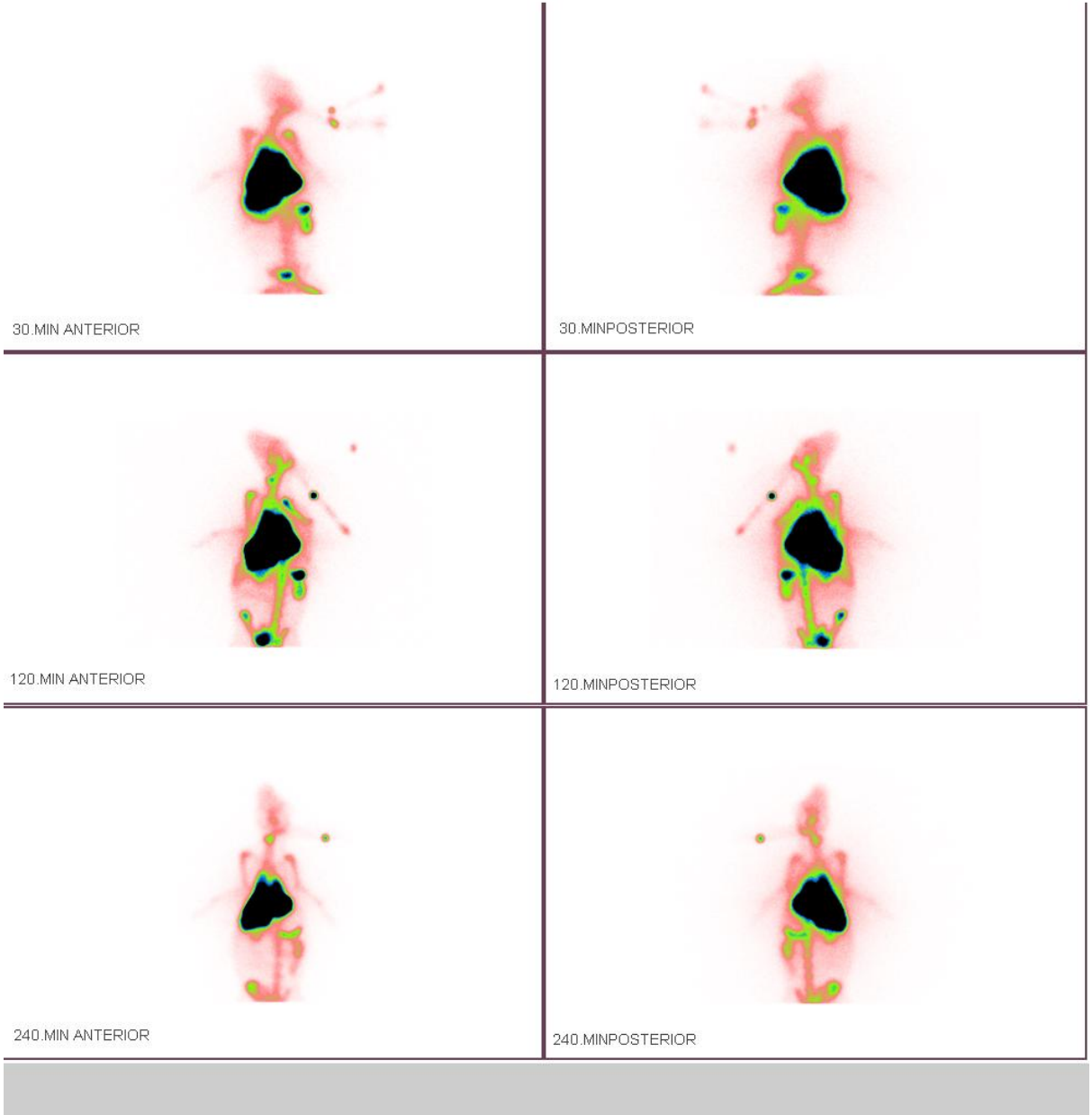
Institution Id: CELAL BAYAR UNIVERSITESI

CELAL BAYAR UN. TIP FAKULTESI
NUKLEER TIP A.B.D.

