

Enzim bazlı Antibiyotikler ve Kişiselleştirilmiş Tıbbı Yeni Yaklaşımlar

Zeynep Tekbaş¹

Duygu Öcal²

Özet

Antibiyotik direnci, modern tıbbın en büyük küresel tehditlerinden biridir. Klasik antibiyotiklerin etkinliği çoklu ilaç dirençli (MDR) patojenler karşısında azalırken, enzim bazlı antibiyotikler (enzybiotics) yeni bir tedavi stratejisi olarak öne çıkmaktadır. Bu biyomoleküller, bakteriyel hücre duvarı ve zar yapısını doğrudan hedef alarak hızlı bakterisidal etki gösterir ve direnç gelişimini zorlaştırır.

En önemli örneklerden lizozim, doğal bağışıklıkta rol oynayan ve özellikle gram-pozitif bakterilere karşı etkili bir enzimdir; nanoteknolojik taşıyıcılar, PEGilasyon ve protein mühendisliği gibi yöntemlerle stabilitesi ve etkinlik spektrumu genişletilmektedir. Bakteriyofaj kökenli enzimler (endolizinler, holinler) MRSA ve VRE gibi dirençli patojenlere karşı güçlü etki göstermekte, biyofilmleri parçalayarak kronik enfeksiyon tedavisinde umut vaat etmektedir.

Üretim maliyeti, düşük yarı ömür, immünojenisite ve doku penetrasyonu gibi zorluklar halen vardır; ancak rekombinant DNA teknolojisi, nanopartikül taşıyıcı sistemler ve yapay zeka destekli protein mühendisliği bu engelleri aşmayı kolaylaştırmaktadır.

Gelecekte kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımları, hasta ve patojenin genetik özelliklerine uygun enzim bazlı tedavilerin geliştirilmesini mümkün kılacaktır. Böylece enzybiotics, klasik antibiyotiklerin sınırlılıklarını aşarak dirençli enfeksiyonlara karşı stratejik bir çözüm sunabilir.

- 1 Zeynep Tekbaş, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, e-mail: ztekbas6@gmail.com ORCID: 0009-0001-2467-6625
- 2 Doç. Dr. Duygu Öcal, Ankara Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, e-mail: docal@ankara.edu.tr ORCID: 0000-0001-9929-267X

1. Giriş

1.1 Antibiyotik Direnci: Küresel Bir Sağlık Sorunu

Antibiyotiklerin keşfi, modern tıbbın en önemli dönüm noktalarından biri olarak kabul edilmektedir. 1928’de Alexander Fleming tarafından penisilinin bulunması ile başlayan antibiyotik çağı, milyonlarca hayatın kurtarılmasını sağlamış ve enfeksiyon hastalıklarının kontrol altına alınmasında çığır açmıştır (Fleming, 1922). Ancak antibiyotiklerin yaygın ve çoğu zaman uygunsuz kullanımı, bakterilerde direnç mekanizmalarının hızla gelişmesine yol açmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), antibiyotik direncini 21. yüzyılın en önemli küresel sağlık tehditlerinden biri olarak tanımlamaktadır (WHO, 2020).

Antibiyotik direncinin artışı yalnızca mortalite ve morbidite oranlarını yükseltmekle kalmaz, aynı zamanda sağlık sistemleri için büyük bir ekonomik yük oluşturmaktadır. 2050 yılına kadar antibiyotik direncine bağlı enfeksiyonların yılda 10 milyon ölüme yol açabileceği ve küresel ekonomiye trilyonlarca dolar zarar verebileceği öngörülmektedir (O’NEILL, 2016). Bu nedenle yeni antimikrobiyal stratejilerin geliştirilmesi bir lüks değil, bir zorunluluktur.

1.2 Enzim bazlı Antibiyotiklerin Ortaya Çıkışı

Son yıllarda klasik antibiyotiklerin etkisiz kaldığı durumlarda alternatif tedavi stratejileri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu bağlamda enzim bazlı antibiyotikler (enzybiotics), bakteriyel hücre duvarı veya zar yapısını doğrudan hedef alarak etki eden enzim temelli antimikrobiyal ajanlar olarak öne çıkmaktadır (Nelson vd., 2012). Enzim bazlar, doğal olarak bakteriyofajlardan, bakterilerden veya memeli organizmalardan elde edilebilmekte, ayrıca genetik mühendislik yöntemleri ile de modifiye edilebilmektedir.

Klasik antibiyotikler genellikle metabolik süreçlere veya protein sentezine müdahale ederken, enzim bazlı antibiyotikler doğrudan bakteriyel hücre duvarı peptidoglikanına veya zar yapısına saldırır. Bu özgün mekanizma, bakterilerin direnç geliştirmesini zorlaştırmakta ve hızlı bakterisidal etki sağlamaktadır (Fischetti, 2010). Özellikle çoklu ilaç dirençli (MDR) bakterilere karşı yeni tedavi yaklaşımlarında enzim bazların önemli bir rol üstlenebileceği öngörülmektedir.

