

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKUT ENFLAMASYON VE ENFEKSİYON GÖRÜNTÜLEMEDE YENİ
RADYOFARMASÖTİKLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Bilim Dalı Programı

Doktora Tezi

Uzm.Ecz. Oya ÖRÜMLÜ

Prof.Dr. Levent KIRILMAZ

İZMİR
(2009)

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AKUT ENFLAMASYON VE ENFEKSİYON GÖRÜNTÜLEMEDE YENİ
RADYOFARMASÖTİKLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Bilim Dalı Programı

Doktora Tezi

Uzm.Ecz. Oya ÖRÜMLÜ

Prof.Dr. Levent KIRILMAZ

İZMİR
(2009)

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof.Dr. Levent KIRILMAZ
(Danışman)

.....

Üye : Prof.Dr.Makbule AŞIKOĞLU

.....

Üye : Prof.Dr.Hayal ÖZKILIÇ

.....

Üye : Doç. Dr. Ercüment KARASULU

.....

Üye : Yard.Doç.Dr. Gökem ESKİİZMİR

.....

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 12/10/2009

ÖNSÖZ

Enfeksiyon hastalıkları özellikle gelişmekte olan ülkelerde çok yaygındır. Bazı durumlarda teşhis kolaydır, klinik öyküye ve hastanın fiziksel muayenesine dayanır. Bazı durumlarda ise, asemptomatik veya non-spesifik semptomlar nedeniyle teşhis güçleşmektedir. Enfeksiyonun erken teşhisi ve lokalizasyonu uygun ve zamanında tedavi için çok önemlidir. Enflamasyonun yerleştiği bölge ve yayıldığı alanın saptanması enfeksiyonun klinik izleniminde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde esastır. Eğer klinik hikayesi ve fiziksel deneyler kesin değilse, doktor hastalığın lokalizasyonu ve şiddetini tayin etmek için birçok diyagnostik metoddan seçim yapabilir. Enfeksiyonun teşhisinde en yaygın kullanılan metod enfekte dokulardan elde edilen örneklerin mikrobiyolojik analizidir ancak çoğu zaman bu yapılamayabilir. Enfeksiyon/enflamasyonun sintigrafik görüntülenmesi enfeksiyon ya da enflamasyon hastalarının tedavisinde güçlü bir diyagnostik araçtır. Sintigrafik görüntüleme, tüm vücut görüntülemeye iyi bir noninvaziv tekniktir. Fonksiyonel (fizyolojik veya biyokimyasal) nedenlere dayandığı için vücudun tüm bölümlerindeki enfeksiyon/enflamasyonun lokalizasyonunun teşhisine izin verir. Bu nedenle çeşitli antibiyotiklerin işaretlenmesi denenmiş olup içlerinde en yüksek işaretleme verimine sahip olan ampisilin sodyum ile çalışılmıştır. Yapılan *in vivo* çalışmalar sonrasında işaretli ampisilin sodyum enfekte bölgede tutulduğu gözlenmiştir.

Bu tez Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (Proje No: 04/ECZ/017) tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	1
1 GENEL BİLGİLER.....	3
1.1 Akut Enflamasyon ve Enfeksiyon Görüntülemeye Yeni Radyofarmasötiklerin Geliştirilmesi.....	3
1.1.1 Enflamasyon ve Enfeksiyon	3
1.1.2 Enflamasyondaki Genel Fizyopatolojik Değişiklikler.....	4
1.1.2.1 Lokal Fizyopatolojik Değişiklikler.....	4
1.1.2.2 Sistemik Fizyopatolojik Değişiklikler.....	8
1.2 Enflamasyon ve Enfeksiyonun Teşhisi.....	10
1.2.1 Enfeksiyon ve Enflamasyonun Sintigrafik Olarak Saptanması.....	11
1.3 İdeal Enflamasyon/Enflamasyon Görüntüleme Ajanı Nasıl Olmalıdır?.....	14
1.4 Yeni Ajanların Gelişimi.....	17
1.5 Radyoişaretle Antibiyotiklerle Enfeksiyonun Tayini.....	18
1.6 Radyofarmasötikler	20
1.6.1 İdeal Radyofarmasötik.....	23
1.6.2 Tanısal Radyofarmasötikler.....	24
1.6.2.1 Nükleer (fiziksel) özellikler.....	24
1.6.2.2 Biyolojik Özellikler.....	29
1.6.2.3 Lokalizasyon Mekanizmaları.....	30
1.6.2.4 Uygulama Yolu.....	32
1.6.2.5 Hedef Uptake (Tutulum).....	32
1.6.2.6 İzleyicinin Atılımı.....	32
1.6.2.7 Kimyasal Özellikler.....	33

1.6.3 Terapötik Radyofarmasötikler.....	35
1.6.3.1 Nükleer Özellikler.....	36
1.6.3.2 Biyolojik Özellikler.....	39
1.7 Radyoişaretleme.....	40
1.7.1 İşaretleme Metodları	40
1.7.1.1 İzotopla Yerdeğiştirme Reaksiyonları.....	41
1.7.1.2 Yabancı İşaretin Girişi.....	42
1.7.1.3 Bifonksiyonel Şelatlar İle İşaretleme.....	42
1.7.1.4 Biyosentez ve Kimyasal Sentez.....	43
1.7.1.5 Geri Tepme (Recoil) İşaretleme.....	43
1.7.1.6 Eksitasyon İle İşaretleme.....	43
1.7.2 İşaretlemede Önemli Faktörler	44
1.8 Teknesyum Elementinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	47
1.8.1 Fiziksel Özellikleri.....	47
1.8.2 Kimyasal Özellikleri.....	48
1. 9 ^{99m} Tc Jeneratörleri	48
1.10 ^{99m} Tc İle İşaretleme	50
1.11 Radyofarmasötiklerin Kalite Kontrolü	51
1.11.1 Fiziksel Özellikler	52
1.11.1.1 pH ve İyon Şiddeti	53
1.11.1.2 Radyonüklidik Saflık	54
1.11.1.3 Radyokimyasal Saflık	55
1.11.1.4 Kimyasal Saflık.....	56
1.11.2 Kromatografi.....	57

1.11.2.1 Kağıt Kromatografisi.....	57
1.11.2.2 İnce Tabaka Kromatografisi.....	59
1.11.2.3 Radyofarmasötiklerde Kağıt ve İnce TabakaKromatografisi.....	60
1.11.2.4 Jel Kromatografi	63
1.11.3 Elektroforez.....	64
1.11 3.1 Kağıt ve Poliakrilamit Jel Elektroforezi	64
1.11.4 Radyofarmasötikler İçin Biyolojik Saflık Testleri	65
1.11.4.1 Sterilite.....	66
1.11.4.2 Pirojenite.....	66
1.12 Ampisilin Sodyum.....	67
1.12.1 Kimyasal Yapısı.....	67
1.12.2 Fiziksel Özellikleri.....	68
1.12.3 Farmakolojik Özellikleri.....	68
1.12.4 Endikasyonları.....	69
1.13 Doksisiklin Hiklat.....	70
1.13.1 Kimyasal Yapısı.....	70
1.13.2 Farmakolojik Özellikleri.....	71
1.13.3 Endikasyonları.....	71
1.14 Amoksisilin Sodyum.....	73
1.14.1 Kimyasal Yapısı.....	73
1.14.2 Farmakolojik Özellikleri.....	73
1.14.3 Endikasyonları.....	75
2 GEREÇ VE YÖNTEM.....	76

2.1 Kullanılan Araç, Gereç ve Kimyasal Maddeler.....	76
2.1.1 Kullanılan Araçlar.....	76
2.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	77
2.2 ETKEN MADDELERİN KALİTE KONTROLLERİ	77
2.2.1 Ampisilin Sodyumun Saflık Kalite Kontrolleri.....	78
2.2.1.1 Ampisilin Sodyumun UV Spektrumu.....	78
2.2.1.2 Ampisilin Sodyumun Fourier Transform Infrared Spektrumu.....	78
2.2.1.3 Ampisilin Sodyumun Kromatografik Teşhisi.....	78
2.3 Etkin maddelerin Radyoaktif Olarak işaretlenmesi.....	79
2.3.1 Ampisilin sodyumun Teknesyum-99m ile işaretlenmesi	80
2.3.1.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	80
2.3.1.2 Kağıt Elektroforezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması..	81
2.3.1.3 Kalay Klorür Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi...	82
2.3.1.4 İnkübasyon Zamanının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi.....	82
2.3.1.5 Aktivite Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi.....	82
2.3.1.6 İn Vitro Stabilite Çalışması.....	82
2.3.1.7 İn vivo Görüntüleme Çalışması.....	83
2.3.2 Doksisiklin hiklatın Teknesyum-99m ile işaretlenmesi.....	83
2.3.2.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	84
2.3.2.2 Kağıt Elektroforezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması..	84
2.3.2.3.Kalay Klorür Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi...	84

2.3.2.4 İnkübasyon Zamanının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi.....	84
2.3.2.5 İn Vitro Stabilite Çalışması.....	85
2.3.3 Amoksisilin sodyumun Teknesyum-99m ile işaretlenmesi.....	85
2.3.3.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	85
2.3.3.2 Kağıt Elektroforezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	86
2.3.3.3 İn Vitro Stabilite Çalışması.....	86
2.4 Araştırmanın yeri ve zamanı.....	86
2.5 Etik açıklamalar.....	86
3 BULGULAR.....	88
3.1 Ampisilin Sodyumun Safılık Kalite Kontrolleri.....	88
3.1.1 Ampisilin Sodyumun UV Spektrumu.....	88
3.1.2 Ampisilin Sodyumun Infrared Spektrumu.....	89
3.2 Ampisilin Sodyumun Kromatografik Teşhisi.....	89
3.3 Ampisilin Sodyumun 99mTc İle İşaretlenmesi.....	89
3.3.1 Kağıt Elektroforezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	91
3.3.2 Kalay Klorür Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi.....	93
3.3.3 İnkübasyon Zamanının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi.....	95
3.3.4 Aktivite Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi.....	98
3.3.5 İn Vitro Stabilite Çalışması.....	98
3.3.6 <i>In Vivo</i> Çalışmalar.....	100
3. 4 Doksisiklin hiklatın Teknesyum-99m ile işaretlenmesi	102
3.4.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	102

3.4.2 Kağıt Elektrophorezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	103
3.4.3 İn Vitro Stabilite Çalışması.....	105
3.4.5 Kalay Klorür Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi.....	105
3.4.6 İnkübasyon Zamanının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi.....	106
3.5 Amoksisilin sodyumun Teknesyum-99m ile işaretlenmesi.....	107
3.5.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	107
3.5.2 Kağıt Elektrophorezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması.....	109
4 TARTIŞMA VE SONUÇ.....	110
ÖZET	115
ABSTRACT.....	116
KAYNAKLAR.....	118
TEŞEKKÜR.....	123
ÖZGEÇMİŞ.....	124

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kromatografi kağıdından Rf değerinin hesabı.....	59
Şekil 2. ^{99m} Tc ile işaretli bir radyofarmasötiğin radyokimyasal saflığını analiz etmek için kullanılan minyatür ITLC sistemi.....	63
Şekil 3. Ampisilin sodyumun kimyasal formülü.....	69
Şekil 4. Doksisiklin hiklatın kimyasal formülü.....	71
Şekil 5. Amoksisilin sodyumun kimyasal formülü.....	74
Şekil 6. Ampisilin sodyumun distile sudaki UV spektrumu.....	89
Şekil 7. Ampisilin sodyumun FTIR spektrumu.....	90
Şekil 8. ^{99m} Tc-Ampisilin sodyumun asetondaki işaretlenme verim grafiği.....	92
Şekil 9. ^{99m} Tc-Ampisilin sodyumun butanol:etanol:su (35:35:30) sistemindeki işaretlenme verim grafiği.....	92
Şekil 10. İşaretlenen ampisilin sodyumun (^{99m} Tc-Ampisilin sodyum) elektroforez grafiği.....	93
Şekil 11. Serbest Tc-99m in pH 7.4 fosfat tamponunda elektroforez grafiği.....	94
Şekil 12. İndirgenmiş Tc-99m'in pH 7.4 fosfat tamponunda elektroforez grafiği...	94
Şekil 13. Kalay klorür miktarının işaretleme verimi üzerine etkisi.....	96
Şekil 14. İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi. (Serbest Tc-99m miktarı).....	97
Şekil 15. İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi.(İndirgenmiş Tc-99 miktarı).....	97
Şekil 16. İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi. (% safsızlık).....	98
Şekil 17. Aktivite miktarının işaretleme verimi üzerine etkisi.....	99

Şekil 18. Zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi (İn vitro stabilite).....	101
Şekil 19. S. aureus and E.coli ile enfekte olmuş sıçanlara ait gama kamera görüntüleri (2, 3 ve 4 saatler, ^{99m}Tc -ABPC).....	102
Şekil 20. İşaretlenen doksisiklin hiklatın pH 7.4 fosfat tamponundaki elektroforez grafiği.....	105
Şekil 21. Serbest Tc-99m in pH 7.4 fosfat tamponundaki elektroforez grafiği.....	105
Şekil 22. Zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi (İn vitro stabilite).....	106
Şekil 23. Kalay klorür miktarının doksisiklin hiklatın işaretleme verimi üzerine etkisi.....	107
Şekil 24. İnkübasyon zamanının doksisiklin hiklatın işaretleme verimi üzerine etkisi.	108
Şekil 25. ^{99m}Tc -Amoksisilin sodyumun asetondaki işaretlenme verim grafiği.....	109
Şekil 26. ^{99m}Tc -Ampisilin sodyumun butanol:etanol:su (35:35:30) sistemindeki işaretlenme verim grafiği.....	109
Şekil 27. İşaretlenen amoksisilin sodyumun (^{99m}Tc -Amoksisilin sodyum) elektroforez grafiği.....	110

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Konvansiyonel enflamasyon/enfeksiyon ajanlarının avantaj ve dezavantajları.....	15
Tablo 2. Radyofarmasötiklerin ilk tarihi.....	22
Tablo 3. Fiziksel özellikleri ve üretim metotları ile birlikte genel radyonüklitler	25
Tablo 4. Lokalizasyon mekanizması.....	31
Tablo 5. Genel işaretleme metodları.....	40
Tablo 6. Ampisilin sodyumun Tc-99m ile işaretlelenmesinde ince tabaka kromatografisinden elde edilen Rf değerleri.....	90
Tablo 7. Ampisilin sodyumun Tc-99m ile işaretlelenmesinde kalay klorür miktarının etkisi.....	94
Tablo 8. İnkübasyon süresinin % verim üzerine etkisi.....	97
Tablo 9. Zamanın işaretleme verimi üzerine etkisi.....	99
Tablo 10. ^{99m} Tc-ampisilin sodyumun in vivo tutulum oranları.....	102
Tablo 11. Doksisisiklin hidratın Tc-99m ile işaretlelenmesinde ince tabaka kromatografisinden elde edilen Rf değerleri.....	103

KISALTMALAR DİZİNİ

Ampisilin sodyum	ABPC
^{99m}Tc	^{99m}Tc Teknesyum
Etilendiamintetraasetik asit	EDTA
Dietilentriaminpentaasetik asit	DTPA
Miliküri	mCi
Perteknetat	TcO_4^-
İnce Tabaka Kromatografisi	İTK
Instant Thin Layer Chromatography	ITLC
Fourier Transform Infrared Spektrumu	FTIR
Staphylococcus aureus	S. aureus
Eschericia coli	E.coli

BÖLÜM I

GİRİŞ

Enflamasyon genel anlamda, yaşayan bir organizmada, özellikle damardan zengin dokularda, incitici bir etkenle oluşan olaylar topluluğudur. Çok çeşitli etkenlerle hücre ve dokularda görülen zararlara karşı oluşan bir tepkidir. Bu tepkinin amacı, organizmaya zarar veren etkeni ve bununla beraber zarar sonucunda oluşan atıkları yok etmek, vücuttan uzaklaştırmak, sonra da bölgede görülen doku kaybını onarmaktır. Enfeksiyona neden olan ajanlar, fiziksel ajanlar (travma, ısı), kimyasal ajanlar (kemoterapi, endüstriyel kazalar), immunolojik ajanlar (antijen-antikor reaksiyonları) ve radyasyon (radyoterapi, tedavi amaçlı olmayan radyasyona maruz kalışlar)'dur. Enfeksiyon mikroorganizmalarla kontaminasyondur. İmmun sistemi baskılanmış hastalarda görüldüğü gibi enflamasyonsuz enfeksiyon meydana gelebilir. Ayrıca, doku hasar ürünleri ile doku reaksiyonları başlaması nedeniyle de enfeksiyonsuz enflamasyon da görülebilir.

Enfeksiyon hastalıkları özellikle gelişmekte olan ülkelerde çok yaygındır. Bazı durumlarda teşhis kolaydır, klinik öyküye ve hastanın fiziksel muayenesine dayanır. Bazı durumlarda ise, asemptomatik veya non-spesifik semptomlar nedeniyle teşhis güçleşmektedir. Enfeksiyonun erken teşhisi ve lokalizasyonu uygun ve zamanında tedavi için çok önemlidir.

Enflamasyonun yerleştiği bölge ve yayıldığı alanın saptanması enfeksiyonun klinik izleniminde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde esastır. Eğer klinik hikayesi ve fiziksel deneyler kesin değilse, doktor hastalığın lokalizasyonu ve şiddetini tayin etmek için birçok diyagnostik metoddan seçim yapabilir. Enfeksiyonun teşhisinde en yaygın kullanılan metod enfekte dokulardan elde edilen

örneklerin mikrobiyolojik analizidir. Ancak çoğu zaman bu yapılamayabilir. Radyografi, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi gibi konvansiyonel anatomik görüntüleme için kullanılan metodlar; morfolojik değişikliklere dayandığı için sonuçta enfeksiyonun ilk aşamalarında uygun değildir. Sadece abse oluşuktan sonra enfeksiyonun geç aşamalarında hassastır. Enfeksiyon/enflamasyonun sintigrafik görüntülenmesi enfeksiyon ya da enflamasyon hastalarının tedavisinde güçlü bir diyagnostik araçtır. Sintigrafik görüntüleme, tüm vücut görüntülemeye iyi bir noninvaziv tekniktir. Fonksiyonel (fizyolojik veya biyokimyasal) nedenlere dayandığı için vücudun tüm bölümlerindeki enfeksiyon/enflamasyonun lokalizasyonunun teşhisine izin verir.

Birçok antibiyotik örneğin siprofloksasin, eritromisin, streptomisin ve son zamanlarda seftizoksim, bakteriyel enfeksiyonun ayırımında etkinliği değerlendirmek için Tc-99m ile işaretlenmiştir. Enfeksiyon görüntüleme için kullanılan radyofarmasötikler, enflamasyonun lokal fizyolojik durumu nedeniyle enfeksiyon/enflamasyon odağında tutulur. Bu nedenle, sintigrafik görüntüleme morfolojik değişikliklere bağlı olmayıp dokulardaki fizikokimyasal olaylara dayanır. Sonuçta sintigrafik teknikler, morfolojik değişiklikler henüz oluşmadığında enfeksiyon odağının erken fazlarında da gözlenebilmektedir (19).

1. GENEL BİLGİLER

1.1 Akut Enflamasyon ve Enfeksiyon Görüntülemeye Yeni Radyofarmasötiklerin Geliştirilmesi

1.1.1 Enflamasyon ve Enfeksiyon (19)

Enflamasyon herhangi bir hasara karşı gelişen karmaşık bir doku reaksiyonudur. Hasar, enfeksiyona yol açan, bakteri, virus veya mantarlar gibi canlı mikroorganizmalarla oluşturulabildiği gibi, kimyasal, fiziksel, immunolojik veya radyasyon ajanları tarafından da yapılabilir.

I- Fiziksel ajanlar

- a) Travma
- b) Isı

II- Kimyasal ajanlar

- a) Kemoterapi
- b) Endüstriyel kazalar

III- İmmunolojik ajanlar

- a) Antijen-antikor reaksiyonları

IV- Radyasyon

- a) Radyoterapi
- b) Tedavi amaçlı olmayan radyasyonu maruz kalışlar

Enflamasyon hücre hasarına karşı koruyucu bir reaksiyon olmasına rağmen kendisi de bizzat hasar yapabilir. Bu yüzden enflamasyon zarar verici bir potansiyele sahiptir hatta ölüme yol açabilir. Enflamatuvar olayın ana komponentlerinin çoğu dolaşımda yer aldığından, enflamasyon yalnızca vaskülerize dokularda ortaya çıkar. Enflamasyon genel olarak spesifik olmayan bir yanıt olarak düşünülür, çünkü stimulusun çeşidine veya stimulusa maruz kalma sayısına bağlı olmaksızın aynı şekilde ortaya çıkar. Bu durum immun sistemdekinden farklıdır. İmmun sistemin bir belleği vardır, antijen spesifiktir ve spesifik bir yanıt oluşturur.

Enflamasyon, akut ve kronik olarak sınıflandırılabilir. Akut enflamasyon hasara karşı ani veya erken bir yanıt olup birkaç dakika, birkaç saat veya en fazla birkaç gün sürer. Kronik enflamasyon ise daha uzun bir süreçtir, birkaç hafta veya yıllarca devam eder. Akut ve kronik enflamasyon arasındaki fark sadece olayların süresiyle ilgili olmayıp, patolojik ve klinik özelliklerine de bağlıdır.

1.1.2 Enflamasyondaki Genel Fizyopatolojik Değişiklikler

1.1.2.1 Lokal Fizyopatolojik Değişiklikler

1- Akut enflamasyon

Akut enflamasyon, hastayı tehdit eden olay son buluncaya dek, yani 8-10 gün kadar sürer. Bu süre bir miktar değişebilir, ancak 2 haftadan daha uzun sürdüğünde enflamasyonun kronikleştiği düşünülür. Akut enflamasyon aşağıda belirtilen bölgesel komponentleri taşır.

Lokal vasküler değişiklikler

a. Vazodilatasyon: Geçici vazokonstriksiyondan sonra oluşan vazodilatasyon, akut enflamasyona eşlik eden önemli değişiklerden biridir ve olayın bitimine kadar devam eder. İlk önce arterioller dilate olur sonra söz konusu bölgede yeni kapiller yatakların açılmasına neden olur.

b. Vasküler permeabilitede artış, aşağıdaki nedenlerle oluşur,

1. Endotelyal hücrelerin kontraksiyonu ile hücreler arasındaki boşlukların genişlemesi

2. Endotelyal hücrelerde direkt hasar ki bu endotel hücrelerinin nekrozu ve ayrılması ile sonuçlanır.

3. Lökositler aracılığı ile oluşan endotel hücre hasarı. Lökositler endotele yapışır, orada aktive olur, toksik oksijen kökleri ve proteolitik enzimler salgılar ki bu da endotel hücrelerini tahrip eder.

4. Anjiogenezis: Enflamasyon ile endotelyal hücreler çoğalır ve yeni kapillerler ve venül yatakları oluşturur (anjiogenezis). Bu kapiller tomurcuklar endotel hücreleri farklılaşmaya dek dışarı sıvı sızdırmayı sürdürür.

c. Staz (dolaşımın yavaşlaması): Permeabilitenin artması, sıvının ekstrasvasküler boşluğa sızması, küçük damarların içindeki eritrositlerin konsantre olmasına ve kanın viskozitesinin artmasına sebep olur ki bu da lokal damarlardaki dolaşımın yavaşlamasına yol açar.

Eksuda Oluşumu

Mikrovaskulatürün artmış permeabilitesi, protein içeriği fazla, bol hücre yıkıntılı, özgül ağırlığı 1020 nin üzerinde olan eksuda denen bir enflamatuvar ekstrasvasküler, sıvının sızmasına yol açar. Bu akut enflamasyonun başlıca özelliğidir ve eksudatif enflamasyon adı da bu yüzden verilmektedir. Hasar alanındaki küçük damarların normal permeabilitesinde önemli bir değişim olduğunun işaretidir.

Eksudanın sıvı ve proteinden oluşan bu iki komponenti aslında iki amaca hizmet içindir. Birincisi, sıvı artışları toksinleri dilüe eder. İkincisi de, protein içeriği globulinlerden zengindir ki bu koruyucu antikorları sağlar, fibrin bakterilerin yayılmasını sınırlar ve iyileşmeyi kolaylaştırır. Eksuda bileşim bakımından çeşitli olabilir. Erken fazda veya hafif enflamasyonda sıvı kısmı fazla (seröz eksuda) ve plazma protein içeriği az ve çok az lökosit bulundurabilir. Enflamasyon ilerledikçe eksuda kalınlaşır ve pıhtılaşır (fibrinöz eksuda). Çok sayıda lökosit biriktiğinde eksuda iltihap görünümünü alır ve süpüratif olarak, içine kanama olmuş ve eritrosit içeriyorsa hemorajik olarak adlandırılır. İltihap, lökositlerce özellikle de nötrofiller ve parankimal hücre artıklarınca zengin bir çeşit eksudadır.

Eksuda, transüdadan ayrılmalıdır. Transüda, protein içeriği az ve özgül ağırlığı 1020'den az olan bir sıvıdır. Ayrıca endotelial permeabilite normalken oluşur.

Lokal Hücresel Olaylar

a. Marginasyon

Staz geliştikten sonra, lökositler, lökositik marginasyon denen bir olayla vaskuler endotel boyunca damar çeperine yapışır.

b. Diapedez (emigrasyon)

Lökositler mikrosirk lasyondan çıkar ve hasar bölgesinde birikir.

c. Kemotaksis

Hücreler damar dışına çıktığında, enflamatuvar odaktaki kemotaktik stimulusa doğru çeşitli hızlarda g   eder. Hücreler membranları üzerinde çeşitli yerlerde taşıdıkları kemoreseptörler yardımıyla, kemotaktik faktörlerin en yüksek konsantrasyonda bulunduğu yeri saptar ve bu yöne doğru ilerler. Eozinofiller, bazofiller gibi granülositler ve bazı lenfositler bu tür stimulusa yanıt verir ve enflamasyon bölgesinde birikir. Başlıca kemotaktik faktörler; bakteriyel ürünler, kompleman komponentleri (C5a, C3a), kallikrein ve plazminojen aktivatörleri, fibrin yıkım ürünleri, prostagandinler ve fibrinopeptidlerdir. Histamin kemotaktik bir faktör değildir ancak olayı kolaylaştırır. Özellikle gram negatif bakterilere ait bazı bakteriyel toksinler ve streptokokal streptolizinler nötrofil kemotaksisini inhibe eder.

d. Fagositoz

Bu savunma mekanizması özellikle bakteriyel enfeksiyonlarda önemlidir. Polimorf nüveli lökositler ve makrofajlar hücre artıkları ve yabancı partikülleri i lerine alır.

2- Kronik enflamasyon

Akut enflamasyon kronik şekle dönebilir ki bu durumda polimorf nüveli lökositlerin sayısı azalır, fibroblastlar çoğalır ve kollagen yapımı artar. Kronik enflamasyon genellikle primer olarak başlar, akut enflamasyondan sonra ortaya

çıkamaz. Akut enflamasyonu izlesin veya izlemesin, kronik enflamasyon; mononükleer hücre (makrofajlar, lenfositler ve plazma hücreleri) infiltrasyonunun hâkim olduğu eksudatif yanıttan çok proliferatif (fibroblastik) bir yanıttır. Vasküler permeabilite anormaldir ancak bu anormallik akut enflamasyondaki yeni kapiller oluşumuna sebep olacak kadar fazla değildir.

3- Abse Oluşumu

Abse, dokularda, organlarda veya sınırlı boşluklarda, genellikle bakteriyel enfeksiyon tarafından oluşturulmuş iltihap birikimi olarak tanımlanır. Abse oluşumunun ilk fazı hücre nekrozu veya süpürasyon olmaksızın gelişen hiperemi, lökositoz ve ödemle karakterize sellülittir. Bu aşamaya flegman da denir. Bunu nekroz ve likefaksiyon izleyebilir ve iltihap bir duvarla çevrelenmiş olur ki bu abse oluşumu ile sonlanır. Abse hem akut hem kronik enflamasyonda oluşabilir.

1.1.2.2 Sistemik Fizyopatolojik Değişiklikler

Hasar sonrası doku iyileşmesi enflamasyonla sıkı ilişkilidir. İyileşme hasar gören dokunun yapı ve fonksiyonunun düzelmesi (rezolüsyon) veya hasarın ağırlığı ve rejenerasyonunun tam olamaması yüzünden iyileşme sağlanamıyorsa kollajen içeren bir skarın oluşudur (tamir).

Her olayda önce akut enflamasyon oluşur ve bu nedenle akut enflamasyon, iyileşmenin defansif fazı olarak düşünülür. İyileşme (rezolüsyon ve tamir) iç içe geçen iki fazdan (rekonstrüksiyon ve maturasyon) oluşur ve 2 yıl kadar sürebilir.

Rekonstrüktif faz, hasardan 3-4 gün sonra başlar, yaklaşık olarak 2 hafta sürer ve fibroblastların kollajen sentezi ile karakterizedir. Maturasyon fazı ise hücre farklılaşması, skar oluşumu ve skarın remodelingi ile karakterizedir. Bu faz hasardan birkaç hafta sonra başlar tamamlanması 2 yıl sürer.

İyileşmenin Fizyopatolojik Değişiklikleri

Başlıca 3 sistematik değişiklik enflamasyona eşlik eder. Bunlar; lökosit, ateş ve plazma proteinlerinde artıştır. Lökositöz; kompleman komponenti C3a ve koloni-stimule edici faktörler gibi enflamasyonun bazı ürünlerinin stimüle edilmesiyle lökosit yapımının artışıdır. Febril yanıt pirojenlere bağlıdır. Plazma proteinlerindeki artış bazı enflamasyon ürünlerinin karaciğeri uyarışı ile ilgili olarak C-reaktif proteinler, fibrinojen ve haptoglobulinin dahil olduğu akut-faz reaktanları olarak bilinen bazı proteinlerin sentezinin artması ile sağlanmaktadır.

Enfeksiyon ise, basitçe mikroorganizmalarla kontaminasyondur. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda görüldüğü gibi enflamasyonsuz enfeksiyon meydana gelebilir. Ayrıca, doku hasar ürünleri ile doku reaksiyonları başlaması nedeniyle enflamasyonsuz enflamasyon da görülebilir. Diğer taraftan mikroorganizmaların istilası ile doku hasarı, travma, iskemi, neoplazma ve yabancı partiküller (asbest gibi) enflamasyonu kamçılayabilir (43).

Enfeksiyon hastalıkları özellikle gelişmekte olan ülkelerde çok yaygındır. Bunların bir kısmı nispeten klinik tablolarına göre (kızamık, kabakulak, su çiçeği gibi) daha kolay teşhis edilir. Bazı enfeksiyonlar lokalize belirtiler gösterir ki bunlar

görüntüleme teknikleriyle teşhis edilir. Tifo, malarya, tüberküloz gibi yaygın ve önemli enfeksiyonlar herhangi bir lokal belirti oluşturmazlar ve bu nedenle de teşhisi zorlaşır (30,42).