Study Name: Dynamic

Date & Time: 6/2/2009

Manufacturer Model: INFINIA



Şekil 4.26. Tavşana kulak damar yoluyla enjekte edilen ^{99m}Tc -BLMG bileşiğine ait statik sintigramlar

4.7. İstatistiksel analiz sonuçları

Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım sonuçlarının istatistiksel analizleri SPSS 13 (Univariate Variance Analyses) programı kullanılarak yapılmıştır. Varyans analizi %95'lik güven aralığında gerçekleştirilmiştir ($P < 0.05$). Aynı zamanda $^{99m}\text{Tc-BLM}$ ve $^{99m}\text{Tc-BLMG}$ bileşikleri için organlar arasında Pearson korelasyon analizi yöntemi %95'lik güven aralığında uygulanmıştır ($P < 0.05$). Pearson korelasyonu her iki işaretli bileşiğin tutulumuyla organlar arasındaki bir ilişki tanımlamaktadır. Organlar arasındaki Pearson korelasyonuna göre belirlenen bu ilişkinin anlamlılık düzeyi, P değeri ile ifade edilecek olursa $P = 0.01$ 'dir. ($P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir).

Her bir organ için yapılan varyans analizleri değerlendirildiğinde $^{99m}\text{Tc-BLM}$ kompleksinin incebarsak, pankreas, mesane, mide ve yağ dokusundaki tutulumlarının uygulanan süre ile ilişkili olduğu görülmektedir.

$^{99m}\text{Tc-BLM}$ bileşiğinin biyodağılım çalışmaları sonucunda organlar arasındaki ilişki göz önüne alındığında, baş ile kalp, mide, dalak ve kalınbarsak arasında; kalp ile kan ve kalınbarsak arasında; kan ile kalp, prostat ve kalınbarsak arasında; mesane ile testis, omurilik ve incebarsak arasında; incebarsak ile mesane ve omurilik arasında; kalınbarsak ile kalp, dalak ve akciğer arasında; yağ ile kalınbarsak arasında; böbrek ile baş ve mide arasında; karaciğer ile dalak arasında ve akciğer ile kalınbarsak arasında anlamlı bir farklılık söz konusudur.

$^{99m}\text{Tc-BLMG}$ kompleksine ilişkin varyans analiz sonuçları değerlendirildiğinde, kompleksin mesane ve pankreastaki tutulumlarının uygulanan süre ile ilişkili olduğu görülmektedir. Aynı bileşiğin biyodağılım çalışmaları sonucunda organlar arasındaki korelasyonu değerlendirildiğinde, kalınbarsak ile pankreas arasında; pankreas ile böbrek arasında; prostat ile kas ve tiroit arasında ve yağ ile pankreas ve kalınbarsak arasında anlamlı bir farklılık sözkonusudur.

Yukarıda sözü edilen organlar arasındaki bu ilişki, anlamlılık düzeyi (P) değeri ile ifade edilecek olursa $P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmektedir (Çizelge 4.12 ve 4.13). Her bir organ için yapılan varyans analizlerinin sonucuna göre bu organlara ilişkin P değerleri ve korelasyon katsayısı (R) değerleri Çizelge 4.10 ve 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Varyans analizi sonucuna göre ^{99m}Tc -BLM için bazı organlara ilişkin P değerleri ve korelasyon katsayısı (R) değerleri

^{99m}Tc -BLM		
	P değeri	R değeri
İnce barsak	0.029	0.591
Mide	0.046	0.522
Pankreas	0.039	0.548
Yağ	0.044	0.530
Mesane	0.027	0.599

Çizelge 4.11. Varyans analizi sonucuna göre ^{99m}Tc -BLMG için bazı organlara ilişkin P değerleri ve korelasyon katsayısı (R) değerleri

^{99m}Tc -BLMG		
	P değeri	R değeri
Pankreas	0.022	0.628
Mesane	0.014	0.679

Çizelge 4.12. Varyans analizi sonucuna göre ^{99m}Tc -BLM için bazı organlara ilişkin P değerleri