Enzim bazlı antibiyotiklerin klasik antibiyotiklere kıyasla çeşitli avantajları bulunmaktadır:

Hızlı bakterisidal etki: Hücre duvarını doğrudan hedef alarak dakikalar içinde bakteriyel ölüm sağlarlar.

Düşük direnç gelişimi: Spesifik hedefleme nedeniyle direnç kazanımı daha zordur.

Biyofilm etkinliği: Biyofilmleri parçalayabilme özellikleri vardır.

Hedef özgüllüğü: Patogeni seçici olarak hedefleyebilir, normal mikrobiyotaya daha az zarar verir.

Kombinasyon imkânı: Klasik antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında sinerjik etki gösterebilirler (Loeffler vd., 2003).

1.3 Lizozim: Doğal Bir Antimikrobiyal Enzim

Enzim bazlı antibiyotik araştırmalarının temeli, aslında insan vücudunda doğal olarak bulunan lizozim enzimi ile atılmıştır. Lizozim, Fleming tarafından 1922’de tanımlanmış olup, gözyaşı, tükürük ve mukus gibi biyolojik sıvılarda doğal savunma mekanizmasının bir parçası olarak bulunur (Fleming, 1922). Bu enzim, bakterilerin hücre duvarındaki peptidoglikanı hidrolize ederek hücre bütünlüğünü bozar ve bakterilerin lizis ile ölümüne yol açar.

Lizozim özellikle gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir. Bununla birlikte gram-negatif bakterilerdeki dış zar yapısı, lizozimin etkinliğini kısıtlamaktadır. Bu sorunun aşılması amacıyla lizozim türevleri geliştirilmiş, özellikle peptid-protein yapısında olan moleküllere bir veya daha fazla polietilen glikol olan pegilasyon, lipit taşıyıcı sistemler ve nanoteknolojik yöntemlerle etkinlik spektrumu genişletilmiştir (Morgenstern vd., 2017; Shin vd., 2016). Lizozimin polietilen glikol (PEG) ile konjuge edilmesi, enzimin yarı ömrünü uzatmakta, immünojenitesini azaltmakta ve farmakokinetik özelliklerini iyileştirmektedir. PEGilasyon ayrıca lizozimin proteolitik yıkıma karşı daha dirençli hale gelmesini sağlamaktadır (Maiser vd., 2015). Bu gelişmeler, lizozimin sadece doğal bağışıklık sistemi bileşeni olarak değil, aynı zamanda farmasötik potansiyeli olan bir biyomolekül olarak yeniden değerlendirilmesini sağlamıştır.

1.4 Bakteriyofaj Kökenli Enzimler

Lizozim dışında bakteriyofajlardan elde edilen lizisinler (endolizinler) ve holinler gibi enzimler de son yıllarda antibiyotik alternatifi olarak öne çıkmaktadır. Bu enzimler, bakteriyofajların yaşam döngüsü sırasında bakteriyel hücre duvarını parçalamak için kullandıkları doğal moleküllerdir. Bakteriyofaj lizisinleri, spesifik bakteriyel türlere karşı güçlü bir bakterisidal

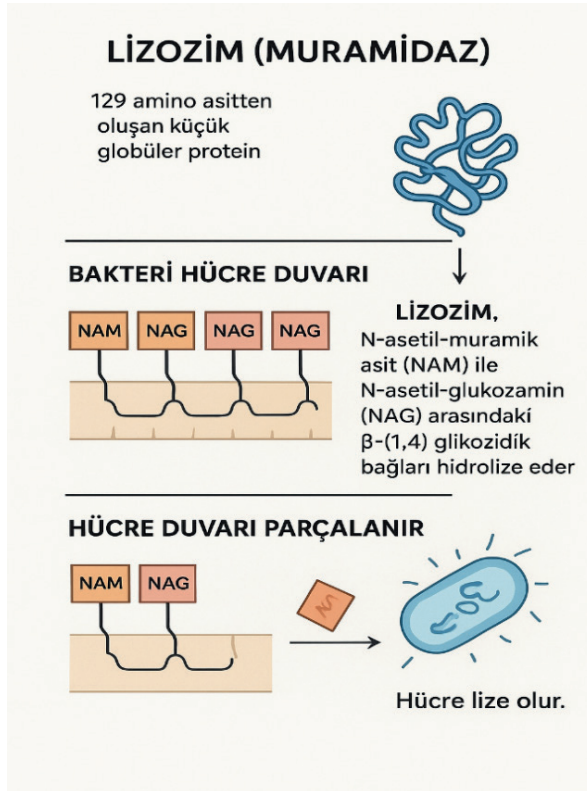
etki gösterebilmekte ve antibiyotiklerle kombinasyon halinde sinerjik sonuçlar verebilmektedir (Schmelcher & Loessner, 2021).

Özellikle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve vankomisine dirençli *Enterococcus faecalis* gibi patojenlerde, bakteriyofaj kökenli enzimlerin umut verici sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Schuch vd., 2014). Bu enzimler aynı zamanda biyofilm yapılarının çözülmesinde de etkilidir, bu da onları kronik enfeksiyonların tedavisinde cazip kılmaktadır.