Bakteriyel enfeksiyon gelişmekte olan ülkelerde mortalite ve morbiditenin en önemli sebeplerinden birisidir. Tüberküloz ve birçok ilaca dirençli bakteriler artmaktadır ve diyagnostik, terapötik, enfeksiyon kontrolü için mücadeleler gelişmektedir. Nükleer tıp teknikleri, kaynağı bilinmeyen ateş ya da şüpheli bakteri enfeksiyonlarının teşhisine yardım eder ve antimikrobiyal tedavi için gereklilikleri tayin eder. Nükleer tıp teknikleri sensitiftir ancak galyum-67'de olduğu gibi spesifik değildir (11,42).

Enfeksiyonun erken teşhisi ve lokalizasyonu, uygun ve zamanında tedavi için çok önemlidir. Enfeksiyonun teşhisinde en yaygın kullanılan metod enfekte dokulardan elde edilen örneklerin mikrobiyolojik analizidir ancak çoğu zaman bu yapılamayabilir. Radyografi, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi gibi konvansiyonel anatomik görüntüleme için kullanılan metodlar sadece abse oluşuktan sonra enfeksiyonun geç aşamalarında hassastır. (39).

1.2 Enflamasyon ve Enfeksiyonun Teşhisi

Enflamasyon olayının teşhisi tıpta önemlidir. Bazı durumlarda teşhis kolaydır, klinik öyküye ve hastanın fiziksel muayenesine dayanır. Bazı durumlarda ise, asemptomatik veya non-spesifik semptomlar nedeniyle teşhis güçleşmektedir. Sonuçta enflamasyon prosesinin teşhisi için birçok görüntüleme teknikleri, basit X-ray'den sofistike bilgisayarlı tomografi v.b. geliştirilmiştir (39).

Enfeksiyon ve enflamasyon alanının tayini enfeksiyon veya enflamasyon şüphesi olan hastaların uygun tedavisinde önemli bir adımdır. Bu gibi hastalıklar bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans ve ultrason gibi radyolojik tekniklerle teşhis edilebilir. Bununla beraber, bu teknikler ancak anatomik değişikliklere dayanır, enfeksiyon ve enflamasyon alanının ilk aşamalarında herhangi bir anatomik değişiklik olmadığı için erken fazda teşhis edilemeyebilir. Ayrıca bu teknikler vücudun sadece belli bir kısmı hakkında bilgi verir (43).

1.2.1 Enfeksiyon ve Enflamasyonun Sintigrafik Olarak Saptanması

Enfeksiyon/enflamasyonun sintigrafik görüntülenmesi enfekte ya da enflamasyon hastalarının tedavisinde güçlü bir diyagnostik araçtır. Eğer klinik hikayesi ve fiziksel deneyler kesin değilse, doktor hastalığın lokalizasyonu ve şiddetini tayin etmek için birçok diyagnostik metoddan seçim yapabilir (8). Nükleer tıp dışındaki görüntüleme tekniklerinin kullanımı ile radyonüklid tekniklerin kullanımı arasında çok büyük farklar vardır. Radyografi, ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografi gibi anatomik görüntüleme teknikleri, anatomik değişikliklerin çok belirgin olduğu enfeksiyonun kronik safhasında hassastırlar (40). Radyolojik metodlar morfolojik değişikliklere dayandığı için sonuçta enfeksiyonun ilk aşamalarında uygun değildir. Aksine enfeksiyonun nükleer tıp teknikleriyle saptanması anatomik değişikliklerin ortaya çıkmasından hemen önce görülen dokulardaki fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere dayanmaktadır. Bu nedenle nükleer tıp enfeksiyon ve steril enflamasyonu ayırt etmek için pekçok radyofarmasötüğün geliştirilmesine katkıda bulunmuştur. Ancak bu

radıofarmasötiklerin hiçbirini herhangi bir enfeksiyona özgün değildir çünkü hassasiyet ve özgünlük enfeksiyonun çeşidine, mikroorganizmanın türüne, enfeksiyon yerine ve klinik koşullara göre farklılık gösterebilmektedir (40). Fonksiyonel (fizyolojik veya biyokimyasal) nedenlere dayandığı için vücudun tüm bölümlerindeki enfeksiyon/enflamasyonun lokalizasyonunun teşhisine izin verir (43). Nükleer tıpta radıofarmasötik genellikle intravenöz olarak injekte edilir ve bir gama kamera kullanılarak tüm vücudun radyoaktivite dağılımı izlenir. Enfeksiyon/enflamasyon odağı (48) kan akımı artışı (2), vasküler permeabilite artışı (1) ve lökositlerin sızmasıyla karakterizedir. Enfeksiyon görüntüleme için kullanılan radıofarmasötikler, enflamasyonun bu lokal fizyolojik durumu nedeniyle enfeksiyon/enflamasyon odağında tutulur. Bu nedenle, sintigrafik görüntüleme morfolojik değişikliklere bağlı olmayıp dokulardaki fizikokimyasal olaylara dayanır. Sonuçta sintigrafik teknikler, morfolojik değişiklikler henüz oluşmadığında enfeksiyon odağının erken fazlarında da gözlenebilmektedir (8).

Enfeksiyon ve enflamasyonun sintigrafik görüntülenmesinde ana endikasyonlar, kas-iskelet sistemi enfeksiyonları (kalça protezi ağrısı, diyabetik ayak, osteomyelit, enfekte travma), sebebi belli olmayan ateş, abdominal enfeksiyonlar (sepsis, apse, kronik enflamatuvar barsak hastalığı), vasküler enfeksiyonlar (kalp kapakçığı endokarditi, vasküler protez enfeksiyonu) ve özellikle immun sistemi baskılanmış hastalarda pulmoner enfeksiyonlardır.

Son 20 yıldır enfeksiyon ve enflamasyon görüntüleme için birçok radıofarmasötik geliştirilmiştir (43).

Enfeksiyonun teşhisinde kullanılan radıofarmasötikler; Ga-67, radyoişaretli lökositler, insan immunglobulini, dekstran, peptidler, antikorlar ve nanokolloidlerdir.

Enflamasyon ve enfeksiyonu görüntülemeye bu radyofarmasötikler oldukça hassastır ama spesifisimleri çok fazla değildir. Birçok antibiyotik örneğin siprofloksasin, eritromisin, streptomisin ve son zamanlarda seftizoksım bakteriyel enfeksiyonun ayırımında, etkinliği değerlendirmek için Tc-99m ile işaretlenmiştir (41).

Rutin olarak klinikte kullanılan konvansiyonel radyofarmasötikler;

- Ga-67 sitrat
- In-111-oxine
- Tc-99m ile işaretli lökositlerdir (39).

Bunların içinde “gold standart” olarak kullanılan Ga-67’nin özellikleri aşağıdadır.

Ga-67 sitrat:

Enfeksiyon görüntüleme için yaygın olarak ilk kullanılan radyofarmasötik ⁶⁷Ga-sitrattır. Bu ajan orjinal olarak, tümör görüntüleme ajanı olarak kullanılmaktaydı ancak daha sonra enflamasyona olan ilgisi tanımlanmıştır (6).

Fizyolojik olarak enjekte edilen ⁶⁷Ga nin % 10-25’i böbreklerden atılır. Geriye kalan doz karaciğer, kemik, kemik iliği ve yumuşak dokuda eşit olarak dağılır.

Ga-67 sitratın endikasyonları: ⁶⁷Ga-sitrat gama kamera görüntülemeleri için istenmeyen fiziksel özelliklere sahip olduğundan (yarı ömrü uzun, çekim zamanı uzun) rutin klinik uygulamalarda el altında hazır olarak bulundurulmaz. Bu özellikler nedeniyle enfeksiyon görüntülemek için ^{99m}Tc işaretli radyofarmasötiklerin bulunmasıyla, nedeni bilinmeyen ateş, kronik osteomyelit, akciğer enfeksiyonu ve

özellikle immun sistemi baskılanmış hastalarda otoimmün hastalık (fibrozis gibi) durumlarında ^{67}Ga sitratın kullanımı sınırlanmıştır (7).

^{67}Ga , enflamasyonu belirlemek çok faydalı bir ajan olarak kullanılmaktadır ancak enfekte ve enfekte olmayan enflamasyonlar arasındaki ayırımı yapamaz. ^{67}Ga akut ve kronik enfeksiyonlarda, örneğin osteomyelit, tüberkülozda, tutulduğu gibi enfekte olmayan granülomalar, sarkoidler, romatoid sinovitte de tutulur. Ayrıca ^{67}Ga malign hücrelerde de tutulmaktadır (7). A.B.D’inde her gün yaklaşık 1800 sintigrafik abse görüntüleme işlemi gerçekleştirilmektedir. Bunların birçoğunda hastaların lökositleri *in vitro* olarak ^{111}In -oksim ile işaretlenmekte ve sonra yine hastaya verilmektedir. Hastalar 4-24 saat sonra görüntülenmektedir. Bu prosedürün de bazı dezavantajları vardır. Dalak yüksek oranda doza maruz kaldığı için radyofarmasötik dozu düşürülmüştür. Bu düşük doz görüntü alma süresinin uzun tutulmasına yol açar. İşaretleme prosedürü yaklaşık 2 saati bulmakta ve yetişmiş, eğitimli laboratuvar personeli gerektirmektedir. Olası problemlerden biri de enjeksiyondan sonra 24 saat bekleme gerekliliğidir. Bu süre önemlidir çünkü absenin mümkün olduğunca erken drene edilmesi gerekir. Drene edilmemiş apse yüksek mortaliteye sahiptir (45).

Enfeksiyon ve enflamasyonu görüntülemeye nükleer tıp teknikleri içinde ^{111}In veya $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ile işaretli otolog lökositler hala gold standart olmasına rağmen daha az zahmetli ve daha az riskli yöntemlere gereksinim duyulmaktadır (35).

Günümüzde birçok konvansiyonel radyofarmasötik, enfeksiyon ve enflamasyonun sintigrafik görüntülenmesi için kullanılmaktadır. Bu ajanlarla birçok enfeksiyon ve enflamasyon odağı lokalize edilebilmesine rağmen, sahip oldukları dezavantajlar uygulamaları kısıtlar. Bu sınırlamalar da yeni radyofarmasötiklerin

araştırılmasına olan ihtiyacı arttırmaktadır (44). Tablo 1’de konvansiyonel enflamasyon/enfeksiyon ajanlarının avantaj ve dezavantajları verilmiştir.

1.3 İdeal Enflamasyon/Enflamasyon Görüntüleme Ajanı Nasıl Olmalıdır?

İdeal ajan aşağıdaki özellikleri taşımalıdır:

- Enflamasyon/enfeksiyon alanında hızlı lokalizasyon ve etkili tutulum sağlamalı
- Karaciğer, dalak, GIS, kemik, kemik iliği, böbrekler gibi organlarda ve kanda önemli bir fizyolojik tutulum göstermemeli
- Background’dan (enfeksiyon olmayan dokulardan) hızlı klirens olmalı
- Hedef dışı dokuda tutulum olmamalı
- Toksisitesi olmamalı
- Erken diyagnostik görüntüleme sağlayabilmeli
- Kolay elde edilebilmeli ve ucuz olmalı

Tablo 1: Konvansiyonel enflamasyon/enfeksiyon ajanlarının avantaj ve dezavantajları (44).

Görüntüleme ajanı	Tutulum mekanizması	Avantajları	Dezavantajları
⁶⁷ Ga-sitrat	Transferrine bağlanır, Aktif haldeki lökositler ve bakteriyel sideroforlarda bulunan laktoferrine bağlanır, Artan permeabiliteyle damarlardan sızar	Pahalı değildir, Kronik durumlarda kullanışlıdır	GIS de ve üriner sistemde, Kemikte fizyolojik olarak tutulur, Yüksek radyasyon yükü, Hedef / BG oranı düşük, İnjektasyon ve teşhis arasındaki süre uzun
		Akut durumlarda çok	Hazırlanması zor, Kontamine olma

Radyoişaretli lökositler	Kemotaksis	iyi görüntüleme, Hızlı BG klirensi	ihtimali, Kronik durumlarda düşük verim, Akciğerlerde göllenme
In-111 işaretli lökositler	Kemotaksis	İşaretlenme stabilitesi iyi	Yüksek radyasyon
Tc-99m işaretli lökositler	Kemotaksis	Kolay bulunabilir olması, Ucuz olması, Yarı ömrünün kısa olması, Düşük radyasyon, İdeal enerji düzeyi	İşaretlemede stabilite problemi, Mesanede ve ince barsaklarda tutulum
^{99m} Tc-nanokolloidler	Fagositoz	Ucuz, Kolay hazırlanır, Kronik durumlarda iyi performans gösterir	Karaciğerde tutulumu fazla, Kan gölü aktivitesi yüksek, Diyagnostik verim düşük

- Kolay ve düşük radyasyon hasarıyla hazırlanabilmeli
- Enfeksiyon ve non-mikrobiyal enflamasyon arasında ki ayrımı sağlayabilmeli
- Düşük radyasyon hasarına sahip olmalı (7,8,15,25,33)

Doktorlar açısından ajan, enfeksiyon/enflamasyonun lokalizasyonu, büyüklüğü ve şiddeti hakkında bilgi vermelidir. Bazı durumlarda (apandisit, akciğer enfeksiyonları gibi) doktor, hızlı bir şekilde aynı günde cevap alabilmeyi tercih eder ama diğer vakalarda (osteomyelit, enfekte kemik/eklem protezi, bilinmeyen ateş) daha uzun prosedürler kabul edilebilir. Ayrıca, bazı hastalarda, enfeksiyon ve non-mikrobiyal enflamasyonun ayrımı gerekli olabilir (örneğin, kas/iskelet enfeksiyonu, kaynağı bilinmeyen ateş) (8).

Kullanılacak Radyofarmasötikler İçin Gelecekte Beklentiler

- Muhtemelen enfekte kan, otolog ya da allojenik kullanımından kaçınmak
- Küçük moleküllerin hızlı klirensi sayesinde doktorlar için hızlı teşhis şansı vermek

- Reseptör etkileşimli ajanların gelişimi
- Enfekte ve enfekte olmayan enflamasyon arasındaki ayrımı yapabilmek
- ^{99m}Tc ile işaretli ajanların yaygın kullanımını sağlamak (15).

1.4 Yeni Ajanların Gelişimi

Son yıllarda enfeksiyon hastalıklarının spektrumu değişmiştir bu nedenle enfeksiyon görüntülemek için radyonüklidlere olan gereksinimler daha çok artmıştır. ^{67}Ga 'nin ve işaretli lökositlerin hala kullanışlı (faydalı) ajanlar olmasına rağmen özellikle kronik, nonpiyojenik enflamasyonu hedefleyebilmek için yeni ajanların gelişmesine son yıllarda büyük ilgi vardır (34).

Yeni yaklaşım, bir bakteriye bağlanan radyoişaretli antibiyotiklerin kullanımıdır. Tc-99m siprofloksasin (infekton) diğer varolan ajanlarla ve radyolojik tekniklerle karşılaştırıldığında bakteriyel spesifik bir ajandır (11).

Yeni enfeksiyon görüntüleme ajanlarının gelişimi için aşağıdaki yol izlenebilir: Öncelikle potansiyel yeni bir radyofarmasötik laboratuvarında sentez, saflaştırma ve kalite kontrol aşamalarından geçmelidir. Daha sonra *in vitro* ve *in vivo* testler başlar. Eğer potansiyel izleyici *in vivo* olarak bazı hücre tiplerine bağlanmaya (lökositlere,

lenfositlere) uygun ise, hedef hücrelerle *in vitro* bağlanma çalışmaları ürünün potansiyel endikasyonunu verebilir (34).

Bundan sonraki aşamada yeni izleyici, basit ve kullanımı kolay enfekte hayvan modellerinde test edilir. *S. aureus* ya da *E.coli* kaynaklı yumuşak doku enfeksiyonu olan fare ve sıçanlar ilk incelemeler için iyi bir modeldir. Biyodağılım verileri, yeni izleyicinin görüntüleme potansiyelinin ilk izlenimini veren bir model olarak oluşturulur ve bilinen ajanlarla ilk karşılaştırma imkanı verir. Hedef organda tutulum (%ID/g), hedef organ/hedef dışı organ oranları, kan klirensi (hepatobilier/renal) klirensin primer yolu elde edilebilir. Daha sonraki aşama prelinik testler, tavşan veya köpek gibi hayvanlarda daha gelişmiş enfeksiyon modelleri içerir (34).

1.5 Radyoişaretli Antibiyotiklerle Enfeksiyonun Tayini

Eksternal olarak detekte edilebilen radyonüklitlerle işaretli antibiyotikler iki amaç için kullanılabilir. Bunlardan birincisi, bir izleyici olarak enfeksiyon alanının tayini için, ikincisi de antibiyotiklerin insanlarda doku dağılımlarını ölçmek içindir (40).

Tc^{99m}-Siprofloksasin (infecton): Florokinolon türevi bir antimikrobiyal ajan olan siprofloksasin, bölünen bütün bakterilerde bulunan DNA-giraz enzimine bağlanır. Florokinolonlar ölü bakterilere bağlanmazlar, Crohn's hastalığı gibi non-mikrobiyal enflamasyonlarda birikmezler. Bu nedenle ^{99m}Tc ile işaretli ajanlarla enfeksiyon ve steril enflamasyon arasındaki ayırımın yapılacağı ileri sürülmektedir. Birçok klinik çalışmada da bakteriyel enfeksiyonların tayininde yüksek hassasiyete sahip olduğu gösterilmiştir (34).

In vitro çalışmalar ve hayvan deneyleri Tc-99m işaretli siprofloksasin (infekton)'in hem gram (+), hem de gram (-) bakterilerin neden olduğu abse lezyonlarına bağlandığını ancak steril enflamasyonda ya da ölü bakteriyle oluşan lezyonlarda lokalize olmadığını göstermiştir (10).

Tc-99m işaretli siprofloksasin (infekton) bakteriyel enfeksiyonların lokalizasyonu ve miktarını kesin olarak teşhis edebilmektedir. Konuyla ilgili birçok araştırmacı, ajanın hazırlanma kolaylığını, görüntüleme kolaylığını ve yan etkilerinin olmadığını onaylamışlardır. Tc-99m işaretli siprofloksasin osteomyelit, septik artrit, protez enfeksiyonları, endokardit, derinde yerleşmiş apseler ve ektrapulmoner tuberküloz gibi enfeksiyonları teşhis edebilmektedir. Bu enfeksiyonların diğer metodlarla erken dönemde teşhis edilmesi güçtür ve doğru tedavinin başlamasını geciktirir, antimikrobiyal tedaviye ek olarak belki de apsenin boşaltılması gibi, cerrahi müdahaleyi gerektirebilir (11).

Tc-99m işaretli siprofloksasin dışında yeni bir radyofarmasötik Tc-99m-Sparfloksasin, enfeksiyon görüntülemek için geliştirilmiştir. Ayrıca Tc-99m Moksifloksasin, Tc-99m Seftizoksim, Tc-99m İzonyazid, Tc-99m Etambutol işaretli diğer antibakteriyel ajanlardandır ve değerlendirilmektedir (16,39).

Yukarıdaki bilgiler ışığında bazı antibiyotiklerin Tc-99m ile işaretlenmesine çalışılacaktır. İlk olarak belirlenen antibiyotikler, kimyasal yapıları nedeniyle, ampisilin sodyum, doksisiklin hiklat ve amoksisilin sodyumdur. Bu ajanların Tc-99m ile işaretleme verimleri İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ve kağıt elektroforezi yapılarak belirlenecektir. İşaretleme verimleri istenilen düzeyde çıkan ajanların *in vivo* biyodağılım çalışmalarına geçilecektir.

In vivo biyodağılım çalışmalarında, enflamasyonlu hayvan modelleri kullanılacaktır. Bu hayvan modellerinde bakteriyel enflamasyon oluşturulacaktır. Hazırlanan radyoişaretli formülasyonlar hayvan modeline uygulanacaktır. Biyodağılımları, gama kamera altında görüntü alınmasıyla elde edilecektir. Enfeksiyon/ enflamasyonlu dokulardaki ^{99m}Tc ile işaretli radyofarmasötüğün tutulum oranları tespit edilecektir. Bu sayede işaretli antibiyotik/antienflamatuvarların enfeksiyon/enflamasyon görüntüleme potansiyelleri araştırılacaktır.

1.6 Radyofarmasötikler (37)

Hastalara verilen maddeler ilaç veya farmasötik olarak tanımlanır. Ulusal Gıda İlaç Kozmetik Kanunun (FDC) 201/g bölümünde ilaçlar “insan veya hayvanlardaki hastalığın tanı, iyileştirme, hafifletme, tedavi veya önlenmesinde kullanılması amaçlanan maddeler” ve “insan veya hayvanların vücut yapısı veya fonksiyonlarını etkilemek üzere kullanılması amaçlanan (gıda maddeleri hariç) maddelerdir” şeklinde tanımlanır. Burada önemli olan, maddenin kendisinin değil, kullanımının onu ilaç yaptığıdır.

Radyofarmasötikler (RF) bir veya birden fazla radyoaktif atom taşıyan, tanı, tedavi ve palyasyon için kullanılan ilaçlardır. Tüm radyofarmasötikler ilaç kabul edilir ve ilaçlar için geçerli olan kurallar ve ayrıca Gıda ve İlaç kurulu (FDA) kuralları radyofarmasötikler için de geçerlidir. Radyoaktif oldukları için radyolojik sağlık komisyonu kontrolü altındadırlar. Fizyon ürünü olanlar Atom Enerjisi kurallarına tabidir ve keza Nükleer Düzenleme Komisyonu (NRC) tarafından da kontrol edilir.

Tüm radyofarmasötiklerin temel özelliği tracer (iz) miktarlarda verilidir. Verilen miktar, bir farmakolojik etkiye sahip olmayacak kadar azdır. Tanıda kullanıldığında kural, tracer dozunun ölçümü yapılan fizyolojik parametreyi bozmamasıdır. Tedavide kullanıldığında radyofarmasötik bir radyasyon kaynağıdır ve tedaviyi gerçekleştiren işaretli molekülün farmakolojik bir etkisi yoktur. Radyofarmasötikler bazen radyoaktif atomların (radyonüklit) bizzat kendisidir. Bu tür ilaçlarda biyodağılımı radyonüklit saptar, örneğin tiroid çalışmalarındaki I-131 ve I-123, ventilasyon görüntülerindeki Xe-133, Kripton-81m böyledir. Daha sık olarak radyofarmasötikler, sinyali oluşturan bir radyonüklitle biyodağılımı tayin eden bir ligandın bileşiminden oluşmuştur.

Radyofarmasötikler nükleer tıp görüntülerinin vazgeçilmezleridir ve bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans, ultrasonografi veya direkt filmlere oranla rezolüsyonu kötü olsa da nükleer tıp bir görüntüleme yöntemi olarak varlığını radyofarmasötiklere borçludur. Normal fizyoloji ve fizyopatolojideki farkın ortaya konması klinikte önemli olan fonksiyonel bir bakış açısı sağlar.

Radyofarmasötiklere ait tarihsel olarak önemli dönüm noktaları Tablo 2’de gösterilmektedir. Becquerel, Heversy ve diğer bilim adamlarının önemli çalışmaları yanında Siedlin’in tiroit kanserini I-131 ile başarılı tedavisi, radyoaktivitenin barışsal amaçlarla kullanımını göstermiş ve birdenbire popüler olarak radyofarmasötiklerle ilgili çalışmalar parasal destek alabilmiştir. Nükleer tıbbın hızla ilerlemesinden ne γ -kameraların ticari üretimi ne de Mo-99/Tc-99m jeneratörlerinin bulunuşu sorumludur, bu işi kalay iyonunu indirgenmesi yöntemini kullanan hazır kitler yapmıştır. Çünkü hazır kitler, Tc-99m’li radyofarmasötiklerin yaygın şekilde

kullanılmasına izin veren genel bir işaretleme tekniğini devreye sokmuş ve Nükleer Tıbbı yaratmıştır.

Tablo 2. Radyofarmasötiklerin ilk tarihi

Araştırmacı	Yıl	Olay
Becquerel	1896	Radyoaktivitenin keşfi
Hevesy	1923	İzleyici metodunu yerleştirdi
E.Lawrence	1931	Siklotronun keşfi
Joliet ve Curie	1934	Yapay radyoaktivitenin keşfi
Perrier ve Segre	1937	Teknesyum’um periyodik tabloda 43 numaraya yerleştirilmesi
J. Lawrence	1938	Lösemi tedavisinde P-32 nin kullanılması
Seaborg	1938	I-131’in keşfi
Hertz	1938	Tiroid uptake nin ölçülmesi (I-128)
Hamilton ve Soley	1939	İnsanlarda I-131’in kullanılması
Hertz ve Roberts	1941	Hipertiroidide I-131’in kullanımı
Fermi	1942	İlk nükleer reaksiyon
Manhattan Project	1946	Fisyon radyonüklitlerinin geçerliliği (I-131)
Siedlin	1946	Tiroid kanserinin I-131 ile tedavisi
Cassan ve Curtis	1949	İlk sintilasyon tarayıcısı
Richards	1957	Tc-99m jeneratörünün önemi
Anger	1958	İlk sintilasyon kamerası
Nuclear Chicago	1961	İlk ticari gama kamera
Med.Consult.Corp.	1965	İlk ticari Tc-99m jeneratörü
Stern ve arkadaşları	1966	Tiyosülfat yöntemiyle Tc-99m SC üretimi
Eckelman	1970	Sn ⁺² yöntemiyle DTPA üretimi (instant kit)
Subramanian	1971	Sn ⁺² kit ile polifosfonat
Lebowitz	1975	Kalp görüntüleme için Tl-201’in kullanımı

Tanımlamalar

Değişik tanımlamalar yapılabilirse de aşağıdakiler kelime anlamına en yakın olanlardır.

Nüklit: Belli sayıda nötron ve protonu olan atom.

İzotop: Aynı sayıda proton, farklı sayıda nötron taşıyan nüklit.

Radyoaktivite: Her radyonüklit için kendine özgü partikül veya elektromanyetik radyasyon (γ veya X ışını) yayma olayı.

Radyonüklit: Radyoaktif nüklit.

Radyoizotop: Aynı sayıda proton taşıyan radyonüklit (Örn, I-123, I-125, I-131).

Radyofarmasötik: Tıbbi amaçla hastaya verilen madde (ilaç).

Tracer (iz) : Herhangi bir etkiye sebep olmaksızın biyolojik yollardan geçerken izlenebilen çok az miktardaki madde.

Radyotracer: Radyoaktif tracer.

Spesifik aktivite: Bir nüklidin birim kütlesinin radyoaktivitesi

Spesifik konsantrasyon: Birim ağırlık veya volümdeki radyoaktivite.

1.6.1 İdeal Radyofarmasötik

Nükleer tıpta uygun radyofarmasötüğün seçimi çok önemlidir. Tanısal çalışmaların amacı, biyolojik etkisi en az olan izlenebilir fotonu tercih etmek olduğundan ideal tanısal radyofarmasötiklerin özellikleri sitotoksik etkiye sahip olması istenen terapötik radyofarmasötiklerin özelliklerinden çok farklıdır. Her iki durumda da bazı ortak özellikler vardır; bunlar patolojik dokuda yüksek bir

hedef/zemin (artalan) oranı elde etmek ve normal organlardaki radyasyon etkisini en az tutmaktır. Sonuçta tanısal radyofarmasötiklerde istenen özelliklerin birçoğu tedavide kullanılan radyofarmasötikler için de söylenebilir.

1.6.2 Tanısal Radyofarmasötikler

Tanısal radyofarmasötiklerin seçiminde gözönünde bulundurulan kriterler şunlardır; nükleer özellikler, biyolojik özellikler, kimyasal özellikler, ekonomi ve düzenleme durumları.

1.6.2.1 Nükleer (fiziksel) özellikler:

Radyonüklidin Tablo 3’te verilen dört fiziksel özelliği incelenmelidir.

- 1) Fiziksel yarı ömür
- 2) Bozunma türü
- 3) Yayılan foton enerjisi
- 4) Elde edilebilirliği

1) Yarı Ömür:

Bir radyonüklidin yarı ömrü senteze, uygulamaya, biyolojik lokalizasyona ve radyofarmasötiğin artalan doku klirensine izin verecek uzunlukta olmalıdır. Eğer radyonüklit çok uzun ömürlü ise vücut gereksiz yere radyasyona maruz kalır. Altın

kural, fiziksel yarı ömrün radyofarmasötiğin hazırlanması, uygulanması ve görüntülenmenin tamamlanması için geçen zamana eşit olmasıdır.

Tablo 3. Fiziksel özellikleri ve üretim metotları ile birlikte genel radyonüklitler

Radyonüklit	Fiziksel yarı ömür	Bozunma Türü	Enerjisi (keV)	Abundance (%)	Üretim metodu
O-15	2 dakika	β^-	511	% 200	Siklotron
N-13	10 dakika	β^-	511	% 200	Siklotron
C-11	20 dakika	β^-	511	% 200	Siklotron
F-18	110 dakika	β^-	511	% 194	Siklotron
Tc-99m	6.02 saat	IT	140	% 89	Jeneratör
I-123	13.2 saat	EC	159	% 100	Siklotron
Mo-99	66 saat	β^-	740	% 14	Reaktör
In-111	67 saat	EC	173, 247	% 184	Siklotron
Tl-201	73 saat	EC	69-81	% 93	Siklotron
Ga-67	78 saat	EC	90,190,298	% 82	Siklotron
Xe-133	5.3 gün	β^-	83	% 37	Reaktör
I-131	8.05 gün	β^-	361	% 81	Reaktör

Radyofarmasötiğin biyolojik tutulumunun ve klirensinin önemli değişkenler olduğu unutulmamalıdır. Eğer radyofarmasötiğin biyolojik tutulumu ve klirensi akciğer ventilasyon çalışmalarındaki gibi çok hızlı ise, radyonüklidin fiziksel yarı ömrü dozimetrenin görüş noktasından birbirini tutmaz. Efektif yarı ömür hem fizyolojik hem de fiziksel yarı ömrün etkilerini içerir.

Efektif yarı ömür daima fiziksel ve fizyolojik yarı ömürden daha kısadır.

$$T_{\text{eff}} = \frac{T_p \cdot T_b}{T_p + T_b}$$

T_{eff} : Efektif yarıömür

T_p : Fiziksel yarıömür

T_b : Biyolojik yarıömür

Metabolik durum atılım yolunu içerir ve biyolojik yarı ömrü belirlemeye yardım eder. Renal atılım yolu, mesanenin neden kritik organ olduğunu açıkladığı için önemlidir. Radyofarmasötikler kritik organ olarak bağırsakları içeren gastrointestinal yol ile atılır. Uzun yarıömürlü radyofarmasötikler bağırsaklardan atılır ve sıklıkla uzatılmış kalış süresi nedeniyle kalın bağırsaklar yüksek doza sahiptir (Örneğin Ga-67 sitrat genellikle renal yoldan atılmasına rağmen kalın barsak kritik organdır).