^{99m}Tc -BLM bileşiminde organlar arasındaki korelasyon değerleri	
	P Değerleri
Kalp-Kalın barsak	0.003
Kalp-Kan	0.011
Karaciğer-Dalak	0.016
Böbrek-Mide	0.008
Böbrek-Baş	0.005
İnce barsak-Omurilik	0.028
Kalın barsak-Akciğer	0.043
Kalın barsak-Dalak	0.030
Baş-Kalp	0.033
Baş- Kalın barsak	0.030
Baş-Mide	0.022
Baş-Dalak	0.016
Yağ-Kalın barsak	0.017
Mesane-İnce barsak	0.001
Mesane-Testis	0.035
Mesane-Omurilik	0.047
Kan-Prostat	0.026
Kan-Kalın barsak	0.011

Çizelge 4.13. Varyans analizi sonucuna göre ^{99m}Tc -BLMG için bazı organlara ilişkin P değerleri

^{99m}Tc -BLMG bileşiminde organlar arasındaki korelasyon değerleri	
	P Değerleri
Pankreas-Böbrek	0.045
KB-Pankreas	0.044
Yağ-Kalın barsak	0.009
Yağ-Pankreas	0.005
Prostat-Kas	0.002
Omurilik-Kalın barsak	0.001
Omurilik-Pankreas	0.004
Omurilik-Yağ	0.001
Prostat-Tiroid	0.005

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada, BLM ve enzimatik olarak sentezlenmiş olan BLMG ^{99m}Tc ile işaretlenmiş ve nükleer teknikler kullanılarak bu bileşiklerin radyofarmasötik potansiyelleri deney hayvanları üzerinde araştırılmıştır.

İşaretleme çalışmalarında, doğrudan işaretleme tekniği kullanılmıştır. Bu işaretleme tekniğiyle, tekrar edilen tüm denemelerde (n=7), aynı bağlanma verimleri elde edilmiştir. En yüksek bağlanma veriminin elde edilmesinde, işaretlenecek olan bileşiğin miktarı, pH, sıcaklık, reaksiyon süresi ve indirgen ajan miktarı gibi parametrelerin çok önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Jalilian et al., 2004). En yüksek bağlanma verimi elde edilinceye kadar farklı pH değerlerinde (pH= 5-7), farklı indirgen ve reaktif miktarlarıyla çalışılmıştır. Yapılan pek çok denemenin sonucunda, en iyi bağlanma veriminin elde edildiği optimum pH değeri ^{99m}Tc-BLM için 5, ^{99m}Tc-BLMG için ise 7 olarak belirlenmiştir.

En yüksek bağlanma veriminin elde edildiği koşullarda 40 µL (10 µg) BLM ve 290 µL (50 µg) BLMG kullanılmıştır. Bunun yanında, her iki bileşiğe ilişkin işaretleme çalışmalarında indirgen ajan olarak sırasıyla 50 µL (50 µg) ve 50 µL (50 µg) SnCl₂.2H₂O kullanılmıştır. Böylelikle sırasıyla ^{99m}Tc-BLM [67 MBq (30 µL)] ile ^{99m}Tc-BLMG [74 MBq (120 µL)] radyofarmasötikleri hazırlanmıştır. Bu işaretli bileşiklere ait bağlanma verimleri sırasıyla %99.40±1.34 ve %98.43±1.32 olarak hesaplanmıştır.

İnsan kan serumda yapılan stabilite çalışmalarının sonuçlarına göre, ^{99m}Tc-BLM radyoışaretli bileşiğinin 37°C'de 24 saat boyunca, ^{99m}Tc-BLMG radyoışaretli bileşiğinin ise 37°C'de 3 saat boyunca kararlı kaldığı tespit edilmiştir.

^{99m}Tc-BLM ve ^{99m}Tc-BLMG'in deneysel LogP değerleri sırasıyla -0,73±0,23 ve 0,42±0,30 (n=3) olarak hesaplanmıştır.

Biyodağılım çalışmalarında 30., 120. ve 240.dk'larda kullanılan her bir sıçan grubundan alınan kan örneklerinden yararlanılarak, elde edilen radyofarmasötiklerin; ^{99m}Tc-BLM ve ^{99m}Tc-BLMG biyolojik yarı-ömürleri sırasıyla 329 dk (~5.5 saat) ve 85 dk (~1.5 saat) olarak hesaplanmıştır.