2. Lizozim ve Türevleri

2.1 Lizozimin Keşfi ve Yapısal Özellikleri

Lizozim, antibakteriyel enzimler içerisinde en eski ve en iyi bilinen moleküllerden biridir. 1922 yılında Alexander Fleming tarafından tanımlanan lizozim, insan gözyaşı, tükürük, mukus ve anne sütü gibi biyolojik sıvılarda doğal olarak bulunur ve doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temel bileşenlerinden biridir (Fleming, 1922). Lizozim, özellikle gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir; çünkü bu bakterilerin hücre duvarı, lizozimin substratı olan peptidoglikan tabakasından oluşmaktadır.



Moleküler olarak lizozim, genellikle 14.3 kDa büyüklüğünde, 129 amino asitten oluşan küçük bir globüler proteindir. Enzim, “muramidaz” olarak da bilinir; çünkü N-asetil-muramik asit (NAM) ile N-asetil-glukozamin (NAG) arasındaki β -(1,4) glikozidik bağları hidrolize ederek bakteriyel hücre duvarını parçalar (Vocadlo vd., 2001). Bu süreç sonucunda hücre duvarı bütünlüğü bozulur ve osmotik basınca dayanamayan bakteri hücresi lizis ile ölür. (Şekil 1)

2.2 Antibakteriyel Mekanizması

Lizozimin antibakteriyel etkisi doğrudan hücre duvarının hidrolizi ile ilişkilidir. Gram-pozitif bakterilerde, kalın peptidoglikan tabakası lizozim için erişilebilir bir substrat sunar. Gram-negatif bakterilerde ise dış membran nedeniyle lizozimin etkinliği sınırlıdır. Bununla birlikte lizozim, gram-negatif bakterilerde dış zar geçirgenliği artırıldığında (örneğin EDTA veya antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında) etkili olabilmektedir (İbrahim vd., 2001).

Lizozimin etkisi yalnızca katalitik aktivitesiyle sınırlı değildir. Araştırmalar lizozimin aynı zamanda katalitik olmayan antimikrobiyal özellikler de sergileyebildiğini göstermiştir. Lizozimin kationik yüzeyi, bakteriyel zarlarla elektrostatik etkileşimler kurarak membran bütünlüğünü bozabilmektedir (Masschalck & Michiels, 2003). Bu durum, lizozimin gram-negatif bakterilerde de belirli koşullarda etkili olabilmesini açıklamaktadır.

2.3 Lizozim Kaynakları

Lizozim yalnızca insanlarda değil, farklı canlılarda da doğal olarak bulunur. Tavuk yumurta beyazındaki lizozim, endüstride en yaygın kullanılan formdur. Yumurta beyazı lizozimi, gıda koruma ve farmasötik uygulamalarda ticari ölçekte üretilmektedir (Proctor vd., 1988). Lizozimin etkinliğini artırmak için çeşitli mühendislik ve kimyasal modifikasyon stratejileri geliştirilmiştir. Bunun yanı sıra bakterilerden ve bakteriyofajlardan elde edilen lizozim benzeri enzimler de farklı özellikler gösterebilir.

2.4 Lizozimin Klinik Uygulamaları

Lizozim, doğal bağışıklık sistemindeki rolünün ötesinde, klinik potansiyeli nedeniyle araştırılmaktadır. Antibakteriyel, antiviral ve antifungal etkileri rapor edilmiştir. Özellikle göz damlaları, yara iyileştirici preparatlar ve mukozal uygulamalarda destekleyici ajan olarak kullanılabilir (Lesnierowski & Kijowski, 2007). Ancak lizozimin sınırlı stabilitesi, serum proteazları tarafından parçalanabilmesi ile görülen düşük stabilite ve gram-

negatif bakterilere karşı zayıf etkinliği, olası immün yanıtlar, terapötik uygulamalarını sınırlandırmaktadır.(Lesnierowski & Kijowski, 2007)

Bu sınırlamalar, lizozimin doğrudan klinik kullanımını engellemektedir. Ancak lizozimin etkinliğini artırmak için lipit bazlı taşıyıcı sistemler ve biyopolimerlerle enkapsülasyon çalışmaları yapılmıştır. Lizozim içeren lipozomların gram-negatif bakterilere karşı daha yüksek etkinlik gösterdiği bildirilmektedir (Gil-Gonzalo vd., 2024; Sedov vd., 2011). Ayrıca biyo bozunur polimerlerle mikroenkapsülasyon, lizozimin kontrollü salınımını ve stabilitesini sağlamaktadır ve bu modifikasyonlarla bu sorunların aşılabileceği ve lizozimin güçlü bir terapötik ajan haline gelebileceği düşünülmektedir.

Enzim temelli antibiyotiklerin gerçek tedavilere dönüşebilmesi için öncelikle üretim verimliliği, biyolojik stabilite, farmakokinetik özellikler ve klinik güvenlik gibi bir dizi kritik engelin aşılması gerekmektedir.