2) Bozunma Türü:

Görüntüleme işlemleri, bir görüntü oluşturmak için bir elektromanyetik foton (gama ışını, x ışını) gerektirir. Fotonun yüksek oranda (abundance) yayılması ve monoenerjitik olması istenir. Beta ya da alfa ışınları gibi ayrı partiküllerden oluşmuş radyasyonlar detekte edilmez. Bu radyasyonlar her bir birim uzunluğa yüksek yoğunlukta iyonlar üretmelidir ve bundan dolayı önemli oranda doku hasarına neden olur, bununla beraber bunlar dokudan 1-2 cm'den fazla penetre olamaz. Diyagnostik kullanım için saf bir gama yayıcı istenir ama elektromanyetik radyasyon bozunma modunun olmadığı kabul edilmelidir. İzomerik geçiş (IT, örneğin, Tc-99m, Kr-81m) ile ya da elektron yakalama (EC, örneğin Tl-201, Ga-67, In-111, I-123) ile bozunan radyonüklitler en kullanışlıdır ve diyagnostiktir. İzomerik geçiş ile ilgilendiğimiz enerji aralığı için daima bazı dönüşüm ürünleri ve auger elektronları vardır. Elektron yakalama ile daima auger elektronları ve bazı dönüşüm elektronları vardır. Bu sekonder elektronlar beta partikülleri gibi yüksek oranda iyonizedir. Bununla beraber

bu bozunma türlerinden birisiyle bozunan bir radyonüklit kullanıldığı zaman maruz kalınan radyasyon oranı kabul edilebilir olmalıdır.

Pozitron bozunması istisnadır, PET (pozitron emisyon tomografi) teknolojisinin temelidir. PET’de bir parçacık (pozitron) yayılır ve bir elektronla etkileşir ve 511 keV’lik bir çift anihilasyon fotonu oluşur. Bu durumda ideal pozitron radyonüklidi sadece pozitron yayar ve elektromanyetik fotonlar yaymaz.

3) Foton Enerjisi:

Nükleer tıptaki önemli olaylardan birisi rezolüsyon ve hassasiyet arasındaki dengedir. Bu durum gama kamera sistem kristallerini, kolimatörleri ve elektronikleri dizayn edilirken başlıca bir kaygı konusudur çünkü dizayn önemli oranda foton enerjisine bağlıdır. Enerji çok fazla azaltılmadan vücuttan çıkmasına yetecek kadar yüksek olmalıdır aynı zamanda kamera kristalinde bir fotoelektrik etkileşmeye uğrayacak kadar da düşük olmalıdır. Gama kamera elektronikleri konvansiyonel olarak radyasyonu 60-400 keV aralığında ölçecek şekilde kurulur ama bu aralığın PET için 511 keV’lik anihilasyon fotonlarının deteksiyonuna izin verecek şekilde genişletilmesi gerekir. Kristalin kalınlaştırılması etkileşme olasılığını artırır ama rezolüsyonu düşürür. Yüksek enerjili fotonlarla fotoelektrik pik ve daha iyi rezolüsyon sağlayan Compton olayı arasında çok ayırım vardır ama yüksek enerji fotonunun kristalin içinden doğruca geçmesi muhtemeldir böylece düşük hassasiyet verir (tablo 22-3). Yüksek enerji fotonları kalın duvarlı kolimatörleri gerektirir ki bunlar uzaktaki hassasiyeti düşürür. Anger kameraları ile rezolüsyon ve sensitivite arasındaki optimum bir denge için radyofarmasötüğün emisyon enerjisi 100-200 keV

arasında olmalıdır. Bu durumda ideal radyonüklitler Tc-99m (140 keV) ve I-123 (159keV)'dir.

Aynı günde birden fazla çalışma gerektiğinde (örneğin akciğer ventilasyon ve perfüzyon çalışmaları ya da stres ve dinlenmiş miyokard perfüzyon çalışmaları) iki yaklaşım mümkündür. Eğer farklı foton enerjilerine sahip radyonüklitlerin bir karışımı varsa, düşük enerjili radyofarmasötiği ilk önce kullanmak en iyisidir. Eğer ventilasyon çalışmaları için Xe-133 (80 keV) kullanılıyorsa, ventilasyon scan i, Tc-99m (140 keV) makroagregat albümin (MAA) perfüzyon imajından önce yapılmalıdır. Bu problemlidir çünkü bir ventilasyon imajı, inert gazın tek bir dozu ile elde edilebilmektedir ve bu hangi uygulamanın perfüzyon defektini göstermekte en iyisi olduğunu göstermede yardımcı olur. Tc^{99m} pentetat aerosolu ventilasyon çalışmaları için kullanılan en popüler radyofarmasötiktir çünkü kolayca hazırlanır ve makul fiyatlıdır, birden çok görüntü verir ve Tc^{99m}'in tüm doğal avantajlarını taşır (örn; fiziksel yarı ömrü, enerjisi, bozunma türü). Çünkü Tc^{99m}-MAA olarak aynı enerjiye sahip olduğu için, aşağı yukarı 0.5 mCi nin total dozunda perfüzyon imajından önce verilir. Tc^{99m}-MAA pentetat aktivisinin flood out için 4 mCi dozunda verilir.

4) Elde Edilebilirliği:

İdeal bir radyofarmasötiğin önemli özelliklerden birisi elde edilebilirliğidir. Eğer elde edilebilir değilse, diğer açılardan nasıl ideal olduğunun önemi yoktur, yaygın bir kullanımı olmayacaktır. En çok kolayca elde edilebilir Tc99m dışındaki radyonüklitler, beta bozunması gösterir ama diyagnostik kullanım için partiküle

olmayan radyasyon daha iyidir ve elektron yakalama (EC) ile oluşur. EC radyonüklitleri çekirdeklerinde nötronlardan çok proton fazlalığıyla karakterizedir. Bunlar tipik olarak bir proton hızlandırıcısından, genellikle siklotrona bombardımanla üretilir.

En kolay elde edilebilen radyonüklit Tc^{99m} 'dir. Çünkü bir Mo^{99} / Tc^{99m} jeneratöründen elüe edilir. Bu jeneratör bir iyon-değişimi kolonundan farklı değildir. Jeneratörden kız Tc^{99m} , anne molibden'den ayrılır. Anne Mo^{99} β ile bozunur, yarı ömrü 66 saattir, kısa yarıömürlü (6 saat) kız Tc^{99m} ile sonuçlanır. Yeni bir jeneratör haftada bir alınır ve bir haftada ihtiyaç duyulan tüm Tc^{99m} 'i sağlar, günde 24 saat elde edilebilir. Bu elde edilebilirlik, ideal yarı ömür, bozunma şekli ve γ enerjisiyle Tc^{99m} , radyofarmasötik üretimi için verimli bir radyonüklittir.

1.6.2.2 Biyolojik Özellikler:

Radyonüklidin nükleer özellikleri görüntüleme ve sayımla deteksiyon için bir radyofarmasötiğin kullanışlılığını tayin eder ama radyofarmasötiğin biyolojik özellikleri radyofarmasötiğin lokalizasyonu ve uygulamadan sonraki durumunu belirler. Bazı radyofarmasötikler radyonüklidin kendi elementel veya iyonik durumu nedeniyle lokalize olur. Klinik olarak en çok kullanılan radyofarmasötikler lokalizasyon mekanizmaları nedeniyle alınır. İdeal radyofarmasötik aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır.

- Hızlı lokalize olmalı ve ilgili bölgede selektif olarak lokalize olmalıdır.
- Patolojik durumlarda dokuda normal dokuya göre daha fazla lokalize olmalıdır.

- Metabolik olarak inert olmalıdır.
- Background (BG) dokulardan hızla temizlenmelidir.
- Çalışma tamamlandıktan sonra hızla atılmalıdır.

İdeal radyofarmasötik farmakolojik olarak da inert olmalıdır, sistemi altüst etmemelidir, yan etkisi olmamalıdır, hasta hazırlama süresi kısa olmalıdır birkaç ilaç etkileşimine sahiptir.

1.6.2.3 Lokalizasyon Mekanizmaları:

Gerçek lokalizasyon mekanizması kimyasal, fiziksel, reseptör ve fizyolojik özellikleri içeren spesifik ve non-spesifik işlemleri kapsar (Tablo 4).

Tc^{99m} gibi radyofarmasötikler, çok küçük ligand değişiklikleriyle oluşan biyodağılıma sahiptir, örneğin 3 FDA onaylı hepatobilier sistem ajanı küçük yapısal değişikliklere göre farklı renal atılım gösterir (%15, %9 ve %1). Farmakologlar radyoaktif izleyicileri kullanarak spesifik fizyolojik reseptörlerin yerlerini bulmuşlardır. Diyagnostik kullanım için reseptöre spesifik ilaçları görüntüleme radyonüklitleri ile işaretlemek küçük bir ilerlemeydi. İlk FDA onaylı reseptör-spesifik radyofarmasötik In-111 pentetreotid'dir, 1994 yılında onay almıştır.

Tablo 4. Radyofarmasötiklerin Lokalizasyon mekanizması.

Fonksiyonel	Mekanik
Pasif transfer (basit difüzyon) - Kan beyin engeli için $Tc^{99m}TcO_4^-$ - Glomerular filtrasyon için $Tc^{99m}DTPA$ Aktif transport ya da uptake -Tiroitde I-123 ve karaciğerde Tc^{99m} -IDA Metabolik tuzak -F-18 FDG tarama Reseptörlere bağlanma -In-111 pentetreotid Antikor bağlama - Tc^{99m} arcitumomab - In-111 satumomab pendetide	Kapiller blokaj -Akciğer perfüzyon sintigrafisinde $Tc^{99m}MAA$ Fagositoz - Karaciğer dalak scan için $Tc^{99m}SC$ Sekestrasyon - Dalak için ısıyla denatüre edilen Tc^{99m} -RBC Kompartımanlı lokalizasyon - In ¹¹¹ -DTPA CSF akımı için - Kardiyak fonksiyon çalışmaları için Tc^{99m} -RBC - Ventilasyon çalışmaları için Xe-133 Anormal ekstrasvazasyon - Tc^{99m} IDA ile safra sızıntısı - GI kanamada Tc^{99m} RBC.

Bu ajan birçok nöroendokrin tümör tarafından tarif edilen somatostatin reseptörlerine bağlanır. Bu tip tümörler için terapötik olarak kullanılan işaretli olmayan analog oktreotid'dir. In-111 pentetreotisin onayını feokromositomas ve nöroblastoma da bir norepinefrin analogları olarak kullanılması için I-131 iobenguene (metaiyodobenzilguanidin MIBG) in onayı takip etmiştir.

Birçok diğer reseptöre spesifik radyofarmasötikler dopamin reseptörleri, serotonin reseptörleri, östrojen reseptörleri, progesteron reseptörleri ve benzodiazepin reseptörleridir ve klinik araştırma amacıyla sentezlenmişlerdir. Bunlar sıklıkla bir pozitron yayıcıyla işaretlenmiştir (F-18, C-11 ya da N-13) ama I-123 gibi tek foton yayan radyonüklitler de kullanılır. Bu teknolojinin diyagnostik potansiyeli sınırsızdır.

1.6.2.4 Uygulama Yolu:

Absorbsiyon ve uygulama yolu genellikle radyofarmasötiklerin lokalizasyon karakteristikleri ile tayin edilir. Akciğer ventilasyonu bir aerosol ya da gazın inhalasyonu ile çalışılabilir, oysaki pulmoner perfüzyon işaretli bileşiğin i.v. enjeksiyonu ile çalışılır. Radyofarmasötiklerin birçoğu i.v. olarak uygulanır. Uygulama yolunun seçimi için farklı biyodağılım ve kinetikler elde edilmelidir; i.v. olarak verilen Tc^{99m} -SC RES'de konsantre olur, subkutan olarak uygulanırsa lenfatikler tarafından temizlenir ve oral olarak uygulandığında GI yola hapsolür.

1.6.2.5 Hedef Uptake (Tutulum):

İyi bir hedef tutulumuyla ajanın superior görüntüleme ajanı olup olmadığı kendiliğinden belli olur. Tutulum oranı ve buna bağlı olarak görüntüleme süresi de önemlidir. Genel olarak hastanın rahatlığı için erken imajların alınması tercih edilir, örneğin; tiroid imajı için I-123 NaI yerine Tc^{99m} -perteknetatın kullanılması. Tiroid, TcO_4^- ile 20. dakikada görüntülenir ancak I-123 ile 4-6 saat arasında görüntülenebilir.

1.6.2.6 İzleyicinin Atılımı:

Radyofarmasötik tutulumunun hızı ve uzunluğu gibi atılım hızı da önemlidir. Organ görüntülemede hedef organdan daha az tutulumu olan BG dokularda daha iyidir ve BG düzeyi hedef/hedef olmayan oranı ve kinetiklerini belirler.

Radyofarmasötiğin yüksek oranda lokalize olması için kan ve BG dokulardan temizlenmelidir. Bu genellikle küçük lezyonlar için doğrudur. Renal klirensin hızı sıklıkla plazmada protein bağlanma miktarının bir fonksiyonudur çünkü sadece bağlanmamış ilaç glomerüler filtrasyonla atılır. Diğer major atılım yolu GI yol ve hepatobilier yoldur.

Birçok diyagnostik uygulamanın amacı patolojik bir dokunun görüntüsünü sağlamaktır. Bazı uygulamalarda amaç sadece bir organı (bir prob ile) ya da kan veya idrar numunesini (iyi bir sayıcıda) sayarak aktivite miktarını bulmaktır. Radyofarmasötiklerin istenilen özellikleri aşağıdadır:

- Mevcut cihazlarla kolayca detekte edilebilmeli ve sayılabilmeli
- İlgili dokuda lokalize olmalı ve diğerlerinden temizlenmeli
- Uygun fiziksel ve biyolojik yarı ömrü olmalı
- Hazırlama ve *in vivo* sırasında kimyasal olarak stabil olmalı
- Düzenleme kurulu tarafından onaylı olmalı.
- Ucuz olarak elde edilebilmeli.

1.6.2.7 Kimyasal Özellikler:

Nükleer kriterler favori olan kısa yarı ömürlü radyonüklidlere yöneldiği için ürünün inhouse ya da ticari nükleer eczane sentezini gerekli kılmıştır. Bu sentez yolu Tc^{99m} 'e bağlı uygun radyofarmasötikler için rutin hale gelmiştir, genellikle ticari hazır kitlerdir. Bunlar ayrıca; In-111 işaretli monoklonal antikör (MoAbs), işaretli kan elementleri, pozitron radyofarmasötikleri ve yeni In-111 pentetrotid somatostatin reseptör ajanları gibi diğer ürünlerle lokal olarak birleştirmek için gereklidir. Bazı

durumlarda In-111 pentetat, I-131 iyodür ya da Tl-201 klorür gibi ürünler kimyasal olarak stabildir ve fiziksel yarı ömrü, sentezi ve gerekli kalite kontrolleri üretici tarafından yapılmasına yetecek uzunluktadır. Bu hastanede kullanımı kolaylaştırır.

1) Hazırlama Kolaylığı ve Elde Edilebilirliği:

Daha önce de belirtildiği gibi, radyofarmasötiğin kolay elde edilebilir olması klinikte, pratikte üstünlük sağlar.

2) Stabilité ve Miyad:

En iyi Tc^{99m} kit formülasyonları, hazırlamadan en az 6 saat sonra stabil olan ürünlerdir ve bazıları 24 saat stabildir. Hazırlamada sentez ve kalite kontrol yapmak için belli bir emek harcanmalıdır, tüm gün kullanılabilecek bir ürün elde etmek avantajlıdır. Eğer birden fazla doz günün farklı saatlerinde kullanılıyorsa stabilize kemik tarama (medronat) kitleri, nonstabil kitlere tercih edilir.

En kötü radyofarmasötik stabil olmayandır ve kullanım süresi 30 dakika ya da daha azdır. Amersham/Medi-Physics stabilize DMSA ve HMPAO kit formülasyonları için birçok kaynak yaratmışlardır ve FDA onayı almışlardır.

3) Formülasyon:

Aynı kimyasal ürünün farklı formülasyonları önemli bir etkiye sebep olabilir. MDP' deki stabilizer olan askorbik asit bir antioksidandır ve Tc^{99m} reoksidasyonunu

önler. Askorbik asitin yokluğunda, hazırlamadan 4 saat sonra perteknetat düzeyleri midede tutulmasına izin verecek yükseklikte olur, böylece görüntü kötüleşir. Stabilize formülasyonun kullanımıyla, birçok doz 12-24 saatde bir vialden elde edilebilir. Bu formülasyon doz başına maliyeti düşürür ve yüksek kontrast imajı oluşturur. HMPAO'nun yeni stabilize formülasyonu bir tampon ve metilen mavisi antioksidanını içerir. Sonuç olarak HMPAO 30 mCi yerine 50 mCi Tc^{99m} ile işaretlenebilir ve 5 saat stabil kalır (30 dakika yerine).

1.6.3 Terapötik Radyofarmasötikler

Terapötik radyofarmasötiklerin kullanımı 1911'e kadar gider, o tarihte Ra-226 lupusu tedavi etmek için etkisiz bir şekilde kullanılmıştı. 1939'larda P-32 fosfat lösemi tedavisinde kullanılmıştır, bu yapay olarak üretilen bir radyonüklidin ilk medikal kullanımıdır. 1942'de Sr-89 prostat kanserinde metastatik kemik lezyonlarını tedavi etmek için kullanılmıştır. Aynı yıl I-131 üretildi ve tiroid kanserinde etkili bir şekilde kullanıldı. Gelecek, terapötik MoAB ler için parlaktır ve terapötik MoAB'lar ileri B-hücre non-Hodgkin's lenfomada diğer tedaviler başarısız olduğunda etkili olacaktır.

Radyofarmasötiklerle tedavinin, diğer kemoterapi ve eksternal maruz kalmaya göre önemli avantajları vardır.

- Radyofarmasötiklerin carrier-free (taşıyıcısız) olması farmakolojik etki olmaksızın terapötik etki göstermesini sağlar. Bu yan etkileri minimuma düşürür ve çok düşük konsantrasyonlu reseptörlerin hedeflenmesine izin verir.

- Radyofarmasötikle tedavi, nükleit hücrelere bağlı olmasa bile komşu malign hücreleri de letal radyasyona maruz bırakır. Halbuki kemoterapide ilaç molekülü letal dozda hücre tarafından alınmak zorundadır.

- Radyofarmasötikle tedavi seçicidir, yüksek bir hedef/hedef olamayan oranına erişebilir. Eksternal ışınlar buradaki tüm dokuları irradie eder ve kemoterapi tüm hızlı çoğalan hücre popülasyonunu etkiler. Sr-89 ile metastatik kemik uptake oranının normal kemik uptake'ine oranı 36:1 kat fazla olduğu kayıtlıdır.

- Farklı enerji emisyonları olan radyonükleitlerin kullanımıyla dokudaki oran seçilebilir. Geniş tümörler için, daha geniş aralık gereklidir, oysa lösemi gibi kan sistemine ait malignitelerde kısa bir aralık gereklidir. Eğer bir nükleit çekirdek içinde intarsellüler olarak lokalize oluyorsa, çok küçük bir aralıkta auger elektronu yayılır, örneğin, I-125, 10 nm aralığıyla kullanılmalıdır.

Bu avantajlarının sonucu olarak terapötik radyofarmasötiklerde önemli oranda çaba sarfedilmektedir ve bu gelecekte ümit verici bir alandır.

1.6.3.1 Nükleer Özellikler:

İstenilen etki, görüntülemeyen çok hedef dokuda letal olması nedeniyle, tanısal amaçla kullanılan radyofarmasötiklerden farklıdır özellikle de nükleer özellikler nedeniyle.

1. Yarı-Ömür:

Kısa bir yarı ömür, yüksek bir doz oranı demektir ve sonuçta daha büyük bir biyolojik etkidir. Diğer taraftan uzun bir yarı ömür büyük doz fraksiyonu ve uzun zaman almaktadır ve radyofarmasötik tümör hücrelerinden temizlenmekte ve metabolize olmaktadır. Yarı ömür hasta hücrelerde lokalize olacak kadar ve normal hücrelerden temizlemeye yetecek kadar olmalıdır. Uzun yarı ömürlü radyofarmasötiklerde atıklar problem olur.

Yarı ömür radyofarmasötiğin sentezine, hazırlanmasına ve hastaya verilmesine izin verecek uzunlukta, hastalarda hazırlama ve lokalizasyonu kolaylaştırmak için en az 12 saat olmalıdır. Radyonüklitlerin yarıömürü 4-5 gün arasında ise radyofarmasötiğin uygun bir doz için $>33\text{mCi}$ uygulanması gerekir ve bu da hastanın hastanede yatmasını gerektirir.

2. Bozunma Türü:

Yüksek lineer enerji transferi olan radyasyon maksimum maruz kalma ve doku hasarı için istenir. Tarihte beta yayıcılar kullanılmıştır (tüm onaylı terapötik radyofarmasötikler I-131, P-32, Sr-89 beta yayıcıdır) ancak alfa yayıcılar ve auger elektron yayıcılar (EC dikey mod) da potansiyele sahiptir ve araştırılmıştır. Optimal dikey mod, özel bir uygulama gerektiren dokuya bağlıdır. Beta partikülü milimetrelerde tutulur, alfa partikülleri mikrometrelerde tutulur ve auger elektronları nm lerde tutulur. Alfa parikülleri ve auger elektronlarının bir avantajı beta partiküllerinin aksine monoenerjitik oluşlarıdır ve sürekli enerji spektrumu karakteristik maksimum enerjiye sahip (E_{max}) olmalıdır.

3. Enerji ve Aralık:

Optimal partikül aralığı, tümör büyüklüğüne bağlıdır, büyük (geniş) tümörler daha büyük aralık gerektirir. Optimal aralığı sağlayan enerjiye sahip partikül yayan bir radyonüklit seçilir. Beta partikülleri için, ortalama enerji yaklaşık $E_{\max}$ 'ın üçte biridir.

4. Gama Enerji ve Verim:

Radyofarmasötüğün lokalizasyonunu *in vivo* olarak gösterebilmek, bir gama kamera ve hastaya spesifik dozimetreyi hesaplamayı mümkün kılmak için gama ışınının görüntülenebilir bir enerjiye sahip olması istenir. Ayrıca doz kalibratör ölçümleri eğer bir gama emisyonu varsa daha kolay ve hatasız olur. Gama ışınının yokluğunda doz kalibratörü breemstrahlung radyasyonunu ölçer ki bu radyofarmasötüğün bulunduğu kaba, dedektör yapısına ve materyalin geometrisine bağlıdır. Optimal radyonüklit 150 KeV lik bir gama ışınına yaklaşık %10 verimle sahiptir.

5. Stabil ya da Uzun Yarı Ömürlü Daughter (kız)

Dikeyden ve sonraki biyolojik klirensden sonra normal dokunun maruz kaldığı radyasyonu minimuma indirmek için eğer radyonüklidin bir önceki hali stabil ya da uzun bir yarı ömre sahipse en iyisidir.

1.6.3.2 Biyolojik Özellikler:

İdeal terapötik radyofarmasötiğin hedef dokuda tercihli olarak tutulması beklenir. Uzun kalış süresi daha yüksek doz verir. Kısa sürede normal dokularda minimum maruz kalma önemlidir. Eğer normal dokularda lokalize oluyorsa tutulum minimum olmalı ve kısa sürede temizlenmelidir. I-131 iyodür, tiroid dokusunda oldukça etkili tutulum mekanizması nedeniyle tiroid tedavisi için çok etkilidir. Aşırı iyot, glomerular filtrasyon ile çabukça uzaklaştırılır, minimal normal doku uptake'i ile sonuçlanır. İyodun konsantre olduğu tiroid tümörlerinde başarılı olmaktadır.

1. Metabolizma ve Atılım:

İdeal olarak, radyofarmasötik metabolize olmamalıdır. Daha hızlı bir metabolizma organların radyasyona maruz kalmasını azaltır ve eğer hızlı eliminasyon ya da hızlı hedef tutulumuna katkısı olursa faydalı olabilir. Genel bir kural olarak, renal atılım hızlıdır ve eğer mevcutsa kan seviyelerini ve tüm vücut ve kemik iliğinin radyasyona maruz kalmasını azaltır. Karaciğer-safra salgısı ile atılım daha yavaştır ve yüksek GI tüm vücudun radyasyona maruz kalmasına neden olur. GI atılımla kan içinde reabsorbsiyon için bir potansiyel olsa da kan klirensini geciktirir ve tüm vücut maruz kalır. Karaciğer radyofarmasötiğin metabolizmasını içeren bir organdır. Terapötik MoAB ajanlarının problemlerinden birisi karaciğer metabolizmasındaki dozla sınırlı hepatik maruziyete neden olur.

Radyofarmasötiklerin terapötik kullanımının zengin bir tarihi olmasına rağmen, biz buzdağının sadece ucunu görmekteyiz. Birçok potansiyel uygulama araştırılmaktadır ve bu nükleer tıbbın gelişiminde bir alan açacaktır. Tedavinin optimal karışımını tanımlayabilmek için klinik araştırmaya ihtiyaç vardır. Örneğin, değişik oranlarda farklı kemik ajanlarının kokteyli mümkündür ve bu tek bir terapötik ajandan daha etkilidir. Şimdiye kadar diğer tedavilerle sonuç alınamayan terminal hastalarda radyofarmasötiklerle birçok araştırma yapılmıştır. Radyofarmasötikle tedavi büyük tümör kitlelerinden çok, küçük mikrometastazların öldürülmesinde çok etkilidir.

1.7 Radyoişaretleme

1.7.1 İşaretleme Metodları (36)

İşaretli bileşiklerin hazırlanmasında klinik kullanım için başlıca altı büyük teknik vardır. Bunlar Tablo 5’te gösterilmiştir.

Tablo 5. Genel işaretleme metodları

METODLAR	ÖRNEKLER
İzotop Değişimi	^{125}I işaretli T3 ve T4
Yabancı bir işaretleyicinin girişi	Tüm $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - Radyofarmasötikleri ^{125}I işaretli proteinler ^{125}I işaretli hormonlar ^{111}In -işaretli hücreler

	^{111}In -bleomisin	
Bifonksiyonel şelatlar ile işaretleme	^{111}In -DTPA-albumin	
	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA-antikör	
Biyosentez ve kimyasal sentez	^{75}Se -selenometiyonin	
	^{57}Co -siyanokobalamin	
	^{14}C -işaretli bileşikler	
Geri tepme (Recoil) işaretleme	^3H -işaretli bileşikler	
	İyotlanmış bileşikler	
Eksitasyon ile işaretleme	^{123}I -işaretli bileşikler	(^{123}Xe 'dan bozunma)
	^{77}Br -işaretli bileşikler	(^{77}Kr 'dan bozunma)

1.7.1.1 İzotopla Yerdeğiştirme Reaksiyonları

Bu reaksiyonlarda bir moleküldeki bir veya birden fazla atom, aynı elementin farklı kütle numaralarına sahip izotopları ile yerdeğiştirir. ^{125}I -işaretli triyodotironin (T3), ^{125}I -işaretli tiroksin (T4) ve ^{14}C , ^{32}S ve ^3H -işaretli bileşikler örnektir. Bu işaretleme reaksiyonları geri dönüşümlüdür ve trityum ile birçok bileşiğin işaretlenmesinde ve iyot radyoizotopları ile iyot içeren materyalin işaretlenmesinde çok kullanışlıdır.

1.7.1.2 Yabancı İşaretin Girişi

Bu tip işaretlemede bir radyonüklit, biyolojik rolü bilinen bir molekülle kovalent bağların oluşması veya kovalent bağların düzenlenmesi ile bağlanır. Takılan radyonüklit moleküle yabancıdır. ^{99m}Tc ile işaretli albumin, ^{99m}Tc -DTPA, ^{51}Cr -işaretli kırmızı kan hücreleri ve birçok iyotlanmış protein ve enzim örnektir. Çeşitli örneklerde, materyalin *in vivo* stabilitesi kararsızdır ve işaretli bileşiğin kimyasal ve biyolojik özelliklerinde bir değişiklik olabilir. Bazı örneklerde kimyasal olarak radyonüklit analogu molekülde mevcut bir atomun yerine geçebilir. Örnek olarak ^{75}Se , ^{75}Se -selenometiyonin olarak, metiyonin içindeki sülfürün yerine geçebilir. Bu grubun birçok bileşiğinde kimyasal bağ şelasyonla olur. Örneğin genellikle bir geçiş metali olan yabancı aseptör atoma elektronlarının bir kısmını verir. ^{99m}Tc , DTPA'ya şelasyonla bağlanır.

1.7.1.3 Bifonksiyonel Şelatlar İle İşaretleme

EDTA (Etilendiamintetraasetik asit), DTPA (dietilentriaminpentaasetik asit) ve desferoksamin, çeşitli proteinlerin işaretlenmesinde başarıyla kullanılmıştır. Bu metotta, proteinler bifonksiyonel şelat ile kompleks oluşturur daha sonra uygun bir radyonüklid ile şelasyon yaparak işaretlenir. ^{111}In işaretli DTPA-albumin, ^{67}Ga işaretli desferoksamin-albumin ve ^{99m}Tc işaretli DTPA-antikor bazı örneklerdir. Şelat bulunuşu nedeniyle, işaretli proteinin biyolojik özellikleri değişebilir ve klinik kullanımdan önce miktarı belirlenmelidir.

1.7.1.4 Biyosentez ve Kimyasal Sentez

Biyosentezde yaşayan bir organizma radyoaktif izleyici (tracer) içeren bir kültür ortamında büyür; izleyici, organizmanın metabolik işlemleri ile metabolitleri içine alır daha sonra kimyasal olarak ayrılır. Örneğin Vit B₁₂, *Streptomyces Griseus*'un ürettiği bir kültür ortamına izleyici ilave edilerek ⁶⁰Co veya ⁵⁷Co ile işaretlenir. ¹⁴C işaretli karbonhidratlar, proteinler ve yağlar L-⁷⁵Se-selenometiyonin biyosentezi diğer örneklerdir.

1.7.1.5 Geri Tepme (Recoil) İşaretleme

Çok fazla kullanılan bir yöntem değildir. Nükleer bir reaksiyonda partiküller çekirdekten saçıldığında recoil atom veya iyonlar oluşur ki bunlar hedef materyalde mevcut diğer moleküllerde bir bağ yaparlar. Yüksek enerjili recoil atomları zayıf verimlidir ve bu yüzden işaretli bileşiğin spesifik aktivitesi düşüktür. Pek çok trityumlanmış bileşik reaktörde ⁶Li (n,α) ³H reaksiyonu ile hazırlanabilir. İşaretlenecek bileşik lityum tuzuyla karıştırılır ve reaktörde ısıtılır. Yukarıdaki reaksiyonla üretilen trityum daha sonra bileşiği işaretler ki bu da esas olarak izotop değişimi mekanizması ile oluştuktan sonra işaretli bileşik ayrılır.