Deney hayvanları üzerinde yapılan biyodağılım ve sintigrafi çalışmalarının sonucunda her iki işaretli bileşiğin radyofarmatik potansiyellerinin bir birinden farklı olduğu, ^{99m}Tc-BLM için en fazla tutulumun karaciğer, omurilik ve dalakta, ^{99m}Tc-BLMG için ise böbrek, kalınbarsak ve omurilikte gerçekleştiği ve biyodağılım çalışmalarının yapılan sintigrafi çalışmalarıyla desteklenmesi sonucunda, ^{99m}Tc-BLM kompleksinin karaciğer, omurilik ve dalağa; ^{99m}Tc-BLMG kompleksinin ise böbrek, omurilik ve kalınbarsağa spesifik olabileceği öngörülmüştür.

Yapılan istatistiksel analiz çalışmaları sonucunda, Pearson Korelasyon Analiz Yöntemi %95 güven aralığında uygulanmış (P<0.05) ve aynı zamanda her iki işaretli bileşiğin zamana karşı tutulumuyla organlar arasında anlamlı bir ilişki tanımlamıştır.

Her iki işaretli bileşiğin tümör görüntüleme ve terapi amaçlı birer radyofarmasötik olarak kullanılabileğine dair umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmanın daha ileri bir aşamasında insan ve kanserli hücreler ile yapılacak deneyler ile uptake, toksisite ve apaptotik etkilerin incelenmesi gibi çalışmaların yanı sıra tümörlü hayvanlar üzerinde yapılabilecek çalışmalar bu konuda daha ileri düzeyde bilgi edinilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAK DİZİNİ

1. Acar, Ç., 2005, ^{99m}Tc ile işaretli D-Penisilamin 'in bifonksiyonel şelatlama ajanı olarak kullanılması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi).
2. Alberto, R., Abram, U., and Klencsar, Z. (Eds.), 2003, ^{99m}Tc : Labeling chemistry and labeled compounds, Handbook of Nuclear Chemistry, Kluwer, Vol. 4, pp. 211-256.
3. Alberto, R., Abram, U. J., 2006, Technetium and Rhenium-coordination chemistry and nuclear medical applications, J. Braz. Chem. Soc., Vol. 17, pp. 1486.
4. Arano, Y., 2002, Recent advances in ^{99m}Tc radiopharmaceuticals, Annals of Nuclear Medicine, Vol. 16, No. 2, 79-93.
5. Asikoglu, M., Durak, F. G., 2009, The rabbit biodistribution of a therapeutic dose of zoledronic acid labeled with ^{99m}Tc , Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Radyofarmasi Bölümü, Bornova 35100, İzmir, Turkey.
6. Avcıbaşı, U., 2004, Test of the biological activities of some glucuronide conjugates radiolabeled with radioactive iodine-131 and investigation of their potentials using in β -glucuronidase measurements, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nükleer Bilimler Ana Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi.
7. Avcıbaşı, U., Dinçalp, H., Ünak, T., Yıldırım, Y., Avcıbaşı, N., Duman, Y., İçli, S., 2007, Preliminary tests of the radiopharmaceutical potential of N-(2,6-diisopropylphenyl)-N'-(4-pyridyl)-perylene-3,4,9,10-tetracarboxylic dimide radiolabeled with ^{131}I , Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Vol. 273, No. 3, 669-675.
8. Avcıbaşı, U., Avcıbaşı, N., Ünak, T., Ünak, P., Müftüler, F.Z., Yıldırım, Y., Dinçalp, H., Gümüşer, F.G., Dursun, E.R., 2008, Metabolic comparison of radiolabeled aniline- and phenol-phthaleins with ^{131}I , Nuclear Medicine and Biology, Vol. 35, 481-492.
9. Brooks, R. C., Carnochan, P., Vollano, J. F., Powell, N. A., Zweit, J., Sosabowski, J. K., Martellucci, S., Darkes, M.C., Fricker, S.P. and Murrer, B.A., 1999, Metal Complexes of Bleomycin: Evaluation of [Rh-105]-Bleomycin for use in targeted radiotherapy, Nuclear Medicine & Biology, Vol. 26, 421-430.
10. Biber, F. Z., 2004, Estradiol glukuronid türevi bir radyofarmasörün tasarlanması, sentezi ve radyofarmasötik potansiyelinin incelenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi).
11. Biber, F. Z., Ünak, P., Teksöz, S., Acar, Ç., Yolcular, S., Yürekli, Y., 2008, ^{131}I labeling of tamoxifen and biodistribution studies in rats, Applied Radiation and Isotopes, Vol. 66, 178-187.
12. Chatterjee, S. K., Chowdhury, K., Matta, M., Crickhard, K., Sharma, M., Bernacki, J., 1987, Role of glycosidases in human ovarian carcinoma cell mediated degradation subendothelial extracellular matrixs, Cancer Res., Vol. 47, pp. 4634.

