

ANTİOKSİDAN TEMELLİ KANSER ARAŞTIRMALARI:

Hücre Kültürü Modelleri,
Moleküler Mekanizmalar
ve Yapay Zekâ Entegrasyonu

EDİTÖR

Dr. Öğr. Üyesi Gamze Sevri EKREN AŞICI



**ANTIOKSİDAN TEMELLİ KANSER ARAŞTIRMALARI:
Hücre Kültürü Modelleri, Moleküler Mekanizmalar ve Yapay
Zekâ Entegrasyonu**

EDİTÖR

Dr. Öğr. Üyesi Gamze Sevri EKREN AŞICI

YAZARLAR

Bilgehan AKAR

Büşra GÜLBENLİ TÜRKOĞLU

Dilek CANLAR AKAR

Dilek Şeyma KIZILCAN

Elif KÖKSAL

Gamze Sevri EKREN AŞICI

Hakan TEKELİ

Hatice ÖZDEMİR

Melike ALTINTAŞ KORKMAZ

Mürüvvet ABBAK

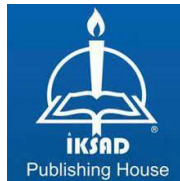
Salih AVCI

Senem AKKOC

Serhat ÇİMENDERÖĞLU

Sevgi KUNDU

Ulas Evren ARIN



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: 978-625-378-326-6

Cover Design: İbrahim KAYA

Cover image was created by GEMINI.

September / 2025

Ankara / Türkiye

Size: 16x24cm

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....1

BÖLÜM 1

KANSERDE BİYOLOJİK ETKİLER VE MOLEKÜLER MEKANİZMALAR

Salih AVCI, Senem AKKOC.....3

BÖLÜM 2

KANSER HÜCRE HATLARINDA ANTİOKSİDAN UYGULAMALARI

Dilek Şeyma KIZILCAN, Senem AKKOC, Ulas Evren ARIN.....17

BÖLÜM 3

ANTİOKSİDANLARIN UYGULAMA YÖNTEMLERİ VE DENEYSEL TASARIM

Serhat ÇİMENDERÖĞLU.....33

BÖLÜM 4

DOĞAL VE SENTETİK ANTİOKSİDANLARIN KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Elif KÖKSAL, Senem AKKOC.....45

BÖLÜM 5

HÜCRESEL ANALİZ YÖNTEMLERİ: SİTOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES VE HÜCRE ÖLÜMÜ MEKANİZMALAR

Büşra GÜLBENLİ TÜRKOĞLU.....117

BÖLÜM 6

ANTİOKSİDANLAR VE KEMOTERAPİ ETKİLEŞİMLERİ

Sevgi KUNDU, Senem AKKOC.....143

BÖLÜM 7

KANSER KÖK HÜCRELERİNİN PROLİFERASYON VE DİFERANSİYASYON DİNAMİKLERİ

Hatice ÖZDEMİR, Ulas Evren ARIN.....169

BÖLÜM 8

KANSERDE HİSTOPATOLOJİK TANI VE KANSER KÖK HÜCRELERİ

Melike ALTINTAŞ KORKMAZ.....183

BÖLÜM 9

3 BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRÜ VE ANTİOKSİDAN

Bilgehan AKAR, Gamze Sevri EKREN AŞICI,

Dilek CANLAR AKAR.....215

BÖLÜM 10

YAPAY ZEKÂ DESTEKLİ AKILLI ANTİOKSİDAN STRATEJİLER

Hakan TEKELİ , Mürüvvet ABBAK.....247

Önsöz

Günümüzde kanser, biyomedikal araştırmaların en karmaşık ve çok yönlü alanlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Moleküler düzeydeki karmaşıklığı, heterojen hücre yapıları ve tedaviye karşı gelişen direnç mekanizmaları nedeniyle kanserle mücadelede yenilikçi ve çok disiplinli yaklaşımlar her zamankinden daha büyük bir önem kazanmıştır. Bu bağlamda, antioksidanların kanser hücreleri üzerindeki etkileri hem temel bilim hem de klinik araştırmalar açısından dikkatle incelenmektedir.

Bu kitap, antioksidan temelli kanser araştırmalarını, 3 boyutlu hücre kültürü modelleri, oksidatif stres ve hücre ölümü mekanizmaları, doğal ve sentetik antioksidanların biyolojik etkileri, kanser kök hücrelerinin davranışları ve yapay zekâ destekli akıllı antioksidan stratejiler ekseninde ele alarak literatüre kapsamlı ve güncel bir katkı sunmayı hedeflemektedir.

Kitabın hazırlanmasındaki temel motivasyon, antioksidanların sadece serbest radikal temizleyicileri olarak değil, aynı zamanda tümör mikroçevresi, hücre içi sinyal iletim yolları ve gen ekspresyonu üzerinde düzenleyici etkileri bağlamında değerlendirilmesidir. Bu çerçevede, antioksidanların kemoterapi ile etkileşimleri, kanser kök hücrelerinin proliferasyon ve diferansiyasyon dinamikleri, histopatolojik değerlendirme yöntemleri ve hücresel analiz teknikleri detaylı bir şekilde ele alınmıştır.

Ayrıca, son yıllarda biyomedikal araştırmalarda giderek daha fazla yer bulan yapay zekâ teknolojilerinin antioksidan araştırmalarına entegrasyonu, bu kitabın özgün yönlerinden biridir. Veri analizi, modelleme, deneysel tasarım optimizasyonu ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejileri geliştirme gibi alanlarda yapay zekânın sunduğu olanaklar, kanser araştırmalarında çığır açıcı potansiyel taşımaktadır.

Bu kitap, araştırmacılar, akademisyenler, lisansüstü öğrenciler ve ilgili alanlarda çalışan profesyoneller için hem bir kaynak kitap hem de ileri düzey bir başvuru eseri olarak tasarlanmıştır. Kitabın hazırlanmasında katkı sunan tüm yazarlar, kendi alanlarında derin bilgi birikimine sahip araştırmacılar olup, her bölümde özgün içerik ve bilimsel derinlik sunmayı amaçlamışlardır.

Bilimin ışığında, disiplinlerarası yaklaşımlarla kanserle mücadeleye katkı sağlamayı hedefleyen bu çalışmanın, alan yazınına değerli bir katkı sunması dileğiyle...

Dr. Öğr. Üyesi Gamze Sevrî EKREN AŞICI¹

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye E-mail: gamze.ekren@adu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-9625-7956

BÖLÜM 1

KANSERDE BİYOLOJİK ETKİLER VE MOLEKÜLER MEKANİZMALAR

Salih AVCI^{1*}, Senem AKKOC^{2**}

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213085>

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Isparta, Türkiye, orcid id: 0009-0008-6600-0931
e-mail: salihavci3564@gmail.com

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Isparta, Türkiye, orcid id: 0000-0002-1260-9425

^{**}Bahçeşehir Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye

GİRİŞ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ve tümör oluşmasıyla tanımlanan kompleks bir hastalıktır (Hanahan & Weinberg, 2000). Normal hücrelerde, çevresel sinyallere bağlı olarak proliferasyon düzenlenirken, kanser hücreleri bu kontrol mekanizmalarını aşarak sınırsız bir şekilde çoğalma yeteneği kazanır (Çakır, 2012). Sağlıklı hücrelerde proliferasyon, G1, S, G2 ve M fazlarından oluşan hücre döngüsü ile sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir, siklinler ve siklin-bağımlı kinazlar (CDK'ler) bu fazların ilerlemesini düzenler. Kanser hücrelerinde, bu kontrol sistemleri bozulur ve hücreler sürekli çoğalma sinyallerine maruz kalarak döngüye girer (Vogelstein & Kinzler, 2004). RAS-MAPK yolu, hücre zarındaki büyüme faktörü reseptörlerinden gelen sinyalleri çekirdeğe ileterek proliferasyonu teşvik eder (Downward, 2003). Kanser hücrelerinde RAS proteini mutasyonlar nedeniyle sürekli aktif hale gelir ve mitojenik sinyaller hücreye sürekli iletilir. Antioksidanlar, özellikle statinler gibi bileşikler, RAS proteininin prenilasyonunu engelleyerek hücre zarına tutunmasını önler; bu sayede RAS-MAPK aktivitesi azalır ve proliferasyon baskılanır (Trachootham vd., 2009). PI3K/AKT/mTOR yolu, hücre büyümesi, metabolizma ve hayatta kalmayı düzenleyen kritik bir mekanizmadır (Vivanco & Sawyers, 2002). Kanser hücrelerinde PTEN kaybı veya AKT/mTOR aktivasyonu, hücreleri sürekli büyüme sinyalleriyle besler. Kurkumin, apigenin ve fisetin gibi doğal antioksidanlar, AKT ve mTOR proteinlerinin fosforilasyonunu azaltarak bu yolu inhibe eder ve hücre döngüsünün G1 fazında durmasına yol açar (Huang, 2013). Wnt/ β -katenin yolu, hücre kaderi, proliferasyon ve farklılaşmayı düzenler. Normalde β -katenin, yıkım kompleksi tarafından parçalanır, Wnt sinyali geldiğinde bu kompleks inhibe edilir ve β -katenin çekirdeğe geçerek proliferasyonu teşvik eden genlerin (örneğin c-myc, siklin D1) ekspresyonunu artırır (Clevers, 2006). Kanser hücrelerinde APC mutasyonları gibi genetik değişiklikler, β -katenin'in sürekli birikmesine ve çekirdeğe geçmesine yol açar. Kurkumin ve resveratrol gibi antioksidanlar, β -katenin ve hedef genlerinin ekspresyonunu azaltarak bu yolu baskılar, hücre döngüsünü durdurur ve apoptozu tetikler (Huang, 2013). Apoptozun moleküler temellerinin anlaşılması kanser araştırmalarında önemli bir hedeftir (Bilici vd., 2025). Antioksidanlar ayrıca, reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize ederek hücrelerdeki oksidatif stresi azaltır. ROS, DNA hasarına, gen mutasyonlarına

ve hücre döngüsü regülasyon bozukluklarına yol açarak proliferasyonu artırabilir (Reuter vd., 2010). Antioksidanlar, bu mekanizmayı engelleyerek hem doğrudan hem de sinyal yolları aracılığıyla hücre proliferasyonunu kontrol altında tutar. Çeşitli çalışmalarda, flavonoidlerin ve polifenollerin kanser hücrelerinde proliferasyonu azaltıcı etkileri gözlemlenmiştir (Li vd., 2020). Ancak etkiler, kullanılan antioksidanın türüne, dozuna ve hücre tipine bağlı olarak değişiklik gösterir, düşük dozlar proliferasyonu destekleyebilirken, yüksek dozlar apoptotik mekanizmaları aktive eder ve proliferasyonu baskılar (Redza-Dutordoir & Averill-Bates, 2016).

Apoptoz ve nekrozun indüklenmesi veya inhibisyonu

Kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalması, genetik mutasyonlar ve hücresel sinyal yollarındaki bozukluklardan kaynaklanır (Hanahan & Weinberg, 2011). Normal koşullarda hasarlı hücreler apoptoz ile elimine edilirken, kanser hücrelerinde bu mekanizma sıklıkla baskılanır (Elmore, 2007). Önemli bir küresel sağlık sorunu olan kanserle mücadelede yeni hedefli ve düşük toksisiteye sahip terapötik ajanların geliştirilmesi hayati önem taşımaktadır (Bilici ve Akkoç, 2025). Antioksidanlar, uzun yıllar yalnızca reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyici moleküller olarak değerlendirilmiş olsa da, günümüzde proliferasyon karşıtı etkilerinin ROS nötralizasyonunun ötesinde apoptotik ve nekrotik yolları düzenlemeleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Trachootham vd., 2009). Bu sebeple, antioksidanların kanser hücreleri üzerindeki karmaşık rolünü tam olarak değerlendirmek için, apoptoz ve nekroz mekanizmalarına odaklanmak elzemdir.

Apoptoz, enerjiye bağımlı bir süreç olup hem içsel (mitokondrial) hem de dışsal (ölüm reseptörü) yollarla düzenlenir (Elmore, 2007). Mitokondrial yol, BCL-2 ailesi proteinlerince kontrol edilmektedir. Anti-apoptotik BCL-2 ve BCL-XL proteinleri mitokondri dışı membranını stabilize ederek sitokrom c salınımını engellerken, pro-apoptotik BAX ve BAK bu geçirgenliği artırır (Cory & Adams, 2002). Kanser hücrelerinde BCL-2 aşırı ekspresyonu apoptoza direnç oluşturur (Reed, 1998). Resveratrol, BAX/BCL-2 oranını pro-apoptotik yönde değiştirerek sitokrom c salınımını tetikler ve kaspaz-9 ile kaspaz-3 aktivasyonunu artırarak hücre ölümünü indükler (Varoni vd., 2016). Benzer şekilde, kurkuminin PI3K/AKT yolunu baskılayarak BAX ekspresyonunu

artırdığı ve BCL-2'yi azalttığı, böylece kaspaz-3 aktivasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir (Bar-Sela vd., 2010).

Dışsal apoptotik yolak ise Fas ve TRAIL reseptörlerinin ligandlarla etkileşimiyle aktive olur. Bu etkileşim DISC kompleksinin oluşmasına, kaspaz-8 ve ardından kaspaz-3 aktivasyonuna yol açar (Ashkenazi, 2002). Flavonoidler ve polifenoller, bu reseptörlerin ekspresyonunu artırarak dışsal yol üzerinden apoptozu indükler (Li et al., 2020). Ek olarak, antioksidanların tümör baskılayıcı p53 proteininin aktivitesini güçlendirerek DNA hasarı yanıtı sırasında hem apoptozu hem de hücre döngüsü duraklamasını teşvik ettiği gösterilmiştir (Vousden & Prives, 2009).

Bunun yanında, antioksidanların nekroz ve nekroptoz gibi kontrolsüz veya programlanmış nekrotik ölüm süreçlerini de etkilediği ortaya konmuştur. Geleneksel nekroz hücre şişmesi, membran bütünlüğünün bozulması ve içerik salınımıyla karakterizedir (Kroemer vd., 2009). Nekroptoz ise RIPK1, RIPK3 ve MLKL proteinleri tarafından düzenlenen, programlanmış bir nekrotik hücre ölümüdür (Pasparakis & Vandenabeele, 2015). Yüksek doz antioksidanların hücre içi ROS seviyelerini aşırı artırarak antioksidan savunmayı tükettiği ve böylece nekroptozu tetiklediği bildirilmiştir (Redza-Dutordoir & Averill-Bates, 2016). Örneğin, askorbik asidin RIPK1/RIPK3/MLKL eksenini aktive ederek kanser hücrelerinde nekroptozu indüklediği gösterilmiştir (Ferrada vd., 2019). Benzer şekilde shikonin türevleri de RIPK1/RIPK3 bağımlı nekroptoz yoluyla antitümör etki göstermektedir (Lin vd., 2023). Bu mekanizma özellikle apoptoza dirençli tümör hücrelerinde alternatif bir ölüm yolu sağlayarak terapötik değer taşımaktadır. Bu sebeple, antioksidanların kanser hücrelerinde proliferasyon karşıtı etkileri yalnızca ROS nötralizasyonuna indirgenemez. Bu bileşikler hem içsel hem de dışsal apoptotik yolları aktive ederek programlanmış hücre ölümünü tetikler, hem de nekroptoz gibi alternatif mekanizmalar üzerinden kontrolsüz hücre çoğalmasını baskılar. Resveratrol ve kurkuminin BAX/BCL-2 oranını değiştirerek mitokondrial apoptozu başlatması, flavonoidlerin ölüm reseptörlerini aktive etmesi ve askorbik asidin nekroptozu indüklemesi, bu mekanizmaların çeşitliliğini göstermektedir (Kopustinskiene vd., 2020). Bununla birlikte, etkilerin antioksidan türüne, dozuna, tümörün genetik yapısına ve mikro çevresine bağlı olarak değişkenlik göstermesi, klinik uygulamalarda titiz bir değerlendirmeyi zorunlu kılmaktadır. Antioksidanların apoptoz ve nekroptoz yollarını eşzamanlı hedefleyebilmesi,

gelecekte dirençli kanser türlerinin tedavisinde umut verici bir strateji oluşturmaktadır.

Hücre siklusu düzenlemeleri

Antioksidanların kanser hücrelerindeki hücre siklusu üzerindeki etkileri, kanser biyolojisi ve tedavi stratejileri açısından giderek daha fazla önem kazanan bir araştırma alanıdır. Hücre siklusu, hücrelerin büyüme, DNA replikasyonu ve bölünme süreçlerini düzenleyen kompleks bir mekanizmadır. Bu süreç, siklinler, siklin bağımlı kinazlar (CDK'lar) ve bunların inhibitörleri gibi düzenleyici proteinlerin koordineli etkileşimiyle kontrol edilir. Kanser hücrelerinde bu düzenleme bozulmakta ve hücreler kontrolsüz bir şekilde proliferasyona uğramaktadır (Vermeulen vd., 2003). Antioksidanların bu döngü üzerindeki etkileri, oksidatif stresin azaltılmasına bağlı olarak farklı hücresel yanıtların ortaya çıkmasına yol açar, özellikle reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyelerini düşürerek DNA hasarı, mutasyon ve apoptotik yollar üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Trachootham vd., 2009).

Kanser hücrelerinde ROS, hem tümör gelişimini destekleyen bir sinyal aracı hem de aşırı birikim halinde hücre ölümünü tetikleyen toksik bir faktör olarak işlev görebilir. Antioksidanlar, bu dengenin tümör lehine bozulmasını engelleyerek hücre siklusunu G1, S veya G2/M evrelerinde durdurabilmektedir. Örneğin flavonoid sınıfına giren kuersetin ve epigallokateşin gallat (EGCG), CDK2 ve CDK4 aktivitelerini baskılayarak hücrelerin G1 fazında hücrelerin ölmesine neden olur (Singh vd., 2011). Benzer şekilde resveratrolün p21 ve p27 gibi CDK inhibitörlerini artırdığı, bunun sonucunda da hücrelerin G1/S geçişinde blokaj yaşadığı rapor edilmiştir (Athar vd., 2009). Bu durum, kanser hücre proliferasyonunun yavaşlamasına ve apoptoza daha duyarlı hale gelmesine katkı sağlamaktadır.

Antioksidanların hücre siklusuna etkileri yalnızca G1/S kontrol noktası ile sınırlı değildir. Yapılan araştırmalar, bazı polifenollerin DNA sentezini bozarak S fazında gecikmeye neden olduğunu ortaya koymuştur (Russo vd., 2014). Özellikle genotoksik stres altında antioksidanların, DNA onarım mekanizmalarının etkinliğini artırarak replikasyon stresi kaynaklı mutasyonların azalmasına katkı sağladığı belirtilmektedir. Ayrıca, kurkumin gibi doğal bileşiklerin G2/M fazında mikrotübül dinamiklerini etkileyerek mitotik arrest oluşturduğu da gösterilmiştir (Gupta vd., 2012). Böylece

antioksidanlar, hücre bölünmesinin farklı evrelerine müdahale edebilmekte ve tümör hücrelerinin çoğalmasını çok yönlü olarak baskılayabilmektedir.

Moleküler düzeyde bakıldığında, antioksidanların tümör baskılayıcı protein p53 üzerinden de önemli etkiler oluşturduğu bildirilmektedir. p53, DNA hasarı veya oksidatif stres durumunda hücre döngüsünü durduran ve onarım mekanizmalarını aktive eden başlıca faktördür. Resveratrol, EGCG ve kurkumin gibi antioksidanların p53 ekspresyonunu artırdığı, böylece G1 ve G2/M kontrol noktalarının aktive olduğu gösterilmiştir (Liu vd., 2019). Bu mekanizma, hasarlı DNA'ya sahip hücrelerin bölünmesini engelleyerek kanser progresyonunu yavaşlatmaktadır. Ayrıca antioksidanların, NF- κ B ve PI3K/Akt gibi proliferatif sinyal yollarını baskılayarak hücre döngüsünü düzenleyici etkilerini pekiştirdiği de rapor edilmiştir (Aggarwal & Harikumar, 2009).

Sonuç olarak, antioksidanların kanser hücrelerinde hücre siklusu üzerindeki etkileri, farklı fazlarda meydana gelen kontrol noktaları üzerinden gerçekleşmektedir. Antioksidanlar, ROS düzeylerini düşürerek DNA hasarını sınırlamakta, CDK aktivitesini baskılamakta, p53 ve CDK inhibitörlerini artırmakta ve böylece hücrelerin G1, S veya G2/M fazlarında duraklamasına yol açmaktadır. Bu etkiler, hem hücre proliferasyonunun yavaşlamasını hem de apoptozun kolaylaşmasını sağlamaktadır. Dolayısıyla antioksidanların hücre döngüsü düzenlenmesindeki rolleri, onları kemopreventif ve potansiyel terapötik ajanlar olarak öne çıkarmaktadır. Gelecek araştırmalar, antioksidanların farklı kanser tiplerindeki hücre siklusu regülasyonunu daha net ortaya koyarak klinik uygulamalara entegrasyonuna katkı sağlayacaktır.

Gen ve protein ekspresyon değişimleri

Antioksidanların kanser hücrelerinde gen ve protein ekspresyonu üzerine etkileri, son yıllarda kanser biyolojisi ve tedavi stratejileri açısından yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Kanser hücrelerinin proliferasyonu, metastazı ve hayatta kalması büyük ölçüde genetik ve epigenetik düzenlemelerle kontrol edilmektedir. Bu süreçlerde antioksidanların doğrudan ya da dolaylı etkileri, hücresel sinyal yolları ve transkripsiyon faktörlerinin aktivitesinde değişikliklere yol açarak ortaya çıkar. Özellikle hücre içi reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyelerini dengeleyen antioksidanlar, oksidatif stresin DNA hasarına ve mutasyonlara neden olmasını önleyerek onkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunu düzenleyebilir (Luo vd., 2022). ROS

düzeylerinin azalması ile birlikte p53, NF-κB, Nrf2 ve HIF-1α gibi kanser biyolojisinde kritik öneme sahip transkripsiyon faktörlerinin aktivitesi etkilenmekte, böylece gen ve protein düzeyinde geniş kapsamlı değişiklikler meydana gelmektedir (Kang vd., 2017).

Örneğin, polifenolik antioksidanların kanser hücrelerinde pro-apoptotik genlerin ekspresyonunu artırırken anti-apoptotik genlerin baskılanmasına aracılık ettiği gösterilmiştir. Özellikle BAX ve caspaz ailesi proteinlerinin aktivitesinin yükselmesi, Bcl-2 ve survivin gibi proteinlerin ise azalması, antioksidanların apoptozu uyarıcı etkilerinden biri olarak rapor edilmiştir (Kang vd., 2017). Aynı zamanda, antioksidanların epigenetik modifikasyonlar üzerinden de gen ekspresyonunu etkilediği bilinmektedir. DNA metilasyonu ve histon asetilasyonu gibi süreçlerde meydana gelen değişimler, tümör baskılayıcı genlerin yeniden aktif hale gelmesini veya onkogenlerin susturulmasını sağlayabilir (Nandakumar vd., 2011). Bu durum özellikle metilasyon bağımlı olarak susturulmuş p16 ve BRCA1 gibi tümör baskılayıcı genlerin yeniden ekspresyon kazanmasıyla ilişkilidir.

Protein ekspresyonu açısından bakıldığında, antioksidanların hücre döngüsünde görev alan siklinler ve siklin bağımlı kinazlar üzerinde de düzenleyici etkilere sahip olduğu görülmektedir. Örneğin, flavonoidlerin kanser hücrelerinde Cyclin D1'in ekspresyonunu azaltarak G1 fazında hücre döngüsü durmasına yol açtığı bildirilmiştir (Tang vd., 2019). Ayrıca, Nrf2 yolaklarının aktive edilmesiyle birlikte hücrede detoksifikasyon enzimleri ve faz II metabolizma enzimlerinin protein seviyeleri artmakta, bu da kanser hücrelerinin oksidatif stres karşısında daha duyarlı hale gelmesine katkı sağlamaktadır (Anthonymuthu vd., 2021).

Benzer şekilde, antioksidanların PI3K/Akt/mTOR sinyal yolunu baskılayarak hücre büyümesi ve protein sentezinde kritik rol oynayan mTOR'un fosforilasyon düzeylerini azalttığı da rapor edilmiştir (Kang vd., 2017).

Diğer taraftan, antioksidanların kanser hücrelerinde metastazla ilişkili gen ve protein ekspresyonu üzerinde de etkileri bulunmaktadır. Matrilizin (MMP-2 ve MMP-9) gibi ekstrasellüler matriks yıkımında görev alan proteinlerin ekspresyonunun baskılanması, E-cadherin gibi adezyon moleküllerinin ise artırılması, antioksidanların invazyon ve metastaz süreçlerini zayıflattığını göstermektedir (Sun vd., 2018). Bununla birlikte, bazı

çalışmalar yüksek dozda kullanılan antioksidanların kanser hücrelerinde tam tersi etkilere neden olarak tümör ilerlemesini destekleyebileceğini, bu nedenle doz ve hücre tipine bağlı olarak sonuçların değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymuştur (Saito vd., 2020).

Sonuç olarak, antioksidanların kanser hücrelerinde gen ve protein ekspresyonunu çok yönlü bir biçimde etkilediği görülmektedir. Hem transkripsiyonel hem de translasyonel düzeydeki bu değişiklikler, apoptoz, hücre döngüsü, metastaz ve stres yanıtı gibi temel biyolojik süreçlerin yeniden programlanmasına aracılık etmektedir. Dolayısıyla, antioksidanların sadece serbest radikal temizleyici özellikleri değil, aynı zamanda genetik ve proteomik düzenlemeler üzerindeki etkileri de dikkate alınmalı ve gelecekteki kanser tedavi stratejilerinde potansiyel adjuvan ajanlar olarak değerlendirilmelidir.

Kaynakça

- Aggarwal, B. B., & Harikumar, K. B. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(1), 40-59. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.06.010>
- Anthonyamuthu, T. S., Tyurina, Y. Y., Sun, W.-Y., Mikulska-Ruminska, K., Shrivastava, I. H., Tyurin, V. A., Cinemre, F. B., Dar, H. H., VanDemark, A. P., Holman, T. R., Sadovsky, Y., Stockwell, B. R., He, R.-R., Bahar, I., Bayır, H., & Kagan, V. E. (2021). Resolving the paradox of ferroptotic cell death: Ferrostatin-1 binds to 15LOX/PEBP1 complex, suppresses generation of peroxidized ETE-PE, and protects against ferroptosis. *Redox Biology*, 38, 101744. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101744>
- Ashkenazi, A. (2002). Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily. *Nature Reviews. Cancer*, 2(6), 420-430. <https://doi.org/10.1038/nrc821>
- Athar, M., Back, J. H., Kopelovich, L., Bickers, D. R., & Kim, A. L. (2009). Multiple molecular targets of resveratrol: Anti-carcinogenic mechanisms. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 486(2), 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.01.018>
- Bar-Sela, G., Epelbaum, R., & Schaffer, M. (2010). Curcumin as an anti-cancer agent: Review of the gap between basic and clinical applications. *Current Medicinal Chemistry*, 17(3), 190-197. <https://doi.org/10.2174/092986710790149738>
- 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., Uğuz, C., Altunbaş. (2025). Examining the Impact of 4-Nonylphenol on G-361 Malignant Melanoma Cell Proliferation and Apoptosis Activation. *Van Vet J*, 36 (2) 110-114.

- Cory, S., & Adams, J. M. (2002). The Bcl2 family: Regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews. Cancer*, 2(9), 647-656. <https://doi.org/10.1038/nrc883>
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495-516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Ferrada, L., Barahona, M. J., Salazar, K., Vandenabeele, P., & Nualart, F. (2019). Vitamin C controls neuronal necroptosis under oxidative stress. *Redox Biology*, 29, 101408. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101408>
- Gupta, S. C., Patchva, S., Koh, W., & Aggarwal, B. B. (2012). Discovery of curcumin, a component of golden spice, and its miraculous biological activities. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 39(3), 283-299. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2011.05648.x>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Kang, S., Kim, E.-O., Kim, S.-H., Lee, J.-H., Ahn, K. S., Yun, M., & Lee, S.-G. (2017). Morusin induces apoptosis by regulating expression of Bax and Survivin in human breast cancer cells. *Oncology Letters*, 13(6), 4558-4562. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6006>
- Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*, 12(2), 457. <https://doi.org/10.3390/nu12020457>
- Kroemer, G., Galluzzi, L., Vandenabeele, P., Abrams, J., Alnemri, E. S., Baehrecke, E. H., Blagosklonny, M. V., El-Deiry, W. S., Golstein, P., Green, D. R., Hengartner, M., Knight, R. A., Kumar, S., Lipton, S. A., Malorni, W., Nuñez, G., Peter, M. E., Tschopp, J., Yuan, J., ... Nomenclature Committee on Cell Death 2009. (2009). Classification of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death and Differentiation*, 16(1), 3-11. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.150>
- Lin, S.-S., Chang, T.-M., Wei, A. I.-C., Lee, C.-W., Lin, Z.-C., Chiang, Y.-C., Chi, M.-C., & Liu, J.-F. (2023). Acetylshikonin induces necroptosis via the RIPK1/RIPK3-dependent pathway in lung cancer. *Aging (Albany NY)*, 15(24), 14900-14914. <https://doi.org/10.18632/aging.205316>

- Liu, Z., Wu, X., Lv, J., Sun, H., & Zhou, F. (2019). Resveratrol induces p53 in colorectal cancer through SET7/9. *Oncology Letters*. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10034>
- Luo, M., Zhou, L., Huang, Z., Li, B., Nice, E. C., Xu, J., & Huang, C. (2022). Antioxidant Therapy in Cancer: Rationale and Progress. *Antioxidants*, 11(6), 1128. <https://doi.org/10.3390/antiox11061128>
- Nandakumar, V., Vaid, M., & Katiyar, S. K. (2011). (-)-Epigallocatechin-3-gallate reactivates silenced tumor suppressor genes, Cip1/p21 and p16INK4a, by reducing DNA methylation and increasing histones acetylation in human skin cancer cells. *Carcinogenesis*, 32(4), 537-544. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgq285>
- Pasparakis, M., & Vandenabeele, P. (2015). Necroptosis and its role in inflammation. *Nature*, 517(7534), 311-320. <https://doi.org/10.1038/nature14191>
- Redza-Dutordoir, M., & Averill-Bates, D. A. (2016). Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1863(12), 2977-2992. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.09.012>
- Reed, J. C. (1998). Bcl-2 family proteins. *Oncogene*, 17(25), 3225-3236. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202591>
- Russo, G. L., Russo, M., Spagnuolo, C., Tedesco, I., Bilotto, S., Iannitti, R., & Palumbo, R. (2014). Quercetin: A Pleiotropic Kinase Inhibitor Against Cancer. İçinde V. Zappia, S. Panico, G. L. Russo, A. Budillon, & F. Della Ragione (Ed.), *Advances in Nutrition and Cancer* (C. 159, ss. 185-205). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38007-5_11
- Saito, Y., Yako, T., Otsu, W., Nakamura, S., Inoue, Y., Muramatsu, A., Nakagami, Y., Shimazawa, M., & Hara, H. (2020). A triterpenoid Nrf2 activator, RS9, promotes LC3-associated phagocytosis of photoreceptor outer segments in a p62-independent manner. *Free Radical Biology and Medicine*, 152, 235-247. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.03.012>
- Singh, M., Singh, R., Bhui, K., Tyagi, S., Mahmood, Z., & Shukla, Y. (2011). Tea Polyphenols Induce Apoptosis Through Mitochondrial Pathway and by Inhibiting Nuclear Factor- κ B and Akt Activation in Human Cervical

- Cancer Cells. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 19(6), 245-257.
<https://doi.org/10.3727/096504011X13021877989711>
- Sun, Q., Zhou, S., Zhao, J., Deng, C., Teng, R., Zhao, Y., Chen, J., Dong, J., Yin, M., Bai, Y., Deng, H., & Wen, J. (2018). Engineered T lymphocytes eliminate lung metastases in models of pancreatic cancer. *Oncotarget*, 9(17), 13694-13705. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24122>
- Tang, Y., Zhong, Y., Fu, T., Zhang, Y., Cheng, A., Dai, Y., Qu, J., & Gan, R. (2019). Bioinformatic analysis of differentially expressed genes and identification of key genes in EBV-transformed lymphoblasts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 116, 108984. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108984>
- Trachootham, D., Alexandre, J., & Huang, P. (2009). Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: A radical therapeutic approach? *Nature Reviews. Drug Discovery*, 8(7), 579-591. <https://doi.org/10.1038/nrd2803>
- Varoni, E. M., Lo Faro, A. F., Sharifi-Rad, J., & Iriti, M. (2016). Anticancer Molecular Mechanisms of Resveratrol. *Frontiers in Nutrition*, 3, 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2016.00008>
- Vermeulen, K., Van Bockstaele, D. R., & Berneman, Z. N. (2003). The cell cycle: A review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell Proliferation*, 36(3), 131-149. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.2003.00266.x>
- Vousden, K. H., & Prives, C. (2009). Blinded by the Light: The Growing Complexity of p53. *Cell*, 137(3), 413-431. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.037>

BÖLÜM 2

KANSER HÜCRE HATLARINDA ANTİOKSİDAN UYGULAMALARI

Dilek Şeyma KIZILCAN¹, Senem AKKOC², Ulas Evren ARIN³

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213091>

¹ Suleyman Demirel University, Faculty of Pharmacy, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Isparta, Türkiye, orcid id: 0000-0002-5695-7480

² Suleyman Demirel University, Faculty of Pharmacy, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Isparta, Türkiye, orcid id: 0000-0002-1260-9425

³ Suleyman Demirel University, Isparta Health Services Vocational High School, Anesthesia Department, orcid id: 0000-0002-6800-9226

GİRİŞ

Dünya çapında ölüm oranlarına bakıldığında kansere bağlı ölümlerin ilk sırada geldiği bilinen bir gerçektir. İnsanlık bu hastalıkla başa çıkmak için yıllardır büyük çaba sarf etmektedir ancak henüz tam bir tedavi bulunamamıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022 verilerine göre, yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası ve 9,7 milyon kansere bağlı ölüm meydana gelmiştir (WHO, 2024). Kanser, kontrolsüz çoğalan hücrelerin metastaz yapabilme yeteneği ile karakterize karmaşık ve heterojen bir hastalıktır. Dünya çapında önemli bir sağlık sorunu olarak biliniyor (Bilici ve ark., 2025). Sadece genetik mutasyonlar sonucu oluşan bir hastalık değil, aynı zamanda hücre mikro çevresindeki biyokimyasal değişiklikler sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Hücrelerin kontrolsüz çoğalması, apoptozis (programlanmış ve kontrollü hücre ölümü) mekanizmalarının devre dışı kalması ve metastaz potansiyelinin artması kansere neden olan başlıca biyolojik faktörlerdir (Hanahan & Weinberg, 2011). Apoptozun moleküler temellerinin anlaşılması kanser araştırmalarında önemli bir hedeftir (Bilici ve ark., 2025).

Kanser hücrelerinde artan metabolik aktivite, mitokondrilerden ROS'un aşırı üretimine yol açar ve bu süreç oksidatif stres olarak bilinir. Oksidatif stres, ROS ile hücresel antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkar. DNA, protein ve lipitlere zarar vererek tümör oluşumuna ve gelişimine neden olur (Liou ve Storz, 2010; Schieber ve Chandel, 2014).

ROS'un hücre üzerinde çift yönlü bir etkisi vardır. Kontrollü ROS seviyeleri hücresel çoğalma ve sinyal iletimi için gerekliken, aşırı ROS birikimi protein oksidasyonu, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve genetik mutasyonlara neden olarak hücre ölümüne yol açar (Gorrini vd., 2013). Antioksidanlar, ROS seviyelerini dengeleyerek hücreleri oksidatif strese karşı koruyabilir, ancak bazı durumlarda kanser hücrelerinde apoptotik mekanizmaları tetikleyerek terapötik potansiyel sunabilirler (Trachootham vd., 2009). Antioksidanlar doğal (bitki polifenoller, vitaminler, karotenoidler) veya sentetik (N-asetilsistein, edaravon) olabilir. Son zamanlarda antioksidanlar kanser tedavisinde hem koruyucu hem de tedavi edici amaçlarla kullanılmaktadır ve her iki durum için de araştırmalar devam etmektedir.

- **Koruyucu etkiler:** Oksidatif DNA hasarını engelleyerek tümör gelişiminin önlenmesi.

- **Tedaviye yardımcı etkiler:** Kemoterapi veya radyoterapiye bağlı oksidatif hasarı azaltmak veya tümör hücrelerinde oksidatif stresi artırarak apoptozu indüklemek.

Kanser hücrelerinde kemoterapi ve radyoterapi ile birlikte antioksidanların kullanımı, tedavi sürecini ve etkinliğini olumlu mu yoksa olumsuz mu etkileyebileceği konusunda hala tartışma konusudur (Lawenda ve ark., 2008). Bu konuda henüz net bir fikir birliği yoktur. Antioksidanların kanser tedavisini engelleyen bazı faktörleri vardır. i) Karmaşık in vivo koşullardan etkilenebilirler, bu nedenle in vitro çalışmalara dayalı diyet dozları dikkate alınmalıdır (Luo ve ark., 2022). ii) Farklı dokularda orantısız bir şekilde dağılıbilirler ve düşük biyoyararlanım nedeniyle bazı organlarda etki göstermeyebilirler. iii) Konsantrasyona ve oksijen basıncına bağlı olarak farklı özellikler gösterebilirler. Tüm bu nedenlerden dolayı, kanser tedavisine eşlik eden antioksidan uygulamalarına özen ve dikkat gösterilmelidir.

İn vitro hücre kültürü deneyleri, antioksidanların kanser hücreleri üzerindeki etkilerini anlamada vazgeçilmez bir araçtır. Kanser hücre hatları, tekrarlanabilir sonuçları, uygun maliyetli olmaları ve etik avantajları nedeniyle bu tür çalışmalarda tercih edilmektedir (Masters, 2000).

Yaygın Olarak Kullanılan Kanser Hücre Hatları

- Antioksidanların biyolojik etkileri, hücre tipi ve türüne, metabolik aktiviteye, ROS üretim seviyesine ve kullanılan antioksidan bileşiğin türüne bağlı olarak değişir. Örneğin, kurkumin belirli kanser hücrelerinde ROS'u artırırken, N-asetilsistein (NAC) hem bazı hücrelerde ROS'u azaltabilir hem de bazı durumlarda ROS üretimini tetikleyebilir (Kwon, 2021; Breau ve ark., 2019). Antioksidanların etkileri normal, sağlıklı hücrelerde ve kanser hücrelerinde farklılık gösterebilir. En sık kullanılan kanser hücre hatları ve antioksidan etkileri aşağıda listelenmiştir:
- **MCF-7:** İnsan meme adenokarsinomundan elde edilen MCF-7 hücre hattı, östrojen reseptörü (ER+) ve progesteron reseptörü için pozitifdir ve düşük invaziv özelliklere sahiptir (Soule ve ark., 1973). Başka bir deyişle, tümörün geliştiği dokuda büyüme ve çevredeki diğer canlı ve sağlıklı dokulara yayılma olasılığı daha düşüktür. ER pozitif olduğundan, özellikle hormon bağımlı meme kanseri araştırmalarında

kullanılır. Meme kanseri alanında, antioksidanların proliferasyon, apoptoz ve oksidatif stres modülasyonu üzerindeki etkilerini incelemek için MCF-7 hücre hattı sıklıkla tercih edilir. Yapılan çalışmalar, resveratrol gibi polifenolik antioksidanların, MCF-7 hücrelerinde ROS'u baskılayarak hücre büyümesini engellediğini göstermiştir (Moreno, 2000).

- **HeLa:** 1951 yılında Henrietta Lacks adlı hastadan izole edilen HeLa hücreleri, insan serviks adenokarsinomu hücre hattıdır ve uzun yıllardır biyomedikal araştırmalarda kullanılan en yaygın hücre hattı olmuştur (Scherer ve ark., 1953). Bu HPV-18 pozitif hücreler yüksek çoğalma kapasitesine sahiptir ve genel kanser biyolojisi, ilaç taramaları ve toksisite çalışmalarında kullanılır (Masters, 2000). NAC ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidanların HeLa hücrelerinde ROS üretimini kontrol ettiği ve kemoterapi ilaçlarına karşı direnç gelişimini etkileyebileceği bildirilmiştir (Han ve ark., 2008).
- **A549:** İnsan akciğer adenokarsinomu hücre hattı olan A549, tip II alveoler epitel hücre özellikleri gösterir ve solunum sistemi kanserlerinde antioksidan ve kemoterapi aktivitelerinin araştırılmasında tercih edilir (Giard ve ark., 1973). Oksidatif stres çalışmaları ve akciğer kanseri tedavi modellerinde önemlidir (Lieber ve ark., 1976). Bu hücre hattında, NAC'nin PX-12 (1-metilpropil 2-imidazolil disülfür) ile artan ROS seviyelerini azalttığı ve apoptozu ve GSH (Glutasyon) tükenmesini önlediği gözlemlenmiştir (You ve ark., 2014).
- **HT-29:** HT-29, 1964 yılında Dr. Jorgen Fogh tarafından 44 yaşındaki bir kadın hastadan türetilen insan kolorektal adenokarsinom hücre hattıdır ve gastrointestinal sistem kanseri araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Fogh ve Trempe, 1975). HT-29 hücre hattı, kolon kanserini incelemek ve olgun bağırsak özelliklerini araştırmak için gıda sindirimi ve biyoyararlanım çalışmalarında kullanılmaktadır (Martínez-Maqueda ve ark., 2015). HT-29 hücrelerinde, flavonoid grubu antioksidanların hücre döngüsü durması ve apoptoz indüksiyonundaki etkinliği incelenmiştir (Anwar ve ark., 2018, Yang ve ark., 2016, Kim ve ark., 2007).

Kanser hücre hatlarına ilişkin bahsettiğimiz tüm detaylar Tablo 1’de gösterilmektedir.

Tablo 1: Yaygın Kanser Hücre Hatları ve Özellikleri

Hücre hattı	Kökeni	Temel Özellikler	Antioksidanlara Tipik Tepkiler	kaynakça
MCF-7	Meme Adenokarsinomu	ER+, Düşük invaziv	ROS baskılanması, Apoptozis indüksiyonu	Soule ve ark., 1973 Moreno, 2000
HeLa	Rahim ağzı kanseri	HPV-18 pozitif, hızlı yayılma	NAC ile kemoterapi direncinin modülasyonu	Scherer ve ark., 1953 Masters, 2000 Han, et al., 2008
A549	Akciğer Adenokarsinomu	Solunum sistemi modeli	NAC ile ROS seviyesi düzenlemesi	Giard ve ark., 1973 You ve ark., 2014
HT-29	Kolorektal Adenokarsinom	GI sistem modeli	Flavonoid etkisi, hücre döngüsünün durdurulması	Anwar ve ark., 2018 Yang ve ark., 2016 Kim ve ark., 2007

Antioksidan uygulama yöntemleri (ön işlem, eş zamanlı, son işlem)

- Antioksidanların kanser hücre kültürüne uygulanma şekli, deneyin amacına ve hedefine ve hücre hattının özelliklerine bağlı olarak değişir (Lawenda ve ark., 2008). Üç farklı yöntem vardır ve bu yöntemlerin seçimi sonuçları doğrudan etkiler.
- **Ön işlem:** Hücreleri oksidatif hasara karşı korumak için antioksidan madde, oksidatif indükleyici ajanlardan (örn. H₂O₂, kemoterapi, vb.) önce hücre kültürüne uygulanır. Başka bir deyişle, kemoterapi gibi ana tedaviden önce verilir. Bu yöntem, hücrelerin antioksidan savunma sistemlerini aktive ederek oksidatif hasara karşı korur (Khan vd., 2019). Böylece hücrelerin oksidatif hasara karşı direnci artar. Örneğin, A549 hücrelerine tedaviden 2 saat önce NAC uygulanması, hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynaklı oksidatif stresi azaltarak hücre ölüm oranlarını azaltır (Wang vd., 2018). Bu yaklaşım, antioksidanların koruyucu etkilerini incelemek için uygundur. Bu yöntemin amacı, hücre içi savunma mekanizmalarını (örn. Nrf2/HO-1 yolu, GSH artışı, antioksidan enzimler) aktive ederek hücreyi "önceden hazırlamaktır". Örnek uygulama: Antioksidan 1-24 saat

önceden eklenir, hücreler yıkanır ve toksin uygulanır veya yıkama yapılmadan toksin eklenir (çalışma protokolüne bağlı olarak) (Gonzales-Reyes ve ark., 2013). Çoğunlukla in vitro ve hayvan modellerinde koruyucu yaklaşımları test etmek için kullanılır. Endojen koruyucu sistemleri güçlendirme ve oksidatif hasarı başlamadan önce azaltma avantajlarına sahiptir. Ancak bazı durumlarda, hastanın stres faktörü genellikle önceden bilinmediğinden sınırlı klinik etki gibi dezavantajları da vardır.

- **Eş zamanlı tedavi:** Eş zamanlı uygulama yönteminde, antioksidan maddeler ve kemoterapi ajanları hücre kültürüne aynı anda uygulanır. Bu yaklaşım, antioksidanların kemoterapi etkisi üzerindeki potansiyel modülasyonunu incelemek için uygundur (Yasueda vd. 2015). Amaç, radikalleri doğrudan temizlemek, redoks reaksiyonlarını engellemek veya ajanın hücre içi hedeflerine erişimini azaltmaktır. Genellikle kısa ila orta vadeli (24-72 saat) inkübasyon gözlenir (Li vd. 2015). Bu yöntemin avantajları, deneysel olarak kolay olması ve koruma etkisini gerçek zamanlı olarak göstermesidir. Bununla birlikte, antioksidan ve toksik ajan arasındaki doğrudan kimyasal reaksiyonun, sonuçları çarpıtabilmesi dezavantajı vardır. Yine de, bu yaklaşım hücre kültürü deneylerinde en sık kullanılan stratejilerden biridir.
- **Tedavi sonrası:** Bu uygulamada hücreler önce oksidatif strese maruz bırakılarak hasara uğrattılır ve ardından antioksidan tedavi uygulanır. Yani önce kemoterapi uygulanır ve ardından kemoterapinin etkilerini azaltmak için antioksidan tedavi uygulanır. Bu yaklaşım hasar onarım mekanizmalarını, apoptoz oranlarını ve hücre yenilenmesini incelemek için uygundur (Pashkow, 2011). Uygulama yöntemi, antioksidanın hücre üzerindeki etkisini ve kemoterapi etkileşimini belirleyen önemli faktörlerden biridir (Lawenda vd., 2008). Yöntemin amacı hasarlı hücrelerde onarım ve iyileşme sürecini desteklemek, lipid peroksidasyonunu azaltmak veya inflamasyon/oksidatif stresin ilerlemesini durdurmaktır. Bu uygulama yöntemine bir tür iyileştirme yöntemi de denebilir (Dashtaki vd., 2020). Her uygulama yönteminin avantajları ve sınırlamaları vardır. Bu uygulamanın avantajı klinik senaryoya daha yakın olması ve rejeneratif ve onarıcı potansiyel

göstermesidir. Ancak oksidatif hasarın şiddetli olduğu durumlarda koruyucu etkisinin sınırlı olması dezavantajıdır. Bu nedenle deneylerde genellikle hepsi karşılaştırmalı olarak test edilir ve en uygun protokol belirlenir (Lawenda ve ark., 2008).

Antioksidan uygulama yöntemlerine ilişkin bahsettiğimiz tüm detaylar Tablo 2’de tablo halinde verilmiştir.

Tablo 2. Antioksidan uygulama yöntemlerinin genel özellikleri

Metot	Ön işlem	Eş zamanlı tedavi	Tedavi sonrası
Tanım	Oksidatif stres etkeni uygulanmadan önce hücreye/organizmaya antioksidan verilir.	Antioksidan ve toksik madde aynı anda verilir.	Önce oksidan/toksik madde uygulanır, sonra antioksidan verilir.
Amaç	Hücreyi önceden hazırlayarak endojen savunma sistemlerini (GSH, Nrf2, HO-1, SOD vb.) aktive etmek.	Serbest radikalleri doğrudan temizler ve oksidan ajanla kimyasal etkileşime girer.	Hasar sonrası iyileşme, oksidatif hasarın ilerlemesinin önlenmesi, hücresel onarımın desteklenmesi.
Avantajları	Koruyucu/önleyici etkiye sahiptir. Hücreleri oksidatif strese karşı dirençli hale getirir.	Uygulaması kolaydır. Gerçek zamanlı etkilerini gösterir. Antioksidanların doğrudan radikal temizleme gücünü gösterir.	Klinik duruma (tedavi senaryosuna) daha yakın. Hücresel yenilenmeyi gösterebilir.
Dezavantajları	Klinik olarak sınırlıdır; stres faktörleri gerçek hayatta öngörülemez. Uzun kuluçka süreleri gerektirebilir.	Antioksidan ve toksik madde arasındaki doğrudan kimyasal reaksiyonlar deneysel sonuçları çarpıtabilir. Hücre içi etkileri	Hasar çok ilerlemişse, etkinliği sınırlı olabilir. Önleyici bir etki göstermez; sadece tedavi edici etkilerini test eder.

		dış ortamlarla etkileşimlerden ayırmak zor olabilir.	
Kullanım Alanı	Hücre kültürü deneylerinde ve hayvan modellerinde koruyucu etkisinin test edilmesinde kullanılır.	Hücre kültürü deneylerinde anında koruyucu etkinin değerlendirilmesi.	Hücre ve hayvan modellerinde tedavi edici/terapötik etkinin araştırılması.

Doz-tepki eğrileri ve IC50 tayini

- Antioksidanların etkinliği, uygulama dozu ve zamanlaması ile yakından ilişkilidir. Kanser hücre hatlarına antioksidan uygulamalarında etkileyici sonuçlar elde etmek için doz-yanıt eğrilerinin belirlenmesi çok önemlidir. Doğru konsantrasyonlar koruyucu etki sağlarken, yanlış dozlar terapötik etkiyi bozabilir veya toksisiteyi artırabilir. Bu nedenle, antioksidan uygulamalarında doz-yanıt analizleri hayati önem taşır. Antioksidan maddeler, özellikle NAC, yanlış dozda kullanıldığında bazı durumlarda ROS üretimine ve sitotoksisiteye neden olabilir (Liu ve ark., 2021). Ayrıca, doğal antioksidanların biyoyararlanımı ve stabilitesi gibi faktörler de dozlama stratejilerini etkiler (Lee ve ark., 2025). Bu nedenle, IC₅₀ (yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu) analizleri, antioksidan seçimi ve doz optimizasyonu için önemlidir.
- Antioksidanların kanser hücreleri üzerindeki etkileri doza bağlı olarak değişir ve bu etkiyi nicel olarak ölçmek için doz-yanıt eğrileri oluşturulur. Doz-yanıt eğrileri, antioksidanların hücre canlılığı üzerindeki etkisinin nicel değerlendirilmesine olanak tanır (Mosmann, 1983). Dozlama çalışmalarında, hücrelerin direnç geliştirmesini önlemek için birden fazla doz ve zaman noktası değerlendirilir. Antioksidanların aşırı dozu hücre toksisitesine yol açabilirken, yetersiz dozlar etkili olmayabilir. Zamanlama, antioksidanların kemoterapi ajanlarıyla etkileşimini belirler (Lawenda ve ark., 2008). Ayrıca, aşırı dozun (toksik doz) önlenmesi,

antioksidanın hem terapötik hem de güvenli kullanım sınırlarının belirlenmesi açısından kritik öneme sahiptir.

- **Doz-Tepki Eğrisi:** Hücre canlılığı veya çoğalma parametresi, artan antioksidan konsantrasyonlarına göre ölçülür ve grafikte gösterilir. Eğrinin eğimi ve şekli, maddenin aktivitesi ve toksisitesi hakkında bilgi sağlar (Mosmann, 1983). Doz-tepki eğrilerinde, güvenli doz aralığı, toksisite sınırlarının yanı sıra etkinliğin de belirlenmesiyle belirlenir (Tenório ve ark., 2021). Doz-tepki eğrileri genellikle sigmoidal yapıdadır ve Hill denklemi gibi matematiksel modellerle analiz edilir. Bu yöntem, farklı antioksidanların karşılaştırılmasına ve kombinasyon çalışmalarında sinerjistik/antagonistik etkilerin belirlenmesine olanak tanır.
- **IC₅₀ (Yarım Maksimum İnhibitör Konsantrasyon):** Hücre canlılığının %50 oranında engellendiği antioksidan konsantrasyonudur ve ilaç etkinliğini karşılaştırmak için standart bir parametredir (Mosmann, 1983). Düşük bir IC₅₀ değeri yüksek etkinliği gösterir ve ilaç/antioksidan karşılaştırmalarında standart bir parametre olarak kullanılır. IC₅₀ değerleri, hücre hattına, uygulama süresine ve antioksidanın kimyasal yapısına bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bu nedenle, her antioksidanın etkisinin optimizasyonu ve doğrulanması gereklidir. Örneğin, resveratrolün MCF-7 hücrelerindeki IC₅₀ değerinin, uygulamadan 24 saat sonra yaklaşık 131 µM olduğu bildirilmiştir (Schmidt ve ark., 2020). Aynı maddenin HeLa hücrelerindeki IC₅₀ değeri, hücre hattına özgü duyarlılık farklılıklarını yansıtarak genellikle daha yüksek veya daha düşük olabilir. Daha düşük bir IC₅₀ değeri, bileşiğin daha yüksek potansiyele sahip olduğunu gösterir. Ancak antioksidan çalışmalarında, IC₅₀ değeri yalnızca toksisite açısından değil, aynı zamanda optimum biyolojik etki açısından da değerlendirilmelidir.

Sonuç

Antioksidanların kanser hücreleri üzerindeki etkisi karmaşık ve çift yönlü bir mekanizma sergiler. Bu bileşikler hem hücresel koruyucu işlevler sergileyebilir hem de tedaviye yanıtı değiştirebilecek potansiyel etkilere sahip olabilir. Doğal antioksidanlar (örneğin kurkumin ve resveratrol) ve sentetik

antioksidanlar (örneğin N-asetilsistein), farklı kanser hücre hatlarında değişken biyolojik yanıtlar ortaya çıkarır. Bu çeşitlilik, tedavi stratejilerinde dozaj, zamanlama ve uygulama yöntemlerinin kişiselleştirilmesini gerektirir.

Kemoterapötiklerle kombine uygulamalarda, antioksidanlar tedavi etkinliği üzerinde hem destekleyici hem de potansiyel olarak sınırlayıcı etkilere sahip olabilir. Bu durum, klinik uygulamada kişiselleştirilmiş doz protokollerinin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesini ve geliştirilmesini gerektirir. Klinik çalışmalar, antioksidanların kemoterapötik toksisiteyi azaltabileceğini gösterse de, tedavi etkinliği üzerinde olumsuz etkileri olabileceği konusunda da uyarılarda bulunmaktadır.

Antioksidanların kanser tedavisindeki işlevlerini daha iyi anlamak için ileri sistem biyolojisi stratejileri ve ayrıntılı moleküler analizler gereklidir. Tedavi, hastaya özgü genetik ve metabolik profillerin antioksidanlara yanıt üzerindeki etkileri incelenerek kişiselleştirilmelidir. Yapay zekâ ve biyoenformatik araçları, bu karmaşık verilerin analiz edilmesinde ve optimal tedavi stratejilerinin oluşturulmasında kilit rol oynayacaktır.

Sonuç olarak, antioksidanlar kanser tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olsa da, güvenli ve etkili kullanımları, mekanik anlayış, klinik veriler ve yenilikçi teknolojilerin entegrasyonuna bağlıdır. Multidisipliner çalışmalar, kanser hastalarının yaşam kalitesini iyileştirecek ve tedavi başarısını artıracak yeni stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Kaynakça

- Anwar, A., Uddin, N., Siddiqui, B. S., Siddiqui, R. A., Begum, S., Choudhary, M. I. (2018). A natural flavonoid lawsonaringenin induces cell cycle arrest and apoptosis in HT-29 colorectal cancer cells by targeting multiple signalling pathways. *Molecular Biology Reports*, 45, 1339-1348. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4294-5>
- Bilici, E., Türkoğlu BG, Akkoç S (2025). Using the MTT Cell Viability Test and Immunocytochemistry Techniques, Benzimidazole's Cytotoxicity and Apoptosis Activation in Mouse 4T1 Cell Culture. *Dicle Univ Vet Fak Derg.*, 18(1):33-37.
- Bilici, E., Uğuz, C., Altunbaş K., 2025. Examining the Impact of 4-Nonylphenol on G-361 Malignant Melanoma Cell Proliferation and Apoptosis Activation. *Van Vet J*, 36 (2) 110-114.
- Breau, M., Houssaini, A., Lipskaia, L., Abid, S., Born, E., Marcos, E., Czibik, G., Attwe, A., Beaulieu, D., Palazzo, A., Flaman, J-M., Bourachot, B., Collin, G., Nhieu, J.T.V., Bernard, D., Mechta-Grigoriou, F., Adnot, S. (2019). The antioxidant N-acetylcysteine protects from lung emphysema but induces lung adenocarcinoma in mice. *JCI Insight*, 3, 4(19). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.127647>
- Dashtaki, A., Mahjoub, S., Zabihi, E., Pourbagher, R. (2020). The effects of pre-treatment and post-treatment of thymol against tert-butyl hydroperoxide (t-BHP) cytotoxicity in MCF-7 cell line and fibroblast derived foreskin. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 9(3), 338-347. doi: 10.29252/rbmb.9.3.338
- Fogh, J., & Trempe, G. (1975). New human tumor cell lines. In J. Fogh (Ed.), *Human tumor cells in vitro* (pp. 115–159). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-1647-4_5
- Giard, D. J., Aaronson, S. A., Todaro, G. J., Arnstein, P., Kersey, J. H., Dosik, H., Parks, W. P . (1973). In vitro cultivation of human tumors: Establishment of cell lines derived from a series of solid tumors. *Journal of the National Cancer Institute*, 51(5), 1417–1423.
- González-Reyes, S., Guzmán-Beltrán, S., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J. (2013). Curcumin pretreatment induces Nrf2 and an antioxidant response and prevents hemin-induced toxicity in primary

- cultures of cerebellar granule neurons of rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/801418>
- Gorrini, C., Harris, I. S., Mak, T. W. (2013). Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nat Rev Drug Discov.*, 12(12), 931-947. doi: 10.1038/nrd4002
- Han, Y. H., Kim, S. Z., Kim, S. H., Park, W. H. (2008). Suppression of arsenic trioxide-induced apoptosis in HeLa cells by N-acetylcysteine. *Mol Cells*, 26(1), 18-25.
- Hanahan, D., Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Khan, H., Ullah, H., Aschner, M., Cheang, W. S., Küpeli Akkol, E. (2019). Neuroprotective effects of quercetin in alzheimer's disease. *Biomolecules*, 10(1), 59. doi: 10.3390/biom10010059.
- Kwon, Y. (2021). Possible beneficial effects of N-acetylcysteine for treatment of triple-negative breast cancer. *Antioxidants*, 10, 169. <https://doi.org/10.3390/antiox10020169>
- Lawenda, B. D., Kelly, K. M., Ladas, E. J., Sagar, S. M., Vickers, A., Blumberg, J. F. (2008). Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy? *Journal of the National Cancer Institute*, 100(11), 773–783. <https://doi.org/10.1093/jnci/djn148>
- Lee, E., Yang, D., Hong, J. H. (2025). Prominent naturally derived oxidative-stress-targeting drugs and their applications in cancer treatment. *Antioxidants*, 14(1), 49. <https://doi.org/10.3390/antiox14010049>
- Li, C-J., Sun, L-Y., Pang, C-Y. (2015). Synergistic protection of N-acetylcysteine and ascorbic acid 2-phosphate on human mesenchymal stem cells against mitoptosis, necroptosis and apoptosis. *Scientific Reports*, 5(9819). DOI: 10.1038/srep09819
- Lieber, M., Smith, B., Szakal, A., Nelson-Rees, W., Todaro, G. (1976). A continuous tumor-cell line from a human lung carcinoma with properties of type II alveolar epithelial cells. *International Journal of Cancer*, 17(1), 62–70. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910170110>
- Lim, D. Y., Jeong, Y., Tyner, A. L., Park, J. H. Y. (2007). Induction of cell cycle arrest and apoptosis in HT-29 human colon cancer cells by the

- dietary compound luteolin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 292, 66–75. doi:10.1152/ajpgi.00248.2006
- Liou, G. Y., Storz, P. (2010). Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research*, 44(5), 479–496. <https://doi.org/10.3109/10715761003667554>
- Liu, J., Liu, Q., Han, J., Feng, J., Guo, T., Li, Z., Min, F., Jin, R., Peng, X. (2021). N-acetylcysteine inhibits patulin-induced apoptosis by affecting ROS-mediated oxidative damage pathway. *Toxins*, 13(9), 595. <https://doi.org/10.3390/toxins13090595>
- Luo, M., Zhou, L., Huang, Z., Li, B., Nice, E. C., Xu, J., Huang, C. (2022). Antioxidant therapy in cancer: rationale and progress. *Antioxidants (Basel)*, 11(6), 1128. doi: 10.3390/antiox11061128
- Martínez-Maqueda, D., Miralles, B., Recio, I. (2015). HT29 Cell Line. P. Cotter, I. López-Expósito, C. Kleiveland, T. Lea, A. Mackie, T. Requena, D. Swiatecka, H. Wichers (Ed.), *The impact of food bioactives on health* (pp. 113-124). Springer New York. doi:10.1007/978-3-319-16104-4
- Masters, J. R. (2000). Human cancer cell lines: Fact and fantasy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1(3), 233–236. <https://doi.org/10.1038/35043102>
- Moreno, J.J. (2000). Resveratrol modulates arachidonic acid release, prostaglandin synthesis, and 3T6 fibroblast growth. *J Pharmacol Exp Ther*, 294, 333–338.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Pashkow, F. J. (2011). Oxidative stress and inflammation in heart disease: Do antioxidants have a role in treatment and/or prevention?. *International Journal of Inflammation*, 2011. <https://doi.org/10.4061/2011/514623>
- Scherer, W., Syverton, J.T., Gey, G.O. (1953). Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses. IV. Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain HeLa) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix. *J Exp Med.*, 97(5), 695–710. doi: 10.1084/jem.97.5.695
- Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24(10), R453-R462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>

- Schmidt, B., Ferreira, C., Passos, C. L. A., Silva, J. L., Fialho, E. (2020). Resveratrol, curcumin and piperine alter human glyoxalase 1 in MCF-7 breast cancer cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 5244.
- Soule, H. D., Vazquez, J., Long, A., Albert, S., Brennan, M. (1973). A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 51(5), 1409–1416. <https://doi.org/10.1093/jnci/51.5.1409>
- Tenório, M. C. Dos S., Graciliano, N. G., Moura, F. A., de Oliveira, A. C. M., Goulart, M. O. F. (2021). N-acetylcysteine (NAC): Impacts on human health. *Antioxidants (Basel)*, 10(6), 967. doi: 10.3390/antiox10060967
- Trachootham, D., Alexandre, J., Huang, P. (2009). Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nature Reviews Drug Discovery*, 8(7), 579-591. <https://doi.org/10.1038/nrd2803>
- Wang, J., Li, M., Zhang, W., Gu, A., Dong, J., Li, J., Shan, A. (2018). Protective effect of N-acetylcysteine against oxidative stress induced by zearalenone via mitochondrial apoptosis pathway in SIEC02 cells. *Toxins*, 10, 407. doi: 10.3390/toxins10100407
- World Health Organization. (2024, 1 February). *Global cancer burden growing, amidst mounting need for services*. https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services?utm_source=chatgpt.com
- Yang, L., Liu, Y., Wang, M., Qian, Y., Dong, X., Gu, H., Wang, H., Guo, S., Hisamitsu, T. (2016). Quercetin-induced apoptosis of HT-29 colon cancer cells via inhibition of the Akt-CSN6-Myc signaling axis. *Mol Med Rep.*, 14(5), 4559–4566. doi: 10.3892/mmr.2016.5818
- Yasueda, A., Urushima, H., Ito, T. (2015). Efficacy and interaction of antioxidant supplements as adjuvant therapy in cancer treatment. *Integrative Cancer Therapies*, 15(1), 17-39. doi: 10.1177/1534735415610427
- You, B. R., Shin, H. R., Park, W. H. (2014). PX-12 inhibits the growth of A549 lung cancer cells via G2/M phase arrest and ROS-dependent apoptosis. *Int J Oncol.*, 44(1), 301-308. doi: 10.3892/ijo.2013.2152.

BÖLÜM 3

ANTİOKSİDANLARIN UYGULAMA YÖNTEMLERİ VE DENEYSEL TASARIM

Serhat ÇİMENDERÖĞLU¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213093>

¹ Mehmet Akif Ersoy University, Health Sciences Institute, Department of Pathology, Burdur, Türkiye, serhatcimenderoglu1@gmail.com, orcid id: 0009-0006-4456-8935

Giriş

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS) gibi serbest radikaller ile vücudun antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlikten kaynaklanır (Gülçin, 2020). Bu dengesizlik, hücre hasarına yol açarak kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve diyabet gibi birçok kronik hastalığın patogenezinde merkezi bir rol oynar (Zarezadeh ve diğerleri, 2022; Ozcan ve diğerleri, 2004). Serbest radikaller, lipitler, proteinler ve DNA gibi hayati biyomoleküllere zarar verebilen oldukça reaktif moleküllerdir (Haida ve Hakiman, 2019). Antioksidanlar, bu reaktif türleri nötralize ederek veya oluşumlarını engelleyerek oksidatif hasarı önleyen veya geciktiren bileşiklerdir. Başta meyveler, sebzeler, baharatlar ve şifalı bitkiler olmak üzere doğal kaynaklar, polifenoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitaminler ve karotenoidler gibi zengin bir antioksidan yelpazesi sunar (Athira ve diğerleri, 2023; Dehzad ve diğerleri, 2023).

Bu bileşiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri, gıda ve ilaç endüstrilerinde doğal antioksidanlara olan ilgiyi artırmıştır. Bu nedenle, bitkisel materyallerden antioksidanların verimli bir şekilde ekstrakte edilmesi, aktivitelerinin doğru bir şekilde ölçülmesi ve potansiyel terapötik uygulamalarının anlaşılması büyük önem taşımaktadır (Xu ve diğerleri, 2017). Bu derlemenin amacı, antioksidan çalışmalarında kullanılan modern uygulama yöntemlerini, deneysel tasarımın temel unsurlarını ve aktivite tayin metodlarını, sağlanan güncel kaynaklar doğrultusunda kapsamlı bir şekilde incelemektir.

DeneySEL Tasarım ve Optimizasyon

Antioksidan çalışmalarında güvenilir sonuçlar elde etmek, büyük ölçüde deneysel tasarımın doğruluğuna bağlıdır. Numune ön işleminden analitik ölçüme kadar her aşama, sonuçları önemli ölçüde etkileyebilir.

Numune Ön İşlemleri

Bitkisel materyallerin antioksidan içeriği, uygulanan ön işlemlere karşı oldukça hassastır. Kurutma gibi işlemler ekstraksiyon verimini artırırken, termal olarak hassas bileşiklerin bozulmasına neden olabilir (Athira ve diğerleri, 2023).

- **Havada Kurutma ve Dondurarak Kurutma:** Sıcak hava ile kurutma, C vitamini gibi ısıya duyarlı bileşiklerin kaybına yol

açabilirken (Adelakun ve diğerleri, 2009), liyofilizasyon bu bileşikler daha iyi korur. Ancak Ledesma-Escobar ve diğerleri (2016), liyofilize edilmiş limon numunelerinin flavanonlar ve flavonlar açısından, havada kurutulmuş numunelerin ise flavanoller açısından daha zengin olduğunu göstermiştir. Bu durum, en uygun yöntemin hedeflenen bileşik sınıfına göre değişebileceğini ortaya koymaktadır.

- **Islatma ve Haşlama:** Adelakun ve diğerleri (2009), bamya tohumu üzerinde yaptıkları çalışmada, ıslatma işleminin antioksidan aktiviteyi artırabildiğini, haşlamanın ise aktivitede düşüşe neden olduğunu bulmuştur.
- **Buhar Patlatma:** Hücre duvarı yapısını parçalayarak biyoaktif bileşiklerin salınımını artıran modern bir ön işlem teknolojisidir. Tu ve diğerleri (2019), yabani iğde posasına uygulanan buhar patlatma işleminin, toplam flavonoid içeriğini %246 oranında artırdığını ve DPPH ile hidroksil radikali süpürme yeteneğini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir.

Ekstraksiyon Yöntemleri ve Optimizasyonu

Antioksidanların bitkisel matristen ayrılması için ekstraksiyon kritik bir adımdır. Ekstraksiyon verimi; çözücü, sıcaklık, süre ve teknoloji gibi faktörlere bağlıdır.

- **Ekstraksiyon Teknolojileri:** Geleneksel yöntemlere ek olarak, Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MAE) gibi modern teknikler, daha kısa sürede daha yüksek verim sağlayabilir (Xu ve diğerleri, 2017). Bu yöntem, mikrodalga enerjisi ile hücre duvarının parçalanmasını hızlandırarak çözücünün matrise daha etkili nüfuz etmesini sağlar.
- **Optimizasyon (Yanıt Yüzey Yöntemi - RSM):** Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için istatistiksel yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM), birden fazla değişkenin ve aralarındaki etkileşimlerin incelenmesine olanak tanıyarak en uygun koşulları belirler. Tu ve diğerleri (2019) buhar patlatma koşullarını, Xu ve diğerleri (2017) ise MAE koşullarını RSM kullanarak başarılı bir şekilde optimize etmiştir. Benzer şekilde,

Haida ve diğerleri (2022) de limon kabuğu ekstraksiyonunda en etkili faktörleri belirlemek için iki seviyeli faktöriyel tasarım kullanmıştır.

Antioksidanların Uygulama Stratejileri

Antioksidanların terapötik potansiyeli, uygulama zamanlamasına göre farklılık gösterebilir. Özellikle oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda veya kemoterapi gibi oksidatif hasara yol açan tedavilerde doğru stratejinin belirlenmesi önemlidir.

- **Ön-tedavi (Pretreatment):** Oksidatif hasar oluşturacak bir ajana maruz kalmadan *önce* antioksidan uygulanmasıdır. Bu strateji, hücreleri hasara karşı hazırlamayı ve savunma mekanizmalarını güçlendirmeyi amaçlar. Sacks ve diğerleri (2021), H9c2 kardiyomiyoblast hücrelerinde, mitokondriyi hedef alan antioksidanlar olan MitoQ ve SKQ1'in, doksorubisin (bir kemoterapi ilacı) kaynaklı hasara karşı ön-tedavi olarak uygulandığında, eş zamanlı tedaviye (co-treatment) göre daha yüksek koruma sağladığını göstermiştir.
- **Eş-tedavi (Co-treatment):** Antioksidanların, hasar verici ajanla *eş zamanlı* olarak uygulanmasıdır. Kanser gibi küresel bir sağlık sorunuyla mücadelede, yeni, hedefli ve düşük toksisiteli bir tedavi edici ajanın geliştirilmesi hayati önem taşımaktadır (Bilici ve Akkoç, 2025a). Kemoterapi sırasında antioksidan kullanımı tartışmalı bir konudur; bazı çalışmalar antioksidanların kemoterapinin etkinliğini azaltabileceğini öne sürerken (Sausville ve diğerleri, 2014), diğerleri toksik yan etkileri azalttığını ve hatta anti-kanser etkiyi artırdığını göstermektedir (Atalay ve diğerleri, 2019). İlaç direnci oranlarının artması nedeniyle, yenilikçi antibiyotiklere ve kanser ilaçlarına acil ihtiyaç duyulmaktadır (Bilici ve Akkoç, 2025b). Antioksidan astaksantin, anti-kanser ilaç karbendazim ile birlikte uygulandığında, ilacın anti-proliferatif etkisini artırdığını bulmuştur. Benzer şekilde, Nathan ve diğerleri (2012) vasküler bozucu bir ajan olan CA4P'yi anti-

VEGF antikoru bevacizumab ile kombine ederek, tek başına tedaviye kıyasla daha fazla antitümör etkinlik elde etmiştir.

- **Sonrası-tedavi (Post-treatment):** Oksidatif hasar meydana geldikten *sonra* hücreleri kurtarmak veya hasarı onarmak amacıyla antioksidan uygulanmasıdır. Elinos-Calderón ve diğerleri (2009), L-karnitin, nörotoksinlerin neden olduğu oksidatif hasar ve enerji yetmezliğinden sonra uygulandığında sinir uçlarını kurtarabildiğini ve fonksiyonel iyileşme sağladığını ortaya koymuştur. Bu strateji, hasarın başlangıcından sonraki ilk birkaç saat içinde uygulandığında en etkilidir.

Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivite, enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki ana kategoride incelenir. Bir numunenin tam antioksidan profilini anlamak için genellikle birden fazla yöntemin bir arada kullanılması önerilir (Gülçin, 2020).

Enzimatik Antioksidan Analizleri

Bu analizler, vücudun birincil savunma hattını oluşturan endojen antioksidan enzimlerin aktivitelerini ölçer.

- **Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px):** Bu üç temel enzimin aktivitesi, oksidatif stresin önemli biyobelirteçleridir. Aktiviteleri genellikle spektrofotometrik yöntemlerle ölçülür (Ozcan ve diğerleri, 2004; Haida ve Hakiman, 2019). *In vivo* çalışmalarda bu enzimlerin seviyelerindeki değişimler, antioksidanların etkinliğini göstermede kritik rol oynar. Örneğin, Xu ve diğerleri (2017), D-galaktoz ile oksidatif hasar oluşturulan farelerde, *Anoectochilus roxburghii* bitki ekstraktının T-SOD ve GSH-Px aktivitelerini artırdığını göstermiştir.

Non-Enzimatik Antioksidan Analizleri ve Oksidatif Stres Belirteçleri

Bu testler, bir numunedeki antioksidan bileşiklerin miktarını veya serbest radikalleri nötralize etme kapasitesini ölçer. Bu testlerin mekanizmaları

genellikle Hidrojen Atomu Transferi (HAT) veya Tek Elektron Transferi (SET) üzerine kuruludur (Gülçin, 2020).

- **Toplam Polifenol (TPC) ve Flavonoid (TFC) İçeriği:** Folin-Ciocalteu ve alüminyum klorür reaktifleri kullanılarak yapılan kolorimetrik testlerdir ve numunenin potansiyel antioksidan zenginliği hakkında genel bir fikir verir (Haida ve diğerleri, 2022).
- **Radikal Süpürme Aktiviteleri (DPPH, ABTS, •OH):** DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) testleri, bir antioksidanın stabil sentetik radikalleri nötralize etme yeteneğini ölçer (Adelakun ve diğerleri, 2009; Xu ve diğerleri, 2017). Hidroksil radikali (•OH) süpürme aktivitesi ise biyolojik olarak en reaktif ve tehlikeli radikallerden birine karşı koruyucu etkiyi gösterir (Tu ve diğerleri, 2019).
- **Malondialdehit (MDA) Tayini:** Lipit peroksidasyonunun bir son ürünü olan MDA, oksidatif stresin yaygın bir göstergesidir ve tiyobarbitürik asit (TBA) ile ölçülür (Zarezadeh ve diğerleri, 2022).
- **Toplam Antioksidan Kapasitesi (TAC):** FRAP (Ferrik İndirgeme Antioksidan Gücü) gibi testlerle ölçülür ve numunenin genel antioksidan gücünü belirler (Dehzad ve diğerleri, 2023).

Sonuç

Antioksidanların deneysel olarak incelenmesi, numune hazırlığından son analitik ölçüme ve uygulama stratejisine kadar her aşamada titizlik gerektiren çok yönlü bir süreçtir. Bu derlemede incelenen çalışmalar, buhar patlatma ve mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi modern ön işlem ve ekstraksiyon teknolojilerinin, yanıt yüzey yöntemi gibi istatistiksel optimizasyon araçlarıyla birleştirildiğinde biyoaktif bileşiklerin verimini önemli ölçüde artırabildiğini göstermektedir. Ayrıca, antioksidanların terapötik etkinliğinin, ön-tedavi, eş-tedavi veya sonrası-tedavi gibi uygulama zamanlamasına bağlı olarak değişebileceği görülmektedir. Bu bulgu, özellikle kemoterapi gibi oksidatif stres temelli tedavilerde antioksidanların rolünü anlamak için yeni ufuklar açmaktadır. Antioksidan potansiyelin tam olarak anlaşılabilmesi için, hem *in vitro* radikal süpürme testlerinin hem de SOD, CAT, GSH-Px ve MDA gibi biyobelirteçleri içeren *in vivo* modellerin bir arada kullanılması, numunenin antioksidan profili hakkında daha bütüncül bir bakış açısı sunacaktır.

Gelecekteki çalışmalar, bu modern teknolojiler ve stratejilerin, antioksidanların biyoerişilebilirliği ve stabilitesi üzerindeki etkilerine odaklanmalıdır.

Kaynakça

- Adelakun, O. E., Oyelade, O. J., Ade-Omowaye, B. I. O., Adeyemi, I. A., Van de Venter, M., & Koekemoer, T. C. (2009). Influence of pre-treatment on yield chemical and antioxidant properties of a Nigerian okra seed (*Abelmoschus esculentus* moench) flour. *Food and Chemical Toxicology*, 47(4), 657-661.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(17), 7915-7922.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997-1027.
- Athira, V. A., Gokulvel, E., Nandhu Lal, A. M., Venugopalan, V. V., Rajkumar, P., & Venkatesh, T. (2023). Advances in drying techniques for retention of antioxidants in agro produces. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(31), 10849-10865.
- Atalay, P. B., Kuku, G., & Tuna, B. G. (2019). Effects of carbendazim and astaxanthin co-treatment on the proliferation of MCF-7 breast cancer cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 55, 113-119.
- Bilici, E., Akkoç, S. (2025a). In vitro cytotoxicity in A549, MCF-7 and DLD-1 cancer cell lines and adme toxin analysis of a benzimidazole derivative, 37:(2), 4242024.
- Bilici, E., Akkoç, S. (2025b). Impact of a benzimidazole salt on gene expression, cytotoxicity, and apoptotic processes in HepG2 cell line. 37:(1), 3922024.
- Binienda, Z., & Virmani, A. (2003). The mitochondriotropic effects of L-carnitine and its esters in the central nervous system. *Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents*, 3(4), 275-282.
- Coyle, J. T., & Puttfarcken, P. (1993). Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*, 262(5134), 689-695.
- Dehzad, M. J., Ghalandari, H., Nouri, M., & Askarpour, M. (2023). Antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin/turmeric supplementation in adults: A GRADE-assessed systematic review and dose-response meta-

- analysis of randomized controlled trials. *Cytokine*, 164, 156144.
- Dumontet, C., & Jordan, M. A. (2010). Microtubule-binding agents: a dynamic field of cancer therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(10), 790-803.
- Elinos-Calderón, D., Robledo-Arratia, Y., Pérez-De La Cruz, V., Pedraza-Chaverrí, J., Ali, S. F., & Santamaría, A. (2009). Early nerve ending rescue from oxidative damage and energy failure by L-carnitine as post-treatment in two neurotoxic models in rat: recovery of antioxidant and reductive capacities. *Experimental Brain Research*, 197, 287-296.
- Gülçin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715.
- Haida, Z., Ab Ghani, S., Nakasha, J. J., & Hakiman, M. (2022). Determination of experimental domain factors of polyphenols, phenolic acids and flavonoids of lemon (*Citrus limon*) peel using two-level factorial design. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 574-582.
- Haida, Z., & Hakiman, M. (2019). A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. *Food Science & Nutrition*, 7(5), 1555-1563.
- Ledesma-Escobar, C. A., Priego-Capote, F., & Luque de Castro, M. D. (2016). Effect of sample pretreatment on the extraction of lemon (*Citrus limon*) components. *Talanta*, 153, 386-391.
- Ma, C. Y., Peng, X. P., Sun, S., Wen, J. L., & Yuan, T. Q. (2021). Short-time deep eutectic solvents pretreatment enhanced production of fermentable sugars and tailored lignin nanoparticles from abaca. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192, 417-425.
- Nathan, P., Zweifel, M., Padhani, A. R., Koh, D. M., Ng, M., Collins, D. J., ... & Judson, I. (2012). Phase I trial of combretastatin A4 phosphate (CA4P) in combination with bevacizumab in patients with advanced cancer. *Clinical Cancer Research*, 18(12), 3428-3439.
- Ozcan, M. E., Gulec, M., Ozerol, E., Polat, R., & Akyol, O. (2004). Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *International Clinical Psychopharmacology*, 19(2), 89-95.
- Sacks, B., Onal, H., Martorana, R., Sehgal, A., Harvey, A., Wastella, C., ... & Chen, Q. (2021). Mitochondrial targeted antioxidants, mitoquinone and SKQ1, not vitamin C, mitigate doxorubicin-induced damage in H9c2

- myoblast: pretreatment vs. co-treatment. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 22(1), 1-16.
- Sausville, E., LoRusso, P., Carducci, M., Carter, J., Quinn, M. F., Malburg, L., ... & Senderowicz, A. (2014). Phase I dose-escalation study of AZD7762, a checkpoint kinase inhibitor, in combination with gemcitabine in US patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 73(3), 539-549.
- Tu, J., Liu, H., Sun, N., Liu, S., & Chen, P. (2019). Optimization of the steam explosion pretreatment effect on total flavonoids content and antioxidative activity of seabuckthorn pomace by response surface methodology. *Molecules*, 24(1), 60.
- Xu, M., Shao, Q., Ye, S., Li, S., Wu, M., Ding, M., & Li, Y. (2017). Simultaneous extraction and identification of phenolic compounds in *Anoectochilus roxburghii* using microwave-assisted extraction combined with UPLC-Q-TOF-MS/MS and their antioxidant activities. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1474.
- Yenjerla, M., Cox, C., Wilson, L., & Jordan, M. A. (2009). Carbendazim inhibits cancer cell proliferation by suppressing microtubule dynamics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 328(2), 390-398.
- Zarezadeh, M., Barzegari, M., Aghapour, B., Adel, S., Khademi, F., Musazadeh, V., ... & Ostadrahimi, A. (2022). Melatonin effectiveness in amelioration of oxidative stress and strengthening of antioxidant defense system: Findings from a systematic review and dose-response meta-analysis of controlled clinical trials. *Clinical Nutrition ESPEN*, 48, 109-120.
- Zhang, L., & Wang, H. (2015). Multiple mechanisms of anti-cancer effects exerted by astaxanthin. *Marine Drugs*, 13(7), 4310-4330.

