EBRU ALTUNTAŞ

← Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .

↓

DOKTORA TEZİ

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ; Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

İSTANBUL-2016

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

ALERJİK RİNİT TEDAVİSİNDE NAZAL YOLDAN KULLANILMAK ÜZERE IN SITU JELLEŞEN TOPİKAL FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ VE ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

EBRU ALTUNTAŞ

DANIŞMAN
PROF. DR. FATMA GÜLGÜN YENER

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2016

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji Programında Doktora öğrencisi Ebru ALTUNTAŞ tarafından Prof. Dr. Fatma Gülgün YENER'in danışmanlığında hazırlanan Alerjik Rinit Tedavisinde Nazal Yoldan Kullanılmak Üzere In Situ Jelleşen Topikal Formülasyonların Geliştirilmesi ve Etkinliğinin Değerlendirilmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 13 /07/2016 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Fatma Gülgün YENER
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri
Doç. Dr. Ümit GÖNÜLLÜ
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri
Doç.Dr. Fadlullah AKSOY
Bezmialem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kulak Burun, Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı

Jüri
Doç. Dr. Meltem OCAK DEMİRCİ
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri
Yard. Doç. Dr. Rabia ÇAKIR KOÇ
Yıldız Teknik Üniversitesi,
Kimya-Metalurji Fakültesi,
Biyomühendislik Bölümü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Ebru ALTUNTAŞ



İTHAF

Canım aileme ithaf ediyorum…

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım, tezimin yürütülmesinde gerekli olanakları sağlayan ve bana her konuda destek olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Fatma Gülgün Yener'e;

Bu çalışmayı gerçekleştirme olanağı sağlayan Eczacılık Teknolojisi Bölüm Başkanı ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet Araman'a;

Doktora tez çalışmalarıma katkılarından dolayı değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Melike Üner'e ve Sayın Doç. Dr. Ümit Gönüllü'ye;

In vivo çalışmalarımın yürütülmesindeki yardım ve katkılarından dolayı, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Ögretim Üyesi Doç. Dr. Fadlullah AKSOY'a ve Öğr. Gör. Dr. Remzi DOĞAN'a, histopatolojik değerlendirmelerdeki yardımlarından dolayı Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mukaddes EŞREFOĞLU ve Arş. Gör. Mehmet Şerif AYDIN'a, ELISA analizlerindeki katkılarından dolayı Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbı Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Arş. Gör. Ersin KARATAŞ'a;

Tez çalışmamda kullandığım etkin maddeyi sağlayan Deva Holding A.Ş.'ye;

Doktora öğrenimime başladığım günden beri bana destek olan bütün çalışma arkadaşlarıma;

Doktora eğitimim boyunca bana yurt içi bursiyerliği ile destek olan TÜBİTAK BİDEB'e;

Tüm yaşamım boyunca hiç bir fedakarlığı ve sevgiyi benden esirgemeyen, maddi manevi desteklerini hep hissettiğim canım anneme ve babama, bana her konuda olduğu gibi bilimsel kariyerimde de her zaman güvenen ve hayatımın her anında desteğini hep yanımda hissettiğim canım eşim İsmail Altuntaş'a ve her zaman varlığıyla bana neşe ve mutluluk katan canım kardeşim Kim. Müh. Burcu ÖZKAN'a ve canım anneannem Güldane TAVLI'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: 41584) ve TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı tarafından (Proje No: 114S820) desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Xİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... Xİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... XVİ
ÖZET ..... XVİİİ
ABSTRACT ..... XİX
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Nazal Yoldan İlaç Uygulanmasına Ait Genel Bilgiler 3
2.1.1. Nazal Yolun Avantajları ve Dezavantajları 3
2.1.2. Burun anatomisi 4
2.1.2.1. Dış Burun 4
2.1.2.2. Septum, Üst ve Alt Lateral Kıkırdaklar 5
2.1.2.3. Lateral Duvar 8
2.1.3. Burun Histolojisi 9
2.1.3.1. Nazal Vestibül 9
2.1.3.2. Respiratuvar Mukoza 9
2.1.3.3. Olfaktör Mukoza 10
2.1.4. Burun Fizyolojisi 11
2.1.4.1. Nazal Hava Akımı ve Nazal Rezistans 11
2.1.4.2. Solunan Havanın Isıtılması ve Nemlendirilmesi 12
2.1.4.3. Solunan Havanın Temizlenmesi ve Alt Solunum Yollarının Korunması 12
2.1.4.4. İmmünolojik Fonksiyon 14
2.1.4.5. Koku Alma 14
2.1.4.6. Nazal Siklus 15
2.1.5. Nazal Yolla Uygulanan Dozaj Şekilleri 15
2.1.5.1. Klasik Dozaj Şekilleri 16
2.1.5.2. Modern Dozaj Şekilleri 17

2.2. Mukozaya Yapışan Sistemler Hakkında Genel Bilgiler 20
2.2.1. Mukus.....20
2.2.2. Mukoadezyon Mekanizması 20
2.2.2.1. Kimyasal Bağlar.....21
2.2.2.2. Mekanik veya Fiziksel Bağlar.....21
2.2.3. Mukoadezyon Teorileri.....22
2.2.3.1. Elektron Transferi Teorisi 22
2.2.3.2. Adsorbsiyon Teorisi 22
2.2.3.3. Islanma Teorisi.....22
2.2.3.4. Difüzyon Teorisi 22
2.2.3.5. Kopma Teorisi.....23
2.2.4. Mukoadezyonu Etkileyen Faktörler.....23
2.2.4.1. Polimerik Faktörler 23
2.2.4.2. Çevresel Faktörler 24
2.2.4.3. Mukus Fizyolojisi.....24
2.2.5. Mukoadezyonun Tayininde Kullanılan Test Yöntemleri.....25
2.2.5.1. Görsel Testler 25
2.2.5.2. Gerilme Gücü Testi (Tensile Strength) 26
2.2.5.3. Reolojik Testler.....27
2.2.5.4. In Vivo Metotlar.....27
2.2.6. Nazal Mukoadezif İlaç Taşıyıcı Sistemler 27
2.2.7. Nazal İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Mukoadezif Polimerler 28
2.2.7.1. Selüloz Türevleri.....28
2.2.7.2. Kitozan.....29
2.2.7.3. Nişasta.....31
2.2.7.4. Poliakrilatlar.....31
2.3. In Situ Oluşan Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler Hakkında Genel Bilgiler 32
2.3.1. Uyaranlara Duyarlı In Situ Jel Sistemler 33
2.3.1.1. Isıya Duyarlı In Situ Jel Sistemler 33
2.3.1.2. pH'ya Duyarlı In Situ Jel Sistemler 34
2.3.2. Osmotik Olarak İndüklenen In Situ Jel Sistemler (Iyon İle Aktive Edilen Sistemler) 34
2.3.3. Kimyasal Olarak İndüklenen In Situ Jel Sistemler 34
2.3.3.1. İyonik Çapraz Bağlanma.....34

2.3.3.2. Enzimatik Çapraz Bağlanma 35
2.3.3.3. Fotopolimerizasyon 35
2.4. Isıya Duyarlı İlaç Taşıyıcı Sistemler Hakkında Genel Bilgiler 35
2.4.1. Isıya Duyarlı Polimerler 36
2.4.1.1. PEO/PPO/PEO Triblok Kopolimerleri ve Türevleri 37
2.4.2. Farmasötik Poloksamer 407 Formülasyonlarının Hazırlanması 38
2.4.3. Jel Kuvvetinin Belirlenmesi 38
2.4.4. Adezif Özelliklerin Belirlenmesi 39
2.4.5. Sol-Jel Geçiş Sıcaklığının Belirlenmesi 39
2.4.6. Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi 40
2.4.7. In Vitro İlaç Salım Çalışmaları 40
2.4.8. Isıya Duyarlı Nazal İlaç Taşıyıcı Sistemler 41
2.5. Alerjik Rinit Hakkında Genel Bilgiler 43
2.5.1. Tanımı ve Prevelansı 43
2.5.2. Alerjik Rinitin Sınıflandırılması, Etiyolojisi ve Semptomları 45
2.5.3. Alerjik Rinit ve Eşlik Eden Üst ve Alt Solunum Yolları Hastalıkları 47
2.5.4. Alerjik Rinitin Patofizyolojisi 47
2.5.4.1. Sensitizasyon ve Erken Faz Reaksiyonu 48
2.5.4.2. Geç Faz Reaksiyonu 49
2.5.5. Alerjik Rinit Tanısında Temel Testlerin Değerlendirilmesi 49
2.5.5.1. In vitro testler 50
2.5.5.2. In Vivo Testler 53
2.5.6. Alerjik Rinit Tedavisi 55
2.5.6.1. Alerjenden Kaçınma 55
2.5.6.2. Farmakoterapi 56
2.5.6.3. İmmünoterapi 63
2.6. Mometazon Furoat Hakkında Genel Bilgiler 65
2.6.1. Mometazon Furoatın Yapısı 65
2.6.2. Fizikokimyasal Özellikleri 66
2.6.3. Miktar Tayini 67
2.6.3.1. Kromatografik Yöntemler 67
2.6.3.2. Spektrofotometrik Yöntem 69
2.6.4. Farmakolojik Özellikleri 69
2.6.4.1. Farmakodinamik Özellikleri 70

2.6.4.2. Farmakokinetik Özellikleri 71
2.6.4.3. Yan Etkileri 71
2.6.5. Mometazon Furoatın Endikasyonları 72
2.6.6. Mometazon Furoatın Kontrendikasyonları 72
2.6.7. Farmasötik Dozaj Şekilleri 72
2.6.8. Mometazon Furoatın Alerjik Rinitte Terapötik Kullanımı 74
2.6.8.1. Perennial Alerjik Rinitte Kullanımı 74
2.6.8.2. Mevsimsel Alerjik Rinitte Kullanımı 74
3. GEREÇ VE YÖNTEM 76
3.1. Gereç 76
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 76
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler 76
3.1.3. Kullanılan Bilgisayar Programları 77
3.2. Yöntem 78
3.2.1. Mometazon Furoat Üzerinde Yapılan Çalışmalar 78
3.2.1.1. Infrared Spektrumu 78
3.2.1.2. Mometazon Furoatın Spektrofotometrik Yöntem ile Miktar Tayini Validasyonu 78
3.2.1.3. Mometazon Furoatın HPLC Yöntemi ile Miktar Tayini Validasyonu 80
3.2.1.4. Mometazon Furoatın Çözünürlük Tayini 82
3.2.2. Nazal Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar 82
3.2.2.1. In situ Jellerin Hazırlanması 82
3.2.2.2. Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları 84
3.2.2.3. Nazal Jel Formülasyonlarından In vitro Salım Çalışması 89
3.2.2.4. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması 90
3.2.2.5. Ex vivo Geçiş Çalışması 92
3.2.2.6. Formülasyonların Fizikokimyasal Stabilite Testleri 93
3.2.2.7. In vivo Çalışmalar 93
4. BULGULAR 98
4.1. Mometazon Furoat Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular 98
4.1.1. Infrared Spektrumuna Ait Bulgular 98
4.1.2. Mometazon Furoatın Spektrofotometrik Yöntem ile Miktar Tayini Validasyonuna Ait Bulgular 99
4.1.2.1. Doğrusallık 99

4.1.2.2. Doğruluk 100
4.1.2.3. Kesinlik 101
4.1.2.4. Seçicilik 102
4.1.2.5. Stabilite 102
4.1.3. Mometazon Furoatın HPLC Yöntemi ile Miktar Tayini Validasyonuna Ait Bulgular 103
4.1.3.1. Doğruluk 104
4.1.3.2. Kesinlik 104
4.1.3.3. Seçicilik 105
4.1.3.4. Stabilite 106
4.1.4. Mometazon Furoatın Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular 106
4.2. Nazal Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular 107
4.2.1. Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları 107
4.2.1.1. In situ Jellerin Hazırlanmasına Ait Bulgular 107
4.2.1.2. Sol-Jel Geçiş Sıcaklığının (T sol-gel) Belirlenmesine Ait Bulgular 108
4.2.1.3. PL407'nin Jelleşme Sıcaklığı Üzerine Mometazon Furoatın ve Diğer Eksipiyanların Etkilerinin İncelenmesine Ait Bulgular 109
4.2.1.4. pH Tayinine Ait Bulgular 112
4.2.1.5. Reolojik Çalışmalara Ait Bulgular 114
4.2.1.6. Nazal In situ Jellerin Mekanik Özelliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular 121
4.2.1.7. Ex vivo Mukoadezyon Kuvvetinin Saptanmasına Ait Bulgular 124
4.2.1.8. Nazal Jel Formülasyonlarının In vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular .125
4.2.1.9. Kinetik Parametrelerin Hesaplanmasına Ait Bulgular 127
4.2.1.10. Ex vivo Geçiş Çalışmasına Ait Bulgular 129
4.2.1.11. Fizikokimyasal Stabilite Testlerine Ait Bulgular 129
4.2.2. In vivo Çalışmalara Ait Bulgular 131
4.2.2.1. Semptomların Değerlendirilmesine Ait Bulgular 131
4.2.2.2. Histolojik Değerlendirmeye Ait Bulgular 134
4.2.2.3. OVA-Spesifik Serum IgE Tespitine Ait Bulgular 138
5. TARTIŞMA 139
KAYNAKLAR 152
ETİK KURUL KARARI 179
ÖZGEÇMİŞ 180

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Absorpsiyon arttırıcı olarak kitozan türevlerinin kullanıldığı nazal yoldan ilaç uygulamalarına örnekler. 30
Tablo 2-2: Absorpsiyon arttırıcı olarak poliakrilatların kullanıldığı nazal yoldan ilaç uygulamalarına örnekler. 31
Tablo 2-3: Isıya duyarlı polimerler ve bu polimerlerin belirleyici hidrojel karakteristikler 36
Tablo 2-4: Mometazon furoatın miktar tayininde kullanılan kromatografik yöntemler..... 67
Tablo 2-5: Mometazon furoatın yan etkileri. 71
Tablo 2-6: Mometazon furoatın endikasyonları. 72
Tablo 2-7: Mometazon furoat içeren dozaj şekilleri. 72
Tablo 3-1: HPMC içeren nazal in situ jel formülasyonları. 83
Tablo 3-2: HEC içeren nazal in situ jel formülasyonları. 83
Tablo 3-3: CP içeren nazal in situ jel formülasyonları. 84
Tablo 4-1: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin doğrusallığına ait bulgular (n=6). 100
Tablo 4-2: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin doğruluğuna ait bulgular (n=3). 100
Tablo 4-3: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin gün içi kesinliğine ait bulgular (n=6). 101
Tablo 4-4: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin günler arası kesinliğine ait bulgular (n=6). 101
Tablo 4-5: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin stabilitesine ait bulgular (n=6). 102
Tablo 4-6: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin doğrusallığına ait bulgular (n=3). 103
Tablo 4-7: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin doğruluğuna ait bulgular (n=3). 104
Tablo 4-8: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin gün içi kesinliğine ait bulgular (n=6). 104
Tablo 4-9: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin günler arası kesinliğine ait bulgular (n=6). 105
Tablo 4-10: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin stabilitesine ait bulgular (n=3). 106

Tablo 4-11: Mometazon furoatın çeşitli çözünme ortamlarındaki çözünürlüklerine ait bulgular (n=3). 106
Tablo 4-12: CP içeren formülasyonların jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular. 108
Tablo 4-13: HPMC içeren formülasyonların jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular. 108
Tablo 4-14: HC içeren formülasyonların jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular. 109
Tablo 4-15: HPMC içeren formülasyonların pH değerlerine ait bulgular (n=3). 112
Tablo 4-16: CP içeren formülasyonların pH değerlerine ait bulgular (n=3). 113
Tablo 4-17: HC içeren formülasyonların pH değerlerine ait bulgular (n=3). 113
Tablo 4-18: % 18 (a/h) PL407 içeren formülasyonların 34°C'deki mekanik özelliklerine ait bulgular. 122
Tablo 4-19: CP içeren formülasyonların 34°C'deki mekanik özelliklerine ait bulgular (n=3). 122
Tablo 4-20: HPMC içeren formülasyonların 34°C'deki mekanik özelliklerine ait bulgular (n=3). 123
Tablo 4-21: HC içeren formülasyonların 34°C'deki mekanik özelliklerine ait bulgular (n=3). 123
Tablo 4-22: Formülasyonların mukoadezyon çalışmalarına ait bulgular. 124
Tablo 4-23: Formülasyonlara ait salım kinetiği parametreleri. 128
Tablo 4-24: Formülasyonların 25°C'deki fizikokimyasal stabilitelerine ait bulgular. 130
Tablo 4-25: Formülasyonların 4°C'deki fizikokimyasal stabilitelerine ait bulgular. 130
Tablo 4-26: Formülasyonların 40°C'deki fizikokimyasal stabilitelerine ait bulgular. 130
Tablo 4-27: Hapşırma sayısında 14. gün ile 21. gün arasındaki kıyaslamaya ait bulgular. 132
Tablo 4-28: Hapşırma sayısında 14. gün ile 35. gün arasındaki kıyaslamaya ait bulgular. 133
Tablo 4-29: Burun kaşıma sayısında 14. gün ile 21. gün arasındaki kıyaslamaya ait bulgular. 133
Tablo 4-30: Burun kaşıma sayısında 14. gün ile 35. gün arasındaki kıyaslamaya ait bulgular. 134

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Nazal kemikler ve paranazal sinüsler. 5
Şekil 2-2: Nazal septumun görüntüsü 6
Şekil 2-3: Nazal septumun lateral görünüşü 7
Şekil 2-4: Nazal valf 8
Şekil 2-5: Lateral nazal duvarın görünüşü 9
Şekil 2-6: Nazal mukus tabakası ve yalancı kolumnar epitel hücreleri 13
Şekil 2-7: İnterpenetrasyon sırasında mukus ve mukoadezif polimer zincirleri arasında meydana gelen mekanik bağlanma 23
Şekil 2-8: Mukoadezyon testi için dönen silindir metodunun kurulumu 26
Şekil 2-9: Mukoadezyon testi için gerilme direnci metodunun kurulumu 26
Şekil 2-10: Poloksamer 407'nin sudaki birleşme mekanizmasının şematik gösterimi 38
Şekil 2-11: Sıcaklık artışıyla ısıya duyarlı bir polimerik miselden ilaç salımı. 41
Şekil 2-12: Alerjik rinit semptomları 45
Şekil 2-13: Alerjik rinitin sınıflandırılması 46
Şekil 2-14: Alerjik rinit tedavisinde mevcut başlıca tedavi ajanları ve etki mekanizmaları 57
Şekil 2-15: Kortizol ve mometazon furoatın yapısı 65
Şekil 2-16: Mometazon furoatın glukokortikoid reseptörlerine bağlanması 66
Şekil 3-1: Jellerin sertliğine ait kuvvet-zaman eğrisi. 86
Şekil 3-2: Jellerin sıkıştırılabilirliğine ait kuvvet-zaman eğrisi. 86
Şekil 3-3: Jellerin adezifliğine ait kuvvet-zaman eğrisi. 87
Şekil 3-4: Jellerin kohezifliğine ait kuvvet-zaman eğrisi. 88
Şekil 3-5: Nazal mukozanın çıkarılması. 88
Şekil 3-6: Deney gruplarının görüntüsü. 94
Şekil 3-7: Sıçanlara intraperitoneal enjeksiyon uygulanması. 95
Şekil 3-8: Topikal intranazal uygulama yöntemi. 95
Şekil 4-1: Mometazon furoat ve polimerlere ait IR spektrumları. 98
Şekil 4-2: Mometazon furoatın metanol çözünme ortamındaki UV spektrumu. 99
Şekil 4-3: Mometazon furoatın kalibrasyon doğrusu grafiği. 99
Şekil 4-4: Mometazon furoatın kalibrasyon doğrusu grafiği. 103
Şekil 4-5: Mometazon furoat içeren ve içermeyen PL407 in situ jellerinin jelleşme sıcaklıklarının kıyaslanmasına ait bulgular. 107
Şekil 4-6: PEG 400'ün jelleşme sıcaklığı üzerindeki etkisine ait bulgular. 110

Şekil 4-7: CP içeren in situ jellerin jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular. 110
Şekil 4-8: HPMC içeren in situ jellerin jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular. 111
Şekil 4-9: HPMC içeren in situ jellerin jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular. 112
Şekil 4-10: PL407 içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular. 114
Şekil 4-11: PL407 içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular. 115
Şekil 4-12: CP içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular. 115
Şekil 4-13: CP içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı). 116
Şekil 4-14: CP içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular. 116
Şekil 4-15: CP içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı). 117
Şekil 4-16: HC içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular. 117
Şekil 4-17: HC içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı). 118
Şekil 4-18: HC içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular. 118
Şekil 4-19: HC içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı). 119
Şekil 4-20: HPMC içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular. 119
Şekil 4-21: HPMC içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı). 120
Şekil 4-22: HPMC içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular. 120
Şekil 4-23: HPMC içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı). 121
Şekil 4-24: Formülasyonların mukoadezyon çalışmasına ait bulgular. 125
Şekil 4-25: CP içeren %18 PL407 nazal in situ jellerden mometazon furoatın salım profilleri* (n=3). 126
Şekil 4-26: CP içeren %18 PL407 nazal in situ jellerden mometazon furoatın salım profilleri* (devamı) (n=3). 126
Şekil 4-27: HPMC içeren %18 PL407 nazal in situ jellerden mometazon furoatın salım profilleri* (n=3). 127

Şekil 4-28: Mometazon furoat içeren in situ jellerin nazal mukozadan permeasyon profilleri (n=6). 129
Şekil 4-29: Ortalama hapşırma sayılarına ait bulgular (n=8). 131
Şekil 4-30: Ortalama kaşıma sayılarına ait bulgular (n=8). 132
Şekil 4-31: Kontrol grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm). 135
Şekil 4-32: Alerjik Rinit grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm). 135
Şekil 4-33: Plasebo grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm). 136
Şekil 4-34: Mometazon Furoat içeren in situ jel grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm). 137
Şekil 4-35: Mometazon Furoat içeren süspansiyon grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm). 137
Şekil 4-36: Grupların serum IgE seviyelerine ait bulgular (n=8). 138

SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESI

13C NMR: 13C nükleer manyetik rezonans spektroskopisi

AR: Alerjik rinit

ARIA: Alerjik rinit ve alerjik rinitin astım üzerine etkisi

ASH: Antijen sunan hücre

ATR-FTIR: Zayıflatılmış toplam yansıma-Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi

AUC: Eğri altı alan

CP: Carbopol

CST: Kritik çözelti sıcaklığı

DTZ: Diltiazem hidrokloridin

ECP: Eozinofil katyonik protein

ECRHS: Avrupa Topluluğu Solunum Sağlığı Çalışması

ELISA: Enzim bağlı immünosorbent assay

EPO: Eozinofil peroksidaz

GM-CSF: Granülosit-makrofaj-koloni uyarıcı faktör

GR: Glukokortikoid reseptörü

GRE: Glukokortikoid yanıt elementleri

HC: Hidroksietil selüloz

HPA: Hipotalamus-hipofiz-adrenal

HPLC: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

HPMC: Hidroksipropil metil selüloz

LCST: Düşük kritik çözelti sıcaklığı

MBP: Majör bazik protein

MF: Mometazon furoat

MTL: Miktar tayini limiti

NIS: Başlangıç nazal indeks skorları

OVA: Ovalbümin

PAF: Platelet aktive edici faktör

PBS: Fosfat tamponu solüsyonu

PEG: Polietilen glikol

PEO/PCL/PEO: Poli(etilenoksit)-poli-e-kaprolakton amfifilik triblok kopolimer

PEO/PLGA/PEO: Poli(etilen oksit)-b-poli(D,L-laktik asit-ko-glikolik asit)-b-poli(etilen oksit)

PEO/PPO/PEO: Poli(etilen oksit)-b-poli(propilen oksit)-b-poli(etilen oksit)

PG: Propilen glikol

PL407: Poloksamer 407

pNiPAAm: Poli-N-izopropil-lakrilamid

RAST: Radio allergo sorbent testi

RSD: Relatif standart sapma

SPR: Yüzey plazmon tepkisi

SS: Standart sapma

T sol-jel: Sol-jel geçiş sıcaklığı

TL: Teşhis limiti

TNSS: Total nazal semptom skorları

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

Altuntaş, E. (2016). Alerjik Rinit Tedavisinde Nazal Yoldan Kullanılmak Üzere In Situ Jelleşen Topikal Formülasyonların Geliştirilmesi ve Etkinliğinin Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Alerjik rinit (AR), hapşırma, kaşınma, tıkanıklık, burun akıntısı ve koku kaybının eşlik ettiği üst solunum yollarının iltihabi bir rahatsızlığıdır. Bu semptomlara nazal kavitenin epitelinde lokalize olmuş mast hücrelerindeki antijen-antikor reaksiyonun neden olduğu düşünülmektedir.

Mometazon furoat (MF), alerjik rinitli hastaların semptomlarını rahatlatmak amacıyla kullanılan sentetik bir potent 17-heterosiklik kortikosteroid glukokortikoiddir. Piyasada bulunan MF içeren nazal spreyler, MF'nin zayıf suda çözünür bir ilaç olmasından dolayı süspansiyon şeklindedir. Ancak, damlatılan ilacın nazal kaviteden mukosiliyer klirens ile hızlı eliminasyonu ve süspansiyon içindeki ilacın yavaş çözünürlüğünden dolayı genellikle etki başlangıcındaki gecikme nedeniyle MF'nin nazal uygulanması elverişli değildir.

Bu tez çalışmasında, ilaç ve nazal kavitedeki absorpsiyon bölgeleri arasında uzatılmış teması sağlamak ve formülasyonun drenajını önlemek için modüle edilmiş faz geçiş sıcaklığına sahip, ısıyla jelleşebilen, mukoadezif bir nazal jel geliştirilmiştir.

Bu kapsamda, hazırlanan formülasyonların reolojik ve mekanik özellikleri, mukoadezyon kuvvetleri, ilaç içerikleri, fizikokimyasal stabiliteleri, in vitro salım profilleri ve koyun mukozasına ex vivo permeasyonları araştırılmıştır. In vivo çalışmalarda, formülasyonun AR modeli oluşturulmuş sensitize sıçanlar üzerindeki etkileri, burun kaşıma hareketi, burun akıntısı ve hapşırma gibi semptomların skorlanması, histolojik değerlendirme ve OVA-spesifik serum IgE düzeyinin analizi ile değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak, uygun jelleşme sıcaklığına (30,1±0,24°C), reolojik ve mekanik özelliklere, in vitro salım profiline (T%100 180 dk) ve mukoadezyon kuvvetine (0,289±0,0069 mJ) sahip mukoadezif bir nazal in situ jel geliştirilmiştir. In vivo deneyler, AR tedavisinde MF içeren in situ jelin nazal süspansiyondan daha etkili ve güvenli olabileceğini göstermiştir. In situ jel sistem, terapötik etkilerin arttırılması amacıyla MF'nin intranazal uygulanmasında gelecek vadeden bir yaklaşımdır.

Anahtar Kelimeler: Alerjik rinit, Mometazon furoat, Mukoadezyon, In situ jel, Nazal uygulama

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: 41584) ve TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek Programı tarafından (Proje No: 114S820) desteklenmiştir.

ABSTRACT

Altuntaş, E. (2016). Development and Evaluation of the Effectiveness of the Topical In Situ Gelling Formulations to Be Used Via Nasal Route in Allergic Rhinitis Treatment. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology. PhD Thesis. Istanbul.

Allergic rhinitis (AR) is an inflammatory disease of the upper airway, which is accompanied by sneezing, itching, congestion, rhinorrhea and loss of the sense of smell. These symptoms are considered to be caused by antigen–antibody reaction on mast cells that are located on the epithelia of the nasal cavity.

Mometasone furoate (MF) is a potent synthetic 17-heterocyclic corticosteroid glucocorticoid, which has been used for relieving symptoms in patients with AR. Nasal sprays containing MF on the market are in suspension form since MF is a poorly water-soluble drug. However, this is not favorable for nasal application of MF because of the rapid elimination of the instilled drug from the nasal cavity by mucociliary clearance and delayed onset of action due to the slow dissolution of drug in suspension.

In this thesis, a mucoadhesive thermoreversible nasal gel with a modulated phase transition temperature was developed to provide the prolonged contact between the drug and the absorptive sites in the nasal cavity and in order to prevent drainage of the formulation.

In this content, rheological and mechanical characteristics, mucoadhesion strength, drug content, physicochemical stability, in vitro release profiles and ex vivo permeation across sheep nasal mucosa of the formulations were evaluated.

In vivo studies, effects of the formulation were evaluated on AR model developed sensitized rats with the scoring of symptoms such as nose-scratching move, runny nose and sneezing, the analysis of OVA-specific serum IgE and histological evaluation.

Consequently, the in situ gel which has favorable gelation temperature (30.1±0.24°C), reological and mechanical characteristics, in vitro release profile (T%100 180 min.) and mucoadhesion strength (0.289±0.0069 mJ) was developed. In vivo experiments showed that in situ gel containing MF could be more effective and safe than the nasal suspension in the treatment of AR. In conclusion, for the intranasal delivery of MR, in situ gel system has been concluded as a promising approach in order to improve the therapeutic effects.

Key Words: Allergic rhinitis, Mometasone furoate, Mucoadhesion, In situ gel, Nasal delivery

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University (Project No: 41584) and Rapid Support Program (1002) of TUBITAK (The Scientific & Technological Research Council of Turkey (Project No: 114S820).

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alerjik rinit, hapşırma, kaşıntı, burunda tıkanıklık, burun akıntısı ve koku duyusunun kaybı gibi semptomların eşlik ettiği üst solunum yollarının iltihabi bir hastalığıdır. Bu semptomlara ek olarak hastalarda, damakta, boğazda, kulakta kaşıntı, baş ağrısı, halsizlik, kulaklarda tıkanıklık gibi yakınmalar da görülebilmektedir. Bu duruma, burun boşluğu epitel dokusu üzerinde bulunan mast hücrelerindeki antijen-antikor reaksiyonlarının sebep olduğu kabul edilmektedir (Cao ve ark. 2009). Alerjik rinitte, klinik olarak yıl boyunca devam eden perennial alerjik rinit ve polenlere bağlı olarak ortaya çıkan, genellikle konjunktivit ile birlikte görülen mevsimsel alerjik rinit şeklinde 2 temel gruba ayrılmakla birlikte mesleki, hormonal, ilaca bağlı, yiyeceklere bağlı, emosyonel, iritan faktörlere bağlı, geriatrik, atrofik ve enfeksiyona bağlı alerjik rinit olmak üzere alt grupları da bulunmaktadır (Doğru ve Topuz 2001). Alerjik rinit, prevelansı, yaşam kalitesi üzerine etkisi, iş/okul başarısı üzerine etkisi ve eşlik eden hastalıklar sebebiyle büyük öneme sahiptir. Genel popülasyonun %5-40'ını etkilediği ve prevelansının giderek artış gösterdiği bildirilmiştir. Alerjik rinitin doğrudan ve dolaylı maliyetleri dahil olmak üzere ekonomik yükünün ABD'de yıllık 2-5 milyon dolar olduğu tahmin edilmektedir (Cıngı ve ark. 2010). Alerjik rinit, hastaların yaşamını fiziksel, psikolojik ve sosyal yönden olumsuz etkilemekte, hastaların yaşam kalitesi bozulmakta ve önemli oranda iş gücü kaybına sebep olmaktadır. Semptomlar kontrol altına alınmadığı taktirde öğrenme ve uyku bozukluklarına da yol açmaktadır (Passali ve ark. 2012).

Halihazırda piyasada alerjik rinit tedavisinde kullanılan topikal dozaj şekilleri arasında en etkili olanı topikal kortikosteroidlerdir. Kortikosteroidler sitokin ve kemokin salınımını azaltıcı kuvvetli antiinflamatuar kapasiteye sahiplerdir ve nazal mukozada eozinofiller, T hücreleri ve antijen sunucu hücrelerin infiltrasyonunu azaltırlar. Mometazon furoat, son derece potent olan, piyasada sulu süspansiyonu şeklinde bulunan, intranazal sentetik bir 17-heterosiklik glukokortikoiddir. Oral ve intranazal uygulamadan sonra, sağlıklı gönüllülerde yapılan çalışmalarda <% 0.1'lik bir mutlak biyoyararlanım göstererek, plazmada neredeyse saptanamayacak düzeyde (<50 pg/mL) bulunmuştur. Mometazon furoat nazal sprey, klinik olarak seçilen yetişkin dozunun (200 µg/gün) 20 katına kadar uygulandığında, hipotalamus-hipofiz-adrenal aksı üzerinde etkili olmadığı ispatlanmıştır (Dibildox 2001; Berlucchi ve Pedruzzi 2010). Mometazon furoat, triamsinolon asetonid, budesonid ve flutikozan propiyonat ile kıyaslandığında, en yüksek reseptör afinitesine sahiptir. Bu önemli özellik, daha yüksek afiniteli ilacın, diğerlerinden daha düşük

konsantrasyonlarda, aynı sayıda reseptöre bağlanabileceğini göstermektedir (Berlucchi ve Pedruzzi 2010). Ayrıca kortikosteroidlerin sudaki çözünürlüğünün zayıf olmasından dolayı, piyasadaki burun spreyleri süspansiyon şeklinde bulunmaktadır. Bilindiği gibi, süspansiyon içerisinde ilacın çözünürlüğünün yavaş olması sebebiyle etkinin başlaması gecikmektedir. Bu durum, ilacın mukosiliyer klirens (yaklaşık 15 dakika) ile nazal boşluktan hızlı eliminasyonu nedeni ile kortikosteroidlerin nazal uygulamasını elverişsiz bir hale getirmektedir. Tüm bu nedenler dikkate alındığında, viskozitenin arttırılması (genellikle polimerler ile), formülasyonun drenajının önlenmesi ve nazal mukoza ile ilaç arasındaki temas süresini uzatabilmesi için yararlı olabilir. In situ jel veya in vivo jel (çevreye duyarlı jel), son zamanlarda nazal ilaç uygulamalarında kullanılan yeni bir dozaj şeklidir. Sıvı nazal formülasyonlara kıyasla, nazal in situ jeller, düşük vikoziteli çözeltilerdir ve nazal mukoza ile temas sonucunda, polimer yapısını değiştirerek bir jel oluşturmaktadır. Bu nedenle, in situ jeller yalnızca burun mukozası ve ilaç arasındaki temas süresini uzatmaz, aynı zamanda ilaç salımı, yavaş ve sürekli bir biçimde gerçekleşir. Bu yüzden, bu dozaj şekline sahip formülasyonlar özellikle kronik olarak kullanılması gereken ilaçlarda yararlıdır (Mandhane ve ark. 2011).

Bu çalışmada, alerjik rinit tedavisinde nazal yoldan uygulanmak üzere sıcaklığa duyarlı bir polimer olan poloksamer 407 ve mukoadezif bir polimer (Carbopol®974P NF, hidroksietil selüloz veya hidroksipropil metil selüloz) içeren ısıya duyarlı, toksisite ve iritasyon özelliği düşük, kontrollü ilaç salım özelliğine sahip, uygulama bölgesindeki kalış süresi arttırılmış ve dayanıklı bir topikal dozaj şekli geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında, gerekli analitik validasyon çalışmalarının yapılmasının ardından, formülasyonların hazırlama metodunun tayin edilmesi ve farklı konsantrasyonlardaki poloksamer 407 çözeltilerinin sol-jel geçiş sıcaklığının tespit edilmesi planlanmıştır. Daha sonra poloksamer 407 içeren in situ jellere ilave edilen eksipiyanların, jelleşme sıcaklığı ve jelin mekanik özellikleri üzerine etkisinin araştırılması düşünülmüştür. Ayrıca çalışma kapsamında, hazırlanan formülasyonların reolojik değerlendirilmesi, fizikokimyasal stabilite testleri (pH ve viskozite ölçümü, ilaç içeriği tayini), mukoadezyon kuvvetinin tayini, in situ jellerden etkin maddenin in vitro salım çalışması ve nazal koyun mukozasından etkin maddenin ex vivo permeasyon çalışması gibi testlerin yürütülmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmaların yanı sıra, in vivo çalışmalar kapsamında deneklerde alerjik rinit modelinin oluşturulması ve sonuçta en uygun bulunan formülasyonların sensitizasyon ve provokasyon yapılmış sıçanlardaki etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nazal Yoldan İlaç Uygulanmasına Ait Genel Bilgiler

Nazal sistemler uzun yıllar boyunca yerel etki sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Özellikle burun enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler, dekonjestan olarak vazokonstriktörler, sprey veya merhemler içindeki anti-histaminikler bunlara örnek olarak gösterilebilir (Özer 1990). Son yıllarda ise nazal olarak ilaçların lokal uygulanması sonrasında sistemik yan etki gösterebilmesi, nazal yolun sistemik etki sağlamak amacıyla da kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Illum 2003).

Alerjik veya nonalerjik rinit ve sinüzit gibi burun ve paranazal sinüslerdeki lokal hastalıkların tedavisinde, nazal yoldan ilaç uygulaması mantıklı bir seçimdir. Ayrıca, burun iğne kullanılmadan aşılama ve sistemik ilaç uygulamaları (özellikle hızlı absorpsiyon ve hızlı etki istendiğinde) için cazip bir yol olarak düşünülmektedir (Djupesland 2013).

2.1.1. Nazal Yolun Avantajları ve Dezavantajları

İlaçların nazal yol ile uygulanmasında pek çok avantaj bulunmaktadır. Bu avantajlar aşağıdaki gibi özetlenebilir (Dey ve ark. 2011).

- Yaygın damar ağı yapısı ve kan akışının hızlı olması nedeniyle burun boşluğu morfolojik olarak ilaç absorpsiyonuna elverişlidir.
- Çok sayıda mikrovillus bulunmasından dolayı geniş bir absorpsiyon alanına sahiptir (150 cm^2).
- İlaç burun mukozasından venöz yolla doğrudan sistemik dolaşıma geçer, böylece ilaçlar için karaciğer ilk geçiş etkisi söz konusu değildir.
- Absorpsiyon hızı ve plazma konsantrasyonu intravenöz uygulama ile karşılaştırılabilir düzeydedir.
- Nazal mukoza çok düşük enzimatik aktiviteye sahiptir.
- Hızlı absorpsiyon, yüksek biyoyararlanım karakteristiği nedeniyle ilaçların düşük dozda verilmesi mümkündür.
- Tedavi edici etkisi hızlıdır.
- Gastrointestinal kanalda metabolize olan ilaçlar nazal yol ile verilebilir.
- Doz aşımı riski daha azdır.

- Hasta uyuncu daha yüksektir.
- Girişimsel olmadığından, enfeksiyon hastalıklarının bulaşma riski daha azdır.

Bütün bu avantajlara rağmen nazal yola ait bazı dezavantajlar da söz konusudur (Ugwoke ve ark. 2001; Dey ve ark. 2011).

- Nazal boşluğa ilaç uygulama hacmi drenaj nedeniyle 25-200 µl olarak sınırlanmıştır.
- 1000 Da dan büyük olan ilaçların nazal mukozan geçişleri zordur.
- Patolojik şartlar ilaç absorpsiyonunu etkiler.
- Nazal mukozanın normal savunma mekanizması olan mukosiliyer klirens ilaçların geçişini azaltır.
- Her ilaç için uygun bir yol değildir.
- Uygulanan ilaçlar nazal mukozayı irrite edebilir.
- Peptit ve proteinler için az da olsa enzimatik degredasyon mevcuttur.

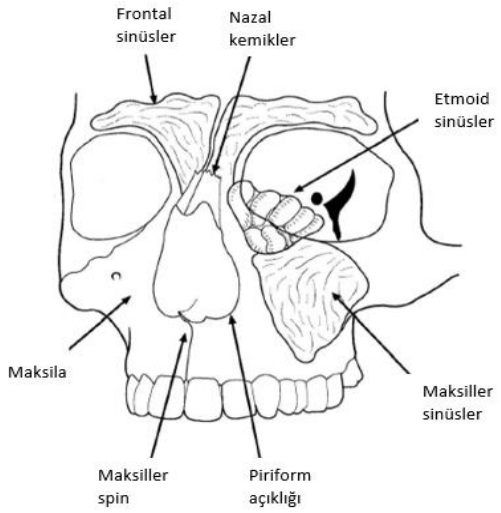
2.1.2. Burun anatomisi

Burun üst solunum yolunun başlangıç noktasıdır. Fizyolojik fonksiyonunun yanında yüzün ortasında yer alması nedeniyle yüzde en çok dikkat çeken oluşumlardan biridir. Burnun hem eksternal hem internal anatomisi ırktan ırka ve kişiden kişiye pek çok farklılık gösterir. Önde nostriller (anterior nares) aracılığı ile yüze, arkada choanae narium (posterior nares) aracılığı ile nasofarenkse açılır (Özcan 2004).

2.1.2.1. Dış Burun

Dış burun, yüzün orta bölümüne yerleşmiş kemik ve kıkırdaktan meydana gelmektedir. Dış yüzünde deri, deri altı dokusu ve kaslardan oluşan yumuşak doku örtüsü mevcuttur. İç yüzü ise müköz membran ve glandüler yapılarla kaplıdır. Dış burnun güçlü yapısı, burun boşluğunun iç yapılarını ve hassas mukoza tabakasını korumaktadır. Burnun dış kısmı, üç kenarlı bir piramit şeklindedir. Burnun sağ ve sol yüzleri ortada birleşerek burun sırtını (dorsum nasi) oluşturmaktadır. Dorsum nasi'nin yukarıda alın ile birleştiği, nazal piramidin tepesine apeks nazi (apex nasi) ya da burun ucu denir. Bu piramidin en üst kısmı, radix nasi (burun kökü) olarak adlandırılan hafif bir çöküntü ile alına yerleşmiştir. Daha yukarıda, glabella olarak bilinen, kaşlar arasında bulunan düz kemik bölgesi, frontal sinüs seviyesinde bulunmaktadır (Cauwenberge ve ark. 2004).

Nazal piramidin temel kısımını meydana getiren, kemik çatıdaki nazal kemikler, birçok insanın düşündüğünden daha kısadır ve burnun 1/3'lük üst kısmını oluşturur. Bu kemikler, burun köprüsü seviyesinde birleşirler ve güçlü bir kemik ekiyle maksillaya (üst çene kemiğine) lateral olarak bağlanırlar. Bu maksiller yapılarla birlikte, nazal kemikler, piriform açıklığı olarak adlandırılan yüze kemik girişini oluştururlar. Bu armut şeklindeki açıklık genellikle bayanlarda daha ufaktır ve bu durum, nazal hava yolunun daralmasında önemli bir faktör olabilmektedir (Şekil 2.1) (Jones 2001; Cauwenberge ve ark. 2004).



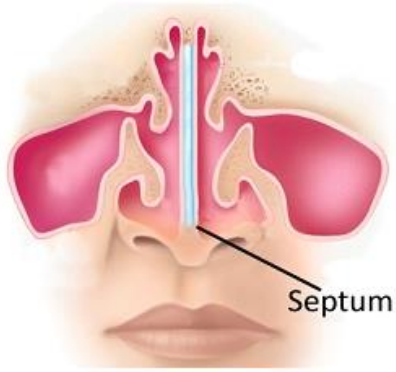
Şekil 2-1: Nazal kemikler ve paranazal sinüsler (Jones 2001).

Dış burunda, bireysel ve ırksal farklılıklar çoktur. Beyaz, Asyalı ve Siyah yetişkinler farklı burun genişliklerine sahiptir. 1991 senesinde Ohki yaptığı çalışmada, ortalama burun genişliğinin Beyazlarda, 34 mm, Asyalılarda 38,7 mm ve Siyahlarda 42,5 mm olduğunu göstermiştir (Cauwenberge ve ark. 2004).

2.1.2.2. Septum, Üst ve Alt Lateral Kıkırdaklar

Nazal piramidin tabanı, iki burun deliği ile dışarı açılır. Bu deliklerin arasında burun ucundan üst dudağın merkezine uzanan membranöz kolumela ismindeki septum bulunmaktadır (Cauwenberge ve ark. 2004). Septum, orta hatta burnu iki ana bölmeye ayıran ve buruna santral desteği sağlayan yapıdır (Şekil 2.2). Septum, vomer (sapan kemiği) ve etmoidin vertikal plakası arkasına bağlanmış ve dört kenarlı kıkırdak (septal kıkırdak) dokudan oluşmuştur. Nazal kavitenin iç duvarını oluşturan nazal septum, önden arkaya membranöz, kıkırdak ve kemik kısım olmak üzere üç kısımdan meydana gelir.

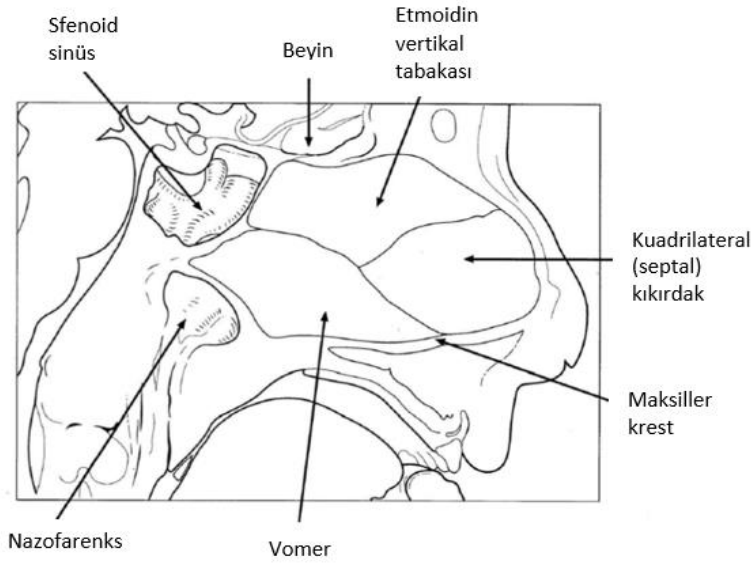
Kıkırdak kısmı septal kıkırdak oluşturur. Kemik kısmı ise etmoid kemiğin perpendiküler laminası ve vomer yapar (Ergin ve Hancı 2007).



Şekil 2-2: Nazal septumun görüntüsü (Moore 1985).

Nazal septum aynı zamanda iç burun valfinin bir parçasıdır. Bu yapıda herhangi bir deviasyon ya da malpozisyon (örn; konjenital veya post-travmatik) olması durumunda valfi daraltabilir ve burun tıkanıklığına yol açar. Bu kıkırdak yüzün orta kısmının gelişiminde önemlidir ve 2 yaşına kadar yetişkin boyutlarına ulaşır (Cauwenberge ve ark. 2004).

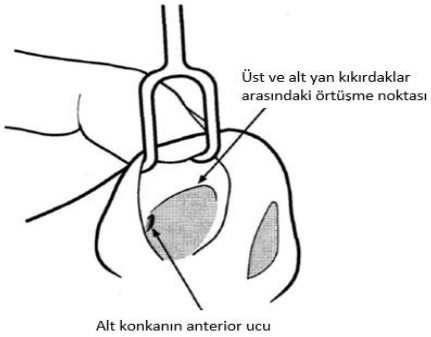
Kıkırdak çatıyı (burnun 2/3'lük alt kısmı), üst lateral kıkırdaklar, alt lateral kıkırdaklar, quadrilateral (dört kenarlı) septal kıkırdak, sesamoid kıkırdaklar ve fibroareolar doku oluşturur. Posteriorda septal kıkırdak, vomer ile etmoid kemiğin vertikal plakası arasına girerek burun septumunun oluşmasına yardım eder. Üst kısmı burun sırtının oluşmasına yardım edip, nazal apeksin de temel desteğini oluşturur (Şekil 2.3) (Jones 2001).



Şekil 2-3: Nazal septumun lateral görünüşü (Jones 2001).

Piramidin merkezi, septal kıkırdağın iki tarafındaki üçgen şeklindeki yassı kısımları meydana getiren, üst lateral kıkırdaklardan oluşmaktadır. Bu kıkırdaklar burun kemiklerinin altyüzeyine bağlıdır ve onlar tarafından örtülmüştür. Nazal piramidin alt kısmı, alt lateral veya alar kıkırdaklar tarafından desteklenmektedir. Alt lateral kıkırdaklar, bir çifttir ve üst lateral kıkırdakların üstüne binerler. Krus laterale ve krus mediale adı verilen uzantılar sahip olup, at nalı şeklindedirler. Alt lateral kıkırdaklar, burun ucu ve kanatlarına şekil vererek ve destekleyerek burun çerçevesini şekillendirmektedir (Ergin ve Hancı 2007; Jones 2001; Cauwenberge ve ark. 2004).

Nazal valf bölgesi, üst lateral kıkırdak ile septal kıkırdağın birleştiği kısıma denir. Nazal valf, nazal havayolunda maksimum rezistansın olduğu bölgedir ve üst, alt lateral kıkırdaklar, alt konka (later vasküler kısım, havayı nemlendirmenin yanı sıra bir radyatör gibi hareket ederek, havayı ısıtır) ve septum arasında bulunmaktadır (Şekil 2.4). Havayolu genellikle en küçük kesit alanına sahip olduğundan ve nazal hava akışını etkilediğinden dolayı önemli bir kısımdır (Jones 2001).



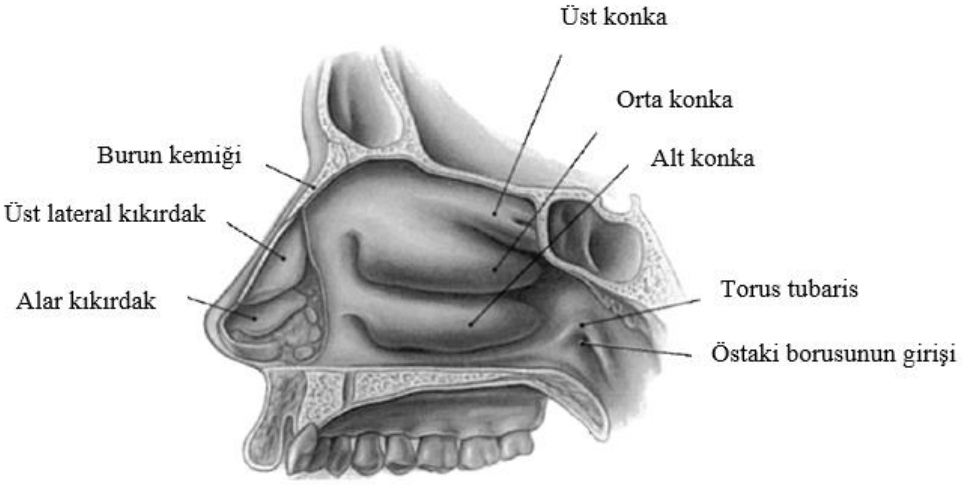
Şekil 2-4: Nazal valf (Jones 2001).

2.1.2.3. Lateral Duvar

Lateral duvar nazal kavitenin yapı bakımından en karmaşık duvarıdır. Paranazal sinüslerin çoğu ile bağlantısı bulunmakta olup, üç ya da dört nazal konka içermektedir. Konkaların kemik yapıları mukoza ile kaplıdır ve aşağıdan yukarıya doğru alt, orta ve üst konkalar olarak adlandırılmaktadır. Eğer dördüncü konka varsa diğerlerinin üzerinde bulunur ve en küçükleri olup supreme konka olarak adlandırılır. Konkaların alt ve lateralinde bulunan hava boşlukları (meatuslar) ilgili oldukları konkaya göre adlandırılmaktadırlar (Graney ve Baker 1998).

Alt meatus, alt konka ve burun zemini arasında uzanır. Bu boşluk içerisinde nazolakrimal kanalın deliği bulunur. Alt ve orta konka arasında bulunan orta meatus, anterior paranazal sinüslerin fonksiyonu için kritik bir bölgedir. Frontal, maksiller ve etmoid sinüslerin tümünün, doğrudan ya da etmoidal infundibulum aracılığıyla bu alan üzerinden çıkışları bulunur (Lane 2004).

İnfundibulum, hiatus semilunaris aracılığıyla orta meatusa akmaktadır. Mukozal inflamasyon ve polipler sıklıkla bu bölgede meydana gelir ve bu durum sinüs çıkışının tıkanıklığına, mukus stazına ve sonuçta bakteriyel sinüzite yol açabilir (Lane 2004). Orta ve üst konkalar arasında bulunan üst meatus, posterior etmoid sinüsler için drenaj alanıdır. Sfenoid sinüs ostiumu meatusta yer almaz, fakat üst konka ve nazal septum arasından direkt nazal kaviteye açılır (Şekil 2.5) (Lane 2004).



Şekil 2-5: Lateral nazal duvarın görünüşü (Lane 2004).

2.1.3. Burun Histolojisi

Nazal mukozanın filtrasyon, ısı regülasyonu, nemlendirme ve koruma gibi fonksiyonları vardır. Bu nedenle burun içinde belli yerler, özel tipte epitel ile örtülüdür. Nazal kavite histolojik olarak vestibül, respiratuvar ve olfaktör bölüm olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır.

2.1.3.1. Nazal Vestibül

Nazal vestibül, yanal olarak buruna giriş bölgesini ifade eden bir terimdir. Vestibül, nazal kavitenin en ön ve geniş bölümüdür. Bu bölüm vibrissae denilen kalın kısa kıllar ve çok sayıda yağ ve ter bezleriyle birlikte keratinize olmuş çok katlı skuamöz (yassı) epitel ile kaplıdır. Hava yoluna doğru uzanan bu bölgedeki kıllar, solunan havadaki toz parçacıklarını filtre eder. Yaklaşık yarım santimetre sonra skuamöz epitel, mukoza halini almaktadır (Fawcett ve Bloom 1986; Jones 2001).

2.1.3.2. Respiratuvar Mukoza

Nazal kavitenin vestibülden sonraki kısmı respiratuar mukoza ile kaplıdır. Goblet hücrelerinden zengin yalancı çok katlı silyalı kolumnar epitel ile örtülü olan bu kısım, epitel bir bazal lamina üzerinde yerleşmiştir. Müköz ve seröz bezler içeren bir bağ dokusu (lamina propria) tarafından desteklenmektedir. Goblet hücreleri ile bu bezlerden salgılanan sıvı, epitelin nemli kalmasını sağlar (Fawcett ve Bloom 1986; Junqueira 1998). Respiratuvar epitelde, goblet hücreleri, silyalı hücreler, mikrovilluslu hücreler ve küçük

granüllü hücrelere ek olarak bazal hücreler bulunur. Bu hücrelerin, diğer hücre tiplerine farklılaşabilen kök hücreler oldukları düşünülmektedir (Junqueira 1998; Lane 2004). Silyalı hücre, bazal membrandan luminal yüzeye kadar uzanan, respiratuar müköz membranın predominant hücresidir. Yüzeyinde çok sayıda mikrovilluslar ve silyalar (titrek tüy) ihtiva eder. Silya yaklaşık 6 μm uzunluğunda, 0,3 μm genişliğindedir. Her hücre apikal yüzünde yaklaşık 300 silya bulunur. Silyalar, hücre yüzeyinin hemen altında yerleşmiş bulunan bazal cisimlere tutunurlar ve saniyede 14 vuruş yaparlar. Silyaların bu hareketi ile ufak partikülleri tutan ve suda çözünen gazları absorbe eden yüzeyel mukus dakikada 3-35 mm hız ile nazofarenkse doğru itilir. Mikrovilluslu hücreler silyalardan daha küçüktür. Mikrofilament yığınları içeren bu hücreler, hareketli uzantılara sahiptir. Bu hücreler, bazal yüzlerinde afferent sinir stromaları içerirler ve bunlar duyu reseptörü olarak kabul edilirler. Mikrovillusların fonksiyonunun temizlik olmadığı ancak hücre yüzeyini, büyük oranda artırdıkları düşünülür (Junqueira 1998; Fawcett ve Bloom 1986). Goblet hücrelerinin yüzeyinde hücrenin salgı yapma durumuna göre mikrovilluslar bulunur. İstirahat halinde iken goblet hücresinin yüzeyi mikrovilluslar ile kaplıdır. Mukus granülleri bir araya gelip toplandıkça ve hücre yüzeyine yaklaştıkça mikrovilluslar kaybolur, mukus kitlesi hücre yüzeyinde kabarıklık yapar, hücre yüzeyi açılır ve mukus granülü dışarıya atılır. Daha sonra hücre yüzeyindeki kabarıklık ortadan kaybolarak eski haline gelir ve yeni bir evre başlar. Goblet hücreleri daha çok burun boşluğunda yerleşmiştir. Goblet hücre sayısı konakçının enfeksiyona cevabı olarak sinüzitlerde artmaktadır (Fawcett ve Bloom 1986). Artmış mukus üretimi, mukozayı fiziksel olarak kaplayıp bakterilere ve inflamatuar mediatörlere karşı korur (Bolger ve ark. 1997). Küçük granüllü hücreler, nazal hava yolu reflekslerinin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülen katekolaminleri ve polipeptit hormonları üreten, endokrin tipi hücrelerdir (Lane 2004).

2.1.3.3. Olfaktör Mukoza

Olfaktör alan olarak bilinen bu anatomik bölge, yalancı çok katlı kolumnar epitel ile örtülüdür. Bu bölge üst konkanın üzerinde, sarımsı kahverenginde bir özel koku epiteline sahiptir. Olfaktör epitel üç tip hücre içerir. Bunlar olfaktör hücre, destek hücresi, bazal hücredir. Olfaktör hücreler, destek hücrelerinin arasında düzenli bir şekilde dağılmış, bir hücre gövdesi, yüzeye uzanan bir dendriti ve altta lamina propriaya uzanan bir aksonu olan bipolar hücrelerdir. Apikalde hücre daralır ve yüzeye yaklaştığı bir yerde tekrar genişleyerek olfaktör vezikülü oluşturur. Hücrenin yüzeyinde sayıları 10-30 olan ve 50-200 mikrometre uzunluğunda silyalar vardır. Veziküllerin yüzeyinde, kokuya maruz kalan alanı artırdıkları düşünülen mikrovilluslar bulunur. Destek hücreleri; apikal kısmı geniş,

bazal kısma doğru daralan, uzun, ince, silindirik hücrelerdir. Mukus örtüye uzanan çok sayıdaki ince, uzun mikrovillus ile komşu olfaktör hücrelere bağlanırlar. Supranükleer sitoplazmalar küçük golgi cisimciği ve lipofuksine benzer pigment granülleri içerir. Bu granüller mukozanın sarımsı kahverengi görünmesine neden olur. Destek hücrelerinin esas fonksiyonu yüzeylerinde bulunan birçok mikrovillus ile yüzey alanını arttırmaktır. Aynı zamanda stimülasyondan sonra mukustan koku hücrelerinin uzaklaştırılmasında fagositik role sahiptirler. Bazal hücreler, komşu olfaktör hücreler ile temas halinde olan, küçük ve konik şekilli hücrelerdir. Dallanan sitoplazmik çıkıntıları, destek hücrelerin tabanları arasında uzanır. Bu hücrelerin destek hücrelere farklılaşabilen kök hücreler olduğuna inanılır (Jungueira ve ark. 1992; Leeson ve Popois 1988).

2.1.4. Burun Fizyolojisi

Burnun solunum, koku alma ve konuşmada rezonans fonksiyonları yanında orta kulağın havalanması, paranazal sinüslerin boşalımı, tat alma ve estetik gibi birçok konuda fonksiyonu vardır. Sağlıklı bireylerde, solunan hava akciğer alveollerine ulaşmadan önce, temizlenir, ısıtılır ve nazal mukoza tarafından nemlendirilir. Burnun bu fonksiyonları alt solunum yollarının korunmasını temin etmektedir. Ayrıca, nazal kavite paranazal sinüslerle birlikte ses tellerinin çıkardığı ses titreşimlerinden etkilenerek, konuşma sırasında sesin rezonansında görev almaktadır. Nazal mukoza, alerjenler, mikroorganizmalar ve diğer iritan ürünlere karşı başlıca savunma sisteminde spesifik rol oynamaktadır. Bu savunma sistemi, mukosiliyer transport, inflamasyon, hümoral ve hücresel cevaplarla devam ettirilir (Cauwenberge ve ark. 2004).

2.1.4.1. Nazal Hava Akımı ve Nazal Rezistans

Solunum sistemi rezistansının %50'sinden burun sorumludur. Burun, alt solunum yollarına hava geçişini sağlayan irregüler yapılı bir tüpe benzetilebilir. Nazal kavitedeki hava akımı nazal kavitenin farklı yerlerinde, inspirasyonda, ekspirasyonda, istirahat halinde ve egzersiz sırasında farklı özellikler gösterir. İstirahat halindeki bir insanın inspirasyonu sırasında burunda daha çok laminar bir hava akımı söz konusudur. Egzersiz durumunda nazal hava akımının türbülansı artar (Özcan 2004). İnspirasyon yaklaşık olarak iki saniye sürer. Nazal solunum esnasında havanın %50'si orta ve alt meatustan geçer ve %5-10'u olfaktör bölgeye ulaşır. Nazal kavitenin girişindeki hava akımı hızı 2-3 m/s iken, hava akımının en dar noktasını oluşturan internal nazal valf noktasında 12-18 m/s'ye yükselmektedir. Konka alanında ise hız 2-3 m/s'ye düşer. Havanın büyük kısmı orta meatustan geçer. Hava akımı türbülanslı hale gelir. Bu da solunan havanın ısıtılması ve

nemledirilmesinde önemli bir faktör olmaktadır (Cauwenberge ve ark. 2004). Ekspirasyon yaklaşık olarak üç saniye sürer. İnspirasyon havası kadar olmasa da ekspirasyon havasının bir bölümü olfaktör sahaya ulaşır. Nazal hava akımı ve nazal rezistansın kontrolü nazal mukozadaki kan damarlarının yardımıyla olur. Burun mukozasında ve özellikle alt konkada bulunan venöz sinüzoidler (kapasitans damarları) otonom sinir sisteminin kontrolündedir. Kabaca, sempatik sistem aktivasyonunun nazal dekonjesyona, parasempatik sistem aktivasyonunun da nazal konjesyona neden olduğu söylenebilir. Gerçekte bu iki sistem bir arada çalışarak, nazal kan akımını ve dolayısıyla nazal direnci kontrol ederler (Özcan 2004).

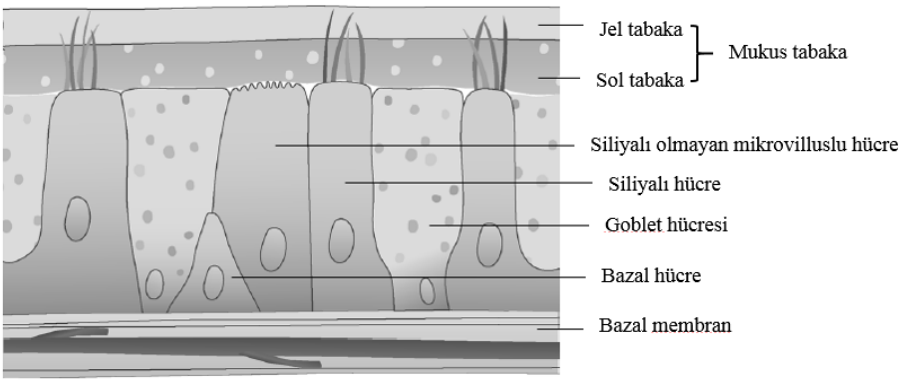
2.1.4.2. Solunan Havanın Isıtılması ve Nemlendirilmesi

Dış ortamın ısısı bulunulan yere göre -50 °C ile +50°C arasında değişebilir. Burun solunan havayı 31°C-37°C arasına getirebilme yeteneğine sahiptir. Bu ısıtma, ısının konveksiyon yoluyla nazal konkalardan solunan havaya iletilmesi ile olur. Solunan havanın önden arkaya doğru hareket etmesi ve kan akımıyla hava akımının ters yönlerde olması, ısı transferinin daha etkin bir şekilde gerçekleşmesini sağlar. Burun aynı zamanda vücut sıcaklığı arttığında termoregülatör sistemin bir parçası olarak çalışır. Solunan havanın ısıtılmasının yanı sıra, aynı zamanda nemlendirilmesi de söz konusudur. Havanın nemlendirilmesi için seröz bezlerin ürettiği sekresyon, ekspirasyon havasındaki su buharı ve nazolakrimal kanaldan buruna gelen sekresyon kullanılır. Solunan havadaki nem oranı hava nazofarenkse ulaştığında %100'e çıkabilmektedir (Özcan 2004).

2.1.4.3. Solunan Havanın Temizlenmesi ve Alt Solunum Yollarının Korunması

Solunan havanın temizlenmesi iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada havadaki büyük partiküller, nazal vestibüldeki kıllar tarafından tutulur. İkinci aşamada ise daha küçük partiküller burundaki mukus tabakasına yapışırlar. Bu aşamada hava akımının türbülan olması, havayla temas eden mukoza yüzeyini artırır ve partiküllerin mukusa yapışma ihtimalini de arttırmış olur. Partikül çapı 3 μm'den büyük olan partiküller burunun ön kısmında, çapı 0,5 μm-3 μm arasında olan partiküller nazal mukus tarafında tutulabilir. 0,5 μm'den küçük olanlar ise alt hava yollarına geçebilir (Schwab ve Zenkel 1998).

Burun mukozası mukus tabakası ile kaplıdır. Nazal mukus iki tabakadan oluşur. Jel tabakası olarak dış tabaka daha visköz ve kalın bir tabakadır. Sol tabakası olarak adlandırılan alttaki tabaka ise jel tabakasına göre daha seröz bir yapıdadır. Mukozadaki silyalar sol tabaka içindedir. Ancak silyaların uçları jel tabakası ile temas halindedir (Şekil 2.6).



Şekil 2-6: Nazal mukus tabakası ve yalancı kolumnar epitel hücreleri (Bitter ve ark. 2011).