13. Chu, T., Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Hu, S., Wang, X., 2004, Synthesis and biodistribution of ^{99m}Tc -carbonyltechnetium-labeled fatty acids, *Appl. Radiat. Isop.*, Vol. 60, 845-850.
14. Crooke S. T., F. Luft, A. Broughton, J. Strong, K. Casson, and L. Einhorn, 1977, Bleomycin serum pharmacokinetics as determined by a radioimmunoassay and a microbiologic assay in a patient with compromised renal function, *Cancer.*, Vol. 39, 1430-1434.
15. Demir, İ., 2009, Radyoışaretili Bevacizumab'ın radyofarmasötik potansiyelinin incelenmesi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi).
16. Dendy, P. P., 1970, Further studies on the uptake of synkavit and a radioactive analogue into the tumor cells in tissue culture, *Br. J. Cancer*, Vol. 24, p. 817.
17. Du, J., Hiltunen, J., Marquez, M., Nilsson, S., Holmberg, R. A., 2001, Technetium-99m labeling of glycosylated somatostatin-14, *Appl. Radiat. Isop.*, Vol. 55, 181-187.
18. Durkan, K., 2008, Bombesin'e benzer peptidlerden Litorin'in Tc-99m ile işaretlenme yöntemlerinin araştırılması ve radyofarmasötik potansiyelinin incelenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı (Doktora Tezi).
19. Enginar, H., 2002, ^{99m}Tc ile işaretli estradiol türevi radyofarmasötiklerin sentezi ve radyofarmasötik potansiyellerinin incelenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı (Doktora Tezi).
20. Erselcan, T., Tamgaç, F., 2001, Klinik uygulamada nükleer tıp, 1. Baskı ISBN 975-97630-0-1, Ünal Ofset, İstanbul.
21. Ertay, T., Ünak, P., Bekis, R., Yurt, F., Biber, F.Z., Durak, H., 2001, New radiolabeled CCK-8 analogues [^{99m}Tc -99m-GH-CCK-8 and ^{99m}Tc -DTPA-CCK-8]: preparation, and biodistribution studies in rats and rabbits, *Nuclear Medicine and Biology*, Vol. 28., 667-678.
22. Ertay, T., Ünak, P., Biber, F. Z., Tascı, C., Zihnioğlu, F., Durak, H., 2007, scintigraphyic imaging with a peptide glucuronide in rabbits: ^{99m}Tc -exorphin C glucuronide, *Appl. Radiat. Isop.*, Vol. 65, 170 -175.
23. Fass, L., 2008, İmaging and cancer, A review ; *Molecular Oncology* 2, 115-152.
24. Gal, L. J., Michaud, S., Gressier, M., Coulais, Y., and Benoist, E., 2006, Synthesis, metal complexation and biological evaluation of a novel semi-rigid bifunctional chelating agent for ^{99m}Tc labeling, *Bioorganic&Medicinal Chemistry*, Vol. 14, 2904-2909.