BÖLÜM 4

DOĞAL VE SENTETİK ANTİOKSİDANLARIN KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Elif KÖKSAL¹, Senem AKKOC^{2*}

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213121>

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, 32200, Isparta, Türkiye, e-mail: elifkoksall90@gmail.com

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, 32200, Isparta, Türkiye orcid id: 0000-0002-1260-9425

*Bahçeşehir Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, 34000, İstanbul, Türkiye

Bitkisel kökenli antioksidanlar (kurkumin, resveratrol, EGCG, quercetin)

Bitkiler, içerdikleri çeşitli sekonder metabolitlerin biyolojik aktiviteleri nedeniyle yüzyıllardır hastalıkların prognozunun iyileştirilmesi ve farmakolojik tedavisinde etkin şekilde kullanılmaktadır. Aynı zamanda bitkiler doğal antioksidan bileşiklerin en önemli biyolojik kaynakları arasında yer almaktadır. Bitkiler, bileşimleri, özellikleri ve insan vücudundaki etki alanları bakımından farklılık gösteren çok çeşitli doğal antioksidanlar içermektedir. Yapılan çeşitli çalışmalar, bitkilerde bulunan polifenollerin güçlü antioksidan özellikleri sayesinde hücresel düzeyde koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Amarowicz & Pegg, 2019). Polifenoller, birden fazla fenol birimi içeren yapısal özelliklere sahip, doğal kaynaklı geniş ve çeşitli organik bileşikler grubunu oluşturur. Bitkilerde yaygın olarak bulunan bu bileşikler, güçlü antioksidan aktiviteleri ile öne çıkmaktadır. Polifenoller; flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler ve lignanlar gibi alt gruplara ayrılmaktadır. Bu bileşikler; hidroksil radikali, peroksil radikali, hipokloröz asit, süperoksit anyonu ve peroksinitrit gibi çeşitli reaktif oksijen türlerini (ROS) etkisiz hâle getirebilme yeteneğine sahiptir (Chibuye vd., 2024).

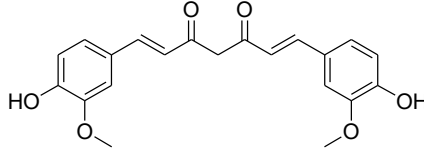
Kurkumin

Kimyasal ve Fiziksel Özellikler

Kurkumin, *Curcuma longa* (zerdeçal) bitkisinin rizomundan elde edilen sarı renkli doğal bir polifenoldür. Yaklaşık 3000 yıldır başta Güney Asya olmak üzere birçok bölgede geleneksel bitkisel tıpta sağlık yararları ile uzun süredir kullanılmaktadır. Ayrıca boyar madde olarak da kullanılmaktadır.

Kimyasal olarak $C_{21}H_{20}O_6$ formülüne ve 368,37 g/mol moleküler ağırlığa sahip olan bu bileşik, *1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion* adıyla tanımlanır ve bis-doymamış β -diketon yapısında olup keto-enol tautomerizmi sergiler. Asidik ve nötr ortamlarda keto formu baskınken, bazik koşullarda daha kararlı olan enol forma geçiş yapar. Enol formunun termodinamik olarak daha kararlı olması, iç hidrojen bağları ve konjüge sistem yapısıyla ilişkilidir. Kurkumin, nötr ve sulu ortamlarda kimyasal olarak kararsız olup, ferulik asit, vanilin ve diğer fenolik türevlerine hızlı hidrolitik bozulmaya uğrar. Ayrıca ışığa maruz kaldığında oksidatif ve fotokimyasal degradasyona karşı yüksek duyarlılık göstermesi, stabilitesini ve terapötik kullanım süresini

sınırlamaktadır. Fizyolojik pH (7,4) ve 37 °C'de yaklaşık 1–2 saatlik kısa bir yarı ömre sahipken, bazı yapısal analogları daha yüksek stabilite sergiler. Kurkumin, suda düşük çözünürlük göstermesine rağmen (yaklaşık 11 µg/mL), metanol, etanol, aseton ve DMSO gibi organik çözücülerde çözünür (Hao & Zhang, 2025; Yan vd., 2025).



Şekil 1. Kurkumin kimyasal yapısı

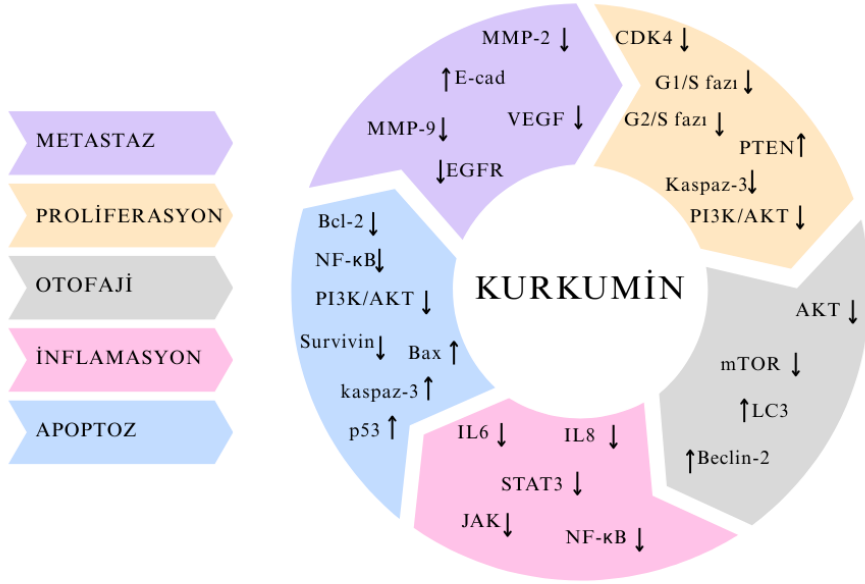
Biyolojik ve Terapötik Etkiler

Kurkumin literatürde antiinflamatuvar, antioksidan, antikoagülan, antihiperlipidemik, antiaterosklerotik, antimutajenik ve antitümör etkileriyle öne çıkmaktadır (Yan vd., 2025). Bu bileşiğin terapötik etkileri uzun süredir bilinmekle birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalar özellikle antikanser özelliklerinin aydınlatılmasına ve altta yatan moleküler mekanizmaların açıklanmasına odaklanmıştır.

Antikanser Etki ve Mekanizmaları

Kurkumin, hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda çeşitli mekanizmalar aracılığıyla antikanser etkiler göstermektedir. *In vitro* çalışmalar, kurkuminin geniş bir kanser hücre yelpazesinde proliferasyonu inhibe ettiğini ve apoptozu indüklediğini ortaya koymuştur. Apoptozun moleküler temellerinin anlaşılması kanser araştırmalarında önemli bir hedeftir (Bilici vd., 2025). Araştırmalar, kurkuminin meme, pankreas, kolorektal ve prostat kanserleri gibi çeşitli maligniteler üzerinde terapötik potansiyel taşıdığını göstermektedir. Kurkuminin antikanser etkileri mesane, karaciğer, akciğer, serviks, over, böbrek, beyin, kemik iliği ve deri gibi çok sayıda malign tümör hücre hattında da gözlemlenmiştir. Ayrıca, kurkuminin *in vitro* ortamda, çeşitli kemoterapötik ajanların ve iyonize radyasyonun terapötik etkinliğini potansiyelize ettiği gösterilmiştir. Bu sinerjistik etkiler, kurkumini kombinasyon tedavilerine uygun bir adjuvan ajan olarak ön plana çıkarmaktadır. *In vivo* modellerde ise

kurkumin, hem kanser gelişiminin önlenmesinde hem de mevcut tümörlerin tedavisinde etkili bir biyoaktif bileşik olarak değerlendirilmiştir (Kunnumakkara vd., 2008; Belete & Beyna, 2025; Yan vd., 2025).



Şekil 2. Kurkuminin antikanser etki mekanizmaları

Kurkumin, tümör oluşumunda ve progresyonunda rol oynayan çok sayıda moleküler hedefi modüle etme kapasitesine sahiptir. Bu polifenolik bileşik; başta NF-κB ve STAT3 gibi transkripsiyon faktörleri, çeşitli büyüme faktörleri, TNF-α ve IL-6 gibi inflamatuvar mediatörler ile Bcl-2 ailesi üyeleri gibi apoptoz düzenleyicileri olmak üzere, hücresel sinyal iletiminde görevli pek çok biyomoleküllü hedef alır. Ayrıca, PI3K/Akt, MAPK ve Wnt/β-katenin gibi temel sinyal yolları üzerinde düzenleyici etkilere sahiptir. Kurkuminin bu çok yönlü etkileşim ağı, ona tümör başlangıcının, ilerlemesinin, anjiyogenez ve metastaz süreçlerinin inhibisyonuna yönelik yüksek terapötik potansiyel kazandırmaktadır (Hao & Zhang, 2025; Kunnumakkara vd., 2008).

NF-κB transkripsiyon faktörleri, hücre proliferasyonu, inflamasyon, apoptozdan kaçış ve tümör ilerlemesi gibi süreçlerde rol oynayan genlerin ekspresyonunu düzenler. Çeşitli tümör tiplerinde yapılan deneysel çalışmalar, TNF-α'nin kanser hücrelerinde programlanmış hücre ölüm ligandı 1 (PD-L1)

ekspresyonunu, COP9 sinyalosom altbirimi 5 (CSN5) aracılığıyla stabilizasyon yoluyla artırdığını ve böylece tümör mikroçevresinde immün baskılayıcı bir fenotip oluşturduğunu ortaya koymuştur. Kurkuminin, bu süreci inhibe edebildiği ve özellikle CSN5 aracılı PD-L1 stabilizasyonunu azaltarak antitümör immün yanıtı güçlendirdiği bildirilmiştir. Preklinik modellerde yapılan *in vivo* çalışmalar, kurkuminin tek başına veya anti-CTLA4 immün kontrol noktası inhibitör tedavisiyle kombine olarak uygulandığında, 4T1 meme kanseri, B16 melanom ve CT26 kolorektal karsinom modellerinde tümör büyümesini anlamlı düzeyde baskıladığını göstermiştir (Deng vd., 2020). NF- κ B'nin inhibisyonu, aynı zamanda kemoterapiye duyarlılığı artırarak sinerjik terapötik etki sağlar (Yan vd., 2025).

Kurkumin, tümör mikroçevresinde indüklenen T hücresi proliferasyonunun baskılanmasını önleyerek antitümör immün yanıtın sürekliliğini desteklemektedir. Bu bileşik, transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ve interlökin-10 (IL-10) gibi immünsüpresif sitokinlerin ekspresyonunu inhibe etmek suretiyle düzenleyici T hücre (Treg) aktivitesini anlamlı biçimde baskılamış; böylece efektör T hücrelerinin tümör hücrelerine karşı sitotoksik kapasitesini artırmıştır (Deng vd., 2020).

Fosfoinozidit 3-kinaz (PI3K) /protein kinaz B (Akt) /memeli rapamisin hedefi (mTOR) yolağı, yani PI3K/Akt/mTOR yolu, birçok kanser türünde düzensiz çalışan başlıca hücrel sinyal iletim yollarından biridir. PI3K/Akt/mTOR yolu, hücrel büyüme, hayatta kalma ve metabolizmanın kontrolünde yer alır; birçok tümörde bu yol anormal derecede aktive olmuştur. Kurkumin, bu yolun hem yukarı akış (PI3K, Akt) hem de aşağı akış (mTOR) bileşenlerini inhibe eder. Bu inhibisyon; hücre proliferasyonunun azalmasına, apoptoz ve otofajinin indüklenmesine yol açar (Ahmad vd., 2023).

STAT proteinlerinin özellikle fosforilasyon yoluyla aktive edilmesi, hücre proliferasyonu, anti-apoptotik mekanizmaların güçlendirilmesi ve metastatik kapasitenin artırılması gibi tümör destekleyici süreçleri tetiklemektedir. Bu bağlamda, STAT3 fosforilasyonunu inhibe eden ajanların, başta multipl miyelom ve pankreas kanseri olmak üzere çeşitli malignitelerde terapötik potansiyele sahip olduğu bildirilmektedir. Kurkumin, STAT3'ün fosforilasyonunu ve DNA'ya bağlanmasını inhibe ederek bu yolun transkripsiyonel aktivitesini etkili bir şekilde baskılar. Söz konusu etki, tümör hücrelerinde proliferasyonun azaltılması, metastatik özelliklerin zayıflatılması

ve apoptozun indüklenmesi ile sonuçlanmaktadır (Yan vd., 2025). Bu mekanizmalara ilişkin deneysel veriler, kurkuminin multipl miyelom hücre hatlarında STAT3 aktivasyonunu ve nükleer translokasyonunu engellediğini göstermektedir (Kunnumakkara vd., 2008). Kanser tedavisinde karşılaşılan en büyük engellerden biri olan kemoterapi direncinin, STAT3 ve onun önemli hedef genlerinden biri olan Survivin'in anormal aktivasyonu ile ilişkili olabileceği öngörülmektedir. Yürütülen çalışmalarda, kurkuminin hem STAT3 hem de Survivin'in patolojik düzeydeki ekspresyonunu doz bağımlı bir şekilde baskıladığı gösterilmiştir (Pandey vd., 2015). Bu durum, kurkuminin kanser tedavisinde kemoterapiye karşı gelişen direncin azaltılmasına katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

MiRNA'lar, gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel düzeyde kontrolünde görev alır ve kanser progresyonunda önemli rol oynarlar. Kurkumin, hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak farklı kanser hücrelerinde tümör baskılayıcı miRNA ve onko-miRNA ekspresyonunu düzenleyerek tümör ilerlemesi üzerinde kanser karşıtı etkiler gösterir. Kurkumin, miR-15a, miR-34a, miR-181b gibi tümör baskılayıcı miRNA'ları yukarı regüle ederken; kanserle ilişkili proliferasyonu baskılar ve apoptozu artırır. Bu miRNA'ların regülasyonu, Akt, p53, PTEN, Bcl-2 gibi önemli sinyal molekülleri üzerinden gerçekleştirilir. Kurkumin, miRNA'ların spesifik sekanslarına bağlanarak onların stabilitesini ve işlevini etkiler ve böylece hücre içi hedef gen ekspresyonunu modüle eder (Zhou vd., 2017).

Mide kanseri tedavisinde, kanser hücre proliferasyonunun inhibisyonu temel hedeflerden biridir ve bu doğrultuda hücre döngüsünün baskılanması yaygın bir terapötik strateji olarak benimsenmiştir. Yapılan çalışmalar, kurkuminin AGS insan mide kanseri hücre hattında G2 fazından S fazına geçişi inhibe ederek hücre döngüsünü durdurduğunu ve böylece hücre proliferasyonunu etkin biçimde engellediğini ortaya koymuştur. Ek olarak, kurkuminin hücre döngüsünün G1 fazından S fazına ilerlemesinde kilit rol oynayan siklin D1'in ekspresyonunu aşağı regüle ettiği gösterilmiştir. Bu mekanizma, hücresel büyümenin ve invaziv davranışların inhibisyonuna katkı sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, kurkuminin mide kanseri hücre hatları olan SGC-7901 ve BGC-823'te tümör baskılayıcı mikroRNA'lardan miR-33b'nin ekspresyonunu artırdığı ve bu yolak üzerinden hücre proliferasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca, kurkuminin miR-34a düzeylerini

düzenleyerek Bcl-2, CDK4 ve siklin D1 gibi hücre döngüsü ve apoptoz ile ilişkili genlerin ekspresyonunu modüle ettiği bildirilmiştir. Diğer çalışmalar da kurkuminin, ilgili genlerin mRNA düzeylerini baskılayarak mide kanseri hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiğini öne sürmektedir (Hao & Zhang, 2025).

Farmakokinetik Sınırlılıklar ve İyileştirme Stratejileri

Preklinik düzeyde güçlü antikanser etkileri ortaya konmuş olmasına rağmen, kurkuminin klinik uygulamaları; düşük suda çözünürlüğü, hızlı metabolizması, sınırlı sistemik biyoyararlanımı ve fizyolojik koşullardaki kimyasal kararsızlığı nedeniyle ciddi şekilde kısıtlanmaktadır. Farmakokinetik çalışmalar, oral yolla yüksek dozlarda alındığında bile plazmada yeterli terapötik düzeylere ulaşamadığını göstermektedir. Ayrıca, kurkuminin nötr ve alkali pH koşullarında hızla bozunması da terapötik potansiyelini sınırlandıran başlıca faktörlerden biridir. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek amacıyla kurkuminin yapısal modifikasyonu ile yeni türevleri sentezlenmekte ve antikanser etkileri araştırılmaktadır. Bu kapsamda kurkuminin florlu, alkillenmiş, monokarbonil süstitüe, okside, Deß-dion ve diğer çeşitli analogları sentezlenmiştir. Bu analogların kanser hücre hatları üzerinde kurkumine kıyasla artmış antikanser etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Kurkuminin klinik uygulanabilirliğinin artırılması için başvuru olan bir diğer yöntem kurkuminin nanoformülasyonlarının geliştirilmesidir. Bu amaçla geliştirilen lipozomlar, polimerik nanopartiküller, dendrimerler, miseller ve protein bazlı taşıyıcılar gibi nanoteknolojik sistemler; kurkuminin stabilitesini, çözünürlüğünü ve kontrollü salımını iyileştirmenin yanı sıra, tümör dokularında seçici birikimini de artırarak tedavi etkinliğini yükseltmektedir. Nanotaşıyıcılar ayrıca kemoterapötik ilaçların hedefe yönelik taşınmasını kolaylaştırmakta, yan etkileri azaltmakta ve biyoyararlanımı önemli ölçüde artırmaktadır. Bu bağlamda, kurkuminin nanoformülasyonları, terapötik etkilerinin maksimize edilmesi açısından umut vaat eden bir strateji olarak öne çıkmaktadır (Hao & Zhang, 2025; Shi vd., 2025; Yan vd., 2025).

Nanoteknolojik Yaklaşımlar ve Formülasyon Geliştirmeleri

Kurkumin yüklü nanomalzemelerin antikanser etkilerine ilişkin güçlü preklinik kanıtlar bulunmasına rağmen, bu bulguların klinik uygulamalara yansması hâlâ sınırlıdır. Kurkuminin düşük suda çözünürlüğü, hızlı

metabolizması ve zayıf biyoyararlanımı gibi farmakokinetik kısıtlılıklar, terapötik etkinliğini önemli ölçüde azaltmakta ve bu nedenle nanokapsülleme stratejilerinin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. Bu kapsamda geliştirilen en dikkat çekici formülasyonlardan biri olan NanoCurc™, polimerik nanopartikül kapsüllenmiş kurkumin içermektedir. Preklinik çalışmalar, pankreas kanseri modellerinde NanoCurc™'ün terapötik etkinliğini artırdığını göstermektedir. Özellikle parenteral yolla uygulanan NanoCurc™, serbest kurkuminin düşük sistemik biyoyararlanımı gibi temel sınırlamalarını aşarak etkinliğini korumaktadır. Yapılan *in vivo* çalışmalar, NanoCurc™'ün hem subkutan hem de ortotopik pankreas tümör modellerinde tümör büyümesini baskıladığını göstermiştir. Subkutan ksenograftlarda histolojik tümör gerilemesi gözlemlenmiş; ortotopik modellerde ise NanoCurc™'ün gempitabin ile kombinasyonu sonucunda oluşan metastazların tamamen ortadan kalktığı bildirilmiştir. Bu durum, NanoCurc™'ün kemoterapötik etkinliği artırma potansiyeline işaret etmektedir. Moleküler düzeyde ise NanoCurc™, serbest kurkumin ile benzer şekilde NF- κ B başta olmak üzere çeşitli hücre içi sinyal yollarını inhibe ederek antitümör etkilerini göstermektedir (Bisht vd., 2010; Yan vd., 2025). Bu bulgular, nanoformülasyonların yalnızca farmakokinetik avantaj sağlamadığını, aynı zamanda kemoterapi ile kombine kullanımlarda sinerjik etki oluşturabileceğini de ortaya koymaktadır.

Kurkuminin biyoyararlanımını artırmak amacıyla geliştirilen lipozomal formülasyonlardan biri olan LipoCurc™, SignPath Pharma tarafından üretilmiş ve Polymun Scientific (Avusturya) tarafından GMP koşullarında test edilip hazırlanmıştır. Bu formülasyon, intravenöz uygulama için geliştirilmiş olup sistemik dağılımı ve etkinliği artırmayı hedeflemektedir. Bu formülasyonun güvenlik ve etkinlik profili, Faz 1a ve Faz 1b klinik denemeleri kapsamında değerlendirilmiştir. Klinik doz aralıklarında uygulanan LipoCurc™, her iki fazda da iyi tolere edilmiş, düşük toksisite ve minimal yan etki profili sergilemiştir. Özellikle Faz 1b denemesinde, daha önce birçok yoğun tedavi protokolüne maruz kalmış olan ileri evre kurtarma hastalarında bile klinik etkinliğe dair umut verici göstergeler elde edilmiştir. Bu umut verici sonuçların ardından, glioblastoma hastalarında birinci basamak tedavi olarak LipoCurc™ kullanımını araştıran Faz II klinik denemesi başlatılmıştır ("Liposomal Curcumin for Treatment of Cancer", t.y.). Bu çalışma, lipozomal kurkuminin yalnızca farmakokinetik iyileştirmeler sağlamadığını, aynı zamanda tedaviye

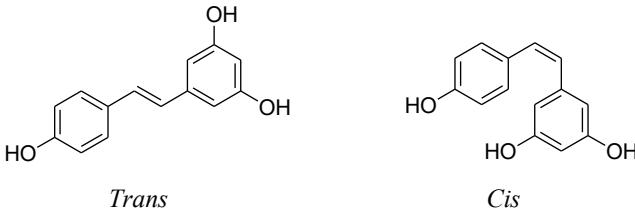
dirençli kanserlerde bile klinik yanıt üretme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, kurkumin içeren polimerik nanopartiküller de klinik test aşamasına geçmiştir. İleri evre solid tümörlü hastalarda değerlendirilen CUC-EL adlı kurkumin yüklü polimerik misel formülasyonu, serbest kurkuminle karşılaştırıldığında daha yüksek biyoyararlanım ve daha uzun sistemik dolaşım süresi sağlamıştır (Yan vd., 2025).

Resveratrol

Kimyasal Yapı ve Fizikokimyasal Özellikleri

Resveratrol (RES), stilben ailesine ait, iki fenolik halkayı birbirine bağlayan bir etilen köprüsü içeren polifenolik bir bileşiktir. Kimyasal adı 5-[(1E)-2-(4-hidroksifenil)etenil]-1,3-benzenediol, moleküler formülü $C_{14}H_{12}O_3$ ve moleküler ağırlığı 228,2 g/mol'dür. RES, başlıca trans-RES ve cis-RES olarak iki geometrik izomerik formda bulunur. Trans izomer, cis izomere kıyasla daha kararlı yapıda olup daha yaygın olarak bulunur. Daha kararlı ve biyolojik olarak baskın olan trans form, ultraviyole radyasyon, yapay ışık veya güneş ışığı gibi fiziksel etmenler altında cis forma izomerleşebilir. RES'in glikozidik formdaki türevleri, örneğin trans-RES-3-O- β -D-glukozit, özellikle üzüm, üzüm suyu ve şarapta yüksek miktarlarda bulunur. Glikozilasyon süreci, bileşiğin enzimatik oksidasyona karşı korunmasını sağlayarak kimyasal stabilitesini ve biyolojik aktivitesini artırır (Rostami vd., 2024).



Şekil 3. Resveratrolün kimyasal yapıları

Trans-RES (T-RES), oda sıcaklığında (erime noktası 254 °C) kirli beyaz renkli bir toz olup, çoğunlukla alkollerde çözünür. Çözünürlüğü, alkolün karbon zinciri uzunluğuna bağlı olarak azalır. Kararlılığı ve çözünürlüğü pH ve sıcaklıktan önemli ölçüde etkilenir (Intagliata vd., 2019). Suda çözünürlüğü düşük olup, pH 7,4 ve 37 °C'de 21 µg/mL olarak bildirilmiştir (Cadena vd.,

2013). Bu fizikokimyasal özellikler, özellikle düşük suda çözünürlük, bileşiğin biyoyararlanımı ve ilaç benzerliği üzerinde sınırlayıcı bir etkiye sahiptir.

Biyosentetik Köken ve Bitkisel Dağılım

Fenolik bileşikler grubunun önemli üyelerinden biri olan stilbenler içinde yer alan RES, bitkilerde fitoaleksin olarak sentezlenir. Bu sentez, biyotik faktörler (bakteriyel ve fungal patojenler) ve abiyotik faktörler (ultraviyole ışınım, mekanik yaralanma, sıcaklık stresi vb.) karşısında bitki savunma mekanizmasının bir parçası olarak tetiklenir (Mohammed vd., 2025).

RES, Moraceae, Polygonaceae, Leguminosae, Pinaceae, Rosaceae, Myrtaceae ve Gramineae gibi çok sayıda bitki familyasında doğal olarak rapor edilmiştir. Üzüm (*Vitis vinifera*), fıstık (*Arachis hypogaea*), dut (*Morus spp.*), yaban mersini (*Vaccinium spp.*), kıızılcık (*Vaccinium macrocarpon*) gibi yenilebilir bitkiler RES'in önemli kaynaklarıdır. Üzüm kabuğunda RES üretimi, mantar enfeksiyonlarına karşı gelişen bir savunma yanıtı olup, patojen maruziyetinin şiddeti arttıkça bileşik düzeylerinde artış gözlenmektedir (Mohammed vd., 2025; Yousefi vd., 2025).

RES'in Farmakokinetik Özellikleri ve Biyoyararlanım Sınırlamaları

RES, suda düşük çözünürlüğü, kimyasal kararsızlığı ve biyolojik membranlardan sınırlı geçişi gibi farmasötik kısıtlılıklar nedeniyle düşük biyoyararlanıma sahiptir. Oral yolla uygulandığında RES hızla emilmekle birlikte, gastrointestinal sistem ve hepatik metabolizma yoluyla hızlı biyotransformasyona uğramaktadır. Bu süreçte başlıca metabolizma yolları glukuronidasyon ve sülfatlama olup, en yaygın metabolitler sülfat konjugatlarıdır. Bu konjugatlar plazmada lipoprotein ve albümine bağlanarak taşınmaktadır. Farmakokinetik açıdan, RES'in yarı ömrünün çok kısa olması sistemik biyoyararlanımını önemli ölçüde azaltmaktadır. Biyoyararlanımın önündeki temel engeller, bağırsak mukozasında ve karaciğerde gerçekleşen yoğun metabolik dönüşüm süreçleridir. Uzun süreli toksisite çalışmalarında iyi tolere edilebiliyor olsa da, hızlı metabolizma ve düşük çözünürlük, bileşiğin doğrudan tüketimle elde edilen terapötik etkinliğini sınırlayan başlıca faktörlerdir (Kursvietiene vd., 2023; Rostami vd., 2024).

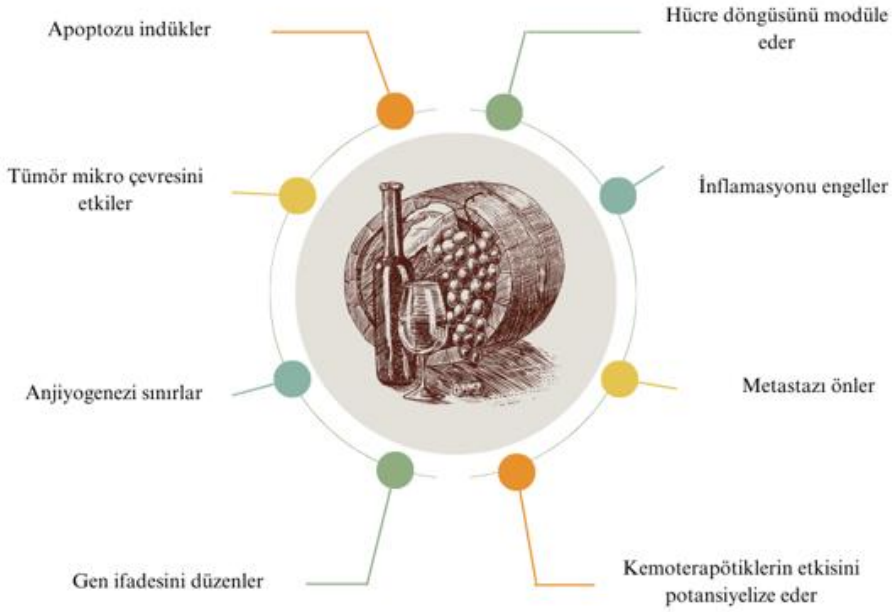
Biyolojik ve Terapötik Etkiler

Güncel çalışmalar, RES'in çeşitli yararlı biyolojik etkilerini ortaya koymuştur. Bu etkiler arasında yaşlanma karşıtı, antiinflamatuvar, nöroprotektif, hepatoprotektif, kardiyoprotektif, antidiyabetik, antioksidan ve antikanser aktiviteler yer almaktadır. RES, karaciğer hücrelerini oksidatif hasara karşı korur, böbrek fonksiyonlarını destekler ve diyabet, Alzheimer hastalığı ile diğer kronik hastalıkların tedavisinde yardımcı bir ajan olarak değerlendirilmektedir (Hedayati vd., 2025; Mohammed vd., 2025).

Antikanser Etki Mekanizmaları

RES, farklı tümör tiplerinde güçlü antitümör etkileri gösteren çok hedefli bir antineoplastik ajandır. Kanser gelişiminin tüm aşamalarında etkili olan kritik hücresel sinyal yollarını modüle ederek tümör oluşumunu önemli ölçüde engeller. Özellikle kanserin erken evrelerinde RES'in anjiyogenez, inflamasyon, apoptoz, metastaz, hücre proliferasyonu ve bölünmesini kontrol eden sinyal mekanizmaları üzerindeki düzenleyici etkileri dikkat çekicidir. Ayrıca, kanser hücrelerindeki kemoresistansı azaltarak antikanser tedavilere duyarlılığı artırmakta ve düşük doz kemoterapötik ajanların etkinliğini yükseltmektedir (Mohammed vd., 2025). RES'in, miyeloid ve lenfoid kanserler, meme, cilt, rahim ağzı, yumurtalık, mide, prostat, kolon, karaciğer, pankreas ve tiroid karsinomu hücreleri dahil olmak üzere insan tümör hücreleri için sitotoksik olduğu gösterilmiştir (Niedzwiecki vd., 2016; Hedayati vd., 2025).

RES hem antioksidan hem de prooksidan özellikler gösterir. Normal fizyolojik koşullar altında ROS'u nötralize ederek hücreleri oksidatif strese korur. Kanser hücrelerinde ise prooksidan etki gösterir ve seçici olarak kanser hücrelerinde oksidatif stres oluşturarak hücre hasarına neden olur. RES, düşük ila orta dozlarda hücrelerin hayatta kalmasını destekleyen proteinlerin üretimini artırırken, daha yüksek dozlarda nekroz veya apoptoz indükleyerek tümör hücrelerinin ölümüne neden olur (Iqbal vd., 2025).

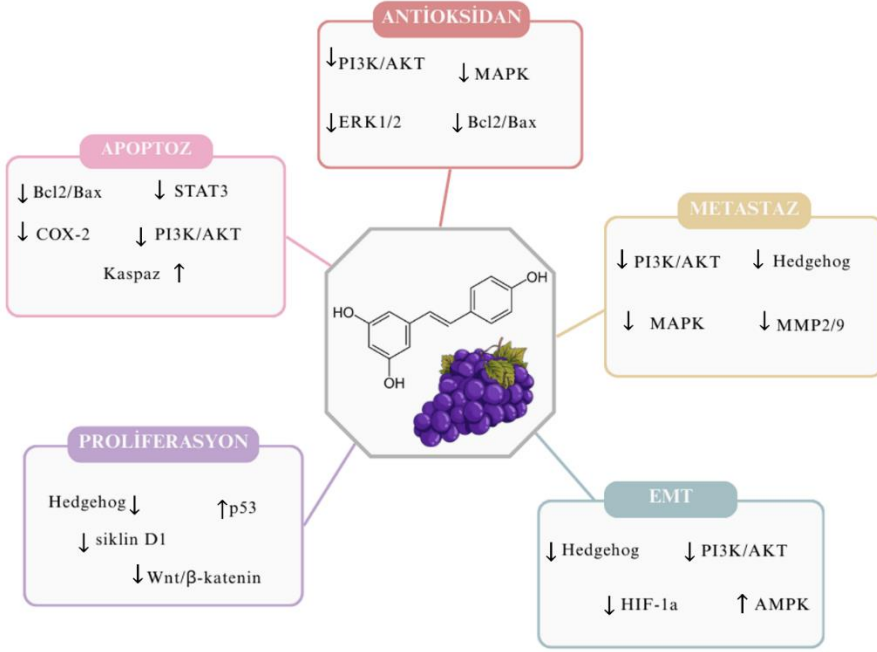


Şekil 4. Resveratrolün antikanser etkileri

Bulgular, RES'in transkripsiyon faktörleri, hormon reseptörleri, kaspazlar, siklooksijenazlar, siklinler, sirtuinler, interlökinler ve benzeri pek çok moleküler hedef üzerinde düzenleyici etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. TGF/SMAD, STAT3, NF- κ B, PI3K/Akt/mTOR, MAPK, AMPK/mTOR, ve PGC-1 α gibi kritik moleküler yollar, RES'in hedef aldığı başlıca sinyal mekanizmaları olarak tanımlanmıştır (Kursvietiene vd., 2023). RES'in, özellikle vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve antiapoptotik Bcl-2 proteinlerinin ekspresyonunu inhibe ettiği; tümör baskılayıcı fosfataz ve tensin homologu (PTEN) seviyelerini artırdığı; Akt sinyal yollarını ve STAT3'ün nükleer translokasyonunu azalttığı gösterilmiştir. RES'in, PTEN modülasyonu ve Akt fosforilasyonu gibi bu yolların çeşitli bileşenlerini hedefleme kapasitesi, özellikle tedaviye dirençli kanser türlerinde mevcut sınırlamaları aşmak için kapsamlı bir strateji sunmaktadır. Bunlara ek olarak, deneysel çalışmalar RES'in SMAD fosforilasyonunu inhibe ettiğini ve bu sayede hem hücre proliferasyonunu hem de metastazı baskıladığını ortaya koymuştur (Hedayati vd., 2025; Mohammed vd., 2025).

RES'in, miRNA-21 ekspresyonunu düzenleyerek prostat ve pankreas kanserinde hücre büyümesini ve metastazı inhibe ettiği bildirilmiştir (Su vd.,

2022). Ayrıca hepatoselüler karsinom (HCC) hücrelerinde membran ilişkili halka-ch-tipi parmak 1 (MARCH1) gen ekspresyonunu aşağı yönde regüle ederek hücre büyümesini inhibe ettiği tespit edilmiştir(Mohammed vd., 2025).



Şekil 5. Resveratrolün antikanser etki mekanizmaları

RES, p53 aracılı mekanizmaları hedef alarak genotoksik stres altında hücrelerin apoptoz yanıtını artırır ve böylece kanser hücrelerinin yok edilmesini kolaylaştırır. p53 aktivasyonu, apoptoz, DNA onarımı ve hücre döngüsü durması için gerekli hedef genlerin transkripsiyonunu tetikler (L. Zhao & Sanyal, 2022). Bu genler arasında pro-apoptotik etkileriyle tanınan PUMA (p53 upregulated modulator of apoptosis) ve Bcl2 ile ilişkili X protein (Bax) bulunur. RES, p53 tarafından düzenlenen bu genlerin ifadesini artırarak apoptotik süreci güçlendirir. DeneySEL veriler, RES'in Bax ekspresyonunu artırdığını, kaspaz-3'ün aktivasyonunu tetikleyerek hücre canlılığını azalttığını ve anti-apoptotik Bcl2 proteinini inhibe ettiğini göstermektedir. Aynı zamanda p53 seviyelerinde doza bağlı artışa yol açarak apoptozu teşvik eder. Bu moleküler etkiler, RES'in kanser hücrelerinde selektif olarak apoptotik hücre ölümünü indükleyerek antikanser aktivite göstermesinin temelini oluşturur(Z. Liu vd., 2019).

RES'in Stabilitesini ve Antikanser Etkinliğini Yükseltmeye Yönelik Nanoformülasyon Stratejileri

RES'in suda düşük çözünürlüğü, kimyasal stabilitesinin zayıf olması, sınırlı biyoyararlanımı ve *in vivo* metabolizmasının hızlı olması çeşitli uygulamalarda karşılaşılan temel kısıtlamalardır. Ayrıca, RES'in oksijen, ışık ve sıcaklık gibi çevresel faktörlere duyarlılığı hem molekülün biyolojik fonksiyonunda hem de biyoyararlanımında azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenlerle, RES'in farmakokinetik özelliklerini iyileştirmek ve biyoyararlanımını artırmak amacıyla farklı stratejiler ve formülasyon teknikleri geliştirilmiştir.

RES'in iletimi için geliştirilen yeni nanoformülasyonlar arasında polimerik nanopartiküller, lipozomlar, miseller, metalik nanopartiküller ve katı lipid nanopartiküller bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar bu ve bu gibi çeşitli yenilikçi taşıma sistemlerinin, RES'in antikanser etkinliği dahil olmak üzere biyolojik faydalarını artırdığını göstermektedir. Bu sistemler, RES'in stabilitesini, suda çözünürlüğünü, biyolojik membranlardan geçişini ve kanser hücrelerine daha etkin nüfuz etmesini sağlamaktadır (Annaji vd., 2021).

PEG ve polilaktik asit (PLA), RES'in stabilitesini artırmak ve *in vivo* kanser tedavisinde kontrollü salım sağlamak amacıyla polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılmıştır. CT26 kolon kanseri hücreleri üzerinde yapılan *in vitro* deneylerde, RES yüklü nanopartiküllerle (RES-NP) tedavi edilen hücrelerde kontrol grubuna kıyasla hücre sayısında ve koloni oluşturma kapasitesinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca, CT26 tümörlü farelere intravenöz olarak uygulanan RES PEG-PLA nanopartikülleri sonucunda tümör büyümesinde belirgin bir azalma ve farelerin yaşam süresinde eş zamanlı bir artış tespit edilmiştir (Jung vd., 2015). Transferrin ile fonksiyonelleştirilmiş PEG-PLA nanopartiküller, glioma tedavisinde anti-kanser aktiviteyi yükseltmiş, tümör hacmini küçültmüş ve yaşam süresini uzatmıştır. Lipid çekirdekli nanokapsüller, beyin glioma modellerinde tümör boyutunu azaltırken RES'in kan-beyin bariyerini geçişini ve plazma proteinlerine bağlanmasını artırmıştır (Intagliata vd., 2019).

Lipozomal polimerik nanopartiküllere (LPN) birlikte enkapsüle edilen RES ve dosetaksel, akciğer kanseri modellerinde hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda düşük sistemik toksisite ile tümör büyümesini ve boyutunu azaltmış, tümör hücrelerinin canlılığını baskılamıştır (Annaji vd., 2021). T-RES

için pH duyarlı bir ilaç taşıma sistemi olarak sodyum aljinat kaplı altın nanopartikülleri (SAu NP) geliştirilmiştir. MCF-7 meme kanseri hücrelerine karşı yapılan *in vitro* deneylerde, T-RES SAu NP'ler belirgin antikanser etkinlik sergilemiş; hücre canlılığını belirgin oranda düşürmüştür (Iqbal vd., 2025). Kolon kanseri hücrelerinde sitotoksiteyi artırmak amacıyla RES yüklü kolloidal mezoporöz silika nanopartiküller geliştirilmiştir. Bu nanoformülasyon, saf RES'den iki kat daha yüksek çözünürlük sağlamış ve salınım süresini uzatmıştır. Ayrıca, HT-29 ve LS147T kolon kanseri hücre hatlarına karşı gösterdiği sitotoksite, formüle edilmemiş RES'den anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur (Annaji vd., 2021).

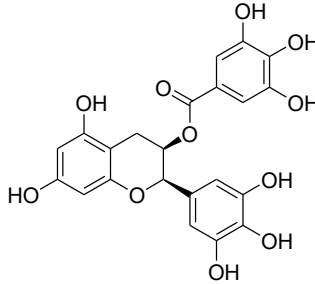
RES'in kısıtlılıklarının giderilmesi ve kolorektal kanser üzerindeki etkinliğinin artırılması amacıyla RES yüklü zein nanopartiküller (RES-ZN NP) geliştirilmiştir. Geliştirilen RES-ZN NP'ler, HCT-116 kolorektal karsinom hücrelerine karşı serbest RES'e kıyasla anlamlı derecede düşük IC₅₀ değeri ve daha yüksek hücresel alım kapasitesi göstermiştir. Hücre döngüsünde G₂-M ve pre-G₁ fazlarında artış ile ilişkili olarak apoptoz indüklenmiş; bu süreç NF-κB ve miRNA-125b ekspresyonunun azalması, kaspaz-3 ve parçalanmış kaspaz-3 ekspresyonunun artışı ile desteklenmiştir. RES-ZN NP'ler ayrıca ROS üretimi ve eNOS seviyelerini yükselterek oksidatif stresi tetiklemiştir. Bu bulgular, RES-ZN NP'lerin HCT-116 hücrelerinde hücre döngüsü inhibisyonu ve oksidatif stres aracılığıyla RES'in kemopreventif etkinliğini artırdığını ortaya koymaktadır (Khayat vd., 2022).

RES'in etkinlik ve biyoyararlanımını arttırmak için yapılan çeşitli formülasyon geliştirme çalışmalarında olumlu sonuçlar elde edilmiştir. PLGA bazlı nanopartiküller, serbest RES'e kıyasla biyoyararlanımı belirgin biçimde iyileştirirken; galaktozile PLGA nanopartiküller yalnızca biyoyararlanımı artırmakla kalmayıp, intestinal geçirgenliği ve transsellüler taşınmayı da güçlendirmiştir. Kitosan türevlerine dayalı nanopartiküller RES'in suda çözünürlüğünü ve antioksidan aktivitesini artırarak biyoyararlanım üzerinde olumlu etkiler sağlamıştır. N-trimetil kitosan-palmitik asit konjugatı ile modifiye edilmiş katı lipid nanopartiküller (SLN), RES'in biyoyararlanımını yükseltmiş ve enzimatik/kimyasal degradasyonunu önlemiştir. Poloksamer 188 kaplı SLN'ler, oral uygulama sonrası etkinlik ve biyoyararlanımda artış sağlamıştır. SLN ve nanoyapılı lipid taşıyıcı sistemleri, kontrollü salım özelliği sayesinde RES'in degradasyonunu engellemiştir (Intagliata vd., 2019).

Epigallokateşin-3-gallat (EGCG)

EGCG: Kimyasal Yapı ve Biyokimyasal Özellikleri

Epigallokateşin gallat (EGCG; $M_a = 458,372$ g/mol), *Camellia sinensis* ve çeşitli diğer bitkilerde ikincil metabolitler olarak bulunan polifenolik bileşikler sınıfındaki kateşin ailesine dâhildir (Krupkova vd., 2016). EGCG, yeşil çayda tanımlanmış kateşinler arasında en iyi karakterize edilmiş ve en kapsamlı biçimde araştırılmış olanıdır. EGCG'nin kimyasal yapısı; aromatik hidroksil grupları içeren A ve B olarak adlandırılan iki aromatik halka, hidroksil grubu içeren C halkası ve bu halkaları bağlayan dihidropiran yapısındaki heterosiklik köprüden oluşmaktadır (C. S. Yang vd., 2009). Yeşil çayın diğer başlıca kateşinleri arasında (-)-epigallokateşin (EGC), (-)-epikateşin-3-galat (ECG) ve (-)-epikateşin (EC) yer almaktadır (Amarowicz & Pegg, 2019). Bu bileşikler, B halkasında dihidroksil veya trihidroksil grupları, A halkasında m-5,7-dihidroksil grubu ile karakterize edilir. Bu gruplara ek olarak EGCG ile ECG'de D halkasında gallat grubu ikamelidir. Antioksidan aktivite, B halkasındaki hidroksil grupları ile başlatılırken, gallat grubunun varlığı bu etkiyi artırır. B halkasındaki dihidroksi/trihidroksi yapılar antioksidan aktiviteye katkıda bulunmakla birlikte alkali veya nötr pH'da oksidasyona duyarlılığı artırır (Dhatwalia vd., 2018; C. S. Yang vd., 2009).



Şekil 6. EGCG kimyasal yapısı

EGCG'nin moleküler yapısı, elektron delokalizasyonunu kolaylaştırarak serbest radikal temizleme kapasitesinin korunmasına katkıda bulunur. Bu özellik, EGCG'nin süperoksit radikali, hidroksil radikali, nitrik oksit, azot dioksit ve peroksinitrit gibi çeşitli ROS'lar ile reaksiyona girebilmesini mümkün kılmaktadır. Ayrıca, EGCG dâhil olmak üzere kateşinler, metal iyonlarına karşı güçlü şelatlama ajanları olarak işlev görerek birçok bileşiğin otooksidasyon sürecinden kaynaklanan ROS oluşumunu engeller. Polifenolik

yapı, hidrojen bağı oluşturma kapasitesi sayesinde çay kateşinlerinin su molekülleri ile büyük bir hidrasyon kabuğu oluşturmaya, proteinler ve nükleik asitler ile güçlü bağlar kurmasına imkân tanır (Dhatwalia vd., 2018).

EGCG'nin Stabilitesi ve Metabolizması

EGCG, genellikle oral yolla alındığında insan vücudunda kararsız bir yapıya sahiptir ve bu durum biyoyararlanımının düşük olmasına neden olur. EGCG'nin stabilitesi oksijen konsantrasyonu, pH değeri, sıcaklık ve iyonik güç gibi çevresel parametrelerden önemli ölçüde etkilenmektedir. Ayrıca, EGCG'nin sulu ortamdaki stabilitesi başlangıç konsantrasyonuna ve otooksidasyonunu önleyebilen antioksidanların varlığına da bağlıdır. EGCG'nin düşük stabilitesi, özellikle nötr veya alkali pH ortamlarında gerçekleşen epimerizasyon ve otooksidasyon reaksiyonları sonucunda ortaya çıkar. Vücutta, EGCG ağırlıklı olarak gastrointestinal sistem ve karaciğerde metabolize olur; burada çeşitli enzimler (esterazlar, UDP-glukuronosiltransferaz, fenolsülfotransferaz ve katekol-O-metiltransferaz) aracılığıyla glukuronidasyon, sülfatlanma ve O-metilasyon gibi dönüşümler gerçekleşmektedir. Ortaya çıkan metabolitler, plazma, idrar ve safra gibi biyolojik sıvılarda tespit edilebilmekte ve bazı durumlarda ana bileşiğin biyolojik aktivitelerini koruyabilmektedir. Bu metabolik ve kimyasal değişiklikler, EGCG'nin organizmadaki etkinliği ve biyoyararlanımı üzerinde belirleyici bir rol oynamaktadır (Krupkova vd., 2016).

Biyolojik Özellikleri ve Terapötik Potansiyeli

Çayın hastalıkların önlenmesinde, metabolik sendromun hafifletilmesinde ve vücut ağırlığının kontrolünde sağladığı faydalar kapsamlı biçimde araştırılmıştır. Çeşitli epidemiyolojik araştırmalar, yeşil çay tüketiminin ateroskleroz ve koroner kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, düzenli çay tüketiminin yüksek kan kolesterol düzeyleri ile hipertansiyon gelişme riskini azalttığına dair bulgular da mevcuttur. Bu koruyucu etkiler, deneysel hayvan modellerinde yapılan çalışmalarla da desteklenmekte ve yeşil çayın ateroskleroza karşı etkileri doğrulanmaktadır (Mukhtar & Ahmad, 2000). Bunun yanı sıra literatürde, EGCG'nin diyabet, Parkinson hastalığı, Alzheimer, inme, obezite ve kanser gibi çeşitli kronik hastalıklarda koruyucu ve tedavi edici potansiyele sahip olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu hastalıklar genellikle

ROS üretiminde artış ve/veya hücreSEL antioksidan savunma mekanizmalarındaki yetersizlikle karakterize edilmektedir. EGCG'nin, ROS'un neden olduğu oksidatif hasarı azaltma yeteneği, bu klinik rahatsızlıkların önlenmesi ve yönetiminde kritik bir rol oynamaktadır (Dhatwalia vd., 2018; Krupkova vd., 2016).

EGCG'nin Antikanser Etkileri ve Moleküler Mekanizmaları

EGCG hem kanser gelişimini önleyici hem de mevcut kanserin tedavisinde potansiyel etkileriyle dikkat çeken biyolojik olarak aktif bir bileşiktir. EGCG'nin, çeşitli *in vitro* kanserle ilişkili moleküler hedefler üzerindeki ve potansiyel kemoprevensiyon ile tedavi amacıyla kullanılan *in vivo* modellerdeki etkilerini değerlendirmek üzere çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. EGCG'nin, kanserin başlangıcı, ilerlemesi ve metastazında kritik rol oynayan çok sayıda sinyal proteinini hedefleyebilme kapasitesine sahip olduğu ve bu sayede kemoprevensif etki gösterebileceği öngörülmektedir. Özellikle, tümör oluşum sürecinin erken evrelerinde görev alan transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonunu önemli ölçüde modüle edebilmekte; aynı zamanda, tümör büyümesi ve progresyonunda rol alan çeşitli büyüme faktörlerinin ekspresyonunu inhibe etme potansiyeli taşımaktadır.

EGCG, başta DNA ve proteinler olmak üzere temel makromoleküllerin yapısını bozabilen serbest radikallere karşı etkili bir temizleyici olarak işlev görmektedir. Bu serbest radikal süpürücü kapasite, EGCG'ye düşük indirgeme potansiyeli kazandıran ve dolayısıyla elektron salınımında yüksek verimlilik sağlayan galloil gruplarının varlığından kaynaklanmaktadır (Sehgal vd., 2023). EGCG, proapoptotik, antianjiyojenik ve kanser kök hücrelerinin kendini yenilemesini baskılayıcı özellikleri ile güçlü bir antikanser fitokimyasal olarak değerlendirilmektedir.

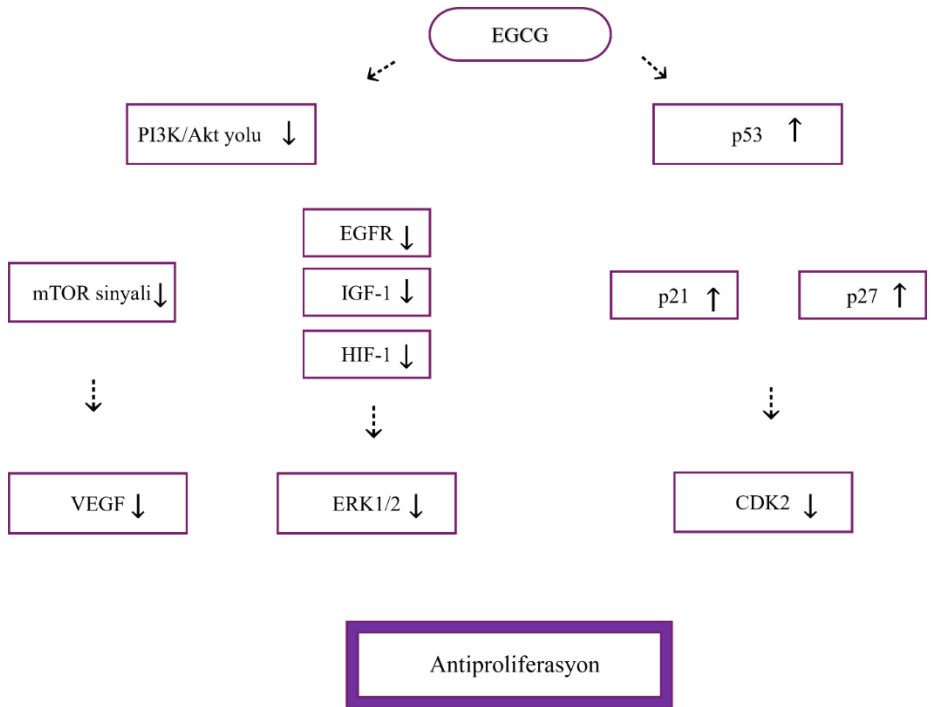
EGCG kanser hücrelerinde apoptozu hem içSEL (mitokondriyal) yol (kaspaz-3/7/9, sitokrom C, Apaf-1) hem de dışSEL yol (FasL, TNF α) üzerinden indüklemektedir. Ayrıca apoptozun düzenlenmesinde rol oynayan BCL-2, BAX, BCL-XL, BCL-XS ve PUMA gibi çeşitli proteinleri etkilemektedir (Rady vd., 2018). EGCG çeşitli moleküler mekanizmalar ile G0/G1 fazı hücre döngüsü durmasını indükleyebilmektedir (J. Zhang vd., 2024). Moleküler düzeyde EGCG, membran reseptörlerine yüksek bağlanma afinitesi göstererek kanserin ilerlemesi sürecinde hücre bölünme mekanizmalarına doğrudan

müdahalede bulunmaktadır. Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü (VEGFR), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) reseptörü ve çeşitli kinazlar dâhil olmak üzere birçok büyüme faktörü reseptörünün aktivitesini düzenleyebildiği bildirilmiştir (Rady vd., 2018). EGCG, trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörüne (PDGFR) spesifik olarak bağlanarak düz kas hücrelerinde sinyal iletimini bozmakta ve tirozin fosfatazları inhibe etmesi sayesinde kanser hücrelerinin proliferasyonu için elverişli koşulları ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca, insülin reseptörlerinin hidrojen peroksit aracılı fosforilasyonunu indüklemeye yeteneği, bu proliferatif süreçlerin daha da baskılanmasına katkı sağlamaktadır (Dhatwalia vd., 2018).

EGCG'nin laminin reseptörü (67LR) ve Bcl-2 proteinlerinin ekspresyonunu artırdığı da rapor edilmiştir; bu durum, kanser hücrelerinin EGCG'ye verdiği yanıt açısından kritik öneme sahiptir. Özellikle 67LR aracılığıyla apoptozu indükleyerek tümör hücrelerini seçici olarak hedefleyebilmesi, EGCG'nin tedavi sürecinde sağlıklı hücrelere minimal etki gösteren bir ajan olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. Farklı hücre hatlarında EGCG'nin JUN N-terminal kinaz, JUN, MEK1, MEK2, ERK1, ERK2, ELK1 (Ets-benzeri protein 1) ve RAF1 kinazlarının fosforilasyonunu azalttığı bildirilmektedir (Dhatwalia vd., 2018). Anjiyogenez ve epitel-mezenkimal geçiş (EMT), kanser hücrelerinin metastaz ve invazyonunda kritik rol oynamaktadır. EGCG, HIF-1 α ve VEGF ekspresyonunu baskılayarak, aynı zamanda kanser hücrelerinin göçünü ve invazyonunu azaltan EMT sürecini inhibe etmektedir. Bu mekanizmalar yoluyla anjiyogenezi engellemekte ve VEGFR, IL-8 ve CD31 ekspresyonlarını düşürerek hücre sağkalımını olumsuz yönde etkilemektedir (Sehgal vd., 2023). Bunlara ek olarak, EGCG'nin hücre yayılımını, hücre-hücre etkileşimlerini, kanser hücresi-fibrinojen etkileşimini ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ile fokal adezyon kinazı (FAK) aktivitelerini baskılayarak melanomun büyümesini ve metastazını önleyebildiği gösterilmiştir (Dhatwalia vd., 2018).

Meme kanseri üzerine EGCG'nin etkilerinin incelendiği çalışmalar hücre proliferasyonunun farklı mekanizmalar üzerinden baskılandığını ortaya koymaktadır. Meme kanseri hücrelerinde EGCG'nin etkileri hücre tipine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Hs578T hücrelerinde 10 μ M konsantrasyonunda EGCG'nin, VEGF ekspresyonunu düşürerek hücre göçünü inhibe ettiği bildirilmiştir. Öte yandan, NF639 hücrelerinde EGCG'nin

FOXO3a sinyal yolunu aktive ederek östrojen reseptörü α ekspresyonunu artırdığı ve bunun sonucunda koloni büyümesini ve hücre istilasını baskıladığı rapor edilmiştir (Rady vd., 2018). EGCG'nin hem zamana hem de doza bağlı olarak MCF-7 hücrelerinde, G1/S veya G2/M fazında hücre döngüsünü durdurarak hücre çoğalmasını engellediği bildirilmiştir (J. Zhang vd., 2024). Wei ve arkadaşları tarafından yapılan *in vivo* bir çalışmada, EGCG'nin zamana ve doza bağımlı olarak 4T1 hücrelerinin büyümesini azalttığını ve glikoz metabolizmasını etkileyerek 24 saat içinde hücre ölümüne yol açtığını görülmüştür. Ayrıca, *in vivo* meme kanseri modelinde EGCG'nin doza bağlı olarak tümör ağırlığını, glikoz ve laktat düzeylerini ve VEGF ekspresyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Wei vd., 2018). Yapılan bir başka çalışmada ise EGCG'nin NF- κ B ve HIF-1 α aktivasyonunu engelleyerek ve VEGF ekspresyonunu baskılayarak anjiyogenezi ve meme kanserinin ilerlemesini önlediğini bildirilmiştir (J. Zhang vd., 2024).



Şekil 7. EGCG'nin antiproliferatif etki mekanizması

EGCG'nin, A549 akciğer kanseri hücrelerinde HIF-1 α ve VEGF protein ekspresyonunu baskılayarak, IGF-1 aktivitesini inhibe etmek suretiyle anjiyogenezi engellediği ve ksenograft tümör büyümesini azalttığı bildirilmiştir (Sehgal vd., 2023). Ayrıca, EGCG'nin EGFR/siklin D1 sinyal yolunu inhibe ederek G0/G1 hücre döngüsü durmasını indüklediği ve bu mekanizma aracılığıyla A549, H460 ve H1650 akciğer kanseri hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı rapor edilmiştir (Rady vd., 2018). EGCG, akciğer kanseri hücrelerinde miRNA ekspresyonunu düzenleyerek antikanser etkiler göstermektedir. EGCG onkojenik miRNA seviyelerini değiştirerek A549 hücrelerinde MAPK yolunu modüle etmektedir. Ayrıca, AKT, NF- κ B, MAPK ve hücre döngüsü düzenleyici yollarla ilişkili miRNA seviyelerini etkileyerek bütün kaynaklı akciğer kanserini AJ fare modellerinde baskıladığı rapor edilmiştir (Sehgal vd., 2023).

EGCG'nin, p53, PI3K/Akt, ERK1/2, Wnt/ β -katenin ve NF- κ B gibi çeşitli antitümör düzenleyicilerin aktivitesini azaltarak prostat malign hücrelerinin proliferasyon ve migrasyon potansiyelini baskıladığı bildirilmiştir. EGCG açısından zengin yeşil çay özütü, VEGF ve HIF-1 α ekspresyonunu inhibe ederek tümör vaskülarizasyonunu azaltabilmektedir. Nitekim, LAPC4 ksenograft prostat tümörlerinde yapılan bir incelemede bu genlerin ekspresyonunda sırasıyla %35 ve %60 oranında azalma saptanmıştır. Ayrıca, yeşil çay özütünün prostat ksenograftlarında VEGF'nin başlıca kaynağı olan makrofaj infiltrasyonunu da belirgin şekilde azalttığı rapor edilmiştir (Wu vd., 2024).



Şekil 8. EGCG'nin antianjiyogenez etki mekanizması

EGCG, ağız kanserinde EMT sürecini, invazyonu ve tümör oluşumunu engellemektedir. EGCG, fosforile EGFR ekspresyonunu azaltarak hücre proliferasyonunu ve ağız kanseri hücrelerinin göçünü baskılar. Ayrıca, EGCG'nin SCC-25, CAL-27 ve KB insan skuamöz karsinom hücre hatlarında proliferasyonu S ve G2/M fazlarında inhibe ettiği bildirilmiştir. Notch sinyal

yolunun ve EGFR'nin, hücre döngüsü faz kontrolünü modüle etmek üzere EGCG tarafından düzenlendiği rapor edilmiştir (Sekaran vd., 2024).

EGCG'nin antikanser etkileri pankreas, rahim ağzı, kolorektal, mide ve diğer birçok kanser hücre hattına karşı *in vitro* ve *in vivo* olarak incelenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda, EGCG'nin geniş bir yelpazede antikanser moleküler hedefleri ve kanserle ilişkili hücresel süreçleri inhibe ettiği bildirilmiştir (Rady vd., 2018).

EGCG'nin Biyoyararlanımı ve Nanoteknoloji Tabanlı Formülasyonları

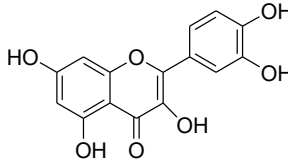
EGCG'nin sınırlı biyoyararlanımı ve yetersiz sistemik dağılımı, bu bileşiğin terapötik potansiyelinin klinik uygulamalara uyarlanmasında önemli bir kısıt oluşturmaktadır. Preklinik çalışmaların umut vadeden sonuçlarının klinik aşamaya taşınabilmesi için, EGCG'nin biyoyararlanım düzeylerinin dikkatle değerlendirilmesi gerekmektedir. Özellikle oral uygulama sonrası elde edilen düşük plazma konsantrasyonları, EGCG'nin fizyolojik etkilerini önemli ölçüde sınırlayabilmektedir. Bu sorunun aşılabilmesi amacıyla, lipozomlar, katı lipit nanopartikülleri, nanoyapılı lipit taşıyıcılar, protein veya polisakkarit bazlı nanopartiküller, bilozomlar ve metal-organik iskeletler gibi çeşitli taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir (L. Wang vd., 2021; L. Zhang vd., 2020; L. Wang vd., 2023). Nanoteknoloji temelli yaklaşımlar, EGCG'nin toksisite profilini optimize ederken biyoyararlanımını artırarak farmakokinetik kısıtlılıkların giderilmesine katkı sağlamaktadır. Bu bağlamda, mikro ve nanokapsülleme teknolojileri, EGCG'nin stabilite ve biyoyararlanımını iyileştirmeye yönelik etkili ve güncel yöntemler arasında yer almaktadır. EGCG'nin kapsüllenmesine yönelik olarak EGCG-CS-NP, EGCG- β -Lg-NP, EGCG-Au-NP ve EGCG-PLGA-NP gibi çok sayıda nanosistem geliştirilmiştir (L. Zhang vd., 2020). Bu nanosistemler, bileşiğin stabilitesini ve biyoyararlanımını artırmada etkili yöntemler olarak değerlendirilmektedir.

Bu bağlamda geliştirilen EGCG-NP'lerin *in vitro* tümör hücre proliferasyonunu baskılama etkisi, *in vivo* olarak insan akciğer kanseri PDX fare modelinde doğrulanmıştır. EGCG-NP uygulaması, kontrol ve serbest EGCG gruplarına kıyasla tümör hacmi ve ağırlığını anlamlı ölçüde azaltmıştır (L. Zhang vd., 2020).

Kuersetin (Quercetin)

Kimyasal Yapı ve Fizikokimyasal Özellikler

Kuersetin (3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavon), $C_{15}H_{10}O_7$ kimyasal formülüne sahip flavonoid yapısında bir moleküldür. Kimyasal olarak üç benzen halkası ve beş hidroksil grubundan oluşan kuersetin, 2-(3,4-dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksikromen-4-on şeklinde adlandırılır. Kuersetin, kristalimsi yapıda, sarı renkte ve acı tada sahip bir bileşiktir. Soğuk suda çözünmezken, sıcak suda sınırlı oranda çözünür. 37° sudaki çözünürlüğü 0.3 µg/ml'dir. Kuersetin, alkol ve lipitlerde iyi çözünme özelliği gösterir (Cadena vd., 2013; Rajesh R & Sangeetha, 2024). Kuersetinin kimyasal yapısı, biyolojik özelliklerinin oluşumunda kritik rol oynamaktadır. A ve B halkalarının 3, 5, 7, 3' ve 4' pozisyonlarında yer alan hidroksil grupları, ikinci ve üçüncü karbon atomları arasındaki çift bağ ve dördüncü karbon üzerindeki karbonil grubu, kuersetinin antioksidan kapasitesini doğrudan etkiler (Aghababaei & Hadidi, 2023).



Şekil 9. Kuersetin kimyasal yapısı

Doğal Kaynaklar ve Besinsel Dağılım

Kuersetin, birçok bitkisel gıdada yaygın olarak bulunan doğal bir flavonoiddir. Başlıca kaynakları arasında kapari, roka, dereotu, kişniş, rezene, ardıç meyvesi, üzüm, yaban mersini ve yüksek düzeyde kuersetin içeren bamya yer almaktadır. Kuersetin içeriği, yetiştiği coğrafi bölge, iklim koşulları, geleneksel tarım uygulamaları ve diğer çevresel faktörlere bağlı olarak ülkeler ve bölgeler arasında değişiklik gösterebilir (Aghababaei & Hadidi, 2023).

Biyoyararlanım ve Metabolizma

Kuersetinin biyoyararlanımı, çeşitli faktörler nedeniyle sınırlıdır. Suda düşük çözünürlük gösterdiği için ince bağırsakta Emilimi kısıtlıdır. Bunun yanında, karaciğer ve bağırsak epitelinde yoğun şekilde metabolize edilerek biyolojik aktivitesi daha düşük metabolitlere dönüşür. Ayrıca, bağırsak

mikrobiyotası da kuersetinin emilimi ve metabolizmasını etkileyerek biyoyararlanımını daha da karmaşık bir süreç haline getirir (Aghababaei & Hadidi, 2023).

Antioksidan Özellikleri ve Terapötik Etkileri

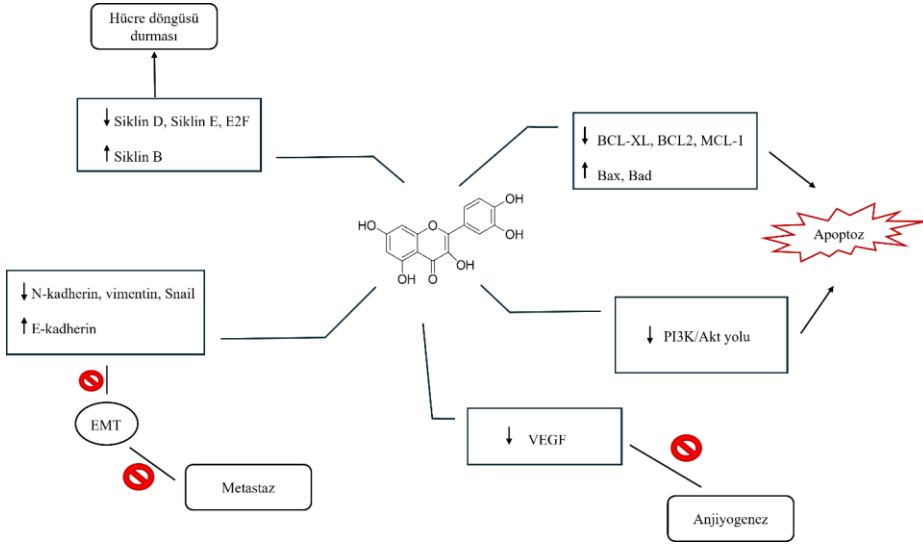
Kuersetin, farklı biyolojik aktiviteleri modüle etme kapasitesi sayesinde çeşitli patolojilerin önlenmesinde ve tedavisinde önemli bir bileşiktir. Kuersetinin en belirgin özelliği güçlü antioksidan profilidir. Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruma sağlayarak oksidatif stresi azaltan ve hücrel hasara karşı koruma sağlayan en etkili doğal antioksidan flavonoidlerden biri olarak kabul edilir. Kuersetin, oksidatif stresi ve inflamasyonu baskılayarak, ayrıca hücre içi sinyal moleküllerinin düzenlenmesinde rol alarak farklı hastalık süreçlerine etki etmektedir. Kuersetinin, çeşitli biyolojik aktivitelerin modülasyonu yoluyla antikanser, hepatoprotektif, antidiyabetik, anti-obezite, nöroprotektif, kardiyoprotektif, yara iyileştirici, antimikrobiyal ve immünomodülatör etkiler dâhil olmak üzere geniş bir yelpazede sağlık yararları sunduğu bildirilmiştir (Alharbi vd., 2025; Rajesh R & Sangeetha, 2024).

Kuersetinin Antikanser Mekanizmaları ve Terapötik Potansiyeli

Kuersetin, temel olarak kanser hücrelerinin çoğalmasını azaltma, apoptozu teşvik etme ve hücre bölünme süreçlerini baskılama gibi çeşitli mekanizmalarla kanser karşıtı etkiler gösteren bir flavonoiddir. Kuersetinin bu etkileri kanser araştırmalarında kuersetini ilgi çekici bir bileşik haline getirmektedir. Kuersetin, antioksidan enzimler ve oksidatif stres faktörlerini düzenleyerek karaciğer, akciğer, kolon, prostat, serviks ve meme kanserleri de dâhil olmak üzere çeşitli kanser türlerinin ilerlemesini engelleyebilmektedir.

Kuersetinin kanser üzerine olan etkileri, hücrel düzeyde çeşitli yollarla ilişkilendirilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda, kuersetinin kaspaz-3'ü aktive ederek otofaji adı verilen süreci tetiklediği gözlemlenmiştir. Bu süreç, hücrelerin kendi kendilerini yok etmesine yol açabilir. Ayrıca, ERK, Akt ve mTOR gibi hücrel sinyal yollarını etkilediği, β -katenin seviyelerini düşürdüğü ve HIF-1 α 'yı stabilize ettiği de bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, kuersetinin kanser hücrelerinin yayılmasını önlemede rol oynayabileceği

düşünülmektedir. Bu etki, MMP ve VEGF gibi moleküllerin salınımını azaltma potansiyeliyle ilişkilendirilmektedir. Hücrelerin enerji metabolizmasını etkileyerek ve mitokondriyi hedef alarak da kanser hücrelerinde ölüme yol açtığı yönünde bulgular bulunmaktadır (Rajesh R & Sangeetha, 2024).



Şekil 10. Kuersetinin kanser karşıtı mekanizmaları

Kuersetinin, kanser hücrelerinin invazyon ve metastazını önlemedeki potansiyelini Snail'e bağlı Akt sinyal yolunu baskılayarak gösterdiğini belirtilmektedir. Kuersetin uygulaması sonucunda, ADAM9, N-kadherin ve vimentin gibi invazyonla ilişkili proteinlerin ekspresyonunda bir azalma, E-kadherin ekspresyonunda ise bir artış gözlemlenmiştir (Tang vd., 2020). Bu bulgular, kuersetinin, kanser hücrelerinin daha agresif hale gelmesine neden olan EMT sürecini modüle edebileceği düşüncesini desteklemektedir. A549 akciğer kanser hücre hattında kuersetin ile yapılan tedavinin, Akt aktivitesini baskılayarak fosforile Akt seviyesini düşürdüğü gözlemlenmiştir (Chang vd., 2017). Bu bulgular, kuersetinin Akt aktivasyonunu hedef alabileceğini ve bu yolla hücresel süreçleri etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Akciğer skuamöz hücreli karsinom (LUSC) üzerine yapılan çalışmalarda, kuersetinin hücre proliferasyonunu, göçünü ve invazyonunu baskıladığı, ayrıca hücre döngüsünü bloke ettiği gösterilmiştir. Bu etki, kuersetinin Polo-like Kinase 1 (PLK1) genini hedef alarak hücre döngüsünü durdurma potansiyeliyle ilişkilendirilmiştir. Bu doğrultuda kuersetinin LUSC

üzerindeki antitümör etkilerine dayanarak bir ilaç-hedef ağı oluşturulmuş; farmakolojik deneyler sonucunda kuersetinin, hedef gen olan PLK1'in protein düzeyindeki ekspresyonunu azalttığı saptanmıştır (Lu vd., 2022).

Kuersetinin, potansiyel hedefi olan nükleer reseptör alt ailesi 3 grup C üyesi 1 (NR3C1) aracılığıyla AGS ve MKN5 mide kanseri hücre hatları üzerindeki olası antikanser etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmada, AGS ve MKN45 adlı mide kanseri hücre hatları kuersetin ile tedavi edilmiş ve bu tedavinin ardından hücre canlılığı, çoğalması, apoptoz, endoplazmik retikulum (ER) stresi ve immünojenik hücre ölümü (ICD) gibi hücresel süreçler, standart laboratuvar yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Kuersetin mide kanseri hücrelerinin hücre canlılığı ile çoğalmasını önemli ölçüde azaltmış, aynı zamanda apoptoz, ER stresi ve ICD süreçlerini teşvik etmiştir. Hayvan modelleri üzerinde yapılan deneylerde de kuersetin takviyesinin tümör büyümesini baskıladığı gözlemlenmiştir (T. Liu vd., 2025).

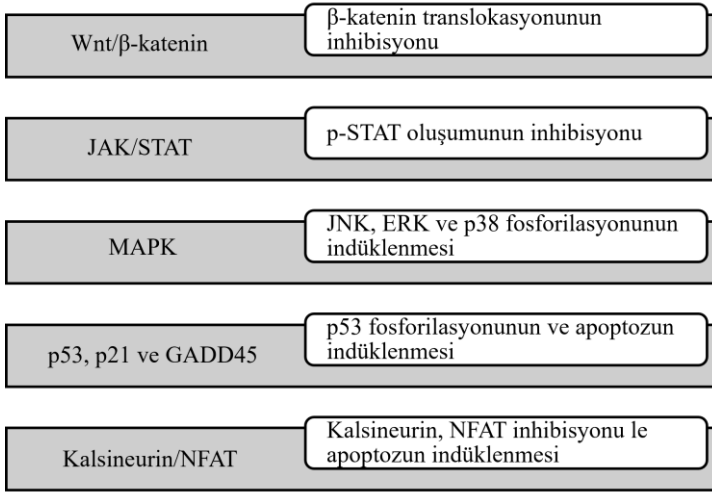
Kuersetinin karaciğer kanseri hücrelerinde yürütülen *in vitro* çalışmalarında, farklı hücre hatları ve doz aralıklarında belirgin antikanser etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Hepatoselüler karsinom ve hepatoblastoma hücrelerinde kuersetin; hücre proliferasyonunu baskılamakta, apoptozu artırmakta ve S fazında hücre döngüsü durmasına yol açmaktadır. Mekanizma düzeyinde Bcl-2 azalması, kaspaz aktivasyonu, Bax ve p53 artışı, ERK1/2 ve MAPK gibi sinyal yollarının düzenlenmesi öne çıkmaktadır. Ayrıca SIRT6 upregülasyonu, β -katenin, c-Myc ve siklin D1'in baskılanması gibi moleküler değişiklikler de bildirilmiştir. Bu bulgular, kuersetinin karaciğer kanseri hücrelerinde güçlü antiproliferatif ve proapoptotik etkilere sahip olduğunu ve potansiyel bir terapötik ajan olabileceğini göstermektedir (Rajesh R & Sangeetha, 2024; Tang vd., 2020).

Kolorektal kanser hücre hatlarında kuersetinin antikanser etkileri araştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada kuersetin uygulaması Twist1 ekspresyonunu azaltarak E-kadherin ekspresyonunu inhibe etmiştir. Bu inhibisyon sonucunda TGF- β 1 ile tetiklenen EMT sürecinin baskılandığı rapor edilmiştir (Feng vd., 2018). İnsan kolon adenokarsinomu hücre hattı (HT-29) hücrelerinde yapılan çalışmada, kuersetinin NF- κ B p65 ekspresyonunu baskılayarak VEGF-A düzeylerini düşürdüğü ve bunun sonucunda HT-29 kolorektal kanser hücrelerinden kaynaklanan anjiyogenezi inhibe ettiği rapor edilmiştir (Uttarawichien vd., 2021). Ayrıca kuersetin kolorektal kanser

hücrelerinde MMP ekspresyonunu modüle ederek tümör hücrelerinin invazyonunu ve göçünü baskılayabilmektedir (Tang vd., 2020).

Kuersetinin kanser hücreleri üzerinde çift yönlü etkisi olduğu vurgulanmıştır. Kuersetin bir yandan çeşitli yollar üzerinden apoptozu teşvik etmekte; diğer yandan hücre döngüsünün ilerlemesini baskılamaktadır. Kuersetinin bu çift yönlü etkisi çeşitli çalışmalarda meme kanseri hücrelerinde incelenmiştir. Kuersetin Bcl-2, kaspaz-6, 8 ve 9 gibi proteinlerin ekspresyon seviyelerini etkileyerek kanser hücrelerinde apoptozu tetiklemektedir. Kuersetin MCF-7 hücrelerine uygulandığında, Bcl-2 ekspresyonu azalırken Bax düzeylerinde artış görülmektedir. Kuersetin, apoptoz sürecinin başlatılmasında kritik rol oynayan pro-kaspaz-8 ve pro-kaspaz-9'u aktive edebilir. Bu kaspaz aktivasyonu, apoptozu tetikler ve kaspaz-6 gibi alt akış araçlarının etkinleşmesini sağlar (Rajesh R & Sangeetha, 2024). Ayrıca kuersetinin FasL mRNA ekspresyonunu ve p51, p21 ile GADD45 sinyal aktivitesini artırarak apoptozu teşvik ettiği rapor edilmiştir (Alharbi vd., 2025). Bazı çalışmalar, MCF-7 ve MDA-MB-231 gibi meme kanseri hücre hatlarına kuersetin eklendiğinde, hücrelerin G1 fazında hücre döngüsünün durduğunu ve bunun sonucunda hücre ölümünün gerçekleştiğini göstermektedir. Bu etki, Siklin D1, p21, Twist ve p38MAPK gibi proteinlerin ekspresyonunda meydana gelen önemli azalmalarla ilişkilendirilmektedir (Rajesh R & Sangeetha, 2024). Kuersetinin tümör gelişimi üzerine etkileri ksenograf modelleri kullanılarak incelenmiştir. Kuersetinin meme kanseri dokularında VEGF, PKM2, pAKT/AKT, Akt/mTOR, kalsineurin/NFAT yolu ve anjiyogenezi inhibe ederek hücre proliferasyonunun azalmasına ve apoptozun indüklenmesine neden olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Tang vd., 2020).

Kuersetin konsantrasyonunun, meme kanseri hücrelerinin canlılığını ne oranda etkilediği araştırılmıştır. Kuersetinin zaman ve doza bağlı olarak meme kanseri hücrelerinin canlılığını azalttığı bildirilmiştir. Bulgular, kuersetin konsantrasyonu arttıkça meme kanseri hücrelerinin aktivitesinin azaldığını ve büyümenin inhibisyonunun doz bağımlı şekilde gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, artan kuersetin konsantrasyonlarıyla birlikte nükleer yoğunluk ve apoptoz düzeylerinde de belirgin artış gözlenmiştir. Yüksek dozlarda, PTEN proteininin ekspresyonu ve dağılımında anlamlı bir yükselme rapor edilmiştir (Alharbi vd., 2025).



Şekil 11. Kuersetinin antikanser etkileri

Kuersetin, prostat kanseri gelişiminde kritik rol oynayan prostat spesifik antijen (PSA) ve androjen reseptörü (AR) işlevlerini çeşitli mekanizmalar aracılığıyla inhibe eder. Kuersetinin, DNA sentezini durdurarak veya bloke ederek ve AR ekspresyonunu azaltarak kaspaz-3 ve kaspaz-7 aktivitesini artırdığı ve böylece apoptozu tetiklediği rapor edilmiştir. Kuersetinin sitotoksik etkisi, prostat kanseri hücrelerinin normal prostat hücrelerine kıyasla çoğalmasını engeller ve apoptotik süreci başlatır. Ayrıca, kuersetin PSA, NKX3.1 ve ODC transkriptlerinin seviyelerini baskılar ve PSA antijeni, hK2 ile androjenle düzenlenen tümör biyobelirteçlerinin üretimini modüle eder. Yani, kuersetin AR ekspresyonunu baskılayarak prostat kanserinin önlenmesine katkı sağlayabilmektedir (Rajesh R & Sangeetha, 2024; Tang vd., 2020). Prostat kanseri üzerine kuersetinin etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, kuersetinin EGFR yolunu inhibe ederek kanserin ilerlemesini önleyebildiği rapor edilmiştir (Alharbi vd., 2025). Kuersetin'in PC-3 hücrelerinde TGF- β ile indüklenen EMT sürecini inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Kuersetin özellikle vimentin ve N-kadherin ekspresyonunu baskılayarak, E-kadherin ekspresyonunu artırmıştır. Ayrıca, Twist, Snail ve Slug proteinlerinin göreceli ekspresyon analizleri, kuersetinin TGF- β ile indüklenen bu transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu anlamlı şekilde azalttığını göstermiştir (Aghababaei & Hadidi, 2023).