1.7.1.6 Eksitasyon İle İşaretleme

Nükleer bozunma sırasında oluşan yüksek derecede reaktif daughter'lara (kız) ihtiyaç vardır. Beta bozunma veya elektron yakalanması esnasında enerji yüklü

iyonlar oluşur ki bunlar değişik bileşikler işaretlemeye yeteneklidir. ^{77}Kr , ^{77}Br 'a bozunur ve eğer işaretlenecek bileşik ^{77}Kr 'a maruz kalırsa enerjik ^{77}Br iyonları bileşi işaretler ve bromlanmış bileşik haline getirir. Benzer şekilde değişik proteinler ^{123}Xe 'a maruz bırakılır bu da ^{123}I 'e bozunur. Verim çok düşüktür.

1.7.2 İşaretlemede Önemli Faktörler (36)

Klinik uygulamalarda kullanılan radyofarmasötiklerin büyük bir kısmı iyonik, kolloidal, makroagregat halinde veya şelat formunda kolaylıkla hazırlanır ve birçoğu piyasada bulunan kitler kullanılarak yapılabilir. İşaretlemede önemli faktörler kısaca aşağıda belirtilmiştir.

- İşaretleme işleminin verimi: Ürünün daima yüksek oranda işaretlenmesi istenir ancak bazı durumlarda bu olmayabilir. Daha yüksek oranda ürün eldesi daha iyi işaretleme metodu ile olur. Bununla beraber daha düşük ürün bazen, eğer ürün saf ve işaretleme giderleri minimal olduğunda ve kullanılabilecek daha iyi metod yoksa kullanılabilir.

- Ürünün kimyasal stabilitesi: Stabilite bileşik ile radyonüklit arasındaki kimyasal bağın tipi ile ilgilidir. Kovalent bağlar ile bileşikler çeşitli fizikokimyasal şartlar altında oldukça stabildir. Stabilitenin iyi olması için işaretleli bileşiğin stabilite sabitinin büyük olması gerekir.

- Bozunma veya değişiklik: Yapı ve/veya işaretleli bileşiğin biyolojik özellikleri, işaretleme işlemi sırasında çeşitli fizikokimyasal durumlarla değişir. Örneğin proteinler ısıtma ile pH 2'nin altında ve pH 10'un üzerinde aşırı iyotlama ile ve kırmızı kan hücreleri de ısıyla denatüre olur.

- İzotop Etkisi: İzotop etkisi sonucu, izotop ağırlığındaki farklılara bağlı olarak farklı fiziksel bazen de biyolojik özellikler oluşur. Örneğin; trityumla etkileştirilmiş bileşiklerde, işaretli bileşiğin özellikleri değişebilir. Trityumlu suyun fizyolojik davranışları, vücuttaki normal sudan farklı bulunmuştur. İzotoplar daha ağır olduğunda izotop etkisi önemli değildir.

- Carrier-free veya taşıyıcı ilave edilmemiş durum (NCA): Radyofarmasötikler taşıyıcısız veya NCA durumunda camda absorbe olur. Taşıyıcı serbest bileşiklerin molar konsantrasyonları nanomolar düzeyde veya daha azdır. Düşük konsantrasyonda çalışmak çok zordur. Taşıyıcısız veya NCA durumda izleyicinin düşük konsantrasyonu ile işaretli üründe teknik geliştirmek etkili değildir.

- Bekletme koşulları: Birçok işaretli bileşik yüksek sıcaklıkta dekompoze olur. Proteinler ve işaretli boyalar ısıyla indirgenir bu nedenle düşük sıcaklıkta saklanmalıdır. Örneğin Albumin buzdolabında saklanmalıdır. Işık bazı işaretli bileşikler bozabilir. Örneğin radyoizotoplanmış rose bengal karanlıkta saklanmalıdır. Taşıyıcısız izleyicilerin kaybı, kabın duvarlarında absorpsiyonla oluşabilir. Silikon kaplı kaplarda bu önlenir.

- Spesifik aktivite: Spesifik aktivite işaretli bileşiğin gram başına aktivitesi olarak tarif edilmektedir. İşaretli bileşiklerin uygulamalarında, birçok örnekte yüksek spesifik aktivite gerekir ve uygun metodlar bulunmalıdır. Bazılarında ise işaretli bileşikte yüksek spesifik aktivite daha fazla radyolize sebep olabilir ve önemlidir.

- Radyoliz: Birçok işaretli bileşik içindeki radyonüklitlerle radyasyon yayarak dekompoze olur. Dekompozisyonun bu çeşidi radyoliz olarak isimlendirilir. Yüksek spesifik aktivite radyolizin etkisini artırır. Kimyasal bağlar kendi molekülünden radyasyonla kırılır. Olay otoradyoliz olarak adlandırılır. Radyasyonlar çözeltiyi

bozabilir. İndirek radyolizi önlemek için solventin pH'sı nötral yapılmalıdır. Çünkü asidik ya da alkali pH'da daha fazla reaksiyon olabilir. Daha uzun ömürlü radyonüklitte radyoliz daha fazladır ve daha enerjik radyasyonda radyoliz daha büyüktür.

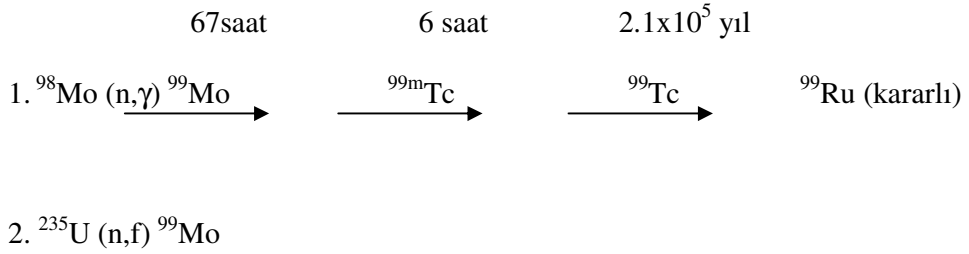
-Saflaştırma ve Analiz: Radyonüklidik safsızlıklar, radyonüklitlerin üretim metodundan doğan radyoaktif kontaminantlardır. Aynı zamanda işaretli safsızlıklar radyonüklidik kirliliklere eklenir. Radyonüklit üretim basamağında radyoaktif kirliliklerin uzaklaştırılması çeşitli kimyasal ayrıştırma metodları ile yapılabilir. Radyokimyasal ve kimyasal safsızlıklar bileşiklerin işaretlenmesinin tam işaretlenmemesinden doğar ve elektroforez, jel, kağıt ve İTK (ince tabaka kromatografisi), iyon değiştirme, solvent ekstraksiyonu gibi çeşitli analitik metodlarla saptanabilir. Sıklıkla bu safsızlıklar radyolizden olduğu kadar işaretlemeden sonra doğal parçalanmadan da doğar.

Raf Ömrü: İşaretlenmiş bileşik istenen amaç için güvenle kullanılabilecek bir raf ömrüne sahip olmalıdır. İşaretlenmiş bileşiğin etki kaybı, işaretli bileşik ve radyonüklit uç arasındaki kimyasal bağın çeşidi, yayılan radyasyonun çeşidi, işaretlenmiş moleküle herhangi bir ilave, çözücü, radyonüklitin fiziksel yarıömrüne bağlıdır. Genellikle üç fiziksel yarı ömrün bir periyodu veya altı ayın bir maksimumu işaretlenmiş bileşiğin raf ömrü için limit olarak önerilir. ^{99m}Tc bileşiklerinin raf ömrü 0.5-18 saat arasında değişir.

1.8 Teknesyum Elementinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (20)

1.8.1 Fiziksel Özellikleri

Atom numarası 43 olan bu element ışınlandırılmış bir molibden numunesi içinde Perrier ve Segré tarafından 1937’de İtalya’da keşfedilmiştir. Teknesyum (^{99}Tc) adı Yunanca’da yapay anlamına gelen “technetos” kelimesinden gelir ve bu araştırmacılar tarafından konulmuştur. Teknesyum’un doğada hiç bir izotopu bulunmamaktadır.



^{99m}Tc fiziksel özellikleri bakımından nükleer tıpta teşhis amacıyla kullanılan radyoizotopların en idealidir. Fiziksel yarılanma ömrü 6 saattir. Ekspansiyel olarak azalır ve ^{99}Tc ’a dönüşür. ^{99}Tc ’un fiziksel yarılanma ömrü (2.1×10^5 yıl) uzundur. O da kararlı Rutenyum-99 izotopuna dönüşür. ^{99m}Tc sadece γ radyasyonu yayar. Enerjisi 140 KeV olan tek bir γ fotonuna sahiptir. β -yayınlanmadığı ve kısa yarı ömürlü olduğu için milikürilerce (mCi) radyoaktivite verilmesine rağmen hastanın maruz kaldığı radyasyon dozu oldukça düşüktür. Monokromatik 140 keV fotonlar nükleer tıpta kullanılan gama kamera gibi cihazlarla kolaylıkla algılanıp kaydedilir ve rezolüsyonu yüksek, oldukça kaliteli görüntüler elde edilir.

1.8.2 Kimyasal Özellikleri

Teknesyum bir geçiş elementi olup periyodik tabloda VIIB grubuna (Mn, Tc ve Re) aittir. Teknesyumun birçok kararlı oksidasyon kademesi +7 değerindedir ve perteknetat (TcO_4^-) halinde bulunur. Bu açıdan permanganat (MnO_4^-) ve perrenat (ReO_4^-) iyonlarına benzer. Geçiş elementi olduğu için şelat özelliği gösteren muhtelif iyon ve moleküllerle birleşerek metal kompleksleri meydana getirir. Radyofarmasötik hazırlamada genellikle teknesyumun bu özelliğinden faydalanılır. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'un konsantrasyonu bileşiklerinde yaklaşık 10^{-9} M civarındadır. Bu bakımdan kimyasını tayin etmek oldukça güç bir işlemdir. Teknesyumun kimyası hakkındaki bilgi çok daha uzun yarı-ömürlü ($t_{1/2} = 2.1 \times 10^5$ yıl) olan ve daha yüksek konsantrasyonlarda (10^{-4} - 10^{-5} M) bulunan ^{99}Tc radyoizotopu ile yapılan deneylerle elde edilmiştir. Mikromolar seviyede elde edilen bu mamülâtın pikomolar seviyeye ekstrapole edildiğinde uyumsuzluklar gözlenmektedir.

1.9 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Jeneratörleri (20)

Radyoizotoplar ya reaktörlerde ya da siklotronlarda üretilir. Dünyada çok az tıp merkezinde üretim imkânı mevcuttur. Dolayısıyla radyoizotoplar üretildikleri yerlerden çok uzak bölgelerdeki merkezlere de gönderilirler. Uzun yarılanma ömrüne sahip radyoizotoplar için taşınma süresindeki radyoaktivite kaybı olabilir. Ancak tıpta kısa yarı ömürlü radyoizotoplar tercih edilir. Bu problem jeneratör sistemlerini kullanılmaya başlanmasıyla çözümlenmiştir.

Radyonüklit üreten jeneratörlerdeki prensip uzun yarı-ömürlü bir radyonüklidin (ana) dönüşümü ile meydana gelen yeni nüklidin de radyoaktif olması ve daha kısa yarı-ömrü bulunması esasına dayanır. Ana ve kız radyonüklitlerin birbirinden ayrılabilmesi için farklı kimyasal özelliklere sahip olmaları gerekmektedir. Ana nüklidin kız nüklide dönüşmesi için gerekli süre dolduktan sonra kız nüklid kimyasal yolla ayrılır.

^{99m}Tc jeneratörü kurşun muhafaza içinde bir cam kolondan meydana gelir. Kolona 5-10 g. alüminyum oksit (Al_2O_3) doldurulmuştur. Radyoaktif molibden (^{99}Mo) molibdat (MoO_4^{-2}) kimyasal şeklinde kolon materyaline absorbe olmuştur. $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 'in kolon materyaline olan afinitesi yok denecek kadar azdır. ^{99m}Tc 'un birikimi tamamen ^{99}Mo 'in radyoaktif dönüşümüne bağlıdır. ^{99m}Tc maksimum aktiviteye 4 yarılanma-süresi (24 saat) geçtikten sonra erişir. Dengede iken ^{99m}Tc aktivitesi ^{99}Mo 'in yarılanma süresi ile azalır. ^{99m}Tc , kolondan serum fizyolojik (%0,9 NaCl) geçirilerek sodyum perteknetat ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) olarak elde edilir. Elüsyon (sağım)'dan sonra radyoaktivite tekrar birikmeye başlar. Dengeye gelmesi beklenmeden de elüsyon yapılabilir. Elde edilen ^{99m}Tc 'un radyoaktivitesi daha az olur. Jeneratörler her gün bir, iki veya daha fazla elüsyon yapılarak bir hafta süreyle kullanılır. Günümüzde jeneratörler ticari şekliyle steril kapalı sistem ünitelerdir. Steril serum fizyolojik içeren stok şişeleri ve havası boşaltılmış sağım şişeleri ile birlikte satışa sunulur. Çok basit sağım işleminden sonra steril $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ serum fizyolojik içinde eriyik halde elde edilir.

1.10 ^{99m}Tc İle İşaretleme (20)

İndirgenmiş ^{99m}Tc çok reaktif bir maddedir. Şelat karakterinde olan bir çok kimyasal molekül ve iyonlarla birleşerek kompleksler yapar. Şelat yapacak maddelerin bir veya daha fazla serbest elektron çiftleri ^{99m}Tc ile madde arasında koordinat kovalent bağlar oluşturur. Bağlanmamış serbest elektron çiftine sahip olan grupları (-COOH, -OH, -NH₂ ve -SH gibi) içeren bileşikler ve proteinler ^{99m}Tc ile hemen bağlanırlar. ^{99m}Tc şelatlarının çoğu net eksi yüküne sahiptirler. Elektroliz yapılıncaya anoda doğru hareket ederler.

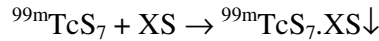
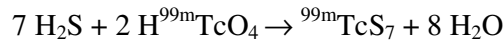
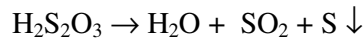
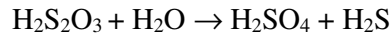
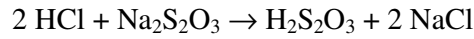
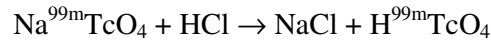
^{113}Sn radyoizotopu ile yapılan çalışmalar, indirgeyici olarak ortama ilave edilen kalayın rutinde kullanılan bir çok ^{99m}Tc kompleksinin kimyasal yapısına girmediğini göstermiştir. Mesela, dietilentriaminpentaasetik asit (DTPA), iminodiasetik asit (HIDA), metilendifosfonat (MDP), pirofosfat (PYP), hidroksietilen difosfonat (HEDP) ve glukonat gibi ^{99m}Tc -şelatlarında kimyasal olarak mevcut değildir.

İndirgenmiş ^{99m}Tc oksijen atmosferinde veya oksidan bir maddenin varlığında kolaylıkla oksitlenip perteknetat haline dönüşür. Bu nedenle ^{99m}Tc ile işaretlenecek hazır soğuk (radyoaktif olmayan) kitler azot gazı altında veya bir miktar askorbik asit ilavesiyle muhafaza edilir.

Kolloid ve Partiküller

^{99m}Tc içeren kolloid ve partiküller hazırlamak mümkündür. Retiküloendotelial sistem (RES) hücrelerinin fagositöz özelliğinden faydalanılarak işaretli kolloitlerle bu sistem imajlanır. Bu amaçla kullanılan kolloitler 10 nm-1 μm çapındaki

partiküllerden oluşur. Stabilizan olarak jelatin kullanılır. Nükleer tıpta en çok kullanılan radyofarmasötik ^{99m}Tc -sülfür kolloittir. Perteknetat ve tiyosülfat içeren bir çözelti asit ortamda 100°C 'de 5-10 dakika ısıtılınca kükürt kolloid oluşur. Bu sırada oluşan teknesyum sülfid (Tc_2S_7), kükürtle birlikte partiküller meydana getirmektedir. Tahmini reaksiyonlar aşağıda gösterilmiştir:



Daha büyük partiküller, makroagregat veya mikroküre şeklinde olabilir. Boyutları 15-100 μm arasında değişir. Akciğerlerdeki kapiler yatakta takılıp kalırlar ve akciğer görüntülenmesinde kullanılırlar, örneğin albumin makroagregatları (^{99m}Tc -MAA) veya albumin mikroküreleri gibi.

Günümüze kadar birçok madde ^{99m}Tc ile işaretlenmiş ve muhtelif organ veya doku imajlamasında kullanılmıştır.

1.11 Radyofarmasötiklerin Kalite Kontrolü (36)

Radyofarmasötikler insanlara uygulanmak üzere tasarlandığından kalite kontrol testlerinden geçmek zorundadır. Temel olarak kalite kontrol, saflık, etkinlik, ürün

özellikleri, biyolojik saflık ve radyofarmasötiğin verimini saptamak için birçok özel testleri ve ölçümleri içerir. Radyoaktif olmayan farmasötiklere uygulanan tüm kalite kontrol işlemleri radyofarmasötiklere de aynı şekilde uygulanabilir, ek olarak radyonüklidik ve radyokimyasal saflık testleri de yapılmalıdır. Bu kalite kontrol testleri, genellikle üretimin başlangıcından, son ürün elde edilene kadar üretici tarafından yapılır. Bununla beraber kitlerin ve ^{99m}Tc ve ^{113m}In gibi kısa yarı ömürlü radyonüklitlerin artan kullanımı, çoğu radyofarmasötiğin kullanılmadan hemen önce hazırlanmasını ve kalite kontrol testlerinin yapılmasını gerektirir.

Kalite kontrol testleri iki kategoriye ayrılır.

1- Fizikokimyasal testler

2- Biyolojik testler

Fizikokimyasal testler radyonüklidik ve radyokimyasal safsızlıkların derecesini gösterir ve pH, iyonik güç, osmolalite ve özellikle kolloid ise numunenin fiziksel durumunu saptar. Biyolojik testler materyalin sterilite, apirojenite ve toksisitesini tayin eder.

1.11.1 Fiziksel Özellikler (36)

Radyofarmasötiğin fiziksel özellikleri hem alındığı sırada hem de daha sonra önemlidir. Çözelti halindeki bir radyofarmasötik herhangi bir partikül içermemelidir. ^{131}I ile işaretli HSA (Human serum albumin) berrak ve hafif sarımsıdır ama radyasyonun etkisiyle çözeltinin rengi koyulaşabilir. ^{131}I – rose bengal çözeltisi koyu

kırmızı renktedir. Bu renkten ve koyuluktan herhangi bir sapma, radyofarmasötikteki değişikliği gösterebilir ve bu da radyofarmasötiğin biyolojik davranışını değiştirir.

Kolloid ya da agregat bileşikleri, kullanılacak amaca uygun partikül büyüklüğünde olmalıdır. Örneğin; retiküloendotelyal sistemin görüntülenmesi için kolloid partikül büyüklüğü 10 nm - 1µm arasında, ortalama büyüklüğü 100 nm olmalıdır. ^{99m}Tc sülfür kolloidi hazırlanmasında, partikül büyüklüğü 80-500 nm arasında değişmektedir. Bunlar ultramikroskop ya da elektron mikroskobu ile kontrol edilebilmektedir. Bu gözlemler daha çok hayvanlarda yapılan doku dağılım çalışmalarında kontrol edilebilir. Uygun büyüklükteki kolloidler karaciğerde lokalize olması gerekirken, daha büyük partiküller akciğerlerde tutulur. ^{99m}Tc-MAA (Teknesyum-99m ile işaretli MakroAgregat Albümin) ve ^{99m}Tc ile işaretli albumin hazırlamada partikül çapı 10-100 µm arasında olmalıdır.

Embolik bir durumla sonuçlanabilen pulmoner arteriyel blokaja neden olabileceği için 150 µm'den büyük partikülleri içeren preparatlar kullanılmamalıdır. Ayrıca, agregat partikülleri daha küçük kolloidal partiküllere parçalanabilir ve sonra retiküloendotelyal sistemde lokalize olur. Preparatlardaki partikül sayısı da aynı şekilde önemlidir.

1.11.1.1 pH ve İyon Şiddeti (36)

Tüm radyofarmasötikler uygun bir hidrojen iyonu konsantrasyonu ya da pH'ya sahip olmalıdır. Bir radyofarmasötik için ideal pH 7.4 olmalıdır, bununla beraber kanın yüksek tampon kapasitesi nedeniyle pH 2-9 arasında değişebilir.

Radyofarmasötikler ayrıca insanlara uygulanabilmesi için, uygun iyon şiddeti, isotoniklik ve osmolaliteye sahip olmalıdır. İyon şiddeti uygun bir asit, alkali ya da elektrolit ilave edilerek ayarlanır ve ilave edilen elektrolitin konsantrasyonundan hesaplanabilir.

Bir radyofarmasötiğin stabilitesi için iyon şiddeti ve pH önemli faktörler olduğu için radyofarmasötik seyreltileceği zaman uygun çözücü kullanılır, orjinal preparat içinde kullanılan çözeltinin seçilmesi tercih edilir. Bu durum özellikle kolloidal preparatlar için önemlidir. İlave edilen elektrolit, kolloidin agregasyonuna neden olabilir.

1.11.1.2 Radyonüklidik Saflık (36)

Radyonüklidik saflık, bir radyofarmasötikte bulunan istenen radyonüklit aktivitesinin toplam radyoaktiviteye oranı olarak tanımlanır ve yüzde olarak ifade edilir (34, 57). Safsızlıklar hedef materyaldeki izotopik safsızlıklar nedeniyle diğer nükleer reaksiyonlardan kaynaklanır. ^{99m}Tc ile işaretli preparatlardaki ^{99}Mo (Bu alüminyum kolondan ^{99}Mo 'un geçişi nedeniyle oluşur) ve ^{131}I ile işaretli bileşiklerdeki birçok iyot izotopları örnek olarak verilebilir. 100 μCi sodyum perteknetat içinde, 99.5 μCi ^{99m}Tc ve 0.5 μCi ^{99}Mo bulunuyorsa bunun radyonüklidik saflığı % 99.5'tur. İstenmeyen radyonüklitler, istenilen radyonüklit olarak aynı elemente ya da başka elemente ait olabilir. Bu istenmeyen radyonüklitin varlığı hastanın aşırı radyasyon almasına neden olur ve sintigrafik görüntülerin anlaşılmasını güçleştirir. Bu safsızlıklar uygun kimyasal metodlarla uzaklaştırılabilir, sağlanan

kimyasal özellikler istenilen radyonüklidin kimyasal özelliklerinden belirgin olarak farklıdır.

Radyonüklidik saflık her bir radyonüklitten yayılan karakteristik radyasyonun ve yarı ömürlerinin ölçümüyle tayin edilir. Gama ışınları yayan radyonüklitler çok kanallı bir analizöre bağlanan NaI (Tl) detektörü ile elde edilen spektrumlardan, radyonüklitlerin gama enerjilerinin belirlenmesiyle bir diğerinden ayrılır.

Saf β (beta) yayıcıları tayin etmek sayım problemi nedeniyle, gama yayıcılar kadar kolay değildir. Bunlar saflık için bir spektrofotometre ya da bir likit sintilasyon sayıcı ile tayin edilebilir.

Radyonüklidik saflık, istenilen radyonüklidin relatif yarı ömrüne, miktarına, diğer kontaminantlara bağlıdır ve zamanla değişir. Küçük miktarlarda uzun ömürlü kontaminant radyonüklidin varlığı, büyük miktarlarda arzu edilen kısa yarı ömürlü radyonüklidin varlığında tespit etmek zordur. Bu örneklerde, kısa yarı ömürlü radyonüklit bozunması gözönünde bulundurulduktan sonra uzun ömürlü aktivite ölçülür.

1.11.1.3 Radyokimyasal Saflık (36)

Bir radyofarmasötüğün radyokimyasal saflığı radyofarmasötikteki istenilen kimyasal yapıdaki toplam radyoaktivitenin miktarıdır. Radyokimyasal safsızlıklar; çözelti etkisi, ısı ya da pH'daki değişiklikler, ışık, indirgenmiş ya da yükseltgenmiş ajanların varlığı ve radyoliz nedeniyle oluşan dekompozisyonla kaynaklanır. Radyokimyasal safsızlıklara örnekler: Birçok ^{99m}Tc ile işaretli kompleksteki serbest $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ve indirgenmiş ^{99m}Tc , ^{131}I işaretli proteinlerdeki serbest ^{131}I , ^{51}Cr -sodyum

kromat solüsyonundaki $^{51}\text{Cr}^{3+}$, ve ^{75}Se -selenometiyonindeki serbest ^{75}Se . 100 μCi 'lik $^{99\text{m}}\text{Tc}$ sülfür kolloidinde 95 μCi $^{99\text{m}}\text{Tc}$ sülfüre bağlı ve 5 μCi $^{99\text{m}}\text{Tc}$ perteknetat de ise, bu radyofarmasötiğin radyokimyasal saflığı % 95'dir ve % 5 oranında perteknetat radyokimyasal safsızlığı içerir (2). Bir radyofarmasötikteki radyokimyasal safsızlıklar, istenilen bölgedeki zayıf lokalizasyonu ve çevre dokulardan gelen yüksek zemin (artalan/background) aktivite nedeniyle düşük kaliteli imajların alınmasına neden olur. Zamanla bu safsızlıklar ciddi problemler oluşturmaz, etkileri konsantrasyona ve klinik teste bağlıdır. Örneğin; ^{131}I -rose bengaldeki iyotlu rose bengal moleküllerinin az olması rose bengal karaciğer fonksiyon testine ciddi olarak zarar vermez. Diğer taraftan ^{131}I -ortoiodohippurat'daki % 1 oranında iyodun varlığı bile hatalı renografik çalışmalara neden olabilir. Benzer bir şekilde $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HDP (Teknesyum-99m ile işaretli hidroksimetilen difosfanat)'da serbest $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ ya da indirgenmiş $^{99\text{m}}\text{Tc}$, kemik sintigrafilerinde düşük kaliteli görüntülere neden olabilir.

Verilen bir radyofarmasötikte, radyokimyasal safsızlıkları saptamak için bir çok analitik metot kullanılır. Özellikle kağıt, ince tabaka ve jel kromatografisi, kağıt ve jel elektroforezi, iyon değiştiricilerle ayırım, bir sıvı ile tüketme, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve distilasyon metodları kullanılır.

1.11.1.4 Kimyasal Safılık

Kimyasal safsızlıklar ya radyofarmasötiğin biyodağılımını ya da ürünün doğruluğunu etkileyebilecek olan radyoaktif olmayan maddelerdir. Örneğin; jeneratör kolonundan sağılan $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'da bazen önemli miktarlarda bulunan alüminyum iyonları $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sülfür kolloidinin istenmeyen büyüklükte partiküllere sahip olmasına

neden olur. Bu da retiküloendotelyal sistem yerine akciğerler tarafından tutulumla sonuçlanır. Ayrıca, alüminyum parçacıklarının ^{99m}Tc radyofarmasötiklerinin biyodağılımını değiştirmekten sorumlu olduğu gösterilmiştir. Jeneratörden sağılan çözeltide bulunan alüminyum iyonlarının miktarları 10 mg/mL'den daha yüksek ise kolorimetrik tayin metodlarıyla tespit edilebilmektedir.

1.11.2 Kromatografi

Kromatografi kelimesi, birçok ayırma metodlarını ve tekniklerini içerir. Bundan dolayı kromatografinin iyi bir tarifini yapmak oldukça güçtür, ancak kaba da olsa şöyle bir tarif verilebilir. Kromatografi, çeşitli maddelerin, hareketli faz yardımıyla, sabit bir faz arasından değişik hızlarla hareket etmeleri esasına dayanır. Bu metodlar yardımıyla klasik metodlarla birbirlerinden ayrılmalrı çok zor hatta imkansız olan maddeleri, saf olarak birbirlerinden ayırmak mümkün olur (26).

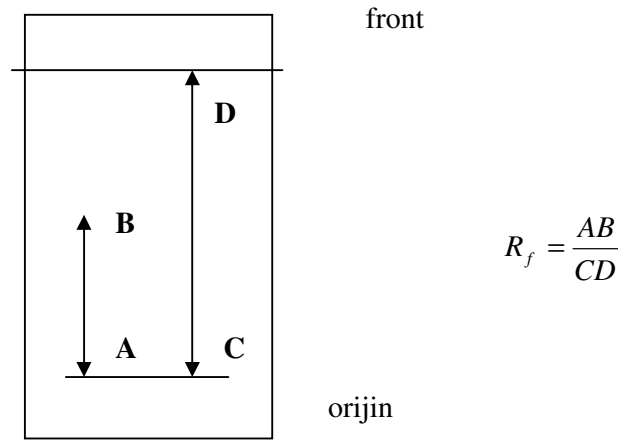
1.11.2.1 Kağıt Kromatografisi

Genelde kromatografi, bir kağıt ya da başka bir stasyoner faza adsorbe ettirilen uygun bir çözücü yardımı ile bu faz üzerinde farklı olarak hareket etmeleri esasına dayanan bir fraksiyonlama metodudur. Maddeler karışımını adsorbe etmek için kağıt kullanılır ve kağıttan bir çözücü geçirilirse, karışımındaki maddeler kağıt üzerinde farklı hızlarla hareket edecekler ve bu suretle birbirlerinden ayrılmış olacaklardır. Bu işleme kağıt kromatografisi adı verilir (22).

R_f değerleri:

Her maddenin hareketli fazda (mobil faz) sürüklenmesi farklıdır. Buna sürüklenme derecesi veya alıkonma faktörü denir ve R_f ile gösterilir (Şekil 1) (26).

$$R_f = \frac{\text{Maddenin sürüklendiği uzaklık (cm)}}{\text{Çözücünün sürüklendiği uzaklık (cm)}}$$



Şekil 1. Kromatografi kağıdından R_f değerinin hesabı.

Sonuç olarak şunu söyleyebiliriz: Belli koşullar altında, bir bileşiğin R_f değeri fiziksel bir değişmez olup, diğer özellikler yanında maddeyi tanıtmaya yarar. Yalnız mutlak R_f değerinden söz etmek doğru olmaz, çünkü madde çözeltisinin mobil olmayan faz içinde hareketine etki eden çeşitli faktörler vardır: bunlardan bazıları ısı, basınç, nem, konsantrasyon, mobil ve mobil olmayan fazların karakteridir. Bu nedenle bir maddenin R_f değeri hesaplanacağı zaman aynı koşullarda çalışılarak R_f değeri bulunmuş, bilinen madde ile karşılaştırma yapılır (22).