25. Gandomkar, M., Najafi, R., Ebrahimi, S. S. E., Shafiee, A., Babaei, M. H., Rabbani, M., Shabani, G. A., 2003, Direct labelling of octreotide with ^{99m}Tc : effect of different concentration of reducing agents and amount of sodium pertechnetate on radiolabelling efficiency, *Appl. Radiat. Isop.*, Vol. 58, 361-364.
26. Grove, R. B., Reba, R. C., Eckelman, W. C. and Goodyear, M., 1973, Clinical Evaluation of radiolabeled bleomycin (Bleo) for tumor detection, *Journal of Nuclear Medicine*, Vol. 15, No:6., pp. 46.
27. Grove, R. B., Eckelman, W. C. and Reba, R. C., 1973, Distribution of labeled bleomycin in normal and tumor-bearing mice, *Journal of Nuclear Medicine*, Vol. 14, No: 12, pp. 23.
28. Gulyaeva, N., Zaslavsky, A., Lechner, P., Chlenov, M., McConnell, O., Chait, A., Kipnis, V., Zaslavsky, B., 2003, Relative hydrophobicity and lipophilicity of drugs measured by aqueous two-phase partitioning, octanol-buffer partitioning and HPLC, A simple model for predicting blood-brain distribution, *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 33, 391-396.
29. Harrison, P. R., 1970, Inhibition by ATP of growth-inhibitory effect of synkavit (2-methyl-1,4-naphtoquinol-bis-disodium phosphate) on mouse ascites cells, *Br. J. Cancer*, Vol. 24, pp. 807.
30. Henle, K. J., Monson, T. P., Nagle, W. A., Moss, A. J., 1988, Tumor-targeted cell killing with 8-hydroxyquinolyl-glucuronide, *Radiat. Res.*, Vol. 115, pp. 383.
31. Icli, S., Icil, H., 1996, A thermal and photostable reference probe for Q_f measurements: chloroform soluble perylene 3,4,9,10-tetracarboxylic acid-bis-N,N'-dodecyl diimide. *Spectrosc. Lett.*, Vol. 29, 1253–1257.
32. İsi, H., Oral, D. Ö., Türkyılmaz, A. B., Balkan, M., 2004, Bleomycin'in kronik olarak radyasyona (X-ışını) maruz kalan bireylerde mitotik indeks'e etki, *Dicle Tıp Dergisi*, Cilt.31, No.2, p.4-8.
33. Jalilian A.R., B. Fateh, M. Ghergherehchi, A. Karimian, M. Matlloobi, S. Moradkhani, M. Kamalidehghan, F. Tabeie, 2003, Preparation, distribution, stability and tumor imaging properties of [^{62}Zn] bleomycin complex in normal and tumor-bearing mice, *Iran. J. Radiat. Res.*, Vol. 1, 37- 44.
34. Jalilian, A. R., Rowshanfarzad, P., Rahiminejadkisomi, A., Moradkhani, S. and Motamedi-Sedeh, F., 2004, Preparation, biodistribution and stability of [^{65}Zn] bleomycin Complex, *Cyclotron / Nuclear Medicine Dept., Nuclear Research Center For Agriculture and Medicine, Karaj, Japan, Daru*, Vol. 12, No: 3.
35. Kekilli, E., 2001, Nükleer Tıp'a Giriş "Radyofarmasinin prensipleri", Malatya.
36. Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., 2007, Enstrümantal analiz ilkeleri, Birinci Baskı, Bilim Yayıncılık, ISBN: 9789755560410, Kızılay, Ankara.