Kuersetin, pankreas kanseri hücrelerinde proliferasyon, göç ve invazyonu baskılayarak hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde tümör gelişimini azaltmıştır. Mekanizma olarak c-Myc ve TGF- β 1 ekspresyonunu düşürmüş, EMT'yi inhibe etmiş ve mitokondriyal ile ölüm reseptörü aracılı apoptozu tetiklemiştir. Ayrıca SHH/Gli2 ve TGF- β 1/Smad yollarını baskılamış; bu yolların aktivasyonu ise kuersetinin antitümör etkilerini kısmen tersine çevirmiştir (Mirazimi vd., 2022; Rajesh R & Sangeetha, 2024). Kuersetinin, PANC-1 ve PATU-8988 pankreas kanseri hücrelerinde EMT süreciyle ilişkili MMP2 ve MMP7 seviyelerini baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca, kuersetinin STAT3 sinyal yolunu inhibe ederek pankreas kanseri hücrelerinin invazyon ve metastazını engelleyebileceği, bunun yanında IL-6 aracılı malign ilerlemeyi de tersine çevirebileceği bildirilmiştir (Alharbi vd., 2025; Tang vd., 2020).

Kuersetin Nanoformülasyonları ve Nanoformülasyonların Kanser Hücrelerine Etkisi

Kuersetin farklı patogeneizler üzerindeki etkileri çeşitli *in vitro* çalışmalarla ortaya konmuştur. Bununla birlikte, bu bulguların *in vivo* koşullara aktarılmasında biyoyararlanım, metabolizma, dozaj farklılıkları, fizyolojik varyasyonlar ve uzun vadeli etkiler gibi unsurlar belirleyici rol oynamaktadır. Mevcut *in vivo* araştırmalar, kuersetinin *in vitro* ortamda gözlenen etkilerini kısmen desteklemektedir. Ancak, bu bulguların güvenilir biçimde klinik uygulamalara yansıtılabilmesi için söz konusu faktörlerin daha kapsamlı ve sistematik biçimde incelenmesi gerekmektedir.

Kuersetin biyoyararlanımının artırılması, hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki potansiyel etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi açısından önemli görülmektedir. Nanoformülasyonlar, kuersetinin çözünürlük, stabilite ve emilim özelliklerini geliştirme kapasitesine sahip olup, bu sayede biyoyararlanımının artırılmasına ve toksisite riskinin azaltılmasına katkı sunabilmektedir. Bu amaçla kuersetin yüklü lipozomlar, metalik nanopartiküller, miseller, hidrojel bazlı sistemler ve siklodekstrin kompleksleri gibi ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Literatürde yer alan çalışmalar, hibrit hidrojel, kendi kendine nanoemülsifiye edici sistemler, zein nanopartikülleri, LipoMicel dağıtım sistemi ve poli(lipoik asit) nanopartikülleri gibi farklı formülasyonların kuersetinin biyoyararlanımını anlamlı düzeyde artırdığını

bildirmektedir. Örneğin, hibrit hidrojel formülasyonunun serbest kuersetine kıyasla biyoyararlanımı yaklaşık 62 kat artırdığı, LipoMicel sisteminin ise AUC ve Cmax değerlerinde 8–9 kat, plazma konsantrasyonunda ise 10 kata kadar artış sağladığı rapor edilmiştir. Benzer şekilde, zein nanopartikülleri ve poli(lipoik asit) nanopartikülleri de oral emilimi iyileştirme potansiyeli taşımaktadır. Bu veriler, nanoformülasyonların kuersetinin terapötik açıdan daha etkin şekilde değerlendirilmesine katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir (Alharbi vd., 2025).

Kuersetinin potansiyel antikanser etkisinin klinik uygulamalara yansıtılabilmesi amacıyla kuersetin nanoformülasyonları geliştirilmiş ve kanser hücre hatlarına karşı etkileri incelenmiştir. Kolorektal kanser hücrelerine yönelik etkinliğin artırılması amacıyla kuersetinin nanolipozomlara yüklenmesine yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Serbest kuersetin ile kuersetin yüklü lipozomların kanser hücrelerinde anlamlı düzeyde sitotoksite oluşturduğu ve özellikle lipozomal formülasyonun daha yüksek aktivite gösterebildiği rapor edilmiştir. Ayrıca, kuersetin yüklü lipozomların kolon kanseri hücrelerine etkileri de incelenmiş ve bu formülasyona karşı hücrelerin daha duyarlı olabildiği bildirilmiştir. Ayrıca, nanolipozomlara yüklenen kuersetinin kanser hücrelerinde apoptozu indükleyebildiği ve EGFR gen ekspresyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Keshavarz vd., 2023).

Kuersetinin lipozomlara kapsüllenmesi ve lipozom yüzeyinin hiyalüronidaz (HAaz) ile konjugasyonu yoluyla, HQL olarak adlandırılan bir ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. Pankreas kanserinde yoğun ekstrasellüler matriks yapısına yönelik olarak tasarlanan kuersetin yüklü lipozomların hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda tümör hücrelerinin büyümesini baskılamada etkili olabileceği bildirilmektedir. Ksenograftlanmış tümörlü farelerde HQL tedavisinin, tümör büyümesini baskıladığı ve farelerde belirgin bir toksik etkiye yol açmadığı rapor edilmiştir. HQL, pankreas kanseri hücre hatlarında, üç boyutlu kültürlenmiş hücre sferoidlerinde ve pankreas duktal adenokarsinomundan (PDAC) türetilen organoidlerde hücre çoğalmasını engelleyebilme, apoptozu teşvik etme ve G2/M hücre döngüsü durmasını indükleme potansiyeli göstermiştir. Mekanistik olarak, HQL'in CCNB1, CDK1, PLK1 gibi hücre döngüsü ile ilişkili proteinlerin ve PI3K/AKT ve Bcl-2 gibi apoptozla ilişkili faktörlerin ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Genel olarak, HQL'in tümör mikroçevresindeki HA'yı parçalayarak nanopartikül

penetrasyonunu artırdığı ve tümör hücresi büyümesini engelleyerek anti-tümör etkinliğini güçlendirdiği değerlendirilmektedir (G. Sun vd., 2025).

Kuersetin yüklü polimer-misel mikellerin (Qu-PMM) C6 ve U87MG glioma hücre hatlarında, serbest kuersetine kıyasla daha yüksek hücresel alım sağladığı, hücre göçünü inhibe ettiği ve apoptotik oranları artırdığı gözlemlenmiştir. Bu etkiler, doz ve maruziyet süresine bağlı olarak değişmekte olup, Qu-PMM'lerin performansının serbest Qu'dan daha üstün olabileceğini düşündürmektedir. Bulgular, polimer kombinasyonu ile stabilitenin artırılmasının, glioma hücrelerinde terapötik etkinliği güçlendirebileceğini ve gelecekte kan-beyin bariyerini geçebilen hibrit lipid nanopartiküller aracılığıyla klinik uygulama potansiyelinin değerlendirilebileceğini göstermektedir (Paranthaman vd., 2022).

Meme kanseri tedavisinde kuersetinin etkili kullanımı için ilaç taşıyıcı sistemler olarak HA bazlı miseller üretilmiştir. dodesilaminin HA'ya aşılınması ile dHAD polimerleri sentezlenmiş ve ardından kuersetin içeren dHAD-QT misellerini oluşturmak için kuersetin ile birleşmiştir. Elde edilen dHAD-QT miselleri, serumda iyi stabilite göstermiş ve düşük hemolitik etki sergilemiştir. HA modifikasyonu, misellerin hidrofobikliğini artırarak CD44 proteini ile etkileşimini güçlendirmiş ve dHAD-QT misellerinin yüksek hücresel alım kapasitesi (%97'nin üzerinde) ve tümör dokusunda daha fazla birikim göstermesine katkı sağlamıştır. Daha da önemlisi, dHAD-QT miselleri, tümör taşıyan fare modellerinde serbest QT'ye kıyasla daha etkin tümör baskılama kapasitesi ve daha yüksek *in vivo* güvenlik profili göstermiştir (J. Sun vd., 2023).

Vitamin türevleri (vitamin C, E, A) ve koenzimler

Vitamin türevleri

C Vitamini (Askorbik asit)

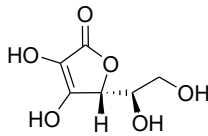
C vitamini (askorbik asit), beyaz ila soluk sarı renkli kristal toz formunda olup genellikle kokusuzdur ve karakteristik olarak hoş, keskin bir asidik tada sahiptir (See vd., 2024). C vitamininin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Tablo 1), biyolojik etkinliği ve farmasötik uygulamalarda kullanılabilirliğini önemli ölçüde etkilemektedir. C vitamininin kimyasal stabilitesi pH, sıcaklık, su aktivitesi ve oksidasyon sürecinde katalizör görevi üstlenen metal iyonlarının

varlığı gibi çeşitli çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörlere bağlı olarak yapısal bozulma ve degradasyon meydana gelebilmektedir.

Tablo 1. C vitamininin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kimyasal formülü	$C_6H_8O_6$
Molekül ağırlığı	176,12 g/mol
Erime noktası	189-193 °C
Kaynama noktası (1 atm)	552,67 °C
Suda çözünürlüğü	22,78 °C'de 100 kg/m ³ 40,00 °C'de 400 kg/m ³
Apolar çözücünde çözünürlük (eter, kloroform, benzen, yağlar)	Çözünmez

C vitamini, insanlar için diyet veya takviye yoluyla alınması gereken kritik bir besin ögesidir; zira insanlar, diğer birçok hayvanın aksine, C vitamini biyosentezini gerçekleştirebilecek enzimlere sahip değildir. Bu nedenle, yeterli C vitamini alımı, iskorbüt hastalığı gibi eksiklik kaynaklı sağlık sorunlarının önlenmesi açısından hayati öneme sahiptir. C vitamini açısından zengin besin kaynakları arasında portakal, limon, domates, patates ve lahana gibi meyve ve sebzeler bulunmaktadır. Organik C vitamini kaynaklarının yanı sıra, tüketime hazır sentetik C vitamini takviyeleri de mevcuttur. Sentetik olarak üretilen C vitamini, gıdalardan elde edilen organik C vitamini ile benzer biyoyararlanım ve işlevlere sahip takviyeler şeklinde bulunmaktadır. C vitamini takviyeleri genellikle askorbik asit formunda olsa da kalsiyum askorbat, sodyum askorbat, biyoflavonoidli askorbik asit ve farklı tüketici gruplarına uygun olarak üretilen diğer mineral askorbat formları da mevcuttur (See vd., 2024).



Şekil 12. C vitamini kimyasal yapısı

C Vitamininin Temel İşlevleri ve Fizyolojik Önemi

C vitamini, bir elektron vericisi olarak hareket ederek vücutta birçok önemli fizyolojik işlevi destekler. Güçlü antioksidan özelliği sayesinde, proteinler, lipitler ve DNA gibi kritik makromolekülleri oksidatif hasara karşı

koruyarak hayati doku yapılarının ve fonksiyonlarının sürdürülmesine katkı sağlar. Ayrıca, C vitamini, hormon üretimi ve metabolik enerji üretiminde rol oynayan çeşitli biyosentetik enzimler için bir kofaktör olarak işlev görür ve belirli genlerin düzenlenmesinde görev alan başka bir enzim kategorisi olarak da tanımlanmıştır. Çalışmalar, C vitamininin transkripsiyon faktörleri ve epigenetik modifiye edici enzimler üzerindeki etkisi aracılığıyla gen transkripsiyonunu düzenlemede önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Mussa vd., 2022).

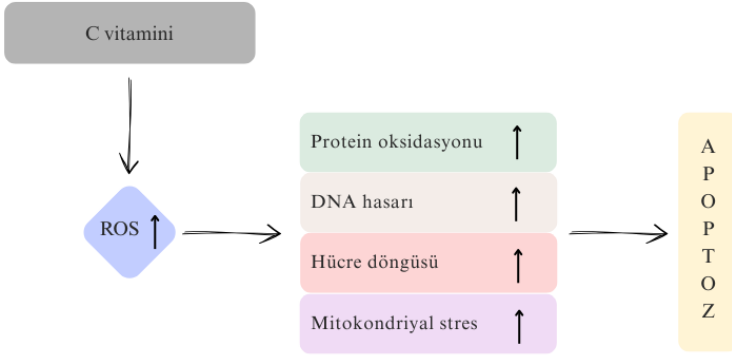
C vitamininin işlevleri arasında depigmentasyon, kolajen sentezi, antioksidan aktivite, bağışıklık sistemine ve inflamasyona katkı, çeşitli ilaç ve minerallerin emilimi, lipid metabolizması, antimikrobiyal etkiler ve stresle ilişkili bazı fonksiyonlar yer almaktadır. C vitamini, enzimatik olmayan bir antioksidan olarak işlev görür. Antioksidan etkisi, elektron bağış yoluyla gerçekleşir. Oksidasyon sürecini engellemek için diğer bileşiklerde indirgeme reaksiyonunu gerçekleştirecek şekilde elektron sağlar (See vd., 2024).

C vitamini, ciltte pigmentasyon kaybına veya aydınlatma etkisine katkıda bulunur. Melanin ve melanin ara ürünlerinin sentez oranını düşürerek melanogenez inhibisyonu sağlar. Ayrıca, C vitamini yaşlanma karşıtı özellikleri ile de önemlidir; bu etkisi, cilt elastikiyetinin korunması ve dermal hücre dışı matrisin desteklenmesi yoluyla kolajen üretimini artırmasıyla ilişkilidir. Bağışıklık sistemine katkısı açısından, C vitamini çeşitli hücresel mekanizmaları destekleyerek hem doğuştan gelen hem de uyarlanabilir bağışıklık tepkilerini artırabilir. Ayrıca, C vitamini yüksek dozlarda immünomodülatör ve antimikrobiyal fonksiyonlar gösterir; bu etkiler enfeksiyonlara karşı duyarlılığı azaltabilir ve vücudun savunma mekanizmalarını güçlendirebilir. C vitamininin kardiyovasküler sağlıktaki rolü de dikkat çekicidir. C vitamini eksikliği, yüksek tansiyon, kardiyovasküler hastalık, felç, ateroskleroz ve endotel disfonksiyonu gibi çeşitli durumlarla ilişkilendirilmiştir. C vitamini endotel hücrelerinde nitrik oksit sentezini uyarak damarların vazokonstriksiyon, pıhtılaşma anomalileri ve aterosklerozdan korunmasına katkı sağlar. C vitamini nörolojik sağlık açısından da önemlidir; uzun süreli eksikliği veya sürekli azalması, sinir iletiminde bozulmalara ve beyin fonksiyonlarında düzensizliklere yol açabilir (See vd., 2024).

C Vitamininin Antikanser Etkileri: Mekanizmalar ve Klinik Bulgular

C vitamininin antitümör aktivitesinden sorumlu mekanizmaların, askorbatın ve onun oksidatif ürünü olan dehidroaskorbatın pro-oksidan özellikleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu bileşiklerin pro-oksidan etkileri, hücre içi hidrojen peroksit ve ROS'ların oluşumunu indükleyerek hücresel tiyol düzeylerinde azalmaya yol açabilir. Bunun sonucunda membran lipid peroksidasyonu tetiklenmekte, bu da hücresel bütünlüğün bozulmasına ve tümör hücrelerinin ölümüne katkı sağlayabilmektedir (McGuire vd., 2013).

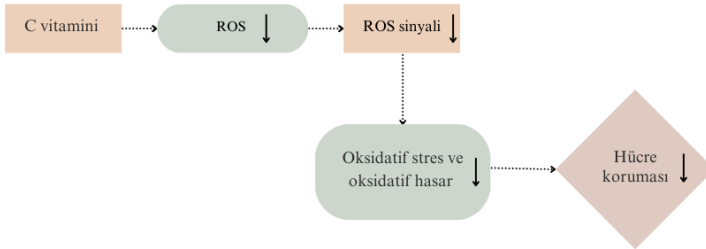
C vitamininin antikanser etkilerinin mekanizmasını açıklamak amacıyla çeşitli araştırma grupları, kolon, prostat, lösemi, lenfoma, beyin ve mide kanseri hücreleri ile kimyasal veya genetik olarak dönüştürülmüş kanser hücrelerini C vitamini ile tedavi etmiştir. Bu çalışmalar, hidrojen peroksit aracılı ROS üretimi yoluyla tümör büyümesinin baskılandığını ve hatta kanser hücrelerinde ölümün indüklendiğini göstermiştir (Mussa vd., 2022). Bununla birlikte, antikanser etkinin ortaya çıkabilmesi için gerekli olan farmakolojik konsantrasyonlara (1–10 mM, EC50 değeri) yalnızca intravenöz uygulama ile ulaşılabildiği bildirilmiştir (Cho vd., 2020). Dolayısıyla, C vitamininin potansiyel bir antikanser ajan olarak kullanılabilmesi için, kanser hücrelerinde yeterli düzeyde hücre içi konsantrasyonun sağlanması kritik öneme sahiptir.



Şekil 13. C vitamininin pro-oksidan etki mekanizması

C vitamininin antikanser potansiyeli, konsantrasyona bağlı olarak antioksidan–prooksidan ikilemi içinde değerlendirilmelidir. Çünkü C vitamini

düşük konsantrasyon düzeylerinde temel bir antioksidan işlevi görürken, farmakolojik dozlarda normal hücrelere zarar vermeden sitotoksikite oluşturabilir. Farelerde tek bir yüksek doz C vitamini H_2O_2 üretimini tetiklemiştir ve agresif tümörlerde potansiyel bir tedavi stratejisi olabileceği öne sürülmüştür. Yüksek oksidatif stres, hücre proliferasyonunu baskılayarak apoptoza veya nekroza yol açar. Ayrıca, farklı düzenlenen p53 transkripsiyon yolu aracılığıyla oksidatif stresin artırılması da C vitamini sitotoksitesini güçlendirebilir (Chen vd., 2008; Kim vd., 2012). 0,5–5 mM konsantrasyonlarda C vitamini, akciğer, melanom ve meme kanseri hücre hatlarında hücre canlılığının tamamen kaybolmasına yol açtığı rapor edilmiştir (De Carvalho Melo-Cavalcante vd., 2019). Pires ve arkadaşları, farmakolojik C vitamini dozlarının kolorektal hücre hatlarında antiproliferatif, sitotoksik ve genotoksik etkilere sahip olduğunu; apoptozun Bax/Bcl-2 oranının azalması ve kaspaz-9 aktivasyonu ile indüklendiğini bildirmiştir (Pires vd., 2016).



Şekil 14. C vitamininin antioksidan etki mekanizması

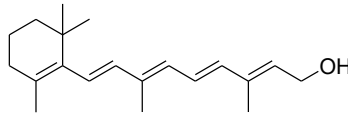
C vitamini, tümör biyolojisinin birçok sürecine etki etmektedir. Tümör hücrelerinde proliferasyon, invazyon, metastaz, anjiyogenez ve inflamasyonu azaltabildiği; siklooksijenaz-2 (COX-2), iNOS ve GST π gibi inflamatuvar moleküllerin salınımını baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca, glikolizi inhibe ederek enerji metabolizmasını bozar, mamosfer oluşumunu azaltır, HIF- α aracılı hipoksiyi hafifletir ve tümör kapsülleşmesini destekler. Metastaz ile ilişkili MMP-2 ve MMP-9 salgısını baskımlarken, inhibitör protein TIMP-2 seviyelerini artırmaktadır (De Carvalho Melo-Cavalcante vd., 2019; Traber & Stevens, 2011)

Klinik çalışmalarda C vitamininin kanser tedavisindeki rolü, tekrarlanabilir sonuçların elde edilememesi nedeniyle tartışmalı olmaya devam

etmektedir. Bu nedenle C vitamininin kanser tedavisindeki potansiyel rolünü netleştirmek için ileri düzey klinik araştırmalara ihtiyaç vardır.

A Vitamini (Retinol)

Vitamin A molekülü, altı üyeli bir β -iyonon halkası ve iki izoprenoid biriminden oluşan bir yan zincir içerir. A vitamini, yağda çözünen bileşiklerin genel adı olup, hem hayvansal kaynaklarda önceden oluşturulmuş A vitamini (retinol ve retinil esterler) hem de bitkisel kaynaklarda bulunan provitamin A karotenoidlerini kapsar. Vücutta biyolojik olarak aktif üç A vitamini formu retinol, retinal ve retinoik asittir. Retinol, retinala dönüştürülebilir; retinal ise oksidasyon yoluyla gen transkripsiyonunu düzenleyen retinoik aside çevrilir. Bu bileşikler retinoidler olarak tanımlanır. Ayrıca, β -karoten ve diğer karotenoidler vücutta retinole dönüştürülebildikleri için provitamin A karotenoidleri olarak sınıflandırılır (Blaner, 2020; Vašková vd., 2025).



Şekil 15. *A vitamini (all-trans-retinol) kimyasal yapısı*

A Vitamininin Besinsel Kaynakları

Vücut, A vitaminini de novo sentezleyemediğinden, bu vitaminin tamamı beslenme yoluyla sağlanmalıdır. Bu vitamin, beslenme yoluyla iki ana formda alınır: Hayvansal kaynaklı gıdalarda bulunan A vitamini ve bitkisel gıdalarda bulunan provitamin A karotenoidleri. Besin zincirinin alt kademelerindeki hayvanlar tarafından provitamin A karotenoidlerinden sentezlenen önceden oluşturulmuş A vitaminini doğrudan diyetle alınır. Bitkisel besinlerle alınan provitamin A karotenoidleri insan vücudunda emilim ve enzimatik dönüşüm sonucunda aktif A vitamini formlarına çevrilir. Bu karotenoidlerin en bilinen örneği β -karotendir. β -karoten, merkezi 15,15'-çift bağında gerçekleşen enzimatik parçalanma yoluyla iki molekül retinaldehit üretir. Üretilen retinaldehit aktif A vitamini formu olan retinole dönüşür (Blaner, 2020; Doldo vd., 2015).

A vitamin hem hayvansal hem de bitkisel kaynaklardan sağlanabilen çok sayıda besinde bulunur. Hayvansal kaynaklı gıdalar, genellikle önceden

oluşturulmuş A vitamini içerir ve bunlar arasında karaciğer, somon, ton balığı ve diğer balık türleri, ayrıca süt, peynir gibi süt ürünleri ile yumurta yer alır. Bitkisel kaynaklı gıdalar ise çoğunlukla provitamin A karotenoidleri barındırır; bunlar arasında tatlı patates, yeşil yapraklı sebzeler (örn. ıspanak, biber, brokoli), turuncu ve sarı renkli sebzeler (örn. havuç, kavun, balkabağı), domates ürünleri, çeşitli meyveler ve bazı bitkisel yağlar sayılabilir (Blaner, 2020; Vašková vd., 2025).

A Vitamini Metabolizması, Taşınması ve Hücresel Düzenleyici Roller

A vitamini bileşikleri, yağda çözünen temel moleküller olup büyük ölçüde karaciğerde retinil esterler (örneğin, retinil palmitat) formunda depolanır. Uygun koşullar altında retinil esterler hidrolize edilerek all-trans-retinol açığa çıkar. Bu molekül, dolaşıma salınmadan önce retinol bağlayıcı proteine (RBP) bağlanır. Oluşan all-trans-retinol/RBP kompleksi, transtiretin proteinine tutunarak kan dolaşımında taşınır ve böylece all-trans-retinol'un periferik dokulara iletimi sağlanır. All-trans-retinol/RBP kompleksindeki retinol, hücrelere STRA6 reseptörü aracılığıyla alınır (Vašková vd., 2025).

Retinoidlerin genomik etkileri, çekirdekte yer alan DNA bağlayıcı reseptörler olan retinoik asit reseptörleri (RAR'lar) ve retinoid X reseptörleri (RXR'ler) aracılığıyla gerçekleşir. Bu reseptörler, koaktivatör ve korepresör proteinlerin etkileşimi yoluyla gen transkripsiyonunu düzenler (Doldo vd., 2015).

A Vitamininin Fizyolojik Önemi, Eksikliği ve Sağlık Üzerine Etkileri

A vitamini ve türevleri, çeşitli mekanizmalar aracılığıyla hücresel bileşenleri foto-oksidasyon ve ROS'ların yol açtığı hasarlardan korur. Bu bağlamda, oksidatif hasarı önleyerek, tekli oksijeni etkisiz hâle getirerek ve serbest radikalleri stabilize ederek önemli antioksidan işlevler üstlenirler. A vitamini bağışıklık sisteminin bütünlüğü, epitel bariyer fonksiyonlarının korunması, üreme sağlığı, büyüme ve gelişme süreçleri (hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptoz) ile görme için temel bir mikro besindir. Görsel fonksiyonda ışık algısının sağlanmasının yanı sıra, A vitamininin aktif metaboliti olan retinoik asit, bu vitaminin bağışıklık, büyüme ve farklılaşma

gibi diğer fizyolojik süreçlerdeki etkilerinin düzenlenmesinde kritik rol üstlenir (Blaner, 2020; Vašková vd., 2025).

A vitamini eksikliği, özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. A vitamini eksikliği, gece körlüğü, görme kaybı, zekâ geriliği, kemiklerin kısa ve kalın yapısı, testis atrofisi, fetal reabsorpsiyon ve immün yetmezlik gibi çeşitli patolojik sonuçlara yol açabilir. Öte yandan, aşırı A vitamini alımı ise özellikle organogenez sırasında teratojenik etkilere neden olabilir. Bu nedenle, A vitamini hem embriyonik gelişim hem de yetişkin doku rejenerasyonu için hayati öneme sahiptir. Bununla birlikte, bu vitamin yalnızca yetersizliğinde değil, aynı zamanda çeşitli hastalıkların etiyojisi ve önlenmesinde de kritik bir rol oynamaktadır. A vitamini ve türevleri; obezite, diyabet, karaciğer ve kardiyovasküler hastalıklar gibi metabolik bozuklukların yanı sıra, kanser ve deri hastalıkları gibi proliferatif patolojilerle de ilişkilidir (Blaner, 2020).

A Vitamini ve Kanser: Epidemiyolojik, Moleküler ve Terapötik Perspektifler

A vitamininin hücre büyümesi ve farklılaşmasını düzenleyici rolü nedeniyle, proliferatif hastalıklardaki potansiyel etkileri uzun süredir araştırılmaktadır. Bu çalışmaların büyük bir kısmı özellikle kanser üzerine yoğunlaşmıştır. Kanser riski taşıyan bireylerde yürütülen retrospektif, prospektif ve büyük ölçekli müdahale çalışmalarında A vitamini takviyesinin etkileri incelenmiştir. 1980'ler ve 1990'larda gerçekleştirilen, halen sigara içenler, daha önce sigara içmiş olanlar ve hiç içmemiş bireyleri kapsayan çeşitli prospektif ve retrospektif gözlemsel çalışmalar; karotenoidler, meyve ve sebzelerin daha yüksek diyetle alımının akciğer kanseri riskinde azalma ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Ancak, β -karoten alımı ile akciğer kanseri arasında ters ilişki olup olmadığını test etmeye yönelik iki büyük klinik çalışma bu bağlantıyı doğrulamamıştır (Blaner, 2020).

Epidemiyolojik veriler, A vitamini alımı ile kanser gelişimi arasında ters bir korelasyon bulunduğunu göstermektedir. Farmakolojik düzeylerdeki A vitamini uygulaması, kimyasal olarak indüklenen deneysel tümörlerin insidansını azaltmaktadır. Hem doğal hem de sentetik retinoidler, farklılaşmayı indükleyici, antiproliferatif, proapoptotik ve antioksidan etkileri nedeniyle

potansiyel kemoterapötik ve kemopreventif ajanlar olarak değerlendirilmektedir.

Retinoidlerin cilt, meme, ağız boşluğu, akciğer, karaciğer, gastrointestinal sistem, prostat ve mesane kanserleri dahil olmak üzere birçok tümör tipinin büyümesini ve gelişimini engellediği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra, retinoik asit veya sentetik retinoidlerin insan kanser hücre hatlarına ya da çıplak farelerde oluşturulan tümör ksenograftlarına uygulanması; hücre büyümesinin durmasına, apoptozun indüklenmesine veya farklılaşmanın teşvik edilmesine yol açmıştır (Doldo vd., 2015).

A vitamininin MCF-7, P19 embriyonal karsinomu, pankreas adenokarsinomu (Panc-1, Aspc-1), primer osteosarkom ve nöroblastoma hücreleri üzerindeki antikanser etkileri çeşitli çalışmalarla incelenmiştir. A vitamini ve türevlerinin inflamasyon, farklılaşma ve neoplastik hücre proliferasyonu, pro-apoptotik genlerin aktivasyonu ve sitotoksik hücresel yanıtla bağlantılı proteinlerin ekspresyonu yollarıyla kanser hücre hatlarını etkilediği rapor edilmiştir (De Carvalho Melo-Cavalcante vd., 2019).

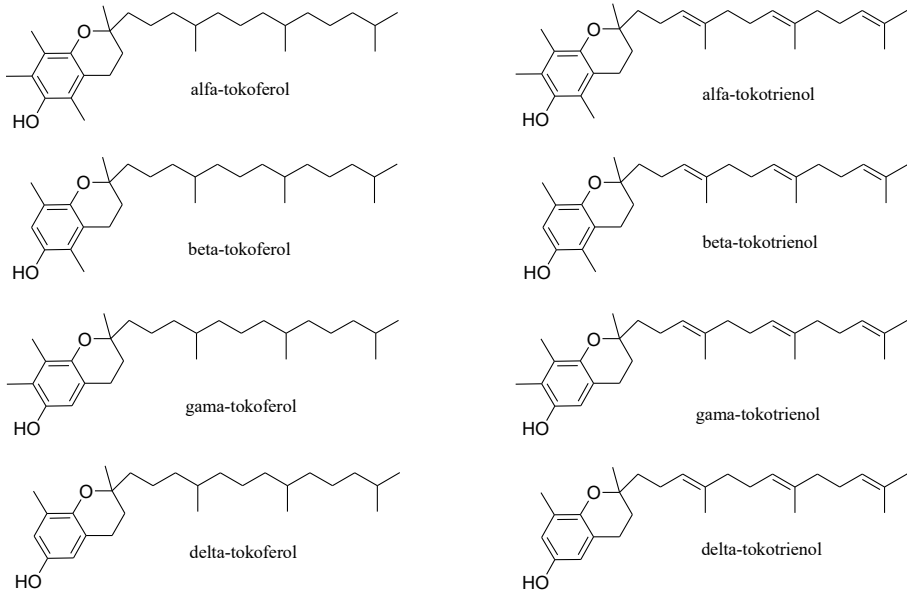
A vitamini esteri olan retinol palmitatın (RP) terapötik etkileri ise antiproliferatif, antioksidan ve proapoptotik özelliklerine atfedilmektedir. Ayrıca, klinik bir çalışmada RP alımının epigenetik mekanizmaları etkileyerek DNA metilasyonunu düzenlediği ve baş-boyun kanserlerinde tümör baskılanmasını desteklediği ortaya konmuştur. Ayrıca A vitamininin doğal bir metaboliti olan all-trans retinoik asitin, MLCK ekspresyonunu ve tümör hücresi metastazını azaltarak hücre göçünü inhibe ettiği gösterilmiştir (De Carvalho Melo-Cavalcante vd., 2019).

Görüldüğü üzere, A vitamini ve türevleri, hücre büyümesi, farklılaşma ve apoptoz gibi temel biyolojik süreçler üzerindeki düzenleyici rolleri sayesinde çeşitli kanser türlerinin gelişimi ve ilerlemesine karşı önemli bir potansiyel sergilemektedir. Hem epidemiyolojik veriler hem de *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, retinoidlerin antiproliferatif, proapoptotik ve antioksidan özellikleriyle kemopreventif ve terapötik ajanlar olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, klinik çalışmalarda elde edilen sonuçların heterojenliği, dozaj, biyoyararlanım ve bireysel farklılıkların dikkate alınması gerektiğini ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, A vitamini ve türevlerinin kanser tedavisindeki etkinliğini ve güvenilirliğini daha

net biçimde ortaya koymak için ileri düzey, kontrollü klinik araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

E Vitamini (α -tokoferol)

İlk olarak buğday tohumu yağı ve maruldan izole edilen E vitamini, daha sonra farklı bitkisel yağlarda benzer yapılar halinde tanımlanmıştır. E vitamini, tokoferoller ve tokotrienoller olarak sınıflandırılan yağda çözünebilir bir bileşik grubunu ifade eder. Bu grup, α , β , γ , δ -tokoferol ve α , β , γ , δ -tokotrienol olmak üzere sekiz doğal izoformu içerir. Her iki sınıf da ortak bir kromanol halkasına sahiptir; ancak tokoferollerde yan zincir doymuş iken, tokotrienoller 3 trans çift bağ ile karakterizedir. İzomerler arasındaki temel fark, kromanol halkasına bağlı metil gruplarının sayısı ve konumudur. Doğal stereoisomer olan (2R, 4'R, 8'R)- α -tokoferol (RRR- α -tokoferol), biyolojik olarak en aktif form olarak tanımlanmaktadır. RRR- α -tokoferolün erime noktası $2,5 \pm 3,58$ °C olarak belirlenmiştir. Bu nedenle oda sıcaklığında viskoz yapıda bir yağ formunda bulunur. E vitamini lipidlerde ve aprotik çözücülerde kolaylıkla çözünür (Azzi, 2018; X. Wang, 1999).



Şekil 16. E vitamini türevleri

E vitamini, özellikle biyolojik açıdan en aktif formu olan α -tokoferol, dünya genelinde kolaylıkla erişilebilir ve yaygın olarak tüketilen bir bileşiktir.

Başlıca kaynakları arasında bitkisel yağlar, palmiye yağı, pirinç kepeği, buğday tohumu, zeytin, arpa, soya fasulyesi, fındık ve çeşitli tahıllar yer almaktadır. Özellikle mısır, soya fasulyesi ve yer fıstığı yağları α ve γ -tokoferol açısından zengindir. Tokotrienoller de benzer şekilde farklı doğal besin kaynaklarında bulunarak E vitamininin diyetle alımına katkı sağlamaktadır. Tokotrienoller ise daha çok palmiye yağı, arpa ve bazı tahıllarda yoğunlaşmaktadır. Uzun süre α -tokoferol, E vitamininin temel biyolojik formu olarak değerlendirilmiş, diğer izoformların biyolojik rolleri ise görece geri planda kalmıştır (Abraham vd., 2019; Mohd Zaffarin vd., 2020).

Emilim ve Metabolizma

Tokoferoller ve tokotrienoller benzer metabolik yollardan işlenir. Emilimleri diyet yağları ile birlikte gerçekleşir ve lenfatik sistem aracılığıyla deri, kas, kemik iliği ve yağ dokusu gibi periferik organlara taşınır. Karaciğerde α -tokoferol transfer proteini (α -TTP), α -tokoferölü seçici olarak korur ve bu nedenle α -tokoferol diğer izoformlara kıyasla daha yüksek biyoyararlanıma sahiptir. Diğer izoformlar ise CYP450 aracılı ω -hidroksilasyon ve yan zincir oksidasyonu sonucu metabolize edilerek 3'-karboksikromanol ve 2'-karboksietil-6-hidroksikromanlar (CEHC) gibi son ürünlere dönüştürülür (Abraham vd., 2019; Galli vd., 2004).

E Vitamininin Biyolojik Etkileri ve Terapötik Potansiyeli

Tokoferoller ve tokotrienoller, güçlü antioksidan özellikleriyle öne çıkan bileşiklerdir. ROS ve serbest radikalleri etkili bir şekilde temizleyebilmeleri, onların temel biyolojik işlevlerinden biridir. Bu aktivite, kromanol halkası üzerindeki hidroksil grubunun serbest radikallere karşı hidrojen atomu sağlayabilme özelliğinden kaynaklanmaktadır. E vitamini, membran stabilizasyonunu etkileyerek hücresel bütünlüğün korunmasında kritik rol oynar. Bu sayede E vitamini, oksidatif stresi azaltmanın yanı sıra hücre zarlarının mekanik ve biyofiziksel stabilitesine katkıda bulunarak çok yönlü bir biyolojik koruyucu rol üstlenmektedir. Bu etkilerine ek olarak, E vitamini belirgin antiinflamatuvar özellikler de sergilemiştir. E vitamininin, eikosanoidler ve COX-2 enzimi gibi inflamatuvar süreçlerde görev alan mediyatörlerin üretimini baskılayabildiği gösterilmiştir. Ayrıca E vitamini, NF- κ B ve STAT-3 gibi başlıca proinflamatuvar sinyal yollarının aktivasyonunu da inhibe ederek, inflamatuvar yanıtın düzenlenmesine katkı sağlamaktadır (Mohd Zaffarin vd.,

2020; X. Wang, 1999). Bu biyolojik işlevler, vitaminin farklı hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki potansiyelini araştırmacılar açısından ilgi çekici hale getirmiştir.

Nörolojik sağlık açısından, E vitamininin özellikle nöroprotektif etkileri dikkat çekmektedir. E vitamini klinik ve deneysel çalışmalarda, travmatik beyin hasarı, Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi çeşitli nörolojik bozukluklarda koruyucu etkiler ortaya koymuştur. Metabolik sendrom ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesindeki potansiyel etkileri nedeniyle E vitamini, özellikle tokotrienoller, yoğun biçimde incelenmiştir. Bu etkilerin antioksidan ve antiinflamatuar mekanizmaların yanı sıra HMG-CoA redüktaz inhibisyonu ve hücre adhezyon moleküllerinin ekspresyonunun azalması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Dermatoloji alanında ise E vitamininin fotokoruyucu özellikleri ve cilt yaşlanmasını geciktirici etkileri öne çıkmaktadır. Ayrıca, tokotrienollerin kemik metabolizması üzerindeki olumlu etkileri dikkat çekmektedir. Bu bileşikler osteoblast aktivitesini uyararak kemik oluşumunu desteklemekte, osteoklast aktivitesini baskılayarak kemik kaybını azaltmaktadır. Tokotrienoller, bu özellikleriyle romatoid artrit ve osteoartrit gibi inflamatuvar kemik hastalıklarında da potansiyel terapötik faydalar sağlamaktadır (Mohd Zaffarin vd., 2020).

E Vitamininin Antikanser Mekanizmaları ve Klinik Potansiyeli

Kanser tedavilerinde potansiyel uygulamaları bağlamında, E vitamininin çeşitli biyolojik mekanizmalar üzerinden antikanser etki gösterebileceği bildirilmiştir. Literatürde, E vitamininin kanser hücrelerinin çoğalmasını baskılama, anjiyogenezi azaltma, büyüme faktörlerinin düzenlenmesine katkıda bulunma, hücre döngüsünü durdurma ve apoptozu indükleme gibi farklı yollarla tümör gelişimini etkileyebileceği ileri sürülmektedir. Bu bulgular, meme, akciğer, karaciğer, pankreas, deri ve mesane kanserlerine ait hücre hatları üzerinde yürütülen çeşitli *in vitro* çalışmalarda rapor edilmiştir (Cardenas & Ghosh, 2013; Kline vd., 2004). Bunun yanı sıra, bazı *in vivo* çalışmalar, özellikle tokotrienollerin kanser hücrelerinde selektif olarak biriktiğini, normal dokularda ise bu etkinin gözlenmediğini ortaya koymuştur. Ayrıca, fare melanom modellerinde yapılan deneysel bir çalışmada, δ -tokotrienol tedavisinin (100 mg/kg) tümör hacminde anlamlı bir azalmaya ve

tümör progresyonunun gecikmesine yol açtığı rapor edilmiştir (Mohd Zaffarin vd., 2020; Tan vd., 2017).

E vitamininin kanser biyolojisinde anti-proliferatif etkileri özellikle hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozun tetiklenmesi ile ilişkilendirilmiştir. Tokoferoller arasında δ - ve γ -izoformlarının, α -tokoferole kıyasla apoptozu daha güçlü şekilde indüklediği; bu etkinin ise esas olarak kaspaz-9 ve -3 aktivasyonu aracılığıyla gerçekleştiği rapor edilmiştir. Tokotrienollerin ise farklı mekanizmalar yoluyla apoptozu uyardığı öne sürülmektedir. Bu mekanizmalar arasında ölüm reseptörlerinin aktivasyonu, Bax/Bcl-2 oranındaki artış ve p53 aktivasyonu yer almakta olup, tümü kaspaz-9 aktivasyonuna aracılık edebilmektedir. Malign hepatositlerde gerçekleştirilen *in vitro* çalışmalar, farklı tokotrienol formlarının doz ve zamana bağlı olarak kaspaz ekspresyonunu artırabildiğini göstermektedir. Ayrıca, NF- κ B sinyal yolunun inhibisyonu aracılığıyla, tokotrienollerin proliferatif ve anjiyojenik proteinlerin ekspresyonunu azalttığı; bunun sonucunda apoptozun indüklendiği ve hücre döngüsünün G1 fazında durdurulduğu rapor edilmiştir. Buna ek olarak, γ -tokotrienolün PI3K/PDK-1/Akt sinyal yolunu EGFR düzeyinde engelleyebildiği bildirilmiştir. İnsan meme kanseri hücrelerinde ise δ -tokotrienolün TGF- β ve Fas aracılı apoptotik yolları aktive ederek c-Jun transkripsiyon faktörünü uyardığı; bunun da Bax proteininin mitokondriye translokasyonunu teşvik ettiği ve sitokrom c salınımına bağlı apoptoza yol açtığı gösterilmiştir (Abraham vd., 2019; Azzi, 2018).

Vitamin E izoformlarının, özellikle tokotrienollerin, anjiyogenezi baskılayıcı etkiler gösterebildiği de hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda rapor edilmiştir. Tokotrienoller arasında δ -izoformunun, anti-anjiyojenik etkinin en güçlü bileşenlerinden biri olduğu ifade edilmektedir. Buna karşın tokoferollerin benzer bir etki göstermediği bildirilmiştir. Kolorektal adenokarsinom hücreleri üzerinde yürütülen bir çalışmada, tokotrienol tedavisinin HIF-1 düzeylerini azalttığı ve bunun sonucunda anjiyojenik faktörlerin salınımını engellediği rapor edilmiştir. Ayrıca, tokotrienollerin MMP-9 gen ekspresyonunu baskılayarak tümör invazyonu ve anjiyogenezin azaltılmasına katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (Abraham vd., 2019).

E vitamininin potansiyel antikanser etkileri *in vitro* çalışmaların yanı sıra çeşitli klinik çalışmalarla da incelenmiştir. Bu çalışmaların bir kısmında tümör büyümesinin baskılandığı, meme ve prostat kanseri riskinde azalma olabileceği

bildirilmiştir(Galli vd., 2004). Ancak geniş ölçekli epidemiyolojik ve randomize kontrollü çalışmalarda E vitamini ile kanser insidansı arasında net bir ilişki bulunamamış, bazı çalışmalarda ise özellikle prostat ve mide kanserinde olumsuz etkiler gözlenmiştir (Azzi, 2018; Cardenas & Ghosh, 2013).

E Vitamini Türevlerinin Nanoformülasyonlarla Antikanser Potansiyeli

E vitamini türevlerinin kanser karşıtı potansiyeli *in vitro* olarak gösterilmiş olsa da bu etkileri her zaman *in vivo* modellerde gözlemlenememektedir. Bu durum büyük ölçüde düşük biyoyararlanımla ilişkilendirilmektedir. Özellikle tokotrienoller için oral biyoyararlanımın düşük olması, klinik kullanımını önemli ölçüde sınırlamaktadır. Günümüze kadar, nanoformülasyonların E vitamini türevlerinin antikanser özelliklerini güçlendirme potansiyeli üzerine yapılan araştırmalar sınırlı sayıdadır.

Niozomlar ve lipozomlar, lipofilik ilaçlar ve bileşiklerin taşınmasında büyük potansiyele sahip olan lipit bazlı nanovesiküller olarak kabul edilmektedir. Yağda çözünen bir vitamin olan e vitamininin biyoyararlanımının artırılması için bu nanotaşıyıcı sistemler büyük bir potansiyele sahiptir. Nitekim gerçekleştirilen bir çalışmada, transferrin reseptörlerini hedefleyen 6-O-palmitoyl-askorbik asit temelli, γ -tokotrienol yüklü niozomlar geliştirilmiştir. Söz konusu niozomlar, meme kanseri tedavisinde γ -tokotrienolün intravenöz uygulaması için transferrin reseptörlerini hedef alacak şekilde tasarlanmıştır. Elde edilen nanotaşıyıcı sistem hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde test edilmiş ve transferrin reseptörü hedefli niozomların γ -tokotrienolün terapötik etkinliğini anlamlı ölçüde artırdığı rapor edilmiştir (Tan vd., 2017).

Nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLC), tokotrienollerin antikanser özelliklerini güçlendirme potansiyeline sahiptir. Neoplastik +SA epitel meme hücreleri üzerinde yapılan bir çalışmada, tokotrienol yüklü NLC'lerin (IC_{50} : $2,12 \pm 0,21 \mu M$) serbest tokotrienole (IC_{50} : $2,73 \pm 0,11 \mu M$) kıyasla daha güçlü bir anti-kanser aktivite sergilediği gözlemlenmiştir. Ayrıca, E vitamini yüklü katı lipid nanopartiküller (SLN) ve NLC'lerin topikal uygulama sırasında cilt tahrişine neden olmadığı bildirilmiş, bu durum her iki formülasyonun güvenli olduğunu desteklemiştir(Mohd Zaffarin vd., 2020). Tüm bu bulgular, SLN ve

Endojen sentezle her hücrenin mitokondrisinde üretilen CoQ10, daha sonra hücre zarlarına ve lipoproteinlere dağıtılır. Endojen senteze ek olarak, CoQ10 çeşitli gıdalar aracılığıyla da organizmaya alınabilmektedir. Et ve balık, nispeten yüksek yağ içeriği ve mitokondri yoğunluğu nedeniyle diyetle alınan CoQ10'un en zengin kaynaklarıdır. Kuruyemişler, bazı yağlar, süt ürünleri, sebzeler, meyveler ve tahıllar düşük düzeylerde CoQ10 içeren besin maddeleridir. Beslenme yoluyla alınan miktara kıyasla, hücresel düzeyde üretilen miktar biyolojik işlevler açısından daha baskındır(Pravst vd., 2010).

CoQ10, mitokondriyal enerji metabolizmasındaki merkezi rolünün yanı sıra, lipitte çözünen bir antioksidan olarak da önemlidir. Özellikle indirgenmiş formu olan ubikinol, serbest radikalleri doğrudan nötralize etmenin yanı sıra C vitamini ve E vitamini gibi diğer antioksidanların rejenerasyonunu destekler. Böylece hücresel membranları, plazma lipitlerini ve lipoproteinleri oksidatif hasara karşı korur. CoQ10'un antioksidan aktivitesi, lipid oksidasyonunu engellemesi yoluyla ferroptoz gibi hücresel ölüm mekanizmalarını da etkileyebilir. Bu nedenle, enerji metabolizması ve oksidatif stresin düzenlenmesinde ikili işleviyle hücresel homeostazın korunmasında kritik bir molekül olarak değerlendirilmektedir (Aaseth vd., 2021; Cirilli vd., 2021; Ghasempour Dabaghi vd., 2024).

CoQ10'un klinik açıdan önemli roller üstlendiği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Kardiyovasküler, nörodejeneratif ve mitokondriyal hastalıkların yanı sıra diyabet, periodontal hastalık ve infertilite gibi durumlarda faydalı etkileri rapor edilmiştir. Antioksidan ve biyoenerjetik özellikleri nedeniyle kanser tedavisinde destekleyici bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiş, ayrıca CoQ10 takviyelerinin tedaviye toleransı artırabileceği araştırılmıştır. Bunun yanında, ciltte özellikle yaşlanmaya bağlı gelişen oksidatif stresi azaltıcı etkileri de vurgulanmaktadır (Cirilli vd., 2021; Hernández-Camacho vd., 2021).

Kanserde Koenzim Q10'un Rolü

Çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar, CoQ10'un kanserin başlangıcı ve ilerlemesinde önemli etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Melanom hücreleri üzerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneyler, CoQ10 tedavisinin hücre proliferasyonunu baskıladığını, apoptozu indüklediğini ve Wnt/ β -katenin yolunun inhibisyonu aracılığıyla metastazı engellediğini göstermiştir. Prostat

kanseri modellerinde ise CoQ10, tümör hücrelerinin büyümesini anlamlı ölçüde azaltırken normal prostat hücrelerini etkilememiştir (Thapa & Dallmann, 2020).

Meme kanseri hücrelerinde yürütülen araştırmalar, CoQ10'un hücre içi H₂O₂ düzeylerini düşürdüğünü ve MMP-2 aktivitesini baskılayarak invazyon ve metastaz potansiyelini azalttığını ortaya koymuştur. Kolorektal kanser hücre hattı HCT116 üzerinde yapılan çalışmalarda ise CoQ10 tedavisi, hücre proliferasyonunu inhibe etmiş; ROS ve NO üretimini artırmış aynı zamanda Bax, p21 ve p53 ekspresyonunu yükseltirken anti-apoptotik Bcl-2 düzeylerini azaltmıştır. Bu bulgular, CoQ10'un programlanmış hücre ölümünü düzenleyerek kolorektal kanser hücrelerini baskılayabileceğini düşündürmektedir (Ghasempour Dabaghi vd., 2024; Thapa & Dallmann, 2020).

CoQ10 uygulaması glioma ve glioblastoma modellerinde MMP-9 ve N-cadherin inhibisyonu aracılığıyla glioma hücrelerinin invazyon ve agresif fenotipini baskıladığı belirtilmiştir. Birincil etki mekanizması, DNA adüktleri oluşturarak DNA hasarına, hücre döngüsünün durmasına ve nihayetinde kanser hücrelerinde apoptozu tetiklemesini içerir (Bilici vd., 2025). Ayrıca glioblastoma üzerine yapılan çalışmalarda CoQ10'un radyoterapinin etkinliğini artırabileceği gösterilmiştir. Bu etki, mitokondriyal O₂ ve H₂O₂ üretiminde artış, DNA hasarında yükselme ve radyoterapiye bağlı apoptozun güçlenmesiyle ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda, uzun süreli sitotoksik etkiyi artırırken glioblastoma hücrelerinde antioksidan kapasiteyi ve katalaz aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Ghasempour Dabaghi vd., 2024).

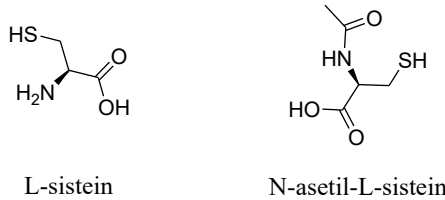
Tüm bu veriler, CoQ10'un farklı kanser türlerinde antiproliferatif, anti-invaziv ve terapötik etkinlik gösterebileceğini ve kemoterapi ile radyoterapiye karşı duyarlılığı artırabileceğini ortaya koymaktadır. CoQ10 kullanımına ilişkin mevcut bulgular umut verici olmakla birlikte, çeşitli kanser türlerinde yürütülen tamamlanmış ve devam eden klinik çalışmalar bu potansiyeli desteklemektedir. Bununla birlikte, çalışmaların büyük çoğunluğunda takip sürelerinin kısa olması, CoQ10'un genellikle diğer antikanser ajanlarla birlikte uygulanması ve tek başına etkisinin yeterince net biçimde ortaya konmamış olması, sonuçların genellenebilirliğini sınırlamaktadır.

Sentetik antioksidanlar (NAC, Trolox, BHT)

N-asetilsistein (NAC)

Farmakolojik Özellikleri ve Terapötik Potansiyeli

N-asetilsistein (NAC), endojen amino asit L-sisteinin sentetik bir türevidir. Yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan NAC, glutatyon (GSH) biyosentezinde öncü bir rol üstlenen ve klinik olarak uzun süredir kullanılan bir farmakolojik ajandır. Kimyasal olarak $C_5H_9NO_3S$ formülüne ve 163,2 g/mol molekül ağırlığına sahiptir. NAC, beyaz kristal toz formunda, karakteristik ekşi tatta ve hafif asetik kokulu bir bileşiktir (Raghu vd., 2021; Tenório vd., 2021).



Şekil 18. L-sistenin ve sentetik türevi NAC'nin kimyasal yapısı

İlk kez 1963 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından solunum yolu hastalıklarında mukolitik etkisi nedeniyle onaylanmış, daha sonra asetaminofen (parasetamol) doz aşımının tedavisinde temel panzehir olarak kabul edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) “temel ilaçlar” listesinde yer almakta ve günümüzde solunum yolu hastalıklarından toksikolojik acil durumlara kadar geniş bir yelpazede kullanılmaktadır (Kalyanaraman, 2022; Tenório vd., 2021).

NAC; oral, intravenöz veya inhalasyon yoluyla uygulanabilmekte ve yüksek dozlarda dahi genellikle güvenli ve iyi tolere edilmektedir. Oral yolla alındığında hızla emilir, karaciğerde metabolize edilir ve açığa çıkan sistein büyük ölçüde GSH sentezine yönlendirilmektedir (Raghu vd., 2021; Tenório vd., 2021). NAC, antioksidan enzimlerin etkinliğini destekler ve ROS temizleyici kapasitesi sayesinde ROS kaynaklı oksidatif stresin etkilerini azaltır. NAC'nin antioksidan kapasitesi, doğrudan ROS temizleyiciliğinden ziyade glutatyon aracılı detoksifikasyon mekanizmaları üzerinden gerçekleşmektedir (Kalyanaraman, 2022). NAC'nin farmakolojik etkileri yalnızca antioksidan savunma ile sınırlı değildir. Apoptozun düzenlenmesi, inflamasyonun baskılanması, mitokondriyal disfonksiyonun azaltılması ve

nörotransmitter homeostazı üzerinde dolaylı etkiler göstermektedir. Endotel hücrelerinde mitokondriyal membran depolarizasyonunu engelleyerek apoptozu önlemesi ve oksijen ilişkili genotoksisiteyi azaltması bu mekanizmalara örnek teşkil etmektedir (Mokhtari vd., 2016; Raghu vd., 2021). Güvenlik profili açısından değerlendirildiğinde NAC, iyi tolere edilen, düşük maliyetli ve teratojenik etkisi bulunmayan bir ilaçtır (Mokhtari vd., 2016; Tenório vd., 2021). Klinik uygulamalardaki etkinliği ve güvenilirliği nedeniyle hem toksikoloji hem de oksidatif stres temelli hastalıkların yönetiminde terapötik değeri giderek artmaktadır.

NAC; solunum yolu hastalıkları, toksikoloji, MSS bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar ve oftalmoloji gibi çok geniş bir yelpazede araştırılmaktadır. Mevcut kanıtlar, bazı alanlarda (KOA, asetaminofen zehirlenmesi) güçlü, diğer alanlarda ise (bağımlılık, kardiyovasküler hastalıklar) sınırlı ve çelişkilidir.

NAC, solunum sistemi hastalıklarında en çok incelenen ajanlardan biridir. Kronik bronşitte mukolitik etkisi kanıtlanmış, KOA'da ise alevlenme riskini azaltmada etkinliği gösterilmiştir. 2020 GOLD kılavuzlarında KOA yönetimi için ek tedavi olarak önerilmektedir (Raghu vd., 2021; C.-C. Yang, 2025). Antioksidan ve glutamaterjik nörotransmisyonu modüle edici özellikleri nedeniyle NAC'nin etkileri nöropatik ağrı, depresyon, şizofreni ve bağımlılık gibi birçok MSS hastalığında araştırılmıştır. Klinik çalışmalar NAC'nin MSS hastalıklarında semptomların kontrolü ve iyileştirilmesi için kısmi faydaları ile umut verici bir ajan olduğunu göstermiştir (Raghu vd., 2021). Klinik ve deneysel çalışmalar, NAC'nin kardiyovasküler hastalıklarda kardiyak fonksiyonları iyileştirme potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle diyabetik kardiyomiyopati, akut miyokard enfarktüsü, kalp yetmezliği ve koroner arter hastalığı gibi kardiyovasküler patolojilerde NAC'nin belirgin kardiyoprotektif etkiler sergilediği bildirilmektedir (Raghu vd., 2021; Tenório vd., 2021).

Bunlara ek olarak güçlü bir antioksidan olarak değerlendirilen NAC, polikistik over sendromunda klomifen sitrat direnci, tekrarlayan gebelik kayıpları, erken doğum riski, kronik bronşit, ülseratif kolit, karaciğer patogenezi, böbrek hastalıkları, kas performansı bozuklukları, Alzheimer ve Parkinson gibi çok çeşitli klinik tabloların tedavisinde araştırılmış ve farklı düzeylerde yararlı etkiler göstermiştir (Mokhtari vd., 2016).

NAC'nin Kanser Karşıtı Etkileri

NAC'nin antioksidan kapasitesi nedeniyle DNA hasarını azaltabileceği ve potansiyel olarak kanser başlangıcını engelleyebileceği öne sürülmektedir. Ayrıca, bağışıklık yanıtını modüle etme ve apoptozu destekleme yoluyla kanser gelişimini sınırlayabileceği bazı çalışmalarla bildirilmiştir. Bununla birlikte, NAC'nin etkisinin farklı kanser türlerinde moleküler ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişebileceği ifade edilmektedir. Kemopreventif mekanizmalar açısından NAC'nin, glutatyonun öncüsü olarak hücre içi antioksidan kapasiteyi artırabileceği ve oksidatif stres kaynaklı DNA hasarını azaltabileceği ileri sürülmektedir. Ayrıca, pro-inflamatuar sitokinlerin ve NF-κB aktivasyonunun baskılanması yoluyla iltihapla ilişkili kanser progresyonunu sınırlayabileceği öne sürülmektedir. Bazı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda NAC'nin, PI3K/Akt/mTOR ve MAPK gibi kritik hücrel sinyal yollarını modüle ederek hücre çoğalması, hayatta kalma ve metastaz süreçleri üzerinde etkili olabileceği gözlemlenmiştir (C.-C. Yang, 2025).

Hücre kültürü ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, NAC'nin normal hücreleri radyoterapi ve kemoterapinin toksik etkilerinden koruyabildiğini, ancak kanserli hücrelerde aynı koruyucu etkiyi göstermediğini ortaya koymuştur. NAC'nin pankreas kanseri hücrelerini gemsitabine karşı duyarlı hâle getirebileceği, üçlü negatif meme kanserinde tümör mikroçevresindeki ROS'u azaltarak potansiyel bir koruyucu etki sağlayabileceği öne sürülmektedir. Meme kanseri modellerinde NAC'nin, hücre proliferasyonunu sınırlayabileceği ve stromal hücre metabolizmasını etkileyerek tümör hücrelerinin laktat alımını azaltabileceği öne sürülmektedir. Yapılan bir pilot çalışmada, NAC'nin meme kanserinde güvenli olduğunu ve biyolojik aktivite gösterdiğini; ayrıca hücre proliferasyonunu ve MCT4 ekspresyonunu azalttığını ortaya koymuştur. Buna ek olarak, NAC'nin glioblastoma multiforme modellerinde Notch2 sinyallemesini hedefleyerek, antioksidandan bağımsız şekilde hücre çoğalması, göç ve invazyonu azaltabileceği öne sürülmektedir (Kalyanaraman, 2022; Mokhtari vd., 2016; Tenório vd., 2021).

NAC, özellikle akciğer kanseri bağlamında potansiyel bir kemopreventif ajan olarak ilgi görmektedir. Sigara içiminin, akciğer dokusunu çok sayıda prekanserojene maruz bırakarak GSH seviyelerinin azalmasına yol açabileceği öne sürülmektedir. Bu nedenle, GSH rezervuarını yeniden destekleyebilecek

NAC'nin, akciğer kanserine karşı koruyucu bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda intravenöz uygulama sonrasında akciğere ulaşan NAC miktarını artırmayı amaçlayan bir çalışmada, NAC yüklü transkutol içeren lipozom formülasyonu geliştirilmiştir. Hazırlanan veziküller, fizyokimyasal ve biyolojik özellikleri açısından *in vitro* olarak karakterize edilmiştir. Lipozomal formülasyonun, NAC'nin antioksidan ile anti-inflamatuar özelliklerini koruduğu rapor edilmiştir. Biyodağılım bulgularına bakıldığında, NAC transkutol içeren lipozomlarla uygulandığında çözelti formuna kıyasla akciğerde daha yüksek birikim göstermiştir (Nasr vd., 2024).

Mrówka ve arkadaşları tarafından, yan zincirlerinde farklı miktarlarda NAC içeren potansiyel antikanser aktiviteye sahip biyolojik olarak parçalanabilir fonksiyonel polimerler sentezlenmiş ve özellikleri incelenmiştir. Sentezlenen polimerlerin fizyolojik koşullarda hidrolitik bozunumu ve uzun vadeli biyolojik aktiviteleri incelenmiş ve tıbbi uygulama potansiyeli değerlendirilmiştir. Biyolojik değerlendirmede, sentezlenen polimerlerin NHDF (normal insan fibroblastları) ve HaCaT (normal insan keratinositleri) gibi normal hücrelerde canlılığı azaltmadığı ve inflamasyona yol açmadığı saptanmıştır. SCC-25 (skuamöz karsinom) ve Me45 (melanom) kanser hücre hatlarına karşı ise antikanser aktivite sergiledikleri rapor edilmiştir. Canlı mikroskopik görüntüleme ile doğrulanan sonuçlar, modifiye polimerlerin kanser hücrelerine karşı seçici antikanser potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur (Mrówka vd., 2020).

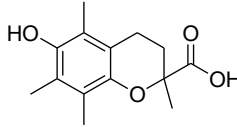
Literatürde, NAC tedavisinin kanser ilerlemesi ve metastaz üzerindeki etkilerine ilişkin çelişkili bulgular da rapor edilmektedir. Ön klinik çalışmalar, NAC uygulamasının bazı durumlarda akciğer kanseri ve melanomda metastazı artırabileceğini düşündürmektedir. Bu etkinin, tümör hücrelerindeki oksidatif stresin azalması yoluyla uzak bölgelerdeki tümörlerin çoğalmasını kolaylaştırabileceği öne sürülmektedir. Öte yandan, yüksek GSH seviyelerinin melanom ve karaciğer kanserinde metastazı teşvik edebileceği bildirilmiştir. NAC'nin bazı çalışmalarda uzak metastazı artırabileceği ve dolaşımdaki tümör hücrelerinin yayılımını güçlendirebileceği öne sürülmektedir (Kalyanaraman, 2022).

NAC hem doğrudan hem de dolaylı mekanizmalar aracılığıyla kanser hücreleri üzerinde potansiyel antikanser etkiler gösterebilen çok yönlü bir bileşiktir. Antioksidan kapasitesi, bağışıklık yanıtını modüle etme ve apoptozu

destekleme özellikleri, çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda tümör büyümesini sınırlayabileceğini göstermektedir. Araştırmalar, NAC'nin kanser hücrelerinde potansiyel antikanser etkiler gösterebileceğini öne sürse de bu etkinin tümör tipi ve mikroçevreye bağlı olarak değişkenlik göstermesi nedeniyle güvenli ve etkili kullanımını doğrulamak için ileri düzey klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Troloks

Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit), önemli bir doğal antioksidan olan E vitamininin suda çözünebilen sentetik bir türevi olup, E vitamininin lipofilité kaynaklı sınırlılıklarını aşmak amacıyla geliştirilmiştir. Troloks, E vitamini gibi bir antioksidan olup, oksidatif stresin veya oksidatif hasarın azaltılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu özelliği nedeniyle biyolojik ve biyokimyasal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Troloks, insan miyositleri, hepatositler ve eritrositler gibi çeşitli hücre tiplerini yerinde üretilen oksijen radikallerine karşı etkili biçimde koruyabilmekte ve ana E vitaminine kıyasla daha üstün bir antioksidan etkinlik sergilemektedir (J. Zhao vd., 2025). Troloks, diğer bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılmasında ve troloks eşdeğerleri olarak ifade edilmesinde sıklıkla referans olarak kullanılmaktadır (Alberto vd., 2013).



Şekil 19. Troloks kimyasal yapısı

Troloks, oksidatif stresi azaltma kapasitesi sayesinde çeşitli biyolojik süreçlerde koruyucu ve iyileştirici etkilere sahip bir bileşiktir. Bu doğrultuda yara iyileşmesini hızlandırabildiği, manganez kaynaklı nörogelişimsel hasarı tersine çevirebildiği ve iskemi-reperfüzyon hasarını takiben hipokampal sinirleri koruyabildiği gösterilmiştir. Ayrıca nöroprotektif potansiyeli farklı deneysel modellerde doğrulanmış olup, bir iskemi modelinde hipokampal nörodejenerasyonu azalttığı, epileptik bozukluklarda koruyucu etki gösterdiği ve MPTP kaynaklı Parkinson hastalığı modelinde nöroprotektif rol oynadığı bildirilmiştir. Bunun yanında Troloksun artrit semptomlarını hafifletme, bağışıklık sistemini düzenleme, tip 2 diyabetin yönetiminde yarar sağlama ve

sigara dumanına bağlı akciğer hasarını önleme potansiyeli de bulunmaktadır (Xu vd., 2022; J. Zhao vd., 2025).

Troloks ve Antikanser Potansiyeli

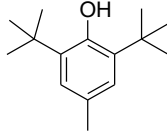
Troloksun nispeten düşük bir sitotoksisiteye sahip olduğu bildirilmektedir. Troloks lipid peroksidasyonunu, oksidatif stresi ve ROS üretimini azaltarak apoptozu teşvik etme potansiyeli sayesinde uygun bir antikanser ajan olarak değerlendirilmektedir (J. Zhao vd., 2025).

Troloks, metastatik tümörlerin göçü ve invazyonunda rol oynamaktadır. A549 ve HeLa hücre hatlarına karşı troloksun potansiyel antikanser etkileri incelenmiştir. Troloks uygulamasının, NF- κ B aktivitesini inhibe etmesi yoluyla MMP-9 ekspresyonunu azalttığı ortaya konmuştur. MMP-9 ekspresyonunun baskılanması sonucunda A549 ve HeLa hücrelerinin göç ve invazyonunun inhibe olduğu rapor edilmiştir (Ko, 2011). Ayrıca troloksun yumurtalık ve meme kanseri hücrelerinde kurkumin kaynaklı sitotoksisiteyi artırdığı (Lee vd., 2014), glioblastoma gelişimini baskılayabilgi bildirilmiştir (Xu vd., 2022).

Meme kanseri, kemik metastazlarının sık görüldüğü bir klinik tablo olarak bilinmektedir. Bu patogenezin önlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada, Troloksun meme kanseri kaynaklı osteolitik kemik metastazı üzerindeki potansiyel inhibitör etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, Troloksun meme kanseri hücrelerine karşı hem PGE2'ye bağımlı hem de bağımsız mekanizmalar aracılığıyla antimetastatik ve antiosteolitik etkiler sergilediğini göstermiştir (Lee vd., 2014).

Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT)

Bütillenmiş hidroksitoluen (BHT/2,6-ditert-bütil-4-metilfenol), en yaygın kullanılan sentetik fenolik antioksidanlardan biridir. İyi antioksidan özellikleri, sentez kolaylığı ve düşük maliyeti nedeniyle endüstriyel alanlarda koruyucu madde olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Oldukça lipofilik bir yapıya sahip olan BHT, peroksil radikallerini azaltarak oksidatif süreçleri durdurur. Bu özelliği sayesinde gıda katkı maddesi ve koruyucu olarak, ayrıca kozmetik formülasyonlarında antioksidan bileşen olarak tercih edilmektedir. Kanserojen madde olabileceğine dair endişeler olsa da literatürdeki veriler, BHT'nin gıdalarda ve kozmetik ürünlerde antioksidan olarak kullanımının güvenli olduğunu göstermektedir (Dai vd., 2023; Fahim vd., 2023).



Şekil 20. *Bütillenmiş hidroksitoluen kimyasal yapısı*

BHT'nin bazı kanser türlerine karşı koruyucu etkisi rapor edilmiştir. Özellikle meme kanseri, lenfoma, karaciğer neoplazmları ve akciğer adenomu insidansını azalttığı gösterilmiştir. fahim

BHT'nin insan maksiller kanser hücre hattı üzerindeki potansiyel antikanser etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, BHT'nin hücre döngüsünde G1 fazını inhibe ederek S fazına geçişi engellediğini ortaya koymuştur. Ayrıca, karsinogenezi baskıladığı ve malign lezyonlar üzerinde antiproliferatif etki gösterebileceği öne sürülmüştür (Yamamoto & Takasaki, 1996).

BHT'nin, sigara ve kızarmış yiyeceklerde bulunan hepatotoksik bir bileşik olan dietilnitrozamin (DEN) kaynaklı hepatoselüler karsinom (HCC) üzerindeki modülatör etkisi ve olası tedavi edici potansiyeli, etki mekanizması bağlamında incelenmiştir. Mevcut çalışma, sentetik fenolik bir antioksidan olan BHT'nin, DEN'in olumsuz etkilerini azaltarak karaciğeri hasar ve karsinogenezden koruyabileceğini göstermektedir. BHT'nin bu koruyucu etkileri; HCC biyobelirteçlerinin azalması, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun baskılanması, antioksidan enzim aktivitesinin artırılması ve apoptotik sinyal yollarının aktive edilmesiyle ilişkilendirilmiştir (Fahim vd., 2023).

Antioksidan kombinasyonlarının sinerjik veya antagonistik etkileri

Kanser tedavisinde bileşiklerin kombinasyonlarının kullanımı, tekil moleküllerin yetersiz kaldığı durumlarda umut vaat eden bir strateji olarak öne çıkmaktadır. Bu yaklaşım, tek bir hedefe odaklanmak yerine, birden fazla biyolojik yolu eş zamanlı olarak etkilemeyi amaçlar. Antioksidan bileşiklerin sinerjik kombinasyonları, her bir bileşenin tek başına uygulandığında sağlayamadığı daha güçlü terapötik etkiler yaratabilir. Ayrıca, bu kombinasyonlar, bileşiklerin kararlılığını artırabilir ve potansiyel toksisiteyi azaltarak tedaviyi daha güvenli hale getirebilir. Bu çok yönlü etki mekanizması,

kanser hücrelerinin direnç geliştirme olasılığını düşürerek tedavinin başarısını artırmaya yardımcı olur. Birden fazla çalışmada, iki veya üç farklı antioksidan polifenolden oluşan karışımların kanser hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Çeşitli araştırmalar, EGCG'nin diğer moleküllerle kombinasyon halinde kullanıldığında kanser hücrelerinde apoptoz sürecini sinerjik olarak artırdığını göstermektedir. Özellikle, prostat ve meme kanseri hücrelerinde EGCG ve kuersetin ile EGCG ve RES kombinasyonlarının etkinliği araştırılmıştır. Bu kombinasyonlar hem prostat hem de meme kanseri hücre hatlarında anti-kanser etkiler göstermiştir (Eom vd., 2015). EGCG'nin kurkumin ile birlikte kullanımı, A549 hücrelerinde hücre döngüsünün durdurulmasında etkili olmuştur. Bu kombinasyon, hücre döngüsü proteinleri olan siklin D1 ve siklin B1'i inhibe ederek hücrelerin G1 ve G2/S fazlarında durmasını sağlamıştır. Ayrıca, bu sinerjik kombinasyonun, ksenograft fare modellerinde tümör ilerlemesiyle ilişkili olan kilo kaybını engellediği ve genel olarak koruyucu bir etki gösterdiği rapor edilmiştir (Sehgal vd., 2023). Başka bir çalışmada ise EGCG ve kurkumin kombinasyonunun MCF-7 meme kanseri hücrelerinde kaspaz bağımlı apoptozu yukarı regüle ederek hücre ölümünü indüklediği bildirilmiştir. NAC ile EGCG, CL-13 akciğer kanseri hücrelerinde EGCG-20-NAC aduktünü oluşturarak apoptozu indüklemektedir. EGCG ve pterostilben kombinasyonunun, PANC-1 ve MIA-Pa-Ca-2 pankreas kanseri hücrelerinde etkili bir şekilde apoptoz indüklediği rapor edilmiştir. Kuersetinin, sıçan ve insanlarda EGCG'nin biyoyararlanımını artırabildiği ve bu sayede LNCaP ve PC-3 prostat kanseri hücrelerindeki apoptotik etkiyi güçlendirdiği gözlemlenmiştir (Rady vd., 2018). Yapılan bir çalışmada kurkumin, RES ve epikateşin gallat adlı üçlü bir besin kombinasyonu kullanılmıştır. Bu kombinasyonun, HPV pozitif baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomunda hücre canlılığı, klonojenik sağkalım, apoptoz ve tümör büyümesi üzerinde anti-kanser etkileri olduğu ortaya konmuştur (Niedzwiecki vd., 2016).

Antioksidan polifenol karışımlarının kanser karşıtı etkinlikleri, farklı tümör tipleri üzerinde yapılan deneysel çalışmalarla desteklenmektedir. Kuersetin (400 mg), Cruciferex™ (400 mg; lahana, karnabahar, brokoli ve havuç özütü), zerdeçal kökü özütü (%95 kurkuminoid, 300 mg), RES (50 mg) ve standartlaştırılmış yeşil çay özütünden (300 mg) oluşan besin karışımının (PB) çeşitli kanser hücre hatlarına karşı etkileri incelenmiştir. OHSU-974 (baş

ve boyun skuamöz hücreli karsinomu) hücreleri enjekte edilen fareler %1 oranında PB ile zenginleştirilmiş bir diyetle beslenmiş ve farelerde tümör büyümesinin ve tümör yükünün inhibe olduğu gözlemlenmiştir. Ek olarak, *in vitro* ortamda gerçekleştirilen çalışmalar, OHSU-974 hücrelerinin çoğalmasının PB konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığını göstermiştir. PB'nin inhibitör etkileri aynı zamanda fibrosarkom ve melanom hücrelerinde de gözlenmiştir. *In vitro* deneylerde, insan fibrosarkom hücre hattı (HT-1080) ve melanom hücreleri (A2058) üzerinde yapılan testler, PB'nin hücre proliferasyonu, MMP-2 ve MMP-9 salgılanması ve hücre invazyonunu doza bağımlı şekilde baskıladığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, PB her iki hücre hattında da doza bağımlı apoptoz indüksiyonuna yol açmıştır (Niedzwiecki vd., 2016).

Yeşil çay özütünün ana bileşeni olan EGCG'nin, askorbik asit, lizin, prolin, arginin, N-asetilsistein, selenyum, bakır ve manganez gibi bileşenlerle oluşturduğu özel bir kombinasyonun (NM), çeşitli kanser hücreleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu sinerjik karışım hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamlarda güçlü bir antikanser aktivite göstermiştir. Fare modelinde, karaciğer ve akciğer metastazını önemli ölçüde baskıladığı ve test edilen tüm insan kanser hücre hatlarında tümör boyutunu ve yükünü azalttığı tespit edilmiştir. *In vitro* çalışmalar, NM'nin çok sayıda kanser hücre hattında hücre çoğalması, invazyonu, göçü, MMP salgılanması ve anjiyogenez süreçlerini etkili bir şekilde inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, bu karışımın apoptozu teşvik ederek ve proapoptotik genlerin ekspresyonunu artırarak kanser hücrelerinin ölümüne yol açtığı gözlemlenmiştir (Niedzwiecki vd., 2016).

Kurkumin ve kuersetin, güçlü antioksidan ve antikanser özellikleri ile öne çıkan doğal polifenollerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, bu iki bileşiğin kombinasyon halinde kullanıldığında sinerjik etki göstererek hücre proliferasyonunu baskıladığını ve apoptozu indüklediğini ortaya koymuştur. Kuersetin ve kurkuminin apoferritin boşluğuna yüklenmesiyle oluşturulan Que-Cur-HoS-Apo nanopartiküllerinin meme kanseri tedavisindeki potansiyeli araştırılmıştır. Apoferritin tabanlı bu sistem, kuersetin ve kurkuminin sinerjik sitotoksik etkilerini artırarak MCF-7 hücrelerinde proliferasyonu anlamlı düzeyde baskılamış ve apoptozu indüklemiştir. Ayrıca bu etkiler, serbest formdaki kuersetin ve kurkumine kıyasla daha düşük dozlarda elde edilmiştir (Mansourizadeh vd., 2020). Başka bir çalışmada, kuersetin ve kurkuminin

BRCA1 ekspresyonunu doza bağlı olarak artırdığı belirlenmiştir. Bu kombinasyon, özellikle üçlü negatif meme kanseri hücre hatlarında BRCA1 seviyelerinin düzenlenmesi, hücre sağ kalımının azaltılması ve hücre göçünün engellenmesi üzerinde sinerjik bir etki göstermiştir. Ayrıca BRCA1 ekspresyonunun baskılandığı ER+ hücrelerde de kombinasyon tedavisinin hücre sağ kalımı ve göçünü anlamlı ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Kundur vd., 2019). Kuersetin ve kurkumin kombinasyonlarının K562 hücreleri üzerindeki etkileri de incelenmiş; elde edilen bulgular, bu iki polifenolün birlikte uygulanmasının apoptozu tetikleyerek hücre büyümesini baskıladığını ortaya koymuştur (Mutlu Altundağ vd., 2018).

RES ve kuersetin kombinasyonu, farklı tipteki kanser hücre hatlarında hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde incelenmiş ve sinerjik etki göstererek hücresel proliferasyonu anlamlı şekilde baskılamıştır. RES ve kuersetin kombinasyonunun pankreas kanseri üzerinde hem *in vitro* hem de *in vivo* modellerde etkili olduğu rapor edilmiştir. RES ve kuersetin kombinasyonun mitokondriyal sitokrom c salımı ve kaspaz-3 aktivasyonu üzerinde sinerjik bir etki ortaya koyduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, RES ve kuersetin kombinasyonunun nöroblastoma hücre hattı üzerinde hücresel proliferasyonu inhibe ettiği ve buna bağlı olarak nötral endopeptidaz ile anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitelerini artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, uzun süreli tedavi, nöroblastoma hücrelerinin farklılaşma durumunu iyileştirmiştir (Singh vd., 2016).