Enzimlerin endüstriyel ölçekte üretimi genellikle rekombinant DNA teknolojisi ile gerçekleştirilir. *E. coli*, *Bacillus subtilis*, maya türleri (*Pichia pastoris*) ve memeli hücre hatları en yaygın kullanılan ekspresyon sistemleridir (Terpe, 2006).

- *E. coli*: Yüksek verim sağlar, ucuzdur; ancak inklüzyon cisimcikleri oluşabilir, doğru katlanma ve post-translasyonel modifikasyon sorunları vardır.
- *Bacillus subtilis*: Doğal olarak sekretuar bir sistemdir, gram-pozitif bakterilere karşı lizozim ve endolizin üretiminde avantajlıdır.
- *Pichia pastoris*: Glikozilasyon ve katlanma açısından avantajlıdır, farmasötik kalitede üretim yapılabilir.
- Memeli hücre hatları: Klinik protein üretiminde altın standarttır, fakat maliyet yüksektir. (Terpe, 2006).

Enzimlerin terapötik kullanımında yüksek saflık gerekir. Bu nedenle kromatografi teknikleri (iyon değişim, afinite, jel filtrasyonu) yaygın olarak kullanılır. Ölçek büyütme sırasında enzimlerin aktivitelerini korumaları için pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarının optimize edilmesi gerekir (Walsh, 2014).

Enzim üretiminin maliyeti klasik antibiyotiklere kıyasla çok daha yüksektir. Bu durum klinik kullanımda yaygınlaşmalarının önünde önemli bir engel teşkil etmektedir. Ancak biyoteknoloji endüstrisindeki gelişmeler, rekombinant protein üretim maliyetlerini giderek düşürmektedir.(Walsh, 2014)

Enzimler protein yapısında oldukları için proteazlarla hızla parçalanabilirler. Serum proteazları özellikle intravenöz uygulamalarda enzimlerin yarı ömrünü kısaltır (Van Heke vd., 2017).

Bu sorunları aşmak için:

- PEGilasyon (enzime PEG eklenmesi)
 - Nanopartikül taşıyıcı sistemler (örn. lipozomlar, polimerik nanopartiküller)
 - Protein mühendisliği ile daha dayanıklı mutasyonların üretilmesi,
- yaygın olarak kullanılmaktadır (Da Silva Freitas & Abrahão-Neto, 2010)

Enzim bazlı antibiyotiklerin en önemli zorluklarından biri düşük yarı ömür ve sınırlı doku penetrasyonudur.

- Lizozim gibi küçük enzimler böbrekten hızla atılır.
- Büyük rekombinant enzimler ise immün yanıt tetikleyebilir.
- Enzimlerin doku bariyerlerini (örneğin kan-beyin bariyeri) geçmesi genellikle zordur.

Çözümler arasında uzatılmış salınımlı formülasyonlar, taşıyıcı peptitlerle konjugasyon ve lokal uygulama stratejileri yer alır (Zhang vd., 2009)

Protein bazlı ilaçlarda immün yanıt riski yüksektir. Enzim bazlı antibiyotikler yabancı proteinler oldukları için antikor yanıtı tetikleyebilir ve etkilerini kaybedebilir. Ayrıca bazı durumlarda alerjik reaksiyonlar da gözlemlenebilir (Jiskoot et al., 2009).

Birçok enzim (örneğin lizozim, endolizin) gram-negatif bakterilere karşı sınırlı etkilidir. Bunun nedeni dış zarın peptidoglikan tabakasını korumasıdır. Bu engeli aşmak için:

- Artılysinler: Endolizinlerin dış zar geçirgenleştirici peptitlerle birleştirilmiş formları (Briers et al., 2014).
- EDTA veya antibiyotiklerle kombinasyon: Gram-negatif bakterilerin dış zarının zayıflatılması.
- Nanoteknolojik taşıyıcılar: Enzimlerin doğrudan bakteriyel membrana taşınması.

Bununla birlikte nanopartiküllerle konjuge edilen lizozim, hedefe yönelik antimikrobiyal stratejilerde önemli avantajlar sunmaktadır. Örneğin, gümüş nanopartiküllerle birleştirilen lizozim, gram-negatif bakterilere karşı yüksek bakterisidal etki göstermektedir. Bu tür nanoformülasyonlar, antibiyotik

dirençli bakterilere karşı umut verici alternatiflerdir (Vlachopoulos vd., 2022).

Rekombinant DNA teknolojisi ile lizozim geninde yapılan değişiklikler, enzimin substrat özgüllüğünü ve termal stabilitesini artırabilmektedir. Yönlendirilmiş evrim teknikleriyle lizozimin daha geniş spektrumlu varyantları elde edilmiştir (Lane & Seelig, 2014). Bu modifikasyonlar, klinik uygulamalarda kullanılabilecek daha güçlü enzim türevleri geliştirilmesini mümkün kılmaktadır.