37. Krohn, K. ., Meyers, J. M., DeNardo, G. L. and DeNardo, S. J., 1977, Comparison of radiolabeled bleomycins and Gallium Citrate in tumor-bearing mice, *Journal of Nuclear Medicine*, Vol. 18, 276-281.
38. Liang, Y., Zhou, H., Du, F., Liu, Y.W., Zou, G. L., Wang, C. X., Qu, S. S., 2002, Bleomycin A₅ is analogous in mechanism to a DNA-cleaving enzyme: a microcalorimetric study, *Thermochimica Acta* Vol. 383, 1-11.
39. Lin, M. S., Goodwin, D. A. and Kruse, S. L., 1963, Bleomycin as a ^{99m}Tc carrier in tumor visualization, *Journal of Nuclear Medicine*, Vol. 15, No: 5, 338-342.
40. Liu, T., Chung, J. M., Ullenbruch, M., Yu, H., Jin, H., Hu, B., Choi, Y. Y., Ishikawa, F., and Phan, H. S., 2007, Telomerase activity is required for bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice, *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 117, No: 12, 3800-3809.
41. Morales, M. A., Gandolff, G. N., Perez, P. N., Veliz, C. B., Torres, C. I., Ducange, J., Fernandez, E., Crespo, Z. F., Veloso, A., Escobar, I. N., 1999, Freeze-Dried Formulation for direct ^{99m}Tc-Labeling ior-egf / r3 Mab: additives, biodistribution and stability, *Nuclear Medicine & Biology*, Vol. 26, 717-723.
42. Mori, T., Hamamoto, K., Onoyama, Y. and Torizuka, K., 1974, Kinetics of ¹¹¹In-bleomycin and ¹¹¹In-Chlorides in mice, *Journal of Nuclear Medicine*, Vol. 16, 8.
43. Morley, T. G., Dendy, P. P., 1973, Mechanisms of selective uptake of 2-methyl-1,4-naphthaquinol-bis(disodium phosphate), into some mammalian cells in tissue culture, *Br. J. Cancer*, Vol. 28, p. 56.
44. Özker, K., 1979, Meme tümörlerinin sintigrafik olarak incelenmesinde kullanılmak amacıyla iyod radyoizotoplarıyla etiketli bir Östron türevinin sentezi, Çekmece Nükleer Araştırma Merkezi, Rapor No: 199.
45. Ryyänen Päivi., Kinetic Mathematical Models for the ¹¹¹In-labelled bleomycin complex and ¹⁰B in boron neutron capture therapy, University of Helsinki, 2002, 65 p, University of Helsinki Report Series in Physics., HU-P-D102.
46. Shao, H.S., Meinken, G.E., Srivastava, S.C., Slosman, D., Sacker, D.F., Som, P. and Brill, A.B., 1986, In-vitro and in-vivo characterization of ruthenium-bleomycin compared to Cobalt- and Copper- bleomycin, Medical Department, Brookhaven National Laboratory Opton, Long Island, New York 11973, The 33 rd Annual Meeting, Society Of Nuclear Medicine, Washington, DC June 22-25.
47. Shliakhtsin MSc, S. V., Truckhachova, T. V., Isakau, H. A., Istomin, Y. P., 2009, Pharmaokinetics and biodistribution of photolon in intact and tumor-bearing rats, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Vol. 6, 97-104.

48. Silva, M.M.C., Luciana, P., Gano, L., Luisa, M., Melo, M.M., Inohae, E., Mataka, S., Thiemann, T., 2001, Synthesis and biological evaluation of two new radiolabelled estrojens: [¹²⁵I](E) - 3- methoxy- 17 α - iodovinylestra - 1,3,5(10),6 - tetraen -17 β -ol and [¹²⁵I] (Z)-3-methoxy-17 α -iodovinylestra-1,3,5(10),6-tetraen-17 β -ol, Appl. Radiat. Isop., Vol. 54, 227 -239.
49. Sioane, B. F., Rozhin, J., Johnson, K., Taylor, H., Crissman, J. D., Honn, K.V., Cathepsin, B., 1986, Assosiation with plasma membrane in metastic tumors, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, Vol. 83, p. 2483.
50. Taner, S.M., 2001, Küçük molekülü peptidlerin teknesyum-99m perteknatat (^{99m}TcO₄⁻) ile işaretlenmesi ve nükleer tıp'ta kullanılabilirliğinin incelenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı (Doktora Tezi).
51. Tunç, M., 1996, Penisilamin ve penisilamin di sülfid'in ^{99m}Tc ile işaretlenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Nükleer Bilimler Ana Bilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi).
52. Ünak, T., Ünak, P., 1993, Synkavit and its direct labeling with I-125, as potential anticancer drug, Nuclear Med. Biol., Vol. 20, No. 7, pp. 889.
53. Ünak, T., Ünak, P., Ongun, B., Duman, Y., 1997, Synthesis and Iodine-125 labeling of glucuronide compounds for combined chemo- and radiotherapy of cancer, Appl. Radiat. Isop., Vol. 48, No. 6, 777-783.
54. Ünak, P., Tunç, M., Duman, Y., 1998, Labeling of penicillamine di sulfide with technetium-99m, Appl. Radiat. Isop., Vol. 49, No. 7, 805-809.
55. Ünak, T., Akgün, Z., Duman, Y., Yıldırım, Y., Avcıbaşı, U., Çetinkaya, B., 2002, Radioiodination and preliminary biological tests of aniline-mustard and its glucuronide conjugate as a potential anticancer prodrug, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Vol. 256, No. 3, 529-534.
56. Ünak, T., Avcıbaşı, U., Yıldırım, Y., 2005, A radioanalytical technique for measurement of beta-glucuronidase activities, Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Vol. 266, No. 3, 503-506.
57. Ünak, T., 2007, Temel nükleer kimya ders notları, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Teksirler serisi: 137 (II. baskı), Baskı işleri, Bornova-İzmir.
58. Vera-Ruiz, H., Marcus, C. S., Pike, V. W., Conen, H. H., Fowler, J. S. , Meyer, G. J., Cox, P. H., Vaalburg, W., Cantineau, R., Helu, F. and Lambrecht, R. M., 1990, Report of an international atomic energy agency's advisory group meeting on quality control of cyclotron-produced radiopharmaceuticals, Nucl. Med. Biol., Vol. 17, No. 5, 445-456.
59. Wang, M., Meng, Z., Fu, J., 2006, Synthesis and biodistribution of six novel ^{99m}Tc complexes of 2-hydroxybenzaldehyde-amino acid schiff bases, Appl. Radiat. Isop., Vol. 64, 235-240.