KAYNAKLAR

- Aaseth, J., Alexander, J., & Alehagen, U. (2021). Coenzyme Q10 supplementation – In ageing and disease. *Mechanisms of Ageing and Development*, 197, 111521. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111521>
- Abraham, A., Kattoor, A. J., Saldeen, T., & Mehta, J. L. (2019). Vitamin E and its anticancer effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(17), 2831-2838. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1474169>
- Aghababaei, F., & Hadidi, M. (2023). Recent Advances in Potential Health Benefits of Quercetin. *Pharmaceuticals*, 16(7), 1020. <https://doi.org/10.3390/ph16071020>
- Ahmad, I., Hoque, M., Alam, S. S. M., Zughaibi, T. A., & Tabrez, S. (2023). Curcumin and Plumbagin Synergistically Target the PI3K/Akt/mTOR Pathway: A Prospective Role in Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6651. <https://doi.org/10.3390/ijms24076651>
- Alberto, M. E., Russo, N., Grand, A., & Galano, A. (2013). A physicochemical examination of the free radical scavenging activity of Trolox: Mechanism, kinetics and influence of the environment. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(13), 4642. <https://doi.org/10.1039/c3cp43319f>
- Alharbi, H. O. A., Alshebremi, M., Babiker, A. Y., & Rahmani, A. H. (2025). The Role of Quercetin, a Flavonoid in the Management of Pathogenesis Through Regulation of Oxidative Stress, Inflammation, and Biological Activities. *Biomolecules*, 15(1), 151. <https://doi.org/10.3390/biom15010151>
- Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. İçinde *Advances in Food and Nutrition Research* (C. 90, ss. 1-81). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.011>
- Annaji, M., Poudel, I., Boddu, S. H. S., Arnold, R. D., Tiwari, A. K., & Babu, R. J. (2021). Resveratrol-loaded nanomedicines for cancer applications. *Cancer Reports*, 4(3), e1353. <https://doi.org/10.1002/cnr2.1353>
- Azzi, A. (2018). Many tocopherols, one vitamin E. *Molecular Aspects of Medicine*, 61, 92-103. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.06.004>

- Belete, T. M., & Beyna, A. T. (2025). Review on the Ethnopharmacological Use of Medicinal Plants and Their Anticancer Activity from Preclinical to Clinical Trial. *Natural Product Communications*, 20(4), 1934578X251333027. <https://doi.org/10.1177/1934578X251333027>
- Bilici, E., Akgün, EE, Akkoç, S. (2025). Comparative Evaluation of the Apoptosis Effect of a Benzimidazole-Based Compound and Cisplatin in DLD-1 and MDA-MB-231 Cell Lines, *EUROASIA* 12(1): 140-146.
- Bilici, E., Uğuz, C., Altunbaş, K. (2025). Examining the Impact of 4-Nonylphenol on G-361 Malignant Melanoma Cell Proliferation and Apoptosis Activation. *Van Vet J*, 36 (2) 110-114.
- Bisht, S., Mizuma, M., Feldmann, G., Ottenhof, N. A., Hong, S.-M., Pramanik, D., Chenna, V., Karikari, C., Sharma, R., Goggins, M. G., Rudek, M. A., Ravi, R., Maitra, A., & Maitra, A. (2010). Systemic Administration of Polymeric Nanoparticle-Encapsulated Curcumin (NanoCurc) Blocks Tumor Growth and Metastases in Preclinical Models of Pancreatic Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 9(8), 2255-2264. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0172>
- Blaner, W. S. (2020). Vitamin A and provitamin A carotenoids. *İçinde Present Knowledge in Nutrition* (ss. 73-91). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-66162-1.00005-6>
- Cadena, P. G., Pereira, M. A., Cordeiro, R. B. S., Cavalcanti, I. M. F., Barros Neto, B., Pimentel, M. D. C. C. B., Lima Filho, J. L., Silva, V. L., & Santos-Magalhães, N. S. (2013). Nanoencapsulation of quercetin and resveratrol into elastic liposomes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1828(2), 309-316. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.10.022>
- Cardenas, E., & Ghosh, R. (2013). Vitamin E: A dark horse at the crossroad of cancer management. *Biochemical Pharmacology*, 86(7), 845-852. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.07.018>
- Chang, J.-H., Lai, S.-L., Chen, W.-S., Hung, W.-Y., Chow, J.-M., Hsiao, M., Lee, W.-J., & Chien, M.-H. (2017). Quercetin suppresses the metastatic ability of lung cancer through inhibiting Snail-dependent Akt activation and Snail-independent ADAM9 expression pathways. *Biochimica et*

- Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1864(10), 1746-1758.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.017>
- Chen, Q., Espey, M. G., Sun, A. Y., Pooput, C., Kirk, K. L., Krishna, M. C., Khosh, D. B., Drisko, J., & Levine, M. (2008). Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(32), 11105-11109. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804226105>
- Chibuye, B., Singh, I. S., Ramasamy, S., & Maseka, K. K. (2024). Natural antioxidants: A comprehensive elucidation of their sources, mechanisms, and applications in health. *Next Research*, 1(2), 100086. <https://doi.org/10.1016/j.nexres.2024.100086>
- Cho, S., Chae, J. S., Shin, H., Shin, Y., Kim, Y., Kil, E.-J., Byun, H.-S., Cho, S.-H., Park, S., Lee, S., & Yeom, C.-H. (2020). Enhanced Anticancer Effect of Adding Magnesium to Vitamin C Therapy: Inhibition of Hormetic Response by SVCT-2 Activation. *Translational Oncology*, 13(2), 401-409. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.10.017>
- Cirilli, I., Damiani, E., Dlodla, P. V., Hargreaves, I., Marcheggiani, F., Millichap, L. E., Orlando, P., Silvestri, S., & Tiano, L. (2021). Role of Coenzyme Q10 in Health and Disease: An Update on the Last 10 Years (2010–2020). *Antioxidants*, 10(8), 1325. <https://doi.org/10.3390/antiox10081325>
- Dai, S., Yu, C., Liang, M., Cheng, H., Li, W., Lai, F., Ma, L., & Liu, X. (2023). Oxidation characteristics and thermal stability of Butylated hydroxytoluene. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(8), 104932. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104932>
- De Carvalho Melo-Cavalcante, A. A., Da Rocha Sousa, L., Alencar, M. V. O. B., De Oliveira Santos, J. V., Da Mata, A. M. O., Paz, M. F. C. J., De Carvalho, R. M., Nunes, N. M. F., Islam, M. T., Mendes, A. N., Gonçalves, J. C. R., Da Silva, F. C. C., Ferreira, P. M. P., & De Castro E Sousaa, J. M. (2019). Retinol palmitate and ascorbic acid: Role in oncological prevention and therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1394-1405. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.115>
- Deng, L.-J., Qi, M., Li, N., Lei, Y.-H., Zhang, D.-M., & Chen, J.-X. (2020). Natural products and their derivatives: Promising modulators of tumor

- immunotherapy. *Journal of Leukocyte Biology*, 108(2), 493-508. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MR0320-444R>
- Dhatwalia, S. K., Kumar, M., & Dhawan, D. K. (2018). Role of EGCG in Containing the Progression of Lung Tumorigenesis – A Multistage Targeting Approach. *Nutrition and Cancer*, 70(3), 334-349. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1445762>
- Doldo, E., Costanza, G., Agostinelli, S., Tarquini, C., Ferlosio, A., Arcuri, G., Passeri, D., Scioli, M. G., & Orlandi, A. (2015). Vitamin A, Cancer Treatment and Prevention: The New Role of Cellular Retinol Binding Proteins. *BioMed Research International*, 2015, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2015/624627>
- Eom, D.-W., Lee, J. H., Kim, Y.-J., Hwang, G. S., Kim, S.-N., Kwak, J. H., Cheon, G. J., Kim, K. H., Jang, H.-J., Ham, J., Kang, K. S., & Yamabe, N. (2015). Synergistic effect of curcumin on epigallocatechin gallate-induced anticancer action in PC3 prostate cancer cells. *BMB Reports*, 48(8), 461-466. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2015.48.8.216>
- Fahim, S. A., Ibrahim, S., Tadros, S. A., & Badary, O. A. (2023). Protective effects of butylated hydroxytoluene on the initiation of N-nitrosodiethylamine-induced hepatocellular carcinoma in albino rats. *Human & Experimental Toxicology*, 42, 09603271231165664. <https://doi.org/10.1177/09603271231165664>
- Feng, J., Song, D., Jiang, S., Yang, X., Ding, T., Zhang, H., Luo, J., Liao, J., & Yin, Q. (2018). Quercetin restrains TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition by inhibiting Twist1 and regulating E-cadherin expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 498(1), 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.044>
- Galli, F., Stabile, A. M., Betti, M., Conte, C., Pistilli, A., Rende, M., Floridi, A., & Azzi, A. (2004). The effect of α - and γ -tocopherol and their carboxyethyl hydroxychroman metabolites on prostate cancer cell proliferation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 423(1), 97-102. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2003.11.014>
- Ghasempour Dabaghi, G., Rabiee Rad, M., Mohammad-Zamani, M., Karimi Shervedani, A., Bahrami-Samani, F., & Heshmat-Gahdarijani, K. (2024). The role of coenzyme Q10 as a preventive and therapeutic agent

- for the treatment of cancers. *Current Problems in Cancer*, 48, 101063. <https://doi.org/10.1016/j.currproblcancer.2024.101063>
- Hao, M., & Zhang, C. (2025). Pre-clinical study of curcumin in the treatment of gastric Cancer. *Journal of Functional Foods*, 125, 106677. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2025.106677>
- Hargreaves, I., Heaton, R. A., & Mantle, D. (2020). Disorders of Human Coenzyme Q10 Metabolism: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6695. <https://doi.org/10.3390/ijms21186695>
- Hedayati, N., Safari, M. H., Milasi, Y. E., Kahkesh, S., Farahani, N., Khoshnazar, S. M., Dorostgou, Z., Alaei, E., Alimohammadi, M., Rahimzadeh, P., Taheriazam, A., & Hashemi, M. (2025). Modulation of the PI3K/Akt signaling pathway by resveratrol in cancer: Molecular mechanisms and therapeutic opportunity. *Discover Oncology*, 16(1), 669. <https://doi.org/10.1007/s12672-025-02471-w>
- Hernández-Camacho, J. D., García-Corzo, L., Fernández-Ayala, D. J. M., Navas, P., & López-Lluch, G. (2021). Coenzyme Q at the Hinge of Health and Metabolic Diseases. *Antioxidants*, 10(11), 1785. <https://doi.org/10.3390/antiox10111785>
- Intagliata, S., Modica, M. N., Santagati, L. M., & Montenegro, L. (2019). Strategies to Improve Resveratrol Systemic and Topical Bioavailability: An Update. *Antioxidants*, 8(8), 244. <https://doi.org/10.3390/antiox8080244>
- Iqbal, Y., Amin, F., Aziz, M. H., Alhadlaq, H. A., & Alaizeri, Z. M. (2025). Biomimetic sodium alginate functionalized gold nanoparticles loaded with Trans-resveratrol for in-vitro cancer treatment and intercellular ROS studies against MCF-7 cell lines. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 712, 136448. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2025.136448>
- Jung, K.-H., Lee, J. H., Park, J. W., Quach, C. H. T., Moon, S.-H., Cho, Y. S., & Lee, K.-H. (2015). Resveratrol-loaded polymeric nanoparticles suppress glucose metabolism and tumor growth in vitro and in vivo. *International Journal of Pharmaceutics*, 478(1), 251-257. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.11.049>

- Kalyanaraman, B. (2022). NAC, NAC, Knockin' on Heaven's door: Interpreting the mechanism of action of N-acetylcysteine in tumor and immune cells. *Redox Biology*, 57, 102497. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102497>
- Keshavarz, F., Dorfaki, M., Bardania, H., Khosravani, F., Nazari, P., & Ghalamfarsa, G. (2023). Quercetin-loaded Liposomes Effectively Induced Apoptosis and Decreased the Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Colorectal Cancer Cells: An In Vitro Study. *Iranian Journal of Medical Sciences*, 48(3). <https://doi.org/10.30476/ijms.2022.95272.2658>
- Khayat, M. T., Zarka, M. A., El-Telbany, D. Farag. A., El-Halawany, A. M., Kutbi, H. I., Elkhatib, W. F., Noreddin, A. M., Khayyat, A. N., El-Telbany, R. F. A., Hammad, S. F., Abdel-Naim, A. B., Alolayan, E. M., & Al-Sawahli, M. M. (2022). Intensification of resveratrol cytotoxicity, pro-apoptosis, oxidant potentials in human colorectal carcinoma HCT-116 cells using zein nanoparticles. *Scientific Reports*, 12(1), 15235. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18557-2>
- Kim, J., Lee, S.-D., Chang, B., Jin, D.-H., Jung, S.-I., Park, M.-Y., Han, Y., Yang, Y., Il Kim, K., Lim, J.-S., Kang, Y.-S., & Lee, M.-S. (2012). Enhanced antitumor activity of vitamin C via p53 in Cancer cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(8), 1607-1615. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.07.079>
- Kline, K., Yu, W., & Sanders, B. G. (2004). Vitamin E and Breast Cancer. *The Journal of Nutrition*, 134(12), 3458S-3462S. <https://doi.org/10.1093/jn/134.12.3458S>
- Ko, J. (2011). Inhibitory effect of Trolox on the migration and invasion of human lung and cervical cancer cells. *International Journal of Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2011.832>
- Krupkova, O., Ferguson, S. J., & Wuertz-Kozak, K. (2016). Stability of (-)-epigallocatechin gallate and its activity in liquid formulations and delivery systems. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 37, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.01.002>
- Kundur, S., Prayag, A., Selvakumar, P., Nguyen, H., McKee, L., Cruz, C., Srinivasan, A., Shoyele, S., & Lakshmikuttyamma, A. (2019). Synergistic anticancer action of quercetin and curcumin against triple-

- negative breast cancer cell lines. *Journal of Cellular Physiology*, 234(7), 11103-11118. <https://doi.org/10.1002/jcp.27761>
- Kunnumakkara, A. B., Anand, P., & Aggarwal, B. B. (2008). Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Letters*, 269(2), 199-225. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.03.009>
- Kursvietiene, L., Kopustinskiene, D. M., Staneviciene, I., Mongirdiene, A., Kubová, K., Masteikova, R., & Bernatoniene, J. (2023). Anti-Cancer Properties of Resveratrol: A Focus on Its Impact on Mitochondrial Functions. *Antioxidants*, 12(12), 2056. <https://doi.org/10.3390/antiox12122056>
- Lee, J.-H., Kim, B., Jin, W. J., Kim, J.-W., Kim, H.-H., Ha, H., & Lee, Z. H. (2014). Trolox inhibits osteolytic bone metastasis of breast cancer through both PGE2-dependent and independent mechanisms. *Biochemical Pharmacology*, 91(1), 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.06.005>
- Liposomal Curcumin for Treatment of Cancer. (t.y.). *Signpath Pharma*. Geliş tarihi 08 Ağustos 2025, gönderen <https://signpathpharma.com/portfolio/liposomal-curcumin-for-treatment-of-cancer/>
- Liu, T., Wang, Y., Peng, M., Qi, F., Liu, Y., Ding, H., & Chen, F. (2025). Quercetin induces immunogenic cell death against gastric cancer by targeting NR3C1. *Toxicon*, 265, 108477. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2025.108477>
- Liu, Z., Wu, X., Lv, J., Sun, H., & Zhou, F. (2019). Resveratrol induces p53 in colorectal cancer through SET7/9. *Oncology Letters*. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10034>
- Lu, Y., Zhang, W., Li, H., Liu, C., Gao, D., Zhuang, J., Liu, R., Wu, J., & Sun, C. (2022). The Mechanism of Quercetin in the Treatment of Lung Squamous Cell Carcinoma Based on a Protein-Protein Interaction Network. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2022/9985160>
- Mansourizadeh, F., Alberti, D., Bitonto, V., Tripepi, M., Sepehri, H., Khoei, S., & Geninatti Crich, S. (2020). Efficient synergistic combination effect of Quercetin with Curcumin on breast cancer cell apoptosis through their

- loading into Apo ferritin cavity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 191, 110982. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.110982>
- McGuire, K., Jamison, J. M., Gilloteaux, J., & Summers, J. L. (2013). Synergistic Antitumor Activity of Vitamins C and K3 on Human Bladder Cancer Cell Lines. *Journal of Cancer Therapy*, 04(06), 7-19. <https://doi.org/10.4236/jct.2013.46A3002>
- Mirazimi, S. M. A., Dashti, F., Tobeiha, M., Shahini, A., Jafari, R., Khoddami, M., Sheida, A. H., EsnaAshari, P., Aflatoonian, A. H., Elikaii, F., Zakeri, M. S., Hamblin, M. R., Aghajani, M., Bavarsadkarimi, M., & Mirzaei, H. (2022). Application of Quercetin in the Treatment of Gastrointestinal Cancers. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 860209. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.860209>
- Mohammed, W. H., Sulaiman, G. M., & Mohammed, H. A. (2025). Potential anticancer therapeutic targets of resveratrol and its role in the therapy of hepatocellular carcinoma. *Food Bioscience*, 69, 106935. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106935>
- Mohd Zaffarin, A. S., Ng, S.-F., Ng, M. H., Hassan, H., & Alias, E. (2020). Pharmacology and Pharmacokinetics of Vitamin E: Nanoformulations to Enhance Bioavailability. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 15, 9961-9974. <https://doi.org/10.2147/IJN.S276355>
- Mokhtari, V., Afsharian, P., & Kalantar, S. M. (2016). *A Review on Various Uses of N-Acetyl Cysteine*.
- Mrówka, M., Jaszcz, K., & Skonieczna, M. (2020). Anticancer activity of functional polysuccinates with N-acetyl-cysteine in side chains. *European Journal of Pharmacology*, 885, 173501. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173501>
- Mukhtar, H., & Ahmad, N. (2000). Tea polyphenols: Prevention of cancer and optimizing health. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6), 1698S-1702S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1698S>
- Mussa, A., Mohd Idris, R. A., Ahmed, N., Ahmad, S., Murtadha, A. H., Tengku Din, T. A. D. A. A., Yean, C. Y., Wan Abdul Rahman, W. F., Mat Lazim, N., Uskoković, V., Hajissa, K., Mokhtar, N. F., Mohamud, R., & Hassan, R. (2022). High-Dose Vitamin C for Cancer Therapy. *Pharmaceuticals*, 15(6), 711. <https://doi.org/10.3390/ph15060711>

- Mutlu Altundağ, E., Yılmaz, A. M., Koçtürk, S., Taga, Y., & Yalçın, A. S. (2018). Synergistic Induction of Apoptosis by Quercetin and Curcumin in Chronic Myeloid Leukemia (K562) Cells. *Nutrition and Cancer*, 70(1), 97-108. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1380208>
- Nasr, M., Ibrahim, I. T., & Attallah, K. M. (2024). Design of N-acetylcysteine vesicles as a potential chemopreventive tool in lung cancer: Characterization, Tc-99 m radiolabeling and in vivo evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 98, 105874. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105874>
- Niedzwiecki, A., Roomi, M., Kalinovsky, T., & Rath, M. (2016). Anticancer Efficacy of Polyphenols and Their Combinations. *Nutrients*, 8(9), 552. <https://doi.org/10.3390/nu8090552>
- Pandey, A., Vishnoi, K., Mahata, S., Tripathi, S. C., Misra, S. P., Misra, V., Mehrotra, R., Dwivedi, M., & Bharti, A. C. (2015). Berberine and Curcumin Target Survivin and STAT3 in Gastric Cancer Cells and Synergize Actions of Standard Chemotherapeutic 5-Fluorouracil. *Nutrition and Cancer*, 67(8), 1295-1306. <https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1085581>
- Paranthaman, S., Uthaiiah, C. A., Osmani, R. A. M., Hani, U., Ghazwani, M., Alamri, A. H., Fatease, A. A., Madhunapantula, S. V., & Gowda, D. V. (2022). Anti-Proliferative Potential of Quercetin Loaded Polymeric Mixed Micelles on Rat C6 and Human U87MG Glioma Cells. *Pharmaceutics*, 14(8), 1643. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081643>
- Pires, A. S., Marques, C. R., Encarnação, J. C., Abrantes, A. M., Mamede, A. C., Laranjo, M., Gonçalves, A. C., Sarmiento-Ribeiro, A. B., & Botelho, M. F. (2016). Ascorbic acid and colon cancer: An oxidative stimulus to cell death depending on cell profile. *European Journal of Cell Biology*, 95(6-7), 208-218. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2016.04.001>
- Pravst, I., Žmitek, K., & Žmitek, J. (2010). Coenzyme Q10 Contents in Foods and Fortification Strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(4), 269-280. <https://doi.org/10.1080/10408390902773037>
- Rady, I., Mohamed, H., Rady, M., Siddiqui, I. A., & Mukhtar, H. (2018). Cancer preventive and therapeutic effects of EGCG, the major polyphenol in

- green tea. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(1), 1-23.
<https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2017.12.001>
- Raghu, G., Berk, M., Campochiaro, P. A., Jaeschke, H., Marenzi, G., Richeldi, L., Wen, F.-Q., Nicoletti, F., & Calverley, P. M. A. (2021). The Multifaceted Therapeutic Role of N-Acetylcysteine (NAC) in Disorders Characterized by Oxidative Stress. *Current Neuropharmacology*, 19(8), 1202-1224. <https://doi.org/10.2174/1570159X19666201230144109>
- Rajesh R, U., & Sangeetha, D. (2024). Therapeutic potentials and targeting strategies of quercetin on cancer cells: Challenges and future prospects. *Phytomedicine*, 133, 155902. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155902>
- Rostami, M., Beheshtizadeh, N., Mazaheri, E. L., Mirzaei, G., Andishmand, H., Mafi, A., Esfandiari, Z., Safavizadeh, V., Assadpour, E., Sani, M. A., Ahari, H., & Jafari, S. M. (2024). Resveratrol-loaded nanocarriers: Characteristics, sources, health effects, recent delivery systems, and their food and biomedical applications. *Food Bioscience*, 61, 104845. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104845>
- See, X. Z., Yeo, W. S., & Saptorio, A. (2024). A comprehensive review and recent advances of vitamin C: Overview, functions, sources, applications, market survey and processes. *Chemical Engineering Research and Design*, 206, 108-129. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2024.04.048>
- Sehgal, A., Bhat, M. A., Dogra, D., Rawat, S., & Dhatwalia, S. K. (2023). EGCG: The antioxidant powerhouse in lung cancer management and chemotherapy enhancement. *Advances in Redox Research*, 9, 100085. <https://doi.org/10.1016/j.arres.2023.100085>
- Sekaran, S., Ganapathy, D., & Sivaperumal, P. (2024). Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG): A promising therapeutic agent for oral cancer. *Oral Oncology Reports*, 9, 100199. <https://doi.org/10.1016/j.oor.2024.100199>
- Shi, G., Yin, W., Luo, J., Lin, S., Zhang, L., He, Y., & Ding, H. (2025). Development and evaluation of tumor-targeting curcumin-loaded magnetic nanoparticles based on PEG-PLGA and transferrin for anti-lung cancer therapy. *Materials Today Communications*, 47, 113050. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2025.113050>

- Singh, C. K., Siddiqui, I. A., El-Abd, S., Mukhtar, H., & Ahmad, N. (2016). Combination chemoprevention with grape antioxidants. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(6), 1406-1415. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500945>
- Su, N., Li, L., Zhou, E., Li, H., Wu, S., & Cao, Z. (2022). Resveratrol Downregulates miR-155-5p to Block the Malignant Behavior of Gastric Cancer Cells. *BioMed Research International*, 2022(1), 6968641. <https://doi.org/10.1155/2022/6968641>
- Sun, G., Wu, Y., Li, J., Yang, M., Xu, H., Li, Y., Tong, P., Shao, R., Liu, Y., & Kong, X. (2025). Quercetin liposomes conjugated with hyaluronidase: An efficient drug delivery system to block pancreatic cancer. *Journal of Controlled Release*, 382, 113642. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2025.113642>
- Sun, J., Li, M., Lin, K., Liu, Z., Wang, Z., Wang, W., Zhao, Y., Zhen, Y., & Zhang, S. (2023). Delivery of quercetin for breast cancer and targeting potentiation via hyaluronic nano-micelles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242, 124736. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124736>
- Tan, D. M.-Y., Fu, J.-Y., Wong, F.-S., Er, H.-M., Chen, Y.-S., & Nesaretnam, K. (2017). Tumor Regression and Modulation of Gene Expression Via tumor-targeted Tocotrienol Niosomes. *Nanomedicine*, 12(20), 2487-2502. <https://doi.org/10.2217/nmm-2017-0182>
- Tang, S.-M., Deng, X.-T., Zhou, J., Li, Q.-P., Ge, X.-X., & Miao, L. (2020). Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 121, 109604. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109604>
- Tenório, M. C. D. S., Graciliano, N. G., Moura, F. A., Oliveira, A. C. M. D., & Goulart, M. O. F. (2021). N-Acetylcysteine (NAC): Impacts on Human Health. *Antioxidants*, 10(6), 967. <https://doi.org/10.3390/antiox10060967>
- Thapa, M., & Dallmann, G. (2020). Role of coenzymes in cancer metabolism. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 98, 44-53. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2019.05.027>

- Traber, M. G., & Stevens, J. F. (2011). Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 1000-1013. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.05.017>
- Uttarawichien, T., Kamnerdnond, C., Inwisai, T., Suwannalert, P., Sibmooh, N., & Payuhakrit, W. (2021). Quercetin Inhibits Colorectal Cancer Cells Induced-Angiogenesis in Both Colorectal Cancer Cell and Endothelial Cell through Downregulation of VEGF-A/VEGFR2. *Scientia Pharmaceutica*, 89(2), 23. <https://doi.org/10.3390/scipharm89020023>
- Vášková, J., Stupák, M., Vidová Ugurbaş, M., Židzik, J., & Mičková, H. (2025). Therapeutic Uses of Retinol and Retinoid-Related Antioxidants. *Molecules*, 30(10), 2191. <https://doi.org/10.3390/molecules30102191>
- Wang, L., Huang, X., Jing, H., Ma, C., & Wang, H. (2021). Bilosomes as effective delivery systems to improve the gastrointestinal stability and bioavailability of epigallocatechin gallate (EGCG). *Food Research International*, 149, 110631. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110631>
- Wang, L., Li, P., & Feng, K. (2023). EGCG adjuvant chemotherapy: Current status and future perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 250, 115197. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115197>
- Wang, X. (1999). Vitamin E and its function in membranes. *Progress in Lipid Research*, 38(4), 309-336. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(99\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(99)00008-9)
- Wei, R., Mao, L., Xu, P., Zheng, X., Hackman, R. M., Mackenzie, G. G., & Wang, Y. (2018). Suppressing glucose metabolism with epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reduces breast cancer cell growth in preclinical models. *Food & Function*, 9(11), 5682-5696. <https://doi.org/10.1039/C8FO01397G>
- Wu, J., Ji, H., Li, T., Guo, H., Xu, H., Zhu, J., Tian, J., Gao, M., Wang, X., & Zhang, A. (2024). Targeting the prostate tumor microenvironment by plant-derived natural products. *Cellular Signalling*, 115, 111011. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2023.111011>
- Xu, Q., Zhang, L., Xia, G., Zhan, D., Zhu, J., & Zang, H. (2022). Synthesis and Biological Activity of Trolox Amide Derivatives. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e18887. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e18887>

- Yamamoto, Y., & Takasaki, T. (1996). *Inhibitory Effects of Selenium, Vitamin A and Butylated Hydroxytoluene on Growth of Human Maxillary Cancer Cells In Vitro*.
- Yan, Y., Kulsoom, Sun, Y., Li, Y., Wang, Z., Xue, L., & Wang, F. (2025). Advancing cancer therapy: Nanomaterial-based encapsulation strategies for enhanced delivery and efficacy of curcumin. *Materials Today Bio*, 33, 101963. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2025.101963>
- Yang, C. S., Wang, X., Lu, G., & Picinich, S. C. (2009). Cancer prevention by tea: Animal studies, molecular mechanisms and human relevance. *Nature Reviews Cancer*, 9(6), 429-439. <https://doi.org/10.1038/nrc2641>
- Yang, C.-C. (2025). Impact of long-term N-acetylcysteine use on cancer risk. *American Journal of Cancer Research*, 15(2), 618-630. <https://doi.org/10.62347/VCDJ1296>
- Yousefi, A., Ebrahimabadi, A. H., & Oboudatian, H.-S. (2025). Design, synthesis and antioxidant, anticancer and antimicrobial activity evaluation of novel resveratrol derivatives. *Natural Product Research*, 1-15. <https://doi.org/10.1080/14786419.2025.2472412>
- Zhang, J., Wu, Y., Li, Y., Li, S., Liu, J., Yang, X., Xia, G., & Wang, G. (2024). Natural products and derivatives for breast cancer treatment: From drug discovery to molecular mechanism. *Phytomedicine*, 129, 155600. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155600>
- Zhang, L., Chen, W., Tu, G., Chen, X., Lu, Y., Wu, L., & Zheng, D. (2020). Enhanced Chemotherapeutic Efficacy of PLGA-Encapsulated Epigallocatechin Gallate (EGCG) Against Human Lung Cancer. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 15, 4417-4429. <https://doi.org/10.2147/IJN.S243657>
- Zhao, J., Gao, S., Zhou, L., Rong, K., Zuo, F., Tang, W., & Zhu, L. (2025). Trolox derivatives: Synthesis, structure–activity relationship and promote wound healing by regulating oxidative stress and inflammation. *Bioorganic Chemistry*, 154, 108045. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.108045>
- Zhao, L., & Sanyal, S. (2022). P53 Isoforms as Cancer Biomarkers and Therapeutic Targets. *Cancers*, 14(13), 3145. <https://doi.org/10.3390/cancers14133145>

Zhou, S., Zhang, S., Shen, H., Chen, W., Xu, H., Chen, X., Sun, D., Zhong, S., Zhao, J., & Tang, J. (2017). Curcumin inhibits cancer progression through regulating expression of microRNAs. *Tumor Biology*, 39(2), 1010428317691680. <https://doi.org/10.1177/1010428317691680>

BÖLÜM 5

HÜCRESEL ANALİZ YÖNTEMLERİ: SİTOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES VE HÜCRE ÖLÜMÜ MEKANİZMALARI

Büşra GÜLBENLİ TÜRKOĞLU¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213129>

¹ Mehmet Akif Ersoy University, Health Sciences Institute, Department of Pathology, 15000, Burdur, Türkiye. busragulbenli@gmail.com ORCID: 0000-0001-6666-8992

Giriş

Sitotoksosite, kimyasal bir maddenin hücreler üzerindeki toksik etkisini tanımlar ve bu etki, hücre ölümüyle sonuçlanan hücresel davranış ve süreçlerdeki değişiklikleri içerir (Eisenbrand ve diğerleri, 2002). Sitotoksosite testleri, ilaç geliştirme, tıbbi cihazların biyouyumluluk analizleri ve kimyasal güvenlik değerlendirmeleri gibi birçok alanda temel bir araç haline gelmiştir. Bu testler, bir bileşiğin hücre canlılığı, proliferasyonu ve metabolik aktivitesi üzerindeki etkilerini in vitro koşullarda değerlendirmek için kullanılır. Bu bölümün amacı, membran bütünlüğüne dayalı boya dışlama yöntemleri, metabolik aktiviteyi ölçen kolorimetrik testler ve yüksek hassasiyet sunan florometrik/lüminometrik testler başta olmak üzere başlıca sitotoksosite test yöntemlerini sınıflandırmak, çalışma prensiplerini açıklamak ve avantajları ile dezavantajlarını tartışmaktır. Ayrıca, test seçimini etkileyen hücre tipi, maruziyet süresi, bileşiğin özellikleri ve testin mekanizması gibi kritik faktörler ele alınarak araştırmacılara güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar elde etmeleri için bir rehber sunulmaktadır.

1. Sitotoksosite Testleri: Yöntemler, Uygulama Alanları ve Değerlendirme Kriterleri

Yeni bir terapötik ajanın geliştirilmesi, uzun ve maliyetli bir süreçtir (Şahin Mazlumoğlu, 2023). Bu süreçte, aday moleküllerin güvenliğini ve etkinliğini değerlendirmek için yapılan in vitro sitotoksosite testleri, klinik öncesi çalışmaların vazgeçilmez bir parçasıdır. Bu testler, hayvan deneylerine kıyasla daha hızlı, daha ekonomik, tekrarlanabilir ve etik açıdan daha az sorunlu olmaları nedeniyle ilaç şirketleri ve araştırma laboratuvarları tarafından yaygın olarak tercih edilmektedir (Mahto ve diğerleri, 2010; Slater, 2001).

Sitotoksosite, temel olarak bir kimyasalın canlı hücrelere zarar verme potansiyelidir ve genellikle hücre zarı bütünlüğünün bozulması, mitokondriyal fonksiyonların inhibisyonu veya DNA hasarı gibi mekanizmalarla ortaya çıkar (Vinken ve Blaauboer, 2017). Bu etkilerin kantitatif olarak ölçülmesi, bir bileşiğin %50 inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) gibi değerlerin belirlenmesini sağlar ve bu da onun potansiyel toksisitesi hakkında önemli bilgiler sunar (He ve diğerleri, 2016).

1.1. Sitotoksitenin Temel Mekanizmaları ve Değerlendirme Yaklaşımları

Bir kimyasalın sitotoksik etkisi, "Olumsuz Sonuç Yolağı" (Adverse Outcome Pathway - AOP) konsepti ile daha iyi anlaşılabilir. Bu yaklaşım, moleküler düzeydeki bir başlangıç olayından (Molecular Initiating Event - MIE) hücresel ve nihayetinde organizma düzeyindeki bir yan etkiye (Adverse Outcome - AO) kadar uzanan biyolojik olaylar zincirini tanımlar (Vinken, 2013). Genel sitotoksiste için bu yolak üç ana adımdan oluşur:

- a. **İlk Hücresel Hasar (MIE):** Kimyasal madde, hücre zarı bütünlüğünü bozarak, mitokondriyal fonksiyonları doğrudan inhibe ederek veya hücre içi kompartmanların yapısını bozarak ilk hasarı oluşturur (Vinken ve Blaauboer, 2017).
- b. **Mitokondriyal Fonksiyon Bozukluğu (Anahtar Olay - KE):** İlk hasarın bir sonucu olarak, mitokondriyal geçirgenlik geçişi gibi olaylar meydana gelir. Bu durum, ATP üretiminin durmasına ve apoptozu tetikleyen sinyal moleküllerinin (örneğin, sitokrom C) salınmasına yol açar (Vinken ve Blaauboer, 2017).
- c. **Hücre Ölümü (AO):** Mitokondriyal hasarın şiddetine bağlı olarak hücre, programlanmış hücre ölümü olan apoptoz veya pasif bir süreç olan nekroz yoluyla ölür (Malhi ve diğerleri, 2006).

Bu mekanizmalar, sitotoksiste testlerinin dayandığı temel biyolojik hedefleri oluşturur. Testler, bu süreçlerdeki değişiklikleri ölçerek hücre canlılığı hakkında dolaylı veya doğrudan bilgi sağlar.

1.2. Sitotoksiste Test Yöntemlerinin Sınıflandırılması

Sitotoksiste testleri, ölçtükleri hücresel parametreye göre çeşitli kategorilere ayrılabilir. En yaygın sınıflandırma, testin dayandığı temel biyolojik prensibe göredir (Chaudhry ve diğerleri, 2024; Gavanji ve diğerleri, 2023).

1.2.1. Membran Bütünlüğüne Dayalı Testler (Boya Dışlama Yöntemleri)

Bu yöntemler, canlı hücrelerin sağlam plazma zarlarının belirli boyaları hücre içine almaması, ölü veya hasarlı hücrelerin ise zarlarının bütünlüğü bozulduğu için bu boyaları içeri alması prensibine dayanır (Strober, 2001).

- **Trypan Mavisi Testi:** En bilinen ve basit yöntemdir. Canlı hücreler mavi rengi dışlarken, ölü hücreler maviye boyanır. Sayım, bir hemositometre kullanılarak mikroskop altında manuel olarak yapılır (Avelar-Freitas ve diğerleri, 2014). Ucuz ve basit olmasına rağmen, sonuçlar öznel olabilir, yüksek sayıda numune için zaman alıcıdır ve sadece geç evre hücre ölümünü tespit edebilir (Gavanji ve diğerleri, 2023).
- **Propidium İyodür (PI) Testi:** PI, sağlam hücre zarlarından geçemeyen bir floresan boyadır. Sadece zarı hasar görmüş hücrelerin çekirdeğindeki DNA'ya bağlanarak kırmızı floresan bir sinyal verir. Genellikle akış sitometri ile birlikte kullanılır (Quent ve diğerleri, 2010).

1.2.2. Metabolik Aktiviteye Dayalı Kolorimetrik Testler

Bu testler, canlı hücrelerdeki enzimatik aktiviteyi ölçerek dolaylı olarak hücre canlılığını belirler. Genellikle mitokondriyal dehidrogenaz enzimlerinin tetrazolyum tuzlarını renkli formazan bileşiklerine dönüştürmesi esasına dayanır.

- **MTT Testi:** En yaygın kullanılan kolorimetrik testtir. Canlı hücrelerdeki mitokondriyal redüktaz enzimleri, suda çözünen sarı renkli MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) tuzunu, suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine dönüştürür (Mosmann, 1983). Bu kristaller, DMSO gibi bir organik çözücüde çözülerek absorbanları 570 nm'de ölçülür (Şahin Mazlumoğlu, 2023). Güvenilir, tekrarlanabilir ve yüksek verimli taramalar (HTS) için uygun olmasına rağmen, formazan kristallerinin çözünürlüğü ve test bileşiklerinin mitokondriyal aktiviteye müdahale etme potansiyeli gibi dezavantajları vardır (Gavanji ve diğerleri, 2023; Lü ve diğerleri, 2012).
- **MTS, XTT ve WST Testleri:** MTT testinin ikinci ve üçüncü nesil versiyonlarıdır. Bu testlerde kullanılan tetrazolyum tuzları, suda çözünebilir renkli formazan ürünleri oluşturur. Bu sayede, MTT testindeki zahmetli çözme adımı ortadan kalkar ve test süreci basitleşir (Liu ve diğerleri, 2018; Tominaga ve diğerleri, 1999). Bu

özellikleri sayesinde, "karıştır ve ölç" formatına uygun, otomasyona elverişli testlerdir (Slater, 2001).

- **Nötral Kırmızı (Neutral Red - NRU) Testi:** Canlı hücrelerin lizozomlarının, zayıf katyonik bir boya olan nötral kırmızıyı biriktirme yeteneğine dayanır. Hücre hasarı veya ölümü durumunda, lizozomlar boyayı tutma yeteneğini kaybeder (Repetto ve diğerleri, 2008). Hücre canlılığı, tutulan boyanın miktarının 540 nm'de ölçülmesiyle belirlenir. Bu test ucuz, hassas ve hızlıdır (Şahin Mazlumoğlu, 2023).
- **Sülforodamin B (SRB) Testi:** Bu yöntem, metabolik aktivite yerine toplam hücre protein miktarını ölçer. SRB boyası, hafif asidik koşullarda proteinlerdeki temel amino asit kalıntılarına bağlanır. Bağlanan boya miktarı, hücre sayısı ile doğru orantılıdır ve absorbansı 510 nm'de ölçülür (Skehan ve diğerleri, 1990). Özellikle yapışık (adherent) hücreler için oldukça verimli ve hassas bir yöntemdir (Chaudhry ve diğerleri, 2024).

1.2.3. Florometrik ve Lüminometrik Testler

Bu testler, kolorimetrik yöntemlere göre genellikle daha yüksek hassasiyet sunar ve çok düşük hücre sayılarının bile tespiti için kullanılır.

- **Resazurin (Alamar Mavis) Testi:** Metabolik olarak aktif hücreler, mavi ve zayıf floresan olan resazurini, pembe ve yüksek floresan olan resorufine dönüştürür. Oluşan floresan sinyal, canlı hücre sayısı ile doğru orantılıdır (O'Brien ve diğerleri, 2000). Test toksik değildir ve hücrelere zarar vermeden kinetik analizlere olanak tanır (Chaudhry ve diğerleri, 2024).
- **ATP Testi:** Hücre canlılığının en hassas göstergelerinden biri hücre içi ATP seviyesidir. Canlı ve metabolik olarak aktif hücreler yüksek düzeyde ATP içerirken, hücre hasarı veya ölümü ATP seviyelerinde hızlı bir düşüşe neden olur (Crouch ve diğerleri, 1993). Bu test, lusiferin-lusiferaz reaksiyonunu kullanarak ATP miktarını ölçer. Reaksiyon sonucunda ortaya çıkan ışık (lüminesans), bir lüminometre ile ölçülür ve canlı hücre sayısı ile doğru orantılıdır. Son derece

hassas olması nedeniyle HTS için idealdir (Slater, 2001).

1.3. Özel Uygulama Alanları

- **Tıbbi Cihaz Biyouyumluluğu:** ISO 10993-5 standardı, tıbbi cihazların sitotoksosite potansiyelini değerlendirmek için üç ana test yöntemi önermektedir:
 - a. **Ekstrakt (Özüt) Testi:** Cihazdan sızabilecek kimyasalların toksisitesini değerlendirmek için cihaz, bir çözücü (genellikle hücre kültürü besiyeri) içinde bekletilir ve elde edilen özüt hücrelere uygulanır (Liu ve diğerleri, 2018).
 - b. **Doğrudan Temas Testi:** Test materyali, doğrudan hücre tabakasının üzerine yerleştirilir. Bu yöntem, özellikle düşük yoğunluklu malzemeler için en hassas yöntemlerden biridir (Li ve diğerleri, 2015).
 - c. **Dolaylı Temas (Agar Örtme) Testi:** Hücre tabakası ile test materyali arasına bir agar tabakası konulur. Bu, materyalin mekanik hasarını önler ve sadece sızabilen maddelerin etkisinin ölçülmesini sağlar (Li ve diğerleri, 2015).
- **Kanser İlaç Taraması:** Sitotoksosite testleri, potansiyel antikanser ajanların taranmasında ve etkinliklerinin belirlenmesinde merkezi bir role sahiptir. Bu testler, binlerce bileşiğin kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkilerini hızlı bir şekilde değerlendirmek için yüksek verimli tarama (HTS) platformlarında kullanılır (Chaudhry ve diğerleri, 2024).
- **Bitkisel Ürünlerin ve Doğal Bileşiklerin Değerlendirilmesi:** Geleneksel tıpta kullanılan bitkisel ürünlerin ve bunlardan izole edilen doğal bileşiklerin sitotoksik ve potansiyel terapötik etkileri, bu testlerle yaygın olarak araştırılmaktadır (Gavanji ve diğerleri, 2023). İlaç direnci oranlarının artması nedeniyle, yenilikçi antibiyotiklere ve kanser karşıtı ilaçlara acil ihtiyaç duyulmaktadır (Bilici ve Akkoç, 2025).

1.4. Test Seçiminde Dikkat Edilmesi Gereken Faktörler

Doğru ve anlamlı sonuçlar elde etmek için en uygun sitotoksosite testinin seçimi kritik öneme sahiptir. Bu seçimde aşağıdaki faktörler göz önünde

bulundurulmalıdır:

- **Testin Mekanizması ve Hassasiyeti:** Test, apoptozu mu nekrozu mu, erken evre hasarı mı yoksa geç evre ölümü mü ölçüyor? Örneğin, boya dışlama testleri geç evre ölümü tespit ederken, kaspaz aktivite testleri apoptozun erken evrelerini yakalayabilir (Galluzzi ve diğerleri, 2009). ATP testi gibi yöntemler ise en hassas olanlar arasındadır (Slater, 2001).
- **Hücre Tipi:** Testin, yapışık (adherent) veya süspansiyon halindeki hücrelerle uyumlu olup olmadığı önemlidir. Örneğin, SRB testi yapışık hücrelerde daha iyi çalışır (Vichai ve Kirtikara, 2006).
- **Test Edilen Bileşiğin Özellikleri:** Test edilen bileşiğin kendisinin renkli veya floresan olması, kolorimetrik veya florometrik testlerde sinyali etkileyerek yanlış sonuçlara yol açabilir. Ayrıca, bileşiğin mitokondriyal aktiviteyi doğrudan etkilemesi, MTT gibi testlerin sonuçlarını yanıltabilir (Bruggisser ve diğerleri, 2002).
- **Çözücüler:** Suda çözünmeyen bileşikler için kullanılan DMSO, etanol gibi çözücülerin belirli bir konsantrasyonun üzerinde kendilerinin de sitotoksik olabileceği unutulmamalıdır (Jamalzadeh ve diğerleri, 2016). Bu nedenle, mutlaka bir çözücü kontrol grubu kullanılmalıdır.
- **Pratik Faktörler:** Testin maliyeti, süresi, gereken ekipman ve yüksek verimli tarama (HTS) için uygunluğu da seçimde önemli rol oynar (Slater, 2001).

1.5. Sonuç ve Gelecek Perspektifleri

Sitotoksikite testleri, toksikoloji ve farmakoloji alanlarında vazgeçilmez araçlardır. Hiçbir test tek başına mükemmel değildir; her birinin kendine özgü avantajları ve sınırlılıkları vardır. Bu nedenle, bir bileşiğin sitotoksik profilini kapsamlı bir şekilde değerlendirmek için genellikle birden fazla yöntemin bir arada kullanılması önerilmektedir.

Gelecekte, teknolojinin ilerlemesiyle birlikte daha hassas, hızlı ve otomatize edilmiş yöntemlerin geliştirilmesi beklenmektedir. Örneğin, xCELLigence gibi empedans tabanlı sistemler, hücrelerin durumunu etiket

kullanmadan ve gerçek zamanlı olarak izleyerek kinetik veriler sunmaktadır (Li ve diğerleri, 2015). Bu tür yenilikçi yaklaşımlar, sitotoksiste değerlendirmelerinin doğruluğunu ve öngörü gücünü daha da artıracaktır. Sonuç olarak, doğru testin dikkatli bir şekilde seçilmesi ve sonuçların doğru yorumlanması, güvenilir ve anlamlı bilimsel veriler elde etmenin anahtarıdır.

2. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Biyolojik Sistemlerde Ölçüm Yöntemleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), hücresel sinyal iletiminden oksidatif hasara kadar uzanan geniş bir biyolojik fonksiyona sahip, kimyasal olarak farklı bir grup oksidan molekülü tanımlayan genel bir terimdir. ROS'un bu ikili rolü, yani fizyolojik sinyal molekülü ("östress") ve yüksek konsantrasyonlarda zararlı bir ajan ("distres") olarak işlev görmesi, biyolojik sistemlerdeki varlıklarının ve dinamiklerinin doğru bir şekilde ölçülmesini kritik hale getirmektedir. Ancak ROS moleküllerinin yüksek reaktiviteleri, kısa ömürleri ve düşük fizyolojik konsantrasyonları, ölçümelerini oldukça zorlaştırmaktadır. Floresan probalar, genetik olarak kodlanmış raportörler, elektron paramanyetik rezonans (EPR) ve kromatografik analizler gibi çeşitli yaklaşımlar incelenmiş ve güvenilir sonuçlar elde etmek için en iyi uygulama kılavuzları sunulmuştur.

2.1. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), moleküler oksijenin (O_2) indirgenmesiyle oluşan kimyasal olarak reaktif moleküllerdir. Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi molekülleri içerirler (Murphy vd., 2022). Mitokondriyal solunum zinciri, NADPH oksidazlar (NOX'lar) ve diğer çeşitli enzimatik reaksiyonlar, hücre içindeki başlıca ROS üretim kaynaklarıdır (Bedard & Krause, 2007; Woolley vd., 2013). Uzun yıllar boyunca ROS, yalnızca aerobik metabolizmanın kaçınılmaz, zararlı yan ürünleri olarak kabul edilmiş ve oksidatif hasarın ana nedeni olarak görülmüştür (Batandier vd., 2002; Chance vd., 1979). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, ROS'un, özellikle H_2O_2 'nin, düşük ve kontrollü konsantrasyonlarda hücre proliferasyonu, farklılaşma, apoptoz ve bağışıklık yanıtı gibi temel fizyolojik süreçlerde kritik sinyal molekülleri olarak görev yaptığını ortaya koymuştur (Droge, 2002; Sies vd., 2022; Wang vd., 2013). Kanser şüphesiz dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biridir; ROS ve

RNS gibi serbest radikallerin dengesizliği ve yüksek konsantrasyonu aynı zamanda mutajenik veya kanserojen ajanlara dönüşebilir ve bu da kanser gelişimine yol açabilir (Keskin vd., 2025).

ROS'un bu çift yönlü doğası (düşük konsantrasyonlarda sinyal, yüksek konsantrasyonlarda hasar), hücrel redoks durumundaki değişikliklerin doğru bir şekilde ölçülmesini ve yorumlanmasını zorunlu kılmaktadır. ROS ölçümündeki temel zorluklar arasında bu moleküllerin pikomolar ila nanomolar aralıktaki düşük kararlı durum konsantrasyonları, milisaniyeler veya daha kısa süren ömürleri ve hücredeki güçlü antioksidan savunma sistemleriyle hızla reaksiyona girmeleri yer almaktadır (Murphy vd., 2022). Bu nedenle, kullanılan ölçüm yönteminin özgüllüğü, duyarlılığı ve potansiyel artefaktları, elde edilen sonuçların güvenilirliği açısından hayati önem taşımaktadır. Bu derleme, ROS ölçümünde kullanılan güncel yöntemleri ve bu yöntemlerin uygulanmasında dikkat edilmesi gereken kritik noktaları özetlemektedir.

2.2. ROS Ölçüm Yöntemleri

ROS'un tespiti ve miktarının belirlenmesi için doğrudan ve dolaylı olmak üzere çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında floresan ve kemilüminesans problemleri, genetik olarak kodlanmış sensörler, elektron paramanyetik rezonans (EPR) spektroskopisi ve oksidatif hasar ürünlerinin kromatografik analizi bulunmaktadır (Fuloria vd., 2021).

2.2.1. Küçük Moleküllü Floresan Problemleri

Floresan problemler, ROS ile reaksiyona girerek floresan özelliklerinde bir değişiklik gösteren kimyasal moleküllerdir. Kullanım kolaylıkları nedeniyle yaygın olarak tercih edilirler, ancak özgüllük ve artefakt oluşturma potansiyelleri konusunda ciddi sınırlılıkları vardır (Kalyanaraman vd., 2012; Murphy vd., 2022).

- **Diklohidrofloresin Diasetat (DCFH-DA):** Hücre içi genel oksidatif stresi ölçmek için en sık kullanılan problemlerden biridir. Hücreye girdikten sonra esterazlar tarafından hidrolize edilerek floresan olmayan DCFH'ye dönüşür ve ROS varlığında yüksek floresan özellikli DCF'ye oksitlenir (Fuloria vd., 2021). Ancak bu probun birçok önemli dezavantajı vardır. DCFH, H₂O₂ ile doğrudan reaksiyona girmez; reaksiyon için sitokrom c gibi hem proteinleri

veya geçiş metalleri gibi katalizörlere ihtiyaç duyar (Burkitt & Wardman, 2001). Ayrıca peroksinitrit (ONOO^-) gibi diğer oksidanlar tarafından da oksitlenebilir ve ışığa maruz kaldığında fotoredüksiyon yoluyla kendi kendine ROS üreterek yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir (Rota vd., 1999; Batandier vd., 2002; Murphy vd., 2022). Bu nedenlerle, DCFH-DA'nın belirli bir ROS türünü ölçmek için kullanılması önerilmemekte, yalnızca genel redoks durumundaki bir değişimin ön göstergesi olarak değerlendirilmelidir (Murphy vd., 2022).

- **Dihidroetidyum (DHE) ve MitoSOX:** Süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) tespiti için yaygın olarak kullanılırlar. DHE'nin $\text{O}_2^{\cdot-}$ ile reaksiyonu sonucu oluşan 2-hidroksietidyum (2-OH-E^+) spesifik bir üründür (Zhao vd., 2003). Ancak, diğer oksidanlarla reaksiyonu sonucu floresan özellikleri benzer olan ve spesifik olmayan etidyum (E^+) da oluşur. Bu iki ürünün floresan spektrumları örtüştüğü için, yalnızca floresans yoğunluğuna dayalı ölçümler yanıltıcı olabilir (Zielonka & Kalyanaraman, 2010; Wang vd., 2013). Güvenilir bir ölçüm için, reaksiyon ürünlerinin HPLC veya LC-MS gibi kromatografik yöntemlerle ayrıştırılarak 2-OH-E^+ 'nın spesifik olarak miktarının belirlenmesi şiddetle tavsiye edilir (Zhao vd., 2005; Murphy vd., 2022). Mitokondriye hedeflenmiş formu olan MitoSOX için de aynı durum geçerlidir.
- **Boronat Esaslı Problar:** Son yıllarda, özellikle H_2O_2 'ye karşı daha seçici olan boronat esaslı problar geliştirilmiştir. Bu problar, H_2O_2 ile reaksiyona girerek floresan bir ürün oluşturur ve Peroxyfluor, Peroxy Orange gibi farklı emisyon renklerine sahip versiyonları mevcuttur (Dickinson vd., 2010; Woolley vd., 2013). Bu probların en büyük avantajı H_2O_2 'ye karşı yüksek seçicilikleridir. Ancak, ONOO^- ile H_2O_2 'den çok daha hızlı reaksiyona girdikleri için, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörleri gibi kontrol deneyleriyle ONOO^- olasılığının dışlanması gerekebilir (Murphy vd., 2022). Ayrıca, reaksiyonlarının yavaş olması, fizyolojik düzeydeki küçük ve hızlı H_2O_2 değişikliklerini tespit etme yeteneklerini sınırlayabilir (Sies vd., 2022).

2.2.2. Genetik Olarak Kodlanmış Floresan Sensörleri

Genetik olarak kodlanmış sensörler, floresan proteinlerin (örn. GFP, YFP) redoks duyarlı protein alanlarıyla birleştirilmesiyle oluşturulur. Bu sensörler, canlı hücrelerde ve organizmalarda ROS dinamiklerinin gerçek zamanlı ve hedeflenmiş (örneğin, mitokondri, sitoplazma, çekirdek) olarak izlenmesine olanak tanır (Wang vd., 2013).

- **HyPer Ailesi:** H₂O₂'ye özgü rasyometrik bir sensördür ve E. coli'nin OxyR proteininin cpYFP'ye eklenmesiyle oluşturulmuştur (Belousov vd., 2006). H₂O₂ varlığında konformasyonel bir değişiklik geçirerek floresan spektrumunda rasyometrik bir kaymaya neden olur (Woolley vd., 2013). Bu rasyometrik özellik, sensör konsantrasyonundan kaynaklanabilecek hataları ortadan kaldırır. HyPer, transgenik hayvan modellerinde (örn. zebra balığı) yara iyileşmesi sırasında H₂O₂ gradyanlarını görüntülemek için başarıyla kullanılmıştır (Niethammer vd., 2009; Wang vd., 2013). Ancak ilk nesil HyPer problemlerinin pH'a duyarlı olması, özellikle pH değişimlerinin de beklendiği mitokondri gibi ortamlarda dikkatli kullanılmasını ve pH kontrollerinin yapılmasını gerektirir (Murphy vd., 2022).
- **roGFP Ailesi:** Bu sensörler, belirli bir ROS türünden ziyade hücrel redoks potansiyelini (örneğin, GSH/GSSG oranı) ölçer (Hanson vd., 2004). roGFP'ler, oksitlenmiş ve indirgenmiş formları arasında rasyometrik bir floresan değişikliği gösterirler (Wang vd., 2013). Bir peroksidaz ile birleştirildiklerinde (H₂O₂'ye özgü hale gelirler) ve H₂O₂ seviyelerindeki değişiklikleri izlemek için kullanılabilirler. HyPer'a göre daha yavaş kinetiklere sahip olmaları, anlık ROS olaylarından çok kararlı durumdaki redoks değişikliklerini izlemek için daha uygun olmalarını sağlar (Fuloria vd., 2021).

2.2.3. Elektron Paramanyetik Rezonans (EPR) Spektroskopisi

EPR (veya Elektron Spin Rezonans, ESR), serbest radikallerin doğrudan tespit edilmesini sağlayan tek yöntemdir ve bu nedenle ROS araştırmalarında "altın standart" olarak kabul edilir (Batandier vd., 2002). O₂•- ve •OH gibi kısa ömürlü radikaller, DMPO gibi "spin tuzakları" ile reaksiyona sokularak daha kararlı ve EPR ile tespit edilebilir radikal ürünlere dönüştürülür (Fuloria vd., 2021). Bu yöntemin en büyük avantajı, radikallerin varlığını kesin olarak

doğrulasıdır. Ancak, düşük duyarlılığı, özel ve pahalı ekipman gerektirmesi ve spin tuzaklarının hücre içinde metabolize olarak artefaktlara yol açabilmesi gibi sınırlılıkları vardır (Murphy vd., 2022).

2.2.4. Kemilüminesans Analizi

Luminol ve lucigenin gibi probalar, ROS ile reaksiyona girerek ışık yayar. Bu yöntem oldukça duyarlıdır ancak son derece özgül değildir. Özellikle lucigenin'in kendisinin O_2^- üretebilmesi (Vásquez-Vivar vd., 1997), bu probun O_2^- ölçümü için kullanılmasını sorunlu hale getirmektedir (Murphy vd., 2022). Bu nedenle, bu probaların belirli bir ROS'u tespit etmek için kullanılması önerilmemektedir (Fuloria vd., 2021).

2.2.5. Kromatografik Yöntemler ve Oksidatif Hasar Biyobelirteçleri

ROS'un varlığı, neden oldukları oksidatif hasar ürünlerinin ölçülmesiyle dolaylı olarak da belirlenebilir. Bu biyobelirteçler, ROS'a göre daha karardır ve LC-MS/MS gibi yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip kromatografik yöntemlerle ölçülebilirler (Murphy vd., 2022).

- **Lipid Peroksidasyonu:** F2-izoprostanlar, non-enzimatik lipid peroksidasyonunun güvenilir bir biyobelirteci olarak kabul edilir ve idrar veya plazmada LC-MS/MS ile ölçümleri tercih edilen yöntemdir (Milne vd., 2005; Murphy vd., 2022). Yaygın olarak kullanılan TBARS (tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri) testi ise özgül olmadığı ve birçok farklı molekülle reaksiyona girdiği için (Esterbauer vd., 1991) tek başına kullanılması önerilmemektedir (Murphy vd., 2022).
- **Protein Oksidasyonu:** Protein karbonilleri, genel protein oksidasyonunun bir göstergesidir ve ELISA veya immünoblotlama ile tespit edilebilir. 3-nitratirozin ($ONOO^-$ hasarı için) veya 3-klorotirozin (MPO kaynaklı HOCl hasarı için) gibi daha spesifik modifikasyonlar LC-MS/MS ile ölçülebilir (Fuloria vd., 2021; Hawkins & Davies, 2019; Murphy vd., 2022).
- **DNA Oksidasyonu:** 8-okso-7,8-dihidro-2'-deoksiguanozin (8-oxodG), DNA oksidasyonunun en yaygın biyobelirteçidir. İdrarda veya doku DNA'sında LC-MS/MS ile ölçümü en güvenilir yöntemdir. Bu ölçümlerin doğruluğunu sağlamak için Avrupa çapında standart

protokoller geliştirilmiştir (Gedik & Collins, 2005). ELISA kitlerinin özgüllük ve duyarlılık sorunları olabileceğinden dikkatli kullanılmalıdır (Murphy vd., 2022).

2.3. Sonuç ve Öneriler

Reaktif oksijen türlerinin biyolojik sistemlerdeki rollerinin anlaşılması, onların doğru ve güvenilir yöntemlerle ölçülmesine bağlıdır. Sunulan kaynaklar ışığında, ROS ölçümü yapacak araştırmacılar için aşağıdaki önerilerde bulunulabilir:

Reaktif oksijen türleri (ROS) üzerine yapılan çalışmalarda güvenilir ve anlamlı sonuçlar elde etmek için metodolojik titizlik esastır. Öncelikle, "ROS" gibi genel bir terim kullanmak yerine, çalışılan spesifik molekülün (örneğin, H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$) açıkça belirtilmesi kritik öneme sahiptir. Kullanılan ölçüm yönteminin, kimyasal reaktivite temelinde hedef molekülü ölçmeye uygun olup olmadığı dikkatle değerlendirilmelidir (Sies vd., 2022; Murphy vd., 2022). Sonuçların doğruluğunu artırmak için tek bir yönteme bağlı kalmaktan kaçınılmalı ve bulgular, farklı prensiplerle çalışan "ortogonal" yöntemlerle (örneğin, bir floresan prob ölçümünün LC-MS ile biyobelirteç analiziyle teyit edilmesi) doğrulanmalıdır (Murphy vd., 2022). Ölçülen sinyalin gerçekten hedeflenen ROS'tan kaynaklandığını ispatlamak amacıyla, süperoksit dismutaz (SOD) ile $O_2^{\bullet-}$ sinyalinin veya katalaz ile H_2O_2 sinyalinin ortadan kaldırılması gibi uygun pozitif ve negatif kontrollerin kullanılması zorunludur (Fuloria vd., 2021). Verilerin yorumlanması aşamasında ise özellikle DCFH-DA gibi özgüllüğü düşük problemlerle elde edilen sonuçların, spesifik bir ROS türüne atfedilmek yerine genel redoks durumundaki bir değişiklik olarak değerlendirilmesi daha temkinli bir yaklaşımdır. Bu bağlamda, kimyasal prensibi ve içeriği tam olarak anlaşılmayan ticari kitlerin kullanımından kaçınılması şiddetle tavsiye edilir (Murphy vd., 2022). Son olarak, mümkün olduğunda, canlı hücre ve organizmalarda dinamik ve hedeflenmiş ölçümlere imkân tanıyan genetik olarak kodlanmış sensörler veya boronatlar gibi yeni nesil, yüksek seçiciliğe sahip küçük moleküllü problemler gibi modern yöntemler tercih edilmelidir (Woolley vd., 2013; Wang vd., 2013).

Sonuç olarak, ROS biyolojisi alanındaki ilerleme, mevcut ölçüm araçlarının sınırlılıklarının farkında olmayı ve deneyleri bu sınırlılıkları göz önünde bulundurarak dikkatle tasarlamayı gerektirmektedir. Yeni nesil problemler

ve teknolojiler, ROS sinyalizasyonunun karmaşık spasyotemporal dinamiklerini aydınlatmak için heyecan verici fırsatlar sunmaktadır.

3.Apoptoz ve Nekroz Tayin Yöntemleri

Hücre ölümü, çok hücreli organizmalarda doku homeostazının, gelişimin ve hastalık süreçlerinin temel bir parçasıdır. Geleneksel olarak apoptoz (programlı hücre ölümü) ve nekroz (kontROLSÜZ hücre ölümü) olarak iki ana başlıkta incelenen bu süreçlerin altında yatan mekanizmalar oldukça farklıdır. Apoptoz, hücrenin kontrollü bir şekilde kendini imha ettiği, genellikle inflammatuar olmayan bir süreçken; nekroz, genellikle akut bir hasara yanıt olarak gelişen, hücre zarının bütünlüğünün bozulması ve içeriğinin dış ortama sızmasıyla karakterize, pro-inflamatuar bir süreçtir. Bu iki ölüm yolunu doğru bir şekilde ayırt etmek, kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve otoimmün bozukluklar gibi birçok patolojinin anlaşılması ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için kritik öneme sahiptir.

3.1. Apoptoz ve Nekroz

Çok hücreli organizmalarda hücre sayısı, proliferasyon ve hücre ölümü arasındaki hassas bir denge ile düzenlenir (D'Arcy, 2019). Hücre ölümü, embriyonik gelişim, doku yenilenmesi ve hasarlı veya istenmeyen hücrelerin ortadan kaldırılması gibi fizyolojik süreçler için vazgeçilmezdir (Yuan & Ofengeim, 2023). Hücre ölümü temelde iki ana morfolojik ve biyokimyasal yolla gerçekleşir: apoptoz ve nekroz (Kanduc vd., 2002).

Apoptoz, genetik olarak programlanmış, enerji gerektiren ve hücrenin kendini kontrollü bir şekilde ortadan kaldırdığı bir "hücre intiharı" mekanizmasıdır. Bu süreçte hücre içeriği, komşu dokulara zarar vermeden fagositoz yoluyla temizlenir ve bu nedenle genellikle inflammatuar bir yanıt oluşturmaz (Elmore, 2007).

Nekroz ise geleneksel olarak, şiddetli fiziksel veya kimyasal hasarlar (hipoksi, toksinler, travma vb.) sonucunda meydana gelen pasif ve kontROLSÜZ bir hücre ölümü olarak tanımlanmıştır (D'Arcy, 2019). Nekrozda hücre zarı bütünlüğünü kaybeder, hücre şişer (onkosis) ve içeriğini çevre dokuya sızdırarak güçlü bir inflammatuar yanıtı neden olur (Krysko vd., 2008). Ancak son yıllardaki araştırmalar, nekrozun da "nekroptoz" gibi düzenlenmiş formlarının olduğunu ortaya koymuştur (Bertheloot vd., 2021; Yuan &

Ofengeim, 2023).

Bu iki temel hücre ölümü yolunu ayırt edebilmek, hastalıkların patogenezi anlamak ve hedefe yönelik tedaviler geliştirmek için hayati önem taşır. Bu derlemenin amacı, apoptoz ve nekroz tayininde kullanılan güncel yöntemleri, bu yöntemlerin dayandığı temel hücresel değişiklikler üzerinden sistematik bir şekilde özetlemektir.

3.2. Morfolojik Değişikliklere Dayalı Yöntemler

Apoptoz ve nekroz arasındaki en belirgin farklar morfolojik düzeyde gözlemlenir. Bu nedenle, mikroskopik incelemeler bu iki süreci ayırt etmede "altın standart" olarak kabul edilir (Hu vd., 2021).

3.2.1. Işık ve Elektron Mikroskopisi

Apoptozun morfolojik özellikleri arasında hücrenin büzülmesi, sitoplazmanın yoğunlaşması, kromatinin yoğunlaşarak çekirdek zarı kenarına yığılması (piknoz), çekirdeğin parçalanması (karyoreksis) ve son olarak hücrenin "apoptotik cisimcik" adı verilen zarla çevrili veziküllere ayrılması yer alır (Saraste & Pulkki, 2000; D'Arcy, 2019). Bu cisimcikler, fagositik hücreler tarafından hızla temizlendiği için inflamasyon görülmez.

Nekrozda ise tam tersi bir morfoloji gözlenir. Hücre ve organeller şişer, plazma zarı bütünlüğünü kaybederek yırtılır ve hücre içeriği dış ortama dağılır (Krysko vd., 2008). Bu durum, çevre dokuda inflamatuvar hücrelerin birikmesine yol açar. Transmisyon elektron mikroskopisi (TEM), bu ultrastrüktürel değişiklikleri en yüksek çözünürlükte göstererek apoptoz ve nekrozu ayırt etmede en güvenilir yöntem olarak kabul edilir (Krysko vd., 2008; Vanden Berghe vd., 2013).

3.2.2. Akım Sitometrisi ile Morfolojik Analiz

Akım sitometrisi, hücrelerin ileri (forward scatter - FSC) ve yan (side scatter - SSC) ışık saçılımı özelliklerini ölçerek morfolojik değişiklikler hakkında kantitatif bilgi sağlar. FSC, hücre boyutuyla orantılıyken, SSC hücrenin iç granüler yapısıyla ilişkilidir (Krysko vd., 2008). Apoptoz sırasında hücreler büzüştüğü için FSC değerleri azalır. Nekrozda ise hücre şiştiği için FSC değeri başlangıçta artabilir, ancak zar parçalandıktan sonra hücre kalıntıları nedeniyle heterojen bir dağılım gözlenir (Vanden Berghe vd., 2013).

3.3. Biyokimyasal Belirteçlere Dayalı Yöntemler

Hücre ölümü sırasında meydana gelen bir dizi biyokimyasal değişiklik, spesifik testlerle tespit edilebilir ve bu iki ölüm yolunu ayırt etmede güçlü kanıtlar sunar.

3.3.1. Plazma Zarı Bütünlüğünün Değerlendirilmesi

- **Annexin V Bağlanma Testi:** Apoptozun en erken ve en spesifik belirteçlerinden biri, normalde plazma zarının iç yüzeyinde bulunan fosfatidilserin (PS) molekülünün dış yüzeye yer değiştirmesidir (Kari vd., 2022). Annexin V, PS'ye yüksek afinite ile bağlanan bir proteindir. Floresan bir molekülle işaretlenmiş Annexin V kullanılarak, PS'nin dışa döndüğü erken evre apoptotik hücreler akım sitometrisi veya floresan mikroskobu ile tespit edilebilir. Bu test genellikle, zar bütünlüğünü kaybetmiş hücrelerin (geç apoptoz ve nekroz) DNA'sını boyayan Propidium Iodide (PI) gibi bir boya ile birlikte kullanılır. Bu ikili boyama ile hücreler dört gruba ayrılabilir:
 - **Canlı hücreler:** Annexin V (-) / PI (-)
 - **Erken apoptotik hücreler:** Annexin V (+) / PI (-)
 - **Geç apoptotik/Nekrotik hücreler:** Annexin V (+) / PI (+)
 - **Nekrotik hücreler (bazı durumlarda):** Annexin V (-) / PI (+) (Krysko vd., 2008; Kari vd., 2022).
- **Laktat Dehidrogenaz (LDH) Salınım Testi:** LDH, normalde sitoplazmada bulunan stabil bir enzimdir. Plazma zarının bütünlüğü bozulduğunda hücre dışı ortama salınır (Kari vd., 2022). Bu nedenle, hücre kültürü süpernatanındaki LDH aktivitesinin ölçümü, nekroz veya geç apoptoz (sekonder nekroz) gibi zar hasarıyla seyreden hücre ölümünün bir göstergesidir (Hu vd., 2021).

3.3.2. DNA Fragmentasyonunun Tespiti

- **DNA Merdiveni (Ladder) Testi:** Apoptoz sırasında, kaspazlar tarafından aktive edilen endonükleazlar, kromozomal DNA'yı nükleozomlar arası bölgelerden keserek 180-200 baz çifti ve katları uzunluğunda fragmanlar oluşturur. Bu fragmanlar agaroz jel elektroforezinde "merdiven" benzeri karakteristik bir bant paterni oluşturur (Saraste & Pulkki, 2000). Nekrozda ise DNA rastgele

parçalandığı için jelde merdiven yerine kesintisiz bir "leke" (smear) görünümü oluşur (Hu vd., 2021).

- **TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labeling) Testi:** Bu yöntem, DNA zincirindeki kırıkların 3'-hidroksil (3'-OH) uçlarını terminal deoksinnükleotidil transferaz (TdT) enzimi kullanarak işaretlenmiş nükleotitlerle (örneğin, Br-dUTP) etiketler (Kari vd., 2022). Apoptozda çok sayıda DNA kırığı olduğu için TUNEL pozitifliği güçlü bir belirteçtir. Ancak, nekroz sırasında da DNA hasarı meydana gelebildiğinden, TUNEL testi tek başına apoptoza özgü değildir ve yanlış pozitif sonuçlar verebilir. Bu nedenle sonuçların morfolojik bulgularla birlikte değerlendirilmesi önerilir (Hu vd., 2021).

3.3.3. Kaspaz Aktivitesinin Ölçümü

Kaspazlar, apoptozun hem başlatılmasında hem de yürütülmesinde merkezi rol oynayan bir sistein proteaz ailesidir (Ai vd., 2023). Kaspaz aktivasyonu, apoptozun en güvenilir biyokimyasal kanıtıdır. Nekroz ise kaspazlardan bağımsız bir süreçtir.

- **Western Blot Analizi:** Apoptotik sinyal ile inaktif pro-kaspazlar (örneğin, pro-kaspaz-3) aktif formlarına (örneğin, kesilmiş kaspaz-3) dönüşür. Bu kesilme, Western blot ile tespit edilebilir. Ayrıca, kaspazların PARP gibi hedef proteinlerini kesmesi de apoptozun bir göstergesi olarak analiz edilebilir (Krysko vd., 2008).
- **Kolorimetrik ve Florometrik Testler:** Bu testlerde, kaspazlar tarafından tanınan spesifik peptit dizilerine (örneğin, kaspaz-3 için DEVD) bağlı olan ve kesildiklerinde renkli (kolorimetrik) veya floresan (florometrik) bir sinyal üreten sentetik substratlar kullanılır. Sinyalin yoğunluğu, hücre lizatındaki kaspaz aktivitesiyle doğru orantılıdır (Kari vd., 2022).

3.3.4. Mitokondriyal Değişikliklerin Analizi

- **Mitokondriyal Membran Potansiyelinin (MMP) Kaybı:** İntrinsik apoptoz yolunun erken bir olayı, mitokondriyal membran potansiyelinin ($\Delta\Psi_m$) çökmesidir. JC-1 veya TMRM gibi katyonik floresan boyalar, sağlıklı mitokondrilerde birikerek güçlü bir sinyal verir. MMP kaybolduğunda bu boyalar mitokondriden dağılır ve

sinyalde bir azalma veya değişim (JC-1 için kırmızıdan yeşile dönüşüm) gözlenir (Kari vd., 2022).

- **Sitokrom c Salınımı:** Mitokondriyal dış zar geçirgenliğinin artmasıyla, intermembran aralığında bulunan sitokrom c sitoplazmaya salınır. Bu olay, apoptozom oluşumunu ve kaspaz-9 aktivasyonunu tetikler (Ai vd., 2023). Hücrelerin sitozolik ve mitokondriyal fraksiyonlara ayrılmasının ardından Western blot veya ELISA ile sitozoldeki sitokrom c artışı gösterilebilir (Kari vd., 2022).

3.4. Sonuç

Apoptoz ve nekroz, farklı morfolojik ve biyokimyasal özelliklere sahip iki temel hücre ölümü mekanizmasıdır. Bu iki süreci doğru bir şekilde ayırt etmek, hem temel biyolojik araştırmalar hem de klinik uygulamalar için büyük önem taşımaktadır. Sunulan derlemede incelenen yöntemlerden hiçbiri tek başına kesin bir tanı koymak için yeterli değildir (Vanden Berghe vd., 2013). Örneğin, Annexin V/PI testi erken ve geç apoptozu ayırt etmede yaygın olarak kullanılırken, DNA merdiveni ve kaspaz aktivite testleri apoptozun biyokimyasal kanıtlarını güçlendirir. Morfolojik analizler, özellikle TEM, hücresel düzeydeki yapısal değişiklikleri net bir şekilde ortaya koyarak nihai onayı sağlar. Bu nedenle, hücre ölümü tipini güvenilir bir şekilde belirlemek için morfolojik, biyokimyasal ve fonksiyonel testleri bir arada kullanan çok parametrelili bir yaklaşım benimsenmelidir (Hu vd., 2021; Kari et al., 2022).

KAYNAKÇA

1. Adan, A., Kiraz, Y., & Baran, Y. (2016). Cell proliferation and cytotoxicity assays. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(14), 1213–1221.
2. Ai, Y., Meng, Y., Yan, B., Zhou, Q., & Wang, X. (2023). The biochemical pathways of apoptotic, necroptotic, pyroptotic, and ferroptotic cell death. *Molecular Cell*, 84. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.11.040>
3. Avelar-Freitas, B. A., Almeida, V. G., Pinto, M. C. X., Mourão, F. A. G., Massensini, A. R., Martins-Filho, O. A., Rocha-Vieira, E., & Brito-Melo, G. E. A. (2014). Trypan blue exclusion assay by flow cytometry. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 47(4), 307–315.
4. Batandier, C., Fontaine, E., Kériel, C., & Leverve, X. M. (2002). Determination of mitochondrial reactive oxygen species: methodological aspects. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 6(2), 175-187.
5. Bedard, K., & Krause, K. H. (2007). The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, 87(1), 245-313.
6. Belousov, V. V., Fradkov, A. F., Lukyanov, K. A., Staroverov, D. B., Shakhbazov, K. S., Terskikh, A. V., & Lukyanov, S. (2006). Genetically encoded fluorescent indicator for intracellular hydrogen peroxide. *Nature Methods*, 3(4), 281-286.
7. Bertheloot, D., Latz, E., & Franklin, B. S. (2021). Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cellular & Molecular Immunology*, 18, 1106–1121. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00630-3>
8. Bilici, E., Akkoç, S. (2025). İmpact of a benzimidazole salt on gene expression cytotoxicity and apoptotic processes in HepG2 cell line. *Journal of king saud university science*. 37 (1) 3922024
9. Bruggisser, R., von Daeniken, K., Jundt, G., Schaffner, W., & Tullberg-Reinert, H. (2002). Interference of plant extracts, phytoestrogens and antioxidants with the MTT tetrazolium assay. *Planta Medica*, 68(5), 445–448.
10. Burkitt, M. J., & Wardman, P. (2001). Cytochrome c is a potent catalyst of dichlorofluorescein oxidation: implications for the role of reactive oxygen species in apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research*

Communications, 282(1), 329-333.

- 11.Chance, B., Sies, H., & Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*, 59(2), 527-605.
- 12.Chaudhry, G., Zeenia, Safdar, N., Begum, S., Akim, A. M., Sung, Y. Y., & Muhammad, T. S. T. (2024). Cytotoxicity assays for cancer drug screening: methodological insights and considerations for reliable assessment in drug discovery. *Brazilian Journal of Biology*, 84, e284409.
- 13.Crouch, S. P. M., Kozlowski, R., Slater, K. J., & Fletcher, J. (1993). The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *Journal of Immunological Methods*, 160(1), 81–88.
- 14.D'Arcy, M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biology International*, 43(6), 582-592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>
- 15.Dickinson, B. C., Huynh, C., & Chang, C. J. (2010). A palette of fluorescent probes with varying emission colors for imaging hydrogen peroxide signaling in living cells. *Journal of the American Chemical Society*, 132(16), 5906-5915.
- 16.Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95.
- 17.Eisenbrand, G., Pool-Zobel, B., Baker, V., Balls, M., Blaauboer, B. J., Boobis, A., Carere, A., Kevekordes, S., Lhuguenot, J. C., Pieters, R., & Kleiner, J. (2002). Methods of in vitro toxicology. *Food and Chemical Toxicology*, 40(2-3), 193–236.
- 18.Elmore, S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495-516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- 19.Esterbauer, H., Schaur, R. J., & Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11(1), 81-128.
- 20.Fuloria, S., Subramaniyan, V., Karupiah, S., Kumari, U., Sathasivam, K., Meenakshi, D. U., ... & Fuloria, N. K. (2021). Comprehensive review of methodology to detect reactive oxygen species (ROS) in mammalian species and establish its relationship with antioxidants and cancer. *Antioxidants*, 10(1), 128.
- 21.Galluzzi, L., Aaronson, S. A., Abrams, J., Alnemri, E. S., Andrews, D. W.,

- Baehrecke, E. H., ... & Kroemer, G. (2009). Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes. *Cell Death and Differentiation*, 16(8), 1093–1107.
- 22.Gavanji, S., Bakhtari, A., Famurewa, A. C., & Othman, E. M. (2023). Cytotoxic activity of herbal medicines as assessed in vitro: A review. *Chemistry & Biodiversity*, 20(2), e202201098.
- 23.Gedik, C. M., & Collins, A. (2005). Establishing the background level of base oxidation in human lymphocyte DNA: results of an interlaboratory validation study. *The FASEB Journal*, 19(1), 82-84.
- 24.Hanson, G. T., Aggeler, R., Oglesbee, D., Cannon, M., Capaldi, R. A., Tsien, R. Y., & Remington, S. J. (2004). Investigating mitochondrial redox potential with redox-sensitive green fluorescent protein indicators. *Journal of Biological Chemistry*, 279(13), 13044-13053.
- 25.Hawkins, C. L., & Davies, M. J. (2019). Detection, identification, and quantification of oxidative protein modifications. *Journal of Biological Chemistry*, 294(52), 19683-19708.
- 26.He, Y., Zhu, Q., Chen, M., Huang, Q., Wang, W., Li, Q., Huang, Y., & Di, W. (2016). The changing 50% inhibitory concentration (IC50) of cisplatin: A pilot study on the artifacts of the MTT assay and the precise measurement of density-dependent chemoresistance in ovarian cancer. *Oncotarget*, 7(43), 70803–70821.
- 27.Hu, X.-m., Li, Z.-x., Lin, R.-h., Shan, J.-q., Yu, Q.-w., Wang, R.-x., Liao, L.-s., Yan, W.-t., Wang, Z., Shang, L., Huang, Y., Zhang, Q., & Xiong, K. (2021). Guidelines for regulated cell death assays: A systematic summary, a categorical comparison, a prospective. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 634690. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.634690>
- 28.Jamalzadeh, L., Ghafoori, H., Sari, R., Rabuti, H., Nasirzade, J., Hasani, H., & Aghamaali, M. R. (2016). Cytotoxic effects of some common organic solvents on MCF-7, RAW-264.7 and human umbilical vein endothelial cells. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*, 4(2), e33453.
- 29.Kalyanaraman, B., Darley-Usmar, V., Davies, K. J., Dennery, P. A., Forman, H. J., Grisham, M. B., ... & Ischiropoulos, H. (2012). Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: challenges

- and limitations. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(1), 1-6.
- 30.Kanduc, D., Mittelman, A., Serpico, R., Sinigaglia, E., Sinha, A. A., Natale, C., ... & Farber, E. (2002). Cell death: Apoptosis versus necrosis (Review). *International Journal of Oncology*, 21, 165-170.
- 31.Kari, S., Subramanian, K., Altomonte, I. A., Murugesan, A., Yli-Harja, O., & Kandhavelu, M. (2022). Programmed cell death detection methods: a systematic review and a categorical comparison. *Apoptosis*, 27, 482–508. <https://doi.org/10.1007/s10495-022-01735-y>
- 32.Keskin, C., Aras, İO, Baran, MF, Baran, A., Topgider, Ö., Asyalı, Ş, Bilici, E. (2025). Investigation of Antimicrobial, Anticholinesterase Activities, and Phenolic Contents of Extracts Obtained from *Prunus cerasus* (Sour Cherry) Fruit. *MAS JAPS* 10(3): 588 599.
- 33.Khalef, L., Lydia, R., Filicia, K., & Moussa, B. (2024). Cell viability and cytotoxicity assays: Biochemical elements and cellular compartments. *Cell Biochemistry and Function*, 42, e4007.
- 34.Krysko, D. V., Vanden Berghe, T., D'Herde, K., & Vandenabeele, P. (2008). Apoptosis and necrosis: Detection, discrimination and phagocytosis. *Methods*, 44(3), 205-221. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.12.001>
- 35.Li, W., Zhou, J., & Xu, Y. (2015). Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices (Review). *Biomedical Reports*, 3(5), 617–620.
- 36.Liu, X., Rodeheaver, D. P., White, J. C., Wright, A. M., Walker, L. M., Zhang, F., & Shannon, S. (2018). A comparison of in vitro cytotoxicity assays in medical device regulatory studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 97, 24–32.
- 37.Lü, L., Zhang, L., Wai, M. S. M., Yew, D. T. W., & Xu, J. (2012). Exocytosis of MTT formazan could exacerbate cell injury. *Toxicology in Vitro*, 26(4), 636–644.
- 38.Mahto, S. K., Chandra, P., & Rhee, S. W. (2010). In vitro models, endpoints and assessment methods for the measurement of cytotoxicity. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2(2), 87–93.
- 39.Malhi, H., Gores, G. J., & Lemasters, J. J. (2006). Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology*, 43(S1), S31–S44.
- 40.Milne, G. L., Musiek, E. S., & Morrow, J. D. (2005). F2-isoprostanes as markers of oxidative stress in vivo: an overview. *Biomarkers*, 10(sup1), S10-S23.

41. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55–63.
42. Murphy, M. P., Bayir, H., Belousov, V., Chang, C. J., Davies, K. J. A., Davies, M. J., ... & Halliwell, B. (2022). Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. *Nature Metabolism*, 4(6), 651-662.
43. Niethammer, P., Grabher, C., Look, A. T., & Mitchison, T. J. (2009). A tissue-scale gradient of hydrogen peroxide mediates rapid wound detection in zebrafish. *Nature*, 459(7249), 996-999.
44. O'Brien, J., Wilson, I., Orton, T., & Pognan, F. (2000). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*, 267(17), 5421–5426.
45. Park, W., Wei, S., Kim, B.-S., Kim, B., Bae, S.-J., Chae, Y. C., Ryu, D., & Ha, K.-T. (2023). Diversity and complexity of cell death: a historical review. *Experimental & Molecular Medicine*, 55, 1573–1594. <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01078-x>
46. Quent, V. M., Loessner, D., Friis, T., Reichert, J. C., & Huttmacher, D. W. (2010). Discrepancies between metabolic activity and DNA content as tool to assess cell proliferation in cancer research. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), 1003–1013.
47. Repetto, G., del Peso, A., & Zurita, J. L. (2008). Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nature Protocols*, 3(7), 1125–1131.
48. Rota, C., Fann, Y. C., & Mason, R. P. (1999). Phenoxyl free radical formation during the oxidation of the fluorescent dye 2',7'-dichlorofluorescein by horseradish peroxidase. Possible consequences for oxidative stress measurements. *Journal of Biological Chemistry*, 274(40), 28161-28168.
49. Saraste, A., & Pulkki, K. (2000). Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovascular Research*, 45(3), 528-537. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(99\)00384-3](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00384-3)
50. Sies, H., Belousov, V. V., Chandel, N. S., Davies, M. J., Jones, D. P., Mann, G. E., ... & Winterbourn, C. (2022). Defining roles of specific reactive

- oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(7), 499-515.
51. Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., ... & Boyd, M. R. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute*, 82(13), 1107–1112.
52. Slater, K. (2001). Cytotoxicity tests for high-throughput drug discovery. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(1), 70–74.
53. Strober, W. (2001). Trypan blue exclusion test of cell viability. *Current Protocols in Immunology*, Appendix 3, Appendix 3B.
54. Şahin Mazlumoglu, B. (2023). In vitro cytotoxicity test methods: MTT and neutral red uptake. *Pharmata*, 3(2), 50–53.
55. Tominaga, H., Ishiyama, M., Ohseto, F., Sasamoto, K., Hamamoto, T., Suzuki, K., & Watanabe, M. (1999). A water-soluble tetrazolium salt useful for colorimetric cell viability assay. *Analytical Communications*, 36(2), 47–50.
56. Vanden Berghe, T., Grootjans, S., Goossens, V., Dondelinger, Y., Krysko, D. V., Takahashi, N., & Vandenabeele, P. (2013). Determination of apoptotic and necrotic cell death in vitro and in vivo. *Methods*, 61(2), 117-129. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2013.02.011>
57. Vásquez-Vivar, J., Hogg, N., Pritchard Jr, K. A., Martásek, P., & Kalyanaraman, B. (1997). Superoxide anion formation from lucigenin: an electron spin resonance spin-trapping study. *FEBS Letters*, 403(2), 127-130.
58. Vichai, V., & Kirtikara, K. (2006). Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocols*, 1(3), 1112–1116.
59. Vinken, M. (2013). The adverse outcome pathway concept: A pragmatic tool in toxicology. *Toxicology*, 312, 158–165.
60. Vinken, M., & Blaauboer, B. J. (2017). In vitro testing of basal cytotoxicity: Establishment of an adverse outcome pathway from chemical insult to cell death. *Toxicology in Vitro*, 39, 104–110.
61. Wang, X., Fang, H., Huang, Z., Shang, W., Hou, T., Cheng, A., & Cheng, H. (2013). Imaging ROS signaling in cells and animals. *Journal of Molecular Medicine*, 91(8), 917-927.
62. Woolley, J. F., Stanicka, J., & Cotter, T. G. (2013). Recent advances in

- reactive oxygen species measurement in biological systems. *Trends in Biochemical Sciences*, 38(11), 556-565.
- 63.Yuan, J., & Ofengeim, D. (2023). A guide to cell death pathways. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25, 379–395. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00689-6>
- 64.Zhao, H., Joseph, J., Fales, H. M., Sokoloski, E. A., Levine, R. L., Vásquez-Vivar, J., & Kalyanaraman, B. (2005). Detection and characterization of the product of hydroethidine and intracellular superoxide by HPLC and limitations of fluorescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(16), 5727-5732.
- 65.Zhao, H., Kalivendi, S., Zhang, H., Joseph, J., Nithipatikom, K., Vásquez-Vivar, J., & Kalyanaraman, B. (2003). Superoxide reacts with hydroethidine but forms a fluorescent product that is distinctly different from ethidium: potential implications in intracellular fluorescence detection of superoxide. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(11), 1359-1368.
- 66.Zielonka, J., & Kalyanaraman, B. (2010). Hydroethidine-and MitoSOX-derived red fluorescence is not a reliable indicator of intracellular superoxide formation: another inconvenient truth. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(8), 983-1001.

BÖLÜM 6

ANTİOKSİDANLAR VE KEMOTERAPİ ETKİLEŞİMLERİ

Sevgi KUNDU¹, Senem AKKOC^{2*}

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213137>

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı, 32200, Isparta, Türkiye orcid id:0009-0008-0121-0882

² Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, 32200, Isparta, Türkiye orcid id: 0000-0002-1260-9425

*Bahçeşehir Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, 34000, İstanbul, Türkiye

Giriş

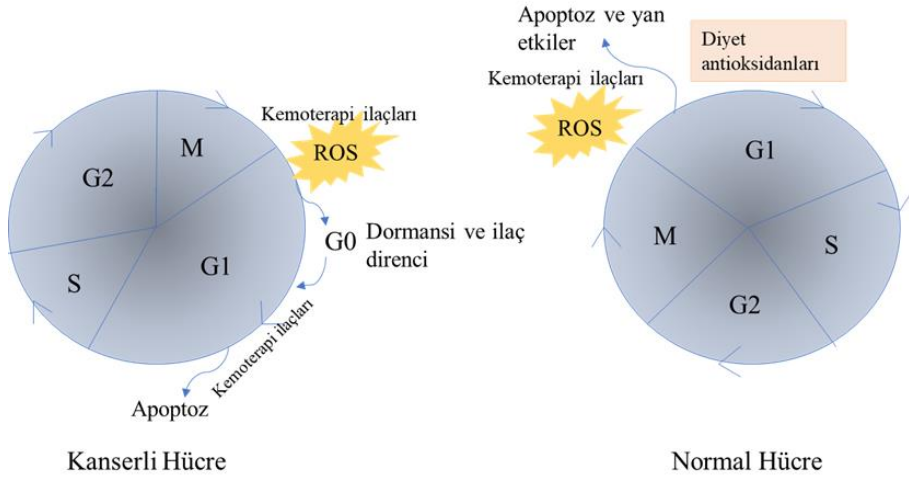
Reaktif oksijen türleri (ROS), hücresel solunum sürecinin bir yan ürünü olarak ve çeşitli ksenobiyotiklere maruz kalma sonucunda oluşmaktadır. Bununla beraber, mitokondriyal elektron taşıma zinciri, ROS üretiminin başlıca kaynağı olarak kabul edilmektedir. ROS'un aşırı üretimi, vücut homeostazını bozarak oksidatif stres gelişimine yol açmaktadır. Oksidatif stres ve ROS, DNA'ya ve diğer biyomakromoleküllere zarar vererek transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesini önemli ölçüde değiştirebilmekte ve başta kanser olmak üzere birçok hastalığın patogeneze katkıda bulunabilmektedir. Kanser şüphesiz dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biridir; ROS ve RNS gibi serbest radikallerin dengesizliği ve yüksek konsantrasyonu aynı zamanda mutajenik veya kanserojen ajanlara dönüşebilir ve bu da kanser gelişimine yol açabilir (Keskin vd., 2025). Vücutta, ROS'un zararlı etkilerine karşı koruyucu olarak enzimatik ve enzimatik olmayan sistemler mevcuttur. Bu endojen antioksidan sistemlere ek olarak C vitamini, E vitamini, A vitamini, bitkisel kaynaklardan elde edilen birçok fitokimyasal ile bunların sentetik türevleri gibi çeşitli eksojen antioksidanlar da dışarıdan alınarak vücudun savunma kapasitesini artırmaktadır. Antioksidanlar, ROS aracılığıyla meydana gelen hasarları engelleyerek karsinogenezin önlenmesine yardımcı olmaktadır. Antiproliferatif ve pro-apoptotik özelliklerinin anlaşılmasının ardından, antioksidanların kanser tedavisinde kullanımına ilişkin çalışmalar yürütülmeye başlanmıştır. Antioksidanların kemoterapi veya radyoterapinin etkilerini potansiyel olarak azaltabileceğine dair endişeler bulunmaktadır. Hem deneysel çalışmalar hem de klinik çalışmalardan elde edilen kanıtların sınırlı olması sebebiyle kanser tedavisi sırasında antioksidan kullanımının etkinliği ve güvenliği günümüzde tartışma konusu olmaktadır. (Jung ve ark., 2019; Debela ve ark., 2021; Majumder ve ark., 2021; Herdiana ve ark., 2023). Antibiyotiklere ve kanser tedavilerine karşı artan direnç oranlarıyla mücadele etmek için yeni keşif yaklaşımları, daha fazla paydaş katılımı ve odaklanmış araştırma ve geliştirme harcamaları şarttır (Bilici ve Akkoç, 2025).

7.1 Antioksidanların kemoterapi ilaçlarıyla sinerjistik etkileri

Dünya genelinde ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer alan kanser, tanı ve tedavi stratejilerindeki ilerlemelere rağmen her yıl milyonlarca insanın ölümüne neden olmaya devam etmektedir. Kansere bağlı ölüm oranının hala

yüksek olması tedavide yeni yaklaşımlara ihtiyacın bir göstergesidir. Yaygın bir tedavi yöntemi olan kemoterapi, uzun süredir farklı kanser türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak kemoterapide karşılaşılan yan etkilerin çokluğu, kanserli hücrelere karşı seçiciliğin azlığı, kemoterapötik ajanlara direnç gelişmesi gibi kısıtlamalar, araştırmacıları doğal bileşiklerin geleneksel ilaçlarla kombine kullanılmasının tedavide olumlu bir terapötik etki yaratıp yaratmayacağını araştırmaya yönlendirmektedir (Behranvand ve ark., 2022; Cacciola ve ark., 2023).

Son yıllarda, farklı biyokimyasal ve moleküler hedeflere sahip birden fazla kemoterapötik ajanın birlikte uygulanmasıyla tanımlanan kombine kemoterapi yaklaşımı, tedavi etkinliğinin artırılması ve yan etkilerin azaltılması açısından önemli kazanımlar sağlamıştır. Bununla birlikte, düşük toksisite profiline sahip doğal bileşiklerin terapötik alternatif olarak değerlendirilmesine ilişkin çalışmalar da son yıllarda giderek daha fazla önem kazanmıştır. Deneysel bulgular epigallokateşin-3-gallat, kurkumin, resveratrol gibi antioksidanların antitümöral ajanlarla kombinasyonu halinde kullanılmasının, kanser tedavisinde direnç gelişimini azaltma ve kemokoruyucu etkiler oluşturma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Castañeda ve ark., 2022). Kemoterapötik bir ajanın serbest radikal ara ürününün sitotoksitesinde ROS üretimi rol oynuyorsa, antioksidanlar ajanın antineoplastik aktivitesine müdahale edebilmektedir. Bunun yanı sıra reaktif türler yalnızca ilacın advers etkilerinden sorumlu ise, antioksidanlar bu etkilerin şiddetini azaltabilir ve bunu ilacın antineoplastik etkisini etkilemeden gerçekleştirebilir. Dolayısıyla, bir ilacın biyolojik sistemlerde oksidatif stres oluşturma kapasitesi ile ROS'un veya serbest radikal ara ürünlerinin ilacın etki mekanizmasındaki olası rolünü de ayırt etmek önem arz etmektedir (Conklin, 2004).



Şekil 7.1.1. Kemoterapi ilaçları oksidatif strese yol açmaktadır (Ilghami ve ark., 2020).

Kemoterapi ajanlarının yol açtığı oksidatif stres, kanserli hücrelerde ve normal hücrelerde farklı biyolojik etkilere yol açmaktadır. Kanser hücrelerinde aşırı ROS birikimi hücrelerde dormansiye neden olurken (Şekil 7.1.1.), normal hücrelerde apoptozu tetiklemektedir. Dormansi haline geçen kanser hücrelerinde genellikle ilaç direnci gelişmektedir. Antioksidanların uygulanması dormansi yolunu bloke edip hücre proliferasyonunu teşvik etmektedir, böylelikle kemoterapötik ajanlar tekrar kanser hücrelerine erişebilmektedir (Ilghami ve ark., 2020).

Tümör gelişimi ve kemoterapi sürecinde oluşan ROS'lara maruziyet hücrelerde yapısal ve işlevsel bozulmalara sebep olarak hücre hasarına yol açmaktadır. Sisplatin gibi platin türevi bileşikler yumurtalık kanseri, testis kanseri, baş ve boyun kanseri, yemek borusu kanseri, akciğer kanseri, meme kanseri, lösemi, melonama, Hodgkin lenfoma ve non-Hodgkin lenfoma gibi çeşitli kanser türlerinde tedavi etkinliği kanıtlanmış etkili kemoterapötik ajanlardır (Brown ve ark., 2019). Hücrelerin platin türevleri gibi oksidatif faktörlere maruziyeti ROS üretimini tetikleyerek lipid peroksidasyonu, protein karbonilasyonu, proteinlerdeki tiyol gruplarının oksidasyonu, DNA hasarı gibi çeşitli biyomoleküler değişimlere neden olabilmektedir. Hücrelerde meydana gelen bu zararlı etkileri azaltmak için iki temel yaklaşım öne çıkmaktadır: ROS oluşumunun engellenmesi ve oluşan ROS'un hücresel hedeflere ulaşmadan etkisiz hale getirilmesi. Olas ve ark., 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada bu

iki yaklaşımı hedef alarak antioksidan aktiviteye sahip *trans*-3,3',5,5'-tetrahidroksi-4'-metoksistilbenin ve resveratrolün (*trans*-3,4',5-trihidroksistilben) sisplatin ve selenyum-sisplatin konjugatının neden olduğu oksidatif stres üzerindeki etkilerini, insan kan trombositleri ve periferik kan lenfositlerinde karşılaştırmışlardır. *Trans*-3,3',5,5'-tetrahidroksi-4'-metoksistilbenin, tıpkı güçlü bir antioksidan olan resveratrol gibi, platin bileşikleriyle muamele edilen trombositlerde protein karbonilasyonunu anlamlı bir şekilde inhibe ettiği ve bu hücrelerde proteinlerin tiyol gruplarının oksidasyonunu belirgin bir şekilde azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, *trans*-3,3',5,5'-tetrahidroksi-4'-metoksistilben, resveratrol gibi, platin bileşiklerinin neden olduğu trombosit lipid peroksidasyonunu da belirgin bir ölçüde düşürmüştür. Elde edilen veriler *trans*-3,3',5,5'-tetrahidroksi-4'-metoksistilbenin *in vitro* modellerde resveratrol'den daha güçlü bir antioksidan olduğunu ve platin bileşiklerine karşı kemoterapi sırasında veya kanser profilaksisinde koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

L-sisteinin asetillenmiş formu olan *N*-asetilsistein (NAC), serbest radikal giderici aktiviteye sahip sentetik bir antioksidandır. Sistein vücutta kritik aktiviteye sahip doğal bir antioksidan olan glutatyon sentezinde rol oynamaktadır. NAC, hücre içi sistein havuzunu arttırabilir, glutatyon sentezini güçlendirebilir ve çeşitli enzimler aracılığıyla endojen antioksidan kapasiteyi arttırabilmektedir (Zavala-Valencia ve ark., 2024; Zaki ve ark., 2018). Sisplatin kaynaklı toksisiteyi azaltmada antioksidan kullanımının faydalı olabileceği düşünülmektedir. Gunturk ve arkadaşları tarafından 2019 yılında, sisplatin kaynaklı kardiyotoksisiteye karşı NAC'ın koruyucu rolünü araştırmışlardır. Sisplatin uygulanan hayvanlarda CK-MB ve LDH düzeylerinin yanı sıra cTnI ve CMLC-1 plazma düzeylerinde anlamlı bir artış gözlemlenmektedir ki bu değerlerin yükselmesi kardiyak hasar için tanısal belirteçler olarak kabul edilmektedir. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre sisplatin tedavisi sonrası uygulanan NAC takviyesinin, sisplatin grubunda gözlenen CK-MB artışını azalttığı kaydedilmiştir. Yine CMLC-1 ve cTnI düzeylerinin de NAC takviyesi sonrasında anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Sonuçlar sisplatine bağlı oksidatif kardiyak toksisite sonucu gelişen kalp hasarının NAC ile tamamen önlenemese bile de kardiyak hasarın boyutunu azalttığını göstermektedir.

Doksorubisin, tek başına veya diğer ajanlarla kombinasyon halinde kullanılan güçlü antineoplastik ajanlardan biridir. Meme, prostat, uterus, yumurtalık, karaciğer, özofagus, safra kanalları, mide tümörleri, akut myeloblastik ve lenfoblastik lösemi, osteosarkomlar ve yumuşak doku sarkomları, çocukluk çağı solid tümörleri gibi birçok malignitenin tedavisinde kullanılmaktadır. Yaygın kullanımının yanı sıra özellikle kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi çeşitli organlarda birçok yan etkiye sebep olabilmektedir (Carvalho ve ark., 2009). Kalsiyum metabolizmasında bozulma, serbest radikal oluşumu, mitokondriyal disfonksiyon, p53 birikimi, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı, pro-apoptotik kaskadlarının aktivasyonu/hücre hayatta kalma sinyallerinin inhibisyonu gibi farklı mekanizmalar aracılığıyla kalp dokuların üzerinde toksik etkilere sebep olması doksorubisinin kullanımını sınırlamaktadır. Bu mekanizmalar tam olarak aydınlatılmamış olsa da doksorubisinin kalp dokularındaki yan etkilerinin, oksidatif stres ve serbest radikal üretiminden kaynaklandığı kabul edilmektedir. Sheu ve ark., 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada resveratrol, tetrahidroksistilben glukozid, kurkumin ve *Antrodia cinnamomea* antioksidanlarının doksorubisin kaynaklı ROS'u azaltma yeteneğine sahip olup olmadığını ve doksorubisin ile sinerjik bir antikanser etki göstererek bu yan etkileri önleyip tedavinin etkinliğini artırıp artırmayacağını araştırmışlardır. Araştırmacılar, ROS birikiminin azaltılmasındaki etkilerini 3T3 (fare embriyonik fibroblastı normal sağlıklı hücreleri) hücre hattı, antioksidanların doksorubisin ile birlikte sinerjik antikanser etkisi için ise MCF-7 meme kanseri hücre hattını kullanarak değerlendirmişlerdir. Elde edilen bulgular hücrelerin resveratrol, kurkumin ve *Antrodia cinnamomea* ile ön tedavi edilmesinin süperoksit dismutaz aktivitesini artırarak hücre antioksidan kapasitesini yükselttiği, hücre içi hasarı önlediği/sınırladığı ve ROS'un zararlı etkilerini azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca resveratrol, kurkumin ve *Antrodia cinnamomea*, doksorubisin ile beraber MCF-7 hücrelerine karşı sinerjistik etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Sonuçlar bu antioksidanların doksorubisin kaynaklı kardiyak toksisiteyi önlemede ve antikanser etkinliği artırmada potansiyel olarak uygulanabileceğini göstermektedir.

Vinkristin, *Catharanthus roseus* bitkisinde doğal olarak bulunan vinka alkaloidleri sınıfında yer alan bir kemoterapötiktir. Antimitotik bileşikler sınıfına dahil olan vinkristin mikrotübül dinamiklerini bozup hücre döngüsünü

G₂/M fazında durdurarak antikanser aktivite göstermektedir. Kanser hücrelerinde düşük seçiciliği sebebiyle periferik nöropati gibi ciddi yan etkilere neden olabilmektedir. Bu sebeple vinkristin daha düşük konsantrasyonlarda kullanılmalı ve bu bağlamda monoterapiden ziyade kombinasyon tedavisi için daha uygun görülmektedir (Škubník ve ark., 2021). Liu ve ark., 2022 yılında yapılan bir çalışmada Non-Hodgkin lenfoma için sinerjik ilaç oranlarında vinkristin ve antioksidan bir bileşik olan kuersetinin kombinasyonunun lipid-polimerik nanotaşıyıcılar (LPN) içerisinde enkapsüle edilerek hedef hücrelere taşınması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda vinkristin ve kuersetin ile çift yüklü LPN'ler hazırlanmış ve bunların antitümöral etkinliği *in vitro* hücre kültürü modelleri ile tümör ksenograft fare modeline karşı araştırılmıştır. Vinkristin/kuersetin ağırlık oranları 5:1, 2:1, 1:1, 1:2 ve 1:5 olacak şekilde uygulamalar yapılarak bu iki ajanın etkili kombinasyon oranı belirlenmiş olup 2:1, 1:1 ve 1:2 oranlarında sinerjik etki olduğu gözlemlenmiştir. En güçlü sinerjik etkinin ise 1:1 ağırlık oranı olduğu bulunmuştur. Elde edilen veriler ışığında çift ilaç yüklü LPN'lerin hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamlarda iyi bir antitümör aktiviteye sahip olduğu ve vinkristin ve kuersetinin aynı taşıyıcılar içerisinde enkapsülasyonunun kemoterapiye dirençli lenfomanın üstesinden gelmede yeni bir terapötik yaklaşım potansiyeline sahip olduğu düşünülmüştür.

Sitozin arabinozid (Ara-C, sitarabin), antineoplastik aktiviteye sahip bir pirimidin nükleozid analogudur. Ara-C özellikle akut myeloid lösemi başta olmak üzere hematolojik malignitelerin tedavisinde kritik bir rol oynamaktadır. Akut myeloid lösemi vakalarının yaklaşık %70'inde kombine kemoterapi ile tam remisyon sağlanabilmektedir (Crisp ve ark., 1996; Huang ve ark., 2022). Shen ve ark., 2007 yılında yapılan bir çalışmada antioksidan bir bileşik olan genisteinin, NB4 ve HL-60 insan lösemi hücre hatlarında apoptozu indüklediği ve G₂/M fazında hücre döngüsünü durdurarak antilösemik etki gösterdiği ortaya konmuştur. Elde edilen veriler mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yoluna ait bazı genlerin genistein etkisiyle belirgin şekilde baskılandığını göstermiştir. *In vitro* deneylerden elde edilen bulgular ışığında genisteinin hem tek başına hem de Ara-C ile birlikte *in vivo* etkinliği de araştırılmış sonuçlar genisteinin Ara-C ile birlikte uygulandığında antilösemik aktivitede sinerjik etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

5-Fluorourasil (5-FU), geniş antitümör aktivitesi ve diğer antikanser ilaçlarla sinerjistik etkisi nedeniyle çeşitli malignite türlerinin tedavisinde kullanılan önemli bir kemoterapötik ajandır (Miura ve ark., 2010). Meme kanseri tedavisinde de yaygın olarak kullanılan 5-FU'nun, ilaç direncine ve mukozite yol açması kullanımıyla ilgili sıkıntılardandır. Chen ve arkadaşları tarafından 2017 yılında yapılan bir çalışmada *Ficus virens*'ten elde edilen antioksidan özelliğe sahip proantosiyanidinlerin antikanser ve anti-mukozit aktivitesi araştırılmıştır. Sonuçlar proantosiyanidinlerin MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücre hatlarına karşı hem güçlü serbest radikal süpürücü aktivite hem de sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca proantosiyanidinlerin her iki hücre hattında apoptozu indüklediği ve bunun mitokondriyal membran potansiyelinin bozulması, ROS üretimi, Bax/Bcl-2 protein ekspresyonu oranı artışı ve kaspaz-3 aktivasyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Elde edilen veriler ışığında, sıçanlarda 5-FU ile indüklenen intestinal mukozite karşı koruyucu aktivite gösteren proantosiyanidinlerin kombinasyon tedavisinde kullanılabilecek potansiyel bir terapötik ajan olabileceği sonucuna varılmıştır.

Antioksidan aktiviteye sahip askorbik asit (C vitamini), insan malignitelerinin potansiyel bir tedavisi olarak giderek daha fazla ilgi görmektedir. Çeşitli deneysel çalışmalar farmakolojik dozlarda C vitamininin tek başına veya kullanılan ilaçlarla kombinasyon halinde, kanserin çeşitli modellerinde faydalı etkiler gösterebileceğini ortaya koymuştur. Yüksek dozda C vitamini uygulanmasının tek başına veya kemoterapötik ajanlarla beraber uygulanması, tümör büyümesi baskılanmasını anlamlı şekilde arttırabilmektedir (Blaszczak ve ark., 2019). Suhail ve ark., 2012 yılında yapılan bir çalışmada E ve C vitamin takviyesi uygulanmasının, meme kanserinde kemoterapinin etkisiyle azalan antioksidan dengeye katkısı araştırılmıştır. E ve C vitamini takviyesinin SOD, CAT, GST ve GR gibi tüm serbest radikal temizleyici enzimlerin düzeylerini ve enzimatik olmayan antioksidan GSH'nin düzeyini anlamlı derecede arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca vitamin takviyesinin DNA hasarını da azalttığı kaydedilmiştir. Elde edilen veriler ışığında E ve C vitamin takviyesinin kemoterapiye bağlı yan etkilere karşı koruyucu olabileceği ve klinik sonuçların değerlendirilmesi amacıyla meme kanseri hastalarında vitamin takviyesinin etkinliğinin araştırılması için randomize kontrollü bir çalışmanın uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

7.2 Koruyucu mı yoksa terapötik etkinliği azaltıcı mı?

Antioksidanlar ve kemoterapide kullanılan antikanser ajanlar, kanserin gelişimi ve progresyonu üzerinde etkili olabilen biyolojik olarak aktif bileşiklerdir. Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu hücresel hasarı önleyerek bazı kanser türlerinin oluşum riskini azaltma potansiyeline sahiptir. Ancak, antioksidanların kanserle olan ilişkisi oldukça karmaşık olup, etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. *In vitro* deneyler ve hayvan deneyleri, antioksidanların kemoterapinin neden olduğu hücresel hasara karşı koruyucu olabileceğini göstermektedir. Öte yandan, bazı antikanser ajanlar oksidatif stres oluşturarak kanserli hücrelerde hasar ve apoptozu indüklerken, bazıları antioksidan özellikler göstererek normal hücreleri oksidatif hasardan koruyabilmektedir. Bu durum antioksidanlar ile antikanser tedavi stratejileri arasındaki etkileşimin dikkatle değerlendirilmesini gerektirmektedir (D'Andrea, 2005; Herdiana ve ark., 2023).

Genellikle hücreleri oksidatif hasardan korumakla ilişkilendirilen antioksidanlar, bazı koşullar altında oksidatif stresi artırarak tümör oluşumuna katkıda bulunabilir veya kanser tedavilerine karşı direnç gelişimini teşvik edebilmektedir. C vitamini, NAC gibi bazı antioksidanların yüksek konsantrasyonlarında pro-oksidan gibi davrandığı ve böylece tümör hücrelerinde ROS üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Benzer şekilde, yüksek dozda alınan EGCG ve kuersetin gibi polifenolik bileşiklerin de mitokondriyal fonksiyon bozukluklarına ve DNA hasarı ile ilişkili pro-oksidan etkiler gösterebilmektedir. Ayrıca yüksek miktarda antioksidan desteğinin uzun süre devam etmesi kemoterapi, radyoterapi ve immünoterapi gibi standart tedavi yöntemlerinin etkinliğini olumsuz etkileyebilmektedir. Platin bazlı kemoterapötikler DNA'da hasar oluşturmak için serbest radikal üretimine ihtiyaç duymaktadır. Antioksidanlar bu radikalleri temizleyerek bu ilaçların tümör hücrelerine yönelik sitotoksik etkisini azaltabilmektedir (Liu ve ark., 2025).

Samuel ve ark., 2010, flavonoid yapısında antioksidan bir madde olan kuersetinin kanser hücrelerinin hücre döngüsü, canlılık ve proliferasyonu üzerindeki etkilerini tek başına veya mikrotübül hedefli ilaçlar olan taksol ve nokodazol ile kombinasyonu halinde araştırmışlardır. Kuersetin doz bağımlı bir şekilde hücre ölümüne neden olmasına rağmen 12.5-50 μ M konsantrasyonlarında taksol ve nokodazolün çeşitli hücre hatlarında hücre

döngüsünü G₂/M fazında duraklamayı indükleyici etkisini engellemiştir. Ayrıca tedavi edilen hücreleri bu mikrotübül karşıtı ilaçların etkisinden korumuş ve hücrelerin canlılık kaybını 72 saate kadar kısmen geri kazandırmıştır. Mikrotübül hedefli ilaçların bu antagonizması, hücre döngüsünün ilerlemesinde bir gecikme ve tedavi edilen hücrelerin mikrotübül düzenleyici merkezinde siklin-B1 birikiminin inhibisyonuna eşlik etmiştir. Bunların yanı sıra kuersetin, taksol ve nokodazolün mikrotübül hedeflemelerini engellememiştir. Elde edilen veriler ışığında kanser hücrelerinin kuersetine uzun süreli maruziyetinin hücre proliferasyonunu ve hayatta kalmasını engelleyebileceği, ancak kuersetinin hücre döngüsünün ilerleyişine müdahalesinin, mikrotübül hedefli ilaçların hücre döngüsünü duraklatma etkinliğini azalttığı sonucuna ulaşılmıştır.

Destekleyici antioksidanlar kanserin önlenmesinde kullanılmasının yanı sıra hekimler tarafından kanser hastalarına reçete edilebilmektedir. Ancak bu takviyelerin yararlı mı yoksa zararlı mı olduğu belirsizliğini korumaktadır. Fu ve ark., 2014 yılında yapılan bir çalışmada antioksidanların 5-FU'nun kemoterapötik aktivitesi üzerinde nasıl bir etkisi olduğunu araştırmışlardır. İlk olarak antioksidanların 5-FU ile kombinasyonunun kolon kanseri hücrelerinde apoptozu etkileyip etkilemediğini araştırmışlardır. Akım sitometresi sonuçları NAC'ın HT29 kolon kanseri hücrelerinde, katalaz enziminin SW480 kolon kanseri hücrelerinde 5-FU'nun indüklediği apoptozu azalttığını göstermiştir. Ayrıca GSH ve C vitamini ile muamele edilmiş hücrelerde daha sonradan 5-FU uygulaması hem GSH'nin hem de C vitamininin HT29 hücrelerindeki 5-FU'nun apoptotik etkisini azalttığı gösterilmiştir. Kolon kanserlerinde aşırı eksprese olduğu bilinen Src, kanser hücrelerinin proliferasyonu, hayatta kalması, anjiyogenez, adezyon ve metastazla yakından ilişkilidir. Ayrıca 5-FU antioksidanlar ile beraber kullanıldığında Src aktivasyonunun engellendiği yine bunun bir sonucu olarak 5-FU'nun apoptotik etkisinin azalmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Genel olarak bu sonuçlar antioksidanların kolon kanseri hücrelerinde 5-FU'nun apoptotik etkilerini azaltabileceğini ortaya koymuş olup bu durum klinik kemoterapi açısından önem arz etmektedir.

Diao ve ark., 2016 yılında yapılan bir çalışmada ise antioksidan E vitamininin meme kanserinde hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Deneylerde hem fare modeli hem de hücre kültürü kullanılmıştır. ROS değişimleri ve p53 ekspresyonunun belirlenmesi amacıyla

CM-H2DCFDA floresan probu ve Western blot analizi kullanılmıştır. MCF7 hücrelerinde siRNA transfeksiyonu ile p53'ün baskılanması, E vitamini ile p53 arasındaki etkileşimin MCF7 hücre proliferasyonu üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla uygulamışlardır. Diyetle eklenen E vitamini, *in vivo* koşullarda meme kanseri hücre büyümesini anlamlı şekilde hızlandırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca tümör dokularında ROS düzeyi ve p53 ekspresyonunun azaldığı kaydedilmiştir. Suda çözünen E vitamini analogu olan Trolox'un da benzer şekilde MCF-7 hücrelerinde proliferasyonu belirgin şekilde arttırırken, hücre içi ROS düzeyini ve p53 ekspresyonunu düşürdüğü kaydedilmiştir.

Bazı antioksidanlar kanser tedavisinde olumlu etkilere sahipken bazıları kanserin başlangıcını ve ilerlemesini tetikleyici etki gösterebilmektedir. Kanser karşısında iki yönlü aktiviteye sahip olabildiklerinden ötürü antioksidanların kanser tedavisinde kullanımı tartışma konusu olmaya devam etmektedir (Dastmalchi ve ark., 2020). Antioksidanların kanser gelişimindeki rolünün özellikle *in vivo*, prelinik ve klinik çalışmalarla araştırılması önem arz etmektedir. Farklı türdeki antioksidanların farklı kanser hücre hatlarındaki etkileri ve moleküler mekanizmalarının da daha detaylı bir şekilde araştırılması gerekmektedir.

7.3 Klinik öncesi modelleme çalışmaları

Kanser kemoterapisinin etkinliği üzerinde antioksidanların etkisine dair tartışmalar devam etmektedir. Mevcut çalışmalar sınırlı örneklem büyüklüğü ve metodolojik farklılıklar içerse de elde edilen veriler antioksidanların, kemoterapötiklerin yan etkilerini önlemede ve aynı zamanda kanserli hücrelerin kemoterapötiklere duyarlılığının artırılmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir (Tablo 7.3.1.). Kemoterapiye bağlı toksisitenin azaltılması, özellikle doz kısıtlayıcı yan etkilerin önlenmesine katkıda bulunarak hastaların tedavi protokollerini daha yüksek oranda tamamlamasına olanak tanıyabilir. Ayrıca doz kısıtlayıcı toksisitenin azaltılması ile beraber tam kemoterapi döngülerinin uygulanabilmesi ile daha iyi tümör yanıtı ve/veya sağkalım sonuçları arasında bir bağlantı olabileceği de değerlendirilmektedir. Bu nedenle antioksidan ve kemoterapi kombinasyonlarının araştırılması önem arz etmektedir (Fuchs-Tarlovsky, 2013).

Tablo 7.3.1. Antioksidanlar ve kemoterapötik kombinasyonlarının olası etkileri.

Antioksidan	Kemoterapötik Ajan	Modelleme Türü	Etkiler	Kaynakça
Kurkumin	5-FU	<i>İn vitro</i> : HCT116 (insan kolon kanseri), HCT116R (5-FU dirençli)	*Kurkumin kanserli hücreleri kemoduyarlı hale getirmiş ve alginat bazlı 3D hücre kültürü modellerinde 5-FU'nun yaşam, proliferasyon, invazyon ve metastazı baskılayıcı etkisini doz bağımlı şekilde artırmıştır. *NF- κ B (p65) aktivasyonu ve NF- κ B tarafından düzenlenen gen ürünlerini baskılayıcı etkisini güçlendirmiştir. *Kombine tedavide 5-FU'nun IC ₅₀ değeri çok daha düşük çıkmıştır.	Shakibaei ve ark., 2015.
Kurkumin	Oksaliplatin	<i>İn vitro</i> : LoVo, Colo 205 (kolorektal kanser hücre hatları) <i>İn vivo</i> : Dişi atimik nu/nu fare	*Kurkumin kanser hücrelerinin büyümesini doz bağımlı inhibe etmiş ve apoptozu indüklemiştir. Ayrıca lipozomal kurkumin ile oksaliplatin arasında 4:1 oranında sinerjistik etki gözlenmiştir. *Kurkumin ayrıca CD31, endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve interlökin-8 ekspresyonunda azalma ile karakterize anti-anjiyogenik etki sergilemiştir.	Li ve ark., 2007.
Kurkumin	Paklitaksel	<i>İn vitro</i> : SKOV3, A2780 hücre hatları	*Kurkumin ve paklitaksel kombine olarak uygulandığında kanser hücrelerinde proliferasyonu sinerjistik şekilde baskılamış ve apoptozu artırmıştır. *Kurkumin miR-9-5p/BRCA1 eksenini düzenleyerek paklitakselin yumurtalık kanserindeki antikanser etkinliğini artırmıştır.	Liu ve ark., 2023.
Resveratrol	Tivozanib	<i>İn vitro</i> : ACHN hücre hattı (Adenokarsinoma)	*Resveratrol; kanser hücrelerinin yaşamını azaltma, proliferasyon, göç, koloni oluşumu ve sferoit oluşumunu baskılama,	Taheri ve ark., 2024.

		Diğer testler: Hoechst boya ile boyama, çizik-yara iyileşme testi (scratch-wound assay), 3D sferoit, 2D koloni oluşum analizi, apoptoz ve DNA hücre döngüsü için akış sitometrisi, gerçek zamanlı PCR (BAX/BCL2, E-cadherin, Snail, HIF1α, VEGFC, KLK3 genleri için)	ayrıca VEGFC ve HIF-1α ekspresyonunu düşürme yoluyla karsinom hücrelerinin tivozanibe duyarlılığını artırmıştır. *İki bileşiğin kombinasyonu sonucunda tivozanibin IC₅₀ değeri azalmış, etkinliği ise korunmuş veya artmıştır. Ayrıca yan etkiler de azalmıştır.	
Resveratrol, Kapsaisin	5-FU	<i>İn vivo</i>: RAGγ2C-/- fareler <i>İn vitro</i>: HT29, HCT116, SW480, NCM460 hücre hatları	*Resveratrol kapsaisin ile beraber kullanıldığında, kolorektal tümör hücreleri üzerinde radyoterapinin <i>in vivo</i> etkisini artırmıştır. *Resveratrol, tek başına veya kapsaisin ile kombinasyonu halinde, kolorektal tümör hücrelerinde radyoterapiye bağlı hücre döngüsü durmasını ve apoptozu <i>in vitro</i> olarak güçlendirmektedir.	Amintas ve ark., 2025
EGCG	Tamoksifen	<i>İn vitro</i>: MCF-7, MCF-7/TAM (tamoksifen dirençli) Testler: hücre canlılık testi, ilaç direncinin belirlenmesi, gerçek zamanlı PCR, Western-blot testi, oksidatif stres	*EGCG, MCF-7/TAM hücrelerini tamoksifene karşı anlamlı derecede duyarlı hale getirmiş hem mRNA düzeyinde hem de protein düzeyinde Nrf2 ekspresyonunu azaltmıştır. *siRNA aracılı gen susturmanın EGCG ile kombinasyonu, Nrf2'ye bağlı yanıtı baskılamış ve MCF-7/TAM hücrelerinde tamoksifen direncini sinerjik	Esmacili ve ark., 2016.

		parametreleri testi, laktat dehidrogenaz salınım testi, hücre koloni oluşum analizi, akış sitometrisi testi ve istatistiksel analizler	bir şekilde kısmen tersine çevirmiştir.	
EGCG	5-FU	<i>İn vitro</i> : DLD1, HCT-116 <i>İn vivo</i> : Dişi BALB/c çıplak fareler	*EGCG MDR1'i hedef olarak kolorektal kanser hücrelerinin 5-FU'ya duyarlılığını artırmıştır. GRP78'in down regülasyonu ile indüklenen NF-κB/miR-155-5p yolu, EGCG'nin MDR1 ekspresyonunu inhibe etmede kilit rol oynamaktadır. Sonuçta MDR1 inhibisyonu hücrelerde 5-FU birikimine ve tümör hücrelerinde apoptoza yol açmıştır.	La ve ark., 2019.
Kuersetin, Luteolin	5-FU	<i>İn vitro</i> : HCT15, CO115 hücre hatları	*p53 mutasyonu taşıyan HCT15 hücreleri, p53 wild tip olan CO115 hücrelerine kıyasla 5-FU'ya daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir. HCT15 hücrelerinde kuersetin, her iki hücre hattında da luteolin 5-FU kombinasyonu apoptozu artırıcı etki göstermiştir.	Xavier ve ark., 2011.
Kuersetin	İrinotekan/SN-38	<i>İn vitro</i> : AGS insan mide aknseri hücre hattı <i>İn vivo</i> : Dişi BALB/c çıplak fareler	*AGS ksenograft fare modelinde, siklooksijenaz-2 ve Twist1 ile ITG β6 gibi epitel mesenkimal geçiş ile ilişkili belirteçlerin gen ekspresyonu kombinasyonu tedavisinde daha düşük bulunmuştur. Ayrıca anjiyogenezle ilişkili faktörlerin (VEGF) konsantrasyonu ve Tie2-eksprese eden monositlerin yüzdesi de kuersetin irinotekan kombinasyonu ile	Lei ve ark., 2018.

			beraber anlamlı şekilde azalmıştır. *Hücre kültürü modellerinde de kombine tedavinin hücre canlılığı ve apoptoz üzerindeki etkisi monoterapi ile kıyaslanabilir düzeyde bulunmuştur.	
Apigenin	Etoposid Siklofosfamid	<i>İn vitro</i> : Jurkat ve THP-1 hücre hatları	*Apoptotik yolların anti-apoptotik ve pro-apoptotik üyelerini hedeflemek, kanserli hücrelerin ölümünü indüklemek ve kemoterapi ajanlarına duyarlılığı artırmak için umut verici bir stratejidir. Apigenin etoposid veya siklofosfamid ile birlikte kullanıldığında mitokondriyal yolak üzerinden apoptozu indüklemiştir. Pro-apoptotik sitokrom c, SMAC/DIABLO ve HTRA2/OMI ekspresyonunu artırmış ve bu da kaspaz-9 ve -3 aktivasyonunu teşvik etmiştir.	Mahbub ve ark., 2022.
Koenzim Q10	Tamoksifen	<i>İn vivo</i> : Erişkin dişi Sprague-Dawley ratları	*Ratlarda, 7,12-dimetilbenzen(a)antrasen (DMBA) uygulamasıyla oksidatif hasar indüklenmiştir. DMBA uygulanan sıçanlarda tiyol kapasitesinde azalma, malondialdehit düzeylerinde artış ve antioksidan durumun aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Glutasyon metabolize eden enzimler kimyasal olarak indüklenmiş karsinomlu sıçanlarda anlamlı şekilde artmıştır. Tamoksifenle beraber CoQ10 uygulaması, bu enzim aktivitelerini önemli ölçüde eski haline getirerek kanserli hücre proliferasyonunu engellemiştir.	Perumal ve ark., 2005.

			*Kombinasyon halinde yan etkilerde de azalma meydana gelmiştir.	
Koenzim Q10	Doksozobisin	<i>İn vivo</i> : Erişkin Wistar ratları	*Doksozobisin ile tedavi edilen grupta düzensiz kardiyomiyositler, artmış interstisyel boşluk, vokuollü sitoplazma ve çok sayıda küçük piknotik çekirdek gözlemlenmiştir. Kaspaz-3 ve iNOS immünoekspresyonunda anlamlı artış tespit edilmiştir. Kardiyomiyositlerde anlamlı şekilde artmış MDA düzeyleri ve Bax/Bcl-2 gen ekspresyon oranında yükselme saptanmıştır. CoQ10'un eş zamanlı uygulanması, histopatolojik görünümde anlamlı iyileşmeye yol açmıştır. Kaspaz-3 ve iNOS immünoekspresyonunda belirgin azalma ile birlikte Bax/Bcl-2 gen ekspresyon oranında düşüş sağlamıştır. Sonuçta CoQ10 pro-apoptotik ve antiapoptotik gen ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla doksozobisin kaynaklı kardiyotoksisiteye karşı koruyucu etki göstermiştir.	Shabaan ve ark., 2023.
Vitamin C	Eribulin mesilat Tamoksifen Fulvestrant Trastuzumab	<i>İn vitro</i> : MCF7, SK-BR3 ve MDA-MB-231 hücre hatları	*Yüksek dozda C vitamini özellikle MCF-7 hücrelerinde olmak üzere tüm meme kanseri hücre hatlarında hücre canlılığını anlamlı şekilde azaltmıştır. C vitamini ve eribulin mesilatın kombinasyonu ile hem MCF-7 hem de MDA-MB-231 hücrelerinde sinerjistik etki gözlemlenmiştir. *C vitamininin; MCF-7 hücrelerinde tamoksifen veya fulvestrant kombinasyonu, SK-BR3 hücrelerinde trastuzumab ile	Lee ve ark., 2019.

			kombinasyon ile tek başına kemoterapi veya endokrin tedaviye kıyasla hücre canlılığını daha fazla azaltmıştır.	
Vitamin C	Vinkristin Doksorubisin Metotreksat Sisplatin İmatinib	<i>İn vitro</i> : K562 ve RL hücre hatları <i>İn vivo</i> : Fox Chase ICR fareleri (Taconic)	*C vitamini ile ön tedavi, test edilen tüm antineoplastik ajanlarla yapılan tedavi sonrasında sitotoksiteyi doz bağımlı bir şekilde azaltmıştır. RL hücrelerinden türetilen ksenojenik tümörlere sahip farelerde doksorubisin tedavisinden önce verilen C vitamini, terapötik etkinlikte azalmaya yol açmıştır. *Antineoplastik ajanlarla tedavi edilen hücrelerde C vitamini apaoptozda doz bağımlı bir azalma meydana getirmiştir. *Antineoplastik ajanlar tarafından indüklenen mitokondriyal membran depolarizasyonu C vitamini tarafından engellenmiştir.	Heaney ve ark., 2008.
Vitamin E	Metotreksat	<i>İn vivo</i> : Yetişkin Wistar ratları	*E vitamini, metotreksat kaynaklı mitokondriyel toksiteyi baskılamıştır. *Ratların kalp mitokondrileri izole edilmiş, metotreksat eklenmesiyle E vitamini varlığında ve yokluğunda mitokondriyel şişme, lipid peroksidasyonu ve mitokondriye özgü enzim aktivitelerindeki değişiklikler değerlendirilmiştir. Metotreksat lipid peroksidasyonu ve mitokondriyel şişmeyi artırarak mitokondriyel fonksiyonu önemli derecede etkilemiştir. Besiyerinin E vitamini ile zenginleştirilmesi şişmede azalmaya ve enzim aktivitelerinin yeniden	Singh ve ark., 2012.

			düzenlenmesine yol açmıştır.	
Vitamin E	Doksorubisin	<i>İn vivo</i> : CT26 hücreleri enjekte edilmiş BALB/c fareleri, MCF-7 hücreleri enjekte edilmiş dişi atimik çıplak fareler	*Çalışma kapsamında doksorubisin yüklenmiş E vitamini bazlı miseller geliştirilmiştir. Bu misellerle tedavi edilen farelerde doksorubisin ile E vitamini türevleri arasında sinerjik etki gözlemlenmiş olup uzun dönem sağkalımın %100 olduğu gözlenmiştir.	Danhier ve ark., 2014.
Retinoid türevleri (9cUAB30, 9cUAB124, 9cUAB130)	Karboplatin	<i>İn vitro</i> : A2780 hücre hattı <i>İn vivo</i> : Atimik çıplak fareler	*Elde edilen bulgular A2780 hücre hattında retinoid ve karboplatin ile yapılan kombinasyon tedavisinin, her iki ilacın tek başına uygulanmasından daha etkili olduğunu göstermiştir.	Whitworth ve ark., 2012.
<i>All-trans</i> retinoik asit (ATRA)	5-FU	<i>İn vitro</i> : HCT116 hücre hattı	*ATRA kanserli hücrelerin 5-FU'ya olan duyarlılığını artırmıştır. miR-378c ekspresyonunu artırırken, E2F7 ekspresyonunu azaltmıştır. Sinerjik etkinin bu mekanizma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.	Li ve ark., 2021.
Retinoid	Gemsitabin	<i>İn vitro</i> : Panc-1 ve KP-2 hücre hatları <i>İn vivo</i> : Erkek BALB/c çıplak fareler	*Kombine tedavinin normal insan pankreas epitelyum hücrelerine kıyasla Panc-1 ve KP-2 kanserli hücrelerinin büyümesini seçici olarak inhibe etmiştir. Kombine tedavi ile beraber apoptozun indüklenmesinde ve Ras aktivasyonunun inhibe edilmesinde sinerjik bir etki gözlemlenmiştir. Farelerde de aynı şekilde tümör büyümesindeki etki artmıştır.	Nakagawa ve ark., 2009.
NAC	Sisplatin	<i>İn vitro</i> : SKOV3.ip1 hücre hattı <i>İn vivo</i> : Cr:NIH-RNU dişi ratlar	*Kanserle ilişkili bilişsel bozulmayı önlemek amacıyla NAC'ın etkileri araştırılmış olup in vitro çalışmalarda sisplatin uygulamasından 10 saat	Lomeli ve ark., 2025.

			sonra verilen NAC tedavisi, sisplatinin anti kanser etkinliğini azaltmazken, hipokampal dendritik dallanma hasarını ve nöronal apoptozu azalttığı gözlemlenmiştir. <i>*In vivo</i> deneylerin sonucunda da hem kontrol grubunda hem de yalnızca sisplatin verilen tümör taşıyan ratlarda bilişsel bozulmalar gözlenmiş buna karşın gecikmeli NAC tedavisi ile bu bilişsel bozulmaların önlendiği gözlemlenmiştir. Ayrıca sisplatinin tümör hacmini küçültücü etkisinde herhangi bir azalma olmamıştır.	
--	--	--	--	--

KAYNAKLAR

- Amintas, S., Dupin, C., Derieppe, M. A., Moranvillier, I., Lamrissi, I., Bourdié, C., Feurer, Z., Fernandez, B., Heng-Pradère, T., Moreau-Gaudry, F., Bedel, A., Venderly, V., Dabernat, S. (2025). Resveratrol and capsaicin as safer radiosensitizers for colorectal cancer compared to 5-fluorouracil. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 183, 117799.
- Behranvand, N., Nasri, F., Zolfaghari Emameh, R., Khani, P., Hosseini, A., Garssen, J., & Falak, R. (2022). Chemotherapy: a double-edged sword in cancer treatment. *Cancer immunology, immunotherapy*, 71(3), 507-526.
- Bilici, E., Akkoç, S. (2025). Impact of a benzimidazole salt on gene expression cytotoxicity and apoptotic processes in hepg2 cell line. *Journal of King Saud University – Science*, 37 (1) 3922024.
- Blaszcak, W., Barczak, W., Masternak, J., Kopczyński, P., Zhitkovich, A., & Rubiś, B. (2019). Vitamin C as a Modulator of the Response to Cancer Therapy. *Molecules*, 24(3), 453.
- Brown, A., Kumar, S., & Tchounwou, P. B. (2019). Cisplatin-based chemotherapy of human cancers. *Journal of cancer science & therapy*, 11(4), 97.
- Cacciola, N. A., Cuciniello, R., Petillo, G. D., Piccioni, M., Filosa, S., & Crispi, S. (2023). An overview of the enhanced effects of curcumin and chemotherapeutic agents in combined cancer treatments. *International journal of molecular sciences*, 24(16), 12587.
- Carvalho, C., Santos, R. X., Cardoso, S., Correia, S., Oliveira, P. J., Santos, M. S., & Moreira, P. I. (2009). Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Current medicinal chemistry*, 16(25), 3267-3285.
- Castañeda, A. M., Meléndez, C. M., Uribe, D., & Pedroza-Díaz, J. (2022). Synergistic effects of natural compounds and conventional chemotherapeutic agents: Recent insights for the development of cancer treatment strategies. *Heliyon*, 8(6).
- Chen, X. X., Lam, K. H., Chen, Q. X., Leung, G. P. H., Tang, S. C. W., Sze, S. C. W., ... & Zhang, Z. J. (2017). Ficus virens proanthocyanidins induced apoptosis in breast cancer cells concomitantly ameliorated 5-fluorouracil induced intestinal mucositis in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 110, 49-61.

- Conklin, K. A. (2004). Cancer chemotherapy and antioxidants. *The Journal of nutrition*, 134(11), 3201S-3204S.
- Crisp, L. B., Smith, S. M., Mathers, M. A., Young, G. A., Lyons, S. D., & Christopherson, R. I. (1996). Effects of cytosine arabinoside on human leukemia cells. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 28(9), 1061-1069.
- D'Andrea, G. M. (2005). Use of antioxidants during chemotherapy and radiotherapy should be avoided. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 55(5), 319-321.
- Danhier, F., Kouhé, T. T. B., Duhem, N., Ucakar, B., Staub, A., Draoui, N., Feron, O., Pr  at, V. (2014). Vitamin E-based micelles enhance the anticancer activity of doxorubicin. *International Journal of Pharmaceutics*, 476(1-2), 9-15.
- Dastmalchi, N., Baradaran, B., Latifi-Navid, S., Safaralizadeh, R., Khojasteh, S. M. B., Amini, M., ... & Lotfinejad, P. (2020). Antioxidants with two faces toward cancer. *Life Sciences*, 258, 118186.
- Debela, D. T., Muzazu, S. G., Heraro, K. D., Ndalama, M. T., Mesele, B. W., Haile, D. C., Kitui, S. K., Manyazewal, T. (2021). New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE open medicine*, 9, 20503121211034366.
- Diao, Q. X., Zhang, J. Z., Zhao, T., Xue, F., Gao, F., Ma, S. M., & Wang, Y. (2016). Vitamin E promotes breast cancer cell proliferation by reducing ROS production and p53 expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 20(12), 2710-7.
- EE, G. (2019). The effects of N-acetylcysteine on cisplatin induced cardiotoxicity. *Bratislava Medical Journal/Bratislavské Lekárske Listy*, 120(6).
- Esmacili, M. A. (2016). Combination of siRNA-directed gene silencing with epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reverses drug resistance in human breast cancer cells. *Journal of chemical biology*, 9(1), 41-52.
- Fu, Y., Yang, G., Zhu, F., Peng, C., Li, W., Li, H., ... & Dong, Z. (2014). Antioxidants decrease the apoptotic effect of 5-Fu in colon cancer by regulating Src-dependent caspase-7 phosphorylation. *Cell death & disease*, 5(1), e983-e983.

- Fuchs-Tarlovsky, V. (2013). Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*, 29(1), 15-21.
- Heaney, M. L., Gardner, J. R., Karasavvas, N., Golde, D. W., Scheinberg, D. A., Smith, E. A., & O'Connor, O. A. (2008). Vitamin C antagonizes the cytotoxic effects of antineoplastic drugs. *Cancer research*, 68(19), 8031-8038.
- Herdiana, Y., Husni, P., Nurhasanah, S., Shamsuddin, S., & Wathoni, N. (2023). Chitosan-based nano systems for natural antioxidants in breast cancer therapy. *Polymers*, 15(13), 2953.
- Huang, S., Liu, L., Liu, X., Song, L., Huang, C., & Miao, L. (2022). Development and application of a rapid and sensitive liquid chromatography-mass spectrometry method for simultaneous analysis of cytarabine, cytarabine monophosphate, cytarabine diphosphate and cytarabine triphosphate in the cytosol and nucleus. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 211, 114582.
- Ilghami, R., Barzegari, A., Mashayekhi, M. R., Letourneur, D., Crepin, M., & Pavon-Djavid, G. (2020). The conundrum of dietary antioxidants in cancer chemotherapy. *Nutrition Reviews*, 78(1), 65-76.
- Jung, A. Y., Cai, X., Thoene, K., Obi, N., Jaskulski, S., Behrens, S., ... & Chang-Claude, J. (2019). Antioxidant supplementation and breast cancer prognosis in postmenopausal women undergoing chemotherapy and radiation therapy. *The American journal of clinical nutrition*, 109(1), 69-78.
- Keskin, C., Aras, İO, Baran, MF, Baran, A., Topgider, Ö., Asyali, Ş, Bilici, E. (2025). Investigation of Antimicrobial, Anticholinesterase Activities, and Phenolic Contents of Extracts Obtained from *Prunus cerasus* (Sour Cherry) Fruit. *MAS JAPS* 10(3): 588-599.
- La, X., Zhang, L., Li, Z., Li, H., & Yang, Y. (2019). (-)-Epigallocatechin Gallate (EGCG) enhances the sensitivity of colorectal cancer cells to 5-FU by inhibiting GRP78/NF-κB/miR-155-5p/MDR1 pathway. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(9), 2510-2518.
- Lee, S. J., Jeong, J. H., Lee, I. H., Lee, J., Jung, J. H., Park, H. Y., ... & Chae, Y. S. (2019). Effect of high-dose vitamin C combined with anti-cancer treatment on breast cancer cells. *Anticancer research*, 39(2), 751-758.

- Lei, C. S., Hou, Y. C., Pai, M. H., Lin, M. T., & Yeh, S. L. (2018). Effects of quercetin combined with anticancer drugs on metastasis-associated factors of gastric cancer cells: in vitro and in vivo studies. *The Journal of nutritional biochemistry*, 51, 105-113.
- Li, J., Xiang, Q., Wang, M., Zhang, H., & Liang, R. (2021). All-Trans Retinoic Acid Enhances Chemosensitivity to 5-FU by Targeting miR-378c/E2F7 Axis in Colorectal Cancer. *Journal of oncology*, 2021(1), 5338934.
- Li, L., Ahmed, B., Mehta, K., & Kurzrock, R. (2007). Liposomal curcumin with and without oxaliplatin: effects on cell growth, apoptosis, and angiogenesis in colorectal cancer. *Molecular cancer therapeutics*, 6(4), 1276-1282.
- Liu, M., Chen, X., Chen, H., Wu, X., Fan, W., & Chen, J. (2022). Nanotechnology-based drug delivery system for anticancer active ingredients from traditional Chinese medicines: A review. *The American journal of Chinese medicine*, 50(08), 2011-2032.
- Liu, Y. E., Wu, G., Feng, L., Li, J., Xia, Y., Guo, W., & Zhao, K. (2025). Harnessing Antioxidants in Cancer Therapy: Opportunities, Challenges, and Future Directions. *Antioxidants*, 14(6), 674.
- Liu, Y., Shen, Z., Zhu, T., Lu, W., & Fu, Y. (2023). Curcumin enhances the anti-cancer efficacy of paclitaxel in ovarian cancer by regulating the miR-9-5p/BRCA1 axis. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 1014933.
- Lomeli, N., Pearre, D. C., Lepe, J., Argueta, D. A., Arellano, M. A., Ricks-Oddie, J. L., ... & Bota, D. A. (2025). N-acetylcysteine prevents cisplatin-induced cognitive impairments in an ovarian cancer rat model. *Cancer letters*, 611, 217405.
- Mahbub, A. A., Le Maitre, C. L., Cross, N. A., & Jordan-Mahy, N. (2022). The effect of apigenin and chemotherapy combination treatments on apoptosis-related genes and proteins in acute leukaemia cell lines. *Scientific Reports*, 12(1), 8858.
- Majumder, D., Nath, P., Debnath, R., & Maiti, D. (2021). Understanding the complicated relationship between antioxidants and carcinogenesis. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 35(2), e22643.
- Miura, K., Kinouchi, M., Ishida, K., Fujibuchi, W., Naitoh, T., Ogawa, H., ... & Sasaki, I. (2010). 5-fu metabolism in cancer and orally-administrable 5-fu drugs. *Cancers*, 2(3), 1717-1730.

- Nakagawa, T., Shimizu, M., Shirakami, Y., Tatebe, H., Yasuda, I., Tsurumi, H., & Moriwaki, H. (2009). Synergistic effects of acyclic retinoid and gemcitabine on growth inhibition in pancreatic cancer cells. *Cancer letters*, 273(2), 250-256.
- Olas, B., Wachowicz, B., Majsterek, I., Blasiak, J., Stochmal, A., & Oleszek, W. (2006). Antioxidant properties of trans-3, 3', 5, 5'-tetrahydroxy-4'-methoxystilbene against modification of variety of biomolecules in human blood cells treated with platinum compounds. *Nutrition*, 22(11-12), 1202-1209.
- Perumal, S. S., Shanthi, P., & Sachdanandam, P. (2005). Combined efficacy of tamoxifen and coenzyme Q10 on the status of lipid peroxidation and antioxidants in DMBA induced breast cancer. *Molecular and cellular biochemistry*, 273(1), 151-160.
- Samuel, T., Fadlalla, K., Turner, T., & Yehualaeshet, T. E. (2010). The flavonoid quercetin transiently inhibits the activity of taxol and nocodazole through interference with the cell cycle. *Nutrition and cancer*, 62(8), 1025-1035.
- Shabaan, D. A., Mostafa, N., El-Desoky, M. M., & Arafat, E. A. (2023). Coenzyme Q10 protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy via antioxidant and anti-apoptotic pathway. *Tissue Barriers*, 11(1), 2019504.
- Sheu, M. T., Jhan, H. J., Hsieh, C. M., Wang, C. J., & Ho, H. O. (2015). Efficacy of antioxidants as a complementary and alternative medicine (CAM) in combination with the chemotherapeutic agent doxorubicin. *Integrative Cancer Therapies*, 14(2), 184-195.
- Shen, J., Tai, Y. C., Zhou, J., Wong, C. H. S., Cheang, P. T. S., Wong, W. S. F., ... & Chen, C. S. (2007). Synergistic antileukemia effect of genistein and chemotherapy in mouse xenograft model and potential mechanism through MAPK signaling. *Experimental hematology*, 35(1), 75-e1.
- Shakibaei, M., Kraehe, P., Popper, B., Shayan, P., Goel, A., & Buhrmann, C. (2015). Curcumin potentiates antitumor activity of 5-fluorouracil in a 3D alginate tumor microenvironment of colorectal cancer. *BMC cancer*, 15(1), 250.
- Singh, K., Malviya, A., Bhoori, M., & Marar, T. (2012). An in vitro study of the ameliorative role of α -tocopherol on methotrexate-induced oxidative

- stress in rat heart mitochondria. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 23(4), 163-168.
- Škubník, J., Pavlíčková, V. S., Ruml, T., & Rimpelova, S. (2021). Vincristine in combination therapy of cancer: emerging trends in clinics. *Biology*, 10(9), 849.
- Suhail, N., Bilal, N., Khan, H. Y., Hasan, S., Sharma, S., Khan, F., ... & Banu, N. (2012). Effect of vitamins C and E on antioxidant status of breast-cancer patients undergoing chemotherapy. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 37(1), 22-26.
- Taheri, D., Ghajar, H. A., Mirzaei, A., Mashhadi, R., Dougaheh, S. N. H., Bahri, R. A., ... & Aghamir, S. M. K. (2024). Resveratrol enhances sensitivity of renal cell carcinoma to tivozanib: An in-vitro study. *Tissue and Cell*, 91, 102584.
- Whitworth, J. M., Londoño-Joshi, A. I., Sellers, J. C., Oliver, P. J., Muccio, D. D., Atigadda, V. R., ... & Buchsbaum, D. J. (2012). The impact of novel retinoids in combination with platinum chemotherapy on ovarian cancer stem cells. *Gynecologic oncology*, 125(1), 226-230.
- Xavier, C. P., Lima, C. F., Rohde, M., & Pereira-Wilson, C. (2011). Quercetin enhances 5-fluorouracil-induced apoptosis in MSI colorectal cancer cells through p53 modulation. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 68(6), 1449-1457.
- Zaki, S. M., Mohamed, E. A., Motawie, A. G., & Fattah, S. A. (2018). N-acetylcysteine versus progesterone on the cisplatin-induced peripheral neurotoxicity. *Folia morphologica*, 77(2), 234-245.
- Zavala-Valencia, A. C., Velasco-Hidalgo, L., Martínez-Avalos, A., Castillejos-López, M., & Torres-Espíndola, L. M. (2024). Effect of N-acetylcysteine on cisplatin toxicity: A review of the literature. *Biologics: targets and therapy*, 7-19.

BÖLÜM 7

KANSER KÖK HÜCRELERİNİN PROLİFERASYON VE DİFERANSİYASYON DİNAMİKLERİ

Hatice ÖZDEMİR¹, Ulas Evren ARIN²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213141>

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi Biyomühendislik ABD, htcozdemir06@gmail.com, orcid id: 0009-0003-8174-0317,

² Suleyman Demirel University, Isparta Health Services Vocational High School, Anesthesia Department, orcid id: 0000-0002-6800-9226

Giriş

Döllenmiş bir yumurtadan etkileyici ve karmaşık bir süreç sonucunda hücreler, zamanla özel işlevler ve şekiller kazanır; ardından birleşerek düzenli yapılar, dokular ve organlar oluşturarak muhteşem bir organizma oluşur.

Hücre döngüsü ve hücresel farklılaşma, canlı organizmaların büyümesi, gelişimi, doku yenilenmesi ve homeostazisinin temelini oluşturan karmaşık biyolojik süreçlerdir.

Hücre döngüsü iki ana bölümden oluşur.

- **İnterfaz:** Hücre bölünmesine hazırlık evresi olarak adlandırılan bu evre 3 fazdan oluşur. Hücre bölünmesinin %90 'ının tamamlandığı fazdır.
- **G1 Fazı:** Hücrenin büyüdüğü, protein sentezlediği bölünmeye hazırlandığı fazdır.
- **S Fazı:** Protein sentezinin devam ettiği ve DNA replikasyonu ile DNA miktarının iki katına çıktığı fazdır.
- **G2 Fazı:** Mitoza hazırlık evresidir. Mitoz için gerekli proteinlerin sentezlendiği ve hücrenin iyice büyüdüğü fazdır.

Mitoz: İki yeni hücrenin oluştuğu, çekirdek bölünmesi (karyokinez) ve sitoplazmik bölünme (sitokinez) 'nin gerçekleştiği fazdır. 4 fazdan oluşur.

- **Profaz:** Kromatin iplikleri yoğunlaşıp kromozom halini alır. Sentioller kutuplara gider ve iğ iplikleri oluşur.
- **Metafaz:** İğ iplikleri, her bir kardeş kromatidin sentromerindeki kinetokorlara bağlanır. Kromozomlar, hücrenin tam ortasında ekvator düzlemine dizilir.
- **Anafaz:** Kardeş kromatitler birbirinden ayrılır ve iğ iplikleri kısalır ve kromozomları zıt kutuplara çeker. Böylelikle her bir kutupta eşit ve tam bir kromozom seti oluşur.
- **Telofaz:** İğ iplikleri kaybolur, Kromozomlar tekrar kromatin haline gelir, çekirdek zarı ve çekirdekçik yeniden oluşur.
- **Sitokinez:** Sitoplazma bölünmesi gerçekleşir ve iki yavru hücre oluşur (1,2,3,4).

Hücre döngüsünün kontrolü hayati bir öneme sahiptir bu yüzden hücre döngüsünün doğru bir şekilde ilerleyip ilerlemediğini kontrol eden kontrol noktaları bulunur. Kontrol noktaları hücrenin bölünmeye devam edip

etmeyeceğinin karar verildiği noktalar. Hücre döngüsünün düzenlenmesi ve kontrolü, siklinler ve siklin bağımlı kinazlar (CDK'lar) gibi çekirdek proteinlerini aktive eden veya devre dışı bırakan sinyal yolları aracılığıyla çalışır (5).

CDK (Siklin bağımlı kinazlar)'lar hücre döngüsü esnasında inaktif şekilde sürekli olarak bulunurlar. Siklin proteinine bağlanarak fosforile olurlar ve aktif hale gelirler. Siklinler; CDK'ları aktive etmek için hücre döngüsünün belirli evrelerinde sentezlenirler. Görevlerini tamamladıktan sonra siklin düzeyi düşer (4,5).

Başlıca Kontrol Noktaları

G1 Kontrol Noktası (G1/S Geçişi): Hücrenin bölünme kararını verdiği ana noktadır.

Hücrenin yeteri büyüklüğe ulaşmış olup olmadığı, yeterli besin kaynağına sahip olup olmadığı ve DNA hasarının olup olmadığı kontrol edilir. Hücre bu koşulları sağlamıyorsa G0 evresi denilen dinlenme aşamasına geçer ve bu evrede yıllarca kalabilir. Hücre bölünmesi başlamaz (3,4).

Siklin D-CDK4 ile kompleks oluşturur. Bu enzim G1 kontrol noktasında görev yapar (6,7).

G2 kontrol noktası (G2/M Geçişi): DNA replikasyonunun gerçekleşip gerçekleşmediği ve DNA 'da hata olup olmadığı kontrol edilir ve böylelikle hasarlı DNA 'nın aktarılması engellenmiş olur. Tespit edilen hata olursa hücre onarım için durur eğer onarılamazsa hücre apoptoza uğrar (4,5). Siklin E-CDK2 ile kompleks oluşturur bu kompleks hücrelerin S fazında ilerleyebilmesini ve DNA'nın kopyalanmasını kontrol eder. CDK2 Siklin A ile kompleks oluşturarak G2/M fazı geçişine izin verir (8,9).

M Kontrol noktası (metefaz/Anafaz geçişi): Kardeş kromatitlerin mitoz sırasında iğ ipliklerine doğru bir şekilde bağlanıp bağlanmadığını kontrol eder. Böylece genetik materyalin eşit dağılımı sağlanır (4,5).

Siklin B CDK1 ile kompleks oluşturur ve mitozun düzgün bir şekilde ilerlemesini sağlar (8,9).

Hücre farklılaşması, genetik olarak aynı DNA'ya sahip hücrelerin, gen ekspresyonundaki düzenlemeler sayesinde yapı, işlev ve morfoloji açısından özelleşmiş hücre tiplerine dönüşmesi sürecidir ve embriyonik gelişimden doku

onarımına kadar birçok biyolojik olayda merkezi bir rol oynar (10). Bu farklılaşmayı etkileyen çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır.

Hücre Farklılaşmasının Mekanizmaları

- Transkripsiyon Faktörleri:** Bu proteinler, genlerin transkripsiyonunu düzenleyerek hücre kaderini belirlemede kritik rol oynar. Örneğin, kök hücrelerin farklılaşmasını yönlendiren veya farklılaşmış hücrelerin kimliğini koruyan spesifik transkripsiyon faktörleri bulunur (10).
- Epigenetik Düzenlemeler:** DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kromatin yeniden şekillenmesi gibi epigenetik mekanizmalar, gen ekspresyonunu etkileyerek hücre farklılaşmasında önemli rol oynar. Bu değişiklikler, genetik diziyi değiştirmeden genlerin aktivitesini kalıcı olarak etkileyebilir (11).

Hücre-Hücre Etkileşimleri ve Mikroçevre: Hücrelerin birbirleriyle ve çevrelerindeki ekstraselüler matrisle olan etkileşimleri, farklılaşma süreçlerini güçlü bir şekilde etkiler. Kök hücre nişi olarak bilinen özel mikroçevreler, kök hücrelerin kendi kendini yenileme ve farklılaşma potansiyelini düzenler (12).

Sinyal İletim Yolları: Notch, Wnt, Hedgehog ve TGF- β gibi sinyal iletim yolları, hücre farklılaşmasını düzenleyen temel mekanizmalardır. Bu yollar, hücre dışından gelen sinyalleri hücre içine ileterek gen ekspresyonunu ve hücre davranışını değiştirir (13).

CSC'lerde proliferasyon belirteçleri

Kanser kök hücreleri (KKH), tümör dokusu içindeki küçük bir hücre popülasyonudur. Kendini yenileme ve çok yönlü farklılaşma kapasitesine sahip hücrelerdir. Bu hücreler, tümörün başlangıcında, progresyonunda ve heterojenitesinin sürdürülmesinde kritik rol oynar. Ayrıca kemoterapi ve radyoterapiye karşı direnç geliştirme özellikleri nedeniyle tümör nüksü ve metastaz süreçlerinin temel belirleyicileri arasında kabul edilmektedir (11,12).

Tümörlerdeki kanser kök hücrelerini tespit etmenin en etkili yöntemi belirteçler kullanmaktır. Hücresel dağılımlarına göre, kök hücre belirteçleri, hücre içi belirteçler ve hücre yüzeyi belirteçleri olarak sınıflandırılabilir. Hücre içi belirteçler, çekirdekte işlev gören transkripsiyon faktörleri ve sitoplazmada bulunan belirteçleri içerir (14,15).

Yaygın Olarak Kullanılan Proliferasyon Belirteçleri

Ki-67: Nükleer protein olan ki-67, hücre döngüsünün G1, S, G2 ve M fazlarında eksprese edilirken G0 fazındaki durgun hücrelerde bulunmaz. Bu özelliğinden dolayı tümörde aktif bulunan hücrelerin oranını gösteren bir proliferasyon indeksi olarak kullanılır (16). İmmünohistokimyasal boyama ile birçok kanser türünde prognostik ve prediktif bir belirteç olarak kullanılır. Özellikle meme kanseri, prostat kanseri, lenfoma ve glioblastoma gibi kanserlerde kullanılır.

PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen): Hücre döngüsünün S fazında yüksek oranda eksprese edilir DNA replikasyonunda önemli bir rol oynayan bir proteindir. Hücre proliferasyonunun bir göstergesi olarak kullanılır (17).

Cyclin D1: Siklin D1, hücre döngüsünün G1 fazından S fazına geçişini düzenleyen önemli bir siklidir. Kanser kök hücrelerinde yüksek Siklin D1 ekspresyonu, artan proliferasyon ile ilişkilendirilmiştir (18).

Topoisomerase II α (TopoII α): DNA replikasyonu ve transkripsiyonu sırasında DNA'nın süper kıvrılmasını düzenleyen bir enzimdir. TopoII α , hücre döngüsünün G2 ve M fazlarında yüksek oranda eksprese edilir ve proliferasyon belirteci olarak kullanılabilir (19).

CD133: Bir hücre yüzeyi glikoproteini olan CD133, birçok kanser türünde CSC popülasyonlarının tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan bir belirteçtir. CD133 pozitif hücrelerin, tümör başlatma ve proliferasyon yeteneklerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (20). Glioblastom gibi beyin tümörlerinde ve kolon, pankreas gibi solid tümörlerde sıklıkla çalışılır (17).

ALDH1 (Aldehit Dehidrogenaz 1): ALDH1, detoksifikasyon süreçlerinde rol oynayan bir enzimdir. Hem yüzeysel hem enzimatik bir belirteçtir. CSC'lerde yüksek ALDH enzimi aktivitesi, kendini yenileme ve dirençli hücre alt popülasyonlarının belirlenmesinde önemli bir kriterdir. Özellikle beyin ve meme tümörlerinde kullanılan bir belirteçtir (17, 21).

CD44: Hücre adezyon, göç ve sinyal iletiminde görev alan bir yüzey glikoproteindir. Meme, kolon ve pankreas kanserleri gibi çeşitli kanser türlerinde CSC izolasyonunda kullanılan temel belirteçlerden biridir (17,22).

EpCAM (CD326/TRO P-1): Epitelyal hücre adezyon molekülü olup, özellikle epitel kökenli tümörlerde CSC izolasyonunda kullanılır (21).

OCT4, SOX2, NANO: Embriyonik kök hücrelerin pluripotensi ve kendini yenileme yeteneğiyle ilişkilidir; bu faktörler, CSC fenotipinde de önemli roller oynar (21).

G9a: Bir histon metiltransferaz enzimidir. CSC'lerin kendi kendini yenileme ve proliferasyonunu düzenleyen epigenetik mekanizmalarda rol oynar. Akciğer, Kolorektal ve over kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde kullanılır (23).

MYC: Hücre proliferasyon ve CSC davranışıyla bağlantılı bir onkogen transkripsiyon faktörüdür. Karaciğer, Pankreas gibi çeşitli kanser türlerinde kullanılır (24).

LGR5 (Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5): Özellikle kolorektal kanserlerde CSC belirteci olarak tanımlanmıştır ve bu hücrelerin kendi kendini yenileme ve proliferasyon yetenekleriyle ilişkilidir (25).

Diferansiyasyon sürecinin doku düzeyinde izlenmesi

KKH'ler, normal kök hücreler gibi, farklılaşma potansiyeline sahiptirler ve tümör içindeki çeşitli hücre tiplerine dönüşebilirler. Kanser kök hücrelerinin (KKH) diferansiyasyonu, tümör heterojenitesinin ve tedavi direncinin anlaşılmasında kritik bir süreçtir. Bu diferansiyasyon süreci, karmaşık moleküler mekanizmalar tarafından düzenlenir ve gen ekspresyonundaki değişiklikler, sinyal iletim yolları ve epigenetik modifikasyonlar bu süreçte önemli rol oynar (26).

Gen Ekspresyonu Düzenlemesi: KKH diferansiyasyonunda, belirli genlerin aktivasyonu veya baskılanması esastır. Örneğin, kök hücre özelliklerini koruyan (stemness) genler (örneğin, Oct4, Sox2, Nanog) diferansiyasyon sırasında baskılanırken, farklılaşmış hücre tiplerine özgü genler aktive olur. Bu genetik programlama, transkripsiyon faktörleri ve mikro RNA'lar gibi düzenleyici moleküller tarafından kontrol edilir (27).

Sinyal İletim Yolları: Wnt, Notch, Hedgehog ve TGF- β gibi sinyal iletim yolları, KKH diferansiyasyonunun anahtar düzenleyicileridir. Bu yollar, hücre dışından gelen sinyalleri hücre içine ileterek gen ekspresyonunu ve hücre kaderini etkiler. Örneğin, Wnt sinyal yolu genellikle KKH'lerin kendi kendini yenilemesini desteklerken, bazı durumlarda diferansiyasyonu da tetikleyebilir.

Notch sinyal yolu ise hücre kaderi belirlemede ve farklılaşmada önemli bir rol oynar (28).

Epigenetik Modifikasyonlar: DNA metilasyonu, histon asetilasyonu/deasetilasyonu ve kromatin yeniden şekillenmesi gibi epigenetik değişiklikler, gen ekspresyonunu etkileyerek KKH diferansiyasyonunu düzenler. Bu modifikasyonlar, genetik diziyi değiştirmeden genlerin erişilebilirliğini ve aktivitesini etkileyebilir. Epigenetik düzenleyiciler, KKH'lerin plastisitesini ve farklılaşma potansiyelini korumalarında veya kaybetmelerinde kritik rol oynar (28).

Doku Düzeyinde Diferansiyasyon İzleme Yöntemleri

KKH diferansiyasyonunu doku düzeyinde izlemek, tümör heterojenitesini anlamak ve tedavi stratejilerini geliştirmek için hayati öneme sahiptir. Bu amaçla çeşitli moleküler ve hücresel teknikler kullanılmaktadır:

- İmmünohistokimya (İHK):** Bu teknik, doku kesitlerinde spesifik proteinlerin varlığını ve lokalizasyonunu belirlemek için antikorları kullanır. KKH belirteçleri (örneğin, CD133, CD44, ALDH1) ve farklılaşma belirteçleri (örneğin, sitokeratinler, vimentin) İHK ile tespit edilerek KKH popülasyonunun ve farklılaşma durumunun değerlendirilmesi sağlanır. Bu yöntem, tümör dokusundaki KKH dağılımını ve morfolojik özelliklerini görselleştirmek için yaygın olarak kullanılır (29).
- Flow Sitometri:** Bu teknik, hücre süspansiyonlarındaki hücreleri tek tek analiz ederek, hücre yüzey belirteçlerinin ekspresyonuna göre farklı hücre popülasyonlarını ayırmayı ve saymayı sağlar. KKH'ler, spesifik yüzey belirteçlerinin (örneğin, CD133+, CD44+, ALDHhigh) ekspresyonuna göre diğer tümör hücrelerinden ayrılabilir. Flow sitometri, KKH popülasyonunun kantitatif analizini ve farklılaşma durumlarının izlenmesini mümkün kılar (29).
- Gerçek Zamanlı PCR (RT-PCR):** Bu moleküler teknik, belirli genlerin mRNA ekspresyon seviyelerini ölçerek KKH belirteçlerinin veya farklılaşma ile ilişkili genlerin aktivitesini değerlendirir. RT-PCR, KKH'lerin farklılaşma potansiyelini ve genetik programlamadaki değişiklikleri moleküler düzeyde izlemek için kullanılır (29).

- Western Blot:** Bu teknik, hücre veya doku lizatlarında spesifik proteinlerin varlığını ve miktarını belirlemek için kullanılır. KKH belirtiçleri veya farklılaşma ile ilişkili proteinlerin ekspresyon seviyeleri Western blot ile analiz edilerek diferansiyasyon sürecindeki protein düzeyindeki değişiklikler izlenebilir (30).
- In Vitro Diferansiyasyon Deneyleri:** KKH'ler, laboratuvar ortamında (in vitro) farklılaşmaya zorlanarak diferansiyasyon potansiyelleri değerlendirilebilir. Örneğin, KKH'ler, spesifik büyüme faktörleri veya kimyasal ajanlarla muamele edilerek adipojenik, osteojenik veya kondrojenik farklılaşma yönünde indüklenebilir. Bu deneyler, KKH'lerin plastisitesini ve farklılaşma kapasitesini anlamak için önemlidir (31).

KKH Diferansiyasyonunun Tümör Heterojenitesine Etkisi

Tümör heterojenitesi, bir tümör içindeki hücre popülasyonlarının genetik, epigenetik ve fenotipik farklılıklarını ifade eder. KKH diferansiyasyonu, bu heterojenitenin temelini oluşturan önemli bir faktördür. KKH'ler, farklılaşarak çeşitli tümör hücre tiplerini oluşturabilir ve bu da tümör içinde farklı proliferasyon hızlarına, tedavi yanıtlarına ve metastatik potansiyellere sahip alt popülasyonların ortaya çıkmasına neden olur (32).

Bu heterojenite, kanser tedavisini karmaşık hale getirir, çünkü tek bir tedavi stratejisi tümördeki farklı hücre popülasyonlarını etkili bir şekilde hedefleyemeyebilir. KKH diferansiyasyonunun anlaşılması, tümör heterojenitesini azaltmaya veya farklılaşmış hücreleri tedaviye daha duyarlı hale getirmeye yönelik yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak tanır (32). Diferansiyasyon ajanları, KKH'lerin kendi kendini yenileme kapasitesini azaltabilir ve onları terminal farklılaşmaya yönlendirerek tümör büyümesini durdurabilir (3).