Silya hareketleriyle jel tabakası ve içindeki partiküller nazofarenkse doğru itilirler. Buna mukosiliyer klirens denir. Mukosiliyer klirens paranazal sinüslerin de temizlenmesini sağlar. Nazal mukosiliyer klirens genellikle sakkarin testi ile ölçülmektedir. Bu testte burnun ön kısmına sakkarin konulur ve hastanın sakarinin tadını alması için geçen süre kaydedilir. Bu test subjektif olduğundan, sakkarinle birlikte bir damla metilen mavisi konulması ve rengin testi yapan kişi tarafından otofarinkste görülmesi önerilmiştir. Sakkarin testiyle normal kişilerde kaydedilen mukosiliyer klirens 11-12 dakika civarındadır. Nazal mukusun seröz kısmını seröz bezler, müköz kısmını ise goblet hücreleri üretir. Nazal mukusun temelini seröz bezlerce salgılanan sekresyon oluşturur. Bu sekresyon içerisinde çözünmüş olarak bulunan başlıca madde glikoproteinlerdir. Glikoproteinler goblet hücreleri tarafından üretilirler ve mukusun visköz ve elastik olmasını sağlarlar. Mukus içinde ayrıca antikorlar, nörotransmitterler, immünoglobulinler ve lökositler de bulunmaktadır. Dolayısıyla mukus mekanik temizliğin yanı sıra enfeksiyonlara karşı korunmada da immünolojik bir görev üstlenir. Mukozayı etkileyen hastalıklar mukusun yapısını da değiştirirler. Örneğin, alerik rinit ileri derecede seröz bir mukus üretilmesine neden olurken, kronik rinosinüzit viskozitesi artmış mukus üretimine neden olmaktadır. Alerjik rinit ve rinosinüzit gibi hastalıklarda nazal mukosiliyer klirens süresinin normal insanlara göre arttığı bildirilmiştir. Bu hastalarda nazal mukosiliyer klirens süresinin uzaması epitelyal siliyaların hareket bozukluğuna bağlı olabileceği gibi, silya kaybı sonucu da ortaya çıkmış olabilir (Özcan 2004).

2.1.4.4. İmmünolojik Fonksiyon

Çeşitli iritanlara, mikroorganizmalara ve alerjenlere karşı solunum sistemini koruyan, spesifik ve nonspesifik sistemler olarak adlandırılan iki mekanizma bulunmaktadır. Nonspesifik sistem, burnun filtrasyon fonksiyonu ile birlikte mukosiliyer transport sistemini içermektedir. Mikroorganizmalar, iritanlar ve alerjenler, siliyalı mukoza ile örtülü nazal muköz örtü içerisine hapsedilir ve nazofarenkse doğru iletilerek yutulur. Burada gastrik enzimler tarafından yok edilir. Bu, insanlarda birincil savunma hattını oluşturmaktadır. İkincil savunma hattını oluşturan, diğer nonspesifik sistem olan inflamasyon reaksiyonudur. Vazodilatasyon, artan kapiller permeabilite, plazma eksudasyonu ve nötrofillerin aktivasyonu, burun tıkanıklığı ve akıntısını indükler. Aktive olmuş inflamasyon hücrelerinin salımı sonucu oluşan çeşitli faktörler, sinir reseptörlerini tahriş ederek, hapşırmaya ve burun kaşıntısına neden olur. Birkaç gün sonra, monositler ve makrofajlar harekete geçerek, viral ve hücresel atıkları elimine eder (Cauwenberge ve ark. 2004). Burnun nonspesifik savunma sisteminin yanında, hümoral ve hücresel immünolojik cevapları oluşturan spesifik bir savunma sistemi de vardır. Bu sistem, patojenlerin eliminasyonunun tamamlanması ve immünolojik bellek olayının indüksiyonundan sorumludur (Cauwenberge ve ark. 2004).

2.1.4.5. Koku Alma

Kokuların algılanmasında koku alma sistemi, birincil koku merkezleri ve diğer merkezi yapılar arasında çok sayıda bağlantıya sahiptir. Koku alma duyusu, gıda alımı ve lezzet algısında önemli bir role sahiptir. Üreme davranışı kısmen kokular tarafından düzenlenir. Koku alma, irite edici ve toksik bileşenlerin saptanmasında önemli bir koruyucu fonksiyona sahiptir. Koku alma yüzeyi yaş arttıkça azalır ve yerini respriuar epitele bırakır. Olfaktör yüzeyin boyutu, reseptör hücrelerin siliyaları tarafından önemli ölçüde arttırılır. Koku algısını indüklemek için reseptör hücrelere ulaşması gereken koku partikülleri, mukus tabakasını geçmek zorundadır. Bu da koku partiküllerinin belli bir ölçüde suda çözünebilir olması anlamına gelmektedir. Sürekli bir kokuya maruz kalındığında, koku algısı kolayca zayıflar. Ancak, uyarı sonlandıktan sonra hızlıca düzelir (Mair ve ark. 1995).

Hipozmi (kısmi koku kaybı), parozmi (kokuya anormal hassasiyet) ve anozmi (tamamen koku kaybı) koku almayla ilgili sık görülen şikayetlerdir. Anozminin ortak nedenleri sıklıkla soğuk algınlığı (nazal mukozanın tıkanması) ve nazal poliplerdir. Klinik olarak bağlantılı olan nazal septum deviasyonu gibi faktörler, burun tıkanıklığını arttırabilir. Enfeksiyon (viral, bakteriyel), toksinlere maruziyet ve inflamasyon (alerji),

olfaktör epiteli etkileyerek geçici bir koku kaybına yol açabilir (Cauwenberge ve ark. 2004).

2.1.4.6. Nazal Siklus

Nazal rezistans hem fizyolojik hem de patolojik olaylar nedeniyle değişikliğe uğrayabilir. Nazal siklus, nazal havayolu direncinin siklik bir şekilde ve fizyolojik olarak değişmesidir. Sağlıklı kişilerin % 70-80'inde nazal siklus bulunmaktadır. Nazal siklusun süresi 2-6 saat arasında değişmektedir. Bu sürede burunun bir tarafında konjesyon, diğer tarafında dekonjesyon olur. Nazal siklusta burunun total havayolu direnci değişmez ve dolayısıyla burunda anatomik bir bozukluk yoksa siklus hissedilmez. Septum deviasyonu gibi bir anatomik bozuklukta ise konjesyon deviasyonla aynı tarafta olduğunda siklik bir burun tıkanıklığı hissedilebilir. İnsanın sağına veya soluna yatması siklusu ortadan kaldırır. Bu durumda yer çekimine bağlı olarak altta kalan tarafta konjesyon, üstte kalan tarafta dekonjesyon olur. Septum deviasyonu olan bir hasta, septumun deviye olduğu taraf üste gelecek şekilde yatarsa burundan nefes alamadığından şikayetçi olur (Hasegawa ve Kem 1978).

Başka fizyolojik durumlar da nazal kan akımını değiştirerek burun direncini etkileyebilir. Hiperkapni ve hipoksi sempatik sistem aktivasyonu yoluyla dekonjesyona ve nazal direncin azalmasına neden olur. Egzersiz esnasında da ventilasyon artar ve nazal dekonjesyon ortaya çıkar. Rinosinüzit ve allerjik rinit gibi burunda inflamasyona yol açan hastalıklar, hormonlar, hamilelik, korku ve seksüel aktivasyon nazal siklusta değişikliklere neden olan diğer faktörlerdir. Antihistaminik ve antikolinerjikler gibi pek çok ilaç da nazal siklusu etkiler.

Nazal havayolunun değerlendirilmesinde kullanılan başlıca teknikler rinomanometre ve akustik rinometredir. Rinomanometre ile nazal kavitede akım oluşturmak için gerekli olan basınç ölçülür. Ancak bu teknik burundaki tıkanıklığın yeri hakkında bilgi vermez. Akustik rinometre ise nazal kaviteye ses dalgaları gönderip bunların yansımalarını analiz eder. Bu teknikte burnun çeşitli bölgelerindeki kesitsel alanları hesaplamak ve burundaki tıkanıklığın yeri hakkında fikir sahibi olmak mümkündür (Özcan 2004).

2.1.5. Nazal Yolla Uygulanan Dozaj Şekilleri

Burun yoluyla ilaç verilmesi için kullanılan mevcut teknoloji, dekonjestanlar, antibiyotikler ve mukolitikler gibi ilaçların lokal etki amacıyla ya da terapötik peptidler

gibi düşük molekül ağırlığına sahip ilaçların sistemik etki amacıyla burun boşluğuna uygulanmasını kapsamaktadır (Hillery ve ark. 2001).

2.1.5.1. Klasik Dozaj Şekilleri

Klasik dozaj formları, lokal veya sistemik etki elde etmek için burun boşluğuna uygulanan sıvı, yarı-katı veya katı preparatlardır. Buruna uygulanan ilaçların çoğu lokal etki ile burun tıkanıklığını gidermek amacıyla kullanılır. Aşağıda buruna uygulanan klasik dozaj şekilleri kısaca özetlenmiştir.

1) Sıvı Dozaj Şekilleri

Nazal Damlalar:

Çözeltiler için uygun olan nazal damlalar, sıkıştırılabilir plastik bir taşıyıcı ile doğrudan ya da damlalıklı esnek (kauçuk) bir ambalajla bir veya daha fazla damla ilaç çözeltisinin nazal boşluğa uygulanması esasına dayanır (Hillery ve ark. 2001). Bu sistemin başlıca dezavantajı, doz kesinliğinin olmaması ve doz aşım riskidir (Appasaheb ve ark. 2013).

Nazal Spreyler:

Nazal spreyler çözelti ve süspansiyon formülasyonları şeklinde hazırlanabilirler. Sıkıştırılabilir şişeler içerisindeki nazal spreylerle tekrarlanabilir dozlama mümkün olmamaktadır. Bu sorun ancak hastaya önceden belirlenmiş hacimlerde ilaç verebilmeyi sağlayan ve mekanik bir hareketle çalışan ölçülü doz cihazlarla giderilebilir. Bu cihazlarla hastaya 25-200 μL arasındaki hacimlerde kesin dozlar verilebilir. Piyasadaki ölçülü doz spreylere örnek olarak Syntaris (flunisolid), Beconase (beklometazon) ve Rhinocort (budesonid) verilebilir (Hillery ve ark. 2001; Appasaheb ve ark. 2013).

Nazal emülsiyonlar:

Nazal emülsiyonlar, diğer sıvı nazal dozaj sistemlerine göre daha az çalışılmış sistemlerdir. Viskozitelerinden dolayı lokal uygulamada avantajları bulunmaktadır (Appasaheb ve ark. 2013).

2) Yarı-katı Dozaj Şekilleri

Bu preparatlar, genellikle lokal etki sağlamak amacıyla kullanılır ve taşıyıcının yapısına bağlı olarak; koruyucu, antioksidan, stabilizatör, emülsifiye edici, penetrasyon ve viskozite arttırıcı maddeler içerebilir. Yarı-katı preparatlar arasında nazal jel, krem ve merhem sıklıkla kullanılmaktadır (Appasaheb ve ark. 2013).

3) Katı Dozaj Şekilleri

Bu tip formülasyonlar, nazal mukoza epitelindeki damarları kapladığından daha çok pulmoner ve benzeri uygulamalara daha uygundur. Nazal tozlar; stabil olmalarına ve koruyucu içermemelerine rağmen, irritasyon yapma potansiyelleri diğer formülasyonlardan daha çok olduğundan tercih edilen dozaj şekilleri değildir. Kuruluk hissi vermelerinin yanı sıra üretimlerinin zor ve pahalı olması dezavantajları arasındadır (Pringels vd., 2006). Bu preparatların partikül boyutu oldukça önemlidir. Etkin madde toz halinde doğrudan veya yardımcı maddeler ile birlikte uygulanır (European Pharmacopeia 1997).

2.1.5.2. Modern Dozaj Şekilleri

Son yıllarda, nazal uygulanan dozaj şekillerinin biyoyararlanımını arttırabilmek amacıyla, mikroküreler, nanopartiküller, lipozomlar, insertler ve mukoadezif ilaç taşıyıcı sistemler gibi çeşitli sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemler, stabiliteyi, nazal boşlukta kalış süresini ve membrana penetrasyonunu arttırabilmek amacıyla ilaçların yanı sıra, enzimatik inhibitörler, nazal absorpsiyon arttırıcılar ve/veya mukoadezif polimerler de içermektedirler (Appasaheb ve ark. 2013).

1) Mikroküreler

Mikroküre teknolojisi nasal ilaç taşıyıcı olarak formülasyonların tasarlanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Mikroküreler genellikle intranazal ilaç taşıyıcı olarak çeşitli avantajlara sahip mukoadezif polimerlere (kitozan, aljinat v.b.) dayalı olarak hazırlanır. Ayrıca, mikroküreler ilacı enzimatik metabolizmadan korur ve etki süresini uzatır (Gavini ve ark. 2008).

Gavine ve ark.ları burun mukozasını, metoklopromit içeren aljinat/kitozan mikrokürelerine maruz bıraktıktan sonra analiz etmişlerdir. Sonuçta, bu püskürtülerek kurutma yöntemi ile üretilen mikrokürelerin, epiteldeki sıkı bağlantı noktalarını (tight junctions) açtığı ve mukoadezif nazal taşıyıcı olarak umut verici özellikler taşıdığı gözlemlenmiştir (Gavini ve ark. 2005).

2) Nanopartiküller

Son zamanlarda, çeşitli alanlarda nanoteknoloji dikkat çekmektedir. Nanopartikül sistemler ilaç taşıyıcıların geliştirilmesi ve intranazal ilaç uygulamalarında araştırılmaktadır. Nanopartiküller boyutları 1-1000 nm arasındaki katı kolloidal partiküllerdir (Tiyaboonchai 2003). Nanopartiküller ufak boyutta olmalarından dolayı çeşitli avantajlara sahip olmakla birlikte sıkı bağlantı noktaları sebebiyle yalnızca sınırlı

miktardaki çok ufak nanopartiküller mukozal membrana paraselüler yol aracılığıyla penetre olabilir (Illum 2007). Partiküllerin nazal lenfoid dokudaki M-hücreleri tarafından alınıp, lenfoid sistem ve kan dolaşımına iletilmesi nedeniyle düşük biyoyararlanım elde edilebilmektedir. Bunun aksine, diğer çalışmalar nanopartiküler sistemlerin nazal aşıların taşınmasında ideal olabileceklerini ileri sürmektedir (Debin ve ark. 2002).

3) Lipozomlar

Lipozomlar, ilaç ve diğer bileşenleri içerebilen bir veya daha fazla sulu kompartmanı kapsayan ve lipid çift tabakalardan oluşan fosfolipid veziküllerdir. Lipzomal ilaç taşıyıcı sistemler, geniş bir aralıktaki hidrofiliklik ve pKa değerlerine sahip ufak ya da büyük moleküllerin etkin enkapsülasyonu gibi çeşitli avantajlara sahiptir (Alsarra ve ark. 2008). Ayrıca, lipozomların membrana penetrasyonunu arttırarak, insülin ve kalsitonin gibi peptidlerin nazal absorpsiyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Jain ve ark. 2007; Law ve ark. 2001). Bu durum, peptidlerin nazal retensiyonunun artışına, yüklenmiş peptidlerin enzimatik degredasyondan korunmasına ve mukozal membran bozulmasına dayandırılabilir (Law ve ark. 2001; Murramatsu ve ark. 1999; Kato ve ark. 1993).

Jain ve ark.ları insülini kitozan ve karbopol ile kaplı lipozomlara yükledikten sonra sıçanlara intranazal olarak uygulamışlardır. Sonuçlar bu formülasyonun etkili olduğunu ve mukoadezif özelliğinin, insülinin uzatılmış salımı için uygun bir seçenek olabileceğini göstermiştir (Jain ve ark. 2007). Buna ilaveten, lipozomal ilaç taşıyıcı sistemlerin, influenza aşısı ve nifedipin gibi peptid olmayan ilaçlar için yararlı olduğu bildirilmiştir (Alsarra ve ark. 2009; Vyas ve ark. 1995).

Lipozomlar farklı formülasyonlar içerisine katılabilirler. Örneğin, Ding ve ark.ları levonorgestreli lipozom süspansiyonu şeklinde intranazal uyguladıklarında hızlı bir etki başlangıcı ve uzatılmış salım elde etmişlerdir (Ding ve ark. 2007). Ayrıca, asiklovir lipozomal jel içerisinde nazal uygulandığında pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Lipozomal jel yalnızca ilaç ve absorpsiyon bölgesi arasındaki teması uzatmakla kalmamış, aynı zamanda nazal mukoza aracılığıyla direkt absorpsiyonu da iyileştirmiştir. Bu sonuçlar lipozomal formülasyonlarla jel içerisinde dağıtılmış serbest ilacın karşılaştırılması ile elde edilmiştir (Alsarra ve ark. 2009).

4) İnsertler

Nazal insert, liyofilizasyon tekniğiyle hazırlanan ilaç emdirililmiş hidrofilik polimer matriks içeren katı bir dozaj şeklidir. İnsertler, ilk olarak yüksek damarlanmaya sahip nazal mukoza ile temas eder, daha sonra yapısındaki polimer, mukoza sıvısını

absorbe ederek hızlı bir şekilde jel formuna geçer ve böylece uzun süreli ve/veya kontrollü bir salım profili sağlarlar (Bertram ve Bodmeier 2006).

Yapılan bir çalışmada biyoadezif polimerler ile hazırlanan insertin biyoadezyon potansiyeli, su absorplama kapasitesi, mekanik özellikleri gibi parametreler incelenmiştir. Yapılan in vitro çalışmalar sonucunda düşük molekül ağırlığına sahip polimerler ile hazırlanan insertlerin, yüksek molekül ağırlıklı polimerlerle hazırlananlara kıyasla daha hızlı ilaç salımı yaptığı gösterilmiştir. Su absorplama kapasitesi düşük olan insertlerin, biyoadezyon potansiyellerinin de düşük olacağı tespit edilmiştir. Bu çalışmada nazal insertin ilaç salım süresini uzatmak için iyi bir dozaj formu olduğu belirtilmiştir (Bertram ve Bodmeier 2006).

5) Mukoadezif İlaç Taşıyıcı Sistemler

Mukosiliyer klirens, ilaç absorpsiyon süresini azalttığından dolayı nazal yoldan ilaç taşınmasında en önemli sınırlayıcı faktörlerden biridir. Nazal ilaç uygulamalarında nazal mukoza ve ilaç arasındaki temas süresi uzatılarak tedavi etkinliği arttırılabilir. Bu amaçla, mukoadezif ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmektedir (Pires ve ark. 2009). Mukoadezyon, mukoadezif olarak adlandırılan sentetik veya doğal bir polimer ile müsin arasındaki ilişki sonucu meydana gelen ilaç taşıyıcı sistemin mukozaya yapışmasını ifade eder. Bu mukoadezyon sırasında, bir takım adımları içeren ardaşık olaylar meydana gelir. İlk olarak mukoadezif sistemler, mukus tabakasından su absorplar ve ıslanarak şişer. Bunu takiben, polimer mukozaya sıkı bir biçimde nüfus eder. Böylelikle, formülasyon nazal boşlukta lokalize olarak, ilaç konsantrasyon gradientinin epitel boyunca artmasını sağlar. İntranazal ilaç taşıyıcı sistemlerde en sık kullanılan mukoadezifler, kitozan, poliakrilatlar, aljinatlar veya selüloz ve onun türevleridir. Carbopol 934P ve polikarbofil, tripsin proteolitik enzimini inhibe eden mukoadezif polimerlerdir ve bu sayede peptid ilaçların stabilitesini arttırabilirler (Ugwoke ve ark. 2005). Suda çözünür, doğal ve lineer bir polimer olan sodyum aljinat, toksik olmayışı, biyouyumluluğu ve jel oluşturma kapasitesinden dolayı polimer bir matriks olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, sodyum aljinatın, polistiren, kitozan, karboksimetilselüloz ve polilaktik asit gibi polimerlerle kıyaslandığında en yüksek mukoadezif kuvvete sahip olduğu gösterilmiştir (Ugwoke ve ark. 2005).

2.2. Mukozaya Yapışan Sistemler Hakkında Genel Bilgiler

İlaç absorpsiyonu genellikle ilacın uygulama bölgesindeki kalış süresi nedeniyle sınırlıdır. Örneğin, oküler ilaç taşıyıcı sistemlerde bir ilaç çözeltisi uygulandıktan birkaç dakika içerisinde gözyaşı sıvısı nedeniyle temizlenir. Bu nedenle, mukoadezyon ilaç taşıyıcı sistemlerin mukozal kalış süresini uzatmak amacıyla kullanılan önemli bir stratejidir. Hem sistemik hem de lokal ilaç taşıyıcılarda, mukoadezif dozaj şekilleri absorpsiyonu bölgesi ya da etki bölgesi ile yakın temasta tutularak optimize edilebilir. Bu şekilde, yüksek lokal ilaç konsantrasyonlarına ve absorbe eden doku tarafından yüksek bir akıya ulaşılabilir. Ayrıca, doku korunması (örneğin, gastrik ülserler) veya lubrikasyon (göz) için mukoadezif materyallerin kendileri de terapötik ajanlar olabilmektedir (Hombach ve Bernkop-Schnürch, 2010).

2.2.1. Mukus

Çeşitli vücut boşluklarında bulunan tek tabakalı (örneğin, mide, barsak, bronş) veya çok tabakalı (örneğin, vajina ve kornea) epitel, jel bir mukus tabakası tarafından nemlendirilir. Tek tabakalı epitel, epitel yüzeyine mukus sekresyonu yapan goblet hücrelerini içerirken, çok tabakalı epitel, epitelyal yüzeye mukus sekresyonu yapan tükrük bezleri gibi özelleşmiş salgı bezleri içerir. Mukus, müsin glikoproteinleri, lipidler, inorganik tuzlar ve %83'e kadar sudan oluşmaktadır. Müsin glikoproteinleri, intra ve/veya intermoleküler disülfit bağları oluşturabilen sistein bakımından zengin alt kısımlara sahip olduğundan mukus yapısı için en önemli bileşendir. Sialik asit ve sülfatın mevcudiyetinden dolayı, mukus negatif yüklüdür. Mukus tabakasının kalınlığı çeşitli mukozal yüzeylerde değişiklik göstermektedir. Örneğin, ağız boşluğunda mukus tabakası 1 mm'den daha azken, midede 450 mm'ye kadar varabilmektedir. Mukus tabakası farklı vücut bölgelerinde çeşitli fonksiyonlara sahiptir. Bunlardan ilki ksenobiyotikler için, özellikle ilaçlar için bir difüzyon bariyeri olmasıdır. Ayrıca, mide mukozasını, lümenin hidroklorik asitinden korur. Son olarak, tüm organlarda olduğu gibi mukus, mukozal membranları nemli tutmayı sağlamaktadır (Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

2.2.2. Mukoadezyon Mekanizması

İdeal biyoadezif ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirme aşamasında adezif bağ oluşumu için gerekli kuvvetlerin aydınlatılması ve anlaşılması önemlidir. Pek çok araştırma polimer hidrojel ve yumuşak doku arasındaki biyoadezif etkileşimlerin analizi üzerine yoğunlaşmıştır. Biyoadezif bağların oluşumundan sorumlu mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamış olsa da üç temel aşama genellikle kabul edilmektedir. Bunlardan ilki

temas aşamasıdır. Bu adımda polimerin ıslanması ve şişmesi sonucunda, mukoadezif polimer ve mukus tabakası arasında yakın bir temas oluşur. 2. aşama ise mukoadezif polimer zincirlerinin mukus jel tabakanın içine difüzyonu (interpenetrasyon) ve polimer zincirleri ve müsin moleküllerinin girişimidir. Son aşama olan 3. aşamada ise girişim yapan zincirler arasında zayıf kimyasal bağlar ya da fiziksel bağlar meydana gelir. Böylelikle, adezif bağlantı noktaları güçlenerek uzatılmış bir adezyon sağlanabilir (Mathiowitz ve ark. 1999).

Adezyon sağlanabilmesi için polimerlerin aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması gereklidir;

a) Yeterli miktarda hidrojen bağlayıcı kimyasal gruplar (-OH ve –COOH)

b) Anyonik yüzey yükü

c) Yüksek molekül ağırlığı

d) Yüksek zincir esnekliği

e) Mukus tabakasına yayılmayı indükleyecek yüzey gerilimi

Bu özelliklerin her biri kimyasal veya mekanik bağların oluşumunu desteklemektedir (Mathiowitz ve ark. 1999).

2.2.2.1. Kimyasal Bağlar

Mukus ve mukoadezif moleküller arasındaki bağlar aşağıdaki şekillerde meydana gelebilir.

1) Disülfit bağları gibi kovalent bağlar.

2) Mukusun sialik asit kısımları ve katyonik polimerler arasındaki etkileşim sonucu oluşan iyonik bağlar.

3) Hidrofilik fonsiyonel grupların varlığında meydana gelen hidrojen bağları (örneğin, hidroksilik, karboksilik veya amino grupları).

4) Dipoller arasındaki van der Waals bağları.

5) Sulu bir çözeltideki polar olmayan gruplara dayalı oluşan hidrofobik bağlar (Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

2.2.2.2. Mekanik veya Fiziksel Bağlar

Mekanik bağlar yüzeyler arasındaki fiziksel etkileşimler olarak düşünülebilir. Makroskobik olarak, bir yüzeyin diğerindeki çatlaklar veya yarıklar içerisine girmesi

şeklinde tarif edilebilir. Mikroskobik skalada, müsin ipliklerinin, esnek polimer zincirlerine dolanması ve/veya müsin ipliklerinin, poröz polimer substrata interpenetrasyonu esasına dayanır. Polimer ipliklerin müsin tabakalarına penetrasyon hızı, zincir esnekliğine ve difüzyon katsayılarına bağlı olarak değişmektedir. Adezif bağın gücü, polimer zincirlerinin penetrasyon derinliği ile doğru orantılıdır. Bağ gücünü etkileyen diğer faktörler, suyun varlığı, materyaller arasındaki temas süresi ve polimer zincirlerinin uzunluğu ve esnekliğidir (Mathiowitz ve ark.1999).

2.2.3. Mukoadezyon Teorileri

Bugüne kadar, mukoazdezyon olayını açıklayabilmek için pek çok teori ortaya atılmasına rağmen mukoadezif polimer ve mukus arasındaki adezyonu, polimerlerin kimyasal ya da fiziksel özellikleri ile anlatabilen tam ve kapsamlı bir teori ortaya konulamamıştır. Genel olarak adezif maddelerin performanslarını açıklamak üzere geliştirilmiş olan beş teori, mukoadezyon çalışmaları için de kabul edilmiştir (Ahuja ve ark. 1997; Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

2.2.3.1. Elektron Transferi Teorisi

Mukoadezif polimerlerin ve mukusun farklı elektriksel karakterlere sahip olması sonucu ara yüzeylerinde elektriksel çifte tabaka oluşumu hipotezine dayalıdır. Bu elektriksel çifte tabaka aracılığıyla gerçekleşen elektron transferinden dolayı, polimer ve mukus arasında bir çekim gücü meydana geldiği varsayılmaktadır (Ahuja ve ark. 1997).

2.2.3.2. Adsorbsiyon Teorisi

Mukoadezif polimer ve mukus arasında oluşan bağın, van der Waals etkileşimlerinden, hidrojen bağlarından veya kovalent bağlardan kaynaklandığını açıklamaktadır (Ahuja ve ark. 1997).

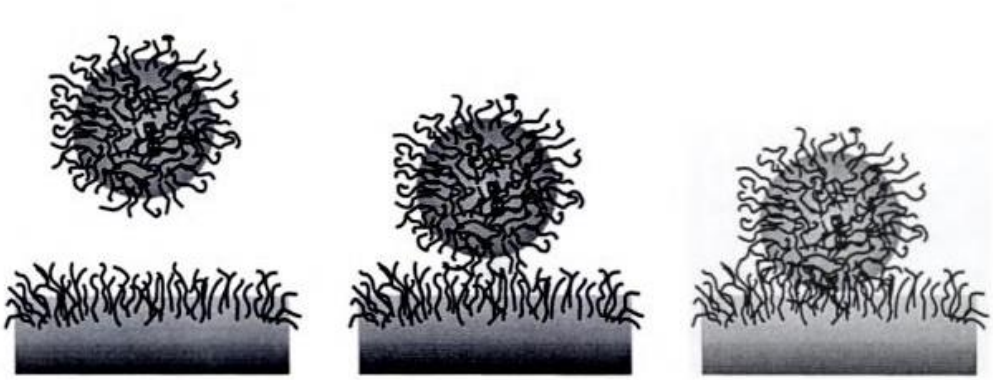
2.2.3.3. Islanma Teorisi

Adezyon üzerine kurulan en eski teoridir. En iyi sıvı veya düşük viskoziteli biyoadeziflere uygulanır. Sıvının mukozal bir yüzeye yayılma yeteneği ile ilişkilidir ve iki fazı ayırmak için gerekli enerjiyi ve temas açısını hesaplar (Ahuja ve ark. 1997).

2.2.3.4. Difüzyon Teorisi

Mukoadezif ajanlar, yeterli derinliğe kadar mukus glikoproteinlerine difüze olarak güçlü yarı kalıcı adezif bir bağ oluşumuna yol açar. Polimer zincirlerinin penetre olduğu derinlik difüzyon katsayısı ve temas süresine bağlıdır. Zincir esnekliği, polimerik

interpenetrasyon için çok önemli bir parametredir (Şekil 2.7) (Ahuja ve ark. 1997; Mathiowitz ve ark. 1999).



Şekil 2-7: İnterpenetrasyon sırasında mukus ve mukoadezif polimer zincirleri arasında meydana gelen mekanik bağlanma (Mathiowitz ve ark. 1999).

2.2.3.5. Kopma Teorisi

İki yüzeyin adezyondan sonra birbirinden ayrılması için gereken kuvvetin ölçülmesini inceler. Bu teori, adezif bağın kopma esnasındaki gerilme direncinin ölçülmesi esasına dayalıdır. Maksimum gerilme direnci, kopma için harcanan kuvvetin, tüm yüzey alanına bölünmesiyle belirlenebilir (Ahuja ve ark. 1997).

2.2.4. Mukoadezyonu Etkileyen Faktörler

Mukoadezyonu etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Polimerin yapısı ve mukus fizyolojisini kapsayan çevresel faktörler, mukoadezyon üzerinde etkilidir.

2.2.4.1. Polimerik Faktörler

Maksimum mukoadezyon için gerekli optimum moleküler kütle polimerin tipine bağlı olarak değişmektedir. Genellikle, düşük molekül ağırlığına sahip polimerler daha kolay penetre olabilirken, mukoza ve polimer zincirlerinin karışabilmesi için yüksek molekül ağırlığına sahip polimerler tercih edilir. Ayrıca, katı dozaj şekilleri için daha yüksek polimer konsantrasyonu, daha güçlü mukoadezyon sağlamaktadır (Duchene ve ark. 1988). Polimer zincirlerinin esnekliği, interpenetrasyon ve mukusla karışma için önemli özelliklerden biridir. Polimerin esnekliği ve hareketliliği, viskozite ve difüzyon katsayısı ile bağlantılıdır. Zincir esnekliği arttıkça mukozaya difüzyon da artış gösterir. Çapraz bağlı

polimer zincirleri daha az hareketlilik ve zincir uzunluğuna sahiptir. Bu nedenle, yüksek orandaki çapraz bağlanma mukoadhezyonun gücünü azaltıcı etki gösterir. Ayrıca, polimerin üç boyutlu yapısı da mukoadezyonu etkiler. Sarmal yapıdaki dekstranlar adezif aktif grupları kaplar ve bu nedenle lineer bir polimerin aynı adezif kuvveti gösterebilmesi için daha yüksek bir molekül ağırlığı gereklidir (Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

2.2.4.2. Çevresel Faktörler

pH hem polimerin hem de mukozal yüzeyin yükünü etkilemektedir. pH değerine bağlı olarak mukus glikoproteinleri fonksiyonel gruplarının disosiasyonu ve değişik yük dağılımı olmaktadır. Bir polimerin hidrasyonu onun kimyasal yapısına ve pH değerine bağlıdır. Poliakrilik asit grubundaki polimerler gibi iyonize olabilen polimerlerin maksimum adhezyon gücü pH 4-5 arasında gerçekleşmektedir. Polimer noniyonize formda iken protone haldeki karboksil grupları ile musin molekülleri arasında daha fazla hidrojen bağı oluşabilmektedir. pH değerinin hızlı bir şekilde artırılması ile biyoadhezif güç düşmekte ve hatta pH 6-7 civarında adhezyon tamamen ortadan kalkmaktadır (Ugwoke ve ark. 2001).

Temas için başlangıçta daha yüksek basınç uygulandığında, bu durum interpenetrasyonun derinliğini arttırabilir. Mukus ve taşıyıcı sistem arasında daha uzun temas süresi ise mukoadezyon kuvvetini yükseltmektedir. Diğer bir önemli özellik ise her polimer için karakteristik olan ancak konsantrasyon ve suyun varlığıyla da ilgili şişme yeteneğidir. Polimerin çok fazla oranda şişmesi kohezif özelliklerinin azalmasına yol açar (Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

2.2.4.3. Mukus Fizyolojisi

Doğal müsin devri, mukoadeziflerin mukus tabakasındaki kalış süresini kısıtlamaktadır. Müsin devri, farklı mukozal yüzeylerde ve farklı kişilerde değişmektedir. İnsanlarda mukus devrinin 12-24 saat arasında olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca, mukus viskozitesi ve kalınlığına da dikkat edilmelidir. Daha kalın bir mukus tabakası, etkileşim için daha uygun grupları sağlar ve polimer zincirlerinin daha derin tabakalara ulaşmasına neden olur. Ancak, yüksek mukus viskozitesi, iki yüzey arasındaki etkileşimi zorlaştırır. Gastrik ülser, nezle, inflamasyon veya bakteriyel ya da fungal enfeksiyonlar mukozal fizikokimyasal özellikleri değiştirmektedir (Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

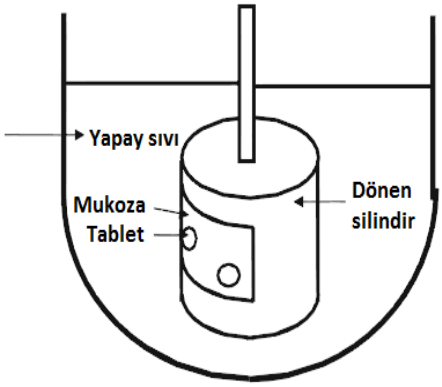
2.2.5. Mukoadezyonun Tayininde Kullanılan Test Yöntemleri

Yeni biyoadezif ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde, biyoadezif özelliklerin değerlendirilmesi çok önemlidir. Ayrıca bu testler çok sayıdaki malzemeyi ve onların mekanizmalarını izlemek açısından da önem taşımaktadır. Mukoadezyonu test etmek amacıyla pek çok test yöntemi geliştirilmiştir. Bu nedenle biyoadezyon kuvvetini saptamak amacıyla standart bir cihaz bulunmamaktadır. Bu durum da testler arasındaki tekdüzeliğin kaçınılmaz olarak sağlanamamasına neden olmaktadır (Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

Adezif özelliklerin saptanmasında, görsel, gerilme (tensile) ve reolojik testler gibi in vitro metodlar sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca 13C nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (13C NMR) ve zayıflatılmış toplam yansıma-Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (ATR-FTIR) gibi spektroskopik metodlar, zincir interpenetrasyonunu veya hidrojen bağlarının oluşumunu ispatlamak amacıyla kullanılabilir (Kerr vd., 1990; Jabbari vd., 1993). Yeni bir metod olan bir çipe dayalı BOACORE ® adı verilen sistemde mukoadezyon, hareketsiz haldeki test polimerinden müsin taneciklerinin akışı sırasında yüzey plazmon tepkisi (SPR) olarak adlandırılan optik bir yöntemle test edilir (Takeuchi ve ark. 2005).

2.2.5.1. Görsel Testler

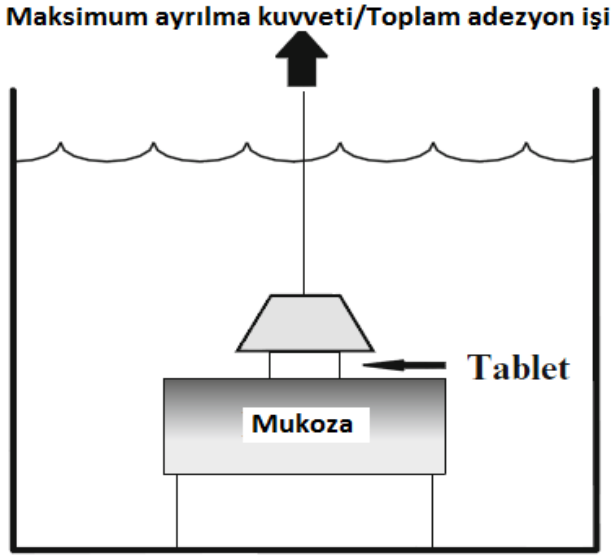
Dönen silindir metodu (Şekil 2.8), hem mukozaya bağlanma süresini hem de mukoadezif polimerin kohezifliğini değerlendirmemizi sağlar. Bu metotta test polimerini içeren Tabletler, taze hazırlanmış mukoza parçasına (örneğin, domuz barsağı, bukkal ya da nazal mukoza, sığır vajinal mukozası) yapıştırılır ve paslanmaz çelik bir silindire sıkıca bağlanır (aparat 4-silindir, USP). Daha sonra, silindir mukozaya uygun yapay bir sıvı içeren (37°C'de 125 rpm) disolüsyon cihazına yerleştirilir. Ayrılma, parçalanma ve/veya erozyon zamanı görsel olarak belirlenir (Rango ve Buri 1989).



Şekil 2-8: Mukoadezyon testi için dönen silindir metodunun kurulumu (Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

2.2.5.2. Gerilme Gücü Testi (Tensile Strength)

Gerilme çalışmaları (Şekil 2.9), mukoadezyonu test etmek için sıklıkla kullanılan ve en iyi bilinen in vitro sistemlerdir. Test polimerini içeren formülasyonla, taze hazırlanmış mukoza belirli bir süre temas ettirildikten sonra mukoza formülasyondan belirli bir hızda ($mm.s^{-1}$) ayrılır. Toplam adezyon işi, kuvvet/mesafe eğrisi altında kalan alanı ifade etmektedir ve buradan maksimum ayrılma kuvveti belirlenir (Chang ve ark. 1985).



Şekil 2-9: Mukoadezyon testi için gerilme direnci metodunun kurulumu (Hombach ve Bernkop-Schnürch 2010).

2.2.5.3. Reolojik Testler

Mukoadeziflerin müsin makromolekülleriyle zincir interpenetrasyonu nedeniyle, fiziksel dolanmalar, konformasyonel değişimler ve kimyasal etkileşimler meydana gelir ve sonuç olarak reolojik değişimler görülür. Sonuçta viskozitede meydana gelen bu sinerjistik artış, mukoadeziflerin mukus ile karıştırılması ve viskozitenin ölçülmesiyle saptanabilir (Hassan ve Gallo 1990).

2.2.5.4. In Vivo Metotlar

Mukoadezyonun değerlendirilmesinde az sayıda yöntem bulunmaktadır. Genellikle, dozaj şeklinin vücuttaki adezyon süresi görsel olarak ya da ɣ sintigrafi ile belirlenebilir. Mukoadezif bileşenler oral yoldan uygulanır ve belirli bir zaman sonra kalan partiküllerin derecesi görsel olarak değerlendirilir. Bu teknik hayvan çalışmalarında çeşitli dokular üzerinde mukoadezyonun ölçülmesi için kullanılabilir, ancak insanlarda oral kavitede uygulanması sınırlıdır. Bunun tersine, ɣ sintigrafi yönteminde doku kısıtlamaları yoktur (Khosla ve Davis 1987).

2.2.6. Nazal Mukoadezif İlaç Taşıyıcı Sistemler

Son yıllarda, ilaçların kontrollü salımını sağlamak amacıyla mukozaya yapışan adezif dozaj şekilleri üzerinde çalışmalar hız kazanmıştır. Uygun adezif özellik gösteren polimerler kullanılarak ağız boşluğuna (bukkal), sindirim sistemine (oral), buruna (nazal), rektuma (rektal), vajinaya (vajinal) ve göze (oküler) uygulanmak üzere etkin maddeyi kontrollü serbestleştiren sistemler hazırlanmaktadır. Burun hem lokal hem de sistemik ilaç uygulamalarında kullanılmaktadır. Nazal yoldan ilaç taşınmasının avantajları, yüksek absorpsiyonu ve absorbe olan bileşenlerin karaciğerde metabolize olmadan sistemik kan dolaşımına direkt geçişini sağlayan burnun geniş yüzey alanı ve ince, poröz, yüksek oranda damarlanmaya sahip nazal epiteldir. Eğer ilaçlar olfaktör bölgede absorbe edilirse, ilaç kan beyin bariyerini geçerek merkezi sinir sistemine direkt olarak absorbe edilebilir. Ayrıca, epitelin enzimatik aktivitesi mide barsak kanalından daha düşük olduğundan, peptidler ve proteinler gibi aktif farmasötik bileşenlerin biyoyararlanımının daha yüksek olması sağlanabilir (Ugwoke ve ark. 2005). Nazal yolun avantajlarının yanında bazı limitasyonları da bulunmaktadır. Yüksek hacimlerde normal burun fonksiyonları bozulacağından, ancak sınırlı miktarda ilaç uygulamalarına müsaittir. Ayrıca, hidrofilik ilaçlar ve büyük moleküller yeterli miktarda absorbe edilemez. Günlük nazal mukus üretimi yaklaşık 1,5-2 lt ve silia vuruşlarının sıklığı 20 Hz olduğundan dolayı hızlı bir mukosiliyer klirens meydana gelmektedir (6 $mm.dak^{-1}$). Mukoadezif bir formülasyonun, uzun etki süresi ve

artan absorpsiyonu için nazal boşlukta lokalize halde kalması gerekmektedir. Bu durum çeşitli polimerlerle ve antibiyotikler ve proteinler gibi çeşitli ilaçlarla pek çok araştırma grubu tarafından test edilmiştir (Ugwoke ve ark. 2005). Ayrıca, kitozan ve poliakrilik asit gibi bazı mukoadezif polimerler epitelyal permeabiliteyi arttırmakta ve enzim inhibitör aktivite göstermektedir (Dyer ve ark. 2002).

Polikarbofil, hyaluronan ve amberlite reçine gibi fonsiyonelleştirilmiş mukoadezif polimerler güvenlik yönünden geniş ölçüde incelenmiş ve nazal dozaj şekilleri için geliştirilip, karakterize edilmiştir. Son zamanlarda, mukozal aşılar sistemik immün yanıtı indüklemek amacıyla çalışılmaktadır. Ayrıca mukoadezif polimerler, aşı formülasyonlarının mukus membranlara afinitesini arttırır ve preparatın stabilitesini uzatabilir. Bunlara örnek olarak, influenza, difteri ve tetanoza karşı geliştirilen intranazal aşılar verilebilir (Kharenko ve ark. 2009).

Tzachev ve ark.ları mukoadezif bir çözeltiyi (ksilometazolin formülasyonu) 20 perennial alerjik rinitli gönüllü üzerinde ticari bir dekonjestan formülasyonu ile kıyaslamıştır. Sonuç olarak mukoadezif formülasyonun etkisinin, ticari ürüne göre anlamlı derecede uzun olduğu ispatlanmıştır (Tzachev ve ark. 2002).

Yapılan bir çalışmada siprofloksazin hidroklorürün hidroksipropiletil selüloz, hidroksietil selüloz ve metil selüloz gibi polimerlerle hazırlanan mukoadezif jel formülasyonları tavşanlara nazal yoldan uygulanmıştır. Hidroksipropiletil selüloz içeren jel formülasyonlarının en iyi sonuç verdiği ve oral yoldan verilen siprofloksazin hidroklorüre eşit bir biyoyararlanım gösterdiği saptanmıştır (Özsoy ve ark. 2000).

Yürütülen bir diğer çalışmada, antiemetik bir ilaç olan metoklopramid hidroklorürün mukoadezif in situ jel formülasyonları hazırlanmıştır. Sonuç olarak, mukoadezif karbopol polimerini içeren formülasyonların, kontrol çözeltisine kıyasla mukosiliyer transport süresini 10 dakikadan 52 dakikaya uzattığı ve ilacın biyoyararlanımını oral ilaç çözeltisine kıyasla %51,7'den %69,1'e arttırdığı ispat edilmiştir (Zaki ve ark. 2007).

2.2.7. Nazal İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Mukoadezif Polimerler

2.2.7.1. Selüloz Türevleri

Farklı uygulama yollarında geniş çapta kullanılan çok sayıda farmasötik kalitede selüloz türevleri bulunmaktadır. Hidroksipropil metilselüloz, hidroksipropil selüloz, metilselüloz ve karboksimetil selüloz gibi çözünür ve etilselüloz ve mikrokristalin selüloz

gibi çözünür olmayan pek çok selüloz türevinin intranazal yoldan ilaç absorpsiyonunu arttırmada etkili olduğu ispatlanmıştır (Chaturvedi ve ark. 2011).

Selüloz türevleri arzu edilen mukoadezif özellikleri sayesinde ilaçların burun boşluğunda kalış sürelerini belirgin düzeyde arttırabilir (Zaki ve ark. 2007). Ayrıca, burun boşluğunda hidrate olmalarının ardından viskozitelerinin artması sayesinde, selülozlar ilaçların salım sürelerini uzatırlar (Wang ve ark. 2008). Bu nedenlerden dolayı, selülozları bir absorpsiyon arttırıcı olarak kullanmak intranazal absorpsiyonu ve biyoyararlanımı iyileştirebilir. Pek çok çalışma, selülozların ufak hidrofobik moleküllerin yanı sıra hidrofilik makromoleküler ilaçların da intranazal biyoyararlanımını arttırmada etkili olduğunu göstermiştir. Örneğin, tavşanlarda apomorfinin, karboksimetil selüloz ile birlikte nazal yoldan uygulandığında, relatif biyoyararlanımının subkutanöz enjeksiyona kıyasla %102 olduğu saptanmıştır (Ugwoke ve ark. 1999). Diğer bir çalışmada ketorolak trometamin, mikrokristalin selüloz ile birlikte uygulandığında mutlak biyoyararlanımın %90,77'ye kadar çıktığı bildirilmiştir (Quadir ve ark. 1999). Peptid ilaçlardan löprolid ve FD4, mikrokristalin selüloz ve hidroksipropil selüloz kombinasyonu ile birlikte nazal yoldan uygulandığında tavşanlardaki mutlak biyoyararlanımlarının sırasıyla %34,9 ve %35,5 olduğu gösterilmiştir (Tas ve ark. 2006).

2.2.7.2. Kitozan

Doğal bir polimer olan kitozan [(1-4)-2-amino-2-deoksi-β-D-glukoz], kitinin [(1-4)-2-asetamido-2-deoksi-β-D-glukoz] deasetilasyonu ile elde edilen lineer katyonik bir polisakkarittir. Deasetilasyon prosesi sonucu -NH gruplarından dolayı kitozan, nötral ya da alkali pH'larda çözünmez, glutamik asit, asetik asit, laktik asit, hidroklorik asit gibi organik-inorganik asitlerle suda çözünür hale gelir. Canlı dokularda alerjik reaksiyona ya da iritasyona yol açmaz. Düşük maliyetli, biyobozunur, biyouyumlu ve biyoadezif özelliklerinden dolayı oral, oküler, nazal, implant, paranteral ve transdermal uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Illum 2002). Kitozan ve türevlerinin, mükemmel mukoadezif özelliklerinden dolayı, intranazal ilaç absorpsiyonunu arttırmada aktif oldukları gösterilmiştir. Ayrıca, mikro ve nanopartiküller kitozanla kaplandığında, mukozal yüzeylere ilaç adsorpsiyonunu arttırmaktadır (Cui ve ark. 2006).

Tablo 2.1 nazal yoldan ilaç uygulamalarında kullanılan çeşitli kitozan türevlerini göstermektedir.

Tablo 2-1: Absorpsiyon arttırıcı olarak kitozan türevlerinin kullanıldığı nazal yoldan ilaç uygulamalarına örnekler.

Mukoadezif polimer	İlaç	Dozaj şekli	Referans
Kitozan	Tetrametil pirazin	Likit	Mei D ve ark. (2008)
Kitozan	Levonorgestrel	Likit	Shahiwala ve Misra (2004)
Kitozan	FD-4	Likit	Miyamoto ve ark. (2001)
Kitozan	İnsülin	Likit	Illum (2002)
Kitozan	Metaklopramid	Likit	Zaki ve ark. (2007)

Soane ve ark.ları kitozan mikroküre lerinin ve çözeltilerinin koyun nazal boşluğunda sodyum perteknatat çözeltisine kıyasla sırasıyla 3 ve 8 kat daha uzun klirens yarılanma ömrüne sahip olduklarını bildirmiştir (Soane ve ark. 2001). Ayrıca pek çok çalışmada, kitozan ve türevlerinin, hücreler arası sıkı bağlantı noktalarını geçici olarak açarak ilaçların paraselüler yoldan geçişine yol açtıkları ispatlanmıştır (Artursson ve ark. 1994). Chung ve ark.ları, kitozanın çapraz bağlanmasıyla ısıya duyarlı insülin jellerinin nazal yoldan interpenetrasyonunu göstermişlerdir. Bu formülasyonun, insülinin uzatılmış salımını sağladığı ve farmakolojik etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir Kitozanın mukoadezyon ve nazal absorpsiyonu arttırma gibi kimyasal ve biyolojik özelliklerinin, türevlerinin tipine, deasetilasyon derecesine ve moleküler ağırlığına bağlı olarak değiştiği saptanmıştır (Chung ve ark. 2010). Son çalışmalarla, yalnızca protone, çözünür kitozanın sıkı bağlantı noktalarını açarak, hidrofilik mannitolün paraselüler transportunu arttırdığı gösterilmiştir (Issa ve ark. 2005). Kitozanın suda çözünürlüğünü arttırmak için, trimetil kitozan gibi türevleri sentezlenmiştir (Kotze ve ark. 1999). Thanou ve ark.ları suda çözünür trimetil kitozanın intranazal absorpsiyonu arttırmada nötral pH'larda bile etkili olduğunu bildirmişlerdir (Thanou ve ark. 2000). Kitozan zayıf asidik ortamda pozitif yüke sahip olduğundan dolayı, negatif yüklü DNA'yı nükleaz degredasyonundan koruyarak, nazal yoldan uygulanabilmektedir (Tas ve ark. 2006). Bordetella pertussis filamentöz hemaglutinin ve rekombinant pertussis toksininin kitozanla birlikte intranazal olarak uygulandığında antijenlere karşı çok güçlü sistemik ve mukozal immün yanıtı indüklediği ispatlanmıştır (Van der Lubben ve ark. 2003). Read ve ark.ları, standart inaktive edilmiş trivalent influenza aşısının kitozan glutamatla (%0,5 a/a) kombine olarak intranazal yoldan uygulandığında, hem lokal hem de sistemik immün yanıtı indüklediğini doğrulamıştır. Sonuçlar, intramuskuler yoldan uygulanan influenza aşısı ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır (Bacon ve ark. 2000).

2.2.7.3. Nişasta

Nişasta, nazal yoldan ilaç uygulanmasında hem ufak hidrofobik ilaçların hem de hidrofilik makromoleküler ilaçların absorpsiyonunu iyileştiren ve mukoadezif bir taşıyıcı olarak en sık kullanılan polimerlerden biridir. Nişasta, toz mikroküre ve nanopartikül formlarında nazal ilaç taşıyıcısı olarak kullanılabilir. Bunların içinde, Spherex olarak adlandırılan parçalanabilir nişasta mikroküreleri en sık kullanılanıdır ve mukoadezif mikropartiküler nazal ilaç taşıyıcı sistemlerin ilk örneğidir. 30 kDa'dan daha düşük molekül ağırlığına sahip ilaçların yüklenebildiği bu mikropartiküller, epiklorohidrin ile çapraz bağlanmıştır ve emülsiyon polimerizasyon tekniği ile hazırlanır (Quadir ve ark. 2000).

2.2.7.4. Poliakrilatlar

Poliakrilatlar, mükemmel mukoadezif ve jel oluşturucu yeteneklerinden dolayı nazal ilaç taşıyıcı sistemler gibi pek çok ilaç uygulama yolunda sıklıkla araştırılan polimerlerdir. Farmasötik poliakrilatlar içerisinde, çapraz bağlanma koşulları ve viskoziteleri farklılık gösteren karbomerler ve polikarbofil polimerleri nazal ilaç taşıyıcı sistemlerde geniş ölçüde kullanılmaktadır (Teijeiro-Osorio ve ark. 2009).

Mukozal yüzeylere yapışma yeteneğine sahip poliakrilatlar, ilaçların absorpsiyon bölgelerindeki kalış sürelerini uzatma ve formülasyon ile membran yüzeyi arasında yakın temas sağlama gibi avantajlar sunarlar. Ugwoke ve ark.ları, tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda, Carbopol 971P'nin nazal dozaj şekillerinde kullanımının nazal boşlukta kalış süresini arttırdığını bildirmişlerdir. Nazal boşluktan 3 saat içerisinde temizlenen formülasyonların yüzdeleri Carbopol 971P için %24 iken laktoz için 70 bulunmuştur. Poliakrilatları nazal formülasyonlarda kullanarak daha stabil bir kan konsantrasyon-zaman eğrisi elde ederek ilaçların uzatılmış salımlarını sağlamak mümkündür (Ugwoke ve ark. 1999). Tablo 2.2 nazal ilaç taşıyıcı sistemlerde poliakrilatların kullanımını göstermektedir.

Tablo 2-2: Absorpsiyon arttırıcı olarak poliakrilatların kullanıldığı nazal yoldan ilaç uygulamalarına örnekler.

Mukoadezif polimer	İlaç	Dozaj şekli	Referans
Carbopol 971P	Apomorfin	Toz	Ugwoke ve ark. (1999)
Carbopol 934P	Levonorgestrel	Likit	Shahiwala ve Misra (2004)
Carbopol 981P/Dm B-cd	Metaklopramid	Toz	Quadir ve ark. (2000)

Carbopol 934/HPC	Metaklopramid	Toz	Callens ve ark. (2003)
Carbopol 934P/Poloksamer 407	Feksofenadin hidroklorid	Isıyla dönüşebilen in situ jel	Balakrishnan ve ark. (2015)
Carbopol 974P/Maltodextrin DE 8	Insulin	Toz	Callens ve Remon (2000)
Carbopol 934P/HPC /Poloksamer 407	Metaklopramid hidroklorid	Jel	Zaki ve ark. (2007)
Carbopol 934P/Poloksamer 407	Loratadin	Isıyla dönüşebilen in situ jel	Singh ve ark. (2013)

Ugwoke ve ark.larının yürüttüğü diğer bir çalışmada apomorfin taşıyan Carbopol 971P formülasyonunun Tmax değeri (52,21 dakika), laktoz içeren formülasyonla kıyaslandığında 5 kat iyileşme görülmüştür (Ugwoke ve ark. 1999). Mukoadezyon yeteneğinin yanı sıra, poliakrilatlar şişme sürecinde burun boşluğunda epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı noktalarını geçici olarak açarak, ilaçların paraselüler absorpsiyonunu arttırırlar (Callens ve Remon 2000).

Balakrishnan ve ark.larının yürüttüğü bir çalışmada, feksofenadin hidrokloridin Carbopol 934P ve Poloksamer 407 kullanılarak ısıyla dönüşebilen jel formülasyonları hazırlanmıştır. Bu formülasyonların tavşanlardaki in vivo farmakokinetik sonuçlarında relatif biyoyararlanımının ilaç çözeltisi ve poloksamer jel gruplarına göre sırasıyla 11,3 ve 2,7 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (Park ve ark. 2015).

2.3. In Situ Oluşan Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler Hakkında Genel Bilgiler

Geçmiş yıllarda, hasta uyuncunun yüksek olduğu dozaj formlarına talep artmıştır. Bu talebin sonucu olarak, son yıllarda in situ jel sistemlerinin geliştirilmesi büyük önem kazanmıştır. In situ jel oluşturan ilaç taşıyıcı sistemler, sabit plazma profillerini koruyarak uzatılmış ilaç salımı gerçekleştirmeyi mümkün kılmaktadır. Bu hidrojeller oda sıcaklığında likit formda iken vücut sıvıları ile temas veya pH değişiklikleri sonucunda jel forma geçerler. Bu dozaj şekilleri, sıcaklığa bağlı, pH'ya bağlı veya katyonla indüklenen jelleşme gibi karakteristik bir özelliğe sahiptir. Klasik kontrollü salım yapan formülasyonlara kıyasla in situ jelleşen ilaç taşıyıcı sistemler basit üretim prosesi, kolay uygulama, azaltılmış uygulama sıklığı, artan hasta uyuncu ve konforu gibi potansiyel avantajlara

sahiptir (Kant ve ark. 2011). In situ jelleşen sistemler bir çeşit mukoadezif ilaç taşıyıcı sistem olmakla birlikte çok güçlü jellerin aksine likit formda adsorpisyon bölgesine kolaylıkla uygulanabilirler. İlaç absorpsiyon bölgesinde şişerek güçlü bir jel oluştururlar ve aktif bileşenlerin kalış süresini uzatırlar. İn situ jellerin üretiminde hem doğal hem de sentetik polimerler kullanılabilir. In situ jel oluşumu pH değişimi, sıcaklık modülasyonu ve iyonik çapraz bağlama gibi farklı uyaranların biri veya kombinasyonuyla gerçekleştirilebilir (Srividya ve ark. 2001). In situ jeller, oral, oküler, nazal, rektal, vajinal, intraperitonal gibi çok çeşitli yollardan uygulanabilir.

In situ jelleşen sistemler için yaklaşımlar şunlardır.

1. Uyaranlara duyarlı in situ jel sistemler

a) Isıya duyarlı in situ jel sistemler

b) pH'ya duyarlı in situ jel sistemler

2. Osmotik olarak indüklenen in situ jel sistemler (iyon ile aktive edilen sistemler)

3. Kimyasal olarak indüklenen in situ jel sistemler

a) İyonik çapraz bağlanma

b) Enzimatik çapraz bağlanma

c) Fotopolimerizasyon

2.3.1. Uyaranlara Duyarlı In Situ Jel Sistemler

Çevresel koşullardaki ufak değişikliklere karşı büyük ve ani kimyasal ve fiziksel değişiklere uğrayan polimerler (akıllı, çevreye duyarlı polimerler) kullanılarak hazırlanan sistemlerdir. Bu polimerik sistemler, uyaranı bir sinyal olarak algılar ve bu sinyalin büyüklüğünü değerledirdikten sonra yanıt olarak zincir konformasyonlarında değişiklik yaparlar (Okano 1998).

2.3.1.1. Isıya Duyarlı In Situ Jel Sistemler

Sıcaklık, çevreye duyarlı polimer sistemlerinde en yaygın kullanılan uyarandır. Sıcaklık değişimini kolaylıkla kontrol edebilmenin yanı sıra in vitro ve in vivo sistemlere de kolaylıkla uygulanabilir. Bu sistemde, çözeltinin jelleşmesi, sıcaklıktaki bir değişimle tetiklenir ve böylelikle ilaç salımı uzatılır. Bu hidrojeller oda sıcaklığında (20–25°C) sıvı halde iken sıcaklıktaki bir artış nedeniyle vücut sıvıları ile temas olduğunda (35– 37°C), jelleşir (Hoffman ve ark. 1986). Sıcaklıkla indüklenen jelleşme olayı poloksamerler veya

pluronikler, selüloz türevleri (metil selüloz, hidroksipropil metil selüloz, etil (hidroksi etil) selüloz ve ksiloglukan gibi polimerler yardımı ile sağlanabilir.

2.3.1.2. pH'ya Duyarlı In Situ Jel Sistemler

pH değişikliklerine yanıt veren, asit ya da alkali fonsiyonel gruplar taşıyan polimerlere pH duyarlı polimerler denir. pH, pH duyarlı materyaller tarafından ele alınan önemli bir sinyaldir. Çözeltinin jelleşmesi, pH'taki bir değişimle tetiklenir. pH 4,4 iken akışkan olan bir çözelti, pH 7,4'teki gözyaşı ile temas edince koagülasyona uğramaktadır (Ding 1998).

Yüksek sayıda iyonize olabilen gruplara sahip polimerler, polielektrolitler olarak bilinir. Zayıf asidik (aniyonik) gruplar varlığında eksternal pH yükseldiğinde hidrojelin şişmesi artar. Ancak polimer zayıf bazik (katyonik) gruplar içeriyorsa hidrojelin şişmesi azalır (Qiu ve Park 2001).

pH ile indüklenen jelleşme başlıca selüloz asetat ftalat, lateks, polivinil asetat dietilaminoasetat, polimetakrilik asit, polietilen glikol, psödolateks, karbomer ve türevleri gibi polimerlerle sağlanabilir (Kant ve ark. 2011).

2.3.2. Osmotik Olarak İndüklenen In Situ Jel Sistemler (Iyon İle Aktive Edilen Sistemler)

Bu yöntemde çözeltinin jelleşmesi, iyonik kuvvetin değişmesiyle tetiklenmektedir (Bheskaran ve ark. 2005). Jelleşme hızının, jel yüzeyi boyunca ozmotik gradiyente bağlı olduğu tahmin edilmektedir. Sulu polimer çözeltisi, gözyaşı sıvısında tipik olarak bulunan mono veya divalent katyonların (Na^+, Ca^{2+} ve Mg^{2+}) varlığında berrak bir jele dönüşür (Bheskaran ve ark. 2005). Osmotik olarak indüklenen jelleşme, gelrite ya da gellan zamkı, hyaluronik asit ve aljinatlar gibi polimerler ile sağlanmaktadır (Kant ve ark. 2011).

2.3.3. Kimyasal Olarak İndüklenen In Situ Jel Sistemler

In situ jel sistemleri oluşturan kimyasal reaksiyonlar, iyonik çapraz bağlanma, enzimatik çapraz bağlanma ve fotopolimerizasyondur.

2.3.3.1. İyonik Çapraz Bağlanma

Karagenan, gellan zamkı (gelrite), pektin ve sodyum aljinat gibi bazı iyonlara duyarlı polisakkaritler, Ca^{2+}, Mg^{2+},Na^+ gibi çeşitli iyonların varlığında faz dönüşümüne uğrar. Bu polisakkaritler iyona duyarlı polimerler sınıfına girmektedir (Bhardwaj vd., 2000). Örneğin aljinik asit, aljinat zincirlerindeki guluronik asit bloğunun, Ca^{2+} gibi

divalent/polivalent katyonlarla etkileşime girmesi sonucu jelleşmeye uğrar (Guo ve ark. 1998).

2.3.3.2. Enzimatik Çapraz Bağlanma

In situ jel oluşumu, kimyasal ve fotokimyasal yaklaşımlara göre çeşitli avantajlara sahip ve daha önce geniş çapta araştırılmamış doğal enzimler tarafından katalize edilebilir. Örneğin, enzimatik bir proses, monomerler ve başlatıcılar gibi zararlı kimyasallar olmaksızın, fizyolojik koşullar altında etkin bir şekilde gerçekleştirilebilir. Akıllı uyarana duyarlı hidrojellerin insülin salımları araştırılmıştır. İmmobilize edilmiş insülin ve glukoz oksidaz taşıyan katyonik pH duyarlı polimerler, kandaki glukoz seviyelere yanıt olarak şişebilmekte ve insülini pulsatil bir modda salmaktadır. Ayrıca, enzimin miktarını ayarlamak, jel oluşum hızını kontrol etmek için uygun bir mekanizma sağlar. Böylelikle karışımın jel oluşumundan önce enjekte edilebilmesini mümkün kılar (Podual ve ark. 2000).

2.3.3.3. Fotopolimerizasyon

In situ polimerizasyon, on yılı aşkın bir süredir biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Bir monomer ya da reaktif makromer ve başlatıcı çözeltisi dokuya enjekte edilebilir ve jel oluşturmak amacıyla elektromanyetik radyasyon uygulanır (Jones ve Massersmith 2002). Uygun foto başlatıcı varlığında hızlı fotopolimerizasyon için tipik olarak akrilat veya benzer polimerize olabilen fonksiyonel gruplar kullanılmaktadır. Fotopolimerize olabilen sistemler enjeksiyon yoluyla istenen bölgeye uygulandığında, fiber optik kablolar yardımıyla in situ ışın tedavisi yapılır ve uzatılmış ilaç salımı sağlanır. Sawhney ve ark.ları tarafından fotopolimerize olabilen, biyoparçalanır hidrojel, dokuyla temas eden materyal ve kontrollü salım sistemi olarak geliştirilmiştir (Sawhney ve ark.1995)

2.4. Isıya Duyarlı İlaç Taşıyıcı Sistemler Hakkında Genel Bilgiler

Isıya duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler genellikle hidrojeller, miseller, polimerozomlar ve iç içe geçmiş (interpenetre olmuş) ağlar olarak sınıflandırılabilir. Bunların içinden en sık kullanılanı hidrofilik homopolimer ya da blok kopolimer ağların çözünür olmayan kısımlarının suda veya fizyolojik sıvılarda şişmesiyle oluşan hidrojel sistemlerdir (Klouda ve Mikos 2008). Ağ yapısı fiziksel etkileşimlerle veya kimyasal çapraz bağlama ile sağlanabilir. İnterpenetre olan ağlar, fiziksel olarak etkileşerek hidrojele benzersiz özellikler katan, kimyasal olarak bağlı iki polimer konjugatından meydana gelir. Miseller bir çözelti içerisinde kendiliğinden oluşan amfifilik blok kopolimerlerden oluşur (Rezaei

ve ark. 2012). Polimerozomlar da kendiliğinden oluşan blok kopolimerlerden meydana gelir, ancak bu sistemler hidrofilik bir çekirdek ve hidrofobik bir koronaya sahiptir. Bu nedenle, polimerozomlar hidrofilik ilaçların taşınmasında kullanılmaktadır (Ward ve Georgiou 2011).

