

MOLEKÜLER TIP ARAŞTIRMALARINDA GÜNCEL YÖNELİMLER:

EPIGENETİK, GENETİK VE HÜCRESEL DÜZEYDE YENİLİKÇİ YAKLAŞIMLAR

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Zehra KAYA

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN



İKSAD
Publishing House

MOLEKÜLER TIP ARAŞTIRMALARINDA GÜNCEL YÖNELİMLER:

EPİGENETİK, GENETİK VE HÜCRESEL DÜZEYDE YENİLİKÇİ YAKLAŞIMLAR

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Zehra KAYA

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

YAZARLAR

Doç. Dr. Zehra KAYA

Doç. Dr. Eda AÇIKGÖZ

Doç. Dr. Deniz AĞIRBAŞLI

Doç. Dr. Aysel KALAYCI

Doç. Dr. Sevgi KARABULUT UZUNÇAKMAK

Dr. Öğr. Üyesi Harika TOPAL ÖNAL

Dr. Öğr. Üyesi Burak Muğdat KARAN

Dr. Öğr. Üyesi Fatma YILDIZ

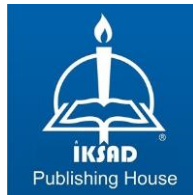
Dr. Öğr. Üyesi Tiinçe AKSAK

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARAÇAY

Dr. Emine ERDAĞ

Dr. Seda KESKİN

Doktora öğrencisi Elif Sena ŞAHİN



Copyright © 2025 by iksad publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced,
distributed or transmitted in any form or by
any means, including photocopying, recording or other electronic or
mechanical methods, without the prior written permission of the
publisher, except in the case of
brief quotations embodied in critical reviews and certain other
noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of
Economic Development and Social Researches Publications®
(The Licence Number of Publicator: 2014/31220)
TÜRKİYE TR: +90 342 606 06 75
USA: +1 631 685 0 853
E mail: iksadyayinevi@gmail.com
www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.
Iksad Publications – 2025©

ISBN: 978-625-378-296-2
Cover Design: İbrahim KAYA
August / 2025
Ankara / Türkiye
Size: 16x24cm

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

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

Doç.Dr. Zehra KAYA

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN..... 1

BÖLÜM 1

DNA METİLASYON MEKANİZMALARI: ÖZAFAGUS KANSERİNDE TANIDAN TEDAVİYE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR

Doç. Dr. Zehra KAYA.....3

BÖLÜM 2

DNA METİLASYONUNU HEDEFLEYEN BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALAR

Dr. Öğr. Üyesi Harika TOPAL ÖNAL.....33

BÖLÜM 3

HÜCREDE ENERJİ DEPOLAYAN BASİT YAPILARDAN ONKOJENİK SÜPERSTARLIĞA: LİPİT DROPLETLERİN TÜMÖR BİYOLOJİSİNDEKİ YÜKSELİŞİ

Doç. Dr. Eda AÇIKGÖZ.....57

BÖLÜM 4

MİTOKONDİRİYAL KALITIM VE HASTALIKLARA YAKLAŞIM

Doç. Dr. Deniz AĞIRBAŞLI ve Doç. Dr. Aysel KALAYCI.....89

BÖLÜM 5

GEN TERAPİSİNİN GELECEĞİ: GENOM DÜZENLEME TABANLI TERAPİLER VE GÜNCEL KULLANIMI

Dr. Öğr. Üyesi Burak Muğdat KARAN.....113

BÖLÜM 6

UZUN KODLANMAYAN RNA'LAR: siRNA'lar ile TERAPÖTİK HEDEFLENME

Dr. Öğr. Üyesi Fatma YILDIZ ve Dr. Emine ERDAĞ.....133

BÖLÜM 7

DİŞİ ÜREME SİSTEMİNDE MİRNA'LARIN REGÜLATÖR ROLÜ

Dr. Öğr. Üyesi Tiinçe AKSAK.....153

BÖLÜM 8

ŞİZOFRENİ HASTALIĞINDA FERROPTOZİS

Doç. Dr. Sevgi KARABULUT UZUNÇAKMAK.....167

BÖLÜM 9

İNFLAMATUVAR DERİ HASTALIKLARINDA MOLEKÜLER SİNYAL AĞLARI: PATOJENİK MEKANİZMALAR VE YENİLİKÇİ TEDAVİ STRATEJİLERİ

Dr. Seda KESKİN ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARAÇAY189

BÖLÜM 10

IGFBP5: YAPISI, MOLEKÜLER MEKANİZMALAR VE KANSERDEKİ ROLÜ

Doktora Öğrencisi Elif Sena ŞAHİN ve Doç. Dr. Zehra KAYA.....225

ÖNSÖZ

Moleküler Tıp, hastalıkların tanı, tedavi ve takibinde hücresel ve genetik düzeydeki mekanizmaların anlaşılmasına dayalı olarak gelişen disiplinler arası bir alandır. Son yıllarda epigenetik ve genetik varyasyonlar, hücre içi sinyal ağları ve biyoteknolojik tedavi yaklaşımları üzerine yapılan çalışmalar, moleküler tıbbın hem temel bilim hem de klinik uygulama açısından kapsamını önemli ölçüde genişletmiştir.

“Moleküler Tıp Araştırmalarında Güncel Yönelimler: Epigenetik, Genetik ve Hücresel Düzeyde Yenilikçi Yaklaşımlar” başlıklı kitabımız, güncel literatür bilgilerine dayanan özgün bölüm içerikleriyle, araştırmacılara ve ilgili alandaki akademisyenlere kapsamlı bir kaynak sunmayı amaçlamaktadır. Kitapta DNA metilasyon mekanizmalarından diğer epigenetik düzenleyicilere ve gen düzenleme teknolojilerine, RNA temelli tedavi stratejilerinden hücresel enerji birimlerine, nörodejeneratif ve inflamatuvar hastalıklardan onkolojik süreçlere kadar geniş bir yelpazede moleküler biyomedikal araştırmalara yer verilmiştir.

Bu çalışmanın, multidisipliner yaklaşımı destekleyerek, moleküler tıp alanındaki yeni yönelimleri anlamak isteyen araştırmacılar, lisansüstü öğrenciler ve sağlık bilimleri alanındaki araştırmacılar için değerli bir başvuru kaynağı olması hedeflenmiştir.

Bu eser kapsamında yer alan tüm bölüm yazılarının akademik ve hukuki sorumluluğu ilgili yazarlara aittir. Bununla birlikte, söz konusu bölümlerin bilimsel literatüre değerli katkılar sağlayacağına ve yeni araştırma ufukları açacağına olan inancımız tamdır.

Kitapta katkı sunan tüm yazarlarımıza ve ilk günden beri desteğini esirgemeyen İKSAD Yayınevi’ne teşekkürlerimizi sunuyoruz.

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Zehra KAYA

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

BÖLÜM 1

DNA METİLASYON MEKANİZMALARI: ÖZAFAGUS KANSERİNDE TANIDAN TEDAVİYE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR

Doç. Dr. Zehra KAYA¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936635>

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji AD. Van, Türkiye. zkaya@yyu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-6222-7882

GİRİŞ

Çok hücreli organizmalardaki çoğu hücre aynı genetik bilgiyi içerir, ancak epigenetik bilgileri farklıdır. Bundan dolayı tüm genler için kullanılan genom kavramı yanında tüm epigenetik işaretler için kullanılan “epigenom” kavramı da çok önemlidir. Çok hücreli bir organizmadaki genom küçük istisnalar olsa da tüm hücre tipleri için aynıdır, epigenom ise potansiyel olarak dinamik ve hücre tipine özgüdür. Epigenetik mekanizmalar, DNA dizisini değiştirmeden genin ekspresyonunu değiştiren kalıtsal değişiklikler olarak tanımlanmaktadır. Bu mekanizmalar; kromatin düzeyinde DNA'nın metilasyonu veya metil, asetil, fosfat, ADP-ribozil grupları veya ubiquitin veya SUMO gibi küçük proteinler de dahil olmak üzere çeşitli fonksiyonel gruplar tarafından histonların modifikasyonu, küçük kodlanmayan RNA (miRNA, siRNA vb.) modifikasyonları olarak sıralanabilir. Farklı epigenetik mekanizmaların birbirlerine geri bildirimde bulunarak, belirli bir epigenetik durumu güçlendirebileceği veya zayıflatabileceği ve böylece genlerin transkripsiyonel olarak izin verici ve baskılayıcı durumları arasında geçişi sağlayabileceği bildirilmektedir. DNA bazlarının (memelilerde CpG bölgelerinde 5-metil sitozin) replikasyon sonrası metilasyonu, epigenetik bilgilerden sadece bir tanesidir (Dworkin ve ark., 2009; Liu ve ark., 2023).

Epigenetik mekanizmalardan en fazla çalışma DNA metilasyonu üzerine yapılan araştırmalardır. DNA metilasyonu, DNA'da sitozin bazının (C) 5. karbonuna bir metil grubunun kovalent olarak bağlanmasıyla 5-metilsitozin (5mC) oluşmasına verilen isimdir. DNA metilasyonu epigenetikte ilk tanımlanan mekanizmadır ve genellikle transkripsiyonu baskılayıcı olarak tanımlanmaktadır. Ancak DNA metilasyonu bulunduğu genomik kısma göre işlevi değişebilir; genin promotör ve güçlendirici (enhancer) kısmında oluşmuş ise baskılayıcı, genin daha aşağı kısımlarında (gen gövdesi) meydana gelmiş ise tersi etki göstererek transkripsiyonu aktifleştirebilir. Ayrıca tekrarlayan elementlerde meydana gelen DNA metilasyonu ana baskılama mekanizması olarak tanımlanmaktadır (Zafon ve ark., 2019).

DNA metilasyonu insanlarda primer olarak CpG dinükleotidlerinde (CpG adası) oluşur. Araştırmacıların bir kısmı C nükleotidinin bu yeni formu nedeniyle DNA'da 4 yerine 5 nükleotid varlığını savunmaktadır. Bu CpG adaları (CpG-zengin bölgeler olarak da geçer) promotör bölgede daha yoğun olarak bulunurken, genin aşağı kısımlarında daha azdır (Baylin ve Herman,

2000). Memelilerde 5mC, X kromozomu inaktivasyonu, genomik baskılama, germ hattı genlerinin somatik susturulması ve tekrarlayan DNA elemanlarının susturulması gibi çeşitli aktiviteler gösterir (Angeloni ve Bogdanovic 2019). İnsan genomunda normal bir hücrede CpG-zengin bölgeler (promotör) genellikle metillenmemiştir (unmetile), oysa bu bölgelerin daha az görüldüğü genin diğer kısımlarında ise yoğun olarak metiledir (Jones ve Laird, 1999). Genomun %90'nını oluşturan tekrarlayan dizilerde de genellikle hipermetilasyon gözlenir. DNA metilasyonu ilk tanımlandığı yıllarda yabancı DNA'nın entegrasyonuna karşı bir koruma mekanizması veya yabancı DNA'lara karşı konakçı DNA'sının dirençli hale getirmede rol oynayan bir mekanizma olduğu belirtilmiştir. Ancak günümüzde biliyoruz ki bu mekanizma memelilerde transkripsiyonel düzenleme ile ilişkilidir (Doerfler ve Böhm, 2006). DNA metilasyonu kanser, metabolik ve kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif ve bulaşıcı hastalıklar ve alerjik hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkilidir (Gupta ve ark., 2023).

Kanser hücresinde genlerin promotör bölgelerinde yoğun olarak metillenme görülmektedir. Promotör, transkripsiyonu başlatmak için transkripsiyon faktörlerinin (TF) bağlandığı bölgedir ve bu bölgede çok fazla metillenme (hipermetilasyon) olduğu zaman TF'leri promotor bölgeye bağlanamaz. Böylece transkripsiyon baskılanmış olur. Sadece promotor bölge değil, genin aşağı kısımlarında bulunan CpG dinükleotidlerinde metilasyon durumu değişiklikleri de kanserde rol oynayabilir (Jones ve Laird, 1999). Ancak bu bölgelerde promotordan farklı olarak metilasyon azlığı (hipometilasyon) kanser ile ilişkilidir. Kanserde tümör baskılayıcı (TS) genlerin sessizleşmesi kanser gelişiminin ilerlemesinde etkili faktörlerden biridir ve bu genlerin susturulmasında DNA metilasyon mekanizması da önemli rol oynamaktadır. Kanser araştırmalarında, onkogenler ve TS genler üzerinde yalnızca mutasyon analizleri değil, aynı zamanda epigenetik varyasyonların incelenmesine yönelik çalışmalar da önemli ölçüde artış göstermektedir (Dworkin ve ark., 2009).

Yemek borusu (özofagus) kanseri (ÖK), indirim sisteminde görülen yaygın kanserlerden biridir. Bu kanserin özofagus skuamöz hücreli karsinom (ESCC) ve özofagus adenokarsinomu (EA) olmak üzere yaygın olarak görülen 2 alt tipi vardır. Diğer kanser türlerinde olduğu gibi bu kanserde de çok sayıda genetik mutasyon araştırması yapılmış, yatkınlık varyantları araştırılmış ve

genetik tabanlı çalışmalar hala devam etmektedir. Yapılan çalışmalar ile ÖK ile ilişkili genler ve yollar belirlenmeye çalışılmakta, böylece bu kansere yatkın bireylerin erken teşhisi ve tedavisi için çözüm aranmaktadır. Yapılan genetik çalışmaların yanında epigenetik çalışmalar da yerini almaya başlamış ve teşhis/tedavi seçeneklerini arttıracak yeni yollar oluşturulmaya çalışılmaktadır. Diğer kanserlerde olduğu gibi ÖK’de de epigenetik mekanizmalardan DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, kodlanmayan RNA modifikasyonları (RNA interferens, miRNA, siRNA vb), kromatin yeniden şekillenmesi ve nükleozom yerleşimi gibi temel mekanizmalar incelenmektedir. Bu epigenetik biyobelirteçler netleştirilerek kanserin tedavisine yeni çözüm yolları oluşturulmaya çalışılmaktadır. DNA’da normal metilasyon hücre büyümesi ve metabolizmasını devam ettirmek için gereklidir, ancak anormal metilasyon durumunda tümör gelişmesine katkıda bulunmaktadır (Liu ve ark., 2023). Özofagus kanserinde çok sayıda gen için DNA metilasyon çalışmaları yapılmıştır. Ancak daha çok *p16*, *E-kaderin (CDH1)*, *DNMT1*, *SFRP1*, *TAC1*, *PAX1*, *ZNF582* ve *ZNF569*, *RAR*, *MGMT*, *RASSF1A*, *TFPI2*, *ELMO1* ve *MTHFR* genleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Liu ve ark., 2023; Xu ve ark., 2024).

Bu bölümde, güncel literatürlere dayanarak DNA metilasyon mekanizmaları, bu mekanizmalarda rol alan enzim ve proteinler, epimutasyonlar ve tamiri, normal doku ile kanser arasındaki farkları kapsamlı şekilde ele alınarak bu mekanizmaların güncel çalışmaları özofagus kanserinde detaylı şekilde tartışılacaktır.

1. DNA METİLASYON MEKANİZMALARI

5-mC, ilk olarak tüberküloz basili DNA'sında ve buzağı timus DNA'sında tanımlanmıştır (Johnson ve Coghill 1925; Hotchkiss 1948). 1960’lı yıllarda ise Bakterilerde konakçı DNA’nın koruma mekanizması olduğu ve yabancı DNA’lara karşı koruma ve kendi DNA’sını dirençli hale getirmedeki görevi tanımlanmıştır. 1960’lı yılların sonunda restriksiyon endonükleazların keşfi ile de istilacı bakteriyel ve viral DNA’lardan konakçı DNA’nın kendini koruma mekanizması olduğuna dair yeni kanıtlar sunulmuştur Memelilerde DNA metilasyonunun transkripsiyonel düzenlemeyle ilgili olduğu ancak 1975 yılında tanımlanabilmiştir (Doerfler ve Böhm, 2006). Ancak artık yüksek ökaryotlardaki tek amacının transkripsiyonel susturma olmadığını biliyoruz.

Tüm insan genlerinin genom çapındaki DNA metilasyon modellerini tanımlamak, kataloglamak ve yorumlamak için 1999 yılında “insan epigenom projesi” (HEP) hayata geçirilmiştir ve ilk uluslararası epigenom girişimi olarak literatüre geçmiştir. Bu projede yüksek verimli bisülfid PCR Sanger dizilemesi kullanılmıştır (Beck vd., 1999). Yüksek çözünürlüklü DNA metilasyon profillemesi yapılmış ve diğer bulguların yanı sıra DNA metilasyonunun dokuya özgü olduğunu, en sık evrimsel olarak korunan bölgelerde değiştiğini ve ontogenetik olarak düşünülen daha kararlı olduğu bildirilmiştir. HEP’ten sonra yapılan çalışmalarda dizi tabanlı teknoloji (MeDIP-çip) kullanılarak genom çapında DNA metilasyon profillerinin oluşturulmasını ve yeni nesil dizileme tabanlı bir platform (MeDIP-seq) kullanılmıştır. Böylece ilk tüm genom (metilom) profilinin oluşturulması hedeflenmiştir (Down ve ark., 2008).

Birleşik Krallık (Sanger enstitüsü), Almanya-ABD ve Fransa’nın birlikte oluşturduğu 1999 yılında kurulan HEP’ten ayrı olarak 2010 yılında Avrupa komisyonu, Kanada, Singapur, Hong Kong, Japonya, Güney Kore, Almanya ve ABD “Uluslararası İnsan Epigenom Konsorsiyumunu” (IHEC) kurmuştur. Bu kuruluşa daha sonra İtalya, Fransa, Avusturalya ve İngiltere gibi ülkeler destek sağlamıştır (Nature 2010). IHEC başlıca birincil insan hücre tiplerinin yüksek çözünürlüklü referans epigenomlarından oluşan bir katalog oluşturulmasını hedeflemişlerdir. Yaptıkları çalışmalarla insan sağlığı ve hastalıklarıyla ilgili hücrelerin epigenetik kontrolüne ilişkin bilgi edinmek için kapsamlı epigenomik veri toplamış ve yorumlamışlardır (Stunnenberg ve ark., 2016).

DNA metilasyon mekanizmaları 5 alt başlığa ayrılır (Doerfler ve Böhm, 2006);

- 1) DNA metilasyonu oluşum mekanizması,
- 2) Promotör aktivitesinin belirleyicileri,
- 3) DNA metiltransferazlar ve ilişkili diğer proteinler,
- 4) Epigenetik fenomen,
- 5) Epimutasyonlar ve tamir.

1.1. DNA metilasyonu oluşum mekanizması

DNA metilasyonu, DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) tarafından S-adenosil metiyonin (SAM)'den bir metil grubu alınarak pirimidin sitozin halkasının 5.karbon atomuna kovalent olarak bağlandığı bir modifikasyondur. Bu modifikasyon sonrası metil grubu taşıyan sitozin bazına 5mC adı verilir (Sendzikaité ve Kelsey 2019).

5mC'nin baskın formu, hayvanlar aleminde genellikle guaninlerden (CpG dinükleotidleri) önce gelen C nükleotidinde olur. Ancak artık bilinmektedir ki bitki genomlarında veya tek hücrelilerde yaygın olan CpH dinükleotidlerindeki (H= A, C veya T nükleotidleri) metilasyon, omurgasız genomlarında ve memeli embriyonik kök hücrelerinde (ESC'ler) ve beyin dokusunda da tanımlanmıştır (Angeloni ve Bogdanovic 2019). CpG metilasyonuna oranla CpG olmayan metilasyon oldukça değişken ve nadir görüldüğü bildirilmiştir. CpA metilasyonu pluripotent hücre tiplerinde en baskın CpG olmayan metilasyon şeklidir. Somatik hücrelerde ise CpG olmayan metilasyon, CpA, CpT ve CpC arasında yaklaşık olarak eşit olarak dağılmıştır (Ziller ve ark., 2011). Adenin nükleotidlerine (A) N6 pozisyonunda metil grubu eklenebilir ve metil grubu eklenen A nükleotidlerine N6-metiladenin (6mA) ismi verilir. 6mA'ler bazı ökaryot ve tek hücrelilerde görülen bir metilasyon çeşididir. Ayrıca en yüksek metilasyon seviyeleri bitkilerde gözlenmiştir (Doerfler ve Böhm, 2006).

Normal hücrelerde CpG dinükleotidleri bulunmaktadır ve çoğunlukla somatik dokularda metillenirler. CG ikilileri simetrik olarak (her iki DNA zincirinde de) metillendiğinden, metilasyonu hücre bölünmesi sırasında kalıtsal olabilir ve bu da "epigenetik hafıza" olarak adlandırılmaktadır. Ancak gametogeneze durum farklıdır. Döllenenmeden sonra, embriyonik hücrelerde epigenetik yeniden programlama gerçekleşir ve böylece gametik epigenomu silinir ve totipotensi yeniden kazanılır. İmplantasyon öncesi gelişim sırasında, babaya ait (paternal) DNA, kısmen hızla demetile edilirken, anneye ait (maternal) DNA metilasyonu hücresel çoğalma sırasında pasif bir şekilde kaybolur. Bu mekanizmada rol alan çeşitli enzimler belirlenmiş olsa da mekanizmanın nasıl gerçekleştiği henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Blastosistin iç hücre kütesi oluştuğunda, gametleri karakterize eden DNA metilasyonu neredeyse tamamen kaybolur ve gametlerin farklı şekilde metillenmiş bölgelerinin yalnızca küçük bir kısmı korunur. İmplantasyondan sonra, epiblast aşamasından gastrulaya kadar DNA metilasyonu yeniden

kazanılır ve soya spesifik bir şekilde oluşturulur. Günümüzde, bazı hastalıklarda (örneğin Prader-Willi sendromu) görüldüğü üzere, homolog kromozomlardaki alellerin (anne ve babadan kalıtılan) farklı metilasyon örüntüleri sergileyebildiği bilinmektedir. Bu süreçlerde görev alan başlıca enzimler ise DNA metiltransferazlar (DNMT) olarak tanımlanmaktadır (Sendzikaitė ve Kelsey 2019).

CpG'lerin kümeler halinde bulunması CpG adaları olarak adlandırılmasına neden olmuştur. Sitozinlerin yaklaşık %5'i CpG adacıkları içindedir. Bu adalar gen promotörleri ve transkripsiyon başlangıç bölgelerinde (TSS'ler) daha yoğun olarak bulunur ve normal hücrelerde genellikle unmetile olsa da, bazıları soya özgü bir DNA metilasyon durumu sergileyebilir. Metillenme retrotranspozonlar ve çeşitli tekrar elemanları gibi heterokromatin içeren bölgelerde yoğun olarak bulunur. Bu metilasyon durumunun önemi, genom içindeki lokalizasyonunda ve anormal gen ekspresyonundaki etkisinde yatmaktadır. Genel olarak somatik hücrelerde DNA metilasyonu, özellikle heterokromatin, perisentromerik bölgeler, gen promotörleri, tekrarlayan ve transpozon elemanlarında (TE) transkripsiyonu baskılayıcı, daha aşağı gen gövdeleri üzerinde olduğu zaman ise aktifleştirici işaret olarak kabul görür (Sendzikaitė ve Kelsey 2019; Anaya ve ark., 2013). Aslında, 5mC'nin çoğu insan genomunun neredeyse yarısını oluşturan iki ana sınıftan, DNA transpozonları ve retrotranspozonlardan oluşan hareketli DNA bölgeleri olan TE'lerde bulunur (Lee ve ark., 2024). Bakterilerin istilacı viral genomuna karşı savunma mekanizması olarak kendi DNA'sını metilleyebildiği bilinmektedir. Ökaryotlarda ise ilk başlarda retrotranspozon genomlarının yüksek oranda metile olması gibi durumlardan dolayı *de novo* metilasyon mekanizması ile hücresel savunma ile genomun yabancı DNA'dan korunduğu düşünülmüştür (Doerfler ve Böhm, 2006). Yabancı istilacı dizi elemanlarının büyük yüküne karşı ana savunma hattımız DNA metilasyonu olabilir. Dolayısı ile intragenomik istilacı genom promotörlerinin metilasyonu bu dizileri inaktive edebilir ve zamanla birçok transpozonu yok edebilir (Esteller 2006).

Günümüzde ise DNA metilasyonunun esas görevinin, kromatin yapısını ve erişilebilirliğini değiştirerek transkripsiyon faktörlerinin ve diğer kromatinle etkileşime giren proteinlerin DNA'ya bağlanmasını değiştirdiğini biliyoruz. Ancak oositlerde durum somatik hücrelere göre biraz daha karışıktır. Oositlerde somatik hücrelerdekinin tersine promotör bölgelerde hipermetile alanlarda aktif

transkripsiyon gösterebilir ve bunun nedeni bir çeşit histon modifikasyonu ile ilgili olabilir (H3K36me3 işareti). Oositlerde bahsedilen bu histon modifikasyonu (H3K36me3) ne kadar yüksek ise gen ekspresyonunun da o kadar yüksek olduğu bildirilmektedir (Sendzikaitė ve Kelsey 2019). Memelilerde 5mC, X kromozomu inaktivasyonu, genomik baskılama, germ hattı genlerinin somatik susturulması ve tekrarlayan DNA elemanlarının susturulması gibi uzun vadeli susturma süreçlerine katılır (Angeloni ve Bogdanovic 2019).

1.2. Promotör aktivitesinin belirleyicileri

Biliyoruz ki promotör bölgeler TF'lerinin bağlanarak transkripsiyonu aktive ettiği bölgelerdir. Ancak bu bölgelere engelleyici proteinlerin bağlanması, çeşitli histon modifikasyonları veya engelleyici işaretlerin olması TF'lerinin bağlanmasını engellemekte ve bu durum transkripsiyonu baskılamaktadır. Bu baskılanma mekanizmalarından biri de DNA metilasyonudur.

Omurgalılarda CpG adaları promotörlerde yaygın olarak bulunur ve bu nedenle promotörler CpG'ce zengin bölgeler olarak karakterize edilir. Normal hücrelerde bu bölgeler bazı istisnalar hariç (X inaktivasyonu gibi) ya çok az metile veya unmetiledir. CpG adalarının unmetile durumu; aktif histon işaretleri, TF bağlanması, CxxC alan proteinlerinin toplanması ve 10-11 translokasyon (TET) demetilazları tarafından oluşturulur ve sürdürülür. Bu adalar metillendiğinde MBD proteinleri bu bölgeye gelerek promotöre bağlanır ve transkripsiyon baskılanmasında rol alan diğer etkileşimleri aktifleştirir (Angeloni ve Bogdanovic 2019).

Bazı çalışmalar bu bölgede 5mC'nin her zaman baskın bir baskılayıcı mekanizma olarak hareket etmeyebileceğini göstermiştir. Bunun nedeni enhancer bölgeler ile ilgilidir. Çalışmalar hipermetile promotörlerin ve enhancer bölgelerin *in vivo* ve *in vitro* transkripsiyona izin verebileceğini göstermiş. (Angeloni ve Bogdanovic 2019). Eşey hücrelerinde de somatik hücrelere göre farklılıklar olabileceği yapılan çalışmalarla açıklanmıştır. Somatik hücrelerde, aktif olarak transkribe edilen genler genellikle metillenmemiş bir promotöre sahip olma eğilimindedir, ancak oositlerde bu ilişki daha belirsizdir. Oositteki hipermetile bölgelerde, aktif olarak transkribe edilen genler ve histon 3 proteinin 36. lizin pozisyonundaki tri-metilasyon

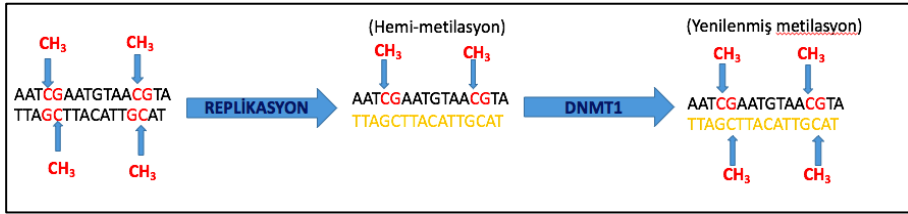
(H3K36me3) işaretinin ilişkisi olduğu belirlenmiştir. H3K36me3 seviyelerinin gen ekspresyon seviyeleriyle pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Sendžikaitė ve Kelsey 2019). Bu da promotor bölgedeki metilasyon için; bu olay genellikle transkripsiyonel susturma ile ilişkilidir, ancak bazı durumlarda farklı işleyiş gösterebilir şeklinde tanımlanmasının daha doğru olabileceğini göstermektedir.

1.3. DNA metiltransferazlar (DNMT) ve ilişkili diğer proteinler

Memelilerde erken embriyogenezde metilasyondan yoksun olan DNA'nın implantasyon sonrasında *de novo* metilasyonu DNMT'lar ile başlar. DNA metilasyon mekanizmasını gerçekleştiren bu enzim ailesi katalitik alanı prokaryotlardan insanlara kadar korunmuştur. Bu enzimlerden biri bakım yapan (sürdürülebilirlik) DNA metiltransferaz 1 (DNMT1), üç *de novo* metiltransferaz DNMT3 (DNMT3A, DNMT3B ve DNMT3C) ve bir kofaktör (DNMT3L) olmak üzere 5 üyeden oluşur (Sendžikaitė ve Kelsey 2019; Lee ve ark., 2024). İlk tanımlananlar arasında DNMT2 enzimi de önce bu aileye dahil edilmiş, ancak ilerleyen yıllarda bu enzimin DNA metiltransferaz aktivitesi olmadığı ve bir tRNA metiltransferaz olduğu anlaşılmıştır (Jeltsch ve ark.,2017). Bundan dolayı DNMT2 DNA-metiltransferaz ailesinden çıkartılmıştır.

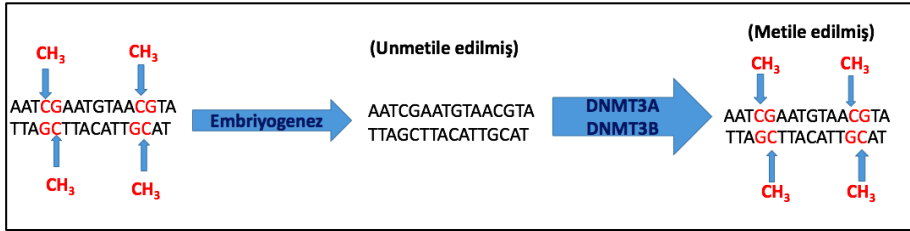
DNMT1, DNA'daki metillenmemiş ipliği tanır ve metilasyonu gerçekleştirir (Şekil 1). Enzim hücre bölünmesinde G1 fazında nükleoplazmada dağınık, S fazında DNA replikasyonun çekirdek altı bölgelerine yerleşir, G2 ve M fazlarında kromatine bağlandığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada hücre bölünmesinin S fazında DNMT1, Ubiquitin benzeri, bitki homoeodomaini (PHD) ve yüzük parmağı içeren 1 (UHRF1) ile beraber yeni oluşan DNA ipliğinde metilasyonun sürdürülmesini sağlar. Ayrıca S fazında çoğalan hücre nükleer antijenine (PCNA) bağlanması da replikasyon mekanizmasıyla ilişkisini göstermektedir. DNMT1'in homozigot delesyonunun embriyonik ölümcüllüğe neden olduğu bildirilmiştir (fare deneyleriyle gösterilmiş). Bu enzimin N-terminusu türler arasında oldukça değişken, katalitik C-terminusu ise daha korunmuştur. 3 izoformu vardır; biri baskın somatik izoformdur, diğer ikisi cinsiyete özgü olarak ayrılmaktadır. Oositlerde bulunan formu tek ifade edilen izoformudur ve protein olarak diğer izoformlardan daha kısadır. 8 hücreli

aşama hariç oositlere sitoplazmada lokalizedir, 8 hücreli aşamada ise geçici olarak çekirdeğe yerleşir. Bu izoformun lokalizasyon kusurları durumunda dışı farelerde kısırlık gözlenmiştir. Diğer cinsiyete özgü izoform ise spermatositlerde keşfedilmiştir (Sendžikaitė ve Kelsey 2019; Lee ve ark., 2024; Doerfler ve Böhm, 2006).



Şekil 1. Replikasyon sonrası yeni DNA zincirinde metilasyonun devam etmesi. Replikasyon sonrası atasal zincirde metilasyon devam ederken, yeni sentezlenen DNA zinciri (sarı renk ile gösterilmiştir) unmetilelidir (Hemi-metilasyon durumu). Replikasyon sonrası DNMT1 DNA'yı tarayarak atasal zincirdeki metilasyon durumuna göre yeni zincire metil gruplarını ekler.

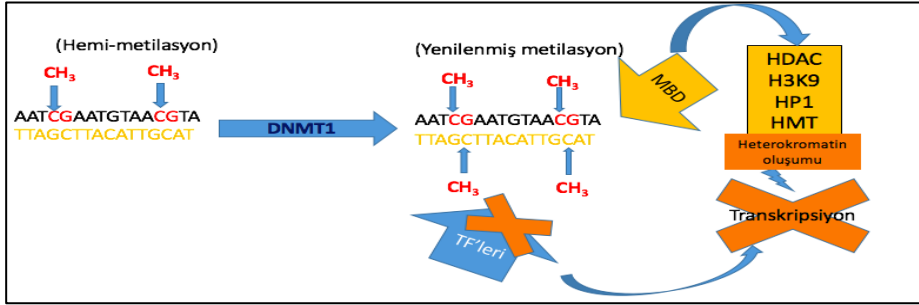
DNMT3A ve DNMT3B'nin her ikisi de embriyogenez sırasında epigenetik yeniden programlama için gerekli *de novo* metiltransferazlardır. Erken embriyogenezde DNA'nın büyük bir kısmı unmetilelidir. İmplantasyon sonrasında DNMT3A ve DNMT3B ile DNA metilasyonu *de novo* olarak başlar (Şekil 2). *De novo* DNMT'ler, metillenmemiş DNA'yı substrat olarak kullanır. Katalitik olarak aktif olan bu iki enzimin transkriptleri embriyonik kök hücrelerinde, erken embriyo döneminde, yetişkin dokuda ve tümör hücrelerinde bulunmuştur. DNMT3A'nın iki izoformu vardır, biri ökromatin diğeri heterokromatini bağlar. DNMT3A inaktif edilmiş farelerde embriyonun geliştiği, ancak doğumdan kısa süre sonra yavruarda büyümenin durduğu ve bir süre sonrada öldükleri bildirilmiştir. DNMT3A ile küçük bir dizi homolojisine sahip olan DNMT3B, dokuların çoğunda ekspresyonu az olmasına karşın testiste yüksektir. Bundan dolayı DNMT3B'nin spermatogenez sırasında metilasyonda etkili olduğu bildirilmiştir. Bu enzimin inaktif edildiği farelerde canlı yavru oluşmadığı görülmüş ve DNMT3A'ya göre bu enzimin embriyonik gelişimde daha önemli olduğu anlaşılmıştır. Yakın zamanda keşfedilmiş olan DNMT3C farelere özgü bir *de novo* metiltransferazdır ve prospermatogonia'daki promotörleri metilleyerek evrimsel genç retrotranspozonları susturmada aktivite gösterir (Sendžikaitė ve Kelsey 2019; Lee ve ark., 2024; Doerfler ve Böhm, 2006).



Şekil 2. Embriyogenezde epigenetik programlama. Erken embriyogenezde DNA metilasyon işaretlenir silinir (unmetile edilmiş). İmplantasyon sonrası DNMT3A ve 3B DNA'yı yeniden metiller.

DNMT3L, aktif bir katalitik alana sahip olmadığı için DNMT ailesinin ilginç bir üyesi olarak tanımlanmıştır. DNMT3L diğerlerinden farklı olarak türler arasında daha az korunmuştur ve yalnızca genomik baskıya sahip memelilerde bulunur. Ayrıca DNMT3L'nin C-terminal alanı, DNMT3A ve DNMT3B'nin C-terminal alanlarına bağlanabilir ve tetramer oluşumu yoluyla kromatin bağlanma ve/veya katalitik aktivitelerini önemli ölçüde artırabilir (Sendzikaité ve Kelsey 2019).

DNMT'lerden başka metil-CpG bağlayıcı proteinler (MBD) ve histon deasetilaz (HDAC) içeren kompleksler de 5mC aracılı gen baskılamasında aktivite gösteren diğer proteinlerdir (Angeloni ve Bogdanovic 2019). Metilasyon CpG adacıklarını etkilediğinde, MBD'ler replikasyon çatalına bağlanır ve bir susturma kompleksini tetikler. Bu komplekste sırayla histon H3K9 deasetilasyona uğrar ve ardından metillenir. Metillenen histonlara heterokromatin protein 1 (HP1) bağlanmasıyla kapalı kromatin oluşur. HP1'in eklenmesi histon metiltransferazları da (HMT) aktifleştirerek yeni eklenen histonların lizininin metillenmesini sağlar. Böylece transkripsiyon baskılanmış olur (Şekil 3) (Doerfler ve Böhm, 2006).



Şekil 3. DNA metilasyonu ile transkripsiyonun baskılanması. Replikasyondan sonra yeni ipliğin DNMT1 ile metillenmesiyle MBD'ler DNA'ya bağlanır. MBD ise HDAC ve H3K9/HP1 ile etkileşerek histonların deasetile olmasını ve H3K9 metilasyonunu sağlar. HP1 HMT'leri aktifleştirerek heterokromatin oluşumunu artırır. TF'leri hem metillenmiş DNA'yı tanımadığı hem de histonların sıkıca paketlenmesi nedeniyle genin promotoruna bağlanmadığı için transkripsiyon baskılanmış olur. TF, transkripsiyon faktörü; MBD, metil-CpG bağlayıcı proteinler; HDAC, histon deasetilaz; H3K9, Histon-3 lizin-9; HP1, heterokromatin protein 1; HMT, histon metiltransferaz; TF, transkripsiyon faktörü.

Transkripsiyon düzenlenmesinde rol oynayan MBD proteinler; MECP2, MBD1, MBD2, MBD3 ve MBD4'tür. MBD3 hariç, diğerleri metillenmiş DNA'ya spesifik olarak bağlanabilir. Ayrıca MECP2, MBD1 ve MBD2 metillenmiş gen promotörlerinden transkripsiyonu baskılayabilir. MBD2'nin diğerlerinden farklı bir özelliği bulunmaktadır. Bu enzim DNA demetilasyonunu sağlayan DNA-demetilaz enzimi olarak tanımlanmıştır ve transkripsiyon aktifleşmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. MBD2 implantasyon öncesi paternal genomun demetilasyonunu sağlayan enzimdir (Doerfler ve Böhm, 2006; NCBI Gene ID: 8932).

1.4. Epigenetik fenomen

Bir nesilden diğerine DNA dizisine bağlı olarak genetik kalıtım ile bilgi aktarımının yanında epigenetik kalıtım ile de epigenetik bilgi aktarımı yapılmaktadır.

Döllenme sonrasında, hem erkek hem de dişi gametler yeni oluşan zigota eşit miktarda genetik materyal sağlasa da, gametlerdeki bu iki haploid genom işlevsel olarak eşit değildir. Gametlerden birinde transkripsiyonun susturulması için bir gen kümesi işaretlenir (imprintlenme), ancak diğer gametten gelen gen transkripsiyona uğrar. Bu işaretli gen kümelerine “damgalanmış (imprintlenmiş) genler” denir. Somatik dokularda imprintlenme, kromozomun ebeveyn kökenine bağlı olarak belirli bir genin monoallelik transkripsiyonu

olarak tanımlanır. Böylece embriyo cinsiyeti yansıtmak için yeniden programlama sürecine geçmiş olur (Doerfler ve Böhm, 2006). Paternal epigenom, ilk hücre bölünmesinden önce genel olarak metillenir, ancak maternal epigenom sonraki bölünmeyle pasif olarak metillenir. Genlerin baskı (imprint) kontrol bölgesindeki (ICR) epigenetik işaretler, genomik baskılamayı düzenler ve kalıtsaldır; bu da ebeveyne veya kökene bağlı monoallel gen ekspresyonuna yol açar. Maternal metilasyon, ICR'lerde baskındır ve maternal soy yoluyla kalıtım ve yeniden programlamanın bir sonucudur (Koiyam ve ark., 2024).

İnsanlarda bu imprintlenme şeklinde kusurlar olduğu zaman çeşitli hastalıklar gelişmektedir. İlk tanımlananlardan biri tekrarlayan ailevi hidatiform mollerdir (HM) (OMIM231090). HM'de ilk tanımlamalara göre maternal germ hattında imprintlenme kusuru vardır, ancak sonraki araştırmalar maternal işaret kusurlarının döllenme sonrası imprintlenmeden değil oogenez sırasında yeni işaretlerin oluşturulmasındaki (sürüdürlmesindeki) kusurdan veya zigot sonrası sürdürülmesi kusurundan kaynaklandığı bildirilmiştir (Djuric ve ark., 2006).

1.5. Epimutasyonlar ve tamir

Mutajenler tarafından indüklenen ve DNA baz dizisinde bir değişiklik içeren klasik mutasyonlara ek olarak, DNA metilasyonundaki değişikliklerden kaynaklanan mutasyonlara da “epimutasyon” ismi verilmiştir. Epimutasyonlar gelişimde rol oynamaz, ancak yaşlanma sırasında önemli olabilirler. Yaşlanma ve birçok hastalıkta genetik mutasyonlar (mitokondriyal delesyonlar, klasik kromozomal mutasyonlar, kromozom anormallikleri, kusurlu proteinlerin birikimi, membran kusurları vb.) ve epimutasyonlar önemli rol oynamaktadır (Doerfler ve Böhm, 2006).

Klasik genetik kalıtımda zigotta tüm hücreler aynı genoma sahiptir, gametlerde ise (Sperm-yumurta) mayotik bölünmeden kaynaklı sayı ve kromozom farklılıkları olduğunu biliyoruz. Fakat epigenetik kalıtım çok farklıdır. Zigotun gelişimi ile gen aktivitelerinin ayrışması neticesinde hücreler fenotiplerinde farklılaşır. Böylece farklı "epigenetik tipler" edindikleri söylenebilir. Hepsi aynı genlere sahiptir, ancak aktivite durumları çok farklılaşır. Gelişim klonal değildir, çünkü hücre grupları aynı gelişim yolunu izleyebilir ve aynı gelişimsel kadere sahip olabilir. Bu nedenle, belirli gruplar

kas, merkezi sinir sistemi vb. oluşturur. Ayrıca, belirli hücrelerden diğer hücreleri etkileyen gelişimsel sinyaller de vardır (Doerfler ve Böhm, 2006)

Hücrelerin replikatif yaşam döngüsü süresince DNA metilasyonu, hücresel kimliği korumak için sürdürülür. DNA metilasyonunun kurulması ve sürdürülmesi hücre yaşamı için oldukça önemli, ama DNA metilasyonunun giderilmesi de bu olaylar kadar önemlidir. DNA metilasyonunun giderilmesi, dioksijenaz ailesi Ten-eleven (10-11) translokasyonu (TET1-3) aracılığıyla kademeli oksidasyon yoluyla yapılır. Özellikle, 5-mC'nin 5-hidroksimetilsitozin (5-hmC), 5-karboksilsitozin (5-caC) ve 5-formilsitozin (5-fC)'e oksidasyonunu TET proteinleri katalize eder. Bu ara ürünlerden en çok bulunanı 5-hmC'dir. 5-hmC, stabil bir modifikasyon olarak varlığını sürdürebilir ve gen düzenlemesini etkileyebilir. DNA demetilasyon işlemi pasif veya aktif olabilir, replikasyon döngüleri boyunca seyreltilebilir veya baz eksizyon onarım yolu aracılığıyla timin DNA glikozilaz tarafından uzaklaştırılabilir (Lee ve ark., 2024).

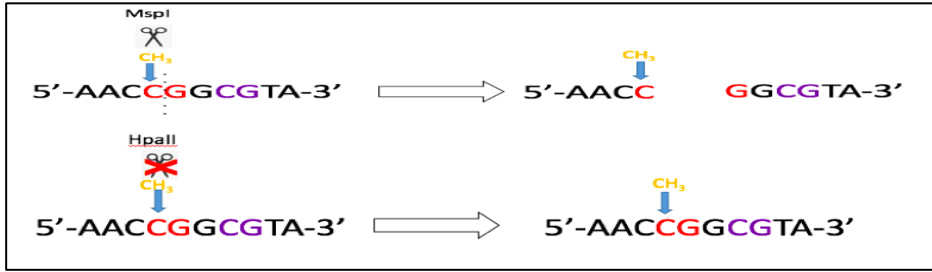
CpG açısından zengin bölgeler ve aktive edici histon işareti (H3K4me3) durumlarında TET proteinlerinin kromatin lokalizasyonu gerçekleşebilir. Ek olarak, TET enzimlerinin genomik bölgelere bağlanması protein etkileşimleri aracılığıyla gerçekleşir (Lee ve ark., 2024).

Son çalışmalar, TET1 aracılı demetilasyonun yeni bir mekanizması açıklanmıştır. RNA N6-metiladenozin (m6A) okuyucu proteinler FXR1 ve YTHDC2 ile TET1 etkileşime girerek TET1 aracılı demetilasyon gerçekleşebilir. Bu bulgular, RNA metilasyonu ve DNA demetilasyon arasında bir etkileşim olduğunu göstermekte ve epigenetik ile epitranskriptomik alanların kesişimini vurgulamaktadır (Lee ve ark., 2024).

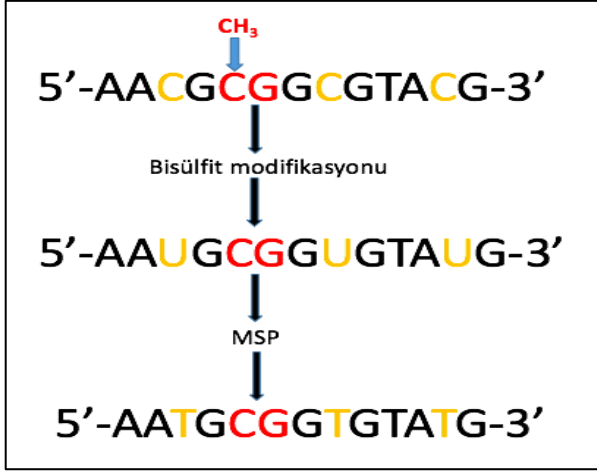
2. DNA METİLYASYONUN ANALİZLERİ

Metilasyon analizleri, metilom veya belirli bir CpG'de, gen veya lokus içindeki DNA metilasyon profillerinin incelenmesine olanak tanır. Çok sayıda metilasyon analizi bulunmaktadır, en yaygın kullanılan metilasyon analiz teknikleri bisülfid dönüşümüne dayanan ve restriksiyon endonükleazlara dayanan tekniklerdir (Anaya ve ark., 2013). Dizide 5mC varlığının tespiti için farklı yöntemleri kullanan araştırmacılar olmuş, ama restriksiyon enzimlerini ilk keşfi 1978 yılında MspI ve HpaII'nin 5'-CCGG-3' dizisini tanıyıp kestiğinin belirlenmesiyle metilasyon çalışmaları bu enzimler kullanılmaya başlanmıştır.

HpaII metillenmiş diziyi keserken, MspI unmetile diziyi kesmektedir (Şekil 4) (Doerfler ve Böhm, 2006). Ancak sonradan anlaşıldı ki bu enzimler tüm genomun metilasyonunu incelemek için yeterli değildi. Bu nedenle endonükleazlardan sonra metilasyon analizleri için çok sayıda teknik geliştirilmiştir ve birçoğu bisülfite modifikasyonuna dayanmaktadır. Bisülfite modifikasyonunda metile olmayan unmetile sitozinler bu modifikasyondan etkilenir. DNA denatüre edildikten sonra sodyum bisülfite ile inkübe edilir ve böylece unmetile sitozinler urasil sülfonatlara dönüştürülür. Alkali işlem ile urasil sülfonat desülfonatlanır ve urasil haline dönüşür. Metile sitozinler ise değişmeden kalır. Metile spesifik PCR (MSP) sonucu urasiller timin olarak sonuç verirken, metile sitozinlerde bir değişiklik olmaz (Şekil 5) (Anaya ve ark., 2013). Çok sayıda teknik kullanılmasına ve en yaygın MSP/qMSP kullanılmasına karşın metilasyon belirteç keşfi için en uygun yöntem olarak yeni nesil dizileme (NGS) önerilmektedir (Xu ve ark., 2024).



Şekil 4. Metilasyon-duyarlı restriksiyon endonükleazlar. MspI için restriksiyon bölgeleri, MspI metillenmiş CpG bölgelerini tanıyıp kesiyor. HpaII için restriksiyon bölgeleri-unmetile CpG bölgelerini tanıyor ve kesiyor. Metile olduğunda kesemiyor.



Şekil 5. Bisüfit Modifikasyonu.

DNA metilasyonu kan, dışkı, idrar ve beyin omurilik sıvısı gibi invaziv olmayan bir şekilde elde edilebilen vücut sıvılarındaki hücresiz DNA'dan tespit edilebilir. Bu özellik, diğer belirteçlere (miRNA, lncRNA veya mRNA gibi) kıyasla DNA metilasyon analizinin daha fazla kararlılık, duyarlılık ve özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle DNA metilasyonu erken kanser tespiti için ümit verici, invaziv olmayan bir belirteç olarak nitelendirilmektedir. Ayrıca pan-kanser testi ile bireysel metillenmiş veya metillenmiş gen panelleri kullanılarak birden fazla kanser türünün tespiti yapılmaya çalışılmaktadır (Xu ve ark., 2024).

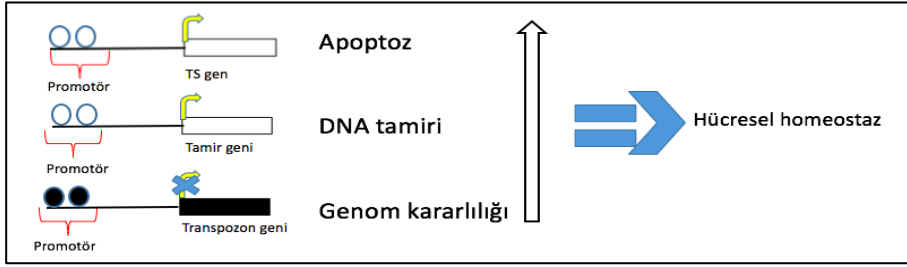
Özellikle son yıllarda, sıvı biyopsilerdeki epigenetik biyobelirteçler çok çeşitli kanserlerin tespitine olanak sağlamıştır. Şu anda, belirli bölgelerdeki DNA metilasyon seviyelerini değerlendirmek üzere tasarlanmış bazı ticari kanser tespit kitleri (özofagus, kolerkatal, hepatoselüler, akciğer, prostat, mesane, ürotelyal, ağız ve rahim ağzı kanseri) halihazırda mevcuttur ve diğer birkaçı da piyasada uygulanmak üzere klinik değerlendirme aşamasındadır. Bazı kanserlerin tespitinde ise kullanılan DNA'ların elde edildiği materyal gaita olarak belirtilmiştir (Coppedè ve ark., 2023).

Ayrıca vücutta tümör hücrelerinin bulunduğu ancak kanserin birincil kökeninin bilinmediği kanser vakalarının tanımlanmasına olanak tanıyan genom çapındaki düzeylerde DNA metilasyonunu araştıran yüksek verimli teknikler de kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikleri kullanan araştırmalarda biyopsi örnekleri ve plazma kullanılmıştır. Böylece tek bir analizde birden fazla

tümör tipinin tanımlanmasına olanak tanımıştır. CancerLocator testi ile periferik kanda tümör kaynaklı hücre dışı DNA'dan (cfDNA, hücresiz veya dolaşımdaki serbest DNA olarak da bilinir) elde edilen metilom verilerini kullanarak, metastatik hastalarda tümörün kökenini tanımlamayı amaçlayan bir algoritma sayesinde meme, kolon, böbrek, karaciğer ve akciğer kanserlerinin köken dokusunun teşhisini ve tahminini mümkün hale getirilmeye çalışılmıştır (Coppedè ve ark., 2023).

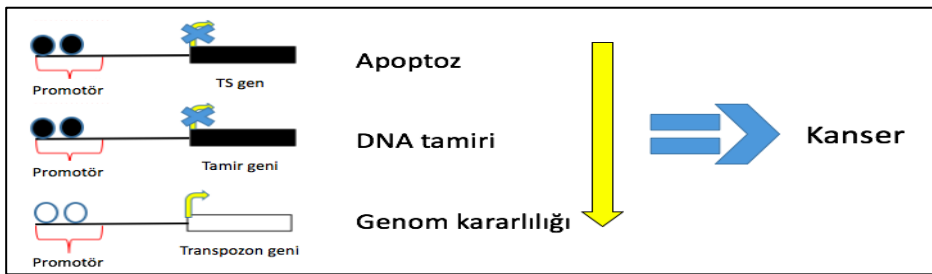
3. NORMAL HÜCRELERDE ve KANSERDE DNA METİLASYONU

Sağlıklı hücrenin gen ifadesi ve işlevi ile genel olarak genom aktivitesi ile epigenomu şekillendiren büyük güçler arasındaki dengenin bir sonucudur. Normal bir hücrede homeostazın sürdürülmesi için gerekli olan genler için eğer ilgili TF'leri mevcut, histon modifikasyonları transkripsiyon için uygun durumda, genin 5' uç bölgesi (promotör, UTR ve 1.ekzon) unmetile ve başka genetik bir kusur yok ise o genin transkripsiyonu gerçekleşir (Esteller 2006). DNA metilasyonu, çeşitli hücresel süreçlerde kritik bir rol oynar. Bunlar arasında gelişim, farklılaşma genom kararlılığının (stabilitesi) korunması, X kromozomu inaktivasyonu ve genomik baskılama yer alır. DNA metilasyonu, gen ekspresyonunu düzenleyerek bu hücresel süreçlere katkıda bulunur ve enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla sıkı bir şekilde düzenlenir. DNA metilasyonunun promotör bölgede olduğu zaman genellikle transkripsiyonel baskılanma ile ilgili olduğunu biliyoruz. Ancak genin aşağı kısımlarında meydana gelen metilasyon bazen TF'lerinin yanlış alana bağlamasını engelleyerek anormal transkript oluşmasını da engellediği bildirilmiştir. TS ve tamir genlerinin promotörleri metile değilse ve farklı bir genetik veya epigenetik baskılanma yok ise hücre döngüsü, apoptoz ve tamir normal şekilde devam ettirilir. TE'ler de ise eğer promotör metile ise transkripsiyonları baskılanır ve genom kararlılığı devam eder. Böylece hücresel homeostazın sürdürülmesi sağlanır (Şekil 6) (Lee ve ark., 2024).



Şekil 6. Normal hücrelerde DNA metilasyonu ile genlerin işleyişi. TS, tümör baskılayıcı.

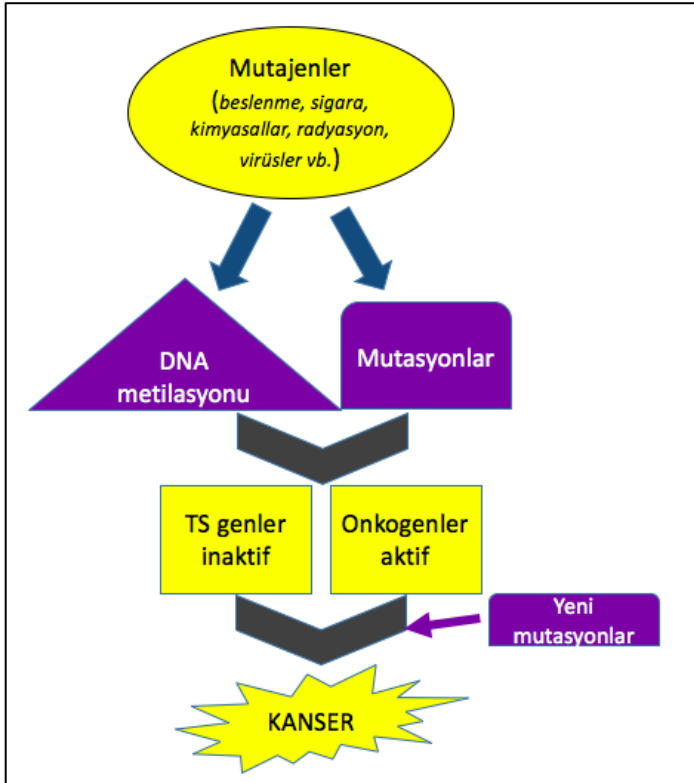
Tümör oluşum süreci sırasında epigenetik değişiklikler, TS genlerin hipermetilasyonu ve onkogenlerin hipometilasyonu ile genel DNA hipometilasyonu dahil olmak üzere tümörle ilişkili genlerin ekspresyonunu değiştirerek erken hücrel değişimlerde rol oynar (Coppedè ve ark., 2023). TS genlerde CpG ada hipermetilasyonu tümörlerde genetik mutasyonlara ek olarak gözlenen bir mekanizmadır. DNA metilasyonunun kanser etyolojisindeki temel rolü, yapısal epimutasyonların kansere yatkınlık oluşturduğu bazı kalıtsal tümör vakalarıyla iyi bir şekilde belgelenmiştir (Coppedè ve ark., 2023). 5-mC en çok TE'lerde yoğun olarak bulunur. TE'lerin transkripsiyonel olarak baskılanması, genom stabilitesini korumak için kritik öneme sahiptir. Aksi takdirde TE'ler baskılanamaz ise kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişmesine neden olur (Şekil 7) (Lee ve ark., 2024).



Şekil 7. Kanserde DNA metilasyonu ile genlerin işleyişi.

İnsan hastalıklarının çoğunun epigenetik bir nedeni vardır. Herhangi bir temel besin maddesinin eksikliği, metil kaynaklarının yokluğu veya metiltransferazlardaki varyasyon, promotör metilasyon kusurları DNA hipo-veya hipermetilasyonunu aktive ederek genlerde mutasyonlara yol açabilir ve bu da yaşla birlikte tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına ve hücre

çoğalmasına yol açarak kanser gelişimine neden olur (Şekil 8) (Nasir ve ark., 2020). Kanserde TS genlerde promotör bölgedeki CpG adalarının hiper-metilasyonu karşın, genom çapında hipo-metilasyon olması nedeniyle kanser hücresi, normal hücreye göre %20-60 daha az genomik 5mC'ye sahip olabilir. Metil gruplarının kaybı esas olarak genlerin aşağı kısmında (kodlama bölgesi ve intronlar) hipometilasyon ve insan genomunun %20-30'unu oluşturan tekrarlayan DNA dizilerinin demetilasyonu ile gerçekleşir. Böylece kromozomal instabilite, transpozon elemanların yeniden aktivasyonu ve imprintlenme kaybı ile kanser gelişir. DNA'nın yetersiz metilasyonu mitotik rekombinasyonu da destekleyebilir, bu da heterozigotluk kaybına yol açarak kanserde önemli rol oynar. Ayrıca metil gruplarının kaybı, imprintlenmiş genleri ve kadınlarda metillenmiş X kromozomu genlerini de etkileyebilir (Esteller 2006).



Şekil 8. DNA metilasyonunun kanserde rolü.

Kanser Genom Atlası (TCGA) konsorsiyumundan 33 farklı kanser türüne ait 9759 tümör örneğinin metilom, mRNA, miRNA ve protein profilleri hakkındaki bilgiler kullanılarak, kanserlerin 28 farklı moleküler alt tipe kümelenmesine olanak tanıyan bir "PanKanser Atlası" oluşturulmuştur (Coppedè ve ark., 2023).

4. ÖZOFAGUS KANSERİNDE DNA METİLYASYON ÇALIŞMALARI

Özofagus (yemek borusu) kanseri (ÖK), yaygın görülür ve 5 yıllık düşük sağkalım oranıyla karakterize bir malignitedir. ÖK esas olarak gecikmiş tanı ve sınırlı tedavi seçeneklerine sahiptir. Bu nedenle erken tarama ile tanı ve tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Günümüzde, ÖK büyük ölçüde endoskopi ve patolojik inceleme ile erken teşhisi yapılabilmektedir. Ancak bu yöntemlerin invaziv olmaları ve yüksek maliyetleri nedeniyle zorluklar içermektedir. Diğer kanserlerde olduğu gibi ÖK ile ilgili genetik biyobelirteçlerin belirlenmesi için çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Ayrıca epigenetik biyobelirteçler için de çalışmalar yoğun şekilde devam etmektedir. Bu epigenetik biyobelirteçlerden biri olan DNA metilasyonunun tespiti, erken ÖK tespiti için umut vadeden endoskopik olmayan, uygun maliyetli ve güvenli bir yaklaşım sunmaktadır (Angeloni ve Bogdanovic 2019; Xu ve ark., 2024).

Özofagus dokusunda yapılan metilasyon çalışmalarında kullanılan materyaller arasında en fazla taze dondurulmuş doku (FFT) örneklerinden çalışmalar mevcuttur. Ayrıca formalinle fikse edilmiş ve parafine gömülmüş (FFPE) dokularda da çok sayıda çalışma mevcuttur. Solid dokular dışında kan dokusunda da birçok metilasyon çalışması bulunmaktadır. Kan belirteçlerinin taranması, kullanım kolaylığı ile invaziv olmaması nedeniyle standart taramaya kıyasla daha iyi uyumludur. Kan çalışmalarında serum veya plazma kullanılmıştır. Bu çalışmaların önemli bir kısmında MSP veya kantitatif MSP (qMSP) teknikleri kullanılmıştır. Bu tekniklere ek olarak kütle spektrofotometrisi ve NGS tekniklerini kullanan çalışmalar da bulunmaktadır (Xu ve ark., 2024). ÖK ile anlamlı ilişkisi tespit edilen genler; *SFRP*'ler (*SFRP1*, *SFRP2*, *SFRP4*, ve *SFRP5*), *TAC1*, *RASSF1A*, *PAX1*, *ZNF582*, *SOX1*, *MMP*, *YEATS2*, *ZNF578*, *AFF3*, *APC*, *p16* ve *IGFBP7* (Lee ve ark., 2024; Xu ve ark., 2024; Kaya ve ark., 2022). Kanser öncesi lezyonlar için metilasyonla ilişkisi araştırılan genler ise *TFPI2*, *TWIST1*, *ZNF345*, *ZNF569*, *ZNF682*,

VAV3, *NDRG4*, *FER1L4*, *ZNF568*, *cg20655070*, *SLC35F1*, *ZNF132*, *CCNA1* ve *VIM*'dir. Bahsi geçen genler dışında çalışmalar da bulunmakta ve çok sayıda panel çalışmaları yapılmıştır. Bazı panel çalışmalarda anlamlı veriler elde edilmiştir. Bazılarında ise hem plazma hem de doku örneklerinde eş zamanlı olarak çalışılmış ve ikisi arasında metilasyon oranı farklı çıkmıştır. Ayrıca çalışmalarda kontrol gruplarının farklılığı, kan örneklerinin saklama koşulları ve büsülfit dönüşüm kalitesi de farklı çalışma sonuçlarının birbiri ile ilişkisini ve sonuçların değerlendirilmesini olumsuz yönde etkilemektedir (Xu ve ark., 2024).

Solid dokulardan çalışılan DNA metilasyonu ÖK'nın erken tespiti için uygun değildir, ancak kan ve özellikle cfDNA'lerden yapılan metilasyon çalışmaları erken tanı için daha uygundur. Genel olarak solid dokulardaki DNA metilasyon seviyesi kan ve diğer vücut sıvılarına göre daha yüksek çıktığı bildirilmektedir. Ancak az sayıda da olsa bazı çalışmalarda bazı genler için tam tersi sonuçlar da elde edilmiştir. Kanda daha düşük seviyede çıkması, kanser dokusundan sadece küçük bir kısım hücrenin dolaşıma girmesinden dolayı olduğu bilinmektedir. Ayrıca kan örneği rutin işlemle daha kolay şekilde toplanması nedeniyle de diğer örneklerle göre çalışma kolaylığı açısından bir avantajdır. Ancak serum kan örneğinden ise plazma daha fazla kullanılmaktadır, ki plazmada ctDNA oranı seruma göre yüksektir. Diğer dokulardan gelen cfDNA'larda dolaşımda olacağından yanlış pozitif sonuç riski de vardır (Xu ve ark., 2024). Bu nedenle çoğu zaman kandaki DNA metilasyon belirtecini pan-kanser belirteci olarak kabul edilebileceği savunulmaktadır. Örneğin *SEPT9* metilasyonu ÖK dahil birçok kanserde pozitifdir (Zhang ve ark., 2022), *p16* ise yaygın bir pan-kanser metilasyon biyobelirteci olarak geçmektedir. Yine de kandan DNA metilasyon testi çok önemlidir ve muhtemelen erken evre kanser tespitlerinde daha duyarlı olması için artık birden fazla DNA metilasyon belirtecinin kombinasyonu çalışılacaktır (Xu ve ark., 2024).

Son on yılı aşkındır, yemek borusundan dökülen (eksfoliy) hücrelerde ve kanda DNA metilasyonunun tespitine yönelik ilgi artmıştır. Özofagus balon sitolojisi tespiti olarak bilinen ve endoskopik olmayan bir sitolojik örnekleme cihazını immünohistokimyasal bir biyobelirteçle birleştiren yeni bir tanı tekniği ortaya çıkmıştır. Bu yöntem, hastanın yemek borusunda genişleyen özel olarak tasarlanmış bir jelatin kapsülü yutması ve geri çekilirken dökülen hücrelerin

toplanmasını sağlar (Kadri ve ark.,2010). Bu hücreler mikroskop altında incelenerek hem hücre morfolojisi gözlemlenir hem de hücrelerden elde edilen genetik materyalden genetik ve epigenetik varyasyonların incelenmesi daha da kolaylaşır. Primer tümörlerden veya metastazlardan salınan cfDNA, kanser hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek oranda bulunmaktadır. Kanser hastalarında cfDNA tümör hücreleri tarafından salınır ve dolaşımdaki tümör DNA'sı (ctDNA) olarak bilinen halini oluşturur. cfDNA metilasyonunun tespiti çeşitli vücut sıvılarında (beyin omuriliği, idrar ve tükürük gibi) gerçekleştirilebilir ve böylece maligniteler için bir tarama teknolojisi olarak büyük potansiyel taşıyan invaziv olmayan bir yaklaşım sunar (Xu ve ark., 2024).

ÖK kanserinin erken teşhisinde yemek borusundan dökülen hücrelerden ve kandan çalışılan DNA metilasyon analizleri ile ilgili birbirlerine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Balon sitolojisi ile oldukça fazla miktarda özofagustan hücre toplanabilir ve farklı dokulardan da hücre gelmesi riski taşıyan cfDNAya göre ÖK'nın erken tespitinde daha fazla hassasiyet ve özgüllük sağlar. cfDNA tabanlı yöntemlere kıyasla daha invaziv olan bu yöntemde işlem için özel ekipman ve eğitimli personel gerekmekte ve kanama, mukozal yaralanma veya perforasyon gibi komplikasyonlar da gelişebilmektedir (Januszewicz ve ark., 2019; Xu ve ark., 2024). Kan toplanması daha kolay ve rutin yapılan bir işlem ve daha uygun maliyetlidir, ancak bu hücrelerden çalışılan DNA metilasyon duyarlılığı diğer yöntemlere göre daha düşük olduğu bildirilmektedir. Kandan (plazma veya serum) DNA metilasyon analizi; yüksek verimlilik ve uyumluluğa sahip olması avantajları varken, erken aşama ÖK tespiti için düşük duyarlılık ve verimlilik gösterir (Xu ve ark., 2024). Tüm bu karşılaştırmalara karşın kanser tespiti için geliştirilen kan DNA metilasyon testleri (PanSeer testi) ile analiz edilen vakaların önemli bir kısmında metilasyon profilleri ile orantılı olarak sonradan kanserin geliştiği bildirilmiştir. Bazı kanserler için hastalardan alınan cfDNA'lardan metilom dizilemeleri yapılarak hem erken teşhis hem de ileri evreler için yüksek duyarlılık ve özgüllükte kanserin kaynaklandığı dokuyu bulmaya yönelik cfMethyl-Seq testi geliştirilmiştir. ÖK dahil bazı kanserler için ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı almış "OverC çoklu kanser tespit kan testi (MCDBT)" adlı bir test, cfDNA'nın derin metilasyon dizilimini metilasyon desenlerinin makine öğrenimi sınıflandırıcısıyla birleştirerek çeşitli tümörleri erken tespit

edebildiği ve plazma örneklerinde tümör kaynaklı sinyallerin 10.000'de 1 gibi düşük seyreltme faktörlerinde tespit edilmesini sağladığı bildirilmiştir (Coppedè ve ark., 2023). Ayrıca günümüzde akut miyeloid lösemi (AML) ve miyelodisplastik sendromların (MDS) epigenetik tedavisi için Aza ve Dac adında hipometilasyonu sağlayan iki ilaç FDA onayı almıştır (Lee ve ark., 2024). Bunların dışında hastalıklarda çalışılan ve henüz FDA onayı alınmamış ama umut verici çok sayıda ilaç (MG98, RG108, zebularin vb.) çalışılmaktadır.

Son yıllarda Barrett özofagus kanseri tespitinde yemek borusu fırçalama ile alınan hücrelerden DNA metilasyon biyobelirteci olarak *CCNA1* ve vimentin (*VIM*) genlerinde bisülfid NGS tekniği ile yapılan test (EsoGuard testi) kullanılmaktadır. Bu test Avrupa in vitro tanı (CE-IVD) sertifikası almış ve güvenilirliğinin %91, özgüllüğünün ise %93 olduğu bildirilmiştir (Coppedè ve ark., 2023).

SONUÇ

Moleküler biyoloji artık genler ve proteinlerle sınırlı değildir, transkripsiyon sonrası modifikasyonlar hakkındaki bilginin artmasıyla birlikte, proteoformlardaki büyük karmaşıklık bir hücrenin işgücü olan bir proteinin işlevsel aşamasında önemli bir rol oynamaktadır. Son yirmi yılda omik odaklı biyolojideki devrimin ardından, DNA metilasyonu ilaç keşfi, teşhisi ve temel hücre ve moleküler biyoloji araştırmalarının ön saflarına gelmiştir. Genel olarak, moleküler biyoloji alanındaki DNA metilasyon çalışmalarının, doğum öncesi bozukluklar ve kanserler gibi karmaşık insan hastalıklarında daha iyi beklentiler ve hassas klinik uygulamalarla yeni bir döneme girdiği söylenebilir.

Özellikle son yıllarda, klinikte DNA metilasyon çalışmalarının uygulanması her zamankinden daha fazla standartlaştırılmış ve bu epigenetik değişime sahip artan sayıda genle ilişkili çok sayıda hastalığı teşhis etme potansiyeline sahip olmuştur. TS ve tamir genlerinde promotör kısımların metilasyonu ile susturulması veya onkogenlerde unmetile ile ekspresyonlarının artması birçok kanserde tanımlanmıştır. Ancak yine de her tümör tipine veya tümörün derecesine göre genlerin metilasyon durumlarının değişebildiği de anlaşılmıştır.

Kanserlerde yapılan genetik çalışmalarla biyobelirteçlerin büyük bir kısmı tanımlanmış ve halen çalışmalar devam etmektedir. Kanserde epigenetik biyobelirteçlerin netleştirilmesi de genetik belirteçler kadar önem arz

etmektedir. Ayrıca kanserdeki genetik değişikliklerin aksine, epigenetik değişiklikler potansiyel olarak geri döndürülebilir olması tedavi açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle DNA demetilasyon ajanları ile ilgili tedaviye yönelik çalışmalar da hız kazanmıştır.