Örneğin, akut promyelositik lösemide (APL) kullanılan all-trans retinoik asit (ATRA), lösemik hücreleri farklılaşmaya zorlayarak hastalığın tedavisinde devrim yaratmıştır. Benzer şekilde, diğer kanser türlerinde de KKH'leri farklılaşmaya yönlendirecek yeni ajanlar araştırılmaktadır (33).

KAYNAKÇA

- 1.) Campbell, Reece Biyoloji 6. Baskı
- 2.) Khan, Y. S., & Farhana, A. Histology, Cell. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. (2025).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK554382/>
- 3.) Cadabak H. Hücre Siklusu ve Kanser. ADÜTıp Fakültesi Dergisi 2008; 9(3) : 51- 61
- 4.) Aktuğ H. Apoptosis and cell cycle, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye 2014;53(1):60-64
- 5.) Pellarin, I., Dall’Acqua, A., Favero, A., Segatto, I., Rossi, V., Crestan, N., ... & Baldassarre, G. Cyclin-dependent protein kinases and cell cycle regulation in biology and disease. Signal Transduction and Targeted Therapy, (2025). 10(1), 1-19. <https://www.nature.com/articles/s41392-024-02080-z>
- 6.) Liu J, Peng Y, Wei W. Cell cycle on the crossroad of tumorigenesis and cancer therapy. Trends Cell Biol. 2022 Jan;32(1):30-44. doi: 10.1016/j.tcb.2021.07.001. Epub 2021 Jul 22. PMID: 34304958; PMCID: PMC8688170.
- 7.) Golias CH, Charalabopoulos A, Charalabopoulos K. Cell proliferation and cell cycle control: A mini review. Clin Pract 2004;58(12):1134-41.
- 8.) Senderowicz AM, Sausville EA. Preclinical and clinical development of cyclin-dependent kinase modulators. J Natl Cancer Inst 2000;92(5):376-87.
- 9.) Liu L, Michowski W, Kolodziejczyk A, Sicinski P. The cell cycle in stem cell proliferation, pluripotency and differentiation. Nat Cell Biol. 2019 Sep;21(9):1060-1067. doi: 10.1038/s41556-019-0384-4. Epub 2019 Sep 2. PMID: 31481793; PMCID: PMC7065707.
- 10.) Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. *Molecular Biology of the Cell* (6th ed.). (2015). New York: Garland Science.
- 11.) Victor C.L. and Kirschner M.W. Molecular ties between the cell cycle and differentiation in embryonic stem cells Contributed by Marc W. Kirschner, June 16, 2014
111 (26) 9503-9508 <https://doi.org/10.1073/pnas.1408638111>

- 12.) Myster D.L. and Duronio R.J. Cell cycle: To differentiate or not to differentiate? *Current Biology* 2000, 10:R302–R304 [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00435-8](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00435-8)
- 13.) Ruijtenberg S, van den Heuvel S. Coordinating cell proliferation and differentiation: Antagonism between cell cycle regulators and cell type-specific gene expression. *Cell Cycle*. 2016;15(2):196-212. doi: 10.1080/15384101.2015.1120925. PMID: 26825227; PMCID: PMC4825819.
- 14.) Herreros-Pomares A. Identification, Culture and Targeting of Cancer Stem Cells. *Life (Basel)*. 2022 Jan 27;12(2):184. doi: 10.3390/life12020184. PMID: 35207472; PMCID: PMC8879966.
- 15.) Ayla Ş., Öktem G., Tanrıverdi G., Biliri A. Kanser Kök Hücreleri Zeynep Kamil Kadın Hastalıkları ve Doğum EAH, Tüp Bebek Bölümü Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD. 2013
- 16.) Li LT, Jiang G, Chen Q, Zheng JN. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer (review). *Mol Med Rep*. 2015 Mar;11(3):1566-72. doi: 10.3892/mmr.2014.2914. Epub 2014 Nov 10. PMID: 25384676.
- 17.) Fábíán Á, Vereb G, Szöllösi J. The hitchhikers guide to cancer stem cell theory: markers, pathways and therapy. *Cytometry A*. 2013 Jan;83(1):62-71. doi: 10.1002/cyto.a.22206. Epub 2012 Sep 20. PMID: 22997049.
- 18.) Lamb R, Lehn S, Rogerson L, Clarke RB, Landberg G. Cell cycle regulators cyclin D1 and CDK4/6 have estrogen receptor-dependent divergent functions in breast cancer migration and stem cell-like activity. *Cell Cycle*. 2013 Aug 1;12(15):2384-94. doi: 10.4161/cc.25403. Epub 2013 Jun 26. PMID: 23839043; PMCID: PMC3841318.
- 19.) Cardenas ME, Gasser SM. Regulation of topoisomerase II by phosphorylation: a role for casein kinase II. *J Cell Sci*. 1993 Feb;104 (Pt 2):219-25. doi: 10.1242/jcs.104.2.219. PMID: 8389373.
- 20.) Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, Dirks PB. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res*. 2003 Sep 15;63(18):5821-8. PMID: 14522905.

- 21.) Rhodes PM. A Guide to Cancer Stem Cell Markers An overview of proteins for identifying cancer stem cells. ShareBlueskyReddit. March 16, 2022
- 22.) Al-Hajj M., Wicha M.S, Benito-Hernandez A., Morrison S.J., Clarke M.F. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. Affiliations Expand PMID: 12629218 PMCID: PMC153034 DOI: 10.1073/pnas.0530291100
- 23.) Pangen R.P., Yang L., Zhang K., Wang J., Li W., Guo C., Yun X., Sun T., Wang J. and Raz D.J. G9a regulates tumorigenicity and stemness through genome-wide DNA methylation reprogramming in non-small cell lung cancer Pangen et al. Clinical Epigenetics (2020) 12:88 <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00879-5>
- 24.) Akita H, Marquardt JU, Durkin ME, Kitade M, Seo D, Conner EA, Andersen JB, Factor VM, Thorgerirsson SS. MYC activates stem-like cell potential in hepatocarcinoma by a p53-dependent mechanism. Cancer Res. 2014 Oct 15;74(20):5903-13. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0527. Epub 2014 Sep 4. PMID: 25189530; PMCID: PMC4199878.
- 25.) Barker N, van Es JH, Kuipers J, Kujala P, van den Born M, Cozijnsen M, Haegebarth A, Korving J, Begthel H, Peters PJ, Clevers H. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. Nature. 2007 Oct 25;449(7165):1003-7. doi: 10.1038/nature06196. Epub 2007 Oct 14. PMID: 17934449.
- 26.) Kim W, Park E, Yoo HS, Park J, Jung YM, Park JH. Recent Advances in Monitoring Stem Cell Status and Differentiation Using Nano-Biosensing Technologies. Nanomaterials (Basel). 2022 Aug 25;12(17):2934. doi: 10.3390/nano12172934. PMID: 36079970; PMCID: PMC9457759.
- 27.) Li Z., Liu C., Xie Z., Song P., Zhao RCH et Al Epigenetic Dysregulation in Mesenchymal Stem Cell Aging and Spontaneous Differentiation. (2011) PLoSBiR 6(6): e20526. doi:10.1371/journal.pone.0020526
- 28.) Teven CM, Liu X, Hu N, Tang N, Kim SH, Huang E, Yang K, Li M, Gao JL, Liu H, Natale RB, Luther G, Luo Q, Wang L, Rames R, Bi Y, Luo J, Luu HH, Haydon RC, Reid RR, He TC. Epigenetic regulation of mesenchymal stem cells: a focus on osteogenic and adipogenic differentiation. Stem Cells Int. 2011;2011:201371. doi: 10.4061/2011/201371. Epub 2011 Jul 11. PMID: 21772852; PMCID: PMC3137957.

- 29.) Nayak A, Warriar NM, Kumar P. Cancer Stem Cells and the Tumor Microenvironment Targeting the Critical Crosstalk through Nanocarrier Systems. *Stem Cells Reviews and Reports* (2022) 18:2209–2233 <https://doi.org/10.1007/s12015-022-10426-9>
- 30.) Üstüner D. TÜMÖR HÜCRELERİNDE WESTERN BLOTLAMA UYGULAMALARI. *TÜBAV BİLİM DERGİSİ*. Yıl: 2010, Cilt:3, Sayı:4, Sayfa:330-334
- 31.) Holtzer H., Weintraub H., Mayne R., Mochan B. Chapter 6 The Cell Cycle, Cell Lineages, and Cell Differentiation. [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(08\)60073-3](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(08)60073-3)
- 32.) Chu X., Tian1 W., Ning J., Xiao G., Zhou Y., Wang Z., Zhai Z., Tanzhu G., Yang J. and Zhou R. Cancer stem cells: advances in knowledge and implications for cancer therapy (2024) <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01851-y>
- 33.) Kang, M.J., Cho, Y.W., & Kim, T.H. Progress in Nano-Biosensors for Non-Invasive Monitoring of Stem Cell Differentiation. (2023). *Biosensors*, 13(5), 501. <https://doi.org/10.3390/bios13050501>

BÖLÜM 8

KANSERDE HİSTOPATOLOJİK TANI VE KANSER KÖK HÜCRELERİ

Melike ALTINTAŞ KORKMAZ¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213153>

¹ Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Patoloji
Doktorant melikealtintas12345@gmail.com, orcid id: 0000-0002-5385-4611

Onkolojik patoloji, kanserin mikroskopik düzeyde incelenerek kesin tanısının konulması, sınıflandırılması, evrelendirilmesi ve prognostik faktörlerin belirlenmesi süreçlerini kapsayan temel bir tıp disiplini (Molina-Peña ve ark, 2012). Cerrahi radyasyon ve kemoterapi dahil olmak üzere tanı ve tedavi stratejilerindeki ilerlemelere rağmen yeni daha etkili ve daha az toksik kanser önleyici ajanların geliştirilmesi kritik bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir (Bilici ve ark, 2025). Geleneksel histopatolojik değerlendirme, tümör hücrelerinin morfolojik özelliklerine, doku mimarisine ve diferansiyasyon derecesine odaklanarak kanserin doğası hakkında paha biçilmez bilgiler sunar. Ancak son yirmi yılda, kanser biyolojisine dair anlayışımızda devrim niteliğinde bir paradigma değişimi yaşanmıştır: Kanser Kök Hücre (KKH) hipotezi. Bu hipotez, tümörlerin sadece kontrolsüz çoğalan homojen bir hücre kitlesi olmadığını, aksine normal dokulara benzer şekilde hiyerarşik bir yapıya sahip olduğunu ve bu hiyerarşinin en tepesinde, tümörün büyümesini, yayılmasını ve tedaviye direncini yöneten küçük bir hücre popülasyonunun bulunduğunu öne sürmektedir (Joshi ve ark., 2025).

9.1 Kanser Kök Hücre Hipotezi ve Klinik Önemi

Kanser biyolojisinin temel taşlarından biri olan tümör heterojenitesi, yani bir tümör içindeki hücrelerin morfolojik, genetik ve fonksiyonel olarak birbirinden farklı olması, uzun yıllardır bilinmektedir. Kanser küresel bir sağlık sorunu olmaya devam etmesiyle mücadelede, yeni hedefli ve düşük toksisiteli terapötik ajanların geliştirilmesi hayati önem taşımaktadır (Bilici ve Akkoç, 2025). Bu heterojenliği açıklamak için iki ana model öne sürülmüştür. Bu modellerin anlaşılması, KKH hipotezinin getirdiği yenilikçi bakış açısını kavramak için elzemdir.

Geleneksel olarak kabul gören Stokastik (Kökensel Evrim) Model, bir tümördeki her kanser hücresinin potansiyel olarak tümör başlatma kapasitesine sahip olduğunu varsayar. Bu modele göre, tümör heterojenitesi, kanser hücrelerinin zamanla rastgele genetik ve epigenetik değişiklikler biriktirmesi ve bu değişikliklerin Darwinci bir seçim sürecinden geçmesiyle ortaya çıkar (Calabrese ve ark., 2004). En uygun (en hızlı çoğalan, tedaviye en dirençli) klonlar zamanla baskın hale gelir. Bu modelde, tümör içindeki hücreler arasında işlevsel bir hiyerarşi bulunmaz; her hücre, uygun koşullar altında yeni bir tümör oluşturma potansiyeline sahiptir.

Buna karşılık, son yıllarda giderek daha fazla kanıtla desteklenen Hiyerarşik Model veya Kanser Kök Hücre (KKH) Modeli, tümörlerin normal dokular gibi hiyerarşik bir düzende organize olduğunu öne sürer (Calabrese ve ark., 2004). Bu modele göre, tümör kitlesinin yalnızca küçük bir alt popülasyonu, yani KKH'ler, tümörün uzun süreli büyümesini ve idamesini sağlama kapasitesine sahiptir. KKH'ler, hiyerarşinin en tepesinde yer alır ve iki temel özellikleriyle tanımlanırlar:

1. **Kendini Yenileme (Self-Renewal):** KKH'ler, asimetrik bölünme yoluyla hem kendilerine benzeyen yeni KKH'ler hem de daha farklılaşmış progenitör hücreler üretebilirler. Bu sayede KKH havuzu tükenmeden korunur (Joshi ve ark., 2025).
2. **Farklılaşma (Differentiation):** KKH'ler, tümörün büyük bir kısmını oluşturan, sınırlı çoğalma potansiyeline sahip ve tümör başlatma yeteneği olmayan heterojen kanser hücrelerini (non-KKH) meydana getirebilirler (Joshi ve ark., 2025).

Bu modelin en önemli çıkarımı, kanseri kalıcı olarak tedavi etmek için tümörün ana kitlesini hedef almanın yeterli olmadığı, asıl olarak KKH popülasyonunun ortadan kaldırılması gerektiğidir (Calabrese ve ark., 2004).

Günümüzde, bu iki modelin birbirini dışlamadığı, aksine bir arada var olabildiği bir Plastisite Modeli giderek daha fazla kabul görmektedir. Bu hibrit görüşe göre, KKH ve non-KKH durumları arasında çift yönlü bir geçiş mümkündür (Calabrese ve ark., 2004). Yani, KKH'ler farklılaşarak non-KKH'lere dönüşebildiği gibi, uygun mikroçevresel sinyallerin etkisiyle non-KKH'ler de "de-diferansiye" olarak KKH özellikleri kazanabilir (Zheng ve ark., 2013). Bu plastisite, özellikle KKH'leri hedef alan tedavilere karşı gelişen direncin altında yatan en önemli mekanizmalardan biridir ve kanser tedavisindeki en büyük zorluklardan birini oluşturmaktadır. Kanser kök hücresi plastisitesi kavramı, kanser tedavilerinde benimsenen "statik hedef" yaklaşımını temelden sarsmaktadır. Eğer KKH olmayan hücreler KKH'lere dönüşebiliyorsa, yalnızca mevcut KKH havuzunu ortadan kaldıran tedavilerin başarısızlığa uğraması kaçınılmazdır. Bu durum, tedavinin başlangıcında KKH'lere karşı etkili olan bir ilacın, bir süre sonra etkisiz kalmasını açıklayabilir. Tedavi, orijinal KKH popülasyonunu yok ederken, hayatta kalan ve başlangıçta KKH olmayan tümör hücreleri, tümör mikroçevresinden gelen sinyallerle yeniden KKH fenotipi kazanarak nükse

neden olabilir. Bu nedenle, başarılı bir tedavi stratejisi sadece KKH'leri değil, aynı zamanda bu tehlikeli plastisiteyi tetikleyen mikroçevresel faktörleri de hedef almalıdır. Histopatolojik raporların gelecekte sadece KKH belirteçlerinin varlığını değil, aynı zamanda hipoksi veya inflamasyon gibi bu plastisiteyi öngörebilecek mikroçevresel durumları da karakterize etmesi, klinik açıdan büyük önem taşıyacaktır.

9.2 KKH'lerin Tanımı ve Kökeni

KKH'ler, işlevsel olarak, immün sistemi baskılanmış farelere (örneğin, NOD/SCID fareleri) nakledildiklerinde yeni bir tümör oluşturma ve orijinal tümörün heterojen yapısını yeniden yaratma yetenekleriyle tanımlanır (Hakala ve ark., 2025). Bu *in vivo* tümör başlatma kapasitesi, KKH'leri tanımlamak için "altın standart" olarak kabul edilir. KKH'lerin kökeni hala aktif bir araştırma alanıdır, ancak iki ana kaynak öne çıkmaktadır (Walcher ve ark., 2020):

Normal Doku Kök Hücreleri: Bir dokudaki normal kök hücreler veya progenitor hücreler, onkojenik mutasyonlar biriktirerek KKH'lere dönüşebilir. Normal kök hücreler zaten uzun ömürlü oldukları ve kendini yenileme kapasitesine sahip oldukları için, kanserleşmek için daha az sayıda mutasyona ihtiyaç duyabilecekleri düşünülmektedir. Örneğin, mide kanserlerinin %10'undan fazlasında gözlenen düşük mutasyon yükü, bu tümörlerin dokuya özgü kök hücre popülasyonlarından kaynaklandığına işaret etmektedir (Walcher ve ark., 2020).

De-diferansiyasyon: Daha farklılaşmış somatik hücreler, bir dizi genetik ve epigenetik değişiklik sonucunda geriye doğru programlanarak (de-diferansiyasyon) kök hücre benzeri özellikler kazanabilir ve KKH'lere dönüşebilir.

Tümörün köken aldığı hücre tipi, kanserin agresifliği ve prognozu üzerinde de etkili olabilir. Örneğin, meme kanserinde, luminal progenitorlardan kaynaklanan tümörler genellikle iyi prognoza sahipken, bazal benzeri progenitorlardan kaynaklananlar çok daha agresif bir fenotip sergiler (Walcher ve ark., 2020).

9.3 Kanser Kök Hücresi Nişi: Tümör Mikroçevresinin Rolü

Kanser kök hücreleri, izole birimler olarak var olmazlar; hayattla kalmaları, kendilerini yenilemeleri ve işlevlerini sürdürmeleri için "niş"

(niche) olarak adlandırılan özel bir mikroçevreye bağımlıdırlar (Prieto-Vila ve ark., 2017). Normal kök hücre nişleri gibi, KKH nişi de KKH'lerin kaderini belirleyen hücresel ve moleküler sinyallerin karmaşık bir ağıdır. Bu niş, tümör mikroçevresinin (TME) anatomik olarak farklılaşmış bir alt bölgesidir ve KKH'leri hem korur hem de onların potansiyelini artırır (Plaks ve ark., 2015).

9.3.1 Nişin Tanımı Ve Bileşenleri

KKH nişi, KKH'lerin fenotipik plastisitesini koruyan, onları immün sistemden ve terapötik ajanlardan saklayan ve metastatik potansiyellerini kolaylaştıran dinamik bir yapıdır. Bu yapı, hem hücresel hem de hücresel olmayan bileşenlerden oluşur (Plaks ve ark., 2015).

- **Hücresel Bileşenler:** Nişin canlı kısmını oluşturan bu hücreler, KKH'lerle sürekli bir iletişim halindedir:
 - **Kanserle İlişkili Fibroblastlar (CAFs):** Tümör stromasının en bol hücre tiplerinden biridir. Büyüme faktörleri (örneğin, HGF, IGF-II), kemokinler (örneğin, SDF1/CXCL12) ve sitokinler salgılayarak KKH'lerin kendini yenilemesini ve invazyonunu desteklerler (Albini ve ark., 2015).
 - **Mezenkimal Kök Hücreler (MSCs):** Tümör bölgesine göç ederek KKH'lerin çoğalmasını ve ilaç direncini artıran çeşitli sitokinler (örneğin, IL-6, IL-8, PGE2) salgırlar (He ve ark., 2017).
 - **Endotel Hücreleri ve Perisitler:** Tümör anjiyogenezini oluşturarak KKH'lere oksijen ve besin sağlarlar. Bu perivasküler (damar çevresi) niş, KKH'ler için önemli bir sığınaktır ve endotel hücrelerinden salgılanan faktörler (örneğin, nitrik oksit, Notch ligandları) KKH'lerin kök hücre özelliklerini korumasına yardımcı olur (Albini ve ark., 2015).
 - **İmmün Hücreler:** Özellikle **Tümörle İlişkili Makrofajlar (TAMs)**, KKH'lerle doğrudan temas kurarak veya EGF gibi faktörler salgılayarak onların hayatta kalmasını ve invazifliğini artırır (Prieto-Vila ve ark., 2017).
- **Aselüler (Hücresel Olmayan) Bileşenler:** Bu bileşenler, nişin fiziksel ve biyokimyasal iskeletini oluşturur:
 - **Ekstraselüler Matriks (ECM):** Kollajen, fibronektin ve laminin

gibi proteinlerden oluşan ECM, KKH'ler için yapısal bir destek sağlamanın yanı sıra, integrinler aracılığıyla hücre içine sinyaller göndererek kök hücre özelliklerini düzenler. ECM'nin artan sertliği, KKH fenotipini teşvik edebilir (Saito ve ark., 2022).

- **Çözünür Faktörler:** Büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler gibi niş hücrelerinden salgılanan moleküller, KKH'lerdeki temel sinyal yollarını aktive eder (Saito ve ark., 2022).
- **Fizikokimyasal Koşullar: Hipoksi** (düşük oksijen seviyesi) ve **düşük pH** (asidik ortam), KKH nişinin karakteristik özellikleridir ve KKH fenotipinin korunmasında ve tedavi direncinde merkezi bir rol oynarlar (Albini ve ark., 2015).

9.3.2 Hipoksi ve Anjiyogenezin Niş Üzerindeki Etkileri

Hızlı ve düzensiz tümör büyümesi, kan damarlarının yetersiz kalmasına ve tümör içinde hipoksik (oksijensiz) bölgelerin oluşmasına neden olur. Hipoksi, KKH nişinin oluşumu ve sürdürülmesinde kilit bir faktördür (He ve ark., 2017).

- **Hipoksinin Rolü:** Hipoksik koşullar, Hipoksi ile İndüklenebilir Faktörlerin (HIF'ler, özellikle HIF-1 α ve HIF-2 α) stabilize olmasını sağlar. HIF'ler, KKH'lerde Notch ve OCT4 gibi kök hücre genlerinin ekspresyonunu artırır ve hücreleri daha ilkel, tedaviye dirençli bir duruma yönlendirir (Albini ve ark., 2015). Hipoksi aynı zamanda Epitelial-Mezenkimal Geçiş (EMT) tetikleyerek KKH'lerin invazif ve metastatik kapasitesini artırır (He ve ark., 2017).
- **Anjiyogenez ve Perivasküler Niş:** Hipoksiye yanıt olarak ve KKH'lerin kendilerinin de salgıladığı Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) gibi anjiyojenik faktörler sayesinde, tümör içinde yeni kan damarları oluşur (He ve ark., 2017). Bu yeni damarların çevresi, "perivasküler niş" olarak adlandırılan özel bir KKH sığınağı oluşturur. Bu niş, KKH'lere hem besin ve oksijen sağlar hem de endotel hücrelerinden salgılanan kök hücre koruyucu sinyallerle (örneğin, Notch sinyalleri) onları destekler (Albini ve ark., 2015). Histopatolojik incelemelerde KKH belirteçleri taşıyan hücrelerin

sıklıkla kan damarlarına yakın bölgelerde kümелendiği gözlemlenmiştir (Moharil ve ark., 2017).

9.3.3 KKH ve Niş Arasındaki Çift Yönlü Etkileşimler

KKH ve niş arasındaki ilişki tek yönlü değildir; KKH'ler pasif alıcılar olmak yerine, kendi mikroçevrelerini aktif olarak şekillendirir ve manipüle ederler (Prieto-Vila ve ark., 2017). Bu çift yönlü etkileşim, tümörün ilerlemesini sağlayan pozitif bir geri besleme döngüsü yaratır.

- KKH'ler, salgıladıkları PDGF, TGF- β ve IL-6 gibi faktörlerle normal stromal fibroblastları Kanserle İlişkili Fibroblastlara (CAFs) dönüştürür. Benzer şekilde, pro-inflamatuvar sitokinler salgılayarak monositleri tümöre çeker ve onları KKH'leri destekleyen tümörle ilişkili makrofajlara dönüştürürler (Prieto-Vila ve ark., 2017).
- Bazı durumlarda, KKH'ler doğrudan nişin hücrel bileşenlerine farklılaşabilir ve nişin oluşmasına doğrudan katkı sağlayabilirler. Örneğin, glioblastoma KKH'lerinin endotel hücrelerine farklılaşarak tümör damar ağının bir parçasını oluşturduğu gösterilmiştir (Prieto-Vila ve ark., 2017). Bu "vaskülojenik taklit" olgusu, KKH'lerin anjiyogeneze ne kadar entegre olduğunu göstermektedir (Albini ve ark., 2015).

Bu karmaşık ve dinamik etkileşimler, KKH nişini sadece bir "sığınak" olmaktan çıkarır ve onu tümörün biyolojisini yöneten bir "komuta merkezi" haline getirir. Niş, KKH'leri kemoterapi ve radyoterapiden fiziksel olarak korur (örneğin, yoğun ECM matriksi ilacın penetrasyonunu engeller) ve biyokimyasal olarak dirençli hale getirir (örneğin, niş hücrelerinden salgılanan faktörler anti-apoptotik yolları aktive eder) (Prieto-Vila ve ark., 2017). Bu nedenle, KKH nişinin kendisi, KKH'lerin plastisitesini ve direncini kırmak için kritik ve belki de daha stabil bir terapötik hedef olarak ortaya çıkmaktadır. Geleneksel kemoterapinin tümör mikroçevresinden geçerek KKH'lere ulaşması gerekirken, nişin yoğun ECM yapısı ve anormal damarlanması bu süreci fiziksel olarak engeller. Dahası, CAFs gibi niş hücreleri, KKH'lerde doğrudan kemorezistansı tetikleyen faktörler salgılar. Bu çok katmanlı savunma mekanizması, nişi hedef alan tedavilerin önemini ortaya koymaktadır. Örneğin, CAFs'ı hedefleyerek veya tümör damarlanmasını normalleştirerek nişin yapısını bozan bir tedavi, KKH'leri

geleneksel kemoterapiye karşı daha savunmasız bırakabilir. Bu, nişin "duvarlarını yıkan" bir ajan ile KKH'leri "öldüren" bir ajanın birleştirildiği iki aşamalı bir tedavi stratejisini akla getirmektedir. Patolojik değerlendirmelerde CAF yoğunluğu veya ECM kompozisyonu gibi niş özelliklerinin analizi, bu tür kombinasyon tedavilerine yanıtı öngörmede değerli olabilir.

9.4 KKH'lerin Sürdürülmesinde Sinyal Yolakları

Nişten gelen sinyaller, KKH'lerde normal embriyonik gelişim sırasında aktif olan ancak yetişkin dokularda büyük ölçüde baskılanmış olan bir dizi sinyal yolağını yeniden aktive eder. Bu yolaklar, KKH'lerin kendini yenileme ve farklılaşma dengesini kontrol eder.

- **Wnt/ β -katenin Yolağı:** KKH'lerin kendini yenilemesi için en temel yolaklardan biridir. Nişteki CAFs gibi hücrelerden salgılanan Wnt ligandları, KKH'lerde β -katenin'in birikmesine ve *c-MYC* ve *Cyclin D1* gibi hedef genlerin transkripsiyonunu aktive etmesine yol açar (Albini ve ark., 2015).
- **Notch Yolağı:** Hücreler arası doğrudan temasa dayalı bir sinyal mekanizmasıdır. Nişteki endotel hücreleri gibi komşu hücrelerin yüzeyindeki Delta-like (DLL) veya Jagged ligandları, KKH'lerin yüzeyindeki Notch reseptörlerini aktive eder. Bu aktivasyon, KKH'lerin farklılaşmasını baskılayarak kök hücre havuzunun korunmasını sağlar (Albini ve ark., 2015).
- **Hedgehog (Hh) Yolağı:** Parakrin bir sinyal yolağıdır. Niş hücrelerinden salgılanan Hh ligandları (örneğin, Sonic Hedgehog), KKH'lerdeki Patched reseptörünü inhibe ederek Smoothed (SMO) proteininin aktivasyonuna ve sonuç olarak GLI transkripsiyon faktörlerinin hedef genleri (örneğin, *NANOG*, *SOX2*) aktive etmesine yol açar (Albini ve ark., 2015).

Bu üç ana yolağın yanı sıra, TGF- β , JAK/STAT ve PI3K/Akt/mTOR gibi diğer birçok sinyal yolağı da KKH nişinde aktif rol oynar ve bu yolaklar arasında karmaşık bir etkileşim ağı (crosstalk) mevcuttur (Saito ve ark., 2022).

9.5 Patoloji Laboratuvarında KKH Belirteçlerinin Saptanması

Patoloji raporları, makroskopik ve mikroskopik bulguları içeren, bir hastalığın adını, gidişatını ve tedaviye yanıtını öngören temel belgelerdir. Kanser kök hücrelerinin analizi, bu standart raporlama yapısına derinlik katan özel bir inceleme alanıdır. Yüksek KKH seviyeleri, genellikle kötü prognoz, agresif hastalık ve standart tedavilere karşı direnç ile ilişkilidir (Joshi ve ark., 2025). Bu nedenle, KKH'lerin tespiti ve nicel olarak ölçülmesi, bir tümörün klinik davranışını tahmin etme ve hastaya özel tedavi planları oluşturma potansiyeli taşır (Lathia ve ark., 2020).

9.5.1 Kanser Kök Hücrelerinin Fonksiyonel Yöntemlerle Ayırıştırılması

Kanser kök hücrelerinin tanımlanması, sadece belirteç ekspresyonuna değil, aynı zamanda fonksiyonel özelliklerine de dayanır (Prager ve ark., 2019). Bu nedenle, patoloji laboratuvarında bu hücreleri izole etmek ve potansiyellerini değerlendirmek için çeşitli fonksiyonel yöntemler kullanılır.

Sferoid Kültürleri: Bu, KKH'lerin kendi kendini yenileme kapasitesini belirlemek için kullanılan temel bir testtir (Hakala ve ark., 2025). KKH'ler, uygun kültür koşullarında, farklılaşmamış ve süspanse bir fazda (yani, yüzeye yapışmadan) büyüyerek sferoid adı verilen üç boyutlu küme yapıları oluştururlar (Akkoç ve ark., 2016). Bu yetenek, tümör başlatma potansiyelinin bir göstergesidir. Geleneksel iki boyutlu (2D) tek tabaka kültürlerde, kanser hücreleri pasaj sayıları arttıkça morfolojik ve genetik karakteristiklerini kaybedebilirken, sferoid kültürleri, hücrelerin in vivo tümör ortamını daha iyi yansıtan hücresel yapılanmalar oluşturmalarını sağlar (Hu ve ark., 2019).

Akış Sitometrisi ve Manyetik Hücre Ayırıştırma (FACS & MACS): Akış sitometrisi, süspansiyon halindeki hücrelerin boyut, şekil ve içerdiği DNA/RNA gibi özelliklere göre analiz edilmesine olanak tanıyan güçlü bir tekniktir. KKH'lerin yüzey belirteçlerini tanımlamak ve ayırmak için floresan etiketli antikorlar kullanılır (Akkoç ve ark., 2016). Numune hazırlığı, hücre süspansiyonu elde etme, canlı-ölü hücre ayrımı, fiksasyon, permeabilizasyon ve antikor boyama gibi bir dizi kritik adımdan oluşur.

Örneğin, hücreler düşük hızda santrifüjlenerek (yaklaşık 200×g) zarar görmeden pelet haline getirilir, ardından tampon çözelti içinde süspanse edilir. Bu işlem, hem hücre yüzeyindeki belirteçlerin (ekstrasellüler) hem de hücre

içindeki belirteçlerin (intraseküller) incelenmesine olanak tanır. Manyetik hücre ayırıştırma (MACS) ise benzer bir prensiple, antikorlara bağılı manyetik boncukları kullanarak KKH'leri diğere hücrelerden ayırır (Akkoç ve ark., 2016).

Label Retensiyon Analizleri: KKH'lerin yavaş döngülü (slow-cycling) doğasından yararlanan bu testler, hücre bölünmesi sırasında DNA'ya katılan nükleotid analoglarının (örneğin, bromodeoksiüridin - BrdU) tutulma miktarını ölçer. KKH'ler, normal hücrelere göre daha az sıklıkta bölündükleri için, BrdU'yu daha uzun süre DNA'larında tutarlar (Akkoç ve ark., 2016). Bu yöntem, KKH popülasyonunun proliferatif durumunu değerlendirmede kullanılır.

Bu fonksiyonel testler, sadece belirteçlerin varlığına değil, aynı zamanda hücrelerin biyolojik yeteneklerine odaklanarak, KKH tanısının doğruluğunu artırır ve moleküler profillemenin sağladığı bilgiyi pekiştirir.

Kanser kök hücrelerinin *in situ*, yani doku bağlamı içinde saptanması, onların tümör içindeki dağılımını, mikroçevre ile ilişkisini ve klinik önemini anlamak için hayati öneme sahiptir. Patoloji laboratuvarları, bu amaçla çeşitli teknikler kullanmakla birlikte, immünohistokimya (İHK) bu alanda altın standart yöntem olarak öne çıkmaktadır (Molina-Peña ve ark., 2012). Bu bölümde, KKH'leri tanımlamak için kullanılan başlıca belirteçler ve bunların İHK ile saptanmasının prensipleri ele alınacaktır.

9.5.2 İmmünohistokimyasal Yöntemler Ve Prensipleri: KKH Belirteçlerinin Saptanmasında Altın Standart

İmmünohistokimya, formalinle tespit edilmiş ve parafine gömülmüş doku kesitlerinde spesifik proteinlerin (antijenlerin) antikorlar aracılığıyla görselleştirilmesini sağlayan bir tekniktir (Zannini ve ark., 2024). Bu yöntemin en büyük avantajı, doku mimarisini koruyarak ilgilenilen proteinin hücresel ve sub-selüler lokalizasyonunu göstermesidir. Bu sayede, KKH belirteçlerinin tümörün hangi bölgesinde (örneğin, invaziv cephe, perivasküler niş) ve hangi hücrelerde (örneğin, epitelial, stromal) eksprese edildiği net bir şekilde görülebilir.

İHK prosedürü temel olarak şu adımları içerir: doku kesitlerinin hazırlanması, antijenin maskesini kaldırmak için antijen geri kazanım (antigen retrieval) işlemi, spesifik bir primer antikor ile inkübasyon, sinyali güçlendiren

ve görünür kılan bir sekonder antikor ve saptama sistemi (genellikle kromojenik veya floresan) ile reaksiyon ve son olarak mikroskopik değerlendirme. KKH belirteçlerinin doğru bir şekilde saptanması, bu adımların her birinin dikkatli bir şekilde optimize edilmesine ve standardize edilmesine bağlıdır.

9.5.3 Yüzey belirteçleri: CD133, CD44, Epcam ve Diğerleri

KKH'leri izole etmek ve tanımlamak için en sık kullanılan belirteçler, hücre yüzeyinde bulunan proteinlerdir.

- **CD133 (Prominin-1):** KKH araştırmalarında öncü bir belirteç olan CD133, beş transmembran domainine sahip bir glikoproteindir (Barzegar Behrooz ve ark., 2019). İlk olarak hematopoietik kök hücrelerde tanımlanmış, daha sonra beyin, kolon, akciğer, karaciğer ve pankreas gibi birçok solid tümörde KKH popülasyonunu zenginleştirdiği gösterilmiştir (Joshi ve ark., 2025). CD133 pozitifliği genellikle artmış tümör başlatma kapasitesi, tedavi direnci ve kötü prognoz ile ilişkilidir (Yu ve ark., 2011).

Ancak, CD133'ün KKH'ler için mutlak bir belirteç olmadığına dair önemli kanıtlar da mevcuttur. Bazı çalışmalarda, CD133-negatif hücrelerin de tümör başlatabildiği ve CD133 ekspresyonunun hücre farklılaşma durumu veya mikroçevresel koşullara (örneğin hipoksi) bağlı olarak değişebileceği gösterilmiştir (Dragu ve ark., 2015). Bu durum, CD133'ün tek başına kullanımının sınırlı olabileceğini ve diğer belirteçlerle birlikte değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

- **CD44:** Hyaluronik asit reseptörü olarak işlev gören bir transmembran glikoproteinidir ve hücre-hücre ile hücre-matriks etkileşimlerinde, hücre göçünde ve sinyal iletiminde önemli roller oynar (Ziranu ve ark., 2024). Özellikle meme kanserinde, CD44'ün yüksek ve CD24'ün düşük veya hiç olmaması KKH popülasyonunu tanımlayan klasik bir belirteç kombinasyonudur (Walcher ve ark., 2020). Mide, larinks, prostat ve kolon kanserleri de dahil olmak üzere birçok tümörde yüksek CD44 ekspresyonu, artmış invazyon, metastaz ve kötü sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (Joshi ve ark., 2025). CD44'ün farklı izoformları (örneğin, CD44v6) da KKH

biyolojisinde ve metastazda özel rollere sahip olabilir (Thapa ve ark., 2016).

- **EpCAM (Epitelyal Hücre Adezyon Molekülü, CD326):** Normal epitel dokularında ve birçok karsinomda eksprese edilen bir transmembran glikoproteinidir. Özellikle kolon ve karaciğer kanserlerinde KKH'leri zenginleştirmek için kullanılmıştır (Walcher ve ark., 2020). Dolaşımdaki tümör hücrelerinin (CTC'ler) saptanması ve izolasyonunda da yaygın olarak kullanılan bir hedeftir (Hakala ve ark., 2025).

Diğer önemli yüzey belirteçleri arasında kolon kanserinde Lgr5, çeşitli kanserlerde CD166 ve CD90 gibi moleküller bulunmaktadır (Joshi ve ark., 2025). Bu belirteçlerin hiçbirisi tek başına KKH'lere özgü değildir ve genellikle normal kök hücrelerde de bulunurlar. Bu durum, hem tanısal yorumlamada hem de terapötik hedeflemede önemli bir zorluk teşkil etmektedir. Örneğin, CD133 ve CD44 gibi yaygın KKH belirteçleri, aynı zamanda normal embriyonik ve yetişkin kök hücrelerinin de belirteçleridir (Kim ve ark., 2017). Bu özgülük eksikliği, ciddi bir terapötik ikilem yaratır: CD133'ü hedef alan bir tedavi, sadece KKH'leri değil, aynı zamanda kemik iliği veya bağırsak epiteli gibi hayati dokuların yenilenmesinden sorumlu sağlıklı kök hücre popülasyonlarını da yok edebilir, bu da ciddi toksisiteye yol açabilir (Zheng ve ark., 2013). Tanısal açıdan da benzer bir sorun mevcuttur: Bir tümör kesitinde saptanan CD133-pozitif bir hücre, bir KKH mi, tümör içine hapsolmuş normal bir kök hücre mi, yoksa geçici olarak bu belirteci eksprese eden farklılaşmış bir hücre mi? Bu belirsizlik, bu belirteçlerin tanısal değerinin sadece varlıklarından değil, bağlamlarından geldiğini göstermektedir. Bu bağlam; diğer belirteçlerle birlikte ekspresyonları (ko-ekspresyon), tümör içindeki spesifik konumları (örneğin hipoksik bir nişte bulunmaları) ve işlevsel özelliklerle korelasyonları gibi faktörleri içerir. Dolayısıyla, tek bir pozitif boyanma yetersizdir; doğru bir yorumlama için çoklu immünohistokimya (multiplex IHC) ve uzaysal analiz gibi daha gelişmiş yaklaşımlarla bir "kanıtlar bütünü" oluşturulması gerekmektedir.

İntraselüler Belirteçler: ALDH1 ve Pluripotensi Faktörleri

Hücre yüzey belirteçlerinin yanı sıra, hücre içindeki proteinler de KKH'leri tanımlamada önemli rol oynar.

- **ALDH1 (Aldehit Dehidrogenaz 1):** Bu belirteç, bir yüzey antijeni değil, bir hücre içi enzim aktivitesidir. ALDH1, aldehitlerin oksidasyonundan sorumlu bir enzim ailesinin üyesidir ve hücre sel detoksifikasyonda ve retinoik asit sentezinde rol oynar (Jiang ve ark., 2009). Yüksek ALDH1 aktivitesi, hem normal hem de malign kök/progenitör hücrelerin bir özelliği olarak kabul edilir ve özellikle meme, akciğer, mide ve karaciğer kanserlerinde KKH popülasyonunu tanımlamak için yaygın olarak kullanılır (Walcher ve ark., 2020). İHK ile ALDH1 protein ekspresyonunun saptanması, yüksek enzimatik aktivite ile iyi bir korelasyon gösterir ve birçok kanser türünde kötü prognoz ve kemoterapi direnci ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Joshi ve ark., 2025).
- **Pluripotensi Faktörleri (SOX2, OCT4, NANOG):** Bunlar, embriyonik kök hücrelerin pluripotent (çok yönlü farklılaşma yeteneği) ve kendini yenileme durumunu sürdürmek için gerekli olan temel transkripsiyon faktörleridir (Saito ve ark., 2022). Bu faktörlerin KKH'lerde yeniden eksprese edilmesi, onların ilkel ve farklılaşmamış fenotipini korumalarına yardımcı olur (Hakala ve ark., 2025). İHK ile bu faktörlerin nükleer ekspresyonunun gösterilmesi, genellikle daha agresif tümör fenotipleri ve kötü klinik sonuçlarla ilişkilidir (Walcher ve ark., 2020).

9.5.4 Belirteç Kombinasyonları ve Farklı Kanser Tiplerindeki Önemi

Tek bir "evrensel" KKH belirtecinin olmaması nedeniyle, güncel yaklaşım, KKH popülasyonunu daha yüksek bir özgüllükle tanımlamak için belirteç kombinasyonlarını kullanmaktır.⁶ Örneğin, meme kanserinde CD44{+}/CD24{-/low}, kolon kanserinde EpCAM{+}/CD44{+}/CD166{+} ⁶veya mide kanserinde CD44{+}/CD54{+} gibi kombinasyonlar kullanılmıştır (Walcher ve ark., 2020; Saito ve ark., 2022).

Ayrıca, önemli bir KKH belirteç panelinin kanser tipine ve hatta aynı kanserin moleküler alt tiplerine göre önemli ölçüde değişiklik gösterdiği unutulmamalıdır. Örneğin, bir kanser türü için geçerli olan bir belirteç, diğeri için anlamlı olmayabilir (Walcher ve ark., 2020). Bu durum, her kanser türü için özelleşmiş KKH belirteç panellerinin geliştirilmesi ve valide edilmesi

gerektiğini vurgulamaktadır. Aşağıdaki tablo, farklı kanser türlerinde en sık çalşıılan KKH belirteçlerini ve bunların klinik anlamlarını özetlemektedir.

Tablo 9.1: Seçilmiş Kanser Kök Hücresi Belirteçleri ve Klinik İlişkileri

Belirteç Adı	Biyolojik Fonksiyon	İlişkili Kanserler	Klinik Önemi
CD44	Hücre adezyonu, migrasyonu, sinyal iletimi	Meme, pankreas, prostat, kolorektal, akciğer, beyin	Yüksek ekspresyon, kötü prognoz, artmış invazyon ve metastaz ile ilişkilidir.
CD133 (Prominin-1)	Hücre adezyonu, sinyal iletimi, kök hücre nişi	Beyin, kolorektal, karaciğer, akciğer	Tümör başlatma ve terapi direncinde rol oynar; kötü prognoz göstergesi olabilir.
CD90 (Thy-1)	Hücre adezyonu, sinyal iletimi	Beyin, karaciğer, kolorektal, meme	Agresif tümör davranışıyla ilişkilidir. TNBC'de (Triple-Negative Breast Cancer) kötü prognoz belirteci.
ALDH1 (Aldehyde dehydrogenase 1)	Detoksifikasyon, kök hücre özelliği	Meme, kolon, akciğer, prostat	Yüksek aktivite, kötü prognoz ve kemoterapi direnci ile ilişkilidir.
Lgr5 (Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5)	Kök hücre nişi, Wnt sinyalizasyonu	Kolorektal, mide, meme	Kök hücre popülasyonunun ve tümör büyümesinin sürdürülmesinde önemlidir.
OCT4, SOX2, NANOG	Pluripotensi ve kendini yenileme	Birçok tümör türü	Kök hücre özelliğini korumada temel regülatörler; yüksek ekspresyon, tedavi direncine katkıda bulunur.

(Walcher ve ark., 2020; Kim ve ark., 2017; Miyata ve ark., 2017; Ziranu ve ark., 2024)

Tablo 9.1’de KKH belirtiçlerinin çeşitliliğini ve kanser tipine özgü doğasını vurgulamaktadır. Patologlar ve klinisyenler için, bu belirtiçleri yorumlarken tümörün biyolojik bağlamını göz önünde bulundurmak esastır.

9.5.5 Histolojik Kriterler ve Tanı Standardizasyonu

Kanser kök hücresi belirtiçlerinin araştırma laboratuvarlarından rutin klinik pratiğe geçişinin önündeki en büyük engellerden biri, saptama ve yorumlama yöntemlerindeki standardizasyon eksikliğidir (Goldstein ve ark., 2007). Bir belirtecın klinik olarak anlamlı olabilmesi için, farklı laboratuvarlar tarafından yapılan ölçümlerin tekrarlanabilir ve güvenilir olması gerekir. Bu bölümde, İHK tabanlı KKH belirtiç analizinde karşılaşılan standardizasyon zorlukları ve bu zorlukların üstesinden gelmek için önerilen yaklaşımlar ele alınacaktır.

İHK Boyanma Paternlerinin Değerlendirilmesi

Bir İHK kesitinin yorumlanması, sadece boyanmanın varlığına veya yokluğuna karar vermekten çok daha karmaşıktır. Patolog, boyanmanın çeşitli niteliksel ve yarı-kantitatif özelliklerini değerlendirmelidir:

Yoğunluk (Intensity): Boyanmanın gücü genellikle zayıf (1+), orta (2+) veya güçlü (3+) olarak derecelendirilir. Bu, hedef proteinin hücre başına düşen miktarının bir göstergesi olabilir (Miyata ve ark., 2017).

Yaygınlık (Prevalence): Boyanan tümör hücrelerinin yüzdesi, belirtecın tümör içindeki dağılımı hakkında bilgi verir. Bu, genellikle %0 ile %100 arasında bir yüzde olarak veya kategorik olarak (örneğin, fokal, yama tarzı, diffüz) raporlanır (Goldstein ve ark., 2007).

Lokalizasyon (Localization): Boyanmanın hücre içindeki konumu kritik öneme sahiptir ve proteinin fonksiyonu hakkında ipuçları verir. Örneğin, CD44 ve CD133 gibi yüzey belirtiçleri için membranöz boyanma beklenirken, ALDH1 için sitoplazmik, SOX2 ve OCT4 gibi transkripsiyon faktörleri için ise nükleer boyanma anlamlıdır (Walcher ve ark., 2020). Yanlış lokalizasyondaki bir boyanma (örneğin, bir yüzey belirteci için nükleer boyanma) genellikle non-spesifik bir artefakt olarak kabul edilir.

Bu üç parametrenin bir arada değerlendirilmesi, KKH belirtiç ekspresyonunun doğru bir şekilde yorumlanması için temel oluşturur.

9.5.6 Skorlama Sistemleri ve "Cut-off" Değerlerinin Belirlenmesindeki Zorluklar

İHK sonuçlarını kantitatif veya yarı-kantitatif bir skora dönüştürmek, klinik korelasyon çalışmaları için gereklidir. Ancak KKH belirtiçleri için evrensel olarak kabul edilmiş bir skorlama sistemi bulunmamaktadır (Goldstein ve ark., 2007). Araştırmalarda sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri, yoğunluk ve yaygınlık skorlarının çarpılmasıyla elde edilen H-Skor'dur (H-Score). Örneğin, bir akciğer adenokarsinomu çalışmasında ALDH1A1 skoru, $(\% \text{yoğunluk 1 hücre} \times 1) + (\% \text{yoğunluk 2 hücre} \times 2) + (\% \text{yoğunluk 3 hücre} \times 3)$ formülüyle hesaplanmıştır (Miyata ve ark., 2017).

En büyük zorluk, bir tümörü "pozitif" veya "negatif" olarak sınıflandırmak için kullanılacak cut-off (eşik) değerinin belirlenmesidir. Farklı çalışmalar, aynı belirtiç için çok farklı cut-off değerleri kullanmaktadır. Örneğin, bir çalışmada CD133 pozitifliği için $\geq 10\%$ boyanma eşiği kullanılırken, başka bir çalışmada herhangi bir boyanmanın varlığı pozitif kabul edilebilir (Miyata ve ark., 2017). Bu tutarsızlık, farklı çalışmaların sonuçlarını karşılaştırmayı ve bir meta-analiz yaparak genel bir sonuca varmayı neredeyse imkansız hale getirmektedir. Bir hastanın bir merkezde "KKH pozitif" olarak rapor edilirken, başka bir merkezde "KKH negatif" olarak değerlendirilmesi olasılığı, bu belirtiçlerin mevcut haliyle klinik karar verme süreçlerinde kullanılmasını engellemektedir.

9.5.7 Kalite Kontrolü ve Standardizasyonun Önemi: CAP ve Diğer Kılavuzlar

İHK testlerinin güvenilirliği, sıkı kalite kontrol (QC) ve kalite güvence (QA) programlarına bağlıdır. Bu programlar, testin pre-analitik (doku tespiti, işlenmesi), analitik (boyama protokolü) ve post-analitik (yorum, raporlama) aşamalarını kapsar (Goldstein ve ark., 2007).

- **Pre-analitik Değişkenler:** Doku fiksasyon süresi ve tipi, antijen geri kazanım yöntemi gibi faktörler, boyanma sonuçlarını önemli ölçüde etkileyebilir. Bu değişkenlerin standardize edilmesi, laboratuvarlar arası tutarlılık için ilk adımdır (Goldstein ve ark., 2007).
- **Analitik Değişkenler:** Kullanılan antikorun klonu, dilüsyonu, inkübasyon süresi ve saptama sistemi gibi faktörler, testin

duyarlılığını ve özgüllüğünü belirler.

- **Kontrollerin Kullanımı:** Her İHK çalışmasında, testin doğru çalıştığını doğrulamak için pozitif ve negatif doku kontrollerinin kullanılması zorunludur. Pozitif kontrol, hedef antijeni eksprese ettiği bilinen bir dokudur ve boyama protokolünün işe yaradığını gösterir. Negatif kontrol ise antijeni eksprese etmeyen bir doku veya primer antikor yerine sadece dilüent eklenen bir kesittir ve non-spesifik boyanmayı saptamaya yarar (Torlakovic ve ark., 2014).

Amerikan Patologlar Koleji (CAP) gibi meslek kuruluşları, özellikle ER, PR ve HER2 gibi prognostik ve prediktif önemi kanıtlanmış belirteçler için sıkı standardizasyon kılavuzları yayınlamıştır (Molina-Peña ve ark., 2012). KKH belirteçlerinin de klinik kullanıma girebilmesi için benzer bir standardizasyon sürecinden geçmesi gerekmektedir. Bu, büyük ölçekli, çok merkezli çalışmalarla en iyi antikor klonlarının valide edilmesini, optimize edilmiş ve standardize edilmiş boyama protokollerinin oluşturulmasını ve klinik sonuçlarla korele edilen, kanıta dayalı skorlama sistemleri ve cut-off değerlerinin belirlenmesini gerektirir. PD-L1 testi için yapılan "Blueprint projesi" gibi ortak çabalar, bu tür bir standardizasyonun nasıl başarılabileceğine dair bir model sunmaktadır (Sakaguchi ve ark., 2025).

9.6 Biyopsi Örneklerinde KKH Analizi: Fırsatlar ve Zorluklar

Kanser kök hücrelerinin analizi için doku veya hücre örneği elde etmek, tanı sürecinin ilk ve en kritik adımıdır. Kullanılan biyopsi yöntemi, elde edilen örneğin miktarını, kalitesini ve tümörün ne kadarını temsil ettiğini doğrudan etkiler. Bu da KKH analizinin doğruluğu ve güvenilirliği üzerinde belirleyici bir rol oynar. Bu bölümde, cerrahi rezeksiyonlardan iğne biyopsilerine ve en yeni teknoloji olan sıvı biyopsiye kadar farklı örnekleme yöntemleri, KKH analizi perspektifinden karşılaştırmalı olarak incelenecektir.

9.6.1 Cerrahi Rezeksiyon Materyalleri: Tümör Heterojenitesinin Kapsamlı Değerlendirilmesi

Cerrahi rezeksiyon (tümörün ameliyatla tamamen veya kısmen çıkarılması), patolojik inceleme için en fazla miktarda doku sağlayan yöntemdir. Bu, KKH analizi için birçok önemli avantaj sunar:

- **Kapsamlı Örneklem:** Büyük doku örnekleri, tümörün farklı bölgelerinden (merkez, invaziv cephe, nekrotik alanlar) ve tümör-stroma arayüzünden birden fazla kesit alınmasına olanak tanır. Bu, KKH'lerin uzaysal dağılımını ve niş ile olan ilişkilerini incelemek için ideal bir materyaldir (D'andrea ve ark., 2014).
- **Heterojenitenin Değerlendirilmesi:** Tümör içi heterojenite, KKH'lerin de heterojen olduğu anlamına gelir. Cerrahi materyaller, farklı KKH alt klonlarının varlığını ve dağılımını araştırmak için yeterli materyal sağlar.
- **Ancillary Testler İçin Yeterli Doku:** İHK'nın yanı sıra, akım sitometri, moleküler analizler (örneğin, tek hücreli RNA dizileme) ve organoid kültürleri gibi daha ileri KKH analizleri için taze veya dondurulmuş doku ayrılabilir.

Ancak cerrahi rezeksiyon, invaziv bir işlemdir ve genellikle tanı konulduktan sonra, tedavi amacıyla yapılır. Bu nedenle, ilk tanı veya tedaviye yanıtın izlenmesi için uygun bir yöntem değildir.

İğne Biyopsileri: Örneklem Yetersizliği ve Temsil Sorunları

İğne biyopsileri, daha az invaziv olmaları nedeniyle ilk tanı için standart yöntemlerdir. Ancak KKH analizi açısından önemli kısıtlılıkları vardır.

- **Kor İğne Biyopsisi (CNB):** Bu yöntemde, özel bir iğne ile tümörden silindirik bir doku parçası (kor) alınır. CNB, doku mimarisini koruduğu için histopatolojik değerlendirmeye olanak tanır ve İHK için genellikle yeterli materyal sağlar (You ve ark., 2017). Ancak en büyük dezavantajı **örneklem hatası** (sampling error) riskidir. Alınan küçük doku parçası, tümörün sadece çok küçük bir bölümünü temsil eder. KKH'ler tümör içinde homojen bir şekilde dağılmadığı, aksine belirli nişlerde kümелendiği için, iğnenin bu KKH zengini bölgeleri ıskalama olasılığı yüksektir (Tian ve ark., 2024). Bu durum, yanlış negatif bir KKH belirteç sonucuna yol açabilir.
- **İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi (FNA):** Daha da az invaziv olan bu yöntemde, ince bir

iğne ile tümörden hücreler ve sıvı aspire edilir (Gwak ve ark., 2023). FNA, sitolojik (hücresel) bir örnek sağlar ve doku mimarisi tamamen

kaybolur. Elde edilen materyal miktarı genellikle çok azdır ve bu da KKH gibi nadir hücre popülasyonlarının saptanmasını daha da zorlaştırır. Bu nedenlerle FNA, KKH belirteçlerinin İHK ile değerlendirilmesi için genellikle yetersizdir.

9.6.2 Biyopsi Tipleri Arasında Belirteç Ekspresyonu Uyum Oranları

Kor iğne biyopsisinin tüm tümörü ne kadar iyi temsil ettiği, uzun süredir devam eden bir tartışma konusudur. ER, PR ve HER2 gibi standart biyobelirteçler için CNB ve sonraki cerrahi rezeksiyon materyali arasındaki uyum oranlarını inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar, uyum oranlarının genellikle yüksek olduğunu (%85-98 aralığında), ancak hiçbir zaman %100 olmadığını göstermektedir (Tian ve ark., 2024). Uyumsuzluk (discordance) oranları, özellikle PR ve HER2 gibi belirteçler için %10-20'lere varabilmektedir (Slostad ve ark., 2022).

Bu uyumsuzluğun en önemli nedeni, tümör içi heterojenitedir (Tian ve ark., 2024). Eğer tümörün farklı bölgeleri farklı belirteç profillerine sahipse, küçük bir iğne biyopsisi yanıltıcı bir sonuç verebilir. KKH'ler, tümörün geri kalanından daha da heterojen ve fokal olarak dağılmış bir popülasyon olduğu için, CNB ve cerrahi materyal arasındaki KKH belirteç uyumsuzluk oranının, standart belirteçlerden daha da yüksek olması beklenir. Bu durum, sadece CNB sonuçlarına dayanarak KKH hedefli tedaviler hakkında karar vermenin risklerini vurgulamaktadır.

9.6.3 Dolaşımdaki Kanser Kök Hücreleri: Sıvı Biyopsinin Yükselişi ve Klinik Uygulamaları

Son yıllarda, kanser tanısı ve takibinde devrim yaratan bir yaklaşım olan **sıvı biyopsi** ortaya çıkmıştır. Sıvı biyopsi, kan gibi vücut sıvılarından tümör kaynaklı materyallerin (dolaşımdaki tümör hücreleri-CTC, dolaşımdaki tümör DNA'sı-ctDNA, eksozomlar) analiz edilmesine dayanır (Ho ve ark., 2024).

- **Dolaşımdaki Kanser Kök Hücreleri (cCSC):** CTC'lerin, metastaz sürecini başlatan ve sürdüren KKH özelliklerine sahip bir alt popülasyonu içerdiği düşünülmektedir. Bu hücrelere "dolaşımdaki kanser kök hücreleri" (cCSC) denir (Papaccio ve ark., 2020). cCSC'ler, kan dolaşımında ALDH1, CD133 veya CD44 gibi KKH

belirteçlerini eksprese eden hücreler olarak tanımlanabilir.

- **Klinik Değer:** Sıvı biyopsi ile cCSC'lerin saptanması, birçok önemli klinik avantaj sunar:
 - **Minimal İnvazivlik:** Basit bir kan alımı ile gerçekleştirilir, bu da tekrarlayan ölçümlere olanak tanır (Ho ve ark., 2024).
 - **Gerçek Zamanlı İzleme:** Tedaviye yanıtı, minimal rezidüel hastalığı (MRD) ve nüksü gerçek zamanlı olarak izlemek için kullanılabilir.
 - **Heterojenitenin Temsili:** Kan örneği, primer tümör ve tüm metastatik odaklardan dökülen hücreleri içerdiği için, tek bir doku biyopsisinden daha kapsamlı bir şekilde tümör heterojenitesini yansıtabilir (Ho ve ark., 2024).
 - **Prognostik Değer:** Çok sayıda çalışma, kan dolaşımında cCSC'lerin varlığının ve sayısının, birçok kanser türünde (hepatoselüler karsinom, mide kanseri, meme kanseri vb.) daha kısa hastalıksız ve genel sağkalım ile ilişkili olduğunu göstermiştir.³³

Ancak sıvı biyopsinin de zorlukları vardır. Başta gelen zorluk, cCSC'lerin kanda son derece nadir bulunmasıdır (milyarlarca kan hücresi içinde birkaç tane), bu da onların saptanmasını ve analizini teknik olarak zorlaştırır (Papaccio ve ark., 2020).

Sonuç olarak, doku biyopsisi ve sıvı biyopsisi birbirinin rakibi değil, tamamlayıcıdır. Doku biyopsisi, kanserin ilk tanısı, histolojik tipi, derecesi ve lokal mikroçevresi hakkında "zemin gerçeği" (ground truth) bilgisi sağlarken; sıvı biyopsisi, tümörün sistemik yükü, genetik evrimi ve tedaviye yanıtı hakkında dinamik ve gerçek zamanlı bir "film" sunar. Geleceğin kişiselleştirilmiş onkolojisinde, bu iki yaklaşımın entegre kullanımı standart hale gelecektir. İlk tanı ve lokal niş karakterizasyonu için doku biyopsisi yapılırken, tedavi sürecinin takibi ve nüksün erken tespiti için seri sıvı biyopsileri kullanılacaktır.

9.7 KKH'lerin Morfolojik ve Morfometrik Analizi

İmmünohistokimya, kanser kök hücrelerini moleküler belirteçlerine göre tanımlamak için güçlü bir araç olsa da, patolojinin temel taşı olan Hematoksilen & Eozin (H&E) boyaması ile bu hücrelerin tanınım

tanınamayacağı sorusu önemini korumaktadır. Bu bölüm, KKH'lerin geleneksel morfolojik özelliklerini ve bu özelliklerin dijital patoloji ve kantitatif görüntü analizi yöntemleriyle nasıl nesnel olarak ölçülebileceğini (morfometri) incelemektedir.

9.7.1 Hematoksilen & Eozin Kesitlerinde KKH'lerin Morfolojik Özellikleri

H&E boyaması, bir asırdan fazla bir süredir patolojik tanının temelini oluşturur ve hücresel morfolojinin zengin detaylarını ortaya çıkarır. Hematoksilen, hücre çekirdeklerini ve diğer bazofilik yapıları mor-maviye boyarken, eozin sitoplazmayı ve ekstraselüler matriksi pembenin çeşitli tonlarına boyar. Bu basit ama etkili boyama, nükleer boyut, şekil, kromatin yapısı, nükleol belirginliği ve sitoplazma miktarı gibi kanser tanısı ve derecelendirmesi için kritik olan özellikleri değerlendirmemizi sağlar.

KKH'lerin H&E kesitlerinde spesifik ve ayırt edici bir morfolojiye sahip olup olmadığı konusu tartışmalıdır. Genel kanı, KKH'lerin genellikle normal doku kök hücrelerine benzer şekilde, ilkel veya farklılaşmamış bir görünüme sahip olduğudur (Walcher ve ark., 2020). Bu özellikler şunları içerebilir:

- Küçük hücre boyutu
- Dar veya az miktarda sitoplazma
- Yüksek Nükleer/sitoplazmik oran
- Belirgin nükleus ve açık (veziküler) kromatin yapısı

Ancak bu morfolojik bulgular oldukça sübjektif ve non-spesifiktir. Yüksek dereceli veya az farklılaşmış tümörlerin büyük bir kısmı zaten bu tür hücrelerden oluşabilir ve bu görünüm, bir hücrenin kök hücre olup olmadığını kesin olarak belirtmez. Dolayısıyla, sadece H&E morfolojisine dayanarak bir hücreyi KKH olarak tanımlamak güvenilir değildir.

9.7.2 Kantitatif Görüntü Analizi ve Morfometri: KKH Fenotipinin Nesnel Değerlendirilmesi

Dijital patolojinin ve bilgisayarlı görüntü analizinin gelişmesi, morfolojik özelliklerin sübjektif değerlendirmesinden, nesnel ve tekrarlanabilir ölçümlere geçişi sağlamıştır. Morfometri, hücresel ve nükleer özelliklerin matematiksel olarak ölçülmesi ve analiz edilmesidir (Horai ve

ark., 2017). Bu teknoloji, H&E veya İHK ile boyanmış dijital slaytlar üzerinde çalışarak binlerce hücreden kantitatif veri toplayabilir.

Morfometrik analizle ölçülebilen parametreler arasında şunlar bulunur (Alizadeh ve ark., 2020):

- Boyut Parametreleri: Nükleer alan, sitoplazmik alan, hücre alanı, çevre uzunluğu.
- Şekil Parametreleri: Yuvarlaklık (roundness), en-boy oranı (aspect ratio), kompaktlık (compactness), fraktal boyut (sınır düzensizliğini ölçer).
- Doku (Texture) Parametreleri: Kromatinin yoğunluğu ve dağılımını (örneğin, entropi, homojenlik) tanımlayan istatistiksel ölçümler.
- Yoğunluk Parametreleri: Boyanma yoğunluğunun ortalama ve standart sapması (İHK kesitlerinde).

Bu nesnel ölçümler, patoloğun gözle yaptığı değerlendirmeden çok daha hassas ve tekrarlanabilir veriler sunar. Bu sayede, farklı hücre popülasyonları arasındaki ince morfolojik farklar kantitatif olarak ortaya konulabilir.

9.7.3 Hücresel Morfoloji ve KKH Belirteç Ekspresyonu Arasındaki Korelasyon

Morfometrinin en heyecan verici uygulamalarından biri, hücresel morfoloji ile altta yatan biyolojik durum arasında bir köprü kurma potansiyelidir. Çeşitli çalışmalar, spesifik morfometrik "imzaların" kanser hücrelerinin metastatik potansiyeli, tedaviye yanıtı veya kök hücre benzeri fenotipi ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Örneğin, daha metastatik olan kanser hücrelerinin, daha az metastatik olanlara göre daha büyük, daha uzun ve daha düzensiz şekilli olma eğiliminde olduğu bulunmuştur (Alizadeh ve ark., 2020).

Bu yaklaşım, KKH'lerin tanımlanmasına da uygulanabilir. Makine öğrenmesi ve yapay zeka (AI) algoritmaları, KKH belirteçleri (örneğin, CD44, ALDH1) ile boyanmış İHK kesitleri ve aynı dokunun seri H&E kesitleri kullanılarak eğitilebilir. Algoritma, İHK ile "KKH" olarak etiketlenmiş hücrelerin H&E'deki morfolojik ve morfometrik özelliklerini öğrenir. Yeterli veri ile eğitildikten sonra, bu algoritma sadece H&E kesitine bakarak KKH'lerin bulunma olasılığı yüksek olan bölgeleri tahmin edebilir (Alizadeh

ve ark., 2020).

Bu teknolojinin klinik pratiğe entegrasyonu, KKH saptama sürecini kökten değiştirebilir. H&E boyaması, her kanser biyopsisine rutin olarak uygulanan, ucuz ve evrensel bir yöntemdir. Buna karşılık, KKH belirteçleri için yapılan İHK testleri pahalıdır, standardize edilmemiştir ve rutin olarak uygulanmaz. Kantitatif morfolojik analizler ve yapay zeka, bu iki dünya arasında bir köprü kurabilir. Büyük bir veri setinde, KKH belirteçlerinin çoklu İHK haritaları ile eşleştirilmiş H&E görüntüleri kullanılarak bir derin öğrenme modeli eğitilebilir. Bu model, yeni bir H&E lamını analiz ederek, belirli bir olasılıkla hangi bölgelerin KKH açısından zengin olduğunu tahmin edebilir. Bu, patoloğun önüne H&E lamı ile birlikte yapay zeka tarafından oluşturulmuş bir "KKH sıcak nokta haritası" koyabilir. Bu harita, patoloğu doğrulayıcı İHK veya moleküler analiz için en uygun doku bloğunu veya bölgeyi seçmeye yönlendirir. Böyle bir yaklaşım, kor iğne biyopsilerindeki örneklem hatası sorununu büyük ölçüde azaltabilir ve KKH değerlendirmesini çok daha verimli ve uygun maliyetli hale getirebilir. Bu, pahalı moleküler testlere bir alternatif değil, bu testlerin en doğru ve verimli şekilde kullanılmasını sağlayan bir "triyaj" aracı olarak düşünülebilir.

9.8 Terapötik Hedefleme ve Gelecek Perspektifleri

Kanser kök hücresi hipotezi, onkoloji alanında bir devrim yaratmış ve kanserin kökeni, ilerlemesi ve tedaviye direnci hakkındaki anlayışımızı temelden değiştirmiştir. Bu bölümde ele alındığı gibi, KKH'ler artık sadece bir araştırma konusu değil, aynı zamanda histopatolojik tanının ve terapötik stratejilerin merkezinde yer alan somut bir gerçekliktir. Patolojinin rolü, bu karmaşık biyolojiyi klinik olarak anlamlı ve eyleme geçirilebilir bilgilere dönüştürmektir. Bu sonuç bölümü, KKH'leri hedef alan güncel tedavi yaklaşımlarını özetleyecek ve histopatolojik tanının bu yeni tedavi çağındaki yönlendirici rolünü ve gelecek perspektiflerini tartışacaktır.

9.8.1 KKH'leri Hedef Alan Tedavi Stratejileri

KKH'lerin tedavi direnci ve nüksten sorumlu olduğu anlaşıldığından beri, onları seçici olarak yok etmeyi amaçlayan çok sayıda terapötik strateji geliştirilmiş ve klinik çalışmalarda test edilmeye başlanmıştır. Bu stratejiler

temel olarak üç ana kategoriye ayrılabilir:

- **Doğrudan KKH Hedeflemesi:** Bu yaklaşım, KKH'lerin yüzeyinde veya içinde bulunan spesifik molekülleri hedef alır.
 - **Yüzey Belirteçlerine Yönelik Antikorlar:** CD44, CD133 ve EpCAM gibi KKH yüzey belirteçlerine karşı geliştirilen monoklonal antikorlar veya antikor-ilaç konjugatları, KKH'leri doğrudan hedefleyerek yok etmeyi amaçlar (Dragu ve ark., 2015).
 - **İmmünoterapi:** KKH'lere özgü antijenleri tanımak üzere genetik olarak tasarlanmış CAR-T hücreleri gibi hücresel immünoterapiler, KKH'leri immün sistem aracılığıyla ortadan kaldırmak için umut vaat eden bir yaklaşımdır (Walcher ve ark., 2020). CD47, KKH'lerin immün sistemden kaçmak için kullandığı bir "beni yeme" sinyalidir ve bu sinyali bloke eden anti-CD47 antikorları klinik çalışmalarda umut verici sonuçlar göstermiştir (Prager ve ark., 2019).
- **Kök Hücre Sinyal Yolaklarının İnhibisyonu:** KKH'lerin kendini yenileme ve hayafla kalma yetenekleri, Wnt, Notch ve Hedgehog gibi temel sinyal yollarına bağımlıdır. Bu yolları hedef alan küçük moleküllü inhibitörler, KKH popülasyonunu azaltmayı ve onları tedaviye daha duyarlı hale getirmeyi hedefler (Dragu ve ark., 2015). Örneğin, Hedgehog yolağı inhibitörleri (örneğin, vismodegib), bazal hücreli karsinom tedavisinde FDA onayı almıştır ve bu, bir KKH yolağını hedef alan tedavinin klinik başarısının ilk örneklerinden biridir (Dashzeveg ve ark., 2017).
- **KKH Nişinin Bozulması:** KKH'ler nişlerine bağımlı olduğundan, nişi hedef almak dolaylı ama etkili bir strateji olabilir.
 - **Anjiyogenez İnhibitörleri:** VEGF'yi hedef alan bevacizumab gibi ilaçlar, perivasküler nişi bozarak KKH'leri destek sistemlerinden mahrum bırakabilir (Dragu ve ark., 2015).
 - **Stroma Hedefli Tedaviler:** Kansere ilişkili fibroblastları (CAFs) veya ekstraselüler matriksi hedef alan tedaviler, KKH'lerin hayafla kalma sinyallerini kesintiye uğratabilir (Dashzeveg ve ark., 2017).

9.8.2 Klinik Çalışmalardaki Mevcut Durum ve Gelecek Vaat Eden Yaklaşımlar

KKH hedefli tedaviler üzerine yapılan klinik çalışmalar, bu alandaki hem büyük potansiyeli hem de önemli zorlukları ortaya koymuştur. Başlıca zorluklar arasında KKH'lerin heterojenliği, normal kök hücrelerle olan benzerlikleri nedeniyle ortaya çıkan toksisite riski ve KKH'lerin plastisite yoluyla direnç geliştirme yeteneği bulunmaktadır (Philchenkov ve ark., 2024).

Bu zorlukların üstesinden gelmek için, gelecekteki yaklaşımların kombinasyon tedavilerine odaklanması beklenmektedir. Tek başına bir KKH hedefli ajanın tümörü ortadan kaldırması olası değildir. Bunun yerine, en umut verici strateji, tümörün ana kitlesini (non-KKH'ler) hedef alan geleneksel kemoterapi veya hedefe yönelik tedaviler ile KKH popülasyonunu (tümörün "kökünü") hedef alan yeni ajanları birleştirmektir. Bu yaklaşım, hem mevcut tümör yükünü azaltmayı hem de nüks ve metastaz riskini en aza indirmeyi amaçlar.

9.8.3 Histopatolojik Tanının Kişiselleştirilmiş Tedavideki Yönlendirici Rolü

Kanser kök hücresi çağında, patoloğun rolü geleneksel sınırlarının ötesine geçmektedir. Artık görev, sadece bir tümörün adını koymak ve derecesini belirlemek değil, aynı zamanda onkoloğa hastanın tedavisine yön verecek kapsamlı bir biyolojik "yol haritası" sunmaktır. Bu yeni rol şunları içerecektir:

KKH Yükünün ve Fenotipinin Belirlenmesi: Patoloji raporları, valide edilmiş İHK belirteçleri veya gelecekte yapay zeka destekli morfolojik analizler kullanarak, bir tümördeki KKH popülasyonunun göreceli miktarını ve özelliklerini (örneğin, hangi belirteçleri eksprese ettiği) belirtmelidir. Bu bilgi, hastanın KKH hedefli bir tedaviye aday olup olmadığını belirlemede kritik olacaktır.

KKH Nişinin Karakterizasyonu: Tümör mikroçevresinin histopatolojik değerlendirmesi (örneğin, CAF yoğunluğu, hipoksi belirteçlerinin ekspresyonu, damar yoğunluğu) standart raporlamanın bir parçası haline gelmelidir. Bu, nişi hedef alan tedavilere potansiyel yanıtı öngörmeye yardımcı olabilir.

Biyopsi Yöntemlerinin Entegre Yorumu: Patolog, hem doku biyopsisinden elde edilen uzaysal ve morfolojik bilgileri hem de sıvı biyopsisinden gelen dinamik ve sistemik verileri birleştirerek bütüncül bir yorum sunmalıdır. Bu, hastalığın hem lokal hem de sistemik durumu hakkında tam bir resim sağlayacaktır.

Tedavi Yanıtının İzlenmesi: Tedavi sonrası rezeksiyon materyallerinde veya tekrarlanan biyopsilerde KKH popülasyonundaki değişikliklerin değerlendirilmesi, tedavinin etkinliğini ölçmek ve direnç mekanizmalarını anlamak için değerli bilgiler sunacaktır.

Sonuç olarak, kanser kök hücreleri, kanser biyolojisinin merkezine yerleşmiş ve onkolojik patolojinin geleceğini şekillendirmektedir. Bu hücrelerin ve nişlerinin histopatolojik olarak doğru bir şekilde tanımlanması, sınıflandırılması ve kantifiye edilmesi, kanser tedavisini reaktif bir yaklaşımdan proaktif ve kişiselleştirilmiş bir stratejiye dönüştürme potansiyeline sahiptir.

Geleceğin patoloğu, mikroskop ve moleküler araçları birleştirerek, her hastanın tümörünün en derin sırlarını açığa çıkaran ve böylece kansere karşı verilen savaşta yeni ve daha etkili silahların geliştirilmesine öncülük eden bir "tümör biyoloğu" olacaktır.

KAYNAKÇA

- Akkoç, A. N., & Toplu, N. (2016). Kanser Kök Hücreleri. *Animal Health Production and Hygiene*, 5(1), 416-422.
- Albini, A., Bruno, A., Gallo, C., Pajardi, G., Noonan, D. M., & Dallaglio, K. (2015). Cancer stem cells and the tumor microenvironment: interplay in tumor heterogeneity. *Connective tissue research*, 56(5), 414-425.
- Alizadeh, E., Castle, J., Quirk, A., Taylor, C. D., Xu, W., & Prasad, A. (2020). Cellular morphological features are predictive markers of cancer cell state. *Computers in biology and medicine*, 126, 104044.
- Barzegar Behrooz, A., Syahir, A., & Ahmad, S. (2019). CD133: beyond a cancer stem cell biomarker. *Journal of drug targeting*, 27(3), 257-269.
- Bilici, E., Akgün, EE, Akkoç, S. (2025). Comparative Evaluation of the Apoptosis Effect of a Benzimidazole-Based Compound and Cisplatin in DLD-1 and MDA-MB-231 Cell Lines. *EUROASIA* 12(1) Pages: 140-146.
- Bilici, E., Akkoç, S. (2025). Impact of a benzimidazole salt on gene expression cytotoxicity and apoptotic processes in hepg2 cell line. *Journal of King Saud University – Science*. 37 (1) 3922024.
- Calabrese, P., Tavaré, S., & Shibata, D. (2004). Pretumor progression: clonal evolution of human stem cell populations. *The American journal of pathology*, 164(4), 1337-1346.
- D'andrea, V., Guarino, S., Di Matteo, F. M., Sacc, M. M., & De Maria, R. (2014). Cancer stem cells in surgery. *Il Giornale di Chirurgia-Journal of the Italian Surgical Association*, 35(11), 257-259.
- Dashzeveg, N. K., Taftaf, R., Ramos, E. K., Torre-Healy, L., Chumakova, A., Silver, D. J., ... & Liu, H. (2017). New advances and challenges of targeting cancer stem cells. *Cancer research*, 77(19), 5222-5227. (Dashzeveg ve ark., 2017)
- Dragu, D. L., Necula, L. G., Bleotu, C., Diaconu, C. C., & Chivu-Economescu, M. (2015). Therapies targeting cancer stem cells: Current trends and future challenges. *World journal of stem cells*, 7(9), 1185.
- Goldstein, N. S., Hewitt, S. M., Taylor, C. R., Yaziji, H., Hicks, D. G., & Members of Ad-Hoc Committee On Immunohistochemistry Standardization. (2007). Recommendations for improved

- standardization of immunohistochemistry. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 15(2), 124-133.
- Gwak, H., Woo, S. S., Oh, S. J., Kim, J. Y., Shin, H. C., Youn, H. J., ... & Kim, S. H. (2023). A comparison of the prognostic effects of fine needle aspiration and core needle biopsy in patients with breast cancer: A nationwide multicenter prospective registry. *Cancers*, 15(18), 4638.
- Hakala, S., Hämäläinen, A., Sandelin, S., Giannareas, N., & Närvä, E. (2025). Detection of Cancer Stem Cells from Patient Samples. *Cells*, 14(2), 148. (Hakala ve ark., 2025)
- Hakala, S., Hämäläinen, A., Sandelin, S., Giannareas, N., & Närvä, E. (2025). Detection of Cancer Stem Cells from Patient Samples. *Cells*, 14(2), 148. (Hakala ve ark., 2025)
- He, J., Xiong, L., Li, Q., Lin, L., Miao, X., Yan, S., ... & Deng, X. (2017). 3D modeling of cancer stem cell niche. *Oncotarget*, 9(1), 1326.
- Ho, H. Y., Chung, K. S., Kan, C. M., & Wong, S. C. (2024). Liquid biopsy in the clinical management of cancers. *International journal of molecular sciences*, 25(16), 8594.
- Horai, Y., Kakimoto, T., Takemoto, K., & Tanaka, M. (2017). Quantitative analysis of histopathological findings using image processing software. *Journal of toxicologic pathology*, 30(4), 351-358.
- Hu, W. Y., Hu, D. P., Xie, L., Birch, L. A., & Prins, G. S. (2019). Isolation of stem-like cells from 3-dimensional spheroid cultures. *J Vis Exp*, 154, e60357.
- Jiang, F., Qiu, Q., Khanna, A., Todd, N. W., Deepak, J., Xing, L., ... & Katz, R. L. (2009). Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell-associated marker in lung cancer. *Molecular cancer research*, 7(3), 330-338.
- Joshi, U., Jani, D., George, L. B., & Highland, H. (2025). Cancer stem cells as a biomarker—A mini review. *Journal of Cancer Biology*, 6(1), 23-33.
- Joshi, U., Jani, D., George, L. B., & Highland, H. (2025). Cancer stem cells as a biomarker—A mini review. *Journal of Cancer Biology*, 6(1), 23-33.
- Kim, W. T., & Ryu, C. J. (2017). Cancer stem cell surface markers on normal stem cells. *BMB reports*, 50(6), 285.
- Lathia, J., Liu, H., & Matei, D. (2020). The clinical impact of cancer stem cells. *The oncologist*, 25(2), 123-131.
- Miyata, T., Oyama, T., Yoshimatsu, T., Higa, H., Kawano, D., Sekimura, A.,

- ... & Gotoh, A. (2017). The clinical significance of cancer stem cell markers ALDH1A1 and CD133 in lung adenocarcinoma. *Anticancer research*, 37(5), 2541-2547.
- Moharil, R. B., Dive, A., Khandekar, S., & Bodhade, A. (2017). Cancer stem cells: An insight. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 21(3), 463.
- Molina-Peña, R., & Álvarez, M. M. (2012). A simple mathematical model based on the cancer stem cell hypothesis suggests kinetic commonalities in solid tumor growth. *PloS one*, 7(2), e26233.
- Papaccio, F. (2020). Circulating cancer stem cells: An interesting niche to explore. *Exploration of Targeted Anti-tumor Therapy*, 1(4), 253.
- Philchenkov, A., & Dubrovskaya, A. (2024). Cancer stem cells as a therapeutic target: current clinical development and future prospective. *Stem Cells*, 42(3), 173-199.
- Plaks, V., Kong, N., & Werb, Z. (2015). The cancer stem cell niche: how essential is the niche in regulating stemness of tumor cells?. *Cell stem cell*, 16(3), 225-238.
- Prager, B. C., Xie, Q., Bao, S., & Rich, J. N. (2019). Cancer stem cells: the architects of the tumor ecosystem. *Cell stem cell*, 24(1), 41-53.
- Prieto-Vila, M., Takahashi, R. U., Usuba, W., Kohama, I., & Ochiya, T. (2017). Drug resistance driven by cancer stem cells and their niche. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2574.
- Prieto-Vila, M., Takahashi, R. U., Usuba, W., Kohama, I., & Ochiya, T. (2017). Drug resistance driven by cancer stem cells and their niche. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2574.
- Saito, S., Ku, C. C., Wuputra, K., Pan, J. B., Lin, C. S., Lin, Y. C., ... & Yokoyama, K. K. (2022). Biomarkers of cancer stem cells for experimental research and clinical application. *Journal of Personalized Medicine*, 12(5), 715. (Saito ve ark., 2022)
- Sakaguchi, T., Iketani, A., Ito, K., Nishii, Y., Katsuta, K., & Hataji, O. (2025). Comparison of PD-L1 Expression Between Preoperative Biopsy Specimens and Surgical Specimens in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers*, 17(3), 398.
- Slostad, J. A., Yun, N. K., Schad, A. E., Warrior, S., Fogg, L. F., & Rao, R. (2022). Concordance of breast cancer biomarker testing in core needle

- biopsy and surgical specimens: a single institution experience. *Cancer Medicine*, 11(24), 4954-4965.
- Thapa, R., & Wilson, G. D. (2016). The importance of CD44 as a stem cell biomarker and therapeutic target in cancer. *Stem cells international*, 2016(1), 2087204.
- Tian, H., Li, G., Zheng, J., Ding, Z., Luo, Y., Mai, S., ... & Dong, F. (2024). Comparing core needle biopsy and surgical excision in breast cancer diagnosis: implications for clinical practice from a retrospective cohort study. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 14(12), 8281.
- Torlakovic, E. E., Francis, G., Garratt, J., Gilks, B., Hyjek, E., Ibrahim, M., ... & Vyberg, M. (2014). Standardization of negative controls in diagnostic immunohistochemistry: recommendations from the international ad hoc expert panel. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 22(4), 241-252.
- Walcher, L., Kistenmacher, A. K., Suo, H., Kitte, R., Dluczek, S., Strauß, A., ... & Kossatz-Boehlert, U. (2020). Cancer stem cells—origins and biomarkers: perspectives for targeted personalized therapies. *Frontiers in immunology*, 11, 1280.
- You, K., Park, S., Ryu, J. M., Kim, I., Lee, S. K., Yu, J., ... & Lee, J. E. (2017). Comparison of core needle biopsy and surgical specimens in determining intrinsic biological subtypes of breast cancer with immunohistochemistry. *Journal of breast cancer*, 20(3), 297-303.
- Yu, X., Lin, Y., Yan, X., Tian, Q., Li, L., & Lin, E. H. (2011). CD133, stem cells, and cancer stem cells: myth or reality?. *Current Colorectal Cancer Reports*, 7(4), 253-259.
- Zannini, G., Franco, R., & Zito Marino, F. (2024). Immunohistochemistry for Cancer Stem Cell Detection: Principles and Methods. *Cancer Stem Cells: Methods and Protocols*, 19-33.
- Zheng, S., Xin, L., Liang, A., & Fu, Y. (2013). Cancer stem cell hypothesis: a brief summary and two proposals. *Cytotechnology*, 65(4), 505-512.
- Ziranu, P., Pretta, A., Aimola, V., Cau, F., Mariani, S., D'Agata, A. P., ... & Faa, G. (2024). CD44: a new prognostic marker in colorectal cancer?. *Cancers*, 16(8), 1569.