2.4.1. Isıya Duyarlı Polimerler

Tablo 2.3'te gösterildiği gibi ısıya duyarlı olarak faz dönüşüm özelliği gösteren çok çeşitli polimerler bulunmaktadır. Bunlar kaynaklarına göre doğal oluşan polimerler ve sentetik materyaller şeklinde iki ana gruba ayrılabilir. Selüloz, kitozan, ksiloglukan ve jelatin gibi polimerler türevleri ile birlikte doğal polimerlere örnek olarak verilebilir. Sentetik materyallere, poli-N-izopropil-lakrilamid (pNiPAAm), poli(etilen oksit)-b-poli(propilen oksit)-b-poli(etilen oksit) (PEO/PPO/PEO) blok kopolimerleri, poli(etilen oksit)-b-poli(D,L-laktik asit-ko-glikolik asit)-b-poli(etilen oksit) (PEO/PLGA/PEO) triblok kopolimerleri, poli(etilenoksit) ve poli-e-kaprolaktondan oluşan amfifilik triblok kopolimerler (PEO/PCL/PEO) örnek olarak verilebilir (Hennink ve van Nostrum 2012).

Tablo 2-3: Isıya duyarlı polimerler ve bu polimerlerin belirleyici hidrojel karakteristikleri (Matanovišc ve ark. 2014).

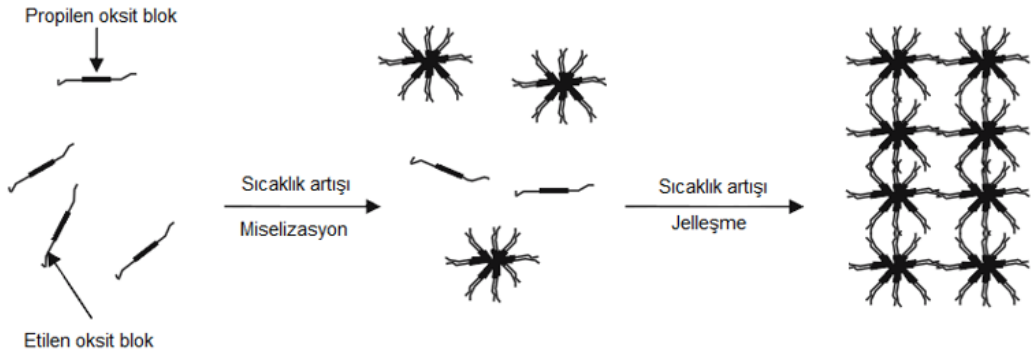
Isıya Duyarlı Polimerler	Jelleşme Mekanizması	Jelleşme konsantrasyonu (ağırlık %)	Jelleşme sıcaklığı (°C)	*LCST'de depolama Modülü (kPa)
Doğal polimerler				
1.Jelatin	Üçlü sarmal geçiş	~3	<30	5
2.Metil selüloz	Hidrofobik etkileşim	1-10	40-50	~3000 Pas
3.Kitozan/poliol tuz	Hidrofobik kuvvetler	~2	~37	6
4.Ksiloglukan	3D-membran ağı	1-3	22–27	200
Poli(N-izopropilakrilamid) (PNiPAAm-co-AA)	Hidrofobik etkileşimler, globüle geçiş	0,25–5	30–35	~0,7
PEO/PPO/PEO kopolimerleri	Misel paketlemesi ve dolanmalar (entanglements)	≥18	15–30	4-9
PEO/PLGA/PEO kopolimerleri	Miseller büyüme, hidrofobik etkileşimler	>16	30–35	0,1-0,3

*LCST: Düşük kritik çözelti sıcaklığı

İdeal ısıya duyarlı bir sistem, oda sıcaklığında serbestçe akan bir sıvı iken vücuda uygulandıktan sonra jel forma dönüşmelidir (Ruel-Gariépy ve Leroux 2004). Isıya duyarlı polimerlerin yapısı, hidrofobik ve hidrofilik gruplar arasındaki ince bir dengeyi yansıtmaktadır. Bu dengeden dolayı, sulu polimer çözeltisindeki ufak bir değişiklik, polimer blokları ve su molekülleri arasında hidrofilik ve hidrofobik etkileşimlerin yeniden ayarlanmasına neden olabilir (Bajpai ve ark. 2008). Bu polimerlerdeki ortak özellik, polimer çözeltisinin faz ayrımına uğradığı sıcaklık olarak ifade edilen kritik çözelti sıcaklığıdır (CST). Kritik çözelti sıcaklığı altında (LCST), polimerler çözünür halde iken LCST'nin üzerinde jel oluşumuna yol açan hidrofobik ve çözünür olmayan forma geçerler. Bu durum, ısıya duyarlı jellerin ilaç taşıyıcı olarak kullanımı için çok önemli bir prosestir (Bromberg ve Ron 1998). Genellikle ısıya duyarlı sistemlerin belirleyici özellikleri, kritik çözelti sıcaklığı, polimer konsantrasyonu ve jelleşmeden sonraki viskozite parametreleridir. Isıya duyarlı sistemlerde, hem jelleşme sıcaklığının hem de viskozitenin polimer konsantrasyonundan son derece etkilendiğini vurgulamak gerekir. Polimer konsantrasyonundaki bir artışla, hidrofobik polimer etkileşimleri daha hızlı meydana geldiğinden sol-jel geçiş sıcaklığı düşmektedir (Jeong ve ark. 1999). Hidrojellerin ısıyla jelleşebilme yeteneği, spektrometre, diferansiyel taramalı kalorimetre ve reoloji gibi çeşitli tekniklerle saptanabilir (Matanovišc ve ark. 2014).

2.4.1.1. PEO/PPO/PEO Triblok Kopolimerleri ve Türevleri

Poloksamerler (ticari ismi Pluronic®), poli(etilen oksit)-b-poli(propilen oksit)-b-poli(etilen oksit) (PEO–PPO–PEO) dizilimlerine sahip ABA-tipi triblok kopolimerleridir. Konsantre sulu çözeltilerinde ısıya duyarlı özellik gösteren ve 1950'lerin sonlarında ortaya çıkan sentetik polimerlerin önemli bir grubudur (Dumortier ve ark. 2006b). Poloksamer 407 (Pluronic® F127, Lutrol® F127) sulu çözeltileri, ilaç formülasyonlarının optimize edilmesinde yoğun ilgi gören ısıya duyarlı özelliklere sahiptir. Isıya duyarlı jelleşme olayı geri dönüşümlüdür ve sol-jel geçiş sıcaklığı ile karakterize edilir. Bu sıcaklığın altında, formülasyon çözelti halindeyken, bu sıcaklığın üstünde yarı katı hale dönüşür. Isıyla jelleşme, kopolimerlerin farklı segmentleri arasındaki etkileşimler sonucu oluşur (Dumortier ve ark. 1991). Sıcaklık arttıkça, Poloksamer 407 kopolimer molekülleri misellere agrege olur. Bu miselizasyon, hidrofobik propilen oksit blokların dehidrasyonu sebebiyle gerçekleşir ve jelleşme prosesinin ilk adımını oluşturur (Şekil 2.10) (Dumortier ve ark. 2006b).



Şekil 2-10: Poloksamer 407'nin sudaki birleşme mekanizmasının şematik gösterimi (Dumortier vd., 2006b).

Dehidrate poli(propilen oksit) çekirdek ve hidrate olarak şişmiş poli(etilen oksit) dış kabuk kısımlarına sahip miseller küresel biçimlidir. Yeterince konsantre örneklerde bu miselizasyonu jelleşme takip eder. Jelleşme, misellerin sıralı paketlenmesine dayandırılabilir. (Juhasz vd.,1989).

2.4.2. Farmasötik Poloksamer 407 Formülasyonlarının Hazırlanması

Yüksek sıcaklıkların kullanıldığı metotlara kıyasla soğukta hazırlama metotu daha fazla avantaja sahiptir. Bu metot poloksamer disolüsyonunu kolaylaştırır ve muhtemel değişimleri engeller. Poloksamer 407, diğer bileşenlerle (örneğin ilaç) 4-5°C'de karıştırılır ve homojen bir çözelti elde edilene kadar su soğutulur (Kabanov ve ark. 2002). pH ve ozmolarite, istenen formülasyon stabilitesi ve tatmin edici tolerans için ayarlanır (Desai ve Blanchard, 1998). Otoklav sterilizasyonu (120°C, 15 dakika, 1 bar), Poloksamer 407 çözeltisinin viskozite karakterini önemli ölçüde değiştirmez ve steril formülasyonların (örneğin, göz veya enjeksiyonluk preparat) hazırlanması için uygundur (Dimitrova ve ark. 2000; Veyries ve ark. 1999).

2.4.3. Jel Kuvvetinin Belirlenmesi

Jel kuvvetinin in vitro olarak belirlenmesi, yeterli kıvam ve kuvvete sahip bir preparat formüle edebilmek için önemli bilgiler vermektedir (Charrueau ve ark. 2001). In vitro jel kuvvetini belirlemek için jel bir silindire yerleştirilir ve bir piston kullanılarak kütlesel bir kuvvet uygulanır. Aparatın önceden belirlenen bir mesafeye inme süresi, jel kuvvetini temsil etmektedir (Yong ve ark. 2001). Jel kuvveti ayrıca reometreler kullanılarak da ölçülebilir. Kullanılan jelleşme ajanının mekanizmasına bağlı olarak, belirli

miktar jel behere alınır. Bir prob jel içerisine yavaşça itilir ve sonrasında sabit bir hızda kaldırılır. Prob üzerindeki yük değişimi, probun jel yüzeyinden daldırılma derinliğine bağlı olarak ölçülebilir (Miyazaki ve ark. 1998). Jel kuvveti sıcaklıkla ve Poloksamer 407 konsantrasyonu ile artar ve formülasyona ilave edilen ilaç ve diğer bileşenler varlığında değiştirilebilir. Diklofenak, etanol ve propilen glikol gibi maddeler jel kuvvetini zayıflatırken; sodyum klorür, sodyum monohidrojen fosfat ve gliserin gibi maddeler aksine arttırır (Yong ve ark. 2001; Ryu ve ark. 1999; Choi ve ark. 1999). Bu parametrenin belirlenmesi, adezyon çalışmalarının sonuçlarını kıyaslayabilmek için gereklidir.

2.4.4. Adezif Özelliklerin Belirlenmesi

Eğer uzatılmış kalış süresi gerekiyorsa, özellikle topikal formülasyonların biyoadezif özelliklerinin tanımlanması büyük önem taşımaktadır. Biyoadezyon kuvveti genellikle jel kuvveti ile artar ve aynı parametrelerle (örneğin sıcaklık, Poloksamer 407 konsantrasyonu) modifiye edilir. Çeşitli solventlerin veya iyonik bileşenlerin varlığında poloksamer formülasyonlarının adezyon özellikleri değişebilir. Sodyum klorürün adezeyon arttırıcı etkisinden dolayı Poloksamer 407 formülasyonlarına ilave edilir. Böylelikle uygulama bölgesindeki kalış süresi uzatılabilir. Farklı inert veya fizyolojik ortamlar kullanılarak deneysel modellerle ayrılma kuvveti belirlenebilir (Choi ve ark. 1999).

2.4.5. Sol-Jel Geçiş Sıcaklığının Belirlenmesi

Sol-jel geçiş sıcaklığı (Tsol-jel) Poloksamer 407 konsantrasyonu azaldıkça artar (Dumortier ve ark. 2006b). Tsol-jeli değerlendirmek amacıyla yaygın olarak basit ve kolay deney prosedürleri yürütülmektedir. Bu metotlarda cam bir mikrokapiller tüp ya da karıştırıcı manyetik bir balık kullanılır. İlk yöntemde, belirli miktardaki çözelti bir test tüpüne alınır ve 15°C'deki su banyosuna yerleştirilir. Su banyosunun sıcaklığı belirli aralıklarla arttırılır ve her sıcaklık noktasında formülasyonun dengeye gelmesi için beklenir. Tüpteki örnek jelleşmenin olup olmadığını kontrol etmek amacıyla 90° döndürülür. Formülasyonun hareket etmediği sıcaklık noktası Tsol-jel olarak alınır (Zaki ve ark. 2007). İkinci yöntemde, belirli miktar Poloksamer 407 çözeltisi behere alınır ve beher içerisine manyetik balık konularak manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilir. Sabit bir karıştırma hızında, sıcaklık belirli aralıklarla arttırılır. Manyetik balığın durduğu an Tsol-jel sıcaklığı olarak alınır (Kim vd., 2002). İlaçlar ve çeşitli katkı maddeleri biyoadezif kuvvetleri, Tsol-jelin tersi yönünde büyük oranda değiştirir (örneğin, Tsol-jel arttığında, biyoadezif kuvvetler azalır) (Gilbert ve ark. 1987). Bu bileşenler Poloksamer 407'nin miselizasyonuna girişimde bulunur ve hidrofobik propilen oksit bloklarının

dehidratasyonunu değiştirir (Chang ve ark. 2002). Diklofenak, etanol, propilen glikol ve hidroklorik asit gibi moleküller, jel kuvvetini ve biyoadezif kuvveti azaltırken, Tsol-jeli arttırır. Sodyum klorür, benzalkonyum klorür, disodyum hidrojen fosfat, sodyum dihidrojen fosfat gibi moleküller ise bu durumun aksine jel kuvvetini ve biyoadezif kuvveti arttırır ve Tsol-jeli düşürür (Chi ve Jun 1991; Pisal ve ark. 2004). Sodyum aljinat, polikarbofil ve karbopol ilavesinin jelleşme sıcaklığını düşürdüğü bildirilmiştir (Ryu ve ark. 1999).

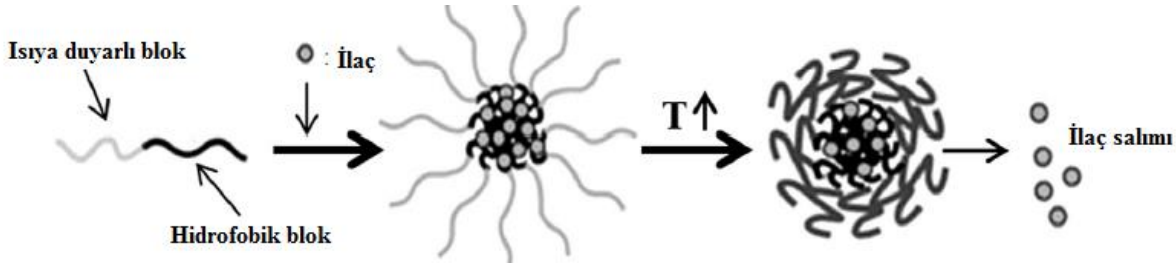
2.4.6. Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi

Reolojik özellikler ve viskozite in situ jellerin değerlendirilmesinde önemli parametrelerdir. Bunun için Brookfield reometreleri veya diğer çok noktalı viskozimetreler kullanılabilir (Madan ve ark. 2009). Mukoza ile teması sonucunu jel hale dönüşen bu formülasyonlar hastalar tarafından uygulandığı sırada düşük viskoziteli olduklarından herhangi bir uygulama güçlüğü çekilmez. Bu da hasta uyuncunun artmasını sağlar. Yürütülen çalışmalarda reolojik değerlendirme reogramlarla (örneğin, kayma stresine karşı kayma hızı veya akış eğrisi çalışmaları) veya osilasyon çalışmaları ile yapılmaktadır. Reogramlar formülasyon geliştirme ve kontrol fazlarında uygulanırken, osilasyon testleri Poloksamer 407'nin davranışı ve yapısı hakkında daha fazla bilgi edinmemizi sağlar (Dumortier ve ark. 2006a).

2.4.7. In Vitro İlaç Salım Çalışmaları

Yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi aşamasında, jelleşmiş matriksin transport prosesini bilmek çok önemlidir. Isıya duyarlı bir polimer içeren formülasyon vücuda uygulandığında çözelti formdan jel forma geçer ve uzatılmış ilaç salımı beklenir. Genellikle, hidrojellerden ilaç salım mekanizmaları 1) difüzyon kontrollü, 2) erozyon kontrollü, 3) şişme kontrollü ve 4) kimyasal kontrollü şeklinde sınıflandırılır (Hamidi ve ark. 2008). Difüzyon kontrollü taşıyıcı sistemler, rezervuar veya matriks tipi sistemler olarak bilinir. Hidrojelden ortama ilaç salımı, ilaç molekülünün hidrodinamik yarıçapına ve başlıca jel matriksteki gözenek boyutlarına bağlıdır. Şişmiş durumdaki hidrojeller için bildirilen tipik gözenek boyutları pek çok küçük molekülden daha geniştir ve 5-100 nm arasındadır. Sonuçta, küçük moleküllerin difüzyonu büyük ölçüde uzatılamazken, oligonükleotidler ve protein ilaçlar gibi makromoleküllerin uzatılmış salımı sağlanabilir (Kristl ve ark. 1991). İlaç molekülünün yarıçapı hidrojel gözeneklerinden daha geniş olduğunda, erozyon ya da şişme salım mekanizmasını belirleyecektir. Erozyon kontrollü hidrojellerde, salım yüzey veya bulk erozyon ile gerçekleşir. Ele alınması gereken diğer bir

ilginç konu da ısıya duyarlı polimerik misellerden kontrollü ilaç salımıdır. Bu sistemler, hidrofobik bir çekirdek ve ısıya duyarlı bir dış kısma sahip miselleri oluşturan, bir çözelti içindeki blok kopolimerlerden oluşur. İlaç molekülleri iç kısımdaki çekirdek içine gömülü iken dış kabuk ısıya duyarlı bir yeteneğe sahiptir (Şekil 2.11) (Matanovišc ve ark. 2014).



Şekil 2-11: Sıcaklık artışıyla ısıya duyarlı bir polimerik miselden ilaç salımı (Matanovišc ve ark. 2014).

Bu polimerik miseller, miseller kabuk yapısındaki sıcaklıkla indüklenen yapısal değişikliklere bağlı olarak dramatik bir ısıya duyarlı açık/kapalı geçiş davranışı gösterirler. Polimerin düşük kritik çözelti sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda (LCST), hidrofilik dış kabuk ve çözünür olmayan çekirdek kısımlarına sahip miseller oluşturulur. LCST'nin üstündeki sıcaklıklarda, hidrate kabuk büzülür ve ilaç difüzyon ile salınır. Ayrıca, sıcaklık LCST'nin altına soğutulduğunda ilaç salımı kolaylıkla durdurulur ve tekrar ısıtıldığında yeniden hızlandırılır. Bu durumda, ilaç salımı ve ilaç difüzyon hızı sıcaklıktaki değişimle düzenlenir (Nakayama ve ark. 2006).

2.4.8. Isıya Duyarlı Nazal İlaç Taşıyıcı Sistemler

Pisal ve ark.ları tarafından vitamin B12 içeren Pluronic® jellerinin nazal ilaç taşıyıcı olarak formülasyon ve ön formülasyon çalışmaları yürütülmüştür ve vitamin B12'nin ve katkı maddelerinin, Pluronic® F127 konsantrasyonunun, ozmolaritenin ve polietilen glikolün jelin termodinamik özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak, ilacın tek başına veya diğer formülasyon bileşenleri ile birlikte jelleşme özelliklerini değiştirdiği gösterilmiştir (Pisal ve ark.ları 2004).

Uyku sorunlarının kronobiyolojik tedavisi için melatonin içeren ısıya duyarlı Pluronic® jelleri, polietilen glikol (PEG) 400 ve PEG 15000 ile birlikte soğukta hazırlama metodu ile üretilerek jelleşme ve jel erimesi değerlendirilmiştir. Pluronic® konsantrasyonundaki artışla jelleşme sıcaklığı azalırken, jel erime sıcaklığı artmıştır.

Koyun nazal mukozasında biyoadezyon zamanı ve biyoadezif kuvvet PEG 400 ve melatonin içeren jellerde daha yüksek bulunmuştur. Nazal jeller hızlı etki başlangıcı ve 15 dakika içerisinde indüklenmiş uyku elde etmeyi sağlamıştır (Pisal ve ark. 2004). Majithiya ve ark.larının yürüttüğü bir çalışmada, ısıya duyarlı Pluronic® F127 ve mukoadezif polimer Carbopol® 934P kullanılarak sumatriptan süksinat içeren intranazal ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Formülasyonların jelleşme sıcaklıkları 34°C'nin altında olacak şekilde ayarlanmıştır. Isıya duyarlı jelleşen ve mukoadezif özelliklere sahip Pluronic® F127 jel formülasyonu ilacın permeasyon oranında artış sağlayarak nazal kalış süresini ve böylelikle nazal absorpsiyonu uzatmıştır (Majithiya ve ark. 2006).

Bir diğer çalışmada, hasta uyuncunu ve rizatriptan benzoatın sistemik absorpsiyonunu arttırmak amacıyla ısıya duyarlı bir nazal jel formüle edilmiştir. Formülasyonlar Pluronic® F127, Pluronic® F68 ve biyoadezif polimerler ksantan zamkı ve keçiboynuzu zamkı içermektedir. Sonuçta, ilacın jelleşme sıcaklığı ve jel erime sıcaklığı üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı görülürken, biyoadezif polimer ilavesinin jelleşme sıcaklığını arttırdığı gösterilmiştir. Biyoadezif polimerlerin konsantrasyonu arttırıldığında ilaç salımı geciktirilmiştir. Potansiyel ilk geçiş etkisini önleme ve ilacın biyoyararlanımını iyileştirme yeteneğine sahip ve nazal uygulama için geliştirilen biyoadezif ısıya duyarlı poloksamer çözeltisi, migreni kontrol etmek amacıyla uzatılmış ilaç salımı sağlar ve güvenilir şekilde kullanılabilir (Praveen ve ark. 2009).

Poloksamer, hidroksipropil metilselüloz ve ksanstan zamkı kombinasyonu kullanılarak feniramin ve fenilefrin içeren ısıya duyarlı in situ jelleşen sistemler geliştirilmiştir. Jeller, görünüş, in vitro jelleşme, pH, ilaç içeriği, in vitro ilaç salımı, mukoadezif kuvvet, koruyucu etkinliği ve stabilite açısından değerlendirilmiştir. Formülasyonlar 3 ayın üzerinde stabil bulunmuştur. Gama sintigrafi metotu ile in situ jelin in vivo nazal kalış süresi ilaç çözeltisine kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (>6 saat). Sonuç olarak, poloksamerin hidroksipropil metilselüloz ile kombinasyonunun, uzatılmış salım sağlayan, dayanıklı ve güvenilir sıcaklığa bağlı in situ jelleşen mukoadezif bir sistem olduğu sonucuna varılmıştır (Mehta ve ark. 2009).

Burun boşluğunda ilacın kalış süresini arttırmak için flunarizin hidrokloridin ısıya duyarlı jel formülasyonları geliştirilmiştir. Formülasyonlar 4°C'de sıvı durumda iken burun boşluğunda jel forma dönmüştür. Faz dönüşümü için poloksamer 407 kullanılmıştır. Nazal sekresyonda flunarizinin çözünürlüğünü arttırmak için β-siklodekstrin kullanılarak inklüzyon kompleksleri yapılmıştır. Hazırlanan formülasyonlar, ilaç yükleme, içerik tek

düzeliği, in vitro ilaç difüzyonu, biyoadezyon kuvveti, jel kuvveti, viskozite ve jelleşme noktası açısından incelenmiştir. Formülasyonların viskozitesi 37°C'de ciddi bir artış göstermiştir. Bu durum da in situ jelleşen bir sistem olarak uygun olduklarını göstermiştir. Tüm formülasyonların dışında, β-siklodekstrin formülasyonlarında en hızlı ilaç salımı gözlenmiştir. Bu durum, flunarizin hidrokloridin çözünürlüğündeki ve disolüsyon hızındaki artışa bağlanmaktadır (Meenakshi vd., 2010). Nazal kalış süresi ve permeasyonu arttırılarak nazal biyoyararlanımının iyileştirilmesi amacıyla sumatriptan süksinatın Pluronic® F127 ve Carbopol® 974P içeren in situ jeli hazırlanmıştır (Badgujar ve ark. 2010).

Diltiazem hidrokloridin (DTZ) toksik etkilerini minimuma indirmek ve kontrollü kinetik ilaç salımı elde edebilmek amacıyla mukoadezif in situ nazal jel formülasyonları geliştirilmiştir. DTZ, poloksamer ve hidroksipropil metilselüloz gibi ısıya duyarlı ve biyoadezif polimer karışımlarına ilave edilmiştir. Sonuçlar, biyoadezif polimer konsantrasyonunun arttırılmasının, jelleşme sıcaklığını düşürdüğünü ve jel erime sıcaklığını arttırdığını göstermiştir. Mukoadezyon testi sonuçlarına göre, hidroksipropil metil selüloz konsantrasyonunun arttılmasının, mukoadezyon kuvvetini arttırdığı belirtilmiştir (Gowda 2011).

Feksofenadin hidrokloridin permeasyonunun ve çözünürlüğünün arttırılması amacıyla Poloksamer 407/hidroksipropil- β-siklodekstrin kompleksi, kitozanla kombine kullanılarak yeni bir intranazal ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. In vitro permeasyon profili incelendiğinde, kitozan içeriğindeki artışla (%0,1 ve %0,3 a/h), ilacın permeasyonunun anlamlı derecede arttırıldığı gösterilmiştir. %0,1 ve %0,3 kitozan içeren in situ jellerin tavşanlarda intranazal uygulanmasından sonra (0,5 mg/kg), feksofenadin hidrokloridin plazma konsantrasyonlarının nazal çözeltilere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Özellikle, %0,3 kitozan içeren optimize edilmiş ısıya duyarlı jelin biyoyararlanımı, solüsyon formuna göre yaklaşık 18 kat daha yüksek bulunmuştur (Cho 2011).

2.5. Alerjik Rinit Hakkında Genel Bilgiler

2.5.1. Tanımı ve Prevelansı

Solunum sistemi, kişinin son nefesine kadar atmosferle dinamik bir temas halindedir. Bu sistemin filtreleme, havalandırma (nemlendirme ve ısıtma), oksijen sağlama ve kandan karbondioksit temizleme gibi çok önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Solunum sistemi hayatta kalmayla doğrudan bağlantılı olduğundan, doğa onu çeşitli stresleri

yeterince tolere edebilecek şekilde düzenlemiştir. Ancak alerjenler ve patojenler sistemi olumsuz yönde etkileyebilirler. Son zamanlarda sanayileşmede ve kapalı alanlardaki alerjenlerin prevelansında çarpıcı artışlar ve iklimsel değişiklikler meydana gelmiştir. Sonuç olarak, bu değişikliklerin olumsuz etkilerinin meydana gelme olasılığı sadece solunum sisteminde değil, aynı zamanda bu yol aracılığıyla diğer sistemlerde de önemli oranda artmıştır. Günümüzde, üst ve alt solunum yollarının en yaygın inflamatuar bozuklukları sırasıyla, rinit ve astımdır (Mandhane ve ark. 2011).

Alerjik rinit (AR), çocuk, yetişkin ve adolesanlarda önemli bir sağlık sorunu meydana getiren, hapşırma, kaşıntı, burunda tıkanıklık, burun akıntısı ve koku duyusunun kaybı gibi semptomların eşlik ettiği üst solunum yollarının iltihabi bir hastalığıdır. Bu semptomlara ek olarak hastalarda, damakta, boğazda, kulakta kaşıntı, baş ağrısı, halsizlik, kulaklarda tıkanıklık gibi yakınmalar görülebilmektedir. Ayrıca hastaların %60-70'inde sayılan semptomlara oküler kaşıntı/kızarıklık ve gözlerde sulanma da eşlik etmektedir. Bu duruma, burun boşluğu epitel dokusu üzerinde bulunan mast hücrelerindeki antijen-antikor reaksiyonlarının sebep olduğu kabul edilmektedir (Skoner 2001). Hayatı tehdit edici olmasa da, AR semptomları sıklıkla rahatsız edicidir. AR, prevelansı, yaşam kalitesi üzerine etkisi, iş/okul başarısı üzerine etkisi ve eşlik eden hastalıklar sebebiyle büyük öneme sahiptir. Hastaların yaşamını fiziksel, psikolojik ve sosyal yönden olumsuz etkilemekte, hastaların yaşam kalitesi bozulmakta ve önemli oranda iş gücü kaybına sebep olmaktadır. Semptomlar kontrol altına alınmadığı taktirde, öğrenme ve uyku bozukluklarına da yol açmaktadır. Gece horlama sıklığı alerjik rinitte artış göstermektedir. AR, obstrüktif uyku apnesi sendromu için risk faktörüdür ve polisomnografik çalışmalarda artmış apne-hipopne indeksiyle ilişkili bulunmuştur (Skoner 2001; Sogut ve ark. 2009; Kalpaklioglu 2009). Ayrıca tedavide kullanılan antihistaminik ilaçların sedatif etkileri de günlük hayatı etkileyebilir. Sonuçta, AR, okul ve iş performansında ve üretkenliğinde azalmaya yol açar (Szeinbach ve ark. 2007).

Epidemiyolojik çalışmalar, dünya çapında gelişmiş ve sanayileşmiş ülkelerdeki AR prevelansının son otuz yılda giderek arttığını göstermektedir. Günümüzde, AR'nin dünya çapında 500 milyondan fazla kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir. AR, dünya nüfusunun yaklaşık %40'ını etkilerken, bu popülasyonun %23-30'nu Avrupa ülkeleri, %12-30'unu Amerika Birleşik Devletleri oluşturmaktadır. Mevsimsel AR'nin prevelansı çocuklarda ve adolesanlarda, yetişkinlerden daha fazla görülürken, perennial rinit yetişkinlerde daha yaygın görülmektedir. (Izquierdo-Dominguez ve ark. 2013; Passali ve ark. 2012). Japonya'da 2008 yılında Baba ve ark.ları tarafından yürütülen bir çalışmaya göre, son on

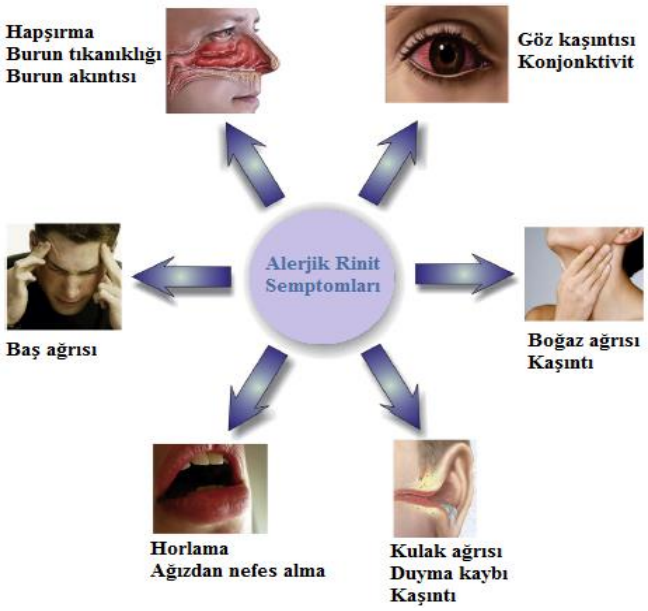
yıllık dönemde japon sedir ağacı polen allerjisi %26,5 ve AR'li hastaların sayısı %10 oranında artış göstermiştir (Karaki ve ark. 2013).

Ülkemizde, Avrupa Topluluğu Solunum Sağlığı Çalışması (European Community Respiratory Health Survey; ECRHS) yöntemiyle Manisa ve Antalya'da yapılan çalışmalarda erişkin yaş grubunda AR sıklığının sırasıyla %14,5 ve %22,7 olduğu bildirilmiştir (Sakar ve ark. 2006; Dinmezel ve ark. 2005).

Sonuç olarak; AR tüm dünyada özellikle gelişmiş ülkelerde ve çocuklarda sık görülen, yaşamı olumsuz olarak etkileyen, gelişmekte olan ülkelerde sıklığı giderek artan bir hastalıktır. Ülkemizde bugüne kadar yapılan çalışmalar, AR'nin erişkinlerde %1,6-27,5, çocuklarda %2,9-39,9 oranlarında görüldüğünü ve son 10 yılda AR prevalansında artış olduğunu düşündürmektedir.

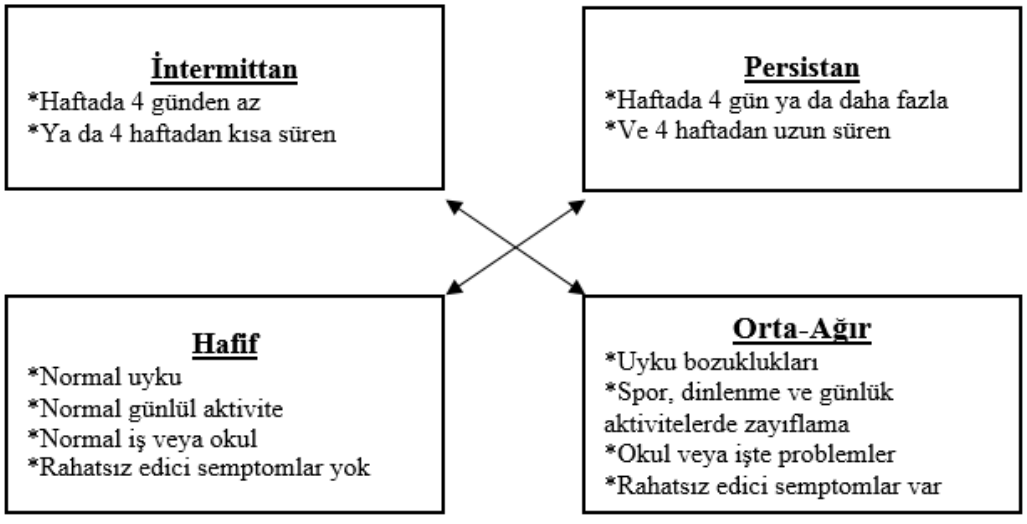
2.5.2. Alerjik Rinitin Sınıflandırılması, Etiyolojisi ve Semptomları

AR, önceki kılavuzlarda maruz kalınan aeroalerjen tipine bağlı olarak perennial, mevsimsel ve mesleki olarak sınıflandırılmıştır. AR, yaklaşık %80 oranında mevsimsel özelliktedir. Bu sık görülen şekli mevsimsel AR ya da intermittan AR olarak tanımlanır. Mevsimsel AR'de karşılaşılan en sık etkenler ot ve ağaç polenleridir. Bu tipte, burun akıntısı, tekrarlayan hapşırma, göz, burun, kulak ve boğaz kaşıntısı, gözlerde sulanma, geniz akıntısı ve burun tıkanıklığı gibi semptomların tümü ya da birkaçı görülebilir (Şekil 2.12) (Mandhane ve ark. 2011; Bousquet ve ark. 2008).



Şekil 2-12: Alerjik rinit semptomları (Mandhane ve ark. 2011).

Hastaların %20'sinde ise AR yıl boyu görülür ve perennial AR ya da yıl boyu devam eden AR olarak adlandırılır. Perennial AR'ye neden olan alerjenler, ev tozu ve depo akarları, hayvan kaynaklı proteinler, hamamböcegi ve yine ev içi mantarlardır. Astımla birlikteliği daha fazladır. Ancak duyarlı olunan alerjene göre yapılan bu sınıflandırma her zaman klinik görünümü yansıtmamaktadır, çünkü AR'de yakınmalar, alerjenle karşılaşma olmasa dahi, sigara ve keskin kokular gibi spesifik olmayan uyaranlarla da ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca bazı polenler belirli coğrafi bölgelerde yıl boyu kalabildiğinden, hastalarda mevsimselden ziyade yıl boyu süren yakınmalara yol açabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization) (WHO) ile işbirliği içinde yürütülen "alerjik rinit ve astım üzerine etkisi (ARIA)" başlıklı çalışmada, AR'ye yeni bir sınıflandırma getirilmiştir. ARIA'ya göre yapılan sınıflandırmada, yakınmaların sürekliliği ve şiddeti esas alınmaktadır. Yakınmaların sürekliliğine göre intermittan ve persistan; şiddetine göre hafif ve orta-ağır olarak sınıflandırılma yapılmıştır. Bu sınıflandırmada, intermittan hastalarda yakınmaların haftada 4 günden az veya 4 haftadan kısa sürdüğü; persistan hastalarda ise yakınmaların hem haftada 4 günden daha fazla hem de 4 haftadan uzun sürdüğü kabul edilmektedir. Ayrıca, hastalık şiddetinin de hafif veya orta-ağır olmak üzere iki alt başlık altında incelenmesi önerilmektedir (Şekil 2.13) (Bousquet ve ark. 2008).



Şekil 2-13: Alerjik rinitin sınıflandırılması (Bousquet ve ark. 2008).

2.5.3. Alerjik Rinit ve Eşlik Eden Üst ve Alt Solunum Yolları Hastalıkları

AR, sadece nazal mukozadaki bir inflamasyon değil, aynı zamanda sistemik inflamasyonla da ilişkili bir hastalıktır. Bu nedenle, AR'nin astım gelişimi için önemli bir risk faktörü olduğu ve astım hastalığına sıklıkla AR'nin eşlik ettiği kabul edilmektedir. Astım için olası risk faktörleri olan bronşiyal semptomların ve hava yolu inflamasyonunun perennial AR'li hastalarda gelişme riski daha fazladır. Astımlı olmayan mevsimsel AR'li hastalarda, nazal alerjen provakasyonu görülürken, alerjenin akciğerlere ulaşımı gerçekleşmez. Ancak, üst ve alt solunum yollarında artan adezyon molekülü ekspresyonu, eozinofil infiltrasyonu ve artan bronşiyal hiperaktivite gibi inflamatuar değişiklikler görülmektedir (Downie ve ark. 2004; Borish 2003). AR'li hastaların yaklaşık %40'ında astım yakınmaları, astımlı hastaların çoğunda da rinit yakınmalarının bulunması nedeni ile üst ve alt solunum yollarının ortak inflamatuar süreçle etkilendikleri düşünülür. Astım alevlenmesi genellikle nazal semptomların kötüleşmesi ile paralellik gösterir. AR'nin tedavi edilmesi, astım üzerinde olumlu etkiler yaratır. Bu sonuçlar, alerjik nazal reaksiyonların, sistemik inflamatuar değişikliklere de yol açtığını ispatlamaktadır. Astım ile AR arasındaki birlikteliğin klinik önemi astımlı olgularda var olan AR'nin tedavisi ile astım bulgularının gerilemesi, ilaç ihtiyacı ve semptom skorlarının azalmasıdır (Izquierdo-Dominguez ve ark. 2013; Borish 2003). Yetişkinlere benzer şekilde, çocuklarda da AR ve astım arasında bir ilişki olduğuna dair kanıtlar vardır. Çocuklar büyüme çağında savunmasızdır. Fiziksel bünyeleri ve nefes alma şekilleri sebebiyle, hava kirliliğinin sağlık üzerindeki etkilerine yetişkinlerden daha duyarlıdırlar. Hayatlarının ilk yıllarında AR gelişen çocuklarda, sonradan AR gelişenlerle kıyaslandığında, astım hastalığının gelişme riskinin 2 kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Matsuno ve ark. 2006; Borish 2003).

2.5.4. Alerjik Rinitin Patofizyolojisi

AR, allerjen/pro-inflamatuar mediatörler nazal mukozaya ulaştıktan sonra mukozada inflamatuar yanıtın ortaya çıkması, immün hücre birikimi ve mukozal hasarlanma sonucu gelişen klinik tablodur. AR tipik olarak inhale edilen alerjene karşı gelişen IgE aracılı tip 1 hipersensitivite reaksiyonu olarak tanımlanabilir. Ancak, sadece mast hücre ve mediyatörleri değil, farklı Th lenfosit alt tipleri, eozinofiller ve bazofiller gibi çok çeşitli hücreler ve bunlardan ortama salınan mediatörler patolojik ve klinik bulgulardan sorumludur. Bu süreçte rol oynayan hücre, mediatör ve nörojenik mekanizmaların aydınlatılması, tedavi planlaması açısından da önem taşır (Bousquet ve ark. 2008). İnsan ve hayvan AR modellerinde, gelişen olayların sırası kronolojik olarak erken ve geç faz şeklinde iki faza ayrılmaktadır.

2.5.4.1. Sensitizasyon ve Erken Faz Reaksiyonu

AR'nin gelişmesi için alerjene karşı atopik bir duyarlılık ve duyarlılaşan kişinin alerjenle karşılaşması gereklidir. Alerjen olarak tanımladığımız, çoğunlukla protein yapıdaki moleküllerin immün yanıtı başlatabilmesi için antijen sunan hücreler (ASH'lar) (deride Langerhans hücreleri, mukozada dendritik hücreler) tarafından alınıp lizozomal enzimlerle 7-14 amino asitlik küçük peptidlere parçalanması ve antijen sunumunun gerçekleşeceği bölgesel lenf düğümlerine getirilmesi gerekir. Başlangıçta olgunlaşmamış halde olan ASH'lar bu süreç sonunda olgunlaşır ve hazırlanan peptidleri MHC (Majör Histocompatibility Complex) Class II molekülü ile birlikte hücre yüzeyinde eksprese ederek naive T hücresine sunar. Ayrıca, ASH'lar, interlökin (IL)-4 gibi sitokinlerin vasıtasıyla naive T yardımcı hücrelerini Th2 hücrelerine dönüştürür (Lambrecht, 2001). Daha sonra, Th2 hücreleri, B hücreleri tarafından antijen spesifik IgE üretiminin arttırılması gibi çeşitli fonksiyonlara sahip IL-4 ve IL-13 sitokinlerini üretirler. İzotip geçişi olarak adlandırılan bir süreçte, spesifik B hücre alt kümeleri, IgM'den IgE üretimine geçiş yapmak için plazma hücrelerine dönüşürler (Takhar ve ark. 2005). Hafıza B hücreleri, edinilmiş antikor cevaplarının korunmasında esansiyel bir rol oynarlar. Aynı antijene tekrar maruz kalındığında, bu hücreler hızla yeniden stimüle olur ve yüksek afiniteli antikorları salgılayan antikor salgılayan plazma hücrelerine farklılaşırlar. IgE antikorları, CD34 molekülünü eksprese eden kemik iliği prekürsörleri kaynaklı mast hücrelerini kapsayan bir grup hücreyi sensitize eder. Mast hücreleri, IgE'nin Fc bölgesi için yüksek afiniteli bir reseptör (FcεRI) açığa çıkarır. Böylelikle, IgE esas itibariyle mast hücrelerine geri dönüşümsüz olarak bağlanır. IgE molekülleri, tek bir özel antijene spesifiktir. Aynı antijene yeniden maruz kalınması, IgE'nin mast hücre yüzeyine bağlı IgE molekülünün değişken bölgesi üzerinde yer alan kısma bağlanmasına yol açar. Bu durum, IgE molekülleri arasında çapraz bağların oluşmasına ve çeşitli sinyal yollarının aktivasyonuna neden olur. Kompleks reaksiyonlar mast hücre veziküllerinin degranülasyonunu tetikler. Sonuç olarak, mast hücreleri akut havayolu tıkanıklığına yol açan önceden ya da yeni üretilmiş inflamatuar mediatörler salar. Mast hücrelerinden salınan önceden oluşmuş histamin ve triptaz lokal inflamasyona neden olur. AR'deki bu erken faz alerjik yanıt, hapşırma, kaşıntı ve sulu akıntı gibi belirtilerle kendini gösterir (Min 2010).

2.5.4.2. Geç Faz Reaksiyonu

Geç faz reaksiyonu, erken faz reaksiyonundan 4-8 saat sonra başlar. Bu fazda klinik olarak nazal mukoza kalınlığı ve hava akımı rezistansı artar (Gelardi vd., 2006). Geç faz, sitokinleri ve diğer mediatörleri salan eozinofillerin, bazofillerin, nötrofillerin ve Th2 lenfositlerin sayısındaki artışla karakterizedir. İnterlökin, lökotrien ve PAF (platelet aktive edici faktör) gibi mediatörler, inflamatuar hücrelerin damar içinden interstisiyel alana çıkışını indükler. Mukus hipersekresyonu, ödem, nazal konjesyon ve hava yolu hiperaktivitesi gibi inflamatuar reaksiyonlar ortaya çıkar. Eozinofiller geç faz alerjik reaksiyonda hayati bir rol oynamaktadır. Süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit gibi yıkıcı serbest oksijen radikallerini üreterek epitele zarar verir ve yoğun inflamatuar reaksiyonları arttırır. Ayrıca, eozinofiller, sitokinlerin ve mediatörlerin yanında majör bazik protein (MBP) ve eozinofil katyonik protein (ECP), eozinofil peroksidaz (EPO), eozinofil kökenli nörotoksin gibi polipeptitleri de açığa çıkarırlar. Bu polipeptitler nazal hiperaktiviteyi indükleyerek epitelyal hasara ve hücre ölümüne neden olurlar (Mandhane ve ark. 2011). Geç faz reaksiyonunda artış gösteren bir diğer hücre ise lenfositlerdir. CD4 T yardımcı hücrelerinde, CD4 CD45 T memory hücrelerinde, hatta CD8 T sitotoksik hücrelerinde artış vardır. AR'de submukozal salgı yapılarında da artış görülür. Normal kişilerde, glandüler yapı lamina proprianın % 15 iken, AR'si olan kişilerde bu oran % 25'e yükselmektedir. Bu da alerjide hava yolu hipersekresyonunun varlığını teyit etmektedir. AR'li kişilerde nazal nitrik oksit seviyesi artmaktadır. Nitrik oksit vazodilatasyona ve glandüler hipersekresyona neden olur (Mandhane ve ark. 2011).

2.5.5. Alerjik Rinit Tanısında Temel Testlerin Değerlendirilmesi

Alerjik hastaların tanısında kullanılan temel testler, iki grup altında toplanmaktadır:

1- In vitro testler

2- In vivo testler

In vitro testler: Hastanın venöz kan veya serum örneğinin kullanıldığı ve alerjisine neden olan alerjenin saptanmaya çalışıldığı testlerdir. Genelde in vivo testlere göre daha sıklıkla kullanılırlar. Bunlar; total eozinofil sayımı, total serum IgE, serum spesifik IgE, alerjenle indüklenen mediatör salınım testi, histamin salınım testi, CysLT salınım testi, flow sitometrik bazofil aktivasyon testi ve nazal eozinofil (nasal smear) dir.

In vivo testler: Deri testi ve provakasyon testleridir.

2.5.5.1. In vitro testler

a) Kanda Total Eozinofil Sayımı

Alerjik hastalıkların inflamasyon cevabında eosinofil önemli bir rol alsa da öncelikle doku yerleşimli bir hücredir. Eozinofiller, periferik kana göre kemik iliği ve dokuda 100 kat daha fazla bulunurlar. Dolaşımdaki hücreler sadece üretildikleri yer ile işlev gördükleri yer arasındaki trafiği yansıtırlar. Bu nedenle alerjik hastalıkların tanısında periferik eozinofillerin sınırlı bir anlamı vardır. Tanıda mm^3'deki sayım daha değerlidir ve 250 hücre/mm^3'ün üstündeki değerler patolojik olarak artmış kabul edilmektedir. Eozinofiller diurnal ritme bağlı olarak geceleri daha yüksek, sabahın erken saatlerinde düşük seviyededir. Yine endojen ve eksojen glukokortikoid salınımı, stres, bazı viral ve bakteriyel enfeksiyonlar eozinofil sayısını süprese edebilir. Eozinofil, atopik hastalıkların tanısında kullanılan bir laboratuar verisi olmasına karşın atopik hastalıklar dışında paraziter enfeksiyonlar, hematopoetik sistem hastalıkları ve kolajen doku hastalıkları gibi pek çok hastalıkta da saptanabilir. Bu nedenle tanıda çok değerli görülmemektedir (Tefferi 2005).

b) Total Serum IgE Düzeyi

Ishikaza ve ark. tarafından 1967'de keşfedilen IgE, iki ağır ve iki hafif zincirden oluşmaktadır. Serum total IgE radioimmünoassay veya enzim immünoassay kullanılarak ölçülür. Normal kişilerde IgE düzeyi doğumdan (0-1 KU/L) ergenlik dönemine kadar artar, sonra yavaşça düşmeye başlar ve 20-30 yaşından sonra plato çizer. Erişkin yaşta 100-150 KU/L'nin üzerindeki değerler yüksek kabul edilir. Alerjik ve parazitik hastalıklar ve diğer birçok durum serum total IgE düzeyini yükseltebilir. Dolayısıyla total serum IgE düzeyi ölçümü alerji tanısını saptamada kullanılmaz ve tanısal değeri sınırlıdır. Fakat total Ig E değeri yüksek bulunan hastaların, ileri tetkikler ile IgE duyarlılıklarının araştırılması gerekmektedir (Bousquet ve ark. 2001; Dykewicz ve Fineman 1998; Novak ve Bieber 2003).

c) Serum Spesifik Ig E

Serumda allerjen spesifik IgE ölçümü önemlidir. Kabul edilebilir ilk serum spesifik IgE ölçüm yöntemi "radio allergo sorbent testi (RAST)"dir (Wide ve ark. 1967; Johansson ve ark. 1973). Günümüzde kullanılan yeni yöntemler ise radio labeled veya enzyme-labeled anti-IgE'dir. Sonuçlar total radyoaktif ölçüm sınırı (c.p.m.), farklı birimler olarak (RAST sınıflaması, PRU/mL) veya IgE birimi (IU/mL, KU/L) olarak verilir. Bununla birlikte kantitatif ölçümleri kullanmak daha uygundur (Soderstrom ve ark. 2003; Ahlstedt ve Murray 2006).

Serum spesifik IgE ölçümünü etkileyen faktörler:

IgE ölçümünü etkileyen çok sayıda etmen vardır (Bernstein 1988). Özellikle uygulanacak anti-IgE tercihen Fc fragmanındaki birden fazla epitopa karşı özgünlüğü olan monoklonal antikorların karışımı olmalıdır. Kalibrasyonda WHO'nun uluslararası insan IgE hazırlama kaynağı dayanak alınmalıdır (Yman 1991). Deri testlerinde olduğu gibi alerjen kalitesi kritik öneme sahiptir ve mümkünse sadece standardize ekstreler kullanılmalıdır. Rekombinant alerjenler çayır otu, huş ağacı poleni ve kayıngiller, zeytin, polenler ve akarlar için kullanılabilir (Laffer ve ark. 1996; Quiralte ve ark. 2005). In vitro tanı için tek bir rekombinant alerjen veya birkaç majör rekombinant alerjenin kombinasyonu ham ekstrelerin yerini alabilecektir. Diğer bir uygulama da alerjen ekstresine ilgili rekombinant alerjenin ilave edilmesidir. Öyle görülmektedir ki rekombinant alerjenlerin kullanımı polen alerjisinin in vitro tanısını kolaylaştıracaktır. Çayır poleni alerjenik moleküllerinin kullanımı alerjen ekstrelerinin kullanımına benzer sonuçlar vermektedir. Reaktivitenin bireysel özellikleri ve doğru spesifik IgE konsantrasyonu gibi bazı yeni bilgilere yalnızca farklı alerjenik moleküller yoluyla ulaşılabilir (Mari 2003). Rekombinant alerjen komponentleri ayrışmış alerji tanısı için uygundur (Scheurer 2006). Polen ve besin alerjenleri arasındaki IgE çapraz reaktivitesi oral alerji sendromunun moleküler temelini oluşturmaktadır. Kantitatif huş spesifik IgE düzeyinin, huş polen temasıyla klinik alerjiyi öngörebildiği kanıtlanmıştır (De Amici ve ark. 2003).

Alerjik hastalıkların tanısında serum spesifik IgE ölçümü deri testine kıyasla daha pahalı olup, sonuç daha geç elde edilmektedir. Üstün yanları ise; antihistamin ilaçlar, trisiklik antidepresanlar gibi ilaç kullanımından ve dermografizm, ciddi atopik dermatit gibi deri hastalıklarından etkilenmez. Hastaya herhangi bir alerjen uygulanmadığı için sistemik reaksiyon riski yoktur (Siles ve Hsieh 2011; Greiner ve ark. 2011).

Serum Spesifik IgE'nin Önemi

Standardize alerjen serum spesifik IgE sonuçları, deri testi ve nazal provakasyon testiyle yakın korelasyon gösterir. Deri testlerine benzer şekilde, serumda IgE'nin olmaması semptomları dışlamadığı gibi birçok semptomsuz sağlıklı kişide serum spesifik IgE bulunabilir. Spesifik IgE'nin pozitif olarak değerlendirildiği üst sınır değer (cut-off) genellikle 0,35 KU/L olup, bu değerin üzerinde ise pozitif olarak kabul edilir. Ancak bazı duyarlı kişilerde IgE düzeyinin sınır değerin altında olabileceği bilinmektedir, dolayısıyla serum spesifik IgE ölçümü, deri prick testine göre daha az duyarlı bir yöntemdir (Chinoy

ve ark. 2005). Serum spesifik IgE ölçümü tek alerjen testi kullanıldığında yüksek maliyetlidir ve yalnızca belirli bir listedeki allerjenlerle test yapılabilir.

d) Perifer Kan Aktivasyon Belirteçleri

Alerjik hastalarda kandaki bazofiller spesifik alerjenle uyarıldığı zaman degranüle olarak histamin ve sisteinil lökotrienler gibi mediyatörler salgılayabilir. Bu mediyatörlerin ölçümü (örn. histamin salınımı veya sisteinil lökotrien salınımı) veya hücrelerin mikroskobik incelemesi (örn. bazofil degranülasyon testi) veya hücrelerin aktivasyon durumu ölçülebilir. Bazofil degranülasyon testi günümüzde hala tam olarak valide edilememiştir (Benveniste 1981). Yeni bazofil aktivasyon testleri alerjenlerin veya nonspesifik uyarıların varlığında sitoflorometri kullanılarak ölçülen CD63, CD45 veya CD203 ekspresyonuna dayanmaktadır. Bu ölçüm ayrıntılı ekipman ve ileri değerlendirme gerektirir (Nopp ve ark. 2006). Rekombinant alerjenler, histamin salınımı ve bazofilin CD63 aktivasyonu için de kullanılabilir (Valenta ve ark. 1993). Rekombinant alerjenlerle CD63-bazofil aktivasyon testi alerji tanısındaki rutin testleri destekleyebilir (Erdmann ve ark. 2005). Bazofil alerjen duyarlılık eşiği anti-IgE tedavisinin etkinlik değerlendirmesinde yararlı olabilir (Nopp ve ark. 2006). Alerjen teması sonrası sisteinil lökotrien salınımını esas alan testler ilgi çekici olup hala ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (Rossi ve ark. 1998; Ferrer ve ark. 1998).

e) Nazal Eozinofil (Nazal Smear)

Nazal yayma, alerjik ve nonalerjik rinitlerin ayırıcı tanısında önerilen bir tanı yöntemidir. Ucunda sünger ya da pamuk bulunan çubuklar kullanılarak nazal mukozanın yüzeyel hücreleri elde edilebilir. Çubuklar alt ve orta konkaların arasına sürülerek örnek alınır. Burun akıntısı bir lam üzerine yayılarak giemza boyası ile boyanır ve ışık mikroskopu ile incelenir. Eozinofil sayısı, sayılan hücrelerin %15'inden fazla ise nazal eozinofiliden bahsedilir. Hassasiyeti düşük fakat spesifitesi yüksek bir testtir. Eozinofili görülmemesi AR'nin olmadığı anlamına gelmez. Klinik olarak AR tanısı konulan hastaların hepsinde nazal yayma yapmaya gerek yoktur. Bu alternatif yöntemin dezavantajları hücrelerin pamuğun veya süngerin yüzeyine yapışması ya da hücrelerin lamın yüzeyine aktarılamamasıdır (Crobach ve ark. 1996; Howarth ve ark. 2005).

2.5.5.2. In Vivo Testler

1. Deri Testleri

Bu testlerin temel esası, derideki hassaslaşmış mast hücrelerinin lokal bir alerjik cevabı başlatmak için spesifik bir alerjen ile indüklenmesidir. Değişik test yöntemleri kullanarak, kişinin alerjik olduğu alerjenle temasa getirildiğinde, derideki temas noktasında, ortada bir kabarıklık ve çevresinde bir kızarıklık oluşur. Bu teknik spesifik antijene karşı IgE antikor varlığında etkilidir. Oluşan bu reaksiyonun spesifikliği ve duyarlılığı uygulanan alerjenin konsantrasyonuna ve kullanılan cilt testi metoduna bağlıdır (Bronky ve ark. 1996).

a. Scratch test: Bu yöntemde oldukça konsantre antijen solüsyonundan deri üzerine bir damla damlatılır ve sivri uçlu bir alet ile, damlanın içinden geçilerek, cildin yüzeyel tabakasında bir çizik yapılır. Bu testin bir varyasyonunda ise, önce cildin yüzeyel tabakası çizilir ve daha sonra bu çizik üzerine antijen solüsyonu damlatılır. Derideki reaksiyon, 0 dan 4 e kadar olan bir skala ile değerlendirilir (Sarıkahya 2000).

b. Prick test: Test uygulanmasında, derinin üst tabakası, ucu sivri ve keskin olan bir alet, sık olarak bir iğne ile, bir noktasından kaldırılır. Burada amaç cildi delip geçmek değil, cildin yüzeyel tabakasında bir çizik oluşturmaktır. Cildin çizilen bu noktası üzerine antijen solüsyonu damlatılır ve sonuçlar 15-20 dakika beklendikten sonra okunur. Cilt üzerinde oluşan kabarıklık ve kızarıklığın boyutları ölçülerek kaydedilir. Sonuçlar pozitif (histamin) ve negatif (sulandırıcı ya da gliserin) kontrollerle karşılaştırılarak 0 dan 4+ e kadar değerlendirilir (Sarıkahya 2000).

Scratch ve Prick Testlerin Avantajları (Önerci 2002).

- Duyarlılıkları yüksektir.
- Hızlı sonuç alınır.
- Ekonomiktir.
- Kolay uygulanır.
- Çeşitli alerjenlerle çalışılabilir.

Scratch ve Prick Testlerin Dezavantajları (Önerci 2002).

- Rahatsızlık verir.
- Cildin durumuna bağlıdırlar (dermatografizm).
- Bazı ilaçların kullanımından etkilenir.

- Sistemik reaksiyon riski taşır.
- Cilt testi yapılmadan önce kullanılan bazı ilaçlar test sonuçlarını olumsuz etkileyebilir

c. İntradermal testler: Antijen ekstreleri küçük miktarlarda deri içine enjekte edilir. İntradermal test, spesifik alerjik duyarlılığın tespitinde, scratch ve prick testlere oranla daha kesin sonuçlar verir. (53). Test sonuçları 15-20 dakika içinde, endürasyonun çapına göre değerlendirilir. Sensitivitesi daha yüksektir, fakat daha fazla zaman alır, ağrı verir, yalancı pozitif reaksiyon riski ve anaflaksi riski fazladır. Bronş hiperreaktivitesi olan hastalarda, çok düşük dozlar bile astım atağını başlatabilir. Arteriol ve venüllere girme riski bulunmaktadır (Doğru ve Topuz 2001).

2. Provokasyon Testleri

Nazal provokasyon testinin esası, burun içine verilen nonspesifik uyaran ya da spesifik bir alerjene burunda ödem, tıkanıklık, hava akım hızında yavaşlama, kaşıntı, hapşırma şeklindeki yanıtların olması ve bunun kaydedilmesine dayanır. Spesifik nazal provokasyan testleri, klinik olarak ve diğer laboratuvar testleriyle allerjik rinit tanısı konulmuş olguların doğrulanmasında kullanılır. Bunun dışında ayrıca, allerji öyküsü çelişkili olan, deri testleri ya da serolojik testlerde tanı konulmayan olguların tanısının doğrulanması açısından kullanılabilir (Malm ve ark. 2000; Litvyakova ve Baraniuk 2001). Esasen nazal provokasyon testlerinin en önemli görevi, allerjik rinitli bir hastanın hangi dozda allerjene maruz kaldığında klinik yanıt verdiğinin hesaplanmasıdır. Tüm bunların dışında uygulanan allerjik rinit tedavisinin etkinliğinin, güvenlik profilinin ve kişinin semptomlarını ne düzeyde değiştirdiğinin saptanmasında önemli bir yöntemdir. Bunun yanında uygulanmakta olan spesifik allerjen immünoterapisinin etkinliğini değerlendirmek için kullanılabilir. Mesleksel allerjik rinit hastalıklarında sorumlu allerjenin bulunmasında da kullanılabilir (Valero ve ark. 1988; Airaksinen ve ark. 2007).

Nazal provokasyon testi sonrasında buruna ait objektif değişimlerin saptanması için en çok rinomanometrik yöntemler kullanılmaktadır. Akustik rinometri cihazı bazen bu çalışmalar için kullanılsa da şu an için gelişmesini tam sağlamamış bir araç olduğu belirtilmektedir. Bu sebeple nazal hava yolu direnci, hava akım hızları (nazal pik inspiratuar ve ekspiratuar akım hızları) günümüzde daha sıklıkla pasif veya aktif anterior rinomanometri ve aktif posterior rinomanometri yöntemiyle ölçülür. Uygulama açısından nispeten daha kolay olduğu ve değerlendirme kriterleri daha net olduğu için en çok anterior rinomanometrik değerlendirme yapılmaktadır. Nazal provokasyon testi sonrasında

allerjene verilen nazal yanıtın objektif değerlendirilmesi açısından çok daha değişik yöntemler de kullanılmıştır. Bunlar arasında oluşan patofizyolojik değişimi göstermek için kan akım hızındaki değişiklikleri gösterebilme teknikleri, burun içi sıcaklığın artışını gösterebilmek için termografik teknikler denenmiştir. Bunun dışında nazal mukozal kalınlığın ölçümü, hidrojen klirens, nazal pH ölçümü vb. gibi geniş kullanım alanı bulamayan yöntemler de vardır (Demoly ve ark. 1999; Druce 1988).

Nazal provokasyon testinde test sonrasında inflamatuvar yanıtın da değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bunun için değişik teknikler geliştirilmiştir. Nazal irrigasyon, nazal fırçalama, nazal biyopsi teknikleriyle elde edilen materyalde allerjik yanıtların değerlendirilmesi amacıyla hücre ve mediyatörler araştırılmaktadır. Ayrıca nazal nitrik okside nazal inflamasyonun indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Howarth ve ark. 2005; Castano ve ark. 2008).

2.5.6. Alerjik Rinit Tedavisi

AR'nin sistemik inflamatuar bir hastalık olarak tanınırlığının artması, tedavi için de pekçok yaklaşımın ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Tedavide yalnızca semptomları iyileştirmek değil, ayrıca altta yatan inflamatuar süreçlerin de tanımlanması önemlidir. AR için tedavi seçenekleri, alerjenden kaçınma, farmakoterapi ve immünoterapi şeklindedir. AR tedavisinde, sorumlu alerjenden kaçınma ilk ve en önemli adımdır. Korunma mümkün değilse veya yetersiz ise ilaç tedavisine geçilir. İmmünoterapi tedavinin en son aşamasında, uygun ilaç ve çevre kontrolünün yetersiz kaldığı durumlarda kullanılır (Borish, 2003).

2.5.6.1. Alerjenden Kaçınma

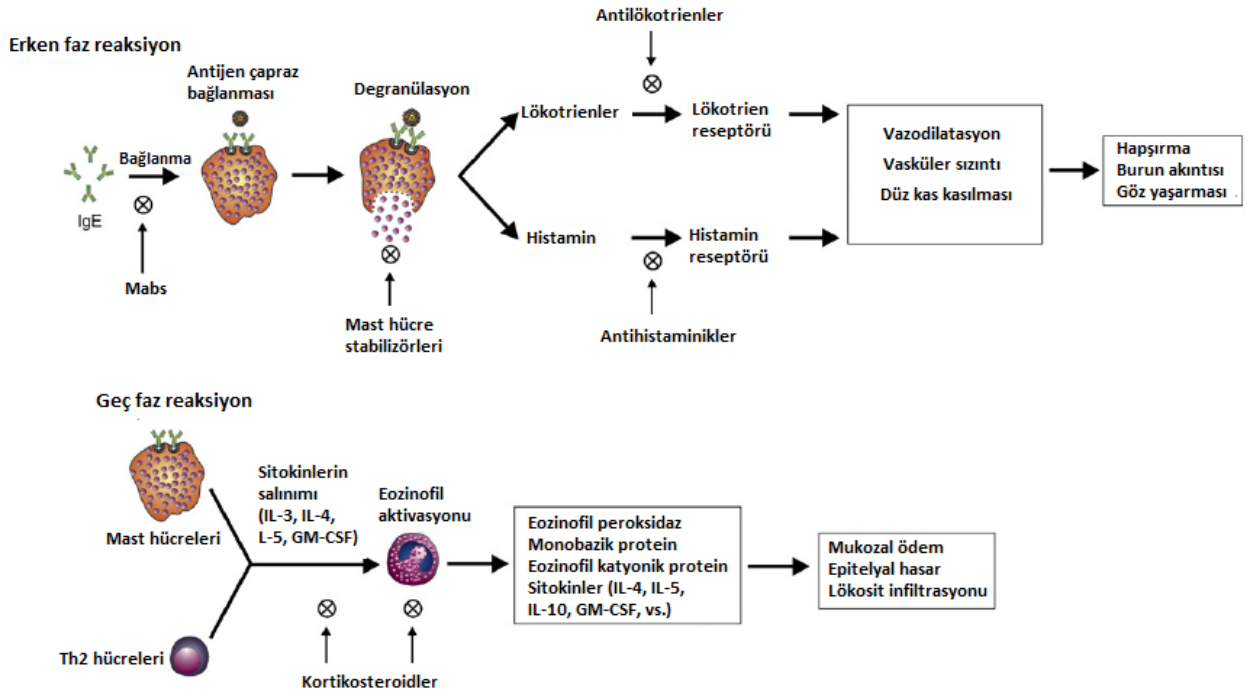
Alerjik hastalığın seyri, çevredeki alerjenlerin yoğunluğuna bağlıdır. Bu nedenle, alerjenin tespiti ve bu tür alerjen maddelerden kaçınma tedavide ilk olarak düşünülmelidir. Alerjenden korunmada amaç burun mukozasının alerjenle temasının engellenmesine dayanır. Sonuç olarak, eğer tetikleyici alerjenler teşhis edilirse, bunlardan kaçınma mantıklı bir adımdır. Ancak, pratikte bunun zor olduğu kanıtlanmıştır. Örneğin, ot polenleri veya onların submikron fragmanları üretildikleri bölgeden rüzgarla birlikte kilometrelerce yayılırlar. Klimalı ortamda kapalı alanlarda kalmak veya dışarıda maske takmak gibi polenden kaçınma stratejilerinin kabul edilebilirliğinin düşük olduğu ve genellikle pratik olmadıkları düşünülmektedir (Kemp 2009; Host ve Halken 2002).