Uluslararası İnsan Epigenom Projesi'nin başlatılması ile kanser hücresinin anormal epigenetik yapısı ve karmaşıklığı tümör oluşumunun altında yatan DNA metilasyonu ve histon değişimlerini anlamak için iddialı bir adım atılmasını sağlamıştır. Onkoloji alanında klinik epigenetiğin uygulanmasında birçok ilerleme kaydedilmiş ve son yıllarda kanser teşhisi için çeşitli epigenetik biyobelirteçler önerilmiştir. Kanser bağlamında, sıvı biyopsi tabanlı DNA-metilasyon profili, invaziv olmayan erken evre tanı için değerli epigenetik biyobelirteçler sunmaktadır. Bu bilgiler, benzer epigenomik profile sahip farklı kanserlerde etkili tedavilerin geliştirilmesine yol açabilir. Ayrıca, elde edilmesi kolay örneklerin epigenetik karakterizasyonu, farmakolojik tedavi altındaki hastaların takibini önemli ölçüde iyileştirebilir ve klinisyenleri belirli bir ilaç türüne yanıt vermeyen bireylerde tedaviyi değiştirmeye yönlendirebilir. Benzer şekilde, derinlemesine bir epigenomik karakterizasyon, yeni farmako-epigenetik biyobelirteçlerin keşfine de yol açabilir. Bazı akut miyeloid lösemi (AML) ve miyelodisplastik sendromların (MDS) epigenetik tedavisi için FDA onayı almış ilaçlar bulunmaktadır.

ÖK için son yıllarda kullanılan eksfoliyе hücrelerden elde edilen cfDNA'ların hem metilasyon hem de genetik biyobelirteçlerin belirlenmesine büyük katkı sağlayacak bir yöntem olarak bahsedilmektedir. Bu yöntemle elde edilmiş cfDNA'larda DNA metilasyonu farklı vücut sıvılarından elde edilen cfDNA'lar ile kıyaslanarak daha doğru sonuçlar elde edilmesine olanak tanıyabilir. Ancak bu yöntemle de hastalarda mukozal yaralanma riski bulunmaktadır. Ayrıca çalışmalar arasında küçük olan örneklem büyüklükleri ve vaka-kontrol grubu arasındaki dengesizlikler çalışmaların sonuçları arasında çalışmaların özgüllüğünü kısıtlamıştır. Bu kısıtlamalar çoklu kohort doğrulamalarının eklenmesi ile azaltılmış ve daha verimli sonuçlar elde edilmeye başlanmıştır. Ayrıca çalışmalar arasında bazı genler için farklı sonuçlar gözlenmesi, araştırmacıların farklı tümör alt tipleri ile çalışmasından kaynaklanabildiği ve dolayısı ile bu ayrımların iyi yapılması gerektiği anlaşılmaktadır. Bu nedenle daha önce tanımlanmış bir metilasyon biyobelirtecini araştıran yeni çalışmalarda çalışmaya dahil edilen hastaların

özelliklerinin önceki çalışmalarla tutarlılığına dikkat edilmesi gerekmektedir. Farklı alt tipler ile çalışılması farklı genetik ve epigenetik kökeni temsil edeceğinden sonuçlar yorumlanırken karışıklığın önlenmesi için bu ayrımların iyi yapılması gerekmektedir. Ayrıca çalışmalarda seçilen kontrol gruplarının da birbirlerinden çok farklı olması da bu çalışmalar arasında sonuçlarda tutarsızlığa neden olmaktadır. Çalışmalarda kullanılan hasta ve kontrol grubunun yanında alınan örneklerin tipi de sonuçları etkilemektedir. Kan örneği en yaygın olarak çalışılmakta, ancak kandaki verinin bir kanser tipine özgü olmayabileceği pan-kanser belirteci olabileceği düşünülmektedir. Bazı kanser tiplerinde (lösemi) bazı epigenetik ilaçlar FDA onayı almıştır.

KAYNAKÇA

- Anaya, JM., Shoenfeld, Y., Rojas-Villarraga, A., et al., editors. (2013). Autoimmunity: From Bench to Bedside [Internet]. Bogota (Colombia): El Rosario University Press; 18. Chapter 49 Epigenetic tools in autoimmune diseases.
- Angeloni, A., Bogdanovic, O. (2019). Enhancer DNA methylation: implications for gene regulation. *Essays Biochem.* 20;63(6):707-715. doi: 10.1042/EBC20190030.
- Baylin, SB., & Herman, JG. (2000). DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends in Genetics : TIG*; 16(4), 168–74.
- Beck, S., Olek, A., and Walter, J. (1999). From genomics to epigenomics: a loftier view of life. *Nat. Biotechnol.* 17, 1144. <http://dx.doi.org/10.1038/70651>.
- Coppedè, F., Bhaduri, U., Stoccoro, A., Nicoli, V., Di Venere, E., Merla, G. (2023). DNA Methylation in the Fields of Prenatal Diagnosis and Early Detection of Cancers. *Int J Mol Sci.* 20;24(14):11715. doi: 10.3390/ijms241411715.
- Djuric, U., El-Maarri, O., Lamb, B., Kuick, R., Seoud, M., Coullin, P., Oldenburg, J., Hanash, S., Slim, R. (2006). Familial molar tissues due to mutations in the inflammatory gene, NALP7, have normal postzygotic DNA methylation. *Hum. Genet.* 120: 390-395.
- Doerfler, W., Böhm, P. (2006). DNA methylation: Basic mechanisms. CTMI 301:3–18. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. ISSN 0070-217X ISBN-10 3-540-29114-8 ISBN-13 978-3-540-29114-5
- Down, TA., Rakan, VK., Turner, DJ., Flicek, P., Li, H., Kulesha, E., Gräf, S., Johnson, N., Herrero, J., Tomazou, EM., Thorne, NP., Bäckdahl, L., Herberth, M., Howe, KL., Jackson, DK., Miretti, MM., Marioni, JC., Birney, E., Hubbard, TJ., Durbin, R., Tavaré, S., Beck, S. (2008). A Bayesian deconvolution strategy for immunoprecipitation-based DNA methylome analysis. *Nat Biotechnol.* Jul;26(7):779-85.
- Dworkin, AM., Huang, TH.-M., & Toland, AE. (2009). Epigenetic alterations in the breast: Implications for breast cancer detection, prognosis and treatment. *Seminars in Cancer Biology*, 19(3), 165–171. doi:10.1016/j.semcancer.2009.02.007

- Esteller M. (2006). The necessity of a human epigenome Project. *Carcinogenesis*. 27 (6): 1121–1125.
- Gupta, MK., Peng, H., Li, Y., Xu, C.J. (2023). The role of DNA methylation in personalized medicine for immune-related diseases. *Pharmacol Ther.* 250:108508. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108508.
- Hotchkiss, RD. (1948). The quantitative separation of purines, pyrimidines, and nucleosides by paper chromatography. *J Biol Chem* 175:315–332
- Januszewicz, W., Tan, WK., Lehovsky, K., Debiram-Beecham, I., Nuckcheddy, T., Moist, S., et al. (2019). Safety and acceptability of esophageal Cytosponge cell collection device in a pooled analysis of data from individual patients. *Clin. Gastroenterol Hepatol.* Mar; 17 (4), 647–656.e1. doi:10.1016/j.cgh.2018.07.043
- Jeltsch, A., Ehrenhofer-Murray, A., Jurkowski, TP., Lyko, F., Reuter, G., Ankri, S., Nellen, W., Schaefer, M., Helm, M. (2017). Mechanism and biological role of Dnmt2 in Nucleic Acid Methylation. *RNA Biol.* 2;14(9):1108-1123.
- Johnson, TB., Coghill, RD. (1925). Researches on pyrimidines. C111. The discovery of 5-methyl-cytosine in tuberculinic acid, the nucleic acid of the tubercle bacillus. *J Am Chem Soc* 47:2838–2844
- Jones, PA., & Laird, PW. (1999). Cancer epigenetics comes of age. *Nature Genetics*, 21(2), 163–7. doi:10.1038/5947
- Kadri, SR., Lao-Sirieix, P., O'Donovan, M., Debiram, I., Das, M., Blazeby, JM., et al. (2010). Acceptability and accuracy of a non-endoscopic screening test for Barrett's oesophagus in primary care: cohort study. *BMJ Clin. Res.* ed 341, c4372. doi:10.1136/ bmj.c4372
- Kaya, Z., Almalı, N., Sahin, ES., Duran, S., Görgisen, G., Ates, C. (2022). Association of insulin-like growth factor binding protein-7 promoter methylation with esophageal cancer in peripheral blood. *Mol Biol Rep.* May;49(5):3423-3431. doi: 10.1007/s11033-022-07173-y
- Koijam, AS., Singh, KD., Nameirakpam, BS., Haobam, R., Rajashekar, Y. (2024). Drug addiction and treatment: An epigenetic perspective. *Biomed Pharmacother.* Jan;170:115951. doi: 10.1016/j.biopha.2023.
- Lee, AV., Nestler, KA., Chiappinelli, KB. (2024). Therapeutic targeting of DNA methylation alterations in cancer. *Pharmacol Ther.* Jun; 258:108640. doi: 10.1016/j.pharmthera.2024.108640

- Liu, WJ., Zhao, Y., Chen, X., Miao, ML., Zhang, RQ. (2023). Epigenetic modifications in esophageal cancer: An evolving biomarker. *Front Genet.* 10;13:1087479. doi: 10.3389/fgene.2022.1087479. eCollection 2022.
- Nasir, A., Bullo, MMH., Ahmed, Z., Imtiaz, A., Yaqoob, E., Jadoon, M., Ahmed, H., Afreen, A., Yaqoob, S. (2020). Nutrigenomics: Epigenetics and cancer prevention: A comprehensive review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 60(8):1375-1387
- Sendžikaitė, G., Kelsey, G. (2019). The role and mechanisms of DNA methylation in the oocyte. *Essays Biochem.* 20;63(6):691-705. doi: 10.1042/EBC20190043.
- Stunnenberg, HG. (2016). The International Human Epigenome Consortium, Hirst M. International Human Epigenome Consortium; Hirst M. The International Human Epigenome Consortium: A Blueprint for Scientific Collaboration and Discovery. *Cell.* 17;167(5):1145-1149
- Time fort he epigenome. (2010). *Nature* 463 (7281): 587. <https://doi.org/10.1038/463587a>
- Xu, Y., Wang, Z., Pei, B., Wang, J., Xue, Y., Zhao, G. (2024). DNA methylation markers in esophageal cancer. *Front Genet.* 7;15:1354195. doi: 10.3389/fgene.2024.1354195.
- Zhang, L., Yang, X., Tian, Y., Yu, Q., Zhou, D., Wu, Z., et al. (2022). Noninvasive detection of esophageal cancer by the combination of mSEPT9 and SNCG. *Genet. Test. Mol. biomarkers* 26 (1), 8–16. doi:10.1089/gtmb.2021.0089
- Zafon, C., Gil, J., Pérez-González, B., Jordà, M. (2019). DNA methylation in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer.* Jul; 26 (7):R415-R439. doi: 10.1530/ERC-19-0093.
- Ziller, M.J., Müller, F., Liao, J., Zhang, Y., Gu, H., Bock, C., Boyle, P., Epstein, CB., Bernstein, BE., Lengauer, T., et al. (2011). Genomic distribution and inter-sample variation of non-CpG methylation across human cell types. *PLoS Genet.* 7:e1002389. doi: 10.1371/journal.pgen.1002389.

BÖLÜM 2

DNA METİLASYONUNU HEDEFLEYEN BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMALAR

Dr. Öğr. Üyesi Harika TOPAL ÖNAL²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936651>

² Toros Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Mersin, Türkiye. harika.topal@toros.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-7466-2942

GİRİŞ

Çok hücreli organizmalarda, her hücre aynı genetik materyale sahip olmasına rağmen morfolojik ve işlevsel açıdan dikkat çekici bir çeşitlilik sergiler. Bu hücresel çeşitlilik, genlerin farklı zamanlarda ve farklı düzeylerde ifade edilmesinden, yani gen ekspresyonundaki farklılıklardan kaynaklanır. Bu çeşitliliğin temelinde ise genetik dizide herhangi bir değişiklik olmadan gen ifadesini düzenleyen epigenetik mekanizmalar yer almaktadır (Jones ve Takai, 2001).

Epigenetik, belirli bir hücre tipine özgü gen ifade desenlerini oluşturan ve bu desenlerin hücre bölünmesi sırasında kalıtılmasını sağlayan, DNA dizisinde değişiklik olmaksızın gerçekleşen kalıcı biyokimyasal değişikliklerin incelenmesini kapsar. Bu değişiklikler, mitotik olarak ve bazı durumlarda mayotik olarak da kalıtsal olabilir. Epigenetik düzenleme mekanizmaları, hücrelerin çevresel koşullara adaptasyonunu sağlayarak organizmanın fenotipik özelliklerine katkıda bulunur. Epigenetik sistemler genotipten fenotipe geçişin düzenleyici katmanını oluşturur (Zhou ve ark., 2019).

Epigenetik regülasyon; DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, histon varyantları, kromatin yeniden modelleme kompleksleri, küçük ve uzun kodlamayan RNA'lar (siRNA, miRNA, lncRNA) gibi birçok moleküler mekanizmayı içerir. Bu mekanizmalar birbirleriyle yakından ilişkilidir ve çoğu zaman birlikte hareket ederek epigenetik durumların stabilitesini ve hücresel hafızayı sağlarlar (Mattei ve ark., 2019). Bununla birlikte, epigenetik durumlar sabit değildir; yaşlanma süreciyle birlikte ya da çevresel uyarılara yanıt olarak zamanla değişebilirler. Özellikle kromatin modülasyonları, genetik materyalin erişilebilirliğini belirleyerek gen düzenleme ağlarının temelini oluşturur (Smith ve Meissner 2013).

Bu mekanizmalar arasında en iyi tanımlanmış ve en yoğun şekilde araştırılmış olanı DNA metilasyonudur. Bu süreç, özellikle memelilerde, sitozin nükleotidinin 5. karbon pozisyonuna bir metil grubunun eklenmesiyle gerçekleşir ve genellikle CpG dinükleotid bölgelerinde yoğunlaşır. DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) tarafından katalizlenen bu kimyasal değişiklik, genlerin susturulması, genoma yerleşmiş transpozonların baskılanması, X kromozomu inaktivasyonu ve genomik imprints gibi birçok kritik biyolojik süreçte görev alır (Nejati-Koshki ve ark., 2023). Epigenetik bir "yazıcı" olarak görev yapan DNMT'lerin yanı sıra, metillenmiş DNA'yı

tanıyan "okuyucu" proteinler (MBD ailesi) ve metil gruplarını kaldıran "silici" enzimler (TET ailesi) bu regülasyonun temel bileşenleridir (Şahin ve Ayaz., 2019).

DNA metilasyonunun biyolojik önemi, hem normal fizyolojik süreçlerde hem de patolojik durumlarda kendini açıkça göstermektedir. Genom çapında metilasyon desenlerinde meydana gelen düzensizlikler; kanser, nörodejeneratif hastalıklar, otoimmün bozukluklar ve gelişimsel sendromlar dahil olmak üzere pek çok hastalıkta rol oynar (Li ve ark., 2024) . Örneğin, tümör baskılayıcı genlerin promotör bölgelerinde görülen anormal hipermetilasyonlar gen susturulmasına yol açarken; genomik hipometilasyon, transpozon aktivitesinin artması ve genomik kararsızlıkla ilişkilendirilir (Bell, 2024).

Son yıllarda DNA metilasyonuna ilişkin bilgi birikimindeki artış, bu epigenetik modifikasyonun yalnızca biyolojik anlamını değil, aynı zamanda klinik uygulamadaki potansiyelini de ortaya koymuştur. DNA metilasyon profillerinin analizi; kanser tanısı, prognostik değerlendirme, tedaviye yanıt tahmini ve biyobelirteç geliştirme açısından son derece değerli hale gelmiştir (Luo ve ark., 2020). Ayrıca DNA metilasyonunu hedefleyen biyoteknolojik uygulamalar, özellikle epigenetik ilaçlar, CRISPR/dCas9 tabanlı gen düzenleme sistemleri ve RNA aracılı düzenleme stratejileri ile hastalıkların tedavisinde devrim niteliğinde gelişmelere kapı aralamaktadır (Ebrahimi ve ark., 2023). Bu teknolojiler, yalnızca hastalıkların tedavisinde değil, aynı zamanda biyolojik yaşlanmanın yavaşlatılması ve rejeneratif tıpta hücreSEL yeniden programlama alanlarında da geniş uygulama alanları bulmuştur (Linhares ve ark., 2023).

Bu kitap bölümü, DNA metilasyonunu hedef alan biyoteknolojik yaklaşımları, bu sürecin temel biyolojisiyle birlikte kapsamlı biçimde ele almayı amaçlamaktadır. DNA metilasyonundaki bozulmaların başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişimindeki rolü detaylandırılacak; bu patolojik süreçlere müdahale etmeyi hedefleyen güncel biyoteknolojik uygulamalara özellikle epigenetik ilaçlar, CRISPR tabanlı düzenleme sistemleri ve RNA aracılı müdahale stratejilerine odaklanılacaktır. Bölümün sonunda, DNA metilasyonunun tanı ve tedavi süreçlerinde neden güçlü bir biyobelirteç adayı olduğu vurgulanacak ve bu alandaki biyoteknolojik ilerlemelerin temel bilimden kliniğe uzanan yansımaları ile gelecekteki potansiyeli tartışılacaktır.

1. DNA METİLASYONUNUN TEMELLERİ VE GENOM ÜZERİNDEKİ ROLÜ

DNA metilasyonu, memelilerde genetik programlamanın bir parçası olarak ortaya çıkan ve çoğunlukla replikasyondan sonra gerçekleşen bir DNA değişimidir (Schübeler, 2015). Bu modifikasyon, özellikle CpG dinükleotid dizileri içindeki sitozin bazının 5. karbonuna metil grubunun eklenmesiyle meydana gelir (Jeltsch ve Jurkowska, 2015). Genomda yer alan bazların yaklaşık %1'ini 5-metilsitozinler oluşturur ve bu oran doku türüne göre az da olsa değişkenlik gösterebilir (Jeltsch ve ark., 2019). Memeli genomlarında CpG bölgelerinin yaklaşık %75'i metillenmiş durumda bulunur (Arneson ve ark., 2022).

Bazı organizmalarda, örneğin fare embriyonik kök hücreleri ya da bitkilerde, CpNpG ve CpA gibi farklı bağlamlarda metilasyon örneklerine rastlansa da bu tür modifikasyonlar insanın somatik dokularında oldukça nadirdir (Pinney, 2014). CpG dizilerinin genomda düşük sıklıkta görülmesinin nedeni, metillenmiş CpG bölgelerinde meydana gelen deaminasyon sonucu oluşan yüksek mutasyon oranıdır. Bu oran, diğer baz değişimlerine kıyasla 10 ila 50 kat daha yüksektir ve evrimsel süreçte CpG dinükleotidlerinin sayısının azalmasına yol açmıştır. Bu azalmaya rağmen, genomda CpG bakımından zengin olan ve 1-4 kb uzunluğunda olan bölgelere “CpG adaları” denilir (Stefansson ve ark., 2024). Genellikle genlerin promotör bölgelerinde ve ilk ekzonlarında bulunan bu adalar, transkripsiyona açık kromatin yapılarıyla ilişkilidir ve çoğu zaman metillenmemiştir (Stefansson ve ark., 2024). İnsan genomunda yaklaşık 30.000 CpG adası bulunur ve bunlar çoğunlukla germ hattında metillenmediği için mutasyonlara karşı daha dirençlidir (Patil ve ark., 2014).

Araştırmalar, sağlıklı dokularda bile metillenmiş CpG adası sayısının arttığını göstermektedir. Belirli kriterlere göre bir bölgenin CpG adası sayılması için G+C içeriğinin %55'nin üzerinde, beklenen CpG sıklık oranının 0,65'in üzerinde ve minimum boyutunun 500 baz çifti olması gerekir. İnsan transkripsiyon başlangıç bölgelerinin yaklaşık %75'i ve aktif promotörlerin %88'i CpG yönünden zengin dizilerle çevrilidir ve bu alanlar DNA metilasyonu sayesinde gen ifadesi düzeyinde düzenlenebilir. Gen promotörlerindeki CpG adaları gelişim sürecinde ya da kanserleşme aşamasında farklı metilasyon hassasiyetleri gösterebilir bu durum, kendi dizisel

yapılarından kaynaklanabilir. Bu tür epigenetik düzenlemeler, belirli dokulara ve gelişim evrelerine özgü olarak kontrol edilir ve bireyin yaşamı boyunca sabit şekilde devam eder (Illingworth ve Bird, 2009).

DNA metiltransferazlar (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, DNMT2 ve DNMT3L), epigenetik düzenlemenin temel enzimleridir ve evrensel metil donörü S-adenozil-L-metionin (SAM) aracılığıyla DNA'ya metil grubu ekleyerek gen ifadesini kontrol altında tutarlar (Jeltsch ve ark., 2020). DNMT1, yarı metillenmiş DNA'yı tanıyarak epigenetik kalıpların hücre bölünmesiyle aktarılmasını sağlar. DNMT3A ve DNMT3B ise yeni metilasyon kalıplarının oluşumunda görev alır; DNMT3A özellikle maternal damgalı genlerde, DNMT3B ise tekrarlayan DNA bölgelerinde etkindir. Metillenmiş DNA'yı tanıyan ve ona bağlanan metil CpG bağlayıcı proteinler (MBD1-4, MeCP2, Kaiso, ZBTB4, ZBTB38) ise transkripsiyonu baskılayan protein komplekslerini bölgeye çekerek gen ifadesini susturur. DNA'nın aktif demetilasyonu embriyonik gelişim sürecinde önemlidir ancak mekanizmaları hala tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Glikosilazlar, AID sitidin deaminazı, DNMT3B'nin katalitik aktivitesi ve Gadd45a gibi proteinlerin rol oynadığı çeşitli yollar önerilse de, bu süreçler genellikle düşük verimlidir ve DNA üzerindeki epigenetik düzenlemelerin düşündüğümüzden daha karmaşık olduğunu gösterir (Lyko, 2018).

2. EPIGENETİK İLAÇLAR

2.1. DNA Metilasyon inhibe eden ilaçlar (DNMTi)

DNMTi, kovalent bağ yoluyla DNA metiltransferaz enzimine bağlanır ve enzimin aktif bölgesini işgal ederek DNA'ya bağlanmasını engeller. DNA metilasyonunu geri dönüşümsüz olarak inhibe ederler (Yu ve ark., 2019). Farklı kanser hücresi hatları bu inhibitörlerin belirli dozlarına maruz kaldığında, hücre döngüsü ilerlemesini ve tümör yayılmasını inhibe edebilirler ve ayrıca DNMTi anormal metilasyonla susturulmuş tümör baskılayıcı genleri yeniden aktive edebilir (Lopez ve ark., 2022). DNMTi kullanılarak, kanser testis antijeni (CTA) gibi uykuda olan antijenler kötü huylu hücrelerde artırılabilir ve sonrasında anti-tümör bağışıklığı aktive edilebilir (Da Costa, 2017). CTA'lar erken embriyonik hücrelerde gösterilir ancak genellikle yetişkin somatik hücrelerde susturulur. DNMT'lerdeki, özellikle DNMT3B enzimindeki mutasyonlar aşırı metilasyona neden olabilir ve bu nedenle DNMTi'lerin

kullanımı yukarıda belirtilen bağışıklık etkilerini indükleyebilir (Da Costa, 2017).

Nükleozid benzeri bileşikler, DNA metilasyonunu engelleyen ajanların ilk geliştirilen türleri arasında yer almaktadır ve bazıları belirli kanser türlerinin tedavisinde kullanılmak üzere FDA onayı almıştır. Bu bileşiklerden biri olan 5-Azasitidin (ticari adıyla Vidaza), 1968 yılından bu yana kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler göstermektedir (Seven, 2024). Ancak, bu etkinin altında yatan mekanizma daha sonra aydınlatılmıştır. Bu molekül, sitidin yapısına benzemekle birlikte, yapısal olarak karbon-5 atomu yerine azot içermektedir. Hücreye girdikten sonra fosforilasyona uğrar ve DNA sentezi sırasında genetik materyale entegre edilir (Christman, 2002). DNMT1 enzimi tarafından doğal bir substrat gibi algılanan bu analog, metil grubu transferi ile başlayan süreçte enzimin kendisine kovalent olarak bağlanmasına neden olur. Ancak beşinci karbon pozisyonundaki azot, bu bağın geri dönüşümsüz şekilde oluşmasına yol açar ve DNMT1'in inaktivasyonuna sebep olur ve DNA metilasyon düzeylerinde genel bir azalma meydana gelir (Laranjeira ve ark., 2023). 5-Azasitidin'in etkisi özellikle hızlı çoğalan kanser hücrelerinde daha belirgindir (Laranjeira ve ark., 2023). Her ne kadar FDA onaylı bir ilaç olsa da, kimyasal kararsızlığı, potansiyel toksisite riski ve oral yolla kullanılamaması gibi nedenlerle daha etkili ve güvenli alternatiflerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Zebularin, yapısal olarak sitidine benzeyen ve 5-Azasitidin'e benzer şekilde işlev gören bir nükleozid analogudur. DNA içerisine entegre olarak DNMT1 enzimiyle kovalent bağ kurar ve böylece DNA metilasyonunu engeller (Billam ve ark., 2010). Her ne kadar şu anda FDA tarafından onaylanmamış olsa da, yapılan hayvan deneylerinde özellikle fare modellerinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Tan ve ark., 2013). Zebularin'in dikkat çekici yönlerinden biri, oral yolla uygulandığında dahi DNA metilasyonunu baskılayabilmesi ve metilasyon nedeniyle sessizleşmiş genlerin yeniden ifade edilmesini sağlayabilmesidir (Cheng ve ark., 2003). Bu özelliğiyle, damar yoluyla verilmesine gerek kalmadan epigenetik modifikasyonu etkileyebilen ilk ajanlardan biri olma özelliğini taşır. Ayrıca, 5-Azasitidin'e kıyasla daha yüksek kimyasal stabiliteye sahip olması ve ağızdan alınabilirliği, Zebularin'in gelecekte potansiyel bir antikanser ilaç adayı olarak değerlendirilmesine olanak tanımaktadır.

Antisens oligonükleotid teknolojisi, DNA metilasyonunu engellemek amacıyla geliştirilen bir diğer yaklaşımdır. Bu alanda öne çıkan örneklerden biri olan MG98, DNMT1 geninin 3' untranslated (çevrilmeyen) bölgesine bağlanarak transkripsiyon sürecini engelleyen 20 baz uzunluğunda bir antisens oligonükleotiddir. Mesane ve kolon kanserine yönelik yapılan hayvan deneylerinde, MG98 tedavisinin p16 gibi baskılayıcı genlerin yeniden ifade edilmesini sağladığı ve tümör büyümesini sınırladığı gözlemlenmiştir. Klinik çalışmalarda ise sonuçlar tam anlamıyla tutarlı olmasa da, MG98'in ileri evre böbrek hücreli karsinom tedavisinde olumlu etkiler gösterebildiği raporlanmıştır. Özellikle, MG98'in Roferon-A adlı bilinen bir kemoterapi ilacıyla birlikte kullanıldığı bir çalışmada umut verici sonuçlar elde edilmiştir: DNMT1 düzeylerinde azalma sağlanırken, ilaca bağlı toksisite düşük seviyede kalmış ve tümör gelişimi yavaşlamıştır. Bu molekülün ideal dozajı ve uygulama şemaları üzerine yürütülen klinik araştırmalar hâlen devam etmektedir.

Buna ek olarak, RG108 adlı yeni bir DNA metilasyon inhibitörü, küçük molekül sınıfına ait olup farklı bir etki mekanizması sergilemektedir (Ou ve ark., 2018). RG108, DNMT1 genine ya da DNA'ya entegre olmak yerine, doğrudan DNMT1 enziminin aktif bölgesine bağlanarak metilasyon sürecini durdurur (Ou ve ark., 2018). İnsan kanser hücre hatları üzerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda, bu bileşiğin p16 tümör baskılayıcı geninde anlamlı demetilasyon ve yeniden ekspresyon sağladığı, buna bağlı olarak da hücre çoğalmasını yavaşlattığı belirlenmiştir (Graça ve ark., 2014). RG108'in en dikkat çekici yönlerinden biri, nükleozid analoglarının aksine, enzimi kovalent olarak bağlayarak yakalamaması sayesinde toksisite riskinin düşük olmasıdır. Ayrıca, bu ilacın sentromerik bölge tekrarlarının metilasyon durumunu değiştirmemesi, hipometile kromatin bölgelerinin kararlılığını destekleyici ve olumlu bir özellik olarak değerlendirilmektedir. Yüksek özgüllüğü ve düşük yan etki profiliyle RG108, gelecekte potansiyel bir kanser terapötik ajanı olarak büyük umut vadetmektedir.

2.2. Histon metilasyon inhibitörleri

Trimetilasyonu engellemek için sentezlenen yeni inhibitörlerin gelişimsel olarak düzenlenen genleri yeniden aktive ettiği gösterilmiştir. Son zamanlarda, 3-deazaneplanosin A'nın (DZNep), histon H3 (H3K27me3) üzerindeki lizin 27 ve histon H4 üzerindeki lizin 20'nin trimetilasyonunu seçici olarak inhibe ettiği ve kanser hücrelerinde susturulmuş genleri yeniden aktive ettiği bildirilmiştir (Song ve ark., 2016). Yakın zamanda yapılan bir çalışma, bu inhibitörlerin DNA metilasyonu tarafından susturulmayan gelişimsel genleri yeniden aktive ettiğini gözlemlemiştir (Zahoor ve ark., 2025). Epigenetik mekanizmalar, özellikle histonlar ve DNA üzerinde gerçekleşen ve geri döndürülebilir özellikte olan kimyasal modifikasyonları içerir (Gagnidze ve Pfaff, 2022). Bu değişiklikler, gen ifadesinde önemli değişimlere yol açabilir ve büyük fenotipik sonuçlar doğurabilir. Epigenetik düzenlemeler çevresel koşullara ve hücresel uyarıcılara yanıt olarak ilerleyebilir, gerileyebilir ya da tamamen ortadan kalkarak genetik materyalin orijinal durumuna dönmesini sağlayabilir (Gagnidze ve Pfaff, 2022). Son yıllarda yapılan çalışmalar, histon modifikasyonları ile DNA'nın CpG bölgelerinde meydana gelen metilasyon değişiklikleri arasında önemli bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Yan ve ark., 2024). Bu etkileşim, çeşitli epigenetik düzenleme biçimlerinin birbirine bağlı olduğunu gösteren bir "epigenetik kod" kavramını gündeme getirmiştir. Bu kod, belirli gen gruplarının açılıp kapanmasında rol oynayarak temel biyolojik süreçlerde bir tür moleküler anahtar görevi üstlenebilir (Yan ve ark., 2024).

Epigenetik hedeflere yönelik geliştirilen terapötik ajanlar her geçen gün daha özgül ve hassas hale gelmektedir. Bu ilerlemeler sayesinde, söz konusu epigenetik anahtar üzerinde daha etkin kontrol sağlamak mümkün hale gelmiştir. Uygun ilaç kombinasyonları doğru zamanda uygulandığında, özellikle hastalığın erken evrelerinde, bu epigenetik düzenleyici mekanizmalar hastalığa özgü fenotipin geri çevrilmesini sağlayabilir. Nitekim bazı araştırmalar, epigenetik ajanların hem kanserin başlangıcında görev alan öncül hücrelerin oluşumunu engelleyebileceğini hem de ilaç tedavisine dirençli tümör hücrelerini etkisiz hale getirebileceğini öne sürmektedir (Wang ve ark., 2021).

2.3. CRISPR/dCas9 Tabanlı Epigenetik Düzenleme

Gen kontrolü alanı çok geniştir ve hâlâ büyük ölçüde keşfedilmemiştir; genleri değiştirme ve düzenlemenin bir yolu da CRISPR olarak adlandırılan yöntemdir (Bilici ve Ayvazoğlu, 2024). CRISPR-dCas9 sistemi, genom mühendisliğinde devrim yaratan bir teknolojidir. DNA'yı kesme yeteneği olmayan katalitik olarak inaktif dCas9 proteini, çeşitli düzenleyici alanlarla birleştirilerek hedef genlerin susturulması veya aktive edilmesi için kullanılabilir (Rajanathadurai ve ark., 2024). Bu sistem, DNA dizisini değiştirmeden gen ifadesinin hassas biçimde düzenlenmesini sağlar. CRISPR-dCas9, özellikle epigenetik düzenleme, gen ifadesi kontrolü ve canlı hücrelerin görüntülenmesi gibi uygulamalarda etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

CRISPR/Cas9 teknolojisi, önceki gen düzenleme yöntemleri olan TALEN ve ZNF platformlarının yerini alarak genetik hastalıklar ve kanser tedavisinde güçlü bir araç haline gelmiştir (Bhokisham ve ark., 2023). Bu teknoloji, kanser tanı ve takibinde kullanılan FLASH ve HOLMES gibi yüksek hassasiyetli sistemlerin geliştirilmesine katkı sağlamıştır (Yao ve ark., 2023). Ayrıca, T hücrelerinin genetik olarak düzenlenmesi, kanser organoid modellerinin oluşturulması, ilaç taramaları ve kişiselleştirilmiş tedaviler gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Klinik başarılarına rağmen, hedef dışı etkiler ve uygulama zorlukları gibi bazı sınırlamalar hâlâ varlığını sürdürmektedir. Buna rağmen, CRISPR/Cas9, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi ve kanser biyolojisinin anlaşılması açısından büyük potansiyel sunmaktadır. CRISPR-Cas9 ile epigenetik değişiklikler sonucu kanser hücrelerinde susturulan belirli tümör baskılayıcı genleri hedeflemek ve aktive etmek mümkündür (Yao ve ark., 2023). Kullanım kolaylığı ve tasarımdaki uyarlanabilirliği nedeniyle CRISPR-Cas9 teknolojileri, ZFN'ler ve TALEN'lerden daha çok tercih edilir. ZFN'ler ve TALEN'ler her hedef için karmaşık protein mühendisliği gerektirir, ancak CRISPR-Cas9'un herhangi bir DNA dizisini hedeflemek için yalnızca modifiye edilmiş tek kılavuz RNA'ya (sgRNA) ihtiyacı vardır (Yamamoto 2015). Ayrıca, CRISPR-Cas9 kullanarak birçok geni aynı anda hedeflemek mümkündür; bu, ZFN'ler ve TALEN'ler ile mümkün değildir (Bhokisham ve ark., 2023). CRISPR-dCas9, daha ekonomik ve verimli olduğu için araştırma ve terapötik uygulamalarda genetik değişiklikler için daha erişilebilir bir tekniktir (Moradi ve ark. 2024). Dahası, çoğullama yeteneği ile CRISPR-Cas9 aynı anda çok sayıda geni hedefleyebilir ve epigenetik değişiklikler ve DNA'yı kırmadan gen düzenlemesi dahil olmak üzere çeşitli uygulamalar için

faydalıdır. ZFN'ler ve TALEN'ler oluşturmak için gereken karmaşık ve pahalı protein mühendisliği ile karşılaştırıldığında, CRISPR-dCas çok yönlü Ness'i, düşük maliyetleri ve daha geniş kullanımı nedeniyle daha etkili ve çok yönlü bir teknolojidir (Rabaan ve ark. 2023). CRISPR-dCas9 sistemi, genetik materyali kesmeden, DNA üzerinde belirli promotör veya güçlendirici bölgeleri hedefleyerek gen ekspresyonunu düzenleme amacıyla geliştirilmiştir. Katalitik aktivitesi bulunmayan mutant Cas9 (dCas9), transkripsiyon aktivatörleri (örneğin SAM, VPR) veya baskılayıcı alanlar (örneğin KRAB) ile birleştirilerek, hedef genlerin kontrollü şekilde aktive edilmesini veya susturulmasını sağlar. Bu teknoloji, özellikle kanser epigenetiğinde tümör baskılayıcı genlerin yeniden etkinleştirilmesi yoluyla tümör büyümesini engelleme potansiyeli taşımaktadır. Ayrıca, nöronal ve kardiyak yeniden programlama, yaşlanma belirtilerinin azaltılması ve çeşitli genetik hastalıklarda (kanser, metabolik bozukluklar, nörodejeneratif hastalıklar) terapötik uygulamalar gibi çok geniş bir yelpazede etkili olduğu gösterilmiştir. Genel olarak, CRISPR-dCas9, epigenetik temelli hassas gen düzenleme stratejileri sunarak kanser tedavisinde yeni bir çıkır açmaktadır.

2.4. dCas9-TET Sistemleri

Son yıllarda geliştirilen biyoteknolojik yaklaşımlardan biri olan dCas9-TET sistemleri, DNA metilasyonunu genetik diziyi değiştirmeden, spesifik bölgelerde hedefli olarak düzenleyebilen yenilikçi bir epigenetik araçtır. Bu sistemde, DNA'yı kesme özelliği olmayan katalitik olarak inaktif Cas9 (dCas9) proteini, TET (Ten-Eleven Translocation) ailesine ait demetilasyon enzimleri ile birleştirilmiştir. Kılavuz RNA (gRNA) aracılığıyla istenilen promotör ya da gen bölgesine yönlendirilen bu kompleks, 5-metilsitozin (5mC) kalıntılarını 5-hidroksimetilsitozin (5hmC)'ye çevirerek aktif DNA demetilasyonu başlatır (Zahraei ve ark., 2025).

Bu teknoloji özellikle susturulmuş tümör baskılayıcı genlerin yeniden aktive edilmesinde, gelişimsel gen regülasyonlarında ve epigenetik temelli hastalıkların tedavisinde umut vaat eden hedefe yönelik bir strateji sunmaktadır (Sar ve Dalai, 2021). dCas9-TET sistemleri, DNA dizisini değiştirmeksizin gen ifadesini epigenetik düzeyde kontrol etme imkânı sağladığı için, güvenli ve geri döndürülebilir bir düzenleme aracı olarak ön plana çıkmaktadır.

3. RNA TABANLI YÖNLENDİRME SİSTEMLERİ

3.1. siRNA ve miRNA ile DNA Metilasyonunun Epigenetik Düzenlenmesi

DNA metilasyonu, gen ekspresyonunun epigenetik düzeyde kontrol edilmesinde temel mekanizmalardan biridir. Özellikle CpG adacıklarının metillenmesi, gen promotör bölgelerinin susturulmasına yol açarak hücrel farklılaşma, genom stabilitesi ve hastalık süreçleri üzerinde belirleyici rol oynar. Son yıllarda geliştirilen biyoteknolojik yaklaşımlarla, küçük girişimci RNA (siRNA) (small interfering RNA) ve mikroRNA (miRNA) gibi küçük düzenleyici RNA'lar kullanılarak DNA metilasyonu doğrudan veya dolaylı olarak hedeflenebilmektedir (Kumari ve ark., 2023; Ratovitski, 2017).

3.2. siRNA Tabanlı Metilasyon Müdahaleleri

siRNA'lar, hedef mRNA'ları tanıyarak gen susturulmasını sağlayan kısa çift sarmallı RNA molekülüdür. Bununla birlikte, bazı bağlamlarda siRNA'lar yalnızca post-transkripsiyonel değil, aynı zamanda transkripsiyonel düzeyde susturma sağlayarak DNA metilasyonunu tetikleyebilmektedir. Bu süreç, RNA-yönlendirmeli DNA metilasyon (RdDM) mekanizması ile ilişkilendirilir (Kumari ve ark., 2023).

siRNA, hedef DNA'ya karşılık gelen transkriptleri tanıyarak RNA-indüklü transkripsiyonel susturma (RITS) kompleksini yönlendirir. RITS kompleksi, hedef bölgeye DNMT3A/B gibi DNA metiltransferaz enzimlerinin çekilmesini sağlar. Sonuçta ilgili bölgede *de novo* metilasyon gerçekleşir ve gen ekspresyonu kalıcı olarak baskılanabilir (Erdmann ve Picard, 2020).

Bu yaklaşım, özellikle retrotranspozonların baskılanması, genom stabilitesinin sağlanması ve belirli genlerin susturulmasında potansiyel taşımaktadır.

3.3. miRNA Aracılığıyla Metilasyonun Dolaylı Düzenlenmesi

miRNA'lar, hücre içinde endojen olarak sentezlenen ve genellikle 3'UTR bölgelerine bağlanarak mRNA düzeyinde transkripsiyonu baskılayan kısa RNA molekülüdür. Epigenetik bağlamda miRNA'lar:

- DNMT1, DNMT3A/B, HDAC, EZH2 gibi epigenetik düzenleyici genleri hedef alarak bu enzimlerin düzeyini azaltabilir.

- Bu sayede dolaylı yoldan DNA metilasyon düzeyini düşürebilir ve gen ekspresyonunu yeniden aktive edebilir (Arif ve ark.,2020).

Örneğin, miR-29 ailesi, DNMT3A ve DNMT3B'yi hedef alarak hipermetile olmuş tümör baskılayıcı genlerin yeniden ekspresyonuna katkıda bulunabilir (Hysolli ve ark., 2016). Ayrıca, bazı miRNA'ların promotör bölgeleri de DNMT'ler tarafından metilasyona uğrayarak baskılanır. Böylece DNMT-miRNA eksenini çift yönlü bir geri besleme döngüsü oluşturur (Yao ve ark., 2019).

siRNA ve miRNA temelli epigenetik müdahaleler, DNA metilasyonunu hassasiyetle düzenleyebilme potansiyeli sayesinde modern biyoteknolojik stratejilerde önemli bir yer edinmiştir. Ancak klinik uygulamaların yaygınlaşabilmesi için taşıyıcı sistemlerin optimizasyonu, hedef dışı etkilerin azaltılması ve hücresel bağlamın dikkate alınması kritik önemdedir (Arif ve ark., 2020).

4. DNA METİLYASYONUNUN TANI VE TEDAVİDE KULLANIMI

4.1. Erken Tanı İçin Metilasyon Profilleri

Günümüzde hastalıkların moleküler tanısında DNA metilasyon profilleri önemli bir araç olarak öne çıkmaktadır. Özellikle kanser gibi karmaşık hastalıklarda, özgün metilasyon desenleri sayesinde hastalığın erken evrelerde saptanması mümkün hale gelmiştir. Bu profiller, tümör baskılayıcı genlerin promotör bölgelerinde oluşan hipermetilasyon ve genom genelinde meydana gelen hipometilasyon gibi epigenetik değişikliklerin sistematik olarak analiz edilmesiyle elde edilmektedir. Epigenetik düzenleyicilerin gen ifadesine doğrudan etkisi göz önüne alındığında, metilasyon temelli biyobelirteçler, klasik mutasyon analizlerine kıyasla daha dinamik ve çevresel etkilere duyarlı bilgi sağlamaktadır (Sun ve ark., 2024).

Özellikle BRCA1, RASSF1A ve CDKN2A gibi genlerin metilasyon durumlarının farklı kanser türlerinde tanı ve prognoz açısından anlamlı olduğu gösterilmiştir. Yüksek çözünürlüklü yeni nesil dizileme teknolojileri (örneğin, WGBS ve hedeflenen bisülfid dizilimi), bu metilasyon profillerinin genom çapında veya gen düzeyinde güvenilir şekilde analiz edilmesine olanak tanımaktadır. Literatürde, meme, kolon, akciğer ve prostat kanserleri başta olmak üzere çeşitli kanser türlerinde karakteristik metilasyon panelleri

tanımlanmış ve klinik kullanıma uygun hale getirilmeye başlanmıştır (Hu ve ark., 2023; Zygulska ve Pierzchalski, 2022).

4.2. Likit Biyopsilerde Epigenetik Biyobelirteçler

Likit biyopsiler, minimal invaziv yöntemlerle kan örneklerinden elde edilen hücre dışı DNA (cfDNA) üzerinden hastalıklara özgü moleküler belirteçlerin analiz edilmesini mümkün kılmaktadır. cfDNA'nın metilasyon profili, dokulara özgü değişimleri yansıtarak özellikle kanser tanısında yüksek duyarlılık ve özgüllük sunmaktadır. Geleneksel mutasyon analizlerinin aksine, epigenetik biyobelirteçler hücresel çevreyle etkileşimli olduğu için hastalığın biyolojik süreci hakkında daha kapsamlı bilgi sağlamaktadır (Shen ve ark., 2018).

Son yıllarda geliştirilen metilasyon temelli ticari testler (örneğin, Epi proColon, Galleri) çeşitli kanser türlerinin tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Bu testler, genellikle spesifik gen bölgelerindeki metilasyon değişimlerini hedef alarak malign hücre varlığını saptamayı amaçlar. Örneğin, SEPT9 geninin metilasyon düzeyleri, kolorektal kanser tanısında FDA onaylı bir biyobelirteç olarak kabul edilmiştir (Heitzer ve ark., 2019). Aynı şekilde, çoklu kanser türlerinin saptanmasına yönelik cfDNA metilasyon profilleri, kişiselleştirilmiş tarama stratejilerine olanak tanımaktadır (Liu ve ark., 2020).

cfDNA metilasyon analizleri, aynı zamanda tedaviye yanıtın izlenmesi ve hastalığın nüks etme riskinin değerlendirilmesi gibi klinik karar süreçlerinde de kullanılmaktadır. Bu yönüyle epigenetik biyobelirteçlerin likit biyopsi aracılığıyla izlenmesi, hastalık takibinde non-invaziv, güvenilir ve tekrar edilebilir bir yöntem sunmaktadır.

4.3. Kişiselleştirilmiş Tıpta DNA Metilasyonu

Kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarında DNA metilasyon verileri, bireysel hastalık risklerinin belirlenmesinde, tanı süreçlerinin optimize edilmesinde ve tedavi stratejilerinin bireye özel hale getirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Metilasyon profilleri, bireylerin genetik yapısından bağımsız olarak çevresel, yaşamsal ve patolojik etkilerle şekillenebildiği için hastalığa özgü yanıtların tahmininde kullanışlı biyobelirteçlerdir (Hu ve ark., 2023).

Özellikle hematolojik maligniteler, solid tümörler ve nörodejeneratif hastalıklarda, bireyselleştirilmiş epigenetik profillemeye ile hastaların tedaviye vereceği yanıt öngörülebilme ve epigenetik ilaçlarla (örneğin, DNMT

inhibitörleri) hedefe yönelik tedavi uygulanabilmektedir. Bu bağlamda, örneğin azasitidin veya decitabin gibi ajanların kullanımında metilasyon durumu, tedaviye uygunluk ve başarıyı belirleyici faktör haline gelmiştir. Ayrıca, DNA metilasyon profilleri kullanılarak geliştirilen epigenomik karar destek sistemleri, klinik algoritmalara entegre edilerek hasta yönetimini daha etkili hale getirmektedir (Yap ve ark., 2012).

Bu gelişmeler doğrultusunda epigenetik biyobelirteçlerin kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımlarına entegrasyonu, klinik sonuçların iyileştirilmesine yönelik yenilikçi bir adım olarak değerlendirilmektedir.

5. DNA METİLYASYONUNUN GELECEĞİ VE UYGULAMA POTANSİYELİ

5.1. Rejeneratif Tıpta Kullanım Olasılıkları

DNA metilasyonunun rejeneratif tıptaki potansiyeli, son yıllarda hücreyel yeniden programlama ve doku mühendisliği alanında giderek daha fazla önem kazanmıştır. Hücreyel kimliğin belirlenmesinde ve korunmasında kritik bir rol oynayan metilasyon, somatik hücrelerin pluripotent kök hücrelere dönüşümü sırasında kapsamlı bir yeniden programlamaya uğrar. Bu süreç, hücreyel fonksiyonların ve farklılaşma potansiyelinin geri kazanılması için epigenetik bariyerlerin aşılmasını gerektirir (Gomes ve ark., 2017).

Teknolojik ilerlemelerle, CRISPR/dCas9-TET1 gibi epigenetik düzenleme sistemleri aracılığıyla hedefe özgü metilasyon değişiklikleri yapılabilmekte; böylece spesifik genlerin aktivasyonu veya baskılanması sağlanabilmektedir. Bu sayede rejeneratif tıp uygulamalarında, örneğin sinir hücrelerinin onarımı, kardiyak dokunun yeniden yapılandırılması veya pankreas beta hücrelerinin yenilenmesi gibi karmaşık süreçlerin kontrollü şekilde yönlendirilmesi mümkün hale gelmektedir (Berdasco ve ark., 2011).

Bununla birlikte, rejeneratif tıpta DNA metilasyonunun manipülasyonu, hücreyel stabilitenin korunması ve olası tümörojenik dönüşümlerin önlenmesi açısından titizlik gerektirir. Epigenetik modifikasyonların uzun vadeli etkileri ve güvenlik profilleri henüz tam anlamıyla anlaşılamamış olmakla birlikte, bu alandaki öncü çalışmalar, gelecekte hem hastalık tedavisinde hem de yaşlanma karşıtı terapilerde DNA metilasyonunun stratejik bir hedef olarak kullanılacağını göstermektedir (Takahashi ve Yamanaka, 2016).

5.2. Biyolojik Yaş Tahmini ve Sağlık Takibi

DNA metilasyonunun biyolojik yaşı tahmininde kullanımı, son on yılda epigenetik saat modelleri aracılığıyla büyük ilerleme kaydetmiştir. Bu modeller, belirli CpG adalarındaki metilasyon seviyelerini ölçerek kronolojik yaştan bağımsız bir yaş tahmini yapabilmekte ve yaşlanma sürecinin hızını değerlendirebilmektedir (Horvath ve Raj, 2018). Biyolojik yaşı bu şekilde belirlenmesi, bireyin genel sağlık durumu, yaşam tarzı faktörleri ve hastalık risklerine dair önemli bilgiler sunar.

Özellikle yaşa bağlı kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, Alzheimer hastalığı gibi kronik hastalıkların gelişim riski ile epigenetik yaşlanma hızı arasında güçlü korelasyonlar saptanmıştır. Ayrıca epigenetik yaş hızının yavaşlatılması ya da hızlandırılması, yaşam süresi ve kalitesinde belirleyici rol oynayabilir (Levine ve ark, 2020). Bu bağlamda, epigenetik yaş tahmini, klinik uygulamalarda hem sağlık takibinde hem de önleyici tıp stratejilerinde entegre bir biyobelirteç olarak kullanılmaya başlamıştır.

Günümüzde, epigenetik yaşı modifiye edilmesi amacıyla diyet, egzersiz ve farmakolojik müdahalelerin etkisi araştırılmaktadır. Bu alandaki gelişmeler, kişiye özel sağlık yönetimi ve hastalık öncesi müdahale imkânlarını genişletmekte ve yaşam kalitesinin artırılmasına katkı sağlamaktadır (Yamada ve ark., 2025). İlerleyen yıllarda, DNA metilasyonu temelli biyolojik yaş tahmininin rutin sağlık kontrollerine entegre edilmesi beklenmektedir.

SONUÇ

DNA metilasyonu, gen ifadesinin epigenetik düzenlenmesinde kritik bir mekanizma olarak, hem temel biyoloji hem de klinik uygulamalar açısından büyük öneme sahiptir. Klinik tanı ve tedavi süreçlerinde DNA metilasyonunun özgün desenleri, erken hastalık tespiti, prognoz belirleme ve tedavi yanıtının izlenmesi gibi alanlarda giderek yaygınlaşan biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır. Araştırma ortamında ise, metilasyon verileri hastalıkların moleküler patogenezinin daha derinlemesine anlaşılmasına ve yeni biyolojik hedeflerin keşfine olanak sağlamaktadır. Bu bağlamda, DNA metilasyonunun analiz yöntemlerindeki gelişmeler, hastalık süreçlerinin çok boyutlu ve dinamik doğasının çözümlemesine katkı sunmaktadır.

Biyoteknolojik uygulamalar alanında ise DNA metilasyonunu hedefleyen yaklaşımlar hızlı bir evrim içindedir. Likit biyopsilerde metilasyon

bazlı biyobelirteçlerin kullanılması, non-invaziv, duyarlı ve özgül tanı imkânları sunarken, epigenetik ilaçlar klinik tedavide etkinliğini giderek artırmaktadır. Ayrıca, CRISPR/dCas9 gibi ileri moleküler araçlar aracılığıyla hedefe özgü epigenetik düzenleme sistemlerinin geliştirilmesi, rejeneratif tıp ve kişiselleştirilmiş tedavilerde yeni ufuklar açmaktadır. Yapay zeka destekli analiz yöntemleri ise, büyük veri içindeki metilasyon örüntülerinin keşfedilmesini kolaylaştırmakta ve klinik karar destek sistemlerine entegre edilmektedir.

Gelecekte, DNA metilasyonu temelli biyoteknolojilerin sağlık alanındaki rolünün daha da genişleyeceği öngörülmektedir. Özellikle biyolojik yaş tahmini, kronik hastalıkların erken teşhisi, tedavi takibi ve rejeneratif tıp uygulamalarında epigenetik yaklaşımların önemi artacaktır. Bununla birlikte, teknolojik ilerlemelerin etik, sosyal ve güvenlik boyutlarının da eş zamanlı olarak ele alınması gerekmektedir. Veri gizliliği, bireysel haklar ve adalet ilkeleri çerçevesinde kapsamlı regülasyonların oluşturulması, bu alanda sürdürülebilir ve güvenli uygulamalar için zorunludur.

Sonuç olarak, DNA metilasyonunu hedefleyen biyoteknolojik uygulamalar, günümüz tıbbının ve biyolojik araştırmaların merkezinde yer almakta; hem hastalıkların moleküler düzeyde anlaşılmasını derinleştirmekte hem de klinik uygulamalarda kişiye özel çözümler sunmaktadır. Multidisipliner iş birlikleri, teknolojik yenilikler ve etik rehberlerin uyumu ile bu alandaki ilerlemelerin toplum sağlığına katkısı giderek artacaktır.

KAYNAKLAR

- A. Ratovitski, E. (2017). Anticancer natural compounds as epigenetic modulators of gene expression. *Current Genomics*, 18(2), 175-205.
- Arif, K. T., Elliott, E. K., Haupt, L. M., & Griffiths, L. R. (2020). Regulatory mechanisms of epigenetic miRNA relationships in human cancer and potential as therapeutic targets. *Cancers*, 12(10), 2922.34.
- Arneson, A., Haghani, A., Thompson, M. J., Pellegrini, M., Kwon, S. B., Vu, H., ... & Horvath, S. (2022). A mammalian methylation array for profiling methylation levels at conserved sequences. *Nature communications*, 13(1), 783.
- Bell, C. G. (2024). Epigenomic insights into common human disease pathology. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 81(1), 178.
- Berdasco, M., & Esteller, M. (2011). DNA methylation in stem cell renewal and multipotency. *Stem cell research & therapy*, 2(5), 42.
- Bhokisham, N., Laudermilch, E., Traeger, L. L., Bonilla, T. D., Ruiz-Estevez, M., & Becker, J. R. (2023). CRISPR-Cas system: the current and emerging translational landscape. *Cells*, 12(8), 1103
- Bilici, E., & Ayvazoğlu, P. (2024). Opinion of Academicians Regarding the Use of the CRISPR-Cas System in Türkiye. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 8(4): 1086-1098.
- Billam, M., Sobolewski, M. D., & Davidson, N. E. (2010). Effects of a novel DNA methyltransferase inhibitor zebularine on human breast cancer cells. *Breast cancer research and treatment*, 120(3), 581-592.
- Cheng, J. C., Matsen, C. B., Gonzales, F. A., Ye, W., Greer, S., Marquez, V. E., ... & Selker, E. U. (2003). Inhibition of DNA methylation and reactivation of silenced genes by zebularine. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(5), 399-409.
- Choudhury, S. R., Cui, Y., Lubecka, K., Stefanska, B., & Irudayaraj, J. (2016). CRISPR-dCas9 mediated TET1 targeting for selective DNA demethylation at BRCA1 promoter. *Oncotarget*, 7(29), 46545.
- Christman, J. K. (2002). 5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy. *Oncogene*, 21(35), 5483-5495.
- Da Costa, E. M., McInnes, G., Beaudry, A., & Raynal, N. J. M. (2017). DNA

- methylation-targeted drugs. *The cancer journal*, 23(5), 270-276.
- Ebrahimi, S., Khosravi, M. A., Raz, A., Karimipoor, M., & Parvizi, P. (2023). CRISPR-Cas technology as a revolutionary genome editing tool: mechanisms and biomedical applications. *Iranian biomedical journal*, 27(5), 219.
- Erdmann, R. M., & Picard, C. L. (2020). RNA-directed DNA methylation. *PLoS genetics*, 16(10), e10090
- Gagnidze, K., & Pfaff, D. W. (2022). Epigenetic mechanisms: DNA methylation and histone protein modification. In *Neuroscience in the 21st century: from basic to clinical* (pp. 2677-2716). Cham: Springer International Publishing.
- Gomes, K. M. S., Costa, I. C., Santos, J. F. D., Dourado, P. M. M., Forni, M. F., & Ferreira, J. C. B. (2017). Induced pluripotent stem cells reprogramming: Epigenetics and applications in the regenerative medicine. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 63(2), 180-189.
- Graça, I., J. Sousa, E., Baptista, T., Almeida, M., Ramalho-Carvalho, J., Palmeira, C., ... & Jerónimo, C. (2014). Anti-tumoral effect of the non-nucleoside DNMT inhibitor RG108 in human prostate cancer cells. *Current pharmaceutical design*, 20(11), 1803-1811.
- Heitzer, E., Haque, I. S., Roberts, C. E., & Speicher, M. R. (2019). Current and future perspectives of liquid biopsies in genomics-driven oncology. *Nature Reviews Genetics*, 20(2), 71-88.
- Horvath, S., & Raj, K. (2018). DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nature reviews genetics*, 19(6), 371-384.
- Hu, S., Tao, J., Peng, M., Ye, Z., Chen, Z., Chen, H., ... & Ni, B. (2023). Accurate detection of early-stage lung cancer using a panel of circulating cell-free DNA methylation biomarkers. *Biomarker Research*, 11(1), 45.
- Hu, Y., Shen, F., Yang, X., Han, T., Long, Z., Wen, J., ... & Guo, Q. (2023). Single-cell sequencing technology applied to epigenetics for the study of tumor heterogeneity. *Clinical Epigenetics*, 15(1), 161.
- Hysolli, E., Tanaka, Y., Su, J., Kim, K. Y., Zhong, T., Janknecht, R., ... & Park, I. H. (2016). Regulation of the DNA methylation landscape in human somatic cell reprogramming by the miR-29 family. *Stem cell reports*, 7(1), 43-54.

- Illingworth, R. S., & Bird, A. P. (2009). CpG islands—‘a rough guide’. *FEBS letters*, 583(11), 1713-1720.
- Jeltsch, A., & Jurkowska, R. Z. (2016). Allosteric control of mammalian DNA methyltransferases—a new regulatory paradigm. *Nucleic acids research*, 44(18), 8556-8575.
- Jeltsch, A., Broche, J., & Bashtrykov, P. (2019). Molecular processes connecting DNA methylation patterns with DNA methyltransferases and histone modifications in mammalian genomes. *Genes*, 10(5), 388.
- Jeltsch, A., Broche, J., Lungu, C., & Bashtrykov, P. (2020). Biotechnological applications of MBD domain proteins for DNA methylation analysis. *Journal of Molecular Biology*, 432(6), 1816-1823.
- Jones, P. A., & Takai, D. (2001). The role of DNA methylation in mammalian epigenetics. *Science*, 293(5532), 1068-1070.
- Kumari, P., Khan, S., Wani, I. A., Gupta, R., Verma, S., Alam, P., & Alaklabi, A. (2022). Unravelling the role of epigenetic modifications in development and reproduction of angiosperms: a critical appraisal. *Frontiers in genetics*, 13, 819941.
- Laranjeira, A. B., Hollingshead, M. G., Nguyen, D., Kinders, R. J., Doroshow, J. H., & Yang, S. X. (2023). DNA damage, demethylation and anticancer activity of DNA methyltransferase (DNMT) inhibitors. *Scientific Reports*, 13(1), 5964.
- Levine, M. E., Lu, A. T., Quach, A., Chen, B. H., Assimes, T. L., Bandinelli, S., ... & Horvath, S. (2018). An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging (albany NY)*, 10(4), 573.
- Li, L., Chen, R., Zhang, H., Li, J., Huang, H., Weng, J., ... & Xie, J. (2024). The epigenetic modification of DNA methylation in neurological diseases. *Frontiers in Immunology*, 15, 1401962.
- Linhares, Y., Kaganski, A., Agyare, C., Kurnaz, I. A., Neergheen, V., Kolodziejczyk, B., ... & Bueso, Y. F. (2023). Biodiversity: The overlooked source of human health. *Trends in molecular medicine*, 29(3), 173-187.
- Liu, M. C., Oxnard, G. R., Klein, E. A., Swanton, C. S. M. C. C., Seiden, M. V., Liu, M. C., ... & Youngren, J. (2020). Sensitive and specific multi-cancer detection and localization using methylation signatures in cell-free DNA. *Annals of Oncology*, 31(6), 745-759.

- Lopez, M., Gilbert, J., Contreras, J., Halby, L., & Arimondo, P. B. (2022). Inhibitors of DNA methylation. *DNA Methyltransferases-Role and Function*, 471-513.
- Luo, H., Zhao, Q., Wei, W., Zheng, L., Yi, S., Li, G., ... & Xu, R. H. (2020). Circulating tumor DNA methylation profiles enable early diagnosis, prognosis prediction, and screening for colorectal cancer. *Science translational medicine*, 12(524), eaax7533.
- Lyko, F. (2018). The DNA methyltransferase family: a versatile toolkit for epigenetic regulation. *Nature Reviews Genetics*, 19(2), 81-92.
- Mattei, A. L., Bailly, N., & Meissner, A. (2022). DNA methylation: a historical perspective. *Trends in Genetics*, 38(7), 676-707.
- Moradi, V., Khodabandehloo, E., Alidadi, M., Omidkhoda, A., & Ahmadbeigi, N. (2024). Progress and pitfalls of gene editing technology in CAR-T cell therapy: a state-of-the-art review. *Frontiers in Oncology*, 14, 1388475.
- Nejati-Koshki, K., Roberts, C. T., Babaei, G., & Rastegar, M. (2023). The epigenetic reader methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2) is an emerging oncogene in cancer biology. *Cancers*, 15(10), 2683.
- Ou, Y., Zhang, Q., Tang, Y., Lu, Z., Lu, X., Zhou, X., & Liu, C. (2018). DNA methylation enzyme inhibitor RG108 suppresses the radioresistance of esophageal cancer. *Oncology Reports*, 39(3), 993-1002.
- Patil, V., Ward, R. L., & Hesson, L. B. (2014). The evidence for functional non-CpG methylation in mammalian cells. *Epigenetics*, 9(6), 823-828.
- Pinney, S. E. (2014). Mammalian non-CpG methylation: stem cells and beyond. *Biology*, 3(4), 739-751.
- Rabaan, A. A., AlSaihati, H., Bukhamsin, R., Bakhrebah, M. A., Nassar, M. S., Alsaleh, A. A., ... & Mohapatra, R. K. (2023). Application of CRISPR/Cas9 technology in cancer treatment: a future direction. *Current oncology*, 30(2), 1954-1976.
- Rajanathadurai, J., Perumal, E., & Sindya, J. (2024). Advances in targeting cancer epigenetics using CRISPR-dCas9 technology: a comprehensive review and future prospects. *Functional & Integrative Genomics*, 24(5), 164.
- Sar, P., & Dalai, S. (2021). CRISPR/Cas9 in epigenetics studies of health and disease. *Progress in molecular biology and translational science*, 181,

309-343.

- Schübeler, D. (2015). Function and information content of DNA methylation. *Nature*, 517(7534), 321-326.
- Seven, D. (2024). Güncel Epigenetik Tedaviler. *Farabi Tıp Dergisi*, 3(3), 112-119.
- Shen, S. Y., Singhanian, R., Fehring, G., Chakravarthy, A., Roehrl, M. H., Chadwick, D., ... & De Carvalho, D. D. (2018). Sensitive tumour detection and classification using plasma cell-free DNA methylomes. *Nature*, 563(7732), 579-583.
- Smith, Z. D., & Meissner, A. (2013). DNA methylation: roles in mammalian development. *Nature Reviews Genetics*, 14(3), 204-220.
- Song, Y., Wu, F., & Wu, J. (2016). Targeting histone methylation for cancer therapy: enzymes, inhibitors, biological activity and perspectives. *Journal of hematology & oncology*, 9(1), 49.
- Stefansson, O. A., Sigurpalsdottir, B. D., Rognvaldsson, S., Halldorsson, G. H., Juliusson, K., Sveinbjornsson, G., ... & Stefansson, K. (2024). The correlation between CpG methylation and gene expression is driven by sequence variants. *Nature genetics*, 56(8), 1624-1631.
- Sun, M., Xu, B., Chen, C., Zhu, Y., Li, X., & Chen, K. (2024). Tissue of origin prediction for cancer of unknown primary using a targeted methylation sequencing panel. *Clinical Epigenetics*, 16(1), 25.
- Şahin, Ö., Ayaz, U., & Özdemir, S. M. (2019). Epigenetik ve kanser. *Madde, Diyalektik ve Toplum*, 2(1), 94-103.
- Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2016). A decade of transcription factor-mediated reprogramming to pluripotency. *Nature reviews Molecular cell biology*, 17(3), 183-193.
- Tan, W., Zhou, W., Yu, H. G., Luo, H. S., & Shen, L. (2013). The DNA methyltransferase inhibitor zebularine induces mitochondria-mediated apoptosis in gastric cancer cells in vitro and in vivo. *Biochemical and biophysical research communications*, 430(1), 250-255.
- Wang, M., Ngo, V., & Wang, W. (2021). Deciphering the genetic code of DNA methylation. *Briefings in bioinformatics*, 22(5), bbaa424.
- Yamada, H. (2025). Epigenetic Clocks and EpiScore for Preventive Medicine: Risk Stratification and Intervention Models for Age-Related Diseases. *Journal of Clinical Medicine*, 14(10), 3604.

- Yan, Y., Liu, H., Abedini, A., Sheng, X., Palmer, M., Li, H., & Susztak, K. (2024). Unraveling the epigenetic code: human kidney DNA methylation and chromatin dynamics in renal disease development. *Nature Communications*, 15(1), 873.
- Yao, L., Wang, X., Ke, R., Chen, K., & Xie, K. (2023). FLASH Genome Editing Pipeline: An Efficient and High-Throughput Method to Construct Arrayed CRISPR Library for Plant Functional Genomics. *Current Protocols*, 3(9), e905.
- Yao, Q., Chen, Y., & Zhou, X. (2019). The roles of microRNAs in epigenetic regulation. *Current opinion in chemical biology*, 51, 11-17.
- Yap, T. A., Gerlinger, M., Futreal, P. A., Pusztai, L., & Swanton, C. (2012). Intratumor heterogeneity: seeing the wood for the trees. *Science translational medicine*, 4(127), 127ps10-127ps10.
- Yu, J., Xie, T., Wang, Z., Wang, X., Zeng, S., Kang, Y., & Hou, T. (2019). DNA methyltransferases: emerging targets for the discovery of inhibitors as potent anticancer drugs. *Drug Discovery Today*, 24(12), 2323-2331.
- Zahoor, A., Khazer, R., Mehraj, I., Gani, U., Fayaz, F., Khanday, F. A., & Bhat, S. S. (2025). Aberrant DNA methylation as a key modulator of cell death pathways: insights into cancer progression and other diseases. *Functional & Integrative Genomics*, 25(1), 1-22.
- Zahraei, M., Azimi, Y., Karimipour, M., Rahimi-Jamnani, F., Valizadeh, V., & Azizi, M. (2025). CRISPR/dCas9-TET1-Mediated Epigenetic Editing Reactivates miR-200c in Breast Cancer Cells.
- Zhou, L. Y., Deng, M. Q., Zhang, Q., & Xiao, X. H. (2020). Early-life nutrition and metabolic disorders in later life: a new perspective on energy metabolism. *Chinese medical journal*, 133(16), 1961-1970.
- Zygulska, A. L., & Pierzchalski, P. (2022). Novel diagnostic biomarkers in colorectal cancer. *International journal of molecular sciences*, 23(2), 852.

BÖLÜM 3

HÜCREDE ENERJİ DEPOLAYAN BASİT YAPILARDAN ONKOJENİK SÜPERSTARLIĞA: LİPİT DROPLETLERİN TÜMÖR BİYOLOJİSİNDEKİ YÜKSELİŞİ

Doç. Dr. Eda AÇIKGÖZ^{3*}

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936658>

³Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

*Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Van, Türkiye. Mail: edaacikgoz@yyu.edu.tr, acikgozedaa@gmail.com, Orcid ID: 0000-0002-6772-3081

GİRİŞ

Onkoloji alanındaki ilerlemeler, sitotoksik ajanlar, immünoterapiler ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesiyle belirginleşmiş; bu yaklaşımlar, kanserin yönetiminde kayda değer ilerlemelere katkı sağlamıştır (Wei ve ark., 2025). Günümüzde, çoğu tümörün ilerlemesi ve semptomları, çeşitli farmakolojik müdahaleler aracılığıyla etkili bir şekilde kontrol altına alınabilmektedir. Tüm kaydedilen gelişmelere rağmen, kansere bağlı mortalite oranlarında beklenen düzeyde bir azalma sağlanamamıştır (Siegel ve ark., 2025). Bütünsel bir yaklaşımla değerlendirildiğinde, kanser tedavisindeki başarısızlıkların çok yönlü ve oldukça karmaşık nedenlere bağlı olduğunu görülmektedir. Antikanser tedavi stratejileri, kanser hücrelerinin doğuştan gelen ya da sonradan kazanılan direnç kapasitesi nedeniyle sürekli olarak evrilmektedir. Bu direnç kapasitesi; genetik, epigenetik, proteomik, metabolik ya da tümör mikroçevresine ait sinyaller tarafından düzenlenmekte ve nihayetinde seçilimden geçen kanser hücrelerinin olumsuz koşullar altında hayatta kalmasına ve ilerlemesine olanak tanımaktadır (Khan ve ark., 2024). Kanser hücrelerinin intrinsik (doğuştan gelen) ve ekstrinsik (edinilmiş) faktörleri arasındaki karmaşık etkileşim, çeşitli tedavilere karşı gelişen direnç mekanizmalarına önemli ölçüde katkı sağlamaktadır (Khan ve ark., 2024). İntrinsik faktörler; önceden var olan genetik mutasyonlar, tümör heterojenitesi ve farklı onkojenik yolların aktivasyonu aracılığıyla ilaç hedeflerinde değişikliklere yol açmakta, tedavilere duyarsızlık geliştirmekte, DNA onarım mekanizmalarını güçlendirmekte ve hücreSEL hayatta kalma yollarını aktive ederek kanser hücrelerinin sitotoksik etkilere karşı korunmasını mümkün kılmaktadır (Dzobo ve ark., 2018). Öte yandan, ekstrinsik faktörler ise ağırlıklı olarak, çeşitli antikanser tedavilerin sitotoksik etkilerinden kaçınma sürecinde aktif rol oynayan ekstraselüler matriks (ECM), tümör ile ilişkili stromal hücreler, immün hücreleri, büyüme faktörleri, ekstraselüler veziküller (EV) gibi bileşenleri içeren tümör mikroçevresi (TME) bileşenlerini kapsamaktadır (Labrie ve ark., 2022).