1.11.2.2 İnce Tabaka Kromatografisi

Kromatografi temeline dayanan çeşitli çalışma metodları bugün çok çeşitli ve etraflı olarak gelişme halindedir. Bu arada basitleştirilen ve zaman kavramını en aza indiren, hatta kağıt kromatografisini adeta gölgede bırakacak derecede yenilikler gösteren metodlar bulunmuştur.

Bugün Almanya ve İsviçre’de *Dünnschicht Chromatographie* adını taşıyan ve bizim *ince tabaka kromatografisi* adını verdiğimiz bu analitik metot da aynen kağıt kromatografisinde olduğu gibi nitelikleri kontrol ve tayin edilen maddeler birbirlerinden, organik akıcı maddeler yardımı ile ayrılarak bilinen grup reaktifleri ile varlıkları belirlenmektedir.

Bu metodların kağıt kromatografisinden farkı kağıt yerine silikajel, alüminyum oksit, alüminyum silikat veya selüloz kullanılmasıdır.

İnce tabaka kromatografisinin özelliği, kontrol edilen maddelerin yürüme sürelerinin kağıt kromatografisindekine göre çok daha kısalmış olmasındadır. Bu arada birbirlerinden ayrılması güç olan maddelerin ayrılma efektleri çoğunlukla daha da kolaylaşmış bulunmaktadır. Bundan başka kağıt yerine ince tabakalar şeklinde kullanılan (örneğin silikajel-alçı gibi) asitlere oldukça dayanıklı maddeler, derişik anorganik maddeler gibi tahrip edici (agressif) reaktiflerin kontrol reaksiyonlarında kullanılmasındaki tehlikeyi de ortadan kaldırmaktadır (21).

İnce tabaka kromatografisinin kağıt kromatografisine üstünlüklerini özetleyecek olursak;

a) Kağıt kromatografisinde adsorblayıcı veya sabit faz (stasyoner faz) olarak sadece kağıt kullanıldığı halde, ince tabaka kromatografisinde çeşitli maddeler

kullanılmıştır.

- b) Miktarca daha az maddelerin ayrılması mümkün olur.
- c) Neticeler daha kısa zamanda alınır.
- d) Ayrılma daha iyi, lekeler daha kesindir (26).

1.11.2.3 Radyofarmasötiklerde Kağıt ve İnce Tabaka Kromatografisi

Kağıt ve ince tabaka kromatografisinde, radyofarmasötiğin küçük bir miktarı bir kağıt (Whatman kağıdı) ya da bir ince tabaka kromatografisi plağına uygulanır (Instant Thin Layer Chromatography, ITLC – SA; silikajel kaplı hazır ince tabaka kromatografisi plakları veya ITLC – SG; polisiklik asit emdirilmiş, fiberglasdan yapılan hazır ince tabaka kromatografi plakları) ve sonra uygun bir solvan içeren bir kavanoz ya da tank içine radyofarmasötik uygulanan plak daldırılarak kromatografi gerçekleştirilir. Bu kromatografik yöntem sırasında numunenin farklı bileşenleri adsorban (kağıt ya da silikajel) ve çözelti arasında dağılım katsayısına bağlı olarak dağılır. Burada adsorban sabit (stasyoner) faz, çözelti hareketli (mobil) fazdır (27,35). Sabit fazın elektrostatik güçleri birbirinden farklı bileşenlere yönelir, hareketli faz sabit faz boyunca bu bileşenleri taşır. Bu etki ve çözelti içindeki farklı bileşenlerin farklı çözünürlükleri, her bir bileşenin farklı hızlarda hareket etmesine ve kağıt ya da ITLC plağında farklı uzaklıklara sürüklenmesine neden olur. Solvanın polaritesi de numune içindeki farklı bileşenlerin kromatografik olarak ayrılmasını etkiler.

Kağıt ve ITLC kromatograf alçalan ya da yükselen tipte olabilir. Alçalan kromatografide, hareketli faz aşağıya doğru hareket ederken yükselen tipte ise yukarı

doğru hareket eder. Bazı kromatografilerde işlemin tamamlanabilmesi saatler almasına rağmen, ITLC nispeten hızlı bir metoddur ve 5-20 dakika sürer.

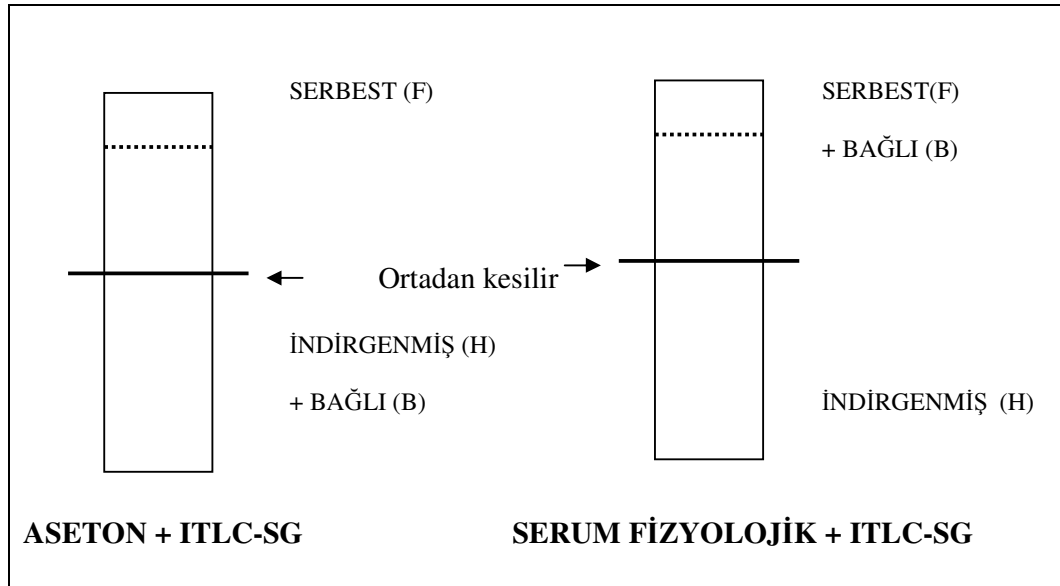
Kağıt ya da ITLC'de verilen bir numunenin her bir bileşeni bir Rf değeri ile tanımlanır. Rf değeri; test materyalinin uygulandığı noktadan sürüklendiği mesafenin, çözeltinin uygulama yerinden itibaren sürüklendiği uzaklığa oranıdır. Bu değerler bilinen maddelerle saptanır ve farklı deneysel koşullar altında değişebilir. Rf değerleri, verilen bir numunenin farklı bileşenlerinin tanınması için öncelikle kullanılır.

Kağıt kromatografisi ve ITLC nükleer eczacılıkta en sık kullanılan metoddur, öncelikle ^{99m}Tc ile işaretli bileşiklerin analizi için kullanılır. Hem ITLC-SG hem de ITLC-SA plağı ya da Whatman kağıdı sabit faz olarak kullanılır ve % 85 metanol, aseton, MEK (metiletilketon) ya da serum fizyolojik mobil faz olarak kullanılır. Tipik bir kromatografide küçük hacimde bir örnek, kromatografi plağının ucuna damlatılır ve sonra plak düşey olarak uygun çözelti içeren kromatografi tankı içine yerleştirilir. Plak, uygulanan uçtan çözelti içine yerleştirilir ama uygulama noktası çözelti seviyesinin yukarısında kalır. Çözelti istenilen uzaklığa ulaştığında plak tanktan çıkarılır, kurutulur ve birçok parçaya ayrılır (genellikle 10 parçaya). Her bir parçadaki radyoaktivite uygun sayıcıda, özellikle NaI(Tl) sayıcısında sayılır. Radyokimyasal safsızlık, istenmeyen bileşenin radyoaktivitesinin uygulama yerine uygulanan toplam aktiviteye oranı olarak hesaplanır.

^{99m}Tc ile işaretli bileşiklerde üç tür ^{99m}Tc görülebilir; serbest (free), indirgenmiş (hydrolized, reduced) ve bağlı (işaretli, bound) ^{99m}Tc . ITLC metodu bu üç komponentin miktarını ve bu nedenle bağlanma verimini tahmin etmek için nükleer eczacılıkta rutin olarak kullanılır. Çünkü kromatografik ayırma kağıt ve

çözelti tipine bağlıdır. Şekil 2’de görüldüğü gibi farklı sistemlerden farklı sonuçlar alınabilir. Örneğin; ^{99m}Tc -Pirofosfat’ın analizinde % 85 metanol ya da aseton ve ITLC-SG kağıdı kullanılan ITLC metodunda sadece iki pik görülür; orjinde ($R_f = 0$) bağlı ve indirgenmiş ^{99m}Tc ve frontda ($R_f = 0.7$) serbest ^{99m}Tc . Bununla beraber, eğer Whatman No:1 kağıdı ve serum fizyolojik ITLC kromatografisinde kullanılırsa üç komponent ayrılabilir. Bağlı ^{99m}Tc frontta, indirgenmiş ^{99m}Tc orjinde ve serbest ^{99m}Tc $R_f = 0.7$ de saptanacaktır.

İnce tabaka kromatografisinde bazı faktörler gözönünde bulundurulmalıdır; kromatografi kağıdı kuru olmalı numune damlası küçük olmalı ve ^{99m}Tc -şelatının hava oksidasyonunu önlemek için uzun süre havada kurutmaktan kaçınılmalıdır (36).



Şekil 2. ^{99m}Tc ile işaretli bir radyofarmasötüğün radyokimyasal saflığını analiz

etmek için kullanılan minyatür ITLC sistemi.

1.11.2.4 Jel Kromatografi (36)

Jel kromatografisi bir radyofarmasötüğün farklı komponentlerini ayırmak için kullanılan en kullanışlı metodlardan biridir. Bu methodda, numune Sephadex jel ya da Bio-Rad jel kolonunun üzerine damlatılır, uygun bir çözelti ile ıslatılır ve sonra aynı çözeltiyle elüe edilir. Bir numunedeki komponentlerin ayırımı türlerin molekül büyüklüğüne bağlıdır, büyük olanlar küçüklere göre daha fazla elüe edilir. Sağım serileri otomatik bir toplayıcı ile toplanır ve her bir kısımdaki radyoaktivite ölçülür. Farklı bileşimlerin tanımlanması jel kolonunun üzerinde bilinen örneklerin kullanılmasıyla tespit edilmektedir. Her kısımdaki radyoaktivite, daha sonra örnek numaralarına karşı grafiklenir, verilen örnek içindeki farklı molekül büyüklüklerinin relatif konsantrasyonları elde edilir. Bir komponentin miktarı, yüzde olarak bileşenin radyoaktivitesinin, kolona yerleştirilen toplam radyoaktiviteye oranı olarak tarif edilmektedir.

Jel kromatografisinden farklı molekül ağırlıklarına sahip proteinleri ayırmada faydalanılır. Bu metot, ^{99m}Tc radyofarmasötiklerinde safsızlıkların tayininde de aynı derecede önemlidir. Serbest, bağlı ve bağlı olmayan hidrolize (indirgenmiş) ^{99m}Tc örnekleri ayrılabilir ve sağım için serum fizyolojik kullanılarak tespit edilebilir. Bu durumda ^{99m}Tc -şelat ilk olarak alınır, serbest ($^{99m}\text{TcO}_4^-$ perteknetat) sonra gelir ve indirgenmiş ^{99m}Tc kolonda kalır. Birçok ^{99m}Tc ile işaretli preparatta, şelat sephadex jele bağlanır bu durumda safsızlıkların ayırımında problemlere neden olur. Örneğin; ^{99m}Tc -glukonat ve ^{99m}Tc -mannitol sephadex kolonda adsorbe edilmektedir.

1.11.3 Elektroforez

Elektroforezin temeli, kullanılan elektrik alanının tesiri altındaki bir elektrolit solüsyonu içinde iyon moleküllerinin değişik oranlardaki göçlerine dayanır. Elektroforez bir kromatografik teknik prensibinde olmamasına rağmen, küçük iyonlardan yüklü büyük makromoleküllere kadar değişen yüklü maddelerin ayırımına çok uygun bir metot sağlayan kağıt kromatografisi ile birlikte kullanılır. Bu bileşiklerin pek çoğu kendiliğinden iyonize olabilen asidik ve bazik gruplar içerir, iyonizasyonun büyüklüğü matriksin pH'sına ya da bileşimine bağlıdır. Bu yüklü maddeler bir elektrik alanına yerleştirildiklerinde uygun elektroda doğru hareket edeceklerdir. Bu göçün sürüklenme gücü, elektrik alanı ile yüklü molekül arasındaki çekimin elektrostatik güçleri, sürtünmeden dolayı oluşan yavaşlatma güçleri ve taşıma ortamının moleküllerinden meydana gelen elektrostatik itmenin bileşkesidir (9).

1.11 3.1 Kağıt ve Poliakrilamid Jel Elektroforezi (36)

Kağıt ve poliakrilamid jel elektroforezi, uygun bir tampon içerisinde ıslatılmış olan bir kağıt ya da poliakrilamid jel üzerine radyoaktif örneğin uygulanmasıyla gerçekleştirilir ve sonra belli süre kağıt ya da jel boyunca bir voltaj uygulanır. Numune komponentleri kağıt ya da jel ortamı boyunca farklı uzaklıklara hareket eder, bu da yüklerine ve iyonik hareket kabiliyetine bağlıdır. Elektroforezden sonra kağıt ya da jel kolonu üzerinde aktivitenin dağılımı bir sayıcı ya da radyokromatografik tarayıcıyla ölçülebilmektedir.

Kağıt elektroforezinde elektrot küveti tampon çözelti ile doldurulur. Her iki bölümdeki çözelti seviyesi eşit olmalıdır. Aksi takdirde, sifon hareketi ile elektroforetik numunenin yer değiştirmesine ve yanlış anlaşılmasına neden olur.

Sıvı değişimlerinin neden olacağı hataları minimuma indirmek için numune uygulanmadan önce kağıttaki sıvının dengelenmesi tavsiye edilir. Önce kağıt, tampon içine batırılarak ıslatılır, sonra kağıt üzerindeki fazla tampon süzülür. Daha sonra kağıt elektroforez cihazına yerleştirilir. Kağıt kuru bir şekilde cihaza yerleştirilmez, kapiller hareket için kağıdın ıslak olması gerekir. Kağıt ıslatıldığı zaman kromatografik etkilerle çözelti, çözünen maddelerden daha hızlı bir şekilde fronta ilerler. Kağıdı ıslatmanın diğer bir nedeni de, kağıdın eğilip bükülmesini ortadan kaldırmaktır (46).

Numunenin iyi bir şekilde ayrılmasını sağlamak için küçük miktarda uygulanmalıdır. Numune uygulandıktan sonra uygulanacak voltaj miktarı ve süresi numuneye bağlı olarak değişir (46).

1.11.4 Radyofarmasötikler İçin Biyolojik Saflık Testleri

Radyofarmasötiklerin birçoğu intravenöz olarak uygulanmaktadır. Sonuçta radyofarmasötikler, diğer birçok farmasötiklere olduğu gibi FDA'a göre sterilit ve pirojenite testlerine tabi tutulmalıdır (13).

1.11.4.1 Sterilite

Sterilite herhangi bir canlı mikroorganizmanın yokluğu olarak tanımlanır. Sterilizasyon metodları içinde en bilineni otoklav sterilizasyonudur. Bu işlem de 121°C'de ve 15-20 dakika süreyle yapılır. Cam malzemeler, kaplar ve bazı solüsyonlar rutin olarak otoklav sterilizasyonuna dayanabilir ama yüksek ısıyla zarar gören materyaller, diğer sterilizasyon metodlarını gerektirmektedir. Isıdan etkilenen çözeltiler için tercih edilen sterilizasyon metodu membran filtreden süzmektir. Membran filtre, filtrenin por çapından büyük olan mikroorganizmaları uzaklaştırır. Selüloz ve esterlerinden yapılan membran filtreler bu amaç için uygundur ve birçok por çapında mevcuttur. Çözeltilerin sterilizasyonu için tercih edilen filtre por çapı 0,22 µ'dur. Membran filtre sterilizasyonunu yapmak kolay, ucuz ve pratiktir.

Diğer sterilizasyon metodları; yüksek dozda gama (γ) ışınıyla ışınlama ya da etilen oksit gazına maruz bırakmadır. Bu metodların ikisi de plastik şırıngalar ve i.v tüpler gibi ısıya hassas sıvı olmayan materyallerin sterilizasyonunda kullanılır.

1.11.4.2 Pirojenite

Pirojenler canlı mikroorganizmaların metabolik ürünleridir ya da ölü mikroorganizmalardır. Bunlar enfeksiyona piretik cevap verir. İnsanlarda piretik cevap pirojenik materyalin enjeksiyonundan sonra 45-90 dakika içinde görülen ani üşüme ve ateşle karakterizedir. Ayrıca vücutta kıvrıklık ve baş ağrısı da görülür. Bu durum 3-4 saat kadar sürer fakat öldürücü değildir.

Tüm parenteral ürünlerin pirojensiz olması gerekmektedir. Pirojenler süzülebildiği için, steril çözeltilerle yapılan rutin filtrasyonla uzaklaştırılamayacaktır. Sonuçta, pirojenle kontamine çözelti steril olacaktır ama hala pirojeniktir. Pirojenlerin kaynağı genelde parenterallerin hazırlanmasında kullanılan kontamine su ve kimyasallardır (35).

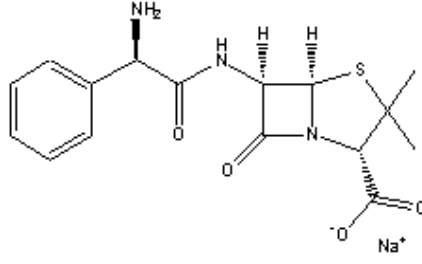
Bir numuneyi apirojen yapmanın özel bir metodu yoktur. Pirojenler esas olarak bakterilerin metabolizmalarından oluştuğu için pirojenik kontaminasyonun önlemek için en iyi yol radyofarmasötiğin hazırlanması sırasında aseptik şartlar altında ekipman kullanmak, steril cam malzemeler ve çözeltiler kullanmaktır. Cam malzemeler 175°C’de birkaç saat sıcak hava sterilizasyonu ile apirojen hale getirilebilmektedir. Yüksek kaliteli kimyasallar, distile su ve apirojen cam malzemeler kullanıldığı takdirde pirojensiz radyofarmasötikler hazırlamak zor olmayacaktır. Pirojeniteyi test etmek için USP’(United States Pharmacopeia) deki tavşan testleri ve LAL (Limulus Amebocyte Lysate) testi yapılır (13).

ANTİBİYOTİKLER HAKKINDA GENEL BİLGİ

1.12 Ampisilin Sodyum

1.12.1 Kimyasal Yapısı:

Ampisilin sodyumun kimyasal formülü Şekil 3’de verilmiştir.



Şekil 3. Ampisilin sodyumun kimyasal formülü

$C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$

D[-]- α -Aminobenzilpenisillin, 6-[D(-)- α -Aminofenilasetamido]penisillanik asit

1.12.2 Fiziksel Özellikleri:

Beyaz, higroskopik, suda kolayca çözünebilen, asetonda eser miktarda çözünebilen, eter, sabit yağ ve sıvı parafinde çözünmeyen bir maddedir (Eur ph.).

1.12.3 Farmakolojik Özellikleri:

Ampisilin geniş spektrumlu penisilinlerden olup genel olarak bu grup penisilinler gram pozitif veya gram negatif koklara karşı, Penisilin G'ye eşit veya yakın derecede etkin, fakat antistafilokokal ilaçlardır. Beta-laktamaz enzimlerinin bazı türlerine dayanıksızdırlar. Penisilin G'den farklı olarak, sık bir şekilde hastalık etkeni olan H. influenzae, (tip b olanlar hariç), E. coli ve Proteus mirabilis, Shigella ve Salmonella türleri gibi gram-negatif basillerin birçok suşlarına karşı etkilidirler. Ancak bu bakteri türlerinde giderek artan beta-laktamaz sentezi nedeniyle aminopenisilinlerin tedavideki rolü oldukça kısıtlanmıştır.

Ampisilin hem oral hem de parenteral uygulanabilen bir antibiyotiktir. Grup A streptokoklara, pnömokolara, Neisserialara ve Clostridiumlara karşı *in vitro* etki gücü Penisilin G'ye göre biraz daha düşüktür; fakat enterokoklara, viridans grubu streptokoklara ve *Listeria monocytogene*'e karşı ondan biraz daha etkilidir. *Haemophilus influenza*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus mirabilis* gibi gram-negatif basillerin suşlarından beta-laktamaz sentezlemeyenlere karşı bakterisid etkinlik gösterir. Ülkemizde izole edilen, *E. coli* suşlarının yaklaşık %60-80'nin ampisiline dirençli olduğu bulunmuştur. *Klebsiella* ve *Enterobacter* suşlarının çoğu, *P. mirabilis* dışındaki *Proteus* türleri, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides* türleri ve beta-laktamaz salgılayan *S. aureus* suşları ampisiline dirençlidir.

Ampisilin mide bağırsak kanalından kısmen (ortalama %40) absorbe edilir. Absorpsiyonu besinler tarafından kısmen azaltılır. Oral uygulandığında doruk plazma konsantrasyonuna yaklaşık 2 saatte erişilir. İ.m. injeksiyonla verildiğinde doruk konsantrasyona 1 saatte erişilir. Düzey daha yüksek olur ve daha uzun sürer. Ciddi enfeksiyonlarda yüksek dozda ve parenteral verilmesi gerekir. Plazma proteinlerine çok az (ortalama %20) bağlanır. Absorbe edilen dozun yaklaşık yarısı böbreklerden esas olarak tübüler salgılanma suretiyle itrah edilir. İdrardaki konsantrasyonu yüksektir. Kalan kısmının büyük bölümü karaciğerde safra içine itrah edilir ve az bir kısmı metabolize edilir. Tıkanıklık olmadığı takdirde safradaki konsantrasyonu plazmadakinin 300 katına çıkabilir. Ampisilinin yarılanma ömrü 80 dakikadır.

1.12.4. Endikasyonları:

Ampisilin, kronik bronşitlerin akut alevlenmelerinde (özellikle *H. influenzae*'nin eradikasyonu için), ayrıca bu bakterinin diğer duyarlı bakterilerle

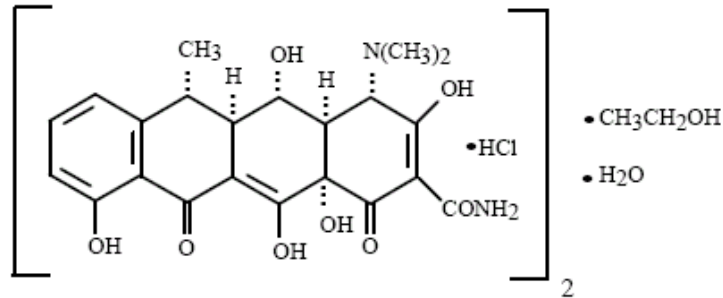
birlikte çocuklarda ve bebeklerde etken olduğu akut otitis media'da, E. coli ve duyarlı diğer bakterilere (P. mirabilis ve enterococcus'lar gibi) bağlı üriner enfeksiyonlarda kullanılır. Ampisilinin menenjit tedavisinde yüksek dozda (400 mg/kg) ve i.v. kullanılması tavsiye edilmektedir. İdrar yolu enfeksiyonlarında bakteremi varsa, ampisilinin yine yüksek dozda (genellikle günde 6-12 g) ve i.v. kullanılması tavsiye edilir.

Ampisilinin tavsiye edilen dozu genelde enfeksiyonun ciddiliğine göre 50-400 mg/kg'dır. Ampisilinin sık görülen özel bir yan etkisi enfeksiyöz mononükleozlu hastalarda ve kronik lenfatik lösemi, böbrek yetmezliği ve hiperürisemi olgularında ve allopurinol adlı ürisemiye düşürücü ilaç alanlarda sık olarak ciltte mukulopopüler döküntü oluşturmaktadır (3).

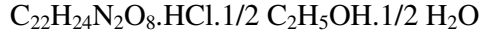
1.13 Doksisiklin Hiklat

1.13.1 Kimyasal Yapısı:

Doksisiklin hiklatın kimyasal formülü Şekil 4'de verilmiştir.



Şekil 4. Doksisiklin hiklatın kimyasal formülü



1.13.2 Farmakolojik Özellikleri:

Doksisiklin hiklat (hidroklorür monohidrat), tetrasiklin grubuna dahil, geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Oksitetrasiklinden sentetik olarak türetilmiştir. Açık sarı kristalize bir toz şeklinde olup yüksek derecede lipofiliktir, kalsiyuma bağlanma eğilimi ise düşüktür.

Doksisiklin hiklat, temel olarak bakteriyostatik etkili olup, antimikrobiyal etkisini mikroorganizmaların protein sentezini inhibe etmek suretiyle gösterir. Çok sayıda Gram-pozitif ve Gram-negatif mikroorganizmaya karşı aktivitesi vardır. Oral uygulamadan sonra, hemen hemen tümüyle absorbe edilir. 200 mg'lık tek bir dozu takiben 2 saat içinde zirve serum değerlerine ulaşır ve 24 saat süreyle serumda terapötik etkinliği olan konsantrasyonlarda bulunur. Normal böbrek fonksiyonlarına sahip insanlarda idrar yoluyla 72 saatte %40'ı itrah edilir. Serum yarı ömrü 18-22 saattir. Hemodiyalizde veya böbrek fonksiyonu bozuk olan vakalarda serum yarı ömründe değişme saptanmamıştır.

1.13.3 Endikasyonları:

Doksisiklin hiklat, duyarlı mikroorganizmaların etken olduğu ürogenital sistem, solunum sistemi, yumuşak doku, gastrointestinal, oftalmik ve diğer çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Aşağıdaki mikroorganizmaların etken olduğu enfeksiyonlarda doksisiklin endikedir: Rickettsiae (Kayalık Dağlar benekli humması,

Q ateşi, tifüs ateşi ve tifüs grubu hastalıklar), *Mycoplasma pneumoniae* (PPLO, Eaton ajanı), psittakoz ve ornitroz etkenleri (*Chlamydia psittaci*), Lenfogranuloma venereum ve Granulomainguinale etkenleri, *Borrelia recurrentis*. Gram-negatif bakteriler: *Haemophilus ducreyi* (yumuşak şankr), *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Bartonella bacilliformis*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter fetus*, *Brucella* türleri (streptomisin ile beraber kullanılır), *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Aşağıdaki mikroorganizmaların duyarlı şuşlarının etken olduğu enfeksiyonlarda doksisiklin hiklat kullanılır. Gram-negatif bakteriler: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella* türleri, *Mima* türleri, *Herellea* türleri, *Haemophilus influenzae* (solunum yolu enfeksiyonları), *Klebsiella* türleri (solunum yolu ve üriner sistem enfeksiyonları). Gram-pozitif bakteriler: *Streptokok* türleri (organizmanın duyarlı olduğu gösterilirse), *Diplococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* solunum yolu, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları).

Aşağıdaki mikroorganizmaların etken olduğu enfeksiyonlarda, penisilinin kontrendike olması durumunda doksisiklin alternatif tedavi olarak uygulanabilir: *Treponema pallidum*, *Treponema pertenue*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* türleri, *Bacillus anthracis*, *Fusobacterium fusiforme* (Vincent enfeksiyonu), *Actinomyces* türleri.

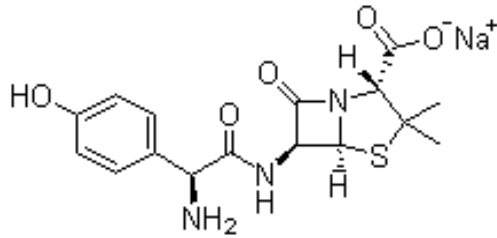
Diğer kullanım alanları; akut intestinal amibiyaziste, amibisidlere yardımcı olarak; ağır akne vakalarında yardımcı tedavi olarak, trahom; inklüzyon konjunktiviti; *Chlamydia trachomatis*'in etken olduğu erişkinlerdeki komplikasyonsuz üretral, endoservikal veya rektal enfeksiyonlar, *Chlamydia trachomatis*'in etken olduğu akut epididimo-orşit, *Chlamydia trachomatis*'in ve

Ureaplasma urealyticum'un etken olduğu nongonokokal üretrit; erişkinlerdeki komplikasyonsuz gonokok enfeksiyonları (erkeklerdeki anorektal enfeksiyonlar hariç) ve Neisseria gonorrhoeae'nin etken olduğu akut epididimo-orşit.

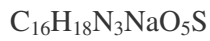
1.14 Amoksisilin Sodyum

1.14.1 Kimyasal Yapısı:

Amoksisilin sodyumun kimyasal formülü şekil 5’de verilmiştir.



şekil 5. Amoksisilin sodyumun kimyasal formülü



1.14.2 Farmakolojik  zellikleri:

Amoksisilin, ampisilin benzeri semi-sentetik geniş spektrumlu bir penisilindir. İntramusküler uygulama sonrası zirve serum konsantrasyonları ve serum düzeyi

profili oral uygulama ile yaklaşık olarak aynıdır. 250 mg amoksisilinin intramusküler olarak uygulanmasını takiben serum zirve konsantrasyonu 6.7 mcg/mL'dir ve bu değere oral uygulamada olduğu gibi 1-2 saat içinde ulaşılır. İntravenöz uygulamadan sonra ulaşılan serum zirve konsantrasyonları, enjeksiyonun uygulama hızına bağlıdır. 250 mg'lık dozun 3 saniyede uygulanmasından sonra 63 mcg/mL; 500 ve 1000 mg'lık dozların bolus olarak 10 saniye içinde uygulanmasından sonra sırası ile 62.5 ve 143 mcg/mL'lik zirve konsantrasyonlarına ulaşılır. IV infüzyon şeklinde amoksisilin uygulanan pediatrik hastalarda zirve serum düzeyleri ve eğri altında kalan alan, dozla paralel olarak artar. Vücut doku ve sıvılarının çoğuna kolaylıkla yayılır. Ancak, beyin ve beyin-omurilik sıvısına sadece meninksler iltihaplı olduğu zaman geçebilir. Amoksisilinin proteine bağlanma oranı düşük olup yaklaşık %20'dir. Amoksisilinin büyük kısmı değişmeden idrarla atılır; birlikte probenesid uygulaması amoksisilin atılımını geciktirir.

Amoksisilin bakterisid etkisini bakteri hücre duvarının mukopeptid biyosentezini inhibe ederek gösterir. İn vitro koşullarda duyarlı olan bakteriler, alfa ve beta-hemolitik streptokoklar, *Streptococcus pneumoniae*, penisilinaz salgılamayan stafilokoklar, *Streptococcus faecalis*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli* ve *Proteus mirabilis*'dir Penisilinaza dayanıklı olmadığından penisilinaz üreten bakterilere ve özellikle dirençli stafilokoklara karşı etkili değildir. *Pseudomonas*'ın tüm suşları ile *Klebsiella* ve *Enterobacter* suşlarının çoğu amoksisiline dirençlidir.