3. Diğer Enzim Bazlı Antibiyotikler (Enzybiotics)

“Enzybiotics” terimi, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde enzimlerin antimikrobiyal ajan olarak kullanımını ifade etmektedir. Bu terim ilk kez 2001 yılında ortaya atılmış ve klasik antibiyotiklerin yerine veya onlarla birlikte kullanılabilecek biyomoleküller için yeni bir kategori tanımlamıştır (Nelson vd., 2012). Enzybiotics, genellikle bakteriyofajlardan, bakterilerden veya memeli hücrelerinden elde edilen hidrolitik enzimlerden oluşur. Bu enzimler bakteriyel hücre duvarı, membran veya diğer hayati yapıları hedef alarak hızlı ve etkili bakterisidal etki gösterirler.

Enzybiotics, klasik antibiyotiklerden farklı olarak doğrudan fiziksel ve biyokimyasal yapıların yıkımına neden olur. Bu özgün mekanizma sayesinde bakterilerin direnç geliştirme olasılığı daha düşüktür. Ayrıca, birçok enzybiotic bakteriyel biyofilm yapılarının çözülmesinde de etkilidir. Bu özellikleri, onları özellikle çoklu ilaç dirençli (MDR) patojenlere karşı cazip bir seçenek haline getirmektedir.

Bakteriyofajlar, bakterileri enfekte ederek çoğalan virüslerdir ve yaşam döngülerinin bir parçası olarak bakteriyel hücre duvarını parçalayabilen lizisinler (endolizinler) ve holinler gibi enzimler üretirler. Bu enzimler doğal olarak bakteriyel hücreyi parçalayarak fajların dışarı salınmasını sağlar.

Endolizinler, bakteriyofajların lizis aşamasında ürettiği katalitik ve bağlanma alanlarından oluşan hidrolitik enzimlerdir. Gram-pozitif bakterilere karşı uygulandığında doğrudan hücre duvarına bağlanarak hızlı bakterisidal etki gösterirler (Fischetti, 2010). Gram-negatif bakterilerde ise dış zar bir engel oluşturur; ancak bu durum, mühendislik yaklaşımlarıyla aşılabilmektedir. Domain mühendisliği ile bu alanlar farklı enzimlerden birleştirilerek hibrit enzybiotics tasarlanabilir. Bu yöntemle elde edilen Artilysinler, gram-negatif bakterilerin dış zarını aşabilen ilk enzim bazlı antibiyotik sınıfıdır (Briers et al., 2014).

Çeşitli endolizinerler, MRSA, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis* ve *Enterococcus faecalis* gibi önemli patojenlere karşı test edilmiştir (Schuch vd., 2014). Klinik öncesi çalışmalar, endolizinerlerin hem sistemik hem de topikal uygulamalarda güvenli ve etkili olabileceğini göstermektedir.

Holinler, bakteriyofajların lizis mekanizmasında rol alan bir diğer protein grubudur. Holinler, bakteriyel hücre membranında gözenekler oluşturarak endolizinerlerin peptidoglikana erişimini kolaylaştırır. Doğrudan antibakteriyel potansiyelleri sınırlı olsa da, kombinasyon halinde enzybiotic stratejilerde önemli katkı sağlarlar (Young, 2013).

Genetik mühendislik teknikleri ile farklı bakteriyofajlardan alınan lizisinerler birleştirilerek geniş spektrumlu hibrit enzybiotics geliştirilmiştir. Örneğin “chimeRicin” olarak bilinen hibrit endoliziner, hem MRSA hem de vankomisin dirençli enterokoklara (VRE) karşı etkili bulunmuştur (Briers vd., 2014). Bu tür mühendislik ürünü enzimler, hedef spesifitesini artırarak klinik potansiyeli genişletmektedir.

İnsan bağışıklık sisteminde lizozim dışında çeşitli enzimler de antimikrobiyal etki göstermektedir. Örneğin, insan mukozasında bulunan “sekretuar fosfolipaz A2” (sPLA2), gram-pozitif bakterilerin membran fosfolipitlerini hidrolize ederek bakterisidal etki oluşturur (Dennis vd., 2011). Bu tür doğal enzimler, enzybiotic araştırmaları için model oluşturmaktadır.

Enfeksiyonların kronikleşmesinde biyofilmler kritik rol oynar. Biyofilm içindeki bakteriler, antibiyotiklere ve bağışıklık sistemine karşı 1000 kata kadar daha dirençli olabilir. Enzybiotics, biyofilm yapılarında bulunan polisakkaritler ve proteinleri parçalayarak biyofilmin çözülmesini sağlar (Danis-Włodarczyk vd., 2021). Özellikle endolizinerler ve bakteriyofaj kökenli enzimler, biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinde umut vadetmektedir.

Çeşitli çalışmalar, enzybiotics’in klasik antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında sinerjik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Örneğin, endoliziner CF-301 (exebacase), MRSA’ya karşı kullanılan beta-laktam antibiyotiklerle kombine edildiğinde tedavi başarısı tek başına antibiyotik kullanımına kıyasla belirgin şekilde artmıştır (Schuch vd., 2014). Bu kombinasyon yaklaşımı, antibiyotik direncinin aşılmasında yeni bir strateji olarak değerlendirilmektedir.