Zamanın önemli bir kısmı ev içinde geçtiğinden, asıl kontrolün ev içi alerjenleri olan ev tozu akarları, mantar, hayvan ve hamam böceği atıkları için olması gereklidir. Ev tozunun en çok bilinen komponenti ev tozu akarıdır. Akarların alerjenik kısmı dışkı

artıklarıdır. Akarlar insan derisi döküntüleriyle beslenirler. Deri döküntülerinin en çok bulunduğu yerler ise yatak, perde, halı, kumaş mobilyalar, tüylü oyuncaklar şeklinde sıralanabilir. Nemli ve ılık ortamlarda ise akarlar daha fazla üremektedir. Akarlar için çevre kontrolü yatak takımları, kumaş kaplı mobilya, halı ve içi doldurulmuş oyuncaklar üzerine yoğunlaştırılmalıdır. Odalar sık sık havalandırılmalıdır. Kuş tüyü yastıklardan ve yünlü battaniyelerden kaçınılmalıdır. Yatak takımları için ev tozu akarları gelişimine izin vermeyecek özel sentetik kumaşlar kullanılabilir. Bunlar haftada bir 60°C sıcaklıkta yıkanmalıdır. Akarisidler ev tozu akarlarının miktarını azaltabilir (Woodfolk ve ark. 1994). Ev içinde mantar kaynağı olabilecek nemli ve ıslak alanlar kontrol edilmelidir. Ev içi hayvanlar uzaklaştırılmalıdır (Dickerson ve Li 1998). Bu tedbirlerin yanında gerek ev içi gerekse ev dışı hava kirliliğinin alerjik semptomları ve hasta rahatsızlığını artıracağı unutulmamalıdır. Bunun için aktif veya pasif sigara içiciliği önlenmeli, şehrin hava kirliliği olmayan bölgesinde oturulmalıdır (Doğru ve Topuz 2001).

2.5.6.2. Farmakoterapi

AR'de farmakoterapinin başlıca amaçları, semptomların kontrolü, önlenmesi ve hastaların yaşam kalitelerinin arttırılmasıdır. Mevcut tedavi stratejileri, aktive olmuş hücrelerden lokal salınan mediatörlerin etkisini ve salınan mediatörlerin son organ etkilerini azaltmayı hedeflemektedir. AR'de, çeşitli mediatörlerin ve inflamatuar hücrelerin etkileşimleri rol oynadığından, tek mediatörü hedefleyen tedaviler, farklı semptomların ve altta yatan inflamasyonun çözülmesi için etkili değildir. Bu nedenle, farklı aktivitelere sahip ilaçların kombine edilmesi en iyi tedavi şeklini sunmaktadır. Günümüzde, AR tedavisi için antihistaminikler, antilökotrienler, dekonjestanlar, kortikosteroidler, mast hücre stabilizörleri ve antikolinerjik ajanlar gibi farklı ilaç sınıfları bulunmaktadır. Bu ilaçlar, AR semptomlarının azaltılmasıda farklı mekanizmalarla etki gösterirler (Şekil 2.14) (Mandhane ve ark. 2011).



Şekil 2-14: Alerjik rinit tedavisinde mevcut başlıca tedavi ajanları ve etki mekanizmaları (Mandhane ve ark. 2011).

1. Antihistaminikler:

AR patofizyolojisinde rolü olan pek çok mediatör içinde en önemlisi histamindir. Etkisini H1 reseptörlerine bağlanarak gösterir ve akıntı, kaşıntı ve hapşırık yakınmalarına neden olur. Mast hücre aktivasyonu ve histamin salınımı alerjik hastalıkların ortak özelliği olduğundan, antihistaminikler, AR ve diğer alerjik hastalıkların tedavisinde 50 yıldan daha fazla süredir kullanılmaktadır (Simons 2004). H1 antihistaminler H1 reseptörlerinin inaktif şekliyle birleşerek (karşı agonist) histamin salınımını engeller. Bu yüzden en iyi sonuç alerjene maruz kalınmadan, histamin salınmadan önce profilaktik olarak düzenli kullanıldığında alınır (Bousquet ve ark. 2008). Oral antihistaminler histaminin neden olduğu burun, damak, boğaz, göz kaşıntısı, akıntısı, hapşırık üzerine oldukça etkilidir. Ancak burun tıkanıklığı üzerine olan etkileri glukokortikosteroidler veya nazal dekonjestanlar kadar güçlü değildir (Bousquet ve ark. 2008).

Klorfeniramin, difenhidramin, hidroksizin gibi birinci kuşak antihistaminler alerjik semptomları kontrol etmede oldukça etkin olmalarına karşın sedasyon, dalgınlık, psikomotor performansta azalma gibi santral sinir sistemi etkileri, ağız kuruluğu, idrar retansiyonu, kabızlık gibi antikolinerjik yan etkileri olduğundan tercih edilmez. Loratadin, setirizin, feksofenadin, desloratadin, levosetirizin, rupatadin, ebastin daha sonra

geliştirilmiş ikinci kuşak antihistaminlerdir (Brozek ve ark. 2010). Yan etkileri, özellikle de sedatif etkileri oldukça az olduğundan AR tedavisinde birinci kuşak antihistaminler yerine tercih edilir. İkinci kuşak oral antihistaminlerin etkisi 1-2 saat içinde başlar. Birinci kuşak antihistaminlerin hepsi, ikinci kuşakların ise bazıları karaciğerde hepatik sitokrom P-450 sistemiyle metabolize olur. Makrolid antibiyotikler veya ketokonazol gibi hepatik sitokrom P-450 sistemini inhibe eden ilaçlarla birlikte kullanıldıklarında kanda metabolize olmayan kısımlarının artarak yüksek toksik dozlara ulaşma riski olduğundan doz ayarlaması yapılması gerekir (Gentile ve Skoner 2010; Rachelefsky 1998).

İntranazal antihistaminler çocuklarda mevsimsel AR'de kullanılabilir. Nazal tıkanıklık üzerine etkisi oral antihistaminlere göre daha belirgin olabilir. Ancak acı tadı olması, çocuklar tarafından intranazal kullanımının tercih edilmemesi ve sistemik emilime bağlı sedatif etkileri dezavantajlarıdır (Wallace ve ark. 2008).

2. Antilökotrienler:

Sisteinil lökotrienler, inflamasyonun endojen mediatörlerinden olup bronkokonstriksiyon, mukus üretimi, mukozal ödem ve inflamasyonu, hava yolunun eozinofil infiltrasyonunu ve dendritik hücre matürasyonunu uyararak alerjik hava yolu hastalığında önemli rol oynamaktadır. Lökotrienlerin inhibisyonu ilk önceleri astım tedavisi için bir seçenek olarak sunulmuş, daha sonra AR'de dahil olmak üzere diğer alerjik hastalıkların tedavi stratejisi içinde yer almaya başlamıştır (Brozek ve ark. 2010; Wallace ve ark. 2008; Rodrigo ve Yanez 2006; Grainger ve Drake-Lee 2006). Lökotrien antagonistleri lökotrienleri başlıca iki yol üzerinden inhibe eder: 1) 5-lipooksijenaz yolağı blokajı ile lökotrien sentez inhibisyonu (örn. zileuton), 2) Hedef hücreler üzerindeki sisteinil lökotrien reseptörlerinin blokajı (örn. montelukast, pranlukast ve zafirlukast). Lökotrien antagonistleri oral yoldan çok hızlı absorbe edilir, plazma proteinlerine bağlanma oranları çok yüksektir. Genellikle iyi tolere edilirler ve yan etki profili düşük ajanlardır. Nadiren karın ağrısı, baş ağrısı, döküntü, anjiyoödem, pulmoner eozinofili ve artralji gibi yan etkiler bildirilmiştir (Scadding ve ark. 2008).

3. Dekonjestanlar:

AR, burunda akıntı, kaşıntı, hapşırma ve burun tıkanıklığıyla karakterizedir (Wallace ve ark. 2008). Nazal konjesyon bu semptomların sıklıkla en belirgin ve en rahatsızlık verici olanıdır (Shedden 2005). AR'li hastaların %84'ünde hastalığın seyri sırasında değişik zamanlarda bulunduğu saptanmıştır (Canonica ve ark. 2007). Nazal konjesyon ve nazal hava yolu obstrüksiyonu sıklıkla uyku bozukluklarıyla birliktedir ve

hastaların yaşam kalitesini bozduğu gösterilmiştir (Nathan 2007). Yüksek prevalansı ve istenmeyen etkileri AR'li hastalarda nazal konjesyonun kontrolünü önemli kılmaktadır. Nazal konjesyon nöral, vasküler ve inflamatuvar elementleri içeren kompleks bir patolojiye sahiptir (Rosenwasser 2007). Dekonjestanlar alerjik ve nonalerjik rinitli hastalarda nazal konjesyonu ortadan kaldırmada etkilidir. Burundaki etkisi burun mukozası kan damarlarının duvarındaki düz kaslarında bulunan postsinaptik alfa-adrenerjik reseptörlerin direkt ve indirekt aktivasyonuyla olmaktadır (Johnson ve Hricik 1993). Sempatomimetik mekanizmalar aktive olduğunda oluşan kas kontraksiyonu, vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Damar dışına daha az sıvı çıkışı olmakta ve mukus üretimi ve ödem azalmaktadır. Bunun sonucunda da hava akımı direnci düşmektedir. Dekonjestanların hem sistemik (örn. fenilefrin, psödoefedrin) hem de topikal (örn. oksimetazolin) formu vardır. Oral dekonjestanların etkisi 12-24 saatte ortaya çıkar. Fakat yarı ömürleri kısadır. Oral formlar a2 burun mukoza reseptörleri için selektiftir. Fakat genitoüriner, kardiyovasküler ve santral sinir sistemindeki a1 ve a2 reseptörleri üzerinde nonselektif etkilidir. Bu nedenle oral dekonjestanlar mesane boynu obstrüksiyonu, hipertiroidizm, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalığı olan rinitlilerde dikkatli kullanılmalıdır. Diğer yan etkileri uykusuzluk, tremor, huzursuzluk, anksiyete, panik atak ve çarpıntıdır. Dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluklarında kullanılan ilaçlar ve kafein gibi uyarıcılarla birlikte kullanımı yan etkilerini arttırabilir. Altı yaşın üzerindeki çocuklarda uygun dozlarda kullanıldığında çok iyi tolere edilir. Fakat daha küçük çocuklarda psikoz, ataksi, halüsinasyonlar hatta ölüm görülebilir (Marinetti ve ark. 2005). Bu yüzden altı yaşın altındaki çocuklarda oral dekonjestanlar kullanılmadan önce dikkatle düşünülmelidir. Ayrıca, gebelerde ilk trimestırda kullanılmamalıdır (Wallace ve ark. 2008). Topikal dekonjestanlar; burun tıkanıklığının hızlı bir şekilde düzelmesini sağlar. Fakat kaşıntı ve hapşırma üzerinde etkileri yoktur. İntranazal kortikosteroidlerle karşılaştırıldığında topikal dekonjestanların nazal konjesyona etkisinin daha iyi olduğu saptanmıştır (Barnes ve ark. 2005). Fakat "rinitis medikamentoza" gelişme riski nedeniyle beş günden daha uzun süreli kullanımı önerilmemektedir (Morris ve ark. 1997). Devamlı nazal dekonjestan kullanan hastalar kronik konjesyonu tedavi için bu ilaçlara bağımlı hale gelebilirler. Eğer uzun süreli bir tedaviye gereksinim varsa oral ajanlar önerilmelidir (Hatton ve ark. 2007). Topikal dekonjestanlar toksik ve terapötik doz arasındaki güvenlik aralığının dar olması nedeniyle bir yaşından küçük çocuklarda kullanılmamalıdır (Dykewicz ve ark. 1998). Gebelerde ilk trimestırda kısa süreli kullanıldığı zaman oral ajanlardan daha iyi bir güvenlik profiline sahiptir (Wallace ve ark. 2008).

Topikal dekonjestanlar burun ve boğazda kuruluk, lokal batma, yanma ve hapşırmaya neden olabilir. Eğer semptom yalnızca nazal konjesyonsa dekonjestanlarla monoterapi yararlıdır. Fakat AR genellikle birçok semptomla birlikte bulunmaktadır. Antihistaminlerle kombinasyonu yapılabilir. Fakat antihistaminlerle oral dekonjestanların kombinasyonunun sinerjistik etki gösterdiğine dair yeterli veri yoktur (Falliers ve Redding 1980). Dekonjestanların altta yatan hastalığı tedavi etmediği, yalnızca ek ve geçici bir tedavi seçeneği olarak düşünülmesi gerektiği hastalara anlatılmalıdır.

4. Mast hücre stabilizörleri

Etkilerini mast hücre duvarını stabilize ederek veya eozinofil ve epitel hücrelerin aktivasyonunu engelleyerek gösterirler (Edward ve Holgate 2008). Çalışmalar hem kromolin, hem de nedokromilinin mevsimsel AR ve perennial AR'ye bağlı gelişen hapşırma, burun akıntısı ve kaşıntıyı baskılamada plasebodan daha etkin olduklarını göstermiştir. Antihistaminikler ile karşılaştırıldıklarında daha zayıf etkili oldukları görülmüştür. Kromolin ve nedokromilinin birbirlerine klinik olarak üstünlüğü yoktur ve etkinliklerinin zayıf olması her geçen gün klinik kullanımlarını kısıtlamıştır. Günümüzde sadece AR ve/veya konjunktivitte alternatif tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır. Maksimal etkilerini alerjen mevsimi boyunca kullanılmaları durumunda ve alerjen ile karşılaşmadan önce kullanılmaya başladıklarında göstermektedirler. Günde 3-4 sefer uygulanma gereklilikleri ve antiinflamatuar etkilerinin 4-6 haftada başlaması, hasta uyuncunu olumsuz etkilemektedir (Bousquet 2001).

5. Antikolinerjik Ajanlar

Tekrarlayan hapşırma, burun akıntısı, kronik nazal tıkanıklık ve ciddi postnazal akıntı gibi belirtiler, rinitli hastaların günlük aktivitelerini ve yaşam stillerini dramatik olarak etkilemektedir (Georgitis 1998).

Antikolinerjik ajanların orijini, atropin ve skopolaminin derive olduğu Belladonna bitkilerinde bulunur (Rodriguez 2007; Fryer ve Jacoby 2008). Atropin, 1831 yılında izole edilmiştir. Astım ve gastrointestinal motilite bozuklukları gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmış olmasına rağmen, bu maddelerin kullanımı ağız kuruluğu, idrar retansiyonu, pupiller dilatasyon ve kardiyak yan etkileri nedeniyle kısıtlanmıştır. Son zamanlarda, yan etkileri olmayan antikolinerjik ajanlar geliştirmek için çabalar artmış, ipratropium bromür ve tiotropium bromür gibi atropinin dörtlü amonyum bileşikleri elde edilmiştir. Solunum yolları vagus siniri ile parasempatik kontrol altındadır. Asetilkolin muskarinik reseptörlerle aktivitesini gösterir. Muskarinik beş tip reseptörden akciğerlerde M1, M2 ve M3 olarak üç

tipi, burunda ise M1 ve M3 reseptörleri vardır (Fryer ve Jacoby 2008). Atropin laringospazmı ve üst solunum yolları sekresyonlarını azaltmada kullanılmıştır. Rinit tedavisinde kullanılan bazı oral preparatları hala bulunmaktadır. İpratropium bromür KOAH, astım, alerjik ve nonalerjik rinit ile soğuk algınlığı rinoresinde ve yaşlılardaki rinitte endikedir (Fryer ve Jacoby 2008). Topikal intranazal ipratropium bromür solüsyonu (%0,03 ve %0,06), sulu sekresyon hacmini azaltır fakat diğer semptomlara etkisi çok az ya da yoktur. Bu nedenle topikal intranazal kortikosteroid ve antihistaminlere dirençli AR'de daha faydalıdır. Sık yan etkileri nazal irritasyon, kuruluk ve hafif epistaksistir (Reid ve ark. 2005; Greiner ve Meltzer 2011).

6. Kortikosteroidler

Kortikosteroidler, çeşitli inflamatuar hastalıkların tedavisinde birinci tedavi seçeneği olarak kullanılan en potent mevcut antinflamatuar ajanlardır (Barnes 2010). Ancak, kortikosteroidlerin sistemik maruziyeti nedeniyle meydana gelen yan etkiler her zaman bir endişe sebebi yaratmaktadır. Çocuklarda büyümenin inhibisyonu, metabolizma bozuklukları, glokom ve katarakt oluşumu, immünosupresyon, HPA (Hipotalamus-hipofiz-adrenal) aksın baskılanması, cilt incelmesi, davranış bozuklukları ve osteoporoz gibi rahatsızlıklar özellikle kortikosteroidlerin uzun süreli kullanımları sonucu ortaya çıkan yan etkilerdir. Sistemik maruziyeti sınırlandırmak amacıyla, AR tedavisinde intranazal kortikosteroidler kullanılmaktadır. İntranazal kortikosterodiler, AR tedavisinde bugüne kadarki en etkili ve ilk tercih edilen tedavi seçeneğidir. Kortikosteroidlerin antiinflamatuar mekanizmadaki en kritik etkisi hala aydınlatılamamıştır. Ancak, özellikle sitokin ve kemokin sentezinin inhibisyonu önemli görülmektedir. Kortikosteroidler, sitoplazmadaki glukokortikoid reseptörlerine (GR) bağlanır, sonrasında dimerize olur ve glukokortikoid yanıt elementleri (GRE) ile etkileşmek amacıyla nükleusa transloke edilir. Bu durum, lipkortin-1, IL-10, IL-1 reseptör antagonisti ve nötral endopeptidaz gibi antiinflamatuar proteinleri kodlayan genlerde artan transkripsiyon ile sonuçlanır. Ayrıca, glukortikoid reseptörleri, transkripsiyonda ko-aktivatör olarak rol oynayan CREB-bağlayıcı proteinle etkileşir. Artan transkripsiyon, histon etrafındaki DNA sarmalı ile alakalıdır. İkincil olarak, histonun CBP deasetilizasyonunun enzimatik aktivitesi ile gerçekleşen histon kalıntılarının asetilasyonu sonucu, DNA'nın daha sıkı kıvrılması ve transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgelerine azaltılmış erişimi meydana gelir. Böylelikle gen ekspresyonu baskılanır (Watkins ve ark. 1995). İnflamatuar genlerin ekspresyonunun inhibisyonu, aktive olmuş glukokortikoid reseptörleri ve nükleer faktör- κB ve aktivatör protein-1 gibi aktive olmuş transkripsiyon faktörleri arasındaki direkt inhibitör etkileşim sonucu

oluşmaktadır. Ayrıca, glukokortikoidlerin kromatin yapısını değiştirdiği giderek tanınmaktadır. Glukokortikodiler, nazal lavaj sıvısındaki inflamatuar hücrelerin büyük ölçüde inhibe edilmesine neden olurlar (Scichilone ve ark. 2011). Astım ve AR'nin başlıca faktörünün, farklı inflamatuar hücrelerin içinden eozinofiller olduğu düşünülmektedir. Eozinofiller astımlı kişilerin lavaj sıvısında ve tükürüğünde yüksek miktarda bulunmaktadır. Glukokortikodiler, IL-5 sitokinleri ve GM-CSF'yi (granülosit-makrofaj-koloni uyarıcı faktör) inhibe ederek, bu hücrelerin yarı-ömürlerini kısaltırlar ve hayatta kalmalarını azaltırlar. Böylelikle, glukokortikoidlerin uygulanmasının nazal lavaj eozinofillerini azalttığı, AR hayvan ve insan modellerinde gösterilmiştir. Beklometason monohidrat, budesonid, flunisolid, triamsinolon asetonid, flutikazon (propionat ve furoat), mometazon furoat ve siklesonid intranazal formülasyonlarda klinik olarak kullanımı mevcut kortikosteroidleridir. Günde bir veya iki dozda spreyler şeklinde kullanılırlar. Burun tıkanması, akıntı ve koku alma üzerine etkileri diğer ilaçlardan üstündür. Yapılan bir çalışmada, nazal konjesyon da dahil olmak üzere yakınmaların, nazal kortikosteroidlerle plaseboya göre daha iyi giderildiği gözlenmiştir. Ayrıca astımla birlikte giden vakalarda bronş hiperaktivitesini de azaltıcı etkileri vardır. Genelde çok iyi tolere edilen bu grup ilaç mukoza atrofisine neden olmadan uzun süreler kullanabilmektedir. AR'de nazal semptomları azaltma açısından klinik olarak anlamlı farkları yoktur. Bu formülasyonların kullanımıyla ilgili lokal yanma, batma, iritasyon, kuruluk ve epitaksis gibi topikal yan etkiler görülebilir. Farklı formülasyonlar rahatsızlık, tat ve koku açısından farklılık gösterir. Genellikle intranazal steroidlerin yararları, sistemik yan etki risklerinden daha fazladır (Bousquet ve ark. 2003; Bousquet ve ark. 2001). Topikal kortikosteroid önerilecek hastalara tedaviye uyum sağlamaları için ilacın etkisinin hemen başlamayacağı anlatılmalıdır. Budesonid, flutikazon (propionat ve furoat), mometazon furoat ve triamsinolon asetonidin önerilen dozlarda topikal kullanımlarının sistemik yan etkilere neden olmadığı ve hipotalamo-hipofizer-adrenal aksı baskılamadıkları bildirilmiştir (Druce 1993). İntranazal olarak verilen kortikosteroidler hem alerjik, hem de alerjik olmayan rinitlerde klinik düzelme sağlamaktadır. Sistemik kortikosteroidler özellikle geç fazı etkilerken topikal steroidler hem akut, hem de geç fazda etkilidirler (Bousquet ve ark. 2001). Ayrıca son zamanlarda steroid ve antihistamin kombinasyonlu ürünlerin daha üstün etkiye sahip oldukları öne sürülmektedir. Oral steroidlerin kullanımı ağır durumlara yol açmamak için sınırlandırılmalıdır ve hastalar için yarar-zarar ilişkisi düşünülmelidir (Mandhane ve ark. 2011).

2.5.6.3. İmmünoterapi

Spesifik immünoterapi, alerjen maddenin hastaya gittikçe artan dozlarda uygulanması yoluyla semptom ve ilaç kullanımında düzelme ve uzun süreli tolerans sağlama amacıyla yapılır. İmmünoterapinin etkili olabilmesi için hasta seçiminde özenli ve dikkatli olmak gerekir. Gereken önlemler altında immünoterapi güvenli bir tedavi yöntemidir. Günümüzde spesifik immünoterapi; subkütan, sublingual ve oral immünoterapi olarak uygulanmaktadır (Bousquet ve ark. 1998).

İmmünoterapinin etki mekanizması:

Antikor yanıtları: Genel olarak subkütan immünoterapi ile alerjene özgü IgE yanıtı baskılanırken, IgG4 blokan antikor yapımı uyarılır (Jutel ve ark. 2003; Nouri-Aria ve ark. 2004). Son yıllarda immünoterapi ile alerjene özgü IgG4/IgE oranının ve spesifik IgA antikor düzeylerinin artmasının önemi vurgulanmaktadır. Polene duyarlı saman nezleli hastalarda uygulanan subkütan immünoterapi sonrasında blokan IgG4 antikorları aracılığıyla alerjene özgü IgE'nin B hücrelerine bağlanmasının in vitro olarak baskılandığı gösterilmiştir (Pilette ve ark. 2007; Jutel ve ark. 2003). Sublingual immünoterapinin spesifik antikor yanıtları üzerine etkisi konusunda literatürdeki veriler daha azdır. Bazı çalışmalarda sublingual immünoterapi sonrası spesifik IgG4 düzeylerinde artış gözlenirken, diğer bazılarında IgG4 ve IgE yanıtlarının değişmediği gözlenmiştir (Walker ve ark. 1995; Flicker ve ark. 2002).

Akarlara duyarlı astımlı çocuklarda sublingual immünoterapi uygulamasının spesifik IgE düzeyini azaltırken, spesifik IgA düzeylerini arttırdığı, IgG4 yanıtına ise etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Van ve ark. 1999). Ot polenine duyarlı hastalarda yürütülen diğer bir çalışmada ise üç farklı dozdaki sublingual tabletler kullanılmış ve en yüksek doz ile tedavi alan grupta spesifik IgG düzeyinin en çok arttığı, mevsimsel IgE artışının ise en az olduğu gösterilmiştir (Durham ve ark. 2006). Son olarak polen duyarlı hastalarda kullanılan sublingual Tablotlerin spesifik IgG4 düzeyini üç kat arttırdığı gösterilmiştir (Didier ve ark. 2007).

T hücre yanıtları: Subkütan immünoterapinin genel olarak alerjen-spesifik Th2 yanıtını, Th1 ve/veya Treg hücre yanıtına dönüştürdüğü kabul edilmektedir. Akar ve polen duyarlı hastalarda uygulanan subkütan immünoterapi sonrasında alerjen ile uyarılan periferik kan mononükleer hücre kültür üst sıvılarında IL-10 salınımının arttığı, eş zamanlı olarak T hücre proliferasyonunun azaldığı ve bu etkinin CD4+CD25+Foxp3+T hücreler aracılığıyla olduğu gösterilmiştir (Jutel ve ark. 2003; Francis ve ark. 2003). Sublingual

immünoterapinin alejen spesifik T hücre yanıtı üzerine benzer etkileri olduğu kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sublingual immünoterapi sonrasında alerjen ile kültüre edilen periferik kan mononükleer hücrelerden IL-10 ve TGF-b salınımının arttığı ve bu artıştan CD4+CD25+Foxp3+T hücrelerin sorumlu olduğu gösterilmiştir (Walker ve ark. 1995; O'Hehir ve ark. 2009). Son olarak akar duyarlı astımlı çocuklarda sublingual immünoterapi ve subkütan immünoterapinin birinci yıldaki sitokin kinetiğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, tedavinin dördüncü ayında subkütan immünoterapinin IL-10 ve IFN-γ yanıtını uyardığı, sublingual immünoterapinin ise IL-10 ve TGF-β yanıtını uyardığı ve 12. aya gelindiğinde her iki immünoterapi grubunda da kontrollere kıyasla IL-10 ve TGF-β yanıtının yüksek olduğu gösterilmiştir (Keles ve ark. 2011).

Oral alerjen spesifik immünoterapi: Alerjen ekstratlarının oral yolla verilmesi ilk kez 1920'li yıllarda denenmiş, ancak zaman içerisinde subkütan yolla karşılaştırılınca daha az etkin bulunmaları ve bu yolla daha yüksek dozda kullanılmaları gerekliliğinin beraberinde getirdiği gastrointestinal sistem yan etkileri nedeniyle terk edilmişlerdir. Günümüzde iyileştirilmiş formülleri 1980'li yıllardan beri Avrupa'da yeniden denenmeye başlanmıştır. Oral yolla uygulanan alerjen spesifik immünoterapide, alerjenlerin gastrik sistemde sindirilmeleri nedeniyle konvansiyonel enjeksiyon immünoterapisinde verilen dozlara oranla 200 katı bulan daha yüksek dozların verilmesi gerekmektedir. Bu yüksek dozların yol açabileceği olası gastrik yan etkiler aside dirençli mikrokapsüllü aköz alerjen ekstraktlarıyla aşılmaya çalışılmış, daha az miktarda alerjenin daha tutarlı bir dozda verilebildiği bu form ile uygulanan çayır poleni immünoterapisinin klinik olarak etkin ve güvenli olduğu bildirilmiştir (TePas ve ark. 2004). Yüksek dozların avantajı ise, hedef organ duyarlılığında ve semptomlarda belirgin azalma sağlamasıdır. Polen, yanı sıra ev tozu akarı duyarlılığı olan hastalarda klinik olarak etkin bir alerjen spesifik immünoterapi yoludur. Etki mekanizması konvansiyonel immünoterapiye benzerdir. Zaman içerisinde alerjen spesifik IgE düzeylerinde azalma izlenirken alerjen spesifik blokan IgG1 ve IgG4 antikorları artmaktadır (Nelson 2003). Son yıllarda Avrupa'da yaygın olarak kullanılan oral immünoterapi tabletleri yakında ülkemizde de kullanılması beklenmektedir.

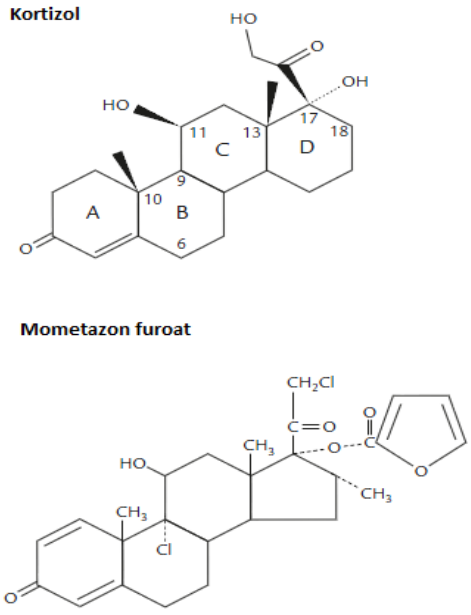
2.6. Mometazon Furoat Hakkında Genel Bilgiler

İdeal bir topikal kortikoid, stratum korneuma nüfus ederek, ciltte terapötik bir konsantrasyona ulaşabilir. Ancak, daha fazla toksisiteyi önlemek için sistemik dolaşıma geçmemelidir. Topikal steridlerin lipofilitesi, yeteneği ile yakından ilişkilidir ve mometazon furoatta (MF) yapıldığı gibi 17. pozisyonun esterifikasyonu veya 21. pozisyonun klorinasyonu gibi çeşitli yollarla arttırılabilir (Anigbogu ve Maibach 2005).

MF, glukokortikoid reseptörlerine yüksek afinite gösteren ve minimal sistemik absorpsiyona sahip olan topikal olarak etkili yeni jenerasyon sentetik bir glukokortikoiddir. Yeni jenerasyon denilmesinin sebebi, kendi grubundan topikal kortikosteroidlerle karşılaştırıldığında antiinflamatuvar etkisinin benzer fakat yan etki riskinin daha düşük olmasıdır. İlaç partiküllerinin sürekli disolüsyonu nedeniyle yüksek oranda lipofilik yapıdaki MF'nin (oktanol/su partisyon kaysayısı >5000), uzatılmış nazal kalış süresi sağlanabilir. Böylelikle partiküllerin çözünür çözünmez nazal dokuya girişleri kolaylaşır (Smith ve Kreutner 1998; Kenilworth 2005; Hochhaus ve ark. 2002). Bu fizikokimyasal özellikleri uzatılmış nazal kalış süresine katkıda bulunur. MF nazal spreyin mevsimsel ve perennial AR'de, rinosinüzitte ve nazal poliplerde kullanımının etkili olduğu ve iyi tolere edilebildiği bildirilmiştir (Crim ve ark. 2001; Small ve ark. 2005).

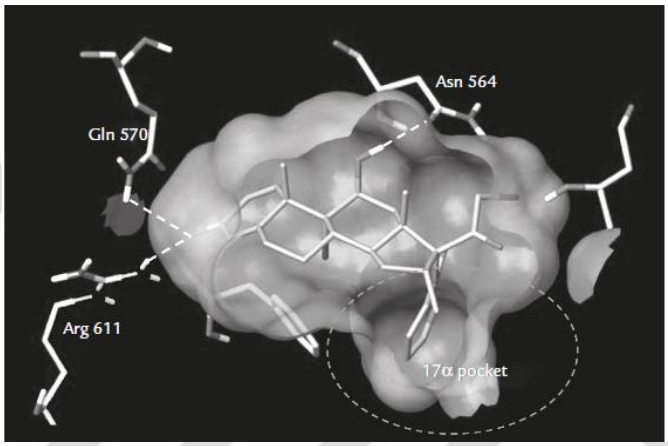
2.6.1. Mometazon Furoatın Yapısı

MF yapısal olarak kortizole benzer ancak glukokortikoid reseptörlerine artan afinite gösterir (Şekil 2.15) (Hochhaus 2008).



Şekil 2-15: Kortizol ve mometazon furoatın yapısı (Hochhaus 2008).

Örneğin, yapı-aktivite çalışmalarında C16 üzerinde bulunan bir metil grubunun mineralokortikoid reseptörüne selektiviteyi arttırdığı ve A halkasının 1,2 pozisyonundaki çifte bağın glukokortikoid aktiviteyi arttırdığı saptanmıştır (Bodor ve Buchwald 2006). 17α pozisyonundaki esterleşmiş furoat kısmı, MF'nin glukokortikoid reseptörüne ve bir miktar progesteron reseptörüne artan afinitesinden sorumludur (Şekil 2.16) (Popper ve ark. 1987; Issar ve ark. 2006).



Şekil 2-16: Mometazon furoatın glukokortikoid reseptörlerine bağlanması (Hochhaus 2008).

Ester hidrolizi biyotransformasyonu, cilde geçiş sırasında reseptöre bağlanmayı azaltır. Bu nedenle, mometazonun dermal hücrelere afinitesi epidermal hücrelerden daha azdır. Tüm bu kimyasal özellikler etkinliğin artmasını ve istenmeyen etki insidansının azalmasını sağlamaktadır (Schäfer-Korting ve Gysler 1992).

2.6.2. Fizikokimyasal Özellikleri

Mometazon furoat beyaz veya beyaza yakın renkte bir tozdur. Amerikan Farmakopesi (USP)'ye göre topikal çözeltisinin pH'sı 4-5 arasındadır.

Kapalı formülü: $C_{27}H_{30}Cl_2O_6$

Açık formülü: 9α,21-dikloro-11β,17-dihidroksi-16 α-metilpregna-1,4-dien-3,20-dion-17-(2 furoat)

Molekül Ağırlığı: 521.4 g/mol

Erime Derecesi: 218-220 °C

logP: 3,59

Çözünürlük: Suda pratik olarak çözünmez (0.00523 mg/mL),metanol, etanol ve izopropanolde az çözünür, aseton ve kloroformda çözünür, tetrahidrofuranda serbesçe çözünür.

Saklama koşulları: Mometazon furoat 30°C'nin altındaki oda sıcaklığında ve sıkıca kapalı hava geçirmeyen kaplarda saklanır (National Center for Biotechnology Information 2015).

2.6.3. Miktar Tayini

2.6.3.1. Kromatografik Yöntemler

MF'nin yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılan miktar tayinine ait çalışmalar literatürde kayıtlıdır (Tablo 2.4).

Tablo 2-4: Mometazon furoatın miktar tayininde kullanılan kromatografik yöntemler.

Örnek	Teknik	Kolon	Mobil Faz	Dalga boyu	Referans
İnsan plazma	LC-Fotodiyot array UV/VIS	Ultrasphere oktil kolon (150 x 4.6 mm ID, 5 µm Partikül boyutu, Beckman, CA)	Metanol ve su (59:41 h/h)	248 nm	Teng ve ark. (2001)
Krem ve nazal sprey	LC-UV	Gemini RP-18 kolon (150 x 4.60 mm, 5 mm, Phenomenex, Torrance, USA)	Metanol ve su (80:20 h/h)	248 nm	Ourique ve ark. (2012)
İnsan plazma ve akciğer dokusu	LC-Dual dalga boyu UV dedektör	Symmetry C18 kolon (150 x 4.6 mm ID, 5 µm partikül boyutu, Waters, MA)	Su kullanarak gradiyent elüsyon (% 0.2 (h/h) asetik asit içeren) ve asetonitril, 60:40	254 nm	Valotis ve ark. (2004)

			(h/h)dan başlayarak, lineer artarak 29:71 (h/h)		
İnsan plazma	LC-MS/MS	LC-18-DB (3.3 cm x 4.6 mm, 3 µm)	Metanol ve amonyum asetat 25 mM (80:20)	----	Affrime ve ark. (2000)
İnsan plazma	LC-MS/MS	Waters 5 µm Symetry C18 kolon (50 x 4.6 mm i.d., Milford, MA)	Metanol ve su (85:15 h/h)	----	Sahasranaman ve ark. (2005)
Akciğer dokusu, bronkoalveoler lavaj ve nanopartiküller	LC-UV	14 cm Kromasil C18 150-4.6 (Merck, Germany, partikül boyutu 5 µm)	Metanol ve su (65:35 h/h)	254 nm	Surti ve ark. (2009)
İn situ jel	LC-UV	Dikma DiamonsilTM C18 kolon (5 µm, 200 x 4.6 mm) 40 ºC	Metanol ve su (75:25 h/h)	254 nm	Cao ve ark. (2009)
Krem ve nazal sprey	LC-UV	Hypersyl BDS C18 (5 µm, 100 x 5.0 mm) 60 °C	Metanol ve su (55:45 h/h)	238 nm	British Pharmacopeia (2008)
Krem	LC-UV	C8 (250 mm x 4.6 mm)	Metanol ve su (65:35 h/h)	254 nm	The United States Pharmacopeia (2008)
Krem	LC-UV	A Symmetry C8, 150 × 3.9 mm, 5 µm, paslanmaz çelik analitik kolon, Waters (Milford, MA)	% 1.5 a/h sulu amonyum asetat tamponu ve asetonitril (55:45 a/a)	240 nm	Shaikh ve ark. (2009)

2.6.3.2. Spektrofotometrik Yöntem

Krem dozaj şeklinde kombine olarak bulunan MF ve antifungal bir ilaç olan terbinafin hidrokloridin eşzamanlı olarak tayin edilebilmesi amacıyla literatürde kayıtlı doğru, kesin, hızlı ve ekonomik bir tayin yöntemine rastlanmıştır. Bu yöntem absorpsiyon düzeltme metodu esasına dayalı olup, metanolde terbinafin hidrokloridin analizi için 282 nm, MF'nin analizi için 248 nm dalga boyu seçilmiştir. Bu yöntemde doğrusallık terbinafin hidroklorid için 10-70 µg/ml, MF için 1-7 µg/ml konsantrasyon aralığında elde edilmiştir. Korelasyon katsayıları terbinafin hidroklorid için 0,999, MF için 0,998 olarak bulunmuştur (Patel ve Patel 2013).

Diğer bir çalışmada respicaps dozaj formunda kombine olarak bulunan MF ve formoterol fumaratın eşzamanlı tayini için UV-spektrofotometrik bir tayin metodu geliştirilmiştir. Bu metod, formoterol fumarat için 210-220 nm ve MF için 242-252 nm dalga boyu aralığındaki eğri altı alanın (AUC) hesaplanmasına dayalıdır. Doğrusallık formoterol fumarat ve MF için sırasıyla 3-18 µg/ml ve 6-21 µg/ml konsantrasyon aralığında bulunmuştur. Validasyon sonuçlarına göre, bu metodun, formoterol fumarat ve MF'nin bulk ilaçta ve kombine dozaj formunda rutin tahmini için basit, hızlı, doğru, hassas ve kesin bir metod olarak uygulanabilir olduğu sonucuna varılmıştır (Raghunath ve Kumar 2013).

2.6.4. Farmakolojik Özellikleri

İntranazal MF, erken ve geç faz alerjik cevabı inhibe eden, sentetik bir glukokortikosteroiddir. İnflamatuar hücrelerin nazal mukozaya girişini önleyerek ve histamin, IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, interferon γ, lökotrienler ve TNF-α gibi çözünür mediatörlerin ekspresyonunu inhibe ederek etki gösterir. İntranazal MF, tavsiye edilen dozajlarda kullanıldığında ne yetişkinlerde ne de çocuklarda hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın fonksiyonlarına baskı yapmamaktadır. 1 yıllık intranazal MF tedavisinden önce ve sonra hastalardan alınan biyopsilerde epitel kalınlıkta atrofi veya değişiklik gözlenmemiştir. İntranazal MF uygulaması sonrasında, sistemik absorpsiyon ihmal edilebilir düzeydedir. Klinik olarak ilgili plazma konsantrasyonlarında MF, % 99 oranında proteinlere bağlanır. İntranazal dozun yutulan ve absorbe edilen kısmı, yüksek miktarda ilk geçiş metabolizmasına uğrayarak, birden fazla metobolitine dönüşür. Ağırlıklı olarak safradan ve daha az miktarda idrardan atılır (Baldwin ve Scott 2008).

2.6.4.1. Farmakodinamik Özellikleri

a) Etki Mekanizması:

MF'yi de içeren kortikosteroidlerin mekanizması AR'nin semptomlarını rahatlatmaya yöneliktir. Bu ajanlar alerjik yanıtı birçok yönden inhibe ederler (Onrust ve Lamb 1998). MF, hücre çekirdeğine giren ve çeşitli proinflamatuar ve antiinflamatuar genlerin ekspresyonunu düzenleyen bir kompleks oluşturmak amacıyla sitozolik glukokortikosteroid reseptörlerine bağlanır ve onları aktive eder (Hochhaus 2008). AR'de hipersensivite cevabı, inhale edilen alerjenin, nazal mukozal mast hücrelerinin yüksek afiniteli IgE reseptörlerine bağlı spesifik IgE moleküllerine bağlanmasıyla başlar (Onrust ve Lamb 1998).

Bu bağlanma, lokal hücreler, kan damarları ve sinirler üzerinde çeşitli etkilere sahip çözünür biyokimyasal mediatörlerin (histamin, araşidonik asit metabolitleri, eozinofil, kemotaktik faktör ve sitokinler) hızlı salımına yol açan ilişkili mast hücrelerini aktive eder. Araşidonik asit metabolitleri (lökotrienler, tromboksanlar ve prostoglandinler) histaminle birlikte afferent sinir ucu stimülasyonu ve vazodilatasyon gibi belirtiler görülen alerjik yanıtın erken fazından sorumludur. Böylece, AR'deki başlıca nazal semptomlar tipik olarak dakikalar içerisinde gelişir. Kortikosteroidlerin ön uygulaması, erken faz yanıtını inhibe eder. Böylelikle, nazal epitel mast hücrelerinin sayısı veya histamine karşı doku yanıtı azalır (Onrust ve Lamb 1998).

Daha sonraki erken faz cevabı (bazofil, eozinofil, monosit ve T-lenfositlerin nazal mukozaya toplanması), alerjenle maruziyetten 6-12 saat sonra meydana gelir. Bu inflamatuar hücreler ve onlarla ilişkili çözünür mediatörler (IL-1, IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-8, TNF-α ve interferon-γ) ve bunlara ilave olarak mast hücrelerinden devam eden lökotrien salımı, erken faz cevabıyla ilişkili semptomların devamından sorumludur. Tekrarlanan alerjen maruziyeti geç faz yanıtında görülen kronik nazal inflamasyona neden olur. Kortikosteroidler hem inflamatuar hücrelerin girişini hem de onların proinflamatuar mediatörleri ekspresyonunu inhibe ederler (Onrust ve Lamb 1998).

b) Etkinin Başlangıcı:

İntranazal MF'nin maksimal terapötik yararları genellikle tedavi başladıktan 1-2 hafta sonra görülmeye başlanır. Ancak, nazal semptomlarda iyileşme mevsimsel AR'li hastalar intranazal bir doz MF aldıktan 7 saat sonra ve perennial AR'li hastalarda 4 saat sonra gözlenmektedir (Bende ve ark. 2002).

İntranazal MF'de etkinin başlangıcı, spesifik olarak iki çalışma ve mevsimsel AR'li hastalardan 4 randomize, çift kör çalışma ile toplanan veriler ile araştırılmıştır (Berkowitz RB ve ark. 1999a; 1999b; Gross ve ark. 2007). 12 saatlik bir çalışmada, semptomatik hastalara tek doz 200 µg intranazal MF veya plasebo verilmiştir.Total nazal semptom skorlarında (TNSS) uygulamadan 7 saat sonra plaseboya göre anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05) (Berkowitz RB ve ark. 1999b). 2 haftalık bir çalışmada ise MF uygulanan hastaların % 28'inin mevsimsel AR semptomlarında ilk doz uygulandıktan 12 saat sonra orta düzeyde rahatlama görülmüştür. MF uygulanan hastaların %64'ünde 72 saat içerisinde orta düzeyde rahatlama elde edilmiştir (%40 plasebo uygulanan hastalara kıyasla; p<0,01) (Berkowitz RB ve ark. 1999a).

2.6.4.2. Farmakokinetik Özellikleri

MF, intranazal olarak tek doz 4000 µg (tavsiye edilen 200 µg dozun 20 katı kadar) doza kadar ya da inhalasyon yoluyla günde 2 kez 400 µg uygulandığında yetişkinlerde, çocuklarda ya da yeni doğanlarda önemli sistemik yan etkiler göstermemektedir (Bernstein ve ark. 1999). 6 erkek gönüllüde 1 mg MF çözeltisinin oral yoldan uygulanmasını takiben 30 dakika içerisinde MF'nin pik plazma konsantrasyonu 150 pg/ml olarak saptanmıştır ve bu değer hızla azalmıştır. MF astımlı hastalarda inhalasyon yoluyla 100-400 µg doz aralığında uygulandığında, ortalama plazma ilaç konsantrasyonları yaklaşık 50 pg/ml olarak bulunmuştur. Bu son derece düşük sistemik biyoyararlanım, uzun süreli topikal glukokortikoid uygulamalarındaki terapötik endişeleri gidermesi nedeniyle tedavi açısından istenen bir durumdur (Wang ve ark. 1992).

2.6.4.3. Yan Etkileri

MF'nin yan etkileri Tablo 2.5'te verilmiştir (Rx-Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı 2016).

Tablo 2-5: Mometazon furoatın yan etkileri.

Burunda yanma	Hapşırma	Burun kanaması	Hafif şiddette epitaksis
Burun içinde tahriş	Boğaz ağrısı	Kanlı mukus	Çok nadiren anaflaksi ve anjiyoödem

2.6.5. Mometazon Furoatın Endikasyonları

MF'nin endikasyonları Tablo 2.6'da verilmiştir (Rx-Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı 2016).

Tablo 2-6: Mometazon furoatın endikasyonları.

Alerjik rinit	Kontakt dermatit	Alopesi	Kserozis	Atopik dermatit
Liken simpleks	Eksfoliyatif dermatit	Ekzema	Kaşıntı (pruritis)	Seboreik dermatit
Liken planus	Liken striatus	Pitiriazis rosea	Psoriyazis	Keloid
Dermatit	Diskoid lupus eritematozus	Pemfigus	Granuloma annulare	Sarkoidoz

2.6.6. Mometazon Furoatın Kontrendikasyonları

1) MF'ye aşırı duyarlılık gösterenlerde kullanılmamalıdır.

2) Burun mukozası ile ilişkili tedavi edilmemiş lokalize enfeksiyonların varlığında kullanılmamalıdır.

3) Kortikosteroidlerin yara iyileşmesine olan inhibitör etkisinden dolayı yakın geçmişte burun ameliyatı veya travması geçirmiş olan hastalarda yara iyileşmeden önce nazal kortikosteroidler kullanılmamalıdır (Rx-Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı 2016).

2.6.7. Farmasötik Dozaj Şekilleri

Mometazon furoat içeren farmasötik dozaj şekilleri Tablo 2.7'de görülmektedir.

Tablo 2-7: Mometazon furoat içeren dozaj şekilleri.

Müstahzar	**Dozaj şekli**	**Miktar-Doz**	**Firma**
Airmeta	Toz blister	200 µg	Salutis
Airmeta	Toz blister	400 µg	Salutis

Asmanex	Toz inhaler	200 µg	Merck Sharp&Dohme
Asmanex	Toz inhaler	400 µg	Merck Sharp&Dohme
Metanix	Kapsül	200 µg	Mentis
Metanix	Kapsül	200 µg	Mentis
Codermo	Krem	% 0,1	Santa Farma
Elocon	Krem	% 0,1	Merck Sharp&Dohme
M-Furo	Krem	% 0,1	Orva
Momecon	Krem	% 0,1	Bilim
Codermo	Losyon	% 0,1	Santa Farma
Elocon	Losyon	% 0,1	Merck Sharp&Dohme
K-Mexader	Losyon	% 0,1	Kurtsan
M-Furo	Losyon	% 0,1	Orva
Momecon	Losyon	% 0,1	Bilim
Momentum	Losyon	% 0,1	Koçak
K-Allexin	Nazal sprey	50 µg	Kurtsan
Momecon	Nazal sprey	50 µg	Bilim
Mometix AQ	Nazal sprey	50 µg	Drogsan
Monaliz	Nazal sprey	50 µg	Deva
Myrey	Nazal sprey	50 µg	Sanovel
Nasonex	Nazal sprey	50 µg	Merck Sharp&Dohme
Nazofix	Nazal sprey	50 µg	Recordati İlaç
Nazoster	Nazal sprey	50 µg	Santa Farma
Rinose	Nazal sprey	50 µg	Tripharma
Risonel	Nazal sprey	50 µg	Abdi İbrahim
Codermo	Merhem	% 0,1	Santa Farma
Elocon	Pomat	% 0,1	Merck Sharp&Dohme
K-Mexader	Merhem	% 0,1	Kurtsan
M-Furo	Merhem	% 0,1	Orva
Momecon	Pomat	% 0,1	Bilim
Elosalic	Pomat	% 0,1	Merck Sharp&Dohme
Momesalic	Pomat	% 0,1	Bilim

2.6.8. Mometazon Furoatın Alerjik Rinitte Terapötik Kullanımı

2.6.8.1. Perennial Alerjik Rinitte Kullanımı

Yapılan çalışmalarda, başlangıçtan itibaren çalışmanın sonuna veya 15. gününe kadar hastaların TNSS ve NIS (başlangıç nazal indeks skorları) değerlerinde belirlenen azalmaya göre intaranazal MF, plaseboya kıyasla nazal semptomların iyileşmesinde anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (Bende ve ark. 2000; Drouin ve ark. 1996; Mandl ve ark. 1997). Ayrıca tüm zaman noktalarında, MF ve beklomatazon dipropiyonat veya flutikazon propiyonat arasında 3 aylık iki çalışma sürecinde TNSS'de iyileşme görülmesi açısından anlamlı farklılıklar gözlenmezken, tüm aktif tedaviler plaseboya kıyasla nazal semptomları iyileştirmede anlamlı ölçüde etkili bulunmuştur (Drouin ve ark. 1996; Mandl ve ark. 1997). Tüm çalışmalarda, TNSS ve NIS açısından araştırmacı skorları ve hasta değerlendirme skorları benzerlik göstermiştir (Bende ve ark. 2000; Drouin ve ark. 1996; Mandl ve ark. 1997). 3 aylık bir çalışmada, MF ve flutikazon propiyonat kullanan hastalarda plaseboya kıyasla semptomların görülmediği gün sayısının daha fazla olduğu belirlenmiştir (10 ve 11 güne karşı 4 gün her ikisi de $p< 0.01$) (Mandl ve ark. 1997). Üç ay süren iki çalışmada, tedavi yanıtındaki tüm değerlendirmeler, MF ve diğer aktif tedavilerin plaseboya kıyasla daha etkili olduğunu göstermiştir (Drouin ve ark. 1996; Mandl ve ark. 1997). Bir diğer araştırmada ise araştırmacıların değerlendirmelerine göre hasta durumundaki iyileşme, MF ve flutikazon propiyonatla tedavide plaseboya kıyasla anlamlı derecede yüksek (%55 ve %45'e karşı %36 $p<0.01$) olarak görülürken, MF grubunun da cevap oranının flutikazon propiyonata kıyasla istatistiksel açıdan daha yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0.04$) (Mandl ve ark. 1997). 3-11 yaş arası çocuklarda yürütülen kısa süreli bir çalışmada (28 haftalık), araştırmacıların başlangıç ve bitiş zamanında yaptıkları değerlendirmeye göre plaseboya kıyasla MF'nin nazal semptomları daha fazla hafiflettiği görülmüştür (Patel 2008).

2.6.8.2. Mevsimsel Alerjik Rinitte Kullanımı

Bir doz saptama çalışmasında, mevsimsel AR'li yetişkinlerin tedavisinde intranazal MF'nin günlük optimal dozunun 200 µg olduğu belirlenmiş ve günlük 800 µg dozajın ilave yarar sağlamadığı gözlemlenmiştir (Bronsky ve ark. 1997). Intranazal MF, araştırmacı ve/veya hasta TNSS değerlendirmelerine göre başlangıca kıyasla 8. günde veya çalışma sonunda nazal semptomları iyileştirmede plaseboya kıyasla anlamlı derecede etkin bulunmuştur (Hebert ve ark. 1996; Bronsky ve ark. 1997; Anolik 2008). İki aktif madde kıyaslama çalışmalarında, TNSS'de iyileşme açısından, tekli MF tedavisi, MF ve loratadin veya MF ve beklometazon propiyonat arasında, herhangi bir çalışma noktasında önemli

farklılıklar gözlenmemiştir (Hebert ve ark. 1996; Anolik 2008). Plasebo kullanan hastalara kıyasla MF alan hastalarda kişisel nazal semptomlarda (rrinorrhoea, burun tıkanıklığı/konjesyon, nazal kaşınma ve aksırma) anlamlı ölçüde iyileşme gözlenmiştir ($p \leq 0.05$) (Hebert ve ark. 1996). 8 günlük bir çalışmada, TNSS araştırmacı değerlendirmesinde, başlangıçtan itibaren görülen azalmaya göre 5-12 yaş arası çocuklarda intranazal MF'nin optimal dozunun 100 mcg/gün olduğu belirlenmiştir (Meltzer ve ark. 1999). 100 veya 200 µg/gün MF dozajları, mevsimsel AR semptomlarını etkin bir şekilde hafifletirken, 200 µg/gün dozajının tedavide ek bir yarar sağlamadığı gözlemlenmiştir (Hebert ve ark. 1996; Anolik 2008).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Mometozon furoat (Deva Holding A.Ş.)

Sodyum klorür (Merck)

Benzalkonyum klorür (Fluka)

Dekspantenol (Fluka)

Pluronic®F-127 (Sigma)

Potasyum klorür (Merck)

Kalsiyum klorür dihidrat (Merck)

Polietilen glikol 400 (Tekkim)

Carbopol®974P NF(Lubrizol)

Hidroksietil selüloz (4000 MPa.s) (Merck)

Hidroksipropil metil selüloz (Methocel K15M) (15000 MPa.s) (Colorcon)

Trietanolamin (Merck)

Metanol (LiChrosolv®) (Merck)

Sitrik asit monohidrat (Merck)

Aluminyum hidroksit (Merck)

Sodyum hidroksit (Lachema)

Potasyum fosfat monobazik (Riedel-de Haën)

Ovalbumin (Sigma)

Rat Immunoglobulin E (IgE) ELISA Kit (Life Diagnostic)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Diyaliz tüp selüloz membran (avg flat width 25mm, m.wt. cutoff: 12,000–14,000) (Sigma-Aldrich)

Kolon (Zorbax ODS 25 cm×4,6 mm, 5µm)

Şırınga ucu rejenere selüloz filtre (Minisart RC 25 0,45µ)

UV-VIS Spektrofotometre (Shimadzu, UV 1601)

Mikropipet (Eppendorf) (0,5-10 µl, 20-200 µl,10-100µl, 100-1000 µl,)

FTIR (Fourier Transform Infrared Spektrofotometresi) sistemi (Perkin Elmer,1600 FT-IR, 1615).

Vorteks (Kermanlar)

Ultra saf su cihazı (Purelab Ultra, ELGA)

Çalkalamalı su banyosu (WiseBath, Wisd Laboratory instruments, WSB-30)

Isıtıcılı çoklu manyetik karıştırıcı (Wisestir, Wisd Laboratory instruments, MS-MP8)

İklimlendirme kabini (Nüve test cabinet, TC120)

Franz difüzyon hücresi (Çalışkan cam)

pH-metre (WTW inolab, pH 720)

Hassas terazi (AND, GR-200)

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (Shimadzu, LC 20AT-Shimadzu SPD 20AUV-Vis Dedektör)

Vakum pompası (KNF lab)

Reometre (Brookfield HA DV3T model)

Ultrasonik banyo (Wiseclean, Wisd Laboratory instruments, D06H)

Sirkülasyonlu su banyosu (Wisecircu, Wisd Laboratory instruments, WCB 22)

Doku analiz cihazı (Brookfield, CT3)

3.1.3. Kullanılan Bilgisayar Programları

Microsoft Office 2013

GraphPad Prism 5

Rheocalc T

Texturepro CT

3.2. Yöntem

3.2.1. Mometazon Furoat Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.1.1. Infrared Spektrumu

Bu çalışma için FT-IR spektrofotometresi kullanıldı. Toz haldeki MF alete yerleştirildi ve 100 N kuvvet uygulanarak 4000-650 cm^{-1} dalga boyu aralığında, 4 cm^{-1} çözünürlükle spektrumu alındı. Sistem absorpsiyon modunda çalıştırıldı.

3.2.1.2. Mometazon Furoatın Spektrofotometrik Yöntem ile Miktar Tayini Validasyonu

Hazırlanan formülasyonların stabilite çalışmalarında ilaç içeriklerinin saptanması amacıyla etkin madde analizi için metanolde 0,5 mg/ml konsantrasyonda MF çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin maksimum absorbans değeri 200-600 nm dalga boylarında UV spektrofotometresi kullanılarak belirlendi (Kumari ve ark. 2013).

Sonuçların değerlendirilmesinde ise etkin maddenin verdiği absorbanslar kullanıldı. Yöntemin güvenilirliğini belirlemek için de analitik yöntemin validasyon çalışması yapıldı. Analitik yöntem validasyonu, bir test yönteminin kesin ve doğru olarak her zaman bekleneni gerçekleştirmesinin kanıtlanmasıdır (ICH Harmonised Tripartite Guideline 1995). Kullanılan analitik yöntemlerin validasyonu için, doğrusallık (linearity), doğruluk (accuracy), kesinlik (precision), seçicilik (specificity), teşhis limiti (detection limit), miktar tayini limiti (quantitation limit) ve stabilite (stability) parametreleri literatüre göre çalışıldı (ICH Harmonised Tripartite Guideline 1995).

a) Doğrusallık

Analitik yöntemin doğrusallığı, belirlenen aralıkta elde edilen test sonuçlarının test içindeki ilgili madde ve/veya etken madde konsantrasyonuyla doğru orantıya sahip olmasıdır (ICH Harmonised Tripartite Guideline 1995).

MF'nin metanolde 0,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 0,1 ml alınarak metanol ile 10 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltiden 0,02 ml, 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml ve 0,4 ml alındı ve % 95'lik (h/h) metanol çözeltisi ile 10 ml'ye seyreltildi. Hazırlanan çözeltiler, en yüksek absorbans değeri verdiği 248 nm'de metanole karşı okundu. Çözeltilerin konsantrasyonlarına karşı absorbans değerleri kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlandı. Ayrıca doğru denklemi belirlendi ve determinasyon katsayısı (r^2), standart sapma (SS) ve % relatif standart sapma (% RSD) değerleri hesaplandı. Hesaplamalarda aynı şekilde çalışılan 6 deneyin absorbanslarının ortalaması kullanıldı.

b) Doğruluk: Doğruluk, örnek içindeki analiz edilecek maddenin hazırlanan konsantrasyonu ile tayin neticesinde bulunan konsantrasyonunun birbiri ile uyum yakınlığı şeklinde ifade edilir.

Çalışma derişiminin % 80 (8 µg/ml), % 100 (10 µg/ml) ve % 120'sini (12 µg/ml), içerecek şekilde üçer paralel numune hazırlanarak analiz edildi ve elde edilen sonuçların kabul kriterlerine uygunluğu kontrol edildi. Doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi vasıtasıyla absorbans değerlerinden çözeltilerdeki MF konsantrasyonu hesaplandı. Yöntemin doğruluğu ise % geri kazanım, SS ve % RSD değerlerinin hesaplanması ile belirlendi.

c) Kesinlik

Analitik yöntemin kesinliği, aynı homojen örnekten yapılan ardışık örneklemelerden elde edilen ölçüm serileri arasındaki uyumun yakınlığı olarak tarif edilir. Yöntemin kesinliği için % RSD değeri % 2 den küçük olmalıdır.

Gün içi kesinlik: Örnek hazırlama safhasından gelecek hatalardan bağımsız olarak sistem performansının bir ölçütüdür. MF'nin metanolde 0,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltiden 0,2 ml (% 100'lük test konsantrasyonu) alınarak metanol çözeltisi ile 10 ml'ye seyreltildi ve art arda 6 okuma yapıldı. Doğru denklemi yardımıyla MF miktarı hesaplandı ve sonuçların ortalamaları, SS ve % RSD değerleri hesaplandı. % RSD değerinin % 2'den küçük olup olmadığı tespit edildi.

Günler arası kesinlik: Birinci gün içinde yapılan gün içi kesinlik çalışmaları aynı şekilde 2. ve 3. günlerde de tekrar yapıldı. Birinci, ikinci ve üçüncü gün sonuçlarının ortalamaları, SS ve % RSD değerleri hesaplandı. % RSD değerinin % 2'den küçük olup olmadığı tespit edildi.

Teşhis ve Miktar Tayin Limiti: Teşhis limiti (TL) tayini için en az 3 doğruya ait kalibrasyon doğrusunun eğimi veya kesişim noktasının standart sapmaları (∂) kullanılır (ICH Harmonised Tripartite Guideline 1995). Bu amaçla, 3 adet kalibrasyon doğrusunun eğimlerine ait ∂ değerleri aşağıdaki formüllere yerleştirildi. Teşhis limiti (TL) ve miktar tayini limiti (MTL) hesaplandı. Hem spektrofotometre hem de HPLC ile yapılan çalışmada da aynı yöntem uygulandı.

$$TL = \frac{3.3\partial}{S} \quad (3\text{-}1) \qquad\qquad MTL = \frac{10\partial}{S} \quad (3\text{-}2)$$

S = Ortalama kalibrasyon doğrusu eğimi

∂ = Kalibrasyon doğrusunun eğimine ait SD değerleri

d) Seçicilik: In situ jel formülasyonunda kullanılan yardımcı maddeler için miktar tayini yönteminin seçiciliğini belirlemek amacıyla etkin madde içermeyen in situ jeller hazırlandı. Kesinlik yöntemindeki gibi çalışılarak hazırlanan çözeltilerin, 248 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri alınarak yardımcı maddelerin pik verip vermediği saptandı.

e) Stabilite: Etkin maddenin analiz ve stabilite çalışmaları sürecinde dayanıklılığını ispatlamak amacıyla stabilite çalışması yapıldı. MF'nin metanolde 0,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltiden 0,2 ml (% 100'lük test konsantrasyonu) alınarak metanol ile 10 ml'ye seyreltildi. MF'nin metanoldeki çözeltisi 25°C'de, 48 saat boyunca bekletildi. 1., 2., 3., 4., 5., 6., 24. ve 48. saatlerde alınan örneklerin absorbansları ölçüldü. Absorbans oranları kullanılarak MF konsantrasyonunda herhangi bir değişiklik olup olmadığı tespit edildi.

3.2.1.3. Mometazon Furoatın HPLC Yöntemi ile Miktar Tayini Validasyonu

Çözünürlük, in vitro salım ve deriden geçiş çalışmalarında hazırlanan numunelerdeki MF miktar tayini analizleri için literatürde kayıtlı (Ourique ve ark. 2012) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanıldı.

Referans alınan literatürde kayıtlı olduğu gibi UV dedektör kullanıldı ve dalga boyu 248 nm olarak seçildi. Akış hızı 1,0 ml/dk, enjeksiyon hacmi ise 20 µl olarak ayarlandı. Sabit faz olarak da C18, 25 cm×4,6 mm, 5 µm kolon ve mobil faz olarak metanol ve distile su (80:20 h/h) kullanıldı. Ardından mobil faz 0,45 µm'lik selüloz asetat membrana filtreden süzüldü ve 20 dakika ultrasonik banyoda tutuldu. HPLC kromatogramlarının değerlendirilmesinde ise etkin maddenin pik alanları kullanıldı. Yöntemin güvenilirliğini belirlemek için analitik yöntemin validasyon çalışması yapıldı.

a) Doğrusallık: MF'nin HPLC ile miktar tayini yönteminin doğrusallık çalışması için 25 mg MF hassas tartıldı, 20 ml mobil faz ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra aynı çözücü ile 50 ml'ye tamamlandı. Bu stok çözeltiden 1, 5, 10, 20, 100, 200, 300, 400, 600, 1000, 1500 ve 2000 µl alındı ve mobil faz ile 10 ml'ye seyreltildi. 0,05, 0,25, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 30, 50, 75, 100 µg/ml konsantrasyonlarına karşı pik alanlarından elde edilen değerler kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlandı. Ayrıca doğru denklemi belirlendi ve determinasyon katsayısı (r^2), SS ve % RSD hesaplandı.

b) Doğruluk: MF için HPLC ile analitik yöntemin doğruluğunu belirlemek için 25,0 mg MF hassas tartıldı, 20 ml mobil faz ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra aynı çözücü ile 50 ml'ye tamamlandı. Bu stok çözeltiden 100, 200 ve 300 µl alındı ve mobil faz ile 10 ml'ye seyreltildi. Elde edilen pik alanlarından doğrusallık çalışmasından elde edilen doğru denklemi vasıtasıyla çözeltilerdeki MF konsantrasyonu hesaplandı. Yöntemin doğruluğu ise % geri kazanım değerlerinin hesaplanması ile belirlendi.

c) Kesinlik:

Gün içi kesinlik: MF için HPLC ile analitik yöntemin doğruluğunu belirlemek için 25,0 mg MF hassas tartıldı, 20 ml mobil faz ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra aynı çözücü ile 50 ml'ye tamamlandı. Bu stok çözeltiden 200 µl (10 µg/ml) alındı ve mobil faz ile 10 ml'ye seyreltildi ve HPLC'ye art arda 6 enjeksiyon yapıldı. Doğru denklemi yardımıyla MF miktarı hesaplandı ve sonuçların ortalamaları, SS ve % RSD değerleri hesaplandı. % RSD değerinin % 2'den küçük olup olmadığı tespit edildi.