1.14.3 Endikasyonları:

Amoksisiline duyarlı mikroorganizmaların etken olduğu tonsillit, orta kulak iltihabı, sinüzit, farenjit, akut ve kronik bronşit, pnömoni gibi üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları; sistit, üretrit, piyelonefrit adneksit, puerperal enfeksiyonlar, septik abortus, gonore, prostatit gibi ürogenital sistem enfeksiyonları ile sepsis ve bakteriyel menenjitin, selülit, apse, erizipel, impetigo, akne gibi deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde endikedir. Gerektiğinde enfeksiyonun yerine göre gerekli cerrahi müdahaleler uygulanmalıdır. Amoksisilin bakteriyel endokardit profilaksisinde de endikedir. Etken mikroorganizmaların ve amoksisiline duyarlılığın belirlenmesi için bakteriyolojik inceleme yapılmalıdır. Ancak tedaviye, duyarlılık testi sonuçları beklenmeden de başlanabilir.

BÖLÜM II

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Kullanılan Araç, Gereç ve Kimyasal Maddeler

2.1.1 Kullanılan Araçlar

Spektrofotometre	Shimadzu U.V-160 U.V visible recording spectrophotometer
IR Spektrofotometre	Shimadzu IR-470
Gama sayıcı	SESA Uniscaler- I/S
Gama kamera	
Elektroforez cihazı	Gelman Deluxe
Analitik Terazı	Precisa 205 ASCS
Etüv	Nüve FN300
Silikajel kaplı plaklar	Polygram Sil, N-HR /UV ₂₅₄ für die Dünnschicht Chromatografie, ((Macherey-Nagel Co.)
U.V Lamba	Universal-UV-lampe, CAMAG, 254/366 nm.
İndikatör kağıdı	Universal –Indikatorpapier pH 1-14 (Macherey-Nagel)
Cam malzemeler	Teknik cam
Vorteks	Velp Scientifica
Santrifüj	Janetzki T32c
Çalkalayıcı	Minishaker, B.Braun

Otomatik pipet	Socorex (20-200 µL)
----------------	---------------------

2.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Ampisilin sodyum	Bilim İlaç Sanayi
Amoksisilin sodyum	Bilim İlaç Sanayi
Doksisiklin hiklat	Deva ilaç sanayi
Kalay klorür ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Merck
Sodyum Hidroksit	Horasan Kimya
Butanol	Merck
Etanol	TEKEL
Hidroklorik Asit	Atabay
Aseton	Uparc
Teknesyum-99m	$\text{Mo}^{99}\text{-Tc}^{99\text{m}}$ jeneratör ürünü, Monrol
Membran filtre (0,22µm)	

2.2 ETKİN MADDELERİN KALİTE KONTROLLERİ

İlaç sanayiinden temin edilen maddelerin saflığını tayin etmek IR spektrofotometresi ve UV spektrofotometresi kullanıldı.

Seçilen etkin maddelerin ince tabaka kromatografisi ile R_f değerleri hesaplandı. Etkin maddelerin çözündükleri ortamlardaki çözeltileri hazırlanarak ince tabaka kromatografisi ile R_f değerleri hesaplanmıştır ve literatür ile karşılaştırıldı.

(43). İnce tabaka kromatografisi için sabit faz olarak silikajel kaplı plastik plaklar kullanıldı. Mobil faz olarak etkin maddelere göre farklı çözelti sistemleri kullanıldı.

2.2.1 Ampisilin Sodyumun Saflık Kalite Kontrolleri

Ampisilin sodyumun saflık analizi için IR spektrofotometresi ve UV spektrofotometresi çekildi.

2.2.1.1 Ampisilin Sodyumun UV Spektrumu

Ampisilin sodyumun 10 µg/mL konsantrasyonda distile su içindeki çözeltisi ile U.V spektrumu alındı. $\lambda_{\max}$ 'u bulundu.

2.2.1.2 Ampisilin Sodyumun Fourier Transform Infrared Spektrumu(FTIR)

Ampisilin sodyumun FTIR spektrumu, potasyum bromür diski içinde 4000-400 cm^{-1} dalga boyu arasında taranarak çizildi.

2.2.1.3 Ampisilin Sodyumun Kromatografik Teşhisi

Ampisilin sodyumun ince tabaka kromatografisiyle Rf değerleri hesaplandı. Sabit faz olarak silikajel plastik plaklar kullanıldı. Bunun için 10 mg ampisilin sodyum 1mL distile suda çözündürüldükten sonra silikajel plastik kromatografi plaklarına tatbik edildi. Kuruma işleminden sonra mobil fazı içeren kromatografi

tanklarına yerleştirildi ve sürüklenmesi sağlandı. Mobil faz olarak aşağıdaki çözelti sistemleri kullanılmıştır. Sürüklenme işlemi tamamlandıktan sonra tanktan çıkarılan plaklar kurutuldu. Kuruyan plaklar UV lamba altında incelendi ve etkin maddeye ait lekeler çizildikten sonra Rf değerleri hesapladı (43).

Butanol:etanol:su (35:35:30) (v:v:v)

Butanol:piridin:su (35:35:30) (v:v:v)

Butanol:asetik asitl:su (40:10:50) (v:v:v)

Ampisilin sodyumun kromatografik teşhisinde silikajel GF₂₅₄ kaplı plaklar aseton, butanol-etanol-su (35:35:30) (v:v:v) karışımında sürüklendi. Ayrıca selüloz F₂₅₄ kaplı plaklara tatbik edilen ampisilin asetonda kromatografileri yapıldı. UV lamba altında plaklardaki lekeden ampisilin sodyum teşhis edildi ve Rf değerleri bulundu.

2.3 ETKİN MADDELERİN RADYOAKTİF OLARAK İŞARETLENMESİ

Radyoaktif işaretleme amacıyla radyonüklit olarak Teknesyum-99m (Tc-99m) kullanıldı. Etkin maddelerin radyoaktif olarak işaretleme için direk işaretleme metodu kullanıldı. Bu metoda göre; etkin maddeler literatürde belirtilen ortamlar içinde çözündürüldü. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda jeneratörden sağılan Tc-99m kurşun zırh içinde Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Radyofarmasi Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi ve kalay klorür (SnCl₂) çözeltisi ile indirgenerek çalışmada kullanılan etkin madde çözeltileriyle birleştirildi.

Radyoaktif işaretlemelerin kalite kontrolü için ince tabaka kromatografisi ve kağıt elektroforezi kullanıldı.

Etkin maddelerin radyoaktif olarak Tc-99m ile işaretlenmesiyle elde edilen çözelti sterilizasyon amacıyla 0,22 µm lik membran filtrelerden süzüldü.

Kalay klörür (SnCl_2) çözeltisinin asitli ortamda hazırlanması

10 mg. $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hassas terazide tartılıp 10 mL 0.1 N hidroklorik asit (HCl) çözeltisinde çözündürüldü. Çözündürmek için vorteksdan yararlanıldı. Böylece 1mg/mL konsantrasyonda kalay klörür çözeltisi elde edildi.

2.3.1 AMPİSİLİN SODYUMUN TEKNESYUM-99m İLE İŞARETLENMESİ

10 mg apisilin sodyum 1 mL distile suda çözündürüldü. 200 µl asitli ortamda hazırlanmış kalay klörür (SnCl_2) çözeltisi indirgeme ajanı olarak ortama ilave edildi. 2 mCi Tc-99m çözeltisi eklendi ve yaklaşık 20 dakika beklemeye bırakıldı. Hazırlanan çözelti sterilizasyon amacıyla 0.22 µm'lik membran filtreden süzüldü. İşaretleme verimi ince tabaka kromatografisi ve kağıt elektroforezi ile hesaplandı.

2.3.1.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

Silikajel plastik plaklar sabit faz olarak kullanıldı. Plaklar önceden 1x8 cm boyutlarında olacak şekilde kesildi. Silikajel plastik plaklara tatbik edilen işaretli

Çözelti kuruduktan sonra mobil fazların bulunduğu kromatografi tanklarında sürüklenmeye bırakıldı. Sürüklenme işlemi tamamlanan plaklar kromatografi tanklarından çıkartılarak kurumaya bırakıldı. Kuruyan plaklar 0.5 cm'lik uzunluklarda kesildikten sonra gama sayıcıda aktivite sayımları yapıldı. İşaretlenen bileşiklere ait radyokimyasal safsızlıkların oranı bulunarak işaretleme verimi hesaplandı.

İnce tabaka kromatografisinde mobil faz olarak aseton, serum fizyolojik ve butanol:etanol:su (35:35:30) (v:v:v) karışımı kullanıldı. Sabit faz olarak silikajel kaplı plastik plaklar kullanıldı.

2.3.1.2 Kağıt Elektroforezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

Kağıt elektroforezinde mobil faz olarak pH 7.4 fosfat tamponu kullanıldı. Sabit faz olarak Whatman 3MM kağıdı kullanıldı. 150 voltta 30 dakika süreyle çalışıldı.

pH 7.4 Fosfat Tamponunun Hazırlanması

Kağıt elektroforezinde kullanılması için pH 7.4 fosfat tamponu hazırlandı. 1000 mL pH 7.4 fosfat tamponu için;

250 mL KH_2PO_4 (potasyum dihidrojen fosfat)

195.5 mL NaOH (sodyum hidroksit)

qsp. 1000 mL distile su

2.3.1.3 Kalay Klorür Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

Kalay klorür miktarının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere kalay klorür miktarları 50µl, 100 µl, 200 µl, 400 µl 800 µl olarak seçildi.

2.3.1.4 İnkübasyon Zamanının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere inkübasyon süreleri 3 dakika, 5 dakika, 10 dakika, 15 dakika, 20 dakika, 25 dakika ve 30 dakika olarak seçildi.

2.3.1.5 Aktivite Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

Aktivite miktarının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere aktivite miktarları 1mCi, 2 mCi, 3 mCi, 4 mCi ve 5 mCi olarak seçildi.

2.3.1.6 İn Vitro Stabilite Çalışması

İn vitro stabilite çalışması için ampisilin sodyumun ^{99m}Tc ile işaretleme prosedürü tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında bekletilen çözeltiden, başlangıçta, 1 saat sonra, 2 saat sonra, 3 saat sonra, 4 saat sonra, 5 saat sonra ve 6 saat sonra olmak üzere farklı zamanlarda numuneler alınıp ince tabaka kromatografisi kullanılarak radyokimyasal safsızlık oranları hesaplandı. Zamanın işaretleme verimine etkisi araştırıldı.

2.3.1.7 İn vivo Görüntüleme Çalışması

İn vivo çalışmalara için sıçan kullanıldı. Bu çalışmalar için Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Hayvan Etik Kurul'undan izin alındı.

Hayvanlarda enfeksiyon oluşturmak için; 0.1 mL *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Eschericia coli* (*E.coli*) (0.1 mL; 4×10^9 cfu) belirlenen dozda sol bacak kasına enjekte edildi. Enjeksiyondan 24 saat sonra tüm hayvanlarda enjeksiyon yerinde şişlik, kızarıklık, ateş ile abse oluştuğu gözlemlendi. Hayvanların kuyruk veninden 15 MBq ^{99m}Tc -Ampisilin sodyum (^{99m}Tc -APBC) uygulandı. Radyoaktif maddenin enfeksiyon odağında zamana göre dağılımını incelemek amacıyla enjeksiyondan 2, 3 ve 4 saat sonra Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda gama kamera ile görüntüleri alındı.

Bakteri süspansiyonları Ege Üniversitesini Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji laboratuvarında üretildi.

2.3.2 DOKSİSİKLİN HİKLATIN TEKNESYUM-99m İLE İŞARETLENMESİ

10 mg. Doksisisiklin hiklat 1 mL distile suda çözündürüldü. 200 µl asitli ortamda hazırlanmış kalay klorür (SnCl_2) çözeltisi indirgeme ajanı olarak ortama ilave edildi. 2 mCi serbest ^{99m}Tc ilave edildi ve yaklaşık 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan çözelti sterilizasyon amacıyla 0.22 µm'lik membran filtreden süzüldü. İşaretleme verimi ince tabaka kromatografisi ve kağıt elektroforezi ile hesaplandı.

2.3.2.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

İnce tabaka kromatografisinde Mobil faz olarak aseton, serum fizyolojik ve metanol:amonyak (100:1,5) (v:v) sistemleri kullanıldı. Sabit faz olarak silikajel plastik plaklar kullanıldı.

2.3.2.2 Kağıt Elektroforezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

Kağıt elektroforezinde mobil faz olarak pH 7.4 fosfat tamponu kullanıldı. Sabit faz olarak Whatman 3MM kağıdı kullanıldı. 30 dakika süreyle 150 voltta çalışıldı.

2.3.2.3. Kalay Klorür Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

Kalay klorür miktarının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere kalay klorür miktarları 50µl, 100 µl, 200 µl, 400 µl 800 µl olarak seçildi.

2.3.2.4 İnkübasyon Zamanının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere inkübasyon süreleri 3 dakika, 5 dakika, 10 dakika, 15 dakika, 20 dakika, 25 dakika ve 30 dakika olarak seçildi.

2.3.2.5 İn Vitro Stabilite Çalışması

İn vitro stabilite çalışması için doksisisiklin hiklatın ^{99m}Tc ile işaretlenme prosedürü tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında bekletilen çözeltiden başlangıçta, 1 saat sonra, 2 saat sonra, 3 saat sonra, 4 saat sonra, 5 saat sonra ve 6 saat sonra olmak üzere numuneler alınıp ince tabaka kromatografisi kullanılarak radyokimyasal safsızlık oranları hesaplandı. Zamanın işaretleme verimine etkisi araştırıldı.

2.3.3 AMOKSİSİLİN SODYUMUN TEKNESYUM-99m İLE İŞARETLENMESİ

10 mg Amoksisilin sodyum ve 3 mg askorbik asit 1 mL distile suda çözündürüldü. 200 µl asitli ortamda hazırlanmış kalay klorür (SnCl_2) çözeltisi indirgeme ajanı olarak ortama ilave edildi. 2 mCi $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ilave edildi ve yaklaşık 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan çözelti sterilizasyon amacıyla 0.22 µm lik membran filtreden süzüldü. İşaretleme verimi ince tabaka kromatografisi ve kağıt elektroforezi ile hesaplandı.

2.3.3.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

İnce tabaka kromatografisinde mobil faz olarak aseton, serum fizyolojik ve butanol:etanol:su (35:35:30) (v:v:v) karışımı kullanıldı. Sabit faz olarak silikajel plastik plaklar kullanıldı.

2.3.3.2 Kağıt Elektroforezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

Kağıt elektroforezinde mobil faz olarak pH 7.4 fosfat tamponu kullanıldı. Sabit faz olarak Whatman 3MM kağıdı kullanıldı.

2.3.3.3 İn Vitro Stabilite Çalışması

İn vitro stabilite çalışması için amoksisilin sodyumun ^{99m}Tc ile işaretleme prosedürü tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında bekletilen çözeltiden başlangıçta, 1 saat sonra, 2 saat sonra, 3 saat sonra, 4 saat sonra, 5 saat sonra olmak üzere numuneler alınıp ince tabaka kromatografisi kullanılarak radyokimyasal safsızlık oranları hesaplandı. Zamanın işaretleme verimine etkisi araştırıldı.

2.4 Araştırmanın yeri ve zamanı

İn vitro çalışmaların tamamı Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Radyofarmasi Anabilim Dalındaki Radyofarmasi Araştırma laboratuvarında yapıldı.

Görüntüleme çalışmaları Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim dalında gerçekleştirildi.

2.5 Etik açıklamalar

Seçilen model maddede *in vivo* çalışmaların yapılabilmesi için gerekli olan “hayvan etik kurulu raporu” Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi EGE

ÜNİVERSİTESİ ECZACILIK FAKÜLTESİ DENEY HAYVANLARI ETİK
KURULU'ndan alınmıştır.

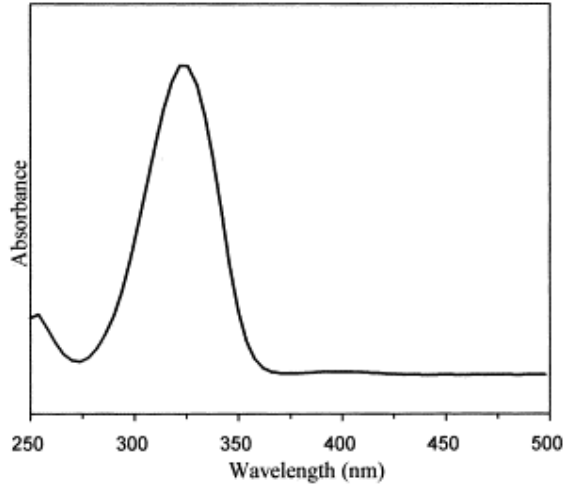
BÖLÜM III

3. BULGULAR

3.1 Ampisilin Sodyumun Saflık Kalite Kontrolleri

3.1.1 Ampisilin Sodyumun UV Spektrumu

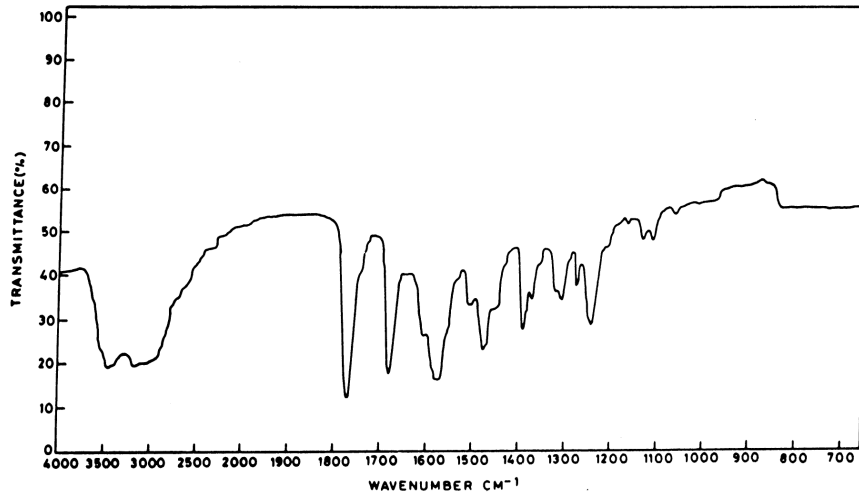
Deneyel kısım 2.1.1.1'de anlatıldığı şekilde U.V spektrumu alındı ve $\lambda_{\max}$ 'u 268 nm olarak bulundu (Şekil 6).



Şekil 6. Ampisilin sodyumun distile sudaki UV spektrumu.

3.1.2 Ampisilin Sodyumun Infrared Spektrumu

Deneysel kısım 2.1.1.2’de anlatıldığı şekilde IR spektrumu alındı ve elde edilen spektrumda absorpsiyon bantları 1776.1 (C=O), 3514.5, 3454.5 (O-H), 3620.7, 3610.6 (N-H) olarak bulundu ve Şekil 7’de gösterildi.



Şekil 7. Ampisilin sodyumun FTIR spektrumu

3.2 Ampisilin Sodyumun Kromatografik Teşhisi

Deneysel kısım 2.2.1.3’te anlatıldığı şekilde yapılan kromatografilerde en iyi ayırım aseton, butanol-etanol-su (35:35:30) (v:v:v) karışımında saptandı. Rf değeri 0.7 olarak bulundu. Literatürle uyumlu olduğu görüldü (43).

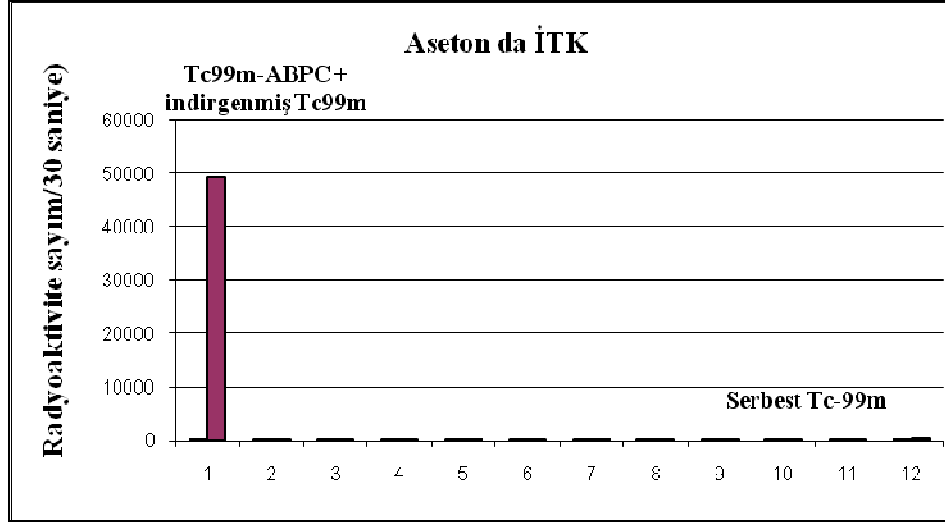
Ayrıca asetonda kromatografisi gerçekleştirildi ve Rf değeri 0.0 olarak bulundu. Ampisilin sodyumun U.V lambası altında gösterdiği leke tespit edildi.

3.3 Ampisilin Sodyumun ^{99m}Tc İle İşaretlenmesi

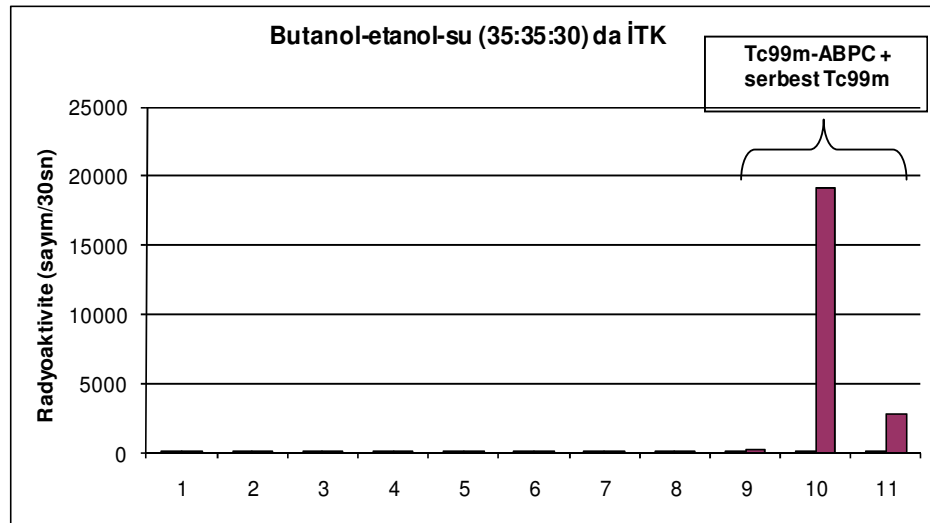
İşaretlenen ampisilin sodyumun asetonda sürüklendiği zaman ^{99m}Tc -Ampisilin + İndirgenmiş ^{99m}Tc için Rf değeri 0.0 olarak, $^{99m}\text{TcO}_4^-$ için ise Rf değeri 1.0 olarak bulundu. Butanol-etanol-su (35:35:30) (v:v:v) karışımında sürüklenen işaretli bileşikte indirgenmiş ^{99m}Tc için Rf değeri 0.0 olarak bulundu, ^{99m}Tc - Ampisilin bu mobil fazdaki Rf'i ise 0.9 bulundu (Tablo 6). Bu kromatografi sonuçlarına göre serbest $^{99m}\text{TcO}_4^-$ oranı ve indirgenmiş ^{99m}Tc oranı % 5'in altında, ideal formülasyon oranı %95 in üzerinde olarak bulundu. ^{99m}Tc -Ampisilin sodyumun asetonda yapılan ince tabaka kromatografisiyle elde edilen işaretlenme verimi şekil 8'de gösterilmiştir. ^{99m}Tc -Ampisilin sodyumun butanol:etanol:su (35:35:30) (v:v:v) sistemindeki işaretlenme verim grafiği Şekil 9'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Ampisilin sodyumun Tc-99m ile işaretlenmesinde ince tabaka kromatografisinden elde edilen Rf değerleri.

Mobil faz	Hidrolize (İndirgenmiş) Tc- 99m	Serbest (free) Tc-99m	^{99m}Tc -Ampisilin sodyum
Aseton	0.0	1.0	0.0
Serum fizyolojik	0.0	1.0	0.0
Butanol-etanol- su (35:35:30)(v:v:)	0.0	1.0	0.9-1.0



Şekil 8. ^{99m}Tc -Ampisilin sodyumun asetondaki işaretlenme verim grafiği

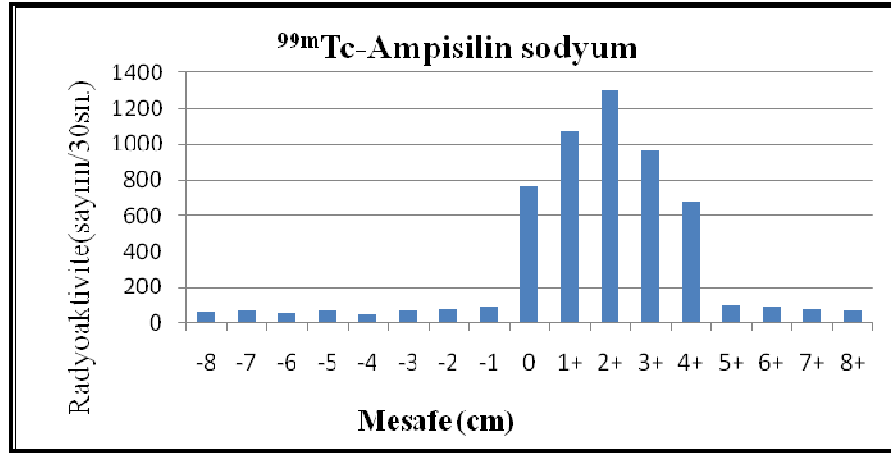


Şekil 9. ^{99m}Tc -Ampisilin sodyumun butanol:etanol:su (35:35:30) sistemindeki işaretlenme verim grafiği

3.3.1 Kağıt Elektroföresi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

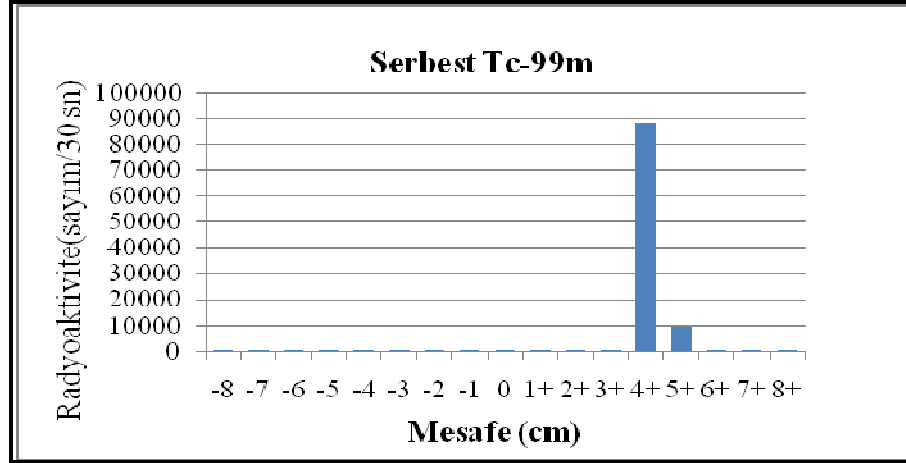
Deneyisel kısımda belirtildiği gibi kağıt elektroföresi pH 7.4 fosfat tamponu ile 150 voltta 30 dakika süreyle yapıldı. Buna göre serbest teknesyum perteknetat

(TcO_4^-) negatif (-) yüklü olduğu için pozitif (+) yöne doğru hareket etti. İndirgenmiş $^{99\text{m}}\text{Tc}$ yüksüz olduğu için tatbik yerinde kaldı. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - Ampisilin ise pozitif (+) yöne doğru hareket etti (Şekil 10).

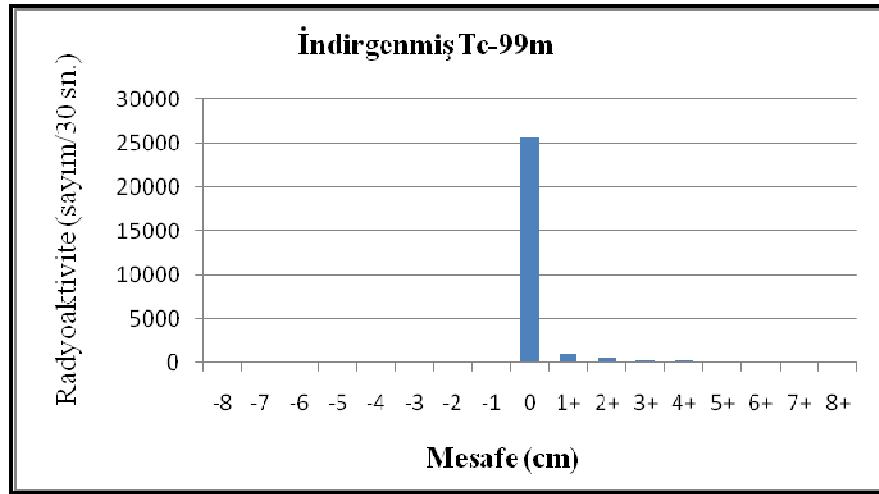


Şekil 10. İşaretlenen ampisilin sodyumun ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Ampisilin sodyum) elektroforez grafiği.

Kağıt elektroforezinde mobil faz olarak pH 7.4 fosfat tamponu kullanıldı. Sabit faz olarak Whatman 3MM kağıdı kullanıldı. Serbest teknesyumun (TcO_4^-) kağıt elektroforezi şekil 11’de, indirgenmiş teknesyumun ki ise şekil 12’de gösterilmiştir.