Ayrıca SAL200 isimli rekombinant endoliziner, Kore’de faz I klinik çalışmalarda test edilmiş ve güvenli bulunmuştur (Wire vd., 2022). Bu gelişmeler, enzybiotics’in yakın gelecekte klinik uygulamaya girebileceğinin güçlü bir göstergesidir.

Son yıllarda yapay zeka destekli protein tasarım algoritmaları (örn. AlphaFold) enzim mühendisliğini hızlandırmıştır. Enzimlerin üç boyutlu yapıları daha doğru tahmin edilebilmekte ve aktif bölgelerde spesifik mutasyonlarla hedefe yönelik varyantlar tasarlanabilmektedir (Jumper vd., 2021). Bir diğer yenilikçi yaklaşım, enzimlerin doğrudan proteinin kendisi yerine genetik materyal olarak (örn. mRNA, DNA) verilmesidir. Bu sayede hastanın kendi hücreleri enzimi üretir ve lokal olarak antibakteriyel etki sağlanır. Bu yöntem, özellikle kronik enfeksiyonlarda umut verici bir stratejidir (Pan vd., 2021)

Nanoteknoloji, enzim bazlı antibiyotiklerin stabilitesini, doku hedeflemesini ve terapötik etkinliğini artırmada kritik rol oynar. Enzimler, biyolojik olarak kararsız moleküller oldukları için nanopartiküllerle stabilize edilebilir.

Lipozomlar: Enzimleri kapsüller, bakteriyel membranlara füzyon yoluyla taşır.

Polimerik nanopartiküller: Kontrollü salınım sağlar, yarı ömrü uzatır.

Metal nanopartiküller: Örneğin gümüş nanopartiküllerle konjuge edilmiş lizozim, gram-negatif bakterilere karşı güçlü sinerjik etki göstermiştir (Ashraf vd., 2014).

Nanopartiküller, bakteriyel yüzey antijenlerine özgü ligandlarla modifiye edilerek yalnızca enfekte dokulara yönlendirilebilir. Böylece sistemik yan etkiler azaltılır ve tedavi etkinliği artırılır (Hajipour vd., 2012).

Enzimlerin antibiyotiklerle veya antimikrobiyal peptitlerle aynı nanotaşıyıcıya yüklenmesi, çoklu etki mekanizmalı kombinasyon terapileri geliştirilmesine olanak tanır. Bu tür yaklaşımlar özellikle biyofilm enfeksiyonlarında etkili olmaktadır (Sharma vd., 2019).

Antimikrobiyal tedavilerde en önemli zorluklardan biri, patojen çeşitliliği ve hasta bazlı farklılıklardır. Kişiselleştirilmiş tıp, hastanın enfeksiyon etkenine, bağışıklık durumuna ve mikrobiyota profiline göre özel tedavi planlamayı amaçlar. Hastadan izole edilen patojenin genomik verileri kullanılarak o bakteriye özgü endolizin veya enzim varyantları tasarlanabilir. Bu yaklaşım, özellikle çoklu ilaç dirençli (MDR) enfeksiyonlarda tedavi etkinliğini artırır (Cisek vd., 2017). Hastaların genetik profili, enzimlerin farmakokinetik davranışlarını ve immün yanıtlarını etkileyebilir. Bu nedenle, genetik varyantlara göre enzim bazlı antibiyotik dozları veya formülasyonları uyarlanabilir ve metagenomik tanı sistemleri ile hastadan izole edilen patojene özel endolizin tasarlanması mümkün hale gelmektedir (Hamburg & Collins, 2010). Mikrobiyota ve kişiselleştirilmiş tıp için bakıldığında; enzim bazlı

antibiyotikler, normal mikrobiyotaya minimal zarar verme potansiyeliyle klasik antibiyotiklere kıyasla avantaj sağlayabilir (Masschalck & Michiels, 2003).

Genetik mühendislik, nanoteknoloji ve kişiselleştirilmiş tıp, enzim bazlı antibiyotiklerin geleceğini şekillendiren üç ana inovasyon alanıdır. Genetik mühendislik ile daha güçlü ve dayanıklı enzimler üretilebilir, nanoteknoloji sayesinde bu enzimler hedefe yönelik ve stabil hale getirilebilir, kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımları ile hasta bazlı özel tedaviler tasarlanabilir. Bu bağlamda biyoteknoloji şirketleri, enzybiotics geliştirme konusunda artan yatırımlar yapmaktadır. Ancak yüksek üretim maliyetleri ve sıkı regülasyon süreçleri, bu ilaçların pazara girişini yavaşlatmaktadır. Uluslararası regülasyon kurumlarının biyolojik ilaçlar için hızlandırılmış onay süreçleri geliştirmesi büyük önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), antibiyotik direncini “küresel sağlık için en büyük tehditlerden biri” olarak tanımladığı bu günlerde enzim bazlı antibiyotikler, özellikle gelişmekte olan ülkelerde dirençli enfeksiyonların kontrolünde stratejik önem taşıyabilir. Ancak bunun için düşük maliyetli üretim ve geniş erişim politikaları gereklidir. Klasik antibiyotiklerin sınırlarını aşarak antibiyotik dirençli enfeksiyonlarla mücadelede yeni bir çağın başlangıcını temsil etmektedir. Önümüzdeki yıllarda multidisipliner yaklaşımların artmasıyla enzybiotics, klinik pratikte daha geniş bir yer bulacaktır.