Günler arası kesinlik: Birinci gün içinde yapılan gün içi kesinlik çalışmaları aynı şekilde 2. ve 3. günlerde de tekrar yapıldı. Birinci, ikinci ve üçüncü gün sonuçlarının ortalamaları, SS ve % RSD değerleri hesaplandı. % RSD değerinin % 2'den küçük olup olmadığı tespit edildi.

Teşhis ve Miktar Tayin Limiti: 3.2.1.2'de anlatıldığı gibi TL ve MTL tespit edilmiştir.

d) Seçicilik: In situ jel formülasyonunda kullanılan yardımcı maddeler için miktar tayini yönteminin seçiciliğini belirlemek amacıyla etkin madde içermeyen in situ jeller hazırlandı. Kesinlik yöntemindeki gibi çalışılarak hazırlanan çözeltiler, HPLC'ye enjekte edilerek etkin maddenin pik verdiği retensiyon zamanında yardımcı maddelerin pik verip vermediği saptandı.

e) Stabilite: Etkin in vitro salım ve geçiş çalışmaları sürecinde dayanıklılığını ispatlamak amacıyla stabilite çalışması yapıldı. MF'nin pH 5,8 fosfat tamponunda 0,5 mg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltiden 0,2 ml (% 100'lük test konsantrasyonu) alınarak fosfat tamponu ile 10 ml'ye seyreltildi. MF'nin pH 5,8 fosfat tamponundaki çözeltisi burun içi sıcaklığı olan 33°C'de 48 saat boyunca bekletildi. 1., 2., 3., 4., 5., 6., 24. ve 48. saatlerde alınan örnekler HPLC'ye enjekte edildi.

Elde edilen pik alanlarının oranları kullanılarak MF konsantrasyonunda değişiklik olup olmadığı ve farklı bir pik oluşup oluşmadığı saptandı.

3.2.1.4. Mometazon Furoatın Çözünürlük Tayini

MF'nin in vitro salım ve geçiş çalışmalarında sink koşulu sağlayacak en uygun miktarda çözündüğü salım ortamını saptamak amacıyla çeşitli çözücü ortamları kullanılarak 33ºC'de MF'nin çözünürlüğü tayin edildi. Bu amaçla kullanılan salım ortamları şunlardır:

1. pH 5,8 Fosfat tamponu solüsyonu (PBS)
2. pH 5,8 PBS+ etanol (70:30 h/h)
3. pH 5,8 PBS + etanol (50:50 h/h)
4. pH 5,8 PBS + PEG 400 (80:20 h/h)
5. pH 5,8 PBS + PEG 400 (60:40 h/h)
6. pH 5,8 PBS + propilen glikol (PG) (80:20 h/h)
7. pH 5,8 PBS + PG (60:40 h/h)
8. pH 5,8 PBS + PEG 400+ etanol (50:20:30 h/h)
9. pH 5,8 PBS + PEG 400+ etanol (30:40:30 h/h)
8. pH 5,8 PBS + PG+ etanol (50:20:30 h/h)
9. pH 5,8 PBS + PG+ etanol (30:40:30 h/h)

Çalışma için 30 mg MF hassas tartıldı. Kapaklı bir erlene konuldu ve üzerine 10 ml pH 5,8 PBS eklendi. Ardından 33ºC'de 200 devir/dakika hızda 24 saat boyunca çalkalanarak bekletildi. 24 saatin sonunda örnek çalkalayıcıdan alındı ve mavi bantlı süzgeç kağıdından (S&S) süzüldü. Süzüntüden 1 ml alındı ve 10 ml'ye mobil faz ile seyreltildi. Ardından HPLC'ye enjekte edildi. Doğru denklemi yardımıyla çözünen MF miktarı hesaplandı. Deney 3 defa tekrarlanarak ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı.

3.2.2. Nazal Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.2.1. In situ Jellerin Hazırlanması

In situ jellerin hazırlanmasında, literatürde geçen soğukta hazırlama metodu kullanıldı (Schmolka, 1972). MF, PEG 400 (plastifiyan, kosolvan), benzalkonyum klorür (koruyucu), dekspantenol (nemlendirici), sodyum klorür (izotoni ayarlayıcı), sitrik asit veya

trietanolamin (pH ayarlayıcı) ve mukoadezif polimer [Carbopol (CP) 974P NF, hidroksietil selüloz (HC) veya hidroksipropil metil selüloz (HPMC)], oda sıcaklığında hesaplı miktarlarda distile su içerisinde karıştırıldı. Dispersiyon 4°C'ye soğutulduktan sonra manyetik karıştırıcıda devamlı karıştırılırken, Poloksamer 407 (Pluronic® F127) (PL407), dispersiyon üzerine yavaş yavaş ilave edildi. Elde edilen dispersiyon, berrak bir çözelti haline gelene kadar buzdolabında saklandı (Zaki ve ark. 2007). Hazırlanan formülasyonlar Tablo 3.1-3.3'de verilen şekilde kodlandı.

Tablo 3-1: HPMC içeren nazal in situ jel formülasyonları.

Bileşenler (%a/h)	**FORMÜLASYONLAR**											
	H1	H2	H3	H1+5	H2+5	H3+5	H1+8	H2+8	H3+8	H1+10	H2+10	H3+10
MF	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
PL407	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
HPMC	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5
PEG 400	-	-	-	5	5	5	8	8	8	10	10	10
Dekspantenol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sodyum klorür	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Benzalkonyum klorür	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Sitrik asit çözeltisi (%10 a/h)	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
Distile su	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.

Tablo 3-2: HEC içeren nazal in situ jel formülasyonları.

Bileşenler (%a/h)	**FORMÜLASYONLAR**											
	HC1	HC2	HC3	HC1+5	HC2+5	HC3+5	HC1+8	HC2+8	HC3+8	HC1+10	HC2+10	HC3+10
MF	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
PL407	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
HEC	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5
PEG 400	-	-	-	5	5	5	8	8	8	10	10	10
Dekspantenol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sodyum klorür	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Benzalkonyum klorür	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

Sitrik asit çözeltisi (%10 a/h)	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
Distile su	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.

Tablo 3-3: CP içeren nazal in situ jel formülasyonları.

Bileşenler (a/h)	**FORMÜLASYONLAR**											
	CP1	CP2	CP3	CP1+5	CP2+5	CP3+5	CP1+8	CP2+8	CP3+8	CP1+10	CP2+10	CP3+10
MF	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
PL407	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
CP 974P NF	0,15	0,25	0,35	0,15	0,25	0,35	0,15	0,25	0,35	0,15	0,25	0,35
PEG 400	-	-	-	5	5	5	8	8	8	10	10	10
Dekspantenol	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Sodyum klorür	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Benzalkonyum klorür	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Trietanolamin çözeltisi (%10 a/h)	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
Distile su	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.

3.2.2.2. Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları

1. Sol-Jel Geçiş Sıcaklığının (T sol-gel) Belirlenmesi

PL407 içeren sulu çözeltilerin jelleşme sıcaklıkları aşağıdaki şekilde belirlendi. 10 ml çözelti, içerisinde manyetik balık bulunan 25 ml'lik transparan beherlere alındı. 80 rpm hızdaki ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerine alınan beherlerin sıcaklığı 1°C/dakika olacak şekilde arttırıldı. Manyetik balığın dönmesinin durduğu andaki sıcaklık, jelleşme sıcaklığı olarak belirlendi (Shinde ve ark. 2008; Yuan ve ark. 2012).

2. PL407'nin Jelleşme Sıcaklığı Üzerine Mometazon Furoatın ve Diğer Eksipiyanların Etkilerinin İncelenmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PL407 çözeltilerinin (%16-24 a/h) jelleşme sıcaklıklarının (T sol-gel) belirlenmesinin ardından nazal uygulamaya en uygun konsantrasyon saptandı ve daha sonra formülasyonda bulunan etkin madde MF'nin, mukoadezif polimerlerin ve PEG 400'ün T sol-gel sıcaklığına olan etkisi araştırıldı (Shinde ve ark. 2008).

3. pH Tayini

Belirlenen zaman aralıklarında formülasyonların pH değerleri dijital pH metre kullanılarak tayin edildi. Ölçüm öncesi cihaz pH 4 ve pH 7 tamponları kullanılarak kalibre edildi (Viram ve Lumbhani 2012).

4. Reolojik Çalışmalar

Belirlenen zaman aralıklarında formülasyonların oda sıcaklığındaki (20°C±1) (spindle no: CP-40) ve jelleşme sıcaklığının üzerinde belirlenen sabit sıcaklıktaki (34°C±1) (spindle no: CP-52) viskoziteleri, cone-plate viskozimetre (Brookfield HA DV3T) kullanılarak tayin edildi. Kayma hızına karşı viskozite grafikleri çizilerek ve denklem 3-3'te belirtilen Power low matematiksel modellemesi uygulanarak [akış indesi (flow index) ve bütünlük indeksi (consistency index)] formülasyonların akış tipleri tayin edildi (Zaki ve ark. 2007).

$$\eta = m\gamma^{n-1} \quad (3\text{-}3)$$

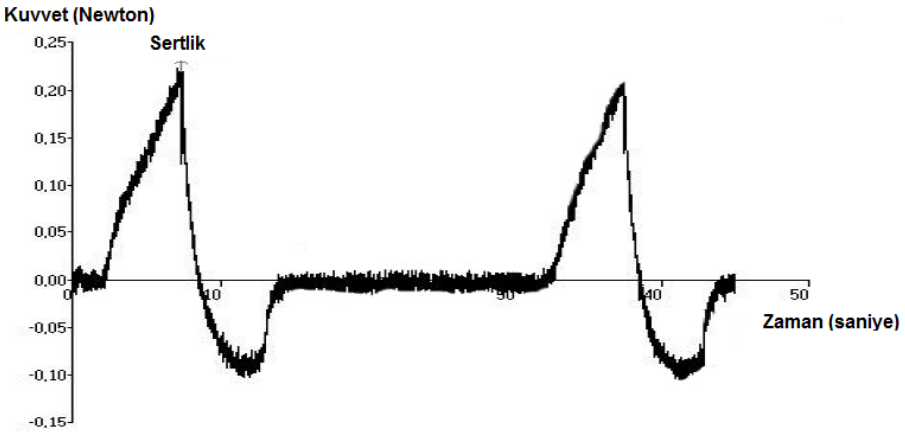
Her formülasyon için karakteristik olan iki birimsiz büyüklük olan bütünlük indeksi (*m*) ve akış indeksi (*n*) elde edildi. Buna göre eğer *n*=1 ise formülasyonun akış tipinin Newtonian olduğunu, eğer 1'den daha küçükse kaymayla incelen bir akış tipi olduğunu göstermektedir. (*n*) değeri ne kadar küçülürse, akış davranışı o kadar kaymayla incelir (Zaki ve ark. 2007).

5. Nazal In situ Jellerin Mekanik Özelliklerinin Saptanması

Formülasyonların mekanik özellikleri (kohezyon, adezyon, sertlik ve sıkıştırılabilirlik) Brookfield CT3 doku analiz cihazı kullanılarak saptandı. 12,7 mm çapındaki silindirik analitik prob (TA5), 25 ml'lik beher içerisindeki 10 g örneğe 15 s zaman aralığında iki kez, belirlenmiş bir derinliğe (10 mm), belirlenmiş bir hızda (2,0 mm/saniye) daldırıldı. Başlatıcı kuvvet 0,01N olarak belirlendi. Her örnekten 34±1°C'de 3 tekrar analiz yapıldı. Elde edilen güç-zaman eğrisi kullanılarak jellerin sertliği, sıkıştırılabilirliği, adezifliği ve kohezifliği hesaplandı. Veri toplama ve hesaplamada TexturePro CT V1.6 Build yazılımı kullanıldı (Patel ve ark. 2010).

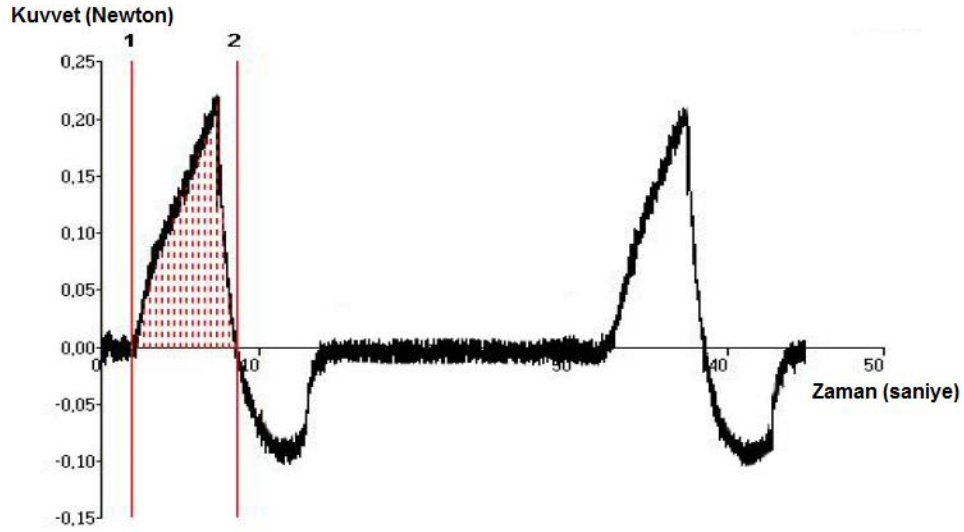
Jellerin sertliği: Sertlik, jelin deformasyonunu sağlamak için gerekli olan kuvveti tanımlamaktadır (Jones ve ark. 1997). Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak elde edilen güç-zaman eğrisinden jellerin sertliği hesaplandı. Şekil 3.1'de görüldüğü gibi, probun birinci

batma periyodunda elde edilen en yüksek güç değeri jellerin deformasyonu için gerekli sertlik değerini (Newton, N) vermektedir.



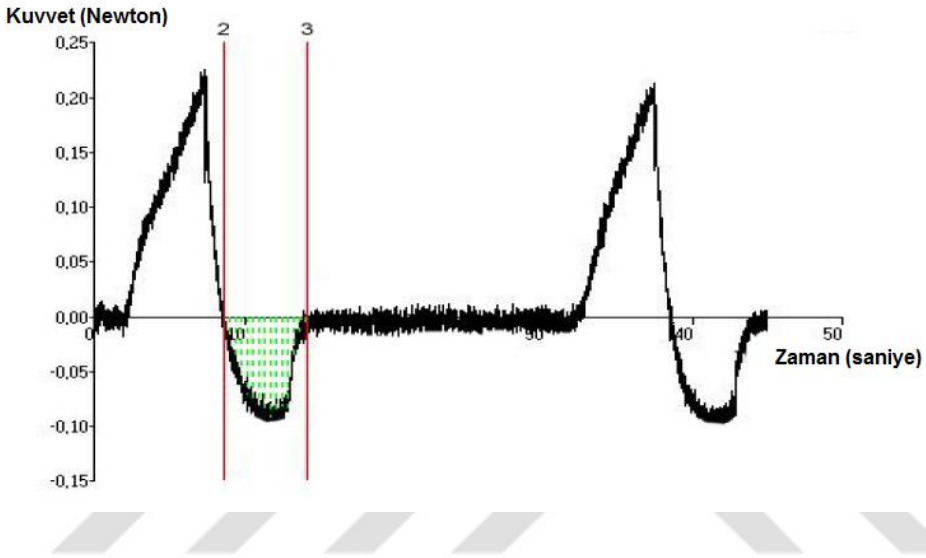
Şekil 3-1: Jellerin sertliğine ait kuvvet-zaman eğrisi.

Jellerin sıkıştırılabilirliği: Sıkıştırılabilirlik, jeli deforme etmek için gerekli olan işi tanımlamaktadır (Jones ve ark. 1997). Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak elde edilen, güç-zaman eğrisinden jellerin sıkıştırılabilirliği hesaplandı. Şekil 3.2'de görüldüğü gibi, probun jele birinci batma periyodu süresince elde edilen eğrinin altında kalan alan (AUC 1-2) jelin sıkıştırılabilirlik değerini (Newton x mm) vermektedir.



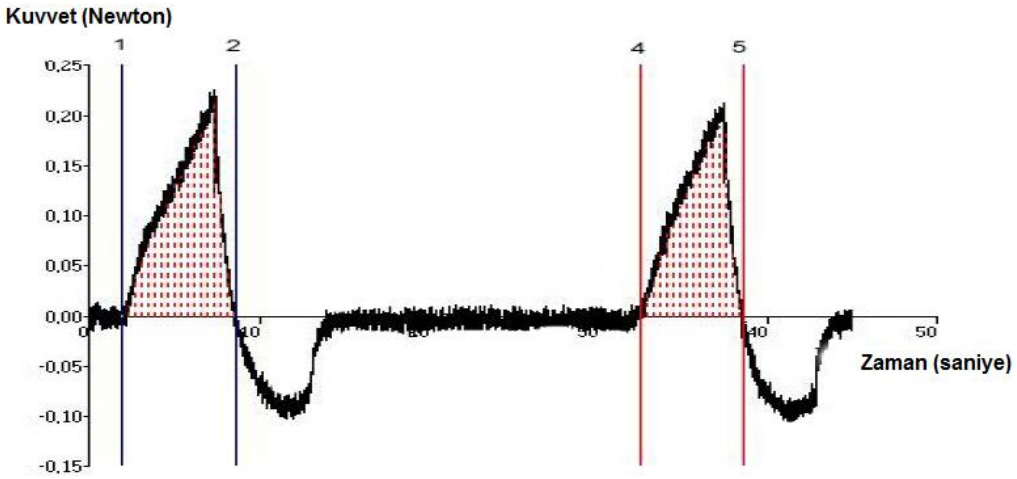
Şekil 3-2: Jellerin sıkıştırılabilirliğine ait kuvvet-zaman eğrisi.

Jellerin adezifliği: Adeziflik, jelin yüzeyi ile probun yüzeyi arasındaki çekme kuvvetlerini yenmek için gerekli işi tanımlamaktadır (Jones ve ark. 1997). Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak, elde edilen güç-zaman eğrisinden jellerin adezifliği hesaplandı. Şekil 3.3'te görüldüğü gibi, probun birinci batma periyodundan sonra ilk geri çekme periyodu süresince elde edilen eğrinin altında kalan alan (AUC 2-3) adeziflik değerini (Newton x mm) vermektedir.



Şekil 3-3: Jellerin adezifliğine ait kuvvet-zaman eğrisi.

Jellerin kohezifliği: Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak, elde edilen kuvvet-zaman eğrisinden jellerin kohezifliği hesaplandı. Şekil 3.4'te görüldüğü gibi, ikinci batma periyodunda elde edilen eğrinin altında kalan alanın (AUC 4-5), birinci batma periyodunda elde edilen eğri altında kalan alana (AUC 1-2) oranı koheziflik değerini vermektedir (Jones ve ark. 1997). Koheziflik değerinin birimi yoktur.



Şekil 3-4: Jellerin kohezifliğine ait kuvvet-zaman eğrisi.

6. Ex vivo Mukoadezyon Kuvvetinin Saptanması

Mukoadhezyon testi için anatomik olarak insanla benzer özellikler gösteren, ayrıca çalışma için yeterli yüzey alanına sahip koyun burun mukozası tercih edildi (Illum 1996). Mezbahada başka amaçlar için sakrifiye edilen koyunların nazal mukozaları (konka mukozası) hemen çıkartıldı ve birkaç damla gentamisin sülfat içeren izotonik serum fizyolojik çözeltisi içerisinde soğuk zincirde laboratuvar ortamına getirildi (Şekil 3.5).



Şekil 3-5: Nazal mukozanın çıkarılması.

Ex vivo mukoadezif kuvvet, koyun nazal mukozası kullanılarak Brookfield CT3 doku analiz cihazı ile literatürdeki yöntem modifiye edilerek saptandı (Bhandwalkar ve

Avachat 2013; Basu ve Bandyopadhyay 2011). İlk olarak simüle nazal çözelti hazırlandı ve 34ºC'ye getirildi (Simüle nazal çözeltinin içeriği; 8,77 g/l NaCl, 2,98 g/l KCl, 0,59 g/l $CaCl_2$). Daha sonra, mukoza 12,7 mm çapındaki silindirik analitik proba (TA5) siyanoakrilat yapıştırıcı ile yapıştırıldı. Probdaki mukoza 15 dk boyunca 34ºC'deki simüle nazal çözelti ile temas ettirildi. Su banyosunda bekletilerek 34ºC'ye getirilen 10 g formülasyon probun altına sabitlendi ve teste başlandı. Kuvvet-mesafe eğrisinden AUC hesaplandı. $1cm^2$'ye düşen mukoadezyon işini (mJ/cm^2) hesaplamak için Denklem 3.4 kullanıldı. Test her bir formülasyon için 3 defa tekrarlandı, değerlerin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı.

$$\text{Mukoadezyon işi } (mJ/cm^2) = \frac{AUC}{\pi r^2} \quad (3\text{-}4)$$

πr^2: In situ jel ile temas eden nazal mukozanın yüzey alanı.

Mukoadezyon işinin (mJ/cm^2) saptanması için aşağıdaki test parametrelerine uygun şekilde çalışıldı.

Test Parametreleri:

Prop: TA5 (12,7 mm çapındaki silindirik analitik prob)

Test öncesi probun hızı: 0,1 mm/s

Test sonrasında probun hızı: 0,1 mm/s

Probun geri dönüş mesafesi: 10 mm

Jel ile nazal mukozanın temas süresi: 1, 2, 5, 10 dk

Jel ile nazal mukozanın ilk temas kuvveti: 2 mN

Jel ile nazal mukozanın teması süresince uygulanan kuvvet: 0,5 N

3.2.2.3. Nazal Jel Formülasyonlarından In vitro Salım Çalışması

MF içeren in situ jelleşen nazal formulasyonların in vitro salım profilleri diyaliz yöntemi ile incelendi (Zaki ve ark. 2007). Diyaliz membran tüp (avg flat width 25 mm, m.wt. cutoff: 12,000–14,000) kullanılmadan önce salım ortamı olan PEG 400:Etanol:pH 5,8 Fosfat Tamponu (PBS) (40:30:30 h/h) içerisinde 1 gece buzdolabında bekletildi. Ertesi gün 400 ml'lik 4 beher içerisine 200 ml salım ortamı konuldu ve su banyosu üzerinde 33±1°C'ye gelmesi beklendi. Bu sırada sink koşulları sağlayacak şekilde 5 ml in situ jel

(0,5 mg/ml MF içeren) diyaliz membranlara yerleştirildikten sonra diyaliz tüplerin iki ucu da kapatıcı ile kapatıldı. 3 diyaliz tüpe MF içeren in situ jel, son kalan diyaliz tüpe ise karşılaştırma amaçlı ilaç içermeyen in situ jel yerleştirildi. Salım ortamları istenen sıcaklığa geldiğinde diyaliz membranlar beher içerisine daldırıldı ve karıştırma hızı 100 rpm hıza ayarlanarak bir manyetik bar yardımıyla karıştırıldı. 10., 15., 30., 45., 60., 90., 120., 150., 180. ve 240. dakikalarda salım ortamlarından 1'er ml numune alınarak her biri 10 ml'lik balon jojelere konuldu ve mobil faz ile hacmine tamamlandı. Alınan salım ortamlarının yerine beherlere aynı miktarda 33±1°C'de taze salım ortamı ilave edildi. Örneklerin absorbansları, 248 nm dalga boyunda kör olarak plasebo formülasyon örneklerine karşı HPLC'de 248 nm dalga boyunda okundu. Standart eğri yardımıyla açığa çıkan MF miktarı hesaplandı ve zamana karşı % açığa çıkan madde miktarı grafiğe geçirildi.

3.2.2.4. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

Çözünme verilerinin değerlendirilmesi için farklı matematiksel modeller bulunmaktadır. Farklı teorilere dayanan bu modeller genellikle doğrusal bir eşitlik şeklindedir ve etkin maddenin dozaj formundan çıkış mekanizmasını tanımlamaktadır. Çözünme verileri bu eşitliklere uygulanarak lineer regresyon yapılmakta ve doğrusal denklemin m (eğim), n (kesişim) değerleri ve doğrusallık derecesini gösteren r^2 (korelasyon katsayısı) değerleri hesaplanmakta ve istatistiksel olarak değerlendirilmektedir. Etkin maddenin çözünmesinin hangi modele uyum gösterdiği, bu parametrelerden belirlenmektedir. Ayrıca bu parametreler çözünme profillerinin karşılaştırılması için kullanılmaktadır (Bozkır ve ark. 2007).

Bu amaçla Yöntem 3.2.2.3'te anlatıldığı şekilde yürütülen in vitro salım çalışmalarından elde edilen veriler kinetik modellere uygulandı ve her bir kinetik modele ait korelasyon katsayıları hesaplandı. Bu kinetik modellerde elde edilen korelasyon katsayısına göre in situ jellerden etkin madde salımına uygun olan kinetik model saptandı.

1. Sıfırıncı Derece Kinetik

Sıfırıncı derece kinetik modelde, zamana (t) karşı konsantrasyon (C) değerleri grafiğe çizildiğinde eğimi hız sabitine bağlı olan bir doğru elde edilir. Bu kinetik modele göre herbir zaman aralığında preparat şeklinden çözeltiye geçen etkin madde miktarı sabittir. Salım hızının değiştirildiği pek çok dozaj formunda, özellikle kontrollü salım/uzatılmış salım yapan formlarda asıl olarak bu tip çözünme kinetiğine uyum sağlanması hedeflenmektedir (Bozkır ve ark. 2007).

Sıfır derece hız ifadesi aşağıdaki eşitlikle verilmektedir (3.5).

$C = C_0 - k_0 t$ (3-5)

C= t zamanı sonunda çözünmeden kalan ilaç konsantrasyonu
C_0= Başlangıç anındaki ilaç konsantrasyonu
k_0= 0. derece hız sabiti
t= Zaman

2. Birinci Derece Kinetik

InC değerleri t'ye karşı grafiğe geçirildiğinde eğimi hız sabitine bağlı olan bir doğru elde edilmektedir. Birinci derece kinetikte, zamana bağlı olarak çözünen etkin madde miktarı üssel şekilde azalmaktadır. Klasik dozaj formlarının çoğu bu çözünme mekanizmasını göstermekte ve uzatılmış salım yapan formülasyonlar da bu tip çözünme işlemine uyum sağlamaktadır (Bozkır ve ark. 2007).

Birinci derece hız ifadesi aşağıdaki eşitlikle verilmektedir (3.6).

$\ln C = \ln C_0 - kt$ (3-6)

C= t zamanı sonunda çözünmeden kalan ilaç konsantrasyonu
C_0= Başlangıç anındaki ilaç konsantrasyonu
k= 1. derece hız sabiti
t= Zaman

3. Higuchi Kinetik Modeli

Etkin madde salımı değiştirilmiş dozaj formlarının çoğu bir matris sistemi şeklindedir. Higuchi kinetik modelinde, salınan etkin madde miktarı zamanın kareköküyle orantılıdır. Bu modelde, etkin maddenin önce matriksin yüzey tabakasından çözündüğü, sonra iç tabakanın çözünme ve difüzyon sunucu dıştaki çözeltiye geçtiği varsayılmaktadır (Bozkır ve ark. 2007). Eşitlik aşağıdaki şekilde uygulanmaktadır (3.7).

$Q = kt^{1/2}$ (3-7)

Q : t zamanında salınan etkin madde miktarı
k : salım hızı sabiti
t : zaman

4. Hixson-Crowell Küpkök Kanunu

Hixson ve Crowell çeşitli varsayımlara bağlı olarak küpkök kanununu geliştirmişlerdir (Bozkır ve ark. 2007).

Bu kanuna göre çözünme hızı eşitliği şu şekildedir (3.8).

$$W_0^{1/3} - W^{1/3} = k_4 t \qquad (3\text{-}8)$$

W_0 :Başlangıçtaki etkin madde miktarı
W :t anında çözünmeden kalan etkin madde miktarı
k_4 :Spesifik çözünme hızı sabitesi
t : Zaman

$W_0^{1/3} - W^{1/3}$ değerleri t'ye karşı grafiğe geçirildiğinde eğimi k_4 olan bir doğru elde edilmektedir. Bu eşitlik, özellikle partiküler ilaç şekilleri için uygun olmaktadır (Bozkır ve ark. 2007).

5. Korsmeyer-Peppas Modeli

Disolüsyon verileri ayrıca Korsmeyer ve ark. (1983) tarafından önerilen polimerik sistemlerden ilaç salım davranışlarının açıklanmasında sıklıkla kullanılan iyi bilinen eksponansiyel bir denkleme yerleştirilerek değerlendirildi (3.9).

$$M_t / M_\infty = kt^n \qquad (3\text{-}9)$$

Eşitlik 3.9'un logaritmik formu Eşitlik 3.10`da yer almaktadır.

$$\log (M_t / M_\infty) = \log k + n.\log t$$

M_t : t zamanında salınan etkin madde miktarı.
M_∞ : sonsuz zamanda salınacak etkin madde miktarı.
M_t / M_∞ : t zamanında salınan etkin madde fraksiyonu.
k : Salım yapan sistemin yapısal ve geometrik özelliklerini birleştiren sabit.
n : Salım mekanizmasını gösteren difüzyonal sabit.

n değerinin 0,45'e eşit olması durumunda ilaç salımının Fick`e uyan difüzyon (case I), $0,45<n<0,89$ olması durumunda Fick`e uymayan salım (anomalous transport), n değerinin 0,89'a eşit olması durumunda Case II transport ve >0,89 olması durumunda super case II transport gösterdiği belirtilmiştir. Case II genellikle polimerik zincirin erozyonuna bağlı olan, Fick`e uyan difüzyon etkin maddenin moleküler özelliğine nedeniyle difüzyonuna bağlı olan, anomalous ve super case II transport ise hem erozyon hem de difüzyona bağlı olan salımı belirtmektedir (Shato ve ark. 1997).

3.2.2.5. Ex vivo Geçiş Çalışması

MF içeren in situ jelleşen nazal formulasyonların koyun nazal mukozasından geçiş çalışması için Franz difüzyon hücresi metodu kullanıldı (Pund ve ark. 2013). Reseptör faz ortamı olan PEG 400:Etanol:pH 5,8 PBS (40:30:30 h/h) 33±1°C'ye gelinceye kadar su banyosunda bekletildi. Nazal mukozalar dondurucudan çıkarılarak, çözünmesi beklendi.

Mukozalar çözündükten sonra serum fizyolojik çözeltisi ile yıkanarak kan, kemik ve kıkırdaktan temizlenerek teste hazır hale getirildi. Mukozalar Franz difüzyon hücrelerinin boyutuna uygun olacak şekilde kesildi (3,14 cm^2). Franz difüzyon hücreleri salım ortamı ile doldurulduktan (33,2 ml) sonra uygun boyutta kesilmiş koyun burun mukozası donör ve reseptör fazları arasına yerleştirildi. Donör faz da aynı salım ortamı ile dolduruldu. 30 dk boyunca 50 rpm hızda 33±1°C'de mukozaların dengeye gelmesi sağlandı. 30 dk.lık sürenin sonunda her iki ortamdaki salım ortamı da boşaltıldı. Reseptör faz önceden 33±1°C'ye getirilmiş taze salım ortamı ile dolduruldu. Mukozalar mukozal yüzeyi donör faza bakacak ve reseptör fazda hava kabarcığı kalmayacak şekilde yerleştirildi.

5 difüzyon hücresine ilaçlı formülasyonlardan 400 µL, 6. hücreye ise plasebo formülasyondan 400 µL ilave edildi. Çalışma süresi boyunca Franz difüzyon hücresine bağlı termostatlı bir su banyosu vasıtasıyla sıcaklık 33±1°C olarak sabit tutuldu. Hücreler, manyetik bir bar yardımıyla 50 rpm karıştırma hızında karıştırıldı. 30., 60., 120., 180. ve 240. dakikalarda 1 ml reseptör fazdan örnek alındı. Daha sonra her hücreye 33±1°C'deki 1 ml taze salım ortamı eklendi. Alınan örnekler mobil faz ile hacmine tamamlandı ve örneklerin etkin madde tayini HPLC ile 248 nm'de tayin edildi.

3.2.2.6. Formülasyonların Fizikokimyasal Stabilite Testleri

MF nazal jellerin stabilitelerini değerlendirmek amacıyla formülasyonlar hava geçirmez amber renkli şişelerde gerçek saklama koşullarında (2-8°C) ve hızlandırılmış (25°C±2°C/% 60 ±% 5 nem ve iklimlendirme kabininde 40°C±2°C/% 75 ±% 5 nem) test koşullarında 3 ay süre ile bekletildi. Belirlenen zaman aralıklarında (0. gün,1,2,3.ay) alınan örneklerle, pH, viskozite ve ilaç içeriği gibi parametreler değerlendirildi (Viram ve Lumbhani 2012). İlaç içeriklerinin saptanması amacıyla nazal in situ jelden (0,5 mg/ml MF) 2 ml, 10 ml'lik balon jojeye alındı. Üzerine bir miktar metanol ilave edildi. 10 dakika ultrasonik banyoda karıştırıldı ve metanol ile hacmine tamamlandı (100 µg/ml MF). 0,45 µm'lik selüloz asetat membran filtreden süzüldü. Süzüntüden 1 ml alınıp 10 ml'lik balon jojede metanol ile hacmine tamamlandı (10 µg/ml MF) ve 248 nm dalga boyunda UV spektrofotometrede absorbansları ölçüldü. Absorbanslar önceden hazırlanmış kalibrasyon eğrisi denklemine yerleştirilerek etkin madde miktar tayinleri yapıldı (Singh ve ark. 2013).

3.2.2.7. In vivo Çalışmalar

Bu çalışma için Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Sayı: 2014-134 Tarih: 29.05.2014).

1. Deney Grupları

40 dişi Wistar albino sıçan (Ağırlık, 250–300 gram) randomize olarak eşleştirilmiş aşağıda detaylandırılmış 5 gruba ayrıldı ve standart kontrollü sıcaklık, nem ve aydınlatma koşulları altında tutuldu (22±2°C; 55±%10; ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü). Hayvanların deney süresi içinde istedikleri kadar su içip, yem yiyebilmeleri sağlandı (Şekil 3.6).



Şekil 3-6: Deney gruplarının görüntüsü.

Deney grupları;

Grup 1: Mometazon Furoat in situ jel (n=8)

Grup 2: Mometazon Furoat süspansiyon (n=8)

Grup 3: Plasebo (serum fizyolojik) (n=8)

Grup 4: Kontrol (uygulama yok) (n=8)

Grup 5: Alerjik Rinit grubu, OVA ile indüklenmiş (n=8) (alerjik rinit modelinin oluştuğunu göstermek amacıyla)

2. Metodoloji

a) Ovalbumin ile sensitizasyon

AR modeli daha önce yayınlanmış protokole uygun olarak gerçekleştirildi (Wen ve ark. 2007). Her bir sıçan grubu intraperitoneal (i.p.) 0,3 mg ovalbümin (OVA) (antijen) ve 30 mg alüminyum hidroksit (adjuvan) içeren 1 ml'lik serum fizyolojik (SF) çözeltisi ile 14 gün boyunca (D1-D14) her iki günde bir enjeksiyon yapılarak sensitize edildi (Şekil 3.7).

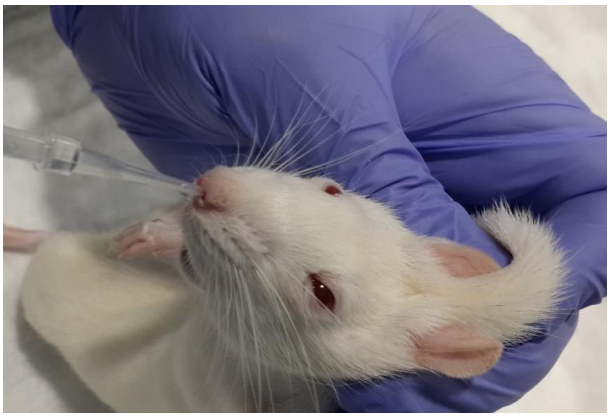


Şekil 3-7: Sıçanlara intraperitoneal enjeksiyon uygulanması.

b) Ovalbumin ile provakasyon

İkinci faz olan provakasyon fazında, AR modeli, OVA ile i.p. sensitize edilmiş olan sıçanların her iki burun deliğine 15. ve 21. günler arasında (D15-D21) her gün %10'luk OVA çözeltisinden 10'ar µl damlatılmasıyla geliştirildi. 1. ve 2. fazda kontrol grubundaki sıçanlara ise aynı doz % 0.9'luk serum fizyolojik çözeltisi uygulandı.

3. fazda (D22-D35), her iki günde bir intranazal OVA uygulamasına (10 µl, %10) alerji semptomlarını devam ettirmek amacıyla devam edildi. İlaç uygulaması 3. faz boyunca günde 1 defa her iki burun deliğine 10'ar µl damlatılarak gerçekleştirildi (Şekil 3.8).



Şekil 3-8: Topikal intranazal uygulama yöntemi.

1.grup (MF in situ jel uygulanan AR grubu): Bu grup sıçanların OVA ile sensitizasyonu ve intranazal provakasyonu yukarıda anlatılan metodolojiyle yapıldı. MF in situ jel (%0,05 a/h) nazal provakasyondan 1 saat önce bir mikropipet yardımıyla topikal olarak 10 µl dozda bilateral nazal kaviteye uygulandı.

2.grup (MF süspansiyon uygulanan AR grubu): Bu grup sıçanların OVA ile sensitizasyonu ve intranazal provakasyonu yukarıda anlatılan metodolojiyle yapıldı. MF süspansiyon (%0,05 a/h) nazal provakasyondan 1 saat önce bir mikropipet yardımıyla topikal olarak 10 µl dozda bilateral nazal kaviteye uygulandı.

3.grup (Serum fizyolojik uygulanan AR grubu): Bu grup sıçanların OVA ile sensitizasyonu ve intranazal provakasyonu yukarıda anlatılan metodolojiyle yapıldı. İlaç içermeyen serum fiyolojik (plasebo) nazal provakasyondan 1 saat önce bir mikropipet yardımıyla topikal olarak 10 µl dozda bilateral nazal kaviteye uygulanadı.

4.grup (Kontrol grubu): Bu grup sıçanlarda OVA ile herhangi bir senzitizasyon veya provakasyon işlemi yapılmadı. Kontrol grubu olarak kullanıldı.

5.grup (İlaç uygulaması yapılmayan AR grubu): Bu grup sıçanların OVA ile sensitizasyonu ve intranazal provakasyonu yukarıda anlatılan metodolojiyle yapıldı. Ancak herhangi bir ilaç uygulaması yapılmayarak, AR oluşumunun başarılı olarak gerçekleşip gerçekleşmediği ispatlandı.

3. Değerlendirme

a) Semptomların değerlendirilmesi:

AR semptomlarının subjektif değerlendirilmesi 1., 14., 21., 28. ve 35. günlerde; intranazal OVA uygulamasının hemen sonrasında, her kafeste bir hayvan olacak şekilde 10 dakikalık bir uyum süresinin ardından 10'ar dakika boyunca aynı kişi tarafından burun kaşıma hareketi ve hapşırma sayısı subjektif olarak gözlemlenerek skorlandı (Wen ve ark. 2007).

b) Histolojik değerlendirme:

Sıçanlar son nazal provakasyondan 24 saat sonra yüksek doz i.p. fenobarbital (100 mg/kg) ile sakrifiye edildi. Tüm sıçanların baş kısımları çıkarıldı ve %10'luk nötral tamponlanmış formaldehit (pH 7.2) içerisinde 72 saat süreyle fikse edildi. Fiksasyon sonrasında dokular sırası ile % 70, % 80, % 90, % 96 ve % 100'lük etil alkol serisinden geçirilerek dehidratasyon sağlandı. Örnekler daha sonra ksilen içerisinde 3 saat süreyle tutularak şeffaflaştırıldı ve 60ºC'deki sıcak parafin içerisine gömüldü. Gömme sonrası

sıçanların nazal boşluğundan sert damağın kesici papilları seviyesinde parafin doku bloklarından mikrotom ile itinalı olarak 5 µm kalınlıkta enine kesitler alındı. Alınan kesitler rutin olarak hemotoksilen&eozin ile boyandı. Nazal epitel alanının sınırları belirlendi ve bu belirlenen referans alan içindeki boyalı örnekler, ışık mikroskobu (Nikon Eclipse i5, Tokyo, Japan) ve ışık mikroskonuna takılı bir video kamera (Nikon, DS-Fi1c) ile değerlendirildi. Bu alan, septal kıkırdağın merkezindeki bazal laminanın 2 mm üzerinden (nazal septumun her iki tarafından 1'er mm olmak üzere 2 mm'lik alanda) hesaplandı (Shimizu ve ark. 2000).

c) OVA-Spesifik Serum IgE tespiti

OVA-spesifik serum IgE seviyeleri, enzim bağlı immünosorbent assay (ELISA) anti-sıçan monoklonal antikoruyla (Life Diagnostic) son nazal provakasyondan 24 saat sonra değerlendirildi (Shimizu ve ark. 2000).

d) İstatistiksel Çalışmalar: Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için GraphPad Prism 5 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov test, gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Varyans analizi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

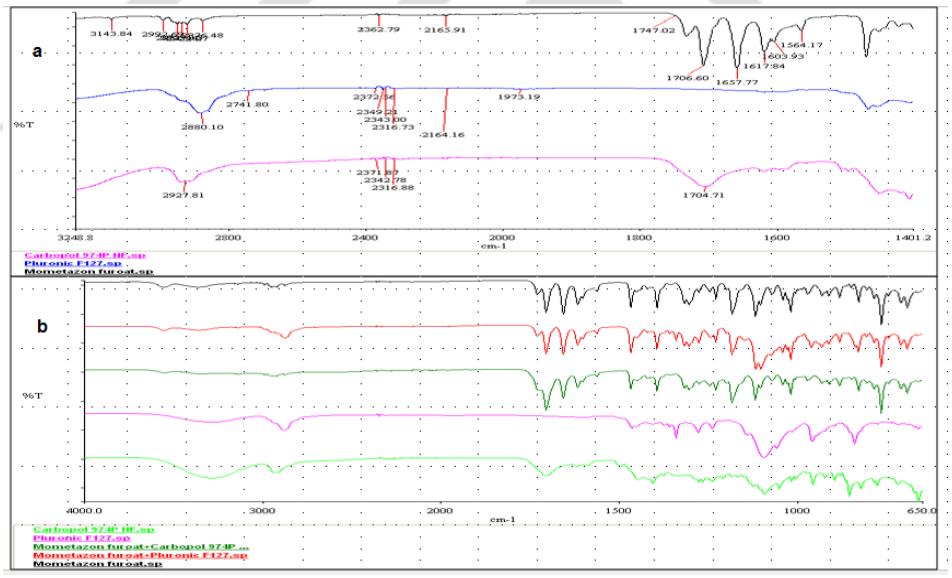
4. BULGULAR

4.1. Mometazon Furoat Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.1. Infrared Spektrumuna Ait Bulgular

Toz haldeki MF'nin, PL 407'nin ve CP 974P NF'nin 4000-650 cm^{-1} dalga boyu aralığında, 4 cm^{-1} çözünürlükle elde edilen spektrumu şekil 4.1a'da görülmektedir. Şekil 4.1b'de ise toz haldeki MF, PL 407, CP 974P NF ve MF ile polimer kombinasyonlarının spektrumları yer almaktadır.

MF'nin FT-IR spektrumunda tespit edilen absorpsiyon bantlarının yerleri literatürle uyumlu bulunmuştur (Chen ve ark. 2005). Kullanılan polimerlerlerin aynı absorpsiyon bantlarında pik vermedikleri, MF ile kombine edildiklerinde ise etkin maddeye özgü absorpsiyonu bantlarının spektrumda yer aldığı saptanmıştır. Bu verilere göre kullanılan polimerlerle etkin maddenin geçimli olduğu sonucuna varılmıştır.



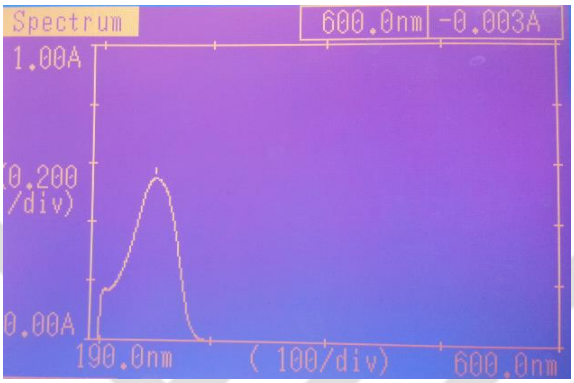
Şekil 4-1: Mometazon furoat ve polimerlere ait IR spektrumları.

MF'nin monohidrat formundan elde edilen IR spektrumunda, literatürle uyumlu olarak 3500 ile 3600 cm^{-1} arasında geniş ve zayıf bir pike rastlanmıştır. Su molekülü, MF moleküllerine 3 hidrojen bağıyla sıkıca bağlınmıştır. 1650 ile 1750 cm^{-1} arasındaki karbonil bölgesinde saptanan 3 pik, MF molekülünün 3 karbonil grubunu yansıtmaktadır. Pikler 1732, 1658 ve 1706 cm^{-1} bandında görülmüştür. Su hidrojen bağıyla karbonil

gruplarına bağlıdır. Hidrojen bağı, karbonil zincirini zayıflatmış ve absorpsiyonun daha düşük dalga boyunda saptanmasına neden olmuştur (1706 cm^{-1}).

4.1.2. Mometazon Furoatın Spektrofotometrik Yöntem ile Miktar Tayini Validasyonuna Ait Bulgular

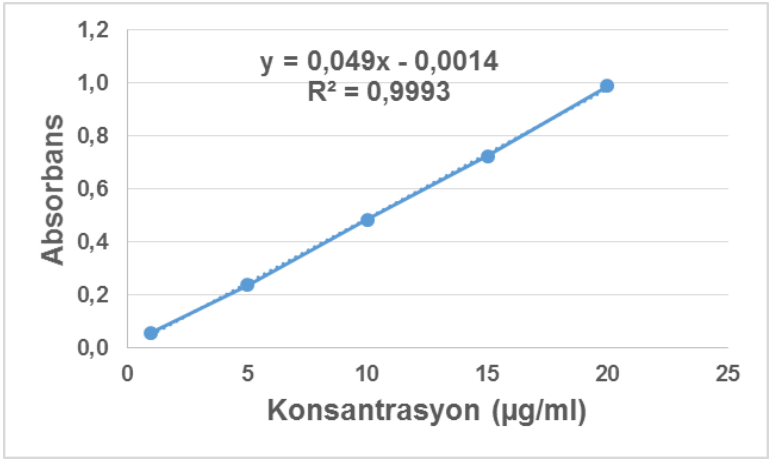
0,5 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan MF çözeltisinin maksimum absorbans değeri verdiği dalga boyu Şekil 4.2'deki UV spektrumunda görülmektedir.



Şekil 4-2: Mometazon furoatın metanol çözünme ortamındaki UV spektrumu.

4.1.2.1. Doğrusallık

Kalibrasyon doğrusu grafiği ve kalibrasyon doğrusunun çizilmesinde ortalama absorbanslar, SS ve %RSD sonuçları ise aşağıda yer alan Şekil 4.3'te ve Tablo 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4-3: Mometazon furoatın kalibrasyon doğrusu grafiği.

y : Absorbans

x : Konsantrasyon (mcg/ml)

R^2: Determinasyon katsayısı

Tablo 4-1: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin doğrusallığına ait bulgular (n=6).

KONSANTRASYON (µg/ml)	Ortalama Absorbans	SS	% RSD
1	0,058	0,001	1,734
5	0,237	0,004	1,579
10	0,485	0,004	0,760
15	0,724	0,002	0,284
20	0,990	0,005	0,530

4.1.2.2. Doğruluk

MF'nin spektrofotometrik miktar tayini yöntemine ait doğruluk bulguları Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4-2: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin doğruluğuna ait bulgular (n=3).

% Konsantrasyon	İlave edilen miktar	Bulunan miktar (µg/ml)	% Geri kazanım	Ort. % Geri kazanım	SS	% RSD
80	8 µg/ml	8,01	100,13	100,08	0,059	0,059
		8,00	100,00			
		8,01	100,13			
100	10 µg/ml	10,03	100,30	100,07	0,205	0,205
		9,98	99,80			
		10,01	100,10			
120	12 µg/ml	11,98	99,83	99,89	0,079	0,079
		11,98	99,83			
		12,00	100,00			

4.1.2.3. Kesinlik

MF'nin spektrofotometrik miktar tayini yöntemine ait gün içi kesinlik bulguları Tablo 4.3'te, günler arası kesinlik bulguları ise Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4-3: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin gün içi kesinliğine ait bulgular (n=6).

% Konsantrasyon	Teorik Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	Pratik Konsantrasyon (µg/ml
100	10 µg/ml	0,485	9,93
100	10 µg/ml	0,487	9,97
100	10 µg/ml	0,489	10,00
100	10 µg/ml	0,489	10,00
100	10 µg/ml	0,486	9,95
100	10 µg/ml	0,487	9,97
		Ortalama	9,97
		SS	0,023
		% RSD	0,233

Tablo 4-4: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin günler arası kesinliğine ait bulgular (n=6).

% Konsantrasyon	Teorik Konsantrasyon	Pratik Konsantrasyon (µg/ml)		
		1.gün	2.gün	3.gün
100	10 µg/ml	9,93	9,95	9,95
100	10 µg/ml	9,97	9,98	9,96
100	10 µg/ml	10,00	9,98	9,98
100	10 µg/ml	10,00	10,01	10,00
100	10 µg/ml	9,95	9,97	9,95
100	10 µg/ml	9,97	9,97	9,96
	Ortalama	9,97	9,98	9,97

	SS	0,023	0,018	0,018
	% RSD	0,233	0,180	0,180

Teşhis ve Miktar Tayin Limiti:

Elde edilen ölçüm sonuçları ve metodlarda verilen formüller yardımı ile hesaplanan TL ve MTL değerleri aşağıda verilmiştir.

∂= 0,00017 S= 0,0490 TL: 0,0114 µg/ml MTL: 0,0347 µg/ml

4.1.2.4. Seçicilik

Metodlarda anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucunda kullanılan yardımcı maddelerin etkin maddenin absorbans verdiği 248 nm dalga boyunda absorbans göstermediği tespit edildi.

4.1.2.5. Stabilite

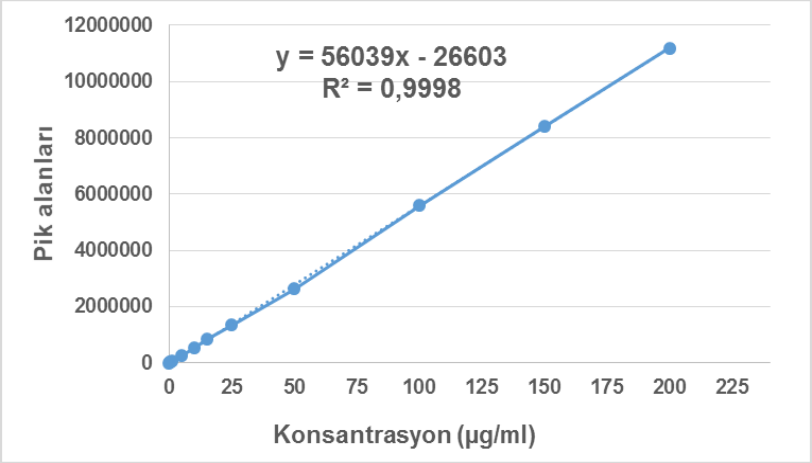
Metodlarda anlatıldığı şekilde 48 saat boyunca metanol içerisindeki etkin maddenin stabilitesi incelendi. Elde edilen sonuçların % RSD'sinin % 2'nin altında olmasından dolayı MF'nin 48 saat boyunca stabil olduğu tespit edildi. Stabilite bulguları Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4-5: Mometazon furoatın spektrofotometrik yöntem ile miktar tayininin stabilitesine ait bulgular (n=6).

Ölçüm Zamanı (Saat)	**Konsantrasyon (µg/ml)**	**Hesaplanan Konsantrasyon (µg/ml)**
1	10	10,01
2	10	10,02
3	10	10,00
4	10	9,98
5	10	10,02
6	10	9,98
24	10	10,00
48	10	10,01
	Ortalama	10,00
	SS	0,015
	% RSD	0,15

4.1.3. Mometazon Furoatın HPLC Yöntemi ile Miktar Tayini Validasyonuna Ait Bulgular

MF'nin metodlarda anlatıldığı gibi çalışılarak elde edilen kalibrasyon doğrusu grafiği Şekil 4.4'te, kalibrasyon doğrusunun çizilmesinde kullanılan ortalama pik alanları, SS ve %RSD sonuçları ise Tablo 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4-4: Mometazon furoatın kalibrasyon doğrusu grafiği.

Tablo 4-6: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin doğrusallığına ait bulgular (n=3).

KONSANTRASYON (µg/ml)	Ortalama Pik Alanları	SS	% RSD
0,05	5116	108	2,111
0,25	15353	244	1,589
0,5	28448	513	1,803
1	58734	1136	1,934
5	260709	4050	1,553
10	520844	7862	1,509
15	830143	4934	0,594
25	1337052	17407	1,302
50	2636639	76719	2,910
100	5592509	24442	0,437
150	8405095	169436	2,016
200	11192360	223315	1,995

4.1.3.1. Doğruluk

Üç farklı konsantrasyondaki MF'nin miktar tayini için, metodlarda anlatıldığı gibi çalışılarak yöntemin doğruluğu tespit edildi. Her konsantrasyon için geri kazanma değeri (%), SS ve %RSD değerleri Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4-7: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin doğruluğuna ait bulgular (n=3).

% Konsantrasyon	İlave edilen miktar	Bulunan miktar (µg/ml)	% Geri kazanım	Ort. % Geri kazanım	SS	% RSD
50	5 µg/ml	4,89	97,80	98,13	0,340	0,346
		4,93	98,60			
		4,90	98,00			
100	10 µg/ml	10,01	100,10	99,70	0,294	0,295
		9,96	99,60			
		9,94	99,40			
150	15 µg/ml	14,96	99,73	99,40	0,237	0,239
		14,88	99,20			
		14,89	99,27			

4.1.3.2. Kesinlik

MF'nin metodlarda anlatıldığı gibi yapılan miktar tayini yöntemine ait gün içi kesinlik bulguları Tablo 4.8'de, günler arası kesinlik bulguları ise Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-8: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin gün içi kesinliğine ait bulgular (n=6).

% Konsantrasyon	Teorik Konsantrasyon (µg/ml)	Pratik Konsantrasyon (µg/ml	Pik Alanları
100	10 µg/ml	10,04	536028
100	10 µg/ml	10,01	534347
100	10 µg/ml	10,04	536028
100	10 µg/ml	10,05	536588

100	10 µg/ml	10,07	537709
100	10 µg/ml	10,02	534907
		Ortalama	535935
		SS	1093
		% RSD	0,204

Tablo 4-9: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin günler arası kesinliğine ait bulgular (n=6).

% Konsantrasyon	**Teorik Konsantrasyon**	**Pik Alanları**		
		1.gün	**2.gün**	**3.gün**
100	10 µg/ml	536028	528564	533126
100	10 µg/ml	534347	535896	529639
100	10 µg/ml	536028	524895	524697
100	10 µg/ml	536588	532016	532069
100	10 µg/ml	537709	542691	539785
100	10 µg/ml	534907	543546	542963
	Ortalama	535935	534601	533713
	SS	1093	6886	6101
	% RSD	0,204	1,288	1,143

Teşhis ve Miktar Tayin Limiti

Metodlarda anlatıldığı gibi çalışılarak elde edilen ölçüm sonuçları ve verilen formüller yardımı ile hesaplanan TL ve MTL değerleri aşağıda verilmiştir.

∂= 1197 S= 56038 TL: 0,0704 µg/ml MTL: 0,2436 µg/ml

4.1.3.3. Seçicilik

Metodlarda anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucunda kullanılan yardımcı maddelerin etkin maddenin pik verdiği alıkonma zamanında pik vermediği tespit edildi.

4.1.3.4. Stabilite

Metodlarda anlatıldığı şekilde 48 saat boyunca burun içi sıcaklığı olan 33°C'deki pH 5,8 fosfat tamponu içerisindeki etkin maddenin stabilitesi incelendi. Elde edilen sonuçların % RSD'sinin % 2'nin altında olmasından dolayı MF'nin 48 saat boyunca stabil olduğu tespit edildi. Stabilite bulguları Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4-10: Mometazon furoatın HPLC yöntemi ile miktar tayininin stabilitesine ait bulgular (n=3).

Ölçüm Zamanı (Saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	Hesaplanan Konsantrasyon (µg/ml)
1	10	10,04
2	10	10,03
3	10	10,03
4	10	10,01
5	10	10,02
6	10	10,01
24	10	10,03
48	10	10,01
	Ortalama	10,023
	SS	0,011
	% RSD	0,109

4.1.4. Mometazon Furoatın Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular

Metodlarda anlatıldığı gibi yapılan çözünürlük tayinine ait bulgular Tablo 4.11'de gösterilmiştir.

Tablo 4-11: Mometazon furoatın çeşitli çözünme ortamlarındaki çözünürlüklerine ait bulgular (n=3).

Çözünme Ortamı	Doygunluk Konsantrasyonu (µg/mL)
pH 5,8 Fosfat tamponu	5,383±0,033
pH 5,8 Fosfat tamponu+etanol (70:30 h/h)	15,671±1,749
pH 5,8 Fosfat tamponu+etanol (50:50 h/h)	329,0±0,244
pH 5,8 Fosfat tamponu+PEG 400 (80:20 h/h)	9,491±0,031
pH 5,8 Fosfat tamponu+PEG 400 (60:40 h/h)	60,575±0,048
pH 5,8 Fosfat tamponu+PG (80:20 h/h)	7,427±0,078
pH 5,8 Fosfat tamponu+PG (60:40 h/h)	16,036±0,098
pH 5,8 Fosfat tamponu+PEG 400+etanol (50:20:30 h/h)	178,404±0,196

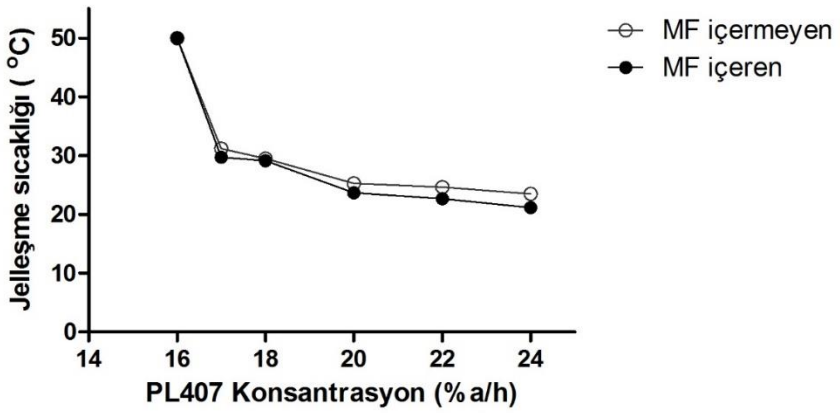
pH 5,8 Fosfat tamponu+PEG 400+etanol (30:40:30 h/h)	1825,135±23,414
pH 5,8 Fosfat tamponu+PG+etanol (50:20:30 h/h)	123,671±0,538
pH 5,8 Fosfat tamponu+PG+etanol (30:40:30 h/h)	727,738±5,396

4.2. Nazal Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.2.1. Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları

4.2.1.1. In situ Jellerin Hazırlanmasına Ait Bulgular

Isıyla jelleşen nazal mukoadezif bir in situ jel, nazal uygulamadan önce sıvı formdadır ve bu sayede hassas ilaç dozlaması sağlayan bir damla şeklinde uygulanabilir. Bu dozaj formu nazal kaviteye damlatıldıktan sonra burun sıcaklığında (33±1°C) jelleşir ve böylelikle formülasyonun drenajı önlenir ve dozaj formunun mukus membranlarla temas süresi arttırılabilir. Bu çalışmadaki formülasyon tasarımı nazal uygulamaya yönelik olduğundan burun sıcaklığı dikkate alınmıştır (Cai ve ark. 2011). Bu nedenle, hazırlanan in situ jelin, oda sıcaklığının üzerinde ve burun sıcaklığına ulaşmadan jelleşmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla formülasyon çalışmasına başlanmadan evvel MF içeren ve içermeyen jellerde uygun jelleşme sıcaklığı gösteren PL407 konsantrasyonu saptanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4-5: Mometazon furoat içeren ve içermeyen PL407 in situ jellerinin jelleşme sıcaklıklarının kıyaslanmasına ait bulgular.

Bu sonuçlara göre MF içermeyen formülasyonlarda en uygun jelleşme sıcaklığı % 18 PL407 (a/h) içeren formülde saptanmıştır (29,5°C). Formülasyonlara MF ilavesi

jelleşme sıcaklığını çok az miktarda düşürdüğü görülmüştür (29,13°C). İleriki çalışmalara, % 18 PL407 (a/h) konsantrasyonu ile devam edilmesine karar verilmiştir.

4.2.1.2. Sol-Jel Geçiş Sıcaklığının (T sol-gel) Belirlenmesine Ait Bulgular

Hazırlanan formülasyonların jelleşme sıcaklıkları Yöntem 3.2.2.2 bölümünde anlatılan metoda göre belirlenmiştir (Tablo 4.12-4.14).

Tablo 4-12: CP içeren formülasyonların jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular.

Jelleşme sıcaklığı (°C) / Formülasyon Kodu	1. ÖLÇÜM	2. ÖLÇÜM	3. ÖLÇÜM	Ortalama	SS
CP1	30,7	30,8	30,6	30,7	0,08
CP2	28,7	28,8	28,5	28,7	0,12
CP3	27,0	27,1	27,0	27,0	0,05
CP1+%5 PEG 400	31,2	31,2	31,7	31,4	0,24
CP2+%5 PEG 400	30,7	30,1	30,4	30,2	0,24
CP3+%5 PEG 400	28,2	28,0	28,5	28,2	0,21
CP1+%8 PEG 400	31,7	31,7	31,6	31,7	0,05
CP2+%8 PEG 400	31,2	30,9	31,1	31,1	0,12
CP3+%8 PEG 400	29,8	29,8	30,1	29,9	0,14
CP1+%10 PEG 400	32,8	32,2	32,8	32,6	0,28
CP2+%10 PEG 400	31,7	31,7	31,8	31,7	0,05
CP3+%10 PEG 400	30,2	30,6	30,1	30,3	0,22

Tablo 4-13: HPMC içeren formülasyonların jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular.

Jelleşme sıcaklığı (°C) / Formülasyon Kodu	1. ÖLÇÜM	2. ÖLÇÜM	3. ÖLÇÜM	Ortalama	SS
H1	28,6	29,1	28,1	28,6	0,41
H2	27,1	26,8	27,3	27,1	0,21
H3	24,0	24,1	24,1	24,1	0,05
H1+%5 PEG 400	29,0	29,1	29,0	29,0	0,05
H2+%5 PEG 400	28,6	28,8	28,3	28,6	0,21
H3+%5 PEG 400	26,3	25,8	25,9	26,0	0,22
H1+%8 PEG 400	40	40	40	40	0,00
H2+%8 PEG 400	40	40	40	50	0,00
H3+%8 PEG 400	40	40	40	50	0,00
H1+%10 PEG 400	40	40	40	50	0,00
H2+%10 PEG 400	40	40	40	50	0,00
H3+%10 PEG 400	40	40	40	50	0,00

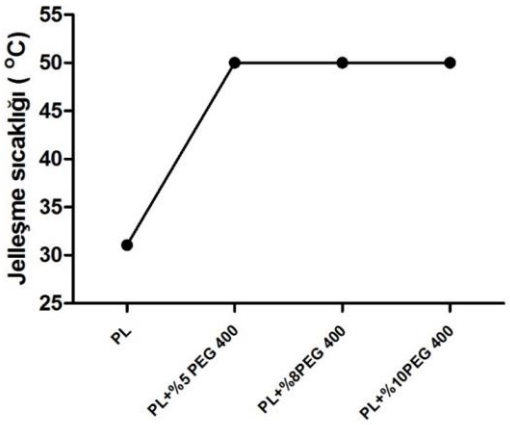
Tablo 4-14: HC içeren formülasyonların jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular.

Jelleşme sıcaklığı (°C) / Formülasyon Kodu	1. ÖLÇÜM	2. ÖLÇÜM	3. ÖLÇÜM	Ortalama	SS
HC1	24,9	25,3	25,1	25,1	0,16
HC2	24,4	24,4	24,6	24,5	0,09
HC3	20,6	20,2	20,2	20,3	0,19
HC1+%5 PEG 400	26,4	26,4	26,4	26,4	0,00
HC2+%5 PEG 400	25,3	25,1	25,8	25,4	0,29
HC3+%5 PEG 400	22,1	22,2	22,6	22,3	0,22
HC1+%8 PEG 400	26,8	26,4	26,6	26,6	0,16
HC2+%8 PEG 400	25,6	25,5	25,8	25,6	0,12
HC3+%8 PEG 400	23,8	23,4	23,5	23,6	0,17
HC1+%10 PEG 400	26,8	26,8	26,7	26,8	0,05
HC2+%10 PEG 400	25,6	25,7	25,7	25,7	0,05
H3+%10 PEG 400	25,7	24,8	25,1	25,2	0,37

4.2.1.3. PL407'nin Jelleşme Sıcaklığı Üzerine Mometazon Furoatın ve Diğer Eksipiyanların Etkilerinin İncelenmesine Ait Bulgular

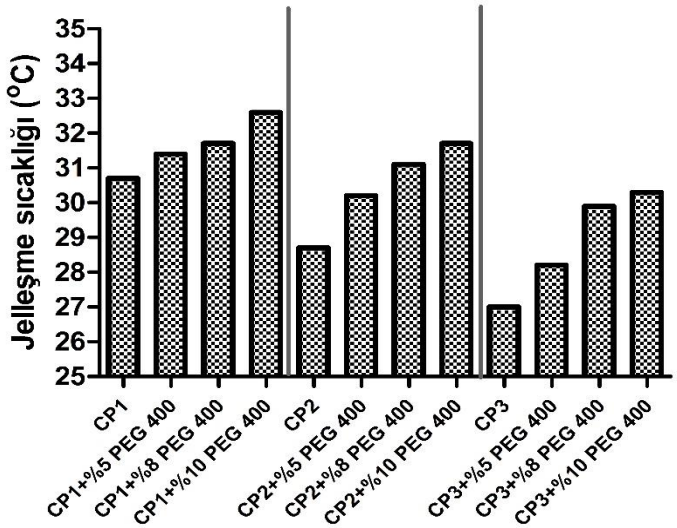
Formülasyon bileşiminde çeşitli eksipiyanlar kullanılmıştır. Bunlar sırasıyla; Carbopol 974P NF (CP), Hidroksietil selüloz (4000 MPa.s) (HC) ve Hidroksipropil metil selüloz (15000 MPa.s) (HPMC) (mukoadezif polimerler); Polietilen glikol 400 (PEG 400) (plastifiyan, kosolvan); benzalkonyum klorür (koruyucu); dekspantenol (nemlendirici); sodyum klorür (izotoni ayarlayıcı); sitrik asit ve trietanolamindir (pH ayarlayıcı).