Kanser metastazı ve tedavi direnci, tedavi başarısızlığının ve kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenleridir (Shi ve ark., 2024). Metastatik evrede, kanser türlerinin büyük bir kısmında beş yıllık sağkalım oranı hâlâ %20'nin altında seyretmekte; pek çok malignitede mortalite oranı %5'in oldukça üzerinde seyretmektedir (Mani ve ark., 2024; Wei ve ark., 2025). Son yıllarda

artan kanıtlar, malign hücrelerin tedaviden kaçış yollarından birinin enerji metabolizmalarını yeniden programlamak olduğunu ortaya konmuştur (Delmas ve ark., 2023; Katopodi ve ark., 2024; Safi ve ark., 2024). Malign hücreler, artan enerji ve besin ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla normal sağlıklı hücrelerden farklı şekilde metabolizmalarını yeniden programlar (Hindes ve ark., 2025). Bu olgu ilk kez 1927 yılında Warburg ve arkadaşları tarafından tanımlanmış; kanser hücrelerinin, oksijen varlığında bile yüksek düzeyde glukoz tüketerek yüksek miktarda laktat üretmeye devam ettikleri gösterilmiştir (Warburg ve Negelein, 1927). Günümüzde Warburg etkisi ya da aerobik glikoliz olarak bilinen bu fenomen, glukozun pirüvata ve ardından laktata dönüştürülmesini içermekte; ilgili dönüşüm, hücrelerin mitokondriyal solunum zinciri tam işlevsel olsa bile gerçekleşmektedir. Metabolik yollar arasında yeniden programlanmış aerobik glikoliz, glutamin katabolizması, redoks homeostazi ve çok sayıda biyosentetik süreç yer almaktadır (Hammond ve ark., 2024). Metabolik yeniden programlama, yalnızca enerji üretimini değil; aynı zamanda biyosentez, redoks denge, bağışıklık yanıtı, metastatik potansiyel gibi kanserin diğer belirleyici özelliklerini de desteklemektedir. Bu bağlamda kanser metabolizmasının tüm yönleri ile anlaşılması, hastalığın altında yatan patofizyolojik özelliklere dair önemli yaklaşımlar ve yeni terapötik hedeflerin belirlenmesine katkılar sağlar. Kanser metabolizmasına ilişkin güncel araştırmalar, tümör dokusundaki metabolik anormalliklerin daha önce düşünüldüğünden çok daha karmaşık olduğunu göstermiştir. Özellikle, kanser oluşumu ve progresyonunun farklı evrelerinde lipid metabolizmasındaki değişiklikler dikkat çekicidir. Lipid metabolizması, kanser hücrelerinde hücre proliferasyonunu, invazyonu ve stres sinyallerine karşı direnci destekleyerek tümör progresyonuna katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Gonçalves ve ark., 2021; Martin-Perez ve ark., 2021).

Lipidler, membran yapımı, sinyal iletimi ve hücresel enerji sağlanmasında hayati rol oynayan karmaşık bir biyomolekül sınıfıdır. Lipidler, hücresel enerji dengesi ve biyokimyasal sinyalizasyonun merkezinde yer almasının yanı sıra, spesifik organeller olan lipid dropletler (LD) aracılığıyla depolanır ve gerektiğinde hızla mobilize edilir. LD'ler, klasik depo fonksiyonlarının ötesinde, dinamik metabolik platformlar olarak işlev görmektedir olup, özellikle kanser hücrelerinde metabolik esnekliği artırarak tümör progresyonuna katkı sağlarlar (Delmas ve ark., 2023; Quan ve ark. 2025;

Safı ve ark., 2024). Kanser hücrelerinde LD birikimi, hücresel stres koşullarına karşı adaptasyon, enerji rezervlerinin düzenlenmesi, oksidatif hasarın azaltılması ve tedaviye karşı direnç mekanizmalarının etkinleştirilmesinde kritik bir rol üstlenmektedir. Bu organeller, hücre içi lipid homeostazını sürdürmenin yanı sıra, lipid sinyal yollarını ve TME’de immün hücre fonksiyonlarını modüle ederek, malignitenin gelişimi ve metastaz sürecine doğrudan katkıda bulunmaktadır (Delmas ve ark., 2023). Ayrıca, LD’ler ve hücre dışı veziküller (EV) gibi veziküler yapılar – özellikle mikroveziküller (MV) ve eksozomlar – hem tümör progresyonunda hem de antikanser ilaçlara karşı gelişen kemorezistansla önemli roller oynamaktadır. Dolayısıyla, LD’lerin kanser biyolojisindeki çok yönlü etkileri, onları hem biyobelirteç hem de hedefe yönelik terapötik stratejiler için cazip moleküler adaylar haline getirmektedir.

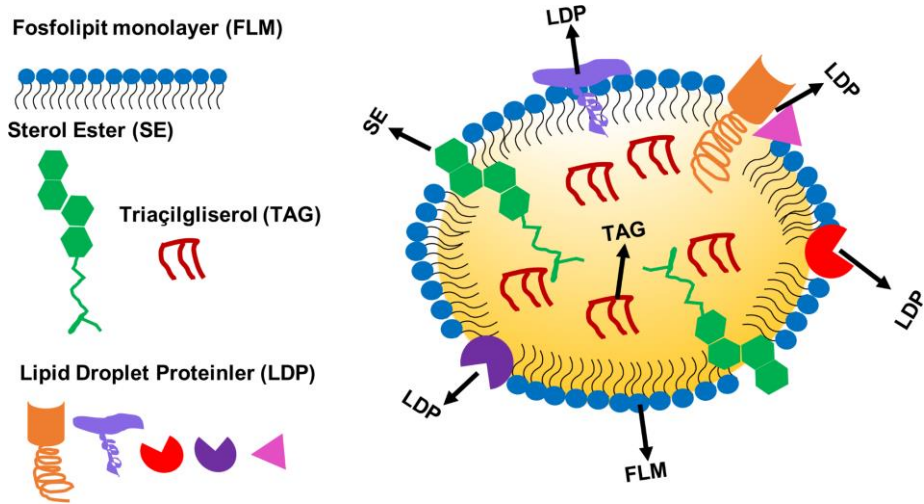
Bu bölümde, lipidlerin temel hücresel yapılarından başlayarak, lipid droplet’lerin biyogenezi, dinamik fonksiyonları ve kanser biyolojisindeki çok boyutlu etkileri kapsamlı şekilde ele alınacaktır. Ayrıca, LD’lerin tümör progresyonu, bağışıklık düzenlemesi ve terapötik müdahaleler açısından potansiyel hedefler olarak değerlendirilmesi, güncel literatür ışığında tartışılacaktır.

1. LİPİD DROPLETLERİN MOLEKÜLER YAPISI, BİYOGENEZİ VE EKSPANSİYONU

1.1. Lipid Dropletlerin Yapısı ve İçeriği

Lipid droplet’ler (LD), nötral lipidlerin depolandığı, fosfolipitlerden oluşan tek katmanlı bir membranla çevrelenmiş, evrimsel olarak korunmuş hücresel organeller olup çeşitli önemli işlevlere sahip yapılardır (Farese ve Walther, 2009). Adipositler ve steroid üreten hücrelerde yoğun bulunma özelliğinde olan LD’ler hemen hemen tüm hücrede yer alır. Mikroskopi ile incelendiğinde, LD’ler yuvarlak yapılar olarak gözlemlenir. Adiposit olmayan (Non-adiposit) hücrelerde çapları genellikle 0.1–5 µm arasında değişirken, beyaz adipositlerde 100 µm’nin üzerine çıkabilir (Fujimoto ve Parton, 2011). LD’lerde depolanan başlıca iki nötral lipid sınıfı; sırasıyla gliserole ve sterole esterleşmiş yağ asidi zincirlerinden oluşan trigliseritler (triacilgliserol, TAG) ve sterol esterlerdir (SE). Hidrofobik TAG ve SE molekülleri, LD’lerin nötral lipid çekirdeğini oluşturur ve bu çekirdek, fosfolipidlerden oluşan bir lipid tek

katman ile çevrilidir (Renne ve ark., 2020) (Şekil 1). Bu monokatman, çok sayıda LD'ye özgü proteinle kaplıdır. Bu nedenle, tüm diğer membranla çevrili organellerin aksine, LD'ler kendine özgü bir tek katmanlı membrana sahiptir (Fujimoto ve Parton, 2011; Tauchi-Satove ark., 2002). TAG molekülü, diaçilgliserol (DAG) öncüllerinden, diaçilgliserol açıltransferaz enzimlerinin iki izoformu olan DGAT1 ve DGAT2 aracılığıyla sentezlenir (Şekil 1). LD'ler çevreleyen tek katmandaki başlıca fosfolipit, fosfatidilkolin (PC) olup; bunu sırasıyla fosfatidiletanolamin (PE) ve fosfatidilinozitol (PI) izler. LD'ler ayrıca lizofosfatidilkolin (LPC) ve lizofosfatidiletanolamin (LPE) bakımından da zengindir. Öte yandan, fosfatidilserin (PS) ve sfingolipitler LD'lerde ya hiç bulunmaz ya da yalnızca çok sınırlı miktarlarda yer alır. Ayrıca esterleşmemiş steroller ve DAG'lar da LD yapısında bulunabilir (Delmas ve ark., 2023).



Şekil 1. Lipid Droplet (LD) genel yapısı. LD'ler, çekirdek kısmında başlıca triaçilgliserol (TAG) ve sterol esterler (SE) gibi nötral lipidleri içeren, tek katlı bir fosfolipit monolayer (tek katman) (FLM) ile çevrili dinamik organellerdir. Bu tek katman, klasik çift katlı membranlardan farklı olarak sadece bir kat fosfolipit içerir ve bu yapı, LD'nin sitoplazmik ortamla etkileşimini sağlar. FLM'nin yüzeyinde çeşitli LD proteinleri (LPD) yer alır.

LD'ler, oluşumları ve genişlemelerinde görev alan ya da bu süreçlerde doğrudan rolü olmayan çok sayıda proteini de bünyelerinde barındırırlar. Bu proteinler arasında; yapısal proteinler (perilipin ailesi üyeleri), lipid sentez

enzimleri (asetil-CoA karboksilaz, DGAT2), lipazlar ve hücre içi taşıma proteinleri (Rab5, Rab18) yer alır. LD membran üzerinde, LD'lere özgü işlevsel proteinler yer alır ve bu proteinler genel olarak LD ile ilişkili proteinler olarak adlandırılır (Hammoudeh ve ark., 2023). Ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde yapılan LD proteomik analizleri, LD'lerde RNA-bağlayıcı proteinler, ribozomal alt birimler ve/veya transkripsiyon faktörlerinin bulunduğunu ortaya koymuştur (Zhang ve Liu, 2017).

LD'lerin metabolik işlevleri, büyük ölçüde onların bağlı proteinleri tarafından gerçekleştirilir ve düzenlenir; bu proteinler, her LD tipinin fonksiyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterir (Mejhert ve ark., 2022; Tauchi-Sato ve ark., 2002). Bu durum, morfolojik olarak benzer görünmelerine rağmen, nötral lipid içerikleri ve ilişkili protein kompozisyonları bakımından farklılık gösteren birkaç ayrı LD sınıfının tek bir hücrede bulunabileceği anlamına gelmektedir. Proteinlerin LD'lere özgü olarak bağlanması, hem endoplazmik retikulum (ER) çift tabakasının hem de tomurcuklanan LD monokatman membranının biyofiziksel özellikleri ve protein bileşimi tarafından yönlendirilir; her iki yapı da seçici bariyer görevi görerek ER'den seçilmiş proteinlerin LD membranlarına aktarımını kontrol eder (Mejhert ve ark., 2022; Thiam ve ark., 2013). LD davranışına yönelik hesaplamalı çalışmalar, moleküler dinamik simülasyonlar da dahil olmak üzere, yakın zamanda kapsamlı şekilde derlenmiştir (Kim ve ark., 2022). Bu bağlamda, Kim ve ekibi tarafından yapılan bu çalışmalarda, LD yüzeyinde bulunan proteinlerin lipid metabolizmasını regüle ettiğini ortaya konmuştur (Kim ve ark., 2022). İlgili çalışmada, LD yüzey proteinleri, hücrenin metabolik durumuna bağlı olarak LD'lerin boyutu, sayısı ve nötral lipid kompozisyonu gibi çeşitli özelliklerini modüle ettiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, viral saldırılar gibi süreçlerle ilişkili proteinlerin de LD'lerle bağlantılı olduğu bulunmuş, böylece LD biyolojisinin lipid metabolizmasının ötesinde bir öneme sahip olduğu ortaya konmuştur (Kim ve ark., 2022). LD proteinleri, kökenlerine göre iki sınıfa ayrılır. ER çift tabakasından LD'lere yönelen proteinler sınıf I proteinler olarak adlandırılır ve bu proteinlerin bir veya daha fazla hidrofobik hairpin motifine sahip olduğu düşünülmektedir. ER'den LD'ye ulaşan sınıf I proteinleri ERTOLD proteinleri olarak da bilinmektedir. Sitoplazmadan LD'ye yönelen proteinler ise sınıf II proteinler (CYTOLD) olarak adlandırılır ve LD'nin tek

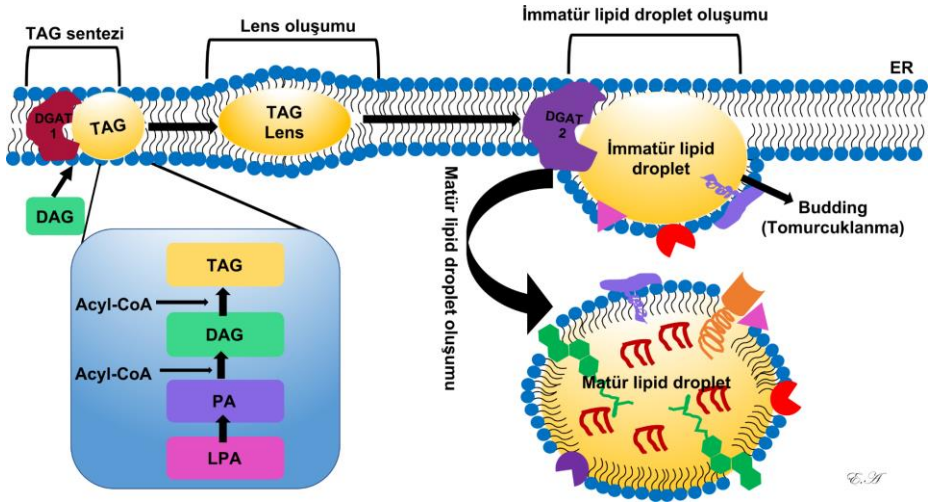
katman yapısına bağlanmak için amfipatik helikslerden faydalandıkları görülmektedir (Wölk ve Fedorova, 2024).

1.2. Lipid Droplet Biyogenezi

LD biyogenezi, hücrelerin ER belirli alt bölgelerinden yeni LD'ler oluşturduğu karmaşık ve yüksek derecede düzenlenmiş bir süreçtir. Bu süreç, nötral lipidlerin çift katmanlı bir membrandan yönlendirilmiş şekilde tomurcuklanarak tek katmanlı membranla çevrili yeni LD'ler oluşturmasını gerektiren yapısal kısıtlamalar dahilinde lipid sentez enzimleri ve montaj proteinlerinin katılımını içerir (Hammoudeh ve ark., 2023). LD'lerin içeriğinde bulunan nötral lipidler ER düzeyinde sentezlenir. SE'ler ve TAG'lar membrana bağlı O-açıltransferazlar (membrane-bound-O-acyltransferases, MBOAT) ailesine ait enzimlerin ardışık etkileriyle üretilir. Bu enzimler arasında ACAT (acyl-CoA:cholesterol acyltransferase) ve DGAT (diacylglycerol acyltransferase) izoenzimleri başlıca rol oynar (Delmas ve ark., 2023; Zadoorian ve ark., 2023). LD biyogeneziye ilişkin mevcut literatürler incelendiğinde, çeşitli deneysel çalışmalara bağlı olarak; mekanizmasıyla ilgili farklı modellerin önerildiği görülmektedir. Ancak, henüz tam anlamıyla kesinleşmiş bir modelin olmadığı anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, ökaryotik hücrelerde LD yerleşimlerine bağlı olarak sitoplazmik, nüklear ve lümen lipid dropletleri şeklinde üç ana kategoriye ayrılmaktadır. Buna bağlı olarak da, her bir türün biyogenezi, özgün mekanizmalar ve düzenleyici proteinlerle yönetilmektedir (Zadoorian ve ark., 2023).

LD'lerin biyogenezi hâlâ tam olarak anlaşılamamıştır; günümüze kadar üç farklı mekanistik model önerilmiştir. Yaygın kabul gören “budding (tomurcuklanma) modeli”ne göre, sitoplazmik LD'ler, ER'un iki zar tabakası arasındaki TAG ve SE birikimlerinden oluşan, nötral lipid “merceği”nin (lens) sitoplazmik yapıya doğru tomurcuklanmasıyla meydana gelir (Sánchez-Álvarez, ve ark., 2022; Thiam ve Ikonen, 2021) (Şekil 2). Buna alternatif olarak iki model daha geliştirilmiştir; bu modeller, büyük ölçüde bağımsız ultrastrüktürel çalışmalara uyum sağlamak amacı taşımaktadır (Sánchez-Álvarez ve ark., 2022). İkincisi ise; Robenek ve çalışma arkadaşları tarafından elektron mikroskopisi analizlerine dayanarak önerilen “Egg-cup” modelidir (Robenek ve ark., 2006). Bu modele göre, LD'ler ER zarının yaprakçıkları arasında değil, ER zarının dış yüzeyine yakın ve ona bitişik olarak, tıpkı bir

yumurta kasesinin (ER) içindeki yumurta (LD) gibi konumlandığını öne sürmektedir. ER zarının sitoplazmik yaprağında kümelenen adipofilin proteinleri, lipidlerin ER’den yeni oluşan LD yüzeyine transferini sağlar (Robenek ve ark., 2006; Shang ve ark., 2020). “Enfolding” (katlanma) modeli, ER zarının döngüler halinde LD’lerine ardışık olarak katıldığını varsayar. Bu model, monositlerde gözlemlenen ER benzeri zarların ve ilişkili ribozomal partiküllerin LD’ler içinde bulunmasını açıklar (Sánchez-Álvarez ve ark., 2022; Wan ve ark., 2007). Bu farklı modeller, LD biyogenezinin birbirini tamamlayan farklı aşamalarını temsil eden uyumlu süreçler olarak değerlendirilebilir.



Şekil 2. Lipid droplet (LD) biyogenezi. Lipid droplet oluşumu, endoplazmik retikulum (ER) membranında başlar. Bu süreçte, sitoplazmik yüzeyde biriken yağ asitleri (Acyl-CoA), gliserol-3-fosfat yoluyla sırasıyla lizofosfatidik asit (LPA), diaçilgliserol (DAG) ve nihayetinde triaçilgliserol (TAG)’e dönüştürülür. TAG sentezi DGAT1 ve DGAT2 enzimleri aracılığıyla gerçekleştirilir. ER membranının çift katlı yapısı içinde biriken TAG molekülleri, TAG lens adı verilen küçük nötral lipid birikintileri oluşturur. Bu lens yapısı zamanla genişleyerek immature lipid droplet (olgunlaşmamış LD) olarak budding (tomurcuklanma) yoluyla ER membranından sitozole doğru dışa çıkıntı yapar. Bu yapı, protein ve lipid etkileşimleriyle stabilize olarak sitozolde bağımsız hale gelir ve mature lipid droplet (olgun LD) halini alır. Olgun LD’ler, fosfolipid tek katman ile çevrili olup, nötral lipid çekirdeğinde TAG ve sterol esterleri depolar. Bu süreç, hücresel lipid dengesi, enerji depolama ve metabolik stres yanıtları açısından kritik öneme sahiptir.

1.3. Sitoplazmik Lipid Dropletleri (sLD)

Genellikle tüm lipid dropletlerini tanımlamak için kullanılan bir terim olsa da, sitoplazmik lipid dropletleri giderek daha fazla tanınan ve çeşitli işlevlere sahip organellerin en iyi karakterize edilmiş formudur. Biyogenezlerine dair birçok model öne sürülmüştür, ancak deneysel verilerle en çok desteklenen model, nötral lipidlerin ER üzerinde sentezlenmesi, nükleasyonu ve ardından sitoplazmaya doğru tomurcuklanarak büyümesi sürecini içermektedir (Zadoorian ve ark., 2023).

1.4. Nuklear Lipid Dropletleri (nLD)

Hücre nükleusu ökaryotik hücre evriminde replikasyon, transkripsiyon, pre-mRNA işlenmesi ve ribozom montajı gibi yaşamsal süreçlerin fiziksel olarak ayrılmasını sağlayan kritik bölge olarak bilinmektedir. Nükleusun fonksiyonel bütünlüğü yalnızca proteinler ve nükleik asitlerle değil, aynı zamanda nüklear lipidler aracılığıyla da sağlanır. Nüklear lipidler, her ne kadar toplam nükleus içeriğinin yalnızca yaklaşık %16'sını oluştursa da, hücre proliferasyonu, farklılaşma ve apoptoz gibi temel biyolojik süreçlerde aktif rol oynarlar (Layerenza ve ark., 2013). Başlangıçta nükleustaki sitoplazmik lipid dropletlerinin yanlışlıkla oraya hapsolmuş halleri olarak düşünülen *nüklear lipid dropletleri*, günümüzde kendilerine özgü özelliklere sahip gerçek organeller olarak ortaya çıkmaktadır (McPhee ve ark., 2022). nLD'ler ilk olarak normal ve transform olmuş hepatositlerde tanımlanmıştır (Layerenza ve ark., 2013).

cLD'lere yapısal olarak benzerlik gösteren nLD'lerin, oluşum mekanizmaları açısından farklılık gösterir ve bu mekanizmalar henüz tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Bugüne kadar, nLD biyogenezinde yer alan iki ana mekanizma tanımlanmıştır ve bu mekanizmalar hücre tipine ve fizyolojik duruma göre değişkenlik gösterebilmektedir (Zadoorian ve ark., 2023). İlk mekanizma, iç nüklear zar üzerinde *de novo* lipid sentezi ve tomurcuklanma sürecini içerir. Bu yolda, triaçilgliserol ve sterol esterleri gibi nötral lipidler doğrudan iç nüklear zar üzerinde sentezlenir (McPhee ve ark., 2022). Sołtysik ve çalışma arkadaşlarının U2SO hücreleri ile yaptıkları bir çalışmada, ACSL3, AGPAT2, GPAT3/GPAT4 ve DGAT1/DGAT2 enzimlerinin iç nüklear zarda lokalize olduğu ve nLD biyogenezinde aktif roller üstlendiği rapor edilmiştir (Sołtysik ve ark., 2021). Bununla birlikte, seipin gibi düzenleyici proteinlerin,

bu süreci hücrel bağlama bağı olarak teşvik edici veya sınırlayıcı rolleri olabileceği vurgulanmıştır (Jin ve ark., 2020). İkinci mekanizma ise, lüminal lipid dropletlerinin (ILD) tip I nükleoplazmik retikulum (NR) aracılığıyla yutulmasını içerir (Zadoorian ve ark., 2023). Hepatositlerde, nLD biyogenezisi, lüminal lipid damlacıklarının yutulması yoluyla gerçekleşebilir. Burada, ER stresi sırasında hem lipitlenmiş apolipoprotein B-100 (ApoB) hem de ApoB içermeyen lüminal lipid damlacıkları içeren VLDL'leri salgılamak yerine, ApoB içermeyen lüminal lipid damlacıkları, tip I nükleoplazmik retikulum yoluyla nukleusa girmeden önce ER lümeninde birikir. Bu süreç, hem iskelet proteini ApoB'nin parçalanmasına hem de lipid taşıyan şaperon olan mikrozomal triaçilgliserol transfer proteininin (MTP) korunmasına bağlıdır (Sołtysik ve ark., 2019; Zadoorian ve ark., 2023).

1.5. Lüminal Lipid Dropletler (ILD)

Lüminal lipid dropletler (ILD), ökaryotik lipid droplet ailesinin en az karakterize edilmiş üyeleridir; buna karşın sitoplazmik lipid dropletlerle benzer kökenlere sahip oldukları bilinmekte ve nüklear lipid droplet biyogenezinde öncül yapılar olarak görev yapmaktadırlar (Zadoorian ve ark., 2023). Topolojik ve ultra-yapısal olarak lipoproteine benzemeleri nedeniyle, ILD biyogenezi çoğu zaman çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) biyogeneziyle karıştırılmaktadır (Tiwari ve Siddiqi, 2012).

VLDL biyogenezinde, triaçilgliseroller, kısmen lipidlenmiş ApoB içermeyen öncüllere, mikrozomal triaçilgliserol transfer protein (MTP) aracılığıyla iki aşamalı bir süreçle transfer edilir (Zadoorian ve ark., 2023). VLDL parçacıklarından farklı olarak, lüminal lipid dropletler düşük düzeyde triaçilgliserol içerir ve ApoB, PLIN2 ve albumin bulundurmaz; bunun yerine ApoE, triaçilgliserol hidrolaz, karboksilesteraz 1 ve MTP gibi proteinleri içerir (H. Wang ve ark., 2007). Lüminal lipid droplet biyogenezi hakkında moleküler düzeyde bilgiler halen sınırlıdır. Ancak MTP'nin, sitoplazmik lipid dropletlerden lüminal lipid dropletlere ve lüminal lipid dropletler ile yeni oluşmakta olan VLDL parçacıkları arasında triaçilgliserol transferini kolaylaştırmada önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (H. Wang ve ark., 2007). cLD'lere eşdeğer lüminal yapılar olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, cLD'lerle ilişkili olduğu bilinen LRO1, FIT2 ve Seipin'in ER lümeni içinde aktif bölgelerinin bulunduğu gösterilmiştir

(Choudhary ve ark., 2011; Hayes ve ark., 2017; Jin ve ark., 2020; Kim ve ark., 2022).

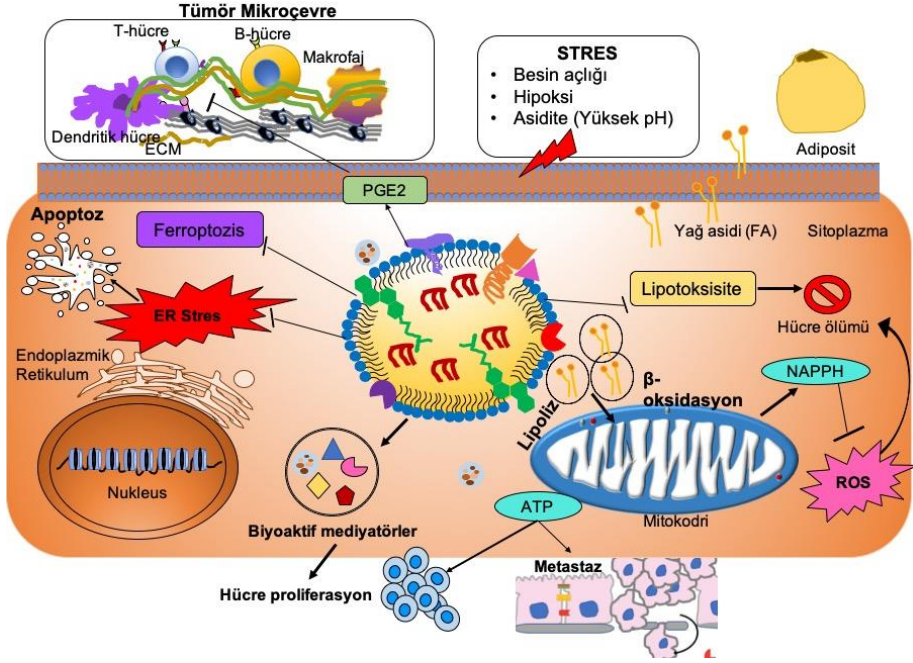
1.6. Lipid Dropletlerin Ekspansiyonu

LD'ler, yalnızca nötral lipidlerin depolandığı statik yapılar değil; aynı zamanda dinamik, hücrel enerji dengesine duyarlı, adaptif organellerdir. Bu bağlamda, LD biyogenezinin ardından bu organeller, büyüyebilir ve dinamik olarak yeniden şekillenebilir (Wilfling ve ark., 2014). Hücrelerin metabolik ihtiyaçlarına, dışsal streslere ve proliferatif sinyallere yanıt olarak LD'ler hem sayı hem de hacim olarak değişebilir (Hussain ve ark., 2021; Kostecka ve ark., 2024). LD ekspansiyonu (genişlemesi, büyümesi), esas olarak nötral lipidlerin —özellikle triaçilgliseroller ve kolesteril esterlerin— sürekli sentezi ve mevcut LD'lerin içine entegre edilmesiyle sağlanır. Bu süreç, ER ile LD'ler arasındaki yapısal ve fonksiyonel bağlantılarla yakından ilişkilidir (Hussain ve ark., 2021; Klemm ve Carvalho, 2024).

Bu yapısal büyüme sürecinde bazı proteinler, özellikle hidrofobik saç tokası (hairpin) yapısına sahip olanlar, ER ile LD'ler arasında çift lokalizasyon göstererek önemli görevler üstlenir. Perilipin ve seipin protein ailesi bu grupta yer alır (Delmas ve ark., 2023). Perilipin (PLIN) ailesi proteinleri şunları içerir: perilipin 1 (PLIN1), ADRP (Adipofilin, PLIN2), TIP47 (PLIN3), S3-12 (PLIN4) ve OXPAT (PPAR tarafından indüklenen LD proteini (PAT) veya PLIN5) (Delmas ve ark., 2023). Son yıllarda kanser metabolizması üzerinde yapılan çalışmalarda, PLIN'lerin kanser progresyonundaki rollerini ortaya çıkarmıştır (Luo ve ark., 2022). LD büyümesi yalnızca nötral lipid senteziyle sınırlı değildir; aynı zamanda küçük LD'lerin birbirleriyle füzyonuyla da gerçekleşebilir. Bu füzyon sürecinde, hücrel vezikül taşıyımında görev alan SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) proteinleri kritik rol oynayabilir. SNAP23, syntaxin-5 ve VAMP4 gibi SNARE proteinlerinin LD yüzeyinde lokalize olduğu ve LD-LD füzyonuna aracılık edebileceği öne sürülmüştür (Boström ve ark., 2007; Fu ve ark., 2023). Ancak bu mekanizmalar hâlen tam olarak aydınlatılamamış olup, LD füzyonunun hangi koşullarda aktive olduğu ve hangi SNARE kombinasyonlarının bu süreci yönettiği aktif araştırma konularındandır.

2. LİPİD DROPLETLER VE KANSER

LD'ler, uzun yıllar boyunca yalnızca hücresel enerji ve lipid depoları olarak değerlendirilmiş olsalar da, son dönemde kanser biyolojisi bağlamında önemli fonksiyonel roller üstlendikleri ortaya konmuştur. Kanser hücrelerinin hızla çoğalma ve metabolik adaptasyon kabiliyeti, LD'lerin biyogenezini, büyümesini ve mobilizasyonunu aktif olarak düzenlemelerini gerektirir (Cruz ve ark., 2020). Sağlıklı (normal) hücreler ve dokularla karşılaştırıldığında, LD içeriğinin kanser hücrelerinde ve kanserli dokularda belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir. Bu artış, tümör hücrelerinin artan enerji ve yapı taşı ihtiyacına yanıt olarak lipid metabolizmasının yeniden programlanmasıyla ilişkili olabilmektedir. Lipid metabolizmasının yeniden düzenlenmesine bağlı olarak artan LD birikimi, kanser hücrelerinde birçok fonksiyon ile ilişkilendirilmiştir (Şekil 3). Kanser hücrelerinde LD birikimi, hücreyi oksidatif strese, apoptoza, ER stresine ve lipotoksisiteye karşı koruyarak hayatta kalmayı kolaylaştırır. Ayrıca, LD'ler biyolojik olarak aktif moleküller (diaçilgliserol, seramidler, prostaglandinler, lökotrienler) ve yağ asitleri salarak proliferasyon, invazyon ve metastazı destekler. Prostaglandin E2 (PGE2) salgısı, bağışıklık baskılayıcı tümör mikroçevresini güçlendirirken, LD'lerin lipoliz ve lipofaji yoluyla parçalanması, kanser hücrelerinin enerji ve yapı taşları ihtiyacını karşılar. Tüm bu özellikler LD'leri, kanserin tanı, prognoz ve tedavi süreçlerinde dikkate alınması gereken kritik yapılar hâline getirmektedir. Artan çalışmalarda, kolorektal kanser, meme ve prostat kanseri, hepatoselüler karsinom, renal hücreli karsinom ve glioblastoma gibi çeşitli malignitelerde LD birikiminin arttığı rapor edilmiştir. (Li, ve ark., 2020).



Şekil 3. Lipid dropletlerinin (LD) kanser hücrelerindeki temel işlevleri. LD'ler, açlık, hipoksi ve asidik pH gibi stres koşullarında apoptoz, ferroptoz ve ER stresini baskılayarak hücre ölümünü engeller. Lipoliz yoluyla serbestlenen yağ asitleri, mitokondride β -oksidasyonla enerji üretimini destekler. LD'ler, PGE2 gibi biyoaktif mediyatörleri salgılayarak immünsüpresif tümör mikroçevresinin oluşumuna katkı sağlar.

Kanser hücrelerinin en belirgin özelliklerinden biri, glukoz ve lipid metabolizmasının yeniden programlanmasıdır. Özellikle glikolizin ve lipogenezin yukarı yönde düzenlenmesi, agresif tümör hücrelerinde ve onların mikroçevresinde LD birikimiyle birlikte gerçekleşmektedir. Bu birikim, yalnızca kanser hücreleriyle sınırlı kalmayıp, aynı zamanda tümör mikroçevresini oluşturan stromal hücreler, bağışıklık hücreleri ve fibroblastlar gibi çeşitli hücre tiplerinde de gözlemlenmektedir (Schwartzburd, 2022).

2.1. Kanser Lipit Metabolizmasında Lipid Dropletlerin İzleri ve Merkezi Rolü

Kanser hücrelerinin metabolizması, biyokütle üretimi ve proliferasyona yöneliktir. Tümör oluşumu sürecinde, kanser hücreleri hızlı proliferasyon ve olumsuz mikroçevre koşullarında hayatta kalma zorluklarını aşmak için çeşitli metabolik değişiklikler edinirler (Pavlova ve ark., 2022). Yerel dokudaki

metabolik kaynaklar sınırlı olduğundan, bu durum besin maddelerinin tükenmesine ve metabolik atıkların birikimine yol açabilir. Bu koşullarda büyümeyi sürdürebilmek için kanser hücreleri, köken aldıkları hücre fizyolojisi, dönüşüm lezyonlarının kimliği ve bulundukları doku tarafından belirlenen çeşitli metabolik adaptasyonlar uygularlar. Ayrıca, bazı seçilmiş metabolitler yalnızca enerji ve biyokütle üretimi için substrat görevi görmekle kalmaz, aynı zamanda gen ve protein ekspresyonunu düzenleyebilir ve tümör çevresindeki dönüşmemiş hücrelerin davranışını etkileyebilir (Pavlova ve ark., 2022). Kanser metabolizmasındaki bu değişiklikler, onkogenlerin aktivasyonu, tümör süpresör genlerin kaybı ve hücresel sinyalizasyonun bozulması ile yönlendirilir (Pavlova ve ark., 2022; Zhang ve Liu, 2017).

Yakın zamanda kanser hücrelerinde lipid metabolizmasına ilişkin bulgular, yeni yağ asidi sentezi (neo-lipogenez), yağ asidi (FA) oksidasyonu (FA oksidasyonu) ile fosfolipit ve nötral lipit metabolizmasındaki değişiklikler de dahil olmak üzere, lipit metabolizmasının yeniden programlanmasının tümör oluşumunun çeşitli yönleri açısından kritik olduğunu göstermektedir (Quan ve ark., 2025; Zhang ve Liu, 2017). Pillai ve arkadaşları, hücrelerin ekstrasellüler asidoza yanıt olarak, amino asitlerin otofajik yıkımıyla oluşan lipit damlacıklarını biriktirdiğini ve bu adaptif mekanizmanın, meme kanseri hücrelerinde asit duyarlı tarafından G-proteinine bağlı reseptör (GPCR) OGR1'in tetiklendiğini göstermiştir (Pillai ve ark., 2022). Özellikle asidik tümör mikroçevresinde, LD birikiminin hücreleri oksidatif stres ve hücre ölümü gibi zararlı etkilere koruyarak hayatta kalmayı kolaylaştırmaktadır. Cortini ve ekibinin (2025) osteosarkoma hücrelerinde yaptıkları bir çalışmada, asit kaynaklı stresin LD oluşumu üzerindeki etkisi ve bu lipid yapılarının reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı koruyucu rolü ve tümör mikroçevresinde stromal hücrelerin veya ekzojen laktatın OS yağ asidi biyosentezini kanser hücrelerindeki sağkalım mekanizması üzerindeki etkileri incelenmiştir (Cortini ve ark., 2025) Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, tümör stromal hücreleri ve dışarıdan sağlanan laktatın, yağ asidi biyosentezini destekleyerek LD birikimini artırdığı bu mekanizmanın kanser hücrelerinin adaptasyonunda önemli olduğunu gösterilmiştir (Cortini ve ark., 2025).

Evrimsel açıdan bakıldığında, organizmaların enerji depolamak amacıyla trigliseritleri kullanmaya başlaması, hücresel biyolojide önemli bir adaptasyonu temsil eder. LD'lerin gelişimi sayesinde hücreler, enerji

yetersizliğinden olumsuz etkilenmeden uzun süre hayatta kalabilmiş, kaynakların kısıtlı olduğu çevresel koşullarda yaşamlarını sürdürebilme yeteneklerini büyük ölçüde artırmıştır. Artan kanıtlar, LD'lerin değişik stress koşullarına karşı çeşitli kanser hücrelerinin hayatta kalma stratejilerine büyük katkılar sağladığını göstermiştir (Cheng ve ark., 2020; Kostecka ve ark., 2024; Qiu ve ark., 2015). Kostecka ve ekibinin (2024) meme ve prostat kanserinde yaptıkları bir çalışmada, hem prostat hem de meme kanseri hücrelerinde, kemoterapiye maruz kalmalarının ardından LD düzeylerinde belirgin bir artış gözlemlenmiş; bu yapılar, artan ROS düzeyleriyle eşzamanlı olarak oluşmuştur (Kostecka ve ark., 2024). LD'lerin, oksidatif stres kaynaklı hasarlı lipidleri izole ederek hücre içi lipotoksisteyi sınırladığı ve böylece hücrelerin tedaviye direnç geliştirmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, LD biyogenezinde kilit rol oynayan DGAT1 enziminin farmakolojik olarak inhibisyonun, kemoterapi ile birlikte uygulandığında LD oluşumunu baskıladığı ve kanser hücresi ölüm oranlarını anlamlı düzeyde artırdığı tespit edilmiştir (Kostecka ve ark., 2024).

Yetişkin insanlarda *de novo* yağ asidi biyosentezi başlıca karaciğer, adipöz doku ve emziren meme gibi belirli dokularla sınırlıdır (Menendez ve Lupu, 2007). Çoğu normal hücre, yeni yapısal lipidlerin sentezi için öncelikli olarak ekstrasellüler lipidleri kullanırken, kanser hücreleri lipid bakımından fakir mikroçevrelerde dahi, ekstrasellüler lipid seviyelerinden bağımsız olarak, lipid gereksinimlerini karşılamak veya proliferasyonlarını sürdürebilmek amacıyla *de novo* yağ asidi sentezini aktive ederler (Röhrig ve Schulze, 2016). Bu süreç, sadece temel yapısal bileşenlerin sağlanmasını değil, aynı zamanda sinyal ileticisi moleküllerin üretimi için gerekli substratların teminini de sağlar. Böylece, kanser hücreleri metabolik esneklik kazanarak zorlayıcı çevresel koşullarda dahi büyüme ve çoğalmalarını devam ettirebilirler. Puente-Cobacho ve ark (2025) tarafından yapılan bir çalışmada, dormant (uyku) halindeki kanser hücrelerinin *de novo* lipogenez yolunu aktive ederek monounsaturated yağ asitlerini (MUFA) hücresel membranlarına tercihli şekilde dahil ettiklerini gösterilmiştir (Puente-Cobacho ve ark., 2025). Bu süreç, asetil-koenzim A sentetaz uzun zincir ailesi üyesi 3 (ACSL3) enziminin aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. İlgili çalışmada aynı zamanda, farmakolojik olarak *de novo* lipogenez inhibe edildiğinde veya ACSL3 geninin susturulması durumunda, dormant meme kanser hücrelerinde lipid peroksidasyonu arttığı ve ferroptozis

yoluyla apoptoz dışı hücre ölümünün tetiklendiği ortaya çıkarılmıştır (Puente-Cobacho ve ark., 2025).

2.2. Kanser hücrelerinde hücresel stres ve lipid temelli korunma mekanizmaları

Kanser hücreleri, hayatta kalma ve çoğalma yeteneklerini zorlayan hipoksi, besin eksikliği ve oksidatif stres gibi çeşitli stres koşullarıyla sıklıkla karşı karşıya kalırlar. Bu zorlu koşullara karşı LD'ler, bir tampon mekanizması görevi görerek hücrelere hayatta kalmada büyük avantajı sağlar (Munir ve ark., 2019). Kanser hücreleri, hem onkogen kaynaklı besin fazlalığı ve hızlı metabolizma sırasında, hem de damarlaşması yetersiz tümör bölgelerinde ortaya çıkan besin ve/veya oksijen yetersizliği koşullarında oksidatif strese maruz kalır. Uzun süreli ROS maruziyeti, oksidatif stres kaynaklı hücre ölümüne yol açabilirken, kanser hücreleri aynı anda antioksidan yanıtları artırarak redoks homeostazını korumaya çalışırlar. Hipoksik kanser hücreleri, *de novo* yağ asidi sentezinin baskılanmasını telafi etmek amacıyla yağ asidi alımını artırabilmektedir (Kamphorst ve ark., 2013). Bununla birlikte, hipoksi yağ asidi oksidasyonunu baskılar ve lipid dropletlerinin oluşumunu tetikleyerek, bu yapıların yeniden oksijenlenme sırasında kullanılmak üzere geçici enerji depoları olarak işlev görmesine yol açabilir (Kamphorst ve ark., 2013).

Anti-stres işlevlerine ilişkin çalışmalar *Cell* ve diğer önde gelen dergilerde yayımlanmıştır. Bu çalışmalar, LD'lerin hücresel stres alanında önemli bir araştırma değeri taşıdığını ortaya koymuştur (Jarc ve Petan, 2019; Welte, 2015). Besin açlığına maruz bırakılan çeşitli hücre tiplerinde artmış LD birikimi gözlemlenmiştir (Cabodevilla ve ark., 2013; Jarc ve Petan, 2019; Rambold ve ark., 2015). Aç bırakılan hücrelerde lipid damlacığı biyogenezi, ototrofiden türeyen lipidlerin tamponlanması, mitokondrilerin lipotoksik hasardan korunması ve gelecekte kullanılmak üzere lipidlerin depolanması açısından hayati öneme sahiptir (Jarc ve Petan, 2019). LD'ler ayrıca stres sırasında lipidlerin dağılımını ve tüketimini hassas bir şekilde düzenleyerek enerji ve redoks homeostazının sürdürülmesini sağlar. Açlıkla indüklenen LD dağılımı, bu damlacıkların kaynaşmış mitokondri ağıyla olan yaygın temasları ve ATGL aracılı lipoliz, lipid dropletlerinden mitokondrilere yağ asidi transferi için muhtemelen en uygun mekanizmayı oluşturmaktadır (Rambold ve ark.,

2015). Aç bırakılan hücrelerde yağ asidi mobilizasyonu, taşınımı ve mitokondriyal β -oksidasyon süreçlerinin nasıl koordine edildiğinin incelendiği bir çalışmada, pulse-chase işaretleme yöntemi kullanılarak yapılan gözlemler, mitokondrilere yağ asidi sağlanmasında LD'lerin temel rol oynadığını göstermiştir (Rambold ve ark., 2015). Yağ asitlerinin mitokondrilere etkin transferi için LD'lerin mitokondrilere yakın konumda olması ve mitokondrilerin yüksek oranda tübüle/kaynaşmış yapıda bulunması gerekmektedir. Çalışmada, mitokondriyal kaynaşmadaki bozukluklar, yağ asitlerinin hücre içindeki yönlendirilmesini olumsuz etkileyerek, metabolize edilmeyen yağ asitlerinin LD'lerde birikmesine ve aşırı şekilde hücre dışına atılmasına yol açtığı gösterilmiştir (Rambold ve ark., 2015). Başka bir çalışmada, kolorektal kanser hücrelerinin asidik tümör mikroçevresine adaptasyonu sırasında mitokondriyal işlevin, ototrofik akış ve LD oluşumu ile desteklendiğini ortaya konulmuştur (Liu ve ark., 2025). Çalışmada, asidik ortama adapte olan hücreler, parental hücrelere kıyasla oksidatif fosforilasyona daha bağımlı hale geldiği ve asetil-CoA üretiminde glukoz yerine yağ asitleri ile glutamini kullandığı bulunmuştur. Bununla birlikte, LD'lerin, otofajiyle elde edilen yağ asitlerini tamponlayarak mitokondriyi lipotoksisiteye karşı kordduğu ortaya konmuştur (Liu ve ark., 2025).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, otofaji ile LD arasındaki etkileşimin, hücrel stres yanıtlarında ve özellikle kanser hücrelerinin metabolik adaptasyonunda kritik bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Jarocki ve ark., 2024). Otofaji, hücrenin hem besin eksikliği hem de aşırı besin yükü gibi stres koşullarına yanıt olarak aktive ettiği evrimsel olarak korunmuş bir mekanizmadır. Bu süreç, hasarlı ya da işlevsiz hücrel bileşenleri lizozomal yıkıma yönlendirerek hücrel homeostazı sürdürür ve enerji ihtiyacını karşılar. Lipid dropletleri ise, özellikle açlık gibi metabolik stres durumlarında, otofajiyle salınan yağ asitlerinin tamponlanmasında ve mitokondriyi lipotoksik zararlardan korumada görev alır. Otofaji, bazı durumlarda LD biyogenezini teşvik ederken, diğer koşullarda lipofaji aracılığıyla LD yıkımında rol alır (Jarocki ve ark., 2024). Kanser hücreleri, özellikle tümör mikroçevresinde görülen asidoz ve besin kıtlığı gibi zorlu koşullarda, otofaji ve LD metabolizması arasındaki bu çift yönlü etkileşimi kullanarak mitokondriyal fonksiyonlarını sürdürebilir, oksidatif fosforilasyonu destekleyebilir ve apoptoza karşı direnç geliştirebilir (Rambold ve ark., 2015; Singh ve ark.,

2009). Bu bağlamda, otofaji-LD aksı, kanser hücrelerinin stres koşullarına adaptasyonunda merkezi bir rol oynar ve metabolik esneklik kazandırarak tümör progresyonuna katkı sağlayabilir. Jusović ve ekibini yaptığı bir çalışmada, kanser hücrelerinin açlık durumuna verdiği yanıtta otofaji ile lipid dropletleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, amino asit yoksunluğu koşullarında otofajinin tetiklendiği ve DGAT aracılı nötral lipid sentezi yoluyla LD birikimine yol açtığı rapor edilmiştir (Jusović ve ark., 2023). Dolayısıyla, otofaji-LD eksenin hedeflenmesi, yeni nesil kanser tedavi stratejileri için potansiyel bir yaklaşım sunmaktadır.

Hipoksik bir mikroçevreye sahip olmak, çoğu solid tümörün yaygın ve belirgin bir özelliğidir. Hipoksi, kanser hücrelerinin biyolojik davranışı ve malign fenotipi üzerinde derin bir etkiye sahiptir; kanser kemoterapisi, radyoterapi ve immünoterapinin etkilerini karmaşık mekanizmalar aracılığıyla modüle eder ve çeşitli kanser hastalarında kötü prognoz ile yakından ilişkilidir (Chen ve ark., 2023). Tümör dokusunun hızlı proliferasyonu ve hacimsel artışı, genellikle yetersiz ve düzensiz vaskülarizasyonla birlikte gerçekleşir; bu durum intratümoral hipoksiye yol açar. Hipoksi, pek çok insan tümöründe gözlenen yaygın bir tümör mikroçevre özelliği olup, artmış hücresel proliferasyon oranlarına bağlı olarak oksijen tüketiminin artması ve fonksiyonel damar ağının etkin şekilde gelişememesi sonucu ortaya çıkar (Munir ve ark., 2019). Hipoksik koşullar altında kanser hücrelerinin yağ sentezi üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmış; ancak elde edilen veriler değişkenlik göstermekte, yağ asit sentetazın (FASN) ekspresyonunun arttığı, azaldığı ya da değişmediği bildirilmiştir (Munir ve ark., 2019). Hipoksi kaynaklı TG ve LD birikimi, TG sentezinin sondan bir önceki basamağında fosfatidik asidin diasilgliserole dönüştürülmesini katalize eden bir enzim olan LIPIN1'in artan ekspresyonu ile birlikte gerçekleşir. Bununla birlikte, hipoksi PLIN2 ekspresyonunu artırarak lipidlerin lipid dropletlerinde depolanmasını indükler (Bensaad ve ark., 2014). Prostat kanser hücreleri ile yapılan bir çalışmada, hipoksi koşullar altında lipogenezin aktivasyonu ile trigliserid birikimi arttığı ve oluşan bu durumun reoksijenasyon sonrasında hücre proliferasyonu ve invazivitesini desteklediği ortaya çıkarılmıştır (Schlaepfer ve ark., 2015). Chauhan ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada, prostat kanserinde hipoksik koşulların, lipid metabolizmasını değiştirerek ferroptozis indükleyicilere karşı direnci artırdığı ve bu süreçte LD birikimi ve peroksidasyona daha dirençli lipidlerin üretiminin

gerçekleştiği bildirilmiştir (Chauhan ve ark., 2025). Elde edilen sonuçlar, LD dinamiklerinin hedeflenmesinin hipoksi kaynaklı ferroptozis direncini aşmak ve tedavi etkinliğini artırmak için umut vadeden bir strateji olduğuna işaret etmektedir.

2.3. Kanser tedavisinde lipid droplet hedefli güncel yaklaşımlar

Kanser, anormal hücre proliferasyonu sonucu ortaya çıkan kompleks bir hastalıktır ve tedavisinde halen cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yaklaşımlar, özellikle tedavi özgüllüğü ve direnç gelişimi gibi temel sorunları tamamen çözememektedir. Bu nedenle, kanser hücrelerinin biyolojik özelliklerini hedef alan yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar, kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalma ve hayatta kalma süreçlerini desteklemek amacıyla lipid metabolizmalarını yeniden programladıklarını ortaya koymuştur (Wang ve ark., 2021). Bu metabolik yeniden yapılandırmanın önemli bir sonucu da LD'lerin hücre içinde belirgin şekilde birikmesidir. LD'ler yalnızca enerji deposu olarak değil; aynı zamanda lipid homeostazının düzenlenmesi, organel etkileşimleri ve protein yıkımı gibi yaşamsal hücresel süreçlerde de rol oynayan dinamik organeller olarak kabul edilmektedir (Quan ve ark., 2025; Zhang ve Liu, 2017). Kolesterol esterleri ve trigliserit gibi nötral lipitler içeren bu yapıların, özellikle hipoksik mikroçevrede ferroptozis gibi ölüm mekanizmalarına karşı koruyucu işlev gördüğü ve tedavi direncini desteklediği gösterilmiştir (Lorito ve ark., 2024; Munir ve ark., 2019). Bu nedenle, LD'leri hedefleyen tedavi yaklaşımları, kanser biyolojisinde giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Yeni tedavi yaklaşımlarında, LD'lerin hedeflenmesi kanser hücrelerinde hücre ölüm yollarını indüklemektedir. Bu durum, LD'leri veya lipid sentez yollarında yer alan enzimlerin hedef alan küçük moleküllü antitümör ilaçların geliştirilmesini teşvik etmektedir (Jin ve ark., 2023).

Düzenlenmemiş lipid metabolizmasının bir göstergesi olarak LD'ler, kanser hücrelerinde potansiyel terapötik hedefler olarak değerlendirilmektedir. Bu bağlamda dikkat çeken yaklaşımlardan biri de fotodinamik tedavi (PDT) olup, bu yöntem ROS'ların sitotoksik etkisiyle patolojik hücrelerin yok edilmesine dayanır. PDT, ışıkla aktive edilen bir fotosensitizer aracılığıyla

lokalize bölgede ROS üretimini tetikleyerek hücresel tahribat oluşturur. LD'ler, lipofilik yapıları sayesinde fotosensitizer ajanların birikimini kolaylaştırabilir ve böylece PDT'nin etkinliğini artırmada stratejik bir hedef haline gelebilir (Antunes ve ark., 2022). Agregasyonla tetiklenen emisyon (AIE) temelli teranostik yaklaşımlar, biyogörüntüleme ve PDT gibi biyomedikal uygulamalardaki potansiyelleri nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Pham ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada, kanser hücrelerindeki LD'lere seçici olarak lokalize olan ve ışıkla uyarıldığında ROS üretebilen ftalimid-tabanlı bir dizi AIE gen rapor edilmiştir (Bich Hang Pham ve ark., 2024). AIE özelliği sayesinde elde edilen artırılmış fotostabilite, LPSP2'nin PDT koşulları altında ferroptotik hücre ölümünü tetiklemesi sırasında LD'lerin uzun süreli izlenmesini sağlayabildiği rapor edilmiştir (Bich Hang Pham ve ark., 2024). Yeni nesil PDT ajanlarına ilişkin stratejiler arasında, tekil oksijen verimi ve "intersystem crossing" etkinliği artırılmış BODIPY-tabanlı fotosensitizerlerin (BODISel gibi) tasarımı öne çıkmaktadır (Antunes ve ark., 2022) BODISel'in LD'leri hedefleme kapasitesi, çeşitli kanser hücre hatlarında değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ışık uygulamasını takiben BODISel, LD yapılarında hasar oluşturabildiği bildirilmiştir (Xia ve ark., 2021). AIE özelliğine sahip yakın kızılötesi (NIR) ışıkla uyarılabilen organik bileşikler, hem LD'lerin görüntülenmesinde hem de PDT uygulamalarında kullanılmaktadır. Bu bağlamda, Sun ve ekibi tarafından geliştirilen TPET-Is, TPET-Fu ve TPEF-Is gibi AIE-aktif moleküllerin kanser hücrelerinde LD'leri yüksek doğrulukla görüntüleyebildiği ve ışık altında ROS üreterek hücre ölümünü indükleyebildiği bulunmuştur (Sun ve ark., 2022). Bu moleküller, LD'leri hedef alan yenilikçi PDT ajanları olarak, kanserde yeni nesil tedavi stratejileri arasında öne çıkmaktadır.

SONUÇ

LD'ler, uzun yıllar boyunca yalnızca hücre içi enerji depolayan pasif yapılar olarak değerlendirilmiş olsa da, son on yılda yapılan çalışmalar bu algıyı kökten değiştirmiştir. Artık LD'lerin, hücresel stres yanıtları, protein ve lipid homeostazının düzenlenmesi, sinyal iletimi, metabolik yeniden programlama ve hücre ölümü mekanizmalarının kontrolü gibi çok sayıda temel biyolojik süreçte aktif roller üstlendiği açıkça ortaya konmuştur. Özellikle kanser biyolojisi bağlamında LD'lerin önemi giderek artmaktadır. Kanser hücrelerinin

artan enerji ve yapı taşı ihtiyacını karşılamak için lipid metabolizmalarını yeniden düzenlemeleri, LD birikimini tetiklemekte; bu birikim ise hücrelerin hipoksi, ferroptozis ve kemoterapi gibi stres koşullarına karşı direnç geliştirmelerine katkıda bulunmaktadır. LD'lerin, hücre invazyonu, metastaz ve ilaç direnciyle olan ilişkisi, onları yalnızca bir biyobelirteç değil, aynı zamanda terapötik müdahale için cazip bir hedef haline getirmektedir. Son yıllarda geliştirilen LD hedefli görüntüleme ajanları, nanoparçacık sistemleri ve fotodinamik tedavi yaklaşımları, LD'leri hem tanı hem de tedavi amacıyla kullanılabilecek yenilikçi araçlara dönüştürmüştür. Bu gelişmeler, LD'lerin kanser teranostiğinde merkezi bir rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Sonuç olarak, LD'ler artık yalnızca basit yağ damlacıkları değil; tümör hücresinin hayatta kalması, yayılması ve tedaviye direnç geliştirmesinde stratejik roller üstlenen kompleks organeller olarak karşımıza çıkmaktadır. LD biyolojisine yönelik derinlemesine anlayışın artmasıyla birlikte, bu yapıların gelecekte kanser tedavisinde çığır açacak hedefler arasında yer alması kaçınılmaz görünmektedir. Bu bağlamda, LD'lere odaklanan temel ve translasyonel araştırmalar, onkolojik klinik uygulamalarda yeni ufuklar açma potansiyeline sahiptir.

KAYNAKÇA

- Antunes, P., Cruz, A., Barbosa, J., Bonifácio, V. D. B., & Pinto, S. N. (2022). Lipid Droplets in Cancer: From Composition and Role to Imaging and Therapeutics. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(3). <https://doi.org/10.3390/molecules27030991>
- Bensaad, K., Favaro, E., Lewis, C. A., Peck, B., Lord, S., Collins, J. M., ... Harris, A. L. (2014). Fatty acid uptake and lipid storage induced by HIF-1 α contribute to cell growth and survival after hypoxia-reoxygenation. *Cell Reports*, 9(1), 349–365. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.056>
- Bich Hang Pham, L., Linh Chung, K., Yoo, S.-Y., Kim, S., Lim, B., Lee, J.-Y., & Lee, J. (2024). Sequential induction of ferroptosis and pyroptosis in cancer cells by lipid droplet-targeting AIE theranostics. *Chemical Engineering Journal*, 498, 155439. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.155439>
- Boström, P., Andersson, L., Rutberg, M., Perman, J., Lidberg, U., Johansson, B. R., ... Olofsson, S.-O. (2007). SNARE proteins mediate fusion between cytosolic lipid droplets and are implicated in insulin sensitivity. *Nature Cell Biology*, 9(11), 1286–1293. <https://doi.org/10.1038/ncb1648>
- Cabodevilla, A. G., Sánchez-Caballero, L., Nintou, E., Boiadjieva, V. G., Picatoste, F., Gubern, A., & Claro, E. (2013). Cell survival during complete nutrient deprivation depends on lipid droplet-fueled β -oxidation of fatty acids. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(39), 27777–27788. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.466656>
- Chauhan, S. S., Vizzerra, A. D., Liou, H., Flores, C. E., Snider, A. J., Snider, J. M., & Warfel, N. A. (2025). Hypoxia induced lipid droplet accumulation promotes resistance to ferroptosis in prostate cancer. *Oncotarget*, 16, 532–544. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.28750>
- Chen, Z., Han, F., Du, Y., Shi, H., & Zhou, W. (2023). Hypoxic microenvironment in cancer: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 70. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01332-8>
- Cheng, X., Geng, F., Pan, M., Wu, X., Zhong, Y., Wang, C., ... Guo, D. (2020). Targeting DGAT1 Ameliorates Glioblastoma by Increasing Fat

- Catabolism and Oxidative Stress. *Cell Metabolism*, 32(2), 229-242.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.002>
- Choudhary, V., Jacquier, N., & Schneider, R. (2011). The topology of the triacylglycerol synthesizing enzyme Lro1 indicates that neutral lipids can be produced within the luminal compartment of the endoplasmic reticulum: Implications for the biogenesis of lipid droplets. *Communicative & Integrative Biology*, 4(6), 781–784. <https://doi.org/10.4161/cib.17830>
- Cortini, M., Ilieva, E., Massari, S., Bettini, G., Avnet, S., & Baldini, N. (2025). Uncovering the protective role of lipid droplet accumulation against acid-induced oxidative stress and cell death in osteosarcoma. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1871(2), 167576. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2024.167576>
- Cruz, A. L. S., Barreto, E. de A., Fazolini, N. P. B., Viola, J. P. B., & Bozza, P. T. (2020). Lipid droplets: platforms with multiple functions in cancer hallmarks. *Cell Death & Disease*, 11(2), 105. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2297-3>
- Delmas, D., Cotte, A. K., Connat, J.-L., Hermetet, F., Bouyer, F., & Aires, V. (2023). Emergence of Lipid Droplets in the Mechanisms of Carcinogenesis and Therapeutic Responses. *Cancers*. <https://doi.org/10.3390/cancers15164100>
- Dzobo, K., Senthebane, D. A., Thomford, N. E., Rowe, A., Dandara, C., & Parker, M. I. (2018). Not Everyone Fits the Mold: Intratumor and Intertumor Heterogeneity and Innovative Cancer Drug Design and Development. *Omics : A Journal of Integrative Biology*, 22(1), 17–34. <https://doi.org/10.1089/omi.2017.0174>
- Farese, R. V. J., & Walther, T. C. (2009). Lipid droplets finally get a little R-E-S-P-E-C-T. *Cell*, 139(5), 855–860. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.005>
- Fu, Y., Ding, B., Liu, X., Zhao, S., Chen, F., Li, L., ... Zhong, Q. (2023). Qa-SNARE syntaxin 18 mediates lipid droplet fusion with SNAP23 and SEC22B. *Cell Discovery*, 9(1), 115. <https://doi.org/10.1038/s41421-023-00613-4>
- Fujimoto, T., & Parton, R. G. (2011). Not just fat: the structure and function of the lipid droplet. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(3).

- <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004838>
- Gonçalves, A. C., Richiardone, E., Jorge, J., Polónia, B., Xavier, C. P. R., Salaroglio, I. C., ... Sarmiento-Ribeiro, A. B. (2021). Impact of cancer metabolism on therapy resistance – Clinical implications. *Drug Resistance Updates*, 59, 100797. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.drug.2021.100797>
- Hammond, N. G., Cameron, R. B., & Faubert, B. (2024). Beyond glucose and Warburg: finding the sweet spot in cancer metabolism models. *Npj Metabolic Health and Disease*, 2(1), 11. <https://doi.org/10.1038/s44324-024-00017-2>
- Hammoudeh, N., Soukkarieh, C., Murphy, D. J., & Hanano, A. (2023). Mammalian lipid droplets: structural, pathological, immunological and anti-toxicological roles. *Progress in Lipid Research*, 91, 101233. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plipres.2023.101233>
- Hayes, M., Choudhary, V., Ojha, N., Shin, J. J., Han, G.-S., Carman, G. M., ... Levine, T. (2017). Fat storage-inducing transmembrane (FIT or FITM) proteins are related to lipid phosphatase/phosphotransferase enzymes. *Microbial Cell (Graz, Austria)*, 5(2), 88–103. <https://doi.org/10.15698/mic2018.02.614>
- Hindes, M. T., McElligott, A. M., Best, O. G., Ward, M. P., Selemidis, S., Miles, M. A., ... Brooks, D. A. (2025). Metabolic reprogramming, malignant transformation and metastasis: Lessons from chronic lymphocytic leukaemia and prostate cancer. *Cancer Letters*, 611, 217441. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.canlet.2025.217441>
- Hussain, S. S., Tran, T.-M., Ware, T. B., Luse, M. A., Prevost, C. T., Ferguson, A. N., ... Kashatus, D. F. (2021). RalA and PLD1 promote lipid droplet growth in response to nutrient withdrawal. *Cell Reports*, 36(4), 109451. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109451>
- Jarc, E., & Petan, T. (2019). Lipid Droplets and the Management of Cellular Stress. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 92(3), 435–452.
- Jarocki, M., Turek, K., Saczko, J., Tarek, M., & Kulbacka, J. (2024). Lipids associated with autophagy: mechanisms and therapeutic targets. *Cell Death Discovery*, 10(1), 460. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02224-8>
- Jin, Y., Tan, Y., Wu, J., & Ren, Z. (2023). Lipid droplets: a cellular organelle

- vital in cancer cells. *Cell Death Discovery*, 9(1), 254. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01493-z>
- Jin, Y., Tan, Y., Zhao, P., & Ren, Z. (2020). SEIPIN: A Key Factor for Nuclear Lipid Droplet Generation and Lipid Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21). <https://doi.org/10.3390/ijms21218208>
- Jusović, M., Starič, P., Jarc Jovičić, E., & Petan, T. (2023). The Combined Inhibition of Autophagy and Diacylglycerol Acyltransferase-Mediated Lipid Droplet Biogenesis Induces Cancer Cell Death during Acute Amino Acid Starvation. *Cancers*, 15(19). <https://doi.org/10.3390/cancers15194857>
- Kamphorst, J. J., Cross, J. R., Fan, J., de Stanchina, E., Mathew, R., White, E. P., ... Rabinowitz, J. D. (2013). Hypoxic and Ras-transformed cells support growth by scavenging unsaturated fatty acids from lysophospholipids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(22), 8882–8887. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307237110>
- Katopodi, T., Petanidis, S., Anastakis, D., Charalampidis, C., Chatziprodromidou, I., Floros, G., ... Kosmidis, C. (2024). Tumor cell metabolic reprogramming and hypoxic immunosuppression: driving carcinogenesis to metastatic colonization. *Frontiers in Immunology*, Volume 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1325360>
- Khan, S. U., Fatima, K., Aisha, S., & Malik, F. (2024). Unveiling the mechanisms and challenges of cancer drug resistance. *Cell Communication and Signaling*, 22(1), 109. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01302-1>
- Kim, S., Swanson, J. M. J., & Voth, G. A. (2022). Computational Studies of Lipid Droplets. *The Journal of Physical Chemistry. B*, 126(11), 2145–2154. <https://doi.org/10.1021/acs.jpccb.2c00292>
- Klemm, R. W., & Carvalho, P. (2024). Lipid Droplets Big and Small: Basic Mechanisms That Make Them All. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 40(1), 143–168. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-012624-031419>
- Kostecka, L. G., Mendez, S., Li, M., Khare, P., Zhang, C., Le, A., ... Pienta, K. J. (2024). Cancer cells employ lipid droplets to survive toxic stress. *The Prostate*, 84(7), 644–655. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/pros.24680>

- Labrie, M., Brugge, J. S., Mills, G. B., & Zervantonakis, I. K. (2022). Therapy resistance: opportunities created by adaptive responses to targeted therapies in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 22(6), 323–339. <https://doi.org/10.1038/s41568-022-00454-5>
- Layerenza, J. P., González, P., García de Bravo, M. M., Polo, M. P., Sisti, M. S., & Ves-Losada, A. (2013). Nuclear lipid droplets: A novel nuclear domain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1831(2), 327–340. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2012.10.005>
- Li, Z., Liu, H., & Luo, X. (2020). Lipid droplet and its implication in cancer progression. *American Journal of Cancer Research*, 10(12), 4112–4122.
- Liu, X., Sun, X., Mu, W., Li, Y., Bu, W., Yang, T., ... Shao, C. (2025). Autophagic flux-lipid droplet biogenesis cascade sustains mitochondrial fitness in colorectal cancer cells adapted to acidosis. *Cell Death Discovery*, 11(1), 21. <https://doi.org/10.1038/s41420-025-02301-6>
- Lorito, N., Subbiani, A., Smiriglia, A., Bacci, M., Bonechi, F., Tronci, L., ... Morandi, A. (2024). FADS1/2 control lipid metabolism and ferroptosis susceptibility in triple-negative breast cancer. *EMBO Molecular Medicine*, 16(7), 1533–1559. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s44321-024-00090-6>
- Luo, W., Wang, H., Ren, L., Lu, Z., Zheng, Q., Ding, L., ... Li, G. (2022). Adding fuel to the fire: The lipid droplet and its associated proteins in cancer progression. *International Journal of Biological Sciences*, 18(16), 6020–6034. <https://doi.org/10.7150/ijbs.74902>
- Mani, K., Deng, D., Lin, C., Wang, M., Hsu, M. L., & Zaorsky, N. G. (2024). Causes of death among people living with metastatic cancer. *Nature Communications*, 15(1), 1519. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45307-x>
- Martin-Perez, M., Urdiroz-Urricelqui, U., Bigas, C., & Benitah, S. A. (2021). Lipid metabolism in metastasis and therapy. *Current Opinion in Systems Biology*, 28, 100401. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coisb.2021.100401>
- McPhee, M. J., Salsman, J., Foster, J., Thompson, J., Mathavarajah, S., Dellaire, G., & Ridgway, N. D. (2022). Running ‘LAPS’ Around nLD: Nuclear Lipid Droplet Form and Function. *Frontiers in Cell and*

- Developmental Biology*, Volume 10.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.837406>
- Mejhert, N., Gabriel, K. R., Frendo-Cumbo, S., Krahmer, N., Song, J., Kuruvilla, L., ... Walther, T. C. (2022). The Lipid Droplet Knowledge Portal: A resource for systematic analyses of lipid droplet biology. *Developmental Cell*, 57(3), 387-397.e4. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.devcel.2022.01.003>
- Menendez, J. A., & Lupu, R. (2007). Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 7(10), 763–777. <https://doi.org/10.1038/nrc2222>
- Munir, R., Lisec, J., Swinnen, J. V., & Zaidi, N. (2019). Lipid metabolism in cancer cells under metabolic stress. *British Journal of Cancer*, 120(12), 1090–1098. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0451-4>
- Pavlova, N. N., Zhu, J., & Thompson, C. B. (2022). The hallmarks of cancer metabolism: Still emerging. *Cell Metabolism*, 34(3), 355–377. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.01.007>
- Pillai, S., Mahmud, I., Mahar, R., Griffith, C., Langsen, M., Nguyen, J., ... Gillies, R. J. (2022). Lipogenesis mediated by OGR1 regulates metabolic adaptation to acid stress in cancer cells via autophagy. *Cell Reports*, 39(6), 110796. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110796>
- Puente-Cobacho, B., Esteo, C., Altea-Manzano, P., Garcia-Perez, J. L., Quiles, J. L., Sanchez-Rovira, P., ... Vera-Ramirez, L. (2025). De novo lipogenesis protects dormant breast cancer cells from ferroptosis and promotes metastasis. *Redox Biology*, 80, 103480. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103480>
- Qiu, B., Ackerman, D., Sanchez, D. J., Li, B., Ochocki, J. D., Grazioli, A., ... Simon, M. C. (2015). HIF2 α -Dependent Lipid Storage Promotes Endoplasmic Reticulum Homeostasis in Clear-Cell Renal Cell Carcinoma. *Cancer Discovery*, 5(6), 652–667. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-1507>
- Quan, J., Zhang, C., Chen, X., Cai, X., & Luo, X. (2025). Lipid droplet - organelle crosstalk and its implication in cancer. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 197, 11–20. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2025.05.002>
- Rambold, A. S., Cohen, S., & Lippincott-Schwartz, J. (2015). Fatty acid

- trafficking in starved cells: regulation by lipid droplet lipolysis, autophagy, and mitochondrial fusion dynamics. *Developmental Cell*, 32(6), 678–692. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.01.029>
- Renne, M. F., Klug, Y. A., & Carvalho, P. (2020). Lipid droplet biogenesis: A mystery “unmixing”? *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 108, 14–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.03.001>
- Robenek, H., Hofnagel, O., Buers, I., Robenek, M. J., Troyer, D., & Severs, N. J. (2006). Adipophilin-enriched domains in the ER membrane are sites of lipid droplet biogenesis. *Journal of Cell Science*, 119(Pt 20), 4215–4224. <https://doi.org/10.1242/jcs.03191>
- Röhrig, F., & Schulze, A. (2016). The multifaceted roles of fatty acid synthesis in cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 16(11), 732–749. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.89>
- Safí, R., Menéndez, P., & Pol, A. (2024). Lipid droplets provide metabolic flexibility for cancer progression. *FEBS Letters*, 598(10), 1301–1327. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14820>
- Sánchez-Álvarez, M., del Pozo, M. Á., Bosch, M., & Pol, A. (2022). Insights Into the Biogenesis and Emerging Functions of Lipid Droplets From Unbiased Molecular Profiling Approaches. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, Volume 10. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.901321>
- Schlaepfer, I. R., Nambiar, D. K., Ramteke, A., Kumar, R., Dhar, D., Agarwal, C., ... Deep, G. (2015). Hypoxia induces triglycerides accumulation in prostate cancer cells and extracellular vesicles supporting growth and invasiveness following reoxygenation. *Oncotarget*, 6(26), 22836–22856. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4479>
- Schwartsburd, P. (2022, February). Lipid droplets: could they be involved in cancer growth and cancer-microenvironment communications? *Cancer Communications (London, England)*. United States. <https://doi.org/10.1002/cac2.12257>
- Shang, C., Qiao, J., & Guo, H. (2020). The dynamic behavior of lipid droplets in the pre-metastatic niche. *Cell Death & Disease*, 11(11), 990. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-03207-0>
- Shi, X., Wang, X., Yao, W., Shi, D., Shao, X., Lu, Z., ... Wang, X. (2024). Mechanism insights and therapeutic intervention of tumor metastasis:

- latest developments and perspectives. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 192. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01885-2>
- Siegel, R. L., Kratzer, T. B., Giaquinto, A. N., Sung, H., & Jemal, A. (2025). Cancer statistics, 2025. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 75(1), 10–45. <https://doi.org/10.3322/caac.21871>
- Singh, R., Kaushik, S., Wang, Y., Xiang, Y., Novak, I., Komatsu, M., ... Czaja, M. J. (2009). Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*, 458(7242), 1131–1135. <https://doi.org/10.1038/nature07976>
- Sołtysik, Kamil, Ohsaki, Yuki, & Fujimoto, Toyoshi. (2019). Duo in a Mystical Realm—Nuclear Lipid Droplets and the Inner Nuclear Membrane. *Contact*, 2, 2515256419896965. <https://doi.org/10.1177/2515256419896965>
- Sołtysik, K., Ohsaki, Y., Tatematsu, T., Cheng, J., Maeda, A., Morita, S.-Y., & Fujimoto, T. (2021). Nuclear lipid droplets form in the inner nuclear membrane in a seipin-independent manner. *The Journal of Cell Biology*, 220(1). <https://doi.org/10.1083/jcb.202005026>
- Sun, Z., Shi, S., Guan, P., & Liu, B. (2022). Construction of heteroaryl-bridged NIR AIEgens for specific imaging of lipid droplets and its application in photodynamic therapy. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 272, 120946. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.120946>
- Tauchi-Sato, K., Ozeki, S., Houjou, T., Taguchi, R., & Fujimoto, T. (2002). The Surface of Lipid Droplets Is a Phospholipid Monolayer with a Unique Fatty Acid Composition*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(46), 44507–44512. <https://doi.org/https://doi.org/10.1074/jbc.M207712200>
- Thiam, A. R., Farese Jr, R. V., & Walther, T. C. (2013). The biophysics and cell biology of lipid droplets. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 14(12), 775–786. <https://doi.org/10.1038/nrm3699>
- Thiam, A. R., & Ikonen, E. (2021). Lipid Droplet Nucleation. *Trends in Cell Biology*, 31(2), 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.11.006>
- Tiwari, S., & Siddiqi, S. A. (2012). Intracellular trafficking and secretion of VLDL. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32(5), 1079–1086. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.241471>
- Wan, H.-C., Melo, R. C. N., Jin, Z., Dvorak, A. M., & Weller, P. F. (2007).