- Ashraf, S., Chatha, M. A., Ejaz, W., Janjua, H. A., & Hussain, I. (2014). Lysozyme-coated silver nanoparticles for differentiating bacterial strains on the basis of antibacterial activity. *Nanoscale Research Letters*, 9(1), 565. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-565>
- Briers, Y., Walmagh, M., Van Puyenbroeck, V., Cornelissen, A., Cenens, W., Aertsen, A., Oliveira, H., Azeredo, J., Verween, G., Pirnay, J.-P., Miller, S., Volckaert, G., & Lavigne, R. (2014). Engineered Endolysin-Based “Artilyns” To Combat Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens. *mBio*, 5(4), e01379-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.01379-14>
- Cisek, A. A., Dąbrowska, I., Gregorczyk, K. P., & Wyżewski, Z. (2017). Phage Therapy in Bacterial Infections Treatment: One Hundred Years After the Discovery of Bacteriophages. *Current Microbiology*, 74(2), 277-283. <https://doi.org/10.1007/s00284-016-1166-x>
- Da Silva Freitas, D., & Abrahão-Neto, J. (2010). Biochemical and biophysical characterization of lysozyme modified by PEGylation. *International Journal of Pharmaceutics*, 392(1-2), 111-117. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.03.036>
- Danis-Wlodarczyk, K. M., Wozniak, D. J., & Abedon, S. T. (2021). Treating Bacterial Infections with Bacteriophage-Based Enzybiotics: In Vitro, In Vivo and Clinical Application. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(12), 1497. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121497>
- Dennis, E. A., Cao, J., Hsu, Y.-H., Magriotti, V., & Kokotos, G. (2011). Phospholipase A2 Enzymes: Physical Structure, Biological Function, Disease Implication, Chemical Inhibition, and Therapeutic Intervention. *Chemical Reviews*, 111(10), 6130-6185. <https://doi.org/10.1021/cr200085w>
- Fischetti, V. A. (2010). Bacteriophage endolysins: A novel anti-infective to control Gram-positive pathogens. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(6), 357-362. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.04.002>
- Fleming, A. (1922). On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 93(653), 306-317. <https://doi.org/10.1098/rspb.1922.0023>
- Gil-Gonzalo, R., Durante-Salmerón, D. A., Pouri, S., Doncel-Pérez, E., Alcántara, A. R., Aranaz, I., & Acosta, N. (2024). Chitosan-Coated Liposome Formulations for Encapsulation of Ciprofloxacin and Etoposide. *Pharmaceutics*, 16(8), 1036. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16081036>
- Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Akbar Ashkarran, A., Jimenez De Aberasturi, D., Larramendi, I. R. D., Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W. J., & Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 499-511. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.06.004>

- Hamburg, M. A., & Collins, F. S. (2010). The Path to Personalized Medicine. *New England Journal of Medicine*, 363(4), 301-304. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1006304>
- Ibrahim, H. R., Matsuzaki, T., & Aoki, T. (2001). Genetic evidence that antibacterial activity of lysozyme is independent of its catalytic function. *FEBS Letters*, 506(1), 27-32. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(01\)02872-1](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02872-1)
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., Tunyasuvunakool, K., Bates, R., Židek, A., Potapenko, A., Bridgland, A., Meyer, C., Kohl, S. A. A., Ballard, A. J., Cowie, A., Romera-Paredes, B., Nikolov, S., Jain, R., Adler, J., ... Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583-589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
- Lane, M. D., & Seelig, B. (2014). Advances in the directed evolution of proteins. *Current Opinion in Chemical Biology*, 22, 129-136. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.09.013>
- Lesnierowski, G., & Kijowski, J. (2007). Lysozyme. İçinde R. Huopalahti, R. López-Fandiño, M. Anton, & R. Schade (Ed.), *Bioactive Egg Compounds* (ss. 33-42). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-37885-3_6
- Loeffler, J. M., Djurkovic, S., & Fischetti, V. A. (2003). Phage lytic enzyme Cpl-1 as a novel antimicrobial for pneumococcal bacteremia. *Infection and Immunity*, 71(11), 6199-6204. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.11.6199-6204.2003>
- Maiser, B., Baumgartner, K., Dismar, F., & Hubbuch, J. (2015). Effect of lysozyme solid-phase PEGylation on reaction kinetics and isoform distribution. *Journal of Chromatography B*, 1002, 313-318. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.08.027>
- Masschalck, B., & Michiels, C. W. (2003). Antimicrobial Properties of Lysozyme in Relation to Foodborne Vegetative Bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 29(3), 191-214. <https://doi.org/10.1080/713610448>
- Morgenstern, J., Baumann, P., Brunner, C., & Hubbuch, J. (2017). Effect of PEG molecular weight and PEGylation degree on the physical stability of PEGylated lysozyme. *International Journal of Pharmaceutics*, 519(1-2), 408-417. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.01.040>
- Nelson, D. C., Schmelcher, M., Rodriguez-Rubio, L., Klumpp, J., Pritchard, D. G., Dong, S., & Donovan, D. M. (2012). Endolysins as Antimicrobials. İçinde *Advances in Virus Research* (C. 83, ss. 299-365). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394438-2.00007-4>
- O'NEILL, J. (t.y.). The Review on Antimicrobial Resistance. Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394438-2.00007-4>

amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf

- Pan, X., Veroniaina, H., Su, N., Sha, K., Jiang, F., Wu, Z., & Qi, X. (2021). Applications and developments of gene therapy drug delivery systems for genetic diseases. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(6), 687-703. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2021.05.003>
- Proctor, V. A., Cunningham, F. E., & Fung, D. Y. C. (1988). The chemistry of lysozyme and its use as a food preservative and a pharmaceutical. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 26(4), 359-395. <https://doi.org/10.1080/10408398809527473>
- Schmelcher, M., & Loessner, M. J. (2021). Bacteriophage endolysins—Extending their application to tissues and the bloodstream. *Current Opinion in Biotechnology*, 68, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.09.012>
- Schuch, R., Lee, H. M., Schneider, B. C., Sauve, K. L., Law, C., Khan, B. K., Rotolo, J. A., Horiuchi, Y., Couto, D. E., Raz, A., Fischetti, V. A., Huang, D. B., Nowinski, R. C., & Wittekind, M. (2014). Combination Therapy With Lysin CF-301 and Antibiotic Is Superior to Antibiotic Alone for Treating Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*-Induced Murine Bacteremia. *The Journal of Infectious Diseases*, 209(9), 1469-1478. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit637>
- Sedov, S. A., Belogurova, N. G., Shipovskov, S., Levashov, A. V., & Levashov, P. A. (2011). Lysis of *Escherichia coli* cells by lysozyme: Discrimination between adsorption and enzyme action. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 88(1), 131-133. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.06.021>
- Sharma, D., Misba, L., & Khan, A. U. (2019). Antibiotics versus biofilm: An emerging battleground in microbial communities. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0533-3>
- Shin, J. M., Gwak, J. W., Kamarajan, P., Fenno, J. C., Rickard, A. H., & Kapila, Y. L. (2016). Biomedical applications of nisin. *Journal of Applied Microbiology*, 120(6), 1449-1465. <https://doi.org/10.1111/jam.13033>
- Terpe, K. (2006). Overview of bacterial expression systems for heterologous protein production: From molecular and biochemical fundamentals to commercial systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72(2), 211-222. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0465-8>
- Van Heeke, G., Allosery, K., De Brabandere, V., De Smedt, T., Detalle, L., & De Fougères, A. (2017). Nanobodies® † †Nanobody is a registered trademark of Ablynx NV. as inhaled biotherapeutics for lung diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, 169, 47-56. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.06.012>

- Vlachopoulos, A., Karlioti, G., Balla, E., Daniilidis, V., Kalamas, T., Stefanidou, M., Bikiaris, N. D., Christodoulou, E., Koumentakou, I., Karavas, E., & Bikiaris, D. N. (2022). Poly(Lactic Acid)-Based Microparticles for Drug Delivery Applications: An Overview of Recent Advances. *Pharmaceutics*, 14(2), 359. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020359>
- Vocadlo, D. J., Davies, G. J., Laine, R., & Withers, S. G. (2001). Catalysis by hen egg-white lysozyme proceeds via a covalent intermediate. *Nature*, 412(6849), 835-838. <https://doi.org/10.1038/35090602>
- Walsh, G. (2014). Biopharmaceutical benchmarks 2014. *Nature Biotechnology*, 32(10), 992-1000. <https://doi.org/10.1038/nbt.3040>
- Wire, M. B., Jun, S. Y., Jang, I.-J., Lee, S.-H., Hwang, J. G., & Huang, D. B. (2022). A Phase 1 Study To Evaluate Safety and Pharmacokinetics following Administration of Single and Multiple Doses of the Antistaphylococcal Lysin LSVT-1701 in Healthy Adult Subjects. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(3), e0184221. <https://doi.org/10.1128/AAC.01842-21>
- Young, R. (2013). Phage lysis: Do we have the hole story yet? *Current Opinion in Microbiology*, 16(6), 790-797. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.08.008>
- Zhang, W., Fisher, J. E., & Mobashery, S. (2009). The bifunctional enzymes of antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 12(5), 505-511. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.06.013>