60. Witt, K. A., Gillespie, T. J., Huber, J. D., Egletonn, D.R., Davis, T. P., 2001, Peptide drug modifications to enhance bioavailability and blood-brain barrier permeability, *Peptides*, Vol. 22, 2329-2343.
61. Würthner, F., Thalacker, C., Diele, S., Tschierske, C., 2001, Fluorescent *J*-type aggregates and thermotropic columnar mesophases of perylene bisimide dyes', *Chem. Eur. J.*, Vol.7, No. 10, 2245-2253.
62. (<http://www.cancercare.on.ca>)
(<http://www.monrol.com.tr>)
(<http://vimedts.ktu.edu.tr/nukleertip>)
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Technetium>)
(<http://www.lenntech.com/Periodic-chart-elements/Tc-en.htm>).
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Technetium-99m-generator>)
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Dithiothreitol>)
(<http://www.wikipedia.org/wiki/kemoterapi>)
(<http://www.cancercare.on.ca/pdfdrugs/bleomycin.pdf>)

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Feray KOÇAN
Doğum yeri : MANİSA
Doğum yılı : 30 / 08 / 1980
Elektronik Posta Adresi: feray.kocan@bayar.edu.tr

Öğrenim Durumu

1986 – 1991 İlkokul (Gazi İlkokulu–Manisa)
1991 – 1994 Ortaokul (Şehitler Ortaokulu–Manisa)
1994 – 1998 Lise (Süper Lise–Manisa)
2001 – 2006 Üniversite (Ege Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü–İzmir)
2007 – 2010 Yüksek Lisans (Celal Bayar Üniversitesi, Fen–Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Fizikokimya Anabilim Dalı)

Mesleki Durumu

2008 – devam Celal Bayar Üniversitesi, Fen–Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Fizikokimya Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi, Manisa.

Çalışma Konuları:

Nükleer Kimya, Radyofarmasi

Ulusal bilimsel toplantılarda yayınlanmış bildiriler:

1. Avcıbaşı, U., Koçan, F., Ünak, P., Müftüler, F. Z., İçhedef, Ç., Demiroğlu, H., Gümüşer, F. G. ^{99m}Tc ile işaretli Bleomycin-Glukuronid'in (^{99m}Tc -BLMG) radyokromatografik yöntemle incelenmesi, 23. Ulusal Kimya Kongresi, 16-20 Haziran 2009, Sivas.
2. Avcıbaşı, U., Demiroğlu, H., Ünak, P., Müftüler, F. Z., İçhedef, Ç., Koçan, F., Gümüşer, F. G. Bleomycin'in I-131 ile işaretlenmesi, 23. Ulusal Kimya Kongresi, 16-20 Haziran 2009, Sivas
3. Avcıbaşı, U., Demiroğlu, H., Müftüler, F. Z., Ünak, P., Koçan, F., İçhedef, Ç., Gümüşer, F. G. Radyoişaretli Bleomycin ve Bleomycin-Glukuronid'in Radyokromatografik Yöntemle İncelenmesi, Kromatografi 2009 Kongresi, 26-29 Eylül 2009, Trabzon.