- Roles and origins of leukocyte lipid bodies: proteomic and ultrastructural studies. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 21(1), 167–178. <https://doi.org/10.1096/fj.06-6711com>
- Wang, H., Gilham, D., & Lehner, R. (2007). Proteomic and Lipid Characterization of Apolipoprotein B-free Luminal Lipid Droplets from Mouse Liver Microsomes: IMPLICATIONS FOR VERY LOW DENSITY LIPOPROTEIN ASSEMBLY*. *Journal of Biological Chemistry*, 282(45), 33218–33226. <https://doi.org/https://doi.org/10.1074/jbc.M706841200>
- Wang, Y., Pan, H., chen, D., Guo, D., & Wang, X. (2021). Targeting at cancer energy metabolism and lipid droplet formation as new treatment strategies for epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in colorectal cancer cells. *Journal of Functional Foods*, 83, 104570. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104570>
- Warburg, O., Wind, F., & Negelein, E. (1927). THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *The Journal of General Physiology*, 8(6), 519–530. <https://doi.org/10.1085/jgp.8.6.519>
- Wei, J.-R., Lu, M.-Y., Wei, T.-H., Fleishman, J. S., Yu, H., Chen, X.-L., ... Ni, H.-W. (2025). Overcoming cancer therapy resistance: From drug innovation to therapeutics. *Drug Resistance Updates*, 81, 101229. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.drug.2025.101229>
- Welte, M. A. (2015). How Brain Fat Conquers Stress. *Cell*, 163(2), 269–270. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.046>
- Wilfling, F., Haas, J. T., Walther, T. C., & Farese, R. V. J. (2014). Lipid droplet biogenesis. *Current Opinion in Cell Biology*, 29, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2014.03.008>
- Wölk, M., & Fedorova, M. (2024). The lipid droplet lipidome. *FEBS Letters*, 598(10), 1215–1225. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1873-3468.14874>
- Xia, X., Wang, R., Hu, Y., Liu, W., Liu, T., Sun, W., ... Peng, X. (2021). A Novel Photosensitizer for Lipid Droplet-Location Photodynamic Therapy. *Frontiers in Chemistry*, 9, 701771. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.701771>
- Zadoorian, A., Du, X., & Yang, H. (2023). Lipid droplet biogenesis and

functions in health and disease. *Nature Reviews. Endocrinology*, 19(8), 443–459. <https://doi.org/10.1038/s41574-023-00845-0>

Zhang, C., & Liu, P. (2017). The lipid droplet: A conserved cellular organelle. *Protein & Cell*, 8(11), 796–800. <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0467-6>

BÖLÜM 4

MİTOKONDRIYAL KALITIM VE HASTALIKLARA YAKLAŞIM

Doç. Dr. Deniz AĞIRBAŞLI⁴ ve Doç. Dr. Aysel KALAYCI⁵

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936675>

⁴ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye deniz.agirbasli@iuc.edu.tr ORCID#0000-0003-2584-451X,

⁵ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye aysel.kalayci@iuc.edu.tr ORCID#0000-0001-8549-5564

GİRİŞ

Mitokondri, eritrositler hariç neredeyse tüm ökaryotik hücrelerde bulunan çift zarlı, yarı-otonom ve şekillerini değiştirebilen dinamik organellerdir (Vogel ve ark., 2006). Hücrelerdeki mitokondri sayısı, ihtiyaca göre birkaç taneden yüzlercesine kadar değişebilir. Mitokondriler yaşam için gereklidir ve ATP üretimi, membran potansiyeli oluşumu, glukoz ve lipid metabolizması, kalsiyum alımı ve atılımı gibi birçok kritik fizyolojik fonksiyonda rol oynar.

Ökaryotik hücrelerin enerji metabolizması, hücresel proteini kodlayan nükleer genom ve hücresel biyoenerjetikliği sağlayan mitokondriyal genom olmak üzere iki genom tarafından düzenlenir. Fizyolojik fonksiyonların sürdürülebilmesi hem nükleer DNA (nDNA) hem de mitokondriyal DNA (mtDNA)'ya bağlı olduğu için oksidatif fosforilasyon gibi ortak fonksiyonları paylaşan bu iki genomdaki mutasyonlar, mitokondriyal hastalıklara neden olabilir.

Mitokondriyal hastalıklar, kalıtsal metabolik bozuklukların en yaygın grubunu oluşturur ve aynı zamanda kalıtsal nörolojik bozuklukların en sık görülen formları arasındadır. Mitokondriyal hastalıkların tanısındaki en büyük zorluklardan biri, geniş klinik çeşitliliğe sahip olmalarıdır; bu da tanının gecikmesine yol açabilir. Bununla birlikte, yeni nesil dizileme tekniklerindeki gelişmeler özellikle çocuklarda tanıyı önemli ölçüde iyileştirmiştir (Gorman ve ark., 2016).

Bu bölümde, mitokondri ve genomunun yapısı, mitokondriyal kalıtım mekanizması, mtDNA mutasyonları ve nükleer ve mitokondriyal genlerin sebep olduğu mitokondriyal hastalıklarla ilişkili güncel bilgiler ele alınmaktadır.

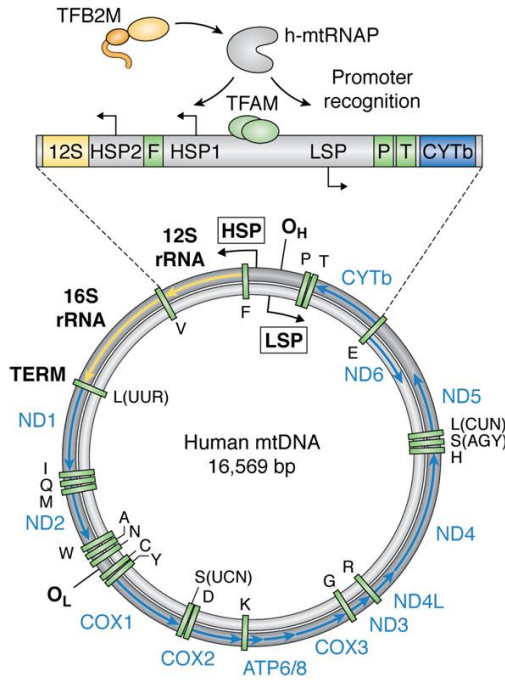
1. MİTOKONDRI GENOMUNUN YAPISI

Mitokondri, ökaryotik hücrelerde bulunan çift zarla çevrili, enerji üretiminden sorumlu bir organdır. Genellikle "hücrenin enerji santrali" olarak adlandırılır çünkü hücre için gerekli olan ATP (adenozin trifosfat) üretimini gerçekleştirir. Bu süreç, oksidatif fosforilasyon ve hücresel solunum yoluyla sağlanır.

Mitokondri sadece enerji üretiminde değil, aynı zamanda hücresel metabolizmanın düzenlenmesi, demir-kükürt kümeleri ve hem sentezi, sinyal

iletimi, apoptozis ve hücre içi iletişim gibi birçok kritik süreçte de rol oynar (Chen ve ark., 2024; Ji ve ark., 2022). Bu işlevlerin yürütülmesi için yaklaşık 1.300 protein gerekir; bunların büyük çoğunluğu nükleer genomda kodlanır. Bu proteinler, özel aktarım mekanizmaları aracılığıyla mitokondri içine taşınır. Mitokondriyal proteinleri kodlayan genlerin çoğu çekirdekte kodlanır; bunlara kompleks II, elektron taşıma zinciri (ETC) komplekslerinin çoğu yapı taşı, mtDNA polimeraz γ alt birimleri, mitokondriyal RNA polimeraz alt birimleri, mitokondriyal transkripsiyon faktörü, ribozomal proteinler, uzama faktörleri ve tüm mitokondriyal metabolik enzimler dahildir (Rath S ve ark. 2021). İlgili proteinler, çeşitli aktarım sistemleri ve mekanizmaları kullanılarak mitokondriyal zarlara, matrikse veya zarlar arası boşluğa aktarılır.

Mitokondrilerin kendilerine ait dairesel bir DNA'sı vardır ve bu genom yalnızca 37 gen içerir. Bunlar; 13 mitokondriyal protein, 22 tRNA ve 2 rRNA genini kodlar. mtDNA'nın büyük kısmı kodlama bölgesinden oluşur; sadece 1.1 kb'lik kısmı kodlamayan bölgedir ve bu bölge, replikasyon ve transkripsiyonun kontrol elemanlarını barındırır (Morgenstern ve ark., 2021; Rath ve ark., 2021). 16,5 kb dairesel mtDNA molekülü, GC içeriğine göre ayırt edilen hafif iplikçik ve ağır iplikçik DNA'sından oluşur. Her iki iplikçik de çeşitli mitokondriyal mRNA, rRNA ve tRNA genlerini kodlar. İnsan mtDNA'sındaki tek kodlamayan bölge, bir kısmı (650 bp) üç iplikçikli bir DNA halka yapısı (D halkası) içeren 1,1 kb'lik bir bölgedir. Hafif iplik promotörü (LSP) ve ağır iplik promotörleri (HSP1 ve HSP2) de dahil olmak üzere mtDNA'nın transkripsiyonu ve replikasyonu için kontrol elemanları, D-döngüsüne bitişik kodlamayan bir bölgenin 250 bp'lik kısa bir segmentinde bulunur. LSP ve HSP promotörleri, hmtDNA'yı zıt yönlerde transkribe eder (Nicholls & Minczuk, 2014; Uchida ve ark., 2017) (Şekil 1).



Şekil 1. İnsan mtDNA yapısı. İnsan mtDNA'sında, kalın iplikçik siyah, açık iplikçik ise gri olarak gösterilmiştir. rRNA'lar (sarı), mRNA'lar (mavi) ve tRNA'lar (yeşil) etiketlenmiştir. Transkripsiyon iki yönlüdür ve üç promotörden (HSP1, HSP2 ve LSP) D-döngü kontrol bölgesinde (genişletilmiş olarak gösterilmiştir) başlar. TFAM (açık yeşil), promotörlerin yukarısındaki mtDNA'ya bağlanarak transkripsiyonu başlatmak için TFB2M'yi (turuncu) ve h-mtRNAP'ı (gri) görevlendirir (Şekil:Basu ve ark. 2020).

2. MITOKONDİRİYAL KALITIM MEKANİZMASI

Mitokondriyal kalıtım, Mendel dışı bir genetik aktarım biçimi olup, mtDNA'nın yalnızca anneden yavruya geçmesiyle karakterize edilir. İnsanlar da dahil olmak üzere çok hücreli organizmalarda mitokondriler neredeyse tamamen oosit yoluyla aktarılır. Döllenmeden sonra baba kökenli mitokondriler genellikle otofaji ve proteolitik mekanizmalar aracılığıyla hücreden uzaklaştırılır (Sato & Sato, 2017). Bu anneden geçiş modeli, X'e bağlı kalıttan farklı olarak maternal değil **matrilineal** olarak adlandırılır, nükleer DNA'nın Mendel yasalarına uygun çift ebeveynli kalıtımından farklı olarak, mitokondriyal DNA'yı ayırt eden temel bir özelliktir.

Hücre bölünmesi sırasında mitokondriler rastlantısal olarak (stokastik) yavru hücrelere dağılır. Bu durum, **heteroplazmi** olarak bilinen ve aynı hücrede hem normal hem de mutant mtDNA'nın birlikte bulunmasıyla tanımlanan bir olgunun ortaya çıkmasına neden olur. Mitokondriler hücre döngüsünden bağımsız olarak çoğaldığı ve rastgele dağıldığı için, heteroplazmi düzeyleri dokuya ve nesillere göre değişebilir; bu da hastalıkların fenotipik şiddetini ve görülme olasılığını etkileyebilir (Chinnery ve Hudson, 2013). Mutant mtDNA oranı genellikle belirli bir eşik değeri aşmadıkça mitokondriyal disfonksiyon klinik olarak belirgin hale gelmez. Bu duruma **fenotipik eşik etkisi** adı verilir (Rossignol ve ark., 2003). Heteroplazmik hücrelerde fenotipik eşik değeri birkaç faktöre bağlıdır. Bunlardan biri dokunun enerji gereksinimidir Yüksek enerji ihtiyacı olan dokular (örneğin beyin, kas, kalp, retina) düşük enerji üreten mitokondrilere karşı çok daha hassastır. Bu dokularda eşik oranı daha düşük olabilir. Daha az enerji tüketen dokularda eşik daha yüksektir. İkinci faktör mutasyon tipidir. Aynı heteroplazmi oranında bile bazı mutasyonlar daha ağır enerji üretim bozukluğu yapar. Örneğin, tRNA mutasyonları diğer gen mutasyonlarına göre farklı eşik değerine sahiptir. Diğer bir faktör hücredeki sağlıklı mitokondri rezervidir. Yaş ve çevresel faktörler de bu eşik değeri etkileyebilir. Yaşla birlikte mutant mtDNA birikebilir, bu da başlangıçta eşik altında kalan oranı eşik üzerine çıkarabilir. Çevresel stresler (enfeksiyon, toksinler, ilaçlar) de fonksiyonel rezervi azaltıp eşik etkisini erkene çekebilir.

MtDNA'nın rekombinasyon yapmaması, onu zararlı mutasyonların birikimine karşı daha savunmasız hale getirir. Bu mutasyonlar anneden çocuğa geçebilir ve mitokondrinin, nükleer genomla karşılaştırıldığında daha yetersiz olan DNA onarım mekanizmaları nedeniyle etkili bir şekilde onarılamayabilir (Wallace, 2005). Hücreler, hasarlı mitokondrileri ortadan kaldırmak ve mutant mtDNA'nın klonal genişlemesini önlemek amacıyla **mitofaji**, **mitokondriyal bölünme (fisyon)** ve **mtDNA yıkımı** gibi çeşitli kalite kontrol mekanizmalarını devreye sokar (Chinnery ve Prudent, 2019).

Mitokondriyal kalıtım geleneksel olarak tamamen anneden olduğu kabul edilse de, son yıllarda insanlarda **baba kökenli mtDNA aktarımına** dair bazı nadir vakalar bildirilmiştir. *In vitro* fertilizasyon ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu teknikleriyle oluşturulan insan poliploid embriyolarını kullanan önceki çalışmalar, babaya ait mtDNA'nın yalnızca dört ila sekiz hücreli evrede,

babaya özgü alel-spesifik iç içe polimeraz zincir reaksiyonu (nested PCR) ve restriksiyon enzim analizi ile tespit edilebildiğini göstermiştir (St John ve ark, 2000). Ancak yakın zamanlı bir çalışmada 3 multigenerasyon ailedeki 17 kişide çift ebeveynli aktarım gözlenmiştir (Luo ve ark., 2018). Bu bulgular, uzun süredir kabul gören mutlak anneden kalıtım dogmasını sorgulamaya açmakta ve mtDNA aktarım dinamikleriyle ilgili yeni araştırma alanlarının önünü açmaktadır. Böyle bir durumda babaya ait mitokondrilerin normalde yok edilmesini sağlayan mekanizmalarda (örn. **lizozomal yolak, otofaji/mitofaji**) bir nükleer gen mutasyonu olabilir ve embriyoda paternal kalıtım korunabilir. Ancak bu çift ebeveynli aktarımın biyolojik önemi ve yaygınlığı halen belirsiz ve tartışmalıdır.

Sonuç olarak, mitokondriyal kalıtım klasik genetik kalıtım kurallarından saparak özgün bir yol izler. Matrilineal kalıtım, heteroplazmi, yüksek mutasyon oranı ve eşik-bağımlı hastalık ifadesi gibi ayırt edici özellikleri, mitokondriyal hastalıkların ortaya çıkışında, çeşitliliğinde ve tanısında belirleyici rol oynamaktadır.

2.1. Mitokondriyal Genomun Mutasyon Oranları ve Heteroplazmi

Mitokondriyal genom, nükleer DNA'ya kıyasla belirgin şekilde daha yüksek bir mutasyon oranına sahiptir. Bu yüksek oran; oksidatif fosforilasyon sürecinde oluşan reaktif oksijen türlerine (ROS) olan yakınlık, histon proteinlerinin bulunmaması ve mitokondrilerdeki DNA onarım mekanizmalarının görece yetersizliği gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanmaktadır (Wallace, 2005). Bu savunmasız yapı, mtDNA'da nükleer DNA'ya göre yaklaşık 10 ila 20 kat daha fazla mutasyon görülmesine yol açmaktadır (Brown ve ark., 1979).

Yüksek mutasyon oranı, aynı hücre veya birey içerisinde birden fazla mtDNA varyantının (mutant ve normal) birlikte bulunması anlamına gelen **heteroplazmi** durumuna katkı sağlar. Heteroplazmi, hücre bölünmesi sırasında mitokondrilerin rastlantısal olarak dağılması ve zamanla mutasyon birikimi sonucu ortaya çıkar. Nükleer DNA mutasyonları Mendel kurallarına uygun şekilde kalıtılırken, mtDNA mutasyonları ve heteroplazmik oranlar dokular ve nesiller arasında öngörülemez şekilde değişkenlik gösterebilir (Taylor ve Turnbull, 2005).

Heteroplazminin biyolojik etkileri, mutant mtDNA oranına doğrudan bağlıdır. Çoğu mitokondriyal hastalık, mutant mtDNA oranı belirli bir **eşik değeri** aştığında ortaya çıkar. Bu eşik genellikle dokuya ve mutasyon türüne bağlı olarak %60 ila %90 arasında değişir (Rossignol ve ark., 2003). Eşik değerin altında kalan mutasyon oranlarında, hücreler normal mtDNA sayesinde yeterli enerji üretimini sürdürebildiğinden hastalık semptomları ortaya çıkmayabilir.

Ayrıca, **oogenezin genetik darboğazı** olarak adlandırılan süreçte, yalnızca sınırlı sayıda mtDNA molekülü bir sonraki nesle aktarılır. Bu durum, anne ile çocuğu arasındaki heteroplazmik oranların ciddi şekilde değişmesine neden olabilir. Bu mekanizma, maternal (annelik yoluyla) aktarılan mitokondriyal hastalıklarda görülen fenotipik şiddet farklılıklarının temel nedenlerinden biridir (Stewart ve Chinnery, 2015).

Bazı mtDNA mutasyonları zamanla bir hücre ya da doku içindeki mitokondri popülasyonunda **klonal genişleme** yoluyla baskın hale gelebilir. Bu durum yalnızca kalıtsal hastalıklar için değil, aynı zamanda Parkinson ve Alzheimer gibi yaşa bağlı mitokondriyal işlev bozukluklarında da önemli rol oynamaktadır (Larsson, 2010).

Sonuç olarak, mitokondriyal genomun yüksek mutasyon oranı ve heteroplazmi olgusu; mitokondriyal hastalıkların anlaşılmasında, tanımlanmasında ve tedavisinde önemli zorluklar oluşturmaktadır. mtDNA'nın dinamik doğası ve mutasyonların zamanla birikmesi, fenotipik çeşitliliğin artmasına neden olur ve mitokondriyal genetik üzerine yapılan araştırmaların insan sağlığı açısından taşıdığı önemi ortaya koymaktadır.

2. MİTOKONDRIYAL HASTALIKLAR

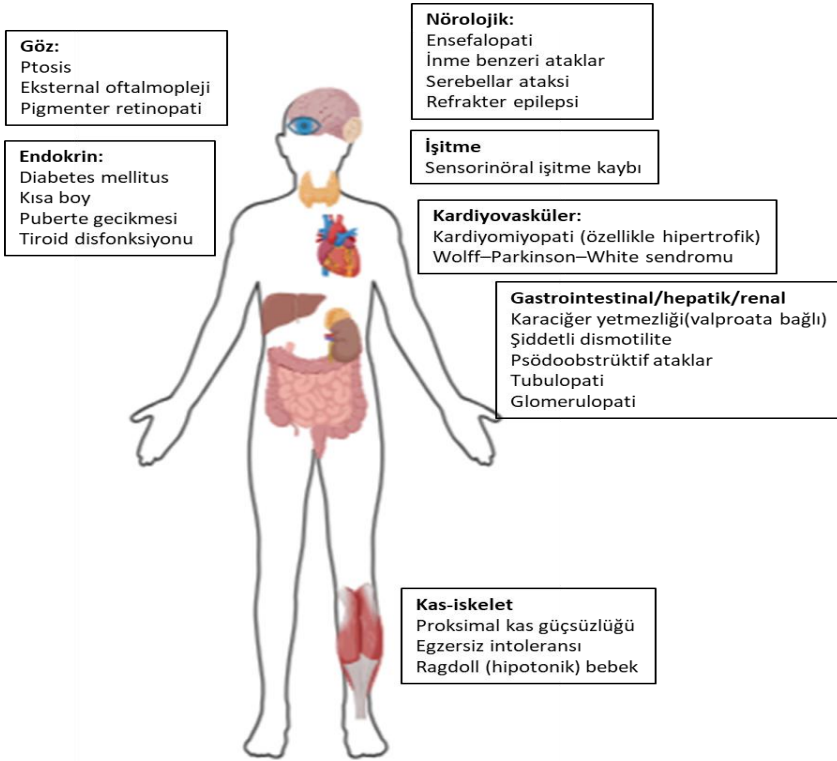
Mitokondriyal hastalıklar, hücresel enerji metabolizmasında merkezi rol oynayan mitokondrilerin yapısal veya işlevsel bozuklukları sonucu ortaya çıkan, genetik geçişli ve sıklıkla multisistemik seyir gösteren heterojen bir hastalık grubudur. Bu hastalıkların temelinde, çoğunlukla mitokondri içinde gerçekleşen oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) sisteminin bozulması yer alır. OXPHOS sisteminin işleyişinde görev alan proteinlerin bir kısmı mtDNA, diğer kısmı ise nDNA tarafından kodlanır. Bu nedenle mitokondriyal hastalıklar, matrilineal yolla geçen mtDNA mutasyonlarının yanı sıra, otozomal

veya X'e bağlı kalıtımla seyreden nükleer gen mutasyonları sonucunda da ortaya çıkabilir.

Mitokondriyal hastalıkların klinik spektrumu oldukça geniştir ve belirtiler sıklıkla mitokondri tarafından sağlanan enerji metabolizmasının yoğun olduğu organlar olan kas, sinir sistemi, kalp, karaciğer, göz ve işitme organlarını içerir. Aynı genetik mutasyon farklı bireylerde farklı klinik tablolarla seyredebilir; bu durum, özellikle mtDNA'ya özgü heteroplazmi ve dokunun enerji ihtiyacı ve mitokondri sayısına bağlı olan eşik değeri olgusuyla açıklanır. Heteroplazmi hastalığın şiddetini doğrudan etkiler.

Epidemiyolojik çalışmalara göre, mitokondriyal hastalıklar sanıldığından daha yaygındır. Genel popülasyonda semptomatik mitokondriyal hastalıkların prevalansı yaklaşık 1/5.000 olarak bildirilmiştir, ancak bazı mtDNA mutasyonlarını taşıyan bireylerin sıklığı 1/200 gibi daha yüksek oranlarda tahmin edilmektedir. Son yıllarda özellikle yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerinin yaygınlaşması ile birlikte bu hastalıkların tanı oranlarında belirgin bir artış yaşanmıştır.

Mitokondriyal hastalıklarda "kırmızı bayrak bulguları", hastalığın varlığını düşündüren ve tanısal değerlendirmede dikkatle sorgulanması gereken klinik işaretlerdir. Bu bulgular genellikle yüksek enerji gereksinimi olan organ sistemlerini (sinir sistemi, kas, kalp, karaciğer vb.) etkileyen belirtileri içerir ve sıklıkla multisistem tutulum ile birlikte seyreder. Kırmızı bayraklar, hekimin mitokondriyal hastalıktan şüphelenmesini sağlayarak ileri genetik ve metabolik testlerin yapılmasına yön verir (Conti ve ark., 2023). Kırmızı bayrak bulgularının sistematik olarak tanımlanması, nadir ve heterojen seyirli mitokondriyal hastalıkların erken tanısı ve uygun yönetimi açısından kritik öneme sahiptir (Şekil 1). Şekildeki bulguların yanısıra aile öyküsü (matrilineal geçiş), çoklu sistem tutulumu, belirtilerde intermittant ve/veya ilerleyici seyir, laktik asidoz da mitokondriyal hastalıkların özellikleri arasında sayılabilir.



Şekil 2. Mitokondriyal hastalıklarda kırmızı bayrak bulguları

mtDNA, mitokondrinin enerji üretimi başta olmak üzere bazı temel fonksiyonları üzerinde doğrudan etkilidir. Bunlar;

1. Oksidatif fosforilasyon (OX-PHOS) (Anderson ve ark., 1981, DiMauro ve ark., 2003).

2. Mitokondriyal ribozom fonksiyonları ve protein sentezi (Temperley ve ark., 2010)

3. Mitokondriyal biyogenez ve dinamikler: Her ne kadar mitokondriyal biyogenez büyük oranda nükleer DNA tarafından kontrol edilse de, mtDNA'daki proteinler bu süreçte rol oynar. mtDNA'daki bozukluklar mitokondrilerin bölünmesini, füzyonunu ve işlevselliğini bozabilir (Scarpulla, 2008). Bu bozulmalar, mitokondriyal morfolojiyi, dağılımı ve enerji üretim kapasitesini etkileyerek çeşitli mitokondriyal hastalıklara yol açar.

4. Hücre içi redoks dengesi ve apoptoz: mtDNA kaynaklı proteinler, elektron taşıma zincirinde görev alarak serbest radikal üretimini etkiler. Bu serbest radikaller (ROS) hücresel sinyallemede ve gerektiğinde apoptozun

başlatılmasında rol oynar (Wallace, 2010). MtDNA'daki değişimler bu fonksiyonlarda bozulmaya sebep olarak klinik etki yaratabilir.

MtDNA üzerindeki 13 protein kodlayan gen, doğrudan oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) sisteminin bileşenlerini kodlar. Bu genlerdeki mutasyonlar, özellikle kompleks I, III, IV ve V'in bozulmasına neden olur ve çeşitli mitokondriyal hastalıklarla ilişkilidir (Distelmaier ve ark., 2009, Gill ve ark., 2023). OXPHOS sistemi, hem mtDNA hem de nükleer DNA (nDNA) tarafından kodlanan proteinlerden oluşur.

Bu nedenle OXPHOS bozuklukları hem mitokondriyal geçişli (matrilineal) hem de Mendelyen kalıtmımlı (otozomal resesif/dominant veya X'e bağlı) hastalıklar şeklinde görülebilir. Bu sistem ile ilişkili genler ve hastalıkları aşağıda listelenmiştir (Tablo.1).

Tablo 1. OXPHOS komplekslerine bağlı hastalıklar ve bu komplekslerde yer alan mitokondriyal DNA (mtDNA) ve nükleer DNA (nDNA) genleri.

mtDNA genleri	nDNA genleri	Kompleks	İlgili Hastalıklar
<i>MT-ND1-ND6</i>	<i>NDUF</i> genleri, <i>TIMMDC1</i> , <i>ACAD9</i> , <i>DNAJC30</i> , <i>TMEM126B</i> , <i>FOXRED1</i> , <i>NUBPL</i> , <i>MTFMT</i>	Kompleks I	LHON, Leigh Sendromu, MELAS
	<i>SDHA</i> , <i>SDHB</i> , <i>SDHD</i> , <i>SDHAF1</i>	Kompleks II	Hipertrofik kardiyomiyopati, lökodiktrofi, LS ve ensefalopati Feokromositoma ve paraganglioma gibi kanser yatkınlığı Optik atrofi
<i>MT-CYB</i>	<i>CYC1</i> , <i>BCSIL</i> , <i>TTC19</i> , <i>UQC</i> genleri, <i>LYRM7</i>	Kompleks III	Ensefalomiyopati, Kas hastalıkları, GRACILE sendromu
<i>MT-CO1-CO3</i>	<i>SURF1</i> , <i>SCO1</i> , <i>SCO2</i> , <i>CO5A</i> , <i>COX10</i> , <i>COX14</i> , <i>COX15</i> , <i>COX6B1</i> , <i>COX7B</i>	Kompleks IV	COX eksikliği, Leigh Sendromu
<i>MT-ATP6</i> , <i>ATP8</i>	<i>ATPAF2</i> , <i>TMEM70</i> , <i>ATP5F1E</i> , <i>ATP5MD</i> , <i>ATP5F1A</i> , <i>ATP5F1D</i>	Kompleks V	NARP, MILS

LHON: Leber herediter optik nöropati, MELAS: Mitokondriyal Ensefalomiyopati, Laktik Asidoz ve İnme benzeri epizodlar, NARP: Nöropati, ataksi, retinitis pigmentosa sendromu, MILS: MILS (Mitokondriyal infantil Leigh sendromu)

3.1 OXPHOS komplekslerine bağlı mitokondriyal hastalıklar ve ilişkili genler

3.1.1. MT-ND genleri (ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5, ND6)

Kompleks I alt birimlerini kodlar. Bu genlerle ilgili bozukluklar NADH dehidrogenaz (kompleks I) yetersizliğine sebep olurlar. Leber hereditör optik nöropati (LHON), MELAS (mitokondriyal ensefalomiyopati, laktik asidoz ve inme benzeri epizodlar), Leigh sendromu bu yolak bozukluklarının sebep olduğu hastalıklardır.

3.1.1.1. Leber Hereditör Optik Nöropati (LHON)

Mitokondriyal DNA nokta mutasyonlarına bağlı, ani ve ağrısız santral görme kaybı ile karakterize edilen kalıtsal bir optik nöropatidir. Genellikle genç erkeklerde görülür ve sıklıkla tek gözde başlayan görme kaybı, haftalar veya aylar içinde diğer göze de yayılır. Başlangıç yaşı çoğunlukla 15–35 yaş aralığındadır. LHON, matrilineal kalıtılan bir hastalıktır ve mitokondriyal DNA’da en sık üç mutasyondan biri ile ilişkilidir; m.11778G>A (*ND4* geni), m.3460G>A (*ND1* geni), m.14484T>C (*ND6* geni) (Yu-Wai-Man. ve ark, 2010.)

Bu mutasyonlar, mitokondri içindeki kompleks I’in (NADH dehidrogenaz) alt birimlerini etkileyerek oksidatif fosforilasyonun bozulmasına, ATP üretiminin azalmasına, mitokondriyal enerjinin düşmesine ve optik sinir hücrelerinin dejenerasyonuna yol açar. LHON, başlangıçta santral skotom, renk görme bozukluğu ve azalan görme keskinliği ile seyreder. Genellikle kalıcı görme kaybı gelişir. Ancak m.14484T>C mutasyonu olan olgularda spontan iyileşme olasılığı daha yüksektir. Kadınlarda taşıyıcılık yaygın olmasına rağmen, penetrans erkeklerde daha yüksektir. Bu durumun hormonal ve çevresel faktörlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Tanı, klinik bulgular ile birlikte mtDNA dizi analizi ile konur. Optik koherens tomografi (OCT), fundus muayenesi ve elektrofizyolojik testler klinik tanıya yardımcı olabilir. Spesifik tedavi yoktur, ancak bazı hastalarda idebenone (CoQ10 benzeri bir antioksidan) tedavisiyle sınırlı fayda sağlanabilir (Ng, ve ark, 2021). Ayrıca oksidatif stresin azaltılması (sigaranın bırakılması, toksinlerden uzak durulması) önerilir. Gen tedavisi gibi yeni tedavi yaklaşımları klinik araştırma aşamasındadır. Erken tanı, aile ağacının ayrıntılı

oluşturulması, risk altındaki bireylerin tanımlanması ile genetik danışmanlık ve riskli bireylerin takibi önemlidir.

3.1.1.2. Mitokondriyal ensefalomiyopati, laktik asidoz ve inme benzeri epizodlar (MELAS)

MELAS sendromu mitokondriyal DNA mutasyonlarına bağlı olarak gelişen, ilerleyici ve multisistemik bir hastalıktır. Başlıca nörolojik, kas iskelet ve metabolik sistemleri etkiler. Değişken bir klinik fenotipi olan hastalık genellikle çocukluk veya genç erişkinlik döneminde başlar. Hastalık penetransı, mutasyonun vücuttaki heteroplazmi oranına (mutant mtDNA yüzdesi) bağlıdır. Sıklıkla (*MT-TL1* geninde m.3243A>G mutasyonu ile ilişkilidir (El-Hattab ve ark., 2015). Daha nadiren *MT-ND5*, *MT-ND1*, gibi kompleks I genlerinde mutasyonlar da sorumlu olabilir. Hastalık, serebral inme-benzeri ataklar (görme kaybı, hemiparezi, afazi vb.), kas güçsüzlüğü, miyopati, laktik asidoz, baş ağrısı ve migren benzeri semptomlar, epileptik nöbetler, demans veya kognitif gerileme, sensorinöral işitme kaybı, kısa boy, diyabet, kardiyomiyopati gibi sistemik belirtiler gösterebilir. Laboratuvar bulguları serum ve BOS'ta artmış laktat ve pirüvat düzeyleri ile karakterize olup, beyin radyolojik görüntülemelerde T2 hiperintens sinyaller görülebilir. Küratif tedavi yoktur. Amaç semptomların yönetilmesi ve progresyonun yavaşlatılmasıdır. Mitokondri destek tedavileri: koenzim Q10, L-karnitin, tiamin, arginin ve riboflavin gibi takviyeler kullanılabilir (El-Hattab ve ark., 2015). Arginin ve sitrülün, inme-benzeri ataklarda nöral NO üretimini desteklemek için önerilir. Epilepsi ve kardiyomiyopati gibi komplikasyonlara yönelik semptomatik tedavi gereklidir.

3.1.1.3. Leigh Sendromu (Subakut Nekrotizan Ensefalomyelopati)

Leigh sendromu, sıklıkla erken çocukluk döneminde (3-12 ay) başlayan, nadir olarak erişkin yaşlarda da gözlelenebilen, progresif, nörodejeneratif bir mitokondriyal ensefalopatidir. Klinik olarak psikomotor gerileme, hipotonisite, solunum bozuklukları, nistagmus, oftalmopleji ve distoni gibi belirtilerle karakterizedir. Beyin sapı, bazal ganglionlar ve medulla spinalis'te bilateral simetrik nekroz ile seyreder. Kalıtım modeli hem nDNA hem de mtDNA mutasyonlarıyla ilişkili olabileceği için menşesine göre farklılık gösterir. mtDNA mutasyonları: *MT-ATP6* (m.8993T>G veya m.8993T>C) – kompleks

V (ATP sentaz), nükleer gen mutasyonları; *SURF1* (kompleks IV eksikliği), *PDHA1* (pirüvat dehidrogenaz kompleks eksikliği), *SLC19A3* (tiyamin taşıyıcı gen) ile ve Kompleks I'de mitokondriyal (*MTND2*, *MTND3*, *MTND5*, ve *MTND6*) ve nükleer (*NDUFS1*, *NDUFS3*, *NDUFS4*, *NDUFS7*, *NDUFS8*, *NDUFA2*, *NDUFA9*, *NDUFA10*, *NDUFA12*, *NDUFAF6*, *NDUFAF5*) olmak üzere çok sayıda gen ile ilişkilendirilir. Bu mutasyonlar, mitokondrideki oksidatif fosforilasyon sürecini bozar ve ATP üretimini azaltarak enerji yetmezliğine neden olur. Bu durum en çok enerji ihtiyacı yüksek olan dokuları (beyin, kas) etkiler. Klinik bulgular; psikomotor gelişme geriliği veya önce kazanılmış motor becerilerin kaybı, hipotonisite, ataksi, dismetrik hareketler, solunum düzensizlikleri (özellikle beyin sapı tutulumu ile), nistagmus, oftalmopleji, konvülsiyonlar, irritabilite ile seyrederek. Tanı klinik, laboratuvar bulguları (artmış BOS ve serum LDH düzeyleri), görüntüleme (beyin MR'da bilateral simetrik hiperintensite alanları) ve genetik tanı ile beraber konulur. Küratif tedavi olmasa da destekleyici tedavi ve semptomatik yaklaşım esastır. Leigh sendromu ilerleyici ve sıklıkla ölümcül bir hastalıktır. Klinik gidiş; mutasyon tipi, enerji yetmezliğinin ciddiyeti ve başlama yaşı ile ilişkilidir.

3.1.2. MT-CYB (Sitokrom b)

MT-CYB geni, 380 amino asitten oluşan sitokrom b adlı proteini üretir . Mitokondriyal sitokrom b, mitokondriyal solunum zincirinin kompleks III'ün bir araya getirilmesi ve işlevi için önemlidir (Massie ve ark, 2010). Kompleks III, mitokondriyal solunum zincirinde koenzim Q'dan sitokrom c'ye elektron transferinin katalizlenmesini ve mitokondriyal zar boyunca oluşan proton gradyanının ATP sentezi için kullanılmasını sağlar. *MT-CYB*'deki mutasyonlar kompleks III eksikliği ile ilişkilidir ve etkilenen dokuya göre değişken fenotiplere neden olabilir. En sık görülen klinik belirtiler progresif egzersiz intoleransı ve kardiyomiyopati olabilir. Ayrıca sağırılık , zihinsel gerilik , retinitis pigmentoza, katarakt, büyüme geriliği ve epilepsi şeklinde ortaya çıkabilir. Mitokondriyal ensefalomiyopati, mitokondriyal miyopati, Leber kalıtsal optik nöropatisi, kas güçsüzlüğü, miyoglobiniüri, kan asidozu, renal tübülöpatisi görülebilir (Gil Borlado ve ark., 2010). Kompleks III eksikliğinin mitokondriyal hastalıklar arasında nadir olduğu bilinmektedir ve genetik kökeninin ikiliği nedeniyle maternal veya mendelyan kalıtım biçimini izleyebilir.

MT-CYB ile ilgili egzersiz intoleransı ile seyreden izole miyopatide klinik, hafif formda, özellikle yoğun fiziksel aktivite sonrası kas krampları, ağrı ve yorgunluk görülebilir (Andreu ve ark., 1999). İlişkili mutasyonlardan en sık görüleni m.14864T>C, m.14798T>C olarak bilinir. LHON-benzeri optik nöropati’de *MT-CYB* (m.14846G>A) mutasyonları optik sinir dejenerasyonu ve LHON’a benzer görme kaybına neden olabilir. *MT-CYB* mutasyonlarında ve mendelyen kalıtım izleyen formlarda hipotoni gelişim geriliği metabolik asidoz multisistem organ yetmezliği ile seyreden daha ağır sistemik tutulum görülebilir. Yakın zamanlı bir çalışmada, *MT-CYB* mutasyonuna sahip Leigh sendromlu 1 yaşındaki bir hastadan, B18R proteini tarafından düzenlenen sentetik, kendini kopyalayabilen mRNA’ların geçici olarak eksojen genleri eksprese etmesi yoluyla indüklenmiş pluripotent kök hücre (iPSC) hattı üretilmiştir (Son ve ark., 2021). Bu hücrelerin pluripotens belirteçlerinin ifadesini, normal karyotipi ve *in vitro* üç germ tabakasına farklılaşma potansiyelini gösterirken *MT-CYB* mutasyonunu koruması yeni tedavi seçeneklerinin müjdesini vermektedir.

3.1.3. MT-CO1, MT-CO2, MT-CO3 genleri

Kompleks IV sitokrom b alt birimleri genleridir. Bu genlerdeki mutasyonlar kompleks IV eksikliği olarak karşımıza çıkar ve COX eksikliği olarak da bilinir. Ensefalopati ve miyopati olarak iki farklı klinikte ortaya çıkabilir.

Bu hastalığa sahip kişiler genellikle yaşamın ilk 6 ila 12 ayı boyunca normal büyüme gelişme gösterirler, daha sonra gelişimsel gerileme, ataksi, laktik asidoz, optik atrofi, oftalmopleji, nistagmus, distoni, piramidal bulgular ve solunum problemleri ve sık nöbetler görülür. Subakut nekrotizan ensefalomiyelopati olarak bilinen leigh sendromuna neden olabilir.

Miyopati iki şekilde görülür;

1. Ölümcül infantil miyopati: Doğumdan hemen sonra başlayabilir ve hipotoni, halsizlik, laktik asidoz, düzensiz kırmızı lifler, solunum yetmezliği ve böbrek sorunlarıyla birlikte progresif seyir gösterir.

2. İyi huylu infantil miyopati: Doğumdan hemen sonra başlayabilir ve hipotoni, halsizlik, laktik asidoz, düzensiz kırmızı lifler, solunum sorunlarıyla birlikte görülebilir, COX eksikliği iskelet kası dokularıyla sınırlı olduğundan,

genellikle kalp veya böbrek işlev bozukluğu göstermezler, hastalık progresif seyir göstermez, yaşla birlikte düzelme görülebilir.

3.1.4. MT-ATP6, MT-ATP8 genleri

Kompleks V (ATP sentaz) alt birimlerini kodlar. İzole ATP sentaz eksikliği, çok çeşitli semptomlar (kas hipotonisi, hipertrofik kardiyomiopati, psikomotor gecikme, ensefalopati, periferik nöropati, laktik asidoz, 3-metilglutakonik asidüri dahil) ve klinik sendromlar [NARP (Nöropati, Ataksi ve Retinitis Pigmentosa) ve MILS (Mitokondriyal İnfanitil Leigh Sendromu)] ile ortaya çıkabilen nadir, genetik, mitokondriyal bir oksidatif fosforilasyon bozukluğudur (Mordel ve ark., 2017, Campos ve ark., 1997).

3.2. Mitokondriyal Delesyon Hastalıkları

3.2.1. Kearns-Sayre sendromu (KSS)

Bu sendrom ilk olarak 1958 yılında bir oftalmolog ve bir patolog tarafından tanımlanan, bilinen ilk mtDNA hastalıklarından biridir (Kearns ve Sayre, 1958). Genellikle çoklu dokularda yüksek oranda (yüksek heteroplazmi) saptanan, tek ve büyük bir mtDNA delesyonundan kaynaklanır. Kearns-Sayre sendromu (KSS) vakalarının yaklaşık %90'ı sporadik olup, mtDNA'nın büyük ölçekli (1,1- 10 kb) delesyonlarının sebep olduğu bir hastalıktır. Sık görülen delesyon, m.8470_13446del olarak bilinir. Bu delesyon, kronik progresif eksternal oftalmopleji (CPEO) ile birlikte çoklu organ tutulumu, gözün arka segmentinde pigmenter retinopati ve kalpte iletim sisteminde bozulmaya bağlı kardiyak iletim bloğu gibi bulgulara yol açar. Yakın zamanlı literatür KSS'nin endokrin etkilerine de dikkat çekmektedir (Romo ve ark, 2024, Finesterer, 2025). Bu yeni çalışmalar, KSS'in yalnızca klasik triadıyla sınırlı olmadığını; moleküler düzeyden sistemik semptomlara kadar çok katmanlı bir hastalık olduğunu göstermektedir.

3.2.2. Pearson sendromu (PS)

Pearson sendromu (PS), nadir görülen ve genellikle bebeklik döneminde ortaya çıkan, mtDNA büyük delesyonlardan kaynaklanan bir mitokondriyal hastalıktır (Yoshimi ve ark., 2022). Bu delesyonlar mitokondrinin OXPHOS sisteminde enerji üretimini bozar. İlk tanım: 1979'da Norman Pearson tarafından yapılmıştır. Çoğunlukla sporadik mtDNA delesyonları görülür;

maternal geçiş çok nadirdir. Kemik iliği, pankreas, böbrekler, karaciğer, kalp, kaslar sıklıkla etkilenen sistemlerdir. Çoğunlukla KSS ile aynı moleküler temele sahiptir; hatta hayatta kalan vakaların ilerleyen yıllarda KSS fenotipi sergilemesi sık görülür. Başlıca klinik bulgular, sideroblastik anemi, pankreas ekzokrin yetmezliğine bağlı yağ sindiriminin bozulması, steatore (yağlı dışkı), malabsorbsiyon dur. Ayrıca genel bulgular olarak Nötropeni, trombositopeni, gelişme geriliği, laktik asidoz, böbrek tubulopatisi görülebilir. PS'li hastaların prognozu kötüdür. Hastaların çoğunluğu 6 yaşından önce kaybedilir.

3.2.3. Kronik progresif eksternal oftalmopleji (CPEO)

CPEO genellikle mtDNA veya nükleer genlerdeki mutasyonlara bağlı, yavaş ilerleyen dış göz kası felci ve ptosis ile karakterli bir mitokondriyal ensefalomiyopatidir (Ali ve ark., 2024). Bu hastalığa, tek büyük ölçekli mtDNA delesyonları, duplikasyonlar veya *ANT1*, *POLG1*, *POLG2*, *OPA1*, *C10orf2* ve *SLC25A4* genleri gibi nükleer bir mutasyona sekonder çoklu mtDNA delesyonları neden olabilir.

3.3. Mitokondriyal depleksiyon sendromu

Mitokondriyal DNA depleksiyon sendromu (MDS), mitokondriyal hastalıklar grubuna giren, genetik olarak heterojen ve nadir görülen bir bozukluktur. Temel özelliği, hücrelerde mtDNA miktarının normalin %10–30'unun altına düşmesi (depleksiyon) ile seyretmesidir. MtDNA'nın miktarını korumak için gereken nükleer genlerdeki mutasyonlar sonucu, mtDNA replikasyonu veya nükleotid dengesi bozulur, enerji üretimi için gerekli OXPHOS kompleksleri yeterince sentezlenemez. MDS bir mtDNA dizisi hastalığı değil, mtDNA miktarını azaltan nükleer gen mutasyonları sonucu ortaya çıkar. Aynı gen mutasyonu farklı organ tutulumu ile karşımıza çıkabilir. Kalıtım, çoğunlukla otozomal resesif, nadiren diğer Mendel kalıtım tiplerini gösterir. Tanıda klinik uyumun yanı sıra kas veya etkilenen organda mtDNA kopya sayısında belirgin azalma ve nükleer DNA'da sorumlu gen mutasyonlarının gösterilmesi yer alır.

MDS mitokondriyal nükleotid sentezi (*TK2*, *SUCLA2*, *SUCLG1*, *RRM2B*, *DGUOK* ve *TYMP*) veya mtDNA replikasyonu (*POLG* ve *C10orf2*) işlevlerinde rol alan nükleer genlerdeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkar ve fenotipik olarak heterojendir (El Hattab ve ark., 2013).

MDS, etkilenen organa göre birkaç majör fenotipe ayrılır; bu tipler Tablo 2’de listelenmiştir.

Tablo 2.MDS organ tutulum tipleri, etkilenen genler ve klinik bulgular.

Alt Tip	Organ	Genler	Klinik Özellikler
Hepatik	Karaciğer ± beyin	<i>DGUOK, POLG, MPV17, C10orf2</i>	İleri karaciğer yetmezliği, hipotoni, nörolojik bulgular
Myopatik	İskelet kası	<i>TK2</i>	Progresif miyopati, solunum yetmezliği
Nöro-Gastrointestinal (MNGIE)	Sinir sistemi + GIS	<i>TYMP</i>	Gastrointestinal dismotilite, periferik nöropati, ptosis, leukoensefalopati
Ensefalomiyopatik	Kas + beyin	<i>SUCLA2, SUCLG1, RRM2B</i>	Gelişme geriliği, distoni, hipotoni, laktik asidoz

SONUÇ

Mitokondriyal hastalıklar, hem nükleer hem de mitokondriyal genomdan kaynaklanabilen, klinik spektrumları geniş ve çok sistemli seyir gösteren kompleks bozukluklardır. Enerji üretiminin merkezinde yer alan oksidatif fosforilasyon sisteminin bozulması; kas-iskelet sistemi, sinir sistemi, kalp, karaciğer, böbrek ve endokrin organlar gibi yüksek enerji gereksinimi olan dokularda belirgin klinik bulgulara yol açar. Tanısal süreç, ileri genetik analizler, biyokimyasal testler ve histopatolojik değerlendirmelerin entegrasyonunu gerektirir. Tedavi çoğu zaman semptomatik olmakla birlikte, son yıllarda gen tedavisi, mitokondri hedefli farmakolojik ajanlar ve metabolik destek stratejileri üzerine umut verici çalışmalar yürütülmektedir. Gelecekte, erken tanı ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi, bu nadir fakat yıkıcı hastalıkların prognozunu iyileştirme potansiyeline sahiptir.

KAYNAKÇA

- Ali, A., Esmail, A., & Behbehani, R. (2024). Mitochondrial Chronic Progressive External Ophthalmoplegia. *Brain Sciences*, 14(2), 135. <https://doi.org/10.3390/brainsci14020135>
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., et al. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806), 457–465. <https://doi.org/10.1038/290457a0>
- Andreu, A. L., Hanna, M. G., Reichmann, H., Bruno, C., Penn, A. S., Tanji, K., Pallotti, F., Iwata, S., Bonilla, E., Lach, B., Morgan-Hughes, J., & DiMauro, S. (1999). Exercise intolerance due to mutations in the cytochrome b gene of mitochondrial DNA. *The New England Journal of Medicine*, 341(14), 1037–1044. <https://doi.org/10.1056/NEJM199909303411404>
- Basu, U., Bostwick, A. M., Das, K., Dittenhafer-Reed, K. E., & Patel, S. S. (2020). Structure, mechanism, and regulation of mitochondrial DNA transcription initiation. *Journal of Biological Chemistry*, 295(52), 18406–18425. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.011202>
- Brown, W. M., George, M., Jr., & Wilson, A. C. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(4), 1967–1971. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.4.1967>
- Campos, Y., Martín, M. A., Rubio, J. C., Solana, L. G., García-Benayas, C., Terradas, J. L., & Arenas, J. (1997). Leigh syndrome associated with the T9176C mutation in the ATPase 6 gene of mitochondrial DNA. *Neurology*, 49(2), 595–597. <https://doi.org/10.1212/wnl.49.2.595>
- Chen, Z., et al. (2024). Natural selection shaped the protective effect of the mtDNA lineage against obesity in Han Chinese populations. *Journal of Genetics and Genomics*. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2024.06.005>
- Chinnery, P. F., & Hudson, G. (2013). Mitochondrial genetics. *British Medical Bulletin*, 106(1), 135–159. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldt017>
- Chinnery, P. F., & Prudent, J. (2019). De-fusing mitochondria defuses the mtDNA time-bomb. *Cell Research*, 29, 781–782.
- Conti, F., Di Martino, S., Drago, F., Bucolo, C., Micale, V., Montano, V., Siciliano, G., Mancuso, M., & Lopriore, P. (2023). Red Flags in Primary Mitochondrial Diseases: What Should We Recognize? *International*

- Journal of Molecular Sciences*, 24(23), 16746.
<https://doi.org/10.3390/ijms242316746>
- DiMauro, S., & Schon, E. A. (2003). Mitochondrial respiratory-chain diseases. *The New England Journal of Medicine*, 348(26), 2656–2668.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra022567>
- Distelmaier, F., Koopman, W. J., van den Heuvel, L. P., Rodenburg, R. J., Mayatepek, E., Willems, P. H., & Smeitink, J. A. (2009). Mitochondrial complex I deficiency: from organelle dysfunction to clinical disease. *Brain*, 132(Pt 4), 833–842. <https://doi.org/10.1093/brain/awp058>
- El-Hattab, A. W., & Scaglia, F. (2013). Mitochondrial DNA depletion syndromes: review and updates of genetic basis, manifestations, and therapeutic options. *Neurotherapeutics*, 10(2), 186–198.
<https://doi.org/10.1007/s13311-013-0177-6>
- El-Hattab, A. W., Adesina, A. M., Jones, J., & Scaglia, F. (2015). MELAS syndrome: Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. *Molecular Genetics and Metabolism*, 116(1-2), 4–12.
<https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2015.06.004>
- Finsterer, J. (2025). Polyendocrinopathy and multisystem involvement are common phenotypic features of Kearns-Sayre syndrome. *European Journal of Translational Myology*, 35(2), 13634.
<https://doi.org/10.4081/ejtm.2025.13634>
- Gill, E. L., Wang, J., Viaene, A. N., Master, S. R., & Ganetzky, R. D. (2023). Methodologies in Mitochondrial Testing: Diagnosing a Primary Mitochondrial Respiratory Chain Disorder. *Clinical Chemistry*, 69(6), 564–582. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvad037>
- Gil Borlado, M. C., Moreno Lastres, D., Gonzalez Hoyuela, M., Moran, M., Blazquez, A., Pello, R., Marin Buera, L., Gabaldon, T., Garcia Peñas, J. J., Martín, M. A., Arenas, J., & Ugalde, C. (2010). Impact of the mitochondrial genetic background in complex III deficiency. *PLoS One*, 5(9), e12801. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012801>
- Gorman, G., Chinnery, P., DiMauro, S., et al. (2016). Mitochondrial diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 16080.
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.80>
- Ji, Z., Liu, G. H., & Qu, J. (2022). Mitochondrial sirtuins, metabolism, and aging. *Journal of Genetics and Genomics*, 49(4), 287–298.

<https://doi.org/10.1016/j.jgg.2021.11.005>

- Kearns, T. P., & Sayre, G. P. (1958). Retinitis pigmentosa, external ophthalmoplegia, and complete heart block: unusual syndrome with histologic study in one of two cases. *A.M.A. Archives of Ophthalmology*, 60(2), 280–289.
- Larsson, N. G. (2010). Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. *Annual Review of Biochemistry*, 79, 683–706. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060408-093701>
- Luo, S., Valencia, C. A., Zhang, J., et al. (2018). Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(51), 13039–13044.
- Massie, R., Wong, L. J., & Milone, M. (2010). Exercise intolerance due to cytochrome b mutation. *Muscle & Nerve*, 42(1), 136–140. <https://doi.org/10.1002/mus.21649>
- Morgenstern, M., et al. (2021). Quantitative high-confidence human mitochondrial proteome and its dynamics in cellular context. *Cell Metabolism*, 33(12), 2464–2483.e18.
- Mordel, P., Schaeffer, S., Dupas, Q., Laville, M. A., Gérard, M., Chapon, F., & Allouche, S. (2017). A 2 bp deletion in the mitochondrial ATP 6 gene responsible for the NARP (neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa) syndrome. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 494(1-2), 133–137. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.10.066>
- Ng, W. S. V., Trigano, M., Freeman, T., Varrichio, C., Kandaswamy, D. K., Newland, B., Brancale, A., Rozanowska, M., & Votruba, M. (2021). New avenues for therapy in mitochondrial optic neuropathies. *Therapeutic Advances in Rare Disease*, 2, 26330040211029037. <https://doi.org/10.1177/26330040211029037>
- Nicholls, T. J., & Minczuk, M. (2014). In D-loop: 40 years of mitochondrial 7S DNA. *Experimental Gerontology*, 56, 175–181.
- Rath, S., Sharma, R., Gupta, R., et al. (2020). MitoCarta3.0: An updated mitochondrial proteome now with sub-organelle localization and pathway annotations. *Nucleic Acids Research*, 49, D1541–D1547.
- Romo, L., Gold, N. B., & Walker, M. A. (2024). Endocrine features of primary mitochondrial diseases. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity*, 31(1), 34–42.

<https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000848>

- Rossignol, R., Faustin, B., Rocher, C., Malgat, M., Mazat, J. P., & Letellier, T. (2003). Mitochondrial threshold effects. *Biochemical Journal*, 370, 751–762.
- Sato, K., & Sato, M. (2017). Multiple ways to prevent transmission of paternal mitochondrial DNA for maternal inheritance in animals. *Journal of Biochemistry*, 162(4), 247–253. <https://doi.org/10.1093/jb/mvx052>
- Scarpulla, R. C. (2008). Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiological Reviews*, 88(2), 611–638. <https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2007>
- Son, D., Zheng, J., Kim, I. Y., & You, S. (2021). Self-replicative mRNA-mediated generation of induced pluripotent stem cell line from a 1-year-old Leigh syndrome patient with mitochondrial DNA cytochrome b mutation. *Stem Cell Research*, 54, 102392.
- St John, J., Sakkas, D., Dimitriadi, K., Barnes, A., Maclin, V., Ramey, J., Barratt, C., & De Jonge, C. (2000). Failure of elimination of paternal mitochondrial DNA in abnormal embryos. *Lancet* (London, England), 355(9199), 200. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(99\)03842-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(99)03842-8)
<https://doi.org/10.1016/j.scr.2021.102392>
- Stewart, J. B., & Chinnery, P. F. (2015). The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: Implications for human health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 16(9), 530–542. <https://doi.org/10.1038/nrg3966>
- Taylor, R. W., & Turnbull, D. M. (2005). Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nature Reviews Genetics*, 6(5), 389–402. <https://doi.org/10.1038/nrg1606>
- Temperley, R. J., Wydro, M., Lightowlers, R. N., & Chrzanowska-Lightowlers, Z. M. (2010). Human mitochondrial mRNAs—like members of all families, similar but different. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1797(6–7), 1081–1085. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2010.02.035>
- Uchida, A., et al. (2017). Unexpected sequences and structures of mtDNA required for efficient transcription from the first heavy-strand promoter. *eLife*, 6, e27283.
- Vogel, F., Bornhövd, C., Neupert, W., & Reichert, A. S. (2006). Dynamic subcompartmentalization of the mitochondrial inner membrane. *Journal of Cell Biology*, 175(2), 237–247. <https://doi.org/10.1083/jcb.200605138>

- Wallace, D. C. (2005). A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: A dawn for evolutionary medicine. *Annual Review of Genetics*, 39, 359–407. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.39.110304.095751>
- Wallace, D. C. (2010). Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 51(5), 440–450. <https://doi.org/10.1002/em.20586>
- Wu-Wai-Man, P., Griffiths, P. G., & Chinnery, P. F. (2011). Mitochondrial optic neuropathies - disease mechanisms and therapeutic strategies. *Progress in Retinal and Eye Research*, 30(2), 81–114. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2010.11.002>
- Yoshimi, A., Ishikawa, K., Niemeyer, C., & Grünert, S. C. (2022). Pearson syndrome: a multisystem mitochondrial disease with bone marrow failure. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 17(1), 379. <https://doi.org/10.1186/s13023-022-02538-9>

BÖLÜM 5

GEN TERAPİSİNİN GELECEĞİ: GENOM DÜZENLEME TABANLI TERAPİLER VE GÜNCEL KULLANIMI

Dr. Öğrt. Üye. Burak Muğdat KARAN⁶

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936686>

⁶ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Van, Türkiye. Mail: bkaran@yyu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-9362-9267.

GİRİŞ

Gen terapisi, DNA veya RNA gibi genetik materyalin, hastaların hücrelerine aktarılması yoluyla hastalıkların tedavi edilmesini amaçlayan bir yaklaşımdır. Aktarılan bu genetik materyal, temel olarak üç farklı mekanizma ile terapötik etki sağlar: (i) hedeflenen genin ekspresyonunu sağlamak, (ii) belirli bir genin ifadesini baskılamak ya da (iii) bir gen dizisini doğrudan değiştirmek (Shahryari ve ark., 2019). Gen terapisi fikri, ilk kez yaklaşık elli yıl önce kalıtsal monogenik hastalıkların tedavisine yönelik olarak gündeme getirilmiştir (Friedmann ve Roblin, 1972).

Günümüzde onaylanmış gen terapisi ilaçlarının büyük çoğunluğu, genetik materyalin hedef hücrelere ulaştırılmasında viral vektörler (örneğin, adenovirüsler, AAV'ler) ya da viral olmayan sistemler (örneğin, polimer temelli nanopartiküller, lipozomlar) kullanılmaktadır (Shahryari ve ark., 2019). Bu tedavi stratejileri, hasarlı bir genin fonksiyonel bir kopyasının iletilmesi, mutasyon taşıyan bir genin susturulması veya RNA düzeyinde düzenlemeler gibi farklı moleküler mekanizmalar aracılığıyla etki gösterir.

Gen terapileri, genellikle genetik materyalin iletim stratejisine göre *in vivo* veya *ex vivo* olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır. *Ex vivo* yaklaşımlarda, hastadan alınan hücreler laboratuvar ortamında genetik olarak düzenlendikten sonra yeniden hastaya aktarılır (Gowing ve ark., 2017). Buna karşılık *in vivo* terapilerde, genetik materyal doğrudan hastanın vücudundaki hedef organa veya dokuya iletilir (Mendell ve ark., 2021).

Gen düzenleme teknolojileri, genetik diziler üzerinde hedefli değişiklikler yapabilmek için programlanabilir nükleazların kullanılmasına dayanır. Bu nükleazlar, DNA üzerinde spesifik bölgeleri tanıyarak tek veya çift sarmallı kırıklar oluşturur. Bu kırıklar, hücrenin endojen onarım mekanizmaları aracılığıyla onarılır. Genomdaki çift sarmallı kırıkların (double-strand break, DSB) onarımı için başlıca iki yol vardır: homolog yönlendirmeli onarım (HDR) ve homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ). HDR, hedeflenen düzeltmelerin hassas şekilde yapılmasını sağlarken, NHEJ daha hızlı ancak hata yapmaya açık bir onarım yoludur ve genellikle insersiyon veya delesyon mutasyonlarına yol açar (Liu ve ark., 2019). Bu nedenle, NHEJ genellikle gen nakavt çalışmalarında tercih edilirken, HDR hedefli düzeltmelerde kullanılır.

İzotermal amplifikasyon ve CRISPR/Cas sistemlerini birleştiren nükleik asit tespit yöntemleri, son yıllarda sağlamlık, kolaylık, duyarlılık, özgüllük,

uygun fiyat ve yerinde tespit için potansiyel adaptasyon ile ortaya çıkmıştır (Bilici, 2024). Nükleaz temelli olmayan gen düzenleme yaklaşımlarında ise örneğin baz düzenleme veya primer düzenleme gibi teknikler kullanılır. Bu yöntemler, DNA'da kırık oluşturmada baz düzeyinde hedefli değişiklikler yapılmasına olanak tanır. Bu tür düzenlemeler sonrası hücresel baz çıkarma onarımı veya uyumsuzluk onarımı gibi yollar aktive olur (Kantor ve ark., 2020). Sonuç olarak, gen düzenleme platformları gen susturma (knockout), silme, düzeltme ya da yeni genetik materyalin eklenmesi gibi çeşitli amaçlarla kullanılabilir (Saha ve ark., 2019).

Şu anda, hemen hemen her istenen hedefteki DNA'da DSB'ler oluşturmak üzere programlanabilen dört sınıf nükleaz inceleniyor ve gen düzenlemede kullanılıyor: meganükleazlar, çinko parmak nükleazları (ZFN'ler), efektör nükleazlar (TALEN'ler) ve CRISPR-Cas sistemi (Şekil 1).

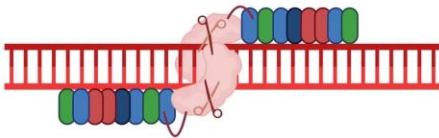
a) ZFN



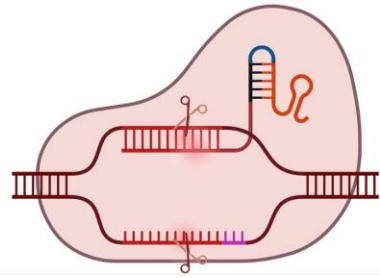
b) Meganucleases



c) TALEN



d) CRISPR/Cas9



Şekil 1: Farklı programlanabilir nükleazlar tarafından indüklenen çift sarmallı kırılmalar (Volodina ve Smirikhina., 2025).

Meganükleazlar (MegN), prokaryotik organizmaların yanı sıra ökaryotların mitokondri ve kloroplastlarında bulunan doğal endonükleazlardır. Bu enzimler, genellikle kendini kesen mobil genetik elementlerin içerisinde yer alan genler tarafından kodlanır. Meganükleazların dikkat çekici özelliği,

yüksek özgüllükle 14–40 baz çifti uzunluğundaki hedef DNA dizilerini tanıyarak çift sarmallı DNA’da kırık oluşturabilmeleridir (Silva ve ark., 2011).

1996 yılında geliştirilen çinko parmak nükleazlar (ZFN), yapay DNA restriksiyon enzimleridir. ZFN’ler, DNA’ya özgü tanıma yeteneği sağlayan çinko parmak polipeptitleri ile kesme aktivitesi gösteren FokI endonükleaz domaininin birleştirilmesiyle oluşturulmuş kimerik proteinlerdir. Çinko parmak bölgesi, spesifik DNA sekanslarını tanıyarak FokI’nin yalnızca hedef lokusta aktifleşmesini sağlar ve böylece genom düzeyinde hedefe yönelik düzenleme gerçekleştirilebilir (Kim ve ark., 1996).

Transkripsiyon aktivatör benzeri efektör nükleazlar (TALEN), 2010 yılında tanıtılmış bir diğer programlanabilir nükleaz sistemidir. Bu sistem, *Xanthomonas* bakterilerinden izole edilen transkripsiyon aktivatör benzeri (TAL) proteinler ve FokI nükleaz bileşeninden oluşur. TAL proteinleri, bitki hücrelerine patojenik saldırılar sırasında belirli genlerin ekspresyonunu düzenleyerek hastalığın yayılmasına katkı sağlar. Her bir TAL modülü, tek bir nükleotidi tanır ve bu durum, TALEN’leri çinko parmak nükleazlara kıyasla daha özgül hale getirir (Sakuma ve Yamamoto, 2023).

En yaygın kullanılan gen düzenleme sistemlerinden biri olan CRISPR/Cas9, bakteriyel adaptif bağışıklık sistemine dayanmaktadır. Bakteriyel genomlarda yer alan kısa tekrar dizileri (CRISPR) ve bu dizilere komşu Cas (CRISPR-ilişkili) genleri, önceki viral enfeksiyonlara ait genetik materyali tanıyıp parçalayarak koruma sağlar. Bu sistem, hedef DNA’nın spesifik olarak tanınmasını sağlayan rehber RNA’lar (crRNA ve tracrRNA) ile Cas9 endonükleazının birlikte çalışmasıyla işlev görür. *Streptococcus pyogenes* kaynaklı Cas9 proteini, iki katalitik domaine (RuvC ve HNH) sahiptir ve PAM (Protospacer Adjacent Motif) sekansının varlığında hedef DNA’yı tanıyıp çift sarmallı kırık oluşturur (Jiang ve Doudna, 2017).

CRISPR-Cas DNA zincirlerini parçalamakla sınırlı değildir, onlarca yıllık araştırma ve geliştirmenin ardından çok çeşitli tek bazlı gen düzenleme, transkripsiyonel düzenleme ve RNA zinciri kesme tekniklerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Bilici ve Ayvazoğlu, 2024). CRISPR teknolojisinin gelişimiyle birlikte, DNA’da tek zincirli kırıklar oluşturarak genetik değişiklikleri daha hassas gerçekleştiren baz düzenleme ve primer düzenleme sistemleri gibi yeni jenerasyon platformlar da geliştirilmiştir. Bu sistemler, genetik düzeyde daha güvenli düzenleme yapılmasına olanak tanır (Kantor ve ark., 2020).

Bu gen düzenleme teknolojileri, hem kalıtsal monogenik hastalıkların doğrudan mutasyon düzeltilmesi yoluyla tedavisinde, hem de HIV gibi viral

enfeksiyonlarda hedef reseptörlerin inaktivasyonu ve kanser tedavisinde T hücrelerinin genetik mühendisliğiyle bağışıklık yanıtının artırılması gibi çeşitli terapötik stratejilerde kullanılmaktadır. Ancak mevcut teknolojilerde karşılaşılan temel zorluklardan biri, düzenleyici nükleazların hedef dışı bölgelerde kırıklar oluşturması sonucu ortaya çıkan öngörülemez genetik değişikliklerdir. Ayrıca, düzenleme verimliliğinin genellikle düşük olması, klinik uygulamalar için önemli bir sınırlayıcıdır (Liu ve ark., 2022).

Gen terapisi uygulamaları konusunda önemli ilerlemeler kaydedilmiş olsa da genom düzenleme sistemlerinin hücre içinde uzun süre kalmaları potansiyel hedef dışı etkiler açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, düzenleme tamamlandıktan sonra editör enzimlerin hücreden mümkün olan en kısa sürede uzaklaştırılması, güvenli ve etkili tedavi için kritik bir stratejidir. Bu doğrultuda hem yeterli taşıma kapasitesine sahip hem de geçici ekspresyon sağlayan dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi, güncel araştırmaların öncelikli hedefi haline gelmiştir.

1. GEN DÜZENLEME ARAÇLARININ HÜCREYE İLETİM YÖNTEMLERİ

Gen düzenleme teknolojilerinin etkili ve güvenli biçimde uygulanabilmesi, uygun iletim yöntemlerinin seçilmesine bağlıdır. Araştırmacılar, en verimli iletim stratejisini belirleyebilmek adına çeşitli viral ve viral olmayan sistemleri denemektedir. Yeni, hedefli ve düşük toksisiteli terapötik ajanların geliştirilmesi, önemli bir küresel sağlık sorunu olmaya devam eden kanserle mücadelede hayati önem taşımaktadır (Bilici ve Akkoç, 2025). Uygun yöntemin seçimi; kullanılacak gen düzenleme aracının tipi, hedef hücre popülasyonu ve terapötik hedefe göre değişkenlik göstermektedir (Tablo 1) (Morgan ve ark., 2021; Wahane ve ark., 2020).

Tablo 1: Gen tedavisi İletim yöntemleri (Ginn ve ark., 2018; Kotterman ve ark., 2015; Wang ve ark., 2016; Ramamoorth ve ark., 2015; Kay 2011; Volodina ve Smirnikhina., 2025).