Kosolvan etkili PEG 400, formülasyonlara %5, %8 ve %10 konsantrasyonlarında ilave edilmiştir. PEG 400'ün formülasyonların jelleşme sıcaklığı üzerine etkisi incelendiğinde, jelleşme sıcaklığını konsantrasyona bağımlı olarak, anlamlı derecede arttırdığı saptanmıştır (p<0,05) (Şekil 4.6).



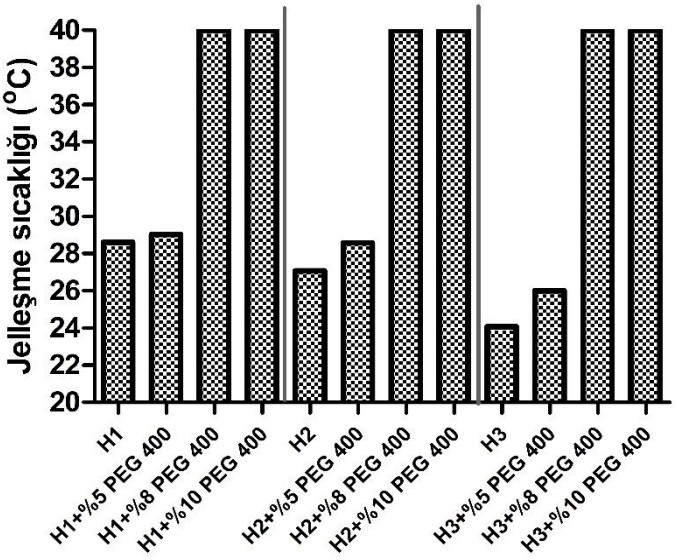
Şekil 4-6: PEG 400'ün jelleşme sıcaklığı üzerindeki etkisine ait bulgular.

Mukoadezyonu sağlamak amacıyla kullanılan CP 974P NF (%0,15/%0,25/%0,35), HC (%0,5/%1/%1,5) ve HPMC (%0,5/%1/%1,5) formülasyonlarda çeşitli konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Formülasyonlara, CP ilavesinin jelleme sıcaklığı üzerine etkisi incelendiğinde, jelleşme sıcaklığını konsantrasyona bağımlı olarak düşürdüğü görülmüştür. CP içeren formülasyonlara PEG 400 ilave edildiğinde ise jelleşme sıcaklığında beklenildiği gibi PEG 400 konsantrasyonuna bağlı düşüş gözlenmiştir. CP içeren tüm formülasyonlar, jelleşme sıcaklıkları bakımından nazal uygulamaya uygun bulunmuştur (Şekil 4.7).



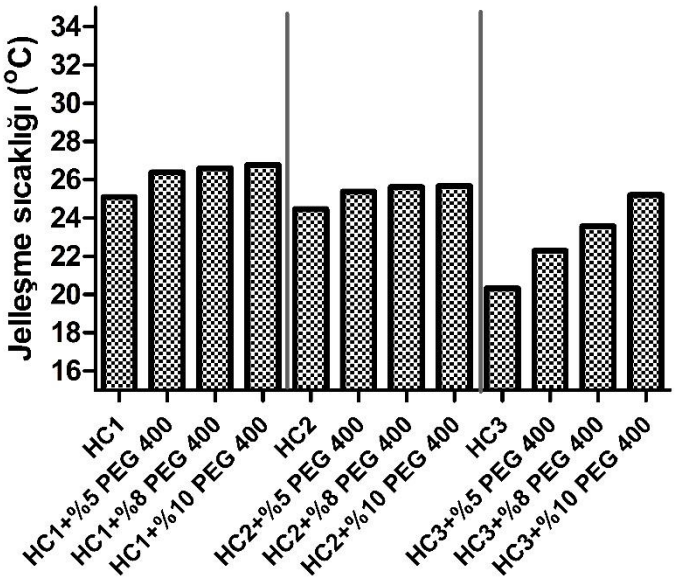
Şekil 4-7: CP içeren in situ jellerin jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular.

Formülasyonlara, HPMC ilavesinin jelleşme sıcaklığı üzerine etkisi incelendiğinde, jelleşme sıcaklığını konsantrasyona bağımlı olarak düşürdüğü görülmüştür. HPMC içeren formülasyonlara PEG 400 ilave edildiğinde ise jelleşme sıcaklığında beklenildiği gibi PEG 400 konsantrasyonuna bağlı düşüş gözlenmiştir. HPMC içeren formülasyonlardan, H1 (28,6°C), H2 (27,1°C), H1+%5 PEG 400 (29°C) ve H2+%5 PEG 400 (28,6°C), jelleşme sıcaklıkları bakımından nazal uygulamaya uygun bulunmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4-8: HPMC içeren in situ jellerin jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular.

Formülasyonlara, HC ilavesinin jelleşme sıcaklığı üzerine etkisi incelendiğinde, jelleşme sıcaklığında konsantrasyona bağımlı olarak keskin bir düşüş meydana getirdiği görülmüştür HC içeren formülasyonlara PEG 400 ilave edildiğinde ise jelleşme sıcaklığında beklenildiği gibi PEG 400 konsantrasyonuna bağlı anlamlı bir düşüş gözlenmiştir (p<0,05). HC içeren formülasyonlar, jelleşme sıcaklıkları bakımından nazal uygulamaya uygun bulunmamıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4-9: HPMC içeren in situ jellerin jelleşme sıcaklıklarına ait bulgular.

4.2.1.4. pH Tayinine Ait Bulgular

Yöntemler bölümünde anlatılan metoda göre elde edilen pH ölçümüne ait bulgular Tablo 4.15-4.17'de verilmiştir. Literatürde MF'nin stabil olduğu optimum aralığının pH 4-4,5 olduğu belirtilmiştir (Salgadol ve ark. 2010). Bu nedenle formülasyonların pH değerlerinin bu aralıkta olmasına dikkat edilmiştir.

Tablo 4-15: HPMC içeren formülasyonların pH değerlerine ait bulgular (n=3).

pH değeri / Formülasyon Kodu	1. ÖLÇÜM	2. ÖLÇÜM	3. ÖLÇÜM	Ortalama	SS
H1	4,47	4,46	4,46	4,46	0,00
H2	4,67	4,68	4,64	4,66	0,02
H3	4,50	4,53	4,51	4,51	0,01
H1+%5 PEG 400	4,38	4,40	4,40	4,39	0,01
H2+%5 PEG 400	4,18	4,19	4,20	4,19	0,01
H3+%5 PEG 400	4,00	4,01	4,04	4,02	0,02
H1+%8 PEG 400	4,56	4,58	4,60	4,58	0,02
H2+%8 PEG 400	4,00	4,03	4,03	4,02	0,01
H3+%8 PEG 400	4,56	4,58	4,57	4,57	0,01
H1+%10 PEG 400	4,00	3,98	4,03	4,00	0,02
H2+%10 PEG 400	4,60	4,59	4,61	4,60	0,01
H3+%10 PEG 400	4,17	4,18	4,18	4,18	0,00

Tablo 4-16: CP içeren formülasyonların pH değerlerine ait bulgular (n=3).

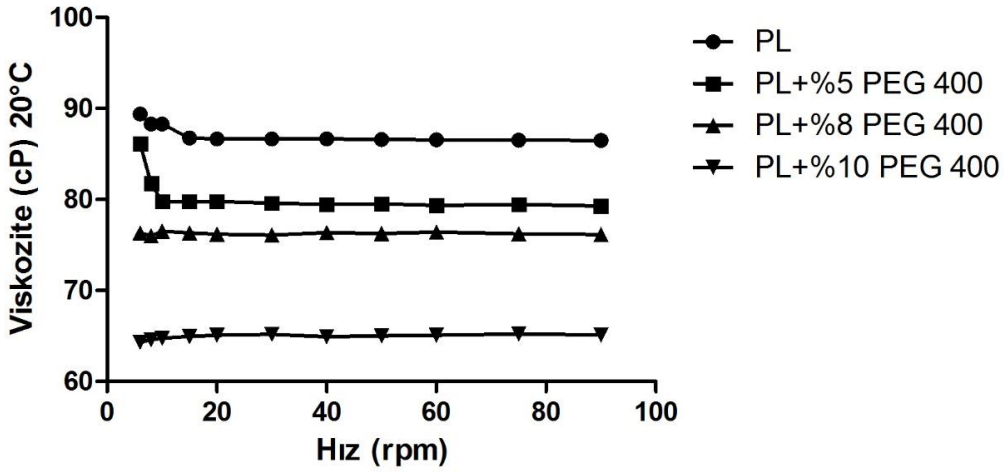
pH değeri / Formülasyon Kodu	1. ÖLÇÜM	2. ÖLÇÜM	3. ÖLÇÜM	Ortalama	SS
CP1	4,08	4,07	4,05	4,07	0,01
CP2	4,02	4,01	4,00	4,01	0,01
CP3	4,00	4,04	4,03	4,02	0,02
CP1+%5 PEG 400	4,08	4,09	4,07	4,08	0,01
CP2+%5 PEG 400	4,19	4,19	4,22	4,20	0,01
CP3+%5 PEG 400	4,41	4,43	4,40	4,41	0,01
CP1+%8 PEG 400	4,28	4,25	5,28	4,60	0,48
CP2+%8 PEG 400	4,16	4,19	4,17	4,17	0,01
CP3+%8 PEG 400	4,43	4,46	4,44	4,44	0,01
CP1+%10 PEG 400	4,25	4,26	4,26	4,26	0,00
CP2+%10 PEG 400	4,48	4,45	4,40	4,44	0,03
CP3+%10 PEG 400	4,12	4,16	4,13	4,14	0,02

Tablo 4-17: HC içeren formülasyonların pH değerlerine ait bulgular (n=3).

pH değeri / Formülasyon Kodu	1. ÖLÇÜM	2. ÖLÇÜM	3. ÖLÇÜM	Ortalama	SS
HC1	4,63	4,58	4,59	4,60	0,02
HC2	4,56	4,53	4,51	4,53	0,02
HC3	4,12	4,10	4,08	4,10	0,02
HC1+%5 PEG 400	4,38	4,41	4,41	4,40	0,01
HC2+%5 PEG 400	4,38	4,36	4,35	4,36	0,01
HC3+%5 PEG 400	4,25	4,26	4,28	4,26	0,01
HC1+%8 PEG 400	4,12	4,09	4,07	4,09	0,02
HC2+%8 PEG 400	4,18	4,19	4,21	4,19	0,01
HC3+%8 PEG 400	4,02	4,03	4,05	4,03	0,01
HC1+%10 PEG 400	4,28	4,29	4,25	4,27	0,02
HC2+%10 PEG 400	4,26	4,23	4,27	4,25	0,02
H3+%10 PEG 400	4,00	4,06	4,02	4,03	0,02

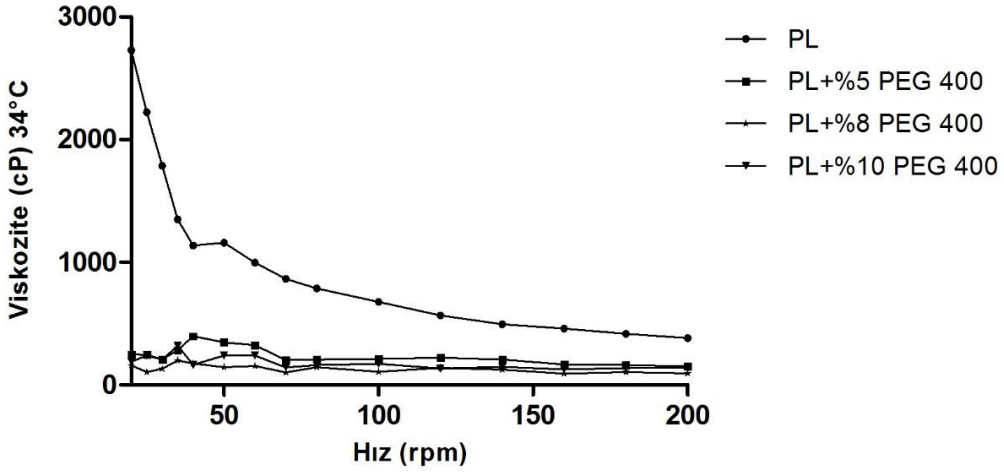
4.2.1.5. Reolojik Çalışmalara Ait Bulgular

Hazırlanan formülasyonların 20°C'de ve 34°C'de vizkoziteleri saptanarak, kayma hızına karşı viskozite grafikleri çizilmiştir. Ayrıca, Power low matematiksel modellemesi uygulanarak akış indesi (flow index) ve bütünlük indeksi (consistency index) saptanmıştır. Formülasyonlar nazal yoldan uygulanacağından, hastanın kullanım kolaylığı açısından oda sıcaklığında düşük viskoziteli ve likit formda olması, burun sıcaklığında (34°C) ise likit formdan jel forma geçerek mukoza ile temasının artması istenmektedir (Pund ve ark. 2013). Buna göre, PL407, PL407+%5 PEG400, PL407+%8 PEG400 ve PL407+%10 PEG 400 formülasyonlarının 20°C'deki akışları Newtonian tipi olmakla birlikte akış tipinin tayin edilmesini sağlayan akış indeksleri (n) sırasıyla 1, 0,982, 1 ve 0,99'dur. Bu değerler, formülasyonların 20°C'de viskozitelerinin çok düşük ve istenen kriterlere uygun olduğunu ispatlamaktadır (Şekil 4.10).



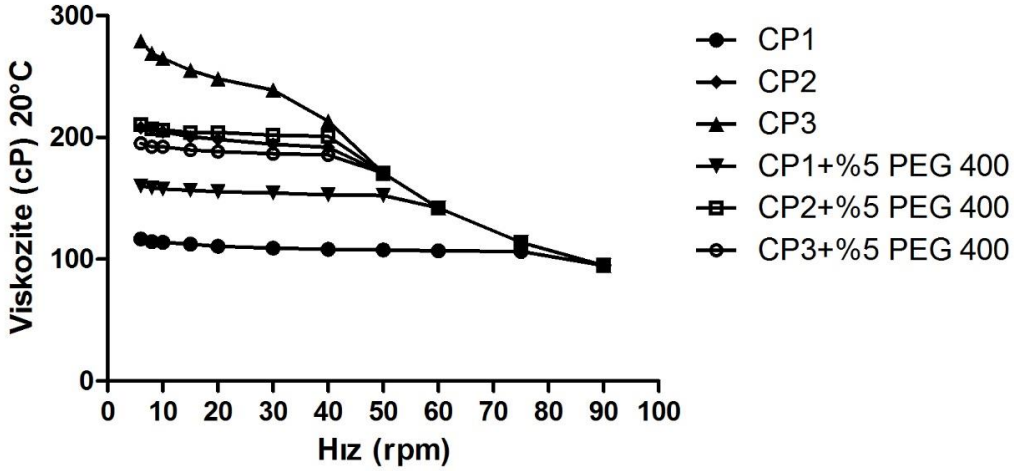
Şekil 4-10: PL407 içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular.

Formülasyonlar su banyosu üzerinde 34°C'ye getirildikten sonra viskozite değerleri tekrar ölçülmüştür. Elde edilen veriler, yalnızca PL407 formülasyonunun burun sıcaklığı olan 34°C'de Non-Newtonian akış tipine sahip olduğunu (n:0,188), diğerlerinin viskozite değerlerinin ise PEG 400 ilavesiyle konsantrasyona bağımlı olarak anlamlı derecede azaldığını (p<0,05) ve Newtonian akış tipine sahip olduklarını (sırasıyla n: 0,76; 0,816; 0,73) göstermektedir (Şekil 4.11).

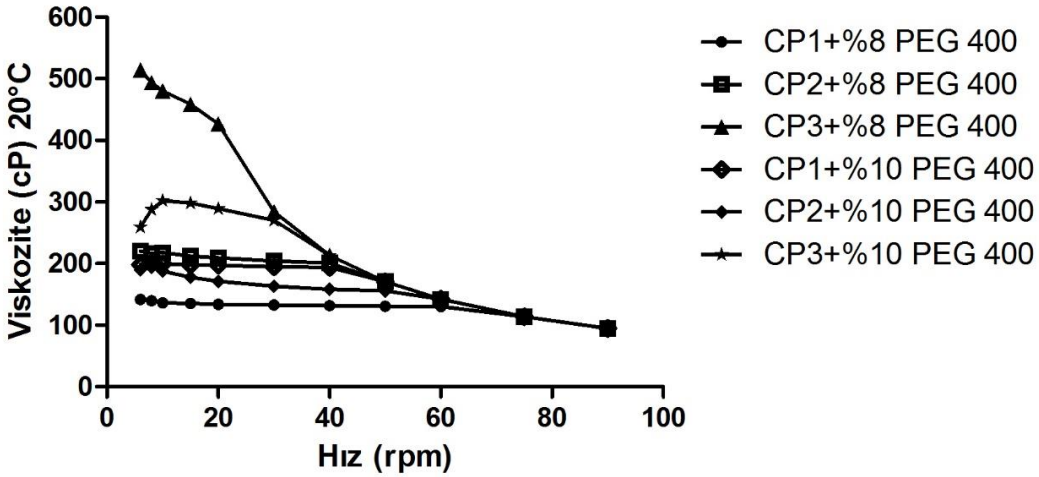


Şekil 4-11: PL407 içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular.

Formülasyonlara, CP ilavesinin viskozite üzerine etkisi incelendiğinde, 20°C'de tüm formülasyonların akış tipinin istenen şekilde Newtonian olduğu (n>0,5) ve CP içermeyen PL407 formülasyonuna kıyasla viskozitelerinin anlamlı dercede arttığı görülmüştür (p<0,05) (Şekil 4.12, 4.13).

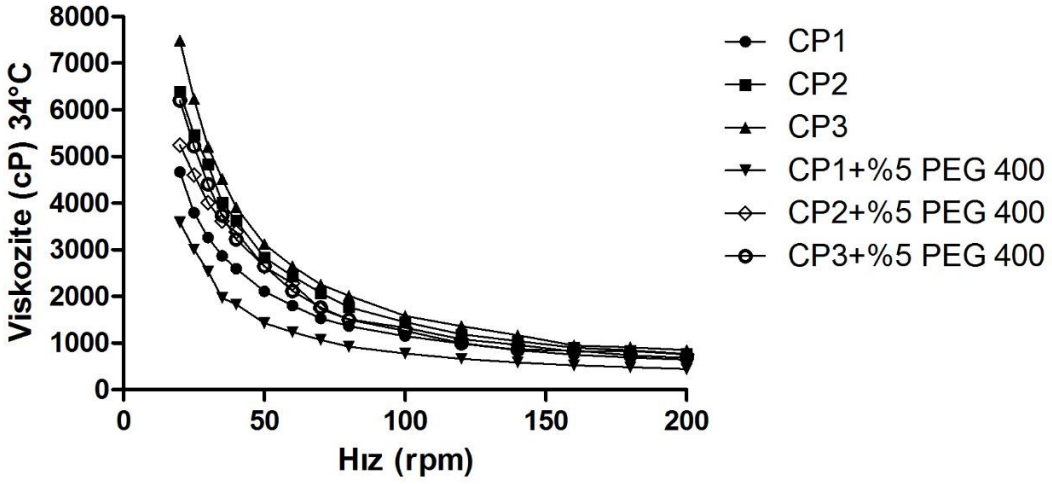


Şekil 4-12: CP içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular.

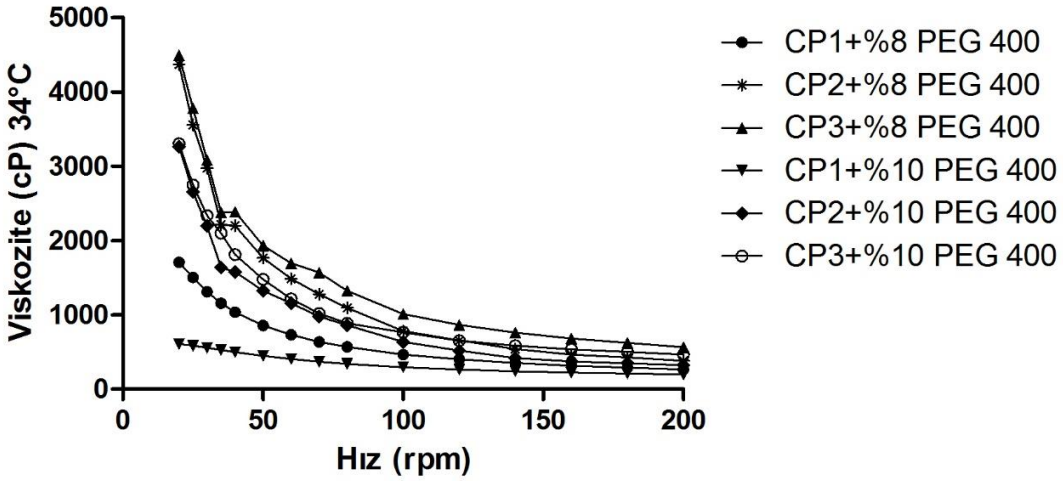


Şekil 4-13: CP içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı).

CP içeren formülasyonların 34°C'de viskoziteleri incelendiğinde ise 20°C'deki viskozitelerine kıyasla anlamlı derecede arttığı ve istenen şekilde Non-Newtonian akış tipi gösterdiği saptanmıştır (n<0,5) (Şekil 4.14, 4.15). Ayrıca, 34°C'de içeriğe CP ilavesinin PL407 formülasyonunun viskozitesini önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. Buna ilaveten, içeriğe eklenen PEG 400, CP formülasyonlarının viskozitesini konsantrasyona bağımlı olarak azaltmıştır.

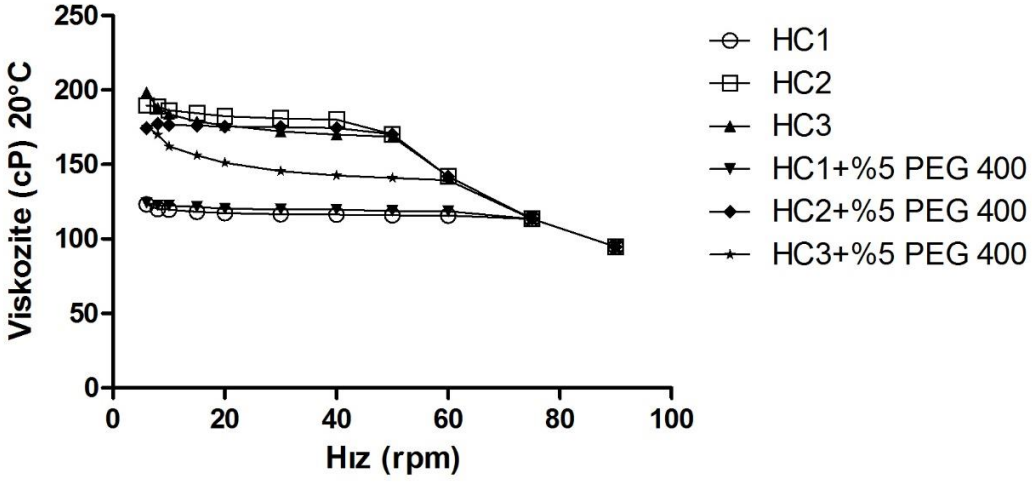


Şekil 4-14: CP içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular.

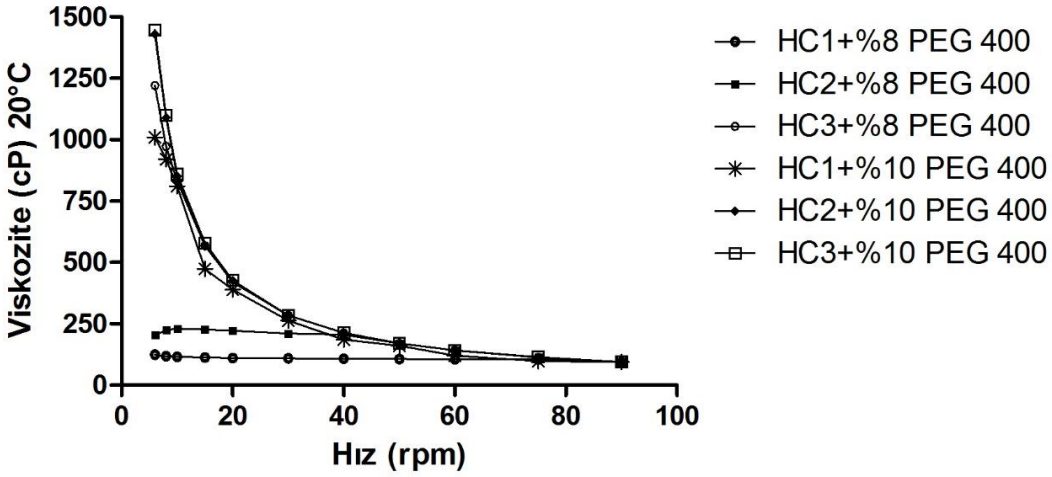


Şekil 4-15: CP içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı).

Formülasyonlara, HC ilavesinin viskozite üzerine etkisi incelendiğinde, 20°C'de, HC3+%8 PEG400, HC1+%10 PEG400, HC2+%10 PEG400, HC3+%10 PEG400 formülasyonları haricinde, kalan tüm formülasyonların istenen şekilde Newtonian olduğu (n>0,5) ve HC içeren formülasyonların, içermeyen PL407 formülasyonuna kıyasla viskozitelerinin anlamlı derecede arttığı saptanmıştır (p<0,05) (Şekil 4.16, 4.17).

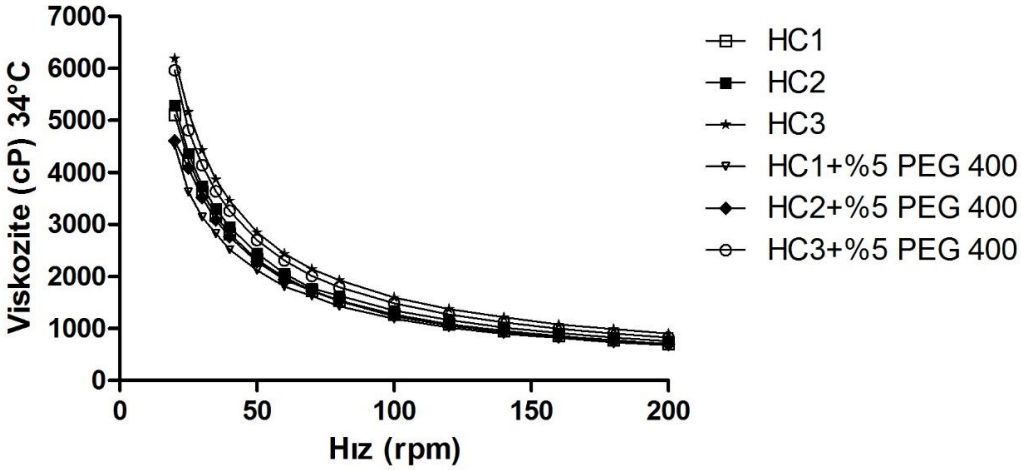


Şekil 4-16: HC içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular.

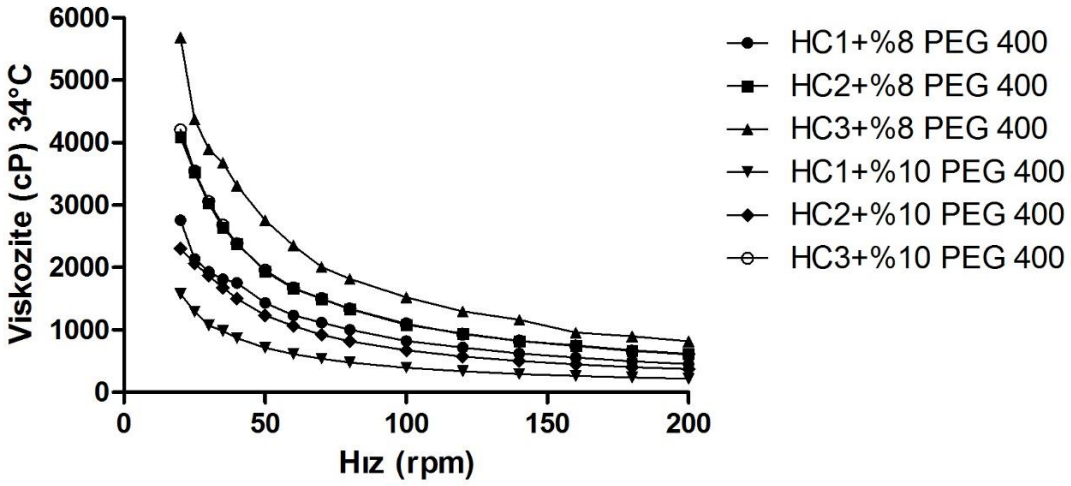


Şekil 4-17: HC içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı).

HC içeren formülasyonların 34°C'de viskoziteleri incelendiğinde, 20°C'deki viskozitelerine kıyasla anlamlı derecede arttığı ve istenen şekilde Non-Newtonian akış tipi gösterdiği saptanmıştır ($n<0,5$) ($p<0,05$) (Şekil 4.18, 4.19). Ayrıca, içeriğe HC ilavesinin, HC1+10 ve HC2+10 formülasyonları haricindeki tüm formülasyonlarda, PL407 formülasyonunun 34°C'deki viskozitesini önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. Buna ilaveten, içeriğe eklenen PEG 400, HC formülasyonlarının viskozitesini konsantrasyona bağımlı olarak azaltmıştır.

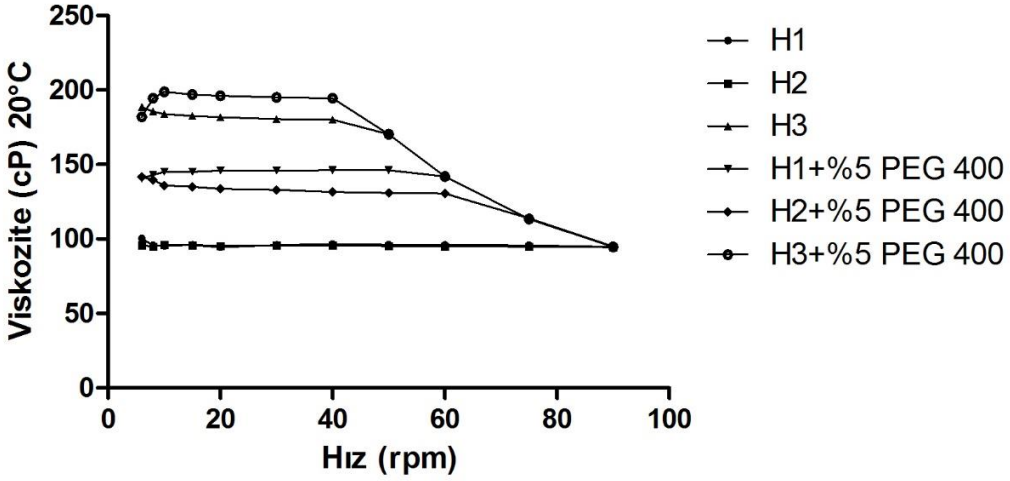


Şekil 4-18: HC içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular.

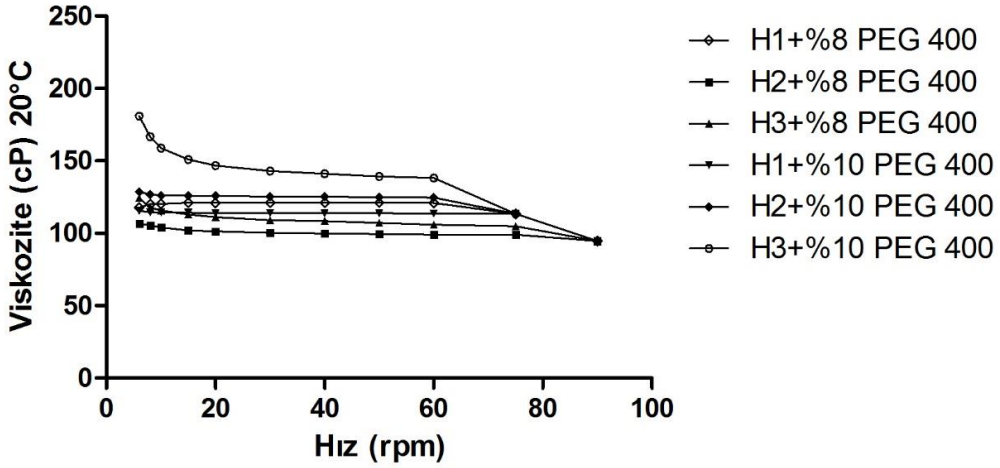


Şekil 4-19: HC içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı).

Formülasyonlara, HPMC ilavesinin viskozite üzerine etkisi incelendiğinde, 20°C'de, tüm formülasyonların istenen şekilde Newtonian olduğu (n>0,5) ve HPMC içermeyen PL407 formülasyonuna kıyasla viskozitelerinin arttığı saptanmıştır (Şekil 4.20, 4.21).

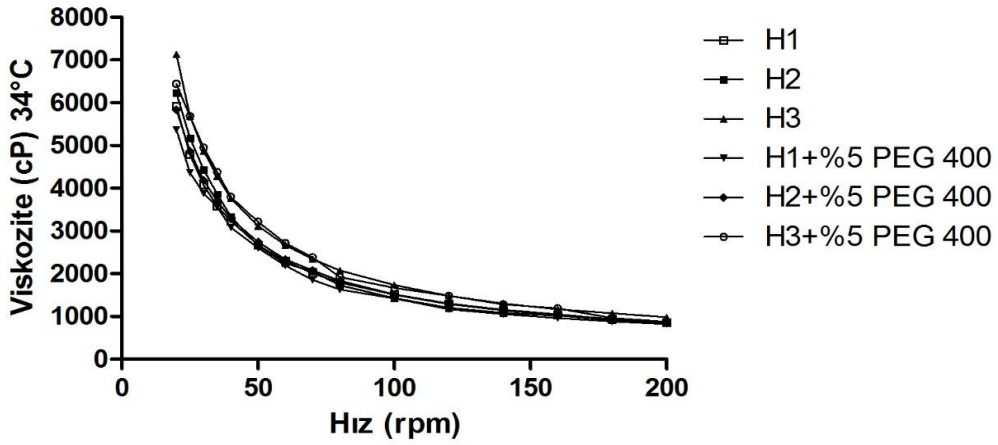


Şekil 4-20: HPMC içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular.

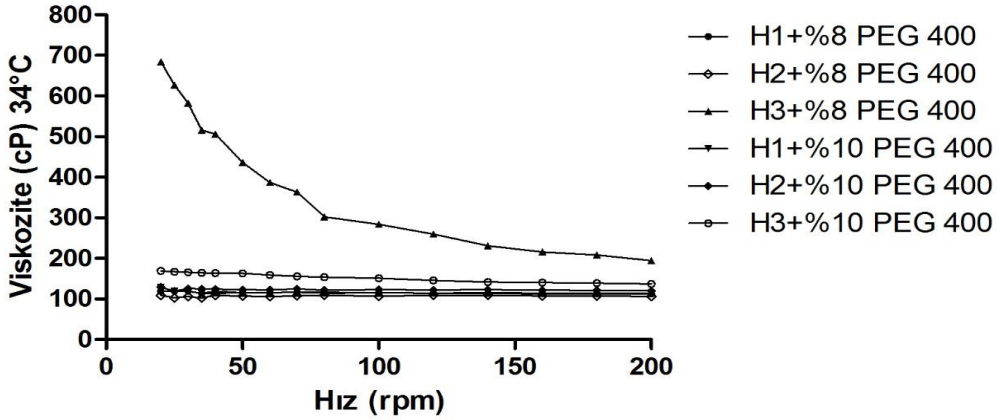


Şekil 4-21: HPMC içeren formülasyonların 20°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı).

HPMC içeren formülasyonların 34°C'de viskoziteleri incelendiğinde, 20°C'deki viskozitelerine kıyasla H1+%8 PEG 400, H2+%8 PEG 400, H3+%8 PEG 400, H1+%10 PEG 400, H2+%10 PEG 400 ve H3+%10 PEG 400 formülasyonlarının vizkozitelerinde anlamlı bir değişme görülmediği (p>0,05) ve çalışmamıza uygun jelleşme özelliği gösteremedikleri saptanmıştır. Geriye kalan H1, H2, H3, H1+%5 PEG 400, H2+%5 PEG 400 ve H3+%5 PEG 400 formülasyonlarının 34°C'de viskoziteleri incelendiğinde, 20°C'deki viskozitelerine kıyasla anlamlı derecede arttığı ve istenen şekilde Non-Newtonian akış tipi gösterdiği saptanmıştır (p<0,05) (n<0,5) (Şekil 4.22, 4.23).



Şekil 4-22: HPMC içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular.



Şekil 4-23: HPMC içeren formülasyonların 34°C'deki viskozite değerlerine ait bulgular (devamı).

Ayrıca, içeriğe HPMC ilavesinin 34°C'de, H1, H2, H3, H1+%5 PEG 400 ve H2+%5 PEG 400 ve H2+%5 PEG 400 formülasyonlarında, PL407 formülasyonunun viskozitesini önemli ölçüde arttırdığı görülürken (p<0,05), diğer formülasyonların viskoziteleri üzerine anlamlı derecede etki etmediği belirlenmiştir (p>0,05). Buna ilaveten, içeriğe eklenen PEG 400, HPMC formülasyonlarının viskozitesini konsantrasyona bağımlı olarak azaltmıştır.

4.2.1.6. Nazal In situ Jellerin Mekanik Özelliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

Formülasyonların burun sıcaklığındaki (34°C) mekanik özellikleri, Brookfield doku analiz cihazı kullanılarak saptandı. Elde edilen kuvvet-zaman eğrileri yardımıyla formülasyonların sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik ve koheziflik gibi mekanik özellikleri belirlenmiştir.

Elde edilen verilere göre, %18 (a/h) PL407 içeren formülasyona, PEG 400 ilave edildiğinde, konsantrayona bağlı olarak jelin tüm mekanik özelliklerinde (sıkıştırılabilirlik, sertlik, adeziflik, koheziflik) zayıflama saptanmıştır (Tablo 4.18).

Tablo 4-18: % 18 (a/h) PL407 içeren formülasyonların 34°C'deki mekanik özelliklerine ait bulgular.

Formülasyon kodu	Sertlik (N)	Sıkıştırılabilirlik (mJ)	Adeziflik (mJ)	Koheziflik
PL407	0,26±0,05	1,27±0,24	0,90±0,28	2,19±0,02
PL407+%5 PEG 400	0,18±0,02	0,13±0,05	0,37±0,05	1,58±0,13
PL407+%8 PEG 400	0,04±0,00	0,13±0,09	0,15±0,02	0,72±0,12
PL407+%10 PEG 400	0,03±0,01	0,10±0,00	0,07±0,05	0,65±0,08

Formülasyonlara CP ilave edildiğinde, polimer konsantrasyonu ile orantılı olarak jel sertliği, sıkıştırılabilirliği ve adezifliği artarken, koheziflik azalmıştır. Diğer yandan, CP içeren formülasyonlara PEG 400 ilave edildiğinde, %18 (a/h) PL407 içeren formülasyona benzer şekilde konsantrasyona bağlı olarak jelin tüm mekanik özelliklerinde zayıflama saptanmıştır (Tablo 4.19, 4.20).

Tablo 4-19: CP içeren formülasyonların 34°C'deki mekanik özelliklerine ait bulgular (n=3).

Formülasyon kodu	Sertlik (N)	Sıkıştırılabilirlik (mJ)	Adeziflik (mJ)	Koheziflik
CP1	0,26±0,03	1,15±0,05	0,99±0,08	1,17±0,02
CP1+%5 PEG 400	0,19±0,00	0,50±0,08	0,40±0,08	0,98±0,05
CP1+%8 PEG 400	0,04±0,01	0,17±0,05	0,09±0,01	0,93±0,04
CP1+%10 PEG 400	0,04±0,01	0,10±0,00	0,04±0,01	0,91±0,03
CP2	0,29±0,01	1,30±0,08	1,13±0,21	1,14±0,02
CP2+%5 PEG 400	0,22±0,00	0,73±0,09	0,60±0,08	0,98±0,11
CP2+%8 PEG 400	0,06±0,02	0,27±0,05	0,00±0,00	0,95±0,02
CP2+%10 PEG 400	0,04±0,01	0,10±0,00	0,00±0,00	0,88±0,18
CP3	0,37±0,03	2,15±0,05	1,60±0,20	1,01±0,07
CP3+%5 PEG 400	0,34±0,09	2,07±0,12	1,37±0,50	0,90±0,06
CP3+%8 PEG 400	0,31±0,01	2,07±0,09	1,33±0,26	0,61±0,04
CP3+%10 PEG 400	0,31±0,04	2,07±0,24	1,07±0,05	0,22±0,04

Formülasyonlara HPMC ve HC ilave edildiğinde de CP içeren formülasyonlara benzer şekilde, polimer konsantrasyonu ile orantılı olarak jel sertliğinin, sıkıştırılabilirliğinin ve adezifliğinin arttığı, kohezifliğin ise azaldığı görülmüştür. HPMC

ve HC içeren formülasyonlara PEG 400 ilave edildiğinde konsantrasyona bağlı olarak jelin tüm mekanik özelliklerinde zayıflama saptanmıştır (Tablo 4.20, 4.21).

Tablo 4-20: HPMC içeren formülasyonların 34°C'deki mekanik özelliklerine ait bulgular (n=3).

Formülasyon kodu	Sertlik (N)	Sıkıştırılabilirlik (mJ)	Adeziflik (mJ)	Koheziflik
H1	0,34±0,02	2,00±0,08	1,80±0,08	1,21±0,20
H1+%5 PEG 400	0,21±0,00	1,27±0,05	0,77±0,12	1,10±0,12
H1+%8 PEG 400	0,04±0,00	0,17±0,05	0,07±0,05	1,06±0,02
H1+%10 PEG 400	0,01±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,01±0,00
H2	0,33±0,02	2,23±0,12	1,90±0,08	1,11±0,03
H2+%5 PEG 400	0,28±0,01	1,87±0,12	1,57±0,09	1,10±0,10
H2+%8 PEG 400	0,04±0,00	0,20±0,00	0,12±0,02	0,87±0,08
H2+%10 PEG 400	0,05±0,00	0,12±0,02	0,06±0,02	1,04±0,00
H3	0,33±0,04	2,57±0,12	1,83±0,09	0,04±0,00
H3+%5 PEG 400	0,26±0,01	1,73±0,12	1,10±0,00	0,96±0,03
H3+%8 PEG 400	0,05±0,01	0,17±0,05	0,26±0,10	0,73±0,05
H3+%10 PEG 400	0,03±0,00	0,07±0,05	0,00±0,00	0,00±0,00

Tablo 4-21: HC içeren formülasyonların 34°C'deki mekanik özelliklerine ait bulgular (n=3).

Formülasyon kodu	Sertlik (N)	Sıkıştırılabilirlik (mJ)	Adeziflik (mJ)	Koheziflik
HC1	0,27±0,02	1,70±0,16	1,23±0,17	1,17±0,08
HC1+%5 PEG 400	0,26±0,01	1,70±0,14	1,00±0,08	1,13±0,29
HC1+%8 PEG 400	0,23±0,01	1,43±0,05	0,87±0,09	1,05±0,02
HC1+%10 PEG 400	0,14±0,00	0,53±0,05	0,50±0,10	0,98±0,12
HC2	0,37±0,02	2,30±0,16	1,90±0,14	1,05±0,02
HC2+%5 PEG 400	0,35±0,01	2,21±0,01	1,57±0,26	1,00±0,03
HC2+%8 PEG 400	0,30±0,03	1,80±0,16	1,50±0,10	0,93±0,06
HC2+%10 PEG 400	0,25±0,02	1,60±0,14	0,57±0,12	0,91±0,13
HC3	0,40±0,04	2,13±0,17	1,90±0,08	1,03±0,11
HC3+%5 PEG 400	0,36±0,02	2,09±0,15	1,27±0,19	0,94±0,07
HC3+%8 PEG 400	0,31±0,00	1,97±0,12	1,20±0,08	0,89±0,03
HC3+%10 PEG 400	0,16±0,02	0,43±0,09	0,27±0,09	0,38±0,02

Adeziflik, uygun jel teması ve uygulama bölgesinde kalış sağlar. Bu da ilacın biyoyararlanımının arttırılmasını temin etmektedir (Basu ve Bandyopadhyay 2011). Elde

edilen bulgulara göre adeziflik açısından formülasyonlar sırasıyla, HC>H>CP>PL407 şeklinde sıralanabilir. Jelin sertliği, jelden ilacın salım profilini belirmeyi sağlar (Basu ve Bandyopadhyay 2011). Bu nedenle optimum sertliğe sahip jeli seçmek önemlidir. Sertlik açısından formülasyonlar sırasıyla, HC>CP>H>PL407 şeklinde sıralanabilir.

Jelleşme sıcaklığı, reolojik değerlendirme ve mekanik özelliklere ait analiz sonuçları değerlendirildiğinde, ileriki çalışmalara CP içeren formülasyonların tümüyle, HPMC içeren formülasyonlardan, H1, H2, H1+5 ve H2+5 kodlu formülasyonlar ile devam edilmesi uygun görülmüştür.

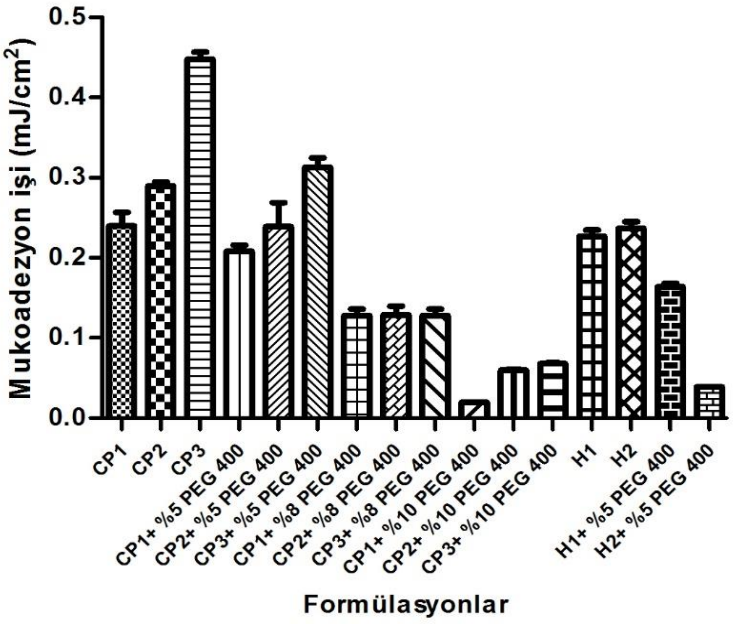
4.2.1.7. Ex vivo Mukoadezyon Kuvvetinin Saptanmasına Ait Bulgular

Brookfield doku analizi cihazıyla ayrılma kuvveti açısından belirlenen mukoadezyon kuvvetinin ağırlıklı olarak mukoadezif polimer konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Mukoza ile in situ jel arasındaki optimum temas süresini saptamak amacıyla 4 farklı temas süresi denenmiştir (1, 2, 5, 10 dk). Optimum temas süresi için 2 dk'lık sürenin yeterli olduğuna karar verildi ve temas süresinin arttırılmasıyla mukoadezyon kuvvetinde herhangi bir değişim olmadığı görüldü. Formülasyonların mukoadezyon kuvvetlerine ait elde edilen bulgular Tablo 4.22'de verilmiştir.

Tablo 4-22: Formülasyonların mukoadezyon çalışmalarına ait bulgular.

Mukoadezyon işi (mJ/cm^2) Formülasyon Kodu	1. ÖLÇÜM	2. ÖLÇÜM	3. ÖLÇÜM	Ortalama	SS
CP1	0,256	0,217	0,247	0,240	0,017
CP2	0,285	0,296	0,289	0,290	0,005
CP3	0,438	0,459	0,446	0,448	0,009
CP1+%5 PEG 400	0,197	0,217	0,209	0,208	0,008
CP2+%5 PEG 400	0,276	0,203	0,237	0,239	0,030
CP3+%5 PEG 400	0,316	0,326	0,296	0,313	0,012
CP1+%8 PEG 400	0,118	0,138	0,128	0,128	0,008
CP2+%8 PEG 400	0,119	0,123	0,144	0,129	0,011
CP3+%8 PEG 400	0,118	0,138	0,128	0,128	0,008
CP1+%10 PEG 400	0,020	0,020	0,020	0,020	0,000
CP2+%10 PEG 400	0,059	0,061	0,059	0,060	0,001
CP3+%10 PEG 400	0,068	0,066	0,069	0,068	0,001
H1	0,237	0,227	0,218	0,227	0,008
H2	0,228	0,247	0,237	0,237	0,008
H1+5 PEG 400	0,168	0,158	0,167	0,164	0,004
H2+5 PEG 400	0,039	0,039	0,039	0,039	0,000

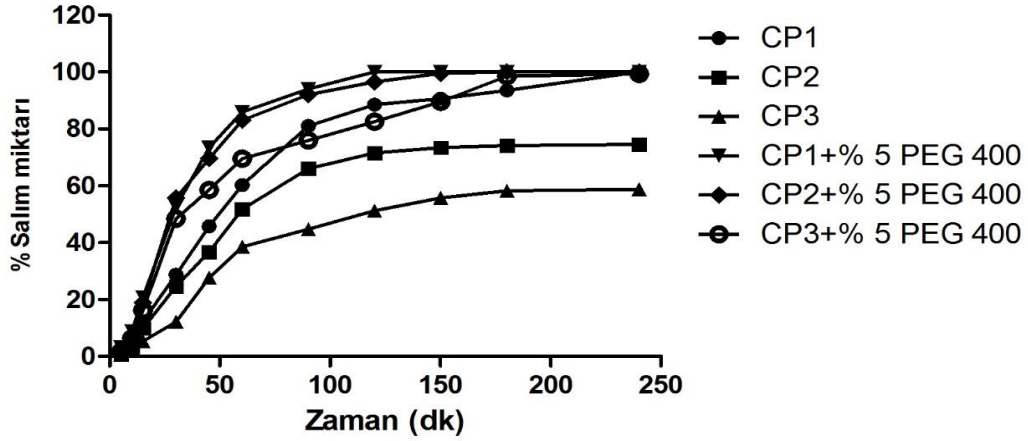
Elde edilen sonuçlara göre formülasyonlardaki mukoadezif polimer konsantrasyonu arttıkça mukoadezyon kuvvetinin de arttığı saptanmıştır. Formülasyonlara PEG 400 ilave edilmesinin ise aksine mukoadezyon kuvvetini düşürdüğü görülmüştür (Şekil 4.24).



Şekil 4-24: Formülasyonların mukoadezyon çalışmasına ait bulgular.

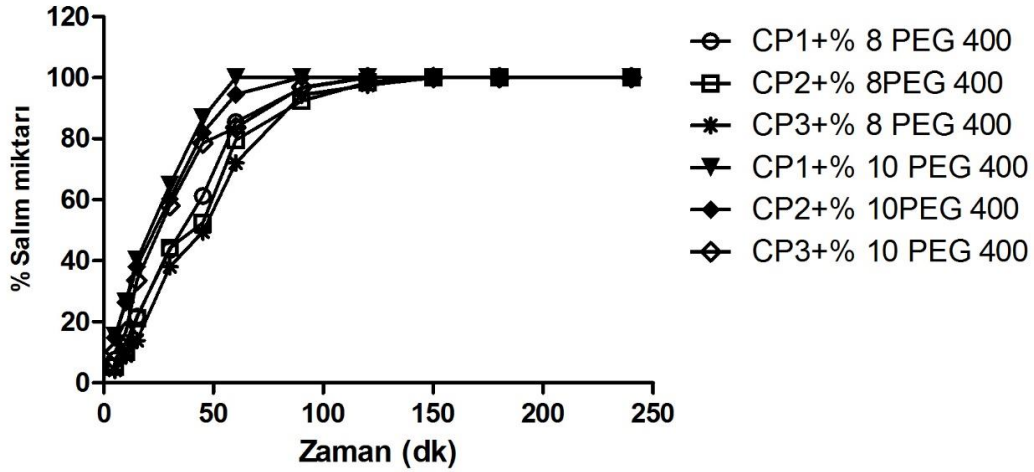
4.2.1.8. Nazal Jel Formülasyonlarının In vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

Hazırlanan formulasyonların in vitro salım çalışması metodlarda anlatıldığı şekilde diyaliz membran yöntemiyle yapıldı ve zamana karşı % salınan ilaç grafikleri çizilmiştir (Şekil 4.25-4.27).



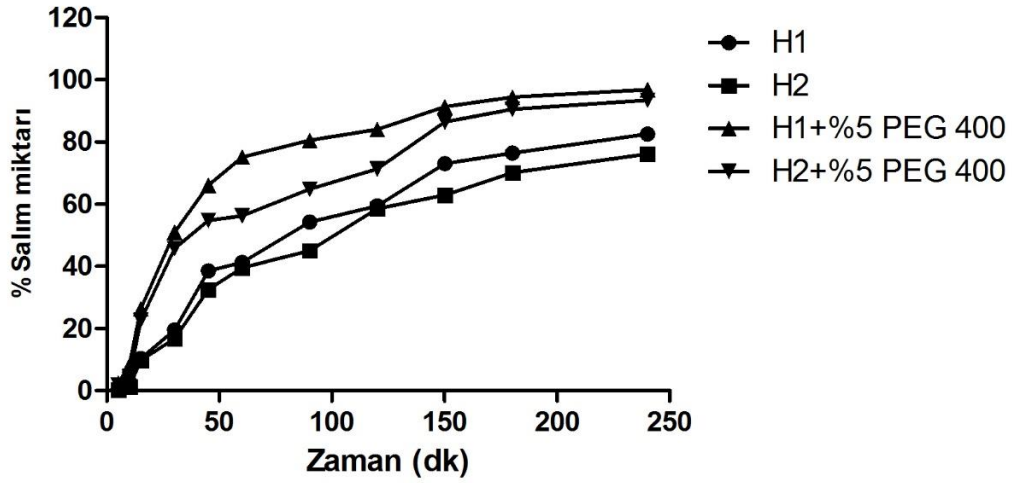
Şekil 4-25: CP içeren %18 PL407 nazal in situ jellerden mometazon furoatın salım profilleri* (n=3).

*Değerler 3 ölçümün ortalamasıdır. Grafiklerin netliği için hata çubukları grafikten çıkarılmıştır.



Şekil 4-26: CP içeren %18 PL407 nazal in situ jellerden mometazon furoatın salım profilleri* (devamı) (n=3).

*Değerler 3 ölçümün ortalamasıdır. Grafiklerin netliği için hata çubukları grafikten çıkarılmıştır.



Şekil 4-27: HPMC içeren %18 PL407 nazal in situ jellerden mometazon furoatın salım profilleri* (n=3).

*Değerler 3 ölçümün ortalamasıdır. Grafiklerin netliği için hata çubukları grafikten çıkarılmıştır.

In vitro salım çalışması sonuçlarına göre, MF'nin in situ jellerden salımının CP ve HPMC konsantrasyonu arttıkça azaldığı görülmüştür. Ancak formülasyonların salım hızları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05). CP1, CP2 ve CP3 formülasyonlarının 240 dk sonunda salım hızları sırasıyla %100, %74,60 ve %58,7 olarak saptanmıştır. Formülasyonlara PEG 400 ilavesi konsantrasyona bağımlı olarak in situ jellerden ilaç salımını hızlandırmıştır. CP1+%5 PEG 400, CP1+%8 PEG 400, CP1+%10 PEG 400, CP2+%10 PEG 400 ve CP3+%10 PEG 400 formülasyonlarından 120 dk sonunda etkin maddenin tümü açığa çıkmıştır.

H1, H2, H1+%5 PEG 400 ve H2+%5 PEG 400 formülasyonlarının 240 dk sonunda salım hızları ise sırasıyla %82,6, %76,2, %96,8 ve %93,4 olarak saptanmıştır.

4.2.1.9. Kinetik Parametrelerin Hesaplanmasına Ait Bulgular

Hazırlanan formülasyonlardan elde edilen salım kinetiği verileri Tablo 4.23'te gösterilmiştir.

Tablo 4-23: Formülasyonlara ait salım kinetiği parametreleri.

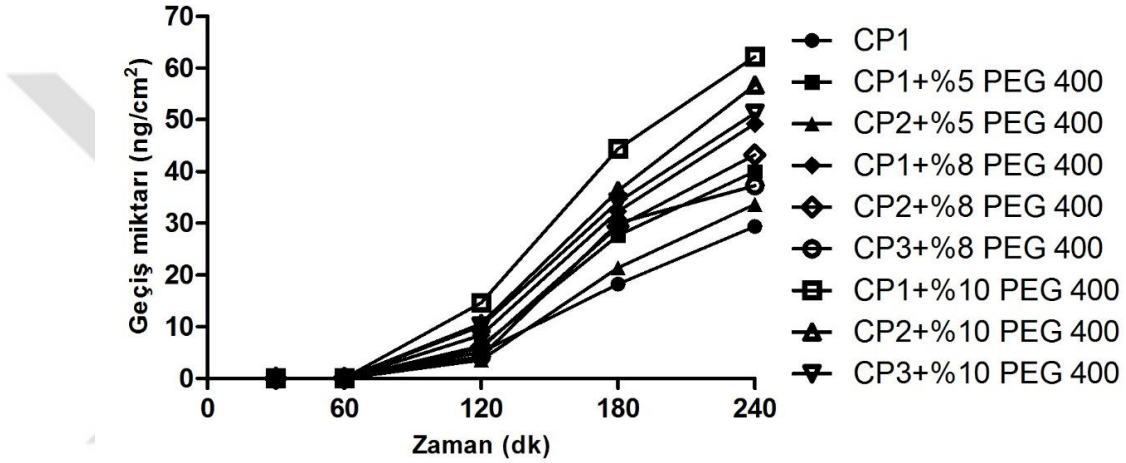
Formülasyon Kodu	Sıfır derece (r^2)	Birinci derece (r^2)	Higuchi (r^2)	Hixson-Crowell (r^2)	Korsmeyer-Peppas (r^2)	Korsmeyer-Peppas (n)	Transport tipi
CP1	0,7283	0,9775	0,9107	**0,9866**	0,9016	1,1194	Super case II transport
CP2	0,6535	**0,9436**	0,8865	0,9034	0,8793	1,1677	Super case II transport
CP3	0,7557	**0,9200**	0,8958	0,8837	0,9142	1,1765	Super case II transport
CP1+%5 PEG 400	0,3178	**0,9665**	0,8214	0,9642	0,8599	0,8651	Anomalous transport
CP2+%5 PEG 400	0,3741	0,9632	0,8316	**0,9635**	0,8389	0,9953	Anomalous transport
CP3+%5 PEG 400	0,5705	**0,9742**	0,9072	0,9465	0,8630	0,9895	Anomalous transport
CP1+%8 PEG 400	0,3741	0,9711	0,8523	**0,9809**	0,9217	0,7077	Anomalous transport
CP2+%8 PEG 400	0,4822	0,9731	0,8794	**0,9865**	0,9175	0,7836	Anomalous transport
CP3+%8 PEG 400	0,5854	0,9632	0,8818	**0,9834**	0,9334	0,8668	Anomalous transport
CP1+%10 PEG 400	0,4574	**0,9829**	0,6325	0,8255	0,8608	0,4813	Anomalous transport
CP2+%10 PEG 400	0,3017	**0,9896**	0,7013	0,8790	0,8834	0,4924	Anomalous transport
CP3+%10 PEG 400	0,0415	**0,9883**	0,7928	0,9441	0,8809	0,5998	Anomalous transport
H1	0,8369	**0,9843**	0,9302	0,9698	0,9001	1,1849	Super case II transport
H2	0,8567	**0,9815**	0,9266	0,9647	0,8748	1,3443	Super case II transport
H1+%5 PEG 400	0,3670	**0,9716**	0,8668	0,9488	0,8319	0,8683	Anomalous transport
H2+%5 PEG 400	0,6015	**0,9560**	0,9253	0,9255	0,8452	0,9445	Anomalous transport

r^2: korelasyon katsayısı

n: Korsmeyer-Peppas modelinde salım exponenti

4.2.1.10. Ex vivo Geçiş Çalışmasına Ait Bulgular

In vitro salım çalışmasında 240 dk sonunda etkin maddenin tümünü salan formülasyonlar ex vivo geçiş çalışması için seçilmiştir (CP1, CP1+%5 PEG 400, CP2+%5 PEG 400, CP1+%8 PEG 400, CP2+%8 PEG 400, CP3+%8 PEG 400, CP1+%10 PEG 400, CP2+%10 PEG 400, CP3+%10 PEG 400). Metodlar bölümünde anlatılan yönteme göre yapıla ex vivo salım çalışmaları sonuçları Şekil 4.28'de görülmektedir.



Şekil 4-28: Mometazon furoat içeren in situ jellerin nazal mukozadan permeasyon profilleri (n=6).

Elde edilen sonuçlar geliştirilen in situ jellerin nazal uygulama için güvenilir olduğunu ve 240 dakika sonundaki nazal mukozadan geçen MF miktarının en yüksek CP1+%10 PEG 400 formülasyonu ile elde edildiğini (62,129 ng/cm^2, % 0,031±0,12) göstermektedir.

4.2.1.11. Fizikokimyasal Stabilite Testlerine Ait Bulgular

Seçilen formülasyonlar (CP1, CP1+% 5 PEG 400, CP2+% 5 PEG 400, CP1+% 8 PEG 400, CP2+% 8PEG 400, CP3+% 8 PEG 400) üzerinde metodlar bölümünde anlatılan yönteme göre yürütülen fizikokimyasal stabilite testleri sonucunda saklama koşulları olan buzdolabı (2-8°C), oda sıcaklığı (25°C±2°C/% 60 ±% 5 nem) ve iklimlendirme kabininde (40°C±2°C/% 75 ±% 5 nem) 3 ay boyunca ilaç içeriği %98-102 arasında saptanmıştır. Tüm formülasyonların pH değerleri stabilite testleri süresince sabit kalmıştır (Tablo 4.23-4.25). Ayrıca 3 farklı saklama koşulunda bekletilen formülasyonların tümünde 20°C ve

34°C'deki viskozite değerleri açısından anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir (p>0,05). Elde edilen stabilite bulgularına göre test süresince tüm formülasyonlar fizikokimyasal açıdan dayanıklı bulunmuştur.

Tablo 4-24: Formülasyonların 25°C'deki fizikokimyasal stabilitelerine ait bulgular.

Formülasyon kodu	pH (n=3)				İlaç içeriği (%) (ortalama±SS) (n=3)			
	1. gün	1. ay	2. ay	3. ay	1. gün	1. ay	2. ay	3. ay
CP1	4,07	4,09	4,10	4,08	99.83±0.205	99.52±0.102	99.10±0.278	98.19±0.068
CP1+% 5 PEG 400	4,08	4,09	4,11	4,12	98.18±0.014	98.35±0.119	97.92±0.098	98.09±0.075
CP2+% 5 PEG 400	4,20	4,22	4,23	4,22	99.71±0.172	98.63±0.256	98.72±0.076	98.04±0.162
CP1+% 8 PEG 400	4,60	4,61	4,60	4,64	99.18±0.106	97.28±0.096	97.79±0.269	98.32±0.146
CP2+% 8PEG 400	4,17	4,20	4,19	4,21	98.36±0.031	98.59±0.328	98.47±0.364	98.11±0.396
CP3+% 8 PEG 400	4,44	4,45	4,47	4,46	98.42±0.104	98.29±0.155	98.54±0.147	98.63±0.264

Tablo 4-25: Formülasyonların 4°C'deki fizikokimyasal stabilitelerine ait bulgular.

Formülasyon kodu	pH (n=3)				İlaç içeriği (%) (ortalama±SS) (n=3)			
	1. gün	1. ay	2. ay	3. ay	1. gün	1. ay	2. ay	3. ay
CP1	4,07	4,10	4,11	4,13	99.83±0.205	98.55±0.015	99.00±0.051	98.02±1.021
CP1+% 5 PEG 400	4,08	4,09	4,09	4,07	98.18±0.014	98.82±0.130	98.91±0.102	98.42±0.124
CP2+% 5 PEG 400	4,20	4,21	4,23	4,23	99.71±0.172	98.63±0.145	98.64±0.108	98.41±0.352
CP1+% 8 PEG 400	4,60	4,63	4,62	4,58	99.18±0.106	99.27±0.023	98.45±0.035	98.49±0.427
CP2+% 8PEG 400	4,17	4,17	4,19	4,20	98.36±0.031	98.31±0.067	98.18±0.054	98.21±0.623
CP3+% 8 PEG 400	4,44	4,47	4,48	4,43	98.42±0.104	98.36±0.110	97.45±0.082	98.09 ± 0.082

Tablo 4-26: Formülasyonların 40°C'deki fizikokimyasal stabilitelerine ait bulgular.