BÖLÜM 9

3 BOYUTLU HÜCRE KÜLTÜRÜ VE ANTİOKSİDAN

Bilgehan AKAR¹, Gamze Sevri EKREN AŞICI²,
Dilek CANLAR AKAR³

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213161>

¹ (Dr.), Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye E-mail: bilgehanakar@yahoo.com ORCID: 0000-0002-2734-6015

² (Dr. Öğr. Üyesi), Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye E-mail: gamze.ekren@adu.edu.tr ORCID: 0000-0002-9625-7956

³ (Dr.), Dokuz Eylül Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye E-mail: dilek.canlar@deu.edu.tr ORCID: 0000-0002-4981-8968

Hücre kültürü

Hücre kültürü, canlıdan alınan hücrelerin vücut dışında, uygun besi yeri ve kontrollü koşullar altında çoğaltılması ve incelenmesi yöntemidir. Harrison, 1900’lü yılların başlarında, kurbağa embriyolarının sinir dokusundan aldığı parçaları lenf sıvısı içinde, lam ve lamel arasında büyüterek sinir liflerinin gelişimini gözlemlemiştir. Bu yöntem, hücrelerin vücut dışında (in vitro) uzun süre yaşatılabileceğini ve gelişebileceğini gösteren ilk sistematik çalışma olarak kabul edilir (Harrison ve diğerleri, 1907). O zamandan beri yöntem geliştirilmiş ve günümüzde hücre biyolojisi, doku morfolojisi, hastalık mekanizmaları, ilaç etkileri, protein üretimi ve doku mühendisliği gibi alanlarda kullanılmaktadır. En sık, ilaçların prelinik araştırmalarında, kanser araştırmalarında ve gen fonksiyonuna yönelik çalışmalarda kullanılmaktadır (Ravi ve diğerleri 2015).

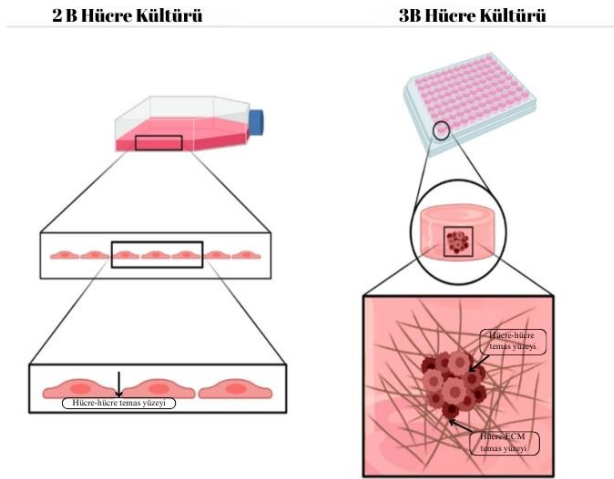
İki boyutlu (2B) hücre kültürü, dünya genelindeki binlerce laboratuvarında yaygın olarak kullanılan rutin bir tekniktir. Ancak bu yöntem, bir dokunun karmaşık anatomik ve fizyolojik özelliklerini yansıtmakta yetersiz kalmakta; bu nedenle 2B kültür sistemleri, günümüzde fizyolojik modelleme açısından sınırlı temsil gücüne sahip olarak değerlendirilmektedir. Bu sınırlamaları aşmak amacıyla geliştirilen üç boyutlu (3B) hücre kültürü sistemleri, hücrelerin doğal mikroçevresine daha yakın koşullarda büyümesini sağlar. Bu bağlamda, araştırmacılar 2B ve 3B kültür tekniklerinin avantaj ve dezavantajlarını karşılaştırarak hangi yöntemin belirli bir çalışma amacı için daha uygun olduğunu belirlemeye yönelmiştir. Aşağıda, iki sistem arasındaki temel yapısal ve fonksiyonel farklılıklar özetlenmektedir.

2B hücre kültürü

2B hücre kültürlerinin avantajları arasında, basit ve düşük maliyetli bir şekilde sürdürülebilmeleri ve çeşitli fonksiyonel testlerin kolaylıkla uygulanabilmesi yer alır. Ancak adherent hücre kültürlerinin önemli sınırlılıkları vardır. Vücuttaki hücreler doğal olarak üç boyutlu (3B) bir mikroçevrede bulunur ve bu yapı, metabolik süreçler ile hücresel büyüme açısından kritik öneme sahiptir. Buna karşın, 2B kültürlerde hücreler genellikle kültür flasksında veya düz bir petri kabında plastik yüzeye tutunarak tek katmanlı (monolayer) olarak gelişir (Kapałczyńska ve diğerleri, 2018) (Şekil 1). Bu durum, in vivo koşullardan uzak, yapay bir kültür ortamı ortaya çıkarır. Bu koşulların bazı sonuçları vardır. 2B kültürlerde hücreler ortamdaki oksijen,

besin, metabolit ve sinyal moleküllerine doğrudan ve sınırsız şekilde erişebilir (Tablo 1). Oysa 3B kültürlerde ve in vivo ortamda, özellikle tümör dokularında, bu maddelerin dağılımı doku yapısına bağlı olarak sınırlı ve heterojendir (Derda ve diğerleri, 2007). Ayrıca, 2B kültürler hücre–hücre ve hücre–ekstrasellüler matriks (ECM) etkileşimlerinden büyük ölçüde yoksundur. Bu durum hücrelerin apikal–bazal polaritesini kaybetmesine neden olur ve farklılaşma, proliferasyon, canlılık, gen ve protein ekspresyonu, ilaç metabolizması ile hücresel yanıtlar gibi temel biyolojik süreçleri doğrudan etkiler. Bu etkileşimler hücre farklılaşması, proliferasyonu, canlılığı, gen ve protein ekspresyonu, uyarılara yanıt, ilaç metabolizması ve diğer birçok hücresel fonksiyon açısından belirleyici öneme sahiptir (Breslin ve O’Driscoll 2013; Kapałczyńska ve diğerleri, 2018).

2B koşullara aktarıldığında hücrelerin morfolojisi ve bölünme biçimi değişikliğe uğrar. Hücre yapısındaki bu değişimler, fonksiyonlarını, hücre içi organellerin organizasyonunu, sekresyon mekanizmalarını ve sinyal iletim yollarını doğrudan etkileyebilir. Ayrıca dış çevreyle etkileşimlerin bozulması sonucu yüzeye tutunarak büyüyen hücreler apikal-bazal polaritelerini kaybeder. Apoptozun moleküler temelini anlamak, kanser araştırmalarında önemli bir hedeftir (Bilici ve diğerleri, 2025). Bu durum ise apoptoz gibi biyolojik süreçlere verilen yanıtların farklılaşmasına yol açar (Yonemura, 2014; Duval ve diğerleri 2017; Kapałczyńska ve diğerleri, 2018).



Şekil 1. İki boyutlu (2B) ve üç boyutlu (3B) hücre kültürü modellerinin temel farkları

Ayrıca, 2B sistemin hücrede gen ekspresyonunu, genetik splicing süreçlerini, hücresel topolojiyi ve biyokimyası değiştirdiği gözlemlenmiştir (Edmonson ve diğerleri, 2014; Kapałczyńska ve diğerleri, 2018). Örneğin 3B kültürlerde, protein kinaz B (AKT), mTOR ve S6K sinyal yollarının aktivitesi 2B kültürlerle kıyasla daha düşüktür. Bu modeller, AKT–mTOR–S6K veya MAPK yollarının inhibisyonuna karşı 2B modellere göre daha güçlü antitümör yanıt göstermektedir. Ayrıca, AKT–mTOR–S6K inhibisyonu 2B kültürde ERK fosforilasyonunu artırırken, 3B kültürde ERK sinyalini azaltmaktadır (Reidl ve diğerleri 2017).

2B sistemin bir diğer sınırlılığı, genellikle monokültür yaklaşımıyla yalnızca tek hücre tipinin incelenmesine olanak tanımasıdır. Oysa 3B kültürlerde homotipik sferoidlerin yanı sıra fibroblast, endotelial veya immün hücrelerle birlikte heterotipik sferoidler oluşturulabilir. Bu, tümör mikroçevresindeki hücreler heterojenliği daha gerçekçi şekilde modelleme imkânı sunar (Lamberti ve diğerleri, 2017; Franchi-Mendes ve diğerleri., 2021). Hücrelerin birbirine yakın temas halinde büyümesi, in vivo tümörlerde gözlenen fiziksel etkileşimlerin ve sinyal yollarının yeniden ortaya çıkmasını sağlar (Costa ve diğerleri, 2016).

Sonuç olarak, 2B kültürlerin sınırlılıkları göz önünde bulundurulduğunda, 3B modeller hem 2B sistemler hem de hayvan deneyleri arasında köprü görevi gören değerli bir ara model olarak öne çıkmaktadır (Jensen ve Teng, 2020; Jubelin ve diğerleri, 2022).

Tablo 1. 2B ve 3B Hücre Kültürü Sistemlerinin Karşılaştırılması

Özellik	2B Hücre Kültürü	3B Hücre Kültürü
Maliyet ve pratiklik	Düşük maliyetli, uygulanabilir ve edilebilir	kolay analiz Daha pahalı, teknik olarak daha karmaşık, zaman alıcı
Kültür ortamı	Düz plastik yüzey (Petri kabı, kültür flaskı)	Jel benzeri ortam, iskele yapılar veya süspansiyon sistemleri
Kültür süresi	Genellikle birkaç saat içinde kültür oluşur	Oluşum süresi birkaç saatten birkaç güne kadar sürebilir
Yapı	Tek katmanlı (monolayer), iki boyutlu	Çok katmanlı, üç boyutlu doku benzeri yapı
Hücre-hücre hücre-çevre etkileşimi	Sınırlı etkileşim, doğal mikroçevre ve niş yapısı eksik	Hücre-hücre ve hücre-ECM etkileşimleri doğal dokuya benzer şekilde sağlanır
Morfoloji ve fenotip	Hücre morfolojisi ve bölünme şekli değişebilir; polarite ve fenotip çeşitliliği azalır	Morfoloji ve polarite korunur; hücreler farklılaşma özelliklerini sürdürebilir
Fizyolojik yeteneği	Doku veya tümör yapısını taklit etmez	In vivo doku mimarisine yakınlık sağlar
Oksijen ve besin erişimi	Ortam bileşenlerine sınırsız erişim; bu durum in vivo ortamı yansıtmaz	Oksijen ve besin maddelerine erişim sınırlı ve heterojendir; in vivo durumu taklit eder
Gen ekspresyonu ve biyokimya	Gen ekspresyonu, mRNA splicing ve hücre biyokimyası doğal durumdan sapabilir	Gen ekspresyon profili, sinyal yolları ve metabolik aktivite in vivo ile daha uyumludur
İlaçlara duyarlılık	Genellikle daha yüksek ilaç duyarlılığı; ancak gerçekçi değildir	İlaçlara karşı daha dirençlidir; in vivo ilaç yanıtını daha doğru yansıtır
İşinlamaya yanıt	DNA hasarı daha kolay oluşabilir	Heterokromatin yapısı nedeniyle DNA daha korunur; işinlamaya karşı direnç gelişebilir
Ko-kültür	Genellikle monokültür ancak heterojen yapı sınırlı şekilde elde edilir	Farklı hücrelerden oluşan alan sferoidler oluşturulabilir

3B Hücre kültürü

Üç boyutlu (3B) hücre kültürü, hücrelerin doğal mikroçevresini taklit etmeyi amaçlayan modern bir in vitro modeldir. Bu sistemlerde hücreler, birbirleriyle ve ekstrasellüler matriks (ECM) ile çok boyutlu etkileşimler kurarak in vivo koşullara daha yakın bir organizasyon oluştururlar. 3B kültürlerde hücreler proliferasyon, farklılaşma, sinyal iletimi ve metabolik aktiviteler açısından daha fizyolojik tepkiler sergiler. Bu nedenle 3B modeller, özellikle kanser araştırmaları, doku mühendisliği ve ilaç geliştirme çalışmalarında, 2B sistemlere kıyasla daha güvenilir ve gerçekçi sonuçlar sağlar. Ayrıca, 3B kültürlerin geliştirilmesi, dokular ve organların in vivo etkileşimlerinin modellenmesine, biyokimyasal ve biyomekanik sinyallerin ayrıntılı biçimde incelenmesine olanak tanımıştır (Kapalczyńska ve diğerleri, 2016; Duval ve diğerleri, 2017; Abuwatfa ve diğerleri, 2024).

Tüm 3B kültür ihtiyaçlarını karşılayacak tek bir teknoloji bulunmadığından, bu amaçla farklı teknikler geliştirilmiştir. 2B kültürlerde ECM'in rolü büyük ölçüde göz ardı edilirken, 3B modeller ECM'in geometrik, mekanik ve biyokimyasal özelliklerini yeniden oluşturur. Bu sayede farklı hücre tipleri doğal doku yapısına benzer şekilde bir araya gelerek tümör büyümesi, metastaz mekanizmaları ve ilaç yanıtlarının araştırılmasına imkân tanır. Özellikle primer insan hücrelerinin kullanıldığı ve fizyolojik açıdan anlamlı bileşenler içeren 3B sistemler, gen fonksiyonu ve hücre fenotipine dair analizlerde daha güvenilir bulgular sunmaktadır. 3B kültürler iskele-temelli (doğal veya sentetik biyomalzemeler) ya da iskele-bağımsız (ör. sferoidler) olabilir. Ancak her hücre tipi tüm yöntemlere aynı şekilde uyum sağlamadığından, model seçiminde hücre tipi, mikroçevre özellikleri ve kültür koşullarının dikkatle değerlendirilmesi gerekir (Edmondson ve diğerleri, 2014; Antoni ve diğerleri, 2015; Duval ve diğerleri, 2017).

3B hücre kültürü sistemlerinin sağladığı avantajların giderek daha iyi anlaşılması, bu alandaki teknolojilerin geliştirilmesine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Günümüzde hücre biyolojisi, mikroüretim teknikleri ve doku mühendisliğinin birleşimiyle; sferoid modelleri (sıvı örtü yöntemi, hanging drop tekniği), hidrojel tabanlı sistemler, biyoreaktörler, biyoyazıcı teknolojileri ve iskele temelli yaklaşımlar gibi farklı platformlar geliştirilmiştir. Her bir yöntemin kendine özgü avantajları ve sınırlılıkları vardır (Tablo X). Ortak

amaç, hücrelerin morfolojik, fonksiyonel ve mikroçevresel özelliklerini in vivo koşullara en yakın şekilde modellemektir.

Bununla birlikte, 3B hücre kültürlerinin çeşitli avantajlarının yanında bazı önemli dezavantajları da bulunmaktadır. Öncelikle, sferoid veya organoidlerden tek hücre elde etmek için proteolitik enzimler kullanılmak zorundadır; bu süreç saatler hatta günler sürebilir. Ayrıca kültür sürecinde ortam değişimi, besin eklenmesi ve atık uzaklaştırma işlemleri, 2B kültürlerle kıyasla çok daha zordur (Breslin ve O'Driscoll, 2013; Antoni ve diğerleri, 2015).

Tekrarlanabilirlik de önemli bir sorundur. Sferoidlerin boyut ve şekilleri her zaman homojen değildir; bu durum hem standartlaştırmayı zorlaştırır hem de aynı koşullarda farklı hücre tiplerinin farklı davranışlar göstermesine neden olabilir (Kapałczyńska ve diğerleri., 2018).

Bir diğer önemli sınırlılık maliyet ve ekipman gereksinimidir. Hidrojeller, biyoyazıcılar, biyoreaktörler veya manyetik levitasyon sistemleri gibi özel cihazlar gerekebilir. Ayrıca Matrigel gibi ECM kaynaklı biyolojik ürünler oldukça pahalıdır ve partiler arası bileşim farklılıkları deney sonuçlarını etkileyebilir (Edmondson ve diğerleri, 2014).

Analiz süreçleri de daha karmaşıktır. Hücrelerin üç boyutlu yapılar içinde bulunması, görüntüleme, immün boyama ve ilaç penetrasyonu gibi analizleri zorlaştırır; floresan işaretleme ve kantitatif ölçümler 2B kültürlerle göre daha zaman alıcı ve karmaşık hale gelir (Breslin ve O'Driscoll, 2013).

Ayrıca 3B kültürler genellikle 2B kültürlerle kıyasla daha kısa ömürlüdür, daha fazla iş yükü ve teknik beceri gerektirir (Antoni ve diğerleri, 2015). Biyolojik sınırlılıklar da vardır. Örneğin damar yapısının bulunmaması nedeniyle besin ve oksijen difüzyonu sınırlıdır; bu durum özellikle merkez bölgelerde hipoksi ve nekroza yol açabilir. Ayrıca bazı hücre hatları 3B ortama uyum sağlayamaz ya da sferoid oluşturmak için mutlaka ECM desteğine ihtiyaç duyar (Kapałczyńska ve diğerleri, 2018; Edmondson ve diğerleri, 2014).

Bu avantajlar ve sınırlılıkların ışığında, araştırmacılar farklı amaç ve hücre tipleri için çeşitli 3B kültür teknikleri geliştirmiştir. Her bir yöntem; kullanılan altyapı, hücre tipi ve deneysel hedeflere göre farklı avantajlar ve zorluklar sunar. Bu nedenle uygun tekniğin seçimi, hem elde edilecek biyolojik verilerin güvenilirliği hem de deneysel modelin fizyolojik geçerliliği açısından kritik öneme sahiptir. Aşağıda, günümüzde en sık kullanılan 3B hücre kültürü yaklaşımlarının temel prensipleri, avantajları ve sınırlılıkları özetlenecektir.

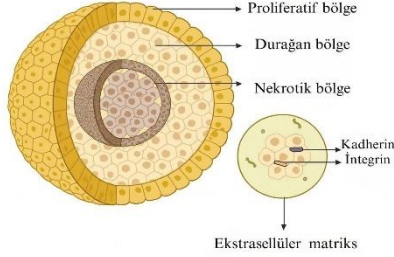
3B hücre kültürü teknikleri

1970’lerde 3B kültür teknolojisinin ortaya çıkışından bu yana, dokuların ve organların morfolojik, fonksiyonel ve mikroçevresel özelliklerini yeniden oluşturmak amacıyla birçok kültür modeli geliştirilmiştir. Bu süreçte çok hücreli sferoidler, organoidler ve organ-on-chip sistemleri gibi yaklaşımlar; iskeleler, hidrojeller, biyoyazıcı teknolojileri ve sıvı ortam temelli yöntemlerle birlikte geliştirilmiştir (Fang ve Eglen, 2017). Tüm bu teknolojiler, 3B sistemlerde iki ana grupta sınıflandırılmaktadır: 1) iskelesiz modeller ve 2) iskeleye dayalı modeller (Fontoura ve diğerleri, 2020; Jensen ve Teng, 2020; Verjans ve diğerleri, 2018).

İskelesiz 3B modellerde hücreler statik veya dinamik düzeneklerde kültüre edilebilir (Verjans ve diğerleri, 2018). Statik sistemlere örnek olarak hanging drop yöntemi, manyetik levitasyon ve çok düşük adezyon sağlayan kaplamalara sahip mikropalaklar verilebilir (Jensen ve Teng, 2020; Verjans ve diğerleri, 2018). Dinamik sistemlerde ise ek olarak kültür ortamının çalkalanması, döndürülmesi, sallanması veya akış sağlanması söz konusudur (Verjans ve diğerleri, 2018). İskele içeren modellerde ise hidrojel substratlar, polimerik sert materyaller, hidrofilik cam lifler ve organoidler kullanılmaktadır (Jensen ve Teng, 2020). İskele, hücrelerin göç edebildiği ve çoğalabildiği, doğal ECM’e benzer biyolojik olarak aktif bir hücreler arası etkileşim nişi sunar (Verjans ve diğerleri, 2018). Günümüzde en popüler 3B hücre kültürü modelleri sferoidler, organoidler ve organ-on-chip sistemleridir.

Sferoidler, dış matrikse ihtiyaç duymadan büyüyeabilen, küresel biçimde organize olmuş hücre agregatlarıdır (Şekil 2). Bu yapılar, kendiliğinden yapılanma özellikleri ve yüksek kendini yenileme kapasiteleriyle tanımlanırlar (Torras ve diğerleri, 2018). En önemli avantajları, *in vivo* tümörlerde gözlenen oksijen, besin, sinyal ve metabolit gradyanlarını yeniden oluşturarak heterojen hücre popülasyonlarının gelişmesine uygun bir mikroçevre sunmalarıdır (Fang & Eglen, 2017; Nunes ve diğerleri, 2018). Solid tümörlerde olduğu gibi sferoidler de katmanlı bir organizasyona sahiptir: dış tabakada oksijen ve besine kolay erişim sayesinde proliferatif hücreler yer alırken, daha iç bölgelerde besin ve oksijen azalması sonucu hücreler durgun veya yaşlanmış bir fenotipe geçer; merkezde ise hipoksi ve yetersiz beslenmeye bağlı nekrotik hücreler bulunur (Nunes ve diğerleri, 2018). Bu gradyanlar sonucunda laktat birikimi, pH düşüşü ve asidik bir mikroçevre ortaya çıkar; bu durum Warburg etkisinin *in vitro*

olarak taklit edilmesine olanak verir (Fang & Eglen, 2017; Nunes ve diğerleri, 2018). Hipoksik ve nekrotik çekirdekleriyle tümörlerin heterojen yapısını yansıtmaları, sferoidlerin onkoloji araştırmalarında yaygın olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Ryu ve diğerleri, 2019).



Proliferatif bölge: O₂ ve besinlerden zengin. pH yüksek.

Durağan bölge: O₂, CO₂ ve besinler orta düzeyde. pH ortalama seviyede.

Nekrotik bölge: O₂ ve besinler düşük düzeyde. pH düşük, CO₂ yüksek.

Şekil 2. Sferoid yapısı (Garnique ve diğerleri, 2024)

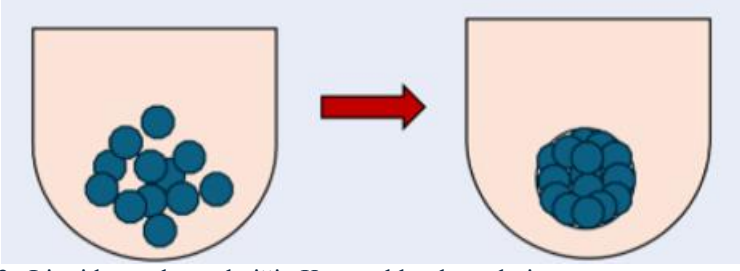
Organoidler, organ ve dokuların özgül mikroadatomisini yansıtan, kök veya progenitör hücrelerden türeyen yüksek derecede organize üç boyutlu yapılardır. Bu modeller, *in vivo* ortamda gözlenen mekânsal organizasyona ve hücresel çeşitliliğe benzer özellikler sergiler (Alhaque ve diğerleri, 2018; Corró ve diğerleri, 2020; Günther ve diğerleri, 2019). Organoidler, sferoidlerden farklı olarak büyümeleri için bir dış matris desteğine gereksinim duyar (Fang & Eglen, 2017; Torras ve diğerleri, 2018). Organoid kültürünün geliştirilmesinde feeder-layer ile yapılan kokültürler, sıvı–hava arayüzü teknikleri ve *embryoid body* (embriyonik cisim) oluşumu gibi yöntemler yaygın biçimde kullanılmaktadır (Sośniak & Opiela, 2018). Ayrıca organoidler, uzun süreli kültürlerde dokuya özgü fonksiyonlarını koruyabilmeleri ve hastadan elde edilen örneklerle kişiselleştirilmiş tıp araştırmalarına imkân tanımları nedeniyle kanser biyolojisi, rejeneratif tıp ve ilaç geliştirme çalışmalarında güçlü modeller olarak öne çıkmaktadır (Corró ve diğerleri, 2020; Günther ve diğerleri, 2019).

Sferoidler ve organoidler, 3B hücre kültürü yaklaşımlarının en bilinen örnekleridir; ancak bu modellerin elde edilmesinde kullanılan teknikler farklılık göstermektedir. Bir sonraki bölümde, 3B hücre kültürü için kullanılan başlıca teknikler ve temel özellikleri özetlenecektir.

İskelesiz Yöntemler

Liquid overlay kültürü

Liquid overlay tekniği, 3B hücre kültürü teknikleri arasında en basit ve en yaygın kullanılan yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu teknikte hücre kültürü yüzeyi, agar, agaroz veya matrigel gibi inert bir substratın ince tabakası ile kaplanır. Böylece hücrelerin yüzeye tutunması engellenir ve hücreler, yalnızca birbirleriyle olan hücre–hücre etkileşimleri sayesinde kümeleşerek sferoid yapılarını oluşturur (Şekil 3). Hücrelerin bu şekilde üç boyutlu organizasyon kazanması, in vivo tümörlerde görülen hücresel düzeni ve mikroçevre etkileşimlerini daha iyi yansıtır. Yöntemin en önemli avantajları düşük maliyetli olması, herhangi bir özel ekipmana ihtiyaç duymaması ve yüksek derecede tekrarlanabilirlik sağlamasıdır. Ayrıca farklı hücre tiplerinin birlikte kültüre edilmesine olanak tanınması nedeniyle ko-kültür çalışmalarında da kullanılabilir. Bununla birlikte, geleneksel yöntemde oluşan sferoidlerin sayısı ve boyutlarının tam olarak kontrol edilmesi güçtür ve bu durum yöntemin sınırlılıklarından biri olarak kabul edilmektedir. Bu soruna çözüm olarak ultra-low attachment (çok düşük adezyon özelliğine sahip) plaklar geliştirilmiş ve ticari kullanıma sunulmuştur. Bu plakların her bir kuyucuğu, hücrelerin yüzeye tutunmasını önleyen hidrofilik polimer tabakası ile kaplanmıştır. Böylece manuel kaplama ihtiyacı ortadan kaldırılmış, her kuyucukta yalnızca bir sferoid oluşması sağlanmış ve yöntem, orta ölçekli tarama çalışmalarına uygun hale getirilmiştir. Tüm bu özellikleriyle liquid overlay kültürü hem basitliği hem de etkinliği nedeniyle, 3B hücre kültürü araştırmalarında sıkça tercih edilen güvenilir bir yöntemdir (Jubelin ve diğerleri, 2022; Habanjar ve diğerleri, 2021).

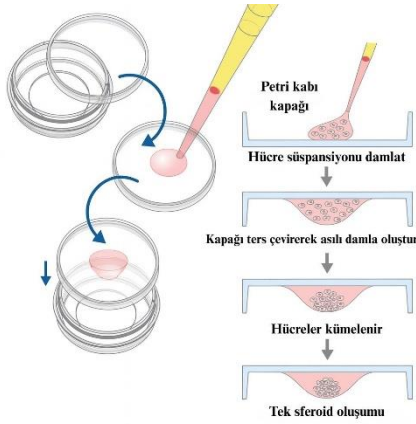


Şekil 3. Liquid overlay tekniği. Kuyucuklar hücrelerin tutunmasını engelleyen bi materyal ile kaplı kuyucuklara ekilir ve bir süre sonra hücreler birbirine tutunarak sferoid formasyonu oluştururlar.

Asılı damla (Hanging drop) yöntemi

Hanging drop tekniği, üç boyutlu hücre kültüründe kullanılan en eski ve en yaygın yöntemlerden biridir. İlk olarak Johannes Holtfreter tarafından 1944 yılında embriyonik hücrelerin kültüründe geliştirilmiş, daha sonra çok hücreli sferoidlerin elde edilmesine olanak tanıyan iskele-bağımsız modellerin temelini oluşturmuştur (Chaicharoenaudomrung ve diğerleri, 2019). Yöntemin temel prensibi, yüzey gerilimi ve yerçekimi kuvvetinden yararlanarak hücrelerin damlacık formunda bir araya gelmesini sağlamasıdır. Kültür için hazırlanan hücre süspansiyonu küçük hacimlerde (genellikle 15–30 μL) Petri kabının kapağına veya özel olarak tasarlanmış kültür plaklarına damlatılır. Kapak ters çevrildiğinde, yüzey gerilimi sayesinde damlacıklar yüzeye tutunur ve düşmeden asılı kalır. Hücreler, yerçekiminin etkisiyle damlanın en alt ucunda birikir; burada hücre-hücre etkileşimleri yoğunlaşır ve zamanla kompakt sferoidler meydana gelir (Şekil 4). Bu yöntem birçok hücre hattına uygulanabilen, basit, ucuz ve özel ekipman gerektirmeyen bir tekniktir (Mitrakas ve diğerleri, 2023). Her bir damlacıkta tek bir sferoid oluşması boyut ve şekil açısından homojenlik sağlarken, hücre yoğunluğu ve damla hacmi değiştirilerek sferoid büyüklüğü kolayca kontrol edilebilir. Ancak, hanging drop tekniğinde damlacık hacmi yaklaşık 50 μL ile sınırlıdır; daha fazla hacim damlanın düşmesine neden olabilir (Chaicharoenaudomrung ve diğerleri, 2019). Ayrıca kültür süresince ortam değişimi sırasında pipetleme işlemi, damlacığın bütünlüğünü bozarak sferoid kaybına yol açabilir. Bu sınırlılıklara rağmen yöntem, kompakt ve fizyolojik açıdan anlamlı sferoidler üretmesi nedeniyle ilaç taramalarından tümör biyolojisi çalışmalarına kadar pek çok alanda tercih edilmektedir (Chaicharoenaudomrung ve diğerleri, 2019). Hanging drop tekniğinin ölçeklenebilirliğini artırmak için farklı ticari

platformlar geliştirilmiştir. Örneğin, 384 kuyucuklu özel plaklar aracılığıyla tek bir plaka üzerinden çok sayıda sferoid üretimine imkân tanınmıştır (Tung ve diğerleri, 2011). Bir diğer sistemde ise hücre ekimi ve ortam değişimini kolaylaştıran hanging drop plaklar kullanılır. Bu yöntemin özgün yanı, kültür plakasının altına yerleştirilen “trap plate”tir. Fazla besiyeri eklendiğinde ağırlaşan damlacıklar bu tabladaki kuyucuklara düşer ve yüzeye yapışmadan süspansiyon halinde korunur. Böylece sferoidler standartlaştırılabilir ve uzun süre korunabilir (Breslin & O’Driscoll, 2013).

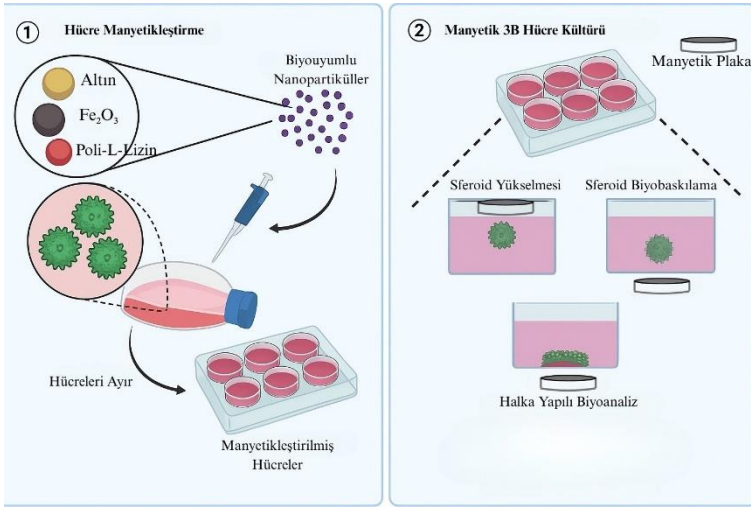


Şekil 4. Asılı damla tekniği

Magnetik Kaldırma (Magnetic levitation)

Manyetik nanopartiküller aracılığıyla hücrelerin üç boyutlu kültürü ilk olarak Souza ve diğerleri (2010) tarafından tanımlanmıştır. Bu yöntemde hücreler manyetik nanopartiküllerle kaplanarak manyetize edilir ve neodimyum mıknatısların etkisiyle yüzeye doğru çekilerek, hücre-hücre ve hücre-ECM etkileşimleri sonucunda sferoidler oluştururlar (Şekil 5). Bu sistem, yapay iskele veya özel besiyeri gerektirmeden kompakt 3B yapılar elde edilmesini sağlar ve uzun süreli kültürler için olanak tanır. Sonraki çalışmalar bu yöntemi geliştirerek, manyetik biyoyazıcılarla ölçeklenebilir sferoid üretimini ve halka biçiminde agregatların oluşturulmasını mümkün kılmıştır. Manyetik 3B (m3D) modellerle elde edilen kültürler, hücre canlılığını uzun süre korurken, tümör mikroçevresinde gözlenen hipoksi, nekroz, anjiyogenez ve ilaç direnci gibi patofizyolojik özellikleri de başarıyla taklit edebilmektedir (Caleffi ve diğerleri, 2021).

Ancak yöntemin bazı sınırlılıkları da vardır: Özel ekipman gereksinimi nedeniyle maliyet yüksektir; güçlü manyetik alanların hücre davranışlarını etkileyebileceği bildirilmiştir. Ayrıca demir oksit nanopartiküller kültürü kahverengiye boyayarak görüntülemeyi kolaylaştırırsa da, bazı deneysel uygulamalarda dezavantaj oluşturabilmektedir. Bunun yanı sıra, hücrelerin tamamı nanopartiküllere bağlanmadığında bir kısmı levite olamayarak plakanın dibine çökebilmektedir. Bu tür sınırlılıklar, literatürde m3D modeller için en sık tartışılan kısıtlamalar arasındadır (Caleffi ve diğerleri, 2021).

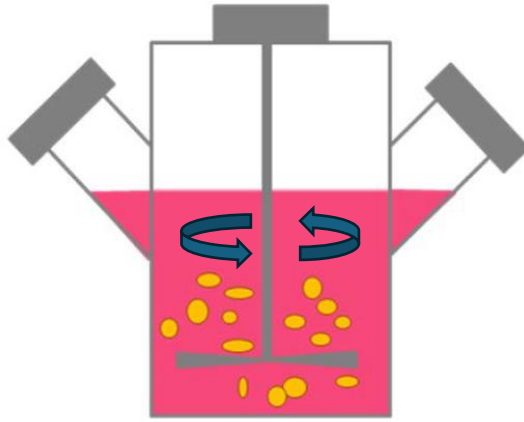


Şekil 5. Manyetik kaldırma tekniği

2.1.3. Rotasyonel hücre kültürleri

Sferoid üretiminde kullanılan yöntemlerden biri, çalkalayıcı veya döner düzeneklere sahip şişelerde gerçekleştirilen hücre kültürleridir. Bu koşullarda hücreler yüzeye tutunamaz, birbirleriyle etkileşerek agregatlar oluşturur ve öz-düzenlenme yoluyla sferoid yapılarına dönüşür. Yöntem, büyük ölçekli üretim için oldukça basit olmakla birlikte; kültürlerin uzun süre sürdürülememesi, sferoid boyutlarında heterojenlik ve hücrelerin mekanik hasara uğrama riski gibi dezavantajlara sahiptir (Velasco ve diğerleri, 2020; Jubelin ve diğerleri, 2022). Agitasyon temelli yöntemler iki grupta incelenir. Bunlar Spinner flask biyoreaktörleri ve rotasyonel kültür sistemleridir. Spinner flask biyoreaktörleri, hücre süspansiyonunun karıştırıcı çubuk aracılığıyla sürekli hareket halinde tutulduğu basit düzeneklerdir. Bu sayede hücreler kaba yapışmaz, hücre-hücre etkileşimleriyle sferoidler meydana gelir

(Şekil 6). Yöntem, çok sayıda sferoid üretimine uygun olup besi yerinin kolayca değiştirilmesine imkân tanır. Ayrıca sıvının hareketi besin taşınımını ve atık uzaklaştırılmasını kolaylaştırır (Jubelin ve diğerleri, 2022). Bununla birlikte, karıştırıcı çubuğun hareketi hücrelere shear (kayma) kuvveti uygulayarak fizyolojilerini bozabilir; kullanılan ortam hacmi oldukça fazladır (100–300 mL) ve oluşan sferoidler genellikle heterojen boyutlardadır. Bu nedenle, homojen boyut elde etmek için ek aşamalara ihtiyaç duyulabilir (Velasco ve diğerleri, 2020).



Şekil 6. Rotasyonel temelli 3B kültür (Bialkowska ve diğerleri, 2020)

Rotasyonel kültür biyoreaktörleri ise spinner flask'lere benzer şekilde çalışır; ancak hücreleri karıştırmak için çubuk yerine kültür kabının kendisi yatay ekseninde döner. NASA tarafından geliştirilen Rotating Wall Vessel (RWV) sistemi, mikrogravite koşullarını taklit ederek hücrelere daha düşük shear kuvveti uygular. Bu sayede daha büyük ve homojen sferoidler elde edilebilir. Kültür odasının dönüş hızı, hücrelerin süspansiyonda dengede kalabilmesi için ayarlanır. Yöntem uzun süreli kültürlere ve büyük ölçekli üretime uygundur; ancak özel ekipman gerektirmesi maliyeti artırır ve homojen boyut için ek işlemler yine gerekebilir (Phelan ve diğerleri, 2019; Breslin & O'Driscoll, 2013; Bialkowska ve diğerleri, 2020).

Tablo 2. Farklı üç boyutlu hücre kültürü yöntemlerinin avantajları, dezavantajları ve araştırma aşamaları (Chaicharoenaudomrung ve diğerleri, 2019; Mittrakas ve diğerleri, 2023; Souza ve diğerleri, 2010; Caleffi ve diğerleri, 2021; Velasco ve diğerleri, 2020; Jubelin ve diğerleri, 2022; Phelan ve diğerleri, 2019; Breslin & O'Driscoll, 2013; Antoni ve diğerleri, 2015; Edmondson ve diğerleri, 2014; Tibbitt & Anseth, 2009; Caliri & Burdick, 2016; Huh ve diğerleri, 2011; Bhatia & Ingber, 2014; Murphy & Atala, 2014; Mandrycky ve diğerleri, 2016).”

Teknik	Avantajlar	Dezavantajlar	Araştırma Aşaması
Süspansiyon kültürler ve Hanging drop yöntemi	(1) Kullanımı kolay protokol (2) Ekstra malzeme gerektirmez (3) Hızlı ve tutarlı sferoid oluşumu; boyut kontrolü sağlanabilir (4) Ko-kültür imkânı (5) Saydamlık (6) Yüksek tekrarlanabilirlik (7) Düşük maliyet (8) Görüntüleme/örnek toplama kolaylığı	(1) Destek veya gözeneklilik yok (2) Sınırlı esneklik (3) Sınırlı sferoid boyutu (4) Hücre soylarında heterojenlik (5) Matriks etkileşiminin olmaması (6) Bazı hücre hatları için özel ekipmanlar gerekebilir (7) Ortamdaki hücre hareketleri sonucu hücre agregatları oluşur.	(1) Temel araştırma (2) İlaç keşfi (3) Kişiselleştirilmiş tıp
Magnetik levitasyon	(1) Hücrelerin öz-düzenlenmesini ve ECM üretimini destekler (2) Gerçek zamanlı hücre yanıtlarının takibini sağlar (4) Farklı hücre tipleriyle ko-kültür imkânı (5) Hasta hücrelerinden kişiselleştirilmiş kültürler oluşturulabilir	(1) Özel ekipman ve aksesuar gerektirdiğinden maliyetlidir (2) Güçlü manyetik alanlar hücre davranışlarını etkileyebilir (3) Demir oksit nanopartiküller kültürü kahverengiye boyar; bazı uygulamalarda dezavantajdır (4) Hücrelerin tamamı nanopartiküllere bağlanmayabilir	(1) Temel araştırma (2) Onkoloji araştırmaları (3) Kişiselleştirilmiş tıp (4) İleri hücre biyolojisi çalışmaları
Spinner flask biyoreaktörler	(1) Basit düzenek, büyük ölçekli üretime uygun (2) Besin ve atık taşınımını kolaylaştırır (3) Uzun süreli kültür yapılabilir (4) Ortam değişimi kolaydır	(1) Karıştırıcı çubuk hücrelere shear kuvveti uygular, zarar verebilir (2) Yüksek besi yeri ihtiyacı (100–300 mL) (3) Farklı boyutlarda sferoid oluşur, homojenlik için manuel seçim gerekir	(1) Temel araştırma (2) Uzun süreli hücre kültürü (3) Büyük ölçekli sferoid üretimi (4) Doku

Teknik	Avantajlar	Dezavantajlar	Araştırma Aşaması
		(4) İlaç taraması için ek aktarma basamakları gerektirir	mühendisliği ön çalışmaları
Rotasyonel biyoreaktör (RWV, NASA sistemi)	(1) Düşük shear kuvveti sayesinde hücrelere daha az zarar verir (2) Daha büyük ve homojen sferoidler oluşturur (3) Mikrograviteyi taklit ederek fizyolojik koşullara daha yakın ortam sağlar (4) Uzun süreli kültüre ve büyük ölçekli üretime uygundur	(1) Özel ekipman gerektirir, maliyetlidir (2) Hücre sayısı ve sferoid boyutu kontrol edilemez (3) Homojen boyutlu sferoid için ek ön kültür basamakları gerekir	(1) Temel araştırma (2) Kanser biyolojisi çalışmaları (3) Uzun Uzun biyolojisi ve mikrogravite araştırmaları (4) Doku mühendisliği ve rejeneratif tıp
İskeleli Teknik (polimer, seramik, cam fiber vb.)	(1) İstenen özellikler için çok çeşitli materyal kullanılabilir (2) Özelleştirilebilir (3) Ko-kültür imkânı (4) Yüksek maliyet	(1) İskeleler arasında farklılık olabilir (2) Saydam olmayabilir (3) Hücrelerin uzaklaştırılması zor olabilir	(1) Temel araştırma (2) İlaç taraması (3) İlaç keşfi (4) Hücre çoğaltma
Hidrojeller	(1) Doğal veya sentetik çok çeşitli materyal seçeneği (2) Özelleştirilebilir (3) Ko-kültür imkânı (4) Düşük maliyet (5) Yüksek tekrarlanabilirlik	(1) Jel oluşum mekanizması (2) Jelden jele farklılık ve zamanla yapısal değişimler (3) Doğal jellerde tanımlanmamış bileşenler (4) Saydam olmayabilir	(1) Temel araştırma (2) İlaç keşfi
Mikrofluidik Sistemler / Organ-on-Chip	(1) Kan, besin ve oksijen akışını taklit eder (2) Hücre-hücre ve hücre-ECM etkileşimlerini yansıtır (3) Çoklu organ modelleri ile sistemik etkileşimleri inceleme imkânı	(1) Üretimi ve kullanımı yüksek teknik uzmanlık gerektirir (2) Standart protokollerin olmaması (3) Maliyetli ekipman ve malzeme gerektirir (4) Tüm organ fonksiyonlarını eksiksiz	(1) İlaç taramaları ve toksisite testleri (2) Hastalık modellemeleri (ör. kanser, nörodejeneratif hastalıklar) (3)

Teknik	Avantajlar	Dezavantajlar	Araştırma Aşaması
	(4) Gerçek zamanlı gözlem ve analiz yapılabilir - Hayvan deneylerine alternatif sunar	taklit edemez (5) Uzun süreli kültürlerde teknik zorluklar olabilir	Kişiselleştirilmiş tıp çalışmaları (4) Doku mühendisliği ve rejeneratif tıp
3B biyoyazıcı (bioprinting)	(1) İhtiyaca özel mimari tasarım (2) Kimyasal ve fiziksel gradyanlar oluşturulabilir (3) Yüksek verimli üretim (4) Ko-kültür imkânı	(1) Pahalı 3B biyoyazıcı cihazı gerektirir (2) Hücreler/materyaller ile ilgili zorluklar	(1) Kanser patolojisi (2) Antikanser ilaç taramaları (3) Kanser tedavisi (4) Doku mühendisliği

İskeleli (Scaffold-Based) 3B Hücre Kültürü

Bu yöntemlerde hücreler, destek yapısı olarak hidrojel ya da sert polimer bazlı materyaller üzerinde büyütülür. Bu destek yapıları doğal veya sentetik kökenli olabilir ve hücrelerin mikroçevredeki davranışlarını taklit eden üç boyutlu bir ortam sunar (Caliari ve Burdick, 2016; Park ve diğerleri, 2021). En yaygın kullanılanlar arasında kolajen bazlı hidrojeller yer alır; çünkü kolajen, bazal membranın temel bileşenlerinden biridir (Antoine ve diğerleri, 2014). Hidrojeller; fiziksel, iyonik veya kovalent bağlarla bir araya gelmiş hidrofilik polimerlerden oluşan çapraz bağlı ağ yapısına sahiptir (Caliari ve Burdick, 2016). Hidrofilik özellikleri sayesinde suyu emer, polimer zincirleri arasında hapseder ve şişerek hidrojel formunu kazanır (Caliari ve Burdick, 2016). Hidrojeller; doğal, sentetik ya da her ikisinin birlikte bulunduğu hibrit yapılarda olabilir ve biyoyumlulukları veya fizikokimyasal niteliklerine göre sınıflandırılır (Park ve diğerleri, 2021). Bu polimer temelli yapılar, *in vitro* hücre kültürü için matris görevi görebilir veya üç boyutlu sferoidlerin oluşturulmasında kullanılabilir (Park ve diğerleri, 2021). Hidrojellerin en önemli avantajı, özelliklerinin ayarlanabilir olması ve doğal ECM'nin biyokimyasal ile mekanik özelliklerini taklit edebilmesidir (Caliari ve Burdick, 2016). Ayrıca gözenekli yapıları sayesinde hücreler kolayca yerleşebilir, besin ve oksijenin difüzyon yoluyla taşınmasına imkân tanır (Park ve diğerleri, 2021).

Doğal hidrojeller

Kolajen bazlı hidrojeller, doğal hidrojeller arasında en çok kullanılanlardan biridir ve ECM'nin temel bileşeni olan kolajenden oluşur. Kanser gelişimi ve yayılımında, özellikle meme kanseri modellerinde, kolajenin önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Xu ve diğerleri, 2019; Blázquez-Carmona ve diğerleri, 2024). Konsantrasyon, pH ve sıcaklık gibi faktörler değiştirilerek mekanik özellikleri, gözenek yapısı ve biyobozunurluğu ayarlanabilir. Bu nedenle kolajen hidrojeller, hücre davranışlarının ve tümör ilerlemesinin modellenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Matrigel ise doğal hidrojeller içinde özel bir konuma sahiptir. Fare sarkomasından elde edilen bazal membran ekstraktı olan bu materyal; kolajen IV, laminin, perlekan ve nidogen gibi ECM bileşenlerinin yanı sıra birçok büyüme faktörünü de içerir. Bu özellikleri sayesinde organoid ve sferoid kültürlerinde geniş ölçüde kullanılmaktadır. Ancak içerdiği büyüme faktörlerinin miktarı kontrol edilemez ve partiler arasında bileşim farklılıkları görülebilir; bu da deneysel sonuçların tekrarlanabilirliğini zorlaştırır. Buna rağmen Matrigel, kanser biyolojisi ve gelişimsel biyoloji çalışmalarında fizyolojik açıdan anlamlı sonuçlar verdiği için tercih edilmektedir.

Polisakkarit bazlı hidrojeller de doğal hidrojel sınıfında yer alır ve proteoglikanlar (PG) ile glikozaminoglikanlardan (GAG) türetilir. GAG'ların polianyonik yapısı sayesinde su çekilerek şişme meydana gelir; bu özellik hücre invazyonu ve tümör mikroçevresinin modellenmesine katkı sağlar. Hyalüronik asit (HA), ECM'nin en önemli yapısal polisakkaritlerinden biridir ve biyobozunur, immünojenik olmayan, hidrasyon sağlayan özellikleriyle 3B tümör modellerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Yasin ve diğerleri, 2022). HA hidrojelleri kimyasal olarak modifiye edilerek tümör dokusuna benzer gözenekli yapılar oluşturulabilir; bu nedenle özellikle tümör progresyonu, anjiyogenez ve hücre gelişimi çalışmalarında tercih edilmektedir. Bununla birlikte, mekanik dayanıklılıklarının sınırlı olması nedeniyle genellikle diğer hidrojellerle birlikte kullanılır.

Ayrıca, dekstran ve kitosan gibi diğer polisakkaritler de hidrojel yapımında kullanılmaktadır. Dekstran; biyoyumlu, ucuz, kolay modifiye edilebilir ve antifouling özelliklere sahip bir polisakkarittir. Kitosan ise kitinden türetilmiş doğal bir polimerdir ve GAG'lara benzer yapısıyla ECM'yi taklit edebilir. Biyoyumlu ve biyobozunur olması avantaj sağlasa da çözünürlük ve

mekanik özellikleri sınırlı olduğundan çoğu zaman modifikasyona ihtiyaç duyulur (Zhang ve diğerleri, 2022).

Dolayısıyla, polisakkarit bazlı hidrojel (HA, dekstran, kitosan vb.), kolajen ve Matrigel bazlı sistemlere alternatif ya da tamamlayıcı olarak 3B tümör modelleri ve doku mühendisliği çalışmalarında yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Sentetik Hidrojeller

Sentetik hidrojel, polimerizasyon yoluyla üretilir ve farklı biyofiziksel, mekanik ve biyolojik özellikler gösterebilir. Polietilen glikol (PEG), poli-ε-kaprolakton (PCL), polilaktik asit (PLA) ve poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi polimerlerden elde edilirler ve özellikle sinir, kemik, kıkırdak, kas ve böbrek hücre kültürlerinde yaygın olarak kullanılırlar (Wasyłeczko ve diğerleri, 2020; Ye ve diğerleri, 2022). Doğrudan biyolojik aktiviteye sahip olmasalar da, kolay üretilebilmeleri ve farklı sertlik, gözenek boyutu ya da degradasyon hızına sahip olacak şekilde tasarlanabilmeleri önemli bir avantajdır (Habanjar ve diğerleri, 2021).

Ancak bu yapılar doğal biyokimyasal sinyallerden yoksundur; hücrelerle anlamlı etkileşim kurabilmeleri için peptit, büyüme faktörü veya glikan eklenerek fonksiyonelleştirilmeleri gerekir (Silva ve diğerleri, 2024). Buna rağmen, bazı sentetik polimerlerin bozunması sırasında ortaya çıkan laktik asit gibi yan ürünler kültür ortamını asidik hale getirerek hücreler üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir. Ayrıca, matrisin sertliği de kritik bir parametredir: örneğin aşırı sert PEG bazlı hidrojel, hücrelerin proliferasyonunu ve göçünü kısıtlayabilir (Habanjar ve diğerleri, 2021).

Nanofiber temelli iskeleler, rastgele dizilmiş nanometre boyutundaki polimer liflerinden oluşur ve ECM'nin topografik özelliklerini taklit eder. Bu yapılar hücre adezyonunu ve 3B tümör gelişimini destekler, ayrıca ilaç testlerinde sıkça kullanılır (Ye ve diğerleri, 2022). Alvetex® gibi ticari polimer iskeleler ise polistiren veya PCL'den üretilmiş, yüksek gözenekliliğe sahip yapılardır. Hücrelere üç boyutlu bir mikroçevre sunarak rutin laboratuvar kullanımına uygundur. Ancak biyokimyasal uyarı sağlamamaları ve sertliklerinin kontrol edilmediğinde hücreler için uygun olmamaları, bu sistemlerin en önemli sınırlılıklarıdır. Bu nedenle genellikle ECM proteinleri

ile kaplanarak kullanılırlar (Habanjar ve diğerleri, 2021; Park ve diğerleri, 2021).

Özetle, sentetik hidrojeller ve polimer bazlı iskeleler, esnek tasarım olanakları ve kolay üretim avantajları sayesinde doku mühendisliği ve ilaç geliştirme çalışmalarında değerli araçlardır. Ancak biyolojik sinyal eksiklikleri ve olası toksisite riskleri nedeniyle seçim yapılırken dikkatli olunmalı, mümkünse doğal ECM bileşenleriyle desteklenmelidir (Habanjar ve diğerleri, 2021; Silva ve diğerleri, 2024).

3B Biyobaskı tekniği (3D Bioprinting)

3B biyobaskı tekniği, bilgisayar kontrollü olarak özelleştirilmiş üç boyutlu yapıların katman katman inşa edilmesi esasına dayanan ve yakın zamanda geliştirilen bir teknolojidir (Datta ve diğerleri, 2020). Genel anlamda 3B baskı, prototip ve endüstriyel üretimden mimarlık, sanat, tasarım, doku mühendisliği ve rejeneratif tıpa kadar çok geniş bir kullanım alanına sahiptir (Yu ve diğerleri, 2020). Özellikle 3B doku biyobaskı, hücreler ve biyomalzemelerden oluşan biyolojik yapıların milimetrelerden birkaç santimetreye kadar boyutlarda basılmasını içerir. Burada, sentetik malzemeler yerine biyoyumlu materyaller, canlı hücreler ve destek bileşenleri kullanıldığından, hücrelerin canlılığı ve fonksiyonları basılan yapılarda korunabilir (Zhuang ve diğerleri, 2023). Günümüzde farklı biyobaskı platformları, damar benzeri tüpler, böbrek, kıkırdak, yapay deri ve çeşitli kök hücre yapıları dâhil olmak üzere birçok doku benzeri yapının üretilmesine imkân sağlamaktadır (Hwang ve diğerleri, 2021; Yu ve diğerleri, 2020).

3B biyobaskı, hücrelerin, biyomalzemelerin ve biyomoleküllerin bilgisayar destekli ekipman ve yazılımlar kullanılarak katman katman, hassas bir şekilde yerleştirilmesine dayanır. Bu süreç, hücre biyolojisi, mühendislik, malzeme bilimi ve bilgisayar bilimi gibi alanların entegrasyonu ile mümkün hale gelmiştir (Datta ve diğerleri, 2020).

Örneğin Zhao ve diğerleri (2014), biyomürekkep olarak aljinatı temel olarak serviks kanseri için 3B tümör modeli geliştirmiştir. Aljinat, jelatin ve fibrinojen ile karıştırılarak HeLa hücreleri eklenmiş, baskı öncesi jelleşme başlatılmış ve ECM bileşenleri taklit edilmiştir. Kalsiyum klorür eklenerek yapı güçlendirilmiş ve basılan hücreler zamanla sferoidler oluşturmuştur. Bu hücrelerin paklitaksele karşı direnci, 2B monolayer HeLa hücrelerine kıyasla

daha yüksek bulunmuştur (Zhao ve diğerleri, 2014). Benzer şekilde Dai ve diğerleri (2016), modifiye jelatin/aljinat/fibrinojen kullanarak glioma kök hücrelerinden 3B baskılı yapılar üretmiş ve bu hücrelerin canlılık, çoğalma, farklılaşma ve damarlaşma kapasitelerini koruduklarını, ayrıca temozolomide karşı daha dirençli olduklarını göstermiştir (Dai ve diğerleri, 2016).

3B biyobaskı yalnızca canlı hücreleri içeren geometrik yapılar üretmekle kalmaz, aynı zamanda yüksek verimlilik ve yüksek tekrarlanabilirlik de sağlar (Yu ve diğerleri, 2020). Ancak tekniğin bazı sınırlılıkları vardır: pahalı biyoyazıcı cihazlarına ihtiyaç duyulması (Tashman ve diğerleri, 2022) ve baskı sürecinde hassas hücrelerin ozmotik, termal veya mekanik stres nedeniyle zarar görme ihtimali önemli dezavantajlar arasında yer almaktadır (Xu ve diğerleri, 2022).

3B biyobaskı, bilgisayar destekli sistemlerle biyoyumlu materyallerin ve hücrelerin katman katman birleştirilmesiyle üç boyutlu canlı yapılar üreten modern bir tekniktir. Doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanında hızla önem kazanmış olan bu yöntem, damar benzeri yapılardan böbrek ve kıkırdığa, yapay deriden kök hücre temelli dokulara kadar birçok biyolojik modelin oluşturulmasına imkân tanır (Zhuang ve diğerleri, 2023; Hwang ve diğerleri, 2021). Alginate, jelatin ve fibrinojen gibi malzemeler hücrelerle karıştırılarak hücre dışı matriksi taklit eden bir yapı elde edilir; böylece hücreler canlı kalır, çoğalır, farklılaşır ve tümör modellerinde ilaç direnci gibi in vivo özellikler yansıtılabilir (Zhao ve diğerleri, 2014; Dai ve diğerleri, 2016). Ayrıca, 3B biyobaskı yüksek hassasiyet ve tekrarlanabilirlik sunduğundan, yüksek verimli analizlerde kullanılmaya elverişlidir (Yu ve diğerleri, 2020). Bununla birlikte, oldukça pahalı cihazlara ihtiyaç duyması ve baskı sırasında hücrelerin ozmotik, mekanik ya da ısı streslerinden zarar görebilme ihtimali yöntemin önemli sınırlamaları arasındadır (Tashman ve diğerleri, 2022; Xu ve diğerleri, 2022).

Mikroakışkan Sistemler

Geleneksel büyük ölçekli biyoreaktörlerin ötesinde, mikro ve nano ölçekli üretim teknolojilerindeki gelişmeler hücre çalışmaları için yeni cihazların geliştirilmesine yol açmış ve bu alanda özellikle mikroakışkan sistemler ön plana çıkmıştır. Mikroelektromekanik sistemlerin (MEMS) biyolojiye uyarlanabileceği fikriyle geliştirilen bu cihazlar genellikle polimerlerden üretilmekte olup, en yaygın kullanılan malzeme

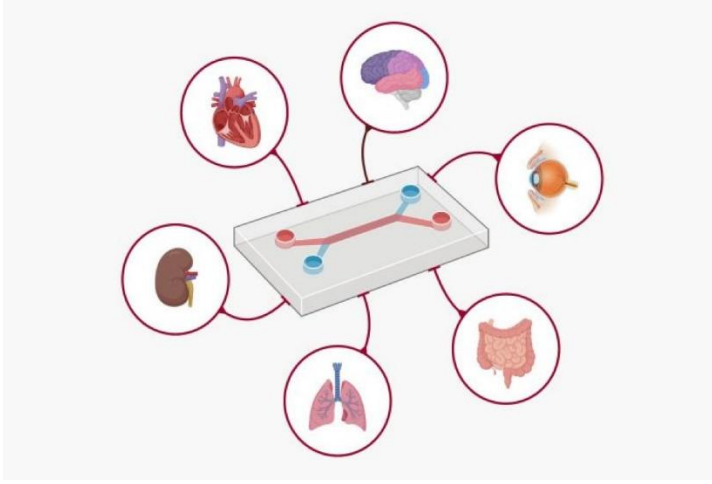
poli(dimetilsiloksan) (PDMS)'tir (Lenhart ve diğerleri, 2023; Miranda ve diğerleri, 2021). PDMS'in şeffaflığı, gaz geçirgenliği ve görece kimyasal kararlılığı, uygun yüzey işlemleri ile birlikte hücrelerin akışkan ortamlarda büyümesini ve canlılığını sürdürmesini kolaylaştırmaktadır (Halldorsson ve diğerleri, 2015; Miranda ve diğerleri, 2021).

Mikroakışkan sistemlerin başlıca avantajları arasında kontrollü karışım sağlanması, kimyasal konsantrasyon gradyanlarının oluşturulabilmesi, reaktif tüketiminin azaltılması, hücreler üzerindeki kayma (shear) stresinin ve basıncın kontrol edilebilmesi ile sürekli perfüzyon yer almaktadır. Mikroakışkan çipler, dokuların fizyolojik koşullarını daha gerçekçi biçimde yansıtan dinamik bir ortam sunmaktadır. Bu sistemlerde elde edilen sferoidler homojen boyutlara sahiptir. Akış koşullarında kültüre edilen hepatosit sferoidlerinin canlılığı, statik modellerdekine kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde, dinamik koşullarda mikrokuyucuk plakalarında kültüre edilen kanser sferoidleri, akışsız koşullara göre daha yüksek ilaç direnci sergilemektedir (Białkowska ve diğerleri, 2020).

Mikroakışkan sistemler; kanser tespitinde, düşük maliyetli tanı araçlarının geliştirilmesinde, embriyonik gelişimin modellenmesinde ve daha birçok biyomedikal uygulamada kullanılmıştır. Başlangıçta çoğu cihaz 2B kültür özellikleri taşıırken, son yıllarda 3B-benzeri yapılara evrilerek organ fonksiyonlarını daha gerçekçi şekilde taklit etmeye başlamıştır.

Çip üstü organ teknolojisi (Organ-on-a-Chip)

Organ-on-a-Chip (OoC) teknolojisi, insan organlarının yapı ve işlevlerini küçük ölçekli cihazlar üzerinde modellemeyi amaçlayan yenilikçi bir yaklaşımdır (Ingber, 2022). Bu sistemlerde hücreler, özel tasarlanmış yüzeylere yerleştirilerek üç boyutlu yapılara dönüşür ve gerçek dokuları andıran mikroçevreler oluşturur. Cihaz içindeki mikrokanaallar, kan dolaşımı, oksijen ve besin taşınması ile metabolit uzaklaştırılmasını simüle ederek fizyolojik koşullara yakın bir ortam sağlar. Ayrıca farklı hücre tipleri bir araya getirilerek organların karmaşık yapısı modellenenebilir. Bu sayede akciğer, kalp ve karaciğer gibi organların işlevsel modelleri oluşturulabilmektedir (Wang ve diğerleri, 2022; Tan ve diğerleri, 2022).



Şekil 7. Organ-on-Chip

OoC teknolojisinin en önemli avantajlarından biri, hassas tıp uygulamalarına katkı sağlamasıdır. Bireyden elde edilen hücrelerle kişiye özgü mikroçevreler oluşturularak, ilaçların bu ortamlardaki etkileri test edilebilir; böylece genetik, çevresel ve yaşam tarzı farklılıklarının hesaba katıldığı kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları geliştirilebilir (Ingber, 2022).

Ayrıca OoC cihazları, ilaç etkinlik testlerinde geleneksel yöntemlere göre daha güvenilir sonuçlar sunar. Örneğin, akciğer-on-a-chip modelleri COVID-19 araştırmalarında SARS-CoV-2 enfeksiyonunun etkilerini incelemede kullanılmıştır (Wang ve diğerleri, 2022; Tan ve diğerleri, 2022). Bu sistemler, 2B kültürlerle kıyasla daha doğru fizyolojik simülasyon sağlar.

Bir diğer avantaj, hayvan deneylerine etik bir alternatif sunmasıdır; insan hücreleri ve dokuları kullanılmasıyla hayvan çalışmalarına duyulan ihtiyaç azalır (Sunildutt ve diğerleri, 2023). Ayrıca birden fazla organ çipi birbirine bağlanarak organlar arası etkileşimler de modellenenebilir (Ingber, 2022).

Tüm bu avantajlara rağmen OoC teknolojisinin bazı sınırlılıkları vardır. Organların karmaşık işlevlerini doğru şekilde taklit etmek güçtür ve cihaz üretiminde uluslararası olarak kabul edilmiş standart protokoller henüz yaygın değildir (Ingber, 2022; Sunildutt ve diğerleri, 2023). Özellikle çoklu organ sistemlerinin entegrasyonunda, organların doğru ölçeklenmesi ve aralarındaki iletişimin sağlanması ciddi teknik zorluklar yaratmaktadır (Sunildutt ve diğerleri, 2023).

Ayrıca, hasta kaynaklı hücrelerin kullanımıyla ilgili etik ve yasal sorunlar, veri güvenliği ve fikri mülkiyet hakları konusundaki belirsizlikler devam etmektedir. Bunun yanında, bağışıklık sisteminin kısıtlı modellenebilmesi, yüksek maliyetler ve düzenleyici çerçevenin eksikliği bu teknolojinin yaygın kullanımını zorlaştırmaktadır (Tan ve diğerleri, 2022; Sunildutt ve diğerleri, 2023).

3B hücre kültürü ve Antioksidan ilişkisi

Üç boyutlu hücre kültürlerinde hücrelerin iç bölgelerinde oksijen azalmasına bağlı olarak gelişen hipoksi, oksidatif stresin ortaya çıkmasına yol açmakta ve bu süreç hücrelerin adaptasyon kapasitesini zorlamaktadır. Hücreler söz konusu stresle başa çıkabilmek için temel antioksidan savunma mekanizmalarını kullanmaktadır (Phukhum ve diğerleri, 2023). Deneysel ve hesaplamalı çalışmalar doğal ve biyoyapay adacıkların in vitro kültürü sırasında çekirdek hipoksisinin geliştiğini, bunun da hücre canlılığı ve işlevselliğinde belirgin azalmaya yol açtığını göstermektedir (Komatsu ve diğerleri, 2017). Bu nedenle oksidatif stresin kontrol altına alınmasına yönelik stratejiler son yıllarda önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Özellikle polifenol kaplamalarının reaktif oksijen türleri (ROS) kaynaklı oksidatif hasara karşı etkili bir şekilde koruma sağladığı, biyomalzemelerin yüzey özelliklerini geliştirerek doku mühendisliği uygulamalarında potansiyel çok yönlülük sunduğu bildirilmektedir (Lee ve diğerleri, 2021). Benzer şekilde, hepatosit sferoidlerinin normoksik koşullarda ve antioksidanlarla desteklenmiş serum içeren ortamlarda kültürlenmesinin ROS oluşumuna bağlı zararlı etkileri en aza indirerek hücre fonksiyonlarının korunmasına katkı sağladığı gösterilmiştir (Lillegard ve diğerleri, 2011). Ayrıca genel antioksidan tedavilerin, üç boyutlu kültürlerde NAD(P)H floresansındaki dikotomiye ortadan kaldırdığı ve bunun ROS'un iç ve dış hücreler arasındaki metabolik farklılıklara önemli ölçüde katkıda bulunduğunu düşündürdüğü bildirilmektedir (Schafer ve diğerleri, 2009). Bu bulgular, farklı model sistemlerde elde edilen sonuçların ortak bir noktada birleştiğini, yani oksidatif stresin üç boyutlu kültürlerde temel bir sınırlayıcı faktör olduğunu ve antioksidan yaklaşımların bu sınırlamayı aşmak için umut vadettiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, üç boyutlu hücre kültürlerinde antioksidatif yaklaşımlara yönelik çalışmalar hâlen sınırlıdır ve daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynakça

- Alhaque, S., Themis, M., & Rashidi, H. (2018). Three-dimensional cell culture: From evolution to revolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1750), 20170216. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0216>
- Antoine, E. E., Vlachos, P. P., & Rylander, M. N. (2014). Review of collagen I hydrogels for bioengineered tissue microenvironments: Characterization of mechanics, structure, and transport. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 20(6), 683–696. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2014.0086>
- Antoni, D., Burckel, H., Josset, E., Noel, G. (2015). Three-Dimensional Cell Culture: A Breakthrough in Vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 5517-5527.
- Bialkowska, K., Komorowski, P., Bryszewska, M., & Miłowska, K. (2020). Spheroids as a type of three-dimensional cell cultures—Examples of methods of preparation and the most important application. *Biology*, 9(12), 431. <https://doi.org/10.3390/biology9120431>
- Bilici, E., Uğuz, C., Altunbaş, K., (2025). Examining the Impact of 4-Nonylphenol on G-361 Malignant Melanoma Cell Proliferation and Apoptosis Activation, *Van Vet J*, 36 (2) 110-114.
- Blázquez-Carmona, P., Díez, A., Campos, F., & Horcas, J. M. (2024). Quantitative atlas of collagen hydrogels: Mechanical microenvironment in breast cancer cells. *Acta Biomaterialia*, 185, 144–160. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2024.04.010>
- Breslin, S., & O'Driscoll, L. (2013). Three-dimensional cell culture: The missing link in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 18(5–6), 240–249. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2012.10.003>
- Breslin, S., O'Driscoll, L. (2013). Three-dimensional cell culture: the missing link in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 18(5–6), 240–249.
- Caleffi, J. T., et al. (2021). Magnetic 3D cell culture: State of the art and current advances. *Life Sciences*, 286, 120028. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120028>
- Caliari, S. R., & Burdick, J. A. (2016). A practical guide to hydrogels for cell culture. *Nature Methods*, 13(5), 405–414. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3839>

- Chaicharoenaudomrung, N., Kunhorm, P., & Noisa, P. (2019). Three-dimensional cell culture systems as an in vitro platform for cancer and stem cell modeling. *World Journal of Stem Cells*, 11(12), 1065–1083. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v11.i12.1065>
- Corrò, C., Novellasedemunt, L., & Li, V. S. W. (2020). A brief history of organoids. *Development*, 147(8), dev186460. <https://doi.org/10.1242/dev.186460>
- Costa, E. C., Moreira, A. F., de Melo-Diogo, D., Gaspar, V. M., Carvalho, M. P., & Correia, I. J. (2016). 3D tumor spheroids: an overview on the tools and techniques used for their analysis. *Biotechnology advances*, 34(8), 1427–1441. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.11.002>
- Dai, X., Ma, C., Lan, Q., & Xu, T. (2016). 3D bioprinted glioma stem cells for brain tumor model and applications. *Acta Biomaterialia*, 30, 117–127.
- Derda, R., Laromaine, A., Mammoto, A., Tang, S. K., Mammoto, T., Ingber, D. E., & Whitesides, G. M. (2009). Paper-supported 3D cell culture for tissue-based bioassays. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(44), 18457–18462.
- Duval, K., Grover, H., Han, L. H., Mou, Y., Pegoraro, A. F., Fredberg, J., & Chen, Z. (2017). Modeling Physiological Events in 2D vs. 3D Cell Culture. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 32(4), 266–277. <https://doi.org/10.1152/physiol.00036.2016>
- Edmondson, R., Broglie, J. J., Adcock, A. F., & Yang, L. (2014). Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. *Assay and drug development technologies*, 12(4), 207–218. <https://doi.org/10.1089/adt.2014.573>
- Fang, Y., & Eglen, R. M. (2017). Three-Dimensional Cell Cultures in Drug Discovery and Development. *SLAS Discovery*, 22(5), 456–472. <https://doi.org/10.1177/1087057117696795>
- Franchi-Mendes, T., Lopes, N., Brito, C. (2021). Heterotypic Tumor Spheroids in Agitation-Based Cultures: A Scaffold-Free Cell Model That Sustains Long-Term Survival of Endothelial Cells. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 649949.
- Garnique, A. d. M. B., Parducci, N. S., de Miranda, L. B. L., de Almeida, B. O., Sanches, L., & Machado-Neto, J. A. (2024). Two-Dimensional and Spheroid-Based Three-Dimensional Cell Culture Systems: Implications

- for Drug Discovery in Cancer. *Drugs and Drug Candidates*, 3(2), 391-409. <https://doi.org/10.3390/ddc3020024>
- Günther, C., Brevini, T., Sampaziotis, F., & Broutier, L. (2019). Organoid cultures of human gastrointestinal tissues for disease modeling and translational medicine. *Experimental & Molecular Medicine*, 51(11), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0334-y>
- Habanjar, O., Diab-Assaf, M., & Caldefie-Chezet, F. (2021). The liquid overlay technique is an easy and reproducible method for the formation of multicellular tumor spheroids. *Frontiers in Oncology*, 11, 741387.
- Habanjar, O., Diab-Assaf, M., Caldefie-Chézet, F., Delort, L., & Couté, Y. (2021). 3D cell culture systems: Tumor application, advantages, and disadvantages. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12250. <https://doi.org/10.3390/ijms222212250>
- Harrison RG, Greenman M, Mall FP, Jackson C. Observations of the living developing nerve fiber. *The Anatomical Record*. 1907;1:116–128.
- Ravi, M., Paramesh, V., Kaviya, S. R., Anuradha, E., Solomon, F. D. (2015). 3D cell culture systems: advantages and applications. *Journal of cellular physiology*, 230(1), 16–26.
- Hwang, D. G., et al. (2021). 3D Bioprinting-Based Vascularized Tissue Models. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 685507.
- Halldorsson, S., Lucumi, E., Gómez-Sjöberg, R., & Fleming, R. M. T. (2015). Advantages and challenges of microfluidic cell culture in PDMS devices. *Biosensors and Bioelectronics*, 63, 218–231. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.07.029>
- Ingber, D. E. (2022). Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. *Nature Reviews Genetics*, 23(8), 467–491. <https://doi.org/10.1038/s41576-022-00466-9>
- Jensen, C., Teng, Y. (2020). Is It Time to Start Transitioning From 2D to 3D Cell Culture?. *Frontiers in molecular biosciences*, 7, 33. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00033>
- Jubelin, C., Muñoz-Garcia, J., Griscom, L. et al. Three-dimensional in vitro culture models in oncology research. *Cell Biosci* 12, 155 (2022).
- Abuwatfa, W. H., Pitt, W. G., & Hussein, G. A. (2024). Scaffold-based 3D cell culture models in cancer research. *Journal of biomedical science*, 31(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s12929-024-00994-y>

- Jubelin, C., Muñoz-Gil, G., Cochonneau, D., Thébaud, E., Gohier, A., Illien, F., Martin, M., Ollivier, E., Goubran-Botros, H., Hamlat, A., Paris, F., Heymann, D., Rédini, F., & Perrot, P. (2022). Three-dimensional in vitro culture models in oncology research. *Cell & Bioscience*, 12(1), 155. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00887-3>
- Kapałczyńska, M., et al. (2018). 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures. *Archives of Medical Science*, 14(4), 910–919.
- Komatsu, H., Cook, C., Wang, C. H., Medrano, L., Lin, H., Kandeel, F., Tai, Y. C., & Mullen, Y. (2017). Oxygen environment and islet size are the primary limiting factors of isolated pancreatic islet survival. *PloS one*, 12(8), e0183780.
- Lamberti, M. J., Rettel, M., Krijgsveld, J., Rivarola, V. A., & Rumie Vittar, N. B. (2019). Secretome profiling of heterotypic spheroids suggests a role of fibroblasts in HIF-1 pathway modulation and colorectal cancer photodynamic resistance. *Cellular oncology (Dordrecht, Netherlands)*, 42(2), 173–196. <https://doi.org/10.1007/s13402-018-00418-8>
- Lee, S., Lee, J., Byun, H., Kim, S. J., Joo, J., Park, H. H., & Shin, H. (2021). Evaluation of the anti-oxidative and ROS scavenging properties of biomaterials coated with epigallocatechin gallate for tissue engineering. *Acta biomaterialia*, 124, 166–178.
- Lenhart, A., Ma, F., Hegde, S., Poudel, I., Qin, L., Li, X., ... & Zhang, C. (2023). Evaluation of surface treatments of PDMS microfluidic devices. *Micromachines*, 14(8), 1570. <https://doi.org/10.3390/mi14081570>
- Lillegard, J. B., Fisher, J. E., Nedredal, G., Luebke-Wheeler, J., Bao, J., Wang, W., Amoit, B., & Nyberg, S. L. (2011). Normal atmospheric oxygen tension and the use of antioxidants improve hepatocyte spheroid viability and function. *Journal of cellular physiology*, 226(11), 2987–2996.
- Miranda, I., Souza, A., Sousa, P., Ribeiro, J., Castanheira, E. M. S., Lima, R., & Minas, G. (2021). Properties and applications of PDMS for biomedical engineering: A review. *Journal of Functional Biomaterials*, 13(1), 2. <https://doi.org/10.3390/jfb13010002>

- Mitrakas, A., Papadimitriou, E., & Tzanakakis, G. (2023). Applications and advances of multicellular tumor spheroids. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 6949. <https://doi.org/10.3390/ijms24086949>
- Nunes, A. S., Barros, A. S., Costa, E. C., Moreira, A. F., & Correia, I. J. (2019). 3D tumor spheroids as in vitro models to mimic in vivo human solid tumors resistance to therapeutic drugs. *Biotechnology and Bioengineering*, 116(1), 206–226. <https://doi.org/10.1002/bit.26845>
- Park, J., Lee, B. K., Jeong, G. S., & Lee, S. H. (2021). Applications of biomaterials in 3D cell culture and contributions of microengineering: Biomimetic cell culture systems for drug screening and cancer research. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2491.
- Park, J., Lee, B. K., Jeong, G. S., & Lee, S. H. (2021). Applications of biomaterials in 3D cell culture and contributions of microengineering: Biomimetic cell culture systems for drug screening and cancer research. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2491. <https://doi.org/10.3390/ijms22052491>
- Phelan, M. A., Lelkes, P. I., & Swaroop, A. (2019). An air bubble–isolating rotating wall vessel bioreactor for improved spheroid/organoid formation. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 25(10), 611–620. <https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2019.0160>
- Phukhum, P., Phetcharaburanin, J., Chaleekarn, K., Kittirat, Y., Kulhawatsiri, T., Namwat, N., Loilome, W., Khuntikeo, N., Titapun, A., Wangwiwatsin, A., Khampitak, T., Suksawat, M., & Klanrit, P. (2023). The impact of hypoxia and oxidative stress on proteo-metabolomic alterations of 3D cholangiocarcinoma models. *Scientific reports*, 13(1), 3072.
- Riedl, A., Schleder, M., Pudelko, K., Stadler, M., Walter, S., Unterleuthner, D., Unger, C., Kramer, N., Hengstschläger, M., Kenner, L., Pfeiffer, D., Krupitza, G., & Dolznig, H. (2017). Comparison of cancer cells in 2D vs 3D culture reveals differences in AKT-mTOR-S6K signaling and drug responses. *Journal of cell science*, 130(1), 203–218. <https://doi.org/10.1242/jcs.188102>
- Ryu, N. E., Lee, S. H., & Park, H. (2019). Spheroid Culture System Methods and Applications for Mesenchymal Stem Cells. *Cells*, 8(12), 1620. <https://doi.org/10.3390/cells8121620>

- Schafer, Z. T., Grassian, A. R., Song, L., Jiang, Z., Gerhart-Hines, Z., Irie, H. Y., Gao, S., Puigserver, P., & Brugge, J. S. (2009). Antioxidant and oncogene rescue of metabolic defects caused by loss of matrix attachment. *Nature*, 461(7260), 109–113.
- Silva, L. P., Pereira, J. F., & Reis, R. L. (2024). Advanced polymeric scaffolds for stem cell engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), 678. <https://doi.org/10.3390/ijms25020678>
- Sośniak, J., & Opiela, J. (2018). 3D cell culture technology – new insight into in vitro research. *Annals of Animal Science*, 18(3), 623–634.
- Souza, G. R., Negreiros-Lima, G., Oliveira, T., et al. (2010). Three-dimensional tissue culture based on magnetic cell levitation. *Nature Nanotechnology*, 5(4), 291–296. <https://doi.org/10.1038/nnano.2010.23>
- Sunildutt, S., Pabbathi, A., & Yadav, K. S. (2023). Harnessing the potential of organ-on-chip technology: Progress, challenges, and future perspectives. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1139229. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1139229>
- Tan, C., Li, M., Wu, J., & Wu, Q. (2022). Biomimetic lung-on-a-chip for modeling viral infection and drug screening. *Micromachines*, 13(11), 1832. <https://doi.org/10.3390/mi13111832>
- Tashman, J. W., Shiwerski, D. J., & Feinberg, A. W. (2022). Development of a high-performance open-source 3D bioprinter. *Scientific Reports*, 12, 22652.
- Torras, N., Garcia-Dominguez, X., Fernández-Majada, V., & Martínez, E. (2018). Mimicking Epithelial Tissues in Three-Dimensional Cell Culture Models. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6, 197.
- Tung, Y. C., Hsiao, A. Y., Allen, S. G., Torisawa, Y. S., Ho, M., & Takayama, S. (2011). High-throughput 3D spheroid culture and drug testing using a 384 hanging drop array. *The Analyst*, 136(3), 473–478. <https://doi.org/10.1039/c0an00609b>
- Velasco, V., Shariati, S. A., & Esfandyarpour, R. (2020). Microtechnology-based methods for organoid models. *Lab on a Chip*, 20(17), 3011–3029.
- Verjans, E. T., Doijen, J., Luyten, W., Landuyt, B., & Schoofs, L. (2018). Three-dimensional cell culture models for anticancer drug screening: Worth the effort?. *Journal of cellular physiology*, 233(4), 2993–3003. <https://doi.org/10.1002/jcp.26052>

- Wang, Y., Yang, L., Chen, T., & Zhang, Y. (2022). Human organoids and organs-on-chips for addressing COVID-19 challenges. *Cell & Bioscience*, 12, 67.
- Wasyleczko, M., Sikorska, W., & Chwojnowski, A. (2020). Review of synthetic and hybrid scaffolds in cartilage tissue engineering. *Materials*, 13(16), 3600. <https://doi.org/10.3390/ma13163600>
- Weng, T., et al. (2021). 3D bioprinting for skin tissue engineering: Current status and perspectives. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 686621.
- Xu, HQ., Liu, JC., Zhang, ZY. *et al.* A review on cell damage, viability, and functionality during 3D bioprinting. *Military Med Res* 9, 70 (2022). <https://doi.org/10.1186/s40779-022-00429-5>.
- Xu, S., Xu, H., Wang, W., Li, S., Li, H., Li, T., Zhang, W., Yu, X., & Liu, L. (2019). The role of collagen in cancer: From bench to bedside. *Journal of Translational Medicine*, 17(1), 309. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-2058-1>
- Yasin, N., Ahmed, M., Usman, M., & Rahman, M. T. (2022). Advances in hyaluronic acid for biomedical applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 910290. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.910290>
- Ye, H., Ma, J., Wang, S., Jiang, W., & Li, C. (2022). Recent advances in the application of natural and synthetic polymer-based scaffolds in musculoskeletal regeneration. *Polymers*, 14(21), 4566. <https://doi.org/10.3390/polym14214566>
- Yonemura S. (2014). Differential sensitivity of epithelial cells to extracellular matrix in polarity establishment. *PloS one*, 9(11), e112922.
- Yu, J. J., et al. (2020). Current advances in 3D bioprinting technology and its applications for tissue engineering. *Polymers*, 12(12), 2958.
- Zhang, L., Wang, C., Yang, K., & Yu, L. (2022). In situ injectable nano-complexed hydrogel based on chitosan/dextran for tumor therapy. *Carbohydrate Polymers*, 279, 118925.
- Zhao, Y., et al. (2014). Three-dimensional printing of Hela cells for cervical tumor model in vitro. *Biofabrication*, 6(3), 035001.
- Zhuang, P., et al. (2023). 3D bioprinting in cancer modeling. *Frontiers in Oncology*, 13, 1153919.