Yöntem	Tipi	Taşıma Formu	Avantajları	Dezavantajları
Retroviral Vektörler	Viral	DNA	Stabil gen ekspresyonu, genom entegrasyonu	Sadece bölünen hücrelerde çalışır, insersiyonel mutagenез riski
Lentiviral Vektörler	Viral	DNA	Hem bölünen hem bölünmeyen hücrelerde etkili, stabil ekspresyon	İmmünojenisite, insersiyonel mutagenез
Adenovirüs Vektörleri	Viral	DNA	Yüksek verimlilik, genom entegrasyonu yok	Geçici ekspresyon, yüksek immünojenisite
AAV Vektörleri	Viral	DNA	Düşük immünojenisite, bölünmeyen hücrelerde etkili	Düşük taşıma kapasitesi (~4.8 kb)
Mikroenjeksiyon	Viral olmayan	Protein/RNA/DNA	Yüksek hassasiyet, doğrudan hedefleme	Tek hücrelik uygulama, teknik zorluk
Elektroporasyon	Viral olmayan	RNA/DNA/Protein	Geniş hücre tipi uyumluluğu, yüksek verim	Hücre canlılığını azaltabilir
CPP (Hücreye Nüfuz Eden Peptitler)	Viral olmayan	Protein	Protein taşınabilirliği, düşük toksisite	Yüksek maliyet, verimlilik düşüklüğü
Lipit Bazlı Nanopartiküller	Viral olmayan	RNA/DNA/Protein	Düşük immünojenisite, biyoyumlu	Düşük taşıma verimliliği
Polimer Bazlı Nanopartiküller	Viral olmayan	RNA/DNA	Kimyasal modifikasyon kolaylığı, nükleaz koruması	Endositoz sonrası kaçış sorunu
DNA Nanoyapıları	Viral olmayan	DNA/Protein	Yüksek taşıma kapasitesi, biyobozunur	Üretim karmaşıklığı
Altın Nanopartikülleri	Viral olmayan	Protein	Kimyasal stabilite, yüzey modifikasyonu kolay	Biyoyumluluk sınırlı, taşıma kapasitesi düşük

1.1. Viral İletim Sistemleri

Gen terapisinde yaygın olarak kullanılan viral vektörler, yüksek genetik materyal iletim verimliliğine sahiptir. Ancak bu sistemler, immünojenisite, insersiyonel mutagenез ve sınırlı gen taşıma kapasitesi gibi dezavantajlar da taşımaktadır (Butt ve ark., 2022).

4.1.1. Retroviral ve Lentiviral Vektörler

Retroviral vektörler (örn. MoMLV) genoma entegre olabilen vektörlerdir ve genetik yükün stabil ekspresyonunu sağlarlar. Lentiviral vektörler ise HIV-1 tabanlı olup bölünmeyen hücrelerde bile genom entegrasyonu sağlayabilirler. Lentivirüsler yaklaşık 8 kb kapasiteye sahip olup hem bölünen hem de bölünmeyen hücrelerde kullanılabilir. Ancak yüksek insersiyonel mutagenез riski taşırlar (Dong ve Kantor, 2021; Loewen ve Poeschla, 2005; Carter ve Shieh, 2015).

1.1.2. Adenovirüs Vektörleri

Zarfsız, çift sarmallı DNA içeren adenovirüsler yaklaşık 8 kb genetik materyal taşıyabilir ve bölünmeyen hücrelerde ekspresyon sağlar. Genoma entegre olmazlar; bu, daha geçici bir ekspresyon sağlar. Fakat yüksek immünojenisiteye ve inflamatuvar yan etkilere neden olabilirler (Wold ve Toth, 2013).

1.1.3. Adeno-ilişkili Virüs (AAV)

AAV'ler, tek sarmallı DNA taşıyan ve insan için patojen olmayan virüslerdir. Genetik materyali bölünmeyen hücrelerde ifade edebilir ve düşük immünojenisiteye sahiptir. En büyük sınırlamaları, yaklaşık 4.8 kb'lık düşük taşıma kapasiteleridir. Ancak bu sınırlamayı aşmak için split-sistemler geliştirilmiştir (Syam ve ark., 2022).

1. 2. Viral Olmayan İletim Yöntemleri

Viral olmayan iletim sistemleri, viral vektörlerin potansiyel güvenlik risklerini ortadan kaldıran, daha güvenli ve tekrarlanabilir tekniklerdir. Özellikle ex vivo uygulamalarda yaygın olarak tercih edilirler (Nyamay'Antu ve ark., 2019). Bu yöntemler genel olarak üç ana grupta incelenebilir:

- 1) Fiziksel yöntemler (mikroenjeksiyon, elektroporasyon gibi),
- 2) Biyokimyasal yöntemler (hücreye nüfuz eden peptitler),

3) Nanopartikül tabanlı yöntemler (lipit bazlı, polimer bazlı, DNA nanoyapıları, altın nanopartikülleri).

1.2.1. Fiziksel Yöntemler

Fiziksel yöntemlerde gen düzenleme araçları doğrudan hücre içine mekanik ya da fiziksel bir kuvvet yardımıyla aktarılır. Mikroenjeksiyon, bu tekniklerden biridir ve gen düzenleme araçlarının hücre sitoplazmasına veya çekirdeğine mikro iğneler yardımıyla doğrudan enjekte edilmesini sağlar. Yüksek hassasiyet sunmasına karşın teknik olarak zordur ve yalnızca ex vivo uygulamalara uygundur (Pupo ve ark., 2022). Elektroporasyon ise hücre zarında geçici gözenekler oluşturarak genetik materyalin hücre içine girişini mümkün kılar. Geniş hücre tiplerinde uygulanabilir ve özellikle ex vivo sistemlerde yaygındır; ancak hücre canlılığı üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir (Lino ve ark., 2018; Gehl, 2003).

1.2.2. Biyokimyasal Yöntemler

Biyokimyasal yöntemlerde, hücre zarını geçebilen özel moleküller kullanılır. Hücreye nüfuz eden peptitler (CPP'ler), Cas9, TALEN ve ZFN gibi büyük moleküllerin hücre içine alınmasını sağlayabilir. Bununla birlikte taşınabilirlik ve etkinlik açısından optimizasyon gerektirir ve çoğunlukla ex vivo koşullarda tercih edilir (Taylor ve Zahid, 2020; Liu ve ark., 2014).

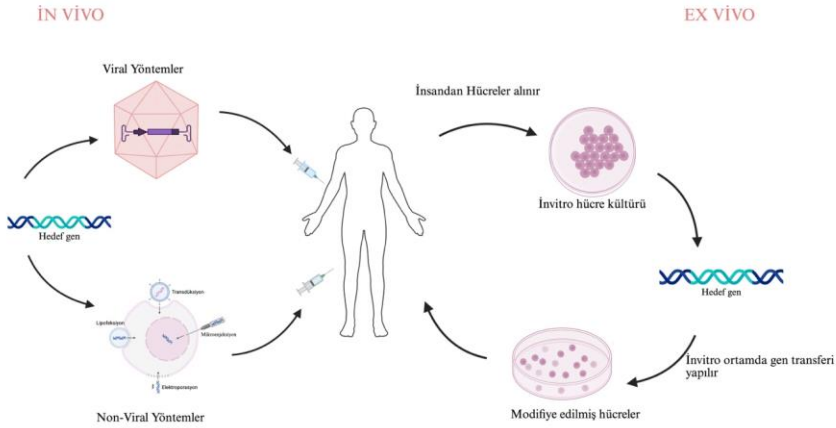
1.2.3. Nanopartikül Tabanlı Yöntemler

Nanoteknoloji tabanlı iletim sistemleri, genetik materyali hedef hücrelere taşımak için çeşitli nanopartikül yapılarını kullanır. Lipit bazlı nanopartiküller, özellikle katyonik lipozomlar, genetik materyali stabilize eder ve zar geçirgenliğini artırarak çekirdeğe girişini kolaylaştırır. Düşük immünojenisiteye sahip olmalarına rağmen verimlilikleri sınırlıdır hem ex vivo hem de in vivo uygulamalara uygundur (Wahane ve ark., 2020; Kazemian ve ark., 2022). Polimer bazlı nanopartiküller, endositoz yoluyla hücre içine girer ve katyonik yapıları sayesinde genetik yükü nükleazlardan korur. Ayrıca kimyasal modifikasyonlara elverişlidir (Duan ve ark., 2021). DNA nanoyapıları ise Watson-Crick baz eşleşmesine dayalı olarak tasarlanır, yüksek genetik yük taşıma kapasitesine sahiptir ve biyobozunur özellik gösterir. Yuvarlanan daire amplifikasyonu (RCA) ile üretimleri kolaydır ve CRISPR/Cas9 RNP'lerin hem ex vivo hem de in vivo taşınmasında başarıyla kullanılmıştır (Sun ve ark.,

2015). Altın nanopartikülleri ise yüzeyleri sülfidril gruplarla modifiye edilerek elektrostatik etkileşimlerle Cas9 proteininin hücre çekirdeğine taşınmasını sağlar; yüksek kontrol edilebilirlik ve kimyasal stabilite sunar (Duan ve ark., 2021).

2. GEN TERAPİSİNİN UYGULAMA YÖNTEMLERİ

Gen terapilerinin klinik etkinliği büyük ölçüde genetik materyalin hedef hücrelere nasıl iletildiğine, yani uygulama yöntemine bağlıdır. Bu yöntemler temel olarak iki ana gruba ayrılır: *in vivo* ve *ex vivo* uygulamalar (Şekil 2). Uygulama stratejisinin seçimi, hastalığın tipi, hedeflenen hücre popülasyonu ve kullanılacak genetik araçların özelliklerine göre şekillenmektedir. Bu bağlamda, gen terapilerinin uygulanma yöntemleri, tedavinin başarısı açısından belirleyici unsurlardan biridir (Bulcha ve ark., 2021).



Şekil 2: Ex vivo ve İn vivo gen terapisi uygulama yöntemi (BioRender da yapılmıştır).

2.1. Ex Vivo Uygulamaları

Bir önceki bölümde açıklanan gen iletim yöntemleri, gen terapisi uygulamalarında farklı stratejilerle kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin her biri, kendi bağlamında ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Özellikle *ex vivo*

yaklaşım, hastadan alınan hücrelerin genetik olarak düzenlendikten sonra tekrar hastaya verilmesini temel alır. Bu yöntemde sıklıkla hematopoetik kök hücreler tercih edilir; çünkü genetik olarak düzeltilmiş hücreler, işlevini yitirmiş hücreleri etkili bir şekilde ikame edebilir. *Ex vivo* gen tedavisi, sadece viral vektörler, lipozomlar ve polimer bazlı taşıyıcı sistemleri değil, aynı zamanda elektroporasyon gibi fiziksel iletim yöntemlerinin de kullanılmasına olanak tanır; bu durum yöntemin önemli avantajlarından biridir (Dunbar ve ark., 2018). Ayrıca, bu süreçte toksisite riski daha az önemlidir çünkü hasar görmemiş hücreler seçilip çoğaltılabilir. Viral vektörlerin neden olabileceği insersiyonel mutagenез riski de *ex vivo* uygulamalarda, özellikle immünoterapilerde daha az sorun teşkil eder (Li ve ark., 2020). Bununla birlikte, yöntemin sınırlılıkları da bulunmaktadır. *Ex vivo* gen tedavisi yalnızca belirli hücre türleriyle uygulanabilir ve tedavi edilen hücre oranı genellikle düşüktür. Ayrıca, bu teknik karmaşık laboratuvar koşulları ve yüksek maliyet gerektirir. Günümüzde *ex vivo* gen düzenleme yöntemleri, başta hematolojik hastalıklar, bulaşıcı hastalıklar (örneğin HIV) ve kanser immünoterapileri olmak üzere çeşitli klinik araştırmalarda başarıyla test edilmektedir. Bu çalışmalar genellikle CRISPR/Cas9 gibi farklı gen düzenleme platformlarını temel almakta olup, hedef hücreler çoğunlukla kan hücreleri ve T lenfositleridir (Frangoul ve ark., 2021; Stadtmayer ve ark., 2020).

2.2. *In Vivo* Uygulamaları

Gen terapisi uygulamalarında kullanılan bir diğer önemli strateji, genetik materyalin doğrudan hedef organa veya komşu damar sistemine verilmesini içeren *in vivo* yaklaşımdır (High ve Roncarolo, 2019; Ginn ve ark., 2018). Bu yöntem, genetik yükün vücut dışında manipülasyona gerek kalmaksızın doğrudan uygulanmasını sağlayarak, tedavi sürecini basitleştirir ve maliyetleri düşürür. *Ex vivo* stratejilerin aksine, *in vivo* yaklaşımlar hastadan hücre izolasyonu, genetik düzeltme ve yeniden infüzyon gibi karmaşık işlemleri ortadan kaldırır. Bu durum, özellikle geniş popülasyonlara uygulanabilirlik açısından önemli bir avantaj sunmaktadır (Wang ve ark., 2020). Ancak, *in vivo* uygulamanın bazı temel sınırlılıkları bulunmaktadır. Bunlar arasında hastanın viral vektörlere karşı geliştirdiği bağışıklık tepkileri, genetik materyalin hedef hücrelere ve hücre çekirdeğine yeterli verimle taşınamaması, viral olmayan taşıyıcıların düşük etkinliği ve potansiyel toksisite gibi sorunlar yer alır (Bulcha

ve ark., 2021). Ayrıca, çoğu durumda elde edilen genetik değişikliklerin geçici olması, uzun vadeli terapötik etkinliği sınırlandırabilir. Bu yaklaşım, özellikle karaciğer, göz, akciğer ve iskelet kası gibi organları etkileyen monogenik hastalıkların tedavisinde veya bu tedavilerin geliştirilmesinde yaygın olarak araştırılmaktadır (Naldini, 2015). Bununla birlikte, gen düzenleme teknolojilerinin *in vivo* uygulamaları, potansiyel güvenlik riskleri nedeniyle hâlâ sınırlı sayıda klinik çalışmada değerlendirilebilmiştir. İlerleyen bölümlerde, bu yaklaşımın uygulama yöntemleri ve güncel klinik araştırmaları ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

3. KLİNİK UYGULAMALARI

Gen tedavisi, kalıtsal veya edinilmiş genetik bozuklukların doğrudan DNA düzeyinde düzeltilmesini amaçlayan ileri düzey bir tedavi stratejisidir. Klinik uygulamalarda özellikle monogenik hastalıklar üzerine odaklanılmış olup, bu alanda kaydedilen gelişmeler sayesinde çeşitli genetik hastalıklar için onaylı gen terapötikleri geliştirilmiştir. Örneğin, spinal müsküler atrofi (SMA) hastalığında kullanılan onasemnogene abeparvovec-xioi (Zolgensma), SMN1 genini adeno-assosiyasyon virüsü (AAV9) aracılığıyla doğrudan motor nöronlara taşıyarak hastalığın ilerleyişini yavaşlatmakta ve motor fonksiyonları iyileştirmektedir (Mendell ve ark., 2017). Leber konjenital amaurozisi (LCA) gibi retina distrofilerinde ise voretigene neparvovec (Luxturna) adlı AAV-temelli gen terapisi, RPE65 genindeki mutasyonu düzeltmek suretiyle hastalarda görme fonksiyonunun önemli ölçüde iyileşmesini sağlamıştır (Russell ve ark., 2017). Beta talasemi ve orak hücreli anemi hastalıklarında CRISPR/Cas9 tabanlı *ex vivo* gen düzenleme yöntemleri kullanılarak hemoglobin üretimini düzenleyen genler üzerinde düzeltmeler yapılmış; bu hastalar, tekrarlayan kan transfüzyonlarına olan bağımlılıktan büyük ölçüde kurtulmuştur (Frangoul ve ark., 2021). Ayrıca, mukopolisakkaridoz tip I (MPS I) ve hemofili B gibi lizozomal depo ve koagülasyon bozukluklarında, gen transferi yoluyla eksik enzimlerin veya pıhtılaşma faktörlerinin sentezi mümkün hâle gelmiş ve bazı bireylerde kalıcı terapötik etki sağlanmıştır (Naldini, 2019). Bununla birlikte, gen tedavisinin uzun dönem güvenliği, bağışıklık yanıtları, vektör entegrasyonuna bağlı olası genotoksisite ve düzenlenmiş genlerin kontrolsüz ekspresyon riski gibi konular halen dikkatle izlenmekte ve araştırılmaktadır.

4. GELECEKTEKİ BEKLENTİLER VE ZORLUKLAR

Sunulan veriler, *ex vivo* tedavi yaklaşımlarının *in vivo* yöntemlere kıyasla daha ileri düzeyde geliştiğini ve klinik uygulamalara geçişte daha hızlı ilerlediğini ortaya koymaktadır. Bu üstünlük, öncelikle genetik materyalin vücut dışında izole edilen hücrelere aktarımındaki yüksek verimlilikten kaynaklanmaktadır. Özellikle viral vektörlerin veya elektroporasyon gibi yöntemlerin entegrasyonu, genetik olarak modifiye edilmiş hücrelerin zenginleştirilmesini ve bu hücre havuzunun genişletilmesini mümkün kılmaktadır. Bu unsurlar, modifiye hücrelerin hastaya yeniden transferi sonrası tedavi etkinliği üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Buna karşılık, *in vivo* yaklaşımlar; yalnızca güvenli vektörlerin (örneğin, sınırlı taşıma kapasitesi nedeniyle AAV kullanımı kısıtlıdır) kullanılabilmesi, potansiyel yan etkilerin azaltılması amacıyla düşük dozlarda uygulanma zorunluluğu gibi çeşitli sınırlamalara sahiptir. Bu sınırlamalar, genel tedavi etkinliğini azaltmakta ve dolayısıyla *in vivo* gen düzenleme tekniklerine dayalı klinik çalışmaların sayısının sınırlı kalmasına neden olmaktadır (Volodina ve Smirnikhina., 2025).

Gen düzenleyici moleküllerin boyutu, gen düzenleme yaklaşımlarında karşılaşılan temel sınırlayıcı faktörlerden biridir. DNA, RNA veya ribonükleoprotein (RNP) kompleksleri gibi gen düzenleyiciler genellikle büyük yapıli moleküller olup, bunların etkin şekilde taşınması ve hedef hücrelere ulaştırılması önemli teknik zorluklar doğurmaktadır. Örneğin, en küçük genetik elemanlardan biri olan *Staphylococcus aureus* kaynaklı Cas9 kaseti ve buna eşlik eden tek bir kılavuz RNA, yalnızca belirli bir genin inaktivasyonunu sağlayabilmekte; ancak hastalığa neden olan spesifik mutasyonların düzeltilmesi gibi daha karmaşık düzenleme işlemleri için yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, baz düzenleme veya primer düzenleme gibi daha gelişmiş genom düzenleme teknikleri, genellikle daha az güvenilir veya daha düşük verimlilik gösteren uygulama yöntemlerine ihtiyaç duymaktadır (Volodina ve Smirnikhina., 2025).

In vivo ortamda gen düzenleyicilerin uygulanabilirliği ise çoğunlukla düşüktür. Bu yöntemlerle elde edilen düzenleme verimliliği sıklıkla %100'ün altında kalmakta, hatta bazı durumlarda %50'nin altına düşmektedir. Bu durum, Mukopolisakkaridoz tip I/II (MPS I/II) ve hemofili B gibi hastalıkların tedavisinde geliştirilen bazı genetik ilaçlarda gözlemlendiği üzere, genel tedavi başarısını sınırlamakta ve klinik etkinliğin düşük kalmasına yol açmaktadır

(Wang ve ark., 2021). Ayrıca, yalnızca vektörlerin taşıma ve paketlenme kapasiteleri değil, aynı zamanda hedef hücrelerdeki kalıcılık süreleri de terapötik etkinliği belirleyen önemli unsurlar arasında yer almaktadır. Antisens oligonükleotidler (ASO) ve küçük enterferans RNA'lar (siRNA) gibi gen replasman veya susturma stratejilerinde etkinin süresi genellikle terapötik molekülün hücre içi stabilitesine bağlıken, gen düzenleme teknolojilerinde düzenleyici moleküllerin hücrede uzun süreli kalması, hedef dışı bölgelerde istenmeyen genetik değişikliklere neden olabilmektedir.

Tüm bu faktörler göz önüne alındığında, araştırmacılar, viral olmayan taşıyıcı sistemlerin, gen düzenlemesine dayalı gen tedavilerinde hem güvenlik hem de uygulama açısından daha avantajlı olabileceğini ileri sürmektedir. Taşıma sistemlerinin iyileştirilmesi, kapasitelerini artırmak, bağışıklık tepkilerini azaltmak ve taşıma verimliliğini ve hedeflemeyi geliştirmek için elzemdir. Bağışıklık tepkisi sorunu kapsid proteinleri değiştirilerek çözüldüğü takdirde, adenovirüs yeterli kapasitesi ve genetik güvenliği sayesinde diğer viral vektörlere göre daha büyük bir avantaj elde edebilir.

SONUÇ

Sonuç olarak, gen tedavi yöntemleri, özellikle gen transferi, gen susturma ve gen düzenleme gibi teknolojik yaklaşımlar aracılığıyla, kalıtsal ve edinilmiş birçok hastalığın tedavisinde devrim niteliğinde olanaklar sunmaktadır. Viral ve viral olmayan vektör sistemlerinin gelişimi, genetik materyalin hedef hücrelere güvenli ve etkin bir şekilde iletilmesini mümkün kılarak, genetik düzeyde kalıcı iyileşmelerin önünü açmaktadır. CRISPR/Cas9, baz düzenleme ve primer düzenleme gibi hassas gen düzenleme teknolojilerinin klinik çalışmalarda kullanılmaya başlanması, tedavi edilemez kabul edilen birçok genetik hastalık için umut verici bir gelecek vadetmektedir. Bununla birlikte, tedavi verimliliğini artırmaya yönelik biyoteknolojik inovasyonlar, hedef dışı etkilerin azaltılması ve uzun vadeli güvenliğin sağlanması gibi araştırma alanlarında daha fazla ilerleme kaydedilmesi gerekmektedir. Önümüzdeki yıllarda, yalnızca monogenik hastalıklarla sınırlı kalmaksızın, kompleks hastalıkların (kanser, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler bozukluklar) da genetik düzeyde tedavi edilmesi mümkün hale gelebilecektir. Bu bağlamda, gen tedavisinin bireyselleştirilmiş tıp yaklaşımlarıyla birleşerek, modern tıbbın temel taşlarından biri haline gelmesi beklenmektedir.

KAYNAKÇA

- Bilici, E. (2024). CRISPR Teknolojisi ile Zoonotik Bruselloz Tanısına Genel Bakış. *Kafkasya Journal of Health Sciences*, 1(2), 42-47.
- Bilici, E., & Akkoç, S. (2025). *In vitro* cytotoxicity in A549, Hepg2, MCF-7, and DLD-1 cancer cell lines and ADME/ toxin analysis of a benzimidazole derivative. *Journal of King Saud University – Science*. 37(2), 4242024.
- Bilici, E., & Ayvazoğlu, P. (2024). Opinion of Academicians Regarding the Use of the CRISPR-Cas System in Türkiye. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 8(4): 1086-1098.
- Bulcha, J. T., Wang, Y., Ma, H., Tai, P. W. L., & Gao, G. (2021). Viral vector platforms within the gene therapy landscape. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 53. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00487-6>
- Butt, M. H., Zaman, M., Ahmad, A., Khan, R., Mallhi, T. H., Hasan, M. M., Khan, Y. H., Hafeez, S., Massoud, E. E. S., Rahman, M. H., & Cavalu, S. (2022). Appraisal for the Potential of Viral and Nonviral Vectors in Gene Therapy: A Review. *Genes*, 13(8), 1370. <https://doi.org/10.3390/genes13081370>
- Carter, M., & Shieh, J. (2015). Chapter 11 – Gene delivery strategies. In M. Carter & J. Shieh (Eds.), *Guide to research techniques in neuroscience* (Second Edition) (pp. 239–252). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800511-8.00011-3>
- Dong, W., & Kantor, B. (2021). Lentiviral Vectors for Delivery of Gene-Editing Systems Based on CRISPR/Cas: Current State and Perspectives. *Viruses*, 13(7), 1288. <https://doi.org/10.3390/v13071288>
- Duan, L., Ouyang, K., Xu, X., Xu, L., Wen, C., Zhou, X., Qin, Z., Xu, Z., Sun, W., & Liang, Y. (2021). Nanoparticle Delivery of CRISPR/Cas9 for Genome Editing. *Frontiers in genetics*, 12, 673286. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.673286>
- Dunbar, C. E., High, K. A., Joung, J. K., Kohn, D. B., Ozawa, K., & Sadelain, M. (2018). Gene therapy comes of age. *Science*, 359(6372), eaan4672. <https://doi.org/10.1126/science.aan4672>
- Frangoul, H., Altshuler, D., Cappellini, M. D., Chen, Y. S., Domm, J., Eustace,

- B. K., ... & Walters, M. C. (2021). CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia. *New England Journal of Medicine*, 384(3), 252–260. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031054>
- Friedmann, T., & Roblin, R. (1972). Gene therapy for human genetic disease?. *Science (New York, N.Y.)*, 175(4025), 949–955. <https://doi.org/10.1126/science.175.4025.949>
- Gehl J. (2003). Electroporation: theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research. *Acta physiologica Scandinavica*, 177(4), 437–447. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2003.01093.x>
- Ginn, S. L., Amaya, A. K., Alexander, I. E., Edelstein, M. L., & Abedi, M. R. (2018). Gene therapy clinical trials worldwide to 2017: An update. *The Journal of Gene Medicine*, 20(5), e3015. <https://doi.org/10.1002/jgm.3015>
- Gowing, G., Svendsen, S., & Svendsen, C. N. (2017). Ex vivo gene therapy for the treatment of neurological disorders. *Progress in brain research*, 230, 99–132. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2016.11.003>
- High, K. A., & Roncarolo, M. G. (2019). Gene therapy. *The New England Journal of Medicine*, 381(5), 455–464. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1706910>
- Jiang, F., & Doudna, J. A. (2017). CRISPR-Cas9 Structures and Mechanisms. *Annual review of biophysics*, 46, 505–529. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-062215-010822>
- Kantor, A., McClements, M. E., & MacLaren, R. E. (2020). CRISPR-Cas9 DNA Base-Editing and Prime-Editing. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6240. <https://doi.org/10.3390/ijms21176240>
- Kay, M. A. (2011). State-of-the-art gene-based therapies: The road ahead. *Nature Reviews Genetics*, 12(5), 316–328. <https://doi.org/10.1038/nrg2971>
- Kazemian, P., Yu, S. Y., Thomson, S. B., Birkenshaw, A., Leavitt, B. R., & Ross, C. J. D. (2022). Lipid-Nanoparticle-Based Delivery of CRISPR/Cas9 Genome-Editing Components. *Molecular pharmaceutics*, 19(6), 1669–1686. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.1c00916>
- Kim, Y. G., Cha, J., & Chandrasegaran, S. (1996). Hybrid restriction enzymes:

- zinc finger fusions to Fok I cleavage domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(3), 1156–1160. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.3.1156>
- Kotterman, M. A., Chalberg, T. W., & Schaffer, D. V. (2015). Viral vectors for gene therapy: Translational and clinical outlook. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 17, 63–89. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-104938>
- Li, H., Haurigot, V., Doyon, Y., Li, T., Wong, S. Y., Bhagwat, A. S., ... & Gao, G. (2020). In vivo genome editing restores hemostasis in a mouse model of hemophilia. *Nature*, 475(7355), 217–221. <https://doi.org/10.1038/nature10154>
- Lino, C. A., Harper, J. C., Carney, J. P., & Timlin, J. A. (2018). Delivering CRISPR: a review of the challenges and approaches. *Drug delivery*, 25(1), 1234–1257. <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1474964>
- Liu, G., Lin, Q., Jin, S., & Gao, C. (2022). The CRISPR-Cas toolbox and gene editing technologies. *Molecular cell*, 82(2), 333–347. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.12.002>
- Liu, J., Gaj, T., Patterson, J. T., Sirk, S. J., & Barbas, C. F., 3rd (2014). Cell-penetrating peptide-mediated delivery of TALEN proteins via bioconjugation for genome engineering. *PloS one*, 9(1), e85755. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085755>
- Liu, M., Rehman, S., Tang, X., Gu, K., Fan, Q., Chen, D., & Ma, W. (2019). Methodologies for Improving HDR Efficiency. *Frontiers in genetics*, 9, 691. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00691>
- Loewen, N., & Poeschla, E. M. (2005). Lentiviral vectors. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, 99, 169–191. https://doi.org/10.1007/10_007
- Mendell, J. R., Al-Zaidy, S. A., Rodino-Klapac, L. R., Goodspeed, K., Gray, S. J., Kay, C. N., Boye, S. L., Boye, S. E., George, L. A., Salabarria, S., Corti, M., Byrne, B. J., & Tremblay, J. P. (2021). Current Clinical Applications of In Vivo Gene Therapy with AAVs. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 29(2), 464–488. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.12.007>
- Mendell, J. R., Al-Zaidy, S., Shell, R., Arnold, W. D., Rodino-Klapac, L. R.,

- Prior, T. W., ... & Kaspar, B. K. (2017). Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. *New England Journal of Medicine*, 377(18), 1713–1722. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706198>
- Morgan, M. A., Galla, M., Grez, M., Fehse, B., & Schambach, A. (2021). Retroviral gene therapy in Germany with a view on previous experience and future perspectives. *Gene therapy*, 28(9), 494–512. <https://doi.org/10.1038/s41434-021-00237-x>
- Naldini, L. (2019). Gene therapy returns to centre stage. *Nature*, 526(7573), 351–360. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1524-5>
- Nienhuis, A. W., Dunbar, C. E., & Sorrentino, B. P. (2006). Genotoxicity of retroviral integration in hematopoietic cells. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 13(6), 1031–1049. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.03.001>
- Nyamay'Antu, A., Dumont, M., Keding, V., & Erbacher, P. (2019). Non-viral vector mediated gene delivery: The outsider to watch out for in gene therapy. *Immuno-oncology Insights*, 5 (S1), 51-57. <https://doi.org/10.18609/cgti.2019.007>
- Pupo, A., Fernández, A., Low, S. H., François, A., Suárez-Amarán, L., & Samulski, R. J. (2022). AAV vectors: The Rubik's cube of human gene therapy. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 30(12), 3515–3541. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.09.015>
- Ramamoorth, M., & Narvekar, A. (2015). Non viral vectors in gene therapy - An overview. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(1), GE01–GE06. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/10443.5394>
- Russell, S., Bennett, J., Wellman, J. A., Chung, D. C., Yu, Z. F., Tillman, A., ... & Maguire, A. M. (2017). Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: A randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *The Lancet*, 390(10097), 849–860. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31868-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31868-8)
- Saha, S. K., Saikot, F. K., Rahman, M. S., Jamal, M. A. H. M., Rahman, S. M. K., Islam, S. M. R., & Kim, K. H. (2019). Programmable Molecular Scissors: Applications of a New Tool for Genome Editing in Biotech. *Molecular therapy. Nucleic acids*, 14, 212–238.

- <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.11.016>
- Sakuma, T., & Yamamoto, T. (2023). Updated Overview of TALEN Construction Systems. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2637, 27–39. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3016-7_2
- Shahryari, A., Saghaeian Jazi, M., Mohammadi, S., Razavi Nikoo, H., Nazari, Z., Hosseini, E. S., Burtscher, I., Mowla, S. J., & Lickert, H. (2019). Development and Clinical Translation of Approved Gene Therapy Products for Genetic Disorders. *Frontiers in genetics*, 10, 868. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00868>
- Silva, G., Poirot, L., Galetto, R., Smith, J., Montoya, G., Duchateau, P., & Pâques, F. (2011). Meganucleases and other tools for targeted genome engineering: perspectives and challenges for gene therapy. *Current gene therapy*, 11(1), 11–27. <https://doi.org/10.2174/156652311794520111>
- Stadtmauer, E. A., Fraietta, J. A., Davis, M. M., Cohen, A. D., Weber, K. L., Lancaster, E., ... & June, C. H. (2020). CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. *Science*, 367(6481), eaba7365. <https://doi.org/10.1126/science.aba7365>
- Sun, W., Ji, W., Hall, J. M., Hu, Q., Wang, C., Beisel, C. L., & Gu, Z. (2015). Self-assembled DNA nanoclews for the efficient delivery of CRISPR-Cas9 for genome editing. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 54(41), 12029–12033. <https://doi.org/10.1002/anie.201506030>
- Sun, W., Lu, Y., & Gu, Z. (2015). Rolling circle replication for engineering drug delivery carriers. *Therapeutic delivery*, 6(7), 765–768. <https://doi.org/10.4155/tde.15.27>
- Taylor, R. E., & Zahid, M. (2020). Cell Penetrating Peptides, Novel Vectors for Gene Therapy. *Pharmaceutics*, 12(3), 225. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030225>
- Themis, M., Forbes, S. J., Chan, L., Cooper, R. G., Etheridge, C. J., Miller, A. D., Hodgson, H. J., & Coutelle, C. (1998). Enhanced in vitro and in vivo gene delivery using cationic agent complexed retrovirus vectors. *Gene therapy*, 5(9), 1180–1186. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3300715>
- Volodina, O., & Smirnikhina, S. (2025). The Future of Gene Therapy: A Review of In Vivo and Ex Vivo Delivery Methods for Genome Editing-Based Therapies. *Molecular biotechnology*, 67(2), 425–437. <https://doi.org/10.1007/s12033-024-01070-4>

- Wahane, A., Waghmode, A., Kapphahn, A., Dhuri, K., Gupta, A., & Bahal, R. (2020). Role of Lipid-Based and Polymer-Based Non-Viral Vectors in Nucleic Acid Delivery for Next-Generation Gene Therapy. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(12), 2866. <https://doi.org/10.3390/molecules25122866>
- Wang, D., Tai, P. W. L., & Gao, G. (2020). Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(5), 358–378. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0012-9>
- Wang, M., Zuris, J. A., Meng, F., Rees, H., Sun, S., Deng, P., ... & Zhang, F. (2016). Efficient delivery of genome-editing proteins using bioreducible lipid nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(11), 2868–2873. <https://doi.org/10.1073/pnas.1520244113>
- Wang, Z., Li, N., Feng, K., Chen, M., Zhang, Y., Liu, Y., Yang, Q., Nie, J., Tang, N., Zhang, X., Cheng, C., Shen, L., He, J., Ye, X., Cao, W., Wang, H., & Han, W. (2021). Phase I study of CAR-T cells with PD-1 and TCR disruption in mesothelin-positive solid tumors. *Cellular & molecular immunology*, 18(9), 2188–2198. <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00749-x>
- Wold, W. S., & Toth, K. (2013). Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy. *Current gene therapy*, 13(6), 421–433. <https://doi.org/10.2174/1566523213666131125095046>

BÖLÜM 6

UZUN KODLANMAYAN RNA'LAR: siRNA'lar ile TERAPÖTİK HEDEFLLENME

Dr. Öğr. Üyesi Fatma YILDIZ⁷
Dr. Emine ERDAĞ⁸

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936692>

⁷ Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Antalya, Türkiye. fatma.yildiz@alanya.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-9270-9062

⁸ Eskişehir Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye. erdagemine97@gmail.com Orcid ID: 0009-0002-6214-7553

GİRİŞ

Günümüzde RNA bazlı ilaçlar, kanser başta olmak üzere birçok hastalığın kişiselleştirilmiş tedavisi için cazip hale gelmiştir (Smith ve ark., 2022). MikroRNA'lar (miRNA'lar) ve uzun kodlamayan RNA'lar (LncRNA'lar) dahil olmak üzere kodlamayan RNA'ları (ncRNA'lar) hedeflemek, son zamanlarda malignitelerin ve diğer hastalıkların tedavisi için umut verici bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. RNA terapötiklerindeki araştırmalar hızla gelişmektedir ve vasküler bozukluklar, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser dahil olmak üzere çok çeşitli hastalıkların tedavisinde büyük umut vaat etmektedir (Rocca ve ark., 2023; Bayraktar ve ark., 2023). Dahası, LncRNA'lar çeşitli kanser türleri için biyobelirteç olarak ortaya çıkmaktadır (Beylerli ve ark., 2022; Badowski ve ark., 2022; Sherif ve ark., 2022). Ancak, etkili uygulama, hedef dışı etki riski ve güvenlik endişeleri gibi zorlukların daha ileri klinik geliştirme yollarına başarılı bir şekilde çevrilmesi için daha fazla ele alınması gerekmektedir (Winkle ve ark., 2021). LncRNA'lar, çeşitli biyolojik süreçlerin önemli düzenleyicilerindendir. LncRNA deregülasyonunun kanser gelişimi ve ilerlemesi üzerine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bu nedenle; tanısal biyobelirteçler ve terapötik hedefler olmak için büyük bir potansiyel teşkil etmektedir. Bu nedenle, kişiselleştirilmiş kanser tedavi sürecinde kilit bir role sahip olabilirler (Fathi Dizaji, 2020).

ncRNA tedavilerini erken klinik çalışmalara taşımak için önemli çabalar sarf edilmiştir. En gelişmiş çalışmalar, küçük girişimci RNA'lar (siRNA'lar), miRNA replasmanı veya antisens oligonükleotidler ile miRNA susturulması ile yürütülmüştür. siRNA tabanlı tedaviler FDA onayı almış olsa da, miRNA taklitleri, inhibitörleri ve LncRNA tabanlı tedaviler hala klinik öncesi ve erken klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir. siRNA'lar bozunma için tek ve spesifik bir mRNA'yı hedefleyen ekzojen RNA'lardır (Grillone ve ark., 2024). Bu bölümde LncRNA'ların tedavi potansiyeline değinilmekte ve özellikle siRNA terapilerine yönelik son gelişmeler ele alınmaktadır.

1. UZUN KODLANMAYAN RNA'LAR

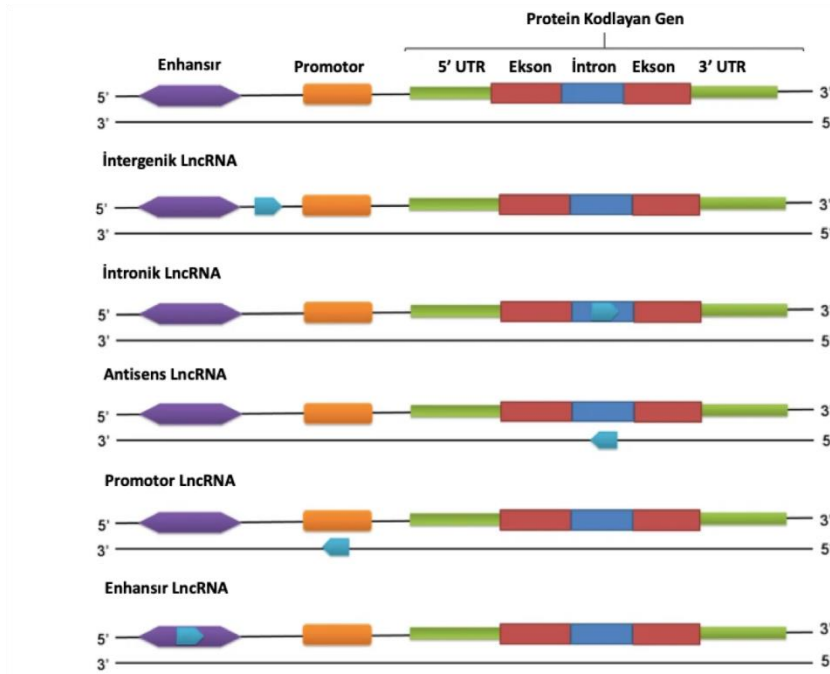
Gen regülasyonunda; DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu, spesifik transkripsiyon faktörlerini etkileyen etmenler olarak biliniyordu. Ancak son yıllarda, kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar), önde gelen gen düzenleyici molekül sınıfı olarak ortaya çıkmıştır (Youness ve Gad, 2019).

ncRNA bazlı tedaviler, protein kodlayan veya kodlamayan genleri hedeflemek için ncRNA moleküllerini ilaç olarak kullanan tedavi araçlarını ifade eder (Zhu ve ark., 2022). Kodlamayan bölgeler tarafından üretilen RNA molekülleri genomun büyük bir kısmını oluşturur (yaklaşık %98) ve daha önce işlevsiz "çöp" DNA olarak kabul edilmelerine rağmen, artık endojen süreçlerin önemli düzenleyicileri olarak kabul edilmektedirler. Değişiklikleri patolojik etkilere neden olabilir ve bu da onları klinik hedefleme için uygun hale getirir (Winkle ve ark., 2021).

ncRNA'lar uzunluklarına, lokalizasyonlarına ve işlevlerine göre sınıflandırılırlar: Uzun kodlamayan RNA'lar (LncRNA), mikroRNA'lar (miRNA), küçük interferans yapan RNA'lar (siRNA), küçük nükleolar RNA'lar (snoRNA), küçük nükleer RNA'lar (snRNA) ve PIWI etkileşimli RNA'lar (piRNA) (Statello ve ark., 2021). LncRNA'lar, 200 nükleotitten daha fazla uzunluğa sahip, büyük ve endojen, kodlamayan RNA'lardır (Zhang ve ark., 2019). LncRNA'lar, çekirdek ve sitoplazmada lokalize halde bulunabilirler ve çekirdekteki nükleer mimariyi ve transkripsiyonu, kromatin modifiye eden proteinlerle etkileşime girmek ya da transkripsiyon faktörlerine bağlanmak suretiyle genlerin baskılanmasında görev alırlar. Sitoplazmadaki LncRNA'lar ise mRNA'larla etkileşime girerek, translasyonda ve post-translasyonel seviyede modülasyon sağlayarak gen ekspresyon ağlarında önemli düzenleyiciler olarak rol alırlar (Youness ve Gad, 2019).

Çok sayıda çalışma, LncRNA'ların tümör gelişiminde önemli roller oynadığını ortaya koymasına rağmen biyolojik işlevi ve moleküler mekanizmaları henüz tam olarak belli değildir. Kanser gelişiminin temelini oluşturan düzenleyici ağlara katkıda bulunduğu mekanizmalar ise oldukça çeşitlidir. Kromatin modifikasyonu, transkripsiyon ve post transkripsiyonel işleme, alternatif splaysing, protein aktivitesinin düzenlenmesi ve protein lokalizasyonunun değiştirilmesi gibi çeşitli düzeylerde gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Ayrıca hücre döngüsü ve proliferasyon, farklılaşma, metabolizma ve apoptoz gibi biyolojik süreçlerin önemli düzenleyicileridirler (Fathi Dizaji, 2020). Yapılan çalışmalarda, araştırmacılar birçok kanserde bir dizi LncRNA'nın anormal şekilde ifade edildiğini göstermiştir (Xu ve ark., 2017; Li ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2019).

LncRNA'lar, en yakın protein kodlayan genlere yani genomik konumlarına göre yedi sınıfa ayrılır (Şekil 1). İntergenik LncRNA'lar, protein kodlayan genler arasında yer alır. Bu grup, LncRNA'ların büyük çoğunluğunu içerir. İntronik LncRNA'lar, protein kodlayan genlerin intronlarının içinde bulunur. Sens ve antisens LncRNA'lar, sırasıyla protein kodlayan genlerin sens ve antisens ipliklerinden transkripsiyona uğrar. Çift yönlü LncRNA'lar, protein kodlayan transkriptin ters yönünde, promotörlerin 1kb içinde transkripsiyona uğrar. Hızlandırıcı LncRNA'lar, genomun güçlendirici (enhancer) bölgelerinden transkripsiyona uğrar. Son olarak, dairesel RNA'lar, kovalent olarak bağlı 3' ve 5' uçlarına sahip dairesel bir yapıya sahiptirler. Genom içindeki lokasyona göre LncRNA'lar aynı kromozomdaki (cis) veya başka bir kromozomdaki (trans) kromatinin yapısını etkileyerek gen ekspresyonunu düzenleyebilir (Ebrahimi ve ark., 2022).



Şekil 1. Farklı LncRNA'nın genomik lokuslarının şematik gösterimi (Joshi ve Rajender 2020).

Genel olarak LncRNA'ların mekanizmaları:

1. Genlerin ifadesine müdahale etmek için protein kodlayan genlerin promotör bölgesine bağlanabilir.

2. RNA polimeraz II'yi inhibe ederek ve hedef genlerin ifadesini etkilemek için kromatinin yeniden şekillenmesini ve histon modifikasyonlarını indükleyebilir.

3. Transkript ile birleşerek alternatif ekleme modellerini modüle edebilir.

4. Bir transkriptin işlevini etkilemek için endo-siRNA'lar üretebilir.

5. Spesifik proteinlere bağlanarak proteinlerin aktivitesini düzenleyebilir.

6. Bir nükleik asit-protein kompleksi oluşturmak için bazı özel proteinlerle birleşebilir.

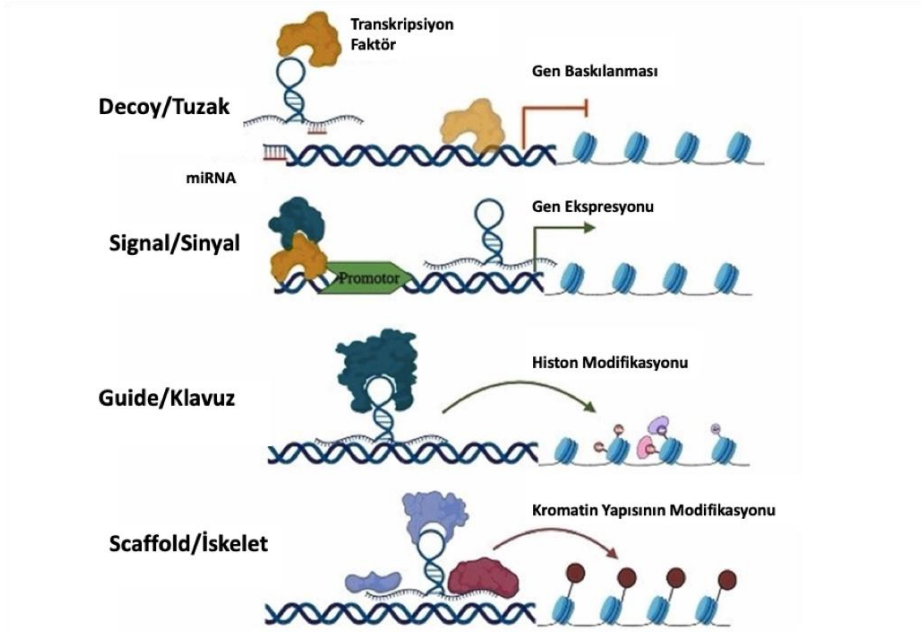
7. Proteinlerin lokalizasyonunu değiştirmek için bazı özel proteinlerle birleşebilir.

8. Küçük RNA olarak hareket edebilir (He ve ark., 2021; Wang ve ark., 2021).

LncRNA'lar işlevlerine göre de dört kategoriye ayrılırlar.

- Tuzak (Decoy) LncRNA'lar düzenleyici faktörleri izole ederek transkripsiyonu baskılayabilir. Bunlara transkripsiyon faktörleri gibi RNA bağlayıcı proteinler, kromatin değiştirici enzimler ve miRNA'lar gibi RNA dizileri dahildir. MALAT1 ve GAS5 tuzak LncRNA'lardır.
- Sinyal LncRNA'lar, farklı uyaranların varlığında genlerin ifadesini düzenler. KCNQ1 zıt iplik/antisens transkript 1 (KCNQ1OT1), ökromatik histon lizin metiltransferaz 2'yi (EHMT2) ve polikomb baskılayıcı kompleks 2 (PRC2)'yi belirli bir etki bölgesine çeken ve transkripsiyonu susturmak için kromatin metilasyonunu indükleyen sinyal LncRNA'sının iyi bilinen bir örneğidir.
- Kılavuz (Guide) LncRNA'lar kromatin değiştiriciler gibi proteinlere bağlanır ve ribonükleoprotein komplekslerini spesifik hedef bölgelere yönlendirir. Gen ifadesini cis veya trans yönünde değiştirirler. FENDRR, PRC2'ye bağlanan bir kılavuz LncRNA'dır.
- İskele (Scaffold) LncRNA'ları, ilgili moleküler bileşenleri bir araya getirmek için merkezi bir platform görevi görür. Ortaya çıkan kompleks, transkripsiyonu aktive edebilir veya baskılayabilir. CDKN2BAS1 veya ANRIL, PRC1 ve PRC2 ile bağlanan ve

etkileşime giren bir iskele LncRNA'dır (Şekil 2) (Ebrahimi ve ark., 2022).



Şekil 2. Gen ifadesi düzenleme mekanizmalarına göre LncRNA'ların sınıflandırılması (Ebrahimi ve ark., 2022)

2. TANI VE TEDAVİ İÇİN BİYOBELİRTEÇ OLARAK LncRNA'LAR

LncRNA'ların, miRNA'lar gibi gen ifadesi ve tümör oluşumunun önemli düzenleyicileri olarak işlev gördüğü artık yaygın olarak kabul edilmektedir. LncRNA'lar, insan kanserlerinin tanısı, prognozu ve tedavisi için potansiyel hedeflerdir. Bugüne kadar tanımlanan çok sayıda LncRNA'ya rağmen, bunların büyük çoğunluğunun rolleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Anormal LncRNA ifadesinin tümör oluşumunun bir nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu belirsizliğini korumaktadır. Tespit edilen LncRNA sayısının artmasıyla, kanser üzerindeki biyolojik işlevleri ve etki mekanizmaları daha fazla araştırma gerektirmektedir. Ayrıca dolaşımda da birçok LncRNA mevcuttur. Birkaç çalışma, dolaşımdaki LncRNA'ların kolanjiyokarsinom, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, hepatosellüler karsinom, mide kanseri vb. dahil olmak üzere kanserlerde potansiyel biyobelirteçler olabileceğini göstermektedir. Ancak,

kanserde dolaşımdaki LncRNA'lar üzerine yapılan çalışmalar hala erken aşamadır (Zhang ve ark., 2019).

LncRNA'lar; bir hücreye, dokuya, gelişimsel sürece veya bir hastalığa özgü şekilde ifade edildiklerinden, tanısal/prognostik biyo-belirteçler ve terapötik hedefler olma potansiyeline sahiptir. Örneğin, prostat kanserinin proliferasyonunu ve invazyonunu destekleyen prostat kanseri antijeni 3 (PCA3), prostat kanseri için bir idrar biyobelirteç olarak onaylanmıştır. Günümüzde kullanılan PSA testine kıyasla daha iyi özgüllük ve duyarlılık sergilemektedir. İyi huylu prostat dokusuna kıyasla prostat tümörlerinde 60 ila 100 kat fazla eksprese edilir ve diğer kanser türlerinde saptanamaz (Taniue ve ark., 2021). Ayrıca, LncHIFCAR ağız kanseri tümör hücrelerinde aşırı ifade edilir ve burada tanı belirteci olarak kullanılır. Mide kanserinde, LncRNA AA174084 aşırı ifade edilir ve erken tanı için bir belirteç olarak kullanılır. Kolorektal kanser ortamında, CCAT1 ve CCAT2 LncRNA'larının artan ifadesi artan sağ kalım ve azalan tekrarlama ile ilişkilidir (Ebrahimi ve ark., 2022).

LncRNA'lar arasında HOX transkript antisens RNA (HOTAIR), nükleer zenginleştirilmiş bol transkript 1 (NEAT1) ve metastazla ilişkili akciğer adenokarsinomu transkript 1 (MALAT1) en çok araştırılan RNA'lardır. LncRNA'lar kanserlerde onkogenler veya tümör baskılayıcılar olarak işlev görebilirler. Örneğin, NEAT1, INK4 lokusunda antisens kodlamayan RNA (ANRIL), HOTAIR ve MALAT1 onkojenik LncRNA'lardır. HOTAIR, homeobox gen (HOXC) kümesinin antisens dizisinden bir transkripttir. Solid tümörlerde aşırı eksprese edilir ve tümör progresyonu, invazyon, metastaz ve kötü prognozu destekler. Gupta ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada, normal meme epitelinde HOTAIR ekspresyonunun düşük olduğunu ancak meme kanseri primer tümörlerinde ve metastazlarında giderek arttığını göstermişlerdir. Primer tümörlerde yüksek HOTAIR ekspresyonu, metastaz ve sağkalım ile ilişkilidir (Gupta ve ark., 2010). Yapılan bir diğer çalışmada, dolaşımdaki ekzosomlarda tespit edilen HOTAIR, Erbb2/HER2 pozitif meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Bu da onu kanda tümörle ilgili materyalleri tespit etmek için minimal invaziv bir yöntem olan, sıvı biyopsi için potansiyel bir biyobelirteç haline getirmiştir.

NEAT, çeşitli kanserlerde onkogen olarak rol oynamaktadır. MALAT1'in hücre çoğalmasını arttırdığı ve apoptozu engellediği bulunmuştur (Solaimani ve ark., 2025). LncRNA'lar ayrıca tümör baskılayıcı olarak da işlev

görür: maternal olarak eksprese edilen gen 3 (MEG3), büyümeyi durduran spesifik 5 (GAS5), nöroblastoma ile ilişkili transkript-1 (NBAT-1) ve uzun intergenik protein kodlayıcı olmayan RNA-p53 ile indüklenen transkript (LINC-PINT) hücresel süreçlerde kilit rollere sahiptirler ve kanserlerde deregülasyona uğramışlardır (Taniue ve ark., 2021).

3. KODLAMAYAN RNA'LARA MÜDAHALE İÇİN MOLEKÜLER TEMELLER

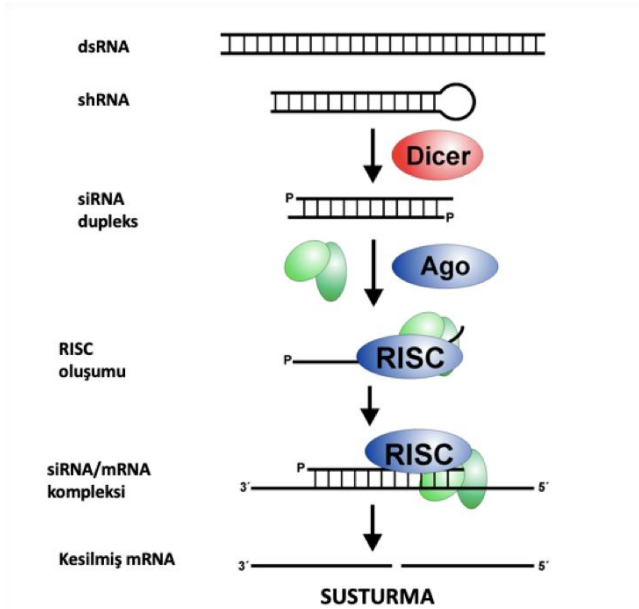
LncRNA tabanlı tedavilerin klinik uygulaması, insanlarda etkinlik, özgüllük ve uygulama sorunları nedeniyle önemli bir zorluk olmaya devam etmektedir (Nemeth ve ark., 2024). Bu zorluklar, tıp ve bilim dünyasında hücrelere uygulamayı kolaylaştırmak için farklı stratejilere odaklanmaya yönelmiştir. Bu yaklaşımlar arasında, çift sarmallı RNAi, siRNA, küçük aktive edici RNA (saRNA), miRNA taklitleri ve inhibitörleri ile ASO (antisens oligonükleotidler) tabanlı stratejiler yer almaktadır. Örneğin siRNA'lar, sitoplazmik RNA'ları hedeflemek veya promotör bölgelerine bağlanarak çekirdekte histon modifikasyonu ve kromatin yeniden modellemesi yoluyla transkripsiyonel susturmayı tetiklemek için kullanılır (Matzke ve Birchler, 2005; Lennox ve Behlke, 2016) saRNA'lar, sessiz tümör baskılayıcı genlerin aşağı düzenlenmesine karşı koymak ve promotör dizilerini hedefleyerek gen üretimini tetiklemek için tercih edilir (Li ve ark., 2006). Çoklu hedefleme gerektiğinde miRNA taklitleri veya inhibitörleri uygulanır, çünkü bunlar önemli yollardaki farklı efektörlere bağlanabilir (Diener ve ark., 2022). ASO'lar; LncRNA'ları parçalayarak, endojen RNazH1'i parçalayarak veya RNA-protein etkileşimlerini düzenleyerek onkojenik LncRNA'ların ekspresyonunu azaltabilen tek sarmallı antisens oligonükleotitlerdir. RNA interferansı (RNAi); gen ifadesini susturma veya gen ekspresyonu aşağı regülasyonu için çift sarmallı bir RNA'nın (dsRNA), hedef mRNA'nın diziye özgü inhibisyonuna yol açan bir süreçtir. Bunun yanı sıra terapötik geliştirme için önceliklendirilmiş kanserle ilişkili miRNA'ların (örneğin, miR-10b, -21, -34a, -155) yanı sıra HOTAIR ve MALAT1 gibi LncRNA'ların bir aday listesi vardır (Sempere ve ark., 2021; Pardini ve Calin, 2019).

siRNA olarak adlandırılan kısa RNA dupleksleri (21 nükleotit), gen ifadesinin susturulmasının uyarılması için ana araç haline gelmiştir (Kaymaz ve Kosava, 2013). siRNA'lar, doğal veya kimyasal olarak modifiye edilmiş

nükleotidlere sahip ekzogen çift sarmallı RNA'lardır ve spesifik ve benzersiz bir hedef RNA'yı hedef alır ve parçalar (Roberts ve ark., 2020). siRNA aracılı RNAi'nin yüksek özgüllüğü, bu yaklaşımı kişiselleştirilmiş tıbbın merkezine yerleştirir (Hickerson ve ark., 2011). siRNA'lar ayrıca protein ekspresyonunun güçlü bir şekilde düzenlenmesi yeteneğine de sahiptir; bu özellik, altta yatan RNAi mekanizmasının katalitik olması ve transkripsiyon sonrası mRNA bozunumuna bağımlı olmasından kaynaklanır. Mekanik olarak, siRNA'lar bozunma için mRNA'yı hedefler ve aynı kökenli proteinin biyosentezini önemli ölçüde azaltır. RNAi, çeşitli uzunluklardaki doğal dsRNA oligonükleotidlerinin uygulanmasıyla gerçekleştirilebilirken, uzun dsRNA enjeksiyonu memeli hücrelerinde bir interferon tepkisini tetikler ve ~21 nükleotid uzunluğundaki siRNA'lara sınırlı bir işleme tabi tutulduğunu gösterir. Bu adım, RNAi hücresel mekanizmasının “RNA kaynaklı susturma kompleksi (RISC)” gen ifadesini susturması için yönlendirilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Zou ve ark., 2003; Meister, 2013).

Transkripsiyon sonrası hedefleme, herhangi bir RNA'yı modüle etmenin basit bir yolunu sağlar. RNA-RNA veya RNA-DNA dupleks oluşumunun son derece seçici yapısı, araştırmacıların oligonükleotid bazlı terapötiklerin potansiyelini keşfetmelerini sağlamıştır. Şu anda nükleik asit terapötiklerini kullanan iki ana yaklaşım bulunmaktadır; çift sarmallı RNA aracılı girişim (RNAi) ve tek sarmallı ASO'lar. Yeni nesil nükleik asit terapötikleri, gelişmiş stabilite ve daha yüksek etkinlik göstermiş ve hedef dışı etkilerin önemli ölçüde azalmasıyla sonuçlanmıştır ve nükleik asit bazlı ilaçlar, maligniteler de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar için klinik geliştirmenin çeşitli aşamalarında. Çift sarmallı küçük bir girişimci RNA'nın eklenmesi, dicer, bir RNase III enzimi ve endonükleaz AGO2 ile birlikte bir multiprotein kompleksi RISC'yi içeren bir bozunma yolunu devreye sokar (Şekil 3). RNAi insan hücrelerinde de aktiftir ve bu durum, insan hücrelerinde ve fare modellerinde RNA'ları hedeflemek için sentetik siRNA'ların kullanımına ilişkin araştırmalara yol açmıştır. Başarılı bir *in vivo* çalışmanın ilk raporunda, fulminan hepatitli bir fare modelinde Fas mRNA'sını devre dışı bırakmak için siRNA'lar kullanılmıştır. Günümüzde kanser, nörolojik hastalıklar ve metabolik bozukluklar gibi farklı patolojik durumlar için hedef mRNA'lara karşı siRNA'ların başarılı bir şekilde kullanıldığını göstermiştir. Birçok ilaç şirketi (Alnylam, Pharmaceuticals, siRNA Therapeutics ve miRNA Therapeutics dahil

olmak üzere), siRNA ve miRNA tabanlı tedavilerin geliştirilmesinde öncülük etmiştir. Çift sarmallı RNA'lar doğası gereği nükleazlara duyarlı olduklarından, sonraki enzimatik bozunma yolları için substrat görevi görmelerini önlemek amacıyla ek kimyasal modifikasyonlara ihtiyaç duyarlar. RNA'nın 3' ucundaki 2'-O metil (2'-O-Me) şeker kalıntıları ve fosforotioat bağları gibi kimyasal modifikasyonlardaki ilerlemeler, siRNA tabanlı ilaçların farmakolojik özelliklerini iyileştirmiştir (Arun ve ark., 2018).



Şekil 3. siRNA etki mekanizması (Goel, 2023)

Terapötik siRNA'lar, transkriptomdaki hemen hemen her mRNA dizisine karşı tasarlanabilir ve hastalığa neden olan bir mRNA varyantını özel olarak hedef alabilir. Bu yetenek, siRNA aracılı RNAi'i hem oldukça spesifik hem de çeşitli hedeflere geniş çapta uygulanabilir kılar. Bu nedenle siRNA'lar, şu anda tedavi edilemeyen veya zayıf bir şekilde tedavi edilebilen durumların zorluklarını çözmek ve birçok küresel sağlık krizinin çözümüne yardımcı olmak için önemli klinik potansiyele sahiptir.

4. siRNA BAZLI TERAPÖTİKLER

siRNA tabanlı tedaviler, gen ifadesini transkripsiyon sonrası spesifik olarak hedef alan ve susturan tamamlayıcı RNA oligonükleotidlerinin dupleksleri olan sentetik siRNA'ların kullanımını içerir (Lam ve ark., 2015). Ayrıca, LncRNA'ları susturmak için yaygın olarak geliştirilmiştir (Hattab ve ark., 2021). Yüksek oranda parçalanabilir yapıları nedeniyle, terapötik kullanım için siRNA'ların hücrelere spesifik iletim sağlamak için lipit nanopartiküller (LNP'ler) içine kapsüllenmesi gerekir. Farklı kimyasallara sahip çeşitli nanopartiküller geliştirilmiştir ve şu anda nazal, kutanöz, subkutan ve daha fazlası gibi farklı uygulama yollarıyla kullanılmaktadır (Goyal ve ark., 2022). Kanserde araştırılan onkogenlerin mRNA'larını hedefleyen çok sayıda siRNA'ya rağmen, yakın zamanda yalnızca birkaç LNP-siRNA FDA onayı almıştır (Mullard ve ark., 2023). Dahası, ncRNA'ları hedef alan yalnızca iki siRNA (LncRNA'lar ve circRNA'lar) klinik öncesi çalışmalarda araştırılmış ancak henüz klinik çalışmalara ulaşmamıştır.

Bir örnek, t(8;21) pediatrik akut miyeloid lösemi için yeni ve güvenli bir tedavi yaklaşımı olarak önerilen lncRNA LINC01257'yi hedef alan siRNA-LNP'dir (Connerty ve ark., 2021). siRNAG12D-LODER™, mutasyona uğramış KRAS onkogeni KRAS G12D (siG12D) için siRNA'lar içeren, potansiyel antitümör aktiviteye sahip, tescilli, minyatür, biyolojik olarak parçalanabilir bir polimerik matristir (Golan ve ark., 2015). Tümör içine enjeksiyon sonrasında, siG12D lokal olarak salınır, KRAS proteinlerinin translasyonunu engeller ve potansiyel olarak insan pankreas kanal adenokarsinomlarının %90'ından fazlasında mutasyona uğramış ve tümör hücresi çoğalması ve sağ kalımın azalmasıyla ilişkili olan KRAS'ı aşırı eksprese eden tümör hücrelerinin büyümesini engeller.

Yakın zamanda yayınlanan bir faz 0 klinik denemesinde, Kumthekar ve arkadaşları, refrakter glioblastoma (GBM) hastalarında beyne nüfuz etme kabiliyeti nedeniyle siBcl2L12-SNA'nın (NU-0129) etkinliğini göstermiştir (Kumthekar ve ark., 2021). Bu deneme, GBM hücreleri tarafından siRNA NU-0129 alımının, onkogen Bcl2L12 seviyelerini düşürdüğünü ortaya koyarak, nanokonjugatların GBM için hassas tıp tedavilerine fayda sağlayabileceğini göstermiştir.

Şu anda devam eden siRNA klinik çalışmaları aşağıda yer almaktadır:

i. Faz 1 çalışması NCT01591356, çeşitli katı neoplazmalarda yürütülüyor ve nötr lipozom (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidylkolin veya DOPC) aracılığıyla iletilen ve ephrin ailesine ait bir reseptör olan EphA2'yi hedef alan bir siRNA'nın etkisini inceliyor.

ii. NCT05499013, polisitemi vera'da tmprss6'yı hedef alan GalNAc konjugeli 19-mer siRNA olan SLN124'ü araştıran bir faz 1/2 çalışmasıdır.

iii. faz 1 çalışması NCT03608631, pankreas kanserinde KRAS G12D'ye (iEksozomlar) yönelik bir siRNA ile mezenkimal stromal hücrelerden türetilen eksozomlar değerlendiriliyor.

iv. NCT03819387, pankreas, kolorektal ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde Glutasyon s-trasinsferaz Pi'yi (GSTP) hedef alan siRNA NBF-006'yı araştıran bir faz 1 çalışmasıdır.

v. NCT04844983 faz 2 çalışması, skuamöz hücreli karsinom in situ'da dönüştürücü büyüme faktörü-beta 1 (TGF-beta 1) ve siklooksijenaz-2'ye (COX-2) karşı yönlendirilmiş siRNA STP705'e odaklanmaktadır (Grillone ve ark., 2024).

siRNA kullanımında terapötik açıdan en önemli husus belirli bir hastalığı tedavi etmek için susturulacak doğru hedefin seçilmesidir. Optimal siRNA, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin aktivasyonu olmaması, hedefinin etkili ve spesifik olarak kesilmesi, hedef dışı genler üzerinde etkisinin olmaması, toksik etki göstermemesi, vücut dolaşımında ve hedef hücrelerin içinde uzun yarı ömür/yavaş bozunma gibi özelliklere sahip olmalıdır (Friedrich ve Aigner, 2022).

RNA'lar spesifik tedavi için önemli hedefler olarak kabul edilmektedir. Daha yakın zamanlarda, önemli gelişmeler arasında miRNA'lar, LncRNA ve diğerleri gibi farklı kodlamayan RNA'ların temel patofizyolojik rollerine dair artan bir anlayış da yer almaktadır. Terapötik müdahale için tek olası yaklaşım olmasa da, basit yaklaşım RNA bazlı ilaçlardır. Dolayısıyla, RNA'ların başlangıçta düşünülenden daha fazla çok yönlü oldukları ve hem hedef hem de ilaç oldukları kanıtlanmıştır. Böylelikler RNAi'nin keşfinden yirmi yıl sonra, ilk siRNA tedavisine giden yol açılmıştır (Friedrich ve Aigner, 2022). Şu anda beş siRNA ilacı onaylanmıştır (patisiran, givosiran, inclisiran, lumasiran, vutrisiran) ve birkaçı da faz III klinik çalışmalarının son aşamalarında. Özellikle hepatosit iletimine açıkça odaklanıldığı ve GalNAc'ın siRNA biyokonjugasyonu ve iletimi için en popüler platform olduğu görülmektedir.

Klinik çalışmalardaki tüm siRNA ilaçlarının büyük çoğunluğunun GalNAc konjugatlarına dayanmaktadır. GalNAc biyokonjugatlarının sentezi ve uygulanması (deri altına) nispeten kolaydır, olumlu bir biyoyoumluluk/toksisite profili ve çok yüksek etkinlik gösterirler. Onaylı siRNA ilaçları arasında nanopartiküller (LNP'ler) yalnızca patisiran için kullanılır ve bu durum kesinlikle siRNA terapötiklerinin geliştirilmesinde bir dönüm noktası olarak kabul edilmelidir (Friedrich ve Aigner, 2022).

Gen terapisi, hastalığa neden olan genleri diziye özgü bir şekilde hedef olarak çeşitli yaşamı tehdit eden hastalıkların daha hassas ve kişiselleştirilmiş tedavisine olanak tanıdığı için umut vadeden bir tedavi platformudur. Hastanın istenen dokusuna belirli bir nükleik asit yöntemi uygulanarak gen ifadesi azaltılabilir, artırılabilir veya düzeltilebilir (Hu ve ark., 2020). 1998'de ortaya çıkışından bu yana RNAi tabanlı siRNA tedavileri birçok gelişme yaşanmıştır. 2001 yılında Elbashir ve arkadaşları kimyasal olarak sentezlenmiş siRNA'yı memeli hücrelerine sokarak belirli bir genin ifadesini başarıyla susturmuşlardır (Elbashir ve ark., 2001). 20 yıllık bir yolculuğun ardından, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa Komisyonu (EC), 2018 yılında ONPATTRO®'yu (Patisiran, ALN-TTR02) yetişkinlerde polinöropatili kalıtsal amiloidojenik transtiretin (hATTR) amiloidozunun tedavisi için ilk ticari RNAi tabanlı tedavi olarak onayladı. Yakın zamanda, FDA, GIVLAARI™'yi (Givosiran, ALN-AS1) akut hepatik porfiri olan yetişkinlerin tedavisi için onayladı (Hu ve ark., 2020) (Tablo 1).

Tablo 1. FDA tarafından onaylanan siRNA ilaçları (Motamedi ve ark., 2024)

İlaç adı	Hastalık	Hedef	Taşıyıcı Sistem	Uygulama Yolu	Hedef Organ
Patisiran (Onpattro)	Transtiretin aracılı amiloidoz	TTR	Lipit nanoparçacık	İntravenöz	Karaciğer
Givosiran (Givlaari)	Akut Hepatit Porfiri	ALAS-1	GalNAc Konjugatı	Subkutan	Karaciğer
Inclisiran (Leqvio)	Hiperkolesterolemi	PCSK9	GalNAc Konjugatı	Subkutan	Karaciğer
Vutrisiran (Amvuttra)	Transtiretin aracılı amiloidoz	TTR	GalNAc Konjugatı	Subkutan	Karaciğer
Lumasiran (Oxlumo)	Primer Hiperoksalüri tip 1	HAO1	GalNAc Konjugatı	Subkutan	Karaciğer

5. siRNA TABANLI TEDAVİNİN ZORLUKLARI

siRNA, transkripsiyon sonrası hedef genlerin ekspresyonunu baskılamada oldukça etkili olsa da, *in vivo* iletimi, hedef dış etkileşimler, en iyi uygulama yolunun belirlenmesi, kısa dolaşım yarı ömrü, endozomlardan sitozole yetersiz kaçış, böbreklerden atılma ve bağışıklık sisteminden kaçma gibi çeşitli zorluklarla karşılaşır. Ayrıca, siRNA'nın güçlü negatif yükü ve yüksek hidrofilik yapısı gibi doğal özellikleri, biyolojik sistemler içinde parçalanmaya yatkın hale getirir. Çeşitli siRNA iletim yöntemlerinin belirgin avantajları, dezavantajları ve klinik kullanımları vardır. Lipid nanopartiküller (LNP'ler), yüksek verimlilikleri, sistemik iletimde yaygın uygulamaları vardır. Ancak toksisiteye neden olabilirler ve öncelikli olarak karaciğeri hedeflemekle sınırlıdır. Polimerik nanopartiküller esneklik ve daha düşük immünojenisite sağlar, ancak düşük transfeksiyon verimliliği ve stabilitesi sergilerler. GalNAc-siRNA gibi konjugat tabanlı sistemler, gelişmiş stabilite ile hedefli iletimi mümkün kılar, ancak belirli dokularla sınırlıdır. Viral vektörler, güvenlik ve immünojenite konusunda endişelere yol açsa da, etkili iletimi ve uzun süreli sessizleştirmeyi kolaylaştırır. Ekzosomlar gibi yenilikçi yöntemler, özellikleri ve minimum immünojeniteleri nedeniyle ilgi görse de, ölçeklenebilirlikle ilgili zorluklar devam etmektedir. Her stratejinin uygunluğu, terapötik bağlama ve özel iletim ihtiyaçlarına bağlıdır (Pallathadka ve ark., 2025).