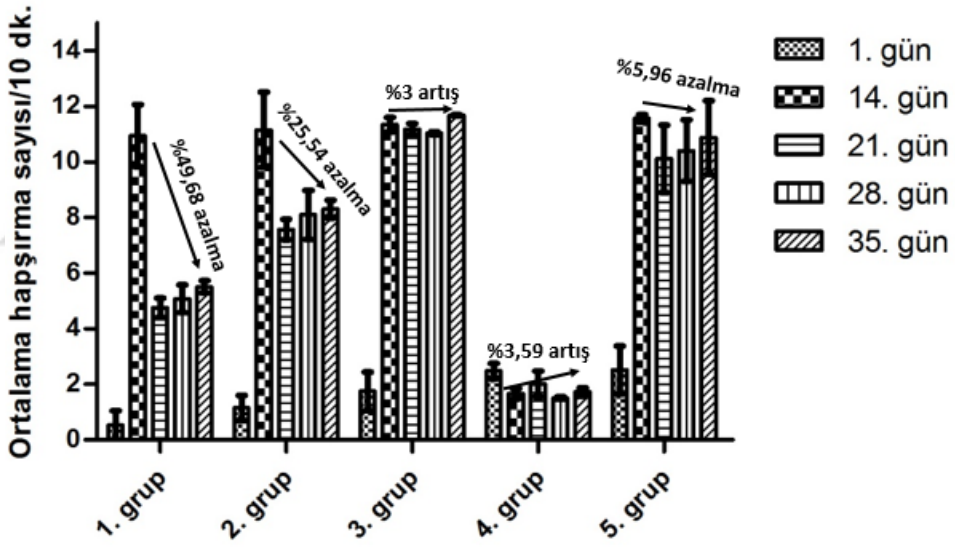
Formülasyon kodu	pH (n=3)				İlaç içeriği (%) (ortalama±SS) (n=3)			
	1. gün	1. ay	2. ay	3. ay	1. gün	1. ay	2. ay	3. ay
CP1	4,07	4,10	4,08	4,08	99.83±0.205	98.95±0.201	98.05±0.187	98.59±0.496
CP1+% 5 PEG 400	4,08	4,05	4,07	4,09	98.18±0.014	98.23±0.089	98.26±0.129	98.52±0.294
CP2+% 5 PEG 400	4,20	4,23	4,19	4,22	99.71±0.172	99.79±0.267	99.89±0.204	98.15±0.175
CP1+% 8 PEG 400	4,60	4,63	4,61	4,64	99.18±0.106	98.02±0.823	97.92±0.327	97.26±0.103
CP2+% 8PEG 400	4,17	4,19	4,21	4,18	98.36±0.031	98.13±0.278	98.38±0.482	97.97±0.597
CP3+% 8 PEG 400	4,44	4,41	4,42	4,40	98.42±0.104	98.16±0.367	98.45±0.424	97.23 ± 0.474

4.2.2. In vivo Çalışmalara Ait Bulgular

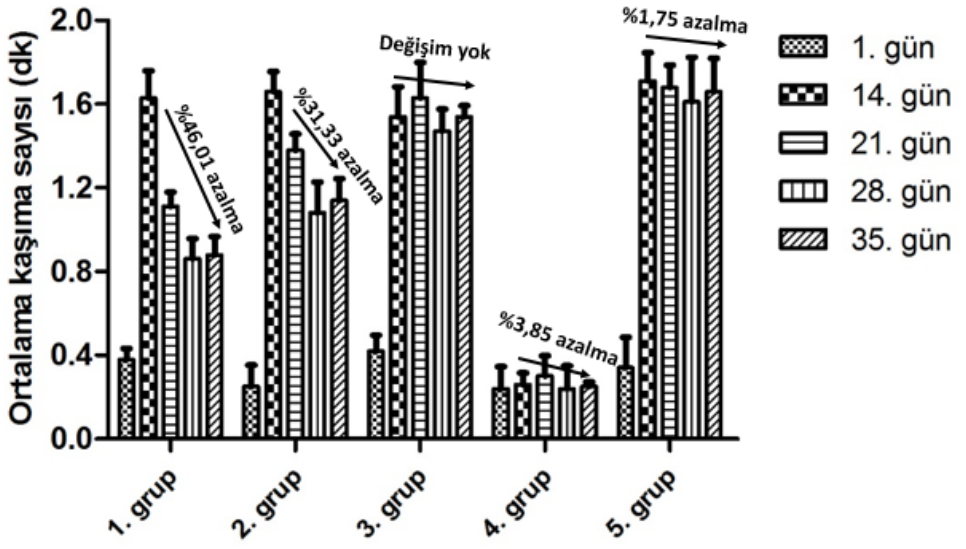
In vivo çalışmalarda deney hayvanlarına uygulanmak üzere test ürünü olarak CP2+%5 PEG400 kodlu formülasyon seçilmiştir. Bu formülasyon istenen Tsol-jel sıcaklığına sahip (30,2±0,24) olmakla birlikte 3 ay boyunca saklama koşullarında fizikokimyasal açıdan (vikozite, % ilaç içeriği ve pH) stabil olup, optimum in vitro salım hızı (T%100 180 dk) ve mukoadezyon kuvveti (0,289±0,0069 mJ) gösterdiğinden dolayı çalışma için uygun bulunmuştur.

4.2.2.1. Semptomların Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Semptomların değerlendirilmesi metodlar bölümünde anlatılan yönteme göre yürütülmüştür. Ortalama hapşırma (10 dk) ve kaşıma sayıları (1 dk) sayıları ile ilgili gruplar arası karşılaştırma yapılmıştır (Şekil 4.29-4.30).



Şekil 4-29: Ortalama hapşırma sayılarına ait bulgular (n=8).



Şekil 4-30: Ortalama kaşıma sayılarına ait bulgular (n=8).

14 günlük OVA enjeksiyonu uygulanmasıyla, 1., 2., 3. ve 5. gruplarda, hapşırma, ve burun kaşıma gibi tipik AR semptomlarında 1. güne kıyasla anlamlı derecede artış gözlenmiştir (p<0,05). Bu belirtilere uygulama yapılmayan 4. grupta rastlanmamıştır. Bu da AR modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğunu göstermektedir.

İlaç uygulamasını takiben 21. günde 14. güne kıyasla hapşırma sayısında MF içeren in situ jel uygulanan 1. grupta % 56,53 oranında azalma görülürken, MF içeren süspansiyon uygulanan 2. grupta % 32,17 oranında azalma saptanmıştır. Serum fizyolojik uygulanan 3. grupta % 1,41 azalma, uygulama yapılmayan 4. grupta %20,96 artış ve ilaç uygulaması yapılmayan AR oluşturulan 5. grupta ise % 12,53 oranında bir azalma gözlenmiştir (Tablo 4.26).

Tablo 4-27: Hapşırma sayısında 14. gün ile 21. gün arasındaki kıyaslamaya ait bulgular.

Grup No	14. gün	21. gün	Ortalama Varyasyon	% Değişim
1. grup	10,95	4,76	-6,19	**56,53**
2. grup	11,16	7,57	-3,59	**32,17**
3. grup	11,34	11,18	-0,16	**1,41**
4. grup	1,67	2,02	0,35	**20,96**
5. grup	11,57	10,12	-1,45	**12,53**

İlaç uygulamasını takiben 35. günde 14. güne kıyasla hapşırma sayısında MF içeren in situ jel uygulanan 1. grupta % 49,68 oranında azalma görülürken, MF içeren süspansiyon uygulanan 2. grupta % 25,54 oranında azalma saptanmıştır. Serum fizyolojik uygulanan 3. grupta % 3,00 artış, uygulama yapılmayan 4. grupta %3,59 artış ve ilaç uygulaması yapılmayan AR oluşturulan 5. grupta ise % 5,96 oranında bir azalma gözlenmiştir (Tablo 4.27).

Tablo 4-28: Hapşırma sayısında 14. gün ile 35. gün arasındaki kıyaslamaya ait bulgular.

Grup No	14. gün	35. gün	Ortalama Varyasyon	% Değişim
1. grup	10,95	5,51	-5,44	**49,68**
2. grup	11,16	8,31	-2,85	**25,54**
3. grup	11,34	11,68	+0,34	**3,00**
4. grup	1,67	1,73	+0,06	**3,59**
5. grup	11,57	10,88	-0,69	**5,96**

İlaç uygulamasını takiben 21. günde 14. güne kıyasla burun kaşıma sayısında ise MF içeren in situ jel uygulanan 1. grupta % 31,90 oranında azalma görülürken, MF içeren süspansiyon uygulanan 2. grupta % 16,88 oranında azalma saptanmıştır. Serum fizyolojik uygulanan 3. grupta % 5,84 artış, uygulama yapılmayan 4. grupta %15,38 artış ve ilaç uygulaması yapılmayan AR oluşturulan 5. grupta ise % 1,75 oranında bir azalma gözlenmiştir (Tablo 4.28).

Tablo 4-29: Burun kaşıma sayısında 14. gün ile 21. gün arasındaki kıyaslamaya ait bulgular.

Grup No	14. gün	21. gün	Ortalama Varyasyon	% Değişim
1. grup	1,63	1,11	-0,52	**31,90**
2. grup	1,66	1,38	-0,28	**16,88**
3. grup	1,54	1,63	+0,09	**5,84**
4. grup	0,26	0,30	+0,04	**15,38**
5. grup	1,71	1,68	-0,03	**1,75**

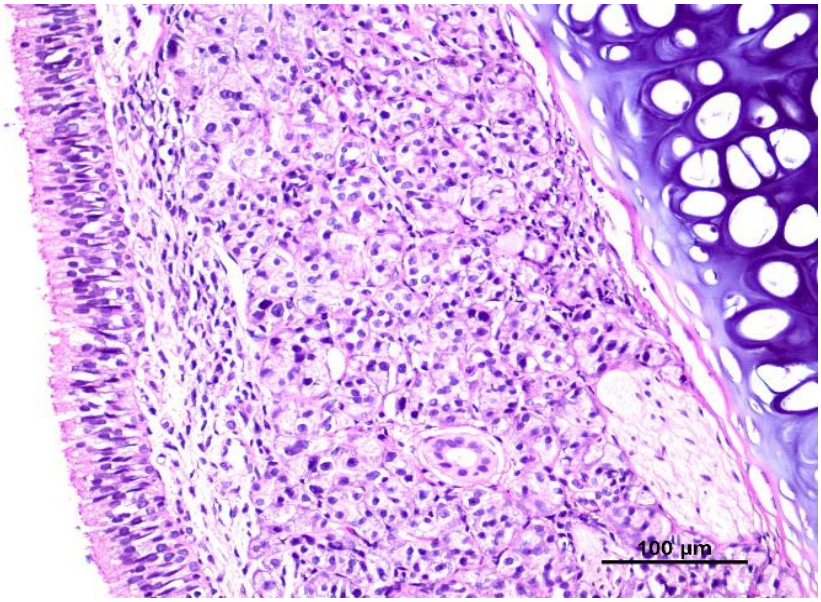
İlaç uygulamasını takiben 35. günde 14. güne kıyasla burun kaşıma sayısında MF içeren in situ jel uygulanan 1. grupta % 46,01 oranında azalma görülürken, MF içeren süspansiyon uygulanan 2. grupta % 31,33 oranında azalma saptanmıştır. Serum fizyolojik uygulanan 3. grupta herhangi bir değişim görülmezken, uygulama yapılmayan 4. grupta %3,85 azalma ve ilaç uygulaması yapılmayan AR oluşturulan 5. grupta ise % 1,75 oranında bir azalma gözlenmiştir (Tablo 4.29).

Tablo 4-30: Burun kaşıma sayısında 14. gün ile 35. gün arasındaki kıyaslamaya ait bulgular.

Grup No	14. gün	35. gün	Ortalama Varyasyon	% Değişim
1. grup	1,63	0,88	-0,75	**-46,01**
2. grup	1,66	1,14	-0,52	**-31,33**
3. grup	1,54	1,54	0	**0,00**
4. grup	0,26	0,25	-0,01	**-3,85**
5. grup	1,71	1,68	-0,03	**-1,75**

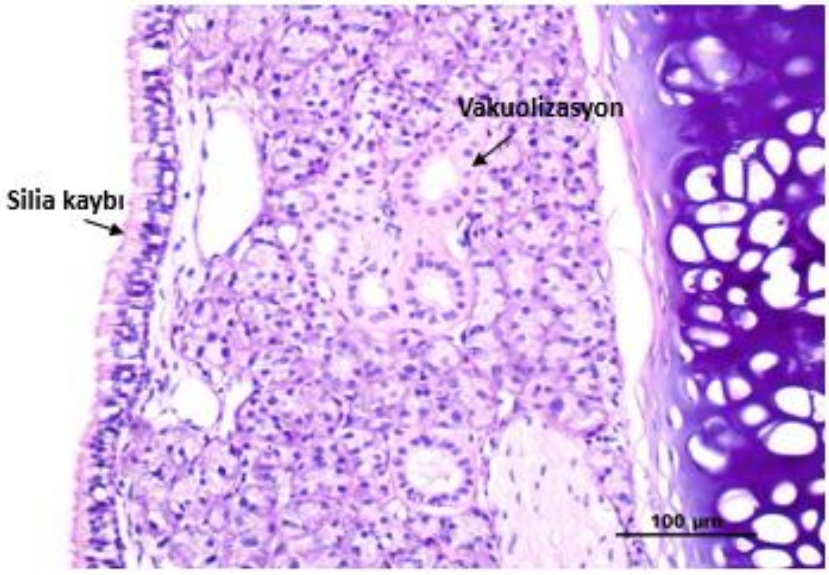
4.2.2.2. Histolojik Değerlendirmeye Ait Bulgular

Hemotoksilen boyama sonuçlarına göre herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubundaki hayvanlardan (4. grup) alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsünde yalancı çok katlı prizmatik epitelin normal yapısında olduğu ve mukoza yüzeyini kapladığı görülmüştür. Epitel yüzeyinde bulunan kinosilyumların düzenli ve kesintisiz olarak yerleşim gösterdiği saptanmıştır. Epitel altındaki lamina propriyanın gevşek bağ dokusu içinde damarlar ve bezlere ait asinüs ve kanallar görülmektedir. Mukoza altında septuma ait hiyalin kıkırdak yerleşim göstermektedir (Şekil 4.31).



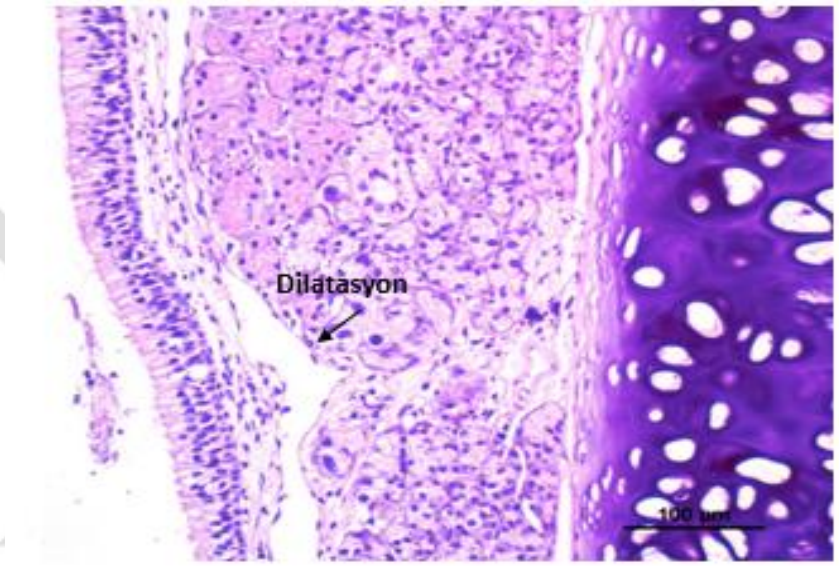
Şekil 4-31: Kontrol grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm).

AR oluşturulmuş ve ilaç uygulaması yapılmayan hayvanlardan (5. grup) alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsünde, mukoza yüzeyindeki epitelde hücrelerde vakuolizasyon ve hücrelerarası alanın yer yer genişlediği görülmüştür. Lamina propriya içerisinde damarlarda dilatasyon tespit edilmiştir. Mukoza içerisindeki bezlere ait asinüslerde yer yer vakuolizasyon saptanmıştır (Şekil 4.32).



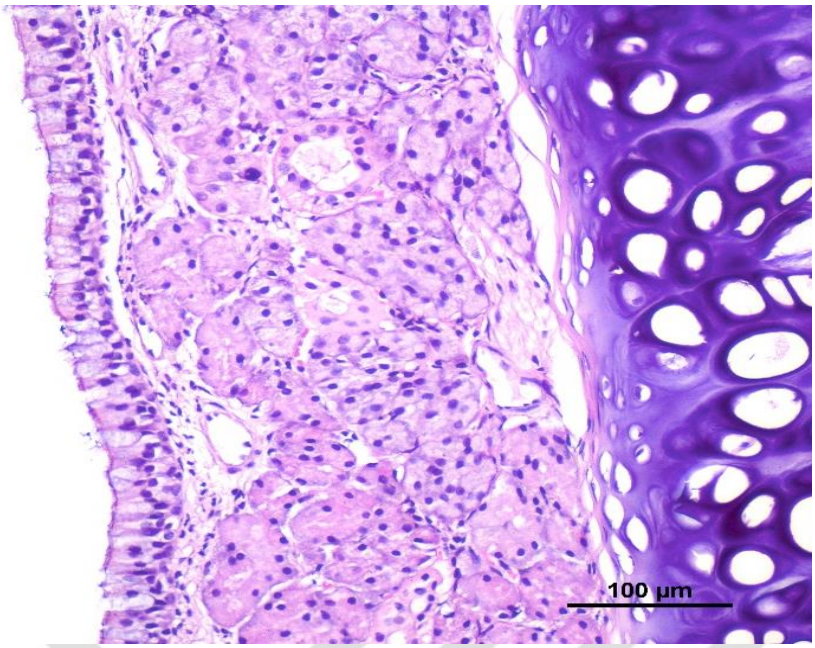
Şekil 4-32: Alerjik Rinit grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm).

AR sonrası serum fizyolojik verilen plasebo grubuna (3. grup) ait hayvanlardan alınan septum örneğinde mukoza yüzeyindeki epitelde hücrelerarası alanın yer yer genişlediği görülmüştür. Lamina propriya içerisinde damarlarda dilatasyon tespit edilmiştir. Mukoza içerisindeki bezlere ait asinüslerde vakuolizasyon saptanmıştır (Şekil 4.33).



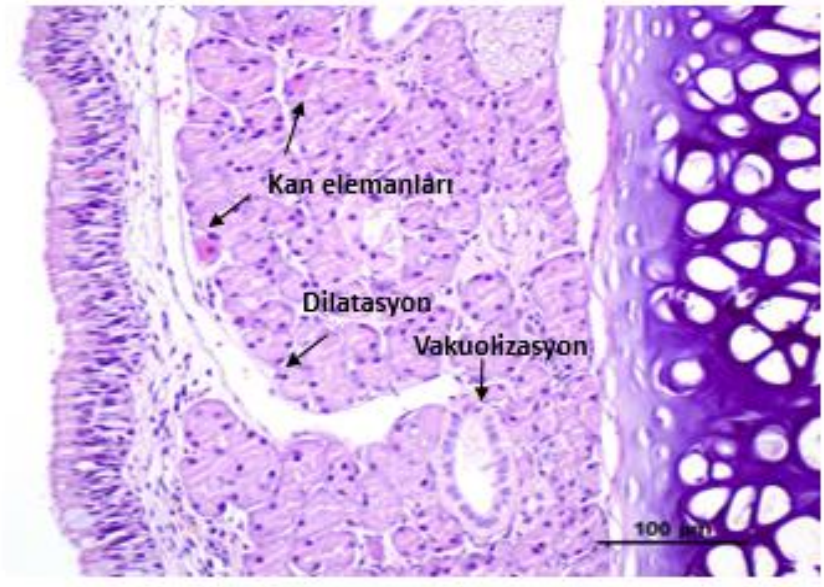
Şekil 4-33: Plasebo grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm).

AR sonrası MF içeren in situ jel verilen gruba (1. grup) ait hayvanlardan alınan septum örneğinde mukoza yüzeyindeki epitelin normal yapısında mukoza yüzeyini kapladığı görülmüştür. Epitel altındaki lamina propriyanın gevşek bağ dokusu içinde damarlar ve bezlere ait asinüs ve kanallar görülmektedir. AR gurubunda (5. grup) asinüslerde görülen vakuolizasyon ve damarlarda oluşan dilatasyon, in situ jel uygulaması sonrası görülmemiştir. Mukoza altında septuma ait hiyalin kıkırdak normal olarak yerleşim göstermektedir (Şekil 4.34).



Şekil 4-34: Mometazon Furoat içeren in situ jel grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm).

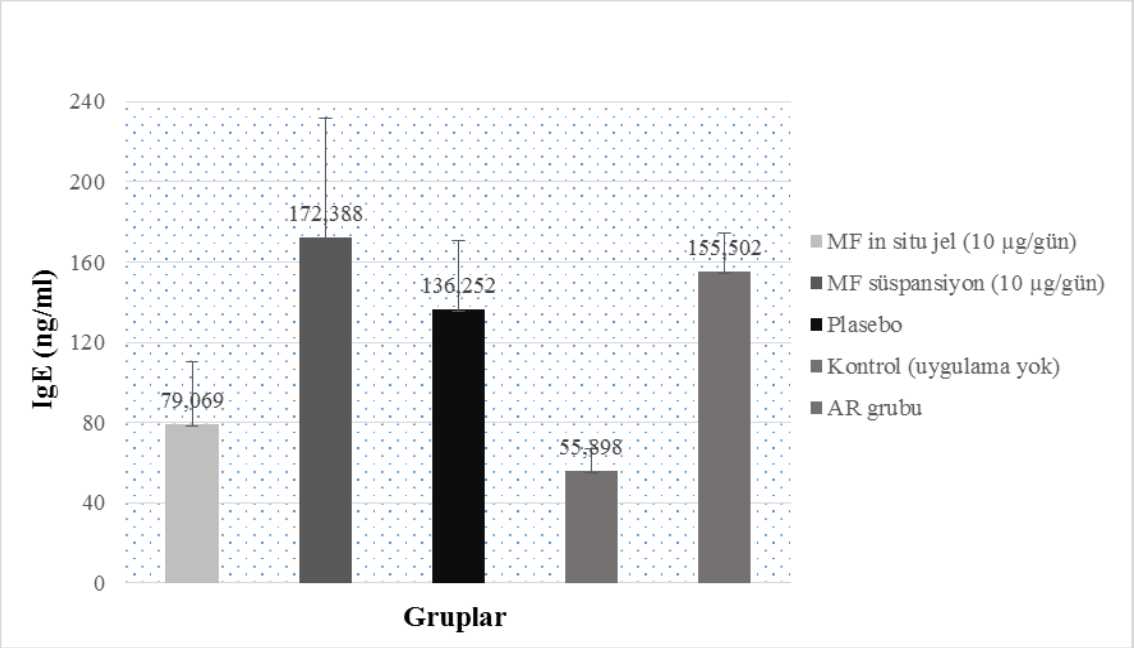
AR sonrası MF içeren süspansiyon verilen gruba (2. grup) ait hayvanlardan alınan septum örneğinde mukoza yüzeyindeki epitelde hücreler arası alanda yer yer genişlemeler görülmüştür. Lamina propriya içerisinde damarlarda dilatasyon tespit edilmiştir. Gevşek bağ dokusu içerisinde yer yer kan elemanları saptanmıştır. AR sonrası bezlere ait asinüslerde oluşan vakuolizasyonun solüsyon kullanımı sonrasında azalmasına rağmen devam ettiği görülmektedir (Şekil 4.35).



Şekil 4-35: Mometazon Furoat içeren süspansiyon grubundaki hayvanlardan alınmış septum örneğinin histolojik görüntüsü (Hematoksilen&Eozin boyası, x200 büyütme, bar: 100 µm).

4.2.2.3. OVA-Spesifik Serum IgE Tespitine Ait Bulgular

MF in situ jelin OVA ile indüklenmiş sıçanlardaki etkinliğini göstermek amacıyla, ELISA ile grupların OVA-spesifik IgE seviyeleri tespit edilmiştir. OVA-spesifik IgE seviyelerinin AR modeli oluşturulan 5. grupta (155,502±18,817 ng/ml), kontrol grubuna (55,898±11,194 ng/ml) göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,05). Elde edilen bu bilgi, çalışmamızda tasarladığımız metodolojinin AR modeli oluşturmada başarılı olduğunu göstermektedir. MF in situ jelin uygulandığı 1. grupta OVA-spesifik IgE üretiminin plaseboya kıyasla anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir (sırasıyla 79,069±31,141 ng/ml, 136,252±34,516 ng/ml) (p<0,05). MF in situ jelin OVA-spesifik IgE seviyesini düşürmedeki etkinliği MF süspansiyonla (172,388±59,389 ng/ml) kıyaslandığında ise % 54,13 daha etkili bulunmuştur (4.36).



Şekil 4-36: Grupların serum IgE seviyelerine ait bulgular (n=8).

5. TARTIŞMA

Solunum sistemi, kişinin son nefesine kadar atmosferle dinamik bir temas halindedir. Bu sistemin filtreleme, havalandırma (nemlendirme ve ısıtma), oksijen sağlama ve kandan karbondioksit temizleme gibi çok önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Solunum sistemi hayatta kalmayla doğrudan bağlantılı olduğundan, doğa onu çeşitli stresleri yeterince tolere edebilecek şekilde düzenlemiştir. Ancak allerjenler ve patojenler sistemi olumsuz yönde etkileyebilirler. Son zamanlarda sanayileşmede ve kapalı alanlardaki alerjenlerin prevelansında çarpıcı artışlar ve iklimsel değişiklikler meydana gelmiştir. Sonuç olarak, bu değişikliklerin olumsuz etkilerinin meydana gelme olasılığı sadece solunum sisteminde değil, aynı zamanda bu yol aracılığıyla diğer sistemlerde de önemli oranda artmıştır. Günümüzde, üst ve alt solunum yollarının en yaygın inflamatuar bozuklukları sırasıyla, rinit ve astımdır (Mandhane ve ark. 2011).

AR, çocuk, yetişkin ve adolesanlarda önemli bir sağlık sorunu meydana getiren, hapşırma, kaşıntı, burunda tıkanıklık, burun akıntısı ve koku duyusunun kaybı gibi semptomların eşlik ettiği üst solunum yollarının iltihabi bir hastalığıdır. Bu semptomlara ek olarak hastalarda, damakta, boğazda, kulakta kaşıntı, baş ağrısı, halsizlik, kulaklarda tıkanıklık gibi yakınmalar görülebilmektedir. Ayrıca hastaların %60-70'inde sayılan semptomlara oküler kaşıntı/kızarıklık ve gözlerde sulanma da eşilik etmektedir. Bu duruma, burun boşluğu epitel dokusu üzerinde bulunan mast hücrelerindeki antijen-antikor reaksiyonlarının sebep olduğu kabul edilmektedir (Cao ve ark. 2009; Izquierdo-Domínguez ve ark. 2013). AR, maruz kalınan aeroalerjen tipine bağlı olarak perennial ve mevsimsel AR olarak sınıflandırılabilir (Izquierdo-Domínguez ve ark. 2013).

İntranazal kortikosteroidler, AR tedavisi için bugüne kadarki en etkili ve ilk basamak tedavidir. Çok sayıda çalışma, AR tedavisinde intranazal kortikosteroidlerin oral ve intranazal antihistaminiklerden daha etkili olduğunu göstermektedir (Mandhane ve ark. 2011; Sur ve Scandale 2010). Hücresel düzeyde etkili olan antiinflamatuar ajanlar olan kortikosteroidler, antijen sunumunu engelleyerek, sitokin (IL3, IL4, IL5 ve IL13) ve kemokin salınımını, nazal mukozadaki hücre infiltrasyonunu (T hücreleri, eozinofiller, mast hücreleri, bazofiller) ve bu hücrelerden mediatör salınımını azaltarak kuvvetli antienflamatuar etkinlik gösterirler (Sur ve Scandale 2010).

MF, son derece potent olan, piyasada sulu süspansiyonu şeklinde bulunan, intranazal (i.n) sentetik bir 17-heterosiklik glukokortikoiddir. Oral ve i.n uygulamadan

sonra, sağlıklı gönüllülerde <% 0,1'lik bir mutlak biyoyararlanım göstererek, plazmada neredeyse saptanamayacak düzeyde (<50 pg/mL) bulunur. MF nazal sprey, klinik olarak seçilen yetişkin dozunun (200 µg/gün) 20 katına kadar uygulandığında, hipotalamus-hipofiz-adrenal aksı üzerinde etkili olmadığı ispatlanmıştır (Dibildox 2001; Berlucchi ve Pedruzzi 2010).

MF, triamsinolon asetonid, budesonid ve flutikozan propiyonat ile kıyaslandığında, en yüksek reseptör afinitesine sahiptir. Bu önemli özellik, daha yüksek afiniteli ilacın, diğerlerinden daha düşük konsantrasyonlarda, aynı sayıda reseptöre bağlanabileceğini göstermektedir (Berlucchi ve Pedruzzi 2010). Yetişkinler üzerinde yapılan bir çalışmada, MF'la tedaviden önce ve tedaviden 1 yıl sonra alınan nazal mukoza biyopsilerinde, epitel dokunun görünüşünde iyileşme ve inflamatuar hücre infiltrasyonunda azalma (eozinofil ve mast hücreleri gibi) gösterilirken, mukozal bir atrofiye rastlanmadığı belirtilmiştir (Berlucchi ve Pedruzzi 2010).

MF nazal spreyin (100 µg/gün) optimal dozu, 3-11 yaş aralığındaki mevsimsel ve perennial AR'li çocuklarda, önemli bir etkinlik ve olumlu bir emniyet profili sağlamıştır. Yapılan çalışmalarda, 3-11 yaş aralığındaki mevsimsel AR'li çocuklarda, günlük 100 µg MF nazal spreyin, plaseboya ve günde 2 kez uygulanan 84 µg Beklametazon dipropiyonata kıyasla daha yüksek semptomatik rahatlama sağladığı gösterilmiştir. Günlük 100 µg MF nazal spreyin etkinliği ve güvenilirliği, pediyatrik AR tedavisinde bu maddenin yararlı bir tedavi aracı olduğunu göstermektedir (Dibildox 2001).

MF'nin sudaki çözünürlüğünün zayıf olmasından dolayı, piyasadaki burun spreyleri süspansiyon şeklinde bulunmaktadır. Bilindiği gibi, süspansiyon içerisinde ilacın yavaş çözünürlüğü sebebiyle etkinin başlaması gecikmektedir. Bu durum, ilacın mukosiliyer klirens (yaklaşık 15 dakika) ile nazal boşluktan hızlı eliminasyonu nedeni ile MF'nin nazal uygulamasını elverişsiz bir hale getirmektedir (Cao ve ark. 2009). Bu nedenlerden dolayı nazal formülasyonların drenajını önlemek ve nazal mukoza ile ilaç arasındaki temas süresini uzatabilmek amacıyla formülasyon içeriğinde viskozite arttırıcıların (genellikle polimerler) kullanımı yararlı bir yaklaşımdır (Cao ve ark. 2009). Ancak, klasik jel formülasyonlarının nazal yolla uygulanması zor olmakla beraber, hassas bir ilaç dozlaması sağlamak da mümkün olamamaktadır. Bunun yanı sıra, mukoadezif tozlar, hassas ilaç dozlaması sağlayamadığı, nazal mukozada iritasyona ve dokuda kumlu bir hissiyata sebep olduğu için tercih edilen dozaj şekilleri değildir. Bu nedenlerden dolayı, hastaların tedaviye uyumunu arttırmak amacıyla, son zamanlarda nazal ilaç uygulamalarında kullanılan yeni

bir dozaj şekli olan in situ jeller veya in vivo jeller (çevreye duyarlı jel) çok cazip hale gelmiştir (Shinde ve ark. 2008).

Sıvı nazal formülasyonlara kıyasla, nazal in situ jeller, düşük vikoziteli çözeltilerdir ve nazal mukoza ile temas sonucunda, polimer yapısını değiştirerek bir jel oluşturmaktadır. Bu nedenle, in situ jeller yalnızca burun mukozası ve ilaç arasındaki temas süresini uzatmakla kalmaz, aynı zamanda ilaç salımı yavaş ve sürekli bir biçimde gerçekleşir. Bu yüzden, bu dozaj şekline sahip formülasyonlar özellikle kronik olarak kullanılması gereken ilaçlarda yarar sağlamaktadır. Çözelti formdan jel forma geçiş (sol-jel faz geçişi), pH'da bir değişimle (selüloz asetat ftalat), termo jelleşme olarak bilinen sıcaklıktaki bir değişimle (poloksamer 407) veya katyonların varlığı ile (gellan zamk) gerçekleşebilir (Cao ve ark. 2009).

Poloksamer 407, mükemmel bir sıcaklıkla jelleşme özelliğine sahip, çok düşük toksisite ve iritasyon gösteren, sudaki çözünürlüğü çok iyi olan, iyi ilaç salım özelliklerine sahip ve diğer kimyasallarla geçimli bir ABA triblok kopolimeridir. Yapısında, hidrofilik polietilenoksit ve hidrofobik polipropilenoksit gruplarını taşımaktadır. PL 407'nin, başlıca Pluronik F127 ve Synperonik F127 adındaki tescilli markaları ticari olarak piyasada mevcuttur. P407'nin sıcaklıkla jelleşmesi tersinirdir ve düşük sıcaklıklarda polimer hareketli bir viskoz sıvı gibi davranırken, sıcaklıktaki bir artış ile sabit yarı-katı bir jel ağına dönüşmektedir (Shinde ve ark. 2008). Sıcaklık arttıkça, PL 407 kopolimer molekülleri miseller halinde toplanır. Jelleşme sürecinin ilk basamağı olan miselizasyon, hidrofobik propilen oksit bloklarının dehidrasyonu sonucu gerçekleşir. Yeterli konsantrasyondaki örneklerde, bu miselizayon sürecini jelleşme takip eder (Shinde ve ark. 2008).

Bu çalışma kapsamında, sıcaklıkla jelleşme özelliğine sahip PL 407 ve mukoadezyon özelliğine sahip çeşitli polimerler kullanılarak, oda sıcaklığında sıvı formda iken burun mukozasında jel forma dönüşen MF'nin yeni bir nazal ilaç taşıyıcı sistemi geliştirilmiştir. Çalışmalar kapsamında, hazırlanan formülasyonların T sol-jel sıcaklıkları belirlenerek, nazal ortamda jelleşmeye uygun özellikteki formülasyonlar saptanmıştır. Ayrıca ilave edilen eksipiyanların jelleşme sıcaklığı üzerine etkisi de araştırılmıştır. Bunun haricinde, formülasyonların fizikokimyasal stabilitesi, reolojik özellikleri, pH'sı, mukoadezyon kuvveti, mekanik özellikleri, farklı nazal jellerdeki MF'nin koyun nazal mukozasından ex vivo permeasyonu ve farklı nazal jellerden MF'nin in vitro salımı incelenmiştir. Bu çalışmaların yanı sıra, in vivo çalışmalar kapsamında sıçanlarda AR

modeli oluşturulmuş ve sonuçta en uygun bulunan formülasyonun sensitize sıçanlardaki etkileri araştırılıp, mukoza üzerinde histopatolojik değişimlerinin olup olmadığı değerlendirilerek, ürünün etkinliği ve güvenliliği saptanmıştır.

Çalışmamızda, hazırlanan formülasyonların stabilite çalışmalarında ilaç içeriklerinin miktar tayini için spektrofotometrik ve çözünürlük, in vitro salım ve deriden geçiş çalışmalarında hazırlanan numunelerdeki MF miktar tayini için HPLC yöntemi kullanılmıştır. Her iki yöntem için de analitik validasyon çalışmaları yapılarak yöntemin doğrusallığı, kesinliği (gün içi kesinlik ve günler arası kesinlik), doğruluğu, seçiciliği, teşhis limiti, miktar tayini limiti ve stabilitesi araştırılmıştır. Doğrusallık çalışmalarında spektrofotometrik ve HPLC yöntemleri için elde edilen standart eğrilerin (sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4) determinasyon katsayısının yüksek olması (sırasıyla r^2=0,9993 ve r^2=0,9998) ve her konsantrasyonda elde edilen absorbanslara ve pik alanlarına ait % RSD değerlerinin (sırasıyla Tablo 4.1 ve Tablo 4.6) % 2'nin altında olması nedeni ile doğru denklemlerinin MF'nin miktar tayininde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Spektrofotometre ve HPLC yöntemlerinin doğruluğu için elde edilen sonuçların geri kazanım değerlerinin (sırasıyla %99,89-100,08 ve %98,13-99,70) istenen sınırlar (%100±2) içerisinde olduğu saptanmıştır (sırasıyla Tablo 4.12 ve Tablo 4.7). Her iki yöntemde de gün içi kesinlik (sırasıyla Tablo 4.3 ve Tablo 4.8) ve günler arası kesinlik (sırasıyla Tablo 4.4 ve Tablo 4.9) çalışmalarının sonucunda elde edilen % RSD değerleri % 2'den küçük bulunmuş ve yöntemlerin kesinliği kanıtlanmıştır.

Seçicilik çalışmalarının sonucunda spektrofotometrede etkin madde dışındaki formülasyon bileşenlerinin MF'nin absorbans verdiği dalga boyunda (248 nm) absorbans vermediği, dolayısıyla yöntemin, in situ jel formülasyonlarındaki MF analizi için seçici olduğu kanıtlanmıştır. HPLC'de yapılan seçicilik çalışmasında ise etkin madde dışında kullanılan formülasyon bileşenlerinin etkin maddenin pik verdiği alıkonma zamanında (5,5 dk) pik vermediği tespit edilmiştir. Bu çalışmalar ile HPLC yönteminin, çözünürlük, in vitro salım ve deriden geçiş çalışmalarında MF analizi için seçici olduğu kanıtlanmıştır.

Spektrofotometrik miktar tayini yöntem için teşhis ve miktar tayini limitleri sırasıyla 0,0114 µg/ml ve 0,0347 µg/ml, HPLC miktar tayini yöntemi için ise teşhis ve miktar tayini limitileri sırasıyla 0,0704 µg/ml ve 0,2436 µg/ml olarak bulunmuştur. MF'nin miktar tayini çözeltilerindeki stabilite çalışmalarında, her iki yöntemde de etkin maddenin stabil kaldığı ve RSD değerleri % 2'den küçük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.5 ve Tablo 4.10).

MF'nin in vitro salım ve ex vivo permeasyon çalışmalarda reseptör faz ortamı olarak kullanılacak ve sink koşulları sağlayan en iyi ortamı belirlemek amacıyla yürütülen çözünürlük çalışmasında çözünürlüğün en iyi olduğu ortamın 1825,135±23,414 µg/ml ile pH 5,8 Fosfat tamponu+PEG 400+etanol (30:40:30 h/h) olduğu saptanmıştır (Tablo 4.11).

Bu çalışmadaki formülasyon tasarımı nazal uygulamaya yönelik olduğundan burun sıcaklığı (33±1°C) dikkate alınmıştır (Cai ve ark. 2011). Bu nedenle, hazırlanan in situ jelin, oda sıcaklığının üzerinde ve burun sıcaklığına ulaşmadan jelleşmesi hedeflenmiştir. Jelleşme sıcaklığı ile ilgili yapılan ön formülasyon çalışmalarında çeşitli konsantrasyonlarda PL 407 (%16-24 a/h) kullanılarak MF içeren ve içermeyen formülasyonlar hazırlanmış ve bu formülasyonların jelleşme sıcaklıkları ölçülmüştür. Elde edilen veriler sonucunda literatürle uyumlu olarak PL 407 konsantrasyonunun artması ile jelleşme sıcaklığının düştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 4.5). PL 407 konsantrasyonunun arttırılmasıyla, jelleşme sıcaklığında görülen bu düşüş, hidrofobik polimer etkileşimlerinin daha hızlı meydana gelmesinden dolayı düşük sıcaklıklarda daha fazla sayıda ve hacimde misellerin oluşmasına bağlanabilir. PL 407 konsantrasyonu arttıkça, ağ yapısındaki düzenlenmeyle daha sıkı bir jel yapısı oluşur ve jelleşme düşük sıcaklıklarda hızla meydana gelir (Bhandwalkar ve Avachat 2013; Jeong ve ark. 1999).

Nazal yoldan uygulanan ısıyla jelleşen sistemler için en uygun jelleşme sıcaklığı 27-32°C aralığında olduğundan dolayı jelleşme sıcaklığı bakımından en uygun % 18 PL 407 (a/h) konsantrasyonu (T sol-jel 29,5°C) olarak bulunmuştur. Formülasyonlara MF ilavesinin jelleşme sıcaklığını çok az miktarda düşürdüğü görülmüştür (29,13°C) (Şekil 4.5). Bu nedenle ileriki çalışmalara bu konsantrasyon üzerinden devam edilmiştir.

Mukoadezif polimerler jelin mekanik özellikleri, mukoadezyon kuvveti ve jelleşme sıcaklığı dikkate alınarak optimize edilmiştir. Çalışmada mukoadezyonu sağlamak amacıyla formülasyonlara çeşitli konsantrasyonlarda CP 974P NF (%0,15/%0,25/%0,35), HC (%0,5/%1/%1,5) ve HPMC (%0,5/%1/%1,5) ilave edilmiştir. Mukoadezif polimerlerin PL 407'nin jelleşme sıcaklığı üzerine etkisi incelendiğinde, literatürdeki pek çok çalışmada da görüldüğü şekilde, mukoadezif polimer konsantrasyonu arttıkça, jelleşme sıcaklığında düşüş yaşandığı saptanmıştır (Bhandwalkar ve Avachat 2013; Abd Elhady ve ark. 2003; Zaki ve ark. 2007). Mukoadezif polimerlerin jelleşme sıcaklığını düşürücü etkisi, PL 407'deki polietilen oksit zincirlerine bağlanma yeteneği ile ilişkilidir. Sonuçta, bu durum dehidrasyonun artmasına ve daha yoğun intermoleküler hidrojen bağlarıyla komşu moleküllerin etkileşimlerinde artışa yol açar (Wei ve ark. 2002; Abd Elhady ve ark. 2003).

Çalışmada kullanılan mukoadezif polimerlerin jelleşme sıcaklığını düşürücü etkisi incelendiğinde en yüksek düşüşün HC içerenlerde görüldüğü (T sol-jel: 20,3-26,6°C) (Tablo 4.14) ve bu formülasyonların jelleşme sıcaklıkları bakımından nazal uygulamaya uygun bulunmadığı saptanmıştır. HPMC içeren formülasyonlardan ise, H1 (28,6°C), H2 (27,1°C), H1+%5 PEG 400 (29°C) ve H2+%5 PEG 400 (28,6°C), jelleşme sıcaklıkları bakımından nazal uygulamaya uygun bulunmuştur (Tablo 4.13). CP 974P NF içeren formülasyonların ise tümü nazal uygulamaya elverişli bulunmuştur (T sol-sol jel: 27,0-32,6°C) (Tablo 4.12).

Diğer bir yardımcı bileşen olan PEG 400 (kosolvan ve salım arttırıcı), formülasyonlara %5, %8 ve %10 konsantrasyonlarında ilave edilmiştir. PEG 400'ün formülasyonların jelleşme sıcaklığı üzerine etkisi incelendiğinde, jelleşme sıcaklığını literatürle uyumlu şekilde konsantrasyona bağımlı olarak, anlamlı derecede arttırdığı saptanmıştır (p<0,05) (Şekil 4.6) (Zaki ve ark. 2007). PEG 400 ilavesiyle jelleşme sıcaklığında görülen artış, poloksamer zincirlerinin miseller birleşme prosesine PEG moleküllerinin girişim yapmasına dayandırılabilir (Gilbert ve ark. 1987).

Formülasyonlar nazal yoldan uygulanacağından, hastanın kullanım kolaylığı açısından oda sıcaklığında düşük viskoziteli ve likit formda olması, burun sıcaklığında (34°C) ise likit formdan jel forma geçerek mukoza ile temasının artması istenmektedir (Pund ve ark. 2013). Buna göre, PL407, PL407+%5 PEG400, PL407+%8 PEG400 ve PL407+%10 PEG 400 formülasyonlarının 20°C'deki akışları Newtonian tipi olmakla birlikte akış tipinin tayin edilmesini sağlayan akış indeksleri (n) sırasıyla 1, 0,982, 1 ve 0,99 ve bütünlük indeksleri (m) sırasıyla 76,3 88,5, 63,6, 92,1'dir. Bu değerler, formülasyonların 20°C'de viskozitelerinin çok düşük ve istenen kriterlere uygun olduğunu ispatlamaktadır (Şekil 4.10).

Formülasyonların burun sıcaklığındaki viskoziteleri incelendiğinde ise elde edilen veriler, yalnızca PL407 formülasyonunun 34°C'de yarı katı kıvama geçebildiğini ve Non-Newtonian akış tipine sahip olduğunu (n:0,188; m:48422), diğerlerinin viskozite değerlerinin ise literatürle uyumlu olarak, PEG 400 ilavesiyle konsantrasyona bağımlı olarak anlamlı derecede azaldığını (p<0,05) ve Newtonian akış tipine sahip olduklarını (sırasıyla n: 0,76; 0,816; 0,73 ve m: 748; 314; 664) göstermektedir (Şekil 4.11) (Edsman ve ark. 1998).

Formülasyonlara, CP 974P NF ilavesinin viskozite üzerine etkisi incelendiğinde, 20°C'de tüm formülasyonların akış tipinin istenen şekilde Newtonian olduğu (n>0,5) ve CP

içermeyen PL407 formülasyonuna kıyasla viskozitelerinin anlamlı dercede arttığı görülmüştür (p<0,05) (Şekil 4.12, 4.13).

CP 974P NF içeren formülasyonların 34°C'de viskoziteleri incelendiğinde ise 20°C'deki viskozitelerine kıyasla anlamlı derecede arttığı (p<0,05) ve istenen şekilde Non-Newtonian akış tipi gösterdikleri saptanmıştır (n<0,5) (Şekil 4.14, 4.15). Ayrıca, 34°C'de içeriğe CP ilavesinin PL407 formülasyonunun viskozitesini önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür. Buna ilaveten, içeriğe eklenen PEG 400, CP 974P NF formülasyonlarının viskozitesini konsantrasyona bağımlı olarak azaltmıştır ancak akış tipinde herhangi bir değişikliğe sebep olmamıştır. Bu nedenlerden dolayı mukoadezif polimer olarak CP 974P NF ilave edilen tüm formülasyonların viskozite açısından nazal uygulamaya uygun oldukları tespit edilmiştir.

Formülasyonlara, HPMC ve HC ilavesinin viskozite üzerine etkisi incelendiğinde, 20°C'de, HC3+%8 PEG400, HC1+%10 PEG400, HC2+%10 PEG400, HC3+%10 PEG400 formülasyonları haricinde kalan tüm formülasyonların akış tipinin istenen şekilde Newtonian olduğu (n>0,5) ve mukoadezif polimer içermeyen PL407 formülasyonuna kıyasla viskozitelerinin arttığı saptanmıştır (HC için Şekil 4.16, 4.17; HPMC için Şekil 4.20, 4.21).

HC içeren formülasyonların 34°C'de viskoziteleri incelendiğinde, 20°C'deki viskozitelerine kıyasla anlamlı derecede arttığı ve istenen şekilde Non-Newtonian akış tipi gösterdiği saptanmıştır (n<0,5) (p<0,05) (Şekil 4.18, 4.19).

HPMC içeren formülasyonların 34°C'de viskoziteleri incelendiğinde ise yalnızca H1, H2, H3, H1+%5 PEG 400, H2+%5 PEG 400 ve H3+%5 PEG 400 formülasyonlarının 34°C'deki viskozitelerinin, 20°C'deki viskozitelerine kıyasla anlamlı derecede arttığı ve istenen şekilde Non-Newtonian akış tipi gösterdiği saptanmıştır (p<0,05) (n<0,5) (Şekil 4.22, 4.23).

Çalışmada genel olarak bakıldığında, formülasyonlara ilave edilen PEG 400'ün formülasyonların 34°C'deki viskozitelerini konsantrasyona bağımlı olarak azaltması, mukoadezif polimerlerin ise tam tersi etki göstererek arttırması literatürle uyumlu bulunmuştur (Zaki ve ark. 2007).

Doku profil analizi jellerin sertlik, adeziflik, koheziflik ve sıkıştırılabilirlik gibi mekanik özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla çalışmada kullanılmıştır. Probun birinci batma periyodunda elde edilen en yüksek güç değeri jellerin deformasyonu için gerekli sertlik değerini (Newton, N) vermektedir (Şekil 3.1). Jelin sertliği, jelden ilacın salım

profilini belirmeyi sağlar. Bu nedenle optimum sertliğe sahip jeli seçmek önemlidir. Literatürde mukoadezif polimer miktarının arttırılmasıyla, jel sertliğinin artacağından bahsedilmiştir (Basu ve Bandyopadhyay 2010). Elde edilen bulgulara göre mukoadezif polimer olarak CP 974P NF ve HC içeren formülasyonlarda, polimer konsantrasyonunun arttırılmasıyla, jel sertliğinin literatürle uyumlu olarak arttığı (Tablo 4.19, 4.21), ancak HPMC içerenlerde herhangi bir değişim meydana gelmediği görülmüştür (Tablo 4.20). Sertlik açısından formülasyonlar sırasıyla, HC>CP>HPMC>PL407 şeklinde sıralanabilir.

Adeziflik, ilacın biyoyararlanımını arttırmak için gerekli olan uygun jel teması ve mukoza yüzeyinde kalış açısından önemli bir parametredir (Basu ve Bandyopadhyay 2010). Çalışmadaki mukoadezif polimer içeren tüm formülasyonlar literatürle kıyaslandığında adezyon kuvveti açısından uygun bulunmuştur (Basu ve Bandyopadhyay 2010). PL407 formülasyonuna %0,15, %0,25 ve %0,35 CP 974P NF ilave edildiğinde, adeziflik sırasıyla %10, %25,55 ve %77,78 artış göstermiştir. PL407 formülasyonuna %0,5, %1, %1,5 oranlarında HPMC ve HC ilave edildiğinde ise adeziflik HPMC ile sırasıyla % 100, % 111,11 ve % 103,33; HC ile %36,67, %100 ve %100 artış göstermiştir. CP 974P NF içeren formülasyonların adezyon kuvvetindeki artışın daha düşük görülmesinin sebebi, ilave edilen polimer konsantrasyonunun, HPMC ve HC içeren formülasyonlardan daha düşük olmasına bağlanabilir. Literatürde mukoadezif polimer miktarındaki artışın, adezifliği arttırdığından bahsedilmesi elde edilen sonuçlarla uyumluluk göstermektedir (Basu ve Bandyopadhyay 2010).

Probun jele ikinci batma periyodunda elde edilen eğrinin altında kalan alanın (AUC4-5), birinci batma periyodunda elde edilen eğri altında kalan alana (AUC1-2) oranı koheziflik değerini vermektedir (Şekil 3.4) (Jones ve ark. 1997). Formülasyonların koheziflikleri incelendiğinde, literatürle uyumlu olarak mukoadezif polimer konsantrasyonu arttıkça, kohezifliğin azaldığı tespit edilmiştir. Disperse olan katı (mukoadezif polimer) miktarındaki artışla, jelin yarı katı yapısı artmıştır ve bu durum jelin daha az koherent olmasına neden olmuştur (Bansal ve ark. 2009). Formülasyonlara PEG 400 ilave edilmesi tüm jellerin tüm mekanik özelliklerinde zayıflamaya neden olmuştur (Tablo 4.19-4.21).

Jelleşme sıcaklığı, reolojik değerlendirme ve mekanik özelliklere ait analiz sonuçları değerlendirildiğinde, ileriki çalışmalara CP 974P NF içeren formülasyonların tümüyle, HPMC içeren formülasyonlardan, H1, H2, H1+5 ve H2+5 kodlu formülasyonlar ile devam edilmesi uygun görülmüştür.

Literatürde mukoadezyon kuvvetinin, mukoadezif polimer konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiği belirtilmektedir (Shinde ve ark. 2008). Mukoadezyon mekanizması, örneğin carbopolde bulunan karboksil grupları aracılığıyla jel formülasyonu ve mukozal membran arasında hidrojen bağı oluşması ile ilişkili olabilir. Nazal mukoza ve dozaj sistemi arasında yakın temasın sağlanabilmesi amacıyla in situ jelleşen sistemlere carbopol gibi mukoadezif bir polimer ilave edilir. Daha güçlü mukoadezyon kuvvetinin elde edilmesi, burunda jelleşen in situ jelin kaybının engellenmesini ve daha uzun süre mukozal dokularla temas etmesini sağlar (Kunisawa ve ark. 2000). Çalışmada elde edilen sonuçlara göre formülasyonlardaki mukoadezif polimer konsantrasyonu arttıkça literatürle uyumlu olarak mukoadezyon kuvvetinin de arttığı saptanmıştır. CP 974P NF içeren formülasyonların mukoadezyon işi 0,448-0,020 mJ/cm^2 arasında, HPMC içerenlerinki 0,237-0,039 mJ/cm^2 arasında saptanmıştır. Formülasyonlara PEG 400 ilave edilmesinin ise mukoadezyon kuvvetini konsantrasyona bağlı olarak düşürdüğü görülmüştür (Shinde ve ark. 2008) (Şekil 4.24).

Formülasyonların nazal kavitede maksimum kalış sürelerinin literatürde 240 dk olduğu bildirildiğinden dolayı çalışmamızda in vitro salım için örnek alma süresi bu bilgiye dayalı olarak seçilmiştir (Ugwoke ve ark. 2001). İn vitro salım çalışması sonuçlarına göre, MF'nin in situ jellerden salımının CP 974P NF ve HPMC konsantrasyonu arttıkça azaldığı görülmüştür. Bu veri literatürde Ravi ve ark. (2013) lerinin elde ettiği sonuçlarla uyumluluk göstermektedir.

CP1, CP2 ve CP3 formülasyonlarının 240 dk sonunda salım hızları sırasıyla %100, %74,60 ve %58,7 olarak saptanmıştır. Formülasyonlara PEG 400 ilavesi konsantrasyona bağımlı olarak in situ jellerden ilaç salımını hızlandırmıştır. (Zaki ve ark. 2007). PEG polimerinin salım arttırıcı etkisi literatürde yüksek suda çözünürlüğüne ve viskozite düşürücü etkisine dayandırılmıştır (Desai ve Blanchard 1998; Lu ve Jun 1998).

CP1+%5 PEG 400, CP1+%8 PEG 400, CP1+%10 PEG 400, CP2+%10 PEG 400 ve CP3+%10 PEG 400 formülasyonlarından 120 dk sonunda etkin maddenin tümü açığa çıkmıştır (Şekil 4.25, 4.26). H1, H2, H1+%5 PEG 400 ve H2+%5 PEG 400 formülasyonlarının ise 240 dk sonunda salım hızları ise sırasıyla %82,6, %76,2, %96,8 ve %93,4 olarak saptanmıştır (Şekil 4.27). İn vitro salım çalışmasında 240 dk sonunda etkin maddenin tümünü salan formülasyonlar ex vivo geçiş çalışması için seçilmiştir (CP1, CP1+%5 PEG 400, CP2+%5 PEG 400, CP1+%8 PEG 400, CP2+%8 PEG 400, CP3+%8 PEG 400, CP1+%10 PEG 400, CP2+%10 PEG 400, CP3+%10 PEG 400). 240 dakika

sonundaki nazal mukozadan geçen MF miktarı en düşük CP1 formülasyonuyla (29.365 ng/cm^2, % 0,014±0,09), en yüksek CP1+%10 PEG 400 formülasyonuyla (62,129 ng/cm^2, % 0,031±0,12) elde edilmiştir. Sonuçlar literatürle uyumlu bulunmuştur ve geliştirilen in situ jellerin nazal uygulama için güvenilir olduğu gösterilmiştir (Dibildox 2001; Berlucchi ve Pedruzzi 2010).

Formülasyonlara ait in vitro salım verileri (0-4 saat arasındaki ilaç salımı değerleri), ilaç salımının en iyi hangi matematiksel modele uyduğunu saptamak amacıyla çeşitli matematiksel modellerle (sıfır derece, birinci derece, Higuchi, Korysmeyer-Peppas ve Hixson-Crowell) değerlendirilmiştir. Formülasyonların salım kinetiklerine ait veriler Tablo 4.23'te verilmiştir. En yüksek korelasyon katsayısı değerine (r^2) bağlı olarak yapılan değerlendirmede formülasyonlardan ilaç salımının en iyi uyduğu modeller birinci derece kinetik ve Hixson Crowell modelleri olarak saptanmıştır.

Korsmeyer-Peppas eşitliği (Korsmeyer ve Peppas 1981) kullanarak hesaplanan n değerleri 0,4813 ve 1,3443 arasında bulunmuştur (Tablo 4.23). Bu değerler salım mekanizmasının anomalous ve super case II transport şeklinde olduğunu göstermektedir. Bu durum ilacın birden fazla salım mekanizması (hem difüzyon hem de hidrofilik polimer zincirlerinin şişmeye bağlı gevşemesi) gösterdiğini belirtir. Bu bulgular literatürle uyumlu bulunmuştur (Goodhart ve ark. 1974; Peterlin 1980).

OVA antijeni, insanlardaki semptomlara benzerliğinden dolayı, AR'yi indüklemek için bir hayvan modeli olarak geniş çapta kullanılmaktadır (Melgert ve ark. 2005; Brozmanova ve ark. 2006). Bu çalışmada, OVA ile indüklenmiş AR'de görülen hapşırma, burun kaşıntısı ve burun akıntısı gibi belirtiler MF içeren in situ jel ile tedavi edildiğine (1. grup), MF süspansiyon uygulanan 2. gruba, serum fizyolojik uygulanan 3. gruba ve AR modeli oluşturulan 5. gruba kıyasla anlamlı derecede etkili bulunmuştur (p<0,05). Ancak, semptom skorlarının MF içeren süspansiyon, in situ jel ve serum fizyolojik ile tedaviden sonra dahi hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. İlaç uygulamasını takiben 35. günde 14. güne kıyasla hapşırma sayısında MF içeren in situ jel uygulanan grupta % 49,68 oranında azalma görülürken, MF süspansiyon uygulanan grupta % 25,54 azalma, serum fizyolojik uygulanan grupta % 3 oranında bir artma ve AR grubunda % 5,96 oranında bir azalma gözlenmiştir (Tablo 4.28). İlaç uygulamasını takiben 35. günde 14. güne kıyasla burun kaşıma sayısında MF içeren in situ jel uygulanan 1. grupta % 46,01 oranında azalma görülürken, MF süspansiyon uygulanan grupta % 31,33 azalma, AR grubunda % 1,75 oranında bir azalma gözlenmiştir. Serum

fizyolojik uygulanan 3. grupta ise herhangi bir değişim saptanmamıştır (Tablo 4.30). Elde edilen bulgular hapşırma sayısı ve burun kaşıma sayısını azaltma bakımından MF içeren süspansiyonun, serum fizyolojik uygulamasına kıyasla anlamlı derecede etkili olduğunu gösterirken, MF in situ jele kıyasla etkinliğinin anlamı derecede düşük olduğunu göstermiştir (p<0,05). Bu durum da süspansiyon içerisindeki ilacın çözünürlüğünün yavaş olması sebebiyle etkinin geç başlamasına ve ilacın mukosiliyer klirens ile nazal boşluktan hızlı eliminasyonuna bağlanabilir (Cao ve ark. 2009).

Sıçanlarda OVA ile sensitizasyon ve provokasyon yapılması serumlarındaki antijen spesifik IgE seviyesinin artmasına neden olur (Quraishi ve ark. 2004). AR'de görülen nazal sepmtomlar histamin ve inflamatuar mediatörler (prostoglandinler, lökotrienler, triptaz ve aktive olmuş mast hücrelerinden, eozinofillerden, bazofillerden salınan proinflamatuar sitokinler) aracılığıyla meydana gelir (Shinmei ve ark. 2009; Martynova ve ark. 2005). Bu çalışmada, OVA-spesifik IgE seviyelerinin AR modeli oluşturulan 5. grupta (155,502±18,817 ng/ml), kontrol grubuna (55,898±11,194 ng/ml) göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,05). Elde edilen bu bilgi, çalışmamızda tasarladığımız metodolojinin AR modeli oluşturmada başarılı olduğunu göstermektedir. MF içeren in situ jel uygulamasının, OVA-spesifik IgE üretimini serum fizyolojik ve MF içeren süspansiyon uygulamasına kıyasla önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Şekil 4.36). Bu sonuçlar, geliştirilen in situ jelin AR'de mast hücre aktivasyonunu baskılayarak alerjik reaksiyonları önemli ölçüde azaltabildiğini ispatlamaktadır.

Histolojik değerlendirme sonucunda kontrol grubu ile AR grubu kıyaslandığında, kontrol grubundaki septum örneğinin histolojik görüntüsünde yalancı çok katlı prizmatik epitelin normal yapısında mukoza yüzeyini kapladığı görülürken (Şekil 4.31), AR grubunda mukoza yüzeyindeki epitel hücrelerinde silia kaybı, vakuolizasyon ve hücrelerarası alanın yer yer genişlediği görülmektedir (Şekil 4.32). Bu durum, AR grubunda alerjik morfolojinin indüklendiğini ve uygulanan AR modelinin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini ispatlamaktadır. Kontrol grubunda, epitel altındaki lamina propriyanın gevşek bağ dokusu içinde damarlar ve bezlere ait asinüs ve kanallar normal olarak görülürken (Şekil 4.31), AR grubunda, lamina propriya içerisindeki damarlarda artan kan akışı ve artan vasküler permeabilite sebebiyle dilatasyonun indüklendiği, bunun sonucunda inflamasyonun meydana geldiği tespit edilmiştir. Ayrıca AR grubunda mukoza içerisindeki bezlere ait asinüslerde yer yer vakuolizasyon saptanmıştır (Şekil 4.32). AR grubunda meydana gelen bu değişikliklere, alerjen-organizma etkileşimi nedeniyle inflamatuar hücrelerden salınan maddeler yol açmaktadır (Nakaya ve ark. 2007).

AR grubu ile AR sonrası serum fizyolojik uygulanan plasebo grubu kıyaslandığında ise, AR grubunda mukoza yüzeyindeki epitelde görülen hücrelerarası genişlemenin, lamina propriya içerisindeki damarlarda dilatasyonun ve mukoza içerisindeki bezlere ait asinüslerde görülen vakuolizasyonun devam ettiği saptanmıştır (4.33).

AR grubu ile AR sonrası MF içeren süspansiyon verilen grup kıyaslandığında, AR grubunda mukoza yüzeyindeki epitelde görülen hücrelerarası genişlemenin ve lamina propriya içerisindeki damarlarda dilatasyonun devam ettiği saptanmıştır. Mukoza içerisindeki bezlere ait asinüslerde görülen vakuolizasyonun süspansiyon kullanımı sonrasında azalmasına rağmen devam ettiği görülmektedir. Ayrıca, gevşek bağ dokusu içerisinde yer yer kan elemanları tespit edilmiştir (4.35).

AR grubu ile AR sonrası MF içeren in situ jel verilen grup kıyaslandığında, in situ jel uygulamasının, AR grubunun mukoza yüzeyindeki epitel dokusunda görülen hücrelerarası genişlemeyi iyileştirdiği ve epitelin normal yapısında mukoza yüzeyini kapladığı saptanmıştır. AR grubunda lamina propriyanın gevşek bağ dokusu içinde damarlarda meydana gelen dilatasyon ve mukoza içerisindeki bezlere ait asinüslerde görülen vakuolizasyon ise in situ jel uygulaması sonrası görülmemiştir. Ayrıca, mukoza altında septuma ait hiyalin kıkırdak normal olarak yerleşim göstermektedir (Şekil 4.34). Elde edilen bu veriler hazırlanan in situ jelin, AR sırasında alerjik inflamasyon sonucu oluşan burun hasarını önleyebildiğini göstermektedir.

Mukoadezif nazal taşıyıcı sistemlerin başarılı şekilde kullanımı yalnızca bioadezif etkinlikleri ile sınırlı değildir, aynı zamanda formülasyonun güvenliliği de bir o kadar önemlidir. Bu nedenle, optimize edilen in situ jelin in vivo güvenliliği de değerlendirilmiştir 14 günlük ürün uygulaması sonrasında in situ jel uygulanan sıçanların nazal kaviteleri incelendiğinde, bozulmamış silialı kolumnar epitel ve normal goblet hücre görünümüne rastlanmıştır. İritasyon belirtileri olan vasküler konjestiyon ve subepitelyal ödem görülmemiştir. Ayrıca, in situ jel uygulanan sıçanlarda, epitelyal nekrozis, epitel hücrelerinin dökülmesi ve MF içeren süspansiyon grubunun bağ dokusunda meydana gelen kanama gibi ciddi yan etkilerin hiçbirine rastlanmamıştır. Bu sonuçlar, uzun süreli in situ jel kullanımının, intranazal kortikosteroid kullanımına bağlı yaygın olarak görülen nazal iritasyon, kanama, septum perforasyonu ve bir mantar olan *Candida* türünün aşırı çoğalması gibi yan etkilere yol açmadığını ve MF içeren süspansiyona kıyasla daha etkili ve güvenli olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada PL407 ve mukoadezif polimer CP 974P NF kombinasyonuyla mukoadezif özelliğe sahip ısıya duyarlı bir hidrojel formülasyonu geliştirilmiştir. %18 PL407 ve %0,25 CP 974P NF içeren optimize formülasyonun nazal uygulama için uygun jelleşme sıcaklığına sahip (30,1±0,24°C) olduğu görülmüştür. Ayrıca formülasyon oda sıcaklığında sprey şeklinde uygulamaya elverişli olup, Newtonian akış tipine sahipken, burun sıcaklığında (34°C) jel formunda olup, psödoplastik akış tipine sahiptir. In vitro salım çalışmaları optimize formülasyonun jel formunda iken 180 dk boyunca uzatılmış salım sağlayabildiğini ispatlamaktadır. Diğer taraftan yürütülen doku analiz ve mukoadezyon çalışmaları, formülasyonun uygun mekanik özelliklere (adeziflik: 0,60±0,08 mJ; koheziflik: 0,98±0,11 mJ; sertlik: 0,22±0,00 N; sıkıştırılabilirlik: 0,73±0,09 mJ) ve mukoadezyon kuvvetine (0,289±0,0069 mJ) sahip olduğunu göstermiştir. Elde edilen bu sonuçlarla, uygulama sırasında formülasyonun burunda kalış süresinin arttığı ve böylelikle ilacın biyoyararlanımının iyileştirilebildiği söylenebilir. Ayrıca yürütülen in vivo çalışmalarda, MF içeren in situ jel hapşırma, burun kaşıntısı ve akıntı gibi semptomları ve inflamatuar mediatörlerden alerjen spesifik IgE salımını konvansiyonel nazal süspansiyona kıyasla anlamlı derecede azalttığından, AR'de terapötik potansiyeli olduğu kanıtlanmıştır. Sonuçta, in situ jel sistemin, terapötik etkilerin arttırılması amacıyla MF'nin intranazal taşınmasında gelecek vaadeden bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abd Elhady, S.S., Mortada, N., Awad, G.A.S., Zaki, N.M. ve Taha, R.A. (2003). Development of in situ gelling and mucoadhesive mebevarine hydrochloride solution for rectal administration. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 11, 159–171.