Şekil 11. Serbest Tc-99m in pH 7.4 fosfat tamponunda elektroforez grafiği



Şekil 12. İndirgenmiş Tc-99m'in pH 7.4 fosfat tamponunda elektroforez grafiği

3.3.2 Kalay Klorür Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

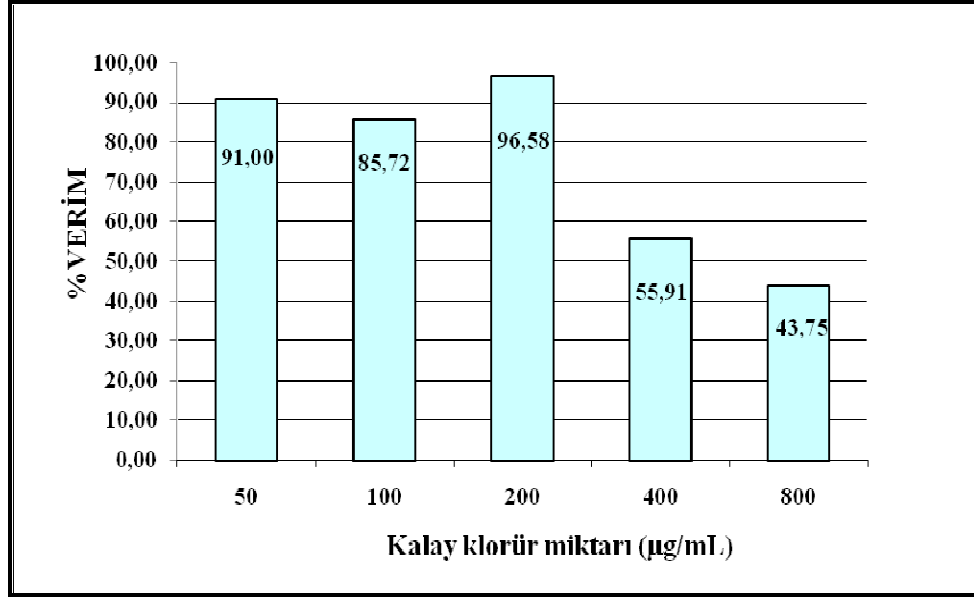
Kalay klorür miktarının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere 50µl, 100 µl, 200 µl, 400 µl 800 µl kalay klorür kullanıldı.

Tablo 7’de kalay klörür miktarının işaretleme verimi üzerine etkisi gösterildi. Serbest teknesyum ve indirgenmiş teknesyum miktarları bulundu ve verimler hesaplandı.

Tablo 7. Ampisilin sodyumun Tc-99m ile işaretlelenmesinde kalay klörür konsantrasyonunun etkisi

Kalay klörür miktarı	% serbest Tc	% indirgenmiş Tc	% safsızlık	% Verim
50 µl	1,27	7,73	9,00	91,00
100 µl	0,95	13,33	14,28	85,72
200 µl	1,45	1,97	3,42	96,58
400 µl	0,72	43,38	44,09	55,91
800 µl	1,75	54,50	56,25	43,75

Şekil 13’de kalay klörür miktarının verim üzerine etkisi gösterildi.

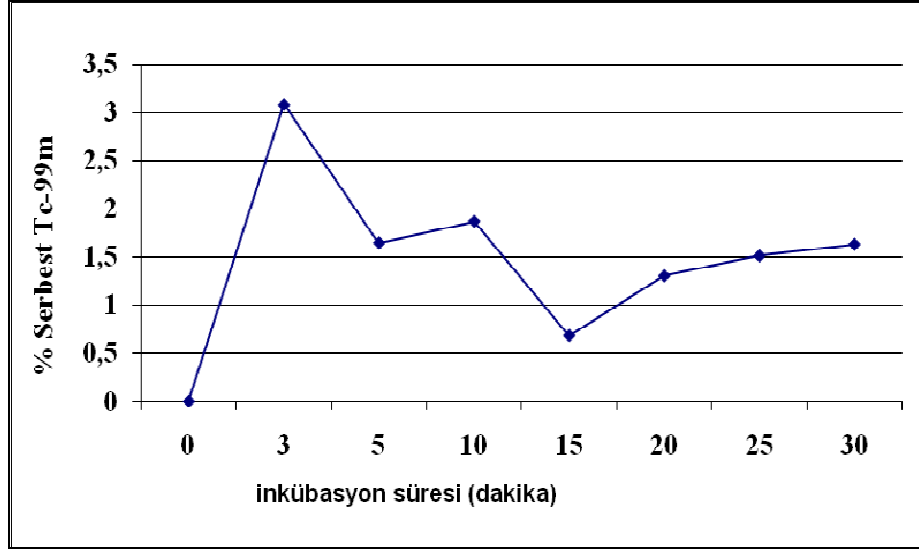


Şekil 13. Kalay klorür miktarının işaretleme verimi üzerine etkisi

200 microlitre kalay klorür miktarının işaretleme verimi için ideal oran olduğu bulundu.

3.3.3 İnkübasyon Zamanının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere inkübasyon süreleri 3 dakika, 5 dakika, 10 dakika, 15 dakika, 20 dakika, 25 dakika ve 30 dakika olarak seçildi. Şekil 14 ve 15'te % safsızlık (serbest Tc-99m ve indirgenmiş Tc-99m) oranının zamana bağlı değişimleri gösterildi. İdeal inkübasyon süresi safsızlığın en az olduğu 15 dakika olarak gözlendi.

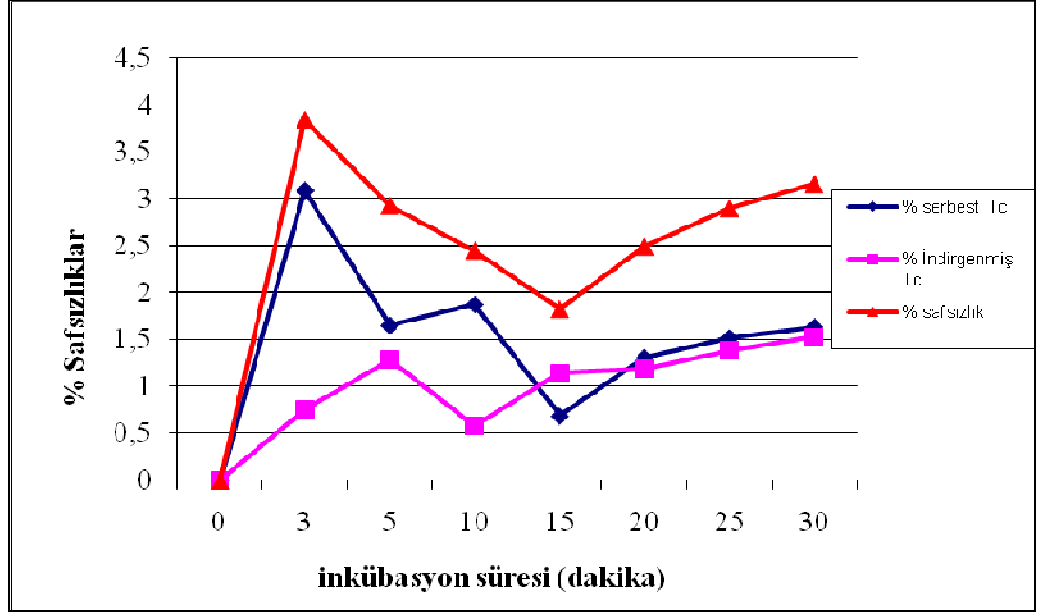


Şekil 14. İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi. (Serbest Tc-99m miktarı)



Şekil 15. İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi. (İndirgenmiş Tc-99m miktarı)

Tablo 8 ve Şekil 16’da toplam % safsızlık oranının zamana bağlı değişimi gösterilmiştir.



Şekil 16. İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi. (% safsızlık)

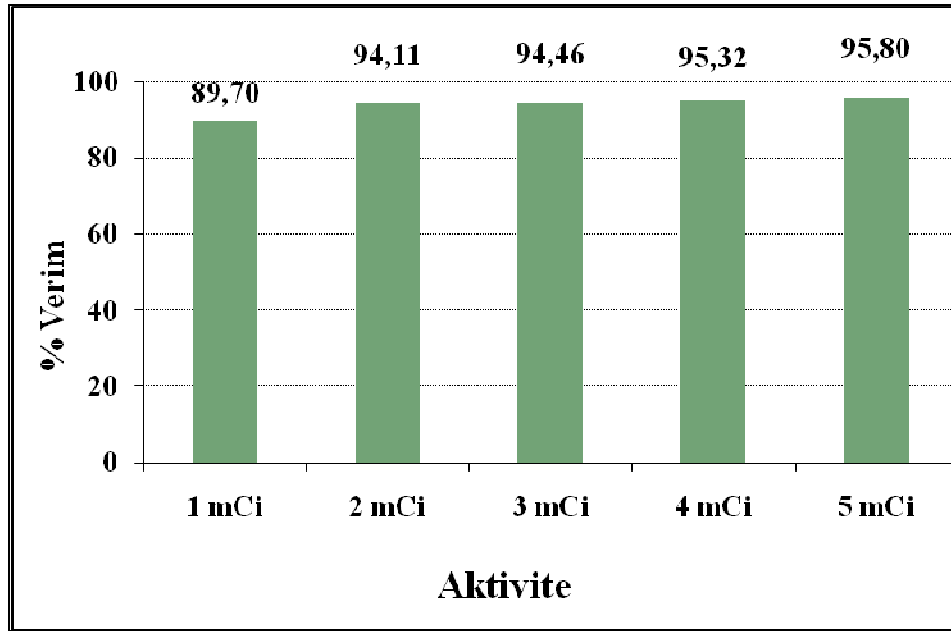
Tablo 8. İnkübasyon zamanının işaretleme % verimi üzerine etkisi

İnkübasyon süresi dakika	% VERİM
0	0
3	96,16
5	97,07
10	97,55
15	98,18
20	97,51
25	97,11
30	96,85

Aktivite miktarının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere aktivite miktarları 1mCi, 2 mCi, 3 mCi, 4 mCi ve 5 mCi olarak seçildi.

3.3.4 Aktivite Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

Aktivite miktarının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere aktivite miktarları 1mCi, 2 mCi, 3 mCi, 4 mCi ve 5 mCi olarak seçildi. Aktivite miktarının işaretleme verimi üzerine etkisi Şekil 17’de gösterilmiştir. İdeal aktivitenin 2mCi ve üzerinde olduğu ve işaretlenme veriminin de % 90’ın üzerinde olduğu bulundu.



Şekil 17. Aktivite miktarının işaretleme verimi üzerine etkisi

3.3.5 İn Vitro Stabilité Çalışması

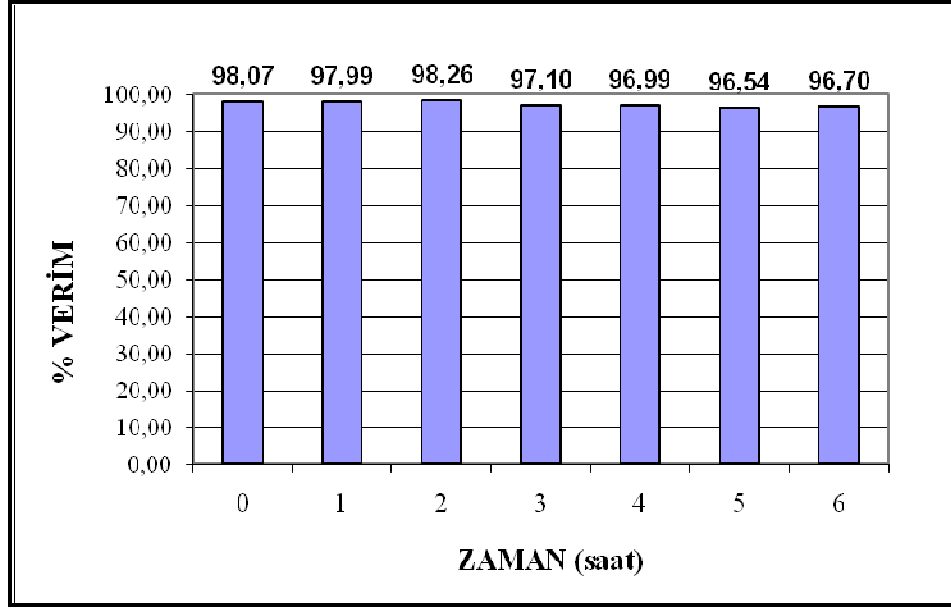
İn vitro stabilite çalışması için ampisilin sodyumun Tc-99m işaretlenme proseduru tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında bekletilen çözeltiden başlangıçta, 1

saat sonra, 2 saat sonra, 3 saat sonra, 4 saat sonra, 5 saat sonra ve 6 saat sonra olmak üzere numuneler alınıp ince tabaka kromatografisi kullanılarak radyokimyasal safsızlık oranları hesaplandı. Zamanın işaretleme verimine etkisi araştırıldı.

Tablo 9’da % serbest Tc-99m ve indirgenmiş Tc-99m oranlarının zamana bağlı değişimleri gösterildi. Şekil 18’de verimin zamana bağlı değişimi gösterildi. Sonuç olarak işaretleme veriminin 6 saatin sonunda % 95’in üzerinde olduğu görüldü.

Tablo 9. Zamanın işaretleme verimi üzerine etkisi.

ZAMAN	% Serbest Tc^{99m}	% İndirgenmiş Tc^{99m}	% Safsızlık	% Verim
Başlangıç	0,60	1,34	1,94	98,07
1. Saat	0,57	1,44	2,01	97,99
2. Saat	0,44	1,29	1,74	98,26
3. Saat	1,59	1,14	2,91	97,10
4. Saat	1,62	1,38	3,01	96,99
5. Saat	1,69	1,77	3,46	96,54
6. Saat	2,07	1,24	3,31	96,70

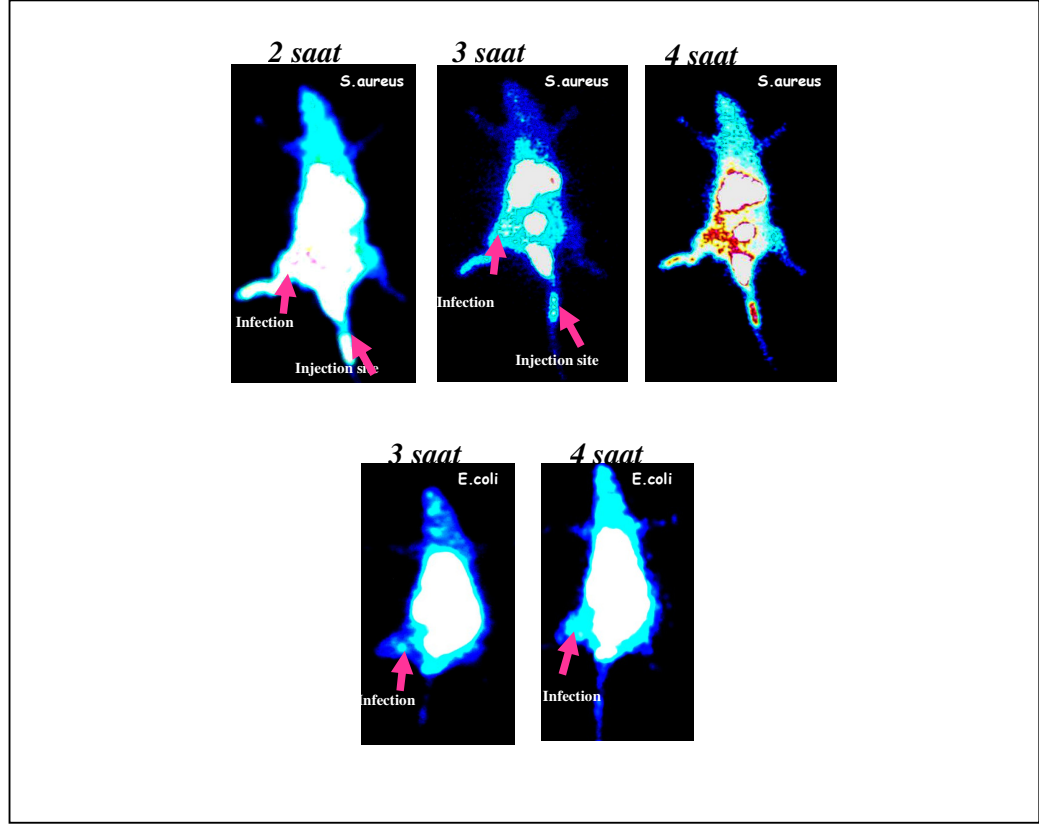


Şekil 18. Zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi (İn vitro stabilite)

3.3.5 In Vivo Çalışmalar

Bölüm 2.3.1.7 'de anlatıldığında gibi yapılan biyodağılım çalışmalarının sonuçları şekil 19 da verilmiştir.

Radyoaktif maddenin enfeksiyon odağında zamana göre dağılımını incelemek amacıyla enjeksiyondan 2, 3 ve 4 saat sonra gama kamera ile görüntüleri alındı.



Şekil 19. *S. aureus* ve *E. coli* ile enfekte olmuş sıçanlara ait gama kamera görüntüleri (2, 3 ve 4 saatler, $^{99m}\text{Tc-ABPC}$).

Alınan gama kamera görüntülerinde ilgi alanları çizilip radyoaktivite oranları hesaplandı. İlgi alanı olarak hedef organ olarak seçtiğimiz enfekte kas ve kontrol olarak enfekte olmayan kastaki radyoaktivite miktarları karşılaştırıldı.

E. coli ile enfekte edilen sıçanlarda enfekte kas/enfekte olmayan kas tutulum oranları enjeksiyondan 2 saat sonra 1.9, 3 saat sonra 2.2 ve 4 saat sonra 2.5 olarak bulundu.

S. aureus ile enfekte edilen sıçanlarda enfekte kas/enfekte olmayan kas tutulum oranları 2. saatin sonunda 3.0, 3. saatin sonunda 3.3 ve dördüncü saatin sonunda 3.4 olarak bulundu. Tablo 10’da hedeforgan /hedef olmayan organ oranları gösterildi.

Tablo 10. ^{99m}Tc-ampisilin sodyumun in vivo tutulum oranları

	Enfekte kas /enfekte olmayan kas tutulum oranları	
	E.coli	S. aureus
2. saat	1.9	3.0
3. saat	2.2	3.3
4.saat	2.5	3.4

3.4 DOKSİSİKLİN HİKLATIN Teknesyum-99m İLE İŞARETLENMESİ

Teknesyum-99m ile işaretlenen doksisisiklin hiklatın işaretleme verimi ince tabaka kromatografisi ve kağıt elektroforezi ile hesaplandı.

3.4.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

İnce tabaka kromatografisinde mobil faz olarak aseton, serum fizyolojik ve metanol:amonyak (100:1,5) (v:v) sistemleri kullanıldı. Sabit faz olarak silikajel plastik plaklar kullanıldı.

İnce tabaka kromatografisinin sonuçlarına göre serbest teknesyum perteknetat (TcO₄⁻) tüm mobil fazlarda fronta ilerledi (Rf:1.0). Doksisisiklin hiklat ve indirgenmiş

teknesyum için Rf: 0.0 bulundu. Doksisiklin hiklatın teknesyum-99m ile işaretlenme verimi $\% 98.202 \pm 0,441$ (n=6) olarak bulundu (Tablo 11).

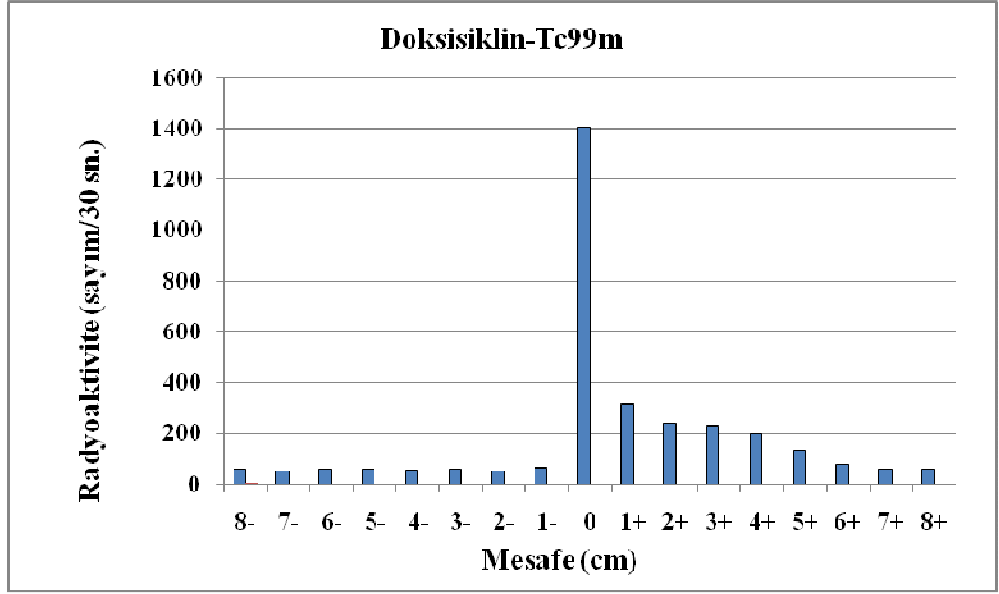
Tablo 11. Doksisiklin hiklatın Tc-99m ile işaretlenmesinde ince tabaka kromatografisinden elde edilen Rf değerleri

Mobil faz	Hidrolize (İndirgenmiş) Tc- 99m	Serbest (free) Tc-99m	^{99m}Tc-Doksisiklin hiklat
Aseton	0.0	1.0	0.0
Serum fizyolojik	0.0	1.0	0.0
Metanol: amonyak (100:1.5) (v:v)	0.0	1.0	0.0-0.1

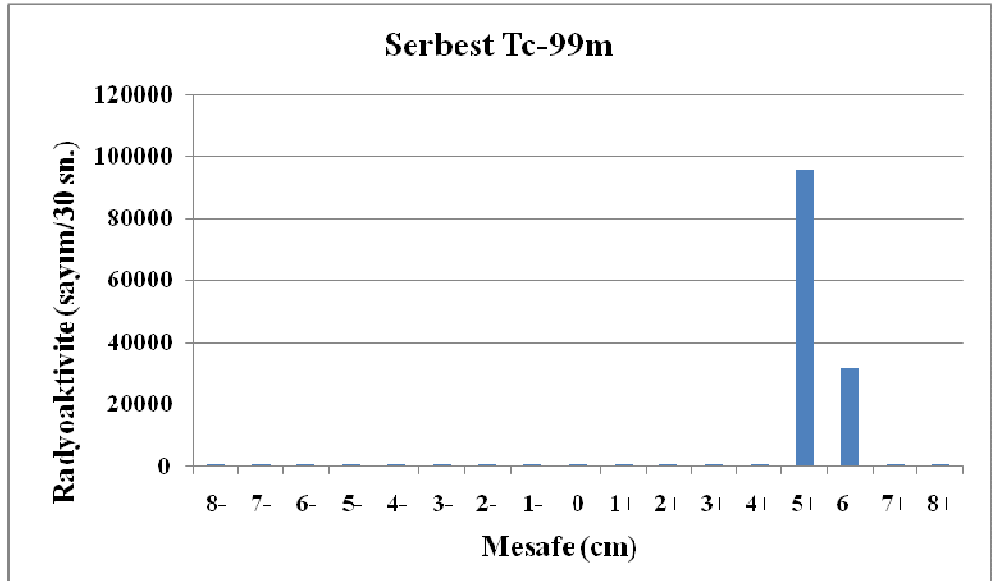
3.4.2 Kağıt Elektrofrezisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

Kağıt elektrofrezisinde mobil faz olarak pH 7.4 fosfat tamponu kullanılmıştır. Sabit faz olarak Whatman 3MM kullanıldı.

Kağıt elektrofrezisinin sonuçlarına göre serbest teknesyum perteknetat negatif yüklü olduğu için pozitif yöne doğru hareket etti. İndirgenmiş teknesyum ve ^{99m}Tc-Doksisiklin hiklat tatbik yerinde kaldı. Doksisiklin hiklatın teknesyum-99m ile işaretlenme verimi $\% 98.202 \pm 0,441$ (n=6) olarak bulundu. ^{99m}Tc-Doksisiklin hiklatın kağıt elektrofrezisi Şekil 20’da gösterildi. Serbest ^{99m}Tc’in kağıt elektrofrezisi Şekil 21’da gösterildi.



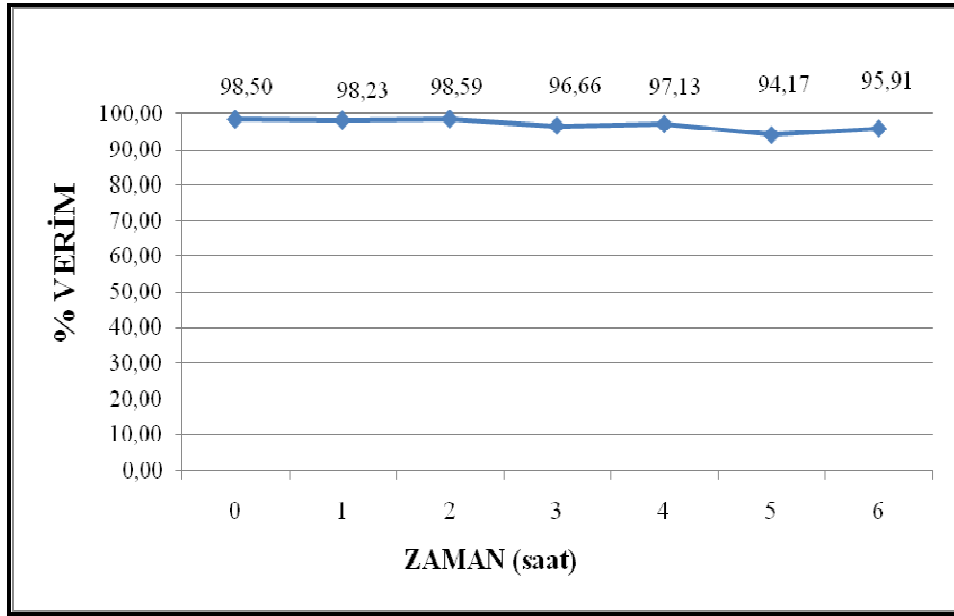
Şekil 20. İşaretlenen doksisiklin hiklatın pH 7.4 fosfat tamponundaki elektroforez grafiği.



Şekil 21. Serbest Tc-99m in pH 7.4 fosfat tamponundaki elektroforez grafiği.

3.4.3 İn Vitro Stabilite Çalışması

İn vitro stabilite çalışması için doksisisiklin hiklatın Tc-99m işaretlenme işlemi tamamlandıktan sonra oda sıcaklığında bekletilen çözeltiden başlangıçta, 1 saat sonra, 2 saat sonra, 3 saat sonra, 4 saat sonra, 5 saat sonra ve 6 saat sonra olmak üzere numuneler alınıp ince tabaka kromatografisi kullanılarak radyokimyasal safsızlık oranları hesaplandı. Zamanın işaretleme verimine etkisi araştırıldı. 6 saatin sonunda verimin % 90'ın üzerinde olduğu gösterildi (Şekil 22).

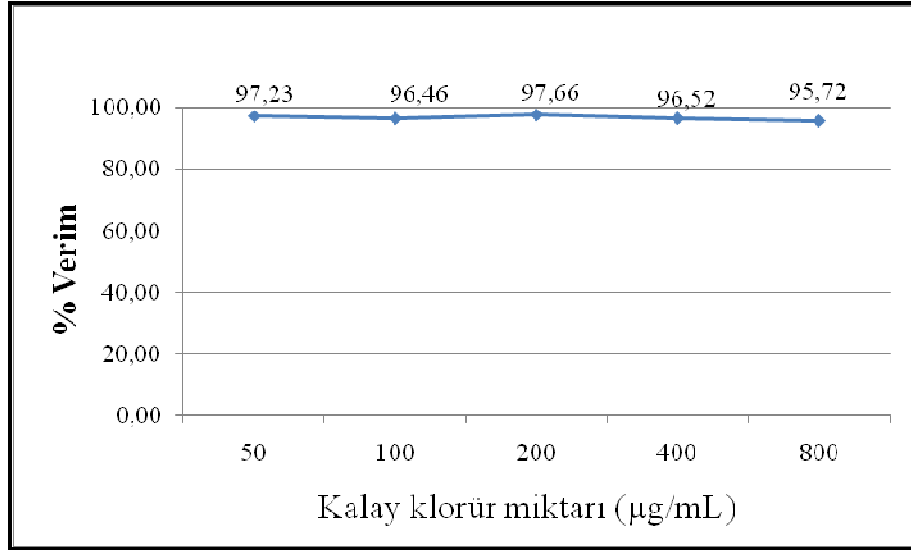


Şekil 22. Zamanının işaretleme verimi üzerine etkisi (İn vitro stabilite)

3.4.5 Kalay Klorür Miktarının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

Kalay klorür miktarının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere kalay klorür miktarları 50µl, 100 µl, 200 µl, 400 µl 800 µl olarak seçildi.

Şekil 23’de kalay klörür miktarının doksisisiklin hiklatın işaretleme verimi üzerine etkisi gösterildi. Serbest teknesyum miktarları bulundu ve verimler hesaplandı. 300 µl kalay klorür kullanıldığı zaman en yüksek işaretleme verimi elde edildi.

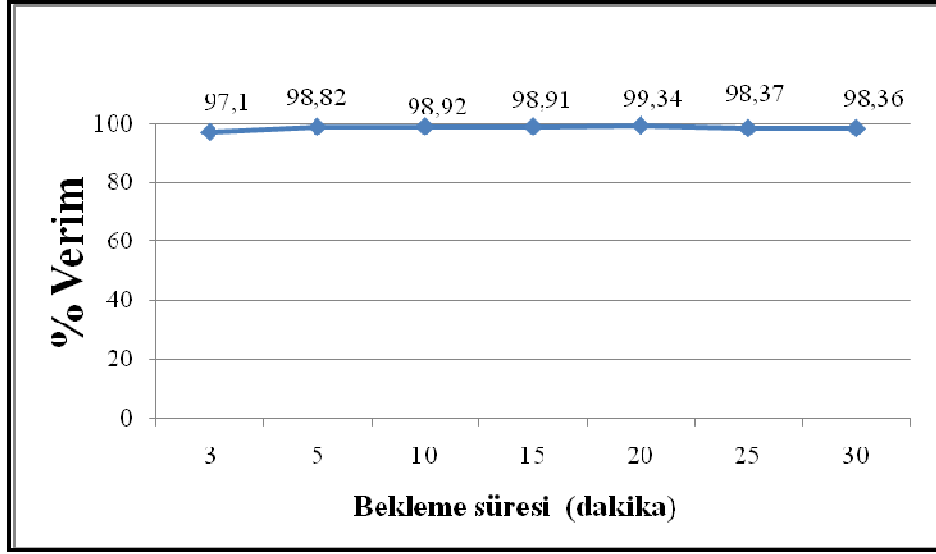


Şekil 23. Kalay klorür miktarının doksisisiklin hiklatın işaretleme verimi üzerine etkisi.

3.4.6 İnkübasyon Zamanının İşaretleme Verimi Üzerine Etkisi

İnkübasyon zamanının işaretleme verimi üzerine etkisini araştırmak üzere inkübasyon süreleri 3 dakika, 5 dakika, 10 dakika, 15 dakika, 20 dakika, 25 dakika ve 30 dakika olarak seçildi.

Şekil 24’de inkübasyon süresinin verim üzerinde etkisi gösterilmiş ve ideal inkübasyon süresinin 20 dakika olduğu bulundu.