BÖLÜM 10

YAPAY ZEKÂ DESTEKLİ AKILLI ANTİOKSİDAN STRATEJİLER

Hakan TEKELİ¹, Mürüvvet ABBAK^{2*}

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17213167>

¹ (Dr. Öğr. Üyesi), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gölhisar Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Burdur, Türkiye, E-mail: htekeli@mehmetakif.edu.tr
ORCID: 0000-0002-9004-5696

² (Dr. Öğr. Üyesi), Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Koçarlı Meslek Yüksekokulu, Aydın, Türkiye,

*Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Aydın, Türkiye, E-mail: muruvvet.abbak@adu.edu.tr, ORCID: 0000-0001-7743-6265

Yapay Zekâ Destekli Akıllı Antioksidan Stratejiler

Oksidatif stres modern biyomedikal araştırmaların merkezinde yer almakta ve başta yaşlanma olmak üzere kanser, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve metabolik sendrom gibi kronik hastalıkların temel etiyopatogenetik mekanizması olarak kabul edilmektedir (Chalak et al., 2024; Liu et al., 2025). Hücresel metabolizma sürecinde doğal olarak oluşan reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS) fizyolojik düzeyde hücre proliferasyonu, gen ekspresyonu, sinyal iletimi ve immün yanıtların düzenlenmesinde önemli roller üstlenmektedir Ancak ROS düzeyleri hücresel antioksidan savunma sistemini aştığında; DNA, protein ve lipid gibi biyomoleküllerde oksidatif hasar meydana gelmektedir. Bu durum mitokondriyal disfonksiyon, hücre yaşlanması (senesans), apoptoz ve malign transformasyonu gibi patolojik süreçleri tetiklemektedir (Korovesis et al., 2023; Yang et al., 2024). Apoptozun moleküler temelini anlamak, kanser araştırmalarında önemli bir hedeftir (Bilici et al., 2025).

Normal koşullarda redoks homeostazı korunurken çevresel toksinler, enfeksiyonlar, radyasyon, yetersiz beslenme, kronik inflamasyon ve genetik yatkınlık gibi farklı içsel ve dışsal faktörler bu dengeyi bozarak oksidatif stresin gelişimine yol açmaktadır (Finkel & Holbrook, 2023; Płóciniczak et al., 2025). Bu süreçte telomer kısalması, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve protein modifikasyonları meydana gelirken; hücresel yaşlanma ve inflamatuvar süreçler hız kazanmaktadır (Harman, 1956). Oksidatif stresin özellikle yaşlanma ile ilişkili patolojilerde retina dejenerasyonu, osteoartrit, kardiyovasküler bozukluklar, infertilite ve çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda etkili bir aracı olduğu bildirilmektedir (Maldonado et al., 2023). Reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin (RONS) aşırı birikimi başta NF- κ B, MAPK, Nrf2/Keap1/ARE ve PI3K/Akt olmak üzere birçok kritik hücresel sinyal yolunu bozarak anormal hücre ölümüne ve kronik inflamasyona neden olabilmektedir (Chalak et al., 2024). Bu bağlamda inflamasyonun yaşlanma ile birlikte kronikleşmesi “inflammaging” olarak tanımlanmış ve yaşa bağlı hastalıkların altında yatan temel süreçlerden biri olarak kabul edilmiştir (Maldonado et al., 2023).

Geleneksel antioksidan stratejiler doğal bileşiklerin (glutasyon, askorbik asit, tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler) farmakolojik dozlarda uygulanmasına dayansa da, bu yaklaşımlar sınırlı biyoyararlanım, hedef dokuya özgü etki eksikliği ve değişken farmakokinetik özellikler nedeniyle

sıklıkla klinik başarıya ulaşamamaktadır (Heydari et al., 2024; Al-Madhagi & Masoud, 2024). İlaç direnci oranlarının artması nedeniyle, yenilikçi antibiyotiklere ve kanser karşıtı ilaçlara acil ihtiyaç duyulmaktadır (Bilici ve Akkoç, 2025). Bu durum tek ajanlı tedavilerle elde edilemeyen terapötik etkilerin kombinasyon terapileri ile sağlanabileceği fikrini güçlendirmiştir. Son dönemde birden fazla antioksidan molekülün sinerjistik etkilerle birlikte kullanıldığı kombinasyon yaklaşımları dikkat çekmektedir. Bu tür stratejilerin oksidatif yükü daha etkin bir şekilde azaltabileceği, yaşlanma sürecini yavaşlatabileceği ve bazı kanser türlerinde hücrelerin tedaviye duyarlılığını artırabileceği gösterilmiştir (Maldonado et al., 2023, Gulcin, 2025). Bununla birlikte bu kombinasyonların hangi dozlarda, hangi hücre türlerinde ve hangi klinik koşullarda en etkili olacağının belirlenmesi; çok değişkenli, dinamik ve yüksek hacimli verilerin entegre analizini gerektiren karmaşık bir süreçtir. Bu noktada yapay zekâ (YZ) destekli modelleme yaklaşımları giderek daha kritik bir rol oynamaktadır. Makine öğrenmesi (ML) ve derin öğrenme (DL) algoritmaları gen ekspresyon profilleri, metabolomik ve proteomik veriler, hücre kültürü görüntüleri ve farmakolojik yanıt verileri gibi geniş ve heterojen veri setlerini işleyerek optimal antioksidan kombinasyonlarını ve etkili doz aralıklarını öngörebilmektedir (Khosravi et al., 2024; Dipankar et al., 2025). Ayrıca YZ destekli sistemlerle moleküler hedef seçimi, toksisite öngörüsü ve hasta profillemesi gibi alanlarda bireyselleştirilmiş tedavi yaklaşımları da mümkün hale gelmektedir (Du et al., 2022; Vecchietti et al., 2025).

Yapay zekâ destekli optimizasyonun en dikkat çekici alanlarından biri nanoteknoloji tabanlı ilaç taşıyıcı sistemlerle entegrasyonudur. Nanopartiküller liposomlar, dendrimerler ve polimerik kapsüller gibi akıllı taşıyıcı sistemler antioksidan bileşiklerin biyoyararlanımını artırmakta, hedef dokulara spesifik olarak taşınmalarını sağlamakta ve kontrollü salım yoluyla sistemik toksisiteyi azaltarak tedavi etkinliğini artırmaktadır (Martinelli et al., 2020; Daré & Lautenschlager, 2025). YZ destekli formülasyon geliştirme çalışmaları sayesinde bu taşıyıcıların yapısal özellikleri (yüzey yükü, boyut, hedefleme ligandları) moleküler düzeyde optimize edilebilmekte ve *in vivo* başarı oranı yükselmektedir (Alalmaie et al., 2025; Nuñez-Selles et al., 2025). Tüm bu gelişmeler YZ destekli akıllı antioksidan stratejilerin yalnızca farmasötik ürün geliştirme sürecinde değil; aynı zamanda yaşlanma, kanser ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik süreçlerin yönetiminde de umut verici bir araç seti

sunduğunu göstermektedir. Bu disiplinler arası yaklaşım biyoinformatik, moleküler biyoloji, farmakoloji, klinik tıp ve nanoteknolojiyi bir araya getirerek klasik antioksidan terapilerin ötesine geçmekte ve bireye özgü tedavi planlamasında yeni bir paradigmalara sunmaktadır.

Klasik antioksidan terapiler serbest radikallerin etkisini baskılamada teorik olarak etkin görünse de, klinik düzeyde bu etkilerin kısa süreli ve sistemik olarak yetersiz olduğu görülmektedir. Bunun temel nedenleri arasında bileşiklerin düşük biyoyararlanımı, hedef dokuya ulaşma güçlüğü ve vücutta hızlı metabolize edilmeleri yer almaktadır (Heydari et al., 2024). Dolayısıyla bu yaklaşımın karmaşık patofizyolojik süreçleri barındıran kronik hastalıklarda tek başına yeterli olmadığı düşünülmektedir.

2. Antioksidan Kombinasyonlarının Önemi ve Yapay Zekâ Destekli Yaklaşımlar

Oksidatif stres reaktif oksijen türlerinin (ROS) kontrolsüz birikimi sonucu DNA bütünlüğünün bozulmasına, protein ve lipidlerin oksidatif modifikasyonuna, mitokondriyal fonksiyon kaybına ve sinyal yollarının düzensizleşmesine yol açarak kronik hastalıkların temel patogenetik sürecini başlatmaktadır (Finkel & Holbrook, 2000; Chalak et al., 2024). Bu nedenle ROS düzeylerinin denetlenmesi ve redoks homeostazın korunması, hem hücresel sağlığın hem de organizmanın genel fizyolojik dengesinin sürdürülmesi açısından kritik öneme sahiptir (Liu et al., 2025).

Hücreler zararlı reaktif türlerini nötralize edebilmek amacıyla glutatyon, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi endojen antioksidan sistemlerle donatılmıştır. Buna ek olarak askorbik asit, tokoferoller, flavonoidler ve karotenoidler gibi eksojen antioksidanlar diyet veya takviye yoluyla organizmaya alınabilmektedir (Gulcin, 2025). Ancak çok sayıda klinik ve preklinik çalışma tek bileşenli antioksidan tedavilerin düşük biyoyararlanım, hızlı metabolik eliminasyon ve dokuya özgü hedeflenme yetersizliği gibi nedenlerle sınırlı etkinlik sunduğunu göstermiştir (Al-Madhagi & Masoud, 2024; Heydari et al., 2024). Bu sınırlılıkları aşmak amacıyla geliştirilen kombinasyon stratejileri farklı antioksidanların birlikte kullanımı ile sinerjik etki oluşturarak daha kapsamlı hücresel koruma sağlamaktadır. Örneğin glutatyon ile askorbik asidin kombinasyonu redoks dengesinin sürdürülmesini kolaylaştırırken, resveratrol ile E vitamininin eş zamanlı uygulanması

mitokondriyal ROS üretimini baskılamakta ve hücrel bütünlüğü desteklemektedir (Montoya-Estrada et al., 2024). Benzer şekilde polifenoller ile SOD mimetiklerinin birlikte kullanımı endojen savunma mekanizmalarını güçlendirerek oksidatif stresin daha geniş spektrumda baskılanmasına imkân tanımaktadır (Gao et al., 2025; Giannaccari et al., 2025). Postmenopozal kadınlarda yapılan bir pilot çalışmada resveratrol ve vitamin C kombinasyonunun oksidatif stres belirteçlerini anlamlı düzeyde azalttığı ve lipid peroksidasyon oranını %18 oranında düşürdüğü bildirilmiştir (Montoya-Estrada et al., 2024). Bu tür bulgular, antioksidan kombinasyonlarının klinik geçerliliğini destekleyen önemli kanıtlar sunmaktadır. Bu kombinasyonların başarısı yalnızca biyokimyasal sinerjiye değil, aynı zamanda hücrel alt yapılarda farklı bölgelerin eşzamanlı korunmasına dayanmaktadır. Lipofilik E vitamini membran düzeyinde, askorbik asit sitoplazmada, polifenoller ise nükleus düzeyinde etkili olarak hücrel bütünlüğü çok boyutlu biçimde desteklemektedir (Al-Madhagi & Masoud, 2024).

Kombinasyon stratejilerinin etkinliği doz, oran, uygulama süresi ve hedefleme stratejilerinin doğru belirlenmesine bağlıdır. Düşük dozlar terapötik etkiyi sınırlarken, aşırı dozlar bazı antioksidanların pro-oksidan etki göstermesine neden olabilmektedir (Harman, 1956). Bu noktada YZ destekli yaklaşımlar devreye girmektedir. ML ve DL algoritmaları, biyolojik veri kümeleri (gen ekspresyon profilleri, proteomik/metabolomik veriler, hücre görüntüleri) üzerinden en uygun antioksidan kombinasyonlarını ve doz aralıklarını öngörebilmektedir (Du et al., 2022; Dipankar et al., 2025). Özellikle ROS düzeyi, apoptoz oranı ve mitokondriyal membran bütünlüğü gibi biyobelirteçlerin modellenmesi hücre tipine özgü terapötik kombinasyonların seçilmesine olanak tanımaktadır (Deng et al., 2017). Bununla birlikte YZ tabanlı optimizasyon yalnızca uygun kombinasyonların seçimini kolaylaştırmakla kalmaz; aynı zamanda farmakokinetik ve farmakodinamik verilerin entegrasyonu aracılığıyla yaş, metabolik durum ve hastalık yükü gibi bireysel değişkenleri dikkate alarak kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine de olanak tanımaktadır (Khosravi et al., 2024; Vecchiotti et al., 2025). YZ'nin nanoteknoloji ile entegrasyonu, bu alandaki en önemli ilerlemelerden biridir. Nanopartiküller, liposomlar ve polimerik kapsüller gibi akıllı taşıyıcı sistemler antioksidanların biyoyararlanımını artırmakta, hedef dokulara seçici taşınmalarını sağlamakta ve kontrollü salım mekanizmalarıyla

sistemik toksisiteyi azaltmaktadır (Khalil et al., 2020; Mirzaei et al., 2023; Daré & Lautenschlager, 2025). YZ destekli formülasyon geliştirme ise bu taşıyıcı sistemlerin yapısal parametrelerini optimize ederek klinik uygulanabilirliği artırmaktadır (Martinelli et al., 2020; Alalmaie et al., 2025).

Sonuç olarak antioksidan kombinasyonlarının sağladığı sinerjik etkiler ve YZ destekli yaklaşımlar klasik monoterapötik stratejilere göre daha etkili, hızlı, güvenli ve kişiselleştirilmiş tedavi fırsatları sunmaktadır. Bu multidisipliner entegrasyon, oksidatif stres temelli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde geleceğin terapötik paradigmasını temsil etmektedir (Płóciniczak et al., 2025).

3. Yapay Zekâ (YZ) Destekli Kombinasyon Tasarımı

Yapay zekâ destekli kombinasyon tasarımı, çeşitli uygulamalarda çok bileşenli formülasyonları optimize etmek için ortaya çıkan yeni bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım ilaçlar, doğal bileşikler, antioksidanlar veya besin ögeleri gibi farklı bileşenlerin birlikte kullanımı durumunda ortaya çıkabilecek sinerjik, antagonistik ya da nötr etkileşimleri belirlemeyi amaçlamaktadır. Bununla birlikte YZ sistemlerinin klinik uygulamalara entegrasyonu bazı metodolojik ve etik kısıtlamaları da beraberinde getirmektedir. Özellikle model önyargısı (bias), açıklanabilirlik (explainability), eğitim verisinin kalitesi ve genellenebilirlik gibi unsurlar geliştirilen öngörülerin güvenilirliğini doğrudan etkilemektedir (Rubinger et al., 2023). Bu nedenle YZ destekli öngörülerin deneysel ve klinik düzeyde doğrulanması zorunludur (Ayres et al., 2023). Kombinasyon tedavilerinin başarısı, bireysel farklılıklara duyarlılık göstermektedir. Genetik yatkınlık, yaş, cinsiyet, yaşam tarzı, metabolik profil ve mevcut komorbiditelere bağlı olarak bireylerde aynı antioksidan kombinasyon tedavilerinin farklı etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Örneğin diyabetik bir bireyde oksidatif stres düzeyleri sağlıklı bir bireye göre daha yüksek olduğundan, aynı kombinasyon farklı klinik sonuçlar ortaya çıkarabilmektedir. Bu nedenle “tek boyutlu tedavi yaklaşımı” yerine kişiselleştirilmiş ve hedefe yönelik antioksidan kombinasyon stratejileri geliştirmek zorunlu hâle gelmiştir (Nuñez-Selles et al., 2025).

Antioksidan tedavisinin sınırlamaları arasında dozaj optimizasyonu, kombinasyon seçimi, düşük biyoyararlanım ve hızlı metabolik eliminasyon yer almaktadır. Antioksidan kombinasyonları, sinerjistik etkiler ve hücresel

fonksiyonların daha iyi modülasyonu nedeniyle tekli antioksidan kullanımlarından daha etkili olmaktadır. Çünkü tekli antioksidan moleküller, belirli koşullarda oksidatif stresin zararlı etkilerini hafifletmekte etkili olsalar da, çoğu zaman biyoyararlanımın düşük olması, hedef dokuya yeterince ulaşamaması ve hızlı metabolik eliminasyona uğraması gibi nedenlerden dolayı sınırlı etkinlik göstermektedir. Bu nedenle, farklı antioksidanların bir arada kullanılarak sinerjik etki oluşturması hücresel ve hatta organizma düzeyinde daha güçlü ve kalıcı bir etkinlik sağlamaktadır. Ancak bu sinerjinin elde edilebilmesi için uygun molekül seçimi ile birlikte doğru dozajda kullanımının belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Ashok et al., 2022).

Yapay zekâ tabanlı modeller geniş biyolojik veri kümelerini analiz ederek optimal antioksidan kombinasyonların belirlenmesine ve kişiselleştirilmiş ilaç dağıtım stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Bu tasarımda en uygun kombinasyonu belirlemek amacıyla ML, DL ve optimizasyon algoritmaları kullanılmaktadır. ML ve DL yöntemleri farklı antioksidanların hücresel etkilerini çok boyutlu olarak analiz edebilmekte; ROS üretimi, mitokondriyal hasar, apoptoz oranları ve gen ekspresyon profilleri gibi parametreleri modelleyerek en uygun kombinasyonları belirleyebilmektedir (Şerban et al., 2025). Bununla birlikte YZ simülasyonları antioksidan moleküllerin farmakokinetik (emilim, dağılım, metabolizma, eliminasyon) ve farmakodinamik (hedef etkileşimleri, biyolojik yanıt) özelliklerini değerlendirerek kişiye özgü kombinasyon reçeteleri oluşturma imkânı sağlayabilmektedir (Mahfouz et al., 2025).

3.1. Makine Öğrenimi Algoritmaları (ML) ile Kombinasyon Seçimi

Makine öğrenimi algoritmaları elde edilen biyolojik ve kimyasal verilerden örüntüleri keşfederek yeni bilgiler üretmeye ve tahminler yürütmeye olanak tanıyan YZ yöntemidir (Rubinger et al., 2023). Sağlık alanındaki deneysel araştırma verilerinin fazla olması ve her geçen gün veri sayısının kümülatif bir şekilde artış göstermesi ML teknolojisinin kullanımını artırmıştır. Bu teknolojinin temel özellikleri arasında tanımlanmış verilerden bilgi kümeleri oluşturabilme, daha önce tanımlanmamış durumlara genelleme yapabilme, uyarlanabilirlik ve karar verme süreçlerindeki öngörü kapasitesi yer almaktadır. Böylece deneysel sonuçlara dayalı geleneksel yaklaşımın ötesine

geçilerek, araştırmalar daha sistematik, hızlı ve maliyet açısından verimli bir hale gelmektedir (Bhattacharya et al., 2020).

Makine öğrenimi algoritmaları denetimli, denetimsiz ve derin öğrenme olmak üzere üç temel kategoriye ayrılmaktadır. Denetimli öğrenme daha önce tanımlanmış başarılı ve başarısız kombinasyonlardan öğrenerek yeni kombinasyonların potansiyel etkinliğini tahmin etmeye yöneliktir. Örneğin bilinen antioksidan kapasite değerleri ile eğitilmiş bir regresyon modeli, yeni sentezlenen bir fenolik bileşiğin serbest radikal süpürme etkinliğini öngörebilmektedir (García-Pérez et al., 2020). Denetimsiz öğrenme ise verilerdeki doğal kümelenmeleri ortaya çıkararak biyolojik olarak anlamlı olabilecek ancak henüz test edilmemiş kombinasyonları belirlemeyi amaçlamaktadır. Bu yaklaşım farklı bitkisel ekstraktların veya polifenolik bileşiklerin benzerliklerine göre kümelenmesini sağlayabilmektedir (Khair et al., 2024). Derin öğrenme tabanlı yapay sinir ağları ise hücre görüntüleme verilerinden proliferasyonu, apoptozu ve ROS gibi birden fazla hücre sağlığı fenotipini analiz ederek ilaç tasarımı ve kombinasyon optimizasyonu gibi ileri düzey seçenekleri öngörebilmektedir (Ter-Levonian et al., 2020).

Makine öğrenimi algoritma teknolojisinin ortaya çıkışı antioksidan tanımlamanın verimliliğini artırmak için umut verici alternatif yaklaşımlar sunmaktadır. Hesamzadeh (2024), ML modeli kullanarak yeni antioksidan peptit dizileri tasarlamış ve bu peptitlerin deneysel olarak sentezlenerek antioksidan etkinliklerini değerlendirmiştir (Hesamzadeh et al., 2024). Özellikle biyolojik ve medikal veri analizlerinde Random Forest, Destek Vektör Makineleri (SVM) ve XGBoost gibi algoritmalar kullanılmaktadır. Birçok çalışmada Random Forest ve XGBoost gibi algoritmalar antioksidan etkilerin tahmininde %85'in üzerinde doğruluk sağlamıştır. Bu performans göstergeleri biyolojik veriye dayalı modellemelerin güvenilirliğini artırmaktadır (Jung et al., 2024). Bu algoritmalar hücre kültürü deney sonuçları, *in vivo* hayvan çalışmaları, klinik hasta verileri, metabolomik ve proteomik profiller, gen ekspresyonları gibi çok katmanlı verileri analiz ederek oksidatif stresle ilişkili biyobelirteçler ile antioksidan etkiler arasındaki ilişkileri ortaya çıkarabilmektedir (Basu et al., 2022; Jung et al., 2024, Domingues et al., 2025, Zhou et al., 2025). Ayrıca fenolik bileşikler, flavonoidler ve terpenoidler gibi geniş antioksidan gruplarındaki moleküllerin yapısal özellikleri ile biyolojik

aktiviteleri arasındaki korelasyon bu algoritmalar sayesinde keşfedilebilmektedir (Lu et al., 2024).

Makine öğrenimi algoritma teknolojisi farklı bileşik arasındaki sinerjistik veya antagonistik etkileşimleri deneysel olarak belirlemenin zorluklarını ele alarak ilaç sinerjisini ve kombinasyon etkilerini tahmin etmek için güçlü araçlar ortaya koymaktadır (Wang et al., 2023). Örneğin bilinen antioksidan sinerjik çiftlerin dışında klasik yöntemlerle keşfedilmesi güç olan yeni çoklu moleküler eşleşmeleri de tanımlayabilmektedir. Bunun yanı sıra çoklu bileşiklerin doz-yanıt ilişkilerini de analiz ederek en uygun kombinasyonları öngörebilmektedir (Suzen et al., 2013). Böylece farmasötik araştırmalarda daha etkili antioksidan tedavi stratejilerinin geliştirilmesini mümkün kılarken, kişiye özgü antioksidan kombinasyon reçetelerinin tasarlanmasına katkı sağlayarak kişiselleştirilmiş tıp anlayışının uygulanabilirliğini artırmaktadır.

3.2. Derin Öğrenme (DL) ile Hücresel Yanıt Analizi

Derin öğrenme (DL) ile hücresel yanıt analizi yöntemi modern biyomedikal araştırmalarda önemli yere sahiptir. Özellikle ilaç geliştirme, toksikoloji, immün yanıt ve antioksidan mekanizmaların anlaşılması gibi konularda, hücrelerin çevresel uyarıcılara verdiği tepkilerin doğru biçimde değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır (Turkki et al., 2016; Baptista et al., 2021; Cho et al., 2022.) Geleneksel yöntemler, hücresel düzeydeki çok boyutlu değişiklikleri sınırlı ölçüde ortaya koymaktadır. Buna karşılık DL tabanlı YZ yaklaşımları çok katmanlı ve yüksek hacimli verilerden biyolojik anlam taşıyan desenleri ayırt etme kapasiteleri ile yeni bir yaklaşım sunmaktadır (Rabbi et al., 2022). Özellikle konvolüsyonel sinir ağları (convolutional neural networks, CNN), yüksek çözünürlüklü mikroskopik görüntüleri değerlendirerek hücrelerde morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerin tespit edilmesini mümkün kılmaktadır. Bu yöntem antioksidan araştırmalarda ve tıbbi görüntülemede umut verici sonuçları ortaya koymaktadır (Kensert et al., 2018). Bakalis et al. (2022), CNN yöntemi ile kardiyovasküler ve nörodejeneratif bozukluklarda potansiyel terapötik uygulamalar için anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri birleştiren hem LOX-3 inhibitörleri hem de DPPH temizleyicileri olarak işlev gören çift aktiviteli bileşikleri tanımlayarak %95,2 doğruluk elde etmiştir. Ayres et al. (2023), DL modeli kullanarak antioksidan

kombinasyonların sinerjik, aditif veya antagonistik etkileşim türlerini tahmin etmişlerdir. Bu model 140 deneysel veri setiyle test edilmiş ve her kombinasyona ait etkileşim indeksi (CI) ortaya çıkarılmıştır.

Derin öğrenme tabanlı YZ yaklaşımları ROS üretimi, apoptoz, mitokondri membran potansiyeli ve hücre canlılığı ve döngüsü hakkında ayrıntılı bilgiler sunmaktadır (Cho et al., 2022). Bu yaklaşım hücre şekli, çekirdek-boyut oranı ve doku organizasyonu gibi morфометrik özelliklerin nicel olarak değerlendirilmesine imkân tanımaktadır. Ayrıca hücresel hareket ve migrasyon, endositoz ve ekzositoz aktiviteleri ile intrasellüler sinyalizasyon (ör. kalsiyum akışı, ROS sinyalleri, antioksidan yanıt) ve protein ile organel lokalizasyonu gibi dinamik süreçler DL yöntemi aracılığıyla analiz edilebilmektedir (Bakalis et al., 2022; Zhang et al., 2025; Zhou et al., 2025). Böylece hücresel yanıtlar fonksiyonel, morfolojik ve moleküler düzeyde çok boyutlu ve yüksek doğrulukla incelenebilmektedir. Bu durum biyomedikal araştırmalarda daha kapsamlı ve objektif değerlendirmelerin yapılmasını sağlamaktadır.

Makine Öğrenimi Algoritmaları ve DL yöntemleri ile ilgili alandaki ilk geniş ölçekli veri kaynakları arasında O'Neil et al. (2016)'nın farklı kanser hücre hatlarında yürüttüğü kombinasyon taraması ve NCI-ALMANAC veri tabanı yer almaktadır (O'Neil et al., 2016; Holbeck et al., 2017). Bu çalışmalar binlerce ilaç çiftinin farklı hücre hatlarındaki etkilerini sistematik şekilde ortaya koyarak YZ destekli modellerin eğitilmesi için temel veri setlerini oluşturmuştur. Ardından geliştirilen ML ve DL yöntemleri yalnızca veriye dayalı tahminler yapmakla kalmamış, aynı zamanda mekanizma düzeyinde yorumlama imkânı da sunmuştur. Örneğin DrugCell adlı model yolak bilgisi ile DL tabanlı CNN yöntemini birleştirerek öngördüğü kombinasyonları kanser hücrelerinde farmakolojik ve genetik doğrulamalarla desteklemiştir (Kuenzi et al., 2020).

Güncel çalışmalar YZ'nin doğrudan hücre kültürü deneyleriyle kapalı döngü şeklinde kullanıldığını göstermektedir. Cambridge ekibinin 2025'te gerçekleştirdiği bir çalışmada GPT-4 tarafından önerilen ilaç çiftleri meme kanseri hücre hattı MCF-7 ve normal meme epitel hücre hattı MCF-10A'da test edilmiş ve bazı kombinasyonların anlamlı antiproliferatif etkiler gösterdiği ortaya konmuştur (Abdel-Rehim et al., 2025). Benzer şekilde pankreas kanseri hücre hattı PANC-1 üzerinde yürütülen bir çalışmada 32 ilacın 496 farklı

kombinasyonu 10×10 doz matrislerinde taranmış, ML modelleri sinerjistik adayları önceliklendirmiş ve bu öngörüler deneysel doğrulamalarla teyit edilmiştir (Pourmoussa et al., 2025). Diğer bir çalışmada pediatrik kanser hücrelerinde BATCHIE algoritması kullanılmış ve bu yöntemde her iterasyonda en bilgilendirici kombinasyon seçilerek, PARP inhibitörü ile topoizomeras inhibitörünün birlikte sinerjistik etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (Tosh et al., 2023). Bir diğer önemli gelişme, Recover yöntemidir. Bu model hücre kültürü çalışmalarında tarama verimliliğini artırmak üzere geliştirilmiş olup, beş turluk deney-model döngüsü sonunda olası kombinasyonların yaklaşık %5'inin test edilmesiyle güçlü sinerjiler keşfedilmesini sağlamıştır. Böylece YZ tabanlı metodolojilerin klasik tarama yöntemlerine kıyasla çok daha düşük maliyet ve kısa zamanda yüksek başarı sağladığı kanıtlanmıştır (Bertin et al., 2023).

Hücre kültürü çalışmalarında genellikle farklı doz düzeylerini değerlendirmek için doz-yanıt matrisleri kullanılmaktadır. Kombinasyon etkileri Bliss Independence, Loewe Additivity, ZIP veya HSA gibi sinerji skorları ile analiz edilmektedir. YZ'nin deneysel çıktılarla bütünleştirilmesi hem modelin doğruluğunu artırmakta hem de biyolojik mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına katkı sunmaktadır (El Hassouni et al., 2019).

3.3. Simülasyon ve Optimizasyon Yaklaşımları

Biyolojik sistemlerde çoklu bileşiklerin birbirleriyle etkileşime girdiği durumlarda deneysel yöntemlerin karmaşıklığı ve maliyetlerin yüksek olması nedeniyle araştırmacılar simülasyon ve optimizasyon tabanlı yaklaşımlara yönelmektedir. Simülasyon yaklaşımları hücresel veya moleküler düzeyde gerçek biyolojik süreçlerin matematiksel ve bilgisayarlı modeller aracılığıyla yeniden oluşturulmasına dayanmaktadır. Bu yöntemler sayesinde hücrelerin oksidatif stres, ilaç, antioksidan ya da toksik ajanlara verdiği yanıtlar farklı senaryolar altında sanal ortamda değerlendirilmektedir. Böylece laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmesi maliyetli veya zaman alıcı olan deneysel çalışmalar öncelikle bilgisayar ortamında denenmekte ve daha verimli bir araştırma süreci sağlanmaktadır (Moore et al., 2004; Di Ventura et al., 2006).

Simülasyon modelleri farmakokinetik ve farmakodinamik verileri değerlendirerek sistemik düzeyde antioksidan kombinasyonların etkinliğini öngörebilmektedir. Simülasyon modellerinin biyolojik gerçeklikle ne ölçüde

örtüştüğü, modelin yapılandırılma biçimine ve kullanılan parametrelerin doğrudan deneysel verilere dayalı olup olmamasına bağlıdır. Bazı durumlarda *in silico* ortamda sinerjik olduğu tahmin edilen kombinasyonlar *in vitro* sistemlerde beklenen etkinliği göstermemektedir. Bu nedenle model çıktılarının biyolojik sistemlerle korelasyonu mutlaka doğrulayıcı deneylerle test edilmelidir (Deng et al., 2017). Cai et al. (2014) quercetin, hiperisin ve rutin gibi üç flavonoidde farklı pozisyonlardaki hidroksil gruplarının hidrojen ayrışma enerjisini hesaplamış ve bu değerleri kullanarak antioksidan aktiviteleri değerlendirmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin deneysel verilerle uyumlu olduğunu ve antioksidan etkinliğin quercetin>hiperisin>rutin sıralamasında olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda çözünürlük parametresi (δ), ortalama kare yer değiştirme (MSD), difüzyon katsayısı (D) ve çözüm katsayısı (S) gibi fiziksel parametrelerde moleküler dinamik (MD) yöntemleriyle hesaplanabilmektedir (Wu et al., 2024). Bu tür çok ölçekli simülasyon modelleri antioksidanların biyolojik aktiviteleri için temel veriler sağlamakta ve mikromekanik açıklamalar getirerek antioksidan özelliklerin moleküler nedenlerinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır. Optimizasyon teknikleri ise çoklu değişkenler içeren biyolojik sistemlerde en uygun çözümün bulunmasına imkân tanıyan yöntemlerdir. Örneğin farklı dozlarda kullanılan birden fazla antioksidanın en etkili kombinasyonunun belirlenmesi ya da minimum toksisiteyle maksimum terapötik etkinin elde edilmesi için optimizasyon algoritmaları kullanılabilmektedir (Kronfeld et al., 2009).

4. Akıllı Nanotaşıyıcı Sistemler ve Yapay Zekâ

Akıllı nanotaşıyıcı sistemler hedefe yönelik, kontrollü ve uyarılara duyarlı ilaç salınımı gibi özellikleriyle biyomedikal uygulamalarda büyük bir potansiyel sunan sistemlerdir. Bu sistemler ilacın taşınımının yanı sıra biyolojik ortamda spesifik koşullara yanıt vererek terapötik etkinliği artırmayı ve yan etkileri azaltmayı hedeflemektedir (Sunayana et al., 2025). Bununla birlikte fiziksel, kimyasal veya biyolojik uyarılara tepki verebilen genellikle nano boyutta tasarlanmış yapılar olup ilaçların belirli hücrelere, dokulara veya organlara yönlendirilmesini mümkün kılmaktadır (Unsoy & Gündüz, 2018). Böylece ilaç veya biyolojik ajan yalnızca hastalıklı dokuda serbest bırakılırken, sağlıklı dokular mümkün olduğunca korunabilmektedir. Sıcaklık, pH değişimi, enzimatik aktivite ve redoks potansiyeli gibi çevresel faktörlere duyarlılık

gösteren bu sistemler kanser tedavisi, antimikrobiyal taşıyıcılar, nörolojik hastalıklar, gen terapisi ve aşı teknolojileri alanlarında umut vaat eden çözümler sunmaktadır (Karimi et al., 2015; Marinelli et al., 2020; Tapponi et al., 2025).

Yapay zekâ destekli algoritmalar farklı antioksidan moleküllerin kimyasal yapısını, çözünürlüğünü ve biyoyararlanım profilini analiz ederek en uygun nanotaşıyıcı tasarımını belirleyebilmektedir (Idowu et al., 2021; Farajpour et al., 2025). Bu modeller aynı zamanda hastaya özgü biyobelirteçler ve dokusal mikroçevre verileri üzerinden çalışarak hangi antioksidanın hangi taşıyıcıyla ve hangi dozda kullanılacağını da öngörebilmektedir. Böylece hem kontrollü salım kinetikleri optimize edilmekte hem de yalnızca hedef bölgedeki pH, enzimatik aktivite veya redoks potansiyelindeki değişimlere yanıt veren uyaran-duyarlı taşıyıcılarla yan etki riski minimize edilmektedir (Joshi-Barr et al., 2014).

Antioksidan moleküller genellikle suda az çözünmeleri, hızlı metabolize edilmeleri ve geniş sistemik dağılımları nedeniyle etkinlik kaybına uğramaktadır (Budiman et al., 2023). Akıllı nanotaşıyıcılar bu sorunları aşmak üzere tasarlanarak hücre içi alımı artırırken, biyolojik engelleri geçmekte ve ilaç salınımını kontrollü bir şekilde sağlayabilmektedir (Liu et al., 2024). Örneğin nörodejeneratif hastalıklarda kan-beyin bariyerini aşabilen nanotaşıyıcı sistemler oksidatif stres kaynaklı nörotoksisiteyi azaltmak amacıyla antioksidanları seçici olarak sinir dokusuna iletebilmektedir (Karimi et al., 2015). Kanser tedavisinde tümör mikroçevresinin asidik yapısına duyarlı nanotaşıyıcılar hem antioksidan desteği sağlayabilmekte hem de kemoterapötik ilaçlarla sinerjik etki oluşturabilmektedir (Tapponi et al., 2025). Kardiyovasküler hastalıklarda damar içindeki reaktif oksijen türlerini hedef alan pH-duyarlı nanotaşıyıcı sistemler lokal oksidatif stresi azaltarak endotelial fonksiyonu iyileştirebilmektedir (Liu et al., 2025). Bu taşıyıcılar kişiselleştirilmiş tıbbın bir parçası olarak tedavi etkinliğini artırırken yan etkileri azaltmayı da mümkün kılmakta ve geleceğin anti-stres ve antioksidan bazlı terapilerinin temelini oluşturabilecektir.

Akıllı nanotaşıyıcı sistemler arasında polimerik nanopartiküller, lipozomlar, polimerik misel yapılar, katı lipid nanopartiküller (SLN) ve nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLC) en yaygın kullanılan taşıyıcı tipleri arasında yer almaktadır (Demetzos et al., 2014). Bugüne kadar antioksidan yüklü nanotaşıyıcıların çoğu preklinik düzeyde test edilmiş olsa da, bazı yapılar klinik

deneme aşamasına geçmiştir. Örneğin, lipofilik antioksidan taşıyan SLN sistemleri, Alzheimer hastalarında oksidatif stresin azaltılması amacıyla Faz I çalışmalara konu olmuştur (Ashok et al., 2022). Bu tür örnekler, AI destekli formülasyonların translasyonel potansiyelini göstermektedir.

4.1. Nanopartiküller

Genellikle 1 ila 100 nanometre boyuta sahip olan nanopartiküller yüksek yüzey/hacim oranı ve özgün fizikokimyasal özellikleri sayesinde makroskopik yapılardan belirgin şekilde ayrılmaktadır. Biyomedikal uygulamalarda ilaç taşıma, görüntüleme, tanı ve tedavi amacıyla kullanılan bu yapılar, bileşim ve yapısal özelliklerine göre farklı sınıflara ayrılmaktadır (Mohapatra et al., 2025). Metal nanopartiküller (örneğin altın, gümüş, platin) malzeme özellikleri, bulunabilirliği, etkinliği, spesifik hedeflemesi ve sürdürülebilir salınımı nedeniyle araştırmalarda tercih edilmektedir. Bu gruptaki parçacıklar (TiO_2 , ZnO , Fe_3O_4 , CeO_2) fotokatalitik, manyetik veya antioksidan özellikleri ile medikal ve çevresel uygulamalar için önem taşımaktadır (Maximilien et al., 2015). Polimerik nanopartiküller ise antioksidanların kontrollü salınımı için en sık kullanılan yapılardır. Bu grupta yer alan biyobozunur polimerler (PLA ve PLGA) ile ilaç yükü serbest bırakılmaktadır. Karbon bazlı nanopartiküller (fullerenler, karbon nanotüpler, grafen oksit) ise yüksek mekanik dayanım ve elektriksel iletkenlikleriyle dikkat çekmektedir. Ayrıca lipit bazlı nanopartiküller ve nanokristaller, düşük çözünürlüklü ilaçların biyoyararlanımını artırmak amacıyla kullanılmaktadır (Mohapatra et al., 2025).

Deneyisel çalışmalarda kullanılan nanopartiküllerin en önemli avantajı yüzeylerinin değiştirilebilir özellikte olmasıdır. Yüzeylerine eklenen farklı tipte moleküller sayesinde temel özellikleri ve etkinlikleri değiştirilebilmektedir. Yaygın olarak ligandlar, peptitler veya antikörler eklenerek hedefleme yapılmaktadır. Bu durum biyoyumumluluğu artırmasının yanı sıra hedef dokuya özgü ilaç iletimini sağlamaktadır. İletim sırasında pH, sıcaklık, manyetik alan ve ışık gibi çevresel uyarılara duyarlı bir şekilde kontrollü ilaç salınımı gerçekleşmektedir (Zhang et al., 2014; Wang et al., 2025).

Son yıllarda antioksidanların biyolojik etkilerini araştırmak amacıyla hücre kültürü modelleri ve YZ algoritmaları birlikte kullanılmaktadır. Hepatosit ve nöronal hücre hatlarında yapılan bir çalışmada kurkuminin farklı konsantrasyonlarda hücre canlılığı, mitokondriyal membran potansiyeli ve

reaktif oksijen türleri (ROS) üzerindeki etkileri yapay sinir ağları (ANN) ile analiz edilmiştir. Kurkuminin PLGA temelli polimerik nanopartiküller ve SLN içinde formüle edilmesi modelin deneysel verilerle yüksek korelasyon göstermesini sağlamış ve antioksidan molekülün doz-cevap ilişkisini klasik yöntemlere kıyasla daha güvenilir şekilde öngörmesine imkân tanımıştır (Widyati et al., 2021). Bulut et al. (2025) kitosan nanopartikülleri ile zenginleştirilen *Bacopa monnieri* özütlerinin biyolojik etkilerini yanıt yüzey metodolojisi (RSM) ve ML modelleri kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonuçları çok katmanlı algılayıcı (MLP) modelin en yüksek tahmin doğruluğunu sağladığını, rastgele orman (RF) modelinin ise ikinci sırada yer aldığını göstermiştir. Bu bulguların YZ tabanlı yöntemlerin biyolojik verilerin analiz ve yorumlanmasında güvenilir ve tamamlayıcı araçlar olarak etkin bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Diğer bir çalışmada biyolojik ve sentetik nanopartiküllerin terapötik potansiyelleri YZ ve ileri analiz yöntemleriyle değerlendirilmiştir. PEG ile kaplanmış *Camellia sinensis* özütü içeren çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnO NP'ler) L929 fibroblast ve HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelenmiştir. Aynı çalışmada bilgisayarlı görüntüleme ve doku analizleri ile nanopartiküllerin hücrel etkileşimleri ve morfolojik dağılımları araştırılmıştır. Çalışma sonuçları nanopartiküllerin fibroblastlarda minimal etkiyle seçici antikanser potansiyele sahip olduğunu göstermiş ve biyoteknoloji ile YZ destekli görüntüleme yaklaşımlarının kanser tedavisinde sinerjik etkisini ortaya çıkarmıştır (Asmaz et al., 2024). Banerjee et al. (2023) *Musa sapientum* ile sentezlenen biyolojik bakır nanopartiküllerin anti-inflamatuar etkinliği, temas süresi, işlem sıcaklığı ve başlangıç konsantrasyonu gibi değişkenler yapay sinir ağı (ANN) modeli kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular ANN modelinin anti-inflamatuar etkinliği yüksek doğrulukla öngörebildiğini göstermiştir. Çalışma sonuçları YZ'nin biyolojik nanopartiküllerin terapötik potansiyelini güvenilir biçimde tahmin etmede değerli bir araç olduğunu ortaya koymuştur.

4.2. Lipozomlar

Lipozomlar fosfolipit çift tabakasından oluşan iç kısmında sulu bir faz barındıran küresel veziküllerdir. Hücre zarına yapısal benzerlikleri nedeniyle yüksek biyouyumluluk gösterirler ve bağışıklık sisteminde düşük tepki oluşturmurlar. Hidrofilik ilaçlar lipozomun iç fazında, lipofilik ilaçlar ise

fosfolipit tabakasında taşınmaktadır. Bu çift fazlı yapı lipozomları çok yönlü ve esnek bir ilaç taşıyıcı sistemi haline getirmektedir. Lipozomlar pasif hedefleme ve aktif hedefleme stratejileri ile belirli doku ve hücrelere yönlendirilmektedir. Aynı zamanda pH, sıcaklık veya enzim duyarlılığı gibi uyaranlara cevap verecek şekilde tasarlanabilmeleri nedeniyle kontrollü salım uygulamalarında önemli avantajlar sağlamaktadır (Kaur & Singh, 2023; Choudhary & Banweer 2025).

Quercetin, resveratrol, kurkumin ve epigallocateşin gallat (EGCG) gibi doğal polifenoller üzerine yapılan *in vitro* çalışmalar antioksidan etkinlik araştırmalarında öne çıkmaktadır. Yapılan bir çalışmada Caco-2 hücrelerinde quercetin ve resveratrol kombinasyonu incelenmiş ve YZ tabanlı çok değişkenli regresyon analizleri ile bu bileşiklerin sinerjik etkileri değerlendirilmiştir. Her iki bileşik için lipozomal formülasyonlar oluşturulmuş, böylece düşük çözünürlük ve hızlı degradasyon gibi sınırlamaların minimize edilmesi sağlanmıştır. Çalışma sonuçları quercetin ve resveratrol kombinasyonunun bağırsak epitelinde hücre bariyer bütünlüğünü koruduğunu ve oksidatif hasarı azalttığını göstermiştir (Lund & Pantuso, 2014). Zhang et al. (2025), BERT tabanlı iki aşamalı bir YZ modeli kullanarak binlerce doğal bileşik arasından en güçlü antioksidan bileşikler seçmiş ve bu bileşikler lipozomal taşıyıcılarla formüle etmişlerdir. Çalışma sonunda biyoyararlanımın %20 oranında arttığı ve antioksidanlarla ilgili genlerin ekspresyon artışı ile böbrek iskemisi/reperfüzyon modellerinde oksidatif stres hasarını hafiflettiği rapor edilmiştir.

4.3. Polimerik Miseller

Polimerik miseller, amfifilik blok kopolimerlerin sulu ortamda kendiliğinden organize olarak çekirdek-kabuk yapısı oluşturduğu nanotaşıyıcılardır (Qiu et al., 2007). Bu yapıda bulunan hidrofobik çekirdek suda çözünmeyen ilaç veya biyolojik moleküllerin enkapsülasyonuna olanak tanırken, hidrofilik kabuk miselin sulu ortamda stabilitesini artırmaktadır. Ayrıca plazma proteinleri ile etkileşimi azaltarak dolaşım süresini uzatmaktadır. Boyutları 10 ila 100 nm arasında değişmektedir. Bu özelliği ile biyolojik bariyerleri aşma potansiyeline sahiptir (Kore et al., 2014). Bileşenleri genellikle biyobozunur ve biyouyumlu polimerlerden seçilmektedir. PLA (polilaktik asit), PLGA (polilaktik-ko-glikolik asit) ve PCL (polikaprolakton) gibi polimerler,

vücutta metabolize olarak toksik olmayan ürünlere parçalanmaktadır ve klinik uygulamalarda yaygın olarak tercih edilmektedir. Bu metabolitlerin avantajı düşük çözünürlüklü hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırmasıdır (İbrahim et al., 2017). Örneğin tümör mikroçevresinin asidik pH'sında bozularak ilacını serbest bırakan pH-duyarlı polimerik miseller sağlıklı dokularda ilacın salımını minimuma indirerek yan etkileri azaltmaktadır. Benzer şekilde redoks-duyarlı miseller hücre içi glutatyon seviyelerinin yüksek olduğu ortamlarda parçalanarak yüklerini kontrollü bir şekilde bırakabilmektedir (Nishiyama & Kataoka, 2006).

Polimerik misellerin ilaç taşıma dışında da önemli uygulama alanları mevcuttur. Gen terapisi için nükleik asitlerin taşınması, görüntüleme ajanlarının hedefli iletimi ve kombine tedavi yaklaşımlarında (ör. kemoterapi + antioksidan tedavi) kullanımları giderek artmaktadır. Özellikle antioksidan moleküller gibi düşük çözünürlüklü ve hızlı metabolize olan bileşiklerin taşınmasında çözünürlük ve stabiliteyi artırarak terapötik etkinliği yükseltmektedir (Nishiyama et al., 2005; Croy & Kwon, 2006; Tyagi et al., 2017).

4.4. Katı Lipit Nanopartiküller (SLN) ve Nanoyapılı Lipit Taşıyıcılar (NLC)

Lipit bazlı nanotaşıyıcı sistemler biyoyumluluk, biyobozunurluk ve ilaç taşıma kapasitesi gibi avantajları nedeniyle modern farmasötik araştırmalarda önemli bir yer edinmiştir. Bu sistemler arasında SLN ve NLC özellikle kontrollü salım, hedefe yönelik iletim ve ilaç stabilitesinin artırılması gibi özellikleriyle öne çıkmaktadır. Her iki sistem de hem lipofilik hem de amfilik ilaçların taşınmasına olanak tanımaktadır ve toksisite riskleri oldukça düşüktür (Sharma et al., 2024).

Katı lipit nanopartiküller (SLN) oda sıcaklığında katı halde bulunan biyoyumlu lipitlerden oluşmaktadır. Genellikle 50 ila 1000 nm boyut aralığında bulunan bu yapılar yüksek basınçlı homojenizasyon, mikroemülsiyon tekniği veya çözücü buharlaştırma gibi yöntemlerle sentezlenmektedir. İlaç molekülleri çekirdekte bulunan katı lipite fiziksel olarak gömülmektedir ya da yüzeye adsorbe olmaktadır. SLN'ler ışık ve oksidasyona karşı koruma, kontrollü salım ve yüksek stabilite gibi avantajlara sahiptir (Hirlekar et al., 2011). NLC, SLN teknolojisinin geliştirilmiş bir versiyonudur. Çekirdek yapısı katı lipit ile sıvı lipit (yağ) karışımından

oluşmaktadır. Bu kombinasyon kristal yapının düzenini bozarak çekirdek içinde daha fazla boşluk yaratmaktadır ve böylece ilaç yükleme kapasitesi artmaktadır. NLC'ler, SLN'lere kıyasla daha düşük kristalizasyon riski, daha iyi salım kontrolü ve daha yüksek ilaç yükleme kapasitesine sahiptir. Üretim yöntemleri SLN ile benzerdir ancak formülasyonda sıvı lipit kullanımı ile çekirdek yapısı modifiye edilmektedir. Her iki sistem de çok çeşitli uygulama alanlarına sahiptir (Surya et al., 2020). Onkolojide kemoterapötik ilaçların hedefe yönelik iletiminde, nörolojik hastalıklarda kan-beyin bariyerini aşabilen formülasyonlarda, dermal ve transdermal uygulamalarda, antioksidanlar ve anti-inflamatuar ajanların taşınmasında, aşı taşıyıcı sistemlerinde antijenlerin korunmasında ve kontrollü salınımda tercih edilmektedir (Sanad, 2014; Amiri et al., 2021).

Sonuç

Oksidatif stres geri dönüşümsüz hücre döngüsü inhibisyonu ile karakterize hücresel yaşlanma süreçlerinde ve yaşa bağlı birçok kronik hastalığın gelişiminde temel bir rol oynamaktadır. Geleneksel antioksidan yaklaşımlar bu karmaşık biyolojik sürecin yönetiminde tek başlarına yetersiz kalmakta; sınırlı biyoyararlanım, hedefe özgü etki eksikliği ve sistemik uygulamalarda ortaya çıkan yan etkiler nedeniyle klinik başarıları sınırlı kalmaktadır (Ashok et al., 2022; Dossena & Marino, 2024). Bu noktada antioksidan kombinasyon stratejileri ve YZ destekli modelleme yaklaşımları daha etkili ve kişiselleştirilmiş tedavi seçeneklerinin önünü açmaktadır.

Son yıllarda geliştirilen antioksidan kombinasyon stratejileri ve YZ destekli modelleme yaklaşımları hem tedavi etkinliğini artırmakta hem de bireysel biyolojik değişkenlikleri hesaba katan kişiselleştirilmiş tedavi protokollerinin tasarlanmasına olanak sunmaktadır (Ayres et al., 2023; Jung et al., 2024). Özellikle DL algoritmaları, hücresel görüntüleme ve biyobelirteç analizinde yüksek doğrulukla çalışmakta; gen ekspresyonu, ROS düzeyleri ve apoptoz gibi çok boyutlu biyolojik parametrelerin değerlendirilmesini mümkün kılmaktadır (Bakalis et al., 2022; Zhang et al., 2025).

Bu gelişmelere paralel olarak nanoteknoloji ve YZ'nin entegrasyonu akıllı ilaç taşıyıcı sistemlerin (SLN, NLC, lipozomlar, polimerik miseller) geliştirilmesinde yeni bir dönemi başlatmıştır. Bu sistemler yalnızca antioksidanların biyoyararlanımını artırmakla kalmamakta aynı zamanda

kontrollü, hedefe özgü ve uyaranlara duyarlı salım mekanizmaları sayesinde sistemik toksisiteyi azaltmakta ve terapötik etkinliği artırmaktadır (Güvenç et al., 2021). Ayrıca YZ destekli tasarım süreçleri, bu nanotaşıyıcıların bireysel hastalık profiline göre optimize edilmesini mümkün kılmakta, böylece kişiselleştirilmiş antioksidan tedavilerin geliştirilmesinde temel yapı taşlarını oluşturmaktadır (Pourmoussa et al., 2025).

Literatürden elde edilen veriler ışığında YZ destekli çok bileşenli kombinasyon optimizasyonlarının sistematik olarak test edilip doğrulanabileceği ve klinik uygulamaya entegre edilebileceği bir çerçeve modelin geliştirilmesi önerilmektedir. Böyle bir model yalnızca farmasötik ürün geliştirme süreçlerinde değil; aynı zamanda yaşlanma, kanser, nörodejeneratif bozukluklar ve diğer oksidatif stres temelli patolojilerin yönetiminde de yeni bir paradigma sunacaktır (Bruno et al., 2025; Dossena & Marino, 2024). Bu yaklaşım biyoinformatik, moleküler biyoloji, farmakoloji, klinik tıp ve nanoteknolojiyi bütünleştiren çok disiplinli bir araştırma ekseninde geleceğin kişiselleştirilmiş tıbbına yön verecek potansiyele sahiptir. Ancak bu potansiyelin klinik uygulamaya tam anlamıyla yansiyabilmesi için algoritmaların açıklanabilirliği, etik denetim süreçlerinin güçlendirilmesi, klinik doğrulama çalışmaları ve düzenleyici standartlarla uyumun sağlanması gibi kritik konularda ilerleme sağlanması gerekmektedir (Rubinger et al., 2023). Bununla birlikte antioksidan yüklü nanopartiküllerin fizikokimyasal karakterizasyonu, iletim mekanizmaları ve klinik öncesi terapötik etkinliklerine dair yapılan çalışmalar; oksidatif stres kaynaklı patolojiler için nanopartikül tabanlı müdahalelerin optimize edilmesi adına değerli bir temel oluşturmaktadır (Daré & Lautenschlager 2025) Bu sistemlerin terapötik potansiyeli açıkça ortaya konmuş olmakla birlikte, biyoyumluluk, stabilite ve iletim verimliliği açısından daha fazla iyileştirmeye ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut literatürün büyük ölçüde *in vitro* ve *in vivo* klinik öncesi çalışmalara dayanması, bu sistemlerin klinik ortamda güvenilirlik ve etkinlik profillerine ilişkin bilgi eksikliklerini beraberinde getirmektedir. Bu nedenle alanın ilerleyebilmesi için kapsamlı ve kontrollü klinik araştırmaların gerçekleştirilmesi geleceğimize sağlık hizmetini sağlamada önem taşıyacaktır.

Kaynakça

- Abdel-Rehim A, Zenil H, Orhobor O, et al. (2025). Scientific hypothesis generation by large language models: laboratory validation in breast cancer treatment. *J R Soc Interface*.;22(227).
- Alalmaie A, Alshahrani HT, Alqahtani M, Alshahrani Z, Alahmari S, Asiri A, Akhter MH. (2025). Integrating computational insights in gold nanoparticle-mediated drug delivery: Enhancing efficacy and precision. *Frontiers in Medical Technology*, 7,1528826.
- Al-Madhagi H, Masoud A. (2024). Limitations and challenges of antioxidant therapy. *Phytotherapy Research*, 38(12):5549–5566.
- Amiri M, Jafari S, Kurd M, et al. Engineered Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers as New Generations of Blood–Brain Barrier Transmitters. *ACS Chem Neurosci*. 2021;12(24):4475–4490.
- Antioxidants*. (2024). Special Issue: Advances in antioxidant therapies. <https://www.mdpi.com/journal/antioxidants>
- Ashok A, Andrabi SS, Mansoor S, Kuang Y, Kwon BK, Labhasetwar V. (2022). Antioxidant Therapy in Oxidative Stress-Induced Neurodegenerative Diseases: Role of Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems in Clinical Translation. *Antioxidants*. 11(2):408.
- Asmaz A, Ustun-Alkan F, Kalaycilar IB, Kucukdeniz T, Özbaş F, Karakuş S. (2024). Sonosynthesis and artificial intelligence-enhanced characterization of PEGylated Camellia sinensis -encapsulated zinc oxide nanoparticles: cytotoxicity capacity against cervical cancer and fibroblast cells. *J Taibah Univ Sci*.18(1).
- Ayres L, Benavidez T, Varillas A, Linton J, Whitehead DC, Garcia CD. (2023). Predicting Antioxidant Synergism via Artificial Intelligence and Benchtop Data. *J Agric Food Chem*. 71(42):15644–15655.
- Bakalis D, Lambrinidis G, Kourounakis A, Manis G. (2022). Contribution of Deep Learning in the Investigation of Possible Dual LOX-3 Inhibitors/DPPH Scavengers: The Case of Recently Synthesized Compounds. *Bioengineering*. 9(12):800.
- Bakalis D, Lambrinidis G, Kourounakis A, Manis G. (2022). Contribution of Deep Learning in the Investigation of Possible Dual LOX-3

- Inhibitors/DPPH Scavengers: The Case of Recently Synthesized Compounds. *Bioengineering*. 9(12):800.
- Banerjee D, Kumar GK, Sobia F, Ansari SK, SA, (2023). Manikandan R. Prediction of Anti-inflammatory Activity of Bio Copper Nanoparticle using an Innovative Soft Computing Methodology. *Int J Adv Comput Sci Appl*.14(6).
- Baptista D, Ferreira PG, Rocha M. Deep learning for drug response prediction in cancer. *Brief Bioinform*. 2021;22(1):360-379. doi:10.1093/bib/bbz171
- Basu D, Sinha R, Sahu S, Malla J, Chakravorty N. Advances in Redox Research Identification of severity and passive measurement of oxidative stress biomarkers for ? – thalassemia patients: K-means , random forest , XGBoost , decision tree , neural network based novel framework. *Adv Redox Res*. 2022;5(March):100034. doi:10.1016/j.arres.2022.100034
- Bertin P, Rector-Brooks J, Sharma D, et al. (2023). RECOVER identifies synergistic drug combinations in vitro through sequential model optimization. *Cell Reports Methods*.;3(10):100599.
- Bhattacharya S, Chakraborty C. (2020). Machine Learning for Biomedical and Health Informatics. In: *Big Data, IoT, and Machine Learning*. CRC Press; 79-112.
- Bilici, E., Akkoç, S. (2025). Impact of a benzimidazole salt on gene expression cytotoxicity and apoptotic processes in hepg2 cell line. *Journal of King Saud University – Science*, 37 (1) 3922024.
- Bilici, E., Uğuz, C., Altunbaş, K. (2025). Examining the Impact of 4-Nonylphenol on G-361 Malignant Melanoma Cell Proliferation and Apoptosis Activation. *Van Vet J*, 36 (2) 110-114.
- Budiman A, Rusdin A, Aulifa DL. (2023). Current Techniques of Water Solubility Improvement for Antioxidant Compounds and Their Correlation with Its Activity: Molecular Pharmaceutics. *Antioxidants*.12(2):378.
- Bulut S, Aasim M, Emsen B, Ali SA, Askin H, Karatas M. (2025). Machine learning modeling and response surface methodology driven antioxidant and anticancer activities of chitosan nanoparticle-mediated extracts of *Bacopa monnieri*. *Int J Biol Macromol*.;310:143470.
- Cai W, Chen Y, Xie L, Zhang H, Hou C. Characterization and density functional theory study of the antioxidant activity of quercetin and its

- sugar-containing analogues. *Eur Food Res Technol.* 2014;238(1):121-128.
- Chalak M, Hesarakı M, Mirbahari SN, Yeganeh M, Abdi S, Rajabi S, Hemmatzadeh F. (2024). Cell immortality: In vitro effective techniques to achieve and investigate—Applications and challenges. *Life*, 14(3), 417.
- Chalak S, Zhang Y, Sun J. (2024). Oxidative stress and aging-related diseases: Molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Free Radical Biology and Medicine*, 215, 112–128.
- Cho K, Choi ES, Kim JH, Son JW, Kim E. Numerical learning of deep features from drug-exposed cell images to calculate IC50 without staining. *Sci Rep.* 2022;12(1):6610. doi:10.1038/s41598-022-10643-9
- Choudhary B, Banweer JA. (2025). Review on Liposomes as Novel Drug Delivery System. *Res J Pharm Technol.*:2864-2867.
- Croy S, Kwon G. Polymeric Micelles for Drug Delivery. *Curr Pharm Des.* 2006;12(36):4669-4684.
- Daré RG, Lautenschlager SOS. (2025). Nanoparticles with antioxidant activity. *Antioxidants*, 14(2):221.
- Demetzos C, Pippa N. Advanced drug delivery nanosystems (aDDnSs): a mini-review. *Drug Deliv.* 2014;21(4):250-257.
- Deng Y, Liu Y, Tang S, Zhou C, Han X, Xiao W, Tan Z. (2017). General machine learning model, review, and experimental-theoretic study of magnolol activity in enterotoxigenic induced oxidative stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 17(26):2977–2988.
- Di Ventura B, Lemerle C, Michalodimitrakı K, Serrano L. (2006). From *in vivo* to *in silico* biology and back. *Nature*. 443(7111):527-533.
- Dipankar P, Salazar D, Dennard E, Mohiyuddin S, Nguyen QC. (2025). Artificial intelligence-based advancements in nanomedicine for brain disorder management: An updated narrative review. *Frontiers in Medicine*, 12, 1599340.
- Domingues F, Colak C, Yagin FH, Yagin B, Akhloufi MA, Aghaei M. Identification of metabolomics-based biomarker discovery in individuals with down syndrome utilizing explainable artificial intelligence methodology. 2025;(April):1-16. doi:10.3389/fmolb.2025.1567199

- Dossena S, Marino A. (2024). Oxidative Stress and Antioxidants in Aging. *Antioxidants*, 13(11):1288.
- Du Z, Wang D, Li Y. (2022). Comprehensive evaluation and comparison of machine learning methods in QSAR modeling of antioxidant tripeptides. *ACS Omega*, 7(29):25760–25771.
- EL Hassounı B, Mantini G, LI Petri G, et al. (2019). To Combine or Not Combine: Drug Interactions and Tools for Their Analysis. Reflections from the EORTC-PAMM Course on Preclinical and Early-phase Clinical Pharmacology. *Anticancer Res.*;39(7):3303-3309.
- Fahmida Binte Khair, Mohammad Muzahidur Rahman Bhuiyan, Mia Md Tofayel Gonee Manik, et al. Machine Learning Approaches to Identify and Optimize Plant-Based Bioactive Compounds for Targeted Cancer Treatments. *Br J Pharm Pharm Sci.* 2024;1(1):60-67. doi:10.32996/bjpps.2024.1.1.7
- Farajpour M. (2025). Synergizing genetic algorithms and neural networks to decode mineral-antioxidant dynamics in black-raspberry. *Ind Crops Prod.*232:121266.
- Faria BQ, Calixto PS, Picheth G, Ferreira LM, Rego FGM, Guerra JFC, Sari MHM (2025). Palmitate-induced hepatic insulin resistance as an in vitro model for natural and synthetic drug screening: A scoping review of therapeutic candidates and mechanisms, *Chemico-Biological Interactions.* 420:111717.
- Fehér PP, Madarász Á, Stirling A. (2023). Prediction of redox power for photocatalysts: Synergistic combination of DFT and machine learning. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 19(7), 4125–4135.
- Finkel T, Holbrook NJ. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809):239–247.
- Gao X, Xiao Y, Li W, Xu L, Yuan J. (2025). Synergistic effects of antioxidant blends: A comparative study on oxidative stability of lipids in feed matrices. *Antioxidants*, 14(8):981.
- García-Pérez P, Lozano-Milo E, Landín M, Gallego PP. Combining Medicinal Plant In Vitro Culture with Machine Learning Technologies for Maximizing the Production of Phenolic Compounds. *Antioxidants*. 2020;9(3):210. doi:10.3390/antiox9030210

- Giannaccari C, Pompilio A, Di Pietro A. (2025). Superoxide dismutase mimetics and polyphenols: Emerging synergies in oxidative stress management. *Redox Biology*, 76,104231.
- Gulcin İ. (2025). Antioxidants: A comprehensive review. *Archives of Toxicology*, 99(5):1893–1997.
- Güvenç PB, Kaski S, Mamitsuka H. (2021). Machine learning approaches for drug combination therapies. *Brief Bioinform.* 22(6):bbab293.
- Harman D. (1956). Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*, 11(3):298–300.
- Hesamzadeh P, Seif A, Mahmoudzadeh K, et al. De novo antioxidant peptide design via machine learning and DFT studies. *Sci Rep.* 2024;14(1):6473. doi:10.1038/s41598-024-57247-z
- Heydari M, Rezaei M, Sadeghi H, Jafari A. (2024). Challenges in translating antioxidants from bench to bedside. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 170,114625.
- Hirlekar R, Garse H, Kadam V. Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers: A Review. *Curr Drug ther.* 2011;6(4):240-250. doi:10.2174/157488511798109637
- Holbeck SL, Camalier R, Crowell JA, et al. (2017). The National Cancer Institute almanac: A Comprehensive Screening Resource for the Detection of Anticancer Drug Pairs with Enhanced Therapeutic Activity. *Cancer Res.* 77(13):3564-3576.
- Ibrahim ID, Sadiku ER, Jamiru T, Hamam A, Kupolati WK. (2017). Applications of Polymers in the Biomedical Field. *Curr Trends Biomed Eng Biosci.*;4(5).
- Idowu SO, Fatokun AA. (2021). Artificial Intelligence (AI) to the Rescue: Deploying Machine Learning to Bridge the Biorelevance Gap in Antioxidant Assays. *SLAS Technol.* 26(1):16-25.
- Joshi-Barr S, de Gracia Lux C, Mahmoud E, Almutairi A. (2014). Exploiting Oxidative Microenvironments in the Body as Triggers for Drug Delivery Systems. *Antioxid Redox Signal.* 21(5):730-754.
- Jung J, Moon JO, Ahn SI, Lee H. Predicting antioxidant activity of compounds based on chemical structure using machine learning methods. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2024;28(6):527–537.
- Karimi M, Zangabad PS, Ghasemi A, Hamblin MR. Smart External Stimulus-

- Responsive Nanocarriers for Drug and Gene Delivery. *Morgan & Claypool Publishers*; 2015.
- Kaur S, Singh DA. (2023). Sojourn on Liposomal Delivery System: Recent Advances and Future Prospects. *Assay Drug Dev Technol.*;21(2):48-64.
- Kensert A, Harrison PJ, Spjuth O. (2018). Transfer learning with deep convolutional neural networks for classifying cellular morphological changes. Published online June 14.
- Khalil I, Yehye WA, Etxeberria AE, Alhadi AA, Dezfooli SM, Julkapli NBM, Basirun WJ Seyfoddin A. (2020). Nanoantioxidants: Recent trends in antioxidant delivery applications. *Antioxidants*, 9(1):24.
- Khosravi M, Zare Z, Mojtabaeian SM, Izadi R. (2024). Artificial intelligence and decision-making in healthcare: A thematic analysis of a systematic review of reviews. *Health Services Research and Managerial Epidemiology*, 11, 23333928241234863.
- Kore G, Kolate A, Nej A, Misra A. Polymeric Micelle as Multifunctional Pharmaceutical Carriers. *J Nanosci Nanotechnol*. 2014;14(1):288-307.
- Korovesis D, Rubio-Tomás T, Tavernarakis N. (2023). Oxidative stress in age-related neurodegenerative diseases: An overview of recent tools and findings. *Antioxidants*, 12(1):131.
- Kronfeld M, Dräger A, Aschoff M, Zell A. (2009). On the benefits of multimodal optimization for metabolic network modeling. In: German Conference on Bioinformatics 2009. Gesellschaft für Informatik eV;:191-200.
- Kuenzi BM, Park J, Fong SH, et al. (2020). Predicting Drug Response and Synergy Using a Deep Learning Model of Human Cancer Cells. *Cancer Cell*;38(5):672-684.e6.
- Liu J, Cabral H, Mi P. (2024). Nanocarriers address intracellular barriers for efficient drug delivery, overcoming drug resistance, subcellular targeting and controlled release. *Adv Drug Deliv Rev*. 207:115239.
- Liu S, Liu J, Wang Y, Deng F, Deng Z. (2025). Oxidative stress: Signaling pathways, biological functions, and disease. *MedComm*, 6(7):e70268.
- Liu Y, Jiang Z, Wang Y, Yang B, Fu Q. (2025). pH-responsive rosuvastatin-loaded nanosystem with superoxide dismutase- and catalase-like properties for M1-to-M2 macrophage repolarization and synergistic anti-atherosclerosis effects. *Chem Eng J*;519:164823.

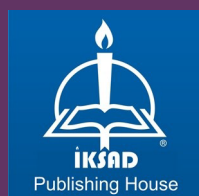
- Liu, R., Liu, H., Ha, Y., Tilton, RG ve Zhang, W. (2014). Oxidative stress induces endothelial cell senescence via downregulation of Sirt6. *Biomed. Res. Int.* 2014, 902842.
- Lu L, Luan Y, Wang H, Gao Y, Wu S, Zhao X. (2024). Flavonoid as a Potent Antioxidant: Quantitative Structure–Activity Relationship Analysis, Mechanism Study, and Molecular Design by Synergizing Molecular Simulation and Machine Learning. *J Phys Chem A.* 128(30):6216-6228.
- Lund KC, Pantuso T. (2014). Combination Effects of Quercetin, Resveratrol and Curcumin on In Vitro Intestinal Absorption. *J Restor Med.*;3(1):112-120.
- Mahfouz AHAS, Mathe AIM, Ali AOI, Ahmed AOM, Gasmalla AMM. (2025). Artificial intelligence in drug discovery and personalized medicine: Transforming the future of pharmaceutical research. *Int J Sci Res Arch.* 14(2):1394-1406.
- Maldonado E, Morales-Pison S, Urbina F, Solari A. (2023). Aging Hallmarks and the Role of Oxidative Stress. *Antioxidants*, 12(3), 651.
- Martinelli C, Pucci C, Battaglini M, Marino A, Ciofani G. (2020). Antioxidants and nanotechnology: Promises and limits of potentially disruptive approaches in the treatment of central nervous system diseases. *Politecnico di Milano Repository*.
- Maximilien J, Beyazit S, Rossi C, Haupt K, Tse Sum Bui B. (2015). Nanoparticles in Biomedical Applications. *In.* 177-210.
- Mirzaei M, Esmaeili R, Ghaffari H, Shokoohinia Y. (2023). Role of nanotechnology in overcoming antioxidant therapy limitations. *Frontiers in Medical Technology*, 5, 1022245.
- Mohapatra R, Giri D, Vijayakumar D, et al. (2025). Nanomaterials in Biomedical Applications: A Review. *J Adv Biol Biotechnol.*;28(3):996-1009.
- Montoya-Estrada A, García-Cortés AY, Romo-Yañez J, Ortiz-Luna GF, Arellano-Eguiluz A, Belmont-Gómez A, López-Ugalde V, León-Reyes G, Flores-Pliego A, Espejel-Núñez A, et al. (2024). The administration of resveratrol and vitamin C reduces oxidative stress in postmenopausal women—A pilot randomized clinical trial. *Nutrients*, 16(21):3775.
- Moore MN, Noble D. Editorial: Computational modelling of cell & tissue processes & function. *Histochem J.* 2004;35(7):655-658.

- Nishiyama N, Bae Y, Miyata K, Fukushima S, Kataoka K. (2005). Smart polymeric micelles for gene and drug delivery. *Drug Discov Today Technol.*2(1):21-26.
- Nishiyama N, Kataoka K. (2006). Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. *Pharmacol Ther.* 112(3):630-648.
- Núñez-Selles AJ, Núñez-Musa RA, Guillen-Marmolejos RA. (2025). Linking oxidative stress biomarkers to disease progression and antioxidant therapy in hypertension and diabetes mellitus. *Front Mol Biosci.* 12.
- O’Neil J, Benita Y, Feldman I, et al. (2016). An Unbiased Oncology Compound Screen to Identify Novel Combination Strategies. *Mol Cancer Ther.* 15(6):1155-1162.
- Plóciniczak A, Bukowska-Olech E, Wysocka E. (2025). The complexity of oxidative stress in human age-related diseases—A review. *Metabolites*, 15(7):479.
- Pourmousa M, Jain S, Barnaeva E, et al. (2025). AI-driven discovery of synergistic drug combinations against pancreatic cancer. *Nat Commun.*;16(1):4020.
- Qiu L, Zheng C, Jin Y, Zhu K. Polymeric micelles as nanocarriers for drug delivery. *Expert Opin Ther Pat.* 2007;17(7):819-830.
- Rabbi F, Dabbagh SR, Angin P, Yetisen AK, Tasoglu S. (2022). Deep Learning-Enabled Technologies for Bioimage Analysis. *Micromachines.* 13(2):260.
- Rubinger L, Gazendam A, Ekhtiari S, Bhandari M. (2023). Machine learning and artificial intelligence in research and healthcare. *Injury.* 54:S69-S73.
- Sanad R. Lipid nanoparticles (SLNs and NLCs): wide range of application from cosmetics to cancer chemotherapy. *J Drug Res Egypt.* 2014;35(1):73-78.
- Șerban M, Toader C, Covache-Busuioac RA. (2025). The Redox Revolution in Brain Medicine: Targeting Oxidative Stress with AI, Multi-Omics and Mitochondrial Therapies for the Precision Eradication of Neurodegeneration. *Int J Mol Sci.* 26(15):7498.
- Sharma A, Sharma D, Panda PK, Ghosh NS. Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Particles: A Comparative Review on Lipid-Based Nanocarriers. *Pharm Nanotechnol.* 2024;13. doi:10.2174/0122117385318686241003103005

- Sunayana SRV, Pathade P, Tambe BR. (2025). Stimuli-Responsive Nanocarriers: Revolutionizing Site-Specific Drug Release. *Med Pharm J.* 4(2):79-99.
- Surya Kumari C, Srinavas Rao N, Asha Begham S, Suresh Babu S, Durga Rao G, Venketeswara Rao K. Formulation Techniques Of Lipid Based Nanoparticles: Sln/Nlcs, Its Evaluation And Applications. *Int J Res Pharm Chem.* 2020;10(1).
- Suzen S. Melatonin and Synthetic Analogs as Antioxidants. *Curr Drug Deliv.* 2013;10(1):71-75. doi:10.2174/1567201811310010013
- Tapponi S, Yusuf A, Alsaafin F, Hussain Z. (2025). Breaking barriers with pH-responsive nanocarriers: a new frontier in precision oncology. *Int J Pharm.* 682:125931.
- Ter-Levonian AS, Koshechkin KA. Review of Machine Learning Technologies and Neural Networks in Drug Synergy Combination pharmacological research. *Res Results Pharmacol.* 2020;6(3):27-32. doi:10.3897/rpharmacology.6.49591
- Tosh C, Tec M, White J, et al. A Bayesian active learning platform for scalable combination drug screens. Published online December 19, 2023.
- Turkki R, Linder N, Kovanen PE, Pellinen T, Lundin J. Antibody-supervised deep learning for quantification of tumor-infiltrating immune cells in hematoxylin and eosin stained breast cancer samples. *J Pathol Inform.* 2016;7(1):38.
- Tyagi N, De R, Begun J, Popat A. (2017). Cancer therapeutics with epigallocatechin-3-gallate encapsulated in biopolymeric nanoparticles. *Int J Pharm.* 518(1-2):220-227.
- Unsoy G, Gunduz U. (2018). Smart Drug Delivery Systems in Cancer Therapy. *Curr Drug Targets.* 19(3).
- Vecchiotti LF, Wijaya BN, Armanuly A, Hangeldiyev B, Jung H, Lee S, Cha M, Kim HM. (2025). Artificial intelligence-driven computational methods for antibody design and optimization. *mAbs.* 17(1):2528902.
- Wang Y, Huang R, Feng S, Mo R. (2025). Advances in nanocarriers for targeted drug delivery and controlled drug release. *Chin J Nat Med.* 23(5):513-528.
- Wang Z, Dong J, Wu L, et al. DEML: Drug Synergy and Interaction Prediction Using Ensemble-Based Multi-Task Learning. *Molecules.*

2023;28(2):844.

- Widyati R, Ashari A, Afiahayati. (2021). A review of using data mining and machine learning for predicting drug loading modeling in solid lipid nanoparticles containing curcumin. *J Phys Conf Ser.*1918(4):042015.
- Wu Z, Shi X, Wang X, Luo Y, Wang X. (2024). Modeling and analysis of synergistic phenolic antioxidants in edible oil: Integrating molecular simulation and artificial neural network approach. *J Mol Struct.*1315:138959.
- Yadav B, Wennerberg K, Aittokallio T, Tang J. (2015). Searching for Drug Synergy in Complex Dose–Response Landscapes Using an Interaction Potency Model. *Comput Struct Biotechnol J.*;13:504-513.
- Yang J, Luo J, Tian X, Zhao Y, Li Y, Wu X. (2024). Progress in understanding oxidative stress, aging, and aging-related diseases. *Antioxidants*, 13(4):394.
- Zazuli, Z., Hartati, R., Rowa, C. R., Asyarie, S., & Satrialdi. (2025). The Potential Application of Nanocarriers in Delivering Topical Antioxidants. *Pharmaceuticals*, 18(1), 56.
- Zhang L, Li Y, Yu JC. Chemical modification of inorganic nanostructures for targeted and controlled drug delivery in cancer treatment. *J Mater Chem B*. 2014;2(5):452-470.
- Zhang X, Zheng Z, Xie L, et al. (2025). Deep learning-enhanced development of innovative antioxidant liposomal drug delivery systems from natural herbs. *Mater Horizons*.
- Zhou H, Li X, Zhang Y, Wei F, Liu Z. (2025). Machine learning combined multi-omics analysis to explore key oxidative stress features in systemic lupus erythematosus. 1-18.



ISBN: 978-625-378-326-6