SONUÇ

LncRNA'ların gen düzenlenmesindeki temel rolleri ve hastalıklarla ilişkili biyolojik süreçlerdeki işlevleri göz önüne alındığında, bu moleküller hem hastalık biyolojisinin anlaşılmasında hem de yeni nesil tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde umut vaat etmektedir. Özellikle siRNA temelli terapiler aracılığıyla LncRNA'ların hedeflenmesi, gelecekte hassas ve kişiselleştirilmiş tıp uygulamalarında önemli bir yer edinme potansiyeline sahiptir.

KAYNAKÇA

- Arun, G., Diermeier, S. D., & Spector, D. L. (2018). Therapeutic targeting of long non-coding RNAs in cancer. *Trends in molecular medicine*, 24(3), 257-277.
- Badowski, C., He, B., & Garmire, L. X. (2022). Blood-derived lncRNAs as biomarkers for cancer diagnosis: the Good, the Bad and the Beauty. *NPJ precision oncology*, 6(1), 40.
- Bayraktar, E., Bayraktar, R., Oztatlici, H., Lopez-Berestein, G., Amero, P., & Rodriguez-Aguayo, C. (2023). Targeting miRNAs and other non-coding RNAs as a therapeutic approach: an update. *Non-coding RNA*, 9(2), 27.
- Beylerli, O., Gareev, I., Sufianov, A., Ilyasova, T., & Guang, Y. (2022). Long noncoding RNAs as promising biomarkers in cancer. *Non-coding RNA research*, 7(2), 66-70.
- Connerty, P., Moles, E., de Bock, C. E., Jayatilleke, N., Smith, J. L., Meshinchi, S., & Lock, R. B. (2021). Development of siRNA-loaded lipid nanoparticles targeting long non-coding RNA LINC01257 as a novel and safe therapeutic approach for t (8; 21) pediatric acute myeloid leukemia. *Pharmaceutics*, 13(10), 1681.
- Diener, C., Keller, A., & Meese, E. (2022). Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic. *Trends in Genetics*, 38(6), 613-626.
- Ebrahimi, N., Parkhideh, S., Samizade, S., Esfahani, A. N., Samsami, S., Yazdani, E., & Aref, A. R. (2022). Crosstalk between lncRNAs in the apoptotic pathway and therapeutic targets in cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 65, 61-74.
- Elbashir, S. M., Harborth, J., Lendeckel, W., Yalcin, A., Weber, K., & Tuschl, T. (2001). Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *nature*, 411(6836), 494-498.
- Fathi Dizaji, B. (2020). Strategies to target long non-coding RNAs in cancer treatment: progress and challenges. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 21(1), 41.
- Friedrich, M., & Aigner, A. (2022). Therapeutic siRNA: state-of-the-art and future perspectives. *BioDrugs*, 36(5), 549-571.
- Goel, R. (2023). Non-coding RNAs in the brain: new class of prospective biomarkers and therapeutics.

- Golan, T., Khvalevsky, E. Z., Hubert, A., Gabai, R. M., Hen, N., Segal, A., & Galun, E. (2015). RNAi therapy targeting KRAS in combination with chemotherapy for locally advanced pancreatic cancer patients. *Oncotarget*, 6(27), 24560.
- Goyal, R., Chopra, H., Singh, I., Dua, K., & Gautam, R. K. (2022). Insights on prospects of nano-siRNA based approaches in treatment of Cancer. *Frontiers in pharmacology*, 13, 985670.
- Grillone, K., Caridà, G., Luciano, F., Cordua, A., Di Martino, M. T., Tagliaferri, P., & Tassone, P. (2024). A systematic review of non-coding RNA therapeutics in early clinical trials: a new perspective against cancer. *Journal of Translational Medicine*, 22(1), 731.
- Gupta, R. A., Shah, N., Wang, K. C., Kim, J., Horlings, H. M., Wong, D. J., & Chang, H. Y. (2010). Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *nature*, 464(7291), 1071-1076.
- Hattab, D., Gazzali, A. M., & Bakhtiar, A. (2021). Clinical advances of siRNA-based nanotherapeutics for cancer treatment. *Pharmaceutics*, 13(7), 1009.
- He, J., Zhu, S., Liang, X., Zhang, Q., Luo, X., Liu, C., & Song, L. (2021). LncRNA as a multifunctional regulator in cancer multi-drug resistance. *Molecular Biology Reports*, 48(8), 1-15.
- Hickerson, R. P., Leachman, S. A., Pho, L. N., Gonzalez-Gonzalez, E., Smith, F. J., McLean, W. I., & Kaspar, R. L. (2011). Development of quantitative molecular clinical end points for siRNA clinical trials. *Journal of Investigative Dermatology*, 131(5), 1029-1036.
- Hu, B., Zhong, L., Weng, Y., Peng, L., Huang, Y., Zhao, Y., & Liang, X. J. (2020). Therapeutic siRNA: state of the art. *Signal transduction and targeted therapy*, 5(1), 101.
- Joshi, M., & Rajender, S. (2020). Long non-coding RNAs (lncRNAs) in spermatogenesis and male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 18(1), 103.
- Kaymaz, B. T., & Kosova, B. (2013). Advances in therapeutic approaches using RNA interference as a gene silencing tool. *Adv Tech Biol Med*, 1(108), 2.
- Kumthekar, P., Ko, C. H., Paunesku, T., Dixit, K., Sonabend, A. M., Bloch, O.,

- & Stegh, A. H. (2021). A first-in-human phase 0 clinical study of RNA interference-based spherical nucleic acids in patients with recurrent glioblastoma. *Science translational medicine*, 13(584), eabb3945.
- Lam, J. K., Chow, M. Y., Zhang, Y., & Leung, S. W. (2015). siRNA versus miRNA as therapeutics for gene silencing. *Molecular therapy Nucleic acids*, 4.
- Lennox, K. A., & Behlke, M. A. (2016). Mini-review on current strategies to knockdown long non-coding RNAs. *Journal of Rare Diseases Research & Treatment*, 1(3).
- Li, L. C., Okino, S. T., Zhao, H., Pookot, D., Place, R. F., Urakami, S., & Dahiya, R. (2006). Small dsRNAs induce transcriptional activation in human cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(46), 17337-17342.
- Li, S., Yao, W., Liu, R., Gao, L., Lu, Y., Zhang, H., & Liang, X. (2022). Long non-coding RNA LINC00152 in cancer: Roles, mechanisms, and chemotherapy and radiotherapy resistance. *Frontiers in Oncology*, 12, 960193.
- Matzke, M. A., & Birchler, J. A. (2005). RNAi-mediated pathways in the nucleus. *Nature Reviews Genetics*, 6(1), 24-35.
- Meister, G. (2013). Argonaute proteins: functional insights and emerging roles. *Nature Reviews Genetics*, 14(7), 447-459.
- Motamedi, H., Ari, M. M., Alvandi, A., & Abiri, R. (2024). Principle, application and challenges of development siRNA-based therapeutics against bacterial and viral infections: a comprehensive review. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1393646.
- Mullard A. 2023 FDA approvals. *Nat. Rev. Drug Discov* 2024; 23: 88–95.
- Nemeth, K., Bayraktar, R., Ferracin, M., & Calin, G. A. (2024). Non-coding RNAs in disease: from mechanisms to therapeutics. *Nature Reviews Genetics*, 25(3), 211-232.
- Pallathadka, H., Jabir, M., Rasool, K. H., Hanumanthaiah, M., Sharma, N., Pramanik, A., & Mustafa, Y. F. (2025). siRNA-based therapy for overcoming drug resistance in human solid tumours: Molecular and immunological approaches. *Human Immunology*, 86(1), 111221.
- Pardini, B., & Calin, G. A. (2019). MicroRNAs and long non-coding RNAs and their hormone-like activities in cancer. *Cancers*, 11(3), 378.

- Roberts, T. C., Langer, R., & Wood, M. J. (2020). Advances in oligonucleotide drug delivery. *Nature reviews Drug discovery*, 19(10), 673-694.
- Rocca, R., Grillone, K., Citriniti, E. L., Gualtieri, G., Artese, A., Tagliaferri, P., & Alcaro, S. (2023). Targeting non-coding RNAs: perspectives and challenges of in-silico approaches. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 261, 115850.
- Sempere, L. F., Powell, K., Rana, J., Brock, A. A., & Schmittgen, T. D. (2021). Role of non-coding RNAs in tumor progression and metastasis in pancreatic cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 40(3), 761-776.
- Sherif, S., Mall, R., Almeer, H., Naik, A., Al Homaid, A., Thomas, R., & Decock, J. (2022). Immune-related 3-lncRNA signature with prognostic connotation in a multi-cancer setting. *Journal of Translational Medicine*, 20(1), 442.
- Smith, E. S., Whitty, E., Yoo, B., Moore, A., Sempere, L. F., & Medarova, Z. (2022). Clinical applications of short non-coding RNA-based therapies in the era of precision medicine. *Cancers*, 14(6), 1588.
- Solaimani, M., Hosseinzadeh, S., & Abasi, M. (2025). Non-coding RNAs, a double-edged sword in breast cancer prognosis. *Cancer Cell International*, 25(1), 123.
- Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L., & Huarte, M. (2021). Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature reviews Molecular cell biology*, 22(2), 96-118.
- Taniue, K., & Akimitsu, N. (2021). The functions and unique features of LncRNAs in cancer development and tumorigenesis. *International journal of molecular sciences*, 22(2), 632.
- Wang, Y., & Liu, S. (2021). LncRNA GHET1 promotes hypoxia-induced glycolysis, proliferation, and invasion in triple-negative breast cancer through the Hippo/YAP signaling pathway. *Frontiers in cell and developmental biology*, 9, 643515.
- Winkle, M., El-Daly, S. M., Fabbri, M., & Calin, G. A. (2021). Noncoding RNA therapeutics—challenges and potential solutions. *Nature reviews Drug discovery*, 20(8), 629-651.
- Xu, S., Kong, D., Chen, Q., Ping, Y., & Pang, D. (2017). Oncogenic long noncoding RNA landscape in breast cancer. *Molecular cancer*, 16(1), 129.

- Youness, R. A., & Gad, M. Z. (2019). Long non-coding RNAs: functional regulatory players in breast cancer. *Non-coding RNA research*, 4(1), 36-44.
- Zhang, T., Hu, H., Yan, G., Wu, T., Liu, S., Chen, W., & Lu, Z. (2019). Long non-coding RNA and breast cancer. *Technology in cancer research & treatment*, 18, 1533033819843889.
- Zhu, Y., Zhu, L., Wang, X., & Jin, H. (2022). RNA-based therapeutics: an overview and prospectus. *Cell death & disease*, 13(7), 644.
- Zou, G. M., Wu, W., Chen, J., & Rowley, J. D. (2003). Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in differentiated mouse ES cells. *Biology of the Cell*, 95(6), 365-371.

BÖLÜM 7

DİŞİ ÜREME SİSTEMİNDE MİRNA'LARIN REGÜLATÖR ROLÜ

Dr. Öğr. Üyesi Tiinçe AKSAK⁹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936696>

⁹ Toros Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Mersin, Türkiye. tiince.aksak@toros.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-7841-8456

GİRİŞ

Dişi üreme sistemi bir çift ovaryum, bir çift tuba uterina, uterus, vajen ve dış genital organlardan oluşur. Bu sistem oosit üretimi fertilizasyon için uygun ortam hazırlama, embriyo ve fetüsü barındırma işlevine sahiptir. Aynı zamanda ovaryumlardan üreme sisteminin organlarının işlevlerini kontrol eden steroid yapıda hormonlar salgılanmaktadır. Uterusun en iç tabakası olan endometriyum östrojen ve progesteron başta olmak üzere çeşitli hormonlar tarafından düzenlenen ve esas fonksiyonu embriyo implantasyonu için uygun ortam sağlamak olan bir dokudur. Endometriyum bu hormonların etkisi altında siklik değişiklikler gösterir. Üreme sisteminde başarılı bir üreme ve embriyo implantasyonu için görev alan çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bu faktörlerin ve bileşenlerin senkronize bir şekilde çalışması üreme organlarının düzgün işlev görmesi açısından önemlidir (Aksak ve ark, 2025). Bu süreçte transkripsiyon, translasyon ve posttranslasyonel faktörler gibi çok sayıda moleküler düzenleyici mekanizma görev almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar klasik gen düzenleme yollarına ek olarak posttranskripsiyonel düzenleme mekanizmalarının, hücre, doku ve organ fonksiyonlarında daha önemli bir rol oynayabileceğini desteklemektedir. Özellikle mikroRNA'ların (miRNA) posttranskripsiyonel gen düzenlemede ve organ gelişiminde henüz tam olarak aydınlatılamamış roller üstlendiği belirtilmektedir (Berezikov ve ark, 2007; Nothnick, 2012; Vasudevan ve ark, 2007).

1. MİRNA'LARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

miRNA'lar, yaklaşık 18–25 nükleotid uzunluğunda, kodlayıcı olmayan küçük RNA molekülleridir ve gen ekspresyonunu posttranskripsiyonel düzeyde düzenlerler. Hayvanlarda, bitkilerde ve bazı virüslerde bulunmaktadır. İlk olarak 1993 yılında *Caenorhabditis elegans*'ta (lin-4) keşfedilmiştir. İlk insan miRNA'sı (let-7) ise 2000 yılında keşfedilmiştir miRBase miRNA veritabanında 48.860 matür insan miRNA'sı kayıtlıdır (Yayınlanma tarihi: Mart 2018). miRNA'lar DNA'nın intronik alanlarında yer almakla birlikte nadiren ekzonda da bulunabilirler. Normal biyolojik süreçlerde önemli roller oynarlar. Hedef mRNA ya bağlanarak yıkılmasını sağlar ya da translasyonu baskılar. miRNA'ların protein kodlayan genlerin yaklaşık üçte birinin ifadesini düzenlediği tahmin edilmektedir. Çekirdekte ilk sentezlenen pri-miRNA Drosha ve Pasha enzimleri tarafından pre-miRNA'lara dönüştürülür. Daha

sonra Exportin 5 tarafından sitoplazmaya aktarılan pre-miRNA Dicer tarafından miRNA duplesi oluşturulur. Tek iplikçikli miRNA, RNA indüklenen susturma kompleksi (RISC) olarak adlandırılan bir ribonükleoprotein kompleksinin oluşumunu destekleyen bir argonaut proteinine yüklenir. Olgun miRNA'lar, baz eşleşmesi yoluyla hedef mRNA'larının 3' ucuna yönlendirilir ve mRNA'ların parçalanmasına veya translasyonel baskılanmaya yol açarak fonksiyonel olmayan proteinlerin oluşumuna neden olur. Literatürde birçok çalışma miRNA'ların translasyonu öncelikli olarak engelleyici bir şekilde düzenlediğini göstermesine rağmen bazı çalışmalar belirli biyolojik senaryolarda translasyonu arttırabileceğini göstermektedir (Vasudevan ve ark, 2007). miRNA'lar hem epigenetik değişikliklerin hedefleri hem de DNA metiltransferazlar gibi epigenetik değiştiricilerin düzenleyicileri olarak kabul edilirler. Yanlış ifade edilmeleri şimdiye kadar pek çok hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Bartel, 2004; Ghaffari ve Bashash, 2015; Kalla ve ark, 2015; Poddar ve ark, 2017; Saliminejad ve ark, 2019).

2. MİRNA'LARIN BİYOLOJİK FONKSİYONLARI VE EPIGENETİK ROLLERİ

Son yıllarda yapılan çalışmalar miRNA'ların hücre farklılaşması, embriyogenez, metabolizma, organogenez ve apoptoz gibi birçok biyolojik işlevdeki önemli rolünü ortaya koymuştur. Bununla birlikte dolaşımda bulunan miRNA'ların hücreler arası iletişime potansiyel olarak katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (Turchinovich ve ark, 2016). Son zamanlarda miRNA'lar, hastalıkların tedavisi için terapötik maddeler veya terapötik maddelerin hedefleri olarak kullanılmaya başlanmıştır. miRNA'ların normal biyolojik süreçlerde rol oynadığı bilinirken hatalı ifadeleri çok sayıda hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte tüm diğer sistemlerde olduğu gibi dişi üreme sisteminin gelişiminde de miRNA'ların önemli işlevleri olduğu bilinmektedir. Dişi farelerle yapılan bir çalışmada Dicer1 eksikliğinin kısırlığa yol açtığı ve gebeliğin desteklenmemesi ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Otsuka ve ark, 2008). Buna benzer başka bir çalışmada Dicer1'in Amhr 2-Cre aleli kullanılarak inaktive edildiği dişi farelerde üreme yolu anormallikleri bozulmuş oosit ve embriyo gelişimi gibi sorunlar ve infertilite gözlenmiştir (Nagaraja ve ark, 2008).

3. MİRNA'LARIN OVARYUM VE FOLİKÜL GELİŞİMİ VE EMBRİYOGENEZ SÜRECİNDEKİ ROLLERİ

Histolojik olarak incelenen uterus dokularında Dicer1 eksikliği olan örneklerde daha az bez yapısına rastlandığı gözlenmiştir (Gonzalez ve Behringer, 2009). Yapılan başka bir çalışmada foliküler granülosa hücrelerinde Dicer1'in inaktive edilmesi sonucunda dejeneratif foliküllerin oluşumu gözlenmiştir (Lei ve ark, 2010). Literatürde miRNA'ların kadın üreme sisteminde ekspresyonlarını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada miR-26a'nın tüm organlarda hücre çoğalmasını ve tümör büyümesini baskıladığı gösterilirken (Lu ve ark. 2011) başka bir çalışmada miR-26b'nin tuba uterina, uterus ve servikte yüksek seviyelerde eksprese edildiği ancak yumurtalıklarda ifade edilmediği belirtilmiştir (Liu ve ark. 2011).

Kadınlarda üreme hormonlarını salgılamaktan sorumlu olan ve yumurta hücresini üreten ovaryumlar folikül gelişimi ve yumurtlama dönemine odaklanarak miRNA ifadeleri açısından incelenmiştir. Daha önce insanlarda tanımlanmış olan miR-26a ve let-7c miRNA'lar yeni doğmuş fare yumurtalıklarında gösterilirken bununla birlikte miR-709 adlı sadece farelerde bulunan insanda karşılığı olmayan yeni bir miRNA bildirilmiştir (Choi ve ark, 2007). Fare ovaryumları ile yapılan çalışmalarda yeni miRNA'ların bildirildiği birçok çalışma bulunmaktadır (Ahn ve ark, 2010; Ro ve ark, 2007). miR-503, fare ovaryumlarında yüksek düzeyde bulunan bir miRNA'dır. Yapılan bir çalışmada gonadotropin ile uyarılmış folikül gelişiminde erken evrede miR-503 seviyesi düşük olduğu gözlemlenmiş fakat yumurtlamadan hemen önce tekrar artmıştır. Buna rağmen bu seviyeler, hormonal olarak uyarılmamış farelerdeki seviyenin yarısı kadardır. Korpus luteum geliştikçe miRNA seviyesi daha da düşer. Olgun korpus luteumda ise neredeyse hiç tespit edilemez bunun yanı sıra miR-503 seviyesi yapay olarak artırıldığında Fshr (FSH reseptörü), Bcl2 (hücre ölümünü önleyen gen), Ccnd2 (hücre döngüsünü düzenleyen gen), Esr2 (östrojen reseptörü), Ar (androjen reseptörü) gibi granüloza hücrelerinin çoğalması ve korpus luteum gelişimi ile ilgili genlerin ifadesinde azalma gözlenmiştir (Lei ve ark, 2010). Farelerde yapılan bir çalışmada miRNA'lara bağlı post-transkripsiyonel gen düzenlemesinin embriyonik germ hücrelerinin gelişimi için gerekli olduğu bildirilmiştir (Hayashi ve ark., 2008). Farelerle yapılan başka bir çalışmada hCG hormonu ile uyarmı yapılmadan hemen önce

ve yapıldıktan 4 saat sonra miRNA düzeylerine bakılmıştır. Sırasıyla 196 ve 206 miRNA tespit edilmiştir. Sayıca en belirgin olarak artanlar miR-132, miR-212 ve miR-21 olarak belirtilmiştir. miR-132 ve miR-212'nin baskılanması östrojen ya da progesteron üretimini etkilememiştir (Fiedler ve ark, 2008).

4. UTERUSTA MİRNA İFADESİ

4.1. Endometriumda miRNA Ekspresyonu, İmplantasyon ve Endometriozis ve Endometriyal Kanser ile İlişkisi

Embriyonun yerleştiği ve gelişimini sürdürdüğü kadın üreme sisteminin en önemli organlarından biri olan uterusda miRNA ekspresyonuna ilişkin mevcut bilgiler büyük oranda endometriyozisli ve sağlıklı kadınların karşılaştırıldığı çalışmalardan elde edilmiştir. Bu çalışmalar özellikle normal endometriumda ifade edilen miRNA'ları ortaya koymakla birlikte, bu moleküllerin hücresel proliferasyon, apoptoz, steroid hormon yanıtı gibi birçok biyolojik süreci düzenlediğini göstermektedir. Endometriyozisi olan ve sağlıklı endometriumda yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada normal endometrial dokularda en çok bulunan miRNA'ların miR-125b, miR-21, miR-145, miR-26a, miR-23b, miR-29a ve miR-99a olduğunu tespit edilmesine karşın endometriyozisli kadınların endometriyumlarında ise bu miRNA'ların ekspresyon seviyeleri anlamlı düzeyde azalma olduğu belirtilmiştir (Pan ve ark, 2007). Benzer bir çalışmada miR-17-5p, miR-23a, miR-23b, miR-542-3p'nin endometriyozisli kadınların endometriyumlarında azaldığı ve hormonlara karşı duyarlılığı gösterilmiştir. Özellikle miR-17-5p ve miR-542-3p'nin ekspresyonu östrojen (E2) ve medroksiprogesteron asetat (MPA) tarafından düzenlenmektedir (Toloubeydokhti ve ark, 2008). Bununla birlikte son yıllarda yapılan özellikle fare çalışmaları miRNA'ların implantasyon başarısı için önemli olduğunu bildirmektedir (Chakrabarty ve ark, 2007). Özellikle miR-101a ve miR-199a gibi miRNA'ların COX2 enzimini hedefleyerek implantasyonu düzenlediği gösterilmiştir (Hu ve ark, 2008). Endometriyal kanser çalışmalarında ise miR-200 ailesinin (miR-200a/b/c, miR-141, miR-429) kanser hücrelerinde artmış ekspresyona sahip olduğu ve hücre çoğalmasını indüklediği özellikle miR-200c'nin BRD7 tümör baskılayıcı proteini baskıladığı gösterilmiştir (Park ve ark, 2008; Snowdon ve ark, 2011;). Ayrıca, FOXO1, FOXC1 ve TP53INP1 gibi tümör baskılayıcı genler de miRNA'lar tarafından hedeflenmektedir. Bu genlerin miRNA'lar tarafından

baskılanması, endometrial hücrelerde çoğalma, migrasyon ve invazyonu teşvik etmektedir (Jiang ve ark, 2011; Myatt ve ark, 2010).

4.2. Miyometriyumda miRNA'ların Kontraksiyon ve Gebelikle İlişkisi

Esas görevi doğum sırasında fetüsün uterus dışına gönderilmesini sağlayacak kasılmaları gerçekleştirmek olan uterusun miyometriyum tabakasında yapılan çalışmalarda miRNA'ların etkisine bakılmıştır. Farelerde yapılan bir çalışmada gebelikte miyometriyumda miRNA'ların hormonlara bağlı olarak düzenlenen kontraktilite hedefleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Farelerde doğuma yakın günlerde miyometriyumda miR-200a/b/c, miR-141 ve miR-429 ekspresyonunun arttığı, buna karşılık ZEB1 ve ZEB2 gibi hedef genlerin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. İnsanlarda da benzer şekilde, doğum yapan kadınlarda ZEB1/ZEB2 seviyeleri azalırken miR-200 ailesinin ekspresyonu artmıştır. ZEB1/ZEB2'nin baskılanması ile kontraktil proteinler olan CXN43 ve OXTR'nin ekspresyonu artmıştır (Renthal ve ark, 2010). Bu bulgular, progesteronun miR-200 ailesi ve hedefleri olan ZEB1/ZEB2 üzerinden miyometriyum kontraktilitesini düzenlediğini göstermektedir. Uterin leiomyomlar miyometriyum kaynaklı benign tümörlerdir ve miRNA'ların bu hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Leiomyomlar ile yapılan bir çalışmada 206 miRNA analiz edilmiş ve 45'inin leiomyomalarda ifadesinin artış gösterdiği belirtilmiştir. Bunlardan en önemlileri let-7, miR-21, miR-23b, miR27a ve miR30a olarak belirtilmiştir. Özellikle let-7 ekspresyonun küçük leiomyomalarda yüksek, büyük leiomyomalarda düşük olduğu gösterilmiştir (Wang ve ark, 2007).

4.3. Servikte miRNA Ekspresyonu ve Servikal Kanserle İlişkisi

Menstrüel döngü sırasında mukus salgılayan ve spermin vajenden uterusa geçişini sağlayan serviks dokusunda yapılan miRNA çalışmalarından birinde spontan doğum yapan kadınların servikal dokularıyla doğum eylemi başlamadan önce sezaryenle doğum yapan kadınların servikal dokularını karşılaştırarak miRNA ekspresyon profilleri incelenmiştir. İnsan servikal dokusunda toplamda 226 miRNA'nın eksprese olduğu tespit edilmiş olup bunlardan miR-223, miR-34b ve miR-34c'nin spontan doğum yapan kadınlarda

anlamli şekilde artmış olduğu bulunmuştur. Bu miRNA'ların hedeflediği proteinler arasında Claudin-8 (miR-223), araşidonat 12-lipoksijenaz (miR-34b) ve kalmodulin-benzeri 3 (miR-34c) yer almaktadır. Yapılan bir çalışmada servikal kanser hücre hatları ve normal serviks dokusu karşılaştırmış ve miR-21'in artmış, miR-143'ün ise azalmış olduğu gösterilmiştir (Lui ve ark, 2007). Buna benzer şekilde servikal karsinomlarda miR-127 ve miR-199a'nın anlamli şekilde arttığını ve miR-127 ekspresyonunun lenf nodu metastazı ile ilişkili olduğunu gösteren bir çalışma da bulunmaktadır (Lee ve ark, 2008). Öte yandan bazı çalışmalar miR-100 ve miR-372'nin ekspresyon seviyelerinin servikal kanserde azaldığını göstermektedir. miR-100, PLK1 üzerinden, miR-372 ise CDK2/siklin A1 üzerinden hücre döngüsünü, proliferasyonu ve apoptozu düzenlemektedir. Apoptozla ilişkili olarak, P2RX7'nin normal servikal dokuda eksprese olduğu, ancak servikal kanser dokularında baskılandığı ve bu baskılanmanın miR-186 ve miR-150'nin artmış ekspresyonuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Tian ve ark, 2011). İnvazyonla ilişkili olarak, miR-34a'nın NOTCH1 ve JAGGED1 hedeflemesiyle invazyonu azalttığı, miR-375'in SP1 transkripsiyon faktörü üzerinden proliferasyon, migrasyon ve invazyonu baskıladığı gösterilmiştir (Pang ve ark, 2010).

SONUÇ

Kadın üreme sistemine ait farklı doku ve hücre popülasyonlarında miRNA'ların ifade profilleri ve işlevsel rolleri üreme fizyolojisinin düzenlenmesinde belirleyici bir yere sahiptir. Ovaryumlarda granüloza hücrelerinde FSH ve LH gibi gonadotropinlerin etkisiyle ekspresyonu düzenlenen miRNA'ların hücre proliferasyonu, apoptoz ve steroid hormon sentezi gibi süreçlere aracılık ettiği gösterilmiştir. Özellikle normal over fonksiyonunun korunması ve ovulasyonun sağlıklı gerçekleşmesi açısından bu miRNA'ların regülatör rolleri dikkat çekicidir.

Endometrial dokuda ise miRNA ekspresyonunun hem siklik hormonal değışimlere hem de hücresel farklılaşmalara duyarlı olduğu, bez epiteli ve stromal hücreler arasında anlamli ekspresyon farklılıklarının bulunduğu belirtilmiştir. Bunun yanı sıra endometriyozis gibi jinekolojik patolojilerde miRNA düzeylerinde meydana gelen değışikliklerin hastalığın patogeneğinde önemli rol oynadığı ve bazı miRNA'ların potansiyel biyobelirteç olabileceği ileri sürölmektedir. Servikal dokuda yapılan çalışmalar ise özellikle servikal

karsinomlar bağlamında yoğunlaşmış olup çeşitli miRNA tiplerinin tümör hücre proliferasyonu, invazyonu ve apoptoz üzerindeki etkilerini ortaya koymuştur.

Genel olarak, kadın üreme sistemi dokularında miRNA'ların fizyolojik ve patolojik süreçlerde hücresel fonksiyonların epigenetik düzeyde kontrolünde kritik düzenleyiciler olarak görev yaptığı anlaşılmaktadır. Bu bağlamda, miRNA'lar yalnızca moleküler biyolojinin temel kavramlarını anlamada değil, aynı zamanda fertilite bozukluklarının, jinekolojik hastalıkların ve üreme sağlığına ilişkin klinik tabloların tanı ve tedavisinde yeni ufuklar sunabilecek biyomoleküler hedefler olarak ön plana çıkmaktadır.

KAYNAKÇA

- Ahn, H. W., Morin, R. D., Zhao, H., Harris, R. A., Coarfa, C., Chen, Z.-J., Milosavljevic, A., Marra, M. A., & Rajkovic, A. (2010). MicroRNA transcriptome in the newborn mouse ovaries determined by massive parallel sequencing. *Molecular Human Reproduction*, 16(7), 463–471. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaq017>
- Aksak, T., Askin, A., Polat, S., Ürünsak, İ. F., & Karaoğlu, Ö. (2025). Immunohistochemical examination of PNA⁺, α 4 β 1 integrin and MUC-2 expressions in the secretory phase endometrium of women diagnosed with recurrent implantation failure. *Journal of Reproductive Immunology*, 167, 104420. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2024.104420>
- Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281–297.
- Berezikov, E., Chung, W. J., Willis, J., Cuppen, E., & Lai, E. C. (2007). Mammalian mitron genes. *Molecular Cell*, 28(2), 328–336. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.09.028>
- Chakrabarty, A., Tranguch, S., Daikoku, T., Jensen, K., Furneaux, H., & Dey, S. K. (2007). MicroRNA regulation of cyclooxygenase-2 during embryo implantation. *PNAS*, 104(35), 15144–15149. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705917104>
- Choi, Y., Qin, Y., Berger, M. F., Ballow, D. J., Bulyk, M. L., & Rajkovic, A. (2007). Microarray analysis of newborn mouse ovaries lacking Nobox. *Biology of Reproduction*, 77(2), 312–319. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.060459>
- Fiedler, S. D., Carletti, M. Z., Hong, X., & Christenson, L. K. (2008). Hormonal regulation of microRNA expression in periovulatory mouse mural granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 79(6), 1030–1037. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.069690>
- Ghaffari, S. H., & Bashash, D. (2015). Reciprocal interconnection of miRNome-Epigenome in cancer pathogenesis and its therapeutic potential. In *Epigenetics Territory and Cancer* (pp. 101–135). Springer Netherlands.
- Gonzalez, G., & Behringer, R. R. (2009). Dicer is required for female reproductive tract development and fertility in the mouse. *Molecular*

- Reproduction and Development*, 76(8), 678–688.
<https://doi.org/10.1002/mrd.21010>
- Hayashi, K., Chuva de Sousa Lopes, S. M., Kaneda, M., Tang, F., Hajkova, P., Lao, K., O’Carroll, D., Das, P. P., Tarakhovsky, A., Miska, E. A., et al. (2008). MicroRNA biogenesis is required for mouse primordial germ cell development and spermatogenesis. *PLoS ONE*, 3(3), e1738. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001738>
- Hu, S. J., Ren, G., Liu, J. L., Zhao, Z. A., Yu, Y. S., Su, R. W., Ma, X. H., Ni, H., Lei, W., & Yang, Z. M. (2008). MicroRNA expression and regulation in mouse uterus during embryo implantation. *Journal of Biological Chemistry*, 283(34), 23473–23484. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800406200>
- Jiang, F., Liu, T., He, Y., Yan, Q., Chen, X., Wang, H., & Wan, X. (2011). MiR-125b promotes proliferation and migration of type II endometrial carcinoma cells through targeting TP53INP1 tumor suppressor in vitro and in vivo. *BMC Cancer*, 11, 425. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-425>
- Kalla, R., Ventham, N. T., Kennedy, N. A., Quintana, J. F., Nimmo, E. R., Buck, A. H., & Satsangi, J. (2015). MicroRNAs: New players in IBD. *Gut*, 64(3), 504–513.
- Lee, J. W., Choi, C. H., Choi, J. J., Park, Y. A., Kim, S. J., Hwang, S. Y., Kim, W. Y., Kim, T. J., Lee, J. H., Kim, B. G., et al. (2008). Altered microRNAs expression in cervical carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 14(9), 2535–2542. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1231>
- Lei, L., Jin, S., Gonzalez, G., Behringer, R. R., & Woodruff, T. K. (2010). The regulatory role of Dicer in folliculogenesis in mice. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 315(1–2), 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.09.021>
- Lu, J., He, M. L., Wang, L., Chen, Y., Liu, X., Dong, Q., Chen, Y. C., Peng, Y., Yao, K. T., Kung, H. F., et al. (2011). MiR-26a inhibits cell growth and tumorigenesis of nasopharyngeal carcinoma through repression of EZH2. *Cancer Research*, 71(1), 225–233. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1850>
- Lui, W. O., Pourmand, N., Patterson, B. K., & Fire, A. (2007). Patterns of

- known and novel small RNAs in human cervical cancer. *Cancer Research*, 67(13), 6031–6043. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0561>
- Myatt, S. S., Wang, J., Monteiro, L. J., Christian, M., Ho, K. K., Fusi, L., Dinea, R. E., Brosens, J. J., Ghaem-Maghani, S., & Lam, E. W. (2010). Definition of microRNAs that repress expression of the tumor suppressor gene FOXO1 in endometrial cancer. *Cancer Research*, 70(1), 367–377. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1891>
- Nagaraja, A. K., Andreu-Vieyra, C., Franco, H. L., Ma, L., Chen, R. H., Han, D. Y., Zhu, H. F., Agno, J. E., Gunaratne, P. H., DeMayo, F. J., et al. (2008). Deletion of Dicer in somatic cells of the female reproductive tract causes sterility. *Molecular Endocrinology*, 22(11), 2336–2352. <https://doi.org/10.1210/me.2008-0142>
- Nothnick, W. B. (2012). The role of micro-RNAs in the female reproductive tract. *Reproduction*, 143(5), 559.
- Otsuka, M., Zheng, M., Hayashi, M., Lee, J. D., Yoshino, O., Lin, S., & Han, J. (2008). Impaired microRNAs processing causes corpus luteum insufficiency and infertility in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 118(5), 1944–1954. <https://doi.org/10.1172/JCI33680>
- Pan, Q., Luo, X., Toloubeydokhti, T., & Chegini, N. (2007). The expression profile of micro-RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression. *Molecular Human Reproduction*, 13(11), 797–806. <https://doi.org/10.1093/molehr/gam063>
- Pang, R. T., Leung, C. O., Ye, T. M., Liu, W., Chiu, P. C., Lam, K. K., Lee, K. F., & Yeung, W. S. (2010). MicroRNA-34a suppresses invasion through downregulation of Notch1 and Jagged1 in cervical carcinoma and choriocarcinoma cells. *Carcinogenesis*, 31(6), 1037–1044. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgq066>
- Park, S. M., Caur, A. B., Lengyel, E., & Peter, M. E. (2008). The miR-200 family determine the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes & Development*, 22(7), 894–907. <https://doi.org/10.1101/gad.1640608>
- Poddar, S., Kesharwani, D., & Datta, M. (2017). Interplay between the miRNome and the epigenetic machinery: Implications in health and disease. *Journal of Cellular Physiology*, 232(11), 2938–2945.

- Renthal, N. E., Chen, C. C., Williams, K. C., Gerard, R. D., Prange-Kiel, J., & Mendelson, C. R. (2010). miR-200 family and targets ZEB1 and ZEB2, modulate uterine quiescence and contractility during pregnancy and labor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(48), 20828–20833. <https://doi.org/10.1073/pnas.1008301107>
- Ro, S., Song, R., Park, C., Zheng, H., Sanders, K. M., & Yan, W. (2007). Cloning and expression profiling of small RNAs expressed in mouse ovary. *RNA*, 13(12), 2366–2388. <https://doi.org/10.1261/rna.754207>
- Saliminejad, K., Khorram Khorshid, H. R., Soleymani Fard, S., & Ghaffari, S. H. (2019). An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of Cellular Physiology*, 234(5), 5451–5465.
- Snowdon, J., Zhang, X., Childs, T., Tron, V. A., & Feilotter, H. (2011). The microRNAs-200 family is upregulated in endometrial carcinoma. *PLoS ONE*, 6(8), e22828. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022828>
- Tian, R. Q., Wang, X. H., Hou, L. J., Jia, W. H., Yang, Q., Li, Y. X., Liu, M., Li, X., & Tang, H. (2011). MicroRNA-372 is down-regulated and targets cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) and Cyclin A1 in human cervical cancer, which may contribute to tumorigenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 286(29), 25556–25563. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.221564>
- Toloubeydokhti, T., Pan, Q., Luo, X., Bukulmez, O., & Chegini, N. (2008). The expression and ovarian steroid regulation of endometrial microRNAs. *Reproductive Sciences*, 15(10), 993–1001. <https://doi.org/10.1177/1933719108324132>
- Turchinovich, A., Tonevitsky, A. G., & Burwinkel, B. (2016). Extracellular miRNA: A collision of two paradigms. *Trends in Biochemical Sciences*, 41(10), 883–892.
- Vasudevan, S., Tong, Y., & Steitz, J. A. (2007). Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*, 318(5858), 1931–1934. <https://doi.org/10.1126/science.1149460>
- Wang, T., Zhang, X., Obijuru, L., Laser, J., Aris, V., Lee, P., Mittal, K., Soteropoulos, P., & Wei, J.-J. (2007). A micro-RNA signature associated with race, tumor size and target gene activity in human uterine leiomyomas. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 46(4), 336–347.

<https://doi.org/10.1002/gcc.20415>

BÖLÜM 8

ŞİZOFRENİ HASTALIĞINDA FERROPTOZİS

Doç. Dr. Sevgi KARABULUT UZUNÇAKMAK¹⁰

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936828>

¹⁰ Bayburt Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Bayburt, Türkiye. skarabulut@bayburt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-9714-0349

GİRİŞ

Şizofreni dünya çapında her 100.000 kişiden yaklaşık 287'sini etkileyen bilişsel yetenekleri sınırlayan, hayat kalitesini düşüren kronik bir psikiyatrik rahatsızlıktır (Solmi ve ark., 2023). Şizofrenin semptomları üç farklı sınıfta kategorize edilmektedir; pozitif semptomlar (halüsinasyonlar, sanrılar); negatif semptomlar (ilgisizlik, sosyal geri çekilme, motivasyon kaybı); bilişsel semptomlar (dikkat eksikliği, hafıza zayıflaması, günlük işlerde beceri azalması vb.) (Liddle, 2019; Nestler ve ark., 2016).

Şizofreni genellikle ergenliğin sonu ile otuzlu yaşların başı arasında teşhis edilir ve erkeklerde kızlara göre daha erken ortaya çıkar ve daha şiddetli olma eğilimindedir (Hollis ve Rapoport, 2010; McGrath ve ark., 2008). Bilişsel ve sosyal ilişkilerde örtülü değişiklikler, genellikle gerçek teşhisten yıllar önce ortaya çıkabilmektedir. Şizofrenik bireylerde erken ölüm oranı genel nüfusa göre daha yüksektir. Buna, şizofreniye ek hastalıklar da katkı sağlamaktadır. Karaciğer, diyabet, metabolik rahatsızlıklar ve kalp rahatsızlıkları gibi eşlik eden hastalıkların varlığı erken ölüm oranını arttırmaktadır (Olfson ve ark., 2015). Şizofreni hastalarının %4.9'u intihar ederek ölmektedir (Palmer ve ark., 2005).

Şizofrenin temelinde yatan risk faktörleri arasında, genetik ve epigenetik değişimler, nörogelişimsel anomaliler, beyin kimyasının deregülasyonu bulunmaktadır (Fişar, 2023). Genetik açıdan değerlendirildiğinde çok sayıda genetik değişim şizofreni risk faktörü olarak birer aday pozisyonundadır, fakat hiçbir genetik değişim majör klinik belirtileri tam olarak karşılamamaktadır. Kalıtımın etkisi yapılan aile çalışmaları ile %80'lik bir katkı olarak ifade edilse de genetik değişimlerin şizofreni patofizyolojisi üzerine etkisi tam olarak açıklanamamıştır (Lim ve ark., 2026; Sullivan ve ark., 2003). Epigenetik varyasyonların hastalığın patofizyolojisine katkı sağladığı bilinmesine rağmen biyobelirteç niteliğine sahip bir düzenlemeden bahsetmek henüz mümkün değildir (Fişar, 2023; Föcking ve ark., 2019). Nörogelişimsel değişimler nöral tüp oluşumu, nörogenez, sinir hücrelerinin göçü, hücre katmanlarının oluşumu, sinaptogenez, budama, apoptoz, miyelinizasyon ve kortikal incelme gibi gelişim sürecinin herhangi bir aşamasında oluşabilecek anomaliler şizofreni için nörogelişimsel risk faktörlerini barındırabilir. İlk trimester ve ergenliğin son dönemleri, nörogenez ve sinaps değişimlerinin gerçekleşmesi bakımından şizofreniye yatkınlık için önemli iki dönemdir (Catts ve ark., 2013; Selemon &

Zecevic, 2015). Şizofreninin temelinde rol oynayan nörotransmitterler, bu moleküllerin sentez yolları, ligandların bağlandığı reseptörler, reseptörler ile uyarılan hücre içi sinyal yolları hem nöroenezde hem de sinaptogeneze son derece önemlidir. Nörotransmitterlerde ve ilişkili olduğu moleküllerde gerçekleşen patolojik değişimler şizofreninin zeminin oluşturabilir (Chen ve ark., 2020; Fişar, 2023). Davranışsal ve bilişsel yeteneklerdeki değişimler sıklıkla dopaminerjik, glutamaterjik, serotoninerjik ve gama-aminobütirik asit (GABA)erjik nörotransmitter yolları ile ilişkilendirilmiştir. Bu sistemlerin izole bir şekilde çalışmadıkları, aksine, bozukluğun semptomlarını ve gelişimini önemli ölçüde etkileyen şekillerde etkileşime girdiği görülmektedir (Fişar, 2023). Buna rağmen, nörotransmitterler hastalığın oluşumu ve ilerlemesine önemli katkılar sunarlar.

1. ŞİZOFRENİ VE OKSİDATİF SİSTEM

Şizofreni hastalığında etkin olan çok sayıda moleküler mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan biri de oksidatif sistemdir. Hücrelerdeki metabolik süreç reaktif oksijen türlerinin üretimine sebep olur. Reaktif oksijen türleri (ROS), hücresel faaliyetler için kritik bir molekül olan ATP'nin mitokondriyal üretiminin yan ürünleri olarak üretilir (Ambrosio ve ark., 1993). Hücreye giren oksijenin tahmini %0,1-0,5'i süperoksit radikallerine dönüştürülür (Servais ve ark., 2005). Normal koşullar altında, serbest radikallerin seviyesi, dokularda oksidasyon oranının çok fazla yükselmemesi adına kontrol edilir (Tan ve ark., 2018). Fakat hücredeki oksidan üretiminin antioksidan üretimini aştığı koşullarda hücre içinde serbest radikal birikimi gerçekleşir. Bu durum hücre içerisindeki moleküllere yapısal ve fonksiyonel olarak zarar verir ve hastalıkların zeminini oluşturmaya başlar (Pizzino ve ark., 2017; Sato ve ark., 2014). Özellikle beyinin, vücutta üretilen oksijenin önemli bir kısmına ihtiyaç duyması ve yüksek bir metabolizmaya sahip olması sebebiyle düşük antioksidan sistem ve kolay oksitlenen membran çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA'lar) varlığında oksidatif stresin olumsuz etkilerinden kolaylıkla etkilenebilmektedir (Mahadik & Mukherjee, 1996).

ROS artışı ve antioksidan savunma mekanizmasındaki bozulmalar şizofreni dahil bir çok hastalıkta gözlemlenmiştir (Karabulut Uzunçakmak ve ark., 2024; D. Liu ve ark., 2016). Şizofreni hastalığında antioksidan mekanizmanın bozulduğu, hücre içi ROS düzeyinin yükseldiği bilinmektedir.

Bu da hastalığın seyrinin bozulmasına sebep olabilmektedir (Khan, 2002). Post-mortem şizofreni çalışmaları, özellikle prefrontal korteks ve kaudat kortekste glutatyon (GSH) seviyelerinin azaldığını ve oksidatif stresin artması sonucu ön singulat kortekste (ACC) anormal protein ekspresyonunun olduğunu bildirilmektedir (Clark ve ark., 2006; Gawryluk ve ark., 2011). Sağlıklı bireyler ile karşılaştırılan şizofreni hastalarına ait periferik kan dokusunda düşük SOD ve artan MDA düzeyleri rapor edilmiştir (Karabulut Uzunçakmak ve ark., 2024). Artan oksidatif stres hücreleri ölüme götüren ana etmenlerden biridir. Çünkü hücre içinde ROS birikimine bağlı olarak moleküler yapıların bozulması tamiri sağlanamayan düzensizliklerle birlikte hücrenin ölümüyle sonuçlanmaktadır (Li ve ark., 2020).

Hücreler farklı hücre içi sinyalizasyonlara bağlı olarak farklı hücre ölüm tipleri ile varlıklarını sonlandırabilmektedir. Hücre ölüm tipleri arasında apoptoz, nekroz, otofaji iyi araştırılmış yolaklardır (Matsuda ve ark., 2019). Son dönemde ise ferroptozis olarak bilinen ve hücreSEL demir birikimine bağlı olarak hücrenin işlevsizleştiği ve sonunda varlığını sonlandırdığı bir hücre ölüm tipi tarif edilmiştir (Dixon ve ark., 2012).

2. FERROPTOZİS

Ferroptozis, demir bağımlı hücre ölüm yolağı olarak bilinmektedir (Dixon ve ark., 2012). Bilinen diğer hücre ölümü çeşitlerinden morfolojik olarak ayrımı ise asıl değişimin mitokondride başlamasıdır. Mitokondriyal krista azalımı, mitokondriyal küçülme ve artan zar yoğunluğu ile kendini göstermektedir (Li ve ark., 2020). Ferroptozis boyunca hücre zarı sağlamdır, çekirdek ve kromatin yapısında bir değişim yoktur (Dixon ve ark., 2012). Ferroptozis, çoklu doymamış yağ asidi içeren fosfolipidlerin oksidasyonu, redoks aktif demirin varlığı ve lipid peroksit onarım yeteneğinin kaybı ile karakterize edilir (Dixon & Stockwell, 2019). Genetik olarak ferroptozis, birden fazla gen tarafından düzenlenen biyolojik bir süreci ifade eder (Li ve ark., 2020).

Ferroptozis mekanizmaları ferroptozisi teşvik eden maddelerin etkileri doğrultusunda belirlenmiştir. Ferroptozis mekanizmalarından biri; sistem Xc-'yi inhibe ederek GSH seviyelerinin düşürülmesiyle gerçekleştirilir. İkinci bir mekanizma; glutatyon peroksidaz 4 (GPX4) aktivitesini doğrudan inhibe edilmesidir. Üçüncü mekanizma; iki farklı yoldan gerçekleşebilmektedir. Biri

endojen antioksidan koenzim Q10'un (COQ10) tükenmesi diğeri ise GPX4 bozunmasıdır. Son mekanizma ise labil demirin doğrudan oksidasyonu ve GPX4'in inaktivasyonunun birleşik etkisidir (Li ve ark., 2020).

Sistem Xc- hücre membranında bulunan hücre içine sistin transfer ederken hücre dışını glutamat transfer eden transmembran bir proteindir. SLC7A11 ve SLC3A2 alt birimlerinden oluşur. Bu proteinin bileşenleri ferroptozis indüksiyonunda önemli birer hedef olmuşlardır. Çünkü hücre içine alınan sistin lipid hidroperoksitlerin lipid alkole dönüştürülmesinde GPX4'ün enzim yardımcı substratı olan GSH'nin sentezinde kullanılır (Dixon & Stockwell, 2019). GSH, glutatyon peroksidaz (GPX'ler) enzim grubunun etkisi altında ROS ve reaktif azotu azaltır. Sistem Xc- aktivitesinin bir supresör aracılığıyla baskılanması, GSH sentezi için gerekli olan sistinin hücre içine transportunu engeller, dolayısıyla GSH sentezi azalır ve bu da GPX aktivitesini sınırlar. Buna bağlı olarak hücrel antioksidan aktivitesi zayıflar, lipid ROS birikimi artar ve nihayetinde oksidatif hasar bağlı ferroptozis gerçekleşir (Li ve ark., 2020).

GPX4 olarak bilinen enzim GPX ailesine aittir ve hücreleri membran lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Hücre içi oksidatif homeostaziden sorumlu olan GPX4 hücre içi çok sayıda sürece katılmakta ve lipid peroksit oluşumunu engelleyerek ferroptozis düzenlenmesine katkı sağlamaktadır. GPX4, GSH'yi oksitlenmiş glutatyona (GSSG) dönüştürür ve sitotoksik lipid peroksitleri (L-OOH) karşılık gelen alkollere (L-OH) indirger. GPX4 aktivitesinin inhibisyonu, hücrelerin antioksidan kapasitesinin azalmasına, ROS ve ferroptozisin bir belirtici olan lipid peroksitlerin birikmesine, ve dolayısıyla ferroptozise sebep olabilir (Dixon ve Stockwell, 2019; Yang ve ark., 2014).

PUFA'lar, lipid peroksidasyonuna karşı duyarlıdır ve ferroptozisin ana etkenlerinden biridir (Yang ve Stockwell, 2016). Serbest PUFA'lar, sentetik lipid sinyal iletim ortamının substratıdır, ancak ferroptozis sinyalini iletmek için membran fosfolipitlerine esterleştirilmeleri ve oksitlenmeleri gerekir. Çalışmalar, araşidonik asit (AA) veya türevi adrenalin içeren fosfatidiletanolaminin (PE), hücrelerde ferroptozisi indükleyen temel fosfolipid olduğunu göstermiştir. Asil-CoA sentaz uzun zincirli aile üyesi 4 (ACSL4), lipoksijenaz aracılı lipid hidroperoksitlere dönüşüme duyarlı olan çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengin fosfolipitlerin sentezini teşvik eder ve

nihayetinde ferroptozis kaynaklı hücre ölümüne katkıda bulunur (Dixon ve ark., 2012). Bu nedenle, ACSL4 ekspresyonunun azaltılması, hücrelerde lipid peroksit substratlarının birikimini azaltarak ferroptozisi engelleyebilir (Dixon ve ark., 2012).

P53 önemli tümör supresör bir gen olarak bilinmektedir ve çok sayıda kanser çalışmasının öznesi olarak rol almıştır. P53'e ait son dönem çalışmaları ile P53'ün ferroptozis indükleyici rolü açığa çıkarılmıştır. P53'ün insan küçük hücreli olmayan akciğer karsinoması hücrelerinde antioksidan kapasiteyi azaltarak ferroptozisi tetiklediği gösterilmiştir (L. Jiang, Hickman, ve ark., 2015). Farklı bir çalışmada ise P53'ün sistin alımını inhibe ettiğini ve sistin/glutamat antiporterinin önemli bir bileşeni olan SLC7A11 ekspresyonunu baskılayarak hücreleri apoptotik olmayan bir hücre ölümü biçimi olan ferroptozise duyarlı hale getirdiği rapor edilmiştir (L. Jiang, Kon, ve ark., 2015). Tabi tam tersi sonuçlar olduğunu ifade eden çalışmalar da bulunmaktadır (Tarangelo ve ark., 2018).

Voltaj bağımlı anyon kanalları (VDAC) olarak bilinen mitokondriyal porinler, mitokondri dış zarında lokalize olan ve anyonları, nükleotidler, katyonları ve bazı yüksüz molekülleri transport eden bir porin iyon kanalı sınıfıdır (Blachly-Dyson ve Forte, 2001). VDAC kusurları, oksidatif fosforilasyonu ve diğer reaksiyonları potansiyel olarak bozabilecek mitokondriyal matriksin anormal iyon kompozisyonuyla ilişkilidir (Blachly-Dyson ve Forte, 2001). VDAC'ların erastin ile muamelesi mitokondriyal disfonksiyona ve büyük miktarda oksit salınımına ve dolayısıyla demir aracılı hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (Yagoda ve ark., 2007).

Ferroptozis mekanizmasında önemli bir diğer molekül ilişkisi ise CoQ10/FSP1'dir. CoQ10/FSP1 yolunda, bir CoQ oksidoredüktaz olan FSP1, PL-PUFA-OOH'yi stabilize etmek için CoQ'yu CoQH2'ye dönüştürür (Bersuker ve ark., 2019; Doll ve ark., 2019). Ferroptozis supressor protein1 (FSP1)'in N-terminal miristilasyonu ile FSP1 hücre membranına yerleşir ve bu da PL-PUFA-OOH'nin uzaklaştırılmasına yardımcı olur (Bersuker ve ark., 2019; Doll ve ark., 2019). CoQ10/FSP1 yolu, GPX4'ten bağımsız olarak etki eder çünkü FSP1, xCT antiporterini ve sistin taşınımını, GSH seviyelerini ve toplam PL-PUFA'yı etkilemez (Cheu ve ark., 2023). Yapılan çalışmada FSP1'in NAD(P)H tarafından COQ10 rejenerasyonunu katalize ettiği ve FSP1-COQ10-NAD(P)H yolağının, fosfolipid peroksidasyonunu ve ferroptozisi baskılamak

için GPX4 ve GSH ile işbirliği yapan bağımsız bir paralel sistem olduğu gösterilmiştir (Doll ve ark., 2019).

Demir, vücutta birçok metabolik sürece dahil olan gerekli bir eser elementtir. Demir hücresel enerji üretimi ve ara metabolizmada kritik bir role sahiptir. Sonuç olarak demir, hücrenin sağ kalımı, proliferasyonu ve diferansiyasyonu için temeldir (Andrews, 2008). Demir metabolizması ve hücre içine demir alımı, atılımı, yeniden kullanılması ve demir homeostazisi ciddi bir denetim altındadır. Hücre içinde kararsız demir seviyesini düzenleyen moleküller de ferroptoziste rol oynar. Çünkü hücre içinde artan kararsız demir PUFA içeren fosfolipidlerin oksidasyonuna sebep olur. Bu da hücre içi ROS miktarını artırır ve ferroptotik süreç tetiklenir (Dixon ve Stockwell, 2019). Transferin ve ferritin, taşıma, bağlanma ve depolama işlemlerini kolaylaştırarak demir metabolizmasını düzenlemek için gereklidir (Dixon ve ark., 2012). Hücre içi demir depolayan protein olan ferritin, otofaji ile parçalandığında ferroptozisi desteklemek için demir salgılar (Park ve Chung, 2019). Demir, kendi kendini çoğaltan bir şekilde lipit ROS üretme kapasitesi nedeniyle ferroptozise katılır (Gutteridge ve Halliwell, 1989). Transferrin reseptörü 1 (TFR 1) proteinine ait TFRC geninin susturulması, erastin kaynaklı ferroptozisi inhibe edebilir (Gao ve ark., 2015). Ferroptotik ölüm demir şelatlayıcılar tarafından baskılanabilir ve transferin ve reseptörü tarafından desteklenebilir (Feng ve ark., 2020; Liu ve ark., 2023).

3. ŞİZOFRENİ VE DEMİR

Demir, sinir sisteminin temel gelişimi için de önemli roller üstelenmiştir. Demir, myelin üretimi, oksijenin taşınması, nörogenez, sinaps oluşumu, enerji üretimi, nörotransmitter sentezi olmak üzere birçok nöronal gelişim sürecinde görev almaktadır (Xu ve ark., 2021). Ayrıca şizofreni gelişimi için önemli olan, monoaminerjik sistem, glutamaterjik ve GABAerjik sistem dahil olmak üzere nörokimyasal devrelerin bütünlüğünün korunması için önemlidir (Hare ve ark., 2013; Ward ve ark., 2007; Xu ve ark., 2021). Sadece demir değil demir metabolizmasında görev olan molekül ve genlerin de demirin etkin görev yapmasını düzenlediğini de hatırlamak gerekir. Bu önemli elementin eksikliği tüm bu süreçlerin sekteye uğraması ve bozulması anlamına gelebilir. Yapılan çalışmalar şizofreni hastalarında demir miktarının sağlıklı kontrollerden farklı olduğunu göstermektedir (Y. Jiang ve ark., 2024; Lotan ve ark., 2023). Demir

konsantrasyonu beyin bölgeleri arasında önemli ölçüde değişir ve genellikle bazal ganglionlarda daha yüksektir (Rouault, 2013). Kan-beyin bariyeri (BBB), periferik depolardan büyük ölçüde bağımsız olan demirin homeostatik düzenlenmesini gerçekleştirir (Rouault, 2013). BBB, çözünen madde taşınmasını düzenleyerek ve patolojik etkilere sahip olabilen maddelerin beyin dokusuna sızmasını önleyerek merkezi sinir sisteminin homeostazisinde rol oynar. Şizofrenide, ortaya çıkan kanıtlar BBB işlev bozukluğunun nöroinflamasyon ve endotel işlev bozukluğu ile ilişkili önemli bir patofizyolojik faktör olduğunu göstermektedir (Zhang ve ark., 2025). Hem demirinden farklı olarak, doku demirinin çoğu hücre içi protein ferritine bağlıdır ve nöronlar ile glialarda depolanır (Rouault, 2013). Gerekğinde, ferritindeki demir, enerji üretimi, miyelinleşme ve katekolamin sentezi için bir yardımcı faktör olarak hizmet edebilir (Rouault, 2013). Ferritin ayrıca gerektiğinde içeriğindeki demiri hücre içine salarak ferroptozise de katkı sunabilir (Park ve Chung, 2019). Belirgin negatif semptomları olan ilk atak şizofreni hastalarında serum ferritin seviyelerinin dikkate değer bir şekilde düşük olduğu rapor edilmiştir (Kim ve ark., 2018). Sadece periferik dokuda değil aynı zamanda şizofreni hastaların ait beyin dokularında da gri cevher çekirdeklerinde demir konsantrasyonunun azaldığı ortaya koyulmuştur (Xu ve ark., 2021). Demir miktarının az olması demirin katkıda bulunduğu gelişimsel süreçleri olumsuz yönde etkilerken aşırı demir varlığı da oksidatif stresin artmasına sebep olabilir (Gutteridge ve Halliwell, 1989; Rouault, 2013). Bu nedenle demir miktarından ziyade demir metabolizmasındaki düzensizliklerin şizofreni dahil birçok hastalığında temelinde rol oynayabileceğini göz önünde bulundurmak gerekir.

4. ŞİZOFRENİ HASTALIĞINDA FERROPTOZİS İLİŞKİLİ DEĞİŞİMLER

Ferroptozis diğer hücre ölüm tiplerinden farklı olarak yeni ortaya atılmış ve farklı bir mekanizmaya sahip bir hücre ölüm tipidir. Şizofreni hastalığında görülen yüksek oksidatif stres ve demir metabolizmasındaki anomaliler ferroptozisi şizofreni için önemli bir hücre ölüm tipi haline getirmektedir (Karabulut Uzunçakmak ve ark., 2024; Lotan ve ark., 2023). Şizofreni hastalığında artan hücresel stres hücrede ROS birikimine ve hücre içi protein, yağ ve nükleik asit, karbonhidrat yapısında patolojik değişimlere ve dolayısıyla

birçok hücrel anomalie sebep olmaktadır. Bu da hastalığın patogeneğinde azalan antioksidan sistem yeteneklerini öne çıkarmaktadır (Dadheech ve ark., 2008). Zayıflayan antioksidan mekanizma ferroptozisin de temelini oluşturmaktadır (Yang ve ark., 2014). Bozulan demir regülasyonu hem şizofreninin patogeneğine katkı sunarken hem de ferroptozisin oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Dixon ve Stockwell, 2019; Lotan ve ark., 2023). Feng ve ark. tarafından yapılan bir bioinfomatik analiz sonucunda TP53, prostaglandin-endoperoksid sentaz 2 (PTGS2) ve vasküler endotelial büyüme faktörü- α 'nın (VEGF- α) şizofreni hastalığının ferroptozisle ilişkili genleri olabileceği rapor edilmiştir (Feng ve ark., 2022). Kim ve ark. tarafından yapılan çalışmada demir eksikliği olan ilk atak psikoz hastalarının belirgin negatif semptomlara ve daha yüksek bir pozitif ve negatif sendrom ölçeği (PANSS) negatif semptom skoruna sahip olma olasılığını, normal ferritin seviyelerine sahip olanlara nispeten belirgin bir şekilde daha yüksek bulmuşlardır. Yazarlar demir düzensizliğinin şizofreni hastalarındaki negatif semptomlar üzerinde bir etkisi olduğunu savunmuşlardır (Kim ve ark., 2018). Famitafreshi ve Karimian tarafından yapılan çalışmada sosyal izolasyona maruz bırakılan erkek Sprague-Dawley sıçanları, beyinlerinde belirgin demir seviyesi farklılıkları gösterilmiştir. Hayvanlardaki demir dengesizlikleri, artan anksiyete, değişen hareket kabiliyeti ve bozulmuş bilişsel işlevler gibi şizofreniye özgü davranış değişiklikleriyle ilişkilendirilmiştir (Famitafreshi ve Karimian, 2020). Dai ve ark. post-mortem beyin dokuları ile yaptıkları çalışmada farklı beyin bölgelerinde ifade edilen ferroptozis ilişkili genleri incelemişlerdir. Anterior cingulate cortex (Ancg)'te dokuz ferroptozis ilişkili farklı şekilde ifade edilen genler (DEG) yukarı regüle edilirken nükleus akumbens (nAcc)'te bir DEG aşağı regüle edilmiştir. Ancg bölgesinin protein-protein etkileşim ağı analizine göre metalloproteinazların doku inhibitörü 1 (TIMP1) ve galektin 3 (LGALS3) merkezi genler olmak üzere yedi önemli etkileşimli gen ortaya koyulmuştur. Yazarlar Ancg bölgesindeki glikoliz yolunda ve nAcc bölgesindeki glutamat transmembran taşıma yolunda ve doymamış yağ asidi biyosentezi süreç yolunda hastalara özgü önemli değişiklikler olduğunu rapor etmiştir (Dai ve ark., 2024). Peng ve ark. tarafından yapılan retrospektif bir çalışmada bilişsel eksiklikleri olan kronik şizofreni hastalarında bilişsel bozukluklar ve ferroptozis belirteçleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışma sonuçları yüksek süperoksit dismutaz (SOD) seviyeleriyle birlikte azalmış GSH ve demir

seviyelerinin, psikiyatrik semptomların genel şiddetiyle anlamlı şekilde ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Düşen GPX4 seviyeleri ve yükselen uzun zincirli asil-CoA sentetaz 4 (ACSL4), ve ferritin seviyeleri, negatif semptomlar ve bilişsel bozukluklarla anlamlı şekilde bağlantılı bulunmuştur (Peng ve ark., 2025). Zhu ve ark. şizofreni hastalarıyla yaptıkları çalışmada ferroptoziste önemli bir molekül olan oksidatif stres sensörü kelch benzeri ECH ilişkili protein1 (Keap1)'in yetersiz düzeyde eksprese olduğunu, hücre içi demir miktarının arttığını ve yüksek malondialdehit (MDA) *seviyelerinin varlığını*, azalmış GPX4 aktivitesi ve düşük GSH seviyelerini rapor etmiştir. Şizofreni hastalarından elde edilen pluripotent kök hücrelerinden kortikal internöronlar üretilerek KEAP1'in nörogelişimsel etkileri incelendiğinde bu hücrelerde azalmış KEAP1 ekspresyonu tespit edilmiştir. KEAP1'in aşırı ekspresyonu ise, hücre içi Fe^{2+} konsantrasyonlarında ve oksidatif hasarda bir azalmaya yol açmıştır (Zhu ve ark., 2025). Altun ve ark. yaptıkları çalışmada şizofreni hastalarında hücre içi demir düzeyi normal aralıklarda olmasına rağmen demirin dışarı atılmasını sağlayan ferroportin düzeylerinin şizofreni hastalarında kontrol grubuna nispeten yüksek olduğu bulunmuştur (Keleş Altun ve ark, 2021). Fan ve ark. tarafından oluşturulan şizofrenik fare modelinde risperidon tedavisinin ferroptozis üzerine etkisi incelendiğinde risperidonun kemik kaybını kolaylaştırdığı ve ferroptozisi arttırdığı gösterilmiştir. Ferroptozis inhibitörü Fer-1 uygulamasının ise kemik hücrelerindeki bu süreci geri çevirdiği ifade edilmiştir (Fan ve ark., 2025). Lian ve ark. yaptıkları veri tabanı araştırmaları sonucunda ferroptozis ile bağlantılı toplam 13 şizofreni modül geni ve 7 merkez geni tespit edilmiştir. Bunlar arasında 2,4 Dienoyl-CoA reductase (*DECR1*), Gap junction protein alpha 1 (*GJA1*), Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (*NRF2*), Phosphoserine aminotransferase (*PSA1*), Solute Carrier Family 7 Member 11 (*SLC7A11*), SRY-related HMG-box (*SOX2*) ve yes associated protein 1 (*YAPI*) genleri bulunmaktadır. Gene Ontology/ Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes/pathway enrichment analyses ve Gene Set Enrichment Analysis (GO/KEGG/GSEA) çalışması, bu merkez genlerinin ağırlıklı olarak mitokondri ve lipid metabolizmasında, oksidatif strese, immünolojik inflamasyonda, ferroptoziste, Hippo sinyal yolunda, AMP ile aktive olan protein kinaz yolunda ve diğer ilişkili biyolojik süreçlerde yoğunlaştığını göstermiştir. Bu merkez genler kullanılarak oluşturulan tanı modeli, şizofrenili üç hastadan alınan kan örneğinin veri

kümeleri ile de doğrulanmıştır. Yazarlar, bağışıklık hücresi işlev bozukluğunun ferroptozisi güçlendirdiğini ve şizofreniyi tetiklediğini iddia etmişlerdir (Lian ve ark., 2024). Zhang ve ark. yaptığı çalışma ile şizofreni hastalarında ferroptozis ilişkili genlerin, özellikle GPX4 ve SLC3A2'nin normal kontrollere kıyasla önemli ölçüde daha düşük ifade edildiğini göstermişlerdir. Araştırmacılar şizofreni patofizyolojisine katkıda bulunan HERV-W virüs ailesinin zarf proteinini kodlayan ERVW-1 gen ifadesinin ferroptozis ile ilişkisini de araştırmışlardır. Yazarlar şizofrenide ERVW-1 ekspresyonu ile GPX4/SLC3A2 seviyeleri arasında anlamlı negatif korelasyon varlığını açıklamışlardır. Yaptıkları analiz sonucunda ERVW-1'in demir seviyelerini, MDA ve TFR1 ekspresyonunu artırırken GSH seviyelerini azalttığını ve mitokondriyal membran potansiyelinin kaybını tetiklediğini göstererek ERVW-1'in ferroptozisi indükleyebileceğini iddia etmişlerdir. ERVW-1'in GPX4 ve SLC3A2 promoterler üzerinden gen ekspresyonunu kısıtladığını göstermişlerdir (Zhang ve ark., 2024).

SONUÇ

Sonuç olarak, literatür çalışması çerçevesinde bakıldığında şizofrenide ferroptozisten sorumlu olan patolojik alt yapının hücresel strese dayandığı görülmektedir. Hücresel stres, hücre içi homeostazının bozulduğunu gösteren bir sonuçtur. Sadece şizofreni değil birçok hastalığın temelinde yatan mekanizmalardan biri hücre içi dengenin bozulmasıdır. Ferroptozis bu bozulmanın bir sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Hücre içi antioksidan sistemin yetersiz olması hücre içi moleküler yapının değişimine ve çeşitli hücresel ölüm yollarının aktivasyonuna sebep olmaktadır. Bu yollardan biri olan ferroptozisin diğer yollardan en önemli farkı ise demir bağımlı bir yolak olmasından geçmektedir. Şizofreni hastalarında bozulan demir metabolizması bu sürecin başlangıç noktalarından biri olabilir. Hastalığa bağlı gelişen kötü beslenme ve ilaçların negatif etkisi ile vücutta demir metabolizması bozulabilir.

Oksidatif stresin varlığı hücreyi koruyan antioksidan sistem moleküllerine, tümör baskılayan protein yapılarına, hücre bütünlüğünü sağlayan zar yapısına, birçok metabolik süreci katalizleyen enzimlerin yapısına, çekirdek içinde bulunan DNA yapısına, DNA'dan sentezlenen ve önemli genlerin şifrelerini taşıyan ve hücre içi metabolik süreçleri regüle eden RNA

molekülerine zarar verebilmektedir. Şizofreni hastalığında hücreyi koruma görevine sahip antioksidan sistemin zayıflaması ferroptozisi kaçınılmaz kılmaktadır. Buradaki önemli sorulardan biri oksidatif stres bir sebep midir sonuç mudur? Oksidatif stres hücre içerisindeki deregülasýona bir cevap olabileceği gibi yeni patolojilerin gelişimi için de bir indükatör olabilir. Tüm bu süreç hücrenin ferroptozise yönelimini arttırmaktadır. Bunlara ek olarak P53 tümör baskılayıcı genin apoptozdaki rolüne benzer bir şekilde hücrede onarımın güçleştiği durumların varlığında hücreyi ferroptozise götürmesi hücrenin patolojik dönüşümünü engellediği anlamına da gelebilir.

Ferroptozis mekanizması yapılan çalışmalar ile aydınlatılmaya devam ederken bunun şizofreni hastalığındaki yeri de giderek derinleşmektedir. Fakat şizofreni hastalığı hala geniş çaplı çalışmalara ve elde edilen bulguların kliniğe yansımaya ihtiyaç duymaktadır. Ferroptozis mekanizmasının aydınlatılması şizofreni hastalığının patofizyolojisini daha iyi anlamamızı sağlayacak ve ferroptozis odaklı tedavi hedeflerini oluşturulmasına katkı sunacaktır.