Affrime, M. B., Cuss, F., Padhi, D., Wirth, M., Pai, S., Clement, R. P. ve ark. (2000). Bioavailability and metabolism of mometasone furoate following administration by metered-dose and dry-powder inhalers in healthy human volunteers. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 40, 1227.

Ahlstedt, S. ve Murray, C.S. (2006). In vitro diagnosis of allergy: how to interpret IgE antibody results in clinical practice. *Primary Care Respiratory Journal*, 15, 228-236.

Ahuja, A., Khar, R.K. ve Ali, J. (1997). Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23, 489–515.

Airaksinen, L., Tuomi, T., Vanhanen, M., Voutilainen, R. ve Toskala, E. (2007). Use of nasal provocation test in the diagnostics of occupational rhinitis. *Rhinology*, 45, 40-46.

Alsarra, I.A., Hamed, A.Y. ve Alanazi, F.K. (2008). Acyclovir liposomes for intranasal systemic delivery: development and pharmacokinetics evaluation. *Drug Delivery*, 15, 313-321.

Alsarra, I.A., Hamed, A.Y., Mahrous, G.M., El Maghraby, G.M., Al-Robayan, A.A. ve Alanazi, F.K. (2009). Mucoadhesive polymeric hydrogels for nasal delivery of Acyclovir. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35, 352-62.

Anigbogu, A.N. ve Maibach, H.I. (2000). Topical Corticosteroid Therapy. İçinde L.E. Millikan (Ed.), *Drug Therapy in Dermatology*. New Orleans: Marcel Dekker; 1-29.

Anolik, R. (2008). Clinical benefits of combination treatment with mometasone furoate nasal spray and loratadine vs monotherapy with mometasone furoate in the treatment of marseasonal allergic rhinitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 100 (3), 264-271.

Appasaheb, P.S., Manohar, S. D. ve Bhanudas, S. R. (2013). A Review on Intranasal Drug Delivery System. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 3(4), 333-346.

Artursson, P., Lindmark, T., Davis, S.S. ve Illum, L. (1994). Effect of chitosan on the permeability of monolayers of intestinal epithelial cells (Caco2). *Pharmaceutical Research*, 11, 1358–61.

Bacon, A., Makin, J., Sizer, P.J., JabbalGill, I., Hinchcliffe, M. ve Illum, L. (2000). Carbohydrate biopolymers enhance antibody responses to mucosally delivered vaccine antigens. *Infection and Immunity*, 68, 5764–5770.

Badgujar, S.D., Sontakke, M.A. ve Narute, D.R. (2010). Formulation and evaluation of sumatriptan succinate nasal in-situ gel using fulvic acid as novel permeation enhancer. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 2, 39-52.

Bajpai, A.K., Shukla, S.K., Bhanu, S. ve Kankane, S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 33, 1088–1118.

Balakrishnan, P., Park, E.K., Song, C.K., Ko, H.J., Hahn, T.W., Song, K.W. ve ark. (2015). Carbopol-Incorporated Thermoreversible Gel for Intranasal Drug Delivery. *Molecules,* 20(3), 4124-4135.

Baldwin, C.M. ve Scott, L.J. (2008). Mometasone Furoate A Review of its Intranasal Use in Allergic Rhinitis. *Drugs*, 68 (12), 1723-1739.

Bansal, K., Rawat, M.K., Jain, A., Rajput, A., Chaturvedi, T.P. ve Singh, S. (2009). Development of satranidazole mucoadhesive gel for the treatment of periodontitis. *AAPS PharmSciTech*, 10(3), 716–723.

Barnes, M.L., Biallosterski, B.T. ve Gray, R.D. (2005). Decongestant effects of nasal xylometazoline and mometasone furoate in persistent allergic rhinitis. *Rhinology*, 43, 291-295.

Barnes, P.J. (2010). Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 120(2–3), 76–85.

Basu, S. ve Bandyopadhyay, A.K. (2010). Development and Characterization of Mucoadhesive In Situ Nasal Gel of Midazolam Prepared with Ficus carica Mucilage. *AAPS PharmSciTech*, 11(3), 1223- 1231.

Basu, S. ve Bandyopadhyay, A.K. 2011. Characterization of mucoadhesive nasal gels containing midazolam hydrochloride prepared from Linum usitatissimum L. Mucilage. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(4), 817- 823.

Bende, M., Carrillo, T. ve Vona, I. (2002). A randomized comparison of the effects of budesonide and mometasone furoate aqueous nasal sprays on nasal peak flow rate and symptoms in perennial allergic rhinitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 88(6), 617-623.

Benveniste, J. (1981). The human basophil degranulation test as an in vitro method for the diagnosis of allergies. *Clin Allergy*, 11, 1-11.

Berkowitz, R.B., Bernstein, D.I. ve LaForce, C. (1999b). Onset of action of mometasone furoate nasal spray (NASONEX) in seasonal allergic rhinitis. *Allergy*, 54 (1), 64-69.

Berkowitz, R.B., Roberson, S. ve Zora, J. (1999a). Mometasone furoate nasal spray is rapidly effective in the treatment of seasonal allergic rhinitis in an outdoor (park), acute exposure setting. *Allergy and Asthma Proceedings*, 20 (3), 167-172.

Berlucchi, M. ve Pedruzzi, B. (2010). Intranasal Mometasone Furoate for Treatment of Allergic Rhinitis. *Clinical Medicine Insights Therapeutics*, 2, 761-769.

Bernstein, D.I., Berkowintz, R.B., Chervinsky, P., Dvorin, D.J., Finn, A.F., Gross, G.N. ve ark. (1999). Dose-ranging study of a new steroid for asthma: mometasone furoate dry powder inhaler. *Respiratory Medicine*, 93, 603–612.

Bernstein, I. (1988). Proceedings of the task force on guidelines for standardizing old and new technologies used for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 82, 487-526.

Bertram, U. ve Bodmeier, R. (2006a). In situ gelling, bioadhesive nasal inserts for extended delivery: In vitro characterization of a new nasal dosage form. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27, 62-71.

Bertram, U. ve Bodmeier, R. (2006b). Parameters affecting the drug release from in situ gelling nasal inserts. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 63, 310-319.

Bhandwalkar, M.J. ve Avachat, A.M. (2013). Thermoreversible Nasal In situ Gel of Venlafaxine Hydrochloride: Formulation, Characterization, and Pharmacodynamic Evaluation. *AAPS PharmSciTech*, 14(1), 101- 110.

Bhardwaj, T.R., Kanwar, M., Lal, R. ve Gupta, A. (2000)). Natural gums and modified natural gums as sustained release carriers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26, 1025-1038.

Bhaskaran, S., Lakshmi, P.K. ve Harish, C.G. (2005). Topical ocular drug delivery - a review. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 67 (4), 404–408.

Bitter, C., Suter-Zimmermann, K. ve Surber, C. (2011). Nasal drug delivery in humans. *Current Problems in Dermatology*, 40, 20-35.

Bodor, N. ve Buchwald, P. (2006). Corticosteroid design for the treatment of asthma: Structural insights and the therapeutic potential of soft corticosteroids. *Current Pharmaceutical Design*,12, 3241–3260.

Bolger, W.E., Leonard, D., Dick, E.J. ve Stiema P. (1997). Gram negative sinusitis: A bacteriologic and histologic study in rabbits. *American Journal of Rhinology & Allergy*, 11,15-25.

Borish, L. (2003). Allergic rhinitis: Systemic inflammation and implications for managemen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112(6), 1021-1030.

Bousquet, J., Khaltaev, N. ve Cruz, A.A. (2008). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA). *Allergy*, 63(86), 8-160.

Bousquet, J., Lockey, R.F., Malling, H.J. (1998) Allergen Immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. WHO Position paper, *Allergy*, 53 (44),1- 42.

Bousquet, J., Reid, J. ve van Weel, C. (2008). Allergic rhinitis management pocket reference. *Allergy*, 63, 990-996.

Bousquet, J., Van Cauwenberge, P. ve Khaltaev, N. (2001). Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108, 147-334.

Bozkır, A., Karataş, A., Hasçiçek, C., Canefe, K., Kılıçarslan, M.,Tarımcı, N. ve ark. (2007). *Farmasötik Teknoloji Deneysel Uygulamalar Kitabı.* Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Yayın No: 95. Ankara Üniversitesi Basımevi.

British Pharmacopeia (2008). (5th ed.). London: Stationery Office.

Bromberg, L.E. ve Ron, E.S. (1998). Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 31,197–221.

Bronsky, E.A., Aaronson, D.W. ve Berkowitz, R.B. (1997). Dose ranging study of mometasone furoate (Nasonex) in seasonal allergic rhinitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 79 (1), 51-56.

Bronsky, E.A., Dockhom, R.J. ve Meltzer, E.O. (1996). Fluticasone propionate aqueuos nasal spray compared with terfenadine tablets in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 97, 915-921.

Brozmanova, M., Calkovsky, V., Plevkova, J., Bartos, V., Tatar, M. ve Plank, L. (2006). Early and late allergic phase related cough response in sensitized guinea pigs with experimental allergic rhinitis. *Physiological Research*, 55, 577–584.

Cai, Z., Song, X., Sun, F., Yang, Z., Hou, S. ve Liu, Z. (2011). Formulation and evaluation of in situ gelling systems for intranasal administration of gastrodin. *AAPS PharmSciTechnol*, 12 (4), 1102–1109.

Callens, C. ve Remon, J.P. (2000). Evaluation of starchmaltodextrin-Carbopol 974P mixtures for the nasal delivery of insulin in rabbits. *Journal of Controlled Release*, 66, 215–220.

Callens, C., Pringels, E. ve Remon, J.P. (2003). Influence of multiple nasal administrations of bioadhesive powders on the insulin bioavailability. *International Journal of Pharmaceutics*, 250, 415–422.

Canonica, G.W., Bousquet, J., Mullol, J., Scadding, G.K. ve Virchow, J.C. (2007). A survey of the burden of allergic rhinitis in Europe. *Allergy*, 62(85), 17-25.

Cao, S., Ren, X., Zhang, Q., Chen, E., Xu, F., Chen, J. Ve ark. (2009). In situ gel based on gellan gum as new carrier for nasal administration of mometasone furoate. *International Journal of Pharmaceutics*, 365, 109–115.

Castano, R., Thériault, G., Maghni, K., Ghezzo, H., Malo, J.L. ve Gautrin, D. (2008). Reproducibility of nasal lavage in the context of the inhalation challenge investigation of occupational rhinitis. *American Journal of Rhinology & Allergy*, 22, 271-275.

Cauwenberge, P. V., Sys, L., Belder, T.D. ve Watelet, J.B. (2004). Anatomy and physiology of the nose and the paranasal sinuses. *Immunology And Allergy Clinics of North America*, 24, 1 – 17.

Ch'ng, H.S., Park, H., Kelly, P. ve Robinson, J.R. (1985). Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery II: Synthesis and evaluation of some swelling, water-insoluble bioadhesive polymers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74, 399–405.

Chang, J. Y., Oh, Y. K., Choi, H. G., Kim, Y. B. ve Kim, C. K. (2002). Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions. *International Journal of Pharmaceutics*, 241(1), 155-163.

Charrueau, C., Tuleu, C., Astre, V., Grossiord, J. L. ve Chaumeil, J. C. (2001). Poloxamer 407 as a thermogelling and adhesive polymer for rectal administration of short-chain fatty acids. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(4), 351-357.

Chaturvedi, M., Kumar, M. ve Pathak, K. (2011). A review on mucoadhesive polymer used in nasal drug delivery system. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 2(4), 215–222.

Chen, X.S., Carillo, M., Haltiwanger, R.C. ve Bradley, P. (2005). Solid State Characterization of Mometasone Furoate Anhydrous and Monohydrate Forms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94(11), 2005.

Chi, S.C. ve Jun, H.W. (1991). Release rates of ketoprofen from poloxamer gels in a membraneless diffusion cell. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(3), 280-283.

Chickering III, D.E. ve Mathiowitz, E. (1999). Definations, mechanisms and theories of bioadhesion. İçinde E. Mathiowitz, D. E. Chickering III, C.M. Lehr (Ed.), *Bioadhesive Drug Delivery Systems Fundamentals, Novel Approaches and Development*. New York: Markel Dekker; 1-10.

Chinoy, B., Yee, E. ve Bahna, S.L. (2005). Skin testing versus radio allergo sorbent testing for indoor allergen. *Clinical and Molecular Allergy*, 3, 4.

Cho, H. (2011). Poloxamer/cyclodextrin/chitosan-based thermoreversible gel for intranasal delivery of fexofenadine hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100, 681– 691.

Choi, H., Lee, M., Kim, M. ve Kim, C. (1999). Effect of additives on the physicochemical properties of liquid suppository bases. *International Journal of Pharmaceutics*, 190(1), 13-19.

Choi, H.K., Jung, J.H., Ryu, J.M., Yoon, S.J., Oh, Y.K. ve Kim, C.K. (1998). Development of in-situ gelling and mucoadhesive acetaminophen liquid suppository. *International Journal of Pharmaceutics*, 165, 33–44.

Chung, T., Liu, D. ve Yang, J. (2010). Effects of interpenetration of thermosensitive gels by crosslinking of chitosan on nasal delivery of insulin: In vitro characterization and in vivo study. *Carbohydrate Polymers*, 82, 316–322.

Cıngı, C., Topuz, B., Songu, M., Kara, C. O. ve Ural, A. (2010). Prevalence of allergic rhinitis among the adult population in Turkey. *Acta Oto-Laryngologica*, 130, 600-606.

Crim, C., Pierre, L.N. ve Daley-Yates, P.T. (2001). A review of the pharmacology and pharmacokinetics of inhaled fluticasone propionate and mometasone furoate. *Clinical Therapeutics*, 23, 1339–1354.

Crobach, M., Hermans, J., Kaptein, A., Ridderikhoff, J. ve Mulder, J. (1996). Nasal smear eosinophilia fort the diagnosis of allergic rhinitis and eosinophilic non-allergic rhinitis. *Scandinavian Journal of Primary Health Care*, 14(2), 116-121.

Cui, F., Qian, F. ve Yin, C. (2006). Preparation and characterization of mucoadhesive polymercoated nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 316, 154–161.

Dalgliesh, R.J. (1993). Babesiosis. İçinde K.S. Warren (Ed.), *Immunology and Molecular Biology of Parasite Infections*. Oxford: Blackwell; 352-383.

De Amici, M., Mosca, M., Vignini, M., Quaglini, S. ve Moratti, R. (2003). Recombinant birch allergens (Bet v 1 and Bet v 2) and the oral allergy syndrome in patients allergic to birch pollen. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 91, 490-492.

Debin, A., Kravtzoff, R., Vaz, S.J., Cazales, L., Sperandino, S., Melber, K. Ve ark. (2002). Intranasal immunization with recombinant antigens associated with new cationic particles induces strong mucosal as well as systemic antibody and CTL responses. *Vaccine*, 20, 2752-2763.

Demoly, P., Campbell, B., Lebel, B. ve Bosquet, J. (1999). Experimental models in rhinitis. *Clinical & Experimental Allergy*, 29(3), 72-76.

Desai, S. D. ve Blanchard, J. (1998). In vitro evaluation of pluronic F127-based controlled-release ocular delivery systems for pilocarpine. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 87(2), 226-230.

Dey, S., Mahanti, B., Mazumder, B., Malgope, A. ve Dasgupta, S. (2011). Nasal drug delivery: An approach of drug delivery through nasal route. *Der Pharmacia Sinica*, 2 (3), 94-106.

Dibildox, J. (2001). Safety and efficacy of mometasone furoate aqueous nasal spray in children with allergic rhinitis; Results of recent clinical trials. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108(1), 54-58.

Dickerson, P.J.K. ve Li, J. (1998). Effects of damp and mould in the home on respiratory health: a review of the literatüre. *Allergy*, 53, 120-128.

Didier, A., Malling, H.J. ve Worm, M. (2007). Optimal dose, efficacy, and safety of once-daily sublinguaal immunotherapy with a 5-grass pollen tablet for seasonal allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 120, 1338-1345.

Dimitrova, E., Bogdanova, S., Mitcheva, M., Tanev, I. ve Minkov, E. (2000). Development of model aqueous ophthalmic solution of indomethacin. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26(12), 1297-1301.

Ding, S. (1998). Recent advances in ophthalmic drug delivery. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 1, 328–335.

Ding, W.X., Qi, X.R., Fu, Q. ve Piao, H.S. (2007). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of sterylglucoside-modified liposomes for levonorgestrel delivery via nasal route. *Drug Delivery*, 14, 101-104.

Djupesland, P.G. (2013). Nasal drug delivery devices: characteristics and performance in a clinical perspective. *Drug Delivery and Translational Research*, 3, 42–62.

Doğru, H. ve Topuz, B. (Ed.). (2001). *Kulak Burun Boğazda Alerjik Hastalıklar*. İstanbul, Hamle yayınevi.

Downie, S.R., Andersson, M., Rimmer, J., Leuppi, J.D., Xuan, W. ve Akerlund, A. (2004). Association between nasal and bronchial symptoms in subjects with persistent allergic rhinitis. *Allergy*, 59(3), 320–326.

Drouin, M., Yang, W.H. ve Bertrand, B. (1996). Once daily mometasone furoate aqueous nasal spray is as effective as twice Daily beclomethasone dipropionate for treating perennial allergic rhinitis patients. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 77(2), 153-160.

Druce, H.M. (1988). Nasal provocation challenge-strategies for experimental design. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 60, 191-195.

Duchene, D., Touchard, F. ve Peppas, N.A. (1988). Pharmaceutical and medical aspects of bioadhesive systems for drug administration. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 14, 283–318.

Dumortier, G., El Kateb, N., Sahli, M., Kedjar, S., Boulliat, A. ve Chaumeil, J. C. (2006b). Development of a thermogelling ophthalmic formulation of cysteine. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 32(1), 63-72.

Dumortier, G., Grossiord, J.L., Agnely, F. ve Chaumeil, J.C. (2006a). A Review of Poloxamer 407 Pharmaceutical and Pharmacological Characteristics. *Pharmaceutical Research*, 23(12), 2709- 2728.

Dumortier, G., Grossiord, J.L., Zuber, M., Couarraze, G. ve Chaumeil, J. C. (1991). Thermoreversible morphine gel. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 17(9), 1255-1265.

Durham, S.R., Yang, W.H., Pederson, M.R., Johansen, N. ve Rak, S. (2006). Sublingual immunotherapy with once-daily grass allergen tablets: a randomized controlled trial in seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117, 802-809.

Dyer, A.M., Hinchcliffe, M., Watts, P., Castile, J., Jabbal-Gill, I., Nankervis, R. ve ark. (2002). Nasal delivery of insulin using novel chitosan based formulations: a comparative study in two animal models between simple chitosan formulations and chitosan nanoparticles. Pharmaceutical Research, 19, 998–1008.

Dykewicz, M.S. ve Fineman, S. (1998b). Executive summary of joint task force practice parameters on diagnosis and management of rhinitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 81, 463-468.

Dykewicz, M.S., Fineman, S. ve Skoner, D.P. (1998a). Diagnosis and management of rhinitis: complete guidelines of the Joint Task Force on Practice Parameters in Allergy,

Asthma and Immunology. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 81, 478-518.

Edsman, K., Carlfors, J. ve Petersson, R., (1998). Rheological evaluation of poloxamer as an in situ gel for ophthalmic use. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6 (2), 105–112.

Edward, A.M. ve Holgate, S.T. (2008). The cromones: cromolyn sodium and nedocromil sodium. İçinde N.F.Adkinson, B.S. Bochner, W. Burks, W.W. Busse, S.T. Holgate, R.E. O'Hehir (Ed.), *Middleton's Allergy: Principles and Practice.* USA: Mosby; 1567-1577.

Erdmann, S.M., Sachs, B. ve Schmidt, A. In vitro analysis of birchpollen-associated food allergy by use of recombinant allergens in the basophil activation test. *International Archives of Allergy and Immunology*, 136, 230-238.

Ergin, N.T. ve Hancı, D. (2007). Nazal Septum. İçinde Koç, C. (Ed.), *Cummings Otolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 1001-1027.

European Pharmacopeia. (1997). (3rd Ed.) Fransa: Strasbourg: Council of Europe.

Falliers, C.J. ve Redding, M.A. 1980. Controlled comparison of a new antihistamine-decongestant combination to its individual components. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 45, 75-80.

Fawcett, D.W., Bloom, W. (Ed.), (1986). *A Textbook of Histology*. Philadelphia, WB Saunders Company.

Ferrer, M., Sanz, M.L., Prieto, I., Vila, L. ve Oehling, A. (1998). Study of IgE-dependent sulphido leukotriene cellular releasability. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 8, 17-22.

Flicker, S., Steinberg, P. ve Norderhaug, L. (2002). Conversion of grass pollen allergen-specific human IgE into a protective IgG(1) antibody. *European Journal of Immunology*, 32, 2156-2162.

Francis, J.N., Till, S.J. ve Durham, S.R. (2003). Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111, 1255-1261.

Fryer, A.D. ve Jacoby, D.B. (2008). Cholinergic mechanisms and anticholinergic therapy in respiratory diseases. İçinde .F.Adkinson, B.S. Bochner, W. Burks, W.W. Busse, S.T. Holgate, R.E.O'Hehir (Ed.), *Middleton's Allergy: Principles and Practice*. USA: Mosby; 1603-1618.

Gavini, E., Rassu, G., Haukvik, T., Lanni, C., Racchi, M. ve Giunchedi, P. (2008). Mucoadhesive microspheres for nasal administration of cyclodextrins. *Journal of Drug Targeting*, 17, 168-179.

Gavini, E., Rassu, G., Sanna, V., Cossu, M. ve Giunchedi, P. (2005). Mucoadhesive microspheres for nasal administartion of an antiemetic drug, metoclopramide: in-vitro/ex-vivo studies. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57, 287-294.

Gelardi, M., Maselli Del Guidice, A. ve Candreva, T. (2006). Nasal resistance and allergic inflammation depend on allergen type. *International Archives of Allergy and Immunology*, 141, 384-389.

Gentile, D.A. ve Skoner, D.P. (2010). Allergic rhinitis. İçinde D.Y.M. Leung, H.A. Sampson, R. Geha, S.J. Szefler (Ed.), *Pediatric Allergy, Principles and Practice*. Edinburgh: Saunders; 210-218.

Georgitis, J.W. (1998). Nasal atropine sulfate efficacy and safety of 0.050% and 0.075% solutions for severe rhinorrhea. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 124, 916-920.

Gilbert, J.C., Richarson, J.L., Davies, M.C. ve Palin K.J. (1987). The effect of solutes and polymers on the gelation properties of Puronic F-127 solutions for controlled drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 5, 113-118.

Goodhart, F.W., Mccoy, R.H. ve Ninger, F.C. (1974). Release of a watersoluble drug from a matrix timed-release tablet. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 63: 1748-1751.

Gowda, D.V. (2011). Formulation and evaluation of in Situ gel of diltiazem hydrochloride for nasal delivery. *Der Pharmacia Lettre*, 3, 371-381.

Grainger, J. ve Drake-Lee, A. (2006). Montelukast in allergic rhinitis: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Otolaryngology*, 31, 360-367.

Graney, D.O. ve Baker, S.R. Anatomy. İçinde C.W. Cummings, J.M. Frederickson, L.A. Harker, C.J. Krause, D.E. Schuller, M.A. Richardson. (1998). *Otolaryngology head and neck surgery.* St. Louis Missouri: Mosby-Year Book Inc.

Greiner, A.N. ve Meltzer, E.O. (2011b). Overview of the treatment of allergic rhinitis and nonallergic rhinopathy. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 8, 121-131.

Greiner, A.N., Hellings, P.W., Rotiroti, G. ve Scadding, G.K. (2011a). Allergic rhinitis. *The Lancet*, 378, 2112-2122.

Gross, G.N., Danzig, M.R. ve Gates, D. (2007). Mometasone furoate nasal spray rapidly and enduringly relieves nasal congestion and other symptoms of seasonal allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119 (1), 64.

Guo, J.H., Skinner, G.W., Harcum, W.W. ve Barnum, P.E. (1998). Pharmaceutical applications of naturally occurring water-soluble polymers. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 1, 254-61.

Hamidi, M., Azadi, A. ve Rafiei, P. (2008). Hydrogel nanoparticles in drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews, 60, 1638–1649.

Hasegawa, M. ve Kem, E.B. (1978). Variations in nasal resistance in man: a rhinomanometric study of the nasal cycle in 50 human subjects. *Rhinology*, 16, 19-29.

Hassan, E.E. ve Gallo, J.M. (1990). A simple rheological method for the in vitro assessment of mucin polymer bioadhesive bond strength. *Pharmaceutical Research*, 7, 491–495.

Hatton, R.C., Winterstein, A.G. ve McKelvey, R.P. (2007). Efficacy and safety of oral phenylephrine: systematic review and meta-analysis. *Annals of Pharmacotherapy*, 41, 381-90.

Hebert, J.R., Nolop, K. ve Lutsky, B.N. (1996). Once-daily mometasone infuroate aqueous nasal spray (Nasonex) in seasonal allergic rhinitis: an active- and placebo-controlled study. *Allergy*, 51 (8), 569-76.

Hennink, W.E. ve van Nostrum, C.F. (2012). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 223–236.

Hillery, A.M., Lloyd, A.W. ve Swarbrick, J. (2001). *Drug Delivery and Targeting for Pharmacists and Pharmaceutical Scientists*. London: Taylor & Francis.

Hochhaus, G. (2008). Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile of mometasone furoate nasal spray: potential effects on clinical safety and efficacy. *Clinical Therapeutics*, 30 (1), 1-13.

Hochhaus, G., Sahasranaman, S., Derendorf, H. ve Möllmann, H. (2002). Intranasal glucocorticoid delivery: Competition between local and systemic effects. *STP Pharma Sciences*, 12, 23-31.

Hoffman, A.S., Afrassiabi, A. ve L Dong, C. (1986). Thermally reversible hydrogels: II. Delivery and selective removal of substances from aqueous solutions. *Journal of Controlled Release*, 4, 213–222.

Hombach, J. ve Bernkop-Schnürch, A. (2010). Mucoadhesive Drug Delivery Systems. İçinde M. Schäfer-Korting (Ed.), *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin: Springer-Verlag; 251-266.

Host, A. ve Halken, S. (2002). Can we apply clinical studies to real life? Evidence-based recommendations from studies on development of allergic disease and allergy prevention. *Allergy*, 57, 389-397.

Howarth, P.H., Persson, C.G.A., Metlzer, E.O., Jacobson, M.R., Durham, S.R. ve Silkoff, P.E. (2005). Objective monitoring of nasal airway inflammation in rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115(1), 414-41.

ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of analytical procedures: Methodology (CPMP/ICH/281/95), 1995.

Illum, L. (1996). Nasal delivery. The use of animal models to predict performance in man. *Journal of Drug Targeting*, 3(6) , 427–442.

Illum, L. (2002). Nasal drug delivery: New developments and strategies. *Drug Discovery Today*, 7, 1184–9.

Illum, L. (2003). Nasal drug delivery-possibilities, problems and solutions. *Journal of Controlled Release*, 87, 187-198.

Illum, L. (2007). Nanoparticulate systems for nasal delivery of drugs: A real improvement over simple systems?. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96, 473- 483.

Issa, M.M., Koping-Hoggard, M. ve Artursson, P. (2005). Chitosan and the mucosal delivery of biotechnology drugs. *Drug Discovery Today*, 2, 1–6.

Issar, M., Sahasranaman, S., Buchwald, P. ve Hochhaus, G. (2006). Differences in the glucocorticoid to progesterone receptor selectivity of inhaled glucocorticoids. *European Respiratory Journal*, 27, 511–516.

Izquierdo-Domínguez, A., Valero, A.L. ve Mullol, J. (2013). Comparative analysis of allergic rhinitis in children and adults. *Current Allergy and Asthma Reports*, 13(2), 142-51.

J. Ballenger, J.Snow. (2000). *Otorinolaringoloji Baş ve Boyun Cerrahisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Jabbari, E., Wisniewski, N. ve Peppas, N.A. (1993). Evidence of mucoadhesion by chain interpenetration at a poly(acrylic acid)/mucin interface using ATR-FTIR spectroscopy. *Journal of Controlled Release*, 26, 99–108.

Jain, A.K., Chalasani, K.B., Khar, R.K., Ahmed, F.J. ve Diwan, P.V. (2007). Muco-adhesive multivesicular liposomes as an effective carrier for transmucosal insulin delivery. *Journal of Drug Targeting*, 15, 417-427.

Jeong, B., Choi, Y.K., Bae, Y.H., Zentner, G. ve Kim, S.W. (1999). New biodegradable polymers for injectable drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 62, 109–114.

Jiang, L., Gao L., Wang X., Tang L. ve Ma, J. (2010). The application of mucoadhesive polymers in nasal drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 36(3), 323–336.

Johansson, S.G., Bennich, H. ve Foucard, T. (1973). Quantitation of IgE antibodies and allergens by the radioallergosorbent test, RAST. *International Archives of Allergy and Immunology*, 45, 55-6.

Johnson, D.A. ve Hricik, J.G. (1993). The pharmacology of alpha- adrenergic decongestants. *Pharmacotherapy*, 13, 110.

Jones N. (2001). The nose and paranasal sinuses physiology and anatomy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 51, 5–19.

Jones, D.S., Woolfson, A.D., Brown, A.F. ve O'Neil, M.J. (1997). Mucoadhesive, syringeable drug delivery systems for controlled application of metronidazole to the periodontal pocket: in vitro release kinetics, syringeability, mechanical and mucoadhesive properties. *Journal of Controlled Release*, 49, 71-79.

Jones, M.R. ve Massersmith, P.B. (2002). In situ forming biomaterials. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 14, 29-38.

Juhasz, J., Lenaerts, V., Raymond, P. ve Ong, H. (1989). Diffusion of rat atrial natriuretic factor in thermoreversible poloxamer gels. *Biomaterials*, 10(4), 265-268.

Junqueira, L.C., Carneiro, J. ve Kelley, R.O. (1992). *Basic Histology*. (7nd ed.). New Jersey: Prentice-Hall International Inc.

Jutel, M., Akdis, M. ve Budak, F. (2003). IL-10 and TGF-β cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *European Journal of Immunology*, 33, 1205-1214.

Kabanov, A.V., Batrakova, E. V. ve Alakhov, V. Y. (2002). Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *Journal of Controlled Release*, 82(2-3), 189-212.

Kalpaklıoğlu, A.F., Kavut, A.B. ve Ekici, M. (2009). Allergic and nonallergic rhinitis: the threat for obstructive sleep apnea. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 103, 20-25.

Kant, A., Reddy, S., Shankraiah, M.M., Venkatesh, J.S. ve Nagesh,C. (2011). In situ gellin system-An Overview. *Pharmacologyonline*, 2, 28-44

Karaki,M., Akiyama, K. ve Mori, N. (2013). Efficacy of intranasal steroid spray (mometasone furoate) on treatment of patients with seasonal allergic rhinitis: Comparison with oral corticosteroids. *Auris Nasus Larynx*, 40 (3), 277–281.

Kato, Y., Hosokawa, T., Hayakawa, E. ve Ito, K. (1993). Influence of liposomes on tryptic digestion of insülin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 16, 457-461.

Kayalı, H. (1989). *Özel Histoloji*. (2nd ed.). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.

Keles, S., Karakoc-Aydiner, E. ve Ozen, A. (2011). A novel approach in allergen-specific immunotherapy: combination of sublingual and subcutaneous routes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 128, 808-815.

Kemp, A.S. (2009). Allergic rhinitis. *Paediatric Respiratory Reviews*, 10, 63–68.

Kerr, L.J., Kellaway, I.W., Rowlands, C. ve Parr, G.D. (1990). The influence of poly(acrylic) acids on the rheology of glycoprotein gels. *Proc Int Symp Control Rel Bioact Mater*., 17,122–123.

Kharenko, E.A., Larionova, N.I. ve Demina, N.B. (2009). Mucoadhesive drug delivery systems. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 43 (4), 200-208.

Khosla, L. ve Davis, S.S. (1987). The effect of polycarbophil on the gastric emptying of pellets. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 39, 47–49.

Kim, E.Y., Gao, Z.G., Park, J.S., Li, H. ve Han, K. (2002). rhEGF/ HP-beta-CD complex in poloxamer gel for ophthalmic delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 233(1-2), 159-167.

Klouda, L. ve Mikos, A.G. (2008). Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68, 34–45.

Korsmeyer, R.W. ve Peppas, N.A. (1981). Effect of the morphology of hydrophilic polymeric matrices on the diffusion and release of water soluble drugs. *Journal of Membrane Science,* 9 (3), 211–227.

Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. ve Peppas, N.A. (1983). Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*,15: 25-35.

Kotze, A.F., Luesen, H.L., De Boer, A.G., Verhoef, J.C. ve Junginger, H.E. (1999). Chitosan for enhanced intestinal permeability: Prospects for derivatives soluble in neutral and basic environments. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7, 145–151.

Kristl, J., Pecar, S., Šmid-Korbar, J. ve Schara, M. (1991). Molecular motion of drugs in hydrocolloids measured by electron paramagnetic resonance. *Pharmaceutical Research*, 8, 505–507.

Kumari, K., Sachdeva, S. ve Sachdeva, M. (2013). Formulation and Evaluation of Topical Hydrogel of Mometasone Furoate using Different Polymers. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 2 (1), 89-100.

Kunisawa, J., Okudaira, A. ve Tsutusmi, Y. (2000). Characterization of mucoadhesive microspheres for the induction of mucosal and systemic immune responses. *Vaccine*, 19, 589–594.

Laffer, S., Duchene, M. ve Reimitzer, I. (1996). Common IgE epitopes of recombinant Phl p I, the major timothy grass pollen allergen and natural group I grass pollen isoallergens. *Molecular Immunology*, 33, 417-26.

Lambrecht, B.N. (2001). Allergen uptake and presentation by dendritic cells. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 1(1), 51–59.

Lane, A. P. (2004). Nasal anatomy and physiology. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 12, 387–395.

Law, S.L., Huang, K.J., Chou, V.H.Y. ve Cherng, J.Y. (2001). Enhancement of nasal absorption of calcitonin loaded in liposomes. *Journal of Liposome Research*, 11, 164-174.

Leeson, T.S. ve Popois, A.A. (Ed.). (1988). *Text Atlas of Histology*. Michigan: WB Sounders Company.

Litvyakova, L.I. ve Baraniuk, J.N. (2001). Nasal provocation testing: a review. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 86, 355- 365.

Lu, G. ve Jun, H.W. (1998). Diffusion studies of methotrexate in carbopol and poloxamer gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 160, 1–9.

Madan, A., Bajaj, A. ve Lewis, S. In Situ forming polymeric drug delivery systems. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71, 242-251.

Mair, E.A., Bolger, W.E. ve Breisch, E.A. (1995). Sinus and facial growth after pediatric endoscopic sinüs surgery. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 121, 547– 552.

Majithiya, R.J., Ghosh, P.K. ve Umrethia, M.L. (2006). Thermoreversible-mucoadhesive gel for nasal delivery of sumatriptan. *AAPS PharmSciTech*, 7 (3), 1-7.

Malm, L., Gerth van Wijk, R. ve Bachert, C. (2000). Guidelines for nasal provocations with aspects on nasal patency, airflow, and airflow resistance. International Committee on Objective Assessment of the Nasal Airways, International Rhinologic Society. *Rhinology*, 38,1-6.

Mandhane, S.N., Shah, J.H. ve Thennati, R. (2011). Allergic rhinitis: An update on disease, present treatments and future prospects. *International Immunopharmacology*, 11, 1646–1662.

Mandl, M., Nolop, K. ve Lutsky, B.N. (1997). Comparison of once Daily mometasone furoate (Nasonex) and fluticasone propionate aqueous nasal sprays for the treatment of perennial rhinitis. 194-079 Study Group. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 79 (4), 370-378.

Mari, A. (2003). Skin test with a timothy grass (Phleum pratense) pollen extract vs. IgE to a timothy extract vs. IgE to rPhl p 1, rPhl p 2, nPhl p 4, rPhl p 5, rPhl p 6, rPhl p 7, rPhl p 11, and rPhl p 12: epidemiologic and diagnostic data. *Clinical and Experimental Allergy*, 33, 43-51.

Marinetti, L., Lehman, L. ve Casto, B. (2005). Over-thecounter cold medications-postmortem findings in infants and the relationship to cause of death. *Journal of Analytical Toxicology*, 29, 738-743.

Martynova, M.G., Bystrova, O.A., Moiseeva, O.M., Evdonin, A.L., Kondratov, K.A. ve Medvedeva, N.D. (2005). The presence of ANP in rat peritoneal mast cells. *Cell Research*, 15, 811–816.

Matanovic, M. R., Kristl, J. ve Grabnar, P.A. (2014). Thermoresponsive polymers: Insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 472 , 262–275.

Matanovišc, M.R., Kristl, J. ve Grabnar, P. A. (2014). Thermoresponsive polymers: Insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 472, 262–275.

Mathiowitz, E., Chickering III, D.E. ve Lehr, C.M. (Ed.). (1999). *Bioadhesive Drug Delivery Systems: Fundamentals, Novel Approaches and Development*. New York: Marcel Dekker Inc.

Matsuno, O., Miyazaki, E., Takenaka, R., Ando, M., Ito, T. ve Sawabe, T. (2006). Links between bronchial asthma and allergic rhinitis in the Oita Prefecture, Japan. *Journal of Asthma*, 43(2), 165–167.

Meenakshi, P., Hetal, T. ve Kasture, P.V. (2010). Preparation and evaluation of thermoreversible formulations of flunarizine hydrochloride for nasal delivery. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2, 115-120.

Mehta, M.R., Surve, S.A. ve Menon, M.D. (2009). Novel nasal in situ gelling system for treatment of sinusitis. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(6), 721-722.

Mei, D., Mao, S., Sun, W., Wang, Y. ve Kissel, T. (2008). Effect of chitosan structure properties and molecular weight on the intranasal absorption of tetramethylpyrazine phosphate in rats. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70, 874–881.

Melgert, B.N., Postma, D.S., Kuipers, I., Geerlings, M., Luinger, M.A., van de Strate, B.W.A. ve ark. (2005). Female mice are more susceptible to the development of allergic airway inflammation than male mice. *Clinical & Experimental Allergy*, 35, 1496–1503.

Meltzer, E.O., Berger, W.E. ve Berkowitz, R.B. (1999). A dose-ranging study of mometasone furoate aqueous nasal spray in children with seasonal allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104 (1), 107-114.

Min, Y.G. (2010). The pathophysiology, diagnosis and treatment of allergic rhinitis. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 2(2), 65–76.

Miyamoto, M., Natsume, H., Iwata, S., Ohtake, K., Yamaguchi, M. ve Kobayashi, D. (2001). Improved nasal absorption of drugs using polylarginine: Effects of concentration and molecular weight of polylarginine on the nasal absorption of fluorescein isothiocyanatedextran in rats. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52, 21–30.

Miyazaki, S., Suisha, F. ve Kawasaki, N. (1998). Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for rectal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 1998, 56, 75-83.

Moore, K.L. (1985). *Clinically Oriented Anatomy*. (2nd ed.). Toronto: Wolters Kluwer.

Morris, S., Eccles, R. ve Martez, S.J. (1997). An evaluation of nasal response following different treatment regimes of oxymetazoline with reference to rebound congestion. *American Journal of Rhinology & Allergy*, 11, 109-115.

Murramatsu, K., Maitani, Y., Takayama, K. ve Nagai, T. (1999). The relationship between the rigidity of the liposomal membrane and the absorption of insulin after nasal administration of liposomes modified with an enhancer containing insulin in rabbits. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 25, 1099-1105.

Nakaya, M., Dohi, M., Okunishi K., Nakagome, K., Tanaka, R., Imamura, M. ve ark. (2007). Prolonged allergen challenge in murine nasal allergic rhinitis: Nasal airway remodelling and adaptation of nasal airway responsiveness. *Laryngoscope*, 117, 881–885.

Nakayama, M., Okano, T., Miyazaki, T., Kohori, F., Sakai, K. ve Yokoyama, M. (2006). Molecular design of biodegradable polymeric micelles for temperature-responsive drug release. *Journal of Controlled Release*, 115, 46–56.

Nathan, R.A. (2007). The burden of allergic rhinitis. *Allergy and Asthma Proceedings*, 28, 3-9.

Nelson, H.S. (2003). Immunotherapy for inhalant allergens. İçinde N.F. Adkinson, W. Yunginger, W.W. JBusse, B.S. Bochner, S.T. Holgate, F.E.R. Simons (Ed.), *Middleton's Allergy Principles and Practice.* Philadelphia: Mosby; 1455–1473.

Nopp, A., Johansson, S.G. ve Ankerst, J. (2006). Basophil allergen threshold sensitivity: a useful approach to anti-IgE treatment efficacy evaluation. *Allergy*, 61, 298-302.

Nouri-Aria, K.T., Wachholz, P.A. ve Francis, J.N. (2004). Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. *The Journal of Immunology*, 172, 3252-3259.

Novak, N. ve Bieber, T. (2003). Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112(2), 252-262.

O'Hehir, R.E., Gardner, L.M. ve de Leon, M.P. (2009). House dust mite sublingual immunotherapy: the role for transforming growth factor-beta and functional regulatory T cells. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 180, 936-947.

Okano, T. (1998). *Biorelated polymers and gels*. San Diago, CA: Academic Press.

Önerci, M. (2002). *Allerjik Rinosinüzitler (Allergic Rhinosinusitis)*. Ankara: Rekmay ofset.

Onrust, S.V. ve Lamb, H.M. (1998). Mometasone furoate: a review of its intranasal use in allergic rhinitis. *Drugs*, 56 (4), 725-745.

Ourique, A.F., Contri, R.V. ve Ruy Carlos Ruver Beck, G.S.S. (2012). Set-Up of A Method Using LC-UV To Assay Mometasone Furoate in Pharmaceutical Dosage Forms. *Química Nova*, 35(4), 818-821.

Özcan, M. (2004). Burun anatomisi ve fizyolojisi. İçinde Koç, C. (Ed.), *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi.* Ankara: Güneş Kitapevi. 455-457.

Özer, Y. (1990). Nazal Yolun İlaç Uygulamadaki Önemı ve Nazal İlaç Sistemleri. *Pharmacıa JTPA*, 30 (3), 136-147.

Özsoy, Y., Tunçel, T., Can, A., Akev, N., Birteksöz, S. ve Gerçekler, A. (2000). In Vivo Studies on The Nasal Preperation of Ciprofloxacin Hydrochloride. *Die Pharmazie*, 55, 607-609.

Passali, D., Bellussi L.M., Gregori, D., Lauriello, M. ve Passali, F.M. (2012). Nasal obstruction as a key symptom in allergic rhinitis: efficacy and safety of a medical device in children. *Polish Journal of Otolaryngology*, 66(4), 249-253.

Patel, H.D. ve Patel, M. M. (2013). Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Simultaneous estimation of Terbinafine hydrochloride and Mometasone furoate in Combined Dosage Form. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 6(1), 29-34.

Patel, M. ve Thakkar, H. (2010). Preparation and Evaluation of Thermoreversible Formulations of Flunarizine Hydrochloride for Nasal Delivery. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(4), 116-120.

Patel, P. (2008). Efficacy and long-term safety of mometasone furoate nasal spray in children 3-11 years with perennial allergic rhinitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 100 (1), 2047-2055.

Peterlin A. (1980). Diffusion with discontinuous swelling. Type II diffusion in spherical particles. *Polymer Engineering & Science*, 20, 238- 43.

Pilette, C., Nouri-Aria, K.T. ve Jacobson, M.R. (2007). Grass pollen immunotherapy induces an allergen-specific IgA2 antibody response associated with mucosal TGF-β expression. *The Journal of Immunology*, 178, 4658-4666.

Pires, A., Fortuna, A., Alves, G. ve Falcão, A. (2009). Intranasal Drug Delivery: How, Why and What for?. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 288 – 311.

Pisal, S. S., Paradkar, A. R., Mahadik, K. R. ve Kadam S.S. (2004). Pluronic gels for nasal delivery of Vitamin B12. Part I, preformulation study. *International Journal of Pharmaceutics*, 270(1-2), 37-45.

Pisal, S.S., Paradkar, A.R. ve Mahadik, K.R. (2004). Pluronic gels for nasal delivery of vitamin B 12. Part I: Preformulation study. *International Journal of Pharmaceutics*, 270, 37-45.

Pisal, S.S., Reddy, P. ve Paradkar, A.R. (2004). Nasal melatonin gels using Pluronic PF-127 for chronobiological treatment of sleep disorder. *Indian Journal of Biotechnology*, 3, 369-377.

Podual, K., Doyle III, F.J. ve Peppas, N.A. (2000). Dynamic behavior of glucose oxidase-containing microparticles of poly(ethylene)- grafted cationic hydrogels in an environment changing pH. *Biomaterials*, 21, 1439-1450.

Popper, T.L., Gentles, M.J. ve Kung, T.T. (1987). *Structure-activity relationships of a series of novel topical corticosteroids*. *Journal of Steroid Biochemistry*, 27, 837–843.

Praveen, C., Amit, A. ve Prashanth, M. (2009). Development and In vitro evaluation of thermoreversible nasal gel Formulations of rizatriptan benzoate. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 43, 55-62.

Pringels, E., Callens, C., Vervaet, C., Dumont, F., Slegers, G., Foreman, P. ve Remon, J.P. (2006). Influence of deposition and spray pattern of nasal powders on insulin bioavailability. *International Journal of Pharmaceutics*, 310, 1-2,1-7.

Pund, S., Rasve, G. ve Borade, G. (2013). Ex vivo permeation characteristics of venlafaxine through sheep nasal mucosa. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48, 195–201.

Qiu, Y. ve Park, K. (2001). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53, 321-339.

Quadir, M., Zia, H. ve Needham, T.E. (1999). Toxicological implications of nasal formulations. *Drug Delivery*, 6, 227–242.

Quadir, M., Zia, H. ve Needham, T.E. (2000). Development and evaluation of nasal formulations of ketorolac. *Drug Delivery*, 7, 223–229.

Quiralte, J., Llanes, E. ve Barral, P. Ole e 2 and Ole e 10: new clinical aspects and genetic restrictions inolive pollen allergy. *Allergy*, 60, 360-365.

Quraishi, S.A., Davies, M.J. ve Craig, T.J. (2004). Inflammatory responses in allergic rhinitis: traditional approaches and novel treatment strategies. *The Journal of the American Osteopathic Association*, 104, 7–15.

Rachelefsky, G.S. (1998). Pharmacologic management of allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 101, 367-369.

Raghunath, B.P. ve Kumar, J.H. (2013). Spectrophotometric method for simultaneous estimation of formeterol fumarate and mometasone furoate in respicaps. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(6), 220-223.

Rango Rao, K.V. ve Buri, P. (1989). A novel in situ method to test polymers and coated microparticles for bioadhesion. *International Journal of Pharmaceutics*, 52, 265–270.

Ravi, P. R., Aditya, N., Patil, S. ve Cherian, L. (2015). Nasal in-situ gels for delivery of rasagiline mesylate: improvement in bioavailability and brain localization. Drug Delivery, 22(7), 903-910.

Reid, J.K., Davis, B.E. ve Cockcroft, D.W. (2005). The effect of ipratropium nasal spray on bronchial methacholine challenge. *Chest Journal*, 128, 1245-1247.

Rezaei, S.J.T., Nabida, M.R., Niknejadb, H. ve Entezami, A.A. (2012). Folate-decorated thermoresponsive micelles based on star-shaped amphiphilic block copolymers for efficient intracellular release of anticancer drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 437, 70–79.

Rodrigo, G.J. ve Yanez, A. (2006). The role of antileukotriene therapy in seosonal allergic rhinitis: a systematic review of randomized trials. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 96, 779-786.

Rodriguez, J.L. (2007). *Allergic Diseases: Dagnosis and Treatment.* (3rd ed.). Totawa, NJ: Humana Press.

Rosenwasser, L. (2007). New insights into the pathophysiology of allergic rhinitis. *Allergy and Asthma Proceedings*, 28, 10-15.

Rossi, R.E., Monasterolo, G. ve Operti, D. (1998). A comparative study of the tryptase release test and the cellular allergen stimulation test (CAST) in mite sensitive patients. *Clinical & Experimental Allergy*, 28, 752-757.

Ruel-Gariépy, E. ve Leroux, J.C. (2004). In situ-forming hydrogels – review of temperature-sensitive systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58, 409–426.

Rx-Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı. (2016). Gemaş Genel Mühendislik Mekanik San. ve Tic. A.Ş., İzmir.

Ryu, J. M., Chung, S. J., Lee, M. H., Kim, C. K. ve Shim, C. K. (1999). Increased bioavailability of propranolol in rats by retaining thermally gelling liquid suppositories in the rectum. *Journal of Controlled Release*, 59(2), 163-172.

Sahasranaman, S., Tang, Y., Biniasz, D., Hochhaus, G. ve J. Chomatogr., B. (2005). A sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantification of mometasone furoate in human plasma. *Anal. Technol. Biomed. Life Sci*, 819, 175-179.

Sakar, A., Yorgancıoğlu, A. ve Dinç, G. (2006). The prevalence of asthma and allergic symptoms in Manisa, Turkey (a western city from a country bridging Asia and Europe). *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 24, 17- 25.

SalgadoI, A.C.G.B., Nogueira da Silva, A.M.N., MachadoI, M.C.J.C., Silva Costa Duarte, M.A. ve Oliveira Marques Ribeiro, H.M. (2010). Development, stability and in vitro permeation studies of gels containing mometasone furoate for the treatment of dermatitis of the scalp. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 46(1), 109-114.

Sawhney, A.S., Pathak, C.P., Hubbell, J.A., Hill, J.L. ve Desai, N.P. (1995). Photopolymerizable biodegradable hydrogels as tissue contacting materials and controlled release carriers. US Patent 5410016.

Scadding, G.K., Durham, S.R. ve Mirakian, R. (2008). BSACI guidelines for the management of allergic and nonallergic rhinitis. *Clinical & Experimental Allergy*, 38, 19-42.

Schäfer-Korting, M. ve Gysler, A. (1992). Topical Glucocorticoids with Improved Benefit/Risk Ratio: do they exist?. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 27, 87-92.

Scheurer, S. (2006). Improvement of the diagnosis of allergy by using purified allergens. *Clinical and Experimental Allergy*, 36, 1483-1486.

Schmolka, I.R. (1972). Artificial skin. I. Preparation and properties of Pluronic F-127 gels for the treatment of burns. *Journal of Biomedical Materials Research*, 6, 571–582.

Schwab, J.A. ve Zenkel, M. (1998). Filtration of particulates in the human nose. *Laryngoscope*, 108, 120-124.

Scichilone, N., Arrigo, R., Paternò, A., Santagata, R., Impellitteri, S. ve Braido, F. (2011). The effect of intranasal corticosteroids on asthma control and quality of life in allergic rhinitis with mild asthma. *Journal of Asthma,* 48(1), 41–47.

Shahiwala, A. ve Misra, A. (2004). Nasal delivery of levonorgestrel for contraception: An experimental study in rats. *Fertility and Sterility*, 81, 893–898.

Shaikh, R., Singh, T.R.R., Garland, M.J., Woolfson, D. ve Donnelly, R.F. (2011). Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 3(1), 89–100.

Shaikh, S., Muneera, M.S., Thusleem, O.A, Tahir, M. ve Kondaguli, A.V. (2009). A Simple RP-HPLC Method for the Simultaneous Quantitation of Chlorocresol, Mometasone Furoate, and Fusidic Acid in Creams. *Journal of Chromatographic Science*, 47, 178-183.

Shato, H., Miyagawa, Y., Okabe, T., Miyajima, M. ve Sunada, H. (1997). Dissolution mechanism of diclofenac sodium from wax matrix granules. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86: 929-934.

Shedden, A. (2005). Impact of nasal congestion on quality of life and work productivity in allergic rhinitis: findings from a large online survey. *Treatments in Respiratory Medicine*, 4, 439-446.

Shimizu, T., Hirano, H., Majima, Y. ve Sakakura, Y. (2000). A mechanism of antigeninducedmucus production in nasal epithelium of sensitized rats. Acomparison with lipopolysaccharide-induced mucus production. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161, 1648-1654.

Shinde, J.V., Mali, K.K., Dias, R.J., Havaldar, V.D. ve Mahajan, N.S. (2008). Insitu Mucoadhesive Nasal Gels of Metoclopramide Hydrochloride:Preformulation and Formulation Studies. *Journal of Pharmacy Research*, 1(1), 88-96.

Shinmei, Y., Yano, H., Kagawa, Y., Izawa, K., Akagi, M., Inoue, T., Kamei, C. 2009. "Effect of Brazilian propolis on sneezing and nasal rubbing in experimental allergic rhinitis of mice", Immunopharmacol Immunotoxicoli, 31, 688–693.

Siles, R.I. ve Hsieh, F.H. (2011). Allergy blood testing: a practical guide for clinicians. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 78, 585-592.

Simons, F.E.R. (2004). Advances in H1-antihistamines. *The New England Journal of Medicine*, 351, 203-2217.

Singh, R.M.P., Kumar, A. ve Pathak, K. (2013). Thermally Triggered Mucoadhesive In Situ Gel of Loratadine: β-Cyclodextrin Complex for Nasal Delivery. *AAPS PharmSciTech*, 14(1), 412-424.

Skoner, D.P. (2001). Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection and diagnosis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108, 2-8.

Small, C.B., Hernandez,J. ve Reyes, A. (2005). Efficacy and safety of mometasone furoate nasal spray in nasal polyposis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116, 1275–1281.

Smart, S.D. (2005). The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1556–1568.

Soane, R.J., Hinchcliffe, M., Davis, S.S. ve Illum, L. (2001). Clearance characteristics of chitosan based formulations in the sheep nasal cavity. *International Journal of Pharmaceutics*, 217, 183–191.

Soderstrom, L., Kober, A. ve Ahlstedt, S. (2003). A further evaluation of the clinical use of specific IgE antibody testing in allergic diseases. *Allergy*, 58, 921-928.

Söğüt, A., Yılmaz, O., Dinç, G. ve Yüksel, H. (2009). Prevalence of habitual snoring and symptoms of sleep-disordered breathing in adolescents. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 73, 1769-1773.

Sood, S., Jain, K. ve Gowthamarajan, K. (2014). Optimization of curcumin nanoemulsion for intranasal delivery usingdesign of experiment and its toxicity assessment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113, 330– 337.

Srividya, B., Cardoza, R.M. ve Amin, P.D. (2001). Sustained ophthalmic delivery of ofloxacin from a pH triggered in situ gelling system. *Journal of Controlled Release*, 73, 205–211.

Sur, D.K. ve Scandale, S. (2010). Treatment of allergic rhinitis. *South African Family Practice*, 52(5), 398-403.

Surti, N., Naik, S. ve Misra, A. (2009). Pharmacokinetic evaluation of wheat germ agglutinin-grafted nanoparticles of mometasone furoate. *Scientia Pharmaceutica*, 77, 123–132.

Swamy, N.G.N. ve Abbas, Z. (2012). Mucoadhesive in situ gels as nasal drug delivery systems: an overview. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 168-180.

Szeinbach, S.L., Seoane-Vazquez, E.C., Beyer, A. ve Williams, P.B. (2007). The impact of allergic rhinitis on work productivit. *Primary Care Respiratory Journal*, 16, 98-105.

Takeuchi, H., Thongborisute, J., Matsui, Y., Sugihara, H., Yamamoto, H. ve Kawashima, Y. (2005). Novel mucoadhesion tests for polymers and polymer-coated particles to design optimal mucoadhesive drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1583–1594.

Takhar, P., Smurthwaite, L., Coker, H.A., Fear, D.J., Banfield, G.K. ve Carr, V.A. (2005). Allergen drives class switching to IgE in the nasal mucosa in allergic rhinitis. *The Journal of Immunology*, 174(8), 5024–5032.

Taş, C., Özkan, C.K., Savaser, A., Özkan, Y., Taşdemir, U. ve Altunay, H. (2006). Nasal absorption of metoclopramide from different Carbopol 981 based formulations: In vitro, ex vivo and in vivo evaluation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 64, 246–254.

Tefferi, A. (2005). Blood Eosinophilia: A new paradigm in disease classification, diagnosis and treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, 80, 75-83.

Teijeiro-Osorio, D., RemunanLopez, C. ve Alonso, M.J. (2009). Chitosan/cyclodextrin nanoparticles can efficiently transfect the airway epithelium in vitro. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 71, 257–263.

Teng, X. W., Foe, K., Brown, K. F., Cutler, D. J. ve Davies, N. M. (2001). High-performance liquid chromatographic analysis of mometasone furoate and its degradation products: application to in vitro degradation studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26 (2), 313-9.

TePas, E.C., Hoyte, E.G. ve McIntire, J.J. (2004). Clinical efficacy of microencapsulated timothy grass pollen extract in grass-allergic individuals. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 92, 25-31.

Thanou, M., Verhoef, J.C., Verheijden, J.H. ve Junginger, H.E. (2000). Intestinal absorption of octeriotide: Ntrimethyl chitosan chloride (TMC) ameliorates the permeability and absorption properties of the somatostatin analogue in vitro and in vivo. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89, 951–957.

The United States Pharmacopeia. (2008). The National Formulary; 31th ed., Pharmacopoeial Convention: Rockville.

Tiyaboonchai, W. (2003). Chitosan Nanoparticles: A Promising System for Drug Delivery. *Naresuan University Journal*, 11, 51-66.

Tzachev, C.T., Mandajieva, M., Minkov, E.H. ve Popov, T.A. (2002). Comparison of the clinical efficacy of standard and mucoadhesivebased nasal decongestants. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 53, 107–109.

Ugwoke, M.I., Agu, R.U., Verbeke, N ve Kinget, R. (2005). Nasal mucoadhesive drug delivery: background, applications, trends and future perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1640–1665.

Ugwoke, M.I., Sam, E., Van Den Mooter, G., Verbeke, N. ve Kinget, R. (1999). Bioavailability of apomorphine following intranasal administration of mucoadhesive drug delivery systems in rabbits. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9, 213–219.

Ugwoke, M.I., Verbeke, N. ve Kingent, R. (2001). The biopharmaceutical aspects of nasal mucoadhesive drug delivery. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 3-21.

Valenta, R., Ferreira, F. ve Grote, M. (1993). Identification of profilin as an actin-binding protein in higher plants. *The Journal of Biological Chemistry*, 268, 22777-81.

Valero, A., Amat, P., Sanosa, J., Sierra, P., Malet, A. ve Garcia, P.A. (1988). Hypersensitivity to wheat flour in bakers. *Allergologia et Immunopathologia*, 16, 309-314.

Valotis, A., Neukam, K., Elert, O. ve Hogger, P. (2004). Human receptor kinetics, tissue binding affinity, and stability of mometasone furoate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93(5), 1337-1350.

Van Neerven, R.J., Wikborg, T. ve Lund, G. (1999). Blocking antibodies induced by specific allergy vaccination prevent the activation of CD4+ T cells by inhibiting serum-IgE-facilitated allergen presentation. *The Journal of Immunology*, 163, 2944-2952.

VanderLubben, I.M., Kersten, G., Fretz, M.M., Beuvery, C. ve Junginger, H.E. (2003). Chitosan microparticles for mucosal vaccination against diphtheria oral and nasal efficacy studies in mice. *Vaccine*, 21, 1400–1408.

Veyries, M. L., Couarraze, G., Geiger, S., Agnely, F., Massias, L., Kunzli, B. ve ark. (1999). Controlled release of vancomycin from poloxamer 407 gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 192(2), 183-193.

Viram, P. ve Lumbhani, A.N. (2012). Development and evaluation of ion- dependent in- situ nasal gelling systems of metoclopramide hydrochloride as an antimigraine model drug. *International Journal of Latest Research in Science and Technology*, 1(2),80-89.

Viram, P. ve Lumbhani, A.N. (2012). Development and evaluation of ion-dependent in-situ nasal gelling systems of metoclopramide hydrochloride as an antimigraine model drug. *International Journal of Latest Research in Science and Technology*, 1(2), 80-89.

Vyas, S.P., Goswami, S.K. ve Singh, R. (1995). Liposomes based nasal delivery system of nifedipine: Development and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, 118, 23-30.

Walker, S.M., Varney, W.A., Gaga, M., Jacobson, M.R. ve Durham, S.R. (1995). Grass pollen immunotherapy: efficacy and safety during a 4-year follow-up study. *Allergy*, 50, 405-413.

Wallace, D.V., Dykewicz, M.S. ve Bernstein, D.I. (2008). The diagnosis and management of rhinitis: an updated practice parameter. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 122(2), 1-84.

Wang, C.J., Tian, Z., Byrnes, K. ve Lin, C.C. (1992). A competitive enzyme immunoassay for the direct determination of mometasone furoate (SCH 32088) in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 10, 473–479.

Wang, X., Chi, N. ve Tang, X. (2008). Preparation of estradiol chitosan nanoparticles for improving nasal absorption and brain targeting. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70, 735–740.

Ward, M.A. ve Georgiou, T.K. (2011). Thermoresponsive polymers for biomedical applications. *Polymers*, 3, 1215–1242.

Watkins, L.R., Maier, S.F. ve Goehler, L.E. (1995). Immune activation: the role of pro-inflammatory cytokines in inflammation, illness responses and pathological pain states. *The Journal of Pain*, 63(3), 289–302.

Wei, G., Xu, H., Ding, P.T., Li, S.M. ve Zheng, J.M. (2002). Thermosetting gels with modulated gelation temperature for ophthalmic use: the rheological and gamma scintigraphic studies. *Journal of Controlled Release*, 83 (1), 65–74.

Wen, W.D., Yuan, F., Wang, J.L. ve Hou, Y.P. (2007). Botulinum toxin therapy in the ovalbumin-sensitized rat. *Neuroimmunomodulation*, 14, 78–83.

Wide, L., Bennich, H. ve Johansson, S.G. (1967). Diagnosis of allergy by an in-vitro test for allergen antibodies. *The Lancet*, 2, 1105-1107.

Woodfolk, J.A., Hayden, M.L., Mıller, J.D. ve Miller, A. (1994). Chemical treatment of carpets to reduce allergens. A detailed study of tannic acid on indoor allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 94, 19-23.

Yaşar, H. ve Sarıkahya, İ. (2000). Alerjik rinitli hastalarda Prick test ile Multi-Test cilt testinin karşılaştırılması. *Türk Otolarengoloji Arşivi*, 38(2), 87-90.

Yman, L. (1991). Standardization of IgE antibody assays. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry*, 3, 198-203.

Yong, C. S., Choi, J., Quan, Q. Z., Rhee, J. D., Kim, C. K., Lim, S. J. ve ark. (2001). Effect of sodium chloride on the gelation temperature, gel strength and bioadhesive force of poloxamer gels containing diclofenac sodium. *International Journal of Pharmaceutics*, 226(1-2), 195-205.

Yuan, Y., Cui, Y., Zhang, L., Zhu, H.P. ve Guo, Y.S. (2012). Thermosensitive and mucoadhesive in situ gel based on poloxamer as new carrier for rectal administration of nimesulide. *International Journal of Pharmaceutics*, 430(1-2), 114-119.

Zaki, N.M., Awad, G.A., Mortada, N.D. ve Abd ElHady, S.S. (2007). Enhanced bioavailability of metoclopramide HCl by intranasal administration of a mucoadhesive in situ gel with modulated rheological and mucociliary transport properties. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32, 296–307.

ETIK KURUL KARARI

BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

T.C.
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR METNİ

SAYI: 2014/ 134 29.05.2014
KONU: Sn. Arş. Gör. Ebru ALTUNTAŞ

Sayın Arş. Gör. Ebru ALTUNTAŞ,

Başlığı "Alerjik rinit tedavisinde nazal yoldan kullanılmak üzere in situ jelleşen topikal formülasyonların geliştirilmesi ve etkinliğinin değerlendirilmesi" olan projeniz 29.05.2014 tarihinde yapılan Yerel Etik Kurul toplantısında değerlendirilmiş ve onanmıştır.

- Bahsi geçen proje **Prof. Dr. Fatma Gülgün YENER** yürüttücülüğünde 31.10.2013 tarihinde, 2013/208 evrak no'su ile Yerel Etik Kurulumuzdan onay almıştır fakat, 26.05.2014 tarihinde tarafımıza sunulan dilekçelerine istinaden, TÜBİTAK başvurularının değerlendirilmesi açısından gerekliliği üzere proje yürüttücüsünün Arş. Gör. Ebru ALTUNTAŞ olarak değiştirilmesi uygun görülmüştür.

Doç. Dr. Ülkan KILIÇ
Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Ahmet BELCE
Üye

Prof. Dr. Erhan AYŞAN
Üye

Prof. Dr. İsmail MERAL
Üye

Prof. Dr. Serdal ÖĞÜNÇ
Üye

Yrd. Doç. Dr. Mahmut GÜRGAN
Üye

Yrd. Doç. Dr. Ömer UYSAL
Üye

Nasuhi GÜNAY
Üye

Veli ÖZTÜRK
Üye