Şekil 24. İnkübasyon zamanının doksisisiklin hiklatın işaretleme verimi üzerine etkisi.

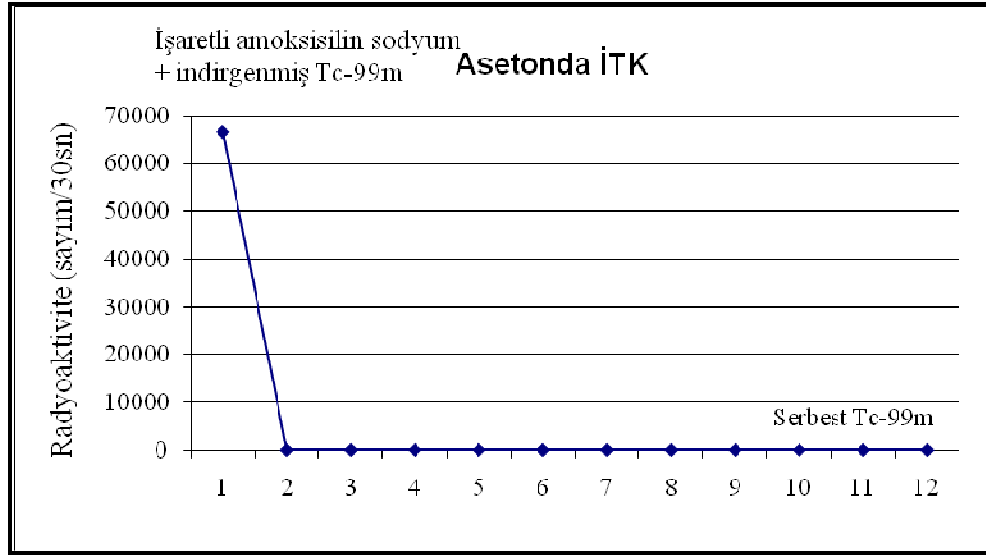
3.5 AMOKSİSİLİN SODYUMUN Teknesyum-99m İLE İŞARETLENMESİ

Bölüm 2.3.3’de anlatıldığı gibi işaretlenen amoksisilin sodyumun işaretleme verimi ince tabaka kromatografisi ve kağıt elektroforezi ile hesaplandı.

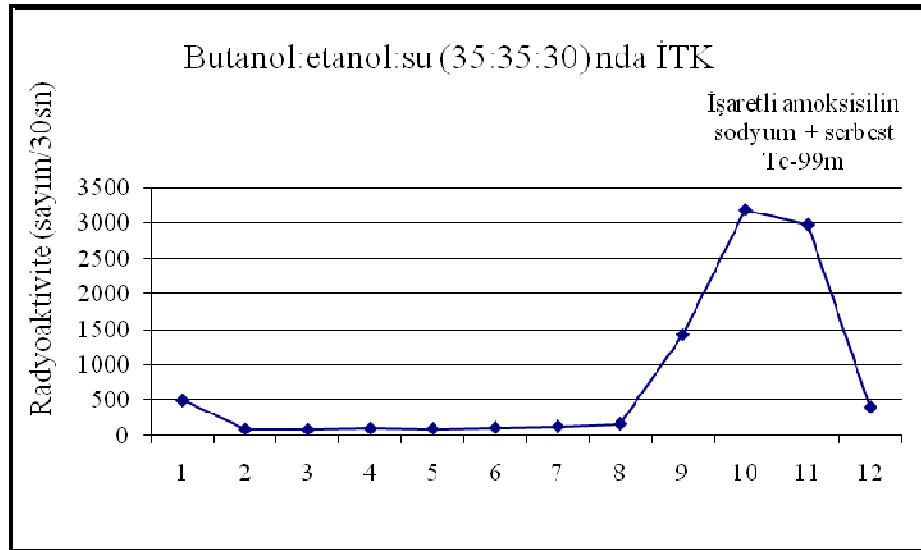
3.5.1 İnce Tabaka Kromatografisi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

İnce tabaka kromatografisinde mobil faz olarak aseton, serum fizyolojik ve butanol:etanol:su (35:35:30) karışımı kullanılmıştır. Sabit faz olarak silikajel plastik plaklar kullanıldı. Rf değerleri hesaplandı. Tc-99m ile işaretli amoksisilin sodyum ve indirgenmiş Tc-99m asetonda uygulama yerinde kaldı. Serbest Tc-99m Rf 1.0 noktasına ilerledi. Butanol:etanol:su (35:35:30) (v:v:v) karışımında ise işaretli bileşik

Rf 0.8-0.9 noktasına ilerledi. ^{99m}Tc -Amoksisilin sodyumun asetondaki işaretleme verimi Şekil 25’de gösterildi.



Şekil 25. ^{99m}Tc -Amoksisilin sodyumun asetondaki kromatogramı

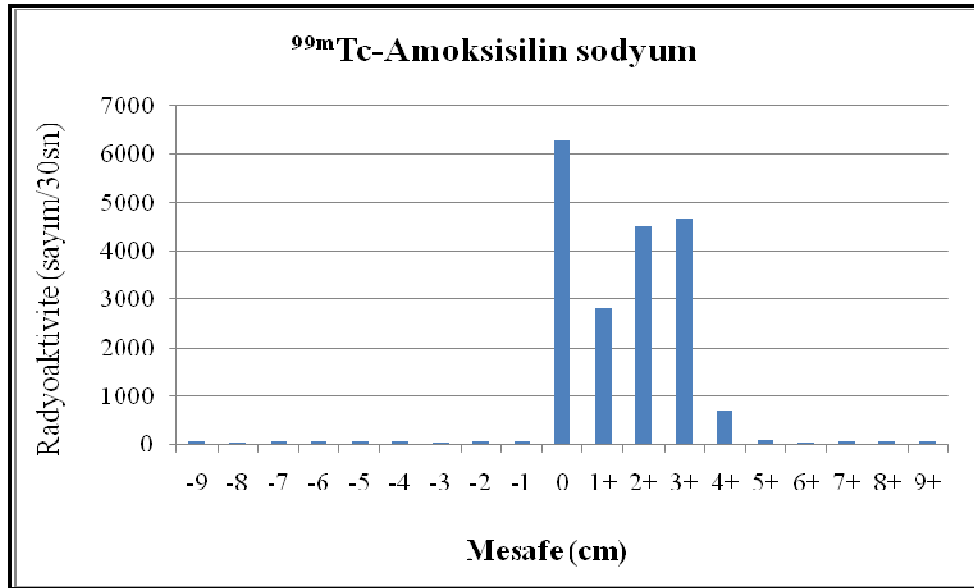


Şekil 26. ^{99m}Tc -Amoksisilin sodyumun butanol:etanol:su (35:35:30) (v:v:v) sistemindeki kromatogramı

Şekil 26’de, ^{99m}Tc -Amoksisilin sodyumun butanol:etanol:su (35:35:30) (v:v:v) sistemindeki işaretlenme verimi gösterilmiştir. İşaretleme verimi % 95’in üzerinde bulundu.

3.5.2 Kağıt Elektroforezi İle İşaretleme Veriminin Hesaplanması

Kağıt elektroforezinde mobil faz olarak pH 7.4 fosfat tamponu kullanıldı. Sabit faz olarak Whatman 3MM kullanıldı. İşaretli amoksisilin sodyumun kağıt elektroforezi Şekil 27’da gösterildi.



Şekil 27. İşaretlenen amoksisilin sodyumun (^{99m}Tc -Amoksisilin sodyum) elektroforez grafiği.

BÖLÜM IV

TARTIŞMA VE SONUÇ

Radyofarmasötikler insanlarda tanı veya tedavi amacıyla kullanılan, yapısında radyonüklit içeren ilaçlardır. 1960'lı yıllardan sonra radyofarmasötiklerin yaygın olarak kullanılması bu ilaçlar üzerinde uzmanlaşmış eczacılara olan ihtiyacı arttırmıştır. Bu ihtiyaç radyofarmasinin eczacılıkta bir uzmanlık alanı olarak ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Radyofarmasi; nükleer tıp, kimya, fizik ve biyokimya gibi pek çok disiplin ile içiçe olan multidisipliner bir yapıya sahiptir (5).

Radyofarmasötikler nükleer tıpta teşhis ve tedavi amacıyla kullanılan preparatlardır. Nükleer tıp teknikleri günümüzde ulaşabileceği en yüksek teknolojiye ulaşmıştır. Nükleer tıp alanında yapılacak gelişmeler ancak yeni radyofarmasötiklerin gelişmesiyle oluşacaktır.

Konvansiyonel ajanlarla birçok enfeksiyon ve enflamasyon odağı lokalize edilebilmesine rağmen sahip oldukları dezavantajlar uygulamaları kısıtlar. Bu sınırlamalar da yeni radyofarmasötiklerin araştırılmasına olan ihtiyacı arttırmaktadır. Enfeksiyon görüntüleme ajanlarının tarihsel gelişiminde geline son aşama radyoişaretli antibakteriyel ajanların kullanımındır.

Radyofarmasötikler vücuda genellikle parenteral yolla verilir. Oral yoldan kullanılan radyofarmasötik çözelti (sulu, sulu-alkollü, yağlı), kapsül, kolloit veya süspansiyon şeklinde olabilir. Parenteral yollar içinde en yaygın kullanılan yol intravenöz enjeksiyondur. İntratekal, intradermal, subkutan yollar da kullanılabilir. Çok dozlu hazırlanan radyofarmasötiklerde uygun bir bakterisit kullanılmalıdır.

Bakterisit olarak % 0.9 oranında benzil alkol veya düşük konsantrasyonlarda civa bileşikleri kullanılır. Benzil alkol vazodilatör bir madde olduğu için dolaşım sistemi araştırmalarında tercih edilmez. Radyofarmasötiklere antioksidan olarak tiyosülfat ilave edilebilir. İntravenöz yoldan kullanılacak radyofarmasötikler ya kan ile aynı pH'da (pH 7.4) ya da dayanıklı oldukları pH'da hazırlanırlar. Bir radyofarmasötiğin etiketinde enjeksiyonun ismi, bildirilen zaman ve tarihte belli hacim içindeki miliküri (mCi) veya mikroküri olarak aktivitesi, kullanılan radyonüklidin adı, kimyasal sembolü, aktif ve inaktif içeriği, radyoaktif enjeksiyon oluşunun belirtilmesi, bakterisit içeriyorsa ismi ve yüzdesi, enjeksiyonun toplam hacmi, seri numarası, üreticinin adı, uygulama yolu, son kullanma tarihi, saklama koşulları belirtilmelidir (5).

Enfeksiyon/enflamasyonun sintigrafik görüntülenmesi enfeksiyon ya da enflemasyon hastalarının tedavisinde güçlü bir diyagnostik araçtır. Sintigrafik görüntüleme, tüm vücudu görüntüleme alanı içine alan, noninvaziv bir tekniktir. Görüntüleme mekanizması fonksiyonel (fizyolojik veya biyokimyasal) nedenlere dayandığı için vücudun tüm bölümlerindeki enfeksiyon/enflamasyonun lokalizasyonunun teşhisine izin verir. Son 20 yıldır enfeksiyon ve enflemasyon görüntüleme için birçok radyofarmasötik geliştirilmiştir. Birçok antibiyotik bakteriyel enfeksiyonun ayırımında örneğin siprofloksasin, eritromisin, streptomisin ve son zamanlarda seftizoksim, etkinliği değerlendirmek için Tc-99m ile işaretlenmiştir (38).

Nükleer tıpta radyofarmasötikler genellikle intravenöz olarak uygulanır ve bir gama kamera kullanılarak tüm vücudun radyoaktivite dağılımı izlenir. Enfeksiyon/enflamasyon odağı; artan kan akımı, artan vasküler permeabilite,

lökositlerin sızmasıyla karakterizedir. Enfeksiyon görüntüleme için kullanılan radyofarmasötikler, enflamasyonun bu lokal fizyolojik durumu nedeniyle enfeksiyon/enflamasyon odağında tutulur. Bu nedenle, sintigrafik görüntüleme morfolojik değişikliklere bağlı olmayıp dokulardaki fizikokimyasal olaylara dayanır. Sonuçta sintigrafik bulgular, morfolojik değişiklikler henüz oluşmadığında enfeksiyon odağının erken fazlarında da gözlenebilmektedir (7,17,32).

Yeni enfeksiyon görüntüleme ajanlarının gelişimi için öncelikle potansiyel yeni bir radyofarmasötik, laboratuvarında sentez, saflaştırma ve kalite kontrol aşamalarından geçmelidir. Daha sonra *in vitro* ve *in vivo* testler başlamaktadır. Eğer potansiyel izleyici *in vivo* olarak bazı hücre tiplerine bağlanmaya (lökositlere, lenfositlere) uygun ise, hedef hücrelerle *in vitro* bağlanma çalışmaları ürünün potansiyel endikasyonunu verebilir. Bundan sonraki aşamada yeni izleyici, basit ve kullanımı kolay enfekte hayvan modellerinde test edilmektedir. *S. aureus* ya da *E.coli* kaynaklı yumuşak doku enfeksiyonu olan fare ve sıçanlar ilk incelemeler için iyi bir model oluşturmaktadır.

Konvansiyonel ajanlarla birçok enfeksiyon ve enflamasyon odağı lokalize edilebilmesine rağmen sahip oldukları dezavantajlar uygulamaları kısıtlamaktadır. Bu sınırlamalar da yeni radyofarmasötiklerin araştırılmasına olan ihtiyacı arttırmaktadır. Enfeksiyon görüntüleme ajanlarının tarihsel gelişiminde geline son aşama ise radyoişaretli antibakteriyel ajanların kullanımıdır. Bu bilgilerden hareketle bu çalışmada geniş spektrumlu bir antibiyotik olan ampisilin sodyum seçilerek enfeksiyon ve enflamasyon görüntüleme ajanı olarak kullanılmasının uygun olup olmadığı *in vitro* ve *in vivo* deneylerle araştırılmıştır (4,18,23,28,29).

Ampisilin sodyumun ^{99m}Tc ile işaretleme çalışmaları yapılmadan önce maddenin saflık kontrolleri yapılmıştır. Bunun için ampisilin sodyum kromatografik olarak değişik solvan sistemlerinde sürüklenmiş ve UV lamba altında görülen lekelerle maddenin teşhisi yapılmıştır. Kayıtlı olan kromatografik yöntemlere göre ampisilin sodyumun teşhisi yapılmıştır. Burada ampisilin sodyumun asetonda sürüklenmesindeki amaç, daha sonra ^{99m}Tc ile işaretlenecek olan ampisilin sodyumun bu solvandaki davranışını öğrenmek ve bu bilginin daha sonraki radyonüklidik saflık testlerine ışık tutmaktır.

Kromatografi dışında ampisilin sodyumun UV spektrumu ve potasyum bromür diski içinde FTIR spektrumu alınmış ve elde edilen sonuçların literatüre uygun olduğu görülmüştür (12,14,24,31,32,47).

Ampisilin sodyumun saf olduğunu tespit edildikten sonra ^{99m}Tc ile işaretleme çalışmaları yapılmıştır. Bunun için ilk olarak ampisilin sodyum suda çözündürülmüştür. Değişik miktarlarda teknesyum ve kalay klorür eklenerek en uygun işaretleme şartları bulunmuştur. 0.200 ml kalay klorür ve 2 mCi ^{99m}Tc perteknetat serum fizyolojikte eklenerek 15-20 dakika oda sıcaklığında bekletilmesi en iyi işaretleme veriminin (%95) elde edilmesini sağlamıştır.

İşaretli bileşiğin biyodağılımını ve enfekte dokulardaki davranışını incelemek amacıyla *in vivo* çalışma planlanmıştır. Bunun için önce sıçanlarda enfeksiyon oluşturulmuştur. Sıçanların kuyruk veninden işaretlenen ampisilin sodyum (^{99m}Tc -Ampisilin sodyum) verilerek sintigramları 2, 3 ve 4. saatlerde alınmıştır. Enfekte kas ve enfekte olmayan kaslardaki ^{99m}Tc ile işaretli radyofarmasötüğün tutulum oranları, ilgili bölgeler üzerinden radyoaktivite sayımları alınarak tespit edilmiştir. *E. coli* ile enfekte edilen sıçanlarda enfekte kas/enfekte olmayan kas tutulum oranları 1.9, 2.2,

2.5 ve *S. aureus* ile enfekte edilen ratlarda enfekte kas/enfekte olmayan kas tutulum oranları 3.0, 3.3, 3.4 olarak bulunmuştur. Buradan elde edilen bilgiler ışığında işaretli ampisilin sodyumun enfeksiyon/enflamasyon görüntüleme potansiyelleri araştırılmış ve nükleer tıpta kullanılabilir olduğu deneylerle saptanmıştır.

Ampisilin sodyumun dışında doksisiklin hiklat ve amoksisilin sodyum da Tc-99m ile işaretlenmiştir. İşaretleme verimleri % 95'in üzerinde bulunmuştur ancak *in vivo* hayvan deneyleri teknik olanaksızlıklar nedeniyle yapılamamıştır. Bundan sonraki çalışmalar Tc-99m ile işaretli bu iki antibakteriyel ajanın enfeksiyon görüntüleme ajanı olma potansiyellerini araştırmak üzerine olacaktır.

ÖZET

Akut Enflamasyon ve Enfeksiyon Görüntülemeye Yeni Radyofarmasötiklerin Geliştirilmesi

Enfeksiyon hastalıkları özellikle gelişmekte olan ülkelerde çok yaygındır. Enfeksiyonun erken teşhisi ve lokalizasyonu uygun ve zamanında tedavi için çok önemlidir. Birçok radyofarmasötüğün enfeksiyonu saptama ve lokalize etmede kullanıldığı bildirilmiştir. İşaretli antibiyotikler bu amaç için son zamanlarda kullanılmaktadır. Beta laktam grubu bir antibiyotik olan ampisilin sodyum (ABPC) ^{99m}teknesyum ile işaretlendi ve muhtemel enfeksiyon görüntüleme ajanı olarak değerlendirildi. Ampisilin sodyum düşük konsantrasyonlarda bakterisid etkilidir ve klinik olarak sadece gram-pozitif organizmalara karşı etkili olmayıp genellikle penisilin G'ye yakın derecede etkin, fakat aynı zamanda gram-negatif organizmalara karşı da etkindir. Ampisilin sodyumun işaretlenme verimi %95'ten fazladır.

Hayvan çalışmaları sıçanlarla yapıldı. Hayvanlarda enfeksiyon oluşturmak için; *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Eschericia coli* (*E.coli*) belirlenen dozda sol bacak kasına enjekte edilerek 24 saat enfeksiyonun gelişmesi beklendi. 24 saat sonra i.v. olarak kuyruk veninden ^{99m}Tc-ABPC uygulandı. Enfekte olmuş sıçanların sintigramları ^{99m}Tc-ABPC enjeksiyonundan 2, 3 ve 4 saat sonra alındı. ^{99m}Tc-ABPC enfeksiyonun sintigrafik olarak belirlenmesinde uygun bir ajan olduğu görüldü.

Keywords: ampisilin sodyum, ^{99m}teknesyum, işaretleme, enfeksiyon, enflamasyon.

ABSTRACT

Development New Radiopharmaceuticals For Imaging Acute Infection and Inflammation

Infection is one of the major causes of morbidity and mortality worldwide. Early diagnosis and localization of infection is extremely important. There are many radiopharmaceuticals which have been reported to detect and locate infections. Recently, radiolabeled antibiotics have been used for this purpose.

Ampicillin sodium is a beta lactam antibiotic. Ampicillin sodium (ABPC) has bactericidal effect at low concentration and clinically effective for both the gram-positive organisms which are usually susceptible to penicillin G and against a variety of gram-negative organisms. Ampicillin sodium was radiolabeled with ^{99m}Tc and evaluated as a potential infection imaging agent. Ampicillin sodium's radiolabeling yield was more than 95 %.

Animal studies were performed with rats. For the infection model, rats were injected with a dose of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Eschericia coli* (*E.coli*) into the left muscle and infection was allowed to develop for 24 hours. After the 24 hours of infection induction in rats, ^{99m}Tc -ABPC administered intravenously via tail vein. Scintigrams of infected rats were obtained with 2, 3, 4 hours after the ^{99m}Tc -ABPC injection. ^{99m}Tc -ABPC is a suitable agent for scintigraphic detection of infection.

Keywords: Ampicillin sodium, $^{99\text{m}}$ Tcnetium, Radiolabeling, Infection, Inflammation.

YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. <http://www.ankarapatoloji.org.tr/sub/ders.asp>.
2. Patoloji Ders Notları, Hacettepe. (1989).Ankara Metay Yayınları.
3. Akova, M., Kayaalp, O. (2002). Beta Laktam Antibiyotikler I: Penisilinler. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. O. Kayaalp. Ankara, Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti.: 210-33.
4. Ali, S. A., Cesani, F., Nusynowitz, M. L., Briscoe, E. G., Shirliff, M. E., and Mader, J. T. (1997). Skeletal scintigraphy with technetium-99m-tetraphenyl porphyrin sulfonate for the detection and determination of osteomyelitis in an animal model, J Nucl Med, 38:1999-2002
5. Asıkoğlu, M. (2004). Radyofarmasötikler. Farmasötik Teknoloji-Temel Konular ve Dozaj Şekilleri. A. Gürsoy. İstanbul, Pıksel Bilişim Matbaacılık Reklamcılık ve Filmcilik Hizmetleri Ltd. Şti.: 399-407.
6. Babich, J., Fischman, AJ. (1999). Targeted imaging of infection., Adv Drug Del Rev, 37:237-52
7. Becker, W., Meller, J. (2001). The role of nuclear medicine in infection and inflammation, Lancet Infectious Diseases, 1:326-33
8. Boerman, O., Dams, ET, Oyen, WJG, Corstens, FHM, Storm, G. (2001). Radiopharmaceuticals for scintigrafic imaging of infection and inflammation., Inflamm Res., 50:55-64
9. Braithwaite, A., Smith, F.J. Chromatographic Methods. (1967). Chapman&Hall.
10. Britton, K., Vinjamuri, S, Hall, AV. (1997). Clinical evaluation of technetium-99m infecton for the localisation of bacterial infection., Eur J Nucl Med., 24:553-6

11. Britton, K., Wareham, DW, Das, SS. (2002). Imaging bacterial infection with ^{99m}Tc-ciprofloxacin (Infecton). I J Clin Pathol., 55:817-23
12. Catauro, M., Raucci, M.G. , DE Marco, D., Ambrosio, L. (2006). Release kinetics of ampicillin, characterization and bioactivity of TiO₂/PCL hybrid materials synthesized by sol- gel processing, J Biomed Mater Res, 77A:340-50
13. Chilton, H. M., Witcofski, R.L. Nuclear Pharmacy: An Introduction to the Clinical Application of Radiopharmaceuticals. (1986).Philadelphia, Lea & Febiger.
14. Commission, B. P. British Pharmacopoeia. (2000).London, HMSO.
15. Corstens, F., Van der Meer, JWM. (1999). Nuclear medicine's role in infection and inflammation., Lancet, 354:765-70
16. Das, S., Britton, KE. (2003). Bacterial Infection Imaging. , World J Nucl Med., 2:173-9
17. Das, S. H., AV, Wareham, DW, Britton, KE. (2002). Infection Imaging with radiopharmaceuticals in the 21st century, Brazilian Archives of Biology and Technology, 45:25-37
18. Edwards, D. S., Liu, S., Ziegler, M. C., Harris, A. R., Crocker, A. C., Heminway, S. J., Barrett, J. A., Bridger, G. J., Abrams, M. J., and Higgins, J. D., 3rd (1999). RP463: a stabilized technetium-99m complex of a hydrazino nicotinamide derivatized chemotactic peptide for infection imaging, Bioconjug Chem, 10:884-91
19. Elgazzar, A. (2001). Inflammation. The Pathophysiologic Basis of Nuclear Medicine, Springer-Verlag Heidelberg: 41-53.
20. Ercan, M. T. (1989). Teknesyum-99m radyofarmasötikleri, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 9:69-84
21. Erdem, B., Baykut, F. Analitik Kimya. (1978).İstanbul, Fatih Yayınevi Matbaası.

22. Ergenç, N., Gürsoy, A., Ateş, Ö. İlaçların Tanınması ve Kantitatif Tayini. (1989).İstanbul.118-28.
23. Fernandez-Menendez, J. M., Malaga, S., Matesanz, J. L., Solis, G., Alonso, S., and Perez-Mendez, C. (2003). Risk factors in the development of early technetium-99m dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy lesions during first urinary tract infection in children, *Acta Paediatr*, 92:21-6
24. Fu, Y. C., Ho, M.L., Wu, S.C., Hsieh, H.S., Wang, C.K. (2008). Porous bioceramic bead prepared by calcium phosphate with sodium alginate gel and PE powder, *Materials Science and Engineering C*28:1149–58
25. Gemmel, F., Dumarey, N., Welling, M., (2009). Future diagnostic agents., *Semin Nucl Med* 39:11-26 (a)
26. Gündüz, T. Kantitatif Analiz Ders Kitabı. (1996).Ankara, Bilge yayıncılık.
27. Kowalsky, R. J., Perry, J.R. Radiopharmaceuticals in Nuclear Medicine Practice. (1987).Connecticut, Appleton & Lange.
28. Kranenborg, M. H., Oyen, W. J., Corstens, F. H., Oosterwijk, E., van der Meer, J. W., and Boerman, O. C. (1997). Rapid imaging of experimental infection with technetium-99m-DTPA after anti-DTPA monoclonal antibody priming, *J Nucl Med*, 38:901-6
29. Krause, S., Rennen, H. J., Boerman, O. C., Baumann, S., Cyr, J. E., Manchanda, R., Lister-James, J., Corstens, F. C., and Dinkelborg, L. M. (2007). Preclinical evaluation of technetium 99m-labeled P1827DS for infection imaging and comparison with technetium 99m IL-8, *Nucl Med Biol*, 34:925-32
30. Lele, R. (1998). Imaging Infection and Inflammation. , *Bombay Hospital Journal*,

31. Mahgoub, H., Aly, F.A. (1998). UV-spectrophotometric determination of ampicillin sodium and sulbactam sodium in two-component mixtures, *Pharm. Biomed. Anal.*, 17:1273-8
32. Peters, A. (1998). The use of nuclear medicine in infections, *The British Journal of Radiology*, 71:252-61
33. Qureshi, S. Z., Qayoom, T., Helalet, M.I. (1999). Simultaneous spectrophotometric and volumetric determinations of amoxycillin, ampicillin and cloxacillin in drug formulations: reaction mechanism in the base catalysed hydrolysis followed by oxidation with iodate in dilute acid solution, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 21:473-82
34. Rennen, H., Boerman, OC, Oyen, WJG, Corstens, FHM. (2001). Imaging infection/inflammation in the new millenium. , *Eur J Nucl Med.*, 28:241-52
35. Rennen, H., Corstens, FHM, Oyen, WJG, Boerman, OC. (2001). New concepts infection/inflammation imaging. , *Q J Nucl Med.* , 45:167-73
36. Saha, G. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy.* (1992). New York, Springer-Verlag.
37. Sampson, C. B. *Textbook of Radiopharmaceuticals.* (1994).Luxemburg, Gordon and Breach Science Publishers SA.
38. Sarda, L., Saleh-Mghir, A., Peker, C., Meulemans, A., Cre´mieux, AC., Le Guludec, D. (2002). Evaluation of ^{99m}Tc-ciprofloxacin scintigraphy in a rabbit model of staphylococcus aureus prosthetic joint infection, *J Nucl Med*, 43:239-45
39. Signore, A., Procaccini, E, Annovazzi, A. (2000). The developing role of cytokines for imaging inflammation and infection. , *Cytokine*, 12:1445-54

40. Signore, A., D'Alessandria, C., Lazeri, E., Dierckx, R., (2008). Can we produce an image of bacteria with radiopharmaceuticals? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 35:1051–1055
41. Singh, A., Bhatnagar, A, Ali, A. (2003). Tc-99m Labeled Sparfloxacin: A Specific Infection Imaging Agent. , *World J.Nucl. Med.*, 2:103-9
42. Tewson, T. (2003). Labeled Antibiotics: Positron Tomography as a Tool for Measuring Tissue Distribution., *Drug Dev Res.*, 59:261-8
43. Thangadural, S., Shukla,SK., Anjeneyulu, Y.(2002).Separation and detection of certain β -lactam and fluoroquinolone antibiotic drugs by thin layer chromatography., *Analytical Sciences*, 18:97-100.
44. Van Der Laken C, B. O., Oyen WJG, et al. (1998). Scintigraphic detection of infection and inflammation: new developments with special emphasis on receptor interaction., *Eur J Nucl Med*, 25:535-46
45. Weiner, R., Thakur, ML. (1999). Imaging infection/inflammations: Pathophysiologic basis and radiopharmaceutical, *Q J Nucl Med.* , 43:2-8
46. Welcher, F. J. *Standard Methods for Chemical Analysis*. (1966).Princeton, New Jersey, D.Van Nostrand Company, Inc.
47. Xu, L., Wang, H., Xiao, Y. (2004). Spectrophotometric determination of ampicillin sodium in pharmaceutical products using sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic as the chromogenic reagent, *Spectrochimica Acta Part A*, 60:3007–12
48. Yenerman, M. Genel Patoloji. (1980).İstanbul İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi.

TEŞEKKÜR

Doktora çalışması boyunca, tez konusunun seçiminden tezin hazırlanmasının son aşamasına kadar bana her türlü yardım ve katkıyı yapan Sayın Doç. Dr. Makbule AŞIKOĞLU'na, tez konusunun belirlenmesi ve çalışmaların yürütülmesi sırasındaki yardımlarından dolayı sayın Prof. Dr. Levent KIRILMAZ'a, sayın Dr. Emel Öykü ÇETİN'e, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Ana Bilim Dalı'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalar sırasında her türlü desteği gördüğüm aileme de teşekkür ederim.

Ayrıca, bu araştırmanın gerçekleşmesinde verdikleri maddi desteklerden dolayı Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

08.01.1975'te İzmir'de doğdum. 1981-1986 yılları arasında Ertuğrul Gazi İlkokulu'nda ilköğrenimimi tamamladım. 1986-1992 yılları arasında Balçova Lisesi'nde orta öğrenimimi tamamladım. 1992 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne girdim. 1996 yılında aynı fakülteden mezun oldum. 1996'da Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Radyofarmasi Anabilim Dalı'nın Yüksek Lisans Programını kazandım. 1996-1997 yılları arasında bir yıl süreyle Ege Üniversitesi Yabancı Diller Bölümü İngilizce Hazırlık Birimi'ne devam ettim ve başarıyla tamamladım. 07.12.1998'de Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Radyofarmasi Anabilim Dalı'na Araştırma görevlisi olarak atandım. 05.04.2000'de yüksek lisansımı tamamladım. 29.12.2005'den beri Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Eczanesinde eczacı olarak çalışmaktayım. Evliyim bir çocuk annesiyim.