KAYNAKÇA

- Ambrosio, G., Zweier, J. L., Duilio, C., Kuppusamy, P., Santoro, G., Elia, P. P., Tritto, I., Cirillo, P., Condorelli, M., & Chiariello, M. (1993). Evidence that mitochondrial respiration is a source of potentially toxic oxygen free radicals in intact rabbit hearts subjected to ischemia and reflow. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(25), 18532–18541. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8395507>
- Andrews, N. C. (2008). Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood*, 112(2), 219–230. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-12-077388>
- Bersuker, K., Hendricks, J. M., Li, Z., Magtanong, L., Ford, B., Tang, P. H., Roberts, M. A., Tong, B., Maimone, T. J., Zoncu, R., Bassik, M. C., Nomura, D. K., Dixon, S. J., & Olzmann, J. A. (2019). The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature*, 575(7784), 688–692. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1705-2>
- Blachly-Dyson, E., & Forte, M. (2001). VDAC Channels. *IUBMB Life*, 52(3–5), 113–118. <https://doi.org/10.1080/15216540152845902>
- Catts, V. S., Fung, S. J., Long, L. E., Joshi, D., Vercammen, A., Allen, K. M., Fillman, S. G., Rothmond, D. A., Sinclair, D., Tiwari, Y., Tsai, S.-Y., Weickert, T. W., & Shannon Weickert, C. (2013). Rethinking schizophrenia in the context of normal neurodevelopment. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00060>
- Chen, F., Bertelsen, A. B., Holm, I. E., Nyengaard, J. R., Rosenberg, R., & Dorph-Petersen, K.-A. (2020). Hippocampal volume and cell number in depression, schizophrenia, and suicide subjects. *Brain Research*, 1727, 146546. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146546>
- Cheu, J. W.-S., Lee, D., Li, Q., Goh, C. C., Bao, M. H.-R., Yuen, V. W.-H., Zhang, M. S., Yang, C., Chan, C. Y.-K., Tse, A. P.-W., Sit, G. F.-W., Liu, C. X., Ng, I. O.-L., Wong, C.-M., & Wong, C. C.-L. (2023). Ferroptosis Suppressor Protein 1 Inhibition Promotes Tumor Ferroptosis and Anti-tumor Immune Responses in Liver Cancer. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 16(1), 133–159. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2023.03.001>
- Clark, D., Dedova, I., Cordwell, S., & Matsumoto, I. (2006). A proteome analysis of the anterior cingulate cortex gray matter in schizophrenia.

- Molecular Psychiatry*, 11(5), 459–470.
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001806>
- Dadheech, G., Mishra, S., Gautam, S., & Sharma, P. (2008). Evaluation of antioxidant deficit in schizophrenia. *Indian Journal of Psychiatry*, 50(1), 16. <https://doi.org/10.4103/0019-5545.39753>
- Dai, S., Xu, Y., Yang, T., Wang, F., & Jiang, Y. (2024). Identification and Correlation Analysis of Ferroptosis-Related Genes in Three Brain Regions of Patients with Schizophrenia. *Actas Españolas de Psiquiatría*, 52(6), 800–809. <https://doi.org/10.62641/aep.v52i6.1740>
- Dixon, S. J., Lemberg, K. M., Lamprecht, M. R., Skouta, R., Zaitsev, E. M., Gleason, C. E., Patel, D. N., Bauer, A. J., Cantley, A. M., Yang, W. S., Morrison, B., & Stockwell, B. R. (2012). Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell*, 149(5), 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- Dixon, S. J., & Stockwell, B. R. (2019). The Hallmarks of Ferroptosis. *Annual Review of Cancer Biology*, 3(1), 35–54. <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-030518-055844>
- Doll, S., Freitas, F. P., Shah, R., Aldrovandi, M., da Silva, M. C., Ingold, I., Goya Grocin, A., Xavier da Silva, T. N., Panzilius, E., Scheel, C. H., Mourão, A., Buday, K., Sato, M., Wanninger, J., Vignane, T., Mohana, V., Rehberg, M., Flatley, A., Schepers, A., ... Conrad, M. (2019). FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature*, 575(7784), 693–698. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1707-0>
- Famitafreshi, H., & Karimian, M. (2020). Paradoxical regulation of iron in hippocampus and prefrontal cortex induces schizophrenic-like symptoms in male rats. *International Journal of Neuroscience*, 130(4), 384–390. <https://doi.org/10.1080/00207454.2019.1692832>
- Fan, H., Yang, Z., Pang, L., Li, P., Duan, C., Xia, G., & Zheng, L. (2025). Activation of osteoblast ferroptosis by risperidone accelerates bone loss in mice models of schizophrenia. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 20(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05520-w>
- Feng, H., Schorpp, K., Jin, J., Yozwiak, C. E., Hoffstrom, B. G., Decker, A. M., Rajbhandari, P., Stokes, M. E., Bender, H. G., Csuka, J. M., Upadhyayula, P. S., Canoll, P., Uchida, K., Soni, R. K., Hadian, K., & Stockwell, B. R. (2020). Transferrin Receptor Is a Specific Ferroptosis

- Marker. *Cell Reports*, 30(10), 3411-3423.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.02.049>
- Feng, S., Chen, J., Qu, C., Yang, L., Wu, X., Wang, S., Yang, T., Liu, H., Fang, Y., & Sun, P. (2022). Identification of Ferroptosis-Related Genes in Schizophrenia Based on Bioinformatic Analysis. *Genes*, 13(11), 2168. <https://doi.org/10.3390/genes13112168>
- Fišar, Z. (2023). Biological hypotheses, risk factors, and biomarkers of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 120, 110626. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2022.110626>
- Föcking, M., Doyle, B., Munawar, N., Dillon, E. T., Cotter, D., & Cagney, G. (2019). Epigenetic Factors in Schizophrenia: Mechanisms and Experimental Approaches. *Complex Psychiatry*, 5(1), 6–12. <https://doi.org/10.1159/000495063>
- Gao, M., Monian, P., Quadri, N., Ramasamy, R., & Jiang, X. (2015). Glutaminolysis and Transferrin Regulate Ferroptosis. *Molecular Cell*, 59(2), 298–308. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.06.011>
- Gawryluk, J. W., Wang, J.-F., Andreatza, A. C., Shao, L., & Young, L. T. (2011). Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 14(01), 123–130. <https://doi.org/10.1017/S1461145710000805>
- Gutteridge, J. M. C., & Halliwell, B. (1989). 1 Iron toxicity and oxygen radicals. *Baillière's Clinical Haematology*, 2(2), 195–256. [https://doi.org/10.1016/S0950-3536\(89\)80017-4](https://doi.org/10.1016/S0950-3536(89)80017-4)
- Hare, D., Ayton, S., Bush, A., & Lei, P. (2013). A delicate balance: Iron metabolism and diseases of the brain. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 5. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00034>
- Hollis, C., & Rapoport, J. (2010). Child and Adolescent Schizophrenia. In *Schizophrenia* (pp. 24–46). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444327298.ch3>
- Jiang, L., Hickman, J. H., Wang, S.-J., & Gu, W. (2015). Dynamic roles of p53-mediated metabolic activities in ROS-induced stress responses. *Cell Cycle*, 14(18), 2881–2885. <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1068479>
- Jiang, L., Kon, N., Li, T., Wang, S.-J., Su, T., Hibshoosh, H., Baer, R., & Gu,

- W. (2015). Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression. *Nature*, 520(7545), 57–62. <https://doi.org/10.1038/nature14344>
- Jiang, Y., Cai, Y., Lu, Y., Wu, G., & Zhang, X.-Y. (2024). Relationship between anemia and its correlates and cognitive function in Chinese patients with chronic schizophrenia: A large cross-sectional study. *Schizophrenia Research: Cognition*, 36, 100300. <https://doi.org/10.1016/j.scog.2024.100300>
- Karabulut Uzunçakmak, S., Özcan, H., Dirican, E., & Tavacı Özçelik, A. (2024). Evaluating STC-1 and STC-2 mRNA expressions in Schizophrenia patients with increased oxidative stress. *Annales Médico-Psychologiques, Revue Psychiatrique*, 182(9), 785–790. <https://doi.org/10.1016/j.amp.2023.02.005>
- Keleş Altun, İ., Atagün, M. İ., Erdoğan, A., Oymak Yenilmez, D., Yusifova, A., Şenat, A., & Erel, Ö. (2021). Serum hepcidin / ferroportin levels in bipolar disorder and schizophrenia. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 68, 126843. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126843>
- Khan, M. (2002). Reduced erythrocyte membrane essential fatty acids and increased lipid peroxides in schizophrenia at the never-medicated first-episode of psychosis and after years of treatment with antipsychotics. *Schizophrenia Research*, 58(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0920-9964\(01\)00334-6](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(01)00334-6)
- Kim, S.-W., Stewart, R., Park, W.-Y., Jhon, M., Lee, J.-Y., Kim, S.-Y., Kim, J.-M., Amminger, P., Chung, Y.-C., & Yoon, J.-S. (2018). Latent Iron Deficiency as a Marker of Negative Symptoms in Patients with First-Episode Schizophrenia Spectrum Disorder. *Nutrients*, 10(11), 1707. <https://doi.org/10.3390/nu10111707>
- Li, J., Cao, F., Yin, H., Huang, Z., Lin, Z., Mao, N., Sun, B., & Wang, G. (2020). Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death & Disease*, 11(2), 88. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2298-2>
- Lian, K., Li, Y., Yang, W., Ye, J., Liu, H., Wang, T., Yang, G., Cheng, Y., & Xu, X. (2024). Hub genes, a diagnostic model, and immune infiltration based on ferroptosis-linked genes in schizophrenia. *IBRO Neuroscience Reports*, 16, 317–328. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2024.01.007>

- Liddle, P. F. (2019). The Core Deficit of Classical Schizophrenia: Implications for Predicting the Functional Outcome of Psychotic Illness and Developing Effective Treatments. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 64(10), 680–685. <https://doi.org/10.1177/0706743719870515>
- Lim, D. X. E., Yeo, S. Y., Chia, Z. Y. A., Fernandis, A. Z., Lee, J., & Chua, J. J. E. (2026). Schizophrenia: Genetics, neurological mechanisms, and therapeutic approaches. *Neural Regeneration Research*, 21(3), 1089–1103. <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-01375>
- Liu, C., Zou, Q., Tang, H., Liu, J., Zhang, S., Fan, C., Zhang, J., Liu, R., Liu, Y., Liu, R., Zhao, Y., Wu, Q., Qi, Z., & Shen, Y. (2023). Melanin nanoparticles alleviate sepsis-induced myocardial injury by suppressing ferroptosis and inflammation. *Bioactive Materials*, 24, 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.12.026>
- Liu, D., Shang, H., & Liu, Y. (2016). Stanniocalcin-1 Protects a Mouse Model from Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Affecting ROS-Mediated Multiple Signaling Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), 1051. <https://doi.org/10.3390/ijms17071051>
- Lotan, A., Luza, S., Opazo, C. M., Ayton, S., Lane, D. J. R., Mancuso, S., Pereira, A., Sundram, S., Weickert, C. S., Bousman, C., Pantelis, C., Everall, I. P., & Bush, A. I. (2023). Perturbed iron biology in the prefrontal cortex of people with schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 28(5), 2058–2070. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-01979-3>
- Mahadik, S. P., & Mukherjee, S. (1996). Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. *Schizophrenia Research*, 19(1), 1–17. [https://doi.org/10.1016/0920-9964\(95\)00049-6](https://doi.org/10.1016/0920-9964(95)00049-6)
- Matsuda, S., Ikeda, Y., Murakami, M., Nakagawa, Y., Tsuji, A., & Kitagishi, Y. (2019). Roles of PI3K/AKT/GSK3 Pathway Involved in Psychiatric Illnesses. *Diseases*, 7(1), 22. <https://doi.org/10.3390/diseases7010022>
- McGrath, J., Saha, S., Chant, D., & Welham, J. (2008). Schizophrenia: A Concise Overview of Incidence, Prevalence, and Mortality. *Epidemiologic Reviews*, 30(1), 67–76. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxn001>
- Nestler, E. J., Peña, C. J., Kundakovic, M., Mitchell, A., & Akbarian, S. (2016). Epigenetic Basis of Mental Illness. *The Neuroscientist*, 22(5), 447–463. <https://doi.org/10.1177/1073858415608147>

- Olfson, M., Gerhard, T., Huang, C., Crystal, S., & Stroup, T. S. (2015). Premature Mortality Among Adults With Schizophrenia in the United States. *JAMA Psychiatry*, 72(12), 1172. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.1737>
- Palmer, B. A., Pankratz, V. S., & Bostwick, J. M. (2005). The Lifetime Risk of Suicide in Schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 62(3), 247. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.3.247>
- Park, E., & Chung, S. W. (2019). ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation. *Cell Death & Disease*, 10(11), 822. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2064-5>
- Peng, Z., Jia, Q., Mao, J., Jiang, S., Ma, Q., Luo, X., An, Z., Huang, A., Ma, C., & Yi, Q. (2025). The role of ferroptosis and oxidative stress in cognitive deficits among chronic schizophrenia patients: a multicenter investigation. *Schizophrenia*, 11(1), 4. <https://doi.org/10.1038/s41537-025-00555-8>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017(1). <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Rouault, T. A. (2013). Iron metabolism in the CNS: implications for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(8), 551–564. <https://doi.org/10.1038/nrn3453>
- Sato, A., Okada, M., Shibuya, K., Watanabe, E., Seino, S., Narita, Y., Shibui, S., Kayama, T., & Kitanaka, C. (2014). Pivotal role for ROS activation of p38 MAPK in the control of differentiation and tumor-initiating capacity of glioma-initiating cells. *Stem Cell Research*, 12(1), 119–131. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2013.09.012>
- Selemon, L. D., & Zecevic, N. (2015). Schizophrenia: a tale of two critical periods for prefrontal cortical development. *Translational Psychiatry*, 5(8), e623–e623. <https://doi.org/10.1038/tp.2015.115>
- Servais, S., Boussouar, A., Molnar, A., Douki, T., Pequignot, J. M., & Favier, R. (2005). Age-related sensitivity to lung oxidative stress during ozone exposure. *Free Radical Research*, 39(3), 305–316. <https://doi.org/10.1080/10715760400011098>

- Solmi, M., Seitidis, G., Mavridis, D., Correll, C. U., Dragioti, E., Guimond, S., Tuominen, L., Dargél, A., Carvalho, A. F., Fornaro, M., Maes, M., Monaco, F., Song, M., Il Shin, J., & Cortese, S. (2023). Incidence, prevalence, and global burden of schizophrenia - data, with critical appraisal, from the Global Burden of Disease (GBD) 2019. *Molecular Psychiatry*, 28(12), 5319–5327. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02138-4>
- Sullivan, P. F., Kendler, K. S., & Neale, M. C. (2003). Schizophrenia as a Complex Trait. *Archives of General Psychiatry*, 60(12), 1187. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.60.12.1187>
- Tan, B. L., Norhaizan, M. E., Liew, W.-P.-P., & Sulaiman Rahman, H. (2018). Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01162>
- Tarangelo, A., Magtanong, L., Bieging-Rolett, K. T., Li, Y., Ye, J., Attardi, L. D., & Dixon, S. J. (2018). p53 Suppresses Metabolic Stress-Induced Ferroptosis in Cancer Cells. *Cell Reports*, 22(3), 569–575. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.12.077>
- Ward, K. L., Tkac, I., Jing, Y., Felt, B., Beard, J., Connor, J., Schallert, T., Georgieff, M. K., & Rao, R. (2007). Gestational and Lactational Iron Deficiency Alters the Developing Striatal Metabolome and Associated Behaviors in Young Rats1. *The Journal of Nutrition*, 137(4), 1043–1049. <https://doi.org/10.1093/jn/137.4.1043>
- Xie, Y., Zhu, S., Song, X., Sun, X., Fan, Y., Liu, J., Zhong, M., Yuan, H., Zhang, L., Billiar, T. R., Lotze, M. T., Zeh, H. J., Kang, R., Kroemer, G., & Tang, D. (2017). The Tumor Suppressor p53 Limits Ferroptosis by Blocking DPP4 Activity. *Cell Reports*, 20(7), 1692–1704. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.07.055>
- Xu, M., Guo, Y., Cheng, J., Xue, K., Yang, M., Song, X., Feng, Y., & Cheng, J. (2021). Brain iron assessment in patients with First-episode schizophrenia using quantitative susceptibility mapping. *NeuroImage: Clinical*, 31, 102736. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2021.102736>
- Yagoda, N., von Rechenberg, M., Zaganjor, E., Bauer, A. J., Yang, W. S., Fridman, D. J., Wolpaw, A. J., Smukste, I., Peltier, J. M., Boniface, J. J., Smith, R., Lessnick, S. L., Sahasrabudhe, S., & Stockwell, B. R. (2007).

- RAS–RAF–MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*, 447(7146), 865–869. <https://doi.org/10.1038/nature05859>
- Yang, W. S., SriRamaratnam, R., Welsch, M. E., Shimada, K., Skouta, R., Viswanathan, V. S., Cheah, J. H., Clemons, P. A., Shamji, A. F., Clish, C. B., Brown, L. M., Girotti, A. W., Cornish, V. W., Schreiber, S. L., & Stockwell, B. R. (2014). Regulation of Ferroptotic Cancer Cell Death by GPX4. *Cell*, 156(1–2), 317–331. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.010>
- Yang, W. S., & Stockwell, B. R. (2016). Ferroptosis: Death by Lipid Peroxidation. *Trends in Cell Biology*, 26(3), 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.10.014>
- Zhang, D., Wu, X., Xue, X., Li, W., Zhou, P., Lv, Z., Zhao, K., & Zhu, F. (2024). Ancient dormant virus remnant ERVW-1 drives ferroptosis via degradation of GPX4 and SLC3A2 in schizophrenia. *Virologica Sinica*, 39(1), 31–43. <https://doi.org/10.1016/j.virs.2023.09.001>
- Zhang, F., Zhang, J., Wang, X., Han, M., Fei, Y., & Wang, J. (2025). Blood–Brain Barrier Disruption in Schizophrenia: Insights, Mechanisms, and Future Directions. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(3), 873. <https://doi.org/10.3390/ijms26030873>
- Zhu, F., Dan, T., & Hua, S. (2025). KEAP1-NRF2/HO-1 Pathway Promotes Ferroptosis and Neuronal Injury in Schizophrenia. *Brain and Behavior*, 15(3). <https://doi.org/10.1002/brb3.70311>

BÖLÜM 9

İNFLAMATUVAR DERİ HASTALIKLARINDA MOLEKÜLER SİNYAL AĞLARI: PATOJENİK MEKANİZMALAR VE YENİLİKÇİ TEDAVİ STRATEJİLERİ

Dr. Seda KESKİN¹¹ ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet KARAÇAY¹²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936841>

¹¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye. sedakeskin@yyu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-4726-982X

¹² Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Van, Türkiye. mehmetkaracay@yyu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-5301-6626

GİRİŞ

Psöriazis, atopik dermatit, kronik egzamatoz ve likenoid bozukluklar dahil olmak üzere inflamatuvar kutanöz hastalıklar, deri mikroçevresi içindeki immün ve immün sistem dışı hücreler arasındaki etkileşimi düzenleyen karmaşık ve son derece koordineli moleküler sinyal ağları ile karakterizedir. Kutanöz inflamasyonla ilişkili sinyal yollarının düzensizliği, anormal sitokin üretimi, keratinosit hiperproliferasyonu, epidermal bariyer fonksiyon bozukluğu ve kronik inflamasyona yol açar. Ayrıca, yeni kanıtlar, inflamazomların, epigenetik modülatörlerin ve kodlamayan RNA'ların hastalık başlangıcı ve devamında önemli düzenleyiciler olarak rolünü vurgulamaktadır. Bu birbiriyle bağlantılı sinyal kaskadlarını anlamak, sadece kutanöz inflamasyonun altında yatan patojenik mekanizmaları aydınlatmakla kalmaz, aynı zamanda yeni terapötik hedeflerin tanımlanmasını da mümkün kılar. Biyolojikler, küçük molekülü inhibitörler ve RNA bazlı müdahalelerdeki son gelişmeler, bu yolları hedeflemenin translasyonel potansiyelini örneklemekte ve dermatolojide hassas tıp yaklaşımlarının önünü açmaktadır.

Bu bölümde, inflamatuvar deri hastalıklarının patogenezinde rol oynayan temel moleküler sinyal mekanizmaları mekanistik açıdan incelenmiş ve bu bilgiler doğrultusunda geliştirilen güncel ile yenilikçi tedavi yaklaşımları değerlendirilmiştir.

1. KUTANÖZ İNFLAMASYON VE İNFLAMATUAR DERMATOZLAR

Kutanöz inflamasyon, mikrobiyal enfeksiyon, çevresel stres, otoimmün aktivite, alerjenler, travma ve epigenetik yatkınlıklar dahil olmak üzere çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı derinin verdiği karmaşık biyolojik tepkiler sonucu gelişir. Çeşitli deri hastalıklarını içeren geniş bir kategori olan inflamatuvar dermatozlar, derinin yapısal ve fonksiyonel katmanlarında kronik veya akut inflamasyonun varlığı ile temsil edilmektedir. Atopik dermatit, kontakt dermatit, seboreik dermatit, psöriazis (sedef hastalığı), liken planus, hidradenitis suppurativa ve otoimmün büllöz hastalıklar gibi immün sistem aracılı dermatozlar; epidermal bariyer bütünlüğünün bozulması, immün hücre infiltrasyonu, sitokin salgılanmasında değişiklikler ve keratinosit dinamiklerinin bozulması gibi ortak patofizyolojik özellikler sergiler (Amara ve ark., 2025; Dong ve ark., 2024).

Kronik inflamatuvar dermatozlarda deri, uzun süreli immün sistem aktivasyonuna maruz kalarak hücresel yapı ve işlevlerde belirgin değişikliklere uğrar. Bu kronik inflamatuvar süreç, yapısal yeniden şekillenme, epidermal hiperplazi, dermal fibrozis, vasküler proliferasyon ve duyu nöronlarının duyarlılığında artışa yol açar. Klinik olarak bu durumun makroskopik bulguları sıklıkla eritem, pullanma, likenifikasyon, indürasyon ve pruritus ile kendini gösterir. Deri, yalnızca immün yanıt aracılı hasarın pasif bir hedefi değil, aynı zamanda bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde aktif bir bileşen olarak da görev yapar. Keratinositler, Langerhans hücreleri, dermal dendritik hücreler, mast hücreleri, fibroblastlar ve endotel hücreleri; sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri ve hücre dışı matriks yeniden şekillenme enzimleri aracılığıyla inflamatuvar mikroçevrenin dinamik olarak düzenlenmesine katkıda bulunur (Gao ve ark., 2025; Prajapati ve ark., 2025).

İmmün yanıt kaynaklı dermal inflamasyonun en önemli örneklerinden biri, gümüş rengi pullarla kaplı, sınırları belirgin, eritemli plaklarla karakterize, kronik, tekrarlayan bir inflamatuvar dermatoz olan psöriazistir. Psöriazis patogeneğinde, interlökin- 23/T yardımcı (helper) hücresi 17 (IL-23/Th17) eksenini, artmış nükleer faktör kappa B (NF-κB), aktivasyonu ve inflamazom kompleksinin aşırı aktivasyonu gibi düzensiz immün sistemle ilişkili sinyal yolları tarafından tetiklenen keratinositlerin aşırı çoğalması ve anormal farklılaşması rol oynar. Benzer şekilde, atopik dermatit (AD), IL-4, IL-13 ve IL-31 düzeylerinde artışla birlikte Th2 ağırlıklı hücresel immün yanıt ile karakterizedir ve epidermal bariyeri bozarak cildi mikrobiyal kolonizasyona ve tekrarlayan alevlenmelere yatkın hale getirir. Liken planus gibi diğer dermal hastalıklar, bazal keratinositlere sitotoksik T hücrelerinin aracılık ettiği saldırıyı içerirken, otoimmün büllöz hastalıklar, desmozomal veya bazal membran proteinlerine karşı otoantikor oluşumu ile karakterizedir (Simancas-Racines ve ark., 2025; Soe ve ark., 2025; Svedbom ve ark., 2025; Tarek ve ark., 2025; To ve ark., 2025).

Kronik dermal inflamasyonunun etkileri, yalnızca lokal doku hasarıyla sınırlı kalmayıp, çok sayıda çalışmanın ortaya koyduğu üzere sistemik düzeyde sonuçlar doğurmaktadır. Özellikle psöriazis ve hidradenitis suppurativa gibi inflamatuvar dermatozlara sahip bireylerde kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, obezite, insülin direnci, diyabet, depresyon ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi komorbiditelere daha yüksek oranda rastlanmaktadır.

Bu durum, kutanöz inflamasyonun yalnızca lokal bir olay olarak değil, aynı zamanda sistemik immünometabolik disfonksiyon ve immün gözetim bozukluklarının bir parçası olarak değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. İnflamatuar dermatozların kronik ve sistemik özellikleri, tedavi süreçlerini güçleştirmekte; bu hastalıklarda genellikle uzun süreli immünomodülatör tedaviye ve eşlik eden hastalıkların yakından izlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. İnflamatuar dermatozların patogenezi anlamak, sadece tanı doğruluğu için değil, aynı zamanda hedefe yönelik tedavilerin rasyonel gelişimi için de kritik öneme sahiptir. IL-17, IL-23, tümör nekroz faktörü (TNF- α) ve janus kinaz (JAK) inhibitörlerini nötralize eden biyolojik ajanlar, belirli dermatozların tedavisinde devrim yaratmış ve kutanöz inflamasyonun moleküler temellerini incelemesinin önemini pekiştirmiştir. Bununla birlikte, hastalar arasında önemli heterojeniteler mevcuttur ve tedaviye yanıt vermeme veya yan etkiler önemli sınırlamalar olmaya devam etmektedir, bu da kişiselleştirilmiş tıbbın ve yeni moleküler hedeflerin sürekli araştırılmasının önemini vurgulamaktadır (D. Liu ve ark., 2025; K. Liu ve ark., 2025; W. Liu ve ark., 2025; Orzan ve ark., 2025).

1.1. Deri Homeostazı ve Patolojisinde Moleküler Sinyalleşmenin Rolü

Deri, su kaybını düzenleyerek, çevresel değişiklikleri algılayarak ve mikroorganizmaların saldırılarına karşı savunma sağlayarak homeostazı koruyan dinamik bir bariyer işlevi görür. Hücresel düzeyde bu denge, proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve bağışıklık yanıtlarını koordine eden, sıkı bir şekilde düzenlenmiş moleküler sinyal yolları aracılığıyla sağlanmaktadır. Patolojik koşullarda, bu sinyal kaskadlarının bozulması inflammatuar dermatozların başlangıcına ve sürecin kronikleşmesine neden olmaktadır. Deri homeostazının temel moleküler düzenleyicileri arasında başlıca NF- κ B, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), janus kinaz/sinyal transdüktörleri ve transkripsiyon aktivatörleri (JAK/STAT), transformasyon büyüme faktörü- β / Smad (TGF- β /Smad) ve fosfoinositid 3-kinaz/protein kinaz B/mekanik rapamisin hedefi (PI3K/AKT/mTOR) yolları yer almaktadır. Bu sinyal ağları; sitokinler, büyüme faktörleri, reaktif oksijen türleri (ROS) ve patojene ait moleküler paternler gibi hücre dışı uyarıları entegre ederek gen ifadelerini ve hücresel davranışları modüle eder. TNF- α , IL-1 β ve IL-17 gibi

proinflamatuar sitokinler, keratinositlerde NF- κ B sinyal yolunu aktive ederek proinflamatuar genlerin transkripsiyonunu başlatır ve deri inflamasyonunu şiddetlendirir. Özellikle psöriazis hastalığında NF- κ B yolunun sürekli aktif kalması, kronik keratinosit aktivasyonuna ve inflammatuar döngünün kendini besleyerek sürmesine yol açmaktadır (Queiro ve ark., 2021; Shirley ve ark., 2024; Soe ve ark., 2025).

JAK/STAT yolu, özellikle atopik dermatit ve alopesi areata gibi hastalıklarda sitokin aracılı sinyal iletiminde merkezi bir rol oynamaktadır. IL-4 ve IL-13'ün JAK1 ve JAK3'ü aktive etmesi, STAT6'nın fosforilasyonu ile sonuçlanmakta ve filagrin ile lorikrin gibi epidermal bariyer proteinlerin ifadelerini baskılayan genlerin transkripsiyonunu tetiklemektedir. Bu sinyal ekseninin bozulması, epidermal bariyer disfonksiyonu, mikrobiyal disbiyoz ve şiddetli kaşıntı gibi klinik bulgulara katkıda bulunmaktadır. Bu yolları hedef alan JAK inhibitörleri, özellikle inflamatuvar deri hastalıklarının tedavisinde umut vadeden sonuçlar ortaya koyarak bu sinyal yolunun patofizyolojik önemini desteklemektedir (Furtunescu ve ark., 2024; Gómez-García ve ark., 2022).

TGF- β /Smad sinyal kaskadı, doku yeniden şekillenmesi, yara iyileşmesi ve immün düzenlemede önemli bir rol oynar. Anormal TGF- β aktivitesi, sistemik skleroz ve keloidler gibi fibrotik deri hastalıklarıyla ilişkilidir, ancak iltihaplanma alevlenmeleri sırasında immünoşüpresif rolü sıklıkla antagonize edilir (Jiang ve ark., 2017).

Ayrıca, deri biyolojisinde nispeten yeni tanımlanan bir yolak olan Hippo-YAP/TAZ sinyal iletimi, keratinosit proliferasyonu, doku rejenerasyonu ve mekanik uyarıların algılanmasında önemli rol oynamaktadır. Bu yolda meydana gelen düzenleyici bozukluklar, özellikle psoriatik lezyonlarda epidermal hiperplazi gelişimine ve epidermal bariyer oluşumunun bozulmasına katkı sağlamaktadır (Rognoni ve Walko, 2019).

Kutanöz inflamasyondaki bir diğer kritik unsur ise, hücre içi tehlike sinyallerini algılayarak kaspaz-1 aktivasyonu yoluyla IL-1 β ve IL-18 gibi proinflamatuar sitokinlerin olgunlaşmasını düzenleyen sitozolik çok proteinli kompleks olan NLRP3 inflamazomudur. Hem keratinositlerde hem de dermal bağışıklık hücrelerinde inflamazom aktivasyonu, piroptoz gelişimini ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu tetikleyerek, doğuştan gelen bağışıklık yanıtlarını psöriazis ve lupus benzeri dermatozların patogenezi ile ilişkilendirir.

NLRP3 inflamazomunun kronik aktivasyonu, ayrıca doku yenilenmesini engelleyebilir ve düşük dereceli inflamasyonun devamlılığını sağlayarak deri yaşlanması ve yaşlanma ile ilişkili fenotiplerin oluşumuna katkıda bulunabilir (Kang ve ark., 2014; Youm ve ark., 2013).

Kutanöz inflamatuvar patolojiler, yalnızca immün yanıtlarla değil, aynı zamanda oksidatif stres ve redoks duyarlı sinyal yolları tarafından da önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu bağlamda, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 ile kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1 (Nrf2–Keap1) eksenli hücresel antioksidan savunmanın temel düzenleyicisi olarak bilinmektedir. Oksidatif stres koşullarında Nrf2, sitoplazmadan çekirdeğe taşınarak glutatyon sentezi, heme oksijenaz-1 ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu artırır. İnflamatuvar durumlar ise sıklıkla Nrf2 sinyal yolunun baskılanması ile karakterizedir; bu durum oksidatif hasarın artmasına ve hücresel direnç mekanizmalarının zayıflamasına yol açar. Genel olarak, derinin yapısal ve işlevsel bütünlüğü, bu moleküler yolların hassas bir şekilde koordine edildiği karmaşık bir ağ tarafından sürdürülmektedir. Genetik, epigenetik veya çevresel düzeydeki herhangi bir bozulma, bu dengeyi kronik inflamasyon ve hastalık yönünde bozabilir. Son yıllarda yüksek verimli transkriptomik analizler, uzamsal omik teknolojiler ve 3D deri modelleme yaklaşımlarındaki ilerlemeler, bu karmaşık sinyal kaskadlarının ve bunların hastalık fenotiplerindeki rollerinin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Gelecekteki tedavi stratejilerinin, derideki homeostazı yeniden sağlamak, inflamasyonu azaltmak ve hastalık nüksünü önlemek amacıyla bu sinyal kaskadlarının hassas modülasyonuna odaklanması beklenmektedir (Van der Horst ve ark., 2022; Zeng ve ark., 2022).

1.2. Epidermal Sinyal İletimi: Keratinositlerde PRR ve DAMP Aracılı İnflamazom Aktivasyonu

Deri, özellikle epidermis, dış patojenleri ve içsel hücresel stres sinyallerini algılayabilen karmaşık algılama mekanizmalarına sahip, immün bir organ gibi işlev görür. Bu savunma sisteminin merkezinde, epidermisin baskın hücre tipi olan keratinositlerin profesyonel olmayan bağışıklık nöbetçileri olarak görev yapma kapasitesi yer almaktadır. Fiziksel bariyer oluşturma ve bariyerin onarımına katkı sağlama gibi klasik rollerinin ötesinde, keratinositler; membrana bağlı toll-benzeri reseptörler (TLR'ler) ve sitozolik NOD-benzeri

reseptörler (NLR'ler) dâhil olmak üzere çeşitli patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) barındırır. Bu reseptörler, keratinositlerin bakteriler, virüsler ve mantarlara ait patojene özgü moleküler paternler (PAMP'ler) ile hasar görmüş veya stres altındaki konak hücrelerden salınan tehlike sinyallerini (DAMP'ler) algılamasını sağlar. PRR'lerin aktivasyonu, inflamatuvar gen ekspresyonunu, antimikrobiyal peptid üretimini ve dermal bağışıklık hücreleriyle kurulan çapraz iletişimi tetikleyen güçlü hücre içi sinyal yollarını başlatır. Böylece, keratinositler hem doğuştan gelen hem de edinilmiş bağışıklık yanıtlarının şekillenmesinde aktif rol oynar (Soe ve ark., 2025; Svedbom ve ark., 2025).

TLR'ler, korunmuş mikrobiyal yapıları ve endojen stres ligandlarını tanıyan tip I transmembran proteinlerdir. Keratinositlerde, TLR1–TLR6 ve TLR9 dahil olmak üzere birkaç TLR izoformu yapısal olarak veya indüklenebilir şekilde ifade edilir. TLR2 ve TLR4, özellikle lipoteikoik asit ve lipopolisakkarit gibi bakteriyel bileşenlere karşı oldukça duyarlıdır. TLR3, çift sarmallı RNA'yı tanır ve bu da onu antiviral savunmada önemli bir sensör haline getirir. Ligandın bağlanması üzerine, TLR'ler MyD88 veya TRIF gibi adaptör moleküllerini toplar ve bu da NF- κ B, AP-1 ve IRF transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar. Bu olaylar, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, TNF- α vb.), kemokinlerin (CXCL1, CCL20 vb.), tip I interferonların ve antimikrobiyal peptidlerin (β -defensinler, katelisidinler vb.) transkripsiyonuyla sonuçlanır (Baker ve ark., 2003; Flutter ve Nestle, 2013; Keller, 2023).

TLR aracılı sinyalleşmenin deri bağışıklığında önemi, inflamatuvar dermatozlarda bildirilmiştir: TLR2 ve TLR9, psöriatik lezyonlarda aşırı ifade edilir ve anormal immün sistem aktivasyonu ve keratinosit hiperproliferasyonuna katkıda bulunur. Ayrıca, keratinositlerde kronik TLR stimülasyonu, patojenlerin yokluğunda bile inflamasyonu sürdürebilir, bu da steril inflamasyonda endojen bir “tehlike algılama” sistemi olduğu fikrini destekler. Buna paralel olarak, NLR'ler, bakteriyel peptidoglikanlar, viral RNA ve çeşitli DAMP'ler dahil olmak üzere hücre içi bozuklukları algılayan farklı bir sitozolik PRR sınıfını temsil eder. Bunlar arasında, NLRP1 ve NLRP3 inflamazom kompleksleri oluşturma yetenekleri nedeniyle deri immünoyolojisi bağlamında özellikle önemlidir. İnflamazomlar, proinflamatuvar sitokinler IL-1 β ve IL-18'in proteolitik olgunlaşmasından sorumlu bir proteaz olan kaspaz-1'in aktivasyonu için platform görevi gören

çok proteinli oligomerlerdir. Keratinositler, ultraviyole (UV) radyasyonu, ATP salınımı, ürik asit kristalleri, çevresel toksinler ve mikrobiyal yan ürünler tarafından tetiklenebilen fonksiyonel NLRP1 ve NLRP3 inflamazomları ifade eder. Bu inflamazom oluşturan NLR'lerin devreye girmesi, sensör molekülü (NLRP3), adaptör ASC (CARD içeren apoptoz ile ilişkili benek benzeri protein) ve pro-kaspaz-1'den oluşan bir kompleksin oluşmasına neden olur. Bir araya geldikten sonra, bu kompleks kaspaz-1'in otokatalitik bölünmesini kolaylaştırır, bu da hedef sitokinlerin üretimini aktive eder ve oluşan inflamasyonu daha da yaygınlaştıran programlanmış hücre ölümü olan piroptosis'i indükler (Dadkhah ve Sharifi, 2025; Shi ve ark., 2025).

Keratinositlerde inflamazom aktivasyonu, kutanöz inflamasyonda DAMP'lar aracılığıyla gelişen özgül yanıtların önemini ortaya koymaktadır. DAMP'lar; doku hasarı, hücrel stres veya metabolik dengesizlik sonucu salınan, konak kökenli endojen moleküllerdir. Epidermiste yer alan yüksek hareketlilik grubu kutusu 1 (HMGB1), ısı şoku proteinleri, S100 proteinleri, ATP ve mitokondriyal DNA gibi DAMP'lar, hem TLR'ler hem de NLR'ler tarafından algılanabilmektedir. Bu moleküllerin hücre dışı alanda birikimi, çevredeki hücreleri uyaran ve çeşitli inflamatuvar yanıtların başlatılmasını sağlayan bir 'alarm sinyali' görevi görür. Örneğin, ekstrasellüler ATP, P2X7 reseptörünü aktive ederek potasyum iyonlarının hücre dışına çıkışını tetikler; bu olay, NLRP3 inflamazom kompleksinin oluşumu için kritik bir adımdır. Benzer şekilde, psöriatik lezyonlarda yüksek oranda eksprese edilen S100A8/A9 sadece bir DAMP olarak değil, aynı zamanda nötrofiller için güçlü bir kemoatraktan olarak görev yapar ve NLR aktivasyonu yoluyla IL-1 β salınımını artırarak inflamatuvar yanıtı şiddetlendirir. DAMP'lar ile inflamazom aktivasyonu arasındaki bu karşılıklı etkileşim, epidermal inflamasyonu sürdüren ve doku yeniden şekillenmesini, ayrıca immün hücre infiltrasyonunu kolaylaştıran pozitif geri besleme döngüleri yaratır (Albanesi ve ark., 2018; Ni ve Lai, 2020; Zhou ve ark., 2022).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, inflamazom aktivasyonunun ve DAMP sinyalinin düzensizliğinin pek çok kutanöz hastalığın patogeneğinde rol oynadığını göstermektedir. Psöriatik lezyonlu deri dokularında NLRP3, ASC, kaspaz-1 ve IL-1 β ekspresyon düzeylerinin arttığı saptanmış olup, bu inflamatuvar sitokinlerin hastalık gelişiminde kritik araçlar olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, NLRP1 ve NLRP3 genlerindeki polimorfizmler,

viteligo ve atopik dermatit gibi otoimmün kutanöz hastalıklara yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir. Aşırı inflamazom aktivasyonu, kontrolsüz keratinosit ölümü ve fibroblast disfonksiyonuna neden olarak yara iyileşmesini olumsuz etkileyebilirken; yetersiz aktivasyon, patojen eliminasyonunu sekteye uğratabilir. Bu nedenle, inflamazomlar savunmada hızlı yanıtları başlatabilen fakat uygun şekilde düzenlenmediğinde patolojik inflamasyonu tetikleyebilen çift yönlü etkili moleküler komplekslerdir. Ayrıca, epidermal inflamazom aktivitesi; ROS, UV radyasyon ve mikrobiyota kökenli metabolitler gibi çevresel ve metabolik faktörlerle yakından ilişkilidir. Oksidatif stres, özellikle deri yaşlanması ve kronik inflamasyon süreçlerinde yaygın görülen bir etken olarak mitokondriyal bütünlüğü bozarak DAMP salımını artırır ve inflamazom aktivasyonunu kolaylaştırır. Kommensal mikroorganizmalar tarafından üretilen sinyaller ise, bazal inflamazom aktivitesini modüle ederek konak immünite toleransını ve inflamatuvar duyarlılığı şekillendirir (Dadkhah ve Sharifi, 2025; Zhou ve ark., 2022).

2. İNFLAMATUVAR KUTANÖZ HASTALIKLARDA ETKİN MOLEKÜLER SİNYAL YOLAKLARI

Kutanöz inflamasyon, çevresel hasarlar, patojen maruziyeti ve immün sistem düzensizliklerine yanıt olarak çok sayıda hücre içi sinyal yolağının eşgüdümlü biçimde aktive olduğu, dinamik ancak sıkı şekilde düzenlenen bir süreçtir. Bu süreçte görev alan çok sayıda sinyal yolağından özellikle NF- κ B, MAPK, JAK/STAT ile PI3K/AKT/mTOR yolakları, kutanöz inflamasyonunun başlangıcı ve devamlılığını düzenleyen temel moleküler yolaklar olarak ön plana çıkar. Bu yolaklar keratinositler, yerleşik immün sistem hücreleri, fibroblastlar ve endotel hücrelerinde aktive olur; hücre proliferasyonu, sitokin salınımı, bariyer onarımı, apoptoz ve immün hücre infiltrasyonu gibi olayları yöneten dokuya özgün transkripsiyonel programları devreye sokar. Söz konusu sinyal ağlarının bozulması, başta psöriazis, atopik dermatit ve lupus eritematosus olmak üzere çeşitli kronik inflamatuvar dermatozların patogeneğinde belirleyici bir rol oynamaktadır (Beard ve Trotter, 2024; Buerger, 2018; Furtunescu ve ark., 2024; Queiro ve ark., 2021; Varshney ve Saini, 2018).

NF- κ B yolu, inflamasyon ve immün sistem aktivasyonunun ana düzenleyicisidir. Dinlenme koşullarında, NF- κ B dimerleri (en yaygın olarak

p65/p50) inhibitör I κ B proteinleri tarafından sitoplazmada tutulur. PAMP'lar, sitokinler (TNF- α , IL-1 β vb.) veya DAMP'lar tarafından uyarılınca, I κ B kinaz (IKK) kompleksi aktive olur ve I κ B α 'nın fosforilasyonuna, ubikuitinasyonuna ve proteazomal bozunmasına yol açar. Bu, NF- κ B'yi serbest bırakarak nükleer translokasyonunu ve proinflamatuvar hedef genlerin transkripsiyonunu sağlar. Epidermiste, keratinositlerde NF- κ B aktivasyonu, IL-6, IL-8 ve CCL20 gibi sitokinlerin yanı sıra lökosit infiltrasyonunu kolaylaştıran adhezyon moleküllerinin ekspresyonuna yol açar. NF- κ B'nin sürekli aktivasyonu, psoriatik ve egzamalı cildin bir özelliğidir ve epidermal hiperplazi, kronik immün aktivasyon ve apoptozun inhibisyonuna katkıda bulunur. Ayrıca, NF- κ B ve diğer sinyal modülleri arasındaki çapraz iletişim, inflamatuvar kaskadı amplifiye eder ve hastalık patolojisini şiddetlendiren pozitif geri besleme döngüleri oluşturabilir (Queiro ve ark., 2021; Shirley ve ark., 2024).

NF- κ B ile paralel olarak, MAPK sinyal yolağı, kutanöz inflamasyonda rol oynayan bir başka önemli eksendir. MAPK ailesi üç ana daldan oluşur: hücre dışı sinyal düzenleyici kinazlar (ERK1/2), c-Jun N-terminal kinazlar (JNK1/2/3) ve p38 MAPK'lar (α , β , γ , δ izoformları). Bu kinazlar, MAP kinaz kinaz kinazlar (MAP3K'lar), MAP kinaz kinazlar (MAP2K'lar) ve terminal MAPK'ları içeren üç aşamalı bir fosforilasyon kaskadı yoluyla aktive edilir. Keratinositlerde, p38 ve JNK yolakları tipik olarak proinflamatuvar sitokinler, UV ışınımı ve ozmotik dengesizlik gibi stres uyarıcıları tarafından aktive edilir ve bu da inflamatuvar mediatörlerin, matriks metalloproteinazların (MMP'ler) ve apoptotik proteinlerin indüksiyonuna yol açar. Özellikle p38 MAPK eksen, inflamatuvar sitokinleri kodlayan mRNA'ların stabilizasyonu ve translasyonunda rol oynar ve dermal bariyerin bozulmasının anahtar faktörlerinden biridir. Buna karşılık, genellikle proliferatif ve rejeneratif sinyallerle ilişkili olan ERK1/2 yolakları, psöriasis gibi hiperplastik lezyonlarda da yukarı doğru düzenlenir ve burada anormal keratinosit proliferasyonu ve farklılaşmasına katkıda bulunur. MAPK sinyalinin NF- κ B ile entegrasyonu, inflamatuvar gen ekspresyonunu ve hücresel stres yanıtlarını güçlendirerek, hastalıklı deride güçlü bir inflamatuvar mikroortam oluşturur (Mavropoulos ve ark., 2013; Sakurai ve ark., 2019; Varshney ve Saini, 2018).

Bu yolaklarla birlikte, JAK/STAT sinyal eksen, hücre dışı sitokinlerden çekirdeğe sinyalleri iletmede önemli bir rol oynar. Sitokinlerin kendi reseptörlerine bağlanmasının ardından, ilişkili Janus kinazlar (JAK1, JAK2,

JAK3, TYK2) trans-fosforilasyon yoluyla aktive olur. Aktive olan JAK'lar daha sonra reseptör üzerindeki spesifik tirozin kalıntılarını fosforile ederek STAT proteinleri (STAT1, STAT3, STAT5, STAT6) için bağlanma bölgeleri oluşturur. Bu proteinler daha sonra fosforile edilir, dimerize olur ve gen ekspresyonunu düzenlemek için çekirdeğe taşınır. İnflamatuvar dermatozlarda, düzensiz JAK/STAT sinyalleşmesi, sitokinlerin sürekli üretimine, bariyer fonksiyonunun bozulmasına ve immün hücrelerin aktivasyonuna yol açar. Atopik dermatitte, IL-4 ve IL-13 aracılı JAK1/JAK3 ve aşağı akış yönlü STAT6 aktivasyonu, filagrin ve lorikrin gibi epidermal farklılaşma genlerini baskılar, böylece dermal bariyer bütünlüğünü bozar ve Th2 kaynaklı inflamasyonu teşvik eder. Benzer şekilde, psöriaziste ise IL-23/IL-6 kaynaklı JAK2/STAT3 yolu, IL-17 ve IL-22 ekspresyonunu artırarak Th17 eksenini ve keratinosit hiperproliferasyonunu tetikler. Bu yolun patojenik önemi, psoriasis ve atopik dermatitte aynı anda birden fazla sitokin ağını baskılayarak umut verici sonuçlar gösteren JAK inhibitörlerinin (tofacitinib, ruxolitinib, upadacitinib vb.) klinik etkinliği ile vurgulanmaktadır (Ning ve ark., 2025; Rathor ve ark., 2025; Raychaudhuri ve ark., 2025; Wu ve ark., 2024).

Klasik inflamatuvar sinyalleşmenin ötesinde, PI3K/AKT/mTOR yolu, inflamatuvar yanıtları modüle etme ve hücre büyümesini, metabolizmasını ve hayatta kalmasını düzenleme konusundaki ikili rolüyle giderek daha fazla tanınmaktadır. Bu yolun aktivasyonu, sınıf I PI3K'ların tirozin kinaz reseptörlerine veya G-protein bağlı reseptörlere bağlanmasıyla başlar ve plazma zarının iç tabakasında fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfat (PIP3) oluşumuna yol açar. PIP3, AKT için bir bağlanma yeri görevi görür ve ardından PDK1 ve mTORC2 aracılı fosforilasyon ile aktive edilir. Aktif AKT, pro-apoptotik faktörleri (Bad ve GSK3 β) inhibe ederek ve protein sentezini, otofaji ve metabolik yeniden programlamayı düzenleyen bir serin/treonin kinaz olan memeli rapamisin hedefi (mTOR) aktivitesini artırarak hayatta kalma ve anti-apoptotik sinyalleri iletir. Deride, PI3K/AKT/mTOR eksenini keratinosit proliferasyonunu, farklılaşmasını ve sitokin üretimini düzenlemenin yanında hem inflamatuvar hem de büyümeyle ilgili uyaranlara da yanıt verir. Bu sinyal yolağının hiperaktivasyonu psöriatik plaklarda gözlemlenmiştir ve inflamatuvar patolojiyi şiddetlendiren, faktörler olan epidermal kalınlaşma, anjiyogenez ve otofajinin azalmasına katkıda bulunur. Ek olarak, mTORC1 aktivasyonu, proliferatif keratinositlerin ve immün hücrelerin metabolik

ihtiyaçlarını destekleyen glikolitik metabolizmayı ve hipoksi ile indüklenmiş-1 α (HIF-1 α) aracılı transkripsiyonu da teşvik eder. mTOR ve STAT3 sinyalleşmesi arasındaki çapraz iletişim, Th17 immün eksenini daha da güçlendirirken, PI3K/AKT sinyalleşmesi FOXO transkripsiyon faktörlerini inhibe ederek antiinflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu azaltabilir. Tersine, rapamisin veya analogları kullanılarak mTOR'un inhibisyonu, sedef hastalığının deneysel modellerinde antiinflamatuvar ve antiproliferatif etkiler göstermiştir, bu da bu yolun hedeflenmesinin terapötik potansiyelini vurgulamaktadır (Dorjsembe ve ark., 2022; Fang ve ark., 2025; Gülsunay İ ve ark., 2024; Roy ve ark., 2023; Xu ve ark., 2019).

NF- κ B, MAPK, JAK/STAT ve PI3K/AKT/mTOR yolakları, deri homeostazı ve inflamasyon arasındaki dengeyi düzenleyen entegre bir sinyal ağı oluşturur. Bu yolaklar, sitokinler, büyüme faktörleri, çevresel stres ve bağışıklık tetikleyicilerine yanıt olarak transkripsiyon çıktılarını ince ayarlamak için çoklu moleküler kaskadlarda birleşir. Bu kaskadlardan herhangi birinde düzensizlik, kontrolsüz inflamasyon, bozulmuş bariyer fonksiyonu, anormal keratinosit davranışı ve sürekli immün sistem aktivasyonuna yol açabilir; bunlar kronik inflamatuvar dermatozların belirgin özellikleridir. Bu sinyal yolaklarının bağlama özgü rollerini anlamak, hastalık mekanizmalarına ilişkin içgörüler sağlamakla kalmaz, aynı zamanda hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi için yeni yollar açar. Yeni inhibitörler ve yolak modülatörleri ortaya çıkmaya devam ettikçe, temel bariyer ve bağışıklık fonksiyonlarını korurken patojenik sinyalleşmeyi seçici olarak zayıflatan hassas tıp yaklaşımları dermatolojik uygulamada giderek daha uygulanabilir hale gelmektedir.

3. İNFLAMATUVAR DERMATOZLARDA SİTOKİN AĞLARI VE TEMEL İMMÜN EKSENİ

Sitokin ve kemokin ağları, kutanöz immünitinin moleküler omurgasını oluşturmanın yanında immün ve immün sistem dışı hücrelerin aktivasyonunu, farklılaşmasını, göçünü ve işlevini koordine eder. Bu çözünür araçlar, inflamatuvar dermatozlarda inflamasyonun başlangıcını, amplifikasyonunu ve çözülmesini yöneten dinamik bir hücreler arası iletişim sistemi olan “dermatosinyalizasyon”un temelini oluşturur. Psöriazis, AD ve likenoid bozukluklar gibi durumlarda bu yolakların düzensizliği, immün hücre

infiltrasyonunu, epidermal hiperaktivasyonu ve derinin immünometabolik ve yapısal ortamının yeniden programlanmasını sürdürür (Criado ve ark., 2023).

Psöriazis, doğuştan gelen ve edinsel immün yanıtları entegre eden IL-23/IL-17/IL-22 eksenini tarafından öncelikle tetiklenir. IL-23, p19 ve p40'ın bir heterodimeridir ve PAMP'lere ve DAMP'lere yanıt olarak dendritik hücreler, makrofajlar ve Langerhans hücreleri tarafından salgılanır. IL-17A, IL-17F ve IL-22 salgılayan Th17 hücrelerinin genişlemesini ve stabilizasyonunu destekler. IL-17A, keratinositleri nötrofil toplayan kemokinler (CXCL1, CXCL8), antimikrobiyal peptidler (β -defensinler, S100 proteinleri) ve proinflamatuvar mediatörler (IL-6, CCL20) üretmeye teşvik ederek inflamasyonu güçlendirir. IL-22, esas olarak Th17 ve Th22 hücrelerinden salgılanır ve epidermal hiperplazi, akantozis ve terminal farklılaşmanın bozulmasına neden olur; bunlar psoriatik plakların belirgin özellikleridir. Yüksek IL-23, IL-17A ve IL-22 düzeyleri hastalık şiddeti ile ilişkilidir ve IL-23 (guselkumab, risankizumab), IL-17A (secukinumab, ixekizumab) veya p40 (ustekinumab) hedefleyen biyolojik ajanlar bu eksenin translasyonel önemini vurgulamaktadır (Albanesi ve ark., 2018; Buerger, 2018; Ni ve Lai, 2020).

AD, Th2 ve Th1 sitokinleri arasında aşamaya bağlı bir dengesizlik gösterir. Akut fazda Th2 baskındır ve IL-4, IL-5, IL-13 ve IL-31, IgE üretimini, eozinofil toplanmasını ve bariyer bozulmasını tetikler. IL-4/IL-13, JAK1/STAT6 sinyal yoluyla bariyer proteinlerinin (filagrin, lorikrin, involucrin) ekspresyonunu baskılar ve transepidermal su kaybını artırır. IL-31 kaşıntı ve kaşıntı-kaşıma döngüsüne katkıda bulunur. Kronik AD, Th2 aktivasyonu ve IL-22 kaynaklı epidermal kalınlaşma ile IFN- γ , IL-12 ve kalıcı Th2 sitokinlerinde artış ile karışık bir Th1/Th2 profili gösterir. Kemokin ortamı (CCL17, CCL22, CCL26) CCR4⁺/CCR10⁺ T hücrelerini ve eozinofilleri toplayarak inflamasyonu sürdürür. Dupilumab ile IL-4R α 'yı hedeflemek, Th2 aracılı inflamasyonu etkili bir şekilde azaltır ve bariyer bütünlüğünü geri kazandırır (Abdel-Mageed, 2025; David Boothe ve ark., 2017; Flohr ve ark., 2004; Frazier ve Bhardwaj, 2020).

TNF- α ve IFN- γ , dermatozlarda ortak proinflamatuvar mediatörler olarak işlev görür. Aktif T hücreleri, makrofajlar ve keratinositler tarafından üretilen TNF- α , TNFR1/2 aracılığıyla sinyal göndererek, NF- κ B ve MAPK'ı aktive eder. Daha sonra kemokinleri ve sitokinleri de yukarı regüle ederek immün hücre infiltrasyonunu destekler (Qiu ve ark., 2023).

Psöriaziste, TNF- α , IL-17/IL-22 ile sinerji oluşturarak epidermal homeostazı bozar; AD'de ise epidermal kalınlaşma ve vasküler yeniden modelleme yoluyla kronikleşmeye katkıda bulunur. Th1 ve CD8⁺ T hücreleri tarafından salgılanan IFN- γ , antijen sunumunu (MHC-II'nin yukarı regülasyonu yoluyla), nitrik oksit üretimini ve keratinosit apoptozunu artırır. Likenoid dermatozlarda, IFN- γ , Fas/FasL sinyalleşmesi ve CXCL9/10/11 aracılı CXCR3⁺ sitotoksik T hücrelerinin toplanması yoluyla bazal hücre hasarına ve arayüz dermatitine yol açar. Ayrıca dermal dendritik hücreleri hazırlayarak epitop yayılımını ve inflamasyonun kronik geçişini kolaylaştırır. İnflamatuvar sinyalizasyon eksenleri arası etkileşimler, durumu daha da karmaşık hale getirir (K. Liu ve ark., 2025; Yin ve ark., 2025). IFN- γ , Th17 farklılaşmasını inhibe edebilirken, TNF- α IL-17 kaynaklı yanıtları güçlendirebilir. Bu çapraz düzenleyici etkiler, sitokin ağlarının nadiren izole olarak hareket ettiğini gösterir. Bu tür etkileşimler, bir yolun bloke edilmesinin diğerlerini öngörülemeyen şekillerde modüle edebileceğinden, bağlama özgü terapötik hedeflemenin önemini vurgular (Li ve ark., 2023).

3.1. Deri İmmünolojisinde Hücreler Arası Etkileşimler ve Epitel-Mezenkimal Geçişin Rolü

Deri, fiziksel bir bariyer ve immünolojik olarak aktif bir organ olarak işlev görür ve homeostazı korumak veya hücresel hasar durumunda inflamasyona aracılık etmek için karmaşık moleküler etkileşimler yoluyla iş birliği yapan zengin bir immün ve immün olmayan hücre havuzunu içerir. İnflamatuvar deri hastalıklarında, bağışıklık hücreleri (dendritik hücreler, T lenfositleri, mast hücreleri, nötrofiller, makrofajlar) ve yerleşik dermal hücreler (keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreleri) arasındaki çapraz iletişim, inflamatuvar yanıtın gelişimi, amplifikasyonu ve kronikleşmesinde merkezi bir rol oynar. Bu etkileşimler, hücre yüzey reseptörleri, çözünür sitokinler ve kemokinler, DAMP'lar, adhezyon molekülleri ve hücre dışı veziküller aracılığıyla gerçekleşir. Ayrıca, epitel hücrelerinin polaritesini kaybedip mezenkimal özellikler kazandığı bir süreç olan epitel-mezenkimal geçiş (EMT), kronik dermatozlarda inflamasyonu doku yeniden şekillenmesi ve fibroz ile ilişkilendiren önemli bir mekanizma olarak ortaya çıkmaktadır. Bu moleküler dinamiklerin kapsamlı bir şekilde anlaşılması, kutanöz inflamatuvar bozuklukların patogenezi tanımlamak ve hedefe yönelik terapötik stratejiler

geliştirmek için çok önemlidir (Anderson ve ark., 2020; Kitazawa ve ark., 2024; Man ve ark., 2015).

İmmün-epitel iletişiminin merkezinde dendritik hücreler (DC'ler), T lenfositleri ve keratinositler arasındaki etkileşim yer alır. DC'lerin özel bir alt grubu olan epidermal langerhans hücreleri, epidermin bazal ve suprabazal tabakalarında bulunur ve mikroçevreyi sürekli olarak izler. Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) aracılığıyla tehlike sinyallerini algılayan veya patern tanıma reseptörleri aracılığıyla antijenleri tespit eden DC'ler olgunlaşır ve bölgesel lenf düğümlerine göç eder. Burada işlenmiş antijenleri naif T hücrelerine sunarak bunların efektör alt gruplara farklılaşmasını sağlar. Psöriaziste, DC'ler IL-23, IL-12 ve TNF- α üretir ve Th17, Th1 ve Tc1 hücrelerinin çoğalmasını teşvik eder, bu hücreler de IL-17A, IL-22, IFN- γ ve TNF- α salgılar. Bu sitokinler keratinositleri aktive ederek hiperproliferasyonuna ve proinflamatuvar mediatörlerin (CXCL1, CCL20, S100A7/8/9, LL-37) salgılanmasının artmasına yol açar, bu da miyeloid ve lenfoid hücreleri inflamatuvar bölgeye daha fazla çekerek kronik inflamatuvar bir döngü oluşturur (Simancas-Racines ve ark., 2025; Svedbom ve ark., 2025).

Keratinositler sadece pasif hedefler değil, bağışıklık tepkilerini şekillendirebilen aktif immünomodülatörlerdir. MHC sınıf I ve indüklenbilir sınıf II molekülünü, ko-stimülatör reseptörleri ve dendritik hücre fenotiplerini koşullandırarak T hücresi polarizasyonunu etkileyen IL-1 β , IL-6, TSLP, GM-CSF ve tip I interferonlar dahil olmak üzere çok çeşitli sitokinleri eksprese ederler. Örneğin, keratinosit kaynaklı timik stromal lenfopoietin (TSLP), atopik dermatitte yukarı doğru düzenlenir ve DC'lerin Th2'yi teşvik eden bir fenotipe doğru olgunlaşmasını sağlar, bu da IL-4 ve IL-13 salgılanmasını uyarır ve alerjik inflamasyonu sürdürür (Belizário, 2025; Gao ve ark., 2025).

Liken planus ve kutanöz lupus eritematozusta, sitotoksik T hücreleri tarafından salgılanan IFN- γ , keratinosit apoptozunu ve arayüz dermatitini indükler. Böylece, keratinositler ve bağışıklık hücreleri arasında karşılıklı ve hastalığa özgü bir etkileşim vardır ve bu da her dermatozun kendine özgü immünolojik mikro ortamını güçlendirir. T hücreleri ve DC'lerin yanı sıra, mast hücreleri, nötrofiller ve makrofajlar da kutanöz inflamasyonun başlatılmasında ve modüle edilmesinde önemli roller oynar. Dermiste perivasküler olarak bulunan mast hücreleri, doku hasarına veya alerjen maruziyetine ilk yanıt veren hücreler arasındadır. Degranülasyonun yanında, histamin, triptaz gibi önceden

oluşturulmuş mediatörlerininle birlikte yeni sentezlenen prostaglandinler, lökotrienler ve sitokinler (IL-4, IL-5, TNF- α) de salgırlar. Bu maddeler vasküler geçirgenliğı artırır, eozinofil ve nötrofilleri toplar ve kaşıntıya katkıda bulunur. Mast hücreleri, nöropeptid reseptörleri aracılığıyla sinir ve immün sistemler arasındaki boşluğu doldurarak atopik dermatit, ürtiker ve kronik prurigo gibi hastalıklarda önemli rol oynar (Albanesi ve ark., 2018; Benhadou ve ark., 2018; Dainichi ve ark., 2018; Li ve ark., 2024; Sato ve ark., 2020).

Geleneksel olarak akut faz efektör hücreleri olarak kabul edilen nötrofiller, artık kronik inflamasyonda, özellikle psoriasis ve hidradenitis suppurativa'da rol oynadıkları bilinmektedir. T hücreleri ve keratinositlerden salgılanan IL-17 ve IL-36 sitokinleri, keratinositleri CXCL1, CXCL8 (IL-8) ve GM-CSF üretimini teşvik eder. Daha sonra bu maddeler nötrofilleri ilgili bölgeye çekerek aktive eder. Psöriatik plaklarda oluşan Munro mikroapsesi, nötrofillerin intraepidermal birikimini temsil eder ve bunların patojenik rolünü gösterir. Aktive olmuş nötrofiller ayrıca, kromatin ve antimikrobiyal proteinlerden oluşan nötrofil ekstraselüler tuzakları (NET) salgılar. Bu tuzaklar, kendi DNA'sını açığa çıkarabilir ve LL-37 ile kompleks oluşturabilir, bu da plazmasitoid dendritik hücrelerin aktivasyonu yoluyla otoimmüniteyi tetikleyebilir (Klasson ve ark., 2021; Wu ve Ma, 2024)

Makrofajlar, polarizasyon durumlarına bağılı olarak hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar yanıtlara katkıda bulunur. Klasik olarak aktive olan (M1) makrofajlar, yüksek düzeyde IL-1 β , IL-6, IL-12 ve TNF- α üretir ve Th1/Th17 kaynaklı inflamasyonu kolaylaştırır. Tersine, alternatif olarak aktive olan (M2) makrofajlar IL-10, TGF- β ve matriks metalloproteinazları (MMP'ler) salgılar ve inflamasyonun çözülmesini ve doku onarımını destekler. Kronik dermatozlarda, M1 makrofajların sürekli aktivasyonu dermal fibroz, anjiyogenez ve immün hücre retansiyonuna katkıda bulunurken, M2 tipi makrofajlar anormal yara iyileşmesi ve fibrotik yeniden modellenmeye katılabilir (Alshihmani ve ark., 2025; Chiang ve ark., 2019; H. Liu ve ark., 2025; Wang ve Jin, 2020).

Kronik immün-epitelyal çapraz iletişimin kritik bir sonucu, keratinositlerin hızlı çoğalması, oluşan apoptoz direnci ve ekstraselüler matriks üretimi gibi mezenkimal benzeri özellikler kazanmak için fenotipik dönüşüme uğrayan epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT)'dir. EMT, TGF- β , IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlere yanıt olarak yukarı regüle edilen snail, slug, twist ve ZEB1/2

gibi transkripsiyon faktörleri tarafından koordine edilir. Bu geçiş, E-kaderin'in aşağı regülasyonu ve vimentin, fibronektin ve N-kaderin'in yukarı regülasyonu ile karakterize edilir ve epitelyal bütünlüğü değiştirerek fibroz veya tümör benzeri davranışı destekler. Kronik yaralarda, keloidlerde ve lichen sclerosus'ta EMT, doku yeniden şekillenmesine ve yara izi oluşumuna katkıda bulunurken, kanser eğilimli inflamatuvar lezyonlarda EMT, malign transformasyonu ve invazyonu kolaylaştırabilir. Ayrıca, PDGF, FGF2, TGF- β 1 ve IL-6'nın parakrin salgılanması yoluyla keratinosit-fibroblast etkileşimleri, miyofibroblast farklılaşmasını ve dermal sertliği teşvik ederek, inflamasyonu sürdüren bir fibrozik niş oluşturur (Anderson ve ark., 2020; Dainichi ve ark., 2018; Kitazawa ve ark., 2024; Man ve ark., 2015).

4. EPİDERMAL BARIYER BOZUKLUĞU VE HÜCRE İÇİ SİNYAL YOLAKLARI

Epidermal bariyer, deriyi dış etkenlere karşı koruyan ilk savunma hattı olup hem fiziksel hem de kimyasal faktörlerin oluşturduğu bir yapıdır. Fiziksel bariyer olan stratum korneum'un yapısı keratinositler, keratin filamentleri, kornifiye hücre zarfı proteinleri ve hücreler arası lipidlerden oluşur. Sağlıklı bir epidermal bariyerin oluşumu bir dizi özel protein sayesinde gerçekleşir. Filagrin ve Lorikrin gibi proteinler stratum korneum'daki kornifiye zarfın ana bileşenlerini oluşturur (Dong ve ark., 2024).

Filagrin, stratum korneum'un oldukça önemli bir proteini olup, derinin bariyer fonksiyonlarında önemli rol oynayan doğal nemlendirici faktörleri sağlar. Ayrıca keratin filamentlerini bir araya getirerek, sıkı bir protein-lipid matriksi oluşturur ve vücut içi su kaybına karşı ve mikroorganizmaların ya da dış kaynaklı patojenlerin istilasını önleme açısından oldukça temel bir rol alır (Kim ve Lim, 2021).

Lorikrin ise stratum korneum içindeki kornifiye hücre zarfı yapısının en önemli terminal yapısal proteinidir. LOR geni ürünü olan lorikrin transglutaminaz enzimi aracılığıyla envoplakin ve periplakin gibi iskelet proteinlerine çapraz bağlanarak korneifiye hücre zarfı yapısına mekanik güç katar. Bu proteinlerin hatasız ifadeleri epidermal bütünlüğün korunması ve trans-epidermal su kaybının önlenmesi açısından kritiktir (Ishitsuka ve Roop, 2020).

Epidermis bütünlüğünün korunmasındaki sıkı bağlantı (tight junctions, TJ) proteinleri bu mekanizmanın ayrılmaz bir parçasıdır. Klaudin-1 ve okludin granüler tabakadaki komşu keratinositler arasındaki sıkı bağlantı komplekslerinin transmembran proteinleridir. Klaudin-1 sıkı bağlantı proteinleri arasında deride en çok bulunan proteindir ve paraselüler geçişi sınırlayarak, su ve moleküllerin geçişini kontrol eder. Okludin ise sıkı bağlantıların yapısını stabilize eden bir protein olup, özellikle stratum granulozum hücrelerinde bulunarak bariyer bütünlüğünü tamamlar (Brandner ve ark., 2015; Furuse ve ark., 2002). Bariyer bütünlüğünü sağlayan bu temel proteinlerin dengeli bir şekilde ifadeleri epidermal geçirgenliğin düşük tutulmasını sağlayarak, patojen ve alerjenlerin cildin en dış tabakasından içeri geçişlerini önler (Rocha ve ark., 2024). Sonuç olarak filaggrin ve lorikrin gibi korneifiye zarf proteinleri ile klaudin-1 ve okludin gibi sıkı bağlantı proteinleri epidermal bariyer bütünlüğünün temel yapıtaşlarıdır.

4.1. Bariyer Proteinlerinin Bozulması ve İnflamatuvar Sinyal Yolaklarının Aktivasyonu

Epidermal bariyerin genetik veya çevresel faktörler aracılığıyla bozulması hücre içi sinyal yolaklarının aktive olmasına, dolayısıyla inflamatuvar yanıtların tetiklenmesine yol açar. Filaggrin genindeki bazı mutasyonlar sonucunda epidermal bariyer bütünlüğünü etkileyen değişiklikler meydana gelmektedir. Bu durum bariyerde zayıflığa neden olarak deride kuruluk, artmış trans-epidermal su kaybı ve pH değişikliği ile iritan ve alerjenlerin deri içerisine kolaylıkla nüfuz etmesine yol açar (Wang ve ark., 2018).

Bariyer bozukluğuna bağlı olarak, keratinositler tehlike sinyalleri üretmeye başlarlar. Özellikle hasarlı epitel hücrelerinden salınan interlökin-33 (IL-33) ve timik stromal lenfopoietin (TSLP) gibi alarminler, edinsel immün sistem hücrelerinden T yardımcı hücre 2 (Th2)'leri uyarak inflamasyonun başlatılması ve sürdürülmesinde önemli rol oynar. Bu sitokinler Dendritik Hücreler üzerinde etkili olarak Th2 hücrelerinin IL-4, IL-5 ve IL-13 üretimini destekler. Bu durum Eozinofil aktivasyonu ile IgE ilişkili mukus hipersekresyonunun artmasına neden olur. Ayrıca IL-33 mast hücre ve bazofilleri aktive ederek inflamatuvar ortamın şekillenmesine katkıda bulunur (Furie, 2020; Sheng ve ark., 2025). Bozulan bariyer sonucunda deri içerisine

nüfuz eden mikrobiyal ürünler ile çevresel antijenler resident (yerleşik) immün hücrelerin patern tanıyan reseptörlerinden, Toll-benzeri reseptörler (TLR) aracılığı ile tanınarak aktive olur ve keratinositlerin NF- κ B ve MAPK yolaklarını tetikler. Bu sinyal mekanizmaları üzerinden IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler ve çeşitli kemokinlerin sekresyonu artar, bu durum keratinositlerin anormal proliferasyonu ve diferansiyonlarını doğrudan etkiler. Bunun sonucunda keratinositlerin sayıca artışı epidermal kalınlaşmaya aracılık ederek, bariyer bütünlüğünün bozulmasına neden olur (Belizário, 2025). Aynı şekilde T yardımcı hücre 17 (Th17) hücreleri aracılığıyla üretilen interlökin 17A (IL-17A) sitokini, keratinositler üzerinde bulunan IL-17A reseptörüne (IL-17R) bağlanarak NF- κ B, MAPK ve p38 sinyal yolaklarını güçlü bir şekilde aktive eder. Bu da keratinositlerde inflamatuvar yanıtların daha da şiddetlenmesine neden olur. Böylece bariyerin hasar görmesiyle başlayan mikrobiyal ya da endojen stres sinyalleri ERK-JNK-p38 ve NF- κ B aracılığıyla inflamasyon döngüsünü başlatır (Furue, 2020). Buna karşılık JAK/STAT sinyal yolakları özellikle edinsel immün yanıtlarda önemli rol oynar. Th2 hücrelerinden sekrete edilen IL-4 ve IL-13 sitokinleri, keratinositler üzerindeki IL-4R α /IL-13R α 1 kompleksine bağlanarak JAK1/JAK2/TYK2 üzerinden STAT6 yolağını aktive eder. Bu yolağın aktivasyonu filaggrin ve lorikrin gibi epidermal bariyer proteinlerinin ifadesini baskılar (Bao ve ark., 2013; Furue, 2020). Sonuç olarak dermal bariyerdeki hasar yalnızca doğuştan gelen sinyal yolaklarını değil, aynı zamanda edinsel immün sisteme ait Th2 ve Th17 hücrelerini de aktive eder. Bariyer bütünlüğü bozuldukça Th2 yanıtları güçlenir, buna bağlı olarak salgılanan sitokinler de bariyer fonksiyonunu daha da fazla baskılayarak inflamasyonun kronikleşmene neden olan kısır bir döngü oluşturur (Brandner ve ark., 2015).

AD, genetik defekt, immün disregülasyon ve çevresel faktörlerin ortak etkisi ile meydana gelen bir kronik inflamatuvar deri hastalığıdır. Filaggrin üretiminden sorumlu *FLG* gen mutasyonlarını tespit edilmiştir. Bebeklik döneminden itibaren görülen atopi nedeniyle dermal bariyerdeki zayıflama, AD hastalarında zamanla besin alerjileri, alerjik rinit ve diğer atopik hastalıkların gelişme oranını arttırdığı gösterilmiştir (Brown ve McLean, 2012). AD'li hastaların hem lezyonlu hem de lezyonsuz deri biyopsilerinde kladin-1 seviyelerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Kladin-1 eksikliği sıkı bağlantıların işlevini bozarak alerjen penetrasyonunu arttırdığına yönelik çalışmalar mevcuttur

(De Benedetto ve ark., 2011). AD lezyonlarında diğer inflamatuvar dermatozlarda olduğu gibi yalnızca Th2 hücre yanıtları değil, aynı zamanda Th22 hücre aracılı yanıtlar da gözlenmektedir. Özellikle Th22 hücreleri tarafından üretilen IL-22 sitokini, filagrin ve pro-filagrin ifadelerini baskılayarak kuru-çatlak bir cilt fenotipinin gözlenmesine neden olmaktadır. Zayıflamış bariyer nedeniyle *Staphylococcus aureus* gibi patojenlerin artan kolonizasyonu sonucunda TLR-2 aracılığıyla NF- κ B yolagını aktifleştirerek inflamasyonun kronik döngüsüne aracılık eder (Nakatsuji ve ark., 2016).

Psöriazis; özellikle Th17/Th1 kaynaklı immün yanıtların neden olduğu, epidermal keratinositlerin aşırı proliferasyonu ve anormal farklılaşması ile deride pullanmaya yol açan ve ayrıca artrit veya kardiyometabolit hastalıklar gibi komorbiditelerle karakterize edilen kronik inflamatuvar bir deri hastalığıdır (Hawkes ve ark., 2017). AD'nin aksine, bu hastalıkta *FLG* gen mutasyonları belirgin bir risk faktörü değildir. Th17 hücrelerinden salınan ana sitokin IL-17A, keratinositlerdeki bariyer genlerini etkileyerek hastalığın patolojisine katkıda bulunmaktadır. Filagrin gen ifadesinin azalmasına neden olan bu sitokin hücreler arası adezyon moleküllerinin üretimini bozabilmektedir. Hem epidermiste hiperkeratoza, anormal korneosit dökülmelerine, hem de sıkı bağlantı proteinlerinin ifadelerinde anormalliklere yol açar. IL-22 AD ve psöriazis'in patogeneze katkıda bulunan Th17 hücrelerinden sekrete edilen bir diğer mediyatördür. Keratinosit farklılaşmasını bozarak filagrin ve lorikrin düzeylerini baskılar (Dong ve ark., 2024). TNF- α ve IFN- γ gibi Th1 kaynaklı sitokinler de bariyer bütünlüğünü olumsuz etkilemektedir. Özellikle TNF- α 'nın keratinositlerde c-Jun N-terminal kinaz (JNK) yolagını aktive ederek filaggrin ve lorikrin ifadelerini azalttığı belirlenmiştir. Dolayısıyla psöriazis tedavisinde TNF- α inhibitörlerinin bariyer fonksiyonlarının iyileşmesine katkı sağlamaktadır (Katsarou ve ark., 2023).

Psöriaziste doğal immün yanıtlar NF- κ B/MAPK yolaklarını sürekli aktif tutarak keratinosit-immün hücre etkileşim döngüsünü sürdürür. Aktivasyona bağlı keratinositlerden salınan antimikrobiyal peptidler ve kemokinler immün hücre infiltrasyonunu artırarak inflamasyonun şiddetlenmesine neden olur. Ayrıca, keratin 17 normalde, epidermiste yapısal bütünlüğün korunmasını sağlayan bir iskelet proteindir. Ancak psöriaziste ise otoantijen haline gelerek inflamatuvar döngüyü devam ettirir (Dong ve ark., 2024). Bu nedenle

inflamasyona neden olan bu döngülerin kırılması için IL-17A, IL-22 ve TNF- α gibi sitokinleri hedefleyen inhibitör moleküller klinik uygulamalarda önemli terapötik stratejiler olarak kullanılmaktadır. Bu biyolojik ajanlar bir yandan inflamatuvar yanıtları sınırlandırırken öte yandan keratinosit proliferasyonunun kontrol altına alınması sağlayarak bariyer proteinlerinin ifade düzeylerinin iyileştirilmesine katkıda bulunurlar. Böylece hastalık semptomlarının hafifletilmesi, nüksün önlenmesi ve kronikleşme riskini azaltılmasına aracılık etmiş olurlar (Furie, 2020).

Epidermal bariyer homeostazı yalnızca yapısal proteinlerin ifadeleri ile değil aynı zamanda hücre içi metabolik iyon dengeleriyle de yakından ilişkilidir. Kalsiyum sinyallemesi keratinositlerin farklılaşması ve stratum korneum'un olgunlaşmasında önemli rol oynar. Epidermal kalsiyum iyon dengesindeki bozulmalar, transglutaminaz-1 (TG-1) aktivitesinin azalmasına ve böylece bariyer proteinlerinin de ifadelerinin azalmasına neden olmaktadır. Aynı zamanda bu iyon dengesinin bozulması, endoplazmik retikulum (ER)'den kalsiyum sızıntılarına yol açarak ER stresini tetiklemektedir (Ebrahimi Samani ve ark., 2024).

ER stresi katlanmamış protein yanıtına (UPR) neden olarak NF- κ B ve JNK gibi inflamatuvar yolları aktive ederek filagrin ve klaudin-1 gibi proteinlerin translasyonlarını baskılar. ER stresine neden olan bir diğer mekanizma ise ROS üretimidir. ROS mitokondriyal fonksiyon bozuklukları ve NADPH oksidaz aktivasyonu sonucu artarak lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve MAPK yolak aktivasyonlarına yol açar. ROS seviyelerindeki artış inflamatuvar sitokin sekresyonları tetikleyerek sürekli bir pro-inflamatuvar ortam oluşturur. Bu üç mekanizma birbirini karşılıklı olarak etkileyen geri besleme döngüleriyle bağlantılıdır. Bu döngü sonucunda filagrin translasyonu azalır, lorikrin çapraz bağlanması bozulur ve klaudin-1- oklulidin fosforilasyonları değişerek sıkı bağlantı bütünlüğü zayıflar (Chen ve ark., 2022; Paik ve ark., 2024). Bu nedenle kronik inflamatuvar deri hastalıklarında yalnızca sitokin hedefli tedaviler yeterli olmayıp, aynı zaman da hücre içi stres yanıtlarını düzenleyici ajanlar da potansiyel tedavi stratejileri arasında değerlendirilmektedir. 4-fenilbütirik asit ve tauroursodeoksikolik asit yanlı katlanmış proteinlerin birikimini azaltarak ER stresini hafifletir, N-asetilsistein ise ROS düzeylerini düşürerek, dolaylı yoldan ER stresini azaltır. Bu ajanlar inflamatuvar deri hastalıklarının patogenezinde rol alan hücresel stres

yanıtlarını hedefleyerek hem deneysel hem de klinik çalışmalarda umut vadetmektedir (Chen ve ark., 2023).

5. EPIGENETİK DÜZENLEMELER VE TRANSKRİPTOMİK PROFİL

Kronik inflamatuvar dermatozlar, çevresel tetikleyicilerin yol açtığı epigenetik değişiklikler sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu değişikliklerin başlıcaları DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, kromatin yeniden düzenlenmesi, düzenleyici olmayan mikroRNA'lar (miRNA) ve uzun kodlanmayan RNA'lar (lncRNA) aracılığı ile transkripsiyonun kontrol edilmesidir. Yapılan çalışmalar bazı miRNA ifade düzeylerinin, kronik seyirli inflamatuvar deri hastalıklarında değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur. Psöriazis lezyonlarında miR-31 ve miR-203 gibi miRNA'lar yüksek oranda ifade edilmekte ve NF- κ B sinyal yolağını aktive ederek IL-6, IL-17 ve TNF- α gibi sitokinlerin artışına yol açmıştır. Benzer şekilde miR-155 gibi miRNA'lar TNF- α sekresyonunu artırıp, Th1 yönünde polarizasyona neden olarak inflamasyonu şiddetlendirebilmektedir ancak miR-155'in patojenik rolü inhibitör tedavilerle baskılandığında inflamatuvar yanıtın hafiflemesinden anlaşılmıştır (Dopytalska ve ark., 2023). AD'de ise miR-143, IL-13R α 1'e bağlanarak bu reseptörün ifadesini baskılar ve sonuç olarak IL-13'ün yol açtığı inflamatuvar etkileri azaltır (Yu ve ark., 2020).

lncRNA'lar son yıllarda yapılan genomik çalışmalarda, immün yanıtların düzenlenmesinde oldukça önemli roller üstlendiklerine dair kanıtlar gösterilmiştir. Belirli lncRNA'ların IL-6 sitokin üretimini baskılayarak AD'te lokal deri inflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Zhu ve ark., 2025). Özetle, miRNA ve lncRNA'ların inflamatuvar sinyal yollarını hedef alarak dermatozların moleküler patogenezinde hem tanı hem de tedavi açısından önem taşımaktadır. Hastalık hafızası, inflamasyon sonrasında hücrelerde oluşan epigenetik değişiklikler sonucunda lezyonların aynı lokalizasyonda tekrarlamasıyla ortaya çıkmaktadır. Klasik tedavi yönteminin kesilmesi bu lezyonların yeniden alevlenmesine neden olmaktadır bu nedenle gelecekte epigenetik hafızayı hedefleyen yaklaşımlar hastalığın kalıcı olarak kontrol altına alınması için önem taşımaktadır (Daccache ve Naik, 2024).

6. YENİ MOLEKÜLER HEDEFLER

Dermatolojik hastalıkların moleküler patogenezinde görev alan transkripsiyon faktörleri ve hücre içi sinyal kaskadları, son yıllarda terapötik hedefler olarak ortaya çıkmışlardır. JAK'lar (JAK1, JAK2 ve JAK3) ve tirozin kinaz 2 (TYR2) üzerinden immün sinyal yollarının düzenlenmesi için JAK inhibitörleri olarak bilinen küçük moleküller kullanıma girmiştir. JAK ve TYR2 inhibitörleri AD, psöriazis ve vitiligo gibi çeşitli inflamatuvar deri hastalıklarının tedavisi için FDA onayı almıştır. JAK inhibitörleri, JAK-STAT yolağını baskılayan IL-4/IL-13, IFN- γ ve IL-17 sitokinlerini doğrudan sinyal iletimini engellemektedir (Beard ve Trotter, 2024). Abrositinib ve Upadacitinib seçici JAK1 inhibitörleri olarak bilinirler. Özellikle orta ve yüksek şiddette AD'li, psöriatik hastalarda kaşıntı ve inflamasyonun hafifletilmesinde kullanılır. Baricitinib ise seçici JAK1'e ek olarak JAK2'yi de inhibe edebilmektedir. JAK2 inhibisyonu sayesinde hematopoietik ve inflamatuvar sitokin olarak bilinen granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi sitokinler üzerinde de etkilidir (He ve ark., 2024). Bu küçük inhibitör moleküllerin yanı sıra hastalıkta rol oynayan özgül sitokinleri hedefleyen monoklonal antikolar da tedavi seçenekleri arasına girmiştir. Th2 aracılı immün yanıtlarda IL-4 sinyalini bloke eden dupilumab (IL-4R α monoklonal antikoru) AD'de oldukça etkin olmuştur. Th17 aracılı immün yanıtları hedefleyen sekukinumab (IL-17A monoklonal antikoru) ve ustekinumab (IL-12/23p40 monoklonal antikoru) ise psöriaziste yüksek etkinlik göstermiştir (Daccache ve Naik, 2024). Bimekizumab ise hem IL-17A hem de IL-17F sitokinlerini aynı anda nötralize edebilen FDA onaylı bir monoklonal antikordur. Özellikle orta veya şiddetli plak tipi psöriazis tedavisinde kullanılmaktadır (Gordon ve ark., 2021).

SONUÇ

İmmün sistem ve deride yer alan hücreler arasındaki kompleks moleküler etkileşimler, inflamatuvar dermatozların patogenezinde belirleyici rol oynar. Dendritik hücreler, T lenfositleri ve keratinositler arasındaki çift yönlü iletişim immün yanıtların kalıcılığını şekillendirirken; mast hücreleri, nötrofiller ve makrofajlar mediatör salımı, antijen sunumu ve doku yeniden şekillenmesi ile inflamatuvar süreci yönlendirir. Epidermal inflamasyonun başlatılmasında TLR, NLR ve DAMP aracılı inflamazom aktivasyonu kritik öneme sahiptir;

ancak bu mekanizmaların kronik veya aşırı aktivasyonu patolojik inflamasyonu besler. Hastalığa özgü inflamatuvar patogenepler, IL-23/IL-17/IL-22 ekseninin psöriaziste, Th2/Th1 dengesizliğinin atopik dermatitte ve TNF- α /IFN- γ 'nın çoklu dermatozlarda merkezi rol oynadığını ortaya koyar. Bu bilgiler, NLRP3 inhibitörleri, TLR antagonistleri ve DAMP nötralizatörleri gibi hedefe yönelik tedavilerle entegre edildiğinde, kronik inflamatuvar deri hastalıklarının kişiselleştirilmiş ve uzun süreli kontrolüne yönelik güçlü bir potansiyel sunmaktadır. Moleküler tıptaki hızlı gelişmeler sayesinde, klinik dermatoloji, semptomların geçici olarak baskılanmasına yönelik yaklaşımlardan, hastalık mekanizmalarının hedeflenmesine ve etiyolojik faktörlerin ortadan kaldırılmasına doğru yönelen bir disipline dönüşmektedir. Gelecekte bu tedavi seçenekleri sayesinde belirli hasta gruplarında uzun süreli remisyonların ve daha etkili hastalık kontrollerinin sağlanması mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Mageed, H. M. (2025). Atopic dermatitis: a comprehensive updated review of this intriguing disease with futuristic insights. *Inflammopharmacology*, 33(3), 1161–1187. <https://doi.org/10.1007/s10787-025-01642-z>
- Albanesi, C., Madonna, S., Gisondi, P., & Girolomoni, G. (2018). The Interplay Between Keratinocytes and Immune Cells in the Pathogenesis of Psoriasis [Review]. *Frontiers in Immunology, Volume 9 - 2018*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01549>
- Alshihmani, A. H. H., Mahmoudi, M., Kheder, R. K., Fadaee, A., & Esmaeili, S.-A. (2025). The M2 Macrophages Importance Role in Psoriasis. *Immunity, Inflammation and Disease*, 13(6), e70211. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/iid3.70211>
- Amara, S., Pasumarthi, A., Parikh, N., Kodali, N., Lebwohl, M., & Monks, G. (2025). Psoriasis management tree based on comorbidity. *International Journal of Dermatology*, 64(2), 229–245. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijd.17497>
- Anderson, E. D., Alishahedani, M. E., & Myles, I. A. (2020). Epithelial-Mesenchymal Transition in Atopy: A Mini-Review [Mini Review]. *Frontiers in Allergy, Volume 1 - 2020*. <https://doi.org/10.3389/falgy.2020.628381>
- Baker, B., Ovigne, J. M., Powles, A., Corcoran, S., & Fry, L. (2003). Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *British Journal of Dermatology*, 148(4), 670–679.
- Bao, L., Zhang, H., & Chan, L. S. (2013). The involvement of the JAK-STAT signaling pathway in chronic inflammatory skin disease atopic dermatitis. *Jak-Stat*, 2(3), e24137.
- Beard, A., & Trotter, S. C. (2024). JAK 1-3 inhibitors and TYK-2 inhibitors in dermatology: Practical pearls for the primary care physician. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 13(10), 4128–4134.
- Belizário, J. E. (2025). Role of skin antimicrobial peptides in the pathogenesis of psoriasis, atopic dermatitis and hidradenitis suppurative: Highlights

- on dermcidin. *Clinical Immunology Communications*, 7, 18–26.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clicom.2024.12.001>
- Benhadou, F., Mintoff, D., & del Marmol, V. (2018). Psoriasis: Keratinocytes or Immune Cells – Which Is the Trigger? *Dermatology*, 235(2), 91–100.
<https://doi.org/10.1159/000495291>
- Brandner, J., Zorn-Kruppa, M., Yoshida, T., Moll, I., Beck, L., & De Benedetto, A. (2015). Epidermal tight junctions in health and disease. *Tissue barriers*, 3(1-2), e974451.
- Brown, S. J., & McLean, W. I. (2012). One remarkable molecule: filaggrin. *Journal of Investigative Dermatology*, 132(3), 751–762.
- Buerger, C. (2018). Epidermal mTORC1 Signaling Contributes to the Pathogenesis of Psoriasis and Could Serve as a Therapeutic Target [Review]. *Frontiers in Immunology*, Volume 9 - 2018.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02786>
- Chen, G., Yin, S., Zeng, H., Li, H., & Wan, X. (2022). Regulation of embryonic stem cell self-renewal. *Life*, 12(8), 1151.
- Chen, X., Shi, C., He, M., Xiong, S., & Xia, X. (2023). Endoplasmic reticulum stress: molecular mechanism and therapeutic targets. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 352.
- Chiang, C.-C., Cheng, W.-J., Korinek, M., Lin, C.-Y., & Hwang, T.-L. (2019). Neutrophils in Psoriasis [Review]. *Frontiers in Immunology*, Volume 10 - 2019. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02376>
- Criado, P. R., Lorenzini, D., Miot, H. A., Bueno-Filho, R., Carneiro, F. R. O., & Ianhez, M. (2023). New small molecules in dermatology: for the autoimmunity, inflammation and beyond. *Inflammation Research*, 72(6), 1257–1274. <https://doi.org/10.1007/s00011-023-01744-w>
- Daccache, J. A., & Naik, S. (2024). Inflammatory memory in chronic skin disease. *JID Innovations*, 4(3), 100277.
- Dadkhah, M., & Sharifi, M. (2025). The NLRP3 inflammasome: Mechanisms of activation, regulation, and role in diseases. *International Reviews of Immunology*, 44(2), 98–111.
<https://doi.org/10.1080/08830185.2024.2415688>
- Dainichi, T., Kitoh, A., Otsuka, A., Nakajima, S., Nomura, T., Kaplan, D. H., & Kabashima, K. (2018). The epithelial immune microenvironment

- (EIME) in atopic dermatitis and psoriasis. *Nature Immunology*, 19(12), 1286–1298. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0256-2>
- David Boothe, W., Tarbox, J. A., & Tarbox, M. B. (2017). Atopic Dermatitis: Pathophysiology. In E. A. Fortson, S. R. Feldman, & L. C. Strowd (Eds.), *Management of Atopic Dermatitis: Methods and Challenges* (pp. 21–37). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64804-0_3
- De Benedetto, A., Rafaels, N. M., McGirt, L. Y., Ivanov, A. I., Georas, S. N., Cheadle, C., Berger, A. E., Zhang, K., Vidyasagar, S., & Yoshida, T. (2011). Tight junction defects in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 127(3), 773–786. e777.
- Dong, S., Li, D., & Shi, D. (2024). Skin barrier-inflammatory pathway is a driver of the psoriasis-atopic dermatitis transition. *Frontiers in Medicine*, 11, 1335551.
- Dopytalska, K., Czaplicka, A., Szymańska, E., & Walecka, I. (2023). The essential role of micrnas in inflammatory and autoimmune skin diseases—a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9130.
- Dorjsembe, B., Joo, H., Nho, C., Ham, J., & Kim, J.-C. (2022). Aruncus dioicus var. kamschaticus Extract Ameliorates Psoriasis-like Skin Inflammation via Akt/mTOR and JAK2/STAT3 Signaling Pathways in a Murine Model. *Nutrients*, 14(23), 5094.
- Ebrahimi Samani, S., Tatsukawa, H., Hitomi, K., & Kaartinen, M. T. (2024). Transglutaminase 1: Emerging Functions beyond Skin. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19), 10306.
- Fang, Z., Jiang, R., Wang, Y., Chen, W., Chen, X., & Yin, M. (2025). Topical TYK2 inhibitor ameliorates psoriasis-like dermatitis via the AKT-SP1-NGFR-AP1 pathway in keratinocytes. *Clinical and Translational Medicine*, 15(3), e70256. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ctm2.70256>
- Flohr, C., Johansson, S. G. O., Wahlgren, C.-F., & Williams, H. (2004). How atopic is atopic dermatitis? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(1), 150–158. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.04.027>

- Flutter, B., & Nestle, F. O. (2013). TLRs to cytokines: mechanistic insights from the imiquimod mouse model of psoriasis. *European Journal of Immunology*, 43(12), 3138–3146.
- Frazier, W., & Bhardwaj, N. (2020). Atopic Dermatitis: Diagnosis and Treatment. *American Family Physician*, 101(10), 590–598.
- Furtunescu, A. R., Georgescu, S. R., Tampa, M., & Matei, C. (2024). Inhibition of the JAK-STAT Pathway in the Treatment of Psoriasis: A Review of the Literature. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(9), 4681.
- Furue, M. (2020). Regulation of filaggrin, loricrin, and involucrin by IL-4, IL-13, IL-17A, IL-22, AHR, and NRF2: pathogenic implications in atopic dermatitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5382.
- Furuse, M., Hata, M., Furuse, K., Yoshida, Y., Haratake, A., Sugitani, Y., Noda, T., Kubo, A., & Tsukita, S. (2002). Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1–deficient mice. *The Journal of cell biology*, 156(6), 1099–1111.
- Gao, Y., Xu, T., Wang, Y., Hu, Y., Yin, S., Qin, Z., & Yu, H. (2025). Pathophysiology and Treatment of Psoriasis: From Clinical Practice to Basic Research. *Pharmaceutics*, 17(1), 56.
- Gómez-García, F., Gómez-Arias, P. J., Montilla-López, A., Hernández-Parada, J., Sanz-Cabanillas, J. L., Ruano, J., & Parra-Peralbo, E. (2022). A Scoping Review on Use of Drugs Targeting the JAK/STAT Pathway in Psoriasis [Systematic Review]. *Frontiers in Medicine*, Volume 9 - 2022. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.754116>
- Gordon, K. B., Foley, P., Krueger, J. G., Pinter, A., Reich, K., Vender, R., Vanvoorden, V., Madden, C., White, K., & Cioffi, C. (2021). Bimekizumab efficacy and safety in moderate to severe plaque psoriasis (BE READY): a multicentre, double-blind, placebo-controlled, randomised withdrawal phase 3 trial. *The Lancet*, 397(10273), 475–486.
- Gülsunay İ, E., Altunay, İ., Kum, T., & Çerman, A. A. (2024). mTORC1 and mTORC2 Levels in Patients with Psoriasis. *Dermatol Pract Concept*, 14(4). <https://doi.org/10.5826/dpc.1404a266>
- Hawkes, J. E., Chan, T. C., & Krueger, J. G. (2017). Psoriasis pathogenesis and the development of novel targeted immune therapies. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 140(3), 645–653.

- He, Q., Xie, X., Chen, Q., Li, W., Song, Z., Wang, X., Ma, X., Zeng, J., & Guo, J. (2024). Janus kinase inhibitors in atopic dermatitis: an umbrella review of meta-analyses. *Frontiers in Immunology*, 15, 1342810.
- Ishitsuka, Y., & Roop, D. R. (2020). Loricrin: past, present, and future. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2271.
- Jiang, M., Sun, Z., Dang, E., Li, B., Fang, H., Li, J., Gao, L., Zhang, K., & Wang, G. (2017). TGF β /SMAD/microRNA-486-3p Signaling Axis Mediates Keratin 17 Expression and Keratinocyte Hyperproliferation in Psoriasis. *Journal of Investigative Dermatology*, 137(10), 2177–2186. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.06.005>
- Kang, T. B., Yang, S. H., Toth, B., Kovalenko, A., & Wallach, D. (2014). Activation of the NLRP3 Inflammasome by Proteins That Signal for Necroptosis. *Regulated Cell Death, Pt B: Necroptotic, Autophagic and Other Non-Apoptotic Mechanisms*, 545, 67–81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801430-1.00003-2>
- Katsarou, S., Makris, M., Vakirlis, E., & Gregoriou, S. (2023). The role of tight junctions in atopic dermatitis: a systematic review. *Journal of clinical medicine*, 12(4), 1538.
- Keller, J. J. (2023). Cutaneous neuropeptides: the missing link between psychological stress and chronic inflammatory skin disease? *Archives of dermatological research*, 1–7.
- Kim, Y., & Lim, K.-M. (2021). Skin barrier dysfunction and filaggrin. *Archives of pharmacal research*, 44(1), 36–48.
- Kitazawa, K., Tanaka, K., Kubota, Y., Musashi, M., Higashi, K., Nagasawa, T., Kobayashi, M., Kamakura, T., Igarashi, R., & Yamaguchi, Y. (2024). Expression of Epithelial–Mesenchymal Transition Markers in Epidermal Layer of Atopic Dermatitis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 47(1), 49–59. <https://doi.org/10.1248/bpb.b23-00291>
- Klasson, M., Lindberg, M., Sarndahl, E., Westberg, H., Bryngelsson, I. L., Tuerxun, K., & Persson, A. (2021). Dose- and time-dependent changes in viability and IL-6, CXCL8 and CCL2 production by HaCaT-cells exposed to cobalt. Effects of high and low calcium growth conditions. *PloS One*, 16(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252159>
- Li, L., Lu, J., Liu, J., Wu, J., Zhang, X., Meng, Y., Wu, X., Tai, Z., Zhu, Q., & Chen, Z. (2024). Immune cells in the epithelial immune

- microenvironment of psoriasis: emerging therapeutic targets [Review]. *Frontiers in Immunology*, Volume 14 - 2023. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1340677>
- Li, Y., Cui, H., Li, S., Li, X., Guo, H., Nandakumar, K. S., & Li, Z. (2023). Kaempferol modulates IFN- γ induced JAK-STAT signaling pathway and ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin lesions. *International Immunopharmacology*, 114, 109585. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109585>
- Liu, D., Hu, B. D., Mishra, A., Patel, D., Lau, M., Navrazhina, K., He, H., & Guttman-Yassky, E. (2025). Tape Strips in Inflammatory Skin Disease: A Noninvasive Method for Molecular Insights and Personalized Care. *British Journal of Dermatology*. <https://doi.org/10.1093/bjd/ljaf275>
- Liu, H., Huang, M., Lyu, J., Tao, J., Li, Y., Li, L., Huang, Y., & Zhou, Z. (2025). Enhance Efferocytosis and Block the Macrophages–Platelets Feedback Loop for Targeted Treatment of Psoriasis. *ACS Nano*, 19(12), 11774–11791. <https://doi.org/10.1021/acsnano.4c13533>
- Liu, K., Deng, S., Zhou, Y., Xu, B., Zhang, Y., Li, W., Liu, X., & Yao, X. (2025). Crosstalk Between the Skin Environment and Microbial Community in Immune-Related Skin Diseases. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 68(1), 16. <https://doi.org/10.1007/s12016-025-09029-2>
- Liu, W., Zhang, X., & Chen, X. (2025). Unraveling the causal associations between systemic cytokines and six inflammatory skin diseases. *Cytokine*, 185, 156810. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cyto.2024.156810>
- Man, X.-Y., Chen, X.-B., Li, W., Landeck, L., Dou, T.-T., Chen, J.-q., Zhou, J., Cai, S.-Q., & Zheng, M. (2015). Analysis of epithelial–mesenchymal transition markers in psoriatic epidermal keratinocytes. *Open Biology*, 5(8), 150032. <https://doi.org/doi:10.1098/rsob.150032>
- Mavropoulos, A., Rigopoulou, E. I., Liaskos, C., Bogdanos, D. P., & Sakkas, L. I. (2013). The Role of p38 MAPK in the Aetiopathogenesis of Psoriasis and Psoriatic Arthritis. *Journal of Immunology Research*, 2013(1), 569751. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2013/569751>
- Nakatsuji, T., Chen, T. H., Two, A. M., Chun, K. A., Narala, S., Geha, R. S., Hata, T. R., & Gallo, R. L. (2016). Staphylococcus aureus exploits

- epidermal barrier defects in atopic dermatitis to trigger cytokine expression. *Journal of Investigative Dermatology*, 136(11), 2192–2200.
- Ni, X., & Lai, Y. (2020). Keratinocyte: A trigger or an executor of psoriasis? *Journal of Leukocyte Biology*, 108(2), 485–491. <https://doi.org/10.1002/jlb.5mr0120-439r>
- Ning, Q., Yue, Y., Liu, X., Ji, W., Zhao, Q., Wang, J., & Zhang, Z. (2025). Exploring the Therapeutic Effects of Anisole on Psoriasis in Mice Based on the JAK1/STAT3 Pathway. *Phytotherapy Research*, 39(3), 1344–1354. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ptr.8426>
- Orzan, O. A., Tutunaru, C. V., & Ianoși, S. L. (2025). Understanding the Intricate Pathophysiology of Psoriasis and Related Skin Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(2), 749.
- Paik, K., Na, J.-I., Huh, C.-H., & Shin, J.-W. (2024). Particulate Matter and Its Molecular Effects on Skin: Implications for Various Skin Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(18), 9888.
- Prajapati, V. H., Lynde, C. W., Gooderham, M. J., Hong, H. C.-h., Kirchhof, M. G., Lansang, P., Ringuet, J., Turchin, I., Vender, R., Yeung, J., & Papp, K. A. (2025). Considerations for defining and diagnosing generalized pustular psoriasis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 39(3), 487–497. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jdv.20310>
- Qiu, X.-n., Hong, D., Shi, Z.-r., Lu, S.-y., Lai, Y.-x., Ren, Y.-l., Liu, X.-t., Guo, C.-p., Tan, G.-z., & Wang, L.-c. (2023). TNF- α promotes CXCL-1/8 production in keratinocytes by downregulating galectin-3 through NF- κ B and hsa-miR-27a-3p pathway to contribute psoriasis development. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 45(6), 692–700.
- Queiro, R., Coto, P., González-Lara, L., & Coto, E. (2021). Genetic Variants of the NF- κ B Pathway: Unraveling the Genetic Architecture of Psoriatic Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 13004.
- Rathor, L. S., Sahu, D., Singh, M., & Singh, D. (2025). In Silico Screening of Phytochemicals as Potential Inhibitors of the JAK/STATs Pathway in Psoriasis. *Assay and Drug Development Technologies*, 23(2), 100–113. <https://doi.org/10.1089/adt.2024.087>
- Raychaudhuri, S. K., Chakraborty, D., Leonardini, C. L., & Raychaudhuri, S. P. (2025). Moving beyond the Janus kinase signaling kinases in the

- pathogenesis and treatment of psoriasis and psoriatic arthritis. *Current Opinion in Immunology*, 95, 102601. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coi.2025.102601>
- Rocha, E. M. O., Hernández-Herrera, P., de Los Santos-Carmona, S. V., De León-Rodríguez, S. G., Juárez-Flores, Á., Pérez-Koldenkova, V., Castro-Escamilla, O., Muñoz-Cruz, S., Lemini-López, A., & Bonifaz, L. C. (2024). The interplay between epidermal barrier distribution, microbiota composition, and immune infiltrate defines and stratifies psoriasis patients and is associated with disease severity. *Journal of Translational Autoimmunity*, 9, 100257.
- Rognoni, E., & Walko, G. (2019). The Roles of YAP/TAZ and the Hippo Pathway in Healthy and Diseased Skin. *Cells*, 8(5), 411.
- Roy, T., Banang-Mbeumi, S., Boateng, S. T., Ruiz, E. M., Chamcheu, R.-C. N., Kang, L., King, J. A., Walker, A. L., Nagalo, B. M., Kousoulas, K. G., Esnault, S., Huang, S., & Chamcheu, J. C. (2023). Dual targeting of mTOR/IL-17A and autophagy by fisetin alleviates psoriasis-like skin inflammation [Original Research]. *Frontiers in Immunology, Volume 13 - 2022*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1075804>
- Sakurai, K., Dainichi, T., Garcet, S., Tsuchiya, S., Yamamoto, Y., Kitoh, A., Honda, T., Nomura, T., Egawa, G., Otsuka, A., Nakajima, S., Matsumoto, R., Nakano, Y., Otsuka, M., Iwakura, Y., Grinberg-Bleyer, Y., Ghosh, S., Sugimoto, Y., Guttman-Yassky, E.,...Kabashima, K. (2019). Cutaneous p38 mitogen-activated protein kinase activation triggers psoriatic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 144(4), 1036–1049. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.06.019>
- Sato, Y., Ogawa, E., & Okuyama, R. (2020). Role of Innate Immune Cells in Psoriasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6604.
- Sheng, F., Li, M., Yu, J.-M., Yang, S.-Y., Zou, L., Yang, G.-J., & Zhang, L.-L. (2025). IL-33/ST2 axis in diverse diseases: regulatory mechanisms and therapeutic potential. *Frontiers in Immunology*, 16, 1533335.
- Shi, A., Shu, Y., Hu, K., Sudesh, S., & Tu, Y. (2025). NLRP3-inflammasome Related Genes as Emerging Biomarkers and Therapeutic Targets in Psoriasis. *Inflammation*. <https://doi.org/10.1007/s10753-025-02271-y>

- Shirley, S. N., Watson, A. E., & Yusuf, N. (2024). Pathogenesis of Inflammation in Skin Disease: From Molecular Mechanisms to Pathology. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(18), 10152.
- Simancas-Racines, D., Román-Galeano, N. M., Verde, L., Annunziata, G., Marchetti, M., Matos, A., Campuzano-Donoso, M., Reytor-González, C., Muscogiuri, G., Barrea, L., & Frias-Toral, E. (2025). Targeting Cytokine Dysregulation in Psoriasis: The Role of Dietary Interventions in Modulating the Immune Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(7), 2895.
- Soe, Y. M., Sim, S. L., & Kumari, S. (2025). Innate Immune Sensors and Cell Death—Frontiers Coordinating Homeostasis, Immunity, and Inflammation in Skin. *Viruses*, 17(2), 241.
- Svedbom, A., Mallbris, L., González-Cantero, Á., Playford, M., Wu, C., Mehta, N. N., & Ståhle, M. (2025). Skin Inflammation, Systemic Inflammation, and Cardiovascular Disease in Psoriasis. *JAMA Dermatology*, 161(1), 81–86. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2024.4433>
- Tarek, M., El-Gogary, R. I., & Kamel, A. O. (2025). A new era of psoriasis treatment: Drug repurposing through the lens of nanotechnology and machine learning. *International Journal of Pharmaceutics*, 673, 125385. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125385>
- To, S.-Y., Lee, C.-H., Chen, Y.-H., Hsu, C.-L., Yang, H.-W., Jiang, Y.-S., Wen, Y.-L., Chen, I.-W., & Kao, L.-T. (2025). Psoriasis Risk With Immune Checkpoint Inhibitors. *JAMA Dermatology*, 161(1), 31–38. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2024.4129>
- Van der Horst, D., Carter-Timofte, M. E., van Grevenynghe, J., Laguet, N., Dinkova-Kostova, A. T., & Olganier, D. (2022). Regulation of innate immunity by Nrf2. *Current Opinion in Immunology*, 78, 102247.
- Varshney, P., & Saini, N. (2018). PI3K/AKT/mTOR activation and autophagy inhibition plays a key role in increased cholesterol during IL-17A mediated inflammatory response in psoriasis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1864(5, Part A), 1795–1803. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.02.003>
- Wang, S., Qiu, L., Meng, X., & Dang, N. (2018). Knock-down of filaggrin influences the mitogen-activated protein kinases signaling pathway in normal human epidermal keratinocytes. *médecine/sciences*, 34, 94–98.

- Wang, W.-M., & Jin, H.-Z. (2020). Role of Neutrophils in Psoriasis. *Journal of Immunology Research*, 2020(1), 3709749. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2020/3709749>
- Wu, P., Liu, Y., Zhai, H., Wu, X., & Liu, A. (2024). Rutin alleviates psoriasis-related inflammation in keratinocytes by regulating the JAK2/STAT3 signaling. *Skin Research and Technology*, 30(8), e70011. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/srt.70011>
- Wu, Y., & Ma, Y. (2024). CCL2-CCR2 signaling axis in obesity and metabolic diseases. *Journal of Cellular Physiology*.
- Xu, F., Xu, J., Xiong, X., & Deng, Y. (2019). Salidroside inhibits MAPK, NF- κ B, and STAT3 pathways in psoriasis-associated oxidative stress via SIRT1 activation. *Redox Report*, 24(1), 70–74. <https://doi.org/10.1080/13510002.2019.1658377>
- Yin, H., Chen, J., & Li, C. (2025). Immune Memory: A New Frontier in Treating Recurrent Inflammatory Skin Diseases. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 68(1), 31. <https://doi.org/10.1007/s12016-025-09039-0>
- Youm, Y.-H., Grant, R. W., McCabe, L. R., Albarado, D. C., Nguyen, K. Y., Ravussin, A., Pistell, P., Newman, S., Carter, R., & Laque, A. (2013). Canonical Nlrp3 inflammasome links systemic low-grade inflammation to functional decline in aging. *Cell Metabolism*, 18(4), 519–532.
- Yu, X., Wang, M., Li, L., Zhang, L., Chan, M. T. V., & Wu, W. K. K. (2020). MicroRNAs in atopic dermatitis: A systematic review. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(11), 5966–5972. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jcmm.15208>
- Zeng, Q., Zhou, T., Zhao, F., Xiong, D., He, B., Hua, Q., Lin, M., Deng, L., Sang, X., Xie, W., Chen, J., Wang, Z., Ren, L., Luo, Z., Huang, X., Liu, W., & Tang, S. (2022). p62-Nrf2 Regulatory Loop Mediates the Anti-Pulmonary Fibrosis Effect of Bergenin. *Antioxidants*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/antiox11020307>
- Zhou, X., Chen, Y., Cui, L., Shi, Y., & Guo, C. (2022). Advances in the pathogenesis of psoriasis: from keratinocyte perspective. *Cell Death & Disease*, 13(1), 81. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04523-3>
- Zhu, L., Liu, Y., Gong, Z., Zhu, B., Zhang, C., Zhang, H., Liu, W., Hui, S., Duan, S., & Bing, P. (2025). Noncoding RNAs in Atopic Dermatitis:

Insight Into Inflammation and Immune Regulation. *Dermatologic
Therapy*, 2025(1), 5568546.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1155/dth/5568546>

BÖLÜM 10

IGFBP5: YAPISI, MOLEKÜLER MEKANİZMALARI VE KANSERDEKİ ROLÜ

Doktora Öğrencisi Elif Sena ŞAHİN¹³ ve Doç. Dr. Zehra KAYA¹⁴

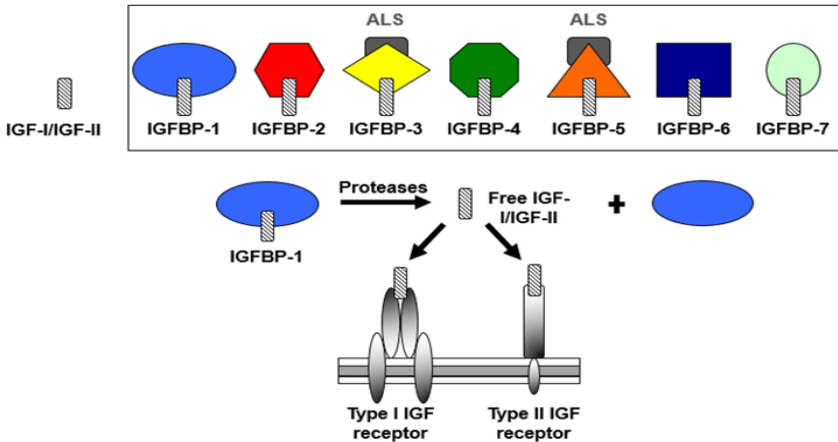
DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16936856>

¹³ Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye. Mail: senaelif51@gmail.com, Orcid ID: 0000-0001-6645-2630

¹⁴ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji AD. Van, Türkiye. zkaya@yyu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-6222-7882

GİRİŞ

Büyüme hormonundan farklı, yapısal olarak insüline benzer ancak farklı etkilere sahip insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), ilk kez kıkırdakta sülfatlaşma sürecinde tanımlanmıştır. İnsülin genel olarak glikoz ve amino asit taşınmasında artışlar, protein sentezlerinin indüksiyonu gibi anabolik biyolojik aktivitelere aracılık ederken, IGF büyüme, hücre farklılaşması, hücre hayatta kalması ve hücre fonksiyonunun sürdürülmesi gibi süreçlerde etkilidir (Hakuno ve Takahashi, 2018; Poreba ve Durzynska, 2020). Başta karaciğer olmak üzere birçok dokuda sentezlenen ve IGF reseptörleri (IGFR) ile etkileşerek mitojenik aktiviteyi tetikleyen bu peptidler iki forma sahiptir: IGF-I ve IGF-II (Ngyuen ve ark., 2013). İnsanlarda IGF sistemi, IGF'ler (IGF-I, IGF-II) ve IGFR'lerinin (IGFR-I, IGFR-II) yanı sıra büyüme hormonu (GH), insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler (IGFBP) ve proteazlar gibi çeşitli bileşenleri de içerir (Poreba ve Durzynska, 2020) (Şekil 1).



Şekil 1. IGF sistemi genel modelleme (Hada ve ark., 2019).

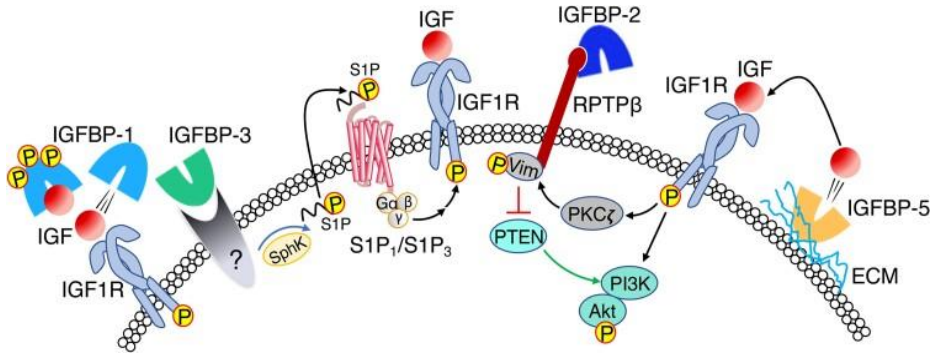
IGFBP'ler, aside duyarlı bir glikoprotein olan ALS ile etkileşerek serumda serbest halde bulunan IGF'ler ile üçlü bir kompleks oluşturur; bu kompleks, IGF'lerin endotel hücreler üzerindeki IGFR'lerine bağlanmasını modüle eder (Nguyen ve ark., 2013). IGF'lerin hedef hücreler üzerindeki etkilerini düzenleyen IGFBP ailesi yapısal olarak homolog olan altı üyeden (IGFBP 1, IGFBP 2, IGFBP 3, IGFBP 4, IGFBP 5, IGFBP 6) oluşmaktadır. Daha sonra, 1990'ların sonuna doğru IGFBP ilişkili proteinler (IGFBP-rP) olarak adlandırılan IGFBP 7-10 keşfedilmiştir (Bach, 2018). Ancak IGFBP 8-10, IGFBP 1-7 izoformları ile daha az yapısal homolojiyi paylaşır ve bu

proteinlerin biyolojik aktivasyon mekanizmaları hakkında yeterli veri bulunmadığı için bu alt sınıflandırmalar literatürde nadiren kullanılmaktadır (Bach, 2018; Water ve ark., 2022).

MAPK, PI3K/AKT/mTOR ve NF- κ B gibi temel hücre içi sinyal yollarında etkili olan IGF sistemi, bu sinyal yollarını aktive ederek kanser gelişimi ve progresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bu nedenle, IGF sinyal bileşenlerini hedefleyen tedavi yaklaşımları, antikanser stratejiler açısından umut vadeden adaylar olarak değerlendirilmektedir. Öte yandan, IGF sisteminin önemli düzenleyicileri olan IGFBP'lerin, transkripsiyonel düzenleme, apoptozun indüklenmesi ve DNA hasarının onarımı gibi nükleer düzeydeki işlevleri bu proteinlerin tümör gelişimi, progresyonu ve tedaviye karşı direnç mekanizmalarında önemli rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca, dokularda veya dolaşımda bulunan IGFBP'ler, prognostik biyobelirteçler olarak klinik açıdan potansiyel taşıyabilir (Baxter, 2014; Wu ve ark., 2025).

IGFBP ailesi içerisinde IGFBP5, türler arasında en yüksek düzeyde korunma gösteren ve en geniş biyolojik aktiviteye sahip olan proteindir. Mevcut literatürde, incelenen tüm omurgalı türlerinde varlığı saptanmış olan IGFBP5, ilk kez insan kemik dokusundan elde edilen ekstratlarda ve kültüre edilmiş insan osteosarkom hücrelerinden elde edilen koşullandırılmış ortamlarda tanımlanmıştır (Duan ve Allard, 2020).

IGFBP5'in IGF-I'e bağlanma ilgisi IGF-II'ye göre daha yüksektir. *In vitro* çalışmalar, IGFBP5'in farklı hücre tiplerinde IGF sinyallemesini hem baskılayıcı hem de güçlendirici yönde etkileyebildiğini ortaya koymuştur. IGFBP5'in IGF-IR'ye kıyasla IGF'lere daha yüksek bağlanma afinitesi, IGF'lerin reseptöre bağlanmasını ve böylece reseptör aracılı aktivasyonu engelleyebilir. Öte yandan IGFBP5'in hücre dışı matrikse (ECM) bağlanması, diğer IGFBP'lerde olduğu gibi IGF'lere bağlanma afinitesini azaltarak reseptöre yakın bölgelerde bir IGF havuzu sağlar. Bu da IGF'lerin biyolojik etkilerini potansiyel olarak artırabilir (Bach, 2015; Baxter, 2023) (Şekil 2). IGFBP5, IGF'lere bağlı ya da IGF'den bağımsız etkileriyle kanser hastalarının tedavisine yanıtta yararlı bir klinik biyobelirteç olma potansiyeline sahiptir.

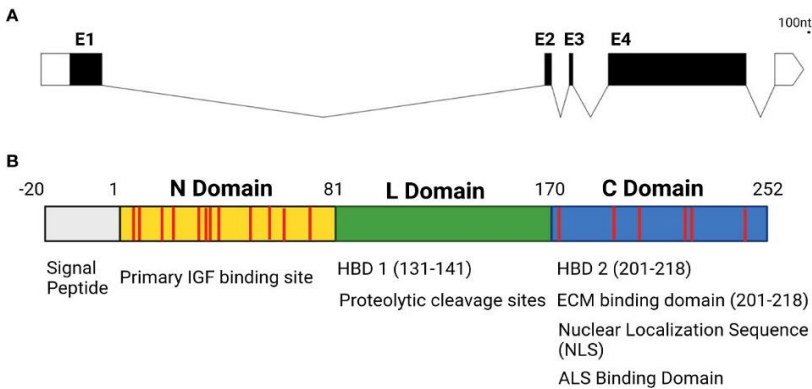


Şekil 2. IGFBP'lerin IGF1R sinyal mekanizmasındaki rolü (Baxter, 2023).

Bu bölüm, IGFBP5'in yapısal özelliklerini, IGF-bağımlı ve IGF-bağımsız moleküler mekanizmalarını ve kanser progresyonundaki rolünü inceleyerek, genin tanısal ve terapötik potansiyelini ortaya koymayı amaçlamaktadır.

1. IGFBP5 YAPISI VE MOLEKÜLER MEKANİZMALARI

IGFBP5, 2q35 (2. kromozomun uzun kolunun 3. bölgesinin 5. bandı) konumunda bulunur ve 4 ekzon bölgesi içerir. Yaklaşık 31-32 kDa moleküler ağırlığında ve 252 amino asitten (aa) oluşan olgun IGFBP5 proteini, üç ana domainden meydana gelir; sistein açısından zengin N-terminal alan (1-80. aa), proteolize duyarlı bağlayıcı alan (L-) (81-170. aa) ve tiroglobulin tip-I tekrarı içeren C-terminal alanı (171-252. aa) (Dittmer, 2022) (Şekil 3).



Şekil 3. IGFBP5'in genetik yapısı (Waters ve ark., 2022).

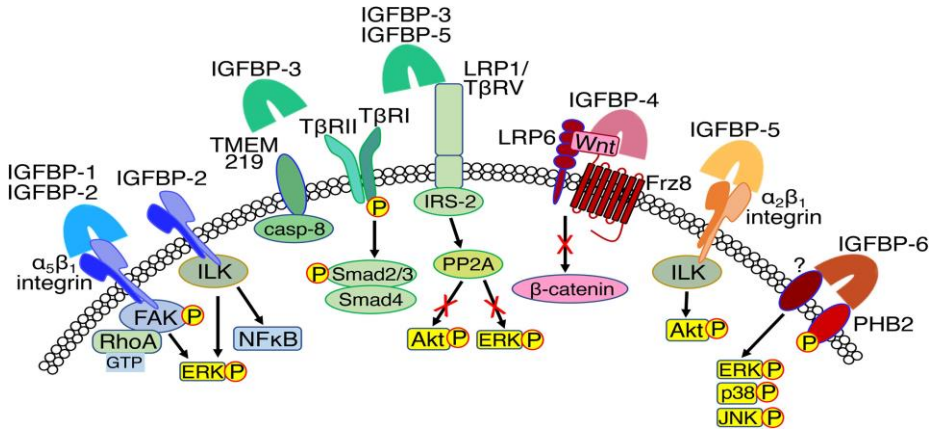
Hem N- hem de C-terminal bölgeler, disülfid bağları aracılığıyla IGF'ler ile yüksek afiniteyle bağ kurar. N-terminalde yer alan 40–92. amino asitler,

IGF1 bağlanması için kritik bir bölge olup, özellikle Val-49, Leu-70 ve Leu-73 kalıntıları bu etkileşimde rol oynar. C-terminal bölge de IGF bağlanmasına katkıda bulunur; özellikle Gly-203 ve Gln-209 kalıntıları, IGF1'le etkileşime aracılık eder (Dittmer, 2022). C-terminal bölge ayrıca özgün bir heparin bağlanma dizisi (K²⁰⁶RKQCK²¹¹) içerir ve bu motif, IGFBP-5'in hücre dışı matrise bağlanmasını ve hücre yüzeyinde lokalize olmasını sağlar. Bu bağlanma sadece ECM ile sınırlı kalmaz; aynı zamanda protein, bazı hücre reseptörlere ve taşıyıcı proteinlere de bağlanabilir. Örneğin, C-terminal domainin, importin-β aracılığıyla nükleer taşınma işlevi de bulunmaktadır (Bach, 2015). Bağlantı (L) alanı, proteolitik enzimlere, fosforilasyona ve O-glikozilasyona açık olması nedeniyle post-translasyonel modifikasyonlara duyarlıdır (Duan ve Allard, 2020). IGFBP5'in L-domain bölgesi, hamilelikle ilişkili plazma protein-A (PAPP-A), MMP-2, trombin ve PSA gibi çeşitli proteazlar tarafından hedef alınarak proteolitik olarak parçalanabilir. Bu parçalanma, IGF'nin bağlı olduğu IGFBP5'ten serbest bırakılmasını sağlayarak IGF sinyal yolağının aktive edilmesini mümkün kılar. C-terminalin proteolizi sonucunda oluşan 20–24 kDa'lık fragmanların bilinen bir biyolojik işlevi olmamakla birlikte, özellikle heparin bağlanma bölgelerinin aktifleşmesi gibi sekonder etkileri olabilir. Örneğin, L-domain'deki heparin bağlanma bölgesi (HBD), yalnızca C-terminal kesildikten sonra aktif hale gelir ve bu durum ECM ile etkileşimi mümkün kılar. Bu süreç, IGFBP5'in çevresel koşullara duyarlı olarak IGF sinyallemesini dinamik biçimde düzenlediğini gösterir (Dittmer, 2022).

Transgenik çalışmalar ve gen susturma çalışmaları, IGFBP5'in IGF'e bağlı olarak hücre yaşamını sürdürmede kritik rol oynadığını ortaya koymuştur. Örneğin, meme bezlerinde doğum sonrası doku gerilemesi sırasında IGFBP5 artışı, IGF sinyalini baskılayarak apoptozu arttırırken; kas gelişiminde IGF2 ile birlikte hücre farklılaşmasını yönlendirir. Zebra balığı ve insan hücrelerinde de IGFBP5'in bölgesel ekspresyonunun, özellikle stres koşullarında IGF sinyallemesini güçlendirerek adaptif hücre yanıtlarını desteklediği gösterilmiştir (Duan ve Allard, 2020).

IGFBP5'in işlevleri yalnızca IGF ile olan etkileşimleriyle sınırlı değildir. Yapısında bulunan nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) sayesinde çekirdeğe taşınabilir ve burada IGF'den bağımsız işlevler gösterebilir. Ayrıca hem L- hem de C-terminal bölgelerde bulunan heparin bağlanma motifleri, IGFBP5'in ECM bileşenleriyle etkileşimini mümkün kılar. Bu etkileşimler, özellikle fibroblast proliferasyonu, vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC) ve renal mezanjiyal hücrelerin göçü gibi süreçlerde önemli rol oynar. Bu hücresel tepkiler, C-

terminal HBD'nin $\alpha 6\beta 1$ integrin etkileşimleri aracılığıyla gerçekleşir (Waters ve ark., 2022). Ayrıca, IGFBP5'in $\alpha 2\beta 1$ integrin ile etkileşerek adezyonu artırdığı ve Cdc42, ILK ve Akt yollarını inhibe ederek migrasyonu baskıladığı ortaya konmuştur (Baxter, 2023; Rojas ve ark., 2024) (Şekil 4).



Şekil 4. Hücre yüzeyinde IGF1R'den bağımsız IGFBP sinyali (Baxter, 2023).

IGFBP5, tümör nekroz faktörü (TNF) sinyal yolunu modüle ederek NF- κ B aktivitesini ve buna bağlı hücre sağkalımını baskılamakta; bu yolla pro-apoptotik sinyalleri güçlendirmektedir. Metabolik düzeyde ise, özellikle yüksek yağlı diyet veya serbest yağ asidi yüküne bağlı olarak azalan IGFBP5 düzeylerinin insülin direnci (IR) ve lipid birikimine katkı sağladığı, IGFBP5 takviyesinin ise AMPK aktivasyonu ve endoplazmik retikulum (ER) stresinin baskılanması yoluyla bu bozuklukları geriye çevirebildiği anlaşılmıştır. Bu çok katmanlı etkileriyle IGFBP5, hem hücre dışı hem de hücre içi ortamlarda çeşitli biyolojik süreçleri düzenleyen önemli bir düzenleyici konumundadır (Baxter, 2023).

IGFBP5, hücrelerin çoğalması ve erken yaşlanma mekanizmalarında kilit bir rol üstlenmektedir. Pıhtılaşma faktörü Xa (FXa) ve plazmin gibi enzimlerin aktive ettiği PAR-1 ve PAR-2 reseptörleri, hem endotel hem de düz kas hücrelerinde IGFBP5'in üretimini artırmaktadır. Özellikle düz kas hücrelerinde, FXa'nın tetiklediği sinyaller erken büyüme yanıtı 1 üzerinden IGFBP5 ve p53 yollarını harekete geçirerek hücrelerin yaşlanma sürecini hızlandırmakta ve buna bağlı olarak inflammatuar moleküllerin salgılanmasını

yükseltmektedir. Bu mekanizma, doku yaşlanması ve inflamasyon arasındaki bağlantıyı ortaya koymaktadır (Sanada ve ark., 2018).

2. IGFBP5'İN KANSERDEKİ ROLÜ

Kanserin ayırt edici özelliklerinden olan kontrolsüz hücre çoğalması ve apoptoza direnç, sıklıkla gelişimsel süreçlerde görev alan genlerin düzenlenmesinde meydana gelen bozukluklardan kaynaklanır; bu genlerden biri olan IGFBP5'in anormal ekspresyonu, hücresel hiperplaziyi kolaylaştırabilir (Waters ve ark., 2022). IGFBP5, farklı kanser türlerinde hücre çoğalmasını baskılayıcı ya da destekleyici değişken etkilere sahiptir. Örneğin, bazı çalışmalarda meme kanserinde tümör büyümesini baskıladığı veya osteosarkomda metastazı engellediği raporlanırken, başka veriler IGFBP5'in tümör gelişimini desteklediğini ve kötü prognozla ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur (Chen ve ark., 2020).

Prostat kanserinde IGFBP5'in aşırı ekspresyonunun, PI3K-AKT sinyal yolunu baskılayarak radyasyonla birlikte hücre yaşam oranını düşürdüğü ve hücre döngüsünde G2/M fazında duraksamaya yol açtığı gözlemlenmiştir. G2/M fazının radyasyona duyarlı olması nedeniyle, IGFBP5'in bu etkisi tedavi etkinliğini artıran kritik bir unsur olarak öne çıkmaktadır (Chen ve ark., 2020). Öte yandan kolorektal kanser doku örneklerinde IGFBP5'in aşırı ekspresyonu GNF-2 ve TGX221 gibi bazı hedefe yönelik ajanlara karşı direnç gelişimiyle ilişkilendirilmiştir ve genel sağkalımı olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Ayrıca IGFBP5'in, IGF1, IGF2, SPP1, LTBP1 ve FAM20C gibi genlerin DNA metilasyon durumlarını etkileyerek PI3K-AKT sinyal yolunu dolaylı yoldan düzenleyebileceği ortaya konmuştur (Deng ve ark., 2022).

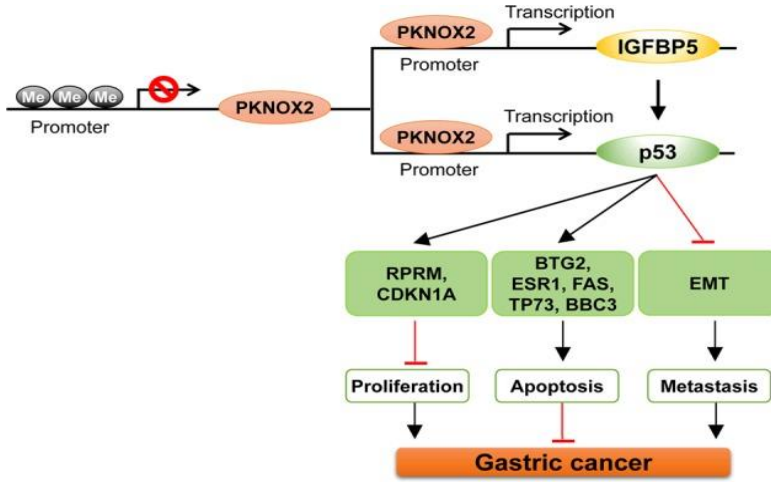
IGFBP5, merkezi sinir sistemi tümörlerinin en agresif ve ölümcül formu olan glioblastoma (GBM) üzerinde çok yönlü ve güçlü bir onkogenik etkiye sahiptir. Bu etkiyi GBM'nin agresifliğinin temel nedenlerinden biri olan glioblastoma kök hücrelerinin (GSC) invazyonunu artırarak gerçekleştirir. IGFBP5, bir reseptör tirozin kinaz olan ROR1'e bağlanarak ROR1/HER2 heterodimer oluşumunu teşvik eder ve bu kompleks, protoonkogenik etkiye sahip CREB transkripsiyon faktörü aracılığıyla GSC'lerin invazyonunu ve tümör oluşumunu destekler. Ayrıca IGFBP5'in, Hippo-YAP ve epitel-mezenkimal geçiş (EMT) sinyal yollarını aktive ederek glioma hücrelerinin proliferasyonunu desteklediği ve immün kaçışla ilişkili PD-L1 ve CXCR4 gibi moleküllerin ekspresyonunu artırdığı belirlenmiştir (Lin ve ark., 2023; Lin ve ark., 2024).

IGFBP5, normal meme dokusunda IGF'in mitojenik etkisini baskılayıcı ve apoptozu teşvik edici etkiye sahiptir. Meme kanserinde ise tümör büyümesini destekleyici ya da baskılayıcı çift yönlü roller üstlenen bu protein, hücreler arası farklı reseptör profillerine bağlı olarak değişken etkiler gösterebilir; örneğin, MCF-7 hücrelerinde (ER/PR pozitif) IGFBP5 göçü indüklemeyen, üçlü negatif meme kanseri hücresi olan MDA-MB-231'de hücre migrasyonunu teşvik etmektedir. MDA-MB-435 hücrelerinde ise nükleer IGFBP5 ekspresyonu, hücre büyümesi ve hareketliliğin azalmasıyla ilişkilidir (Rojas ve ark., 2024) IGFBP5'in ilaç yanıtı üzerindeki etkisi de ilaca ve bağlama göre değişir. Örneğin anti-östrojenlere (tamoksifen, fulvestrant) karşı direnç gelişimini engelleyebilir. Bunu, östrojen reseptör α (ER α)'nın Ser-118 pozisyonundaki fosforilasyonunu baskılayarak ve Bcl-3 gibi dirençle ilişkili proteinleri düşürerek yapar. Ancak aynı protein, PI3K inhibitörleri veya IGF1R hedefli tedavilere karşı direnç gelişimini teşvik edebilir (Dittmer, 2022).

Hücrede, p53 ile ilişkili nükleolar stres yanıtı, ribozomal DNA sentezi ve enerji metabolizması gibi süreçlerde görevli bir nükleolar transkripsiyonel düzenleyici olan MYB bağlayıcı protein 1a (MYBBP1A)'nın hepatoselüler karsinom (HCC) dokularında aşırı eksprese olduğu ve baskılandığında IGFBP5 ekspresyonunu belirgin şekilde artırdığı belirlenmiştir. MYBBP1A, IGFBP5'in salgılanmasını DNA metilasyonu yoluyla baskılayarak IGF1'in IGF1R'ye bağlanma verimliliğini artırır. Bu bağlanma, PI3K/AKT yolunun aktive olmasını sağlar ve HCC hücrelerinin çoğalmasında ve göçünü teşvik eder (Weng ve ark., 2019).

Mide kanserinde IGFBP5'in ekspresyonu ve işleyiş mekanizmalarına dair araştırmalar henüz oldukça sınırlıdır. Yapılan birkaç çalışma, IGFBP5'in mRNA düzeylerinin yüksek olmasının, mide kanseri hastalarında genel sağkalım oranlarının düşmesiyle bağlantılı olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bazı veri tabanlarından elde edilen bulgular, IGFBP5'in mide kanseri dokularında farklı ekspresyon profiline sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Liu ve ark., 2020). Başka bir çalışmada ise PKNOX2 (PBX/Düğümlü 1 Homebox 2) adlı bir transkripsiyon faktörünün, mide kanserinde promotör bölgesinin hipermetilasyonu nedeniyle ifade düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir. PKNOX2'nin tümör baskılayıcı genlerden biri olabileceği varsayımıyla yapılan incelemelerde, bu faktörün p53 ve IGFBP5 ekspresyon profilleriyle ilişkisi araştırılmıştır. Sonuçlar, PKNOX2'nin mide kanserinde IGFBP5'in ekspresyonunu önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Böylelikle, PKNOX2'nin tümör baskılayıcı fonksiyonunun IGFBP5 aracılığıyla gerçekleştiği anlaşılmıştır. Ayrıca, PKNOX2'ni p53'ün ifadesini de teşvik

ettiği, IGFBP5'in baskılanmasının ise p53 ekspresyonunda azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. Bu durum, IGFBP5'in p53 aktivitesinin artırılmasında önemli bir rol üstlendiğine işaret etmektedir. Bu moleküler etkileşimler, hücre proliferasyonu ve metastazı engelleyen, aynı zamanda apoptozu tetikleyen mekanizmalarla mide kanseri gelişimini baskılamaktadır (Şekil 5) (Zhang ve ark., 2019).



Şekil 5. Mide kanserinde PKNOX2-IGFBP5-p53 ilişkili mekanizma (Zhang ve ark., 2019).

SONUÇ

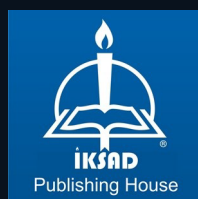
IGFBP5 hem IGF-bağımlı hem de IGF'den bağımsız mekanizmalarla hücresel proliferasyon, apoptoz, invazyon ve yaşlanma gibi temel biyolojik süreçlerde kritik bir düzenleyici rol üstlenmektedir. Yapısal özellikleri bu proteinin sinyal yolları üzerindeki etkilerini dinamik biçimde şekillendirmekte; böylece onu kanser biyolojisinde çift yönlü etki gösterebilen bir molekül haline getirmektedir. Farklı tümör tiplerinde prognoz, tedavi yanıtı ve ilaç direnci ile ilişkili bulunması, IGFBP5'in potansiyel bir biyobelirteç ve terapötik hedef olarak önemini artırmaktadır. Ancak, kanser türleri arasında gözlenen değişken etkiler, IGFBP5'in biyolojik işlevlerinin daha iyi anlaşılması ve klinik uygulamalara yansıtılabilmesi için kapsamlı çalışmaların gerekliliğini ortaya koymaktadır.

KAYNAKÇA

- Bach, LA. (2015). Insulin-like growth factor binding proteins 4-6. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism xxx* 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.06.002>.
- Bach, LA. (2018). IGF-binding proteins. *Journal of Molecular Endocrinology* 61 T11–T28. <https://doi.org/10.1530/JME-17-0254>.
- Baxter, RC. (2014). IGF binding proteins in cancer: mechanistic and clinical insights. *Nat Rev Cancer* 14(5) 329-41. doi: 10.1038/nrc3720.
- Baxter, RC. (2023). Signaling Pathways of the Insulin-like Growth Factor Binding Proteins. *Endocr Rev* 15 44(5) 753-778. doi: 10.1210/endrev/bnad008.
- Chen, X., Yu, Q., Pan, H., Li, P., Wang, X., & Fu S. (2020). Overexpression of IGFBP5 Enhances Radiosensitivity Through PI3K-AKT Pathway in Prostate Cancer. *Cancer Management and Research* 12 5409–5418. doi.org/10.2147/CMAR.S257701.
- Deng, Y., Yang, X., Hua, H., & Zhang C. (2022). IGFBP5 is Upregulated and Associated with Poor Prognosis in Colorectal Cancer. *International Journal of General Medicine*. 15 6485–6497. doi.org/10.2147/IJGM.S370576.
- Dittmer, J. (2022). Biological effects and regulation of IGFBP5 in breast cancer. *Front. Endocrinol.* 13 983793. doi: 10.3389/fendo.2022.983793.
- Duan, C., Allard, JB. (2020). Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-5 in Physiology and Disease. *Front. Endocrinol* 11 100. doi: 10.3389/fendo.2020.00100.
- Hada, M., Oh, H., Pfeiffer, RM., Falk, RT., Fan, S., Mullooly, M., Pollak, M., Geller, B., Vacek, PM., Weaver, D., Shepherd, J., Wang, J., Fan, B., Mahmoudzadeh, AP., Malkov, S., Herschorn, S., Brinton, LA., Sherman, ME., & Gierach, GL. (2019). Relationship of circulating insulin-like growth factor-I and binding proteins 1–7 with mammographic density among women undergoing image-guided diagnostic breast biopsy. Hada et al. *Breast Cancer Research* 21 81. <https://doi.org/10.1186/s13058-019-1162-8>.
- Hakuno, F., Takahashi, SI. (2018). IGF1 receptor signaling pathways. *Journal of Molecular Endocrinology* 61 T69–T86. <https://doi.org/10.1530/JME-17-0311>.
- Lin, J., Huang, G., Zeng, Q., Zhang, R., Lin, Y., Li, Y., Huang, B., & Pan H. (2024). IGFBP5, as a Prognostic Indicator Promotes Tumor Progression

- and Correlates with Immune Microenvironment in Glioma. *Journal of Cancer* 15(1) 232-250. doi: 10.7150/jca.87733.
- Lin, W., Niu, R., Park, SM., Zou, Y., Kim, SS., Xia, X., Xing, S., Yang, Q., Sun, X., Yuan, Z., Zhou, S., Zhang, D., Kwon, HJ., Park, S., Kim, CI., Koo, H., Liu, Y., Wu, H., Zheng, M., Yoo, H., Shi, B., Park, JB., & Yin J. (2023). IGFBP5 is an ROR1 ligand promoting glioblastoma invasion via ROR1/HER2-CREB signaling axis. *Nature Communications* 14 1578. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37306-1>.
- Liu, YX., Xu, YF., Xiao, F., Zhang, JF., Wang, YQ., Yao, YW., & Yang, JW. (2020). Comprehensive Analysis of a circRNA-miRNA-mRNA Network to Reveal Potential Inflammation-Related Targets for Gastric Adenocarcinoma. *Mediators of Inflammation* 15. <https://doi.org/10.1155/2020/9435608>.
- Nguyen, DV., Calzi, SL., Shaw, LC., Kielczewski, JL., Korah, HE., & Grant, MB. (2013). An ocular view of the IGF-IGFBP system. *Growth Horm IGF Res* 23(3). doi:10.1016/j.ghir.2013.03.001.
- Poreba, E., Durzynska, J. (2020). Nuclear localization and actions of the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) system components: Transcriptional regulation and DNA damage response. *Mutat Res Rev Mutat Res* 784 108307. doi: 10.1016/j.mrrev.2020.108307.
- Rojas, KR., Reynosa, PC., Alamilla, PT., Ochoa, NR., & Salazar, EP. (2024). A novel role of IGFBP5 in the migration, invasion and spheroids formation induced by IGF-I and insulin in MCF-7 breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 208(1) 79-88. doi: 10.1007/s10549-024-07397-5.
- Sanada, F., Taniyama, Y., Muratsu, J., Otsu, R., Shimizu, H., Rakugi, H., & Morishita, R. (2018). IGF Binding Protein-5 Induces Cell Senescence. *Front Endocrinol (Lausanne)* 9 53. doi:10.3389/fendo.2018.00053.
- Waters, JA., Urbano, I., Robinson M., & House, CD. (2022). Insulin-like growth factor binding protein 5: Diverse roles in cancer. *Front. Oncol.* 12 1052457. doi: 10.3389/fonc.2022.1052457.
- Weng, X., Wu, J., Lv, Z., Peng, C., Chen, J., Zhang, C., He, B., Tong, R., Hu, W., Ding, C., Cao, L., Chen, D., Wu, J., & Zheng, S. (2019). Targeting Mybbp1a suppresses HCC progression via inhibiting IGF1/AKT pathway by CpG islands hypo-methylation dependent promotion of IGFBP5. *EBioMedicine* 44 225–236. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.05.029>.

- Wu, D., Dong, S., & Zhou, W. (2025). Insulin-like growth factor in cancer: New perspectives (Review). *Mol Med Rep* 32(2) 209. doi: 10.3892/mmr.2025.13574.
- Zhang, L., Li, W., Cao, L., Xu, J., Qian, Y., Chen, H., Zhang, Y., Kang, W., Gou, H., Woong, CC., & Yu, J. (2019). PKNOX2 suppresses gastric cancer through the transcriptional activation of IGFBP5 and p53. *Oncogene* 38(23) 4590–4604. doi:10.1038/s41388-019-0743-4.



ISBN: 978-625-